

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

**“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DOCKING DE COMPLEJOS 1-(ETIL/METIL)-6-
FLUROQUINOLONA-BORO CON MODIFICACIONES EN C-7 Y/O C-8”**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA:

Q.F.B. CHRISTIAN JAIRO TEJADA RODRÍGUEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. SOCORRO LEYVA RAMOS

CODIRECTOR:

DR. HIRAM HERNÁNDEZ LÓPEZ



SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P., SEPTIEMBRE 2021



CIEP

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

La presente tesis se realizó en el Laboratorio de Síntesis Orgánica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo la dirección de la Dra. Socorro Leyva Ramos y el Dr. Hiram Hernández López de la Universidad Autónoma de Zacatecas, contando con el apoyo financiero de la beca de maestría con registro CONACyT número-712595, CVU-930410.

El programa de Maestría en Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), registro 520, en el nivel consolidado.



“Síntesis y evaluación docking de complejos 1-(etil/metil)-6-fluoroquinolona-boro con modificaciones en C-7 y/o C-8” por Christian Jairo Tejada Rodríguez se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

**“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DOCKING DE COMPLEJOS 1-(ETIL/METIL)-6-
FLUOROQUINOLONA-BORO CON MODIFICACIONES EN C-7 Y/O C8”**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

PRESENTA:

Q.F.B. CHRISTIAN JAIRO TEJADA RODRÍGUEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. SOCORRO LEYVA RAMOS

CODIRECTOR:

DR. HIRAM HERNÁNDEZ LÓPEZ

SINODALES:

DRA. SOCORRO LEYVA RAMOS

DR. HIRAM HERNÁNDEZ LÓPEZ

DR. CÉSAR FERNANDO AZAEL

GÓMEZ DURÁN



SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P., SEPTIEMBRE 2021

San Luis Potosí, S.L.P.
03 de septiembre del 2021

Comité Académico del Posgrado en Ciencias Químicas.

Facultad de Ciencias Químicas, UASLP.

Presente.

Por medio de la presente comunicamos que la tesis llevada a cabo por el alumno de maestría Q.F.B. Christian Jairo Tejada Rodríguez, titulada "Síntesis y evaluación docking de complejos 1-(etil/metil)-6-fluoroquinolona-boro con modificaciones en C-7 y/o C-8", ha sido concluida y aprobada por el comité tutorial para iniciar los trámites correspondientes para su titulación. El examen de grado tendrá lugar el próximo 14 de septiembre del presente año a las 12:00 hrs, en la sala audiovisual adjunta a la hemeroteca de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP.

ATENTAMENTE

Dra. Socorro Leyva Ramos
Directora de Tesis

Dr. Hiram Hernández López
Codirector de Tesis

Dr. César Fernando Azael Gómez Duran
Miembro del Comité Tutelar Extendido

DEDICATORIA

A mi Familia, en especial a mis madres, Alicia Tejada Rodríguez y Verónica Manuela Rodríguez Sosa, por ser mi fuerza motora y pilares más fuertes.

*A mis Amigos: Meño, Genaro y José (grillo),
a quienes recordaré con gran aprecio.*

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores: la Dra. Socorro Leyva Ramos y el Dr. Hiram Hernández López, por la formación, asesoramiento, así como todo el apoyo y los buenos consejos.

A la Dra Kim M. Baines de la Universidad de Western Ontario, Canadá, y a su grupo de investigación: Sarah McOnie, Taylor Cosby y Sanjog Brar, por su contribución en los análisis de resonancia magnética nuclear.

A mi compañera M.C.Q. Brenda Virginia Loera por su asesoramiento y apoyo dentro y fuera del laboratorio de síntesis, así también en la teoría y el estudio de acoplamiento molecular presentado.

A mis compañeros del laboratorio de síntesis orgánica: Karina Trujillo, Johana Aguilar, Saúl Noriega, Diego Zapata, Alberto Pedraza y Hanzel, por los conocimientos y todas las experiencias compartidas.

A todos mis profesores y compañeros del posgrado en ciencias químicas y la UASLP por contribuir en mi formación.

A mis amigos de la patineta por la motivación.

Al CONACyT por la beca otorgada.

ABREVIATURAS

| | | |
|-------------------------------------|-------|---|
| °C | | grados Celsius |
| μL | | microlitro |
| μM | | micromolar |
| ¹ H | | protón |
| ¹³ C | | carbono |
| ¹⁵ N | | nitrógeno |
| ¹⁹ F | | flúor |
| Abs _{max} | | absorbancia máxima |
| ADN | | ácido desoxirribonucleico |
| ADP | | adenosin difosfato |
| AINE | | antiinflamatorio no esteroideo |
| Ang | | angiotensina |
| Arg | | arginina |
| Asp | | asparagina |
| ATP | | adenosin trifosfato |
| ATR | | attenuated total reflection (reflectancia total atenuada) |
| BZ | | bencimidazol |
| <i>B. subtilis</i> | | <i>Bacillus subtilis</i> |
| BF ₃ •(OEt) ₂ | | dietil eterato de trifluoruro de boro |
| c | | cuarteto |
| Cat. | | catalizador |

| | |
|---|--|
| CD ₃ COCD ₃ | acetona deuterada |
| Citocromo P-450 | proteína responsable de los procesos metabólicos de algunos fármacos |
| cm | centímetro |
| CMI | concentración mínima inhibitoria |
| cols | colaboradores |
| COX | ciclooxigenasa |
| d | doblete |
| DMEDA | dimetiletilendiamina |
| DMF | dimetilformamida |
| DMSO | dimetilsulfóxido |
| DMSO- <i>d</i> ₆ | dimetilsulfóxido deuterado |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| EMME | etoximetilenmalonato de dietilo |
| Et | etilo |
| Etl | yoduro de etilo |
| EtOH | etanol |
| EtO | etoxi |
| ETO | etopósido |
| FQ | fluoroquinolona |
| FT- IR | infrarrojo con transformada de fourier |
| g | gramo |

| | |
|------------------------------|-----------------------------------|
| Gln | glutamina |
| Glu | ácido glutámico |
| Gly | glicina |
| h | horas |
| <i>H. influenzae</i> | <i>Haemophilus influenza</i> |
| HCl | ácido clorhídrico |
| Hz | Hertz |
| IR | infrarrojo |
| <i>J</i> | constante de acoplamiento |
| KOH | hidróxido de potasio |
| δ | desplazamiento químico |
| m | multiplete |
| Met | metilo |
| MXF | moxifloxacina |
| mg | miligramo |
| MHz | megahertz |
| min | minuto |
| mL | mililitro |
| <i>M. tuberculosis</i> | <i>Micobacterium tuberculosis</i> |
| nm | nanómetro |
| nmol | nanomol |
| Nu | nucleófilo |

OTAP péptido transportador de aniones orgánicos

P. aeuroginosa..... *Pseudomona aeuroginosa*

PDB protein data bank (banco de datos de proteínas)

PMBA..... *para*-metoxibencilamina

p.f. punto de fusión

p.s. punto de sublimación

pKa constante de acidez

PM peso molecular

ppm partes por millón

RMN resonancia magnética nuclear

q quintuplete

s singulete

SEA..... sustitución electrofílica aromática

Ser serina

SNA sustitución nucleofílica aromática

SNC sistema nervioso central

S. pneumoniae *Streptococcus pneumoniae*

S. aureus *Staphylococcus aureus*

t triplete

TBA tributilamina

TEA trietilamina

TFA..... trifluoroacetic acid (ácido trifluoro acético)

Tyr..... tirosina
Trp triptófano
UV-Vis ultravioleta-visible
VIH virus de la inmunodeficiencia humana
W Watts
 λ longitud de onda

RESUMEN

El presente trabajo plantea una ruta eficiente para la síntesis de complejos 7-amino-8-nitro-6-fluoroquinolona boro **169** y **170** obteniendo un 71% y 66% de rendimiento respectivamente. Se empleó la metodología de Gould-Jacobs para la construcción del anillo de fluoroquinolona **48** ó **140** partiendo del EMME **46** y las anilinas **45** ó **139**, seguido de una *N*-alquilación para formar **159**, **49**, **160** ó **161**; después, se realizó la transformación al éster de borilo **162** ó **50** para incrementar el carácter electrofílico en C-7 favoreciendo la S_NA con la *para*-metoxibencilamina, obteniendo **165** ó **166**; seguido de una desbencilación en medio ácido para producir los derivados 7-aminofluoroquinolona **167** ó **168**, que fueron sometidos a una nitración convencional mostrando selectividad hacia C-8 dando lugar a los productos **169** y **170**. Todos los intermediarios fueron caracterizados por espectroscopía de IR, UV-Vis y RMN de ¹H, ¹³C, ¹⁹F.

Adicionalmente, se realizó un estudio de acoplamiento molecular de una serie de híbridos fluoroquinolona-bencimidazol **171a-j** dirigidos hacia la enzima topoisomerasa II de *M. tuberculosis* y humana. En la actividad antituberculosa, los resultados mostraron una mayor energía de unión por parte de los derivados **171d** y **171i** (-23.18 y -24.36 kcal/mol) en comparación con la moxifloxacina **23** (-22.2 kcal/mol), teniendo interacciones adicionales gracias a la incorporación del anillo de imidazol. Así mismo, los derivados **171c** y **171h** mostraron la mejor energía de enlace hacia la topoisomerasa Ila humana (-5.03 y -5.07 kcal/mol), al presentar energías mayores al etopósido (-4.70 kcal/mol) y cercanas a la moxifloxacina (-5.88 kcal/mol) posicionándolos como potenciales agentes anticancerosos. Este estudio tuvo la finalidad de identificar a los mejores candidatos para su síntesis química a partir de los precursores **169** y **170** sintetizados, optimizando tiempo y recursos, incrementando así las probabilidades de éxito en futuras pruebas *in vitro* o *in vivo*.

Palabras clave: Fluoroquinolonas, bencimidazoles, híbridos, síntesis, docking

ABSTRACT

The present work showed an efficient route for the synthesis of 7-amino-8-nitro-6-fluoroquinolone boron complexes **169** and **170** obtaining a 71% and 66% of yield respectively. The Gould-Jacobs methodology was used for the construction of the fluoroquinolone ring **48** or **140** starting from EMME **46** and the anilines **45** or **139**, followed by an N-alkylation to form **159**, **49**, **160** or **161**; then, the transformation was carried out to the boryl ester **162** or **50** to increase the electrophilic character at C-7 favoring the S_NA with the *para*-methoxybenzylamine, obtaining **165** or **166**; followed, by a debenzoylation in an acid medium to produce the 7-aminofluoroquinolone derivatives **167** or **168**, which were subjected to a conventional nitration showing selectivity towards C-8 giving rise to products **169** and **170**. All intermediates were characterized by IR spectroscopy, UV-Vis and ¹H, ¹³C, ¹⁹F NMR.

Additionally, a molecular docking study of a series of fluoroquinolone-benzimidazole hybrids **171a-j** targeting the *M. tuberculosis* and human topoisomerase II enzyme was performed. In the antituberculous activity, the results showed a higher binding energy by derivatives **171d** and **171i** (-23.18 and -24.36 kcal / mol) compared to moxifloxacin **23** (-22.2 kcal / mol), having additional interactions thanks to incorporation of the imidazole ring. Likewise, derivatives **171c** and **171h** showed the best binding energy towards human topoisomerase IIa (-5.03 and -5.07 kcal / mol), by presenting higher energies than etoposide **172** (-4.70 kcal / mol) and close to moxifloxacin **23** (-5.88 kcal / mol) positioning them as potential anticancer agents. The purpose of this study was to identify the best candidates for their synthesis from precursors **169** and **170** synthesized, optimizing time and resources, thus increasing the chances of success in future in *vitro* or in *vivo* tests.

Key words: Fluoroquinolones, benzimidazoles, hybrids, synthesis, docking

ÍNDICE GENERAL

| CONTENIDO | PÁGINA |
|--|--------|
| Agradecimientos | i |
| Abreviaturas | ii |
| Resumen | vii |
| Abstract | viii |
| Índice general | ix |
| Índice de figuras | xvii |
| Índice de esquemas | xxii |
| Índice de tablas | xxiii |
| Índice de espectros | xxiv |
| Infrarrojo | xxiv |
| Ultravioleta-Visible | xxv |
| RMN de ^1H | xxvii |
| RMN de ^{13}C | xxviii |
| RMN de ^{19}F | xxix |
| 1. Introducción | 1 |
| 2. Antecedentes | 4 |
| 2.1. Fluoroquinolonas | 4 |
| 2.1.1. Descubrimiento y Generaciones | 4 |
| 2.1.2. Estructura Base | 9 |
| 2.1.3. Clasificación de los Derivados de Quinolona | 9 |

| | |
|---|----|
| 2.1.3.1. Clasificación Estructural | 10 |
| 2.3.3.1.1. Grupo I. Derivados Monocíclicos | 10 |
| 2.1.3.1.2. Grupo II. Derivados Bicíclicos | 11 |
| 2.1.3.1.2.1. Grupo II A | 12 |
| 2.1.3.1.2.2. Grupo II A-I: Derivados de 1,8-naftiridina | 12 |
| 2.1.3.1.2.3. Grupo II A-II: Derivados de pirido2-3d] pirimidina ... | 12 |
| 2.1.3.1.2.4. Grupo IIA-III: Derivados de Quinolina | 12 |
| 2.1.3.1.2.5. Grupo II B | 13 |
| 2.1.3.1.3. Grupo III. Derivados tricíclicos | 13 |
| 2.1.3.1.4. Grupo IV. Derivados tetracíclicos | 14 |
| 2.1.4. Mecanismo de Acción Molecular de las Fluoroquinolonas | 14 |
| 2.1.5. Mecanismos de Generación de Resistencia | |
| a las Fluoroquinolonas | 18 |
| 2.1.5.1. Resistencia Generada por Mutaciones Cromosómicas | |
| que Alteran el Sitio de Unión a las | |
| Fluoroquinolonas..... | 19 |
| 2.1.5.2. Resistencia Mediada por Plásmidos | 20 |
| 2.1.6. Relación Estructura-Actividad de las Fluoroquinolonas | 22 |
| 2.1.6.1. Modificaciones en Posición N-1 | 23 |
| 2.1.6.2. Modificaciones en Posición C-2 | 23 |
| 2.1.6.3. modificaciones en Posiciones C-3 y C-4 | 23 |
| 2.1.6.4. Modificaciones en Posición C-5 | 24 |

| | |
|---|----|
| 2.1.6.5. Modificaciones en Posición C-6 | 24 |
| 2.1.6.6. Modificaciones en Posición C-7 | 25 |
| 2.1.6.7. Modificaciones en Posición C-8 | 26 |
| 2.1.7. Características Físicas y Químicas Importantes para las Propiedades Medicinales | 26 |
| 2.1.7.1. Quelación | 27 |
| 2.1.7.2. Carácter Ácido – Base | 27 |
| 2.1.7.3. Fotoquímica | 28 |
| 2.1.8. Estrategias de Síntesis de Fluoroquinolonas | 30 |
| 2.2. Bencimidazoles | 33 |
| 2.2.1. Estructura Química | 34 |
| 2.2.3. Estrategias de Síntesis de Bencimidazoles | 35 |
| 2.2.3.1. Síntesis a partir de la <i>orto</i> -fenilendiamina | 36 |
| 2.2.3.2. Reducción <i>in situ</i> y Ciclación Intramolecular de <i>orto</i> -nitroanilinas | 44 |
| 2.2.3.3. Ciclación Intramolecular de Arilamidinas (<i>N</i> -arilación) | 45 |
| 2.2.4. Aplicaciones Biológicas | 45 |
| 2.3. Híbridos Fluoroquinolona – Bencimidazol | 46 |
| 2.4. Acoplamiento Molecular | 52 |
| 2.4.1. Generalidades | 52 |
| 2.4.2. Paquete Computacional Autodock 4.2 | 55 |

| | |
|---|----|
| 2.4.3. Fluoroquinolonas y el Docking | 56 |
| 3. Justificación | 58 |
| 4. Objetivos | 59 |
| 4.1. Objetivo General | 59 |
| 4.2. Objetivos Particulares | 60 |
| 5. Material y Métodos | 60 |
| 5.1. Técnicas de Análisis y Caracterización | 60 |
| 5.1.1. Determinación de Punto de Fusión | 60 |
| 5.1.2. Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) | 61 |
| 5.1.3. Espectroscopía de Ultravioleta-Visible (UV-Vis) | 61 |
| 5.1.4. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) | 61 |
| 5.2. Metodología de Síntesis | 63 |
| 5.2.1. Síntesis de 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47 y 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 158 | 63 |
| 5.2.2. Síntesis de 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48 y 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin -3-carboxilato de etilo 140 | 64 |
| 5.2.3. Síntesis de: 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin -3-carboxilato de etilo 159 , 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro -4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49 , 7-cloro-6-fluoro- | |

| | |
|---|----|
| 1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 160 y 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161 | 65 |
| 5.2.4. Síntesis de 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 162 , 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50 , 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 163 y 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 164 | 66 |
| 5.2.5. Síntesis del 6-fluoro-1-metil-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 165 y 1-etil-6-fluoro-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 166 | 67 |
| 5.2.6. Síntesis de 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 167 y 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 168 | 68 |
| 5.2.7. Síntesis de 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 169 y 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 170 | 68 |
| 5.3. Metodología general para el Estudio de Acoplamiento | |

| | |
|---|----|
| Molecular (Docking) | 69 |
| 5.3.1. Construcción y Optimización de los Ligandos | 70 |
| 5.3.2. Selección del Complejo Ligando-Proteína | 70 |
| 5.3.3. Preparación de la proteína | 71 |
| 5.3.4. Cálculo de Acoplamiento Molecular | 71 |
| 6. Resultados | 73 |
| 6.1. Caracterización de Compuestos | 73 |
| 6.1.1. 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47 | 73 |
| 6.1.2. 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 158 | 74 |
| 6.1.3. 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48 | 75 |
| 6.1.4. 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 140 | 77 |
| 6.1.5. 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 159 | 78 |
| 6.1.6. 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49 | 79 |
| 6.1.7. 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 160 | 80 |
| 6.1.8. 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161 | 82 |

| | |
|--|----|
| 6.1.9. 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 162 | 83 |
| 6.1.10. 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50 | 84 |
| 6.1.11. 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3- carboxilato de difluoroborilo 163 | 85 |
| 6.1.12. 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 164 | 86 |
| 6.1.13. 6-fluoro-1-metil-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro -4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 165 | 87 |
| 6.1.14. 1-etil-6-fluoro-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro -4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 166 | 88 |
| 6.1.15. 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3- carboxilato de difluoroborilo 167 | 89 |
| 6.1.16. 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 168 | 90 |
| 6.1.17. 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin -3-carboxilato de difluoroborilo 169 | 92 |
| 6.1.18. 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin -3-carboxilato de difluoroborilo 170 | 93 |
| 7. Discusiones | 94 |
| 7.1. Estudio de Acoplamiento Molecular de los Híbridos | |

| | |
|---|-----|
| Fluoroquinolona-Bencimidazol | 94 |
| 7.1.1. Actividad Antituberculosa | 96 |
| 7.1.2. Actividad Anticancerosa | 101 |
| 7.2. Síntesis del Anillo de Fluoroquinolona a través del Mecanismo de Gould-Jacobs | 105 |
| 7.2.1. Reacción de Adición Conjugada 1,4 de Michael | 105 |
| 7.2.2. Reacción de Ciclación Térmica Intramolecular y <i>N</i> -alquilación | 107 |
| 7.3. Formación de Precursores 7-amino-8-nitro fluoroquinolona | 109 |
| 7.3.1. Sustitución Nucleofílica Aromática en C-7 (Bencilación) | 110 |
| 7.3.2. Síntesis de Derivados 7-amino Fluoroquinolona (Desbencilación) | 113 |
| 7.3.3. Nitración | 116 |
| 8. Conclusiones | 117 |
| 9. Perspectivas | 117 |
| 10. Referencias Bibliográficas. | 119 |
| 11. Apéndice A Espectros de Infrarrojo | 135 |
| 12. Apéndice B Espectros de UV-Vis | 154 |
| 13. Apéndice C Espectros de RMN de ^1H | 164 |
| 14. Apéndice D Espectros de RMN de ^{13}C | 183 |
| 15. Apéndice E Espectros de RMN de ^{19}F | 199 |
| 16. Apéndice F Diagramas de Interacción de los Ligantes Híbridos FQ-BZ | |

(**171a-j**) con la Topoisomerasa II de *M. tuberculosis* (PDB: 5BTL) 213

17. Apéndice G Diagramas de Interacción de los Ligantes Híbridos

Fluoroquinolona-Bencimidazol (**171a-j**) con la Topoisomerasa IIa

Humana (PDB: 4FM9) 220

ÍNDICE DE FIGURAS

| CONTENIDO | PÁGINA |
|--|--------|
| 1. Estructura química de familias de antimicrobianos | 2 |
| 2. Sitios de acción de los antimicrobianos | 3 |
| 3. Precursores 7-amino-8-nitro-fluoroquinolona-boro | 3 |
| 4. Estructura química de la cloroquina 8 , quinina 9 y las primeras quinolonas 10a-b | 4 |
| 5. Quinolonas de primera generación | 5 |
| 6. Fluoroquinolonas de segunda generación | 6 |
| 7. Fluoroquinolonas de tercera generación | 7 |
| 8. Fluoroquinolonas de cuarta generación | 8 |
| 9. Estructura base de las fluoroquinolonas | 9 |
| 10. Clasificación estructural de las fluoroquinolonas | 11 |
| 11. Derivados tricíclicos de fluoroquinolona | 13 |
| 12. Mecanismo de acción de la topoisomerasa II y sitio de interacción con las FQ | 16 |

| | |
|--|----|
| 13. Puente metal-agua e interacción FQ-enzima | 18 |
| 14. Relación estructura-actividad de las fluoroquinolonas | 22 |
| 15. Estructura química de la fleroxacina 35 y la sparfloxacina 36 | 26 |
| 16. Representación general del quelato metálico de fluoroquinolona | 27 |
| 17. Carácter ácido-base de las FQ | 28 |
| 18. Fotoquímica de la ofloxacina | 29 |
| 19. Fotoquímica de la sparfloxacina | 29 |
| 20. Derivados imidazólicos y bencimidazólicos | 34 |
| 21. Tautomerización del 5-metilbencimidazol | 35 |
| 22. Bencimidazoles con actividad biológica | 46 |
| 23. Distintos tipos de híbridos fluoroquinolona-heterociclo | 47 |
| 24. Híbrido fluoroquinolona-quinazolina | 56 |
| 25. a. representación 2D de la interacción del híbrido fluoroquinolona-quinazolina con la enzima; b. Superposición de la ciprofloxacina (rojo) con el híbrido (gris) | 57 |
| 26. Estructura de los híbridos fluoroquinolona-bencimidazol propuestos 171a-j y el etopósido 172 | 70 |
| 27. Predicción de las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas al utilizar SwissADME | 95 |
| 28. Movimiento de las fluoroquinolonas a través de la bicapa lipídica | 96 |
| 29. Representación 2D de la interacción de 171a-j con la Topoisomerasa II proveniente de <i>M. tuberculosis</i> (PDB: 5BTL), utilizando como control | |

| | |
|--|-----|
| la 23 | 98 |
| 30. Representación 3D de la interacción de la a. 8-metil-moxifloxacina y b. moxifloxacina con la Topoisomerasa II de <i>M. tuberculosis</i> | 99 |
| 31. Híbrido 1,3,4-tiadiazol-fluoroquinolona con actividad antituberculosa | 100 |
| 32. Representación 3D de la interacción de 173 con la topoisomerasa II de <i>M. tuberculosis</i> (PDB: 5BTC) reportada por Demiric y colaboradores | 101 |
| 33. Representación 2D de la interacción de 171a-j con la topoisomerasa IIa humana (PDB: 4FM9), utilizando como control el etopósido 172 y la moxifloxacina 23 | 103 |
| 34. Representación 2D de la interacción de la moxifloxacina 23 con la topoisomerasa IIa humana (PDB: 4FM9) | 104 |
| 35. Representación 2D de la interacción del etopósido 172 con la topoisomerasa IIa humana (PDB: 4FM9) | 105 |
| 36. Mecanismo de desbencilación | 114 |
| 37. Representación 2D de la interacción de la moxifloxacina 23 con la enzima PDB:5BTL | 214 |
| 38. Representación 2D de la interacción del ligando 171-a con la enzima PDB:5BTL | 214 |
| 39. Representación 2D de la interacción del ligando 171-b con la enzima PDB:5BTL | 215 |
| 40. Representación 2D de la interacción del ligando 171-c con la enzima | |

| | |
|--|-----|
| PDB:5BTL | 215 |
| 41. Representación 2D de la interacción del ligando 171-d con la enzima | |
| PDB:5BTL | 216 |
| 42. Representación 2D de la interacción del ligando 171-e con la enzima | |
| PDB:5BTL | 216 |
| 43. Representación 2D de la interacción del ligando 171-f con la enzima | |
| PDB:5BTL | 217 |
| 44. Representación 2D de la interacción del ligando 171-g con la enzima | |
| PDB:5BTL | 217 |
| 45. Representación 2D de la interacción del ligando 171-h con la enzima | |
| PDB:5BTL | 218 |
| 46. Representación 2D de la interacción del ligando 171-i con la enzima | |
| PDB:5BTL | 218 |
| 47. Representación 2D de la interacción del ligando 171-j con la enzima | |
| PDB:5BTL | 219 |
| 48. Representación 2D de la interacción del etopósido 172 con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 221 |
| 49. Representación 2D de la interacción de la moxifloxacina 23 con | |
| la enzima PDB:4FM9 | 221 |
| 50. Representación 2D de la interacción del ligando 171-a con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 222 |
| 51. Representación 2D de la interacción del ligando 171-b con la enzima | |

| | |
|--|-----|
| PDB:4FM9 | 222 |
| 52. Representación 2D de la interacción del ligando 171-c con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 223 |
| 53. Representación 2D de la interacción del ligando 171-d con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 223 |
| 54. Representación 2D de la interacción del ligando 171-e con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 224 |
| 55. Representación 2D de la interacción del ligando 171-f con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 224 |
| 56. Representación 2D de la interacción del ligando 171-g con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 225 |
| 57. Representación 2D de la interacción del ligando 171-h con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 225 |
| 58. Representación 2D de la interacción del ligando 171-i con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 226 |
| 59. Representación 2D de la interacción del ligando 171-j con la enzima | |
| PDB:4FM9 | 226 |

ÍNDICE DE ESQUEMAS

| CONTENIDO | PÁGINA |
|--|--------|
| 1. Representación de la interacción de las fluoroquinolonas con la enzima y el ADN | 17 |
| 2. Síntesis reportada por Leyva y cols | 30 |
| 3. Síntesis de Grohe-Zeiler | 31 |
| 4. Síntesis de Chu y cols | 32 |
| 5. Síntesis de Miyamoto y cols | 32 |
| 6. Síntesis de Gerster | 33 |
| 7. Primera síntesis de bencimidazoles | 36 |
| 8. Síntesis de bencimidazoles: a. a partir de ácidos carboxílicos; b. a partir de cloruros de ácido | 37 |
| 9. Síntesis de bencimidazoles a partir de ésteres | 38 |
| 10. Síntesis de bencimidazoles a partir de amidas | 38 |
| 11. Síntesis de Weidenhagen de bencimidazoles | 39 |
| 12. Síntesis de Yang de bencimidazoles | 40 |
| 13. Síntesis de Pardeshi para bencimidazoles | 40 |
| 14. Síntesis de bencimidazoles a partir de cetonas | 40 |
| 15. Síntesis de Ladenburg-Rugheimer para bencimidazoles | 41 |
| 16. Síntesis de bencimidazoles a partir de nitrilos | 41 |
| 17. Síntesis de bencimidazolonas y bencimidazotionas | 42 |
| 18. Síntesis de bencimidazoles a partir de iminoéteres | 43 |

| | |
|--|-----|
| 19. a. Síntesis de Brahmayya b. Gurrala | 43 |
| 20. Síntesis de Nguyen a partir de <i>orto</i> -nitro-ter-anilinas | 44 |
| 21. Síntesis de bencimidazoles a partir de aril amidinas | 45 |
| 22. Síntesis de Fujita y cols. para híbridos de FQ-BZ | 48 |
| 23.- Síntesis de Reddy de híbridos FQ-BZ | 49 |
| 24. Síntesis de Zahra y cols. de híbridos FQ-BZ..... | 50 |
| 25.- Síntesis de híbridos tiadiazolo-fluoroquinolona propuesta por Al-Qawashme y cols | 51 |
| 26. Síntesis de híbridos FQ-BZ a partir de 169 ó 170 | 118 |

ÍNDICE DE TABLAS

| CONTENIDO | PÁGINA |
|--|--------|
| 1. Reactivos utilizados en la síntesis | 62 |
| 2. Disolventes empleados en la síntesis y purificación | 63 |
| 3. Softwares utilizados para el estudio de acoplamiento molecular | 63 |
| 4. Condiciones de reacción para la N-alquilación | 65 |
| 5. Estructura química de los híbridos 171a-j propuestos | 95 |
| 6. Energías de interacción entre los híbridos FQ-BZ 171a-j y la Topoisomerasa II de <i>M. tuberculosis</i> | 97 |
| 7. Energías de interacción entre los híbridos FQ-BZ 171a-j y la enzima Topoisomerasa IIa humana | 102 |

| | |
|---|-----|
| 8. Condiciones de bencilación a partir de los ésteres 163 y 164 sin el empleo de una base | 111 |
| 9, 10. Condiciones para la bencilación a partir de los complejos quinolona-boro ... | 112 |
| 11. Condiciones y rendimientos de la reacción de desbencilación de 165 y 166 | 115 |

ÍNDICE DE ESPECTROS

| CONTENIDO | PÁGINA |
|---|--------|
| Infrarrojo | |
| 1. IR del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47 | 136 |
| 2. IR del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 158 | 137 |
| 3. IR del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48 | 138 |
| 4. IR del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 140 | 139 |
| 5. IR del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 159 | 140 |
| 6. IR del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49 | 141 |
| 7. IR del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 160 | 142 |
| 8. IR del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161 | 143 |
| 9. IR del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 162 | 144 |
| 10. IR del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50 | 145 |
| 11. IR del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 163 | 146 |
| 12. IR del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de | |

| | |
|---|-----|
| difluoroborilo 164 | 147 |
| 13. IR del 6-fluoro-1-metil-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 165 | 148 |
| 14. IR del 1-etil-6-fluoro-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 166 | 149 |
| 15. IR del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 167 | 150 |
| 16. IR del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 168 | 151 |
| 17. IR del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 169 | 152 |
| 18. IR del 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 170 | 153 |
| Ultravioleta-Visible | |
| 19. UV-Vis del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47 | 155 |
| 20. UV-Vis 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 158 | 155 |
| 21. UV-Vis del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48 ... | 156 |
| 22. UV-Vis del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 140 | 156 |
| 23. UV-Vis del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 159 | 157 |
| 24. UV-Vis del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49 | 157 |
| 25. UV-Vis del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 160 | 158 |

| | |
|---|-----|
| 26. UV-Vis del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161 | 158 |
| 27. UV-Vis del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 162 | 159 |
| 28. UV-Vis del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50 | 159 |
| 29. UV-Vis del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 163 | 160 |
| 30. UV-Vis del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 164 | 160 |
| 31. UV-Vis del 6-fluoro-1-metil-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin- 3-carboxilato de difluoroborilo 165 | 161 |
| 32. UV-Vis del 1-etil-6-fluoro-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin- 3-carboxilato de difluoroborilo 166 | 161 |
| 33. UV-Vis del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 167 | 162 |
| 34. UV-Vis del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 168 | 162 |
| 35. UV-Vis del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 169 | 163 |
| 36. UV-Vis del 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 170 | 163 |

Resonancia Magnética Nuclear

| | |
|---|-----|
| 37. RMN ¹ H del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47 | 165 |
| 38. RMN ¹ H del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 158 | 166 |
| 39. RMN ¹ H del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48 | 167 |
| 40. RMN ¹ H del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 140 | 168 |
| 41. RMN ¹ H del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 159 | 169 |
| 42. RMN ¹ H del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49 | 170 |
| 43. RMN ¹ H del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 160 | 171 |
| 44. RMN ¹ H del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161 | 172 |
| 45. RMN ¹ H del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 162 | 173 |
| 46. RMN ¹ H del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50 | 174 |
| 47. RMN ¹ H del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 163 | 175 |
| 48. RMN ¹ H del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 164 | 176 |
| 49. RMN ¹ H del 6-fluoro-1-metil-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin- 3-carboxilato de difluoroborilo 165 | 177 |

| | |
|--|-----|
| 50. RMN ¹ H del 1-etil-6-fluoro-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 166 | 178 |
| 51. RMN ¹ H del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 167 | 179 |
| 52. RMN ¹ H del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 168 | 180 |
| 53. RMN ¹ H del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 169 | 181 |
| 54. RMN ¹ H del de 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 170 | 182 |
| 55. RMN ¹³ C del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47 | 184 |
| 56.- RMN ¹³ C del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 158 | 185 |
| 57. RMN ¹³ C del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48 | 186 |
| 58. RMN ¹³ C del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 140 | 187 |
| 59. RMN ¹³ C del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 159 | 188 |
| 60. RMN ¹³ C del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49 | 189 |
| 61. RMN ¹³ C del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato | |

| | |
|--|-----|
| de etilo 160 | 190 |
| 62. RMN ¹³ C del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161 | 191 |
| 63. RMN ¹³ C del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50 | 192 |
| 64. RMN ¹³ C del 6-fluoro-1-metil-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro- 4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 165 | 193 |
| 65. RMN ¹³ C del 1-etil-6-fluoro-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro- 4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 166 | 194 |
| 66. RMN ¹³ C del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 167 | 195 |
| 67. RMN ¹³ C del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 168 | 196 |
| 68. RMN ¹³ C del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin- 3-carboxilato de difluoroborilo 169 | 197 |
| 69. RMN ¹³ C del 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin- 3-carboxilato de difluoroborilo 170 | 198 |
| 70. RMN ¹⁹ F del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47 | 200 |
| 71. RMN ¹⁹ F del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 158 | 201 |
| 72. RMN ¹⁹ F del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 159 | 202 |

| | |
|--|-----|
| 73. RMN ¹⁹ F del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49 | 203 |
| 74. RMN ¹⁹ F del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 160 | 204 |
| 75. RMN ¹⁹ F del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161 | 205 |
| 76. RMN ¹⁹ F del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50 | 206 |
| 77. RMN ¹⁹ F del 6-fluoro-1-metil-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro- 4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 165 | 207 |
| 78. RMN ¹⁹ F del 1-etil-6-fluoro-7-(<i>para</i> -metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4- oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 166 | 208 |
| 79. RMN ¹⁹ F del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 167 | 209 |
| 80. RMN ¹⁹ F del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 168 | 210 |
| 81. RMN ¹⁹ F del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin- 3-carboxilato de difluoroborilo 169 | 211 |
| 82. RMN ¹⁹ F del de 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin- 3-carboxilato de difluoroborilo 170 | 212 |

1. INTRODUCCIÓN

Durante la última mitad del siglo XIX se demostró que determinados organismos microscópicos son el agente causal de una de diversidad de enfermedades infectocontagiosas que hasta ese entonces presentaban una alta tasa de mortalidad por no contar con el tratamiento o medidas sanitarias preventivas¹. Ejemplos destacados son la tuberculosis, sífilis, neumonía, cólera y difteria. Este hecho llevó a especular que al eliminar dicho agente se lograría la cura o remisión de la enfermedad; surgiendo así un nuevo campo de estudio, el de la quimioterapia antimicrobiana^{2,3}.

Paul Ehrlich en 1910, sintetizó la arsfenamina **1**, compuesto que fue conocido comercialmente como salvarsán, utilizándose para combatir la sífilis y fue considerado como el primer antimicrobiano en la historia debido a que eliminaba los microorganismos invasores sin presentar toxicidad aguda considerable hacia las células hospederas acuñando así el concepto de “la bala mágica”^{2,4}.

Con el avance de los años emergieron nuevas moléculas tanto de origen natural como sintético, con potencial efecto antimicrobiano, teniendo marcadas diferencias en estructura química (**Figura 1**) y mecanismo de acción (**Figura 2**). Las sulfonamidas **2** surgieron en los años 30's, revolucionando la quimioterapia antimicrobiana, ya que lograron ser comercializadas transnacionalmente; después, su uso irracional y excesivo llevó a la pérdida paulatina de la efectividad disminuyendo su uso como fármaco^{4,5}.

La era dorada de los antimicrobianos ocurrió después de la segunda guerra mundial, donde se produjeron grandes aportaciones como el descubrimiento de la estreptomicina **3** (aminoglucósido), la penicilina **4**, las tetraciclinas **5**, etc. En los 60's surgieron las quinolonas y más tarde en los 80's las fluoroquinolonas **6**⁴⁻⁶. Estas últimas son uno de los más grandes avances en la quimioterapia antimicrobiana ya que a diferencia de otros fármacos, mostraron propiedades farmacocinéticas favorables, destacándose por un amplio espectro de actividad, elevada potencia y baja toxicidad⁷.

Desde inicios de los años 2000, el desarrollo de nuevas familias de agentes quimioterapéuticos para uso clínico ha disminuido notablemente, donde las investigaciones están enfocadas principalmente en la modificación estructural de los fármacos existentes⁶.

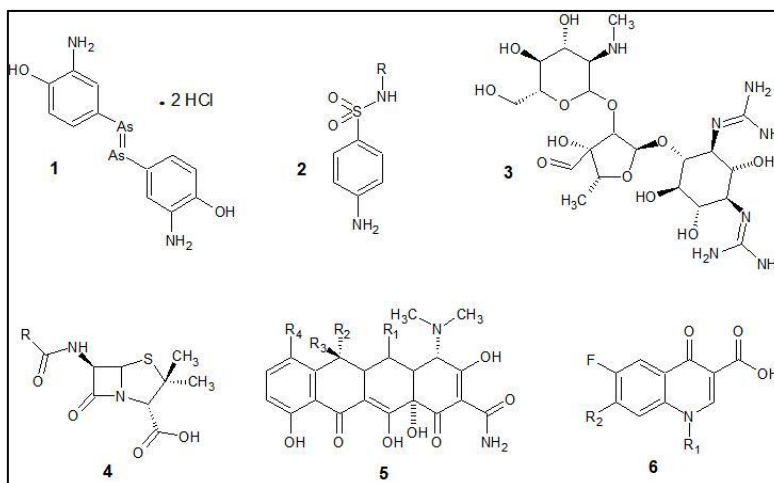


Figura 1. Estructura química de familias de antimicrobianos⁸

Se reconoce que con el empleo de los diferentes antimicrobianos se han tenido resultados favorables en el tratamiento y prevención de una gran diversidad de enfermedades infecciosas^{4,8}. Sin embargo, el uso indiscriminado de fármacos ha generado resistencia de los microorganismos patógenos frente a estos compuestos. Por lo que las nuevas investigaciones científicas se han enfocado a la búsqueda y el desarrollo de nuevos agentes quimioterapéuticos para dar soporte al tratamiento de infecciones microbianas, en especial aquellas ocasionadas por cepas resistentes. Para ello, determinar en qué sitios los agentes quimioterapéuticos pueden actuar, permitiéndolos clasificar como inhibidores de la síntesis de pared celular, inhibidores de la membrana celular, inhibidores de la ADN topoisomerasa, entre otros (**Figura 2**)^{4,5}.

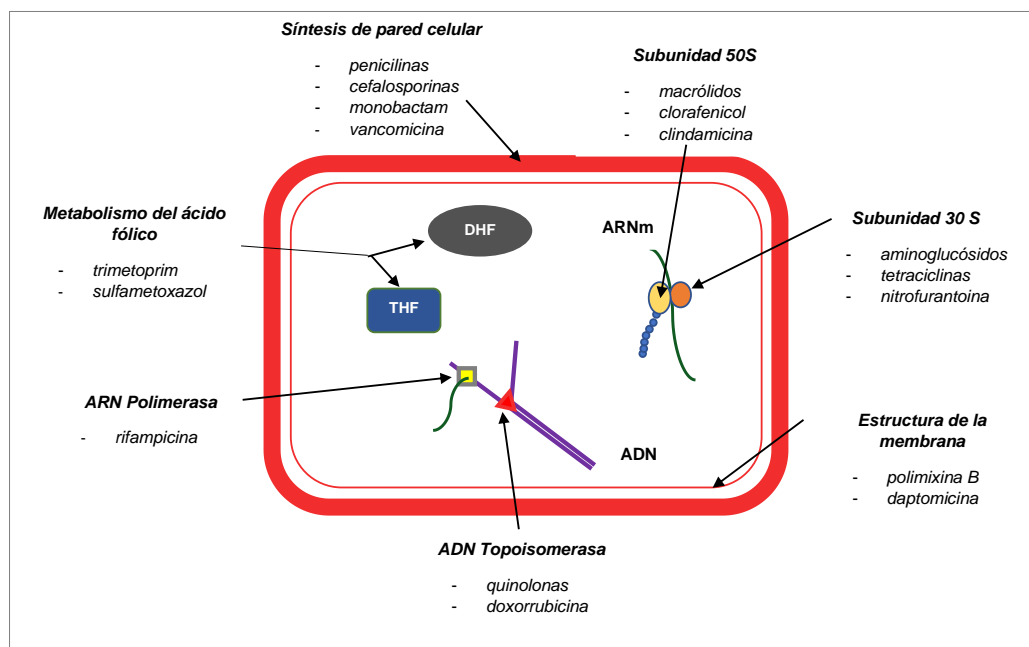


Figura 2. Sitios de acción de los antimicrobianos ^{4,5}

El presente trabajo de investigación enfoca su estudio en la síntesis y caracterización espectroscópica de precursores 7-amino-8-nitro-fluoroquinolona **7a,b** (Figura 3), junto con el estudio de acoplamiento molecular de nuevas moléculas híbridas fluoroquinolona-bencimidazol (FQ-BZ) dirigidas contra la topoisomerasa II proveniente de *M. tuberculosis* y la topoisomerasa II α humana; debido a los antecedentes como antimicrobianos (antibacteriano, antifúngico, antiparasitario) y anticancerosos mostrados por ambas familias^{7,9}. El estudio permite identificar aquellos derivados con un mayor potencial de inhibir la acción enzimática con el fin de concentrar los esfuerzos experimentales en su síntesis química.

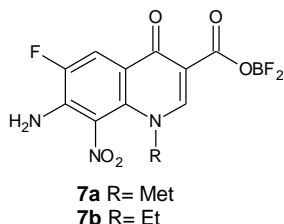


Figura 3. Precursores 7-amino-8-nitro-fluoroquinolona-boro

2. ANTECEDENTES

2.1 FLUOROQUINOLONAS

2.1.1. Descubrimiento y Generaciones

Uno de los acontecimientos más importantes que llevaron al descubrimiento y posterior síntesis del primer compuesto quinolónico se remonta al año de 1934 cuando la corporación Bayer en Alemania reportó la síntesis de la cloroquina **8** como una alternativa menos costosa que la quinina **9** para el tratamiento de la malaria (**Figura 4**). Durante el proceso de síntesis se encontró como subproducto un derivado de tipo ácido 6-cloro-1-etil-4-oxoquinolin-3-carboxílico **10a**, el cual fue biológicamente activo¹⁰. Posterior a este descubrimiento, en 1949, Price reporta la síntesis del ácido-1-metil-6-nitro-4-oxoquinolin-3-carboxílico **10b**¹¹. Después, intensas investigaciones fueron realizadas; ocurriendo en 1962, la síntesis del ácido nalidíxico **11** por Lesher y colaboradores¹², el cual es considerado como el primer fármaco de la familia de las quinolonas empleado como una terapia antibacteriana. Este nuevo compuesto presentó una baja penetración tisular y una alta unión a proteínas, acumulándose mayormente en la orina, ejerciendo actividad contra bacterias Gram negativas causantes de infecciones en el tracto genitourinario; inclusive presentó actividad contra pseudomonas y algunas especies de microorganismos Gram positivos. Sin embargo, a dosis elevadas y su administración por tiempos prolongados, se observaron efectos adversos hepáticos y renales principalmente. Por lo antes mencionado y la generación de resistencia, se limitó cada vez más el uso de este compuesto¹¹.

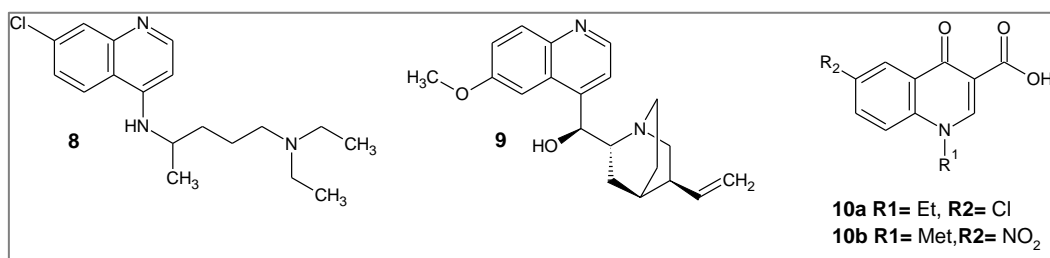


Figura 4. Estructura química de la cloroquina **8**, quinina **9** y las primeras quinolonas **10a,b**¹⁰

Modificaciones posteriores a la estructura del ácido nalidíxico, como la formación del dioxometano entre C-6 y C-7 o la adición de sustituyentes piridínicos o piperidínicos resultó en la obtención de la primera generación de quinolonas tales como el ácido oxolínico **12**, ácido pipemídico **13** y rosoxacina **14** principalmente (**Figura 5**). Estos compuestos no presentaron avances farmacológicos significativos, mantenían una baja distribución tisular y se emplearon como antimicrobianos contra infecciones de tracto genitourinario; sus efectos adversos provocaron que algunos de estos fármacos fueran destinados para uso veterinario¹³.

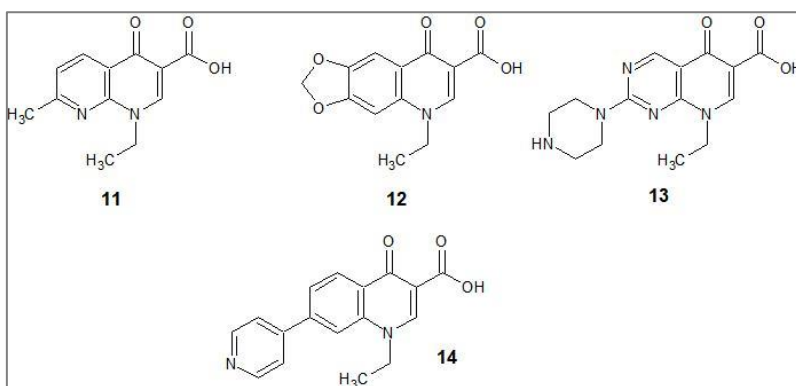


Figura 5. Quinolonas de primera generación¹⁴

Tiempo después, con la introducción del átomo de flúor en la posición C-6 y un sustituyente tipo piperazina en C-7, mejoró drásticamente la actividad debida al aumento significativo en la penetración celular y disminución de efectos adversos¹⁵. Comúnmente conocidas como fluoroquinolonas, este grupo corresponde a la segunda generación (**Figura 6**) y ha sido el mayor grupo de antimicrobianos sintéticos usados en la práctica clínica, expandiendo su uso clínico no solo contra infecciones de tracto genitourinario o gastrointestinal, sino abarcando además, el tracto respiratorio, piel y tejidos blandos (tendones y articulaciones)¹⁶.

Las fluoroquinolonas mostraron un espectro de actividad más amplio, incluyendo especies de bacterias patógenas como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomona aeruginosa*; bacterias intracelulares como *Chlamydia* y *Mycoplasma*. Estas nuevas moléculas presentaron la desventaja de no ejercer efecto frente a ciertos grampositivos como *Staphylococcus aureus* resistente a metilciclina y *Streptococcus pneumoniae*¹⁷. Los principales efectos adversos que presentaron fueron fototoxicidad, hepatotoxicidad (por interacción del fármaco con el citocromo P-450), vómito, diarrea, náuseas, dolor de cabeza y mareos. Por otro lado, esta generación presentó la ventaja de poder ser administrada por vía intravenosa, siendo un gran avance en el tratamiento de infecciones prostáticas graves, por transmisión sexual, pielonefritis, neumonía nosocomial y septicemias ocurridas por complicaciones en los casos anteriores^{14,16}. Algunos ejemplos importantes de esta generación de fluoroquinolonas son: la ciprofloxacina **15**, norfloxacina **16**, enoxacina **17**, lomefloxacina **18** y ofloxacina **19**.

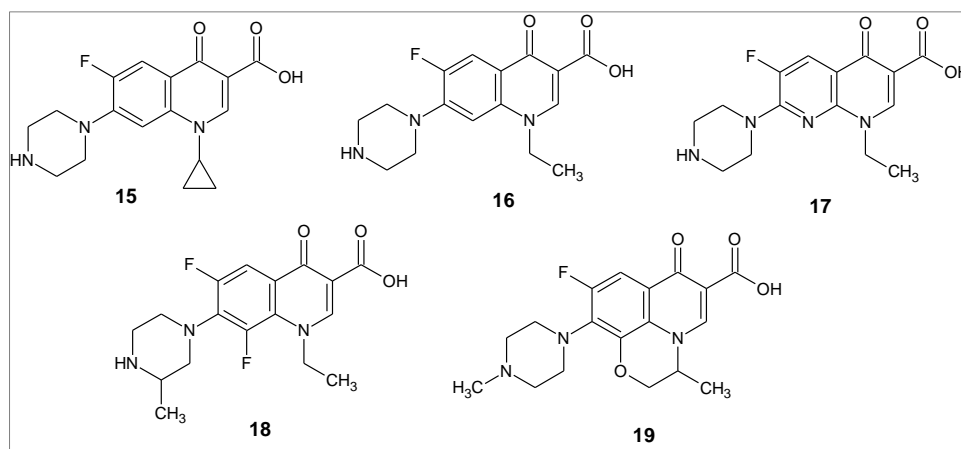


Figura 6. Fluoroquinolonas de segunda generación¹⁸

Los primeros compuestos correspondientes a la tercera generación de fluoroquinolonas fueron sintetizados a partir de los años noventa bajo la necesidad de desarrollar compuestos más seguros y potentes, siendo los más reconocidos por su uso en la terapia antimicrobiana: la gatifloxacina **20**, levofloxacina **21**, tosufloxacina **22**,

moxifloxacin **23** y balofloxacin **24** (**Figura 7**)^{17,19}. Los compuestos de esta nueva generación se caracterizan por presentar una estructura más grande que involucra la adición de sustituyentes más complejos y formación de puentes entre diversas posiciones de la misma molécula para formar policíclos y poliheterocíclos. Las mejoras fue una mayor potencia, mayor distribución tisular y espectro de actividad extendido, siendo eficaces contra microorganismos de las generaciones anteriores a menores dosis incluyendo cepas de *S. pneumoniae* resistente a penicilina y ciprofloxacina. Su amplia penetración tisular las hizo eficaces contra microorganismos intracelulares atípicos como *Legionella pneumophilla*, *H. influenzae*, *Chlamydia* y *Mycoplasma*^{17,18}. Esta generación presentó una favorable farmacocinética que permitió administrar una dosis al día y eliminarse en su mayoría por vía biliar (heces). A pesar de no interactuar con el citocromo P-450, algunos compuestos presentaron efectos adversos hepáticos. Los principales efectos adversos presentados por integrantes de esta generación son reacciones de hipersensibilidad, efectos en el SNC, pancreatitis, hipoglicemia y fototoxicidad; esta última disminuida en cierto grado en aquellas fluoroquinolonas con un sustituyente metóxido en la posición C-8^{14,18}.

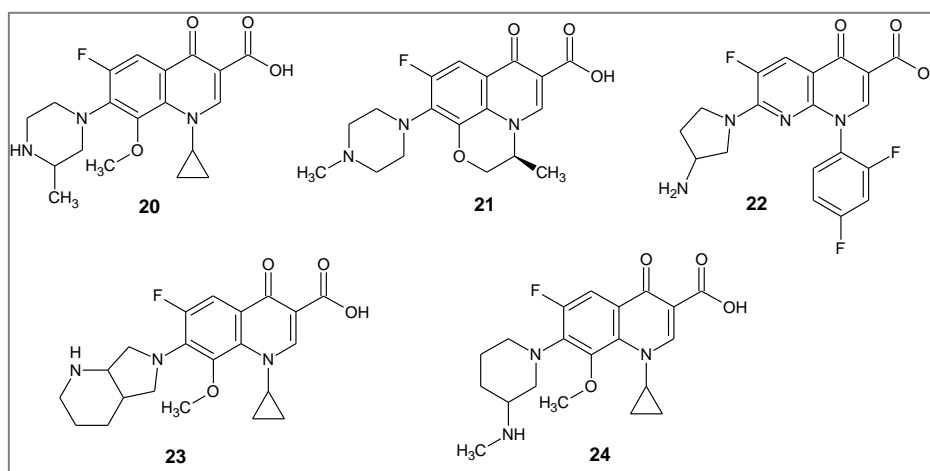


Figura 7. Fluoroquinolonas de tercera generación¹⁷

Para las fluoroquinolonas sintetizadas a finales de los noventa y principio del año 2000, se les ha considerado como una cuarta generación. Similar a los compuestos de la tercera generación poseen estructuras voluminosas a base de poliheterociclos complejos y moléculas fusionadas a otra familia de antibióticos¹⁷.

El espectro de actividad de la mayoría de estos compuestos incluye a microorganismos de las generaciones anteriores añadiendo a su lista microorganismos anaerobios como *Clostridium*, *Bacteroides*, *Prevotella*, etc.²¹ Además, se ha demostrado que poseen actividad *in vitro* contra células tumorales y fúngicas^{22,23}, se han empleado como tratamiento contra parásitos como el causante de la malaria y como tratamiento de infección ocular²⁵. Debido a la toxicidad que han presentado integrantes de esta generación, un número menor de estas moléculas se encuentra disponible en el mercado y en fases de experimentación en humanos. Algunos ejemplos de moléculas de esta generación son: gemifloxacina **25**, clinafloxacina **26**, sitafloxacina **27**, trovafloxacina **28** y prulifloxacina **29** (Figura 8)^{26,27}.

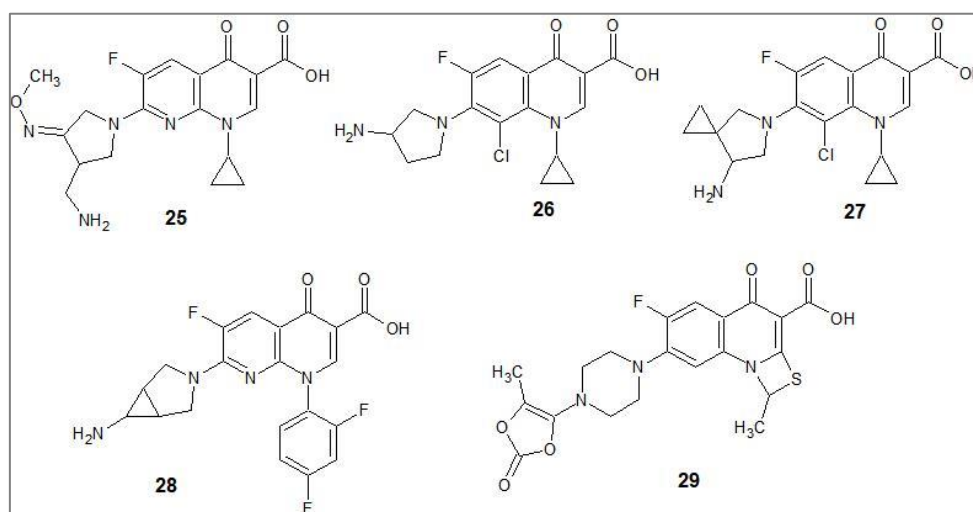


Figura 8. Fluoroquinolonas de cuarta generación¹⁹

2.1.2. Estructura Base

La estructura química básica que debe contener el farmacóforo para presentar actividad antimicrobiana consiste en un anillo de piridona, insaturado entre C-2 y C-3, el grupo cetona en posición C-4 y un carboxilo en C-3. La estructura del auxofarmacóforo o auxóforo consiste principalmente en la fusión de la piridona entre C-5 y C-6 al anillo aromático o heteroaromático que puede estar sustituido. Como resultado se obtiene un derivado tipo ácido 4-oxo-3-carboxílico quinolina, naftiridina, piridopirimidina o de cinolina, dependiendo del número y posición de los heteroátomos de nitrógeno que pueda contener la molécula (**Figura 9**)¹⁹.

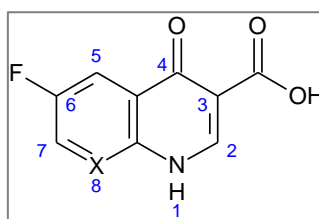


Figura 9. Estructura base de las fluoroquinolonas²³

Asimismo, la introducción de nuevos sustituyentes, como el flúor en C-6, dio lugar a nuevos compuestos denominados 6-fluoroquinolonas, que presentan mejor farmacocinética y mayor espectro de actividad²⁸.

2.1.3. Clasificación de los Derivados de Quinolona

La clasificación de las fluoroquinolonas en base a las generaciones se ha sugerido por mucho tiempo; sin embargo, al tratar de clasificar los nuevos derivados, la confusión incrementa, por ejemplo, el ácido nalidíxico es el representante de la primera generación, aunque no contenga el átomo de flúor; por otro lado, la moxifloxacina se ubica en la cuarta generación a pesar de que el lanzamiento de su patente la considera como un fármaco de tercera generación, lo cual genera mayor confusión^{29,30}.

Además, los nuevos derivados son tan diferentes de los antiguos en términos de actividad, estructura y espectro que dicha clasificación se torna tan simple que pone en duda la asignación otorgada. Por lo que se ha propuesto, una clasificación en base a la estructura química y propiedades biológicas³¹⁻³³, la cual se describe a continuación.

2.1.3.1. Clasificación Estructural

Se han propuesto cuatro grupos que permiten clasificar a las quinolonas en base al número de anillos presentes en su estructura química: I) monocíclicas, II) bicíclicas, III) tricíclicas y IV) tetracíclicas (**Figura 10**).³¹⁻³³

2.1.3.1.1 Grupo I. Derivados Monocíclicos

La estructura mínima necesaria que deben poseer los derivados de quinolona para ejercer el efecto antimicrobiano es el ácido 4-piridon-3-carboxílico; la incorporación del fenol sustituido en C-6 y un sustituyente alquílico de cadena corta en N-1, trajo como resultado el compuesto Ro 135478 **30**, mostrando actividad contra microorganismos Gram negativos y considerado como el único integrante de este grupo³¹⁻³³.

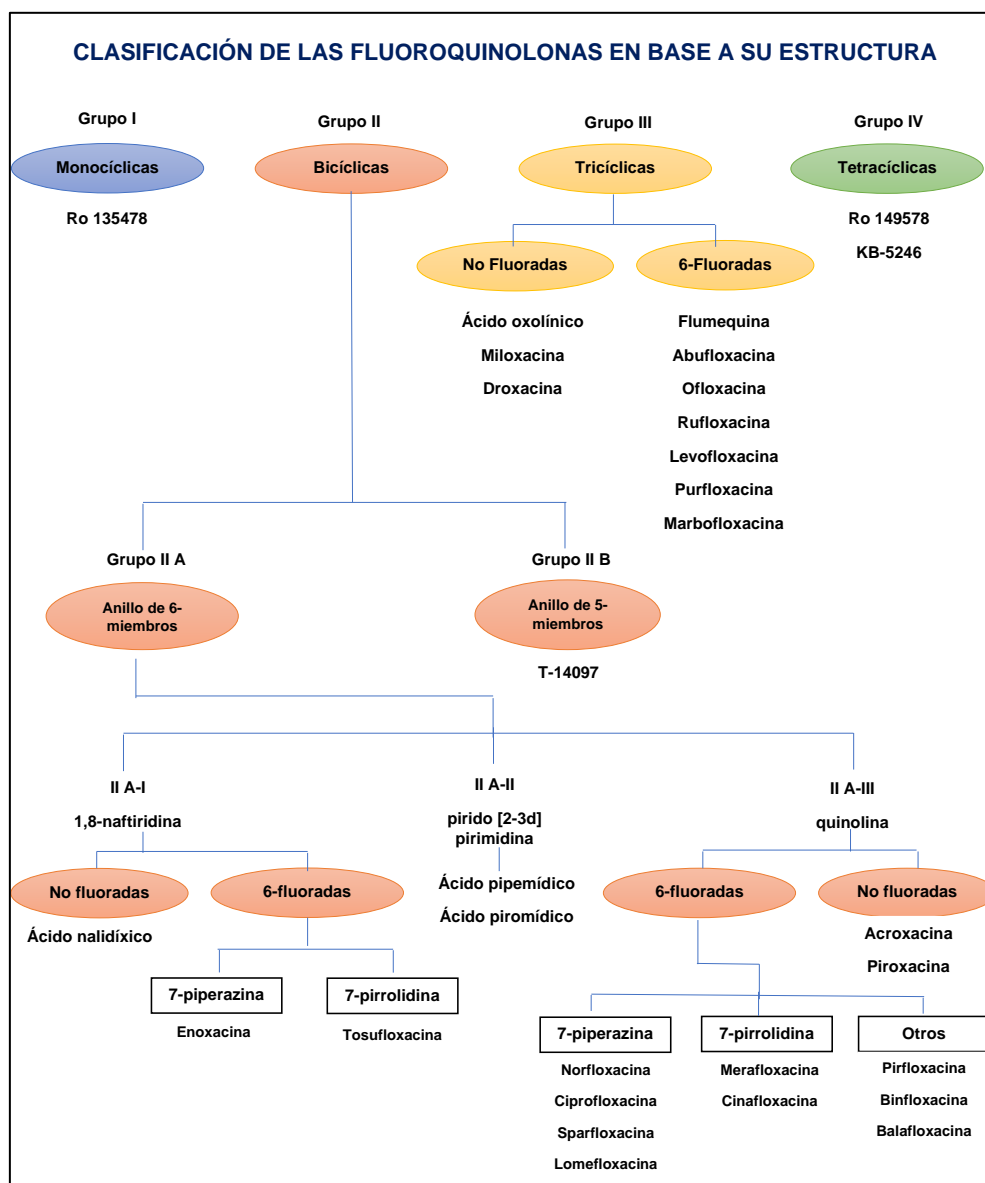


Figura 10. Clasificación estructural de las fluoroquinolona³³

2.1.3.1.2. Grupo II. Derivados Bicíclicos

Acorde al tipo de heterociclo fusionado al anillo de piridona (5, 6 o 7 miembros), se puede dividir en tres subgrupos; II A, II B y II C.

2.1.3.1.2.1. Grupo II A

Este subgrupo está integrado por derivados que fusionan al anillo de piridona con heterociclos de seis miembros. Dependiendo de la posición de estos heteroátomos, este subgrupo a su vez se subdivide en 3 clases de compuestos; derivados de: quinolina, 1,8-naftiridina y pirido[2-3d] pirimidina.

2.1.3.1.2.2. Grupo II A-I: Derivados de 1,8-naftiridina

Los integrantes de esta división se clasifican en; derivados no fluorados encontrando únicamente al ácido nalidíxico; aquellos derivados fluorados en C-6 son agrupados a su vez en base al sustituyente presente en C-7 (**Figura 10**). Los principales representantes y que además se encuentran disponibles para uso médico son: tosufloxacin **22**, enoxacina **17**, gemifloxacin **25** y trovafloxacin **28**.

2.1.3.1.2.3. Grupo II A-II: Derivados de pirido[2-3d] pirimidina

En esta clasificación destacan dos compuestos: el ácido pipemídico **13** y el ácido piromídico **31** por presentar moderada actividad antimicrobiana. Cabe mencionar que estos compuestos presentan dos heteroátomos de nitrógeno, el segundo ubicado en posición 6, son moléculas no fluoradas y se diferencian por el sustituyente contenido en posición C-7 (piperazina y pirrolidina en los compuestos **13** y **31** respectivamente).

2.1.3.1.2.4. Grupo II A-III: Derivados de Quinolina

Este es el grupo con mayor cantidad de derivados y se han denominado verdaderas quinolonas ya que el núcleo base consiste en un anillo de benzopiridona (proveniente de la quinolina) variando los sustituyentes en cada posición. Este subgrupo también se divide en dos subclases: quinolonas no fluoradas y derivados fluorados en C-6 (fluoroquinolonas). En la clasificación de los compuestos no fluorados se encuentran pocos derivados donde destacan la rosoxacina **14** y piroxacina **32**.

Los derivados fluorados son agrupados en base al sustituyente contenido en C-7 (los más frecuentemente encontrados han sido la piperazina, pirrolidina, pirrol, morfolina,

piperidina). Cabe mencionar que existen derivados cuya estructura base es una isoquinolina o presentan el único heteroátomo de nitrógeno en una posición distinta.

2.1.3.1.2.5. Grupo II B

Este grupo consiste en la fusión de un heterociclo de cinco miembros al anillo de piridona (principalmente tienil, pirazolil y furil). A pesar de los esfuerzos, estos compuestos no presentaron la seguridad y eficacia como fármacos por lo que quedaron descartados en las primeras fases de investigación.

2.1.3.1.3. Grupo III. Derivados Tricíclicos

Este grupo se desglosa en 13 subclasificaciones tomando como base la posición y el tipo de átomo donde ocurre el puente entre la quinolina, naftiridina o determinado núcleo base para formar el tercer ciclo.

La subclasificación III E de este grupo cuenta con la mayor cantidad de análogos tricíclicos, siendo los más conocidos en la terapéutica: la ofloxacina **19**, levofloxacin **21** y flumequina **33**; dentro del ámbito veterinario se encuentra a la marbofloxacin **34**, binfloxacin **35a** (Figura 11) y el ácido oxolínico **12**.

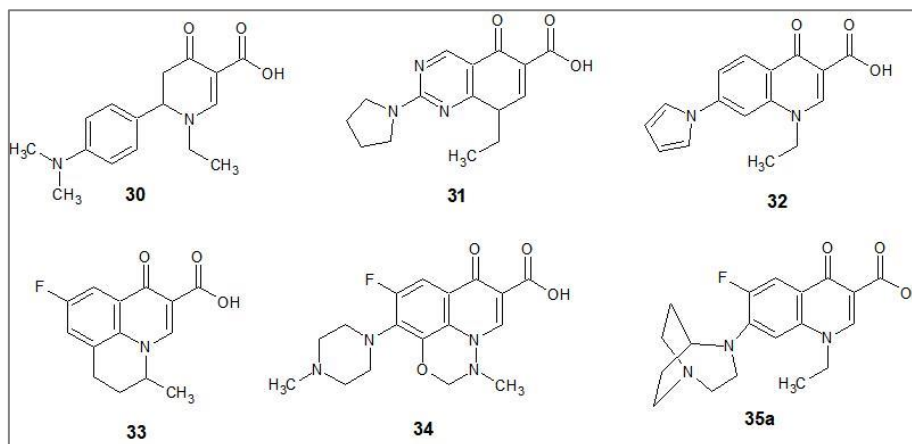


Figura 11. Derivados tricíclicos de fluoroquinolona³¹⁻³³

2.1.3.1.4. Grupo IV. Derivados Tetracíclicos

Este grupo cuenta con una poca cantidad de compuestos, sin embargo, se han descrito fluoroquinolonas híbridas a las que se incorporan núcleos de otra familia de antimicrobianos potenciando su efecto^{34,35}.

2.1.4. Mecanismo de Acción Molecular de las Fluoroquinolonas

En términos generales el tamaño de las bacterias se encuentra entre los 0.4 - 3 μm y 10 - 200 μm para las células eucariontes, que comparado con el tamaño del ADN de doble cadena en el interior de la célula presenta una longitud mucho mayor, por lo que resulta de vital importancia controlar y proteger la topología del cromosoma³⁶. Para ello, el ADN debe permanecer en su forma condensada ya que así ocupa menos espacio, sobre todo al momento de la replicación donde cada hebra de ADN es separada por efecto de la ADN girasa (decatenación), provocando superenrollamientos a cada lado de la horquilla de replicación. Con la finalidad de liberar la tensión, proteger la integridad del cromosoma y permitir el avance de la replicación, las topoisomerasas de tipo II (o topoisomerasa IV, según sea el caso) utilizan la energía de la hidrólisis del ATP para cortar ambas hebras del ADN, después atravesar un segmento de ADN a través del corte y finalmente restablecer el enlace fosfodiéster por enzimas de tipo ligasa. La correcta función de la maquinaria enzimática es de gran importancia ya que con ello se mitiga un posible daño al material genético y se mantiene la homeostasis celular³⁷.

La enzima ADN girasa es un heterotetrámero con dos pares de subunidades A₂B₂ las cuales están codificadas por los genes *gyrA* y *gyrB* respectivamente. Los monómeros GyrA y GyrB son de aproximadamente 97kDa y 90kDa. Las subunidades GyrA son responsables de la ruptura de un segmento de doble cadena de ADN, el paso transitorio de la doble cadena sin cortar a través del corte y la posterior unión del ADN para producir los superenrollamientos; las subunidades GyrB presentan actividad

ATPasa que cataliza la unión de las hebras de ADN después de ocurrir el superenrollamiento³⁸.

La ADN topoisomerasa IV también es un heterotetrámero compuesto por subunidades homólogas a las de la girasa denominadas en este caso ParC y ParE. El 36% de los aminoácidos que conforman la subunidad ParC son exactamente los mismos a los encontrados en GyrA y el 40% de los aminoácidos de ParE son idénticos a los que posee la subunidad GyrB. El mecanismo de ruptura y reunión de las cadenas de ADN es similar al que presentan GyrA y GyrB, sin embargo, esta enzima posee una mayor actividad decatenante^{38,39}.

Las fluoroquinolonas intervienen en el mecanismo de las topoisomerasas tipo II (**Figura 12**), atraviesan la membrana celular mediante difusión pasiva o con la ayuda de porinas o canales transportadores⁴⁰. Una vez en su interior inhiben directamente la replicación del ADN al interactuar con la ADN girasa en organismos Gram negativos y la topoisomerasa IV en organismos Gram positivos^{15,19,38}. También, las FQ han presentado actividad sobre la topoisomerasa II en microorganismos fúngicos y algunos parásitos^{22, 28,41}; así como actividad inhibitoria de la ADN topoisomerasa II α humana en células cancerígenas puesto que dicha enzima se encuentra sobreexpresada para promover el rápido crecimiento y división celular^{23,24,28,42}.

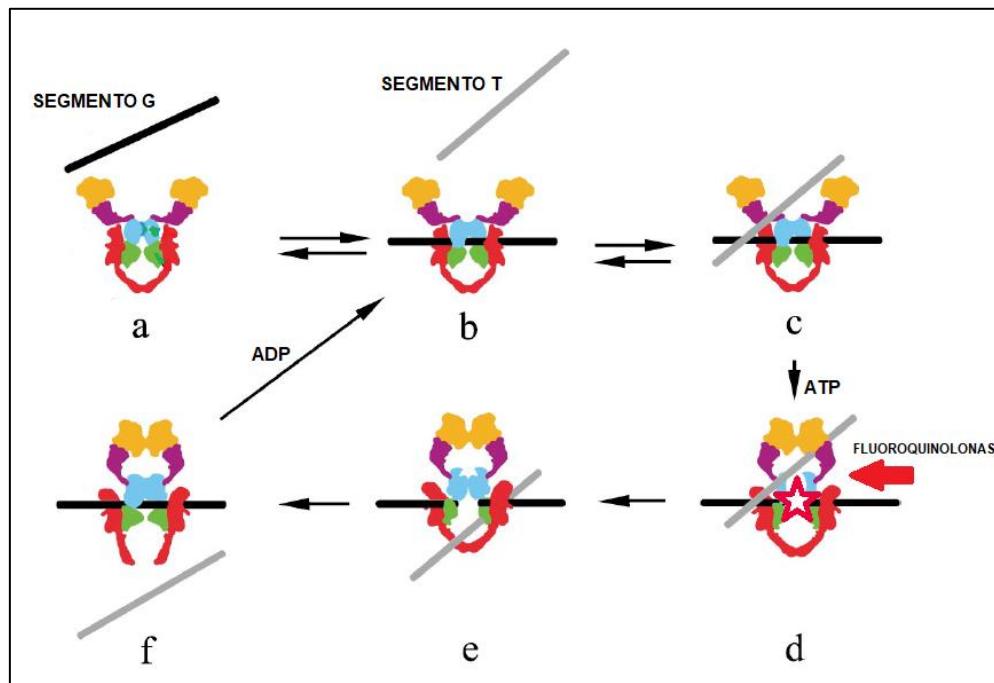
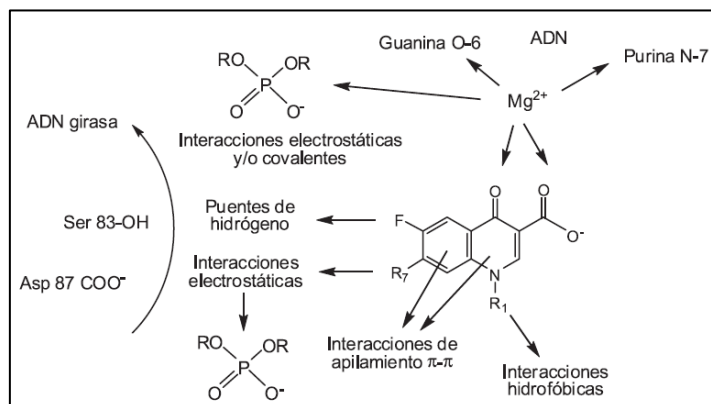


Figura 12. Mecanismo de acción de la topoisomerasa II y sitio de interacción con las FQ³³⁻³⁵

El mecanismo molecular por el cual las fluoroquinolonas inhiben a las topoisomerasas no ha sido esclarecido del todo, sin embargo, existen teorías para dar una explicación lógica del posible suceso. La teoría más aceptada es aquella que involucra la formación de un complejo ternario enzima-fluoroquinolona-ADN el cual interrumpe el proceso de replicación debido al bloqueo de la función de la maquinaria enzimática llevando a una eventual muerte celular^{19,20}.

Se ha propuesto que este tipo de compuestos forman complejos tetraméricos entre ellos mediante interacciones de apilamiento $\pi - \pi$ para después introducirse en sitios específicos de la topoisomerasa una vez que esta realiza el corte de la doble hebra de ADN para atravesar el otro segmento¹⁵. Mediante cálculos *in silico*, se ha propuesto diversos modelos que ayudan a comprender las probables uniones de las fluoroquinolonas con la enzima y el ADN. Un modelo teórico sugiere la interacción entre un ión Mg^{2+} con los grupos 3-carboxilo y 4-ceto de la fluoroquinolona, al mismo tiempo que el magnesio interacciona con grupos fosfato del ADN o bien con las bases

nitrogenadas mediante un enlace coordinado. Sumadas a ello, se ha reportado interacciones de tipo puente de hidrógeno de gran importancia entre el flúor en C-6 y el sustituyente en C-7 con la serina-83 y ácido aspártico-87 de la porción GyrA en *E. coli* (**Esquema 1**)⁴³.



Esquema 1. Representación de la interacción de las fluoroquinolonas con la enzima y el ADN^{23,43}

Por otra parte, la moxifloxacina **23** forma un complejo ternario con el ADN y la topoisomerasa IV de *Acinetobacter baumannii* favorecida por la coordinación del átomo de magnesio con los grupos ceto en C-4 y carboxilato en C-3; moléculas de agua dentro de la esfera de coordinación del magnesio favorecen la interacción con los aminoácidos Ser-84 y Glu-88 conservados en la subunidad ParC (**Figura 13**). Se han sugerido además interacciones de apilamiento entre las fluoroquinolonas con las bases nitrogenadas de cadena abierta o sencilla de ADN debido a su planaridad (intercalación), favorecida además por interacciones de grupos dadores de puente de hidrógeno en el fármaco con los grupos fosfatos, o bien, mediante interacciones dipolo-dipolo³⁸.

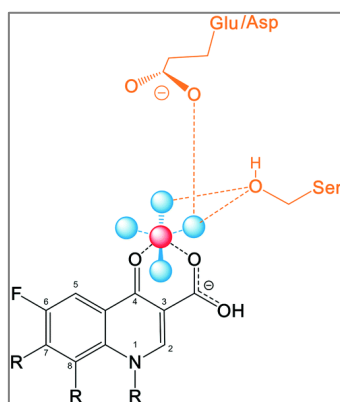


Figura 13. Puente metal-agua e interacción FQ-enzima³⁵

La interacción de las fluoroquinolonas de una manera casi específica con determinados aminoácidos y debido a la similitud en enzimas de distintos microorganismos ha originado que esta región muy en particular de la proteína diana sea asociada al sitio de unión y por ende el sitio de generación de resistencia ya que al verse mutado alguno de estos aminoácidos existe una disminución significativa en la actividad antimicrobiana⁴³.

2.1.5. Mecanismos de Generación de Resistencia a las Fluoroquinolonas

Las fluoroquinolonas se convirtieron en fármacos de gran interés científico y clínico debido a que poseen propiedades de un antimicrobiano ideal, como lo es su alta potencia, amplio espectro de actividad, alta biodisponibilidad, diversas formas farmacéuticas para su administración, altas concentraciones en suero, alto volumen de distribución y baja incidencia de efectos adversos¹⁵. Por tal motivo, se han considerado como fármacos seguros y eficaces de primera línea para el tratamiento de enfermedades infecciosas; no obstante, su uso excesivo, inapropiado y desmesurado condujo a la aparición de cepas resistentes resultando en un problema sanitario que ha puesto en riesgo la salud y la vida de la población^{14,15}.

El fenómeno de resistencia hacia las fluoroquinolonas se ha reportado tanto en Gram positivos como Gram negativos, además, es posible que también pueda desarrollarse en microorganismos fúngicos, parasitarios e incluso células humanas como un mecanismo natural de adaptación heredable que les permita sobrevivir a la presencia de estos fármacos^{43,44}. Los mecanismos de resistencia conocidos son variados y es posible que un microorganismo desarrolle más de un tipo, por ello, es sumamente importante controlar la propagación de estos microorganismos altamente patógenos⁴⁵.

A continuación, se describen algunos de los principales mecanismos; por una parte, se tienen aquellos generados por genes cromosómicos mientras que por otro lado se encuentran los mecanismos generados por genes presentes en plásmidos (extracromosómicos).

2.1.5.1. Resistencia Generada por Mutaciones Cromosómicas que Alteran el Sitio de Unión a las Fluoroquinolonas

Este tipo de resistencia ha sido asociada a mutaciones cromosómicas específicas en los genes que codifican las diferentes subunidades de la enzima diana, más comúnmente se han encontrado en una región específica del gen *gyrA* que codifica para la región conocida como QRDR (región determinante de resistencia a la quinolona) y es equivalente o se encuentra de manera similar en diferentes especies bacterianas³⁸. En *E. coli*, las modificaciones implicadas han sido principalmente el cambio de serina-83 por triptófano y ácido aspártico-87 por asparagina, estos son responsables de formar la interacción de tipo puente metal-agua con los carbonilos en posiciones C-3 y C-4 de la fluoroquinolona⁴⁶. Mientras que en la topoisomerasa IV los aminoácidos Ser-80 y Glu-84 codificados por el gen *parC*⁴⁷.

Las mutaciones en el gen que codifica la subunidad GyrB ocasionan un cambio conformacional en la estructura final de la proteína alterando el sitio donde las fluoroquinolonas se introducen (pocket o bolsillo) para interactuar con la subunidad B, esto disminuye drásticamente la sensibilidad hacia el fármaco. En este caso, las mutaciones han sido el cambio del ácido aspártico-426 por asparagina y lisina-447 por

ácido glutámico confiriendo resistencia a quinolonas ácidas y ligera hipersensibilidad a quinolonas de carácter anfótero^{47,48}.

2.1.5.2. Resistencia Mediada por Plásmidos

Los plásmidos son segmentos de ADN circular encontrados fuera del cromosoma, están presentes en la mayoría de las bacterias y son capaces de transferirse de una célula a otra. Estos segmentos poseen información para codificar moléculas protéicas que confiere a los microorganismos la capacidad de adaptación al medio ambiente nocivo que ocasionan las fluoroquinolonas^{46,47}.

Se conocen tres tipos de genes provenientes de plásmidos que confieren resistencia a las fluoroquinolonas: un gen similar al que traduce la enzima aminoglucósido acetil transferasa, los codificadores de sistemas de bombas de eflujo de fármaco y aquellos genes que codifican la expresión de la familia de proteínas conocidas como Qnr que impiden la acción de las FQs⁴⁹.

a) Proteínas Qnr

Los genes Qnr codifican una serie de proteínas integrantes de la familia de pentapéptidos repetidos (mantienen un motivo recurrente de cinco aminoácidos en tándem) mayor a 200 aminoácidos identificando seis clases: QnrA, QnrB, QnrC, QnrD, QnrS y QnrCV; las dos primeras fueron identificadas por primera vez en una cepa de *Klebsiella pneumoniae* resistente a ciprofloxacina, mientras que en *Shigella flexneri* se identificó la proteína QnrS. Acerca de estas proteínas no se conoce con detalle su mecanismo de acción, únicamente se ha discutido que se unen al complejo ADN-girasa reduciendo la disponibilidad de los sitios blanco e impidiendo la unión y acción de las fluoroquinolonas^{47,48}.

b) Modificación e inactivación enzimática de las fluoroquinolonas

En *E.coli*, se identificó el plásmido pHSH10-2 que codifica a la proteína aac(6')-Ib-cr, una variante mutante con actividad acetiltransferasa que inactiva a las fluoroquinolonas. Esta enzima presenta mutaciones puntuales con modificación en los

aminoácidos Trp-102 por Arg y Asp-179 por Tyr, es capaz de acetilar el nitrógeno insustituído presente en la piperazina en C-7 de la norfloxacin y la ciprofloxacina, por ejemplo, lo que disminuye la afinidad por el sitio diana y da lugar a la resistencia⁴⁸.

c) *Expresión de bombas de expulsión del fármaco*

Los sistemas de expulsión membranal son complejos proteicos que disminuyen la concentración intracelular de compuestos biogénicos y xenobióticos no esenciales para la célula mediante su expulsión al medio extracelular, algunos son codificados por genes cromosómicos como protección natural, sin embargo, en cepas bacterianas patógenas se han encontrado plásmidos de resistencia asociados a fluoroquinolonas⁵⁰.

El plasmido pOLA52 identificado en la cepa resistente de *E. coli* codifica a OqxA y OqxB, la primera es una proteína de membrana interna de la familia de los transportadores RND (*Resistance Nodulation cell Division*) y la segunda está situada en el periplasma bacteriano. Estos transportadores son asistidos por proteínas accesorias como TolC de tipo OMP (*Outer Membrane Protein*) y AcrA de tipo MFP (*Membrane Fusion Protein*), trabajan en conjunto formando un complejo trimérico (tripartita) permitiendo la salida del fármaco a través de la doble membrana de los microorganismos Gram negativos. Las quinolonas anfífilicas como el ácido nalidíxico **11** o la ciprofloxacina **15** son capturadas tanto del periplasma como del citosol, se mueven a través de la membrana hasta el transportador o son directamente atrapadas en el citoplasma para ser expulsadas de la célula^{49,50}.

En una cepa clínica de *E. coli* resistente se descubrió la proteína QepA la cual es codificada por un gen proveniente del plásmido pHPA, es situada dentro de la familia de transportadores de tipo MFS (*Major Facilitator superfamily*) las cuales son capaces de transportar solutos (fármacos) en respuesta a gradientes quimiosmóticos de fluoroquinolonas hidrofílicas como la ciprofloxacina **15**⁴⁸.

2.1.6. Relación Estructura-Actividad de las Fluoroquinolonas

Modificaciones a la estructura de las fluoroquinolonas ha conducido a mejoras en cuanto a la farmacocinética aumentando la biodisponibilidad y volumen de distribución, también hubo reducción en la toxicidad y menores interacciones con otros fármacos. Al modificar la estructura se ha logrado combatir microorganismos resistentes y también ampliar cada vez más el espectro de actividad de estos compuestos (**Figura 14**)³³.

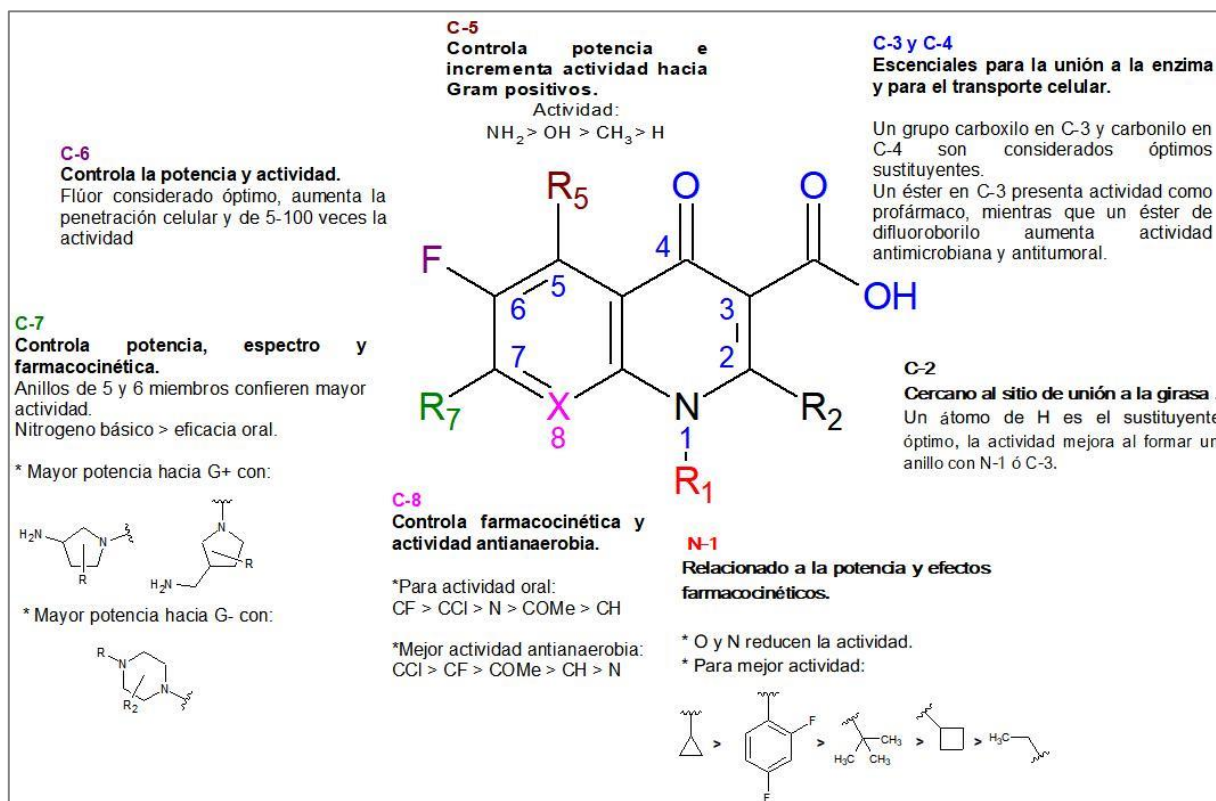


Figura 14. Relación Estructura-Actividad de las Fluoroquinolona^{17,23,33}

2.1.6.1. Modificaciones en Posición N-1

Esta posición de la quinolona se involucra con la interacción de la enzima diana, por lo que se considera esencial para la actividad y la potencia; siendo influenciada por efectos estéricos, electrónicos, así como efectos espaciales favorables en el sustituyente. Las quinolonas de primera generación presentan un grupo etilo en N-1 y destacaron por su actividad contra Gram negativos. Mientras que la introducción del ciclopropilo en adición con el flúor en C-6 incrementó la actividad contra Gram negativos además de inhibir el desarrollo de cepas de microorganismos Gram positivos⁵¹.

No obstante; sustituyentes como el 4-fluorofenilo y el 2,4-difluorofenilo ceden una potente actividad *in vitro* contra Grampositivos y bacterias anaerobias^{52,53}.

Asimismo, la introducción del sustituyente terbutilo en N-1 en asociación con el metoxi en C-8 aumentó significativamente la actividad en contra de micobacterias en comparación con el ciclobutilo o el etilo^{15,52,53}.

2.1.6.2. Modificaciones en Posición C-2

Debido a la proximidad de esta posición con el sitio de unión en la enzima diana, el hidrógeno es el que produce mayor actividad antimicrobiana. Sustituyentes voluminosos modifican la interacción llegando a perder el efecto deseado, las modificaciones realizadas han sido con el objetivo de establecer puentes con la posición N-1 o C-3 generando moléculas policíclicas⁵⁴.

2.1.6.3. Modificaciones en Posiciones C-3 y C-4

El grupo 3-carboxilo y 4-carbonilo son esenciales para la actividad e involucrados en la interacción con el ADN y residuos de la enzima diana. Llevan a cabo la coordinación con cationes como el Mg²⁺ formando un puente metálico (enlace coordinado) entre el fármaco y el complejo enzima-ADN. También, estos grupos son necesarios para el transporte de la fluoroquinolona hacia el interior de la célula de una manera efectiva⁵⁴.

Las modificaciones en el 4-carbonilo conllevan a la pérdida considerable de la actividad por lo que se considera el grupo óptimo en dicha posición. En el caso del 3-carboxílico se han llevado a éster, amida e incluso aldehído con el objetivo de que funja como un profármaco; el cual, una vez en el organismo vuelve a transformarse en carboxilo permitiendo así una mejor actividad^{55,56}. El remplazo del grupo 3-carboxílico por un grupo bioisostérico como el anillo de isotiazol, incremento del carácter aromático y un hidrógeno bastante ácido unido al nitrógeno el cual puede ser comparado con el protón del ácido carboxílico, generó derivados de mayor potencia con actividad anticancerígena⁵⁷.

2.1.6.4. Modificaciones en Posición C-5

Se considera al grupo amino como el óptimo, ya que aumenta la actividad y potencia hacia organismos Grampositivos, principalmente. Los efectos producidos por la modificación del grupo C-5 están influenciados a su vez por la naturaleza del sustituyente en N-1. Un grupo amino en C-5 en el ciclopropilo en N-1 resultó en un aumento de la actividad contra Gram positivos y en algunas circunstancias mejoró la actividad contra Gramnegativos. En algunos casos como el sparfloxacino, el grupo 5-amino incrementó la lipofilicidad de la molécula. Al igual que el amino, el hidroxilo y el metilo como sustituyentes en C-5 en conjunto con ciclopropilo en N-1, presentan de buena a moderada actividad contra Grampositivos. Un sustituyente etilo, terbutilo o 2,4-difluorofenilo en N-1 en conjunto con el amino en C-5 resultó en una notable disminución de la actividad antimicrobiana *in vitro*^{51,53}.

2.1.6.5. Modificaciones en Posición C-6

La incorporación del flúor en C-6 resultó en un aumento en la penetración celular de hasta 70 veces mayor que los derivados no fluorados, así como un aumento de 2 a 17 veces en la inhibición de la enzima diana por una mejor interacción con derivados fluorados. Esta modificación permitió administrar dosis menores de fármaco por vía oral y en intervalos más prolongados de tiempo. Las fluoroquinolonas se han utilizado desde entonces para tratar de una manera eficiente infecciones causadas por

microorganismos anaerobios, intracelulares, infecciones sistémicas y de tejidos blandos⁵⁵.

Además de la adicción del flúor en esta posición se han introducido diversos grupos como Cl, Br, CH₃, SCH₃, NO₂, CN, H; sin embargo, estos no presentan mayor actividad que con el flúor en C-6. El reemplazo del flúor por un grupo amino, disminuye considerablemente la fototoxicidad observada en fluoroquinolonas de reciente aparición⁵⁸.

Compuestos con ausencia de flúor en posición C-6, con un sustituyente metóxido en C-8 y ciclopropilo en N-1, presentaron una actividad *in vitro* 4 veces mayor que la ciprofloxacina o levofloxacina. El empleo de las quinolonas desfluoradas se ha enfocado al tratamiento del VIH, principalmente^{28,59}.

2.1.6.6. Modificaciones en Posición C-7

El sustituyente en esta posición interactúa directamente con la girasa o topoisomerasa, es responsable de los efectos de solubilidad, potencia, espectro antimicrobiano y propiedades farmacocinéticas. En el C-7 se ha llevado a cabo la mayor variedad las modificaciones estructurales en las fluoroquinolonas, esto seguido del descubrimiento de que un sustituyente piperazínico en C-7 junto con el flúor en C-6 favorecían drásticamente la actividad antimicrobiana. Grupos lineales y pequeños no muestran actividad intrínseca considerable^{56,60}.

La presencia de heterociclos nitrogenados de 5 y 6 miembros como sustituyente en esta posición ha demostrado ser responsables del aumento en la potencia y actividad antimicrobiana del fármaco. Se ha observado que sustituyentes grandes tienen influencia en la protección de la fluoroquinolona contra los mecanismos de expulsión activa del microorganismo, aumentando la actividad contra anaerobios además de prevenir la aparición de resistencia^{51,54,61}.

2.1.6.7. Modificaciones en Posición C-8

La posición 8 de las fluoroquinolonas está ocupada por un átomo de nitrógeno (técnicamente naftiridonas) o un átomo de carbono opcionalmente sustituido (quinolonas). De manera general, la introducción de sustituyentes en esta posición da lugar a cambios en la estructura tridimensional de la molécula lo que ocasiona una alteración que modifica la afinidad hacia las topoisomerasas diana; ciertos parámetros farmacocinéticos también se ven afectados al realizar sustituciones en este sitio aumentando la toxicidad del compuesto, principalmente al exponerse a la radiación solar y presencia de genotoxicidad^{19,62}.

Entre las diferentes modificaciones en esta posición, son los halógenos como el cloro y el flúor los que aumentan la actividad anti anaerobia. El cloro y el flúor también son sustituyentes que aumentan la absorción por vía oral. Sin embargo, estos halógenos como sustituyentes se han asociado a fenómenos de fototoxicidad en fármacos como fleroxacina **35b**, lomefloxacina **18**, sparfloxacina **36** y clinafloxacina **26** (**Figura 15**). El remplazo por un grupo metoxi en C-8 resultó en derivados como la moxifloxacina **23** exhibiendo una potente y amplia actividad antimicrobiana^{15,52,63}.

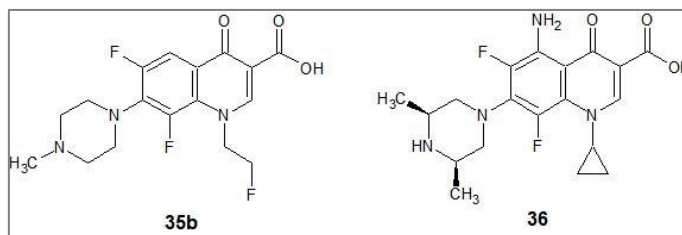


Figura 15. Estructura química de la fleroxacina **35b** y la sparfloxacina **36**

2.1.7 Características Físicas y Químicas Importantes para las Propiedades Medicinales

Las quinolonas son sustancias sólidas de un color amarillo pálido o blanco-amarillento con aspecto cristalino, son poco solubles o insolubles en agua y la mayoría de los solventes orgánicos; se solubilizan bien en soluciones ligeramente alcalinas o ácidas;

resisten la aplicación de temperaturas elevadas y presentan puntos de fusión elevados^{19,64}.

2.1.7.1. Quelación

Los quelatos de fluoroquinolonas con iones metálicos (**Figura 16**) como aluminio (III), magnesio (II), calcio (II), cobre (II) y con hierro (II y III) se dan por la interacción con el 3-carboxilo y 4-carbonilo, la proximidad de estos dos grupos en la molécula de quinolona en presencia del ión metálico origina una donación electrónica por parte del 4-carbonilo con la posterior formación de un anillo. Los quelatos metálicos son insolubles en agua y su formación se ve favorecida en soluciones que van de neutras a alcalinas. La quelación provoca eventos de interacciones fármaco-alimento o fármaco-molécula que conllevan a una disminución en la absorción del antimicrobiano cuando se administra junto con algunos alimentos, antiácidos y otros fármacos^{65,66}.

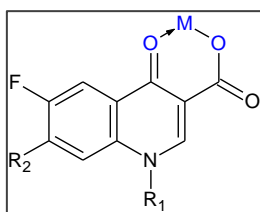


Figura 16. Representación general del quelato metálico de fluoroquinolona^{63,64}

2.1.7.2. Carácter Ácido - Base

Las fluoroquinolonas presentan naturaleza anfotérica debido a los dos grupos funcionales ionizables susceptibles a la protonación (**Figura 17**). El primero es el 3-carboxilo, el cual, a pH básico se encuentra en forma de carboxilato **37** mientras que el amino presente en la piperazina en C-7 se protona a pH ácido dando lugar a la formación de una sal de amonio **38** con mayor solubilidad en medio acuoso. En condiciones de pH neutro cercano al punto isoeléctrico de la molécula, la fluoroquinolona presenta dos estructuras en equilibrio. Una es la forma no ionizada la cual es más estable y es la que mejor se absorbe hacia las células **39**; y la otra que es

una estructura en forma zwitterión **40**, un compuesto químico eléctricamente neutro que contiene cargas formales positiva y negativa sobre átomos diferentes. Estos dos grupos ionizables y/o susceptibles a protonarse determinan propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas como la solubilidad, coeficiente de partición, volumen de distribución y absorción principalmente^{15,19}.

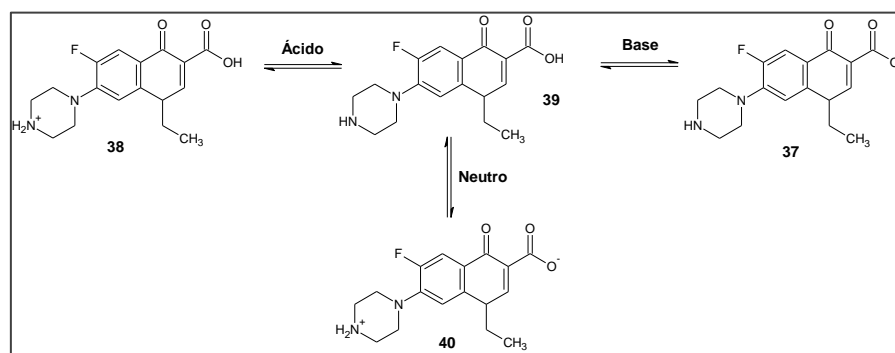


Figura 17. Carácter ácido-base de las FQ^{14, 23}

Las fluoroquinolonas entran a la célula a través de difusión pasiva y canales presentes en la membrana, el paso a través de estos últimos se ve favorecido por la interacción del fármaco con iones Mg^{2+} a pH ligeramente alcalino en medio extracelular. A pH más ácido como el encontrado en medio intracelular el grupo carboxilo se encuentra protonado siendo imposible formar el quelato de magnesio y atravesar la membrana, esto hace que el fármaco no pueda retornar por el canal y se acumule dentro⁶⁵⁻⁶⁷.

2.1.7.3. Fotoquímica

La fototoxicidad presentada en los pacientes en tratamiento con fluoroquinolonas es debida a la exposición a la luz solar. Muchas quinolonas sustituidas con halógenos absorben luz en un rango de 350 a 425 nm provocando reacciones de fotodescomposición que conllevan a la disminución de la actividad del fármaco.^{19,68} Los productos de la fotodescomposición dependen de ciertas condiciones como la estructura de la molécula y el medio de la reacción. En un medio ácido, las quinolonas

con un grupo electrodonador en C-8 y un sustituyente tipo piperazina en C-7 (como el caso de la ofloxacina **19**) ocurre una fotólisis oxidativa del anillo piperazínico **41**. En moléculas como la sparfloxacina **36** ocurre una ruptura heterolítica en el enlace C-F que conduce a la pérdida del sustituyente **43**. Es posible también la ruptura homolítica formando radicales en C-8 cuyos electrones pueden reaccionar con el sustituyente en N-1 formando un nuevo heterociclo **44** (**18 y 19**)^{15,69}.

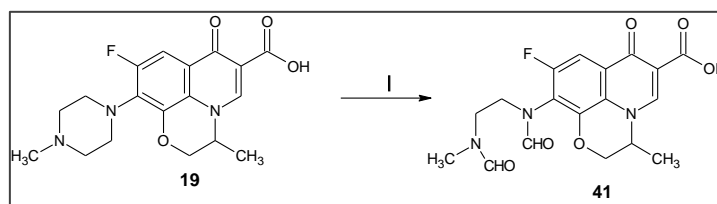


Figura 18. Fotoquímica de la ofloxacina^{14, 67}

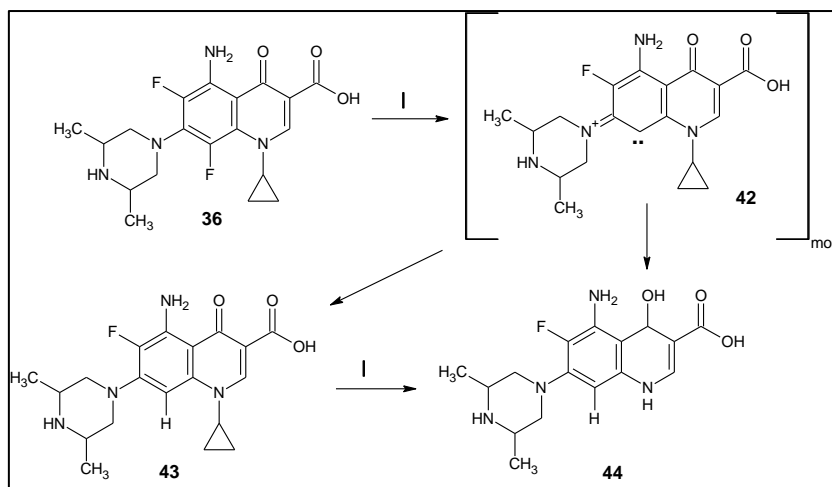
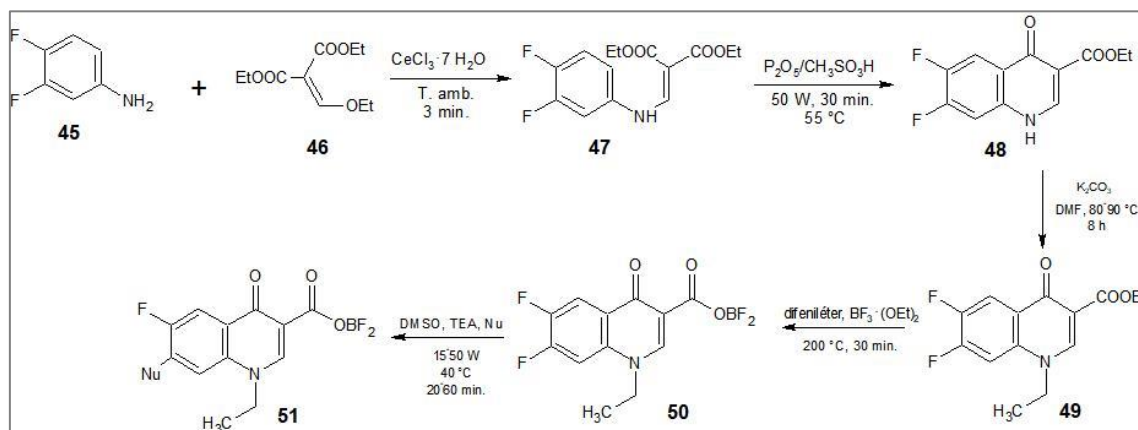


Figura 19. Fotoquímica de la sparfloxacina^{14, 67}

2.1.8. Estrategias de Síntesis de Fluoroquinolonas

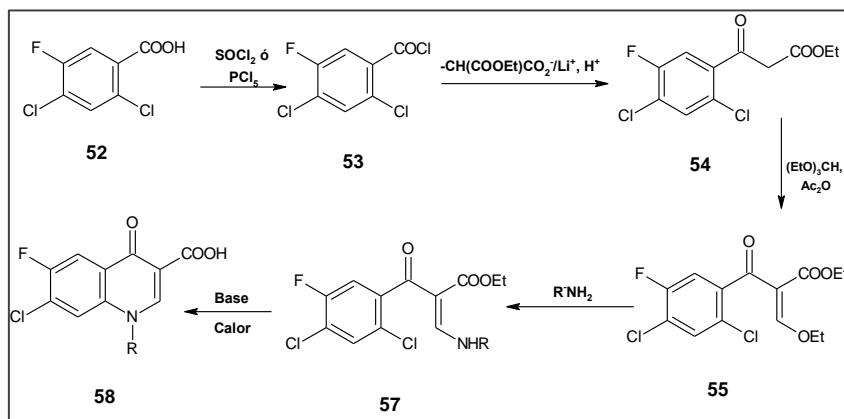
La síntesis de Gould-Jacobs es una metodología ampliamente utilizada y adaptada para la preparación del anillo de la fluoroquinolona^{70,71}. Una variante aplica la síntesis asistida por microondas partiendo de la difluoroanilina **45** y EMME **46**, catalizado con $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (**Esquema 2**)⁷¹, disminuyendo el tiempo de reacción a 3 minutos a temperatura ambiente obteniéndose el acrilato **47**. La ciclación intramolecular asistida por microondas y el reactivo de Eaton como catalizador, permiten disminuir también el tiempo y temperatura de reacción para formar el producto **48**. El siguiente paso consiste en la *N*-alquilación **49**, después, la reacción con $\text{BF}_3 \cdot (\text{OEt})_2$ forma un éster de borilo **50** lo que provoca mayor carácter electrofílico en C-7, permitiendo la introducción de diversos nucleófilos **51** así como el uso de microondas para minimizar el gasto energético, tiempo y cantidad de reactivos.



Esquema 2. Síntesis reportada por Leyva y cols⁷¹

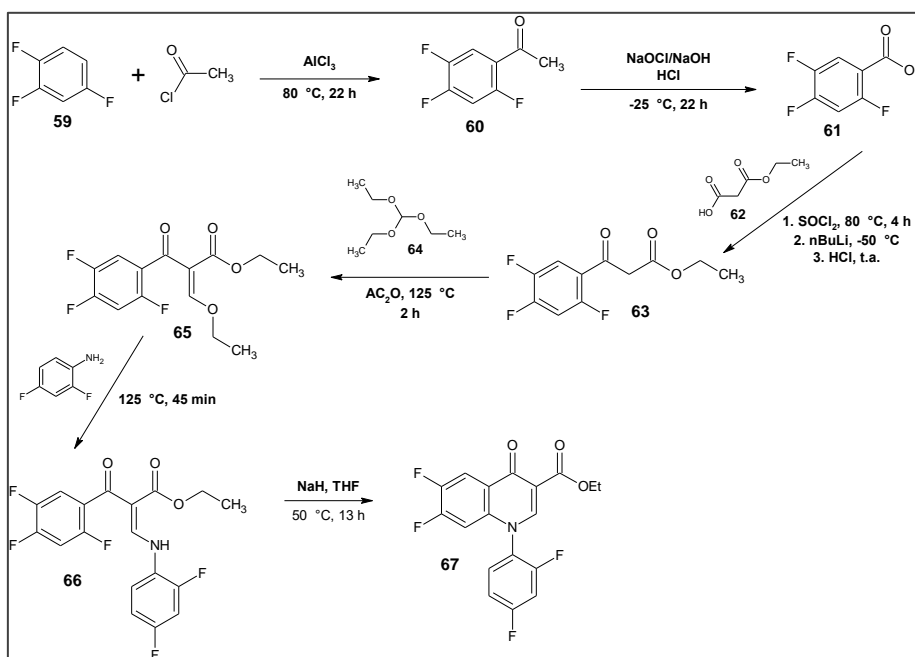
Con la ruta reportada por Grohe-Zeiler⁷² es posible preparar fluoroquinolonas *N*-alquil, cicloalquil y aril sustituidas (**Esquema 3**). Se parte de un ácido benzóico sustituido **52** el cual es sometido a una halogenación para formar el cloruro de benzoilo **53**, este, al reaccionarlo con monoetilmalonato es transformado al benzoilacetato de etilo **54**. Se hace reaccionar el β -ceto éster formado con ortoformiato de trietilo en presencia de

anhídrido acético para formar un etoxialqueno **55**, después, el grupo etoxi puede ser sustituido por una alquil o aril amina de interés para generar el intermediario **57**, que se somete a una ciclación intramolecular facilitada por una base fuerte; finalmente, se genera el ácido carboxílico **58** mediante hidrólisis básica del éster.



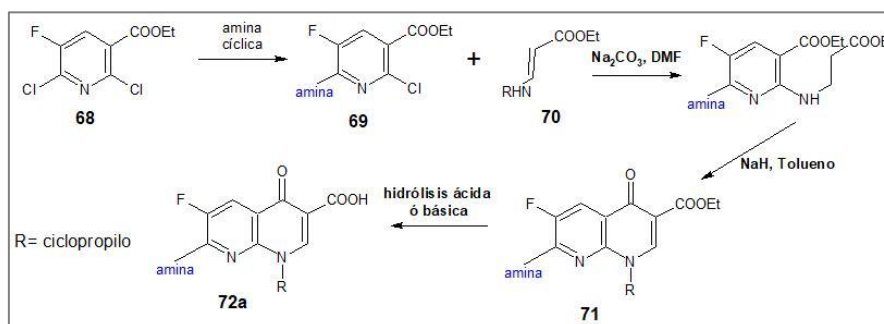
Esquema 3. Síntesis de Grohe-Zeiler⁷²

Chu y colaboradores⁵², proponen un método de síntesis para introducir sustituyentes aromáticos en N-1 (**Esquema 4**); El cual parte de la conversión del 1,2,4-trifluorobenceno **59** a la cetona **60** por la reacción de acilación de Friedel-Crafts y convertido después al ácido 2,4,5-trifluorobenzoico **61** mediante la oxidación con hipoclorito de sodio. El intermediario generado, se hace reaccionar con etilmalonato **62** para dar lugar a un β -cetoéster **63** que luego reacciona con el ortoformiato de trietilo **64** en presencia de anhídrido acético generándose el etoxialqueno **65**. La reacción de este último con anilinas sustituidas forma el compuesto **66** que es ciclado utilizando hidruro de sodio para así obtener la fluoroquinolona N-sustituida **67**.



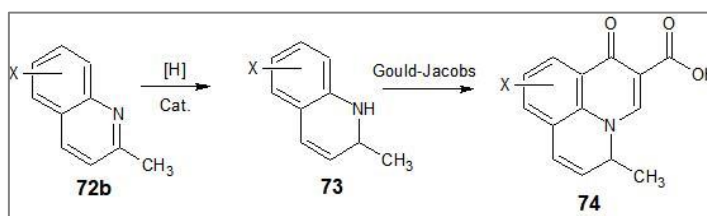
Esquema 4. Síntesis de Chu y cols⁵²

Miyamoto y colaboradores⁷³ reportan la síntesis de derivados de tipo naftiridona (**Esquema 5**) partiendo de un precursor tipo dicloropiridina **68** el cual se hace reaccionar con una amina cíclica para formar el intermediario **69**; se lleva a cabo la reacción con **70** utilizando bicarbonato de sodio como base; seguido de una ciclación intramolecular usando hidruro de sodio y tolueno como solvente. Finalmente se hidroliza el éster **71** en medio ácido o básico para formar el compuesto **72a**¹⁹.



Esquema 5. Síntesis de Miyamoto y cols⁷³

La síntesis de Gerster⁷⁴ (**Esquema 6**) es un método que permite la preparación de fluoroquinolonas tricíclicas, la materia de partida suele ser una molécula bicíclica de tipo tetrahydroquinolina **72b** que se somete a una reducción catalítica produciendo el intermediario **73**, después, se utiliza la metodología de Gould-Jacobs para dar lugar al derivado tricíclico final **74**.



Esquema 6. Síntesis de Gerster⁷⁴

2.2 BENCIMIDAZOLES

El anillo de bencimidazol **75** es uno de los heterociclos nitrogenados más estudiado y de gran importancia en la química medicinal⁷⁵. La primera síntesis fue reportada en el año de 1872, pero su potencial terapéutico se remonta a los años 40's con el descubrimiento del 5,6-dimetil-1-(α -D-ribofuranosil)-bencimidazol como producto de degradación de la vitamina B₁₂ **76** (**Figura 20**)⁷⁶.

Este hallazgo llevó a la teoría de que este núcleo estaba involucrado en diversos procesos biológicos por su similitud estructural a las purinas **77a**, **77b** (bases nitrogenadas del ADN), al poseer el anillo de imidazol **78** dentro de su estructura, el cual forma parte también de moléculas de importancia biológica como son la histidina **79** y la histamina **80**. A partir de estos antecedentes surgió el enorme interés en el estudio de este tipo de compuestos como intermediarios para el desarrollo de moléculas con impacto farmacológico. Así mismo, el bencimidazol está ligado a una gran variedad de compuestos bioactivos abarcando un amplio rango de usos

terapéuticos los cuales se han logrado gracias a la optimización de los sustituyentes alrededor de su estructura⁷⁷.

Los bencimidazoles actúan como agentes antibacterianos, antiparasitarios, antifúngicos, anticancerosos, antihipertensivos, antiinflamatorios, antihistamínicos, antivirales, antioxidantes y anticonvulsivantes⁷⁵⁻⁷⁸.

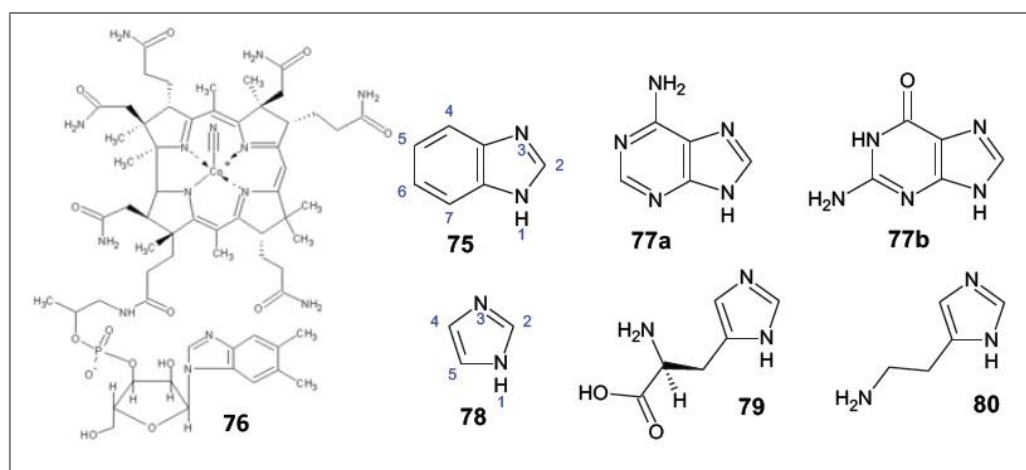


Figura 20. Derivados imidazólicos y bencimidazólicos⁷⁸

2.2.1. Estructura Química

El núcleo de bencimidazol está compuesto por la fusión del benceno en C-4 y C-5 del imidazol dando lugar al biciclo, por lo que presenta características de un compuesto aromático, además de exhibir propiedades ácido-base gracias al N-H ácido (pKa 5.6) y el nitrógeno imínico con carácter básico (comportamiento anfotérico)^{75,76}.

Así mismo, los derivados que contienen al átomo de hidrógeno en N-1 se encuentran en equilibrio dinámico, es decir, el 5-metilbencimidazol **83** es el tautómero del 6-metilbencimidazol **84** y viceversa, por lo que ambas estructuras representan al mismo compuesto (**Figura 21**). La tautomerización en estos derivados es posible gracias a la deslocalización de los pares de electrones π de la imina con la simultánea migración

del hidrógeno amínico, permitiendo la formación del N-H entre los nitrógenos del imidazol; mientras que, en bencimidazoles *N*-sustituidos no se presenta el equilibrio tautomérico y se pueden aislar dos moléculas o isómeros no equivalentes^{77,79}.

Por otro lado, el punto de fusión (p.f.) se ve afectado al modificar el hidrógeno en N-1; el bencimidazol sin sustituir puede formar puentes de hidrógeno intermoleculares a través del N-H, mientras que el N-3, a través de los pares de electrones libres funge como aceptor de puente de hidrógeno, esto trae como consecuencia un incremento en el valor del p.f. en derivados no sustituidos comparado con el observado en *N*-sustituidos (1*H*-bencimidazol p.f. 130 °C, 1-meti-bencimidazol p.f. 66 °C)⁸⁰.

Para el caso de la solubilidad es similar; el N-H favorece la formación de puentes de hidrógeno con solventes polares y en soluciones ácidas (mayor solvatación) mientras que compuestos *N*-sustituidos son mayormente solubles en disolventes menos polares, o bien, en medios ácidos o básicos^{80,81}.

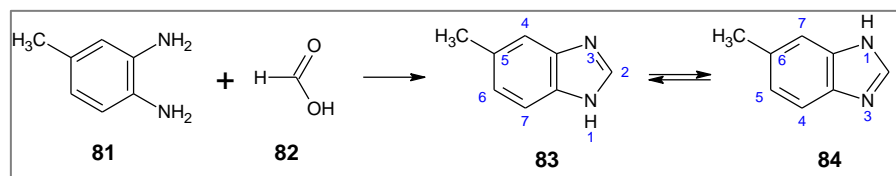
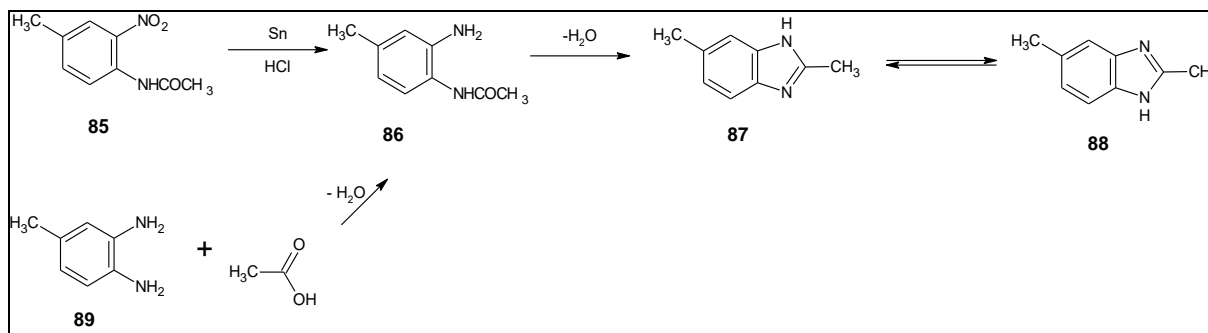


Figura 21. Tautomerización del 5-metilbencimidazol⁷⁷

2.2.3. Estrategias de Síntesis de Bencimidazoles

En 1872 Hoebrecker efectuó la primera síntesis de bencimidazoles por medio de la reacción de 4-metil-2-nitroacetanilida **85** y estaño metálico en un medio ácido llevándose a cabo la reducción **86** y con la consecutiva ciclación intramolecular se obtuvo la mezcla del 2,5- y 2,6-dimetilbencimidazol **87**, **88**. En 1878, Landenburg obtuvo los mismos productos mediante la reacción de 3,4-diaminotolueno **89** con ácido acético en condiciones de reflujo (**Esquema 7**)^{79,82}.



Esquema 7. Primera síntesis de bencimidazoles^{79,82}

El interés por la síntesis de estos derivados se retomó tiempo de después a finales de los 40's y principios de los 50's cuando Brink y colaboradores identificaron el 5,6-dimetil-1-(α -D-ribofuranosil)-bencimidazol como producto de degradación de la vitamina B₁₂ **76**, un cofactor enzimático esencial para el desarrollo celular^{79,83}.

El núcleo de bencimidazol se ha posicionado como uno de los pilares más importantes de la química medicinal, numerosos métodos se han desarrollado para la preparación y funcionalización de este tipo de derivados las cuales pueden clasificarse e identificarse en base a los materiales de partida y tipo de reacción llevada a cabo (condensación, ciclación, *N*-arilación, acoplamiento cruzado, etc.) como a continuación se describe^{84,85}.

2.2.3.1. Síntesis a partir de la orto-fenilendiamina

A) Reacción con Ácidos Carboxílicos

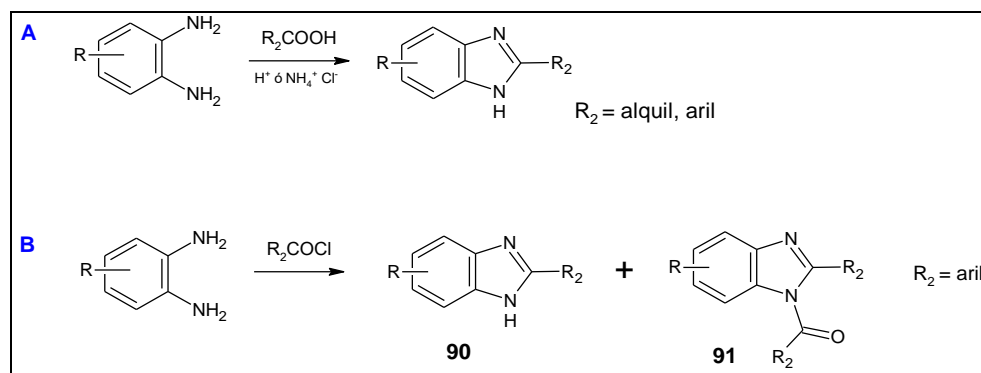
En la ruta convencional, un ácido carboxílico alifático es calentado con la *orto*-fenilendiamina en solución acuosa de ácido clorhídrico concentrado para favorecer la deshidratación (reacción de Phillip's). Bajo este método los bencimidazoles se obtienen con diferentes sustituyentes alquílicos en C-2 con buenos rendimientos de reacción. Sin embargo, al emplear ácidos carboxílicos aromáticos los rendimientos disminuyen drásticamente; no obstante, es posible llevar a cabo la reacción en un tubo

cerrado a 180 °C, empleando ácido polifosfórico o pentóxido de fosforo para permitir la deshidratación⁸⁵, o bien, mediante la condensación de *o*-fenilendiaminas sustituidas y diferentes ácidos carboxílicos aromáticos catalizados con cloruro de amonio (Esquema 8a)⁸⁶.

B) Reacción con Derivados de Ácido Carboxílico

B.1. Cloruros de Ácido

La introducción de sustituyentes aromáticos en C-2 se ha llevado a cabo mediante la reacción entre la *o*-fenildiamina y los cloruros de ácido aromáticos; la gran reactividad de estos precursores permite generar derivados 2-*o*-sustituido **90** y un intermediario 1-*o*-sustituido **91** cuando un exceso de cloruro de ácido es utilizado^{84,87}, cuando se usa una zeolita, la síntesis se vuelve selectiva a bencimidazoles 2-sustituidos (Esquema 8b)⁸⁸.

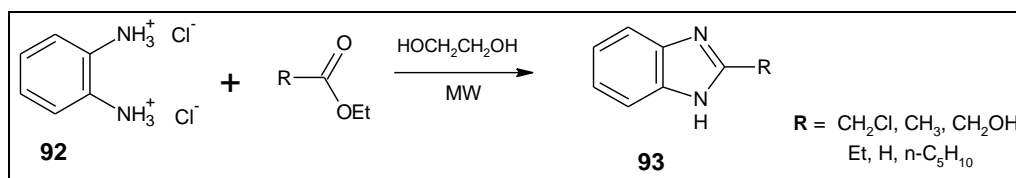


Esquema 8. Síntesis de bencimidazoles: **a.** a partir de ácidos carboxílicos; **b.** a partir de cloruros de ácido^{86,88}

B.2 Ésteres y Amidas

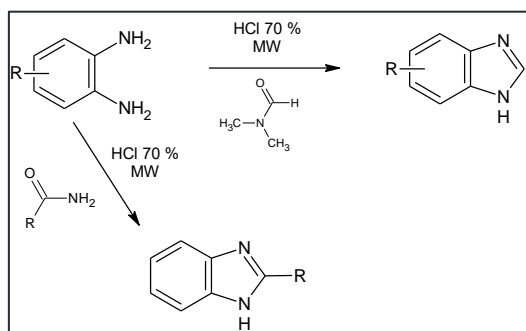
Jing y colaboradores⁸⁹ reportaron la síntesis de bencimidazoles 2-sustituidos **93** mediante la reacción de dihidrocloruro de *orto*-fenilendiamina **92** con diferentes ésteres

utilizando radiación de microondas como fuente de energía. La reacción se lleva a cabo en 1,2-etanodiol como solvente a 165 W en 90 segundos (**Esquema 9**).



Esquema 9. Síntesis de benzimidazoles a partir de ésteres⁸⁹

En 2015, Kattimani y colaboradores sintetizaron derivados de benzimidazol mediante la reacción asistida por microondas entre *orto*-fenilendiaminas sustituidas con *N,N*-dimetil formamida y amidas sustituidas bajo un medio ácido empleando radiación por microondas. La DMF tiene un efecto dual actuando como solvente y reactivo, además de emplearse carbonato de potasio como base (**Esquema 10**)⁹⁰.



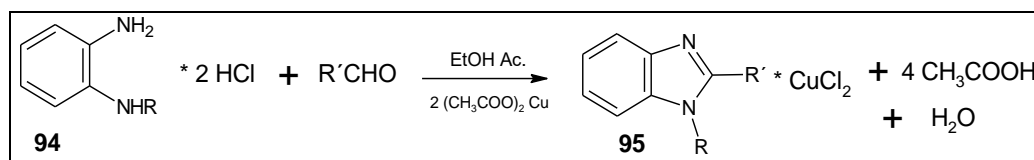
Esquema 10. Síntesis de benzimidazoles a partir de amidas⁹⁰

B.3 Anhídridos

Una modificación a la reacción de Phillips consiste en calentar la *o*-fenilendiamina con anhídrido acético en una solución de ácido clorhídrico al 15% obteniéndose el 2-metilbencimidazol⁸⁶.

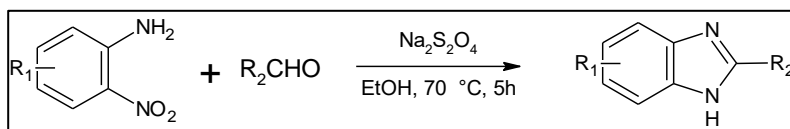
C) Reacción con Aldehídos

Los métodos para la síntesis de bencimidazoles a partir de la condensación entre *o*-fenilendiamina y aldehídos, utilizan además condiciones de reacción oxidantes para asegurar el éxito de la reacción⁹¹. Por ejemplo, la síntesis de Weidenhagen⁸⁷ para obtener bencimidazoles 2-sustituidos mediante la condensación del diclorhidrato de *orto*-fenilendiamina *N*-sustituido **94** con aldehídos alquílicos, aromáticos o heterocíclicos, se emplea una solución acuosa o etanólica en presencia de acetato de cobre como oxidante. La sal cuprosa de bencimidazol **95** resultante, se pone al contacto con sulfuro de hidrógeno para dar lugar al bencimidazol libre y la formación de sulfuro cuproso (**Esquema 11**).



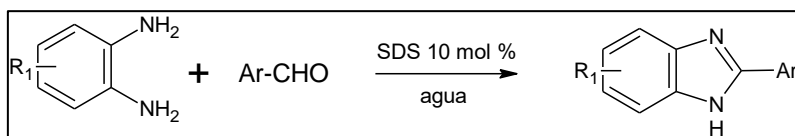
Esquema 11. Síntesis de Weidenhagen de bencimidazoles⁸³

Por otro lado, Yang y colaboradores⁹² aportaron un método eficiente para la síntesis de bencimidazoles a partir de la reacción de aldehídos y *o*-nitroanilinas con ditionito de sodio (Na₂S₂O₄) como agente reductor; permitiendo la reducción y ciclación intramolecular en un solo paso de reacción, brindando así, un método sencillo para producir gran variedad de derivados de bencimidazol (**Esquema 12**).



Esquema 12. Síntesis de Yang de bencimidazoles⁹²

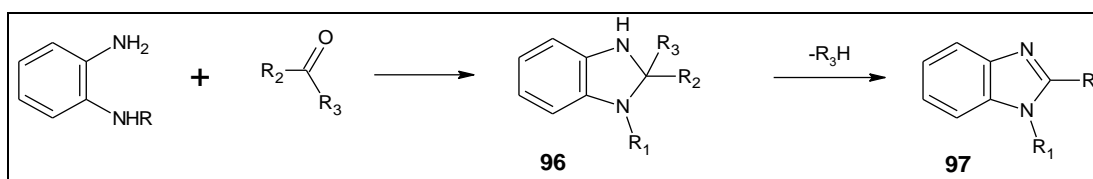
Así mismo y siguiendo los principios de la química verde, Pardeshi y colaboradores⁹³, reportaron la reacción de *orto*-fenilendiamina con distintos aril aldehídos en presencia de dodecilsulfato de sodio en medio acuoso para generar 2-arilbencimidazoles (**Esquema 13**).



Esquema 13. Síntesis de Pardeshi para bencimidazoles⁹³

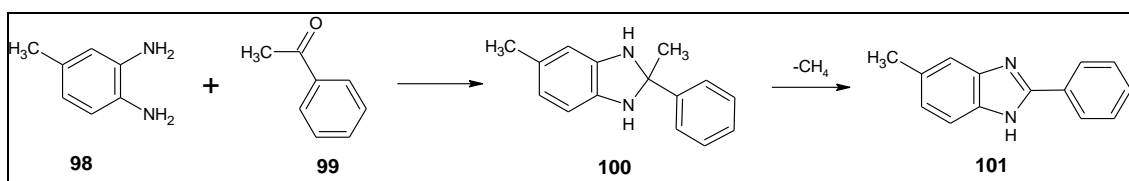
D) Reacción con Cetonas

La reacción de cetonas con *o*-fenilendiaminas N-sustituido lleva a la formación del intermediario tipo bencimidazolina **96** que pierde un grupo alquilo y un hidrógeno (RH) para generar al bencimidazol 2-disustituido **97** más estable por su carácter aromático (**Esquema 14**)⁸⁶.



Esquema 14. Síntesis de bencimidazoles a partir de cetonas^{85,86}

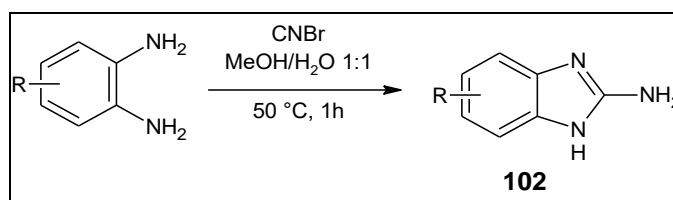
La variación en la posición del *N*-sustituyente por el 3,4-diaminotolueno **98** con acetofenona **99** a 180 °C por Ladenburg y Rugheimer permite formar el derivado bencimidazolina **100**, donde la eliminación de metano generó el 2-fenil-5-metilbencimidazol **101**, que, debido al incremento en la aromaticidad, se obtiene una molécula con mayor estabilidad en comparación del metilo (**Esquema 15**)⁸⁵.



Esquema 15. Síntesis de Ladenburg-Rugheimer para bencimidazoles^{85,86}

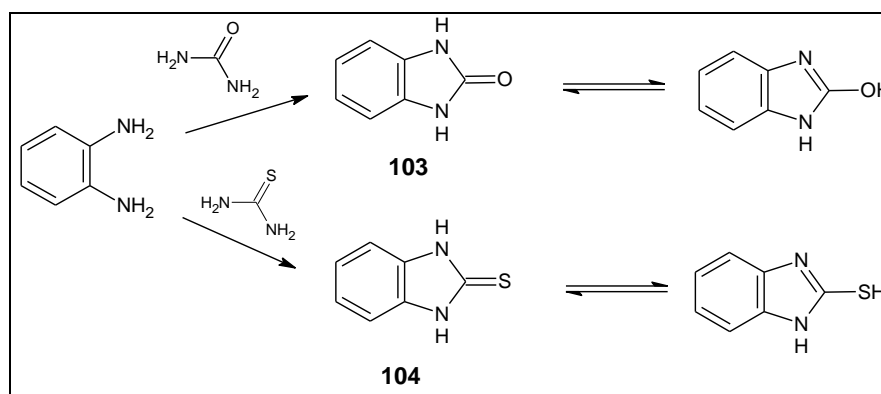
E) Reacción con Nitrilos, Urea, Tiourea e Iminoéteres (Imidatos)

Una alternativa para el uso de distintos carbonilos (aldehídos, ácidos carboxílicos y sus derivados) para la formación de bencimidazoles, se encuentra el bromonitrilo, el cual ofrece una buena opción de agente electrofílico, permitiendo que en condiciones prácticas (metanol-agua) se obtenga el **102** con buenos rendimientos y condiciones suaves de reacción (**Esquema 16**)⁹⁴. Lo que permite, además, utilizar esta reacción con diversos sustituyentes en el anillo aromático de la *o*-fenilendiamina.



Esquema 16. Síntesis de bencimidazoles a partir de nitrilos⁹⁴

Así mismo, por generar bencimidazoles con fuentes débilmente electrofílicas como la urea y la tiourea, han permitido que Rathod y colaboradores⁹⁵ plantearan un método de síntesis 2-bencimidazolonas **103** a partir del dihidrocloruro de *o*-fenilendiamina y urea a 130 °C. O bien, por medio de la reacción de *orto*-fenilendiamina con urea o tiourea en presencia de HCl para generar los derivados de 2-bencimidazolonas ó 2-bencimidazotionas **104**, respectivamente (**Esquema 17**)⁹⁶.

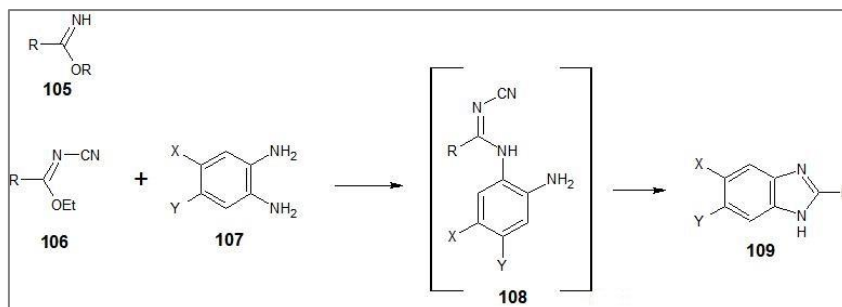


Esquema 17. Síntesis de bencimidazolonas y bencimidazotionas⁹⁵

No obstante, se observó que durante la síntesis de bencimidazoles a partir de derivados carbonílicos es posible que la *o*-fenilendiamina, la cual presenta cierto carácter básico, compita por el protón del catalizador ácido lo que puede dificultar el ataque al sitio carbonílico. Una aportación consiste en reemplazar el derivado carbonílico por el imino éter **105** incrementando la basicidad y mejorando, en ciertos casos la preparación de derivados de bencimidazol 2-aryl ó 2-alkil sustituidos (**Esquema 18**).

A partir de ello, Zarguil y colaboradores⁹⁶ describen la síntesis de bencimidazoles por medio de la reacción de *N*-cianoimidatos **106** con *o*-fenilendiaminas aril-sustituidas **107**. Dicha reacción procede mediante el ataque nucleofílico al imidato donde se

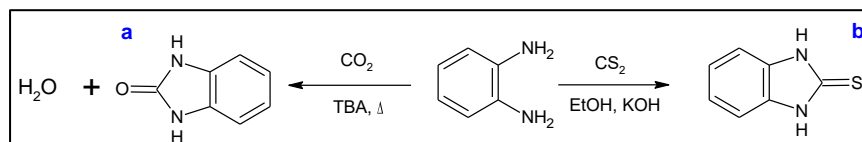
sustituye al etoxi generando un intermediario tipo amidrazona **108** que se cicla intramolecularmente dando la formación al anillo de bencimidazol **109**.



Esquema 18. Síntesis de bencimidazoles a partir de iminoéteres⁹⁶

F) Reacción con Electrófilos Alternativos

Una alternativa verde para preparar las 2-bencimidazolonas consiste en hacer reaccionar o-fenilendiaminas con dióxido de carbono a 100 °C, atmósfera inerte de nitrógeno y tributilamina (TBA) como catalizador, formando agua como producto secundario de la reacción (**Esquema 19a**)⁹⁷. O bien, en lugar del CO₂, se ha reportado que el disulfuro de carbono permite la formación de derivados de 2-mercaptobencimidazol en condiciones básica y de reflujo (**Esquema 19b**)⁹⁸.



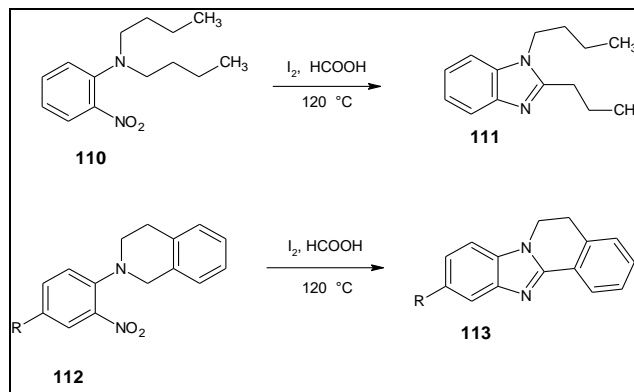
Esquema 19. a. Síntesis de Brahmayya **b.** Gurralla⁹⁸

2.2.3.2. Reducción *in situ* y Ciclación Intramolecular de orto-nitroanilinas

En diversas estrategias de síntesis, la reducción de *o*-nitroanilinas o fenilendiamina es considerado un paso importante para la síntesis de derivados de bencimidazol. Los mecanismos propuestos, involucran la reducción catalítica que requiere el equipo especializado, o bien, la reducción por transferencia de electrones mediante el empleo de catalizadores metálicos como estaño, zinc o hierro en un medio ácido^{84,99}.

No obstante, se han desarrollado rutas alternas de síntesis a partir de precursores con funcionalidades *orto*-nitro-amino que son transformados a bencimidazoles en un solo paso de reacción sin la necesidad de los catalizadores metálicos, por ejemplo, la reducción *in situ* de *o*-nitroanilinas *N*-sustituidas y su reacción con aldehídos empleando etanol y exceso de ditionito de sodio como agente reductor (**Esquema 12**), permite la formación de bencimidazol por transferencia de un electrón⁹².

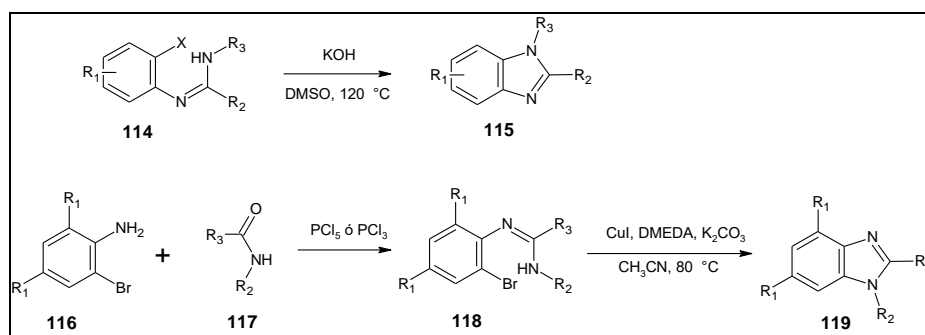
Mientras que la síntesis reportada por Nguyen y colaboradores¹⁰⁰ (**Esquema 20**) involucra la ciclación reductiva de *orto*-nitro-ter-anilinas **110** y **111** en un solo paso para sintetizar bencimidazoles 1,2-disustituidos **112** ó bencimidazoles policíclicos **113**. La reacción emplea yodo molecular en conjunto con ácido fórmico que actúa como agente reductor y es llevada a cabo bajo atmósfera de argón a 120°C.



Esquema 20. Síntesis de Nguyen a partir de orto-nitro-ter-anilinas^{99,100}

2.2.3.3. Ciclación Intramolecular de Arilamidinas (N-arilación)

En la metodología reportada por Baars y colaboradores¹⁰¹ (**Esquema 21**), la arilamidina **114** es ciclada intramolecularmente calentando a 120°C en DMSO y KOH concentrado de 12 a 24 horas. La reacción se lleva a cabo a través de un mecanismo concertado con la formación de derivados sustituidos en N-1, C-2 y en el anillo de benceno **115**¹⁰². De forma similar, Liubchak y colaboradores¹⁰³ (**Esquema 21**) parten de la reacción de la *o*-bromoanilina **116** con diferentes amidas cíclicas **117** en presencia de POCl₃ ó PCl₅ formando la *o*-bromoamidina **118**, esta última es ciclada a través de un mecanismo similar al acoplamiento cruzado, calentándose a 80 °C en acetonitrilo en presencia de CuI, DMEDA y carbonato de potasio; siendo posible preparar bencimidazoles tricíclicos a través de N-1 y C-2 de la porción imidazólica **119**.



Esquema 21. Síntesis de bencimidazoles a partir de aril amidinas¹⁰²

2.2.4. Aplicaciones Biológicas

El anillo de bencimidazol es un fragmento estructural presente en moléculas de gran importancia biológica y farmacológica. La optimización de los sustituyentes alrededor de su estructura ha resultado en varios compuestos de interés terapéutico, donde la modificación de las diferentes posiciones en el anillo puede llevar a diversos mecanismos de acción, como son el estrés oxidativo, acción enzimática o mecanismos mediados por receptores^{78,79}. La diversidad que brinda el anillo de bencimidazol para

ser modificado ha permitido situarlos en fases de investigación y en desarrollo, mientras que otros ya son comercializados para uso clínico. Los fármacos más notables y con usos terapéuticos más comunes (**Figura 15**) han sido antiparasitarios (albendazol **120**)^{76,104–109}, antibacterianos^{110–119}, antivirales (enviradina **121**)^{120–124}, anticancerosos (bendamusina **122**)^{125–128}, antihipertensivos (candesartán **123**)^{129–131}, antihistamínicos (astemizol **124**)^{132–134}, antiinflamatorios (**125**)^{135–138}, antiácidos (omeprazol **126**)^{139,140}, entre varios más (**Figura 22**). Por lo que se esperaría la existencia de una actividad sinérgica al fusionar ambos farmacóforos.

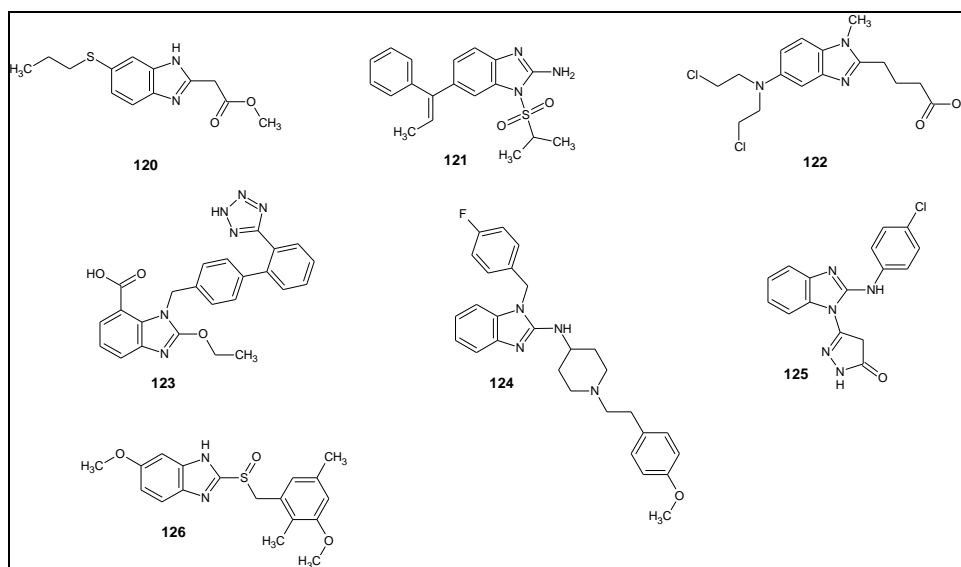


Figura 22. *Bencimidazoles con actividad biológica*¹²⁰⁻¹⁴⁰

2.3. Híbridos Fluoroquinolona - Bencimidazol

La relación estructura-actividad de las fluoroquinolonas ha permitido conocer a detalle las interacciones que llevan a cabo los grupos funcionales en cada posición de su estructura con ciertas funcionalidades en el sitio diana para ejercer su efecto farmacológico dando lugar a fármacos excepcionales. Sin embargo, el fenómeno de resistencia se ha convertido en un potencial problema de salud^{141,142}. Por lo que, los

actuales proyectos de investigación están enfocados al desarrollo de nuevas bibliotecas de compuestos activos capaces de actuar en contra de las cepas resistentes^{142,143}.

La hibridación, es una estrategia que consiste en la incorporación de dos o más farmacóforos para formar una sola molécula con múltiples mecanismos de acción¹⁴⁴; en el caso de las quinolonas, ha sido empleada para el desarrollo de nuevos agentes quimioterapéuticos, con la fusión de diversos farmacóforos generando derivados tricíclicos, es decir, por medio de la fusión de la quinolona con anillos de imidazol **127**, triazol **128**, pirazol **129** ó tiazol **130** (**Figura 23**), a pesar de ello, siguen manteniendo un gran interés debido a que han demostrado una prometedora actividad biológica *in vitro*^{145,146}.

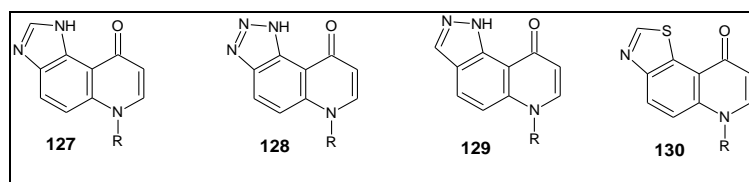
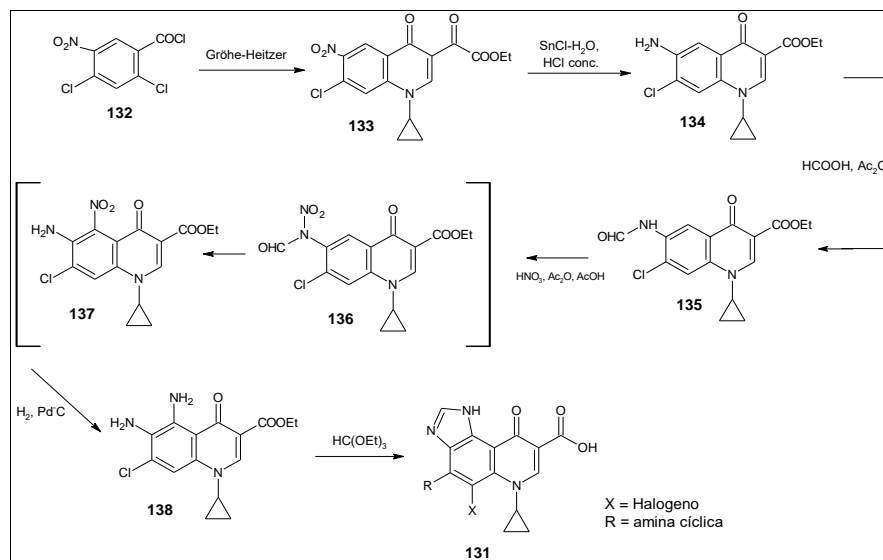


Figura 23. Distintos tipos de híbridos fluoroquinolona-heterociclo^{143,144}

En 1995 Fujita y colaboradores¹⁴⁵ reportaron la síntesis de híbridos de imidazo[4,5-f]quinolona **131** (**Esquema 22**) y su evaluación antibacteriana contra cepas de *S. aureus* y Gramnegativos como *E. coli* y *P. aeruginosa*, alcanzando CMI similares a la sparfloxacin **36** y, en algunos casos, a la ciprofloxacina **15**. Además, se demostró que la vía de administración de los derivados quinolónicos en modelos murinos infectados con *P. aeruginosa*, resulta de gran importancia, ya que por vía IV (intravenosa) inhibió el desarrollo de la cepa a dosis mínimas efectivas, equivalentes a las presentadas por la sparfloxacin y cercanas a la ciprofloxacina. Sin embargo, tras la administración por vía oral se observó una remarcable disminución de la eficacia debido a problemas de solubilidad y absorción gastrointestinal que limitaron la actividad antibacteriana.

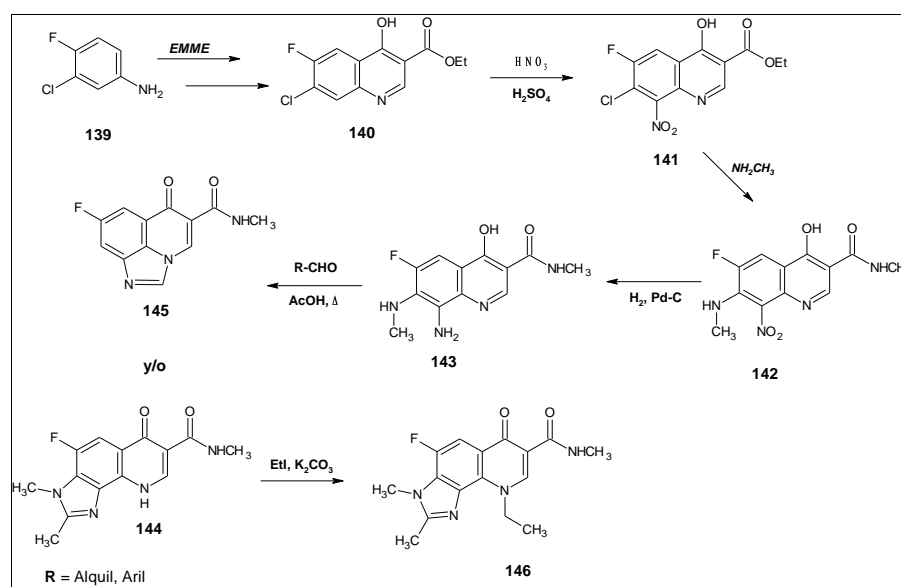
Para la síntesis de imidazo[4,5-f]quinolona **131**, se parte del cloruro de 2,4-dicloro-5-nitrobenzoilo **132** para obtener el intermediario 6-nitroquinolona **133** como variante del mecanismo de Gröhe-Heitzer para la síntesis de fluoroquinolonas. El grupo nitro de este intermediario es reducido con cloruro de estaño en medio ácido, después, el grupo amino formado **134** es protegido con el formilo **135**; posterior a esto, se lleva a cabo una reacción de nitración empleando una mezcla de ácido nítrico, ácido acético y anhídrido acético a 0 °C para producir el intermediario *N*-nitro-*N*-formilo **136**, presentando un reacomodo en el sustituyente nitro y posicionándolo en C-5 junto con la hidrólisis del formilo formando el producto 6-amino-5-nitroquinolona **137**. Finalmente, a través de la reducción catalítica se obtiene el derivado 5,6-diaminoquinolona **138** que es el precursor junto con el formiato de trietilo HC(OEt)₃ para la síntesis de los híbridos bencimidazol-fluoroquinolona de interés **131**.



Esquema 22. Síntesis de Fujita y cols. para híbridos de fluoroquinolona-bencimidazol¹⁴⁵

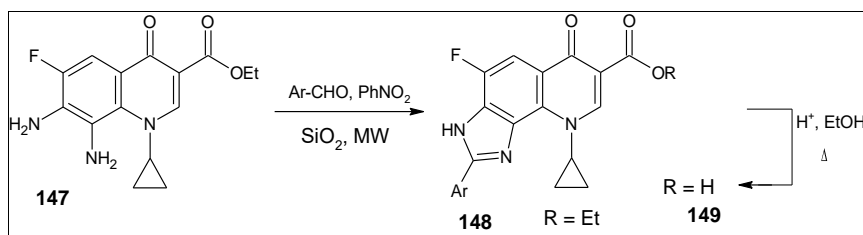
Por otro lado, la fusión del imidazol en posiciones 1,8 y 7,8 de la 3-carboxilamida-4-quinolona por Reddy y colaboradores¹⁴⁷ (**Esquema 23**) exhibieron una moderada actividad *in vitro* contra cepas de microorganismos Grampositivos como *S. aureus* y *B. subtilis*; y Gramnegativos como *P. aeruginosa* y *Klebsiella aerogenes*.

La síntesis del imidazol fusionado a la 3-carboxamida-4-quinolona parte de la reacción del etoximetileno malonato de dietilo (EMME) con 3-cloro-4-fluoroanilina **139** para formar la hidroxiquinolona **140** el cual se somete a una nitración convencional para formar la 8-nitrofluoroquinolona **141**, después, al reaccionar con un exceso de metilamina forma el intermediario 7-amino-8-nitro-3-amido-fluoroquinolona **142** que se somete a reducción catalítica para dar lugar al compuesto 7,8-diaminado **143**. Posterior a ello, se lleva a cabo la reacción con aldehídos para la formación del producto híbrido 6-fluoro-4-hidroxi imidazo[4,5-*h*]-quinolina-3-amida **144**, ó en el caso de aldehídos aromáticos, se produce la mezcla de productos imidazo[4,5-*h*]-quinolina-3-amida **144** y el imidazo[4,5-*i*,*l*]-quinolon-3-amida **145**, debido a que los aldehídos aromáticos son más propensos a sufrir ataques nucleofílicos. Finalmente, los híbridos imidazo[4,5-*h*]-quinolona **144** son alquilados en N-1 con iodoetano para obtener el producto **146**.



Esquema 23. Síntesis de Reddy de híbridos fluoroquinolona-benzimidazol¹⁴⁷

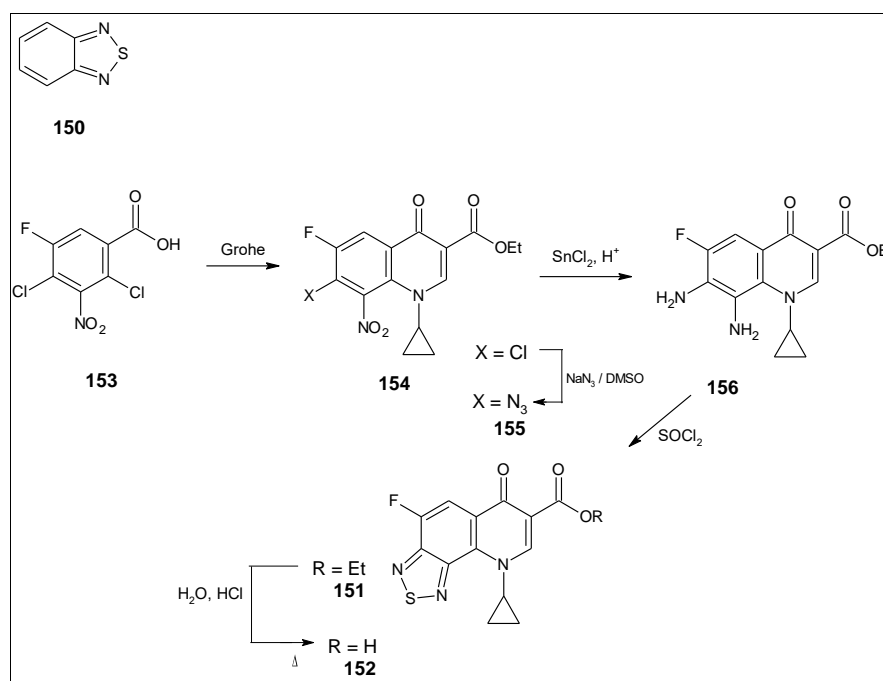
En 2015, Zahra y colaboradores¹⁴⁸ llevaron a cabo la síntesis de híbridos de imidazo[4,5-*h*]quinolona incorporando diferentes sustituyentes arilo en C-2, optimizando condiciones de reacción mediante el empleo de radiación de microondas como fuente de energía alterna (**Esquema 24**). Los compuestos sintetizados exhibieron buena actividad antimicrobiana en contra de cepas Grampositivos y Gramnegativos con CMI de 0.15-3 µg/ml y 0.7-3.0 µg/ml, respectivamente. La síntesis, involucra al precursor 7,8-diaminofluoroquinolona **147**, es adsorbido en sílica gel en presencia de nitrobenceno como agente oxidante, seguido, se adiciona el arilaldehído o ácido carboxílico correspondiente y se coloca debidamente en un reactor de microondas 8-10 minutos a 140 °C y 350 W para formar el 2-arilbencimidazol **148**. El paso final es la hidrólisis del éster para generar los híbridos bencimidazol-fluoroquinolona de tipo **149**.



Esquema 24. Síntesis de Zahra y cols. de híbridos fluoroquinolona-bencimidazol¹⁴⁸

Además del núcleo de bencimidazol, se ha demostrado que heterociclos similares como el anillo de benzo-[*c*]-1,2,5-tiadiazol **150** muestra una variedad de propiedades antimicrobianas^{149,150}. Bajo esta premisa, Al-Qawasmeh y colaboradores¹⁵¹ reportaron la síntesis de compuestos híbridos ácido 9-ciclopropil-4-fluoro-6-oxo[1,2,5]tiadiazolo[3,4-*h*]quinolin-5-carboxílico **152**; mostrando actividad *in vitro* tanto en la forma éster **151** como de ácido carboxílico **152** contra cepas de bacterias Grampositivas y Gramnegativas, algunas resistentes a fármacos como metilciclina y ciprofloxacina.

El proceso de síntesis de estos híbridos, parte del ácido 2,4-dicloro-5-fluoro-3-nitrobenzoico **153** siguiendo un mecanismo similar al de Gröhe para producir el compuesto **154**, este reacciona con azida de sodio para generar el compuesto **155** que es reducido a amina con cloruro de estaño en medio ácido obteniendo el precursor 7,8-diaminofluoroquinolona **156**; la reacción subsecuente con cloruro de tionilo produce el híbrido **151** que es hidrolizado en medio ácido para producir la molécula **152** (Esquema 25).



Esquema 25. Síntesis de híbridos tiadiazolo-fluoroquinolona propuesta por Al-Qawashme y colaboradores¹⁵¹

Bajo estos antecedentes, el presente trabajo de investigación se enfoca a establecer una ruta alternativa para la síntesis del intermediario 7-amino-8-nitrofluoroquinolona el cual es esencial para la preparación de una serie de híbridos imidazo[4,5-*h*]quinolona con funcionalización en C-3 quinolónico en forma de éster de borato con la variación de los sustituyentes en el imidazol.

Para ello, los estudios de acoplamiento molecular permiten predecir la interacción de los nuevos compuestos híbridos con las dianas biológicas enfocadas a la terapéutica antimicrobiana y antitumoral, estableciendo aquellos candidatos que presenten mayor actividad *in silico* permitiendo un tamizado sobre los derivados con menor probabilidad de éxito.

2.4. Acoplamiento Molecular

2.4.1. Generalidades

El desarrollo de un medicamento (presentación farmacéutica del fármaco) para uso clínico sigue un proceso de investigación largo, costoso y de elevada dificultad; uno de cada 5.000 fármacos que entran a la etapa de ensayos preclínicos será aprobado para uso terapéutico. Con el paso del tiempo surge la necesidad de integrar diversas disciplinas científicas e incluso de otras áreas para trabajar en conjunto con el objetivo de generar nuevos fármacos más seguros y eficientes, escatimando tiempo y recursos¹⁵².

Los métodos de química computacional (conocidos como *in silico*) han permitido estudiar de manera teórica propiedades moleculares tales como momento dipolar, polarización, energías relativas, propiedades espectroscópicas, propiedades fisicoquímicas, mecanismos de reacción, modelado y arreglos geométricos de intermediarios y estados de transición, así como la interacción de ligantes con dianas biológicas. Para ello, se fundamenta en ecuaciones matemáticas basadas en la mecánica cuántica y la mecánica molecular para simular los procesos en un ordenador, y con ello, complementar y respaldar el trabajo de síntesis en el laboratorio¹⁵³.

El estudio de acoplamiento molecular o Docking molecular es una herramienta para el diseño de fármacos asistido por computadora basado en la estructura del receptor, trabaja en conjunto con la síntesis orgánica asignando prioridades sobre las moléculas

en las que es más conveniente enfocar los esfuerzos experimentales y descartar aquellas que solo ocasionen el desperdicio de recursos¹⁵⁴.

La técnica consiste en identificar el modo de interacción, es decir, la orientación y conformación más estable que el ligando adopta en la cavidad de una diana molecular. Debido a la flexibilidad de las moléculas y la plasticidad de la cavidad del sitio de interacción pueden existir variedad de conformaciones y posiciones de interacción con el receptor. El uso de computadoras y algoritmos basados en la energía ayudan a acelerar el proceso y sugerir modelos de unión que pueden demostrarse mediante la cristalografía por difracción de rayos X del complejo ligando-receptor¹⁵⁴.

La posibilidad de estudiar moléculas formadas por un gran número de átomos como las proteínas y los ácidos nucleicos radica en que se emplea un modelo de pelotas y resortes para representar el enlace y los átomos sin diferenciar entre núcleos ni electrones (menor costo computacional). Se emplean las bases de la mecánica molecular (física clásica) para describir la energía potencial asociada al tipo de movimiento de los enlaces como lo es el estiramiento, flexión, torsión, deformación, así como las fuerzas intermoleculares. La suma de todas las interacciones determina la distribución espacial (conformación) de un conjunto de átomos (**Ecuación 1**)^{153,155}.

$$E_T = E^{estir} + E^{def} + E^{ffp} + E^{tor} + E^{cruz} + E^{vdw} + E^{elec}$$

Ecuación 1. Cálculo de energía potencial asociada al tipo de movimiento de los enlaces. En un campo de fuerza, la energía potencial total (E_T) es la suma de las energías de estiramiento de enlace (E^{estir}), deformación de ángulo de enlace (E^{def}), flexión fuera del plano (E^{ffp}), torsión de enlace (E^{tor}), fuerzas de Van der Waals (E^{vdw}) e interacciones intermoleculares (E^{elec})¹⁵⁶.

El acoplamiento molecular consta de dos componentes para la generación de resultados, el primero consiste en la búsqueda de la conformación y orientación óptima de las moléculas para la interacción (docking); el segundo, denominado “scoring” tiene la finalidad de medir el grado de interacción ligando-receptor asignando valores de

energía libre del sistema. El *scoring* se efectúa a todas las posibles conformaciones encontradas tornando complicado calcular con precisión y en poco tiempo la energía mínima de manera certera¹⁵⁴.

Para efectuar los cálculos correspondientes es necesario el empleo de un campo de fuerza el cual consiste en un conjunto de funciones y criterios para estimar la energía potencial del sistema en función del tiempo describiendo todos los enlaces y las interacciones intermoleculares¹⁵⁷. Con ello, es posible asignar a cada átomo la etiqueta correcta especificando las coordenadas atómicas iniciales y la conectividad de cada átomo de la molécula para obtener una expresión matemática sólida que proporcione valores numéricos interpretables sobre la probable interacción. Existe un amplio catálogo de simuladores de campo de fuerza dependiendo del estudio computacional a realizar; el campo de fuerza universal permite estimar la energía potencial con la particularidad de que al no ser reactivo es posible realizar modificaciones en la geometría (enlaces rotables) sin la ruptura o formación de enlaces covalentes¹⁵⁸.

Bajo un campo de fuerza adecuado el cálculo de energía potencial entre la interacción ligando-receptor relaciona la energía libre Gibbs con la constante de inhibición mediante la **Ecuación 2** en donde ΔG es la diferencia de la energía libre de Gibbs, ΔH es la diferencia de entalpía, T es la temperatura absoluta, ΔS diferencia de entropía, R es la constante del gas ideal y K_i es la constante de inhibición^{159,160}.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT\ln K_i$$

Ecuación 2. Relación de la energía libre de Gibbs con la constante de inhibición¹⁶⁰.

El cambio en la energía libre de Gibbs determina si una reacción es espontánea (ΔG negativo) o no espontánea, de todas las conformaciones acopladas aquella que arroje el resultado con el valor más negativo representará la mejor evaluación y el modo de interacción con mayor probabilidad de éxito. La constante de equilibrio se aplica al

proceso de disociación del complejo enzima-ligando similar al equilibrio ácido-base, de esta forma el valor de energía libre se relaciona con la constante para evaluar la capacidad de inhibición enzimática; a menor ΔG mayor inhibición (valor de K_i pequeño)^{153,160}.

En conclusión, el acoplamiento molecular es una herramienta efectiva para proponer modelos de interacción; sin embargo, los valores de ΔG y K_i obtenidos son producto de la medida de las energías en una situación hipotética haciendo que los resultados no representen un valor fisicoquímico real que garantice un comportamiento similar en los ensayos experimentales (ambos son complementarios). Este problema es mitigado sometiendo los modelos obtenidos por acoplamiento molecular a sistemas de cómputo más refinados que soporten cálculos de modelado molecular con niveles de teoría más elevados (mecánica cuántica).

2.4.2. Paquete Computacional Autodock 4.2

Los sistemas de cómputo más utilizados para llevar a cabo estudios de acoplamiento molecular son Autodock 4.2 (versión libre), Le dock, Autodock Vina, entre otros.¹⁵⁷

Autodock 4.2 es una versión libre utilizada como herramienta computacional para predecir interacciones ligando-receptor explorando distintas conformaciones (grados de libertad) para proponer un modelo de interacción en base a los valores de energía obtenidos. El paquete cuenta con 3 herramientas: 1) Autodocktools, permite establecer las coordenadas de la molécula en estudio y los coloca en los archivos de salida “.pdb” y “.pdbqt”, esta herramienta también permite visualizar una simulación de la interacción ligando-receptor. 2) Autogrid, calcula los potenciales de afinidad para cada átomo presente en la molécula, además de delimitar la superficie de interacción, los resultados obtenidos se representan mediante el “gridbox”. 3) Autodock, realiza el acoplamiento basándose en algoritmos genéticos Lamarckianos y parámetros de búsqueda local basados en la mecánica molecular^{153,157}.

2.4.3. Fluoroquinolonas y el Docking

La optimización de los sustituyentes en la estructura de las fluoroquinolonas de uso clínico y la adición de fragmentos o farmacóforos (hibridación) con actividad antimicrobiana y antitumoral es una atractiva estrategia que busca generar nuevas alternativas terapéuticas, en especial, en el ámbito de la resistencia hacia estos compuestos, en donde el docking molecular juega un papel importante en el diseño racional de nuevos fármacos¹⁶¹.

En este contexto, Norouzbahari y colaboradores¹⁶², reportaron el diseño, síntesis, estudio de acoplamiento molecular y evaluación biológica de nuevos análogos de fluoroquinolona fusionados a fragmentos de quinazolina **157**; esta última, presenta variedad de aplicaciones biológicas, entre ellas, destaca su actividad antimicrobiana.

Los nuevos derivados, mostraron de moderada a buena actividad *in vitro* en contra de tres cepas de Grampositivos (*Staphylococcus aureus* resistente a metilciclina, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) y tres Gramnegativos (*Pseudomona aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*) empleando cirpofloxacina y sarafloxacina como referencia. De los derivados sintetizados, el compuesto con sustituyentes: R₁ = OMe, R₂ = H, R₃ = ciclopropilo, mostró la mejor actividad *in vitro* en contra de la cepa de *S. aureus* resistente a metilciclina, a menor concentración a la mostrada por los fármacos de referencia.

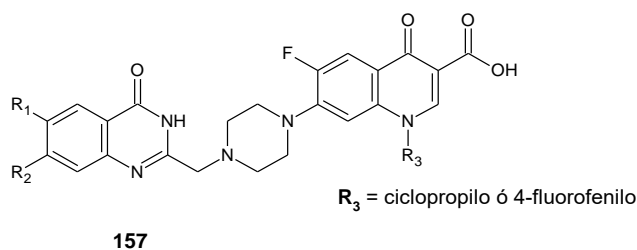


Figura 24. Híbrido fluoroquinolona-quinazolina

Así mismo, se realizó el estudio de acoplamiento molecular con el programa autodock 4.2.1. package para evaluar la energía de unión y el modo de interacción del derivado más potente en contra de la enzima ADN girasa (PDB: 2XCT), comparando los

resultados con la ciprofloxacina. Los resultados revelaron un modo de interacción similar entre ambas moléculas dentro del sitio activo de la enzima, además, se observaron las mismas interacciones con el ión Mn^{2+} (**Figura 25**). El nuevo derivado mostro una mayor energía de interacción (-17.73 Kcal/mol) en comparación con la ciprofloxacina (-12.83 kcal/mol). La adición del fragmento de quinazolina generó interacciones adicionales con la enzima de tipo Van der Waals e hidrofóbicas.

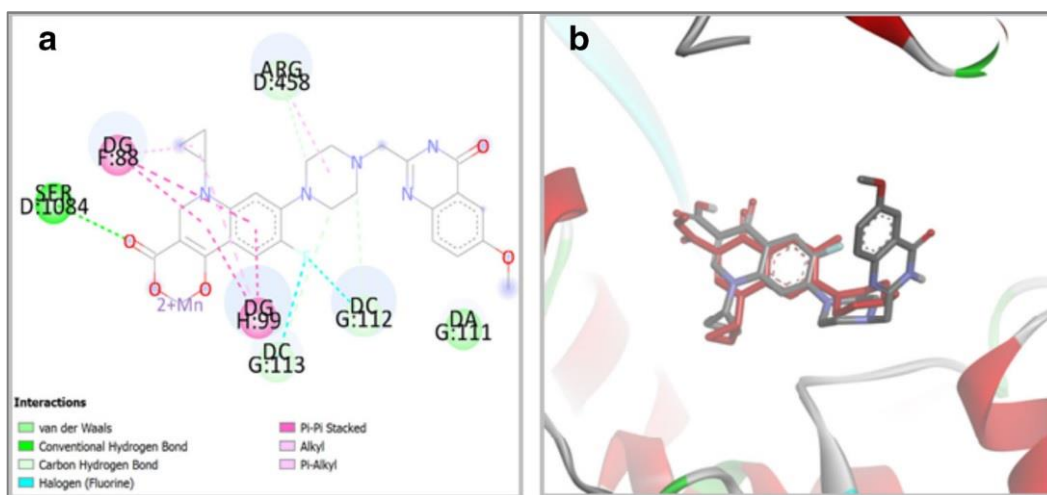


Figura 25. *a.* Representación 2D de la interacción del híbrido fluoroquinolona-quinazolina con la enzima; *b.* Superposición de la ciprofloxacina (rojo) con el híbrido (gris).

El docking se ha vuelto una herramienta útil para el diseño y síntesis de fármacos, con resultados favorables traducidos en costos y tiempo, generando derivados con mayor probabilidad de éxito en cuanto a actividad biológica. Sin embargo, es importante contar con bases teóricas y datos de referencia para así hacer una comparación significativa con la nueva información generada de los nuevos fármacos.

Atendiendo esta necesidad, Jadhav y Karuppayil¹⁶³ realizaron un estudio de acoplamiento molecular de 13 derivados de fluoroquinolona de uso clínico, dirigidos hacia las enzimas: topoisomerasa humana IIa (PDB : 4FM9) y la isoforma IIb (PDB : 3QX3). Para ello, emplearon el paquete computacional autodock 1.5.6rc2 para

establecer el tipo de interacciones, así como las energías de unión entre ligantes y enzimas.

Los resultados mostraron que las fluoroquinolonas interaccionan con residuos de aminoácido en el espacio del sitio activo de las enzimas estudiadas y con residuos del ADN, encontrando que la sparfloxacin presentó la mejor energía de unión hacia la Top2a (-8.17 kcal/mol), mientras que, para la Top2b el compuesto más activo fue la levofloxacin con una energía de unión de -11.78 kcal/mol.

Este estudio permite identificar aquellos derivados de fluoroquinolona con una prometedora actividad anticancerígena. Si bien, el uso clínico de los compuestos en estudio está enfocado a la quimioterapia antimicrobiana, es posible optimizar los sustituyentes para aumentar dicha actividad y/o reorientarlos hacia un uso como agentes antitumorales. No obstante, es necesario llevar a cabo experimentos de actividad anticancerígena *in vitro* e *in vivo* para posicionar estos fármacos como potenciales agentes antitumorales.

3. JUSTIFICACIÓN

El descubrimiento y desarrollo de la quimioterapia antimicrobiana trajo grandes avances y resultados favorables en el tratamiento de enfermedades infecciosas, las cuales en su época fueron de las principales causas de mortalidad. Con el transcurso de los años, el uso irracional de estos fármacos, incluso una incorrecta disposición de estos propició la generación de resistencia en muchos derivados de diversas familias (penicilinas, sulfas, macrólidos, tetraciclinas, fluoroquinolonas, etc.) extendiéndose cada vez a mayores regiones geográficas. La propagación de microorganismos resistentes pone en peligro la vida de cualquier organismo vulnerable al no contar con fármacos efectivos y seguros. Es por ello, que la búsqueda y desarrollo de nuevas moléculas con actividad hacia aquellos microorganismos resistentes es cada vez de mayor interés de los investigadores debido esta notable necesidad para la población en general.

Por otro lado, las fluoroquinolonas como los bencimidazoles que poseen buena actividad antimicrobiana, han demostrado una favorable farmacocinética que los hace efectivos contra un amplio espectro de patógenos, abarcando microorganismos de mayor complejidad como hongos y parásitos con una baja tasa de efectos adversos. El mecanismo de acción de cada uno de los farmacóforos de fluoroquinolonas y bencimidazoles (inhibición de topoisomerasas tipo 2, intercalación en el ADN) ha mostrado buena efectividad en contra de células tumorales *in vitro*, por lo que el estudio de nuevas alternativas antitumorales a través de la fusión de estos núcleos base son de gran interés.

La síntesis del imidazol fusionado entre C-7 y C-8 de la FQ es una estrategia que permite la generación de compuestos con potencial actividad antimicrobiana y antitumoral gracias a la probable sinergia en propiedades farmacológicas individuales de estos núcleos. Para ello es necesario un estudio de acoplamiento molecular para predecir la interacción de dianas farmacológicas (enzimas, proteínas, etc.) con las estructuras de nuevos híbridos, variando los sustituyentes para establecer aquellos con mayor actividad *in silico* y, en base a esto, enfocar los esfuerzos en la síntesis de aquellos derivados con potencial actividad *in vitro* optimizando costos y tiempo.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo General

- Síntesis de complejos 1-(etil/metil)-6-fluoro modificados en C-7 y C-8 y análisis comparativo del acoplamiento molecular, docking, de nuevos híbridos fluoroquinolona-bencimidazol, en la topoisomerasa IIa de *Mycobacterium tuberculosis* y humana.

4.2. Objetivos Particulares

- Sintetizar los complejos 1-(etil/metil)-6,7-difluoro- y 6-cloro-1-(etil/metil)-7-fluoro-quinolona-boro a partir de la 3,4-difluoro ó 3-cloro-4-fluoroanilinas.
- Incorporar el grupo amino en C-7 de la 6,7-difluoro ó 6-cloro-7-fluoroquinolona-boro, mediante el empleo de la *para*-metoxibencilamina.
- Llevar a cabo una nitración en C-8 de la 7-amino-1(etil/metil)-6-fluoroquinolona-boro.
- Elucidar los intermediarios de reacción mediante las espectroscopías de (IR, RMN ^1H , ^{13}C , ^{19}F y UV-Vis).
- Realizar el análisis comparativo de acoplamiento molecular de híbridos Fluoroquinolona-Bencimidazol dirigidas hacia las enzimas topoisomerasa II de *Mycobacterium tuberculosis* (código PDB: 5BTL) y topoisomerasa IIa humana (código PDB: 4FM9).

5. Material y Métodos

5.1. Técnicas de Análisis y Caracterización

5.1.1. Determinación del Punto de Fusión

Se empleó un aparato “Fisher-Johns”, en el cual se añadieron pocos miligramos de la muestra entre dos cubreobjetos redondos de vidrio, que fueron colocados sobre la placa de calentamiento del aparato. Posteriormente se elevó la temperatura gradualmente, obteniendo la lectura con un termómetro de mercurio situado en la base del cilindro metálico, registrando el valor donde se presenta el cambio de estado físico.

El punto de fusión de una sustancia sólida puede proporcionar su grado de pureza y en ocasiones la identificación del compuesto mismo, si se conoce el valor determinado. En algunos casos, se toma como referencia un rango menor a 2°C para considerarlo como puro, siendo medido desde la aparición de las primeras gotas, hasta que se licúan las últimas trazas del sólido en estudio. La presencia de compuestos

adicionales, así como humedad en la muestra, provoca la disminución del valor; por lo tanto, presenta variaciones en el mismo.

5.1.2. Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR)

Los espectros se realizaron en un espectrofotómetro “Nicolet iS10 FT-IR” (Thermo Scientific), equipado con accesorios: Smart OMN-Transmission, para el análisis de muestras por pastilla de KBr; y Smart iTR-ATR de diamante, para el análisis directo de muestras.

Esta técnica permite conocer los diferentes grupos funcionales presentes en la molécula. La longitud de onda utilizada (400 a 4000 cm^{-1}) causa diferentes vibraciones en toda la estructura proporcionando la naturaleza de los enlaces. Estas vibraciones son: alargamiento, tensión asimétrica, tensión simétrica, flexión en forma de tijera y flexión fuera del plano. Las vibraciones se presentan en una región determinada para ciertos grupos funcionales dando una huella dactilar.

5.1.3. Espectroscopía de Ultravioleta-Visible

Los espectros UV-Vis se obtuvieron mediante un espectrofotómetro “Shimadzu UV-2401 PC”, utilizando celdas de cuarzo de 0.5 cm marca Spectrocell. Se utilizó etanol como solvente.

La longitud de onda de luz ultravioleta (190-800 nm) proporciona energía necesaria para generar la transición de electrones de un orbital molecular a otro, observándose principalmente transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

5.1.4. Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de RMN de protón (^1H), carbono (^{13}C) y flúor (^{19}F) se obtuvieron en un espectrómetro “Bruker Ascend 400 MHz NMR spectrometer”. Los disolventes empleados fueron cloroformo deuterado (CDCl_3), dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO-}d_6$), acetona deuterada (CD_3COCD_3) y ácido trifluoroacético deuterado.

La técnica analítica de RMN es un método no destructivo que se utiliza para el estudio de los núcleos como ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F y ^{31}P , los cuales se someten a un campo magnético homogéneo donde absorben energía dentro del rango de correspondiente a radiofrecuencias (longitud de onda de 1×10^{-1} a 1×10^1 m). La energía absorbida permite identificar el desplazamiento químico que es influenciado por elementos que rodean al núcleo, así como propiedades que estos le brindan, tales como: protección, desprotección o bien, efecto inductivo; esos efectos ocasionan señales con diferentes desplazamientos químicos para cada tipo de núcleo. Los desplazamientos químicos (δ), son expresados en partes por millón (ppm); para indicar la multiplicidad exhibida en los espectros de RMN, se utilizan las abreviaturas: singulete (s), doblete (d), triplete (t), cuadruplete (c), quintuplete (q) y multiplete (m).

Tabla 1. Reactivos utilizados en la síntesis

| REACTIVO | FABRICANTE |
|---------------------------------|---------------|
| 3-cloro-4-fluoroanilina | Sigma-Aldrich |
| 3,4-difluoroanilina | Sigma-Aldrich |
| etoximetilenmalonato de dietilo | Sigma-Aldrich |
| iodometano | Sigma-Aldrich |
| iodoetano | Sigma-Aldrich |
| carbonato de potasio | Sigma-Aldrich |
| etileterato de trifluoroborilo | Sigma-Aldrich |
| <i>para</i> -metoxi-bencilamina | Sigma-Aldrich |
| ácido trifluoroacético | Sigma-Aldrich |
| ácido sulfúrico | Fermont |
| ácido nítrico | Jalmek |
| trietilamina | Sigma-Aldrich |

Tabla 2. Disolventes empleados en la síntesis y purificación

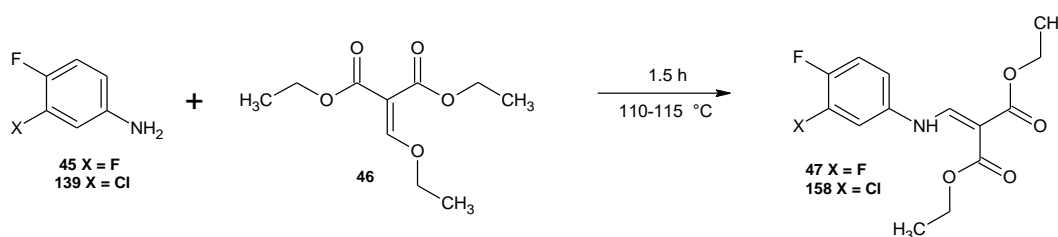
| DISOLVENTE | FABRICANTE |
|----------------------|---------------|
| agua destilada | Sigma-Aldrich |
| acetato de etilo | Jamlek |
| diclorometano | Jamlek |
| n-hexano | Jamlek |
| etanol | Jamlek |
| difenil éter | Sigma-Aldrich |
| N,N-dimetilformamida | Sigma-Aldrich |

Tabla 3. Softwares utilizados para el estudio de acoplamiento molecular

| SOFTWARE |
|-------------------------|
| autodock 4 y autogrid 4 |
| autoDockTools-1.5.6 |
| Meaestro (Schrodinger®) |

5.2 Metodología de Síntesis

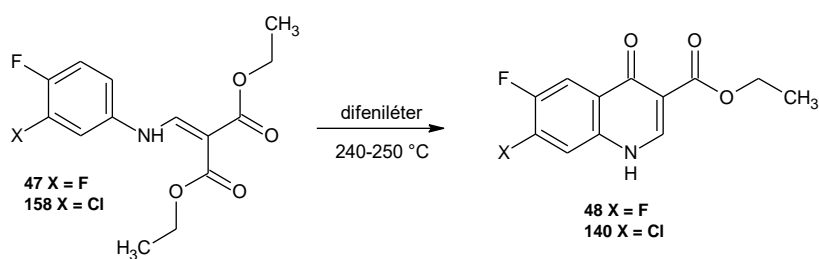
5.2.1. Síntesis de 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo **47 y 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo **158**.**



Se montó un sistema de reacción, en donde se colocaron 0.1 mL (1mmol) de la 3,4-difluoroanilina **45** ó 0.1455g (1 mmol) de 3-cloro-4-fluoroanilina **139** con 0.2020 mL (1 mmol) del etoximetilenmalonato de dietilo **46**. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a 110-115 °C por 1.5-2 horas, el etanol formado durante la reacción fue

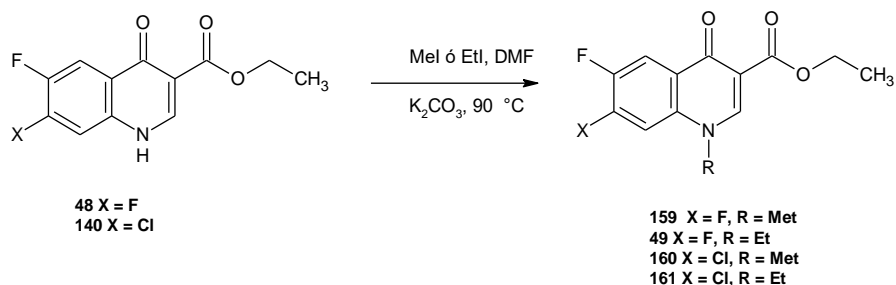
removido por destilación. Se dejó enfriar la mezcla resultando un precipitado crema, que se recrystalizó con 5 mL de etanol, observándose la formación del compuesto **47** ó **158** en forma de agujas blancas con un 83 ó 85 % de rendimiento y p.f. de 70-71 ó 55-57 °C, respectivamente.

5.2.2. Síntesis de 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **48 y 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **140**.**



Se utilizó un sistema a reflujo, donde se colocaron 10 mL de difeniléter, calentándose en un baño de aceite hasta alcanzar los 200°C. Después, se adicionaron gradualmente 2 g (6.704 mmol) del compuesto **47** ó 2 g (6.256 mmol) de **158**, originándose la formación de gases blancos y se incrementó la temperatura a 240-250 °C; transcurrido un tiempo, se observó la producción de explosiones acompañadas de la generación del sólido crema. Se mantuvo el sistema a reflujo por 2 horas con agitación constante; conforme transcurrió la reacción, la generación de gases blancos y la producción de explosiones fueron cada vez menos frecuentes. Finalmente, la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, después se filtró en vacío para separar el sólido obtenido y fue recrystalizado con 5 mL de etanol, resultando en un polvo blanco **48** ó **140** con un 85 ó 80 % de rendimiento y p.s. de 270-271 ó 288-290 °C, respectivamente.

5.2.3. Síntesis de: 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **159**, 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **49**, 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **160** y 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **161**.



La reacción se llevó a cabo en un sistema a reflujo adicionando las materias primas mostradas en la **Tabla 4**, empleando 10 mL de DMF como solvente. Se calentó en baño de aceite a 80-90°C y se dejó reaccionar por 8 horas; El KHCO_3 producido durante la reacción fue separado por filtración en caliente y lavado con 1 mL de etanol. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se adicionaron 15 mL de agua destilada helada formándose un precipitado blanco el cual fue filtrado al vacío, secado y recristalizado en 5 mL de etanol, resultando en cristales blancos rectangulares con un 82, 85, 60 ó 70 % de rendimiento y p.f. de 197-199, 140-141, 214-215 ó 139-141 °C.

Tabla 4. Condiciones de reacción para la N-alkilación.

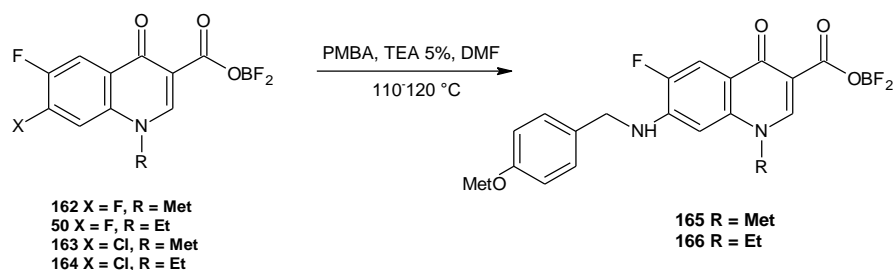
| Hidroxiquinolina (1 mmol) | | Alquilante (5 mmol) | | K_2CO_3 (2.5 mmol) | Producto |
|---------------------------|----------|---------------------|----------|------------------------------------|------------|
| 48 | 0.253 g | Iodometano | 0.365 ml | 0.344 g | 159 |
| 48 | 0.253 g | Iodoetano | 0.401 ml | 0.344 g | 49 |
| 140 | 0.2696 g | Iodometano | 0.365 ml | 0.344 g | 160 |
| 140 | 0.2696 g | Iodoetano | 0.401 ml | 0.344 g | 161 |

5.2.4. Síntesis de 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **162** 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **50**, 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **163** y 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **164**.



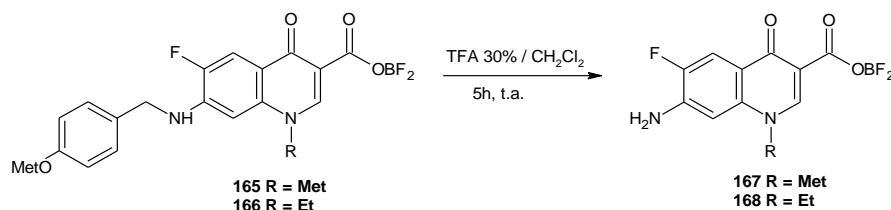
En un matraz redondo se colocaron 6 mL de difeniléter hasta alcanzar 200°C. Se agregó poco a poco 1.315 mmol del éster de la quinolona **159** (400 mg), **49**, **160** ó **161**; observándose la formación de vapores blancos en el interior del matraz. Posteriormente se agregaron 197 µL (1.578 mmol) del BF₃·(OEt)₂, dejando reaccionar por 25 minutos, observándose la formación de un sólido en las paredes del matraz y dejándolo enfriar a temperatura ambiente. El sólido resultante fue separado por filtración al vacío y lavado con acetato de etilo resultando un sólido fino de color amarillo pálido **162**, **50**, **163** ó **164** con un 96, 93, 90 ó 89 % de rendimiento y p.f. de 251-253, 262-264, 299-301 ó 274-277 °C, respectivamente.

5.2.5. Síntesis del 6-fluoro-1-metil-7-(para-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **165 y 1-etil-6-fluoro-7-(para-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **166**.**



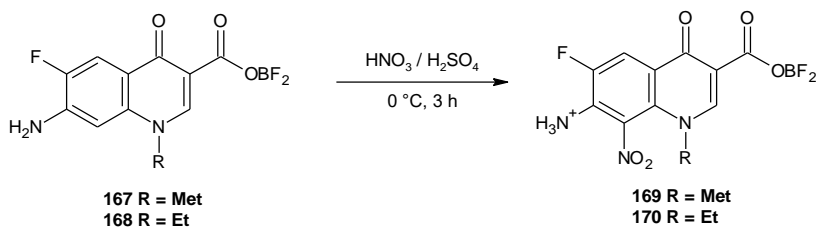
En un matraz redondo de 10 ml se añadieron 0.35 mmoles del éster de borilo de la fluoroquinolona **162**, **50**, **163** ó **164** (0.1 g, 0.105 g, 0.106 g ó 0.111 g), 1.05 mmoles de *p*-metoxibencilamina (PMBA) y 2.5 µL de trietilamina (TEA) en 5 mL de DMF. Se calentó a 110-120 °C durante 7-8 horas en un sistema a reflujo. En los primeros 30 minutos se observó que la mezcla de reacción adquiere un color amarillo, terminado el tiempo se torna naranja-ámbar. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, transferida a un vaso de precipitados y después se añaden 15 mL de agua destilada helada observando la formación de un precipitado amarillo canario, el cual se filtró al vacío y fue recristalizado en 5 mL de etanol obteniendo un sólido amarillo paja **165** ó **166** con un 88 ó 82 % de rendimiento y p.f. de 264-266 ó 283-286 °C, respectivamente.

5.2.6. Síntesis de 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **167** y 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **168**.



En un matraz redondo se colocaron 100 mg del compuesto **165** (0.251 mmol) ó de **166** (0.247 mmol) en 5 ml de una solución al 30 % de ácido trifluoro acético (TFA) en diclorometano (CH_2Cl_2) y se agitó a temperatura ambiente por 5 horas, terminado el tiempo se cambió el refrigerante a modo de destilación calentándose ligeramente para destilar el exceso de CH_2Cl_2 , después, la mezcla se vació en un vaso de precipitado y se añadieron 15 mL de agua destilada helada observando la formación de un precipitado blanquecino el cual se filtró al vacío y se recristalizó en 5 ml de etanol obteniendo un sólido blanco-crema **167** ó **168** con un 80 ó 60 % de rendimiento y punto de descomposición de 293-297 ó p.f. de 263-266 °C, respectivamente.

5.2.7. Síntesis de 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **169** y 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **170**.



Se colocó un matraz redondo de fondo plano en un baño de hielo a de 0 °C, en este, se añadieron 2 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado, se comenzó a agitar y se añadieron poco a poco 0.1 g del compuesto **167** (0.352 mmol) ó 0.1 g de **168** (0.335 mmol) formándose una solución color rosa-púrpura, se añadió gota a gota 1 mL de ácido nítrico concentrado observando que la mezcla cambia a un color naranja-ámbar. Se conectó el refrigerante en posición de reflujo y se dejó reaccionar por 3 horas bajo agitación manteniendo una temperatura de 0 °C. Terminado el tiempo, la mezcla fue transferida a un vaso de precipitados el cual contenía hielo picado para detener la reacción, luego se añadieron 15 mL de agua destilada helada observando la formación de un precipitado amarillo el cual fue filtrado y secado al vacío obteniendo un sólido amarillo canario que corresponde al compuesto **169** ó **170** con un rendimiento de 71 ó 66 % punto de descomposición de 293-297 ó p.f. de 142-145 °C, respectivamente.

5.3. Metodología General para el Estudio de Acoplamiento Molecular (Docking)

El estudio de acoplamiento molecular fue realizado a 10 estructuras de tipo híbrido fluoroquinolona-bencimidazol en forma de carboxilato **171 a-j**, además del etopósido **172** y la moxifloxacina **23** que fueron usadas como control, dirigido hacia las enzimas topoisomerasa IIa humana y la topoisomerasa II de *Mycobacterium tuberculosis* con el objetivo de evaluar aquellos candidatos con mejor actividad in silico para su posterior síntesis química empleando los precursores de 7-amino-8-nitro-fluoroquinolona previamente sintetizados escatimando tiempo y recursos valiosos.

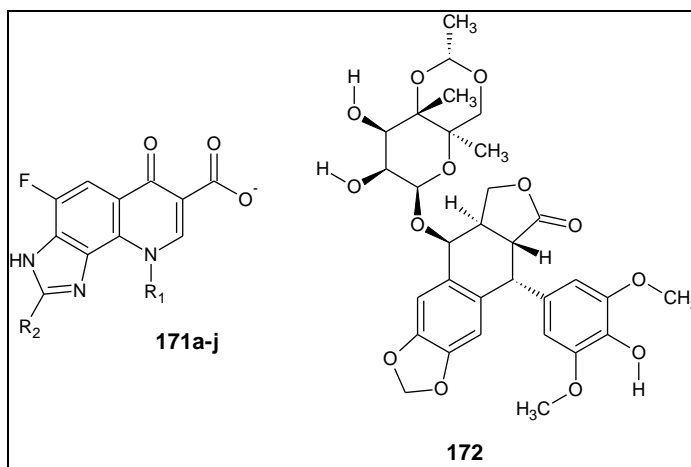


Figura 26. Estructura de los híbrido fluoroquinolona-bencimidazol propuestos **171a-j** y el etopósido **172**

5.3.1. Construcción y Optimización de los Ligandos

Se construye la estructura tridimensional de cada ligando control y de prueba con el programa Chem Draw obteniendo las estructuras en formato “sdf”; después, con el programa Maestro, la geometría es optimizada a nivel de mecánica molecular bajo un campo de fuerza para obtener la estructura de mínima energía. Las geometrías de los ligandos optimizados se guardan en un formato “.pdb” asignando así los tipos de átomos y sus enlaces con el objetivo de establecer las coordenadas conformacionales de cada ligando para el cálculo de acoplamiento molecular en el software.

5.3.2. Selección del Complejo Ligando-Proteína

De la base de datos en línea Protein Data Bank (<https://www.rcbs.org/pdb>) son obtenidos los archivos en formato “.pdb” correspondientes a las proteínas topoisomerasa IIa humana (código PDB: 4FM9) y la topoisomerasa II de *M. tuberculosis* (código PDB: 5BTL). Frecuentemente las estructuras protéicas han sido co-cristalizadas con fármacos y iones formando complejos enzima-ligando. En la descripción del archivo se puede encontrar información adicional sobre la presencia

de más elementos y moléculas presentes al momento de la difracción de rayos X, lo cual debe tenerse en cuenta ya que pueden variar los resultados del docking.

5.3.3. Preparación de la Proteína

El servidor libre Pymol permite manipular el complejo ligando-proteína para remover el ligante y moléculas de solvente que estuvieron presentes en la difracción de rayos X; además, los iones metálicos que pudiesen servir como cofactores y que tienen un valor significativo para la interacción pueden ser conservados. Una vez aislada la estructura de la enzima se genera un archivo “.pdb”.

A continuación, con el programa Maestro o con AutoDockTool se realiza un acondicionamiento de la proteína que consiste en asignar enlaces e hidrógenos, eliminar moléculas de agua y cationes metálicos (si así se requiere) para minimizar las fuerzas que pueden ejercer. El procedimiento de remover las moléculas de agua se realiza una segunda vez y por último se establecen los estados de protonación mediante la evaluación del pKa en condiciones de pH 7-7.3 (condiciones fisiológicas).

5.3.4. Cálculo de Acoplamiento Molecular

Los archivos “.pdb” correspondientes del ligando y la proteína son a continuación sometidos a un pretratamiento con el programa AutoDockTools, en donde a cada ligando se le asignan los enlaces rotables, mientras que a la proteína se le proporciona un carácter rígido asignando únicamente hidrógenos polares y cargas atómicas parciales de Koltman. Los archivos se guardan ahora en formato “.pdbqt”.

El siguiente paso es construir la caja de interacción con la herramienta Autogrid. Aquí se establece el espacio tridimensional (tamaño) de la caja, el número de puntos, así como las coordenadas X, Y, Z para delimitar el espacio de estudio. El documento generado para el docking dirigido se guarda como formato “.gpf”.

Para correr el cálculo se importan los archivos “.pdbqt” del ligando y la proteína además del archivo “.gpf” de la caja de interacción al programa AutoDock 4.2. Se establecen los parámetros de ligando flexible para explorar todas las posibles conformaciones

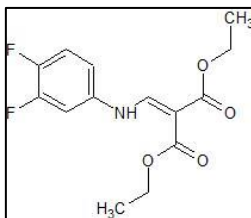
dentro de la macromolécula rígida mediante el uso de un algoritmo genético Lamarckiano, se genera un archivo “.dpf” con el cual ahora es posible realizar el cálculo de acoplamiento molecular utilizando Autogrid y AutoDock 4.2.

Finalmente, los mapas de interacción, así como los resultados de energía de interacción y constantes de inhibición pueden ser visualizados por medio de AutoDockTools, o bien, con el programa Maestro.

6. Resultados

6.1. Caracterización de Compuestos

6.1.1. 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo **47**



Cristales blancos en forma de agujas, 83% de rendimiento

p.f. 70-71 °C

Fórmula Química: C₁₄H₁₅F₂NO₄

PM: 299.27 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 1): Alargamiento N-H de amina secundaria (3249 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1088 cm⁻¹), alargamiento C-H aromático y vinílico (3060 cm⁻¹), alargamiento C-H alifático (2984 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1683 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1270 y 1222 cm⁻¹), alargamiento C=C de alqueno (1643 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1618 y 1505 cm⁻¹), alargamiento C-F (1222 y 1027 cm⁻¹).

UV-Vis (Espectro 19) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (288 nm) C=C de aromático, $\pi \rightarrow \pi^*$ (221 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (319 nm) C=O de éster conjugado.

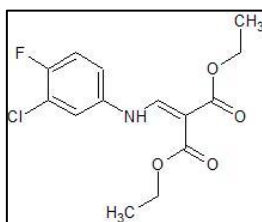
RMN de ¹H (Espectro 37) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.35, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 3H); 1.39, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 3H); 4.27, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 2H); 4.32, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 2H); 6.86, aromático (*m*, 1H); 6.99, aromático (*ddd*, $J_{HHorto} = 11.1$ Hz, $J_{HFmeta} = 6.58$,

$J_{\text{HHmeta}} = 2.78$ Hz, 1H); 7.19, aromático (*d*, $J_{\text{HForo}} = 9.48$ Hz, 1H); 8.38, vinílico (*d*, $J_{\text{HNH}} = 13.32$ Hz, 1H); 11.0, amínico (*d*, $J_{\text{HNH}} = 13.32$ Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 55) se determinó en DMSO-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 168.95 y 165.41 (C éster); 151.69 y 106.64 (C vinílico); 150.91, 146.39, 136.12, 118.39, 113.39, 94.62 (C aromático); 60.62 y 60.30 (C metilénico); 14.40 y 14.26 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 70) se determinó en DMSO-*d*₆ a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -134.17 (*d*, $J_{\text{FForo}} = 21.28$ Hz, 1F); -142.08 (*d*, $J_{\text{FForo}} = 21.28$ Hz, 1F).

6.1.2. 2-[(3-cloro-4-fluorofenilamino)-metileno]-malonato de dietilo **158**



Cristales blancos en forma de agujas, 85% de rendimiento

p.f. 55-57 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{ClFNO}_4$

PM: 315.7246 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 2): Alargamiento N-H de amina secundaria (3258 cm^{-1}), sobretono N-H de amina (3194 cm^{-1}), flexión N-H de amina (1264 cm^{-1}), alargamiento C-N amina (1070 cm^{-1}), alargamiento C-H aromático y vinílico (3078 cm^{-1}), alargamiento C-H alifático (2972 y 2910 cm^{-1}), alargamiento C=O de éster (1717 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1216 y 1202 cm^{-1}), alargamiento C=C de alqueno (1665 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1618 y 1506 cm^{-1}), alargamiento C-F (1025 cm^{-1}), alargamiento C-Cl (760 cm^{-1}).

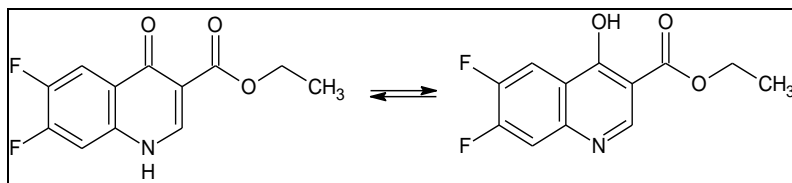
UV-Vis (Espectro 20) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (298 nm) C=C de aromático, $\pi \rightarrow \pi^*$ (219 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (319 nm) C=O de éster conjugado.

RMN de ^1H (Espectro 38), se determinó en CDCl_3 a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.35, metílico (*t*, $J_{\text{HH}} = 7.13$ Hz, 3H); 1.40, metílico (*t*, $J_{\text{HH}} = 7.13$ Hz, 3H); 4.28, metilénico (*c*, $J_{\text{HH}} = 7.13$ Hz, 2H); 4.33, metilénico (*c*, $J_{\text{HH}} = 7.13$ Hz, 2H); 7.01, aromático (*ddd*, $J_{\text{HHmeta}} = 2.78$ Hz, $J_{\text{HFmeta}} = 3.89$ Hz, $J_{\text{HHorto}} = 8.92$ Hz, 1H); 7.17, aromático (*dd*, $J_{\text{HHorto}} = 8.60$ Hz, $J_{\text{HForto}} = 8.62$ Hz, 1H); 7.22, aromático (*dd*, $J_{\text{HHmeta}} = 2.84$ Hz, $J_{\text{HFmeta}} = 6.04$ Hz, 1H); 8.39, vinílico (*d*, $J_{\text{HNH}} = 13.44$ Hz, 1H); 11.0, amínico (*d*, $J_{\text{HNH}} = 13.44$ Hz, 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 56), se determinó en CDCl_3 a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 169.00 y 165.47 (C éster); 156.58 y 116.91 (C vinílico); 151.73, 136.26, 122.30, 119.25, 117.53, 94.65 (C aromático); 60.62 y 60.31 (C metilénico); 14.42 y 14.26 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 71), se determinó en CDCl_3 a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -120.17 (s, 1F).

6.1.3. 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **48**



Polvo blanco, 85% de rendimiento

p.s. 270-271 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{F}_2\text{NO}_3$

PM: 253.2015 g/mol

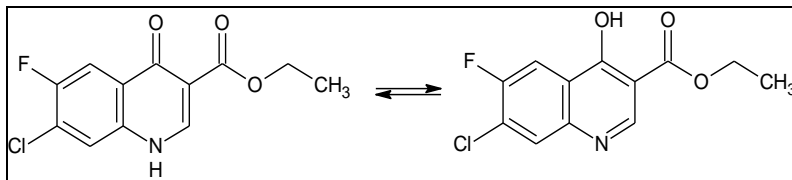
FTIR-ATR (Espectro 3): Alargamiento O-H de alcohol ($3200-2900\text{ cm}^{-1}$), alargamiento N-H de amina secundaria (3160 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1286 cm^{-1}), alargamiento C-H de aromático y vinílico (3105 cm^{-1}), alargamiento C-H de alifático (2990 cm^{-1}), alargamiento C=O de éster (1681 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1260 y 1199 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1618 y 1483 cm^{-1}), alargamiento C=C de alqueno (1585 cm^{-1}), alargamiento C-F de aromático (1205 , 1173 y 1083 cm^{-1}).

UV-Vis (Espectro 21) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (216 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (253 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (312 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (324 nm) C=O de cetona conjugada.

RMN de ^1H (Espectro 39) se determinó en TFA-*d*6 / DMSO-*d*6 a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.45, metílico (*t*, $J_{\text{HH}} = 7.16\text{ Hz}$, 3H); 4.69, metilénico (*c*, $J_{\text{HH}} = 7.16\text{ Hz}$, 2H); 7.95, aromático (*dd*, $J_{\text{HF}_{\text{meta}}} = 6.32\text{ Hz}$, $J_{\text{HF}_{\text{orto}}} = 9.08\text{ Hz}$, 1H); 8.32, aromático (*dd*, $J_{\text{HF}_{\text{meta}}} = 7.6\text{ Hz}$, $J_{\text{HF}_{\text{orto}}} = 9.04\text{ Hz}$, 1H); 9.27, vinílico (*s*, 1H); 11.5, amínico (*s*, 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 57) se determinó en TFA-*d*6 / DMSO-*d*6 a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 172.52 (C cetona); 167.19 (C éster); 156.28 y 105.08 (C vinílico); 158.81, 153.54, 150.93, 145.61, 143.73, 118.97 (C aromático); 64.81 (C metilénico); 11.95 (C metílico).

6.1.4. 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 140



Polvo blanco, 80% de rendimiento

p.s. 288-290 °C

Fórmula Química: C₁₂H₉ClFNO₃

PM: 269.6561 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 4): Alargamiento O-H de alcohol (3205-2800 cm⁻¹), N-H amina secundaria (3157 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1291 cm⁻¹), alargamiento C-H de aromático y vinílico (3092 cm⁻¹), alargamiento C-H de alifático (2988 y 2907 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1694 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1270, 1250 y 1170 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1609 y 1470 cm⁻¹), alargamiento C=N de imina (1525 cm⁻¹), alargamiento C=C de alqueno (1584 cm⁻¹), alargamiento C-F de aromático (1194 y 1170 cm⁻¹).

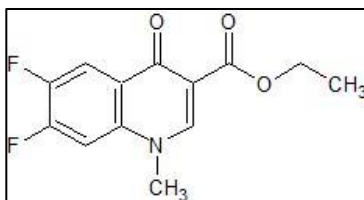
UV-Vis (Espectro 22) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (216 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (242 nm) C=O de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (252 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (305 nm) C=C de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (320 nm) C=C de cetona conjugada, $n \rightarrow \pi^*$ (332 nm) C-X de aromático.

RMN de ¹H (Espectro 40) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.56, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.20$ Hz, 3H); 4.72, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.20$ Hz, 2H); 8.14, aromático (*dd*, $J_{HFmeta} = 4.24$ Hz, $J_{HForto} = 9.30$ Hz, 1H); 8.34, aromático (*d*, $J_{HFmeta} = 4.60$ Hz, 1H); 9.36, vinílico (*s*, 1H); 11.62, amínico (*s*, 1H).

RMN de ¹³C (Espectro 58) en DMSO-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 172.64 (cetona); 167.15 (C éster); 157.07 y 105.10 (C vinílico); 159.66,

145.40, 136.11, 135.29, 122.51, 119.71 (C aromático); 64.81 (C metilénico); 11.90 (C metílico).

6.1.5. 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **159**



Cristales blancos rectangulares, 82% de rendimiento, p.f. 197-199 °C

Fórmula Química: C₁₃H₁₁F₂NO₃

PM: 267.2281 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 5): Alargamiento C-H de aromático y vinílico (3069 cm⁻¹), alargamiento C-H de alifático (2997 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1719 cm⁻¹), alargamiento C=O de piridona (1675 cm⁻¹), alargamiento C=C de alqueno (1638 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1612, 1477 cm⁻¹), flexión C-H de metilenos (1498 cm⁻¹), flexión C-H de metilos (1467 cm⁻¹), flexión de grupo ceto (1309 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1264 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1360 y 1223 cm⁻¹), alargamiento C-F de aromático (1180 y 1122 cm⁻¹).

UV-Vis (Espectro 23) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (213 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (251 nm) C=O de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (255 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (319 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (330 nm) C=O de cetona conjugada.

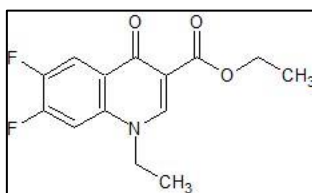
RMN de ¹H (espectro 41) se determinó en acetona-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.32, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.12$ Hz, 3H); 4.05, metílico (*s*, 3H); 4.27, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.12$ Hz, 2H); 7.80, aromático (*dd*, $J_{HF_{meta}} = 6.52$ Hz, $J_{HF_{orto}} =$

12 Hz 1H); 8.13, aromático (*dd*, $J_{HF_{meta}} = 8.56$ Hz, $J_{HF_{orto}} = 10.48$ Hz, 1H); 8.62, vinílico (*s*, 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 59) se determinó en acetona-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 171.53 (cetona); 164.51 (C éster); 150.4 y 106.31 (C vinílico); 154.24, 151.72, 149.18, 146.72, 114.03, 110.50, (C aromático); 59.76 (C metilénico); 41.09 y 13.81 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 72) se determinó en acetona-*d*₆ a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -131.54 (*d*, $J_{FF_{orto}} = 21.86$ Hz, 1F), -142.63 (*d*, $J_{FF_{orto}} = 21.86$ Hz, 1F).

6.1.6. 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **49**



Cristales blancos rectangulares, 85% de rendimiento, p.f. 140-141 °C

Fórmula Química: C₁₄H₁₃F₂NO₃

PM: 281.2547 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 6): Alargamiento C-H de aromático y vinílico (3029 cm⁻¹), alargamiento C-H de alifático (2984 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1717 cm⁻¹), alargamiento C=O piridona (1698 cm⁻¹), alargamiento C=C de alqueno (1695 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1618 y 1478 cm⁻¹), flexión C-H de metileno (1450), flexión C-H de metilos (1395 cm⁻¹), flexión de grupo ceto (1310 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1290 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1227 y 1182 cm⁻¹), alargamiento C-F de aromático (1110 y 1079 cm⁻¹).

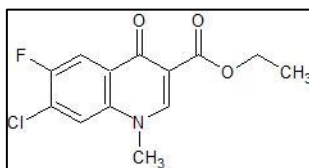
UV-Vis (Espectro 24) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (212 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (250 nm) C=O de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (253 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (318 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (330 nm) C=O de cetona conjugada.

RMN de ^1H (Espectro 42) se determinó en acetona- d_6 a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.27, metílico (t , $J_{\text{HH}} = 7.10$ Hz, 3H); 1.33, metílico (t , $J_{\text{HH}} = 7.10$ Hz, 3H); 4.20, metilénico (c , $J_{\text{HH}} = 7.10$ Hz, 2H); 4.37, metilénico (c , $J_{\text{HH}} = 7.10$ Hz, 2H); 8.05, aromático (m , 2H); 8.69, vinílico (s , 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 60) en acetona- d_6 a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 171.81 (cetona); 164.87 (C éster); 150.0 y 107.43 (C vinílico); 153.04, 147.91, 136.54, 126.20, 114.31, 110.249 (C aromático); 60.37 y 48.93 (C metilénico); 14.78 y 14.77 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 73) se determinó en acetona- d_6 a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -129.75 (ddd , $J_{\text{FForto}} = 22.80$ Hz, $J_{\text{HForto}} = 12.30$ Hz, $J_{\text{HFmeta}} = 9.00$ Hz, 1F); -140.64 (ddd , $J_{\text{FForto}} = 23.50$ Hz, $J_{\text{HForto}} = 10.80$ Hz, $J_{\text{HFmeta}} = 6.60$ Hz, 1F).

6.1.7. 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **160**



Cristales blancos rectangulares, 60% de rendimiento, p.f. 214-215 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{ClFNO}_3$

PM: 283.6827 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 7): Alargamiento C-H de aromático y vinílico (3069 cm^{-1}), alargamiento C-H de alifático (2997 cm^{-1}), alargamiento C=O de éster (1716 cm^{-1}),

alargamiento C=O de piridona (1673 cm^{-1}), alargamiento C=C de alqueno (1637 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1611 y 1467 cm^{-1}), flexión de metilenos (1476 cm^{-1}), flexión de metilos (1373 cm^{-1}), flexión de grupo ceto (1308 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1262 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1221 y 1179 cm^{-1}), alargamiento C-F de aromático (1049 cm^{-1}).

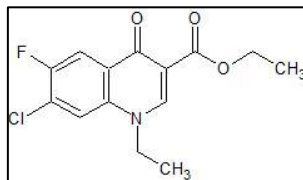
UV-Vis (Espectro 25) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (214 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (255 nm) C=C de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (261 nm) C=O de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (308 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (326 nm) C=O de cetona conjugada, $n \rightarrow \pi^*$ (337 nm) C-X de aromático.

RMN de ^1H (Espectro 43) se determinó en acetona- d_6 a 400 MHz obteniendo las siguientes señales ($\delta\text{ ppm}$): 1.32, metílico (t , $J_{\text{HH}} = 7.10\text{ Hz}$, 3H); 4.08, metílico (s , 3H); 4.27, metilénico (c , $J_{\text{HH}} = 7.10\text{ Hz}$, 2H); 7.99, aromático (d , $J_{\text{HF}_{\text{meta}}} = 5.86\text{ Hz}$, 1H); 8.08, aromático (d , $J_{\text{HF}_{\text{orto}}} = 9.44\text{ Hz}$, 1H); 8.62, vinílico (s , 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 61) se determinó en acetona- d_6 101 MHz obteniendo las siguientes señales ($\delta\text{ ppm}$): 171.57 (cetona); 164.47 (C éster); 150.42 y 112.68 (C vinílico); 156.26, 153.80, 137.33, 129.05, 125.76, 119.79 (C aromático); 59.76 (C metilénico); 41.06 y 13.81 (C metílico).

RMN de flúor ^{19}F (Espectro 74) se determinó en acetona- d_6 a 376 MHz obteniendo las siguientes señales ($\delta\text{ ppm}$): -121 (s , 1F).

6.1.8. 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 161



Cristales blancos rectangulares, 70% de rendimiento, p.f. 139-141 °C

Fórmula Química: C₁₄H₁₃ClFNO₃

PM: 297.7093 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 8): Alargamiento C-H de aromático y vinílico (3072 y 3049 cm⁻¹), alargamiento C-H de alifático (2987 y 2945 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1716 cm⁻¹), alargamiento C=O de piridona (1687 cm⁻¹), alargamiento C=C de alqueno (1610 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1596 y 1481 cm⁻¹), flexión C-H de metilenos (1462 cm⁻¹), flexión C-H de metilos (1373 cm⁻¹), flexión de grupo ceto (1308 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1264 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1206 y 1169 cm⁻¹), alargamiento C-F aromático (1099 cm⁻¹).

UV-Vis (Espectro 26) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (219 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (255 nm) C=O de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (260 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (307 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (329 nm) C=O de cetona conjugada, $n \rightarrow \pi^*$ (339 nm) C-X de aromático.

RMN de protón ¹H (Espectro 44) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.29, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 3H); 1.35, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 3H); 4.23, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 2H); 4.43, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 2H); 8.04, aromático (*d*, $J_{HF_{orto}} = 9.40$ Hz, 1H); 8.20, aromático (*d*, $J_{HF_{meta}} = 6.00$ Hz, 1H); 8.72, vinílico (*s*, 1H).

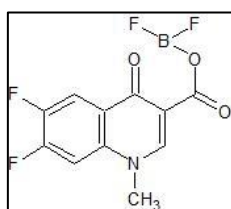
RMN de carbono ¹³C (Espectro 62) se determinó en DMSO-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 171.57 (cetona); 164.47 (C éster); 150.0 y

110.46 (C vinílico); 156.06, 129.22, 125.92, 120.58, 113.16, 112.94 (C aromático); 60.38 y 48.79 (C metilénico); 14.86 y 14.77 (C metílico).

RMN de flúor ^{19}F (Espectro 75) se determinó en $\text{DMSO-}d_6$ a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -120.03, (s, 1F).

6.1.9. 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo

162



Sólido crema brillante, 96% de rendimiento, p.f. 251-253 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{BF}_4\text{NO}_3$

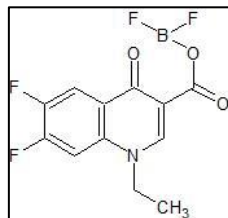
PM: 286.9748 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 9): Alargamiento C-H aromático y vinílico (3070 cm^{-1}), alargamiento C=O de éster (1698 cm^{-1}), alargamiento C=C de alqueno (1629 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1584 y 1486 cm^{-1}), flexión C-H de metilo (1392 cm^{-1}), flexión de grupo ceto (1313 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1273 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1212 y 1132 cm^{-1}), alargamiento C-F de aromático (1126 y 1039 cm^{-1}).

UV-Vis (Espectro 27) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (246 nm) C=C de cetona, $n \rightarrow \pi^*$ (308 nm) C=O de éster, $n \rightarrow \pi^*$ (320 nm) C=O de cetona.

RMN de ^1H (Espectro 45) se determinó en $\text{DMSO-}d_6$ 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 4.37, metílico (s, 3H); 8.57, aromático (d, $J_{\text{Hortho}} = 8.00$ Hz, 1H); 8.61, aromático (d, $J_{\text{Hortho}} = 8.00$ Hz, 1H); 9.61, vinílico (s, 1H).

6.1.10. 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 50



Sólido crema brillante, 93% de rendimiento, p.f. 262-264 °C

Fórmula Química: C₁₂H₈BF₄NO₃

PM: 301.0014 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 10): Alargamiento C-H aromático y vinílico (3082 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1711 cm⁻¹), alargamiento C=C de alqueno (1636 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1588 y 1486 cm⁻¹), flexión de metileno (1466 cm⁻¹), flexión C-H de metilo (1399 cm⁻¹), flexión de grupo ceto (1301 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1265 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1205, 1113 y 1034 cm⁻¹), alargamiento C-F de aromático (1080 y 1034 cm⁻¹).

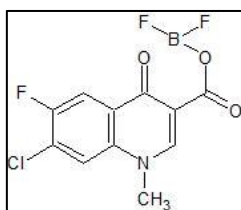
UV-Vis (Espectro 28) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (247 nm) C=O de cetona conjugada, $n \rightarrow \pi^*$ (305 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (319 nm) C=O de cetona conjugada.

RMN de ¹H (Espectro 46) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.47, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 3H); 4.86, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 2H); 8.54, aromático (*dd*, $J_{HF_{meta}} = 8.38$, $J_{HF_{orto}} = 9.8$ Hz, 1H); 8.69, aromático (*d*, $J_{HF_{meta}} = 6.62$ Hz, $J_{HF_{orto}} = 12$ Hz, 1H); 9.60, vinílico (*s*, 1H).

RMN de ¹³C (Espectro 63) se determinó en DMSO-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 169.22 (cetona); 157.85 (C éster); 151.63 y 107.85 (C vinílico); 155.34, 137.36, 130.78, 122.76, 111.89, 111.65 (C aromático); 52.13 (C metilénico), 15.39 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 76) se determinó en DMSO-*d*₆ a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -121.37 (*d*, $J_{\text{Fortho}} = 23.05$ Hz, 1F); -132.31 (*d*, $J_{\text{Fortho}} = 23.05$ Hz, 1F); -140.33 (*s*, 2F).

6.1.11. 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 163



Sólido color crema brillante, 90% de rendimiento, p.f. 299-301 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{BClF}_3\text{NO}_3$

PM: 303.4299 g/mol

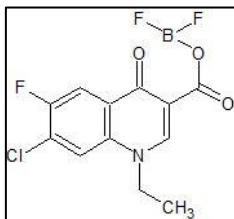
IR (Espectro 11): Alargamiento C-H de aromático y vinílico (3119 cm^{-1}), Alargamiento C=O de éster (1706 cm^{-1}), alargamiento C=C de alqueno (1636 cm^{-1} *), alargamiento C=C de aromático (1581 y 1476 cm^{-1}), flexión C-H de metilo (1392 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1263 cm^{-1}), alargamiento B-F (1192 y 1149 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1125 y 1019 cm^{-1}), alargamiento C-F (1045 cm^{-1}).

UV-Vis (Espectro 29) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (210 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (249 nm) C=O de cetona conjugada, $n \rightarrow \pi^*$ (306 nm) C=O de éster conjugado, $n \rightarrow \pi^*$ (315 nm) C=O de cetona conjugada, $n \rightarrow \pi^*$ (330 nm) C-X de aromático.

RMN de protón ^1H (Espectro 47) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 4.40, metílico (*s*, 3H); 8.49, aromático (*d*, $J_{\text{Hortho}} = 8.76$ Hz, 1H); 8.74, aromático (*d*, $J_{\text{Hmeta}} = 6.08$ Hz, 1H); 9.60, vinílico (*s*, 1H).

6.1.12. 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo

164



Sólido crema brillante, 89% de rendimiento, p.f. 274-277 °C

Fórmula Química: C₁₂H₈BClF₃NO₃

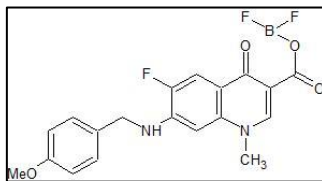
PM: 317.456 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 12): Alargamiento C-H de aromático (3100 y 3060 cm⁻¹), alargamiento C-H de alifático (2960 y 2850 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1702 cm⁻¹), alargamiento C=C de alqueno (1650 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1580 y 1455 cm⁻¹), flexión C-H de metileno (1485 cm⁻¹), flexión C-H de metilos (1390 cm⁻¹), flexión de grupo ceto (1305 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1260 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1230 y 1140 cm⁻¹), alargamiento C-F (1080 cm⁻¹).

UV-Vis (Espectro 30) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (220 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (234 nm) C=O de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (264 nm) C=O de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (280 nm) C=O de éster conjugado.

RMN de ¹H (Espectro 48) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.49, metílico (*t*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 3H); 4.92, metilénico (*c*, $J_{HH} = 7.10$ Hz, 2H) 8.49, aromático (*d*, $J_{Hortho} = 8.72$ Hz, 1H); 8.84, aromático (*d*, $J_{Hmeta} = 6.12$ Hz, 1H); 9.61, vinílico (*s*,1H).

6.1.13. 6-fluoro-1-metil-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 165



Sólido amarillo paja, 88% de rendimiento, p.f. 264-266 °C

Fórmula Química: C₁₉H₁₆BF₃N₂O₄

PM: 404.1475 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 13): Alargamiento N-H de amina secundaria (3268 cm⁻¹), alargamiento C-H de aromático y vinílico (3150 y 3050 cm⁻¹), alargamiento C-H de alifático (2998 y 2975 cm⁻¹), alargamiento C=O de éster (1710 cm⁻¹), alargamiento C=O de piridona (1633 cm⁻¹), alargamiento C=C de aromático (1585 y 1445 cm⁻¹), flexión N-H de amina secundaria (1505 cm⁻¹), flexión C-H de metileno (1474 cm⁻¹), flexión C-H de metilo (1392 cm⁻¹), alargamiento C-O de éster (1236 y 1178 cm⁻¹), alargamiento C-N de amina (1290 cm⁻¹), alargamiento C-F de aromático (1028 cm⁻¹).

UV-Vis (Espectro 31) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (223 nm) C=O de cetona insaturada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (280 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (342 nm) C=O de cetona insaturada.

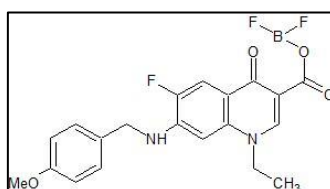
RMN de ¹H (Espectro 49) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 3.33, metílico (s, 3H); 3.72, metílico (s, 3H); 4.49, metilénico (*d*, $J_{\text{HNH}} = 6.05$ Hz, 2H); 6.71, aromático (*d*, $J_{\text{HFmeta}} = 7.24$ Hz, 1H); 6.91, aromático (*d*, $J_{\text{HHorto}} = 8.68$, Hz, 2H); 7.39, aromático (*d*, $J_{\text{HHorto}} = 8.64$ Hz, 2H); 7.69, amínico (s, 1H); 7.78 (*d*, $J_{\text{Horto}} = 8.92$ Hz, 1H); 8.78, vinílico (s,1H).

RMN de ¹³C (Espectro 64) se determinó en DMSO-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 176.37 (cetona); 166.97 (C éster); 151.53 y 106.43 (C

vinílico) 158.86, 149.07, 142.90, 142.75, 139.92, 130.53, 129.36, 119.07, 114.46, 114.34, 109.22, 97.14 (C aromático); 55.48 y 42.15 (C metílico), 45.38 (C metilénico).

RMN de ^{19}F (Espectro 77) se determinó en DMSO-*d*₆ a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -127.44 (s, 1F); -132.68 (s, 2F).

6.1.14. 1-etil-6-fluoro-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 166



Sólido amarillo paja, 82% de rendimiento, p.f. 283-286 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{BF}_3\text{N}_2\text{O}_4$

PM: 418.1741 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 14): Alargamiento N-H de amina secundaria (3265 cm^{-1}), alargamiento C-H de aromático y vinílico (3049 cm^{-1}), alargamiento C-H de alifático (2981 y 2936 cm^{-1}), alargamiento C=O de éster (1708 cm^{-1}), alargamiento C=O de cetona (1630 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1586 y 1410 cm^{-1}), flexión N-H de amina secundaria (1519 cm^{-1}), flexión C-H de metileno (1471 cm^{-1}), flexión C-H de metilo (1374 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1267 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1251 y 1234 cm^{-1}), alargamiento C-O de éter (1179 y 1094 cm^{-1}), alargamiento C-F de aromático (1048 cm^{-1}).

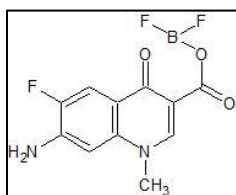
UV-Vis (Espectro 32) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (206 nm) C=O de éster insaturado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (225 nm) C=O de cetona insaturada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (282 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (344 nm) C=O de cetona

RMN de ^1H (Espectro 50) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.11, metílico (*t*, $J_{\text{HH}} = 7.08$ Hz, 3H); 3.71, metílico (*s*, 3H); 4.39, metilénico (*c*, $J_{\text{HH}} = 7.08$ Hz, 2H); 4.51, metilénico (*d*, $J_{\text{HNH}} = 5.54$ Hz, 2H); 6.67, aromático (*d*, $J_{\text{HFmeta}} = 7.24$ Hz, 1H); 6.91, aromático (*d*, $J_{\text{HHorto}} = 8.68$ Hz, 2H); 7.38, aromático (*d*, $J_{\text{HHorto}} = 8.72$ Hz, 2H); 7.74, amínico (*s*, 1H); 7.78 (*d*, $J_{\text{HForto}} = 11.84$ Hz, 1H); 8.79, vinílico (*s*, 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 65) se determinó en DMSO-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 176.29 (cetona); 166.91 (C éster); 148.16 y 106.98 (C vinílico) 158.87, 151.52, 148.16, 142.83, 142.68, 138.51, 130.53, 129.03, 114.95, 114.45, 110.23, 100.24 (C aromático); 55.53 y 14.29 (C metílico); 49.3 y 45.3 (C metilénico).

RMN de ^{19}F (Espectro 78) se determinó en DMSO-*d*₆ a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -127.43 (*s*, 1F); -132.68 (*s*, 2F).

6.1.15. 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 167



Sólido crema, 80% de rendimiento, 265-270 °C cambia a café, funde a 293-297 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{11}\text{H}_8\text{BF}_3\text{N}_2\text{O}_3$

PM: 283.999 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 15): Alargamiento N-H de amina primaria (3325 y 3213 cm^{-1}), sobretono N-H de amina (3597 y 3464 cm^{-1}), sobretono C=O de éster (3381 cm^{-1}), alargamiento C=O de éster (1694 cm^{-1}), alargamiento C=O de cetona (1622 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1622 y 1451 cm^{-1}), flexión C-H de metilo (1398 cm^{-1}),

alargamiento C-N de amina (1327 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1210 y 1101 cm^{-1}), alargamiento C-F de aromático (1040 cm^{-1}).

UV-Vis (Espectro 33) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (206 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (225 nm) C=O de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (276 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (319 nm) C=O de éster conjugado.

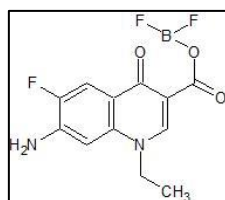
RMN de ^1H (Espectro 51) se determinó en DMSO-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 3.93, metílico (s, 3H); 6.69, amina (s, 2H); 6.95, aromático (*d*, $J_{\text{H}^{\text{F}}_{\text{meta}}} = 7.74\text{ Hz}$, 1H); 7.79, aromático (*d*, $J_{\text{H}^{\text{F}}_{\text{orto}}} = 11.52\text{ Hz}$, 1H); 8.84, vinílico (s, 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 66) se determinó en DMSO-*d*₆ 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 176.51 (cetona), 167.02 (C éster); 151.3 y 106.4 (C vinílico) 151.3, 144.17, 139.83, 114.85, 112.57, 110.32 (C aromático); 40.41 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 79) se determinó en DMSO-*d*₆ a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -128.04 (s, 1F); -133.23 (s, 2F).

6.1.16. 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo

168



Sólido amarillo paja, 60% de rendimiento, p.f. 263-266 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{BF}_3\text{N}_2\text{O}_3$

PM: 298.0256 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 16): Alargamiento N-H de amina primaria (3345 y 3214 cm^{-1}), sobretono N-H de amina (3447 cm^{-1}), alargamiento C-H de aromático y vinílico (3088 cm^{-1}), alargamiento C-H de alifático (2970 cm^{-1}), alargamiento C=O de éster (1714 cm^{-1}), alargamiento C=C de cetona (1643 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1619 y 1455 cm^{-1}), flexión N-H de amina (1505 cm^{-1}), flexión C-H de metileno (1470 cm^{-1}), flexión C-H de metilo (1390 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1324 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1263, 1247 y 1200), alargamiento C-F de aromático (1100 y 1047 cm^{-1}).

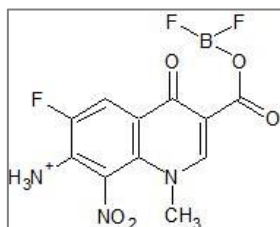
UV-Vis (Espectro 34) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (204 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (226 nm) C=O de cetona conjugada, $\pi \rightarrow \pi^*$ (278 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (319 nm) C=O de éster conjugado

RMN de ^1H (Espectro 52) se determinó en DMSO-*d*6 a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.41, metílico (*t*, $J_{\text{HH}} = 7.15$ Hz, 3H); 4.40, metilénico (*c*, $J_{\text{HH}} = 7.15$ Hz, 2H) 6.64, amina (*s*, 2H); 7.06, aromático (*d*, $J_{\text{HF}_{\text{meta}}} = 7.44$ Hz, 1H); 7.82, aromático (*d*, $J_{\text{HF}_{\text{orto}}} = 11.52$ Hz, 1H); 8.85, vinílico (*s*, 1H).

RMN de ^{13}C (Espectro 67) se determinó en DMSO-*d*6 a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 176.46 (cetona); 166.96 (C éster); 148.19 y 106.71 (C vinílico) 158.86, 144.18, 138.50, 129.36, 114.35, 110.33 (C aromático); 49.46 (C metilénico), 14.55 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 80) se determinó en DMSO-*d*6 a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -122.17 (*s*, 1F); -132.68 (*s*, 2F).

6.1.17. Sal de 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 169



Sólido amarillo canario, 71% de rendimiento, a 90 °C cambia a color naranja; 145 °C cambia a café y funde a 293-297 °C

Fórmula Química: $C_{11}H_7BF_3N_3O_5$

PM: 328.9965 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 17): alargamiento C-H de aromático y vinílico (3067 cm^{-1}), alargamiento C-H de alifático (2916 cm^{-1}), alargamiento R-NH₃⁺ de amina primaria protonada ($2768, 2163$ y 2143 cm^{-1}), alargamiento C=O de cetona (1698 cm^{-1}), alargamiento C=C de alqueno (1609 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1595 y 1406 cm^{-1}), alargamiento N-O de nitro aromático (1557 y 1349 cm^{-1}), flexión C-H de alifático (1467 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1312 y 1105 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1279 y 1182 cm^{-1}), alargamiento C-F de aromático (1044 cm^{-1}).

UV-Vis (Espectro 35) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (217 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (262 nm) C=O de aromático, $\pi \rightarrow \pi^*$ (297 nm) C=C de cetona conjugada, $n \rightarrow \pi^*$ (341 nm) C=O de cetona conjugada.

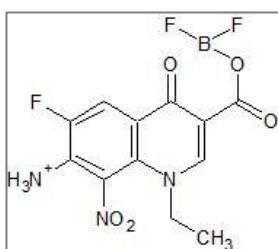
RMN de ¹H (Espectro 53) se determinó en acetona-*d*₆ a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 4.18, metílico (s, 3H); 13.87, amina protonada (s, 3H); 8.62, aromático (*d*, $J_{\text{Horto}} = 8.96\text{ Hz}$, 1H); 9.0, vinílico (s, 1H).

RMN de ¹³C (Espectro 68) se determinó en acetona-*d*₆ a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 175.85 y 164.19 (C éster); 154.33 y 115.23 (C vinílico)

155.86, 153.32, 130.72, 129.64, 122.66, 122.46, 109.39 (C aromático); 42.26 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 81) se determinó en acetona- d_6 a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -115.40 (s, 1F); -118.99 (s, 2F).

6.1.18. Sal de 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo 170



Sólido amarillo paja, 66% de rendimiento, p.f. 142-145 °C

Fórmula Química: $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{BF}_3\text{N}_3\text{O}_5$

PM: 343.0231 g/mol

FTIR-ATR (Espectro 18): Alargamiento C-H de aromático y vinílico (3073 cm^{-1}), alargamiento C-H de alifático (2918 cm^{-1}), alargamiento R-NH $_3^+$ de amina primaria protonada (2771 y 2162 cm^{-1}), alargamiento C=O de cetona (1694 cm^{-1}), alargamiento C=C de alqueno (1605 cm^{-1}), alargamiento C=C de aromático (1500 y 1425 cm^{-1}), alargamiento N-O de nitro (1550 y 1311 cm^{-1}), flexión C-H de metileno (1465 cm^{-1}), flexión C-H de metilo (1370 cm^{-1}), alargamiento C-N de amina (1280 cm^{-1}), alargamiento C-O de éster (1205 , 1109 y 1091 cm^{-1}), alargamiento C-F de aromático (1046 cm^{-1}).

UV-Vis (Espectro 36) se determinó en etanol observando bandas de transición: $\pi \rightarrow \pi^*$ (214 nm) C=O de éster conjugado, $\pi \rightarrow \pi^*$ (264 nm) C=C de aromático, $n \rightarrow \pi^*$ (338 nm) C=O de cetona conjugado.

RMN de ^1H (Espectro 54) se determinó en acetona- d_6 a 400 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 1.56, metílico (*t*, $J_{\text{HH}} = 7.15$ Hz, 3H); 4.46, metilénico (*c*, $J_{\text{HH}} = 7.15$ Hz, 2H); 8.64, aromático (*d*, $J_{\text{HForo}} = 8.96$ Hz, 1H); 9.03, vinílico (*s*, 1H); 13.84, amina primaria aromática (*s*, 3H).

RMN de ^{13}C (Espectro 69) se determinó en acetona- d_6 a 101 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): 175.95 (cetona); 164.18 (C éster); 152.8 y 115.51 (C vinílico) 155.92, 153.37, 131.22, 128.56, 122.76, 110.05 (C aromático); 51.4 (C metilénico); 15.44 (C metílico).

RMN de ^{19}F (Espectro 82) se determinó en acetona- d_6 a 376 MHz obteniendo las siguientes señales (δ ppm): -115.59 (*s*, 1F); -119.08 (*s*, 2F).

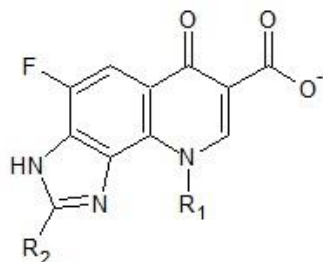
7. DISCUSIONES

7.1. Estudio de Acoplamiento Molecular de los Híbridos Fluoroquinolona-Bencimidazol

El estudio estuvo encaminado a evaluar la actividad *in silico* de nuevos híbridos FQ-BZ **171a-j** (Tabla 5) como agentes anticancerosos y antituberculosos empleando las estructuras cristalizadas de las enzimas topoisomerasa II de *Mycobacterium tuberculosis* y topoisomerasa IIa humana teniendo como referencia a la moxifloxacina **23** y el etopósido **172**, fármacos con actividad conocida hacia estas enzimas. Con el resultado obtenido se pretende identificar aquellos derivados con potencial actividad biológica con el fin de enfocar esfuerzos en su síntesis química.

Previo al estudio de docking se empleó el servidor en línea libre SwissADME para predecir propiedades químicas, fisicoquímicas y farmacocinéticas (Figura 27) las cuales son esenciales para garantizar la seguridad y la eficacia terapéutica de un nuevo fármaco, siendo una de las más importantes, la capacidad para atravesar la membrana celular y así alcanzar el sitio de acción.

Tabla 5. Estructura química de los híbridos **171a-j** propuestos



| Compuesto | R1 | R2 |
|-----------|-----|-----------------|
| 171a | Met | H |
| 171b | Met | OH |
| 171c | Met | NH ₂ |
| 171d | Met | Cl |
| 171e | Met | Br |
| 171f | Et | H |
| 171g | Et | OH |
| 171h | Et | NH ₂ |
| 171i | Et | Cl |
| 171j | Et | Br |

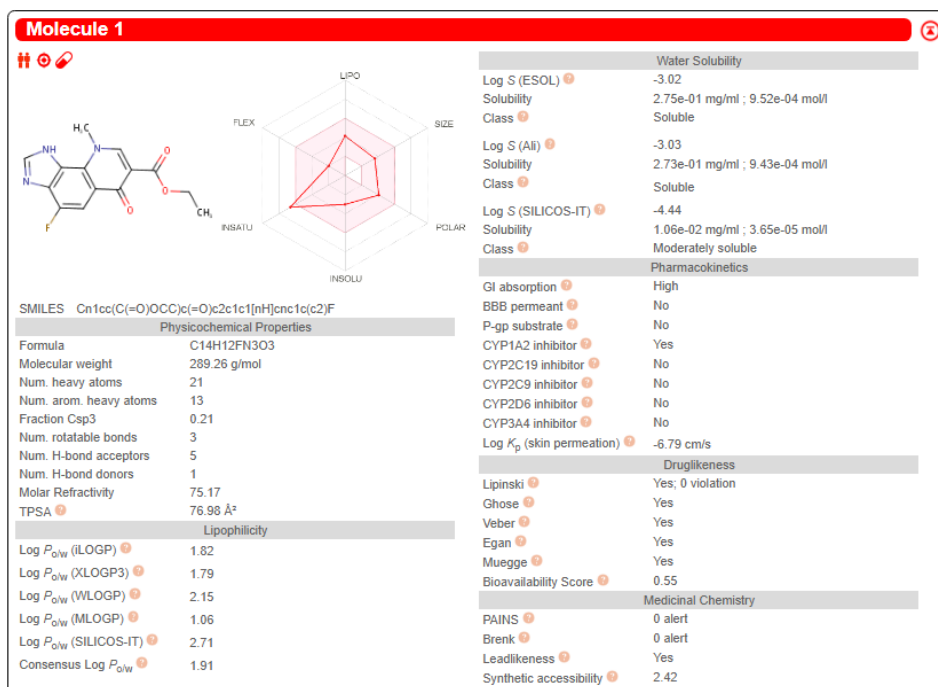


Figura 27. Predicción de las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas al utilizar SwissADME¹⁶²

Las esterasas presentes en el organismo son capaces de hidrolizar al éster (C-3 de las FQ) produciendo el ácido carboxílico correspondiente; el cual, en un pH ligeramente básico como el que existe al exterior de las células favorece la formación

del carboxilato, que puede coordinarse con iones magnesio para ser introducido a la célula mediante proteínas transportadoras (**Figura 26**), el ión magnesio además es esencial para el mecanismo inhibitorio de la topoisomerasa ya que estudios teóricos indican que se coordina con los oxígenos carbonílicos de la FQ y átomos con pares de electrones presentes en aminoácidos de la enzima o en el ADN (**Figura 13**, **Esquema 1**).

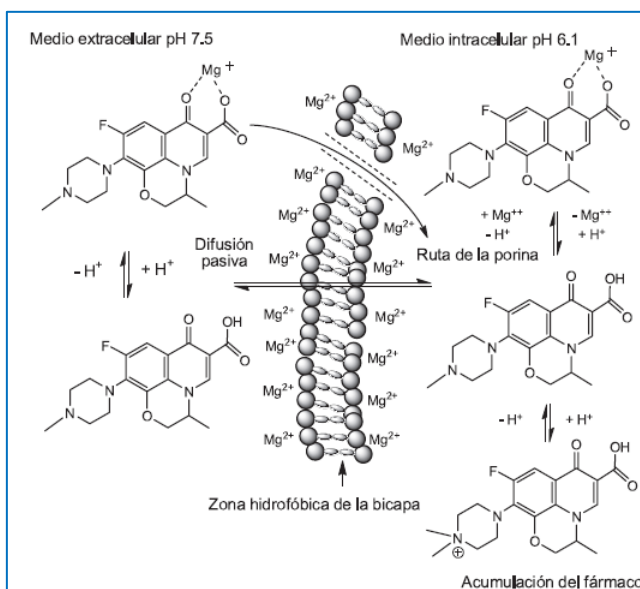


Figura 28. Movimiento de las fluoroquinolonas a través de la bicapa lipídica¹⁹

7.1.1. Actividad Antituberculosa

El análisis del acoplamiento molecular realizado en la presente tesis de maestría sobre los híbridos **171a-j** hacia la topoisomerasa II de *Mycobacterium tuberculosis* (5BTL) mostró una mayor capacidad de interaccionar con la enzima, superando la energía de enlace de la moxifloxacin MFX (**23**) de -22.2 kcal/mol, donde la mayoría de los híbridos estudiados, estuvieron entre los -18.27 a los -24.36 kcal/mol (**Tabla 6**).

Tabla 6. Energías de interacción entre los híbridos FQ-BZ **171a-j** y la Topoisomerasa II de *M. tuberculosis*.

| Enzima Top II - <i>Micobacterium tuberculosis</i> (PDB: 5BTL) | | |
|---|-----------------------|--|
| Derivado | ΔG (Kcal/mol) | Interacciones |
| MFX | -22.2 | APH-Arg128, Mg-ADN |
| 171a | -21.37 | APH-Arg128, Mg-ADN |
| 171b | -21.58 | DPH-Arg482, Mg-ADN |
| 171c | -18.27 | DPH-Tyr129, Mg-ADN |
| 171d | -23.18 | dipolo-dipolo, Mg-ADN |
| 171e | -22.71 | APH-Arg128 |
| 171f | -22.65 | punto salino-Arg-128, Mg-ADN |
| 171g | -22.38 | DPH-Arg482, Mg-ADN |
| 171h | -18.93 | pi-cación y DPH-Arg482, Mg-ADN |
| 171i | -24.36 | APH-Arg128, Mg-ADN, dipolo-dipolo |
| 171j | -22.62 | pi-cación y DPH-Arg482, Mg-ADN |

APH = aceptor de puente de hidrógeno, DPH = donador de puente de hidrógeno

Así mismo, los resultados obtenidos en el Docking molecular, demuestran que la moxifloxacina **23** interacciona con el sitio de acción a través del carboxilato mediante la formación de un puente de hidrógeno con la arginina-128. Además, los iones Mg^{2+} juegan un papel importante en la interacción, ya que se sitúan entre la MFX y las porciones del ADN, mediante enlaces coordinados incrementando la estabilidad de las interacciones (**Figura 29**)

Para el caso de los híbridos **171a-j**, la interacción se presentó de manera similar al compuesto **23**, destacando **171d** y **171i**, de los cuales se obtuvieron la mejor energía de enlace (-23.18 y -24.36 kcal/mol) superando a la **MFX**; teniéndose además una interacción complementaria hacia la enzima por el sustituyente en la porción imidazólica, indicando que los derivados **171d** y **171i** son los mejores candidatos para ser sintetizados y obtener resultados prometedores en las pruebas biológicas.

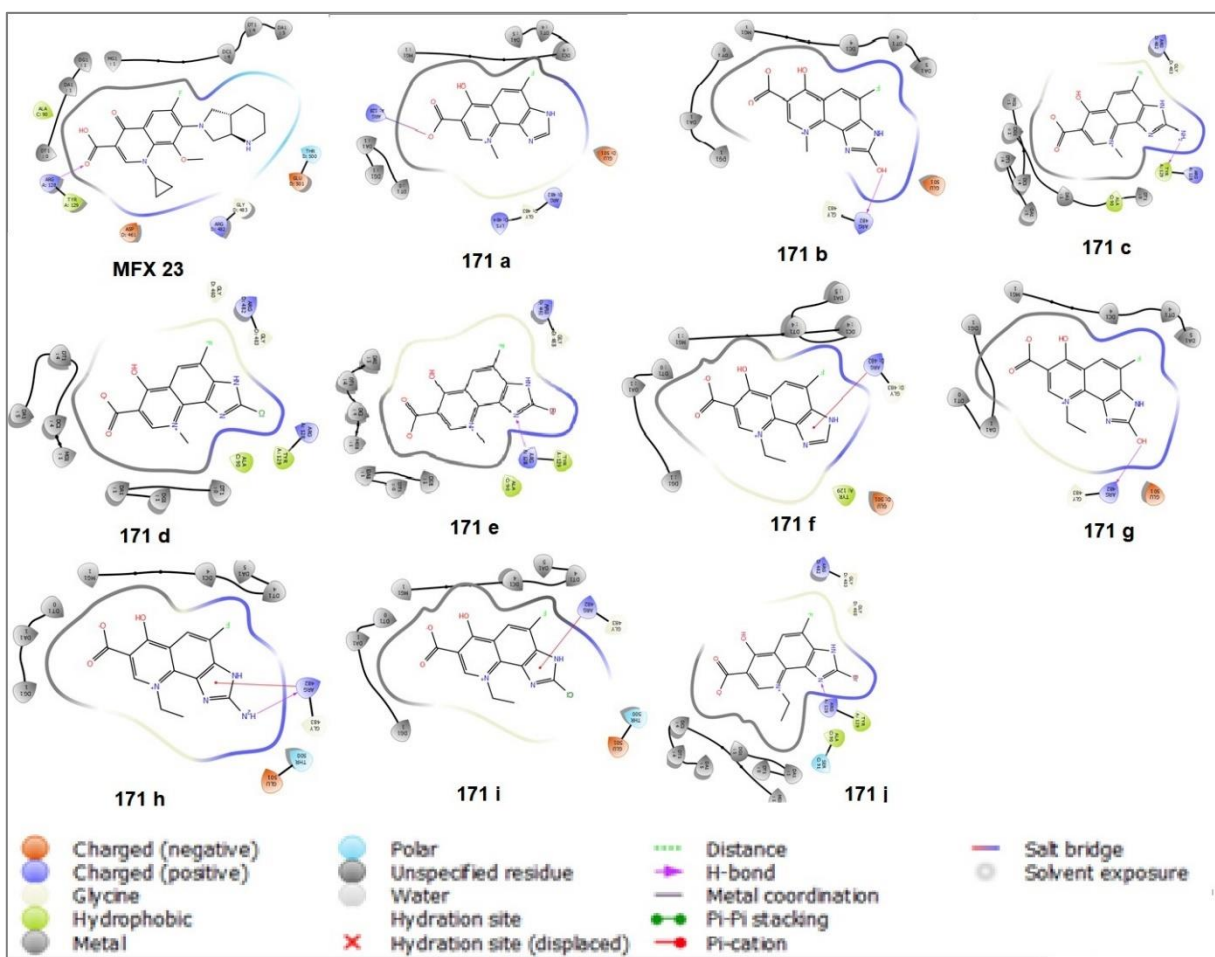


Figura 29. Representación 2D de la interacción de **171a-j** con la Topoisomerasa II proveniente de *M. tuberculosis* (PDB: 5BTL), utilizando como control la MFX **23**

Los resultados obtenidos muestran similitud a lo descrito por Blower y colaboradores¹⁶⁴, los cuales, reportan la estructura cristalizada de la enzima Topoisomerasa II de *M. tuberculosis* formando un complejo ternario con fragmentos de ADN y estableciendo el modo de interacción con 5 derivados de fluoroquinolona, entre ellos la MFX **23** (5BTL). El estudio indicó que los derivados de fluoroquinolona tienen una interacción con la tirosina-129, arginina-128 y alanina-90, a través de las porciones 4-ceto y 3-carboxílico, donde el ion magnesio sirve de puente entre la enzima y los fármacos formando enlaces coordinados entre ambas partes dando una

mayor estabilidad a la interacción. Por otro lado, las interacciones observadas en los sustituyentes en C-7 de las fluoroquinolonas involucra a los aminoácidos arginina-482, treonina-500 y ácido glutámico-501 (**Figura 30**).

En el caso de los híbridos **171a-j**, estos interactúan en la misma región donde se une la **MFX** con la enzima cristalizada, dicha región ha sido denominada como la determinante de la resistencia a las fluoroquinolonas y abarca de los aminoácidos 74-113 en GyrA y 461-500 en GyrB, estas porciones de la enzima están involucradas en la ruptura del doble segmento de ADN¹⁶⁵. Los híbridos muestran interacción tanto con tirosina-129, arginina-128 y alanina-90, asimismo, la introducción del anillo de imidazol mantuvo la capacidad de interactuar con los aminoácidos treonina-500 y ácido glutámico-501.

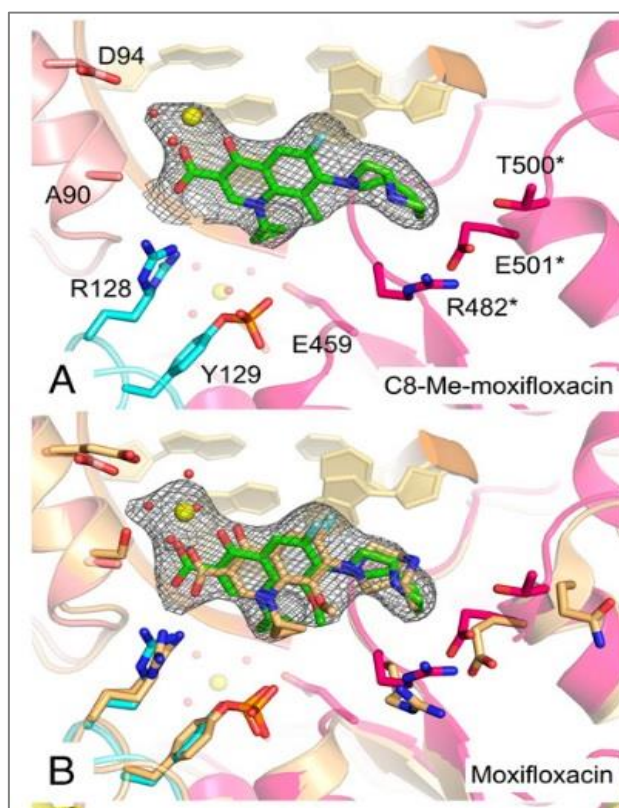


Figura 30. Representación 3D de la interacción de la **A.** 8-metil-moxifloxacina y **B.** moxifloxacina con la Topoisomerasa II de *M. tuberculosis* reportado por Blower y colaboradores¹⁶⁴

Demirci y colaboradores¹⁶⁶ estudiaron la actividad antituberculosa tanto *in silico* como *in vitro* de híbridos 1,3,4-tiadiazol-fluoroquinolona; el acoplamiento molecular fue dirigido a la topoisomerasa II de *M. tuberculosis* PDB: 5BTC y el compuesto **173**, presentó la mejor actividad *in vitro*.

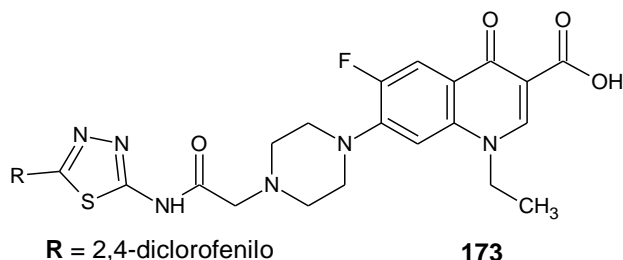


Figura 31. Híbrido 1,3,4-tiadiazol-fluoroquinolona con actividad antituberculosa¹⁶⁶

El compuesto **173** tuvo interacciones similares a las obtenidas con MFX **23** y los híbridos **171a-j**; formaron un puente de hidrógeno con la arginina-128 por medio del grupo carboxilo, teniendo además interacción con serina-90, arginina-482, treonina-500 y ácido glutámico-501. El ión Mg^{2+} estuvo formando enlaces coordinados con los oxígenos carbonílicos, moléculas de agua, residuos de aminoácidos de la topoisomerasa y/o fragmentos del ADN (**Figura 32**).

Bajo estas observaciones, existe una alta probabilidad de que los híbridos **171d** y **171i** muestren resultados prometedores en las pruebas *in vitro* como agentes antituberculosos.

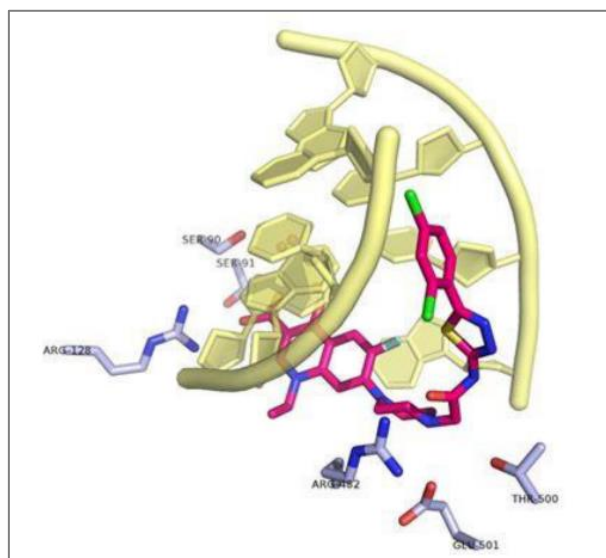


Figura 32. Representación 3D de la interacción de **173** con la topoisomerasa II de *M. tuberculosis* (PDB: 5BTC) reportada por Demirci y colaboradores ¹⁶⁶

7.1.2. Actividad Anticancerosa

Para la topoisomerasa IIa humana (4FM9) los resultados obtenidos de la energía de enlace de los híbridos propuestos **171a-j** fueron comparados con los valores obtenidos por MFX **23** y el etopósido (ETO) **172**, fármaco utilizado en la terapia contra el cáncer^{167,168}. La **MFX** presentó una ΔG de -5.88 kcal/mol, el cual sugiere una mayor interacción en el sitio de acción con la enzima, respecto al etopósido con ΔG de -4.70 kcal/mol (**Tabla 7**). A diferencia del etopósido que presenta interacciones débiles con la enzima y el ADN, la **MFX** muestra la formación de diversos puentes de hidrógeno, ya sea con el ADN a través del sustituyente en C-7 y/o con la lisina-990 a través del oxígeno carbonílico en C-3 (**Figura 33**).

Tabla 7. Energías de interacción entre los híbridos FQ-BZ (171a-j) y la enzima Topoisomerasa IIa humana

| Enzima Topoisomerasa IIa humana (PDB: 4FM9) | | |
|---|-----------------------|-----------------------------|
| Derivado | ΔG (Kcal/mol) | Interacciones |
| MFX | -5.88 | 2 DPH-G7 |
| ETO | -4.7 | DPH-G7, APH-Lys990 |
| 171a | -3.77 | intercalacion, int. Hidrof. |
| 171b | -3.97 | DPH-G6, APH+p.salino-Lys990 |
| 171c | -5.03 | APH-G4, DPH-G8 |
| 171d | -4.09 | DPH-T6, p.salino Lys990 |
| 171e | -4.22 | DPH-T6, p.salino Lys990 |
| 171f | -4.18 | APH-G4 |
| 171g | -3.92 | DPH-G7, APH+p.salino-Lys990 |
| 171h | -5.06 | APH-G4, DPH-G7 |
| 171i | -3.91 | APH-G4 |
| 171j | -3.94 | APH-G4 |

APH = aceptor de puente de hidrógeno, DPH = donador de puente de hidrógeno

Los híbridos **171a-j** por la introducción de la porción imidazólica fue posible formar interacciones por puente de hidrógeno adicionales con fragmentos del ADN, permitieron que los derivados **171c** y **171h** mostraran la mejor energía de enlace, con valores de ΔG de -5.03 y -5.07 kcal/mol, respectivamente, que, aunque no superan el ΔG de la **MFX**, son valores muy cercanos y mejores que el etopósido. Al igual que la **MFX**, ambos híbridos muestran interacción por puente de hidrogeno con porciones del ADN a través del oxígeno carbonílico en C-3 y a través del grupo amino en la porción imidazólica. A pesar de ello, la interacción se realiza de manera selectiva en la misma región que los ligandos de referencia (**Figura 33**).

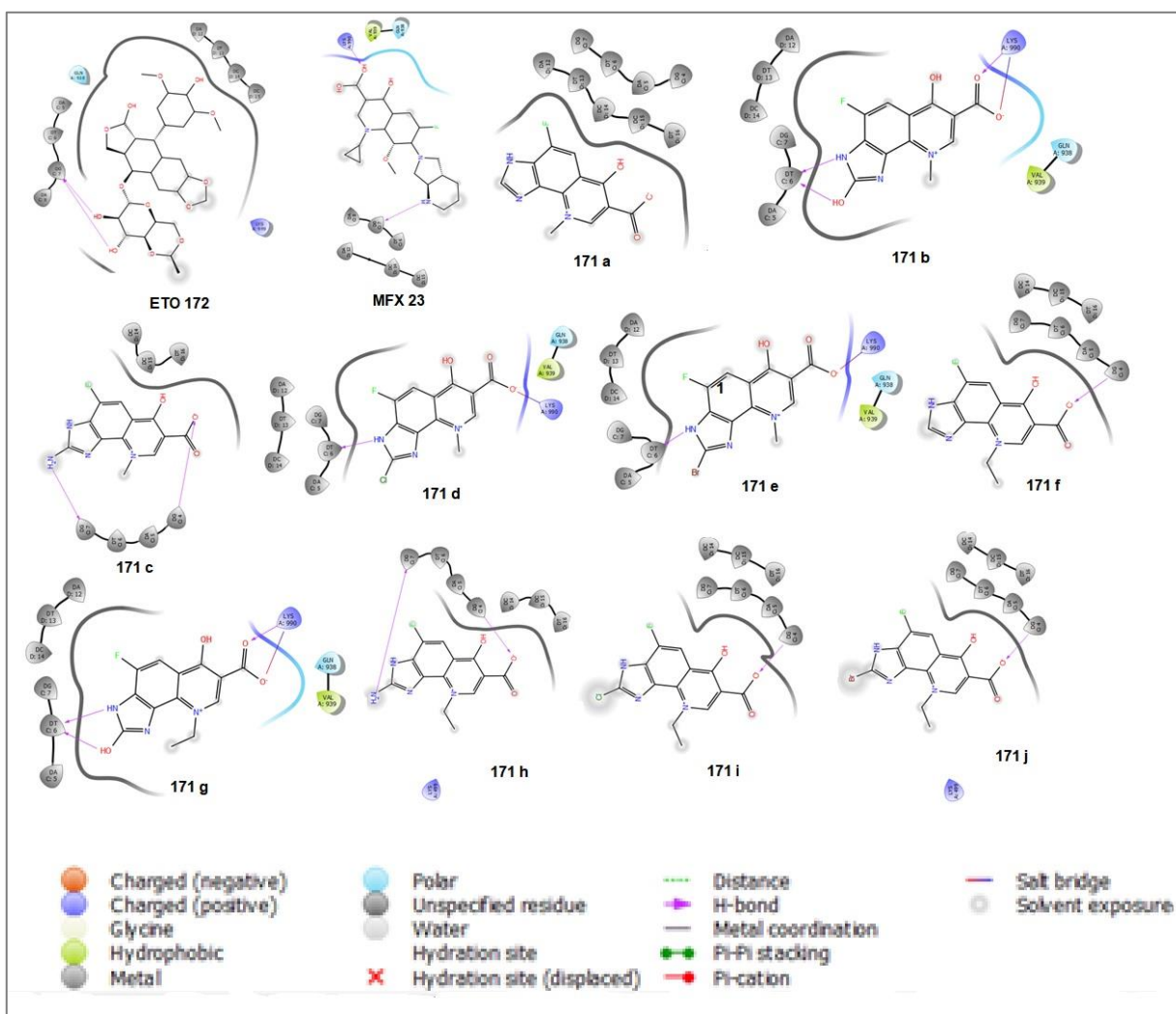


Figura 33. Representación 2D de la interacción de **171a-j** con la topoisomerasa IIa humana (PDB: 4FM9), utilizando como control el etopósido **172** y la moxifloxacina **23**.

Jadhav y colaboradores¹⁶³, realizaron el acoplamiento molecular entre la **MFX** y el **ETO** con la topoisomerasa IIa humana (4FM9) obteniendo energías de enlace de -7.7 kcal/mol para la **23** y -7.9 kcal/mol para el **172**; así mismo, la **MXF** interacciona con la enzima a través de glutamina-796, lisina-798 y serina-800; no obstante, la interacción principal es un puente de hidrógeno con la glutamina-773 por medio del oxígeno carbonílico en C-3, sin participación de los iones Mg^{2+} que fueron removidos en el estudio (**Figura 34**). Por otro lado, el **ETO** interacciona con los aminoácidos glutamina-

773, glicina- 796 y serina-800; estando intercalado también entre el ADN (**Figura 35**). Tales interacciones son de mayor magnitud a las reportadas en el presente trabajo (**Tabla 7**). Con respecto a los híbridos, cabe destacar que las interacciones ocurren, en ambos casos, en un espacio que va desde el aminoácido 750 al 990, así como con fragmentos de ADN; en esta región ocurre la actividad catalítica de la enzima que se encarga de la ruptura del ADN durante los procesos de replicación o transcripción.

Los resultados obtenidos en esta tesis posicionan a los derivados **171c** y **171h** como buenos candidatos para ser sintetizados y evaluados como potenciales agentes anticancerosos tanto *in vitro* como *in vivo*.

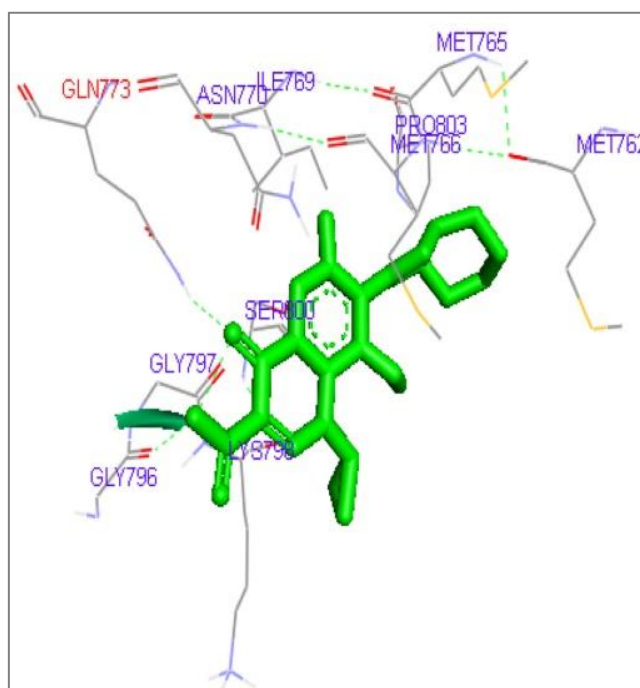


Figura 34. Representación 2D de la interacción de la moxifloxacina **23** con la topoisomerasa IIa humana (PDB: 4FM9)¹⁶³

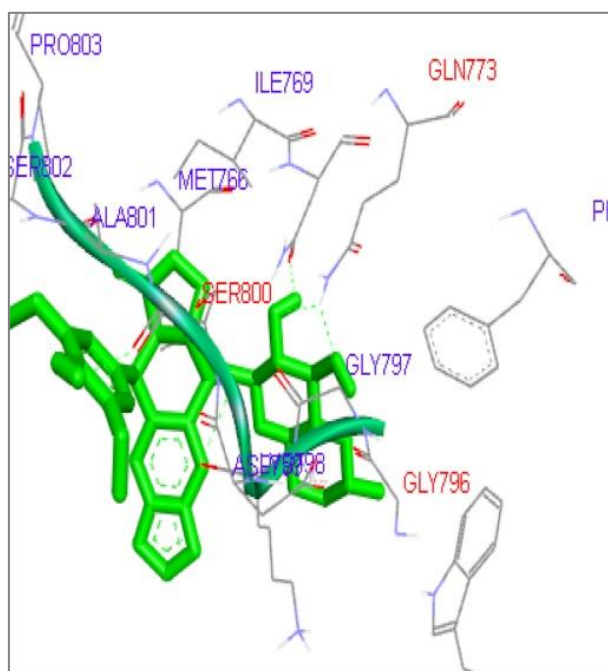


Figura 35. Representación 2D de la interacción del etopósido **172** con la topoisomerasa IIa humana (PDB: 4FM9)¹⁶³

7.2. Síntesis del Anillo de Fluoroquinolona a través del Mecanismo de Gould-Jacobs

7.2.1. Reacción de Adición Conjugada 1,4 de Michael

La síntesis de Gould Jacobs para la construcción del anillo de la fluoroquinolona ha sido ampliamente utilizada por diversos autores estableciéndose como una ruta eficiente para obtener intermediarios en buenos rendimientos^{169,170}; donde se hace reaccionar el etoximetilenmalonato de dietilo (EMME) **46** con la 3,4-difluoro **45** ó la 3-cloro-4-fluoroanilina **139**, a través de un mecanismo de adición conjugada 1,4 de tipo Michael, donde el nucleófilo ataca el doble enlace vinílico del malonato que posee mayor carácter electrofílico, deslocalizando la carga hacia el oxígeno carbonílico con la consecuente expulsión del grupo etoxi para formar etanol como subproducto, el cual es recuperado mediante destilación en el transcurso de la reacción.

El ataque nucleofílico al EMME ocurre de manera eficiente, a pesar de que las anilinas empleadas son consideradas nucleófilos débiles ante la posibilidad de que los pares de electrones libres del nitrógeno entren en resonancia al anillo aromático, sumado al efecto electroattractor de los sustituyentes halógeno presentes. El rendimiento de reacción fue ligeramente menor con la 3,4-difluoroanilina (83%) que con la 3-cloro-4-fluoroanilina (85%), probablemente debido a que los dos átomos de flúor ejercen mayor efecto electroattractor de tipo inductivo que la combinación cloro-fluoro en el anillo de la anilina, dejando los pares libres del nitrógeno menos disponibles para el ataque.

La formación de cada producto de esta reacción (**47** y **158**) fue confirmada mediante espectroscopía de infrarrojo, en donde se identificó una banda de estiramiento N-H de amina secundaria a 3258 cm^{-1} para **47** y 3249 cm^{-1} para **227**, además de bandas de estiramiento C=O de 1683 cm^{-1} para **47** y 1717 cm^{-1} para **227**, correspondientes al carbonilo del malonato. También se obtuvieron bandas de estiramiento de los enlaces C=C aromático a frecuencia de 1618 y 1505 cm^{-1} en **47**, mientras que en **227** a 1618 y 1506 cm^{-1} ; las bandas de estiramiento C=C vinílico se observaron a 1643 y 1665 cm^{-1} respectivamente. En el caso de la RMN de ^1H se muestran un par de señales que se desdoblan en triplete (1.35 y 1.39 ppm) y otro par cuadruplete (4.28 y 4.33 ppm), correspondientes a los protones de la porción dietoxi en la molécula **15**. Por otro lado, el protón vinílico se acopla con el protón amínico produciendo un doblete con una constante de acoplamiento comprendida entre $13.4 - 13.7\text{ Hz}$. Para RMN ^{13}C se identificaron las señales correspondientes a cada uno de los carbonos presentes en la estructura del producto de adición esperado, encontrando que los dos carbonos carbonílicos son los más desprotegidos (observados a mayor desplazamiento químico en ppm), seguido por aromáticos, vinílicos, metilénicos y al final metílicos (más protegidos).

En los espectros de RMN ^{19}F se observa una única señal para el compuesto **158** mientras que para el compuesto **47** se observan dos señales dobletes a -134 y -142 ppm , ambas con una J_{Fortho} de 21.28 Hz .

Al llevarse a cabo el ataque de la anilina al EMME, la introducción de los pares libres del nitrógeno proporciona un aumento en la conjugación del sistema en dirección al grupo carbonilo del malonato, lo que disminuye la energía GAP requerida para promover las transiciones electrónicas $\pi \rightarrow \pi^*$ de C=O, observando un efecto batocrómico (desplazándose a mayores longitudes de onda) de 205 nm en el EMME **46** a 219-221 nm para **47** y **158**. Este mismo efecto es observado para las bandas de transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de C=C aromático, que son desplazadas de una longitud de onda de 232 nm en la anilina **45** a 288-298 para **47** y **158**¹⁷¹.

7.2.2. Reacción de Ciclación Térmica Intramolecular y *N*-alquilación

La reacción de ciclación intramolecular fue promovida por la energía proporcionada por el calentamiento a 240-250 °C donde la fuerza motora son los pares libres del nitrógeno hacia el anillo aromático en **47** y **158**, originando un ataque nucleofílico al carbonilo del malonato con la subsecuente eliminación del etoxi; este último, substraer el protón ácido del intermediario obteniendo etanol como subproducto con el restablecimiento de la aromaticidad y la formación de los productos **48** ó **140**, en cada caso.

La caracterización por IR muestra una banda de estiramiento N-H de mediana intensidad a frecuencias de 3160 y 3157 cm⁻¹ para **48** y **140**; cercana a esta región, en ambos espectros se identificó una banda ancha de intensidad media del estiramiento de enlace O-H en la especie 4-quinolinol entre 3250-2900 cm⁻¹; en la región de estiramiento de enlaces C=O es observada una sola banda debida al éster; sin embargo, la banda de C=O de la piridona no es observada debido a que el compuesto se encuentra en el equilibrio tautomérico de la 1,4-dihidroquinolona y el 4-quinolinol. La deslocalización de los pares libres del nitrógeno hacia el oxígeno cetónico con la migración simultánea del átomo de hidrógeno permite la fácil interconversión tautomérica que es confirmada por la banda ancha de estiramiento O-H entre los 3250 y 2900 cm⁻¹ lo que indica que aumenta el carácter aromático de la molécula dando

mayor estabilidad al compuesto y presentando un punto de sublimación a presión atmosférica alrededor de los 290 °C. Este incremento en la aromaticidad del anillo quinolónico, permite observar adicionalmente el desplazamiento del enlace C=C de alqueno a menor frecuencia (de 1618 cm⁻¹ a 1600-1609 cm⁻¹), sugiriendo que el movimiento de interconversión provoca menor energía requerida para que la vibración del enlace ocurra.

Los productos **48** y **140** presentaron baja solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos, lo que dificultó su análisis por RMN, sin embargo, al utilizar TFA en combinación con el DMSO fue posible obtener el espectro de RMN de ¹H y ¹³C. Por ejemplo, en el espectro de RMN de ¹H se encontró una señal triplete (a 1.45 ppm para **48** ó 1.56 ppm para **140**) y una cuadruplete (a 4.69 ppm para **48** y 4.72 para **140**) correspondiente al etoxi que permanece en la molécula, mientras que los hidrógenos amínico y vinílico, presentaron una señal singulete; siendo de menor intensidad la que tuvo el amínico, con respecto a los compuestos **47** y **158**.

En el caso de la espectroscopia UV-Vis, se tuvo un comportamiento similar a lo reportado por Hernández¹⁷¹; las bandas de transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de C=C aromático se desplazan a una longitud de onda menor, al ocurrir la ciclación, los pares libres del nitrógeno entran en conjugación y dirigidos hacia el carbonilo y no al anillo aromático lo que aumenta la energía GAP (efecto hipsocrómico, la señal es desplazada a menor longitud de onda) de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de C=C aromático en comparación a la señal observada por el acrilato. Para el caso de la banda primaria de la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ de C=C aromático (observada en el acrilato a longitudes de onda de 205 y 203 nm), al desplazarse a una longitud de onda menor cuando ocurre la ciclación, no es posible observarla en el espectro.

Al realizar la *N*-alquilación sobre los compuestos **48** y **140** se obtuvieron los productos **159**, **49**, **160** y **161**; en el espectro IR fue notable la pérdida de la banda de N-H de amina secundaria y la banda ancha del O-H; así mismo, las bandas de C=O de éster fueron desplazadas a mayor frecuencia (1716-1719 cm⁻¹) debido a que ya no se encuentra el OH (C-4 en la hidroxiquinolona) el cual crea un puente de hidrógeno

intermolecular con el oxígeno carbonílico del éster en C-3, dotándole un carácter de enlace sencillo que disminuye la frecuencia de vibración. Con la *N*-alquilación, aparece las bandas a frecuencias de 1675-1698 cm^{-1} que corresponde al estiramiento C=O de piridona y la banda de flexión entre los 1308-1310 cm^{-1} ; así como el aumento en la intensidad de las señales entre 1480 y 1475 cm^{-1} correspondiente a los movimientos de flexión de grupos metilénicos y metílicos indicando la introducción de grupos alquílicos.

En los espectros de RMN de ^1H se obtuvieron señales singulete para **159** y **160** a 4.08 y 4.05 ppm, respectivamente; con integración para 3H confirmando la introducción del metilo en *N*-1, el cual fue desplazado a campo bajo por la desprotección inducida del nitrógeno que es más electronegativo. Mientras que en los productos **49** y **161**, se observaron señales cuadruplete a 4.37 y 4.43 ppm (con integración para 2H) y tripletes a 1.33 y 1.35 ppm (con integración para 3H) debido al etilo en el nitrógeno.

La espectroscopía UV-Vis de los productos de alquilación mostró las mismas señales para las transiciones de hidroxiquinolona con la diferencia que aparecen nuevas bandas a longitud de onda de 255 nm para los derivados 6-cloro-7-fluoro (**159**, **160**) y de 251 nm para los derivados 6,7-difluoro (**49**, **161**) correspondientes a transiciones $\pi \rightarrow \pi^*$ de C=O de cetona además de bandas a 326-330 nm para las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ de C=O de cetona.

7.3. Formación de Precusores 7-amino-8-nitro Fluoroquinolona

La introducción de grupos amino en forma selectiva en el C-7 del anillo de la fluoroquinolona ha sido un gran desafío para la síntesis orgánica¹⁷²⁻¹⁷⁴, la reactividad de este grupo funcional ha sido la limitante; no obstante, al generar la 7-aminoquinolona con buenos rendimientos y condiciones suaves de reacción, permite situarlo como un intermediario importante en la síntesis de nuevos fragmentos, heterocícllos o grupos funcionales de interés en química medicinal como lo son las amidas, triazoles, tetrazoles, etc^{175,176}. Hasta el momento, la forma más sencilla de

incorporar los heterociclos a la fluoroquinolona, es mediante sustitución nucleofílica aromática (SNA); y bajo el mismo mecanismo, la sustitución con azida de sodio con la posterior reducción a amina primaria^{20,70}. similarmente, el uso de *para*-metoxi-bencil amina (PMBA) se ha propuesto para la incorporación de amina secundaria seguida de la remoción del *para*-metoxibencilo y así obtener la amina primaria en la posición deseada^{177,178}. Por lo que, a continuación, se discutirá la introducción de PMBA a la quinolona y su desbencilación.

7.3.1. Sustitución Nucleofílica Aromática en C-7 (Bencilación)

Las estructuras químicas derivadas del *orto*-fenilendiamino, o bien, *orto*-nitro-anilinas permiten formar el anillo de imidazol mediante el empleo de diversos electrófilos. En este caso, la formación del intermediario 7-amino-8-nitro fluoroquinolona representa una alternativa para la síntesis de los híbridos fluoroquinolona-bencimidazol.

Para ello, es esencial la introducción del amino en C-7 de forma quimioselectiva, el cual, se logra mediante la reacción con la *para*-metoxi-bencil amina (PMBA) a través de la sustitución nucleofílica aromática (SNA) del halógeno en C-7, el producto formado es sometido a un mecanismo de desbencilación en medio ácido resultando la 7-amino fluoroquinolona. El grupo amino dentro del anillo quinolónico, sirve como orientador *orto* lo que hace posible introducir al nitro en C-8 a través de la sustitución electrofílica aromática (SEA) convencional.

Se observó una pobre reactividad al utilizar la fluoroquinolona-éster frente a la SNA (**Tabla 8**), por lo que se optó como estrategia, la transformación a derivados de éster de borato (**162**, **50**, **163**, **164**), los cuales, por efecto inductivo y de resonancia incrementaron considerablemente el carácter electrofílico en C-7 de la fluoroquinolona favoreciendo un ataque nucleofílico²³ en esta posición.

Tabla 8. Condiciones de bencilación a partir de los ésteres **163** y **164** sin el empleo de una base.

| compuesto de partida | temperatura (°C) | tiempo (hr) | solvente | % rendimiento |
|----------------------|------------------|-------------|----------|---------------|
| 164 | 100-110 | 8 | DMF | NR |
| 164 | 120-130 | 8 | DMF | NR |
| 164 | 110 | 24 | PIR | NR |
| 164 | 110 | 48 | PIR | NR |
| 163 | 130 | 8 | DMF | NR |

La transformación de la fluoroquinolona-éster al complejo fluoroquinolona-boro, se confirmó por RMN de ^1H , por la pérdida de las señales triplete y cuadruplete correspondientes al grupo etilo, mientras que las señales del protón vinílico son desplazadas a campo bajo debido a la creciente desprotección provocada por el efecto electroatractor del $-\text{OBF}_2$.

Asimismo, el espectro de RMN de ^{19}F muestra las señales doblete a -121.37 y -132.31 ppm, ambas con una $J_{\text{F}_{\text{orto}}}$ de 23.05 Hz, que corresponden al compuesto **50**; adicional a esto, se observa una señal de mayor intensidad a -140.33 ppm debido a los dos átomos de flúor enlazados al boro, confirmando la formación del complejo quinolona-difloroborilo.

Adicional a la obtención del complejo fluoroquinolona-boro, se utilizó la trietilamina en cantidades catalíticas (5%) para promover la sustitución con PMBA (**Tabla 9**), en ausencia de la base, el equilibrio de reacción se orienta hacia los reactivos recuperando el derivado **163** ó **164** sin reaccionar.

Tablas 9 y 10. Condiciones para la bencilación a partir de los complejos quinolona-boro

| compuesto de partida | temperatura (°C) | tiempo (hr) | %R mezcla |
|------------------------------------|------------------|-------------|-----------|
| 164 | 100 | 5 | 37 |
| 164 | 100 | 6 | 27 |
| 164 | 100 | 8 | 55 |
| 164 | 120 | 5 | 46 |
| 164 | 120 | 6 | 50 |
| 164 | 120 | 8 | 56 |
| 164 | 130 | 5 | 28 |
| 164 | 130 | 6 | 35 |
| 164 | 130 | 8 | 70 |
| 163 | 115-120 | 5 | 67 |
| 163 | 115-120 | 6 | 71 |
| solvente DMF, TEA como base | | | |

| compuesto de partida | temperatura (°C) | tiempo (hr) | producto | %rendimiento |
|------------------------------------|------------------|-------------|------------|--------------|
| 162 | 110-120 | 5 | 165 | 60 |
| 162 | 110-120 | 6 | 165 | 86 |
| 162 | 110-120 | 7 | 165 | 88 |
| 162 | 110-120 | 8 | 165 | 82 |
| 50 | 110-120 | 5 | 166 | 65 |
| 50 | 110-120 | 6 | 166 | 78 |
| 50 | 110-120 | 7 | 166 | 82 |
| 50 | 110-120 | 8 | 166 | 81 |
| solvente DMF, TEA como base | | | | |

El buen grupo saliente en la reacción de bencilación juega un papel importante, ya que al partir de los derivados **163** y **164** se generan varios subproductos de difícil purificación ya sea por recristalización o por cromatografía en columna, pero que si son observados en el seguimiento de la reacción en la CCF. La formación de diversos subproductos en la reacción, posiblemente se debe a que la SNA se lleva a cabo en ambos halógenos, obteniendo solo un crudo de reacción (**Tabla 9**). Al emplear derivados difluorados **162** y **50** se aisló el producto de la SNA con PMBA en C-7 de manera selectiva (**Tabla 10**); obteniendo los compuestos **165** y **166**, los cuales fueron corroborados por IR al observar las bandas de alargamiento N-H de amina secundaria

a 3265-3268 cm^{-1} , así como el aumento en la intensidad de las bandas C-O, C=C de aromático y aquellas bandas correspondientes a flexión de grupos metílicos y metilénicos (referentes al grupo metoxi y bencilo).

Complementariamente, en la RMN ^1H se observó un incremento en el número de señales en la región de aromáticos por la introducción del grupo bencilo, así mismo se identificaron las señales del hidrógeno amínico a 7.69 ó 7.74 ppm y metilénicos a 4.48 ó 4.51 ppm correspondientes a la porción aromática del bencilo en **165** y **166**, respectivamente; los cuales se acoplaron entre sí mostrando un desdoblamiento en forma de doblete. Por otro lado, los hidrógenos aromáticos de la fluoroquinolona mostraron el desdoblamiento de las señales a 7.78 y 8.92 ppm en forma de doblete, los cuales corresponden al hidrógeno unido en C-5 ($J_{\text{HF}_{\text{orto}}} = 11.84 \text{ Hz}$) y en C-8 ($J_{\text{HF}_{\text{meta}}} = 7.24 \text{ Hz}$), lo que indica que la sustitución se llevó a cabo en C-7. Así mismo, la RMN de ^{19}F mostró la señal singulete del flúor en C-6 (-127 ppm) y los fluoros en el boro de mayor intensidad (-132 ppm), lo que confirmó la introducción de la *para*-metoxibencilamina en C-7 de la fluoroquinolona.

Por tanto, las condiciones óptimas para la introducción del PMBA al anillo de FQ son 110-120 °C por 7 horas, en una relación molar 1:3 (FQ:PMBA) y 5% de TEA. Menor temperatura o menor tiempo de reacción, no permite la formación completa del producto. Mayor tiempo de reacción no muestra una diferencia significativa en el rendimiento de reacción. Por otro lado, el uso de la quinolona dihalogenada (6-Cl-7-F) no fue recomendable para el método aquí descrito, ya que se presentó una baja selectividad, generando la formación de múltiples subproductos y de baja solubilidad, así como la dificultad en su purificación.

7.3.2. Síntesis de Derivados 7-amino Fluoroquinolona (Desbencilación)

La transformación de **165** ó **166** a la 7-amino fluoroquinolona **167** ó **168** fue mediante el tratamiento con ácido trifluoroacético en diclorometano, la carga positiva del nitrógeno de la especie protonada **165b** ó **166b** genera un movimiento electroattractor

partiendo de los electrones libres del oxígeno de la porción metoxi hasta el átomo de nitrógeno, retornando los pares de electrones para estabilizar la carga positiva con la liberación simultánea del producto **167** ó **168** (**Figura 36**)^{174,179}.

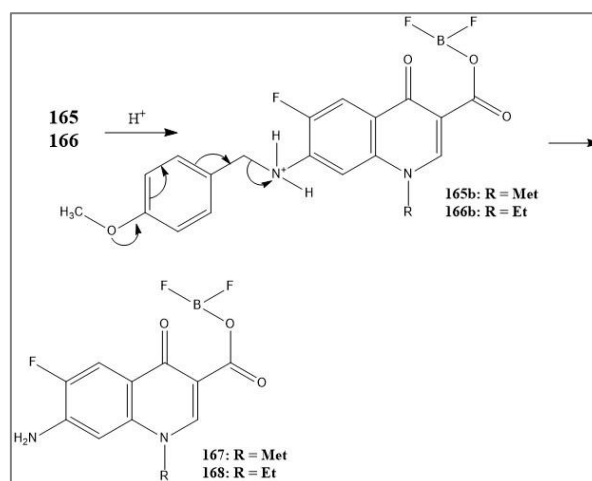


Figura 36. Mecanismo de desbencilación

Con el objetivo de optimizar las condiciones de reacción para la desbencilación de **165** y **166** para la obtención de los productos **167** y **168**, se realizó una adaptación a lo reportado en la literatura^{177,178}, donde fueron exploradas variables de reacción como el tiempo, temperatura, así como la concentración de ácido trifluoroacético (TFA); se observó que el rendimiento de reacción aumenta conforme lo hace el tiempo, hasta llegar a 5 horas ya que a mayor tiempo no hay un cambio significativo (**Tabla 11**).

El mayor rendimiento para la obtención de **167** y **168** es bajo condiciones de reacción de 5 horas a reflujo con 50% de TFA en diclorometano, alcanzando un 80% y 58% respectivamente; sin embargo, no hay una diferencia significativa en el rendimiento al modificar la temperatura o la concentración de TFA, por lo que llevar a cabo la reacción a temperatura ambiente por 5 horas y 30% de TFA representa el menor costo energético y económico obteniendo un 74% para **167** ó un 54% de rendimiento para **168** siendo las condiciones óptimas en este experimento (**Tabla 11**).

Tabla 11. Condiciones y rendimientos de la reacción de desbencilación de **165** y **166**

| compuesto de partida | proporción TFA:diclorometano | temperatura | tiempo | producto | % rendimiento |
|----------------------|------------------------------|-------------|--------|------------|---------------|
| 166 | 30% | reflujo | 1 h | 168 | 27 |
| 166 | 30% | reflujo | 5h | 168 | 56 |
| 166 | 30% | reflujo | 6h | 168 | 58 |
| 166 | 30% | ambiente | 1h | 168 | 25 |
| 166 | 30% | ambiente | 5h | 168 | 54 |
| 166 | 30% | ambiente | 6h | 168 | 55 |
| 166 | 50% | reflujo | 1h | 168 | 29 |
| 166 | 50% | reflujo | 5h | 168 | 58 |
| 166 | 50% | reflujo | 6h | 168 | 59 |
| 166 | 50% | ambiente | 1h | 168 | 26 |
| 166 | 50% | ambiente | 5h | 168 | 57 |
| 166 | 50% | ambiente | 6h | 168 | 55 |
| 165 | 50% | reflujo | 5h | 167 | 80 |
| 165 | 50% | ambiente | 5h | 167 | 74 |

La obtención de los productos **167** y **168** se confirmó por IR al observar en las bandas de alargamiento de N-H indicando la desbencilación para obtener la amina primaria. En los espectros de UV-Vis se observa un efecto hipsocrómico en las bandas de transición de $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$ de C=C aromático, desplazándose de 282 nm en los compuestos bencilados **165**, **166** hasta 276-278 nm en los compuestos **167** y **168**; tal efecto puede ser consecuencia de la eliminación del bencilico, esta porción de la molécula posee sus propias bandas de transición en la región aromática las cuales en el espectro de **165** ó **166** fueron desplazadas ligeramente a mayor longitud por efecto de los pares libres del oxígeno metoxi que entran en conjugación con el anillo aromático bencilico con respecto a sus precursores **162** y **50**.

Así mismo, se identificaron las señales de amina primaria en la RMN de ^1H con un desplazamiento químico de 6.69 ppm para el compuesto **167** y a 6.64 ppm para **168**, ambas con integración para dos hidrógenos. Mientras que en la región de aromático se observaron únicamente las señales para dos tipos de protón, una a 7.79 ó 7.82 ppm ($J_{\text{HF}_{\text{orto}}} = 11.52 \text{ Hz}$) y la otra a 6.95 ó 7.06 ppm ($J_{\text{HF}_{\text{meta}}} = 7.44\text{-}7.74 \text{ Hz}$) lo que confirmó la formación de la 7-amino-6-fluoroquinolona **167** y **168**.

7.3.3. Nitración

El grupo amino formado en C-7 de la fluoroquinolona es activador *orto*, es decir, activa C-8, siendo susceptible a las reacciones de SEA; por otro lado; grupos electroattractores como el carbonilo (por efecto de resonancia) ó el flúor (por efecto inductivo) favorecen una sustitución en posición *meta*, es decir, en C-8 del anillo quinolónico; como consecuencia, la introducción del nitro en C-8 se encuentra doblemente favorecida, permitiendo llevar con éxito la reacción de nitración convencional utilizando la mezcla de H₂SO₄/HNO₃ en relación 2:1. En esta reacción, la temperatura fue una variable fundamental, se observó que la obtención de un solo producto nitrado en posición C-8 se logra con valores por debajo de los 0 °C en un intervalo de 3 a 4 horas^{147,180}.

La eliminación del agua por evaporación causa alteración del producto por lo que agregar hielo picado para finalizar con la reacción y obtener el producto (en forma de amina protonada) es lo más recomendable; a partir del cual, se identifican las bandas de estiramiento de NH₃⁺ de amina primaria protonada a 2768, 2163 y 2143 cm⁻¹ **169**; 2771 y 2162 cm⁻¹ para el **170**; y bandas de estiramiento de enlace N-O de nitro aromático a 1557 y 1349 cm⁻¹ en **169**; 1550 y 1311 cm⁻¹ en **170**.

En los espectros de RMN de ¹H, se identificaron señales correspondientes a los hidrógenos amina primaria protonada (NH₃⁺) a 13.85 ppm para el compuesto **169**, mientras que para el compuesto **170** se observa a 13.84 ppm como una señal ancha de baja intensidad en ambos casos. En la región de aromático se observa una sola señal que integra para un protón a 8.62 y 8.64 ppm, respectivamente, con una $J_{HF_{orto}}$ de 8.96 Hz, indicando que la nitración ocurrió selectivamente en C-8 confirmando la obtención de la 7-amino-8-nitro fluoroquinolona **169** y **170**. Adicionalmente, la RMN de ¹⁹F mostró la presencia de los singuletes de flúor aromático a -115.40 ppm y flúor unido al boro a -118.99 ó -119.08 ppm, indicando que el empleo del medio ácido de reacción (H₂SO₄/HNO₃) no provocó la hidrólisis del éster de borilo.

En el caso de UV-Vis, la introducción del grupo nitro provoca el incremento en la conjugación del sistema, partiendo del anillo aromático hasta el grupo carbonilo en C-3, esto genera un desplazamiento en las bandas de absorción a una longitud de onda mayor (menor energía) y cercana al espectro visible.

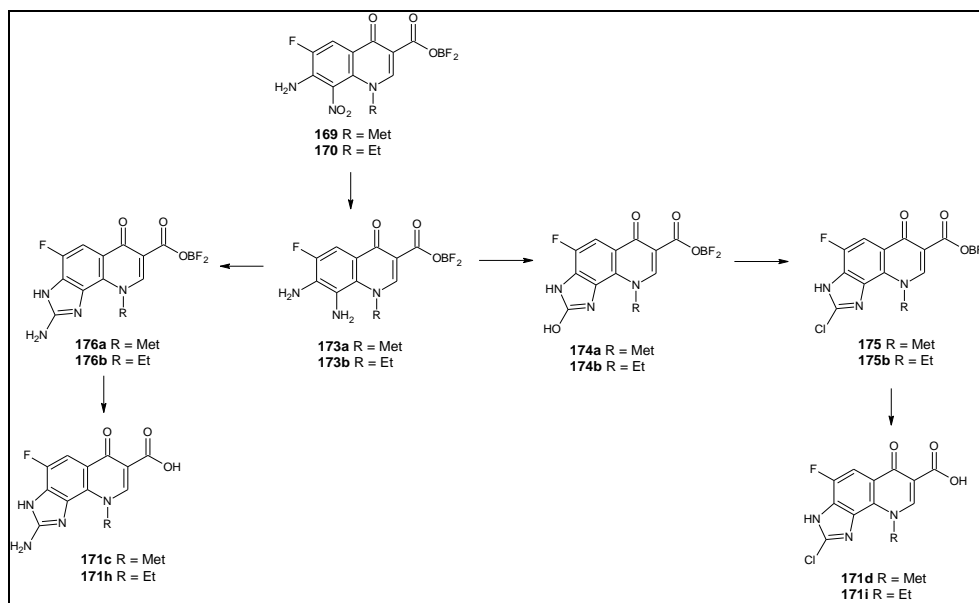
8. CONCLUSIONES

El acoplamiento molecular *in silico*, indicó que los derivados **171d** y **171i** son los candidatos de mayor probabilidad para obtener actividad contra *Mycobacterium tuberculosis*, mientras que **171c** y **171h** contra la topoisomerasa IIa humana, posicionándolos como potenciales agentes quimioterapéuticos para su posterior análisis *in vitro* e *in vivo*. Debido a ello, en la presente tesis de maestría se estableció una ruta de síntesis que permite generar el intermediario 7-amino-8-nitro-fluoroquinolona partiendo de anilinas sustituidas, el cual representa un método simple de obtención y que resulta de gran interés para la química medicinal, donde se obtuvieron moderados rendimientos de reacción, abriendo la posibilidad de evaluar, adicionalmente, el difluoroborilo incorporado a la quinolona fusionado al bencimidazol, ya que las condiciones del ácido trifluoroacético al 30% o la mezcla H₂SO₂/HNO₃, en la desbencilación para generar la 7-aminoquinolona o la nitración en C-8, respectivamente, permiten conservar el éster de borato sin comprometer el rendimiento y las condiciones suaves de reacción.

9. PERSPECTIVAS

Los estudios de acoplamiento molecular realizados mostraron la posibilidad de que determinados híbridos aquí propuestos puedan fungir como antituberculosos, incluso antitumorales; sin embargo, es necesario evaluarlos de manera *in vitro* para complementar y verificar la actividad, así como su efectividad tanto en forma de ácido carboxílico como de éster de boro. Para ello, es necesario llevar a cabo la síntesis de los híbridos partiendo de los compuestos 7-amino-8-nitro-fluoroquinolona **169** ó **170**

sintetizados en este trabajo de tesis; la reducción del nitro en C-8 con ditionito de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)¹⁸¹ o la reducción con estaño metálico o cloruro de estaño en ambiente prótico¹⁸² para formar el precursor 7,8-diamino-fluoroquinolona **173a-b**, la reacción de este último con urea permite la formación de **174a-b** sustituido con un OH en la porción imidazolica que es transformado a **175a-b** mediante la reacción con POCl_3 o PCl_3 en medio ácido, o bien, **171d** ó **171i** mediante la hidrólisis del éster¹⁸³. Por otro lado, la síntesis de **176a-b** es posible mediante la reacción de la 7,8-diamino-fluoroquinolona con bromonitrilo^{183–185}, la posterior hidrólisis del éster permite formar los híbridos **171c** ó **171h** (Esquema 26).



Esquema 26. Síntesis de híbridos FQ-BZ a partir de **169** ó **170**^{181–185}

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hakimi, H., Zarandi, E., Assar, S. (2019). Nobel Prizes in Physiology or Medicine with an Emphasis on Bacteriology. *Journal of Medical Bacteriology*. 8 (3), 49–57.
2. Valent, P., Groner, B., Schumacher, U. (2016). Paul Ehrlich (1854-1915) and His Contributions to the Foundation and Birth of Translational Medicine. *Journal of Innate Immunity*. 8 (2), 111–120.
3. Berche, P. (2021). Louis Pasteur, from Crystals of Life to Vaccination. *Clinical Microbiology and Infection*. 18 (suppl. 5), 1–6.
4. Aminov, R. (2017). History of Antimicrobial Drug Discovery: Major Classes and Health Impact. *Biochemical Pharmacology*. 133, 4–19.
5. Brown, E., Wright, G. (2016). Antibacterial Drug Discovery in the Resistance Era. *Nature*. 529 (7586), 336–343.
6. L.L. Silver (2011). Challenges of Antibacterial Discovery. *Clinical Microbiology Reviews*. 24 (1), 71–109.
7. Mohammed, H., Abuo-Rahma, G., Abbas, S., Abdelhafez, E. (2018). Current Trends and Future Directions of Fluoroquinolones. *Current Medicinal Chemistry*. 26 (17), 3132–3149.
8. Fair, R., Tor, Y. (2014). Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*. 6, 25–64.
9. Salahuddin., Shaharyar, M., Mazumder, A. (2017). Benzimidazoles: A Biologically Active Compounds. *Arabian Journal of Chemistry*. 10, S157–S173.
10. Cooper, R., Magwere, T. (2008). Chloroquine: Novel Uses & Manifestations. *Indian Journal of Medical Research*. 127 (4), 305–316.
11. Mitsuhashi, S., Kojima, T., Nakanishi, N. (1992). Fluorinated quinolones - New Quinolone Antimicrobials. *Progress in Drug Research*. 9–147.
12. Leshner, G., Froelich, E., Gruett, M., Bailey, J., Brundage, R. (1962). 1,8-Naphthyridine Derivatives. A New Class of Chemotherapeutic Agents. *Journal of Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. (5), 1063–1065.
13. Guiguère, S., Prescott, J., Dowling, P. (2013). Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. 5^a ed. Wiley Blackwell. Cap. 18. 295-315.
14. Ball, P. (2000) Quinolone Generations: Natural History or Natural Selection? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 46 (suppl 3), 17–24.

15. Mitscher, L. (2005). Bacterial Topoisomerase Inhibitors: Quinolone and Pyridone Antibacterial Agents. *Chemical Reviews*. 105 (2), 559–592.
16. Jackson, M., Schutze, G., Byington, C. (2016). The use of Systemic and Topical Fluoroquinolones. *Pediatrics*. 138 (5).
17. Pallo-Zimmerman, L., Byron, J., Graves, T. (2010). Fluoroquinolones: Then and Now. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*. 32 (7), 1–9.
18. Emmerson, A. (2003). The quinolones: Decades of Development and Use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 51, 13–20.
19. Leyva, E., Leyva, S. (2008). Fluoroquinolonas. Mecanismos de acción y Resistencia, Estructura, Síntesis y Reacciones Fisicoquímicas Importantes para Propiedades Medicinales. *Revista de la Sociedad Química de México*. 2 (1), 1–13.
20. Leyva, S., Hernández, H., Jiménez, R., Chacón, L., Vega, S. (2017). An Efficient Reduction of Azide to Amine: A New Methodology to Synthesize Ethyl 7-amino-1-ethyl-6, 8-difluoroquinolone-3-carboxylate and its Spectroscopic Characterization. *Chemical Papers*. 71(5), 939-947.
21. Tanaka, K., Vu, H., Hayashi, M. (2021). In vitro activities and spectrum of lascufloxacin (KRP-AM1977) Against Anaerobes. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 27 (8), 1265–1269.
22. Dalhoff, A. (2015). Antiviral, Antifungal, and Antiparasitic Activities of Fluoroquinolones Optimized for Treatment of Bacterial Infections: a Puzzling Paradox or a Logical Consequence of their Mode of Action? *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 34 (4), 661–668.
23. Hernández, H., Sánchez, G., Araujo, J., Granados, A., López, A., Leyva, S., Chacón. (2019). Synthesis of Hybrid Fluoroquinolone-Boron Complexes and Their Evaluation in Cervical Cancer Cell Lines. *Journal of Chemistry*. 2019. ID 5608652, 1-6.
24. Gao, F., Zhang, X., Wang, T., Xiao, J. (2019). Quinolone Hybrids and their Anti-Cancer Activities: An Overview. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 165, 59–79.
25. Scoper, S. (2008). Review of Third and Fourth Generation Fluoroquinolones in Ophthalmology: In-Vitro and In-Vivo Efficacy. *Advances in Therapy*. 25 (10), 979–994.
26. Stern, M., Gao, J., Beuerman, R., Farley, W., Zhuo, L., McDonell, J., Pflugfelder, S. (2006). Effects of Fourth-Generation Fluoroquinolones on the Ocular Surface, Epithelium, and Wound Healing. *Cornea*. 25 (suppl. 2), 12–24.
27. Mathews, B., Thalody, A., Miraj, S., Kunhikatta, V., Rao, M., Saravu, K. (2019). Adverse Effects of Fluoroquinolones: A Retrospective Cohort Study in a South Indian Tertiary Healthcare Facility. *Antibiotics*. 8 (3), 1–17.

28. Leyva, S., Hernández, H. (2017). Fluoroquinolonas: Perspectivas no Antibacterianas. *Revista Española de Quimioterapia*. 30 (1), 1–8.
29. Petersen, U. (2006). Analogue Based Drug Discovery. Cap 17: Quinolone Antibiotics: The Development of Moxifloxacin; J. Fisher, R. Ganellin, Editors. Willey-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. 315-317.
30. Garg, A., Sheppard, J., Donnenfeld, E., Friedlaender, M. (2010). Tratamiento Antibiótico y Antiinflamatorio en Oftalmología/Antibiotic and Anti-inflammatory Therapy in Ophthalmology. Ed. Médica Panamericana.
31. Bhanot, S., Singh, M., Chatterjee, N. (2001). The Chemical and Biological Aspects of Fluoroquinolones Reality and Dreams. *Current Pharmaceutical Design*. 7 (5), 311–335.
32. Georgopapadakou, N., Dix, B., Angehrn, P., Wick, A., Olson, G.L. (1987). Monocyclic and Tricyclic Analogs of Quinolones: Mechanism of Action. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 31 (4), 614–616.
33. Bryskier, A., Chantot, J. (1955). Classification and Structure-Activity Relationships of Fluoroquinolones. *Drugs*. 49 (2), 16–28.
34. Domalaon, R., Idowu, T., Zhanel, G., Schweizer, F. (2018). Antibiotic Hybrids: The Next Generation of Agents and Adjuvants Against Gram-Negative Pathogens? *Clinical Microbiology Reviews*. 31 (2), 1–45.
35. Fedorowicz, J., Sączewski, J. (2018). Modifications of Quinolones and Fluoroquinolones: Hybrid Compounds and Dual-Action Molecules. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*. 149(7), 1199-1245.
36. Latorre, A., Silva, F. (2001). El Tamaño del Genoma y la Complejidad de los Seres Vivos. *Métode Anuario*. 184–188.
37. Dighe, S., Collet, T. (2020). Recent Advances in DNA Gyrase-Targeted Antimicrobial Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 199, 112326.
38. Aldred, K., Kerns, R., Osheroff, N. (2014). Mechanism of Quinolone Action and Resistance. *Biochemistry*. 53, 1564–1574.
39. Champoux, J. (2001). DNA Topoisomerases: Structure, Function, and Mechanisms. *Annual Review of Biochemistry*. 70, 369–413.
40. Arakawa, H., Shirasaka, Y., Haga, M., Nakanishi, T., Tamai, I. (2012) Active Intestinal Absorption of Fluoroquinolone Antibacterial Agent Ciprofloxacin by Organic Anion Transporting Polypeptide, Oatp1a5. *Biopharmaceuticals and Drug Disposition*. 33(6), 332–341.

41. Anquetin, G., Rouquayrol, M., Mahmoudi, N., Santillana, M., GOzalbes, R., Greiner, J., Farhati, K., Derouin, F., Guedj, R., Vierling, P. (2004). Synthesis of New Fluoroquinolones and Evaluation of their *In Vitro* Activity on *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium spp.* *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 14 (11), 2773–2776.
42. Kan, J., Hsu, Y., Chen, Y., Chen, T., Wang, J., Kuo, P. (2013). Gemifloxacin, a Fluoroquinolone Antimicrobial Drug, Inhibits Migration and Invasion of Human Colon Cancer Cells. *BioMed Research International*. 2013. ID 159786, 1-11.
43. Lupala, C., Gomez, P., Perez, J. (2013). Molecular Determinants of the Bacterial Resistance to Fluoroquinolones: A Computational Study. *Current Computer Aided Drug Design*. 9 (2), 281–288.
44. Madurga, S., Sánchez, J., Belda, I., Vila, J., Giralt, E. (2008). Mechanism of Binding of Fluoroquinolones to the Quinolone Resistance-Determining Region of DNA gyrase: Towards an Understanding of the Molecular Basis of Quinolone Resistance. *ChemBioChem*. 9 (13), 2081–2086.
45. Moreno, C., González, E., Beltrán, C. (2009). Antimicrobial Resistance Mechanisms in Respiratory Pathogens. *Revista de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza*. 69 (2), 185–192.
46. Qin, T., Bi, R., Fan, W., Kang, H., Ma, P., Gu, B. (2016). Novel Mutations in Quinolone Resistance-Determining Regions of *gyrA*, *gyrB*, *parC* and *parE* in *Shigella flexneri* Clinical Isolates from Eastern Chinese Populations Between 2001 and 2011. *European Journal of Microbiology & Infectious Diseases*. 35 (12), 2037–2045.
47. Correia, S., Poeta, P., Hébraud, M., Capelo, J., Igrejas, G. (2017). Mechanisms of Quinolone Action and Resistance: Where Do We Stand? *Journal of Medical Microbiology*. 66 (5), 551–559.
48. Chávez, V., Ramírez, M., Silva, J., Cervantes, C. (2015). Resistencia Bacteriana a Quinolonas: Ddeterminantes Codificados en Plásmidos. *Revista de Educación Bioquímica*. 34(1), 4-9.
49. Drlica, K., Zhao, X., Malik, M., Hiasa, H., Mustaev, A., Kerns, R. (2020). Bacterial Resistance to Antibiotics - From Molecules to Man. Chapter 6: Fluoroquinolone Resistance. 1st ed, John Wiley and Sons. 125–161.
50. Rodríguez, J., Machuca, J., Cano, M., Calvo, J., Martínez, L., Pascual, A. (2016). Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: Two Decades on. *Drug Resistance Updates*. 29, 13–29.
51. Gootz, T., Brighty, K. (1996). Fluoroquinolone Antibacterials: SAR, Mechanism of Action, Resistance, and Clinical Aspects. *Medicinal Research Reviews*. 16 (5), 433–486.

52. Chu, D., Fernandes, P. (1989). Structure-Activity Relationships of the Fluoroquinolones. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 33(2), 131-135.
53. Mella, S., Acuña, G., Pérez, C., Labarca, J., González, G., Bello, H., Zemelman, R. (2000). Quinolonas: Aspectos Generales sobre su Estructura y Clasificación. *Revista Chilena de Infectología*. 17(1), 53-66.
54. Domagala, J. (1994). Structure-Activity and Structure-Side-Effect Relationships for the Quinolone Antibacterials. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 33 (4), 685–706.
55. Charushin, V, Nosova, E., Lipunova, G., Chupakhin, O. (2014). Fluoroquinolones: Synthesis and Application. *Fluorine in Heterocyclic Chemistry*. Volume 2 (pp. 111-179). Springer, Cham.
56. Azéma, J., Guidetti, B., Malet, M., Martino, R., Roques, C. (2006). Efficient Approach to Acyloxymethyl Esters of Nalidixic Acid and *In Vitro* Evaluation as Intra-Ocular Prodrugs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 14 (8), 2569–2580.
57. Abdel-Aal, M., Abdel-Aziz, S., Shaykoon, M., Abuo-Rahma, G. (2019). Towards Anticancer Fluoroquinolones: a Review article. *Archiv der Pharmazie*, 352(7), 1800376. 1-19.
58. Wentland, M., Siporin, C., Heifetz, C., Domagala, J. (1990). The New Generation of Quinolones. Siporin, (eds.), New York, Basel, 1-45.
59. Stevens, M., Pollicita, M., Pannecouque, C., Verbeken, E., Tabarrini, O., Cecchetti, V., Balzarini, J. (2007). Novel *In Vivo* Model for the Study of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Transcription Inhibitors: Evaluation of New 6-Desfluoroquinolone Derivatives. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51(4), 1407-1413.
60. Hu, Y., Zhang, S., Xu, Z., Lv, Z. S., Liu, M. L., Feng, L. S. (2017). 4-Quinolone Hybrids and Their Antibacterial Activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 141, 335-345.
61. Tomita, K., Tsuzuki, Y., Shibamori, K. I., Tashima, M., Kajikawa, F., Sato, Y., Hino, K. (2002). Synthesis and Structure–Activity Relationships of Novel 7-Substituted 1,4-dihydro-4-oxo-1-(2-thiazolyl)-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acids as Antitumor Agents. Part 1. *Journal of Medicinal Chemistry*. 45(25), 5564-5575.
62. Wiles, J. A., Bradbury, B. J., Pucci, M. J. (2010). New Quinolone Antibiotics: A Survey of the Literature From 2005 to 2010. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 20(10), 1295-1319.

63. Lu, T., Zhao, X., Li, X., Drlica-Wagner, A., Wang, J. Y., Domagala, J., Drlica, K. (2001). Enhancement of Fluoroquinolone Activity by C-8 Halogen and Methoxy Moieties: Action Against a Gyrase Resistance Mutant of *Mycobacterium Smegmatis* and a Gyrase-Topoisomerase IV Double Mutant of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45(10), 2703-2709.
64. Blokhina, S., Sharapova, A., Ol'khovich, M., Perlovich, G. (2017). Sublimation Thermodynamics of Four Fluoroquinolone Antimicrobial Compounds. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 105, 37-43.
65. Simon, Ž., Katja, B., Darko, U., Marjan, V., Albin, K. (2010). Metal Cation–Fluoroquinolone Complexes do not Permeate Through the Intestinal Absorption Barrier. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 53(3), 655-659.
66. Lecomte, S., Baron, M. H., Chenon, M. T., Coupry, C., Moreau, N. J. (1994). Effect of Magnesium Complexation by Fluoroquinolones on Their *Antibacterial Properties*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 38(12), 2810-2816.
67. Bermejo, M., Avdeef, A., Ruiz, A., Nalda, R., Ruell, J. A., Tsinman, O., Merino, V. (2004). PAMPA—A Drug Absorption *In Vitro* Model: 7. Comparing Rat *in Situ*, Caco-2, and PAMPA Permeability of Fluoroquinolones. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 21(4), 429-441.
68. Rahila, B., Zubair, A., Nafeesa, M., Iqbal, A. (2017). Photochemistry of Fluoroquinolones: A Review. *Baqai Journal of Health Sciences*. 20(1), 37-58.
69. Albini, A., Monti, S. (2003). Photophysics and Photochemistry of Fluoroquinolones. *Chemical Society Reviews*. 32(4), 238-250.
70. Chandna, N., Kaur, F., Kumar, S., Jain, N. (2017). Glucose Promoted Facile Reduction of Azides to Amines Under Aqueous Alkaline Conditions. *Green Chemistry*. 19(18), 4268-4271.
71. Hernández, H., Leyva, S. (2011). 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*. 42(3), 27-34.
72. Leyva, S., Leyva, E., Cardoso, J., Hernández, H. (2017). Microwave-Assisted Synthesis of Ethyl 7-chloro-4-oxo-1, 4-dihydro-1, 8-naphthyridine-3-Carboxylate by the Grohe-Heitzer Reaction. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 61(1), 50-53.
73. Miyamoto, T., Egawa, H., Matsumoto, J. I. (1987). Pyridonecarboxylic Acids as Antibacterial Agents. VIII. An Alternative Synthesis of Enoxacin Via Fluoronicotinic Acid Derivatives. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 35(6), 2280-2285.

74. Gerster, J. F., Rohlfing, S. R., Pecore, S. E., Winandy, R. M., Stern, R. M., Landmesser, J. E., Gleason, W. B. (1987). Synthesis, Absolute Configuration, and Antibacterial Activity of 6, 7-dihydro-5, 8-dimethyl-9-fluoro-1-oxo-1H, 5H-benzo [ij] quinolizine-2-carboxylic Acid. *Journal of Medicinal Chemistry*. 30(5), 839-843.
75. Keri, R. S., Hiremathad, A., Budagumpi, S., Nagaraja, B. M. (2015). Comprehensive Review in Current Developments of Benzimidazole-Based Medicinal Chemistry. *Chemical Biology & Drug Design*. 86(1), 19-65.
76. Anand, K., Wakode, S. (2017). Development of Drugs Based on Benzimidazole Heterocycle: Recent Advancement and Insights. *Journal of Biological Chemistry*. 5(2), 350-362.
77. Hadole, C. D., Rajput, J. D., Bendre, R. S. (2018). Concise on Some Biologically Important 2-substituted Benzimidazole Derivatives. *Organic Chemistry: Current Research*. 7(3), 1-9.
78. Narasimhan, B., Sharma, D., Kumar, P. (2012). Benzimidazole: A Medicinally Important Heterocyclic Moiety. *Medicinal Chemistry Research*. 21(3), 269-283.
79. Bansal, Y., Silakari, O. (2012). The Therapeutic Journey of Benzimidazoles: A Review. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 20(21), 6208-6236.
80. Domańska, U., Bogel-Lukasik, E. (2003). Solubility of Benzimidazoles in Alcohols. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 48(4), 951-956.
81. Domańska, U., Pobudkowska, A., Rogalski, M. (2004). Solubility of Imidazoles, Benzimidazoles, and Phenylimidazoles in Dichloromethane, 1-chlorobutane, Toluene, and 2-nitrotoluene. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 49(4), 1082-1090.
82. Naga, K., Ravi, K. (2015). Green Synthesis of Benzimidazole Derivatives: An Overview of Bulk Drug Synthesis. *International Journal of PharmTech Research*. 8 (9), 60–68.
83. Brink, N. G., Holly, F. W., Shunk, C. H., Peel, E. W., Cahill, J. J., Folkers, K. (1950). Vitamin B12. IX. 1- α -D-ribofuranosido-5, 6-dimethylbenzimidazole, a Degradation Product of Vitamin B12. *Journal of the American Chemical Society*. 72(4), 1866-1866.
84. Preston, P. N. (1981). Benzimidazoles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds: Benzimidazoles and Congeneric Tricyclic Compounds, Part 1*, 40, 1-285.
85. Alamgir, M., Black, D. S. C., Kumar, N. (2007). Synthesis, Reactivity and Biological Activity of Benzimidazoles. *In Bioactive Heterocycles III*. (pp. 87-118). Springer, Berlin, Heidelberg.

86. Alaqeel, S. I. (2017). Synthetic Approaches to Benzimidazoles From o-phenylenediamine: A Literature Review. *Journal of Saudi Chemical Society*. 21(2), 229-237.
87. Wright, J. B. (1951). The Chemistry of the Benzimidazoles. *Chemical Reviews*. 48(3), 397-541.
88. Heravi, M. M., Tajbakhsh, M., Ahmadi, A. N., Mohajerani, B. (2006). Zeolites. Efficient and Eco-Friendly Catalysts for the Synthesis of Benzimidazoles. *Monatshefte für Chemie/Chemical Monthly*. 137(2), 175-179.
89. Jing, X., Zhu, Q., Xu, F., Ren, X., Li, D., Yan, C. (2006). Rapid One-Pot Preparation of 2-substituted Benzimidazoles from Esters Using Microwave Conditions. *Synthetic Communications*. 36(18), 2597-2601.
90. Kattimani, P. P., Kamble, R. R., Meti, G. Y. (2015). Expedient Synthesis of Benzimidazoles Using Amides. *Royal Society of Chemistry Advances*. 5(37), 29447-29455.
91. Lin, S., Yang, L. (2005). A Simple and Efficient Procedure for the Synthesis of Benzimidazoles Using Air as the Oxidant. *Tetrahedron Letters*. 46(25), 4315-4319.
92. Yang, D., Fokas, D., Li, J., Yu, L., Baldino, C. M. (2005). A Versatile Method for the Synthesis of Benzimidazoles from o-nitroanilines and Aldehydes in One Step Via a Reductive Cyclization. *Synthesis*. 2005(01), 47-56.
93. Pardeshi, S. D., Thore, S. N. (2015). Mild and Efficient Synthesis of 2 Aryl Benzimidazoles in Water Using SDS. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*. 4, 300-307.
94. Frei, R., Breitbach, A. S., Blackwell, H. E. (2012). 2-Aminobenzimidazole Derivatives Strongly Inhibit and Disperse *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Angewandte Chemie*. 124(21), 5316-5319.
95. Rathod, C. P., Rajurkar, R. M., Thonte, S. S. (2013). Benzimidazole Synthesis and Biological Evaluation: A Review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 3(2), 2323-2329.
96. Zarguil, A., Boukhris, S., El Efrif, M. L., Souizi, A., Essassi, E. M. (2008). Easy Access to Triazoles, Triazolopyrimidines, Benzimidazoles and Imidazoles from Imidates. *Tetrahedron Letters*. 49(41), 5883-5886.
97. Brahmayya, M., Dai, S. A., Suen, S. Y. (2017). Facile Synthesis of 2-Benzimidazolones Via Carbonylation of o-phenylenediamines With CO₂. *Journal of CO₂ Utilization*. 22, 135-142.

98. Gurralla, S., Babu, Y., Rao, M., Latha, B. (2011). Symmetrical Coupling of 2-mercapto Benzimidazole Derivatives and Their Antimicrobial Activity. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(2), 217-220.
99. Hanan, E. J., Chan, B. K., Estrada, A. A., Shore, D. G., Lyssikatos, J. P. (2010). Mild and General One-Pot Reduction and Cyclization of Aromatic and Heteroaromatic 2-nitroamines to Bicyclic 2H-imidazoles. *Synlett*. 2010(18), 2759-2764.
100. Nguyen, T., Ermolenko, L., Al-Mourabit, A. (2016). Formic Acid as a Sustainable and Complementary Reductant: an Approach to Fused Benzimidazoles by Molecular Iodine-Catalyzed Reductive Redox Cyclization of *o*-nitro-*t*-anilines. *Green Chemistry*. 18(10), 2966-2970.
101. Baars, H., Beyer, A., Kohlhepp, S. V., Bolm, C. (2014). Transition-Metal-Free Synthesis of Benzimidazoles Mediated by KOH/DMSO. *Organic Letters*. 16(2), 536-539.
102. Preston, P. (1974). Synthesis, Reactions, and Spectroscopic Properties of Benzimidazoles. *Chemical Reviews*. 74(3), 279-314.
103. Liubchak, K., Nazarenko, K., Tolmachev, A. (2012). Synthesis of Annulated Benzimidazoles Via Amidine Cyclization. *Tetrahedron*. 68(14), 2993-3000.
104. Lacey, E., Gill, J. H. (1994). Biochemistry of Benzimidazole Resistance. *Acta Tropica*. 56(2-3), 245-262.
105. Barlan, K., Gelfand, V. I. (2017). Microtubule-Based Transport and the Distribution, Tethering, and Organization of Organelles. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 9(5), a025817.
106. Fennell, B. J., Naughton, J. A., Barlow, J., Brennan, G., Fairweather, I., Hoey, E., Bell, A. (2008). Microtubules as Antiparasitic Drug Targets. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 3(5), 501-518.
107. Mavrova, A. T., Anichina, K. K., Vuchev, D. I., Tsenov, J. A., Denkova, P. S., Kondeva, M. S., Micheva, M. K. (2006). Antihelminthic Activity of Some Newly Synthesized 5(6)-(un)substituted-1H-benzimidazol-2-ylthioacetyl piperazine Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 41(12), 1412-1420.
108. Sondhi, S. M., Rajvanshi, S., Johar, M., Bharti, N., Azam, A., Singh, A. K. (2002). Anti-inflammatory, Analgesic and Antiamoebic Activity Evaluation of Pyrimido [1, 6-*a*] Benzimidazole Derivatives Synthesized by the Reaction of Ketoisothiocyanates with Mono and Diamines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 37(10), 835-843.
109. Andrzejewska, M., Yepez-Mulia, L., Tapia, A., Cedillo-Rivera, R., Laudy, A. E., Starościak, B. J., Kazimierczuk, Z. (2004). Synthesis, and Antiprotozoal and

Antibacterial Activities of S-substituted 4, 6-dibromo-and 4, 6-dichloro-2-mercaptobenzimidazoles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 21(2-3), 323-329.

110. Wang, M., Han, X., Zhou, Z. (2015). New Substituted Benzimidazole Derivatives: A Patent Review (2013–2014). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 25(5), 595-612.

111. Yaseen, G., Sudhakar, J. (2010). Design, Synthesis and Antimicrobial Activity of 2-mercaptobenzimidazole Derivatives. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 1(4), 281-286.

112. Zhang, H. Z., He, S. C., Peng, Y. J., Zhang, H. J., Gopala, L., Tangadanchu, V. K. R., Zhou, C. H. (2017). Design, Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Novel Benzimidazole-Incorporated Sulfonamide Analogues. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 136, 165-183.

113. Göker, H., Özden, S., Yıldız, S., Boykin, D. W. (2005). Synthesis and Potent Antibacterial Activity Against MRSA of Some Novel 1, 2-disubstituted-1H-benzimidazole-N-alkylated-5-carboxamidines. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 40(10), 1062-1069.

114. Kumar, B. V. S., Vaidya, S. D., Kumar, R. V., Bhirud, S. B., Mane, R. B. (2006). Synthesis and anti-bacterial activity of some novel 2-(6-fluorochroman-2-yl)-1-alkyl/acyl/aroyl-1H-benzimidazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 41(5), 599-604.

115. Klimešová, V., Kočí, J., Waissner, K., Kaustová, J. (2002). New Benzimidazole Derivatives as Antimycobacterial Agents. *Il Fármaco*. 57(4), 259-265.

116. Kilcigil, G., Altanlar, N. (2006). Synthesis and Antifungal Properties of Some Benzimidazole Derivatives. *Turkish Journal of Chemistry*. 30(2), 223-228.

117. Aanandhi, M. V., Verma, A. K., Sujatha, R., Raj, R. K. (2013). Synthesis and Characterization of Novel Mannich Bases of Benzimidazole Derivatives for Antibacterial and Antifungal Activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(2), 295-297.

118. Bollen, G. J., Fuchs, A. (1970). On the Specificity of the *In Vitro* and *In Vivo* Antifungal Activity of Benomyl. *Netherlands Journal of Plant Pathology*. 76(6), 299-312.

119. Özkay, Y., Tunalı, Y., Karaca, H., Işıklıdağ, İ. (2010). Antimicrobial Activity and a SAR Study of Some Novel Benzimidazole Derivatives Bearing Hydrazone Moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 45(8), 3293-3298.

120. Budow, S., Kozłowska, M., Gorska, A., Kazmierczuk, Z., Eickmeier, H., La Colla, P., Seela, F. (2009). Substituted Benzimidazoles: Antiviral Activity and Synthesis of Nucleosides. *ARKIVOC: Online Journal of Organic Chemistry*. 2009(3), 225-250.
121. Fei, F., Zhou, Z. (2013). New Substituted Benzimidazole Derivatives: a Patent Review (2010–2012). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 23(9), 1157-1179.
122. P Barot, K., Nikolova, S., Ivanov, I., D Ghate, M. (2013). Novel Research Strategies of Benzimidazole Derivatives: A review. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 13(10), 1421-1447.
123. Pandey, V. K., Shukla, A. (1999). Synthesis and Biological Activity of Isoquinolinyl Benzimidazoles. *Indian Journal of Chemistry*. 38, 1381-1383.
124. Hue, B., Nguyen, P., De, T., Van Hieu, M., Jo, E., Van Tuan, N., Windisch, M. P. (2020). Benzimidazole Derivatives as Novel Zika Virus Inhibitors. *ChemMedChem*. 15(15), 1453-1463.
125. Tahlan, S., Kumar, S., Kakkar, S., Narasimhan, B. (2019). Benzimidazole Scaffolds as Promising Antiproliferative Agents: A Review. *BMC Chemistry*. 13(1), 1-16.
126. Shrivastava, N., Naim, M. J., Alam, M. J., Nawaz, F., Ahmed, S., Alam, O. (2017). Benzimidazole Scaffold as Anticancer Agent: Synthetic Approaches and Structure–Activity Relationship. *Archiv der Pharmazie*. 350(6), e201700040. 1-80.
127. Skibo, E. B., Schulz, W. G. (1993). Pyrrolo [1, 2-a] benzimidazole-based Aziridinyl Quinones. A New Class of DNA Cleaving Agent Exhibiting G and A Base Specificity. *Journal of Medicinal Chemistry*. 36(21), 3050-3055.
128. Singla, P., Luxami, V., Singh, R., Tandon, V., Paul, K. (2017). Novel pyrazolo [3, 4-d] pyrimidine with 4-(1H-benzimidazol-2-yl)-phenylamine as Broad Spectrum Anticancer Agents: Synthesis, Cell Based Assay, Topoisomerase Inhibition, DNA Intercalation and Bovine Serum Albumin Studies. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 126, 24-35.
129. Imran, M., Nayeem, N., Said, A., Bawadekji, A. (2017). Benzimidazole Derivatives: An Important Scaffold for the Development of Newer Angiotensin Receptor Antagonists. *Journal of the North for Basic and Applied Sciences* Volume, 2(2), 135-147.
130. Sharma, S., Sharma, M. C., Kohli, D. V. (2010). Design; Synthesis and Pharmacological Investigation of some Benzimidazole Derivatives 4'-(5, 6-substitued-2-trifluoromethyl-benzoimidazol-1-ylmethyl)-biphenyl-2-carboxylic Acid as Potent Antihypertensive Agents. *Journal of Optoelectronics and Biomedical Materials*. 2(4), 203-211.

131. Zhang, Y., Xu, J., Li, Y., Yao, H., Wu, X. (2015). Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel NO-Releasing Benzimidazole Hybrids as Potential Antihypertensive Candidate. *Chemical Biology & Drug Design*. 85(5), 541-548.
132. Tiligada, E., Ennis, M. (2020). Histamine Pharmacology: From Sir Henry Dale to the 21st century. *British Journal of Pharmacology*. 177(3), 469-489.
133. Gaba, M., Mohan, C. (2016). Development of Drugs Based on Imidazole and Benzimidazole Bioactive Heterocycles: Recent Advances and Future Directions. *Medicinal Chemistry Research*. 25(2), 173-210.
134. Wang, X. J., Xi, M. Y., Fu, J. H., Zhang, F. R., Cheng, G. F., You, Q. D. (2012). Synthesis, Biological Evaluation and SAR Studies of Benzimidazole Derivatives as H1-antihistamine Agents. *Chinese Chemical Letters*. 23(6), 707-710.
135. Achar, K., Hosamani, K., Seetharamareddy, H. (2010). In-vivo Analgesic and Anti-Inflammatory Activities of Newly Synthesized Benzimidazole Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 45(5), 2048-2054.
136. Bukhari, S., Lauro, G., Jantan, I., Fei Chee, C., Amjad, M., Bifulco, G., Rahman, N. (2016). Anti-Inflammatory Trends of New Benzimidazole Derivatives. *Future Medicinal Chemistry*. 8(16), 1953-1967.
137. Cashin, C. H., Dawson, W., Kitchen, E. A. (1977). The Pharmacology of Benoxaprofen (2-[4-chlorophenyl]- α -methyl-5-benzoxazole acetic acid), LRCL 3794, a New Compound With Anti-Inflammatory Activity Apparently Unrelated to Inhibition of Prostaglandin Synthesis. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 29(1), 330-336.
138. Moneer, A., Mohammed, K., El-Nassan, H. (2016). Synthesis of Novel Substituted Thiourea and Benzimidazole Derivatives Containing a Pyrazolone Ring as Anti-Inflammatory Agents. *Chemical Biology & Drug Design*. 87(5), 784-793.
139. Welage, L. S., Berardi, R. R. (2000). Evaluation of Omeprazole, Lansoprazole, Pantoprazole, and Rabeprazole in the Treatment of Acid-Related Diseases. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 40(1), 52-62.
140. Alarcon, T., Domingo, D., Sanchez, I., Sanz, J. C., Martínez, M., López M. (1998). *In Vitro* Activity of Ebrotidine, Ranitidine, Omeprazole, Lansoprazole, and Bismuth Citrate Against Clinical Isolates of *Helicobacter pylori*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 17(4), 275-277.
141. Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., Maxwell, A. (2020). Quinolones: Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance. *Molecules*. 25(23), 5662.

142. Ouchi, Y., Mukai, T., Koide, K., Yamaguchi, T., Park, J. H., Kim, H., Suzuki, Y. (2020). WQ-3810: A New Fluoroquinolone with a High Potential Against Fluoroquinolone-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Tuberculosis*. 120, 101891.
143. Qin, Z., Wang, F., Li, X., Zhang, X. (2006). Syntheses and Fungicidal Activities of N'-(5-aryl-1, 3, 4-oxadiazol-2-yl) Furoylthioureas. *Chinese Journal of Applied Chemistry*. 23(2), 217.
144. Xu, J. H., Fan, Y. L., Zhou, J. (2018). Quinolone-Triazole Hybrids and their Biological Activities. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 55(8), 1854-1862.
145. Fujita, M., Egawa, H., Kataoka, M., Miyamoto, T., Nakano, J., Matsumoto, J. I. (1995). Imidazo and Triazoloquinolones as Antibacterial Agents. Synthesis and Structure-Activity Relationships. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 43(12), 2123-2132.
146. Bazin, H. G., Bess, L. S., Livesay, M. T. (2018). Synthesis and Applications of Imidazoquinolines: A Review. *Organic Preparations and Procedures International*. 50(2), 109-244.
147. Reddy, G., Kanth, S., Maitraie, D., Narsaiah, B., Rao, P., Kishore, K., Parthasarathy, T. (2009). Design, Synthesis, Structure-Activity Relationship and Antibacterial Activity Series of Novel Imidazo Fused Quinolone Carboxamides. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 44(4), 1570-1578.
148. Zahra, J., Al-Qawasmeh, R., El-Abadelah, M., Abadleh, M., Zani, F., Incerti, M., Voelter, W. (2016). Heterocycles [h]-fused to 4-oxoquinoline-3-Carboxylic Acid. Part XI: Synthesis and Antibacterial Activity of 4-fluoro-6-Oxoimidazo [4, 5-h] quinoline-7-carboxylic Acids. *Zeitschrift für Naturforschung B*. 71(1), 37-44.
149. Asifiqbal, K. (2014). Thiadiazole Derivatives-Biological Importance. *Unique Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*. 02(06), 12-17.
150. Chen, H., Li, M., Liu, Z., Hu, R., Li, S., Guo, Y., Wang, S. (2018). Design of Antibacterial Peptide-Like Conjugated Molecule with Broad Spectrum Antimicrobial Ability. *Science China Chemistry*. 61(1), 113-117.
151. Al-Qawasmeh, R., Zahra, J., Zani, F., Vicini, P., Boese, R., El-Abadelah, M. (2009). Synthesis and Antibacterial Activity of 9-cyclopropyl-4-fluoro-6-oxo-6, 9-dihydro-[1, 2, 5] thiadiazolo [3, 4-h] quinoline-7-carboxylic Acid and its Ethyl Ester. *Arkivoc: Online Journal of Organic Chemistry*. (7), 332-336.
152. Nicolaou, K. C. (2014). Advancing the Drug Discovery and Development Process. *Angewandte Chemie*. 126(35), 9280-9292.

153. Valencia Rodríguez, C. (2018). Estudio Computacional del Acoplamiento Molecular de XIAP-BIR3 con Ligantes de Núcleo Estructural Alquílfenol. Tesis de Licenciatura. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, Facultad de Ciencias, Programa de Química. Bogotá, Colombia.
154. Saldívar, F., Prieto, F., Medina, J. (2017). Descubrimiento y Desarrollo de Fármacos: Un Enfoque Computacional. *Educación Química*. 28(1), 51-58.
155. R.B. Silverman, M.W. Holladay. (2015). The Organic Chemistry of Drug Design and Drug Action: Third Edition. San Diego, California. Academic Press.
156. Torres, P., Sodero, A., Jofily, P., Silva-Jr, F. (2019). Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(18), 4574. 1-29.
157. Pagadala, N., Syed, K., Tuszynski, J. (2017). Software for Molecular Docking: A Review. *Biophysical Reviews*. 9(2), 91-102.
158. Ferreira, L., Dos Santos, R., Oliva, G., Andricopulo, A. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*. 20(7), 13384-13421.
159. Shamsi, A., Ahmed, A., Khan, M., Husain, F., Amani, S., Bano, B. (2018). Investigating the Interaction of Anticancer Drug Temsirolimus with Human Transferrin: Molecular Docking and Spectroscopic Approach. *Journal of Molecular Recognition*. 31(10), e2728. 1-7.
160. Hill, A., Reilly, P. (2008). A Gibbs Free Energy Correlation for Automated Docking of Carbohydrates. *Journal of Computational Chemistry*. 29(7), 1131-1141.
161. Jubie, S., Kalirajan, R., Yadav, P. (2012). Design, Synthesis and Docking Studies of a Novel Ciprofloxacin Analogue as an Antimicrobial Agent. *E-Journal of Chemistry*. 9(2), 980-987.
162. Norouzbahari, M., Salarinejad, S., Güran, M., Şanlıtürk, G., Emamgholipour, Z., Bijanzadeh, H., Foroumadi, A. (2020). Design, Synthesis, Molecular Docking Study, and Antibacterial Evaluation of Some New Fluoroquinolone Analogues Bearing a Quinazolinone Moiety. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 28(2), 661-672.
163. Jadhav, A., Karuppayil, S. (2017). Molecular Docking Studies on Thirteen Fluoroquinolones with Human Topoisomerase II a and b. *In Silico Pharmacology*. 5(1), 1-12.
164. Blower, T., Williamson, B., Kerns, R., Berger, J. (2016). Crystal Structure and Stability of Gyrase–Fluoroquinolone Cleaved Complexes from *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113(7), 1706-1713.

165. Pedelacq, J., Nguyen, M., Terwilliger, T., Mourey, L. (2020). A Comprehensive Review on *Mycobacterium tuberculosis* Targets and Drug Development from a Structural Perspective. *Structural Biology in Drug Discovery: Methods, Techniques, and Practices*, First Edition. Edited by Jean-Paul Renaud. 545-566.
166. Demirci, A., Karayel, K., Tatar, E., Okullu, S., Ünübol, N., Taşlı, P., Küçükgül, İ. (2018). Synthesis and Evaluation of Novel 1, 3, 4-thiadiazole--Fluoroquinolone Hybrids as Antibacterial, Antituberculosis, and Anticancer Agents. *Turkish Journal of Chemistry*. 42(3), 839-858.
167. Van Maanen, J., Retel, J., De Vries, J., Pinedo, H. (1988). Mechanism of Action of Antitumor Drug Etoposide: A Review. *Journal of the National Cancer Institute*. 80(19), 1526-1533.
168. Jiang, H., Pei, L., Liu, N., Li, J., Li, Z., Zhang, S. (2016). Etoposide-Loaded Nanostructured Lipid Carriers for Gastric Cancer Therapy. *Drug Delivery*. 23(4), 1379-1382.
169. Pintilie, L., Stefaniu, A., Nicu, A., Maganu, M., Caproiu, M. (2018). Design, Synthesis and Docking Studies of Some Novel Fluoroquinolone Compounds with Antibacterial Activity. *Chimie*. 69(4), 815-822.
170. Leyva, E., Monreal, E., Hernández, A. (1999). Synthesis of fluoro-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic acids by the Gould–Jacobs Reaction. *Journal of Fluorine Chemistry*. 94(1), 7-10.
171. H. Hernandez López. (2009). Síntesis de Fluoroquinolonas Asistida por Ácidos de Lewis. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México.
172. Balasubramaniyan, S., Irfan, N., Senthilkumar, C., Umamaheswari, A., Puratchikody, A. (2020). The Synthesis and Biological Evaluation of Virtually Designed Fluoroquinolone Analogs Against Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli* Intended for UTI Treatment. *New Journal of Chemistry*. 44(31), 13308-13318.
173. Moran, D., Ziegler Jr, B., Dunne, T., Kuck, N., Lin, Y. (1989). Synthesis of Novel 5-fluoro Analogs of Norfloxacin and Ciprofloxacin. *Journal of Medicinal Chemistry*. 32(6), 1313-1318.
174. Morita, S., Otsubo, K., Matsubara, J., Ohtani, T., Kawano, Y., Ohmori, K., Uchida, M. (1995). Synthesis of Possible Metabolites of 1-cyclopropyl-1, 4-dihydro-6-fluoro-5-methyl-7-(3-methyl-1-piperazinyl)-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid (Grepafloxacin, OPC-17116). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 43(12), 2246-2252.
175. Hernández, H., Leyva, S., Moncada, R., López, J., Cardoso, J. (2019). Copper (I)-Catalyzed Azide-Alkyne Cycloaddition Microwave-Assisted: Preparation of 7-(4-

Substituted-1H-1, 2, 3-Triazol-1-yl)-Fluoroquinolones. *Chemistry Select.* 4(40), 11899-11902.

176. Zhai, S., Peng, X., Zhang, F., Ma, J. (2019). Catalytic Direct Regioselective Synthesis of Phosphonylated Tetrazoles from Aryl Diazonium Salts and Seyferth-Gilbert Reagent. *Organic Letters.* 21(24), 9884-9888.

177. Chern, C., Huang, Y., Kan, W. (2003). Selective N-debenzylation of Amides With p-TsOH. *Tetrahedron Letters.* 44(5), 1039-1041.

178. German, N., Wei, P., Kaatz, G., Kerns, R. (2008). Synthesis and Evaluation of Fluoroquinolone Derivatives as Substrate-Based Inhibitors of Bacterial Efflux Pumps. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 43(11), 2453-2463.

179. Schlessinger, R., Bebernitz, G., Lin, P., Poss, A. (1985). Total Synthesis of (-)-tirandamycin A. *Journal of the American Chemical Society.* 107(6), 1777-1778.

180. Ghosh, P., Das, S. (2019). Synthesis and Functionalization of 4-Quinolones—A Progressing Story. *European Journal of Organic Chemistry.* 2019(28), 4466-4516.

181. Kumar, V., Poojary, B., Prathibha, A., Shruthi, N. (2014). Synthesis of Some Novel 1, 2-disubstituted benzimidazole-5-carboxylates via One-pot Method Using Sodium Dithionite and its effect on N-Debenzylation. *Synthetic Communications.* 44(23), 3414-3425.

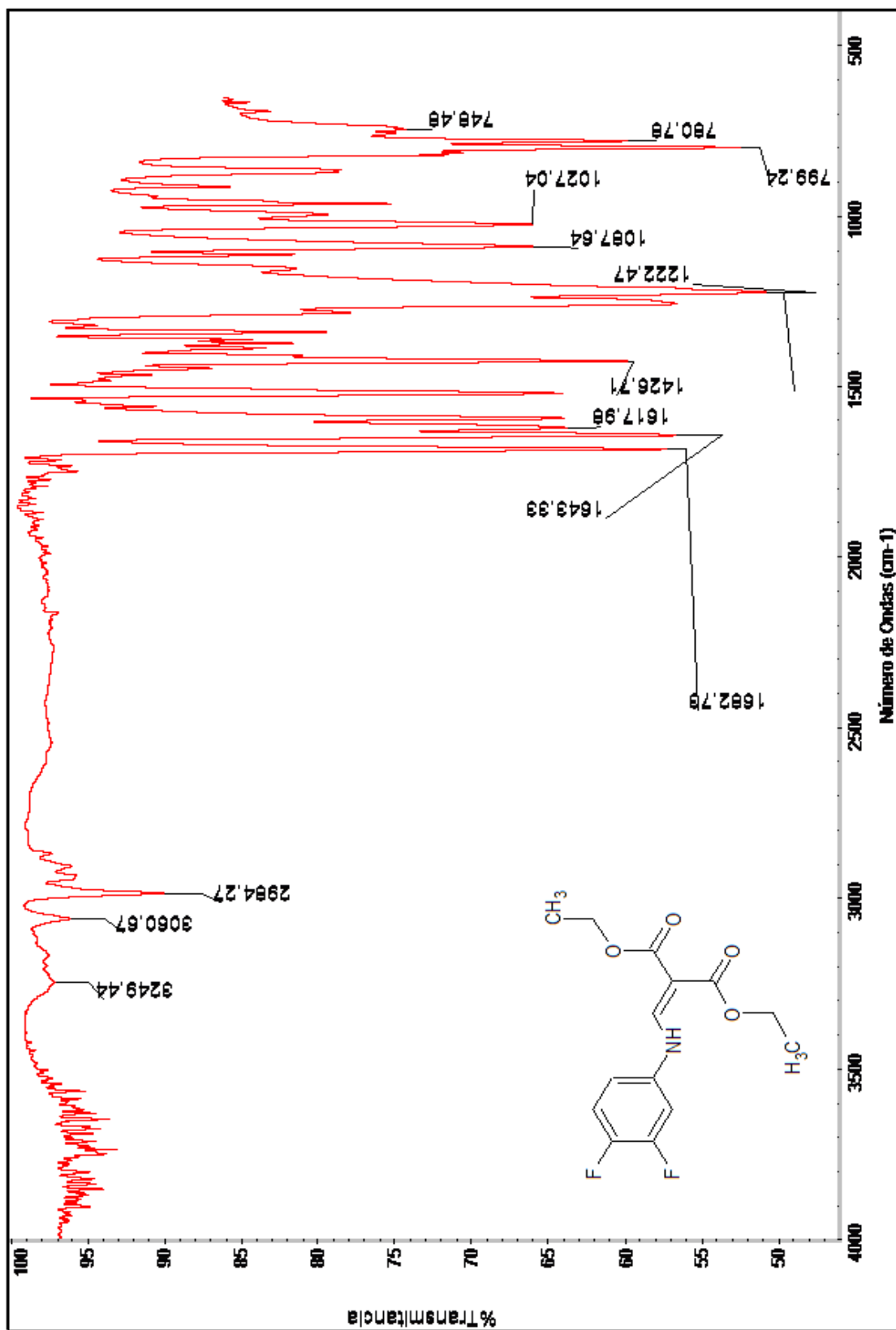
182. Krchňák, V., Smith, J., Vágner, J. (2001). A Solid Phase Traceless Synthesis of 2-arylaminobenzimidazoles. *Tetrahedron Letters.* 42(9), 1627-1630.

183. Townsend, L., Devivar, R., Turk, S., Nassiri, M., Drach, J. (1995). Design, Synthesis, and Antiviral Activity of Certain 2, 5, 6-Trihalo-1- (beta. -D-ribofuranosyl) Benzimidazoles. *Journal of Medicinal Chemistry.* 38(20), 4098-4105.

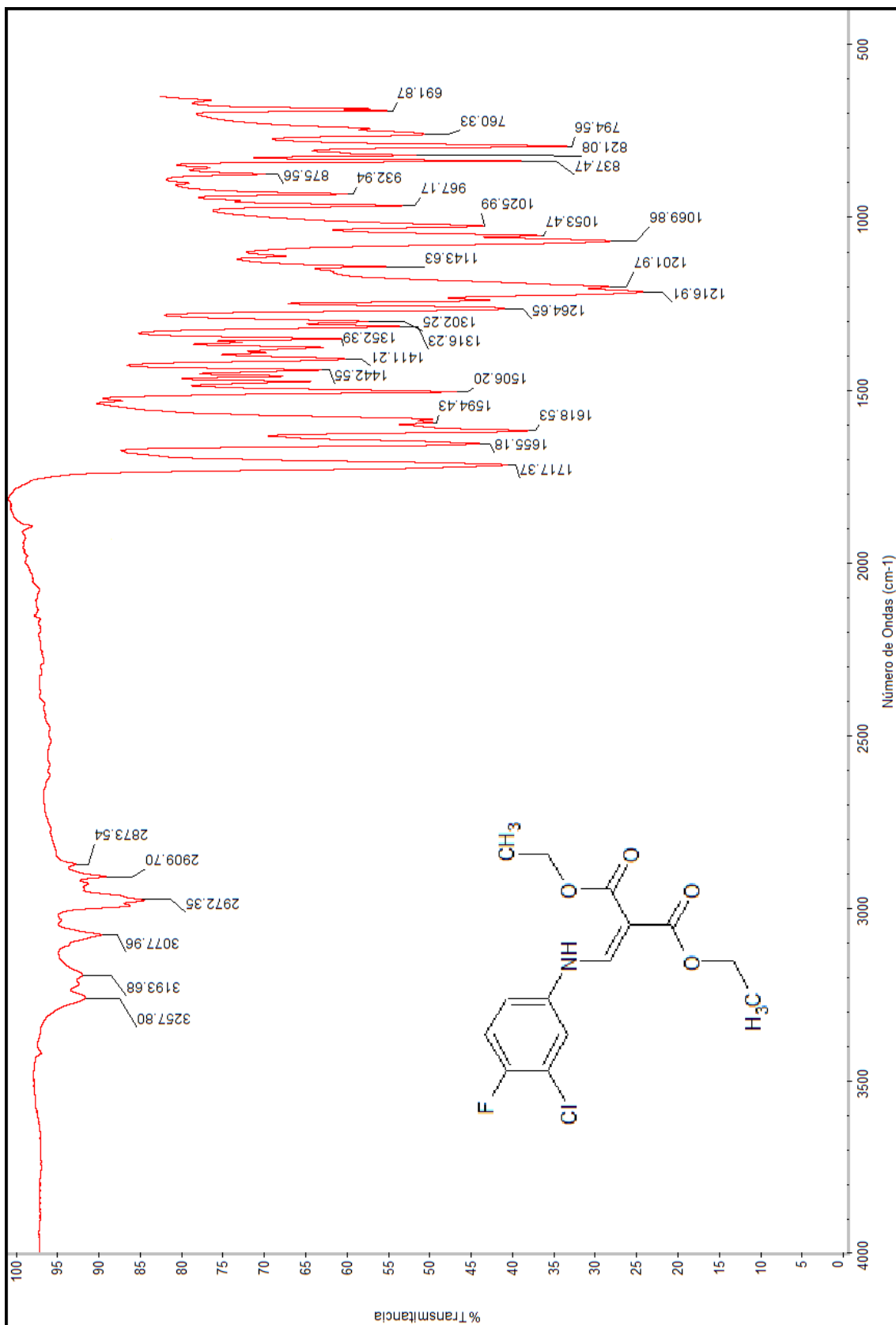
184. Valdez, J., Cedillo, R., Hernández, A., Yopez, L., Hernández, F., Navarrete, G., Castillo, R. (2002). Synthesis and Antiparasitic Activity of 1H-Benzimidazole Derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 12(16), 2221-2224.

185. Simonov, A., Anisimova, V. (1979). Synthesis and Transformation of 2-Aminobenzimidazoles. *Chemistry of Heterocyclic Compounds.* 15(7), 705-723.

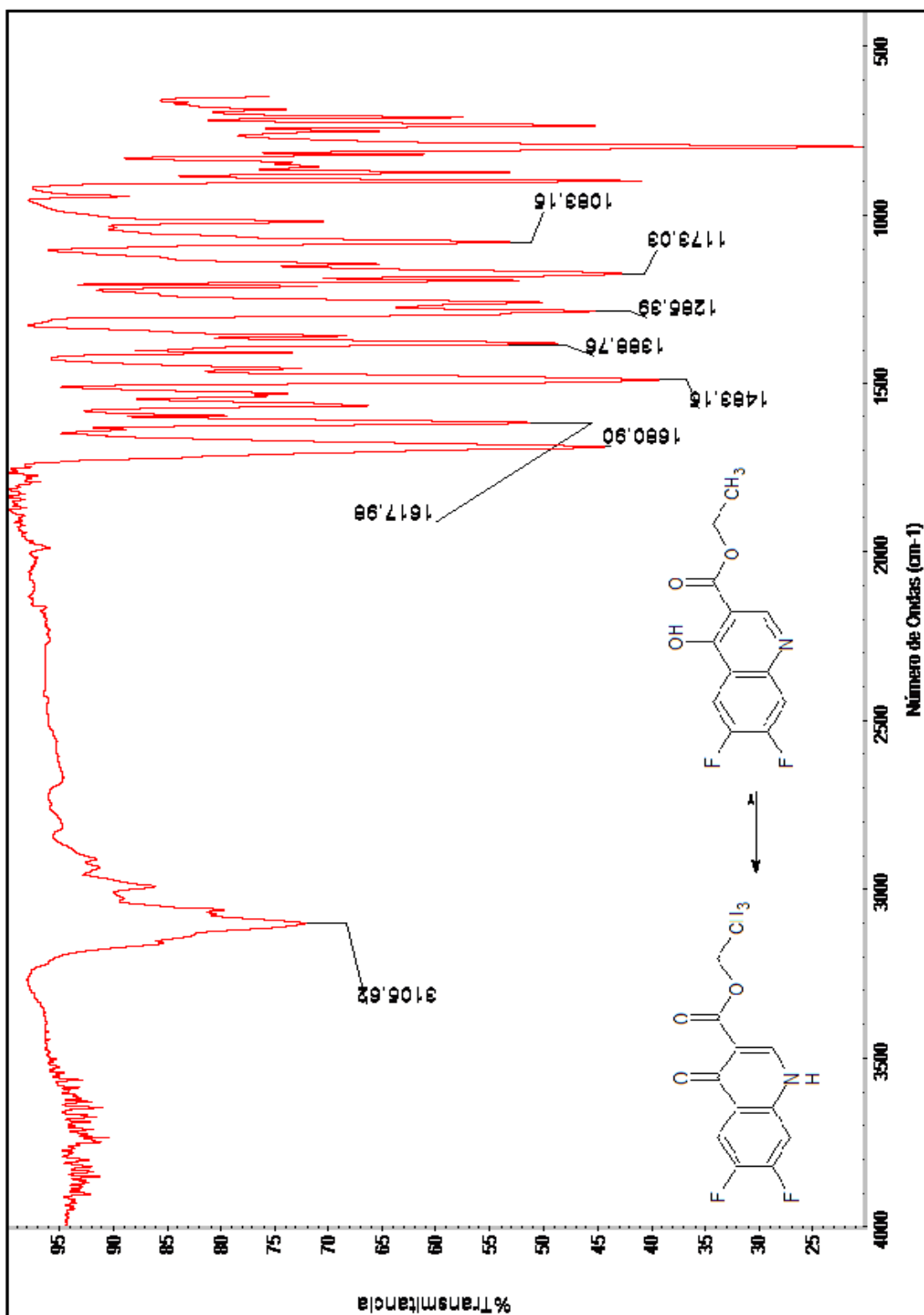
11. APENDICE A
ESPECTROS DE INFRARROJO



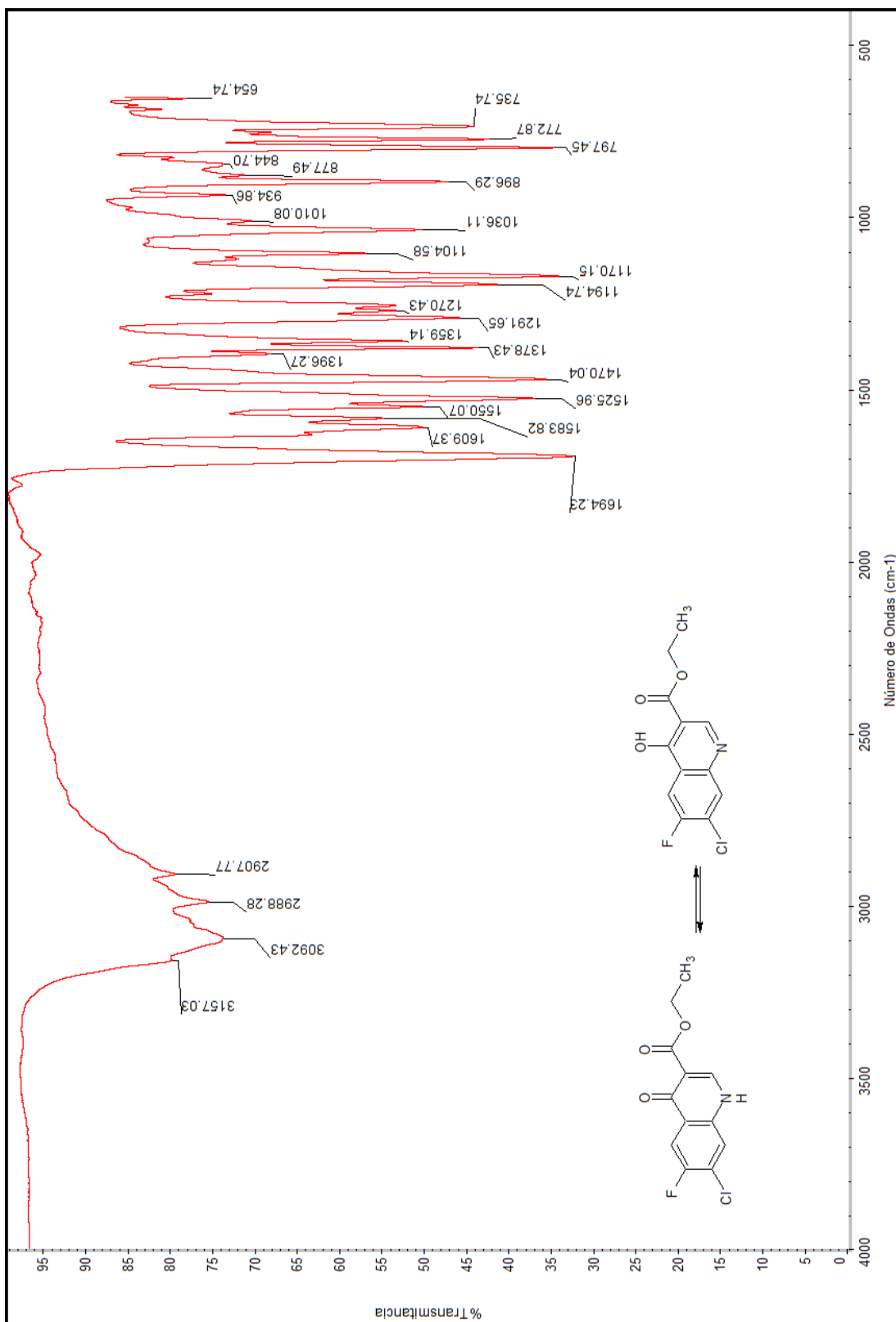
Espectro 1. IR del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metileno]-malonato de dietilo 47



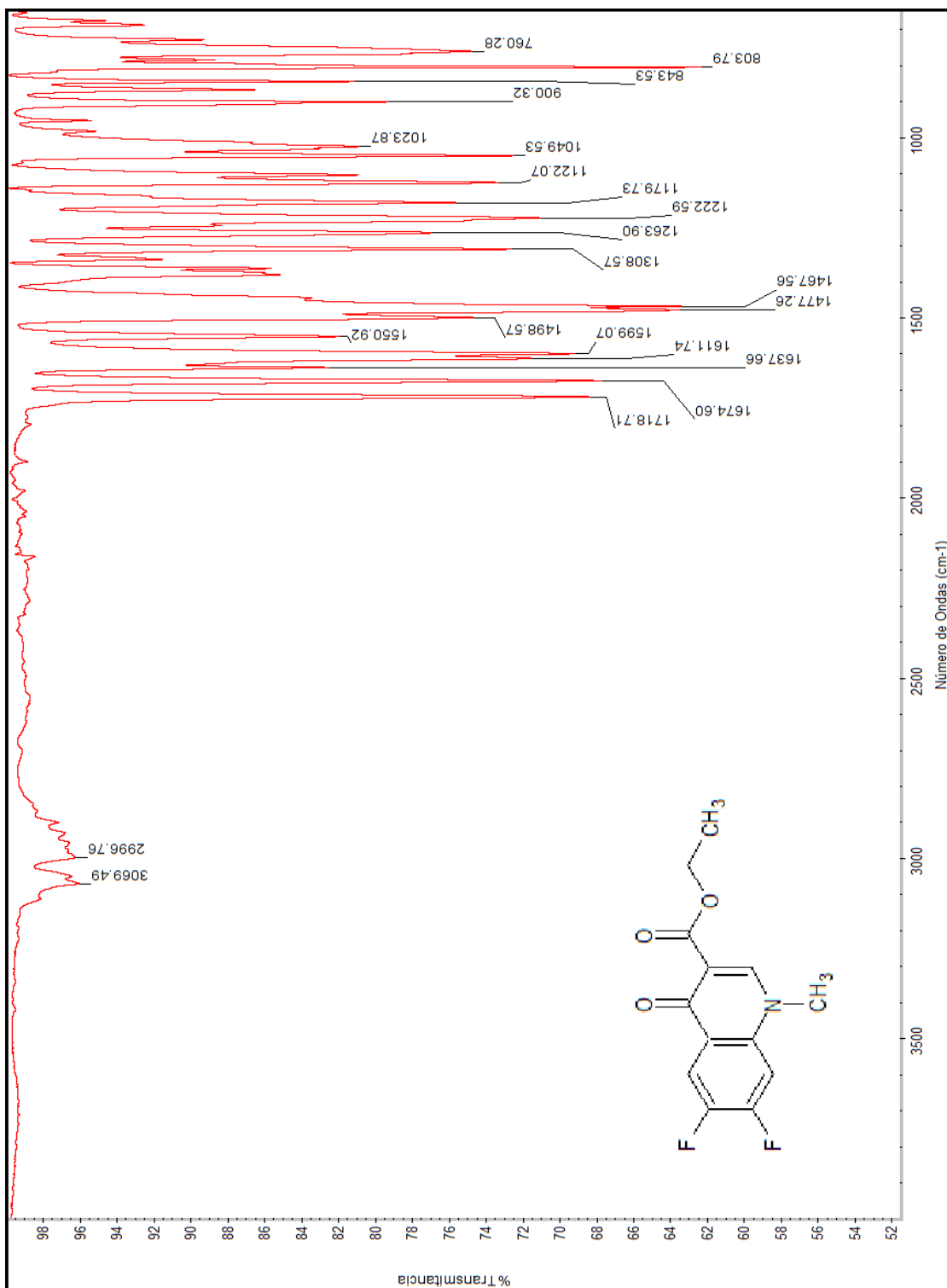
Espectro 2. IR del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metileno]-malonato de dietilo 158



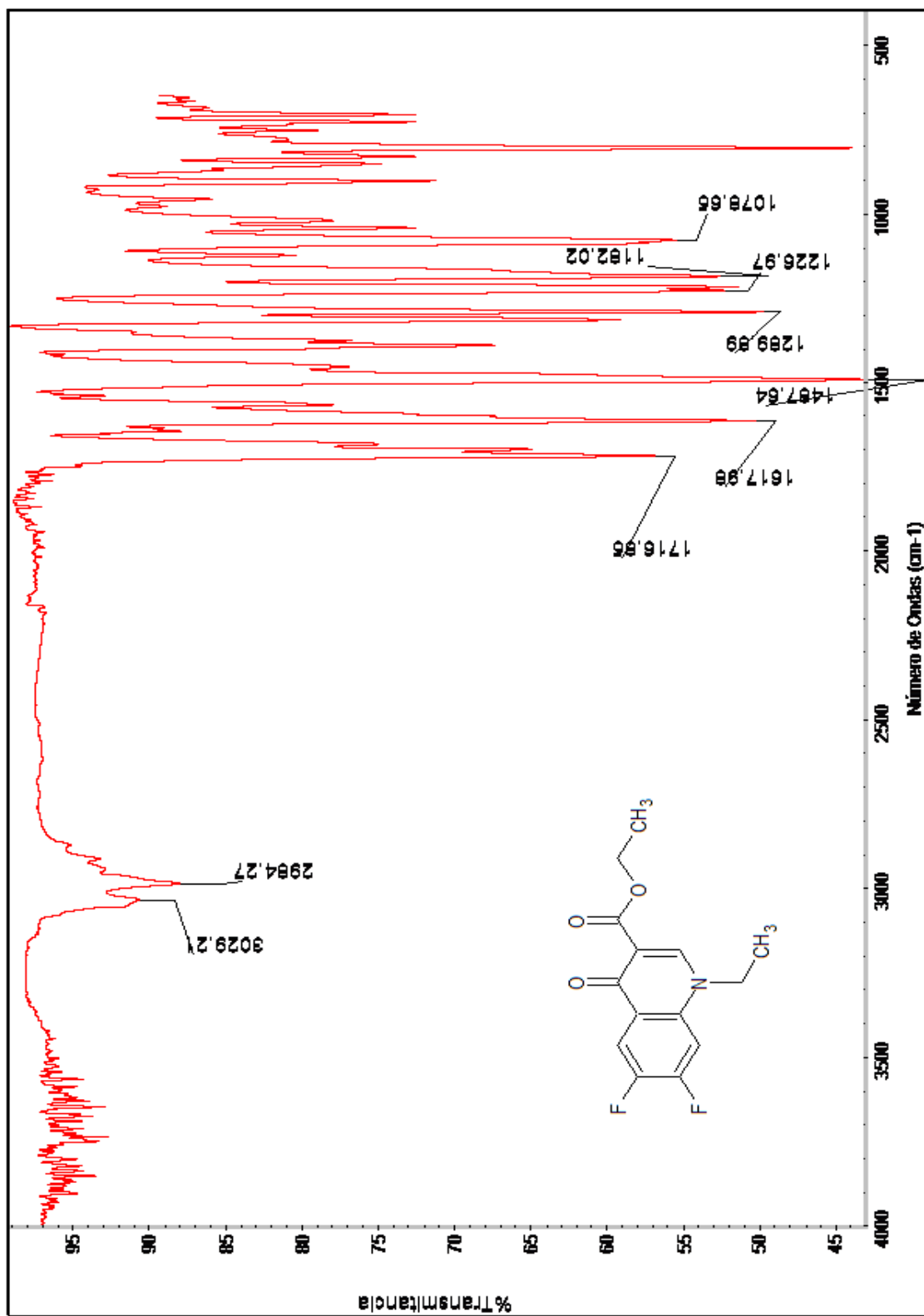
Espectro 3. IR del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48



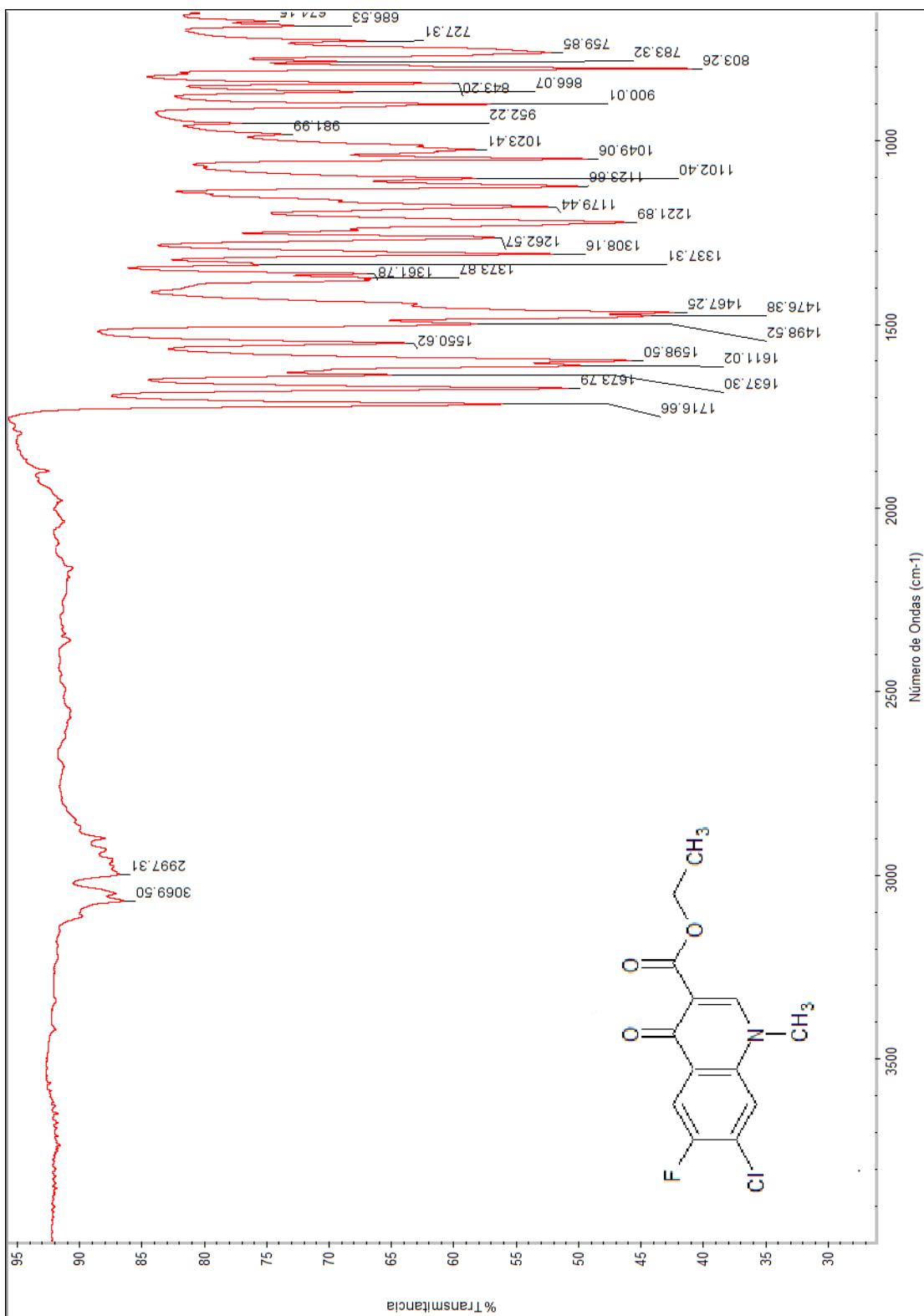
Espectro 4. IR del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **140**



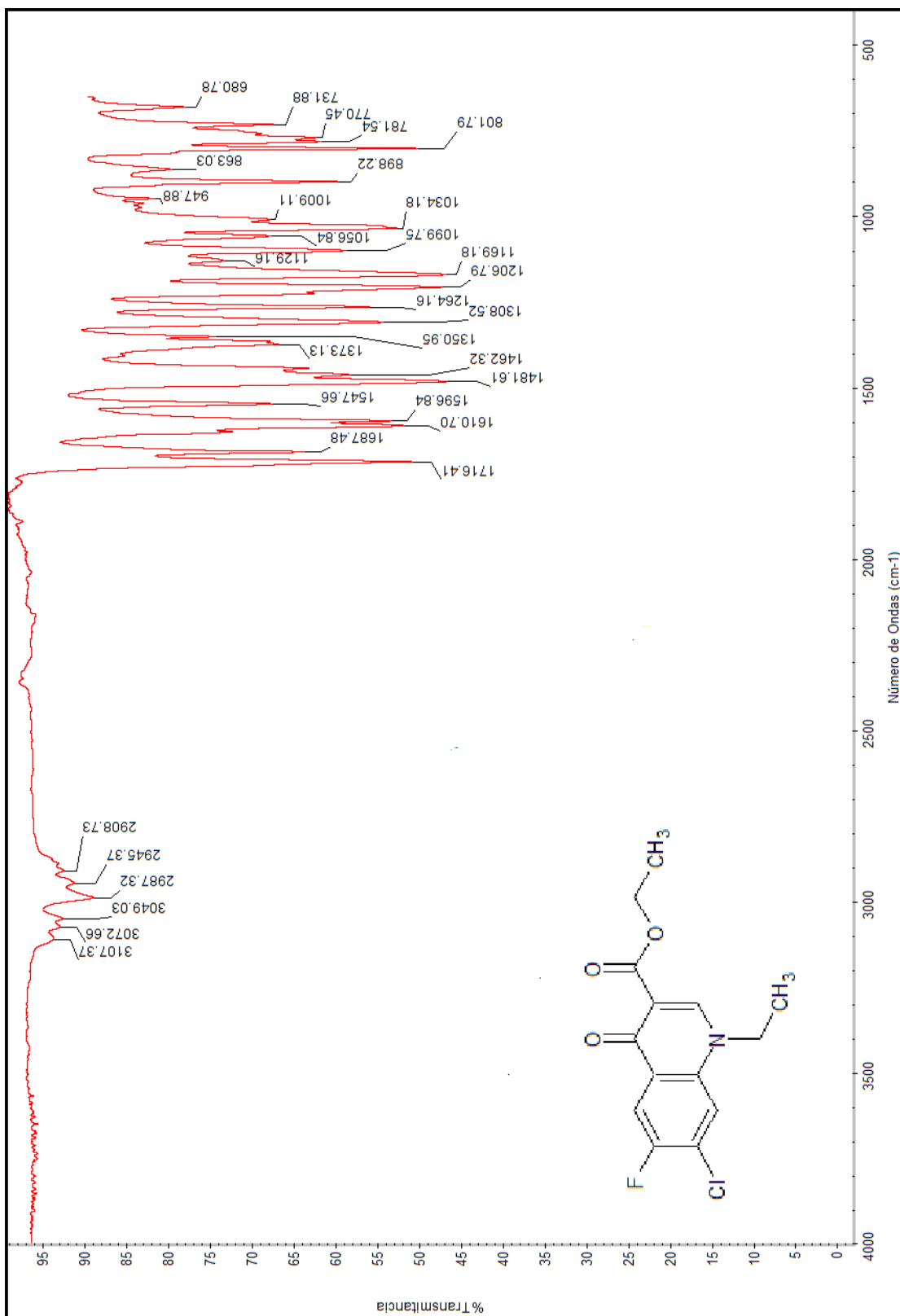
Espectro 5. IR del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **159**



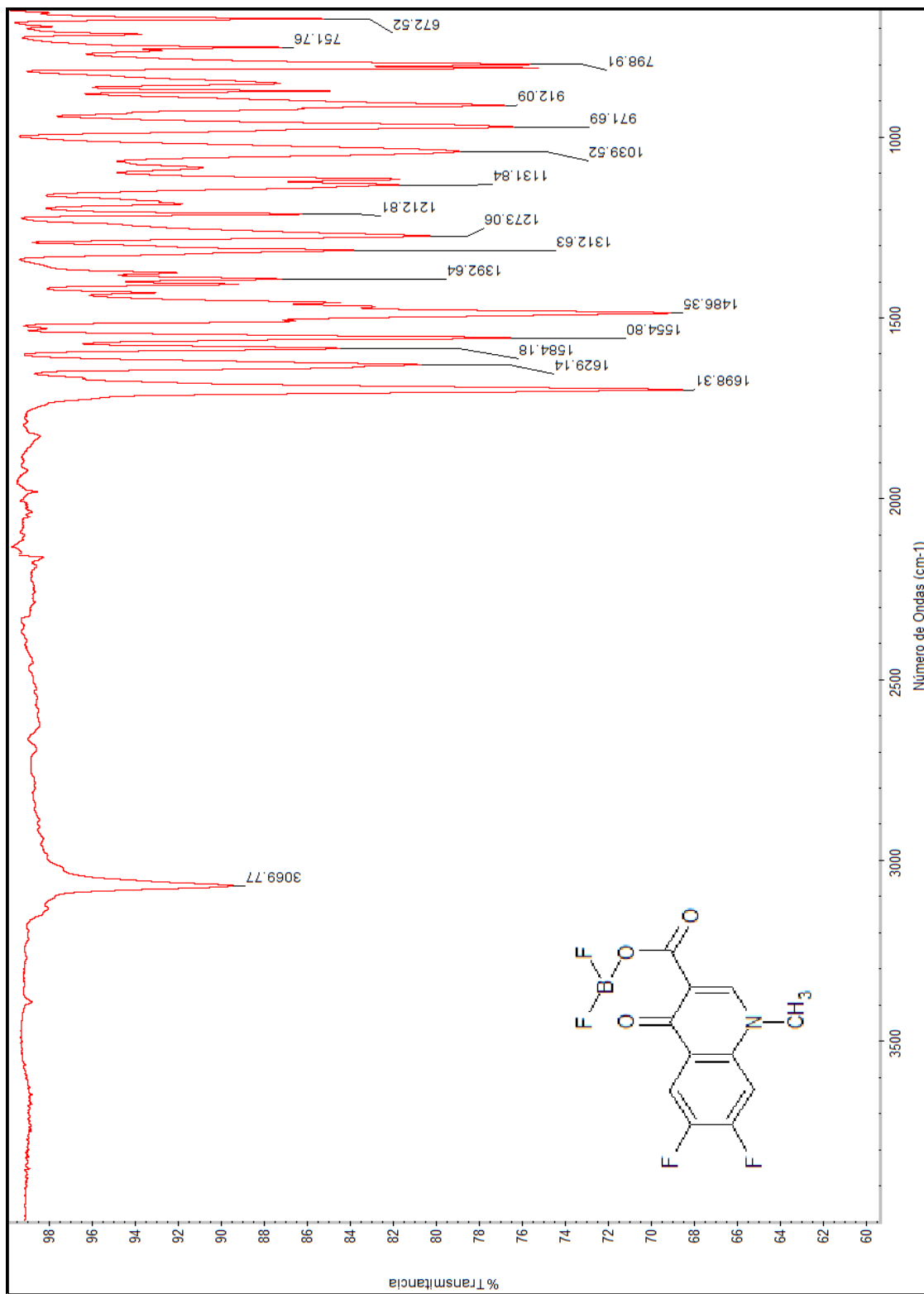
Espectro 6. IR del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo 49



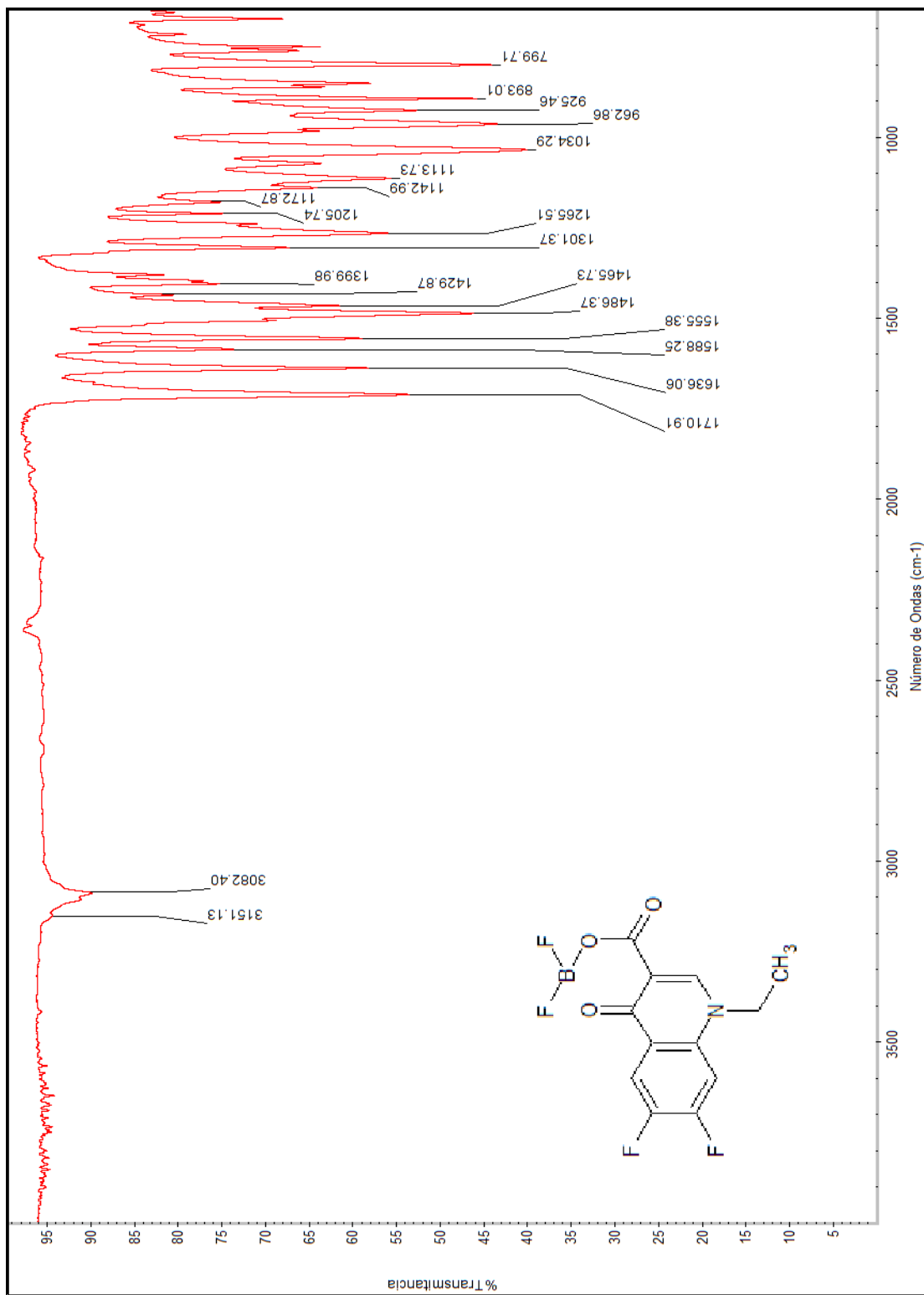
Espectro 7. IR del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **160**



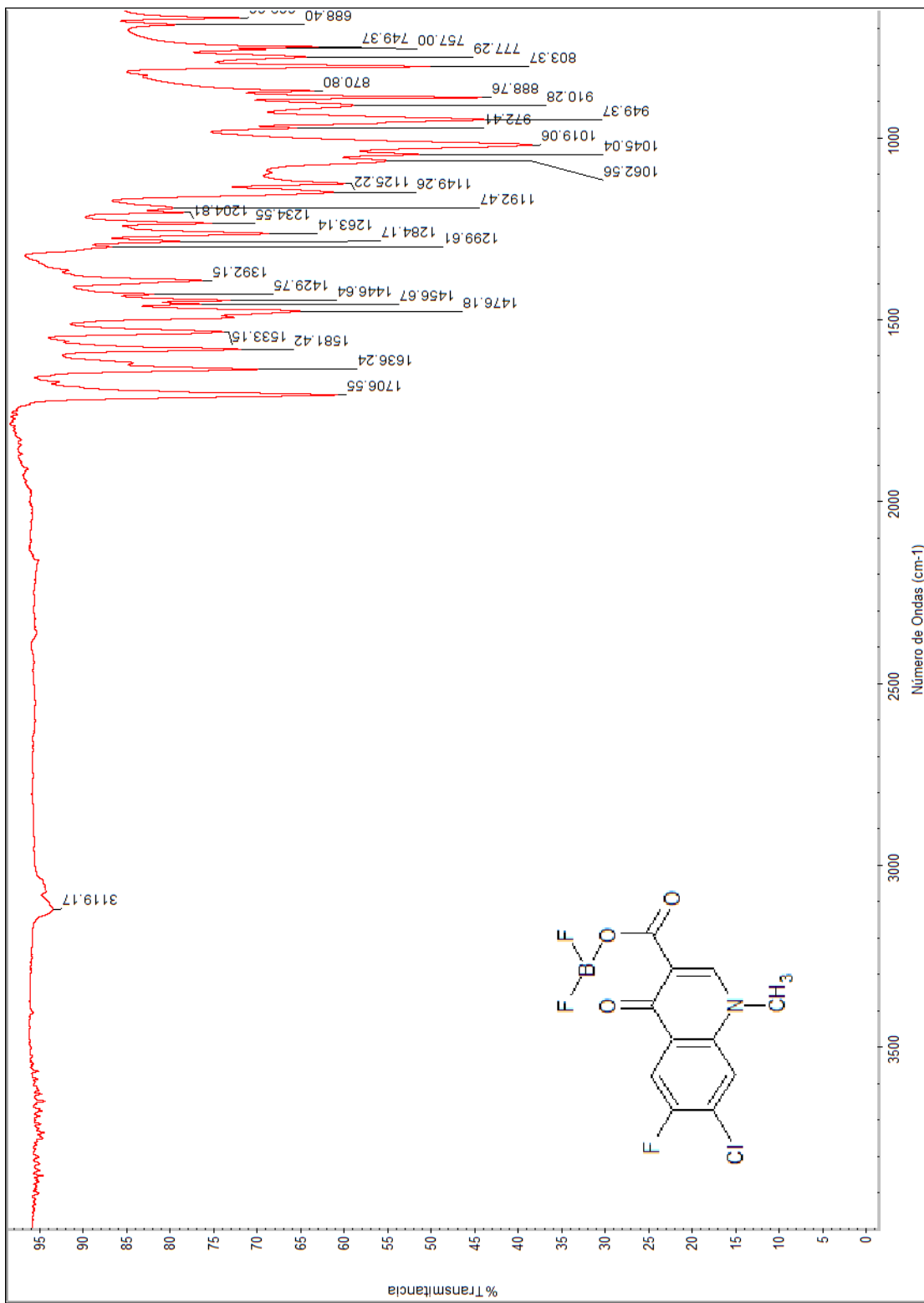
Espectro 8. IR del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **161**



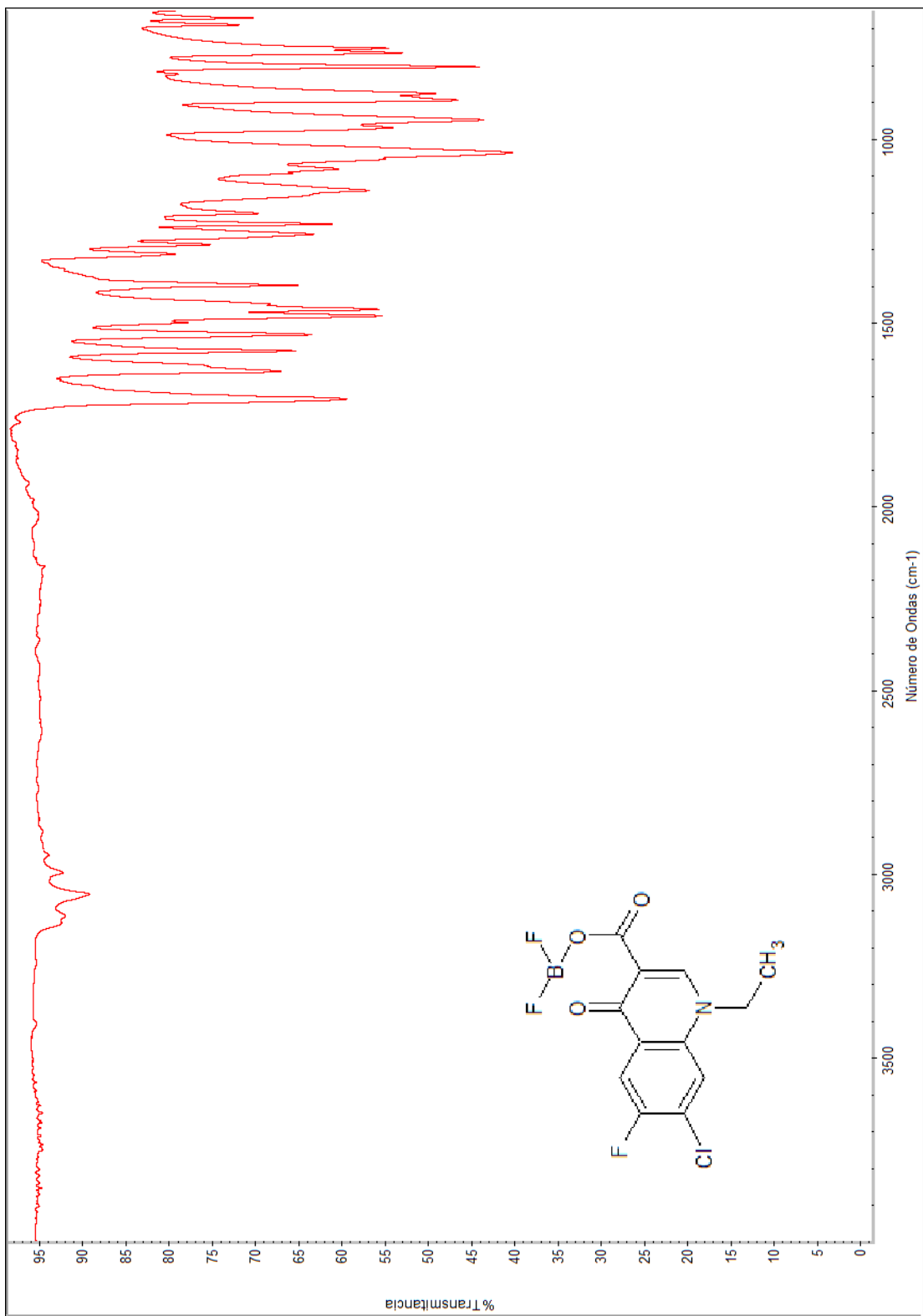
Espectro 9. IR del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **162**



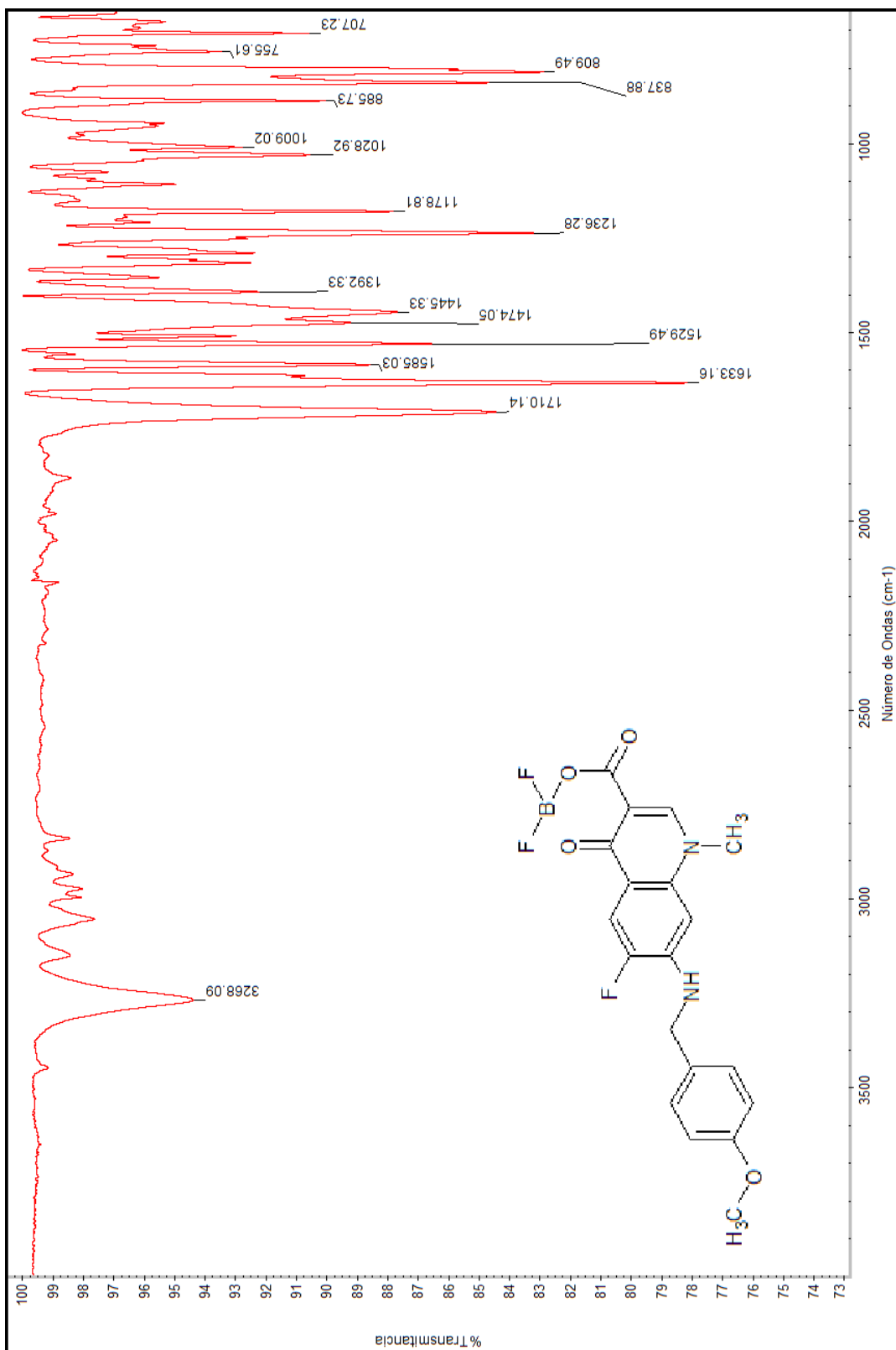
Espectro 10. IR del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **50**



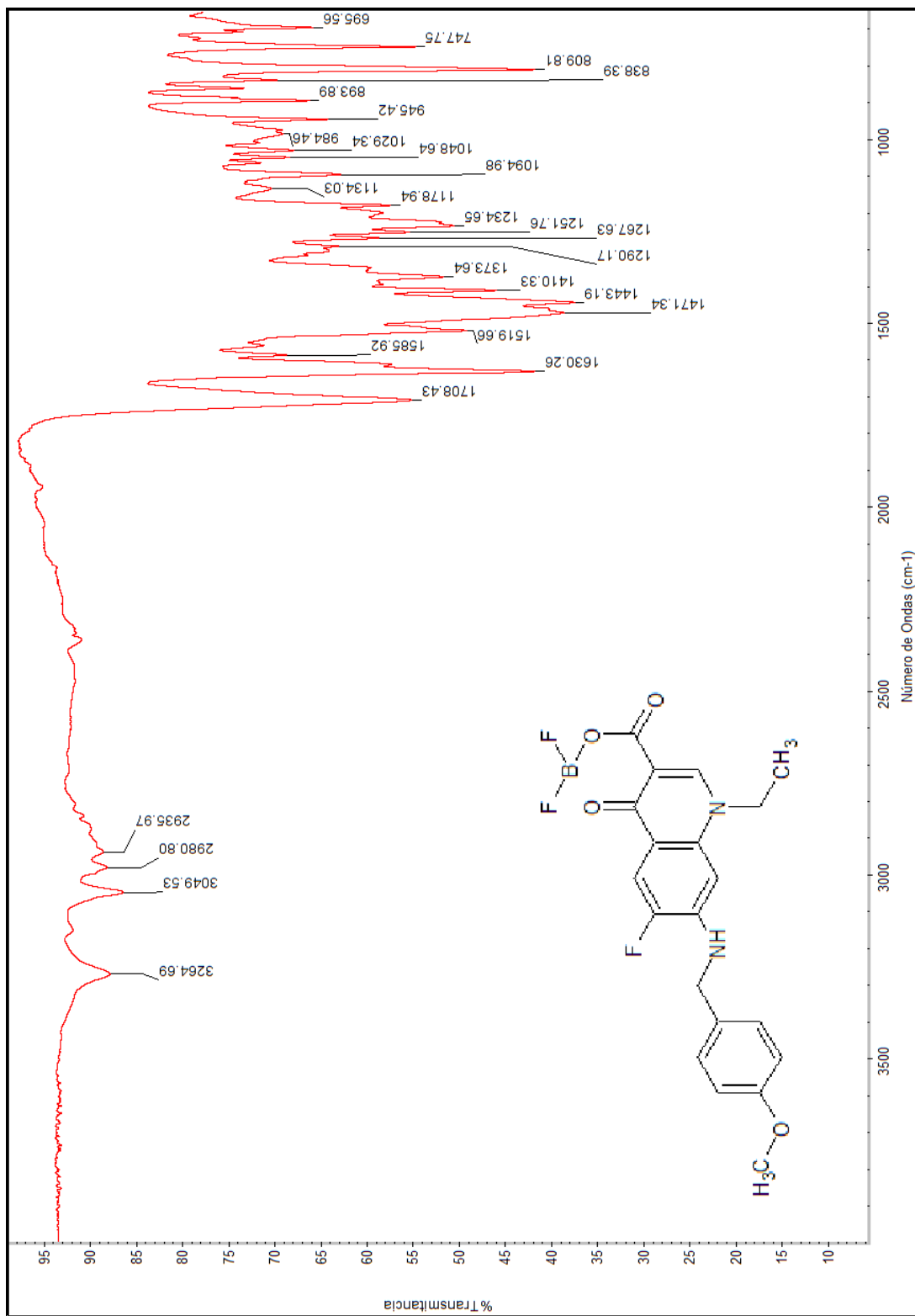
Espectro 11. IR del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluorborilo 163



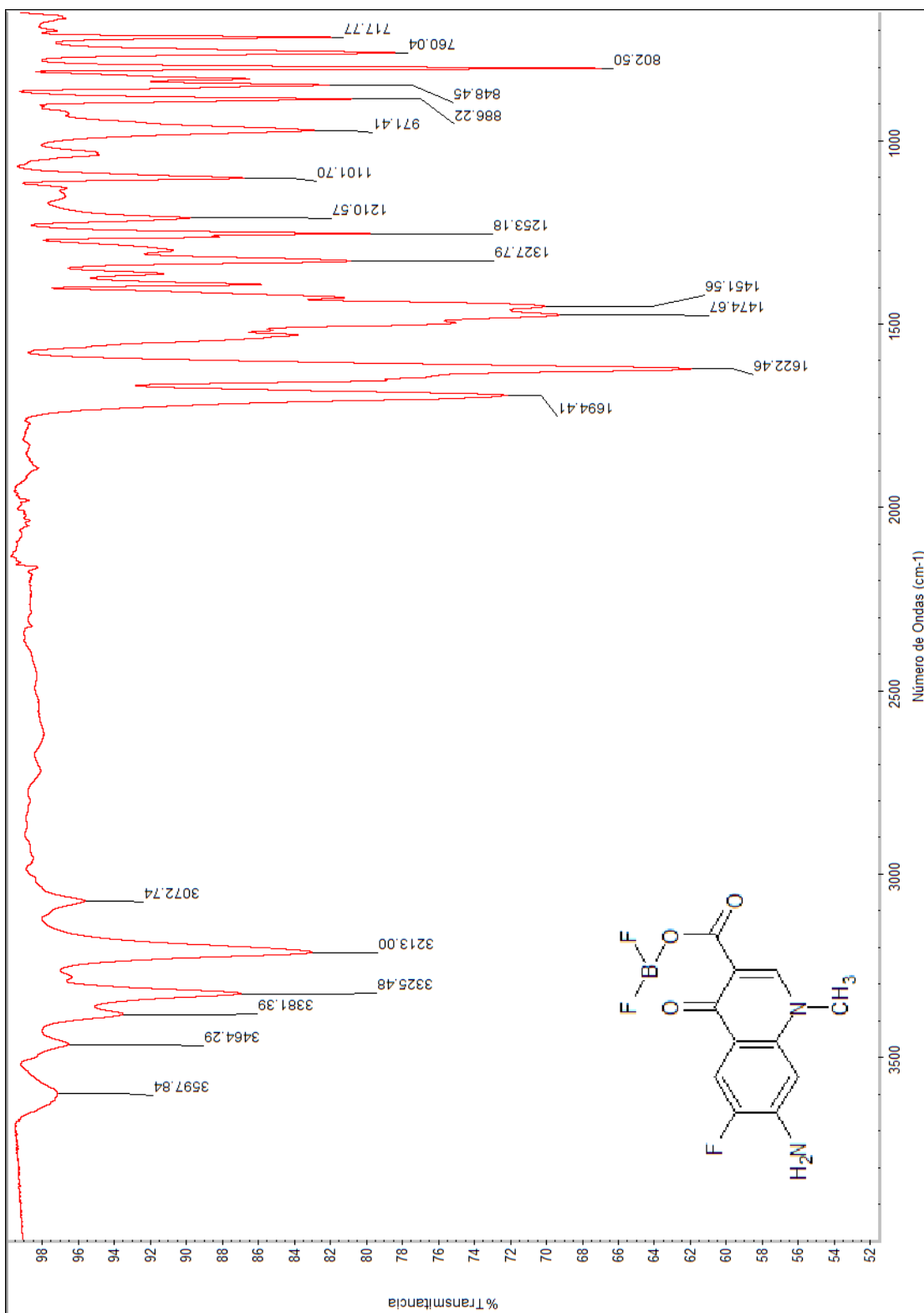
Espectro 12. IR del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **164**



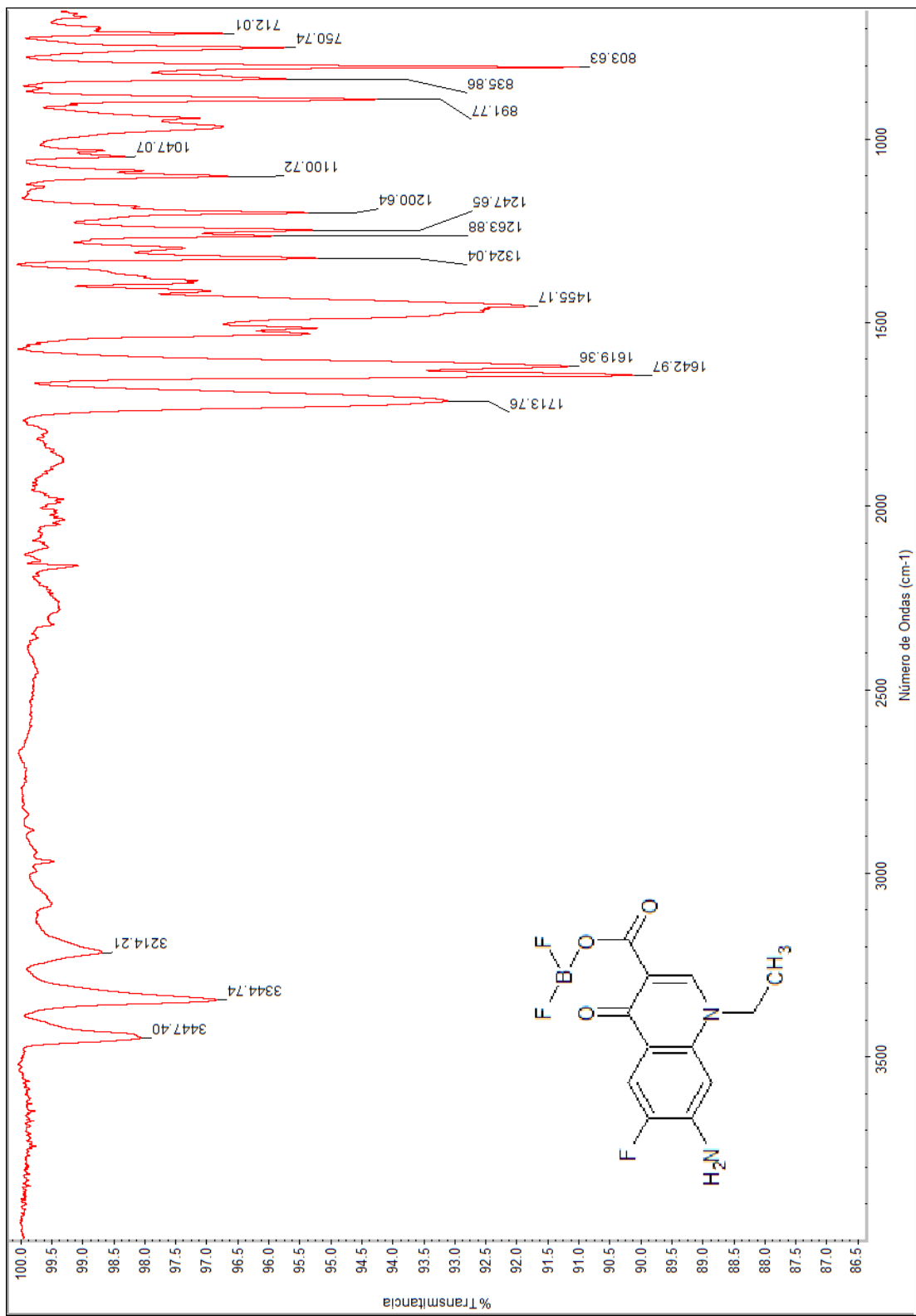
Espectro 13. IR del 6-fluoro-1-metil-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **165**



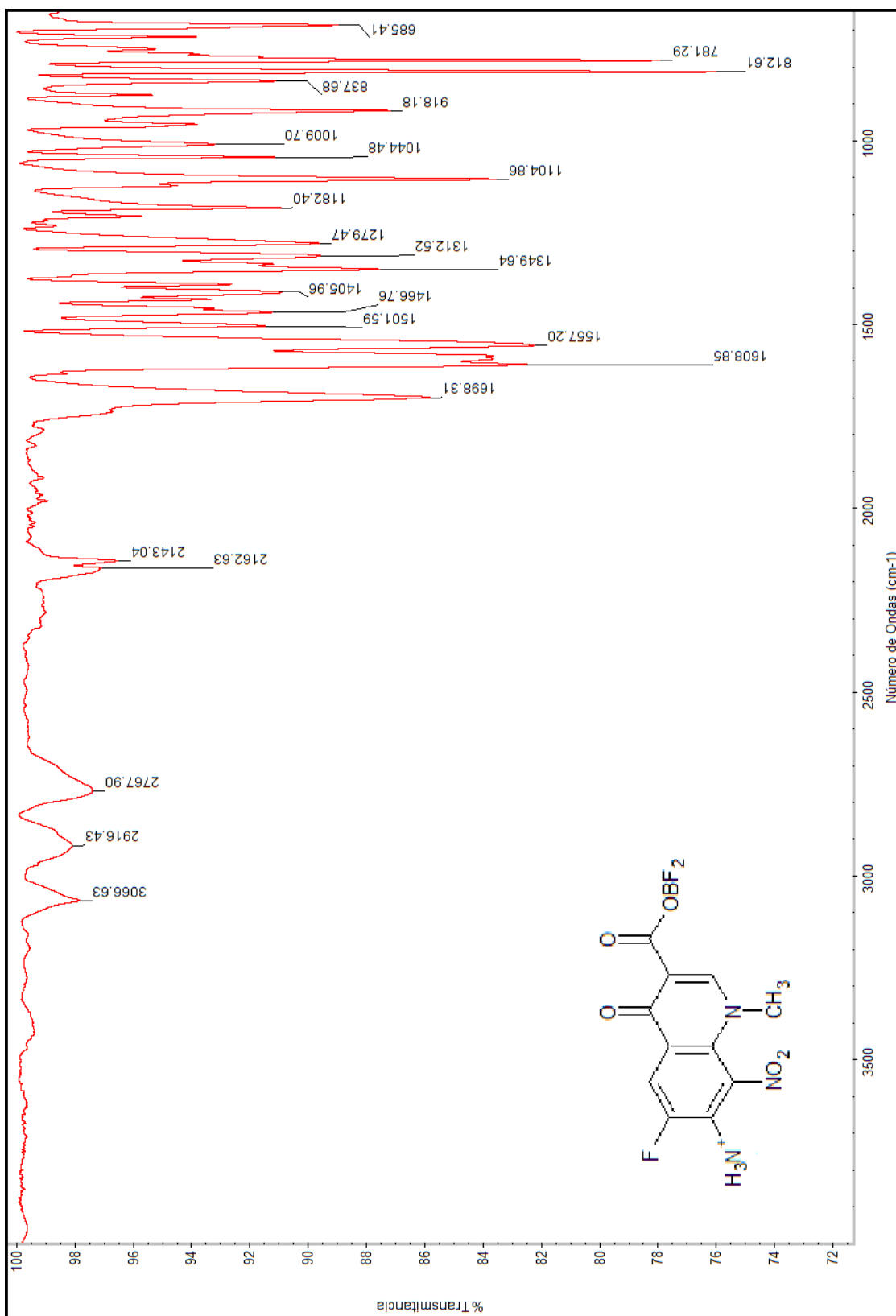
Espectro 14. IR del 1-etil-6-fluoro-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborio **166**



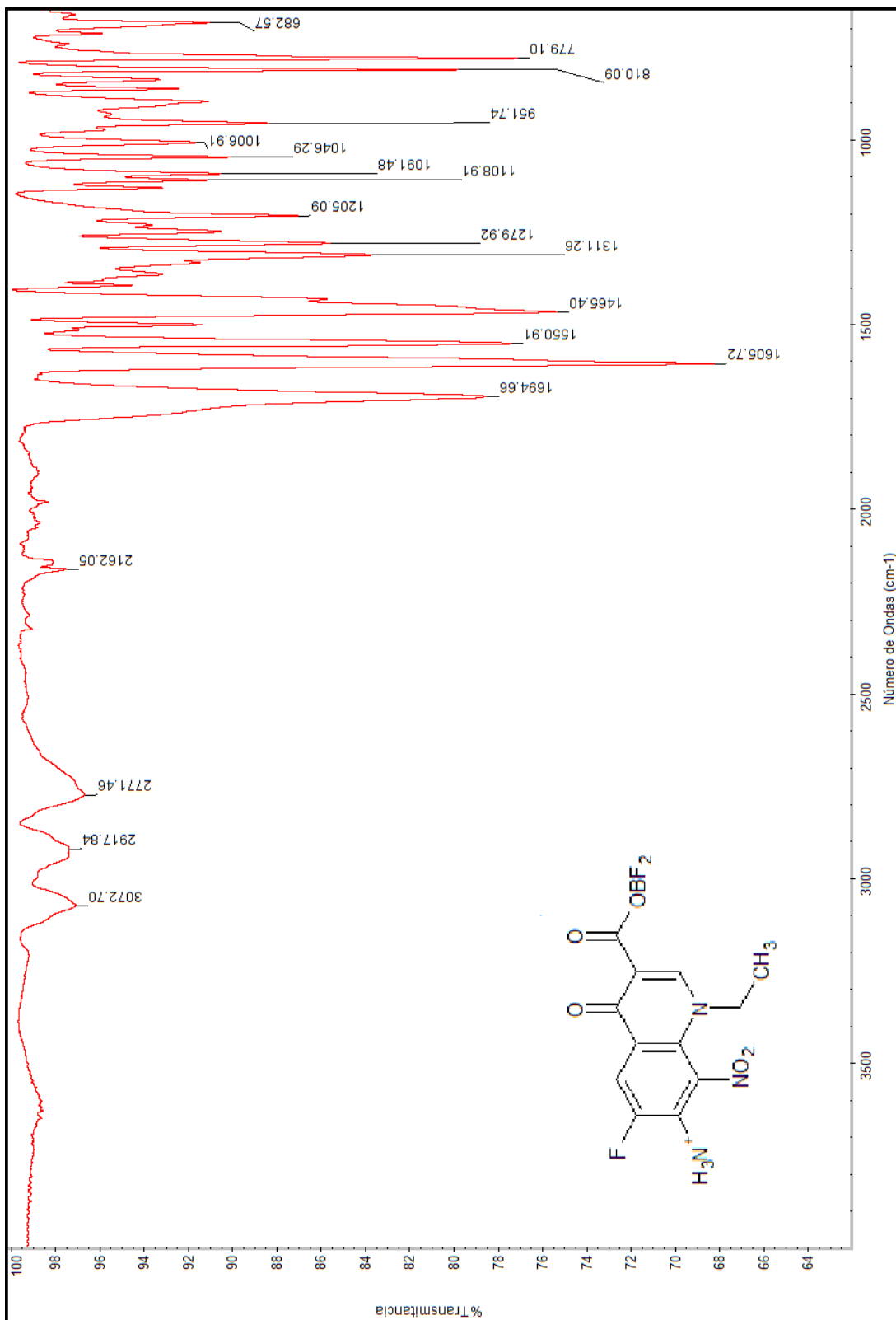
Espectro 15. IR del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluorborilo **167**



Espectro 16. IR del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **168**

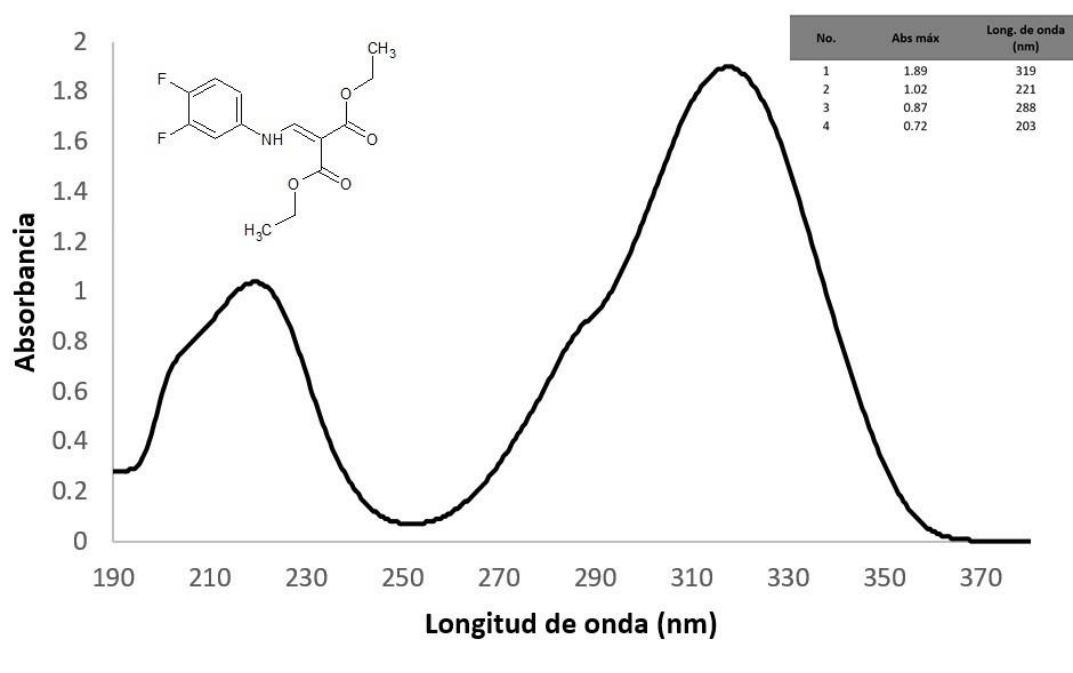


Espectro 17. IR del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **169**

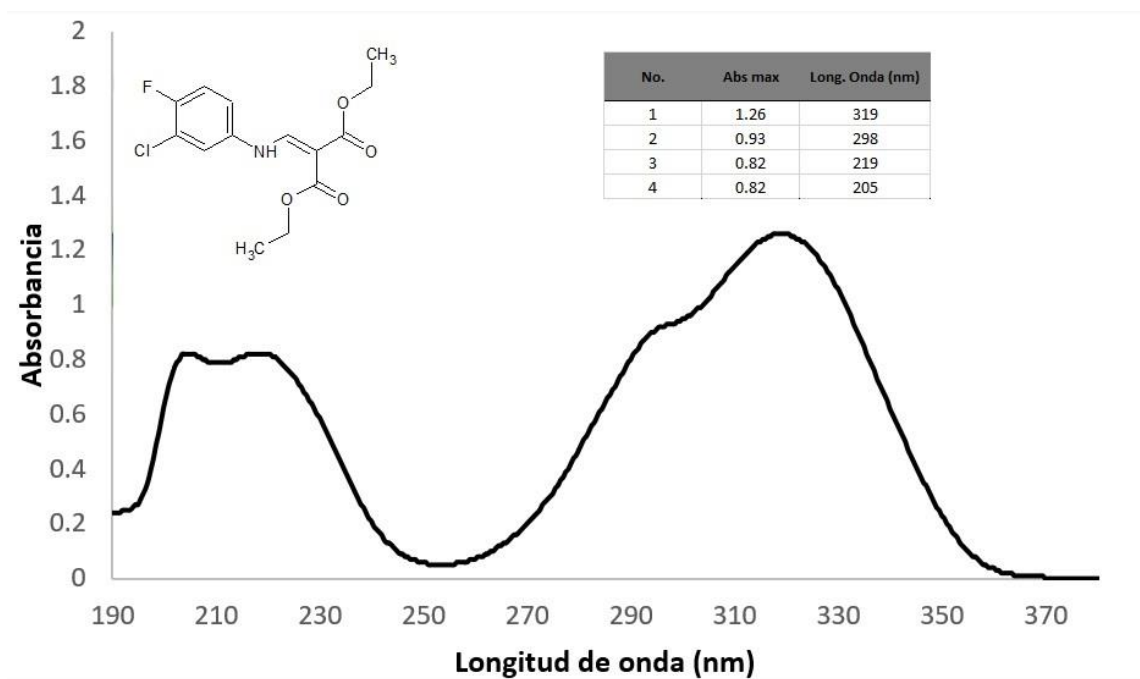


Espectro 18. IR del 7-amino-1-etil -6-fluoro - 8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluorborilo **170**

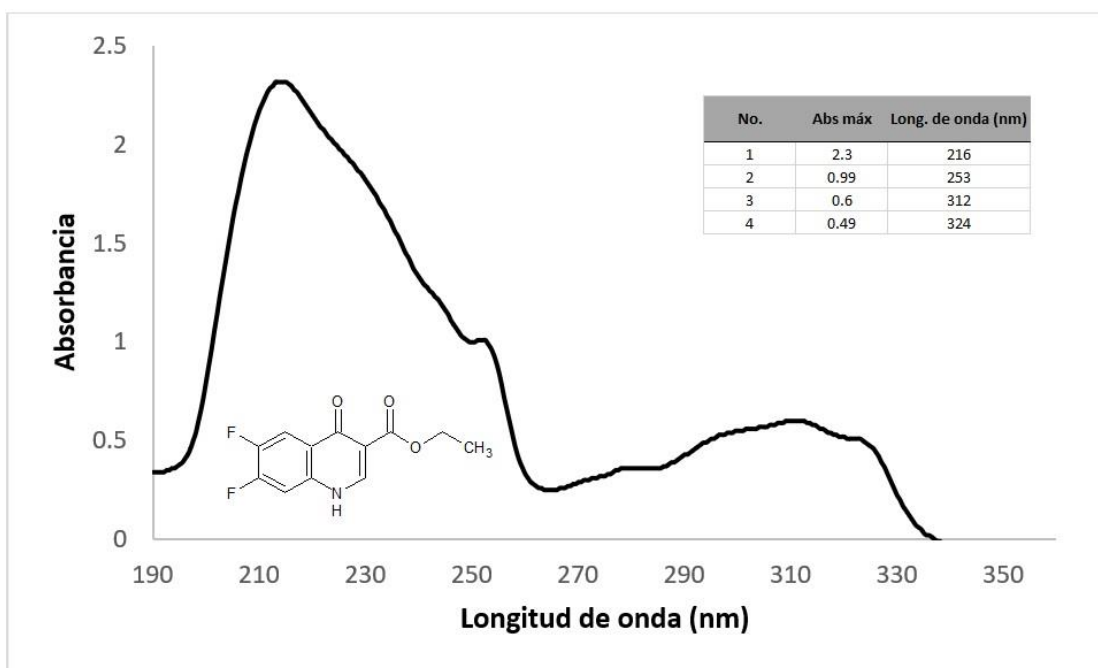
12. APENDICE B
ESPECTROS DE ULTRAVIOLETA-VISIBLE



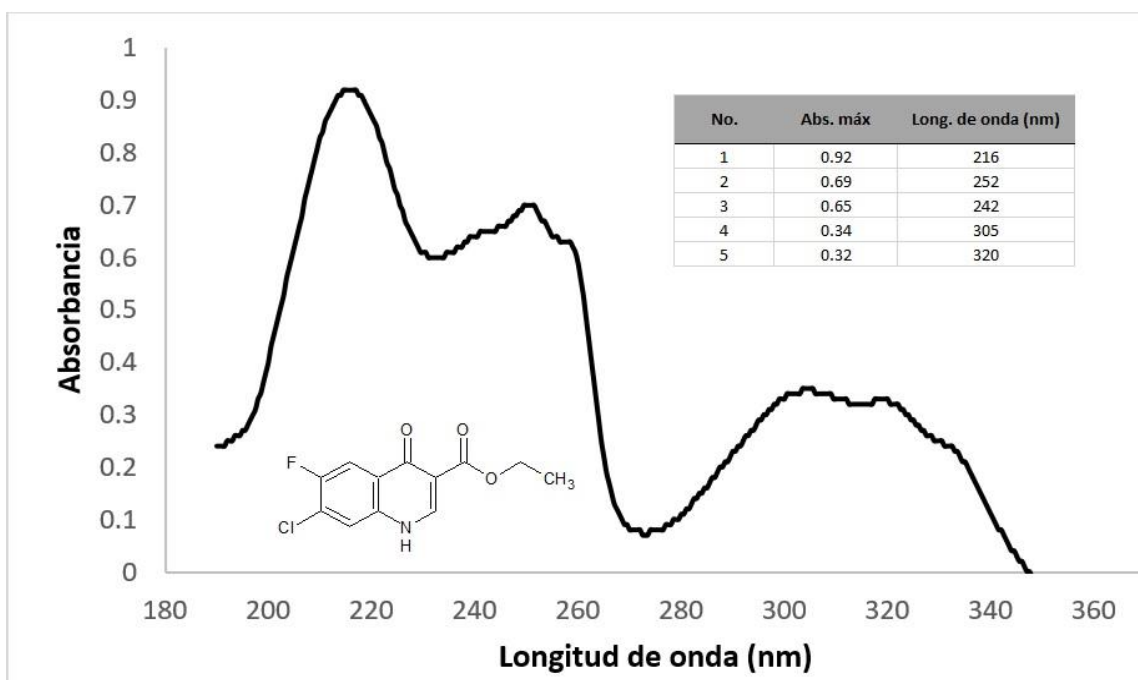
Espectro 19.- UV-Vis del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo **47**



Espectro 20.- UV-Vis 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo **158**

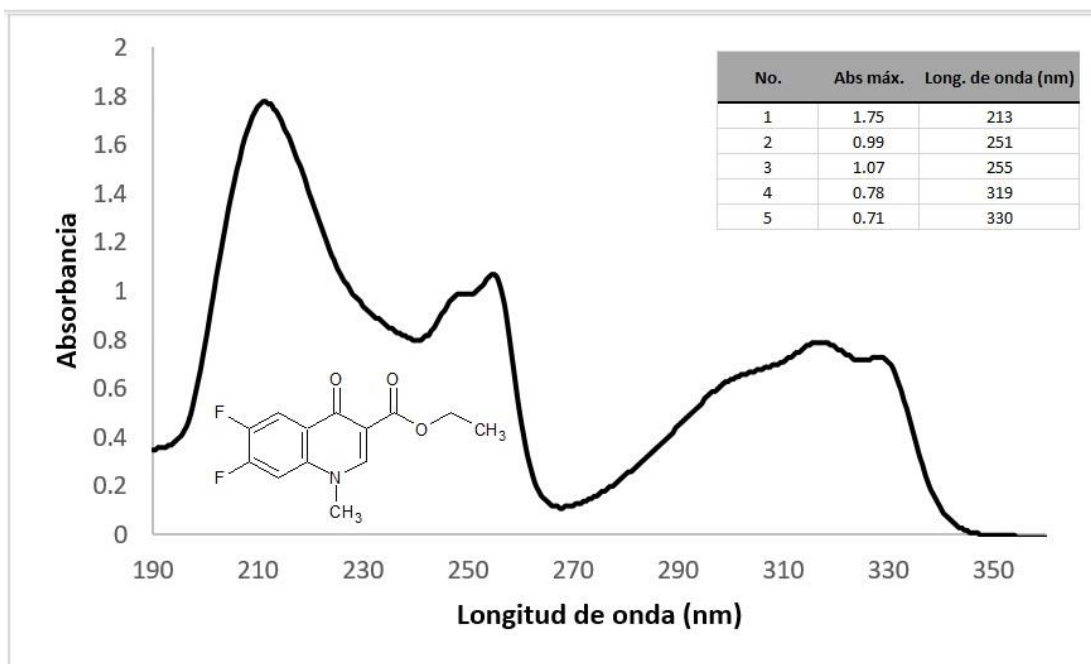


Espectro 21.- UV-Vis del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo 48



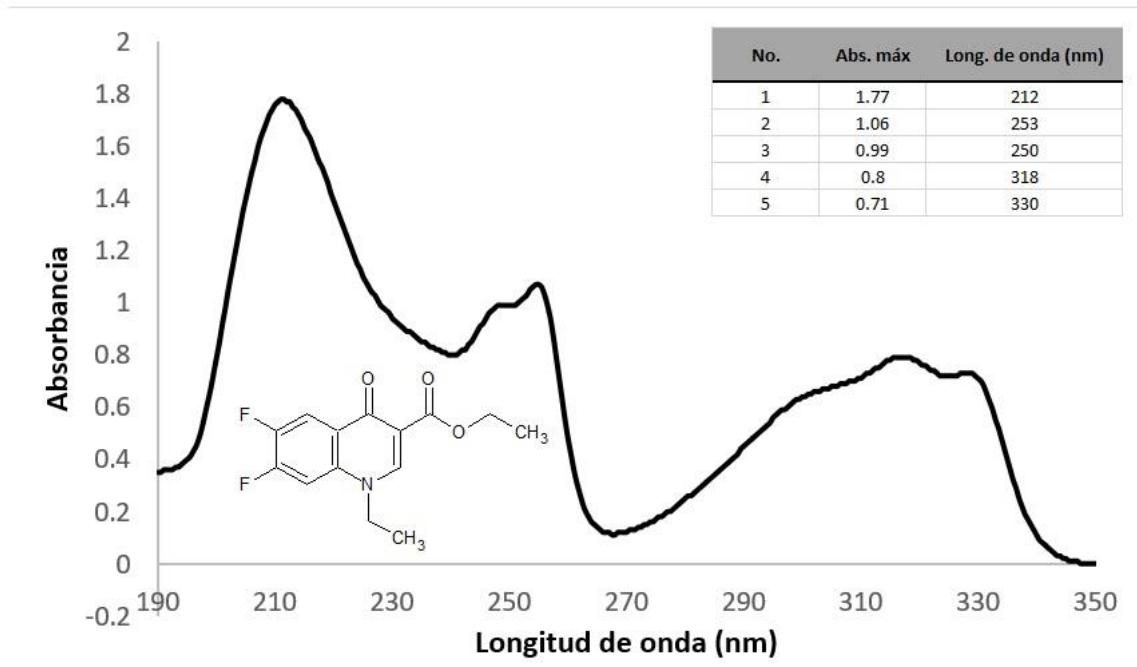
Espectro 22.- UV-Vis del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo

140



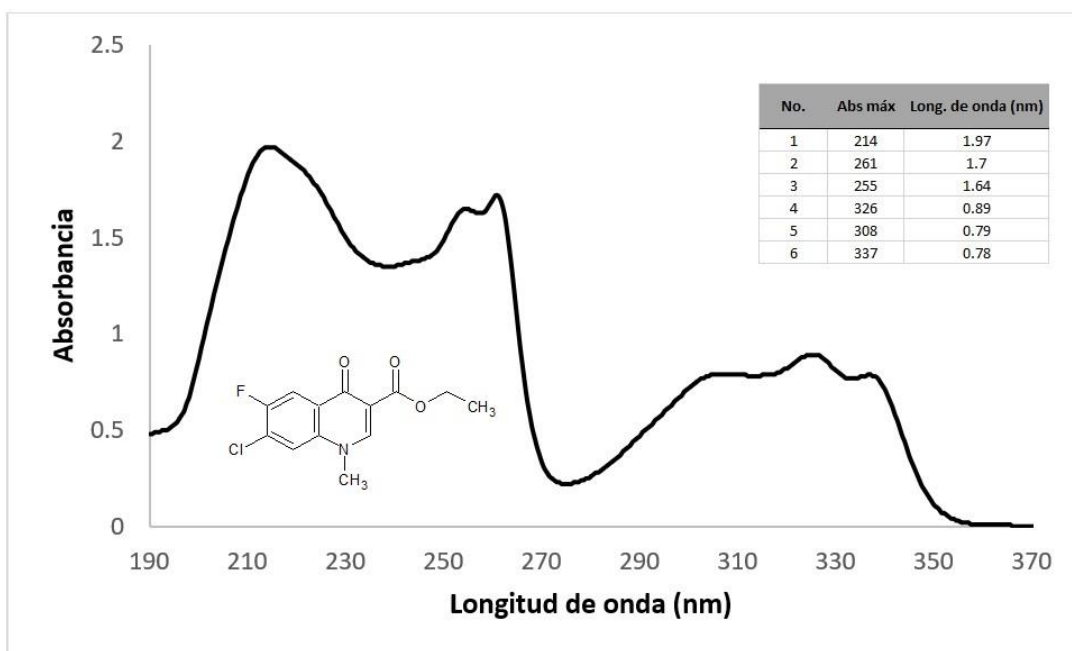
Espectro 23.- UV-Vis del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo

159

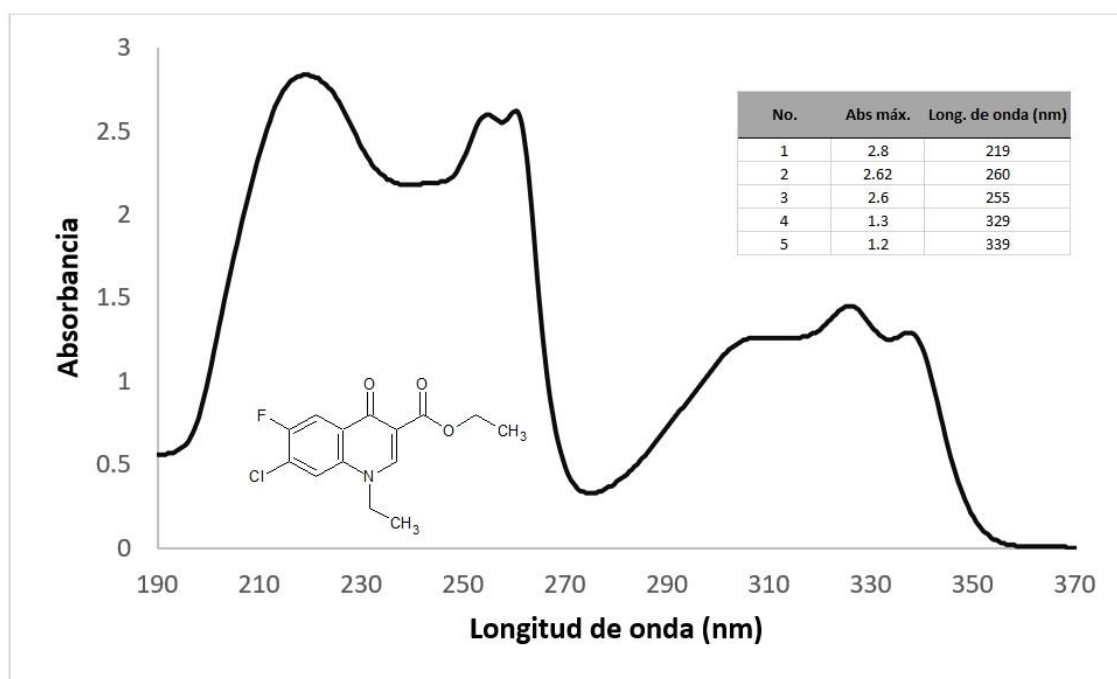


Espectro 24.- UV-Vis del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo

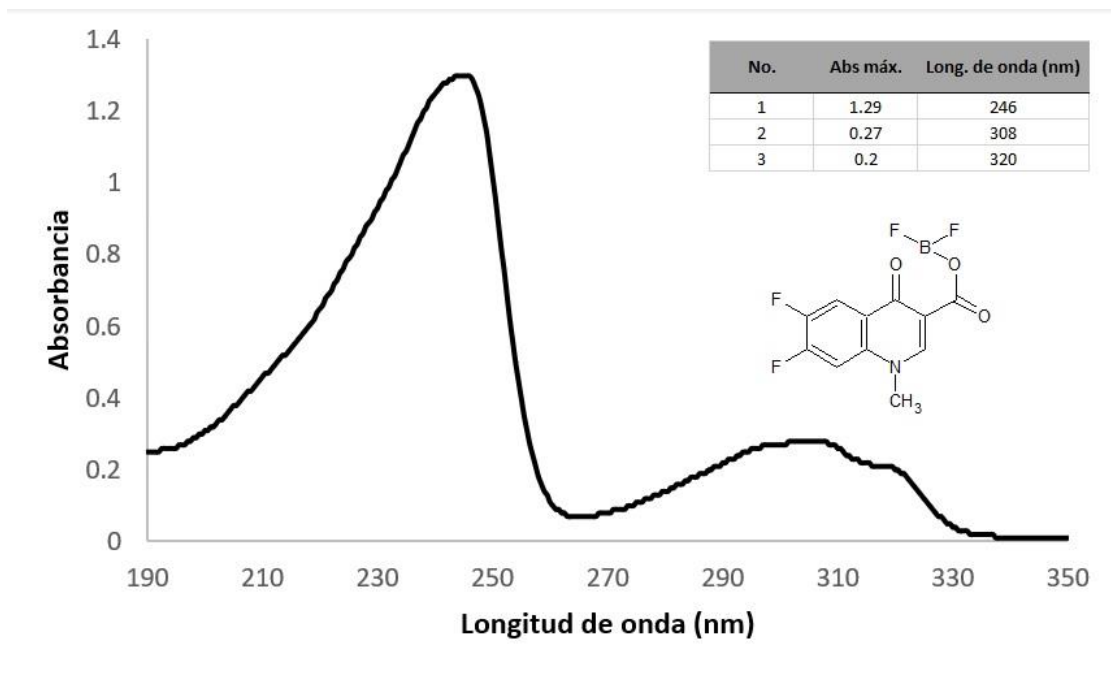
49



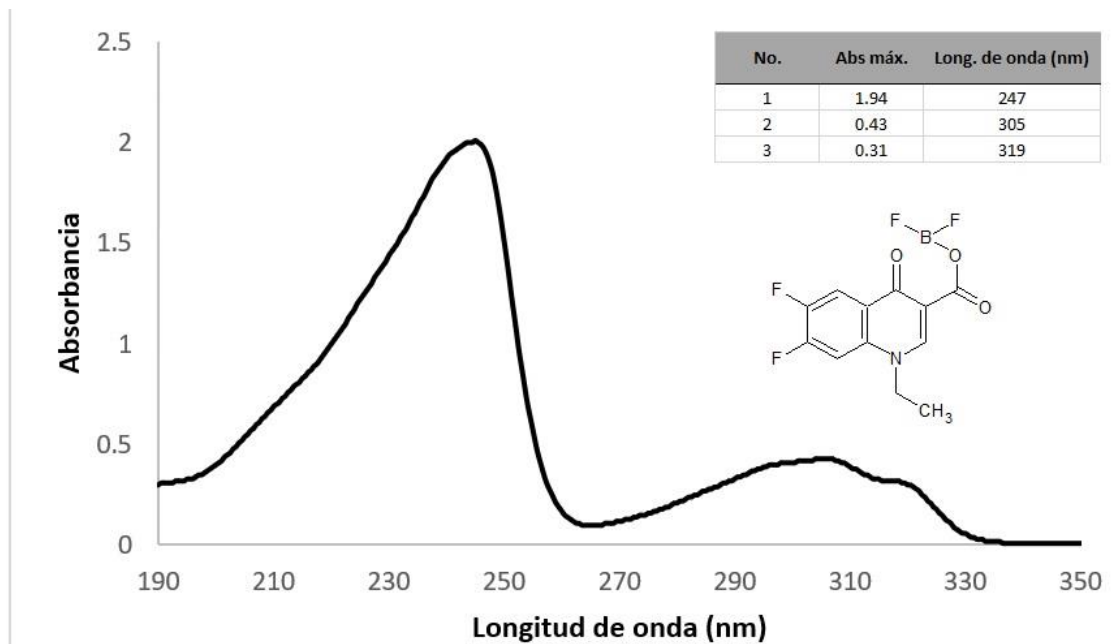
Espectro 25.- UV-Vis del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **160**



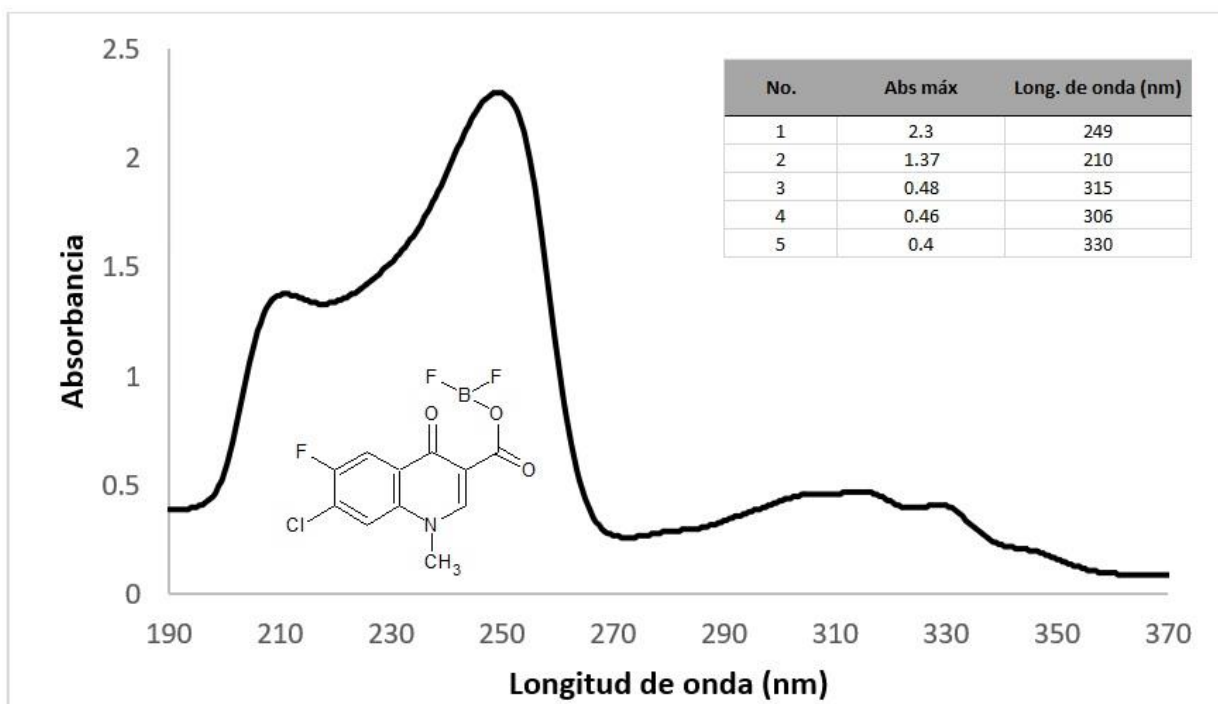
Espectro 26.- UV-Vis del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **161**



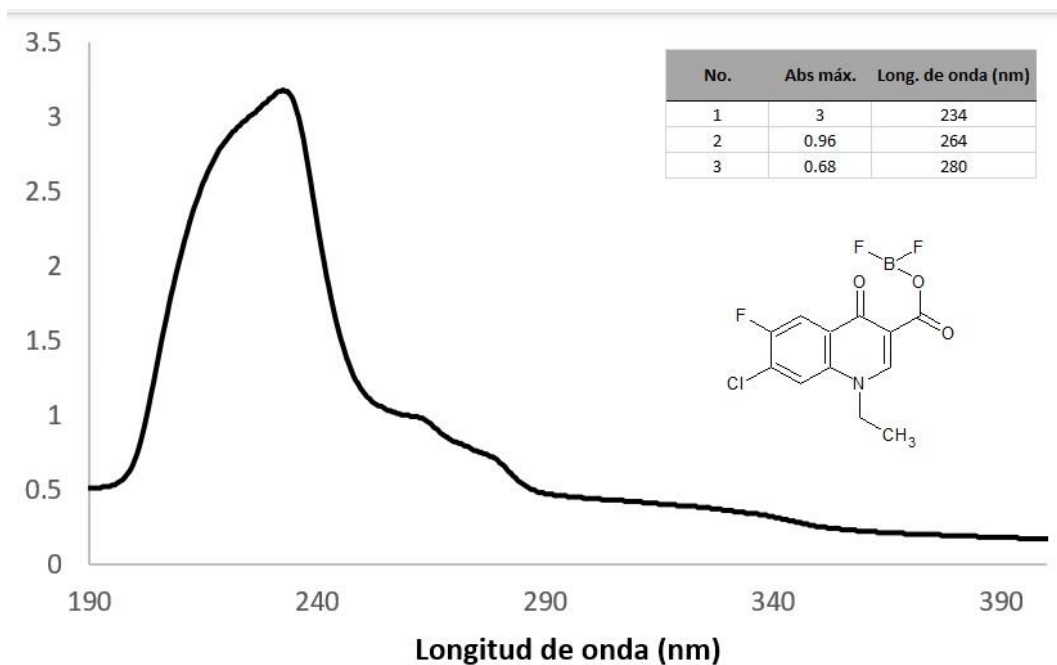
Espectro 27.- UV-Vis del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **162**



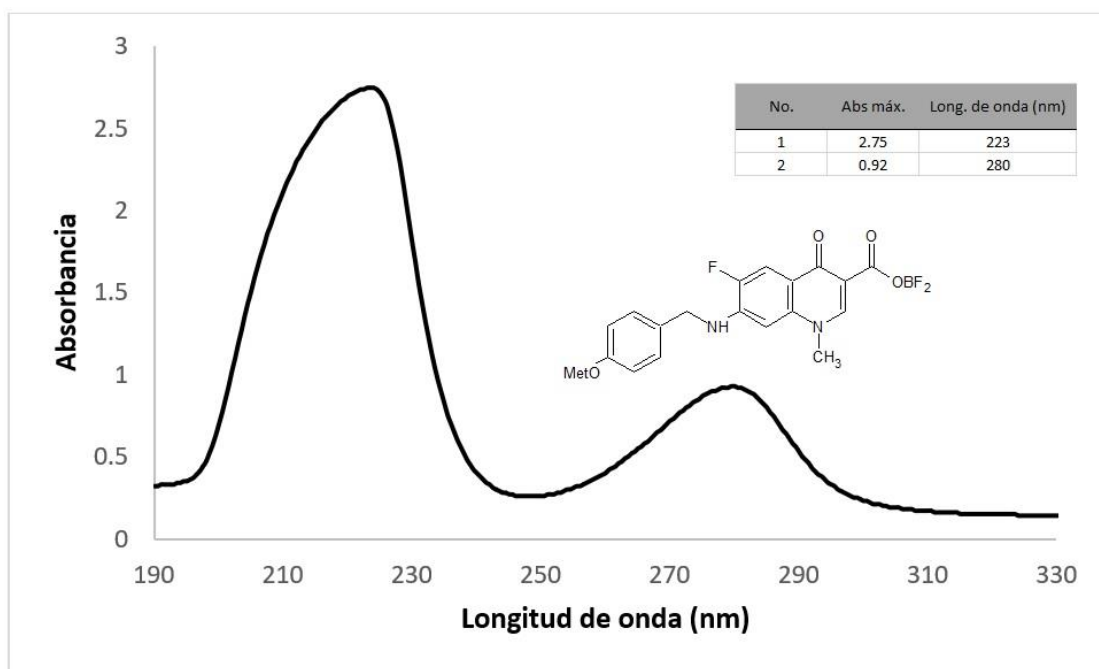
Espectro 28.- UV-Vis del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **50**



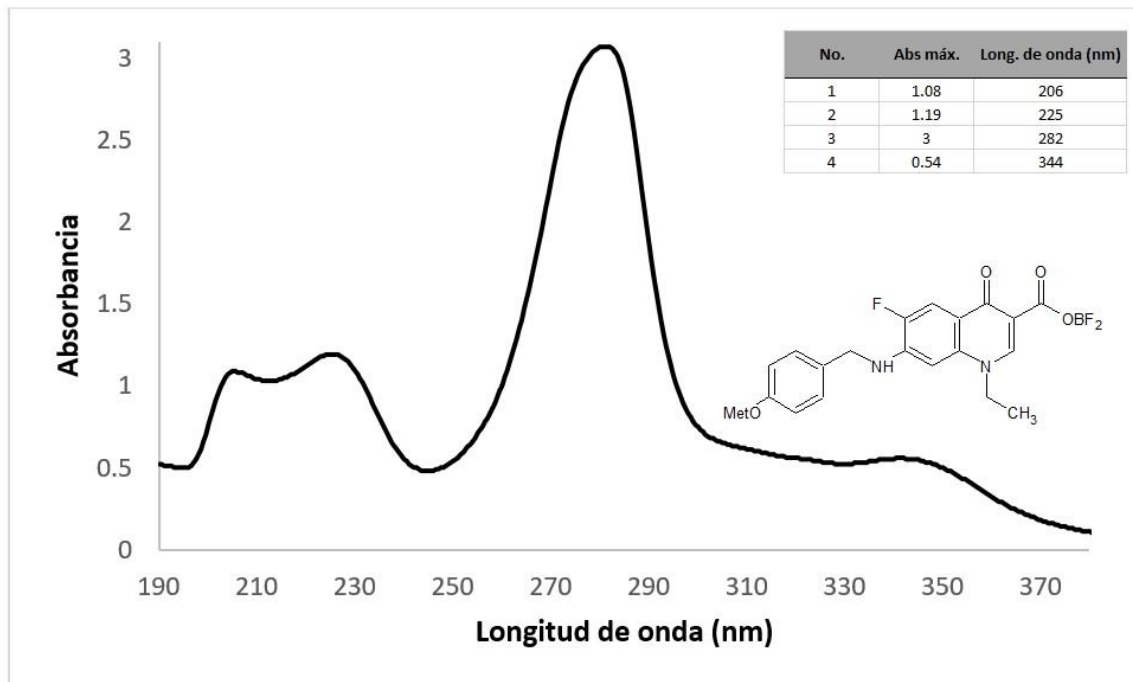
Espectro 29.- UV-Vis del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **163**



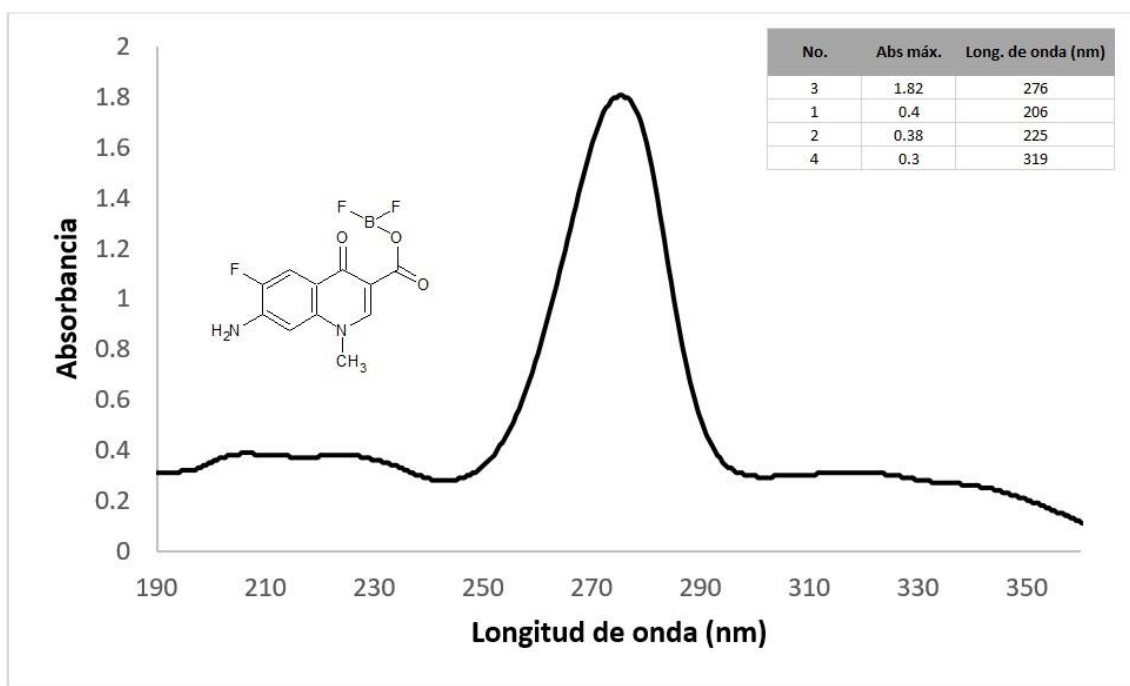
Espectro 30- UV-Vis del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **164**



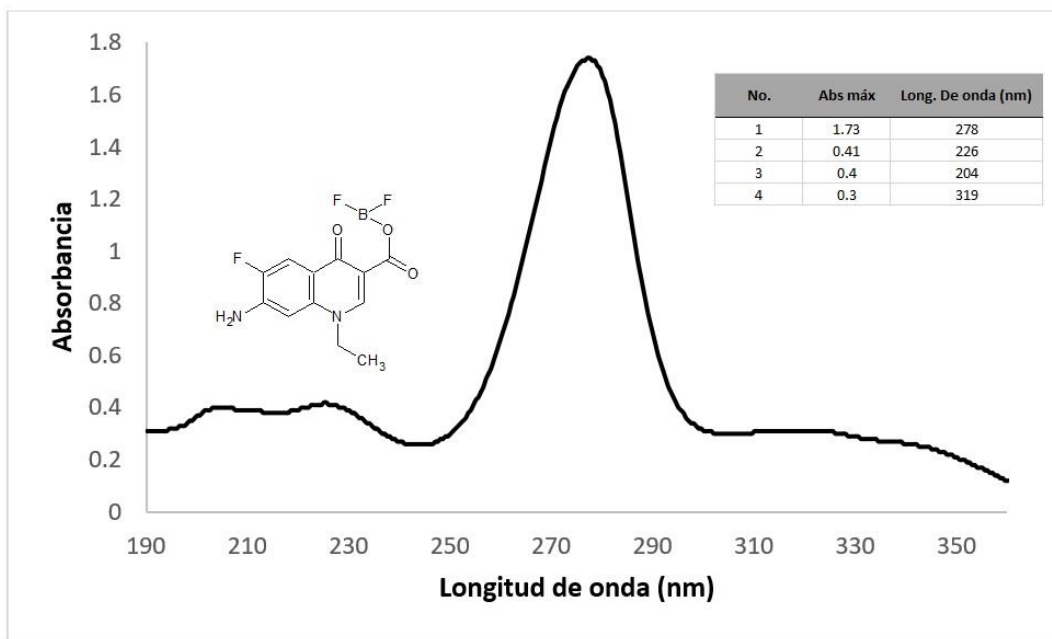
Espectro 31.- UV-Vis del 6-fluoro-1-metil-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **165**



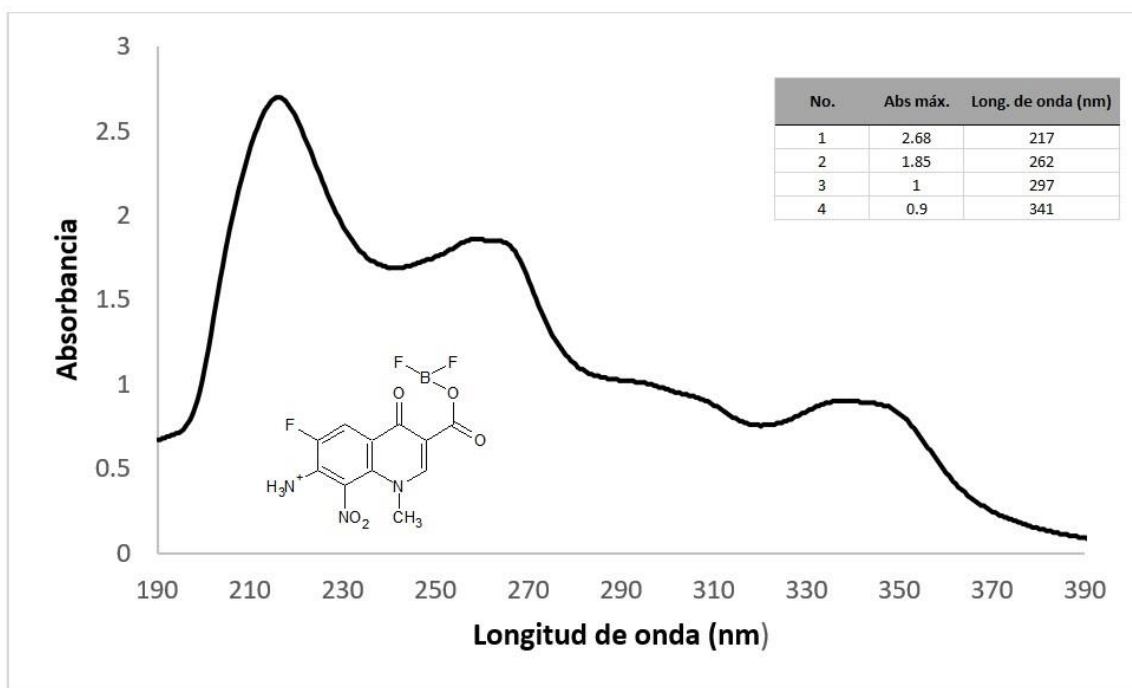
Espectro 32.- UV-Vis del 1-etil-6-fluoro-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **166**



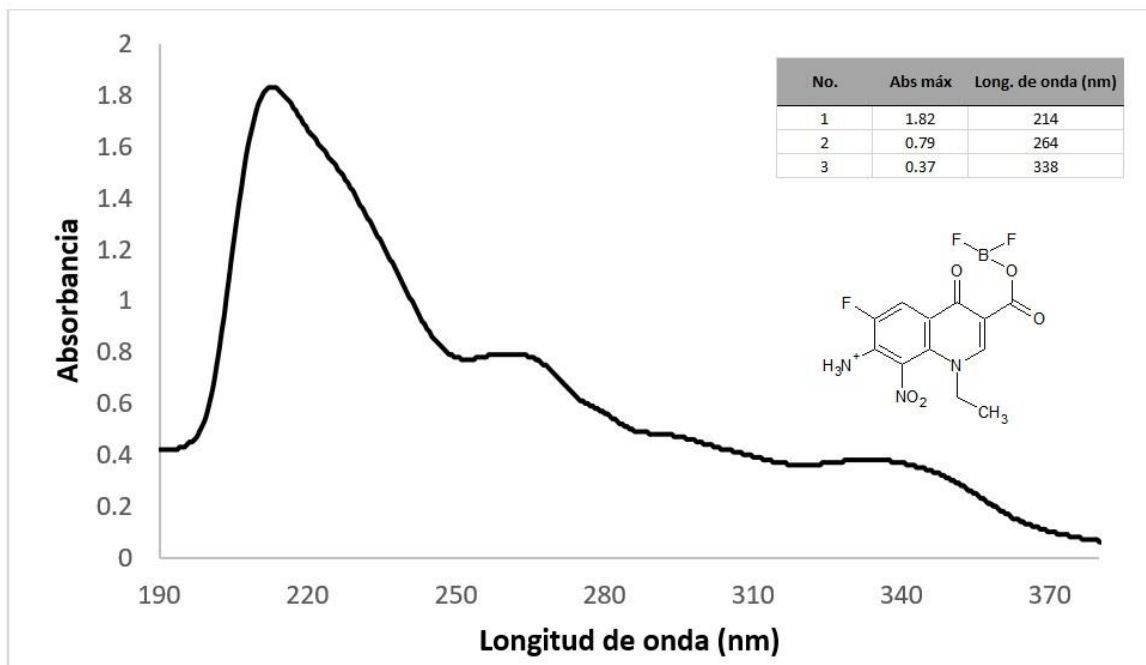
Espectro 33.- UV-Vis del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **167**



Espectro 34.- UV-Vis del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **168**



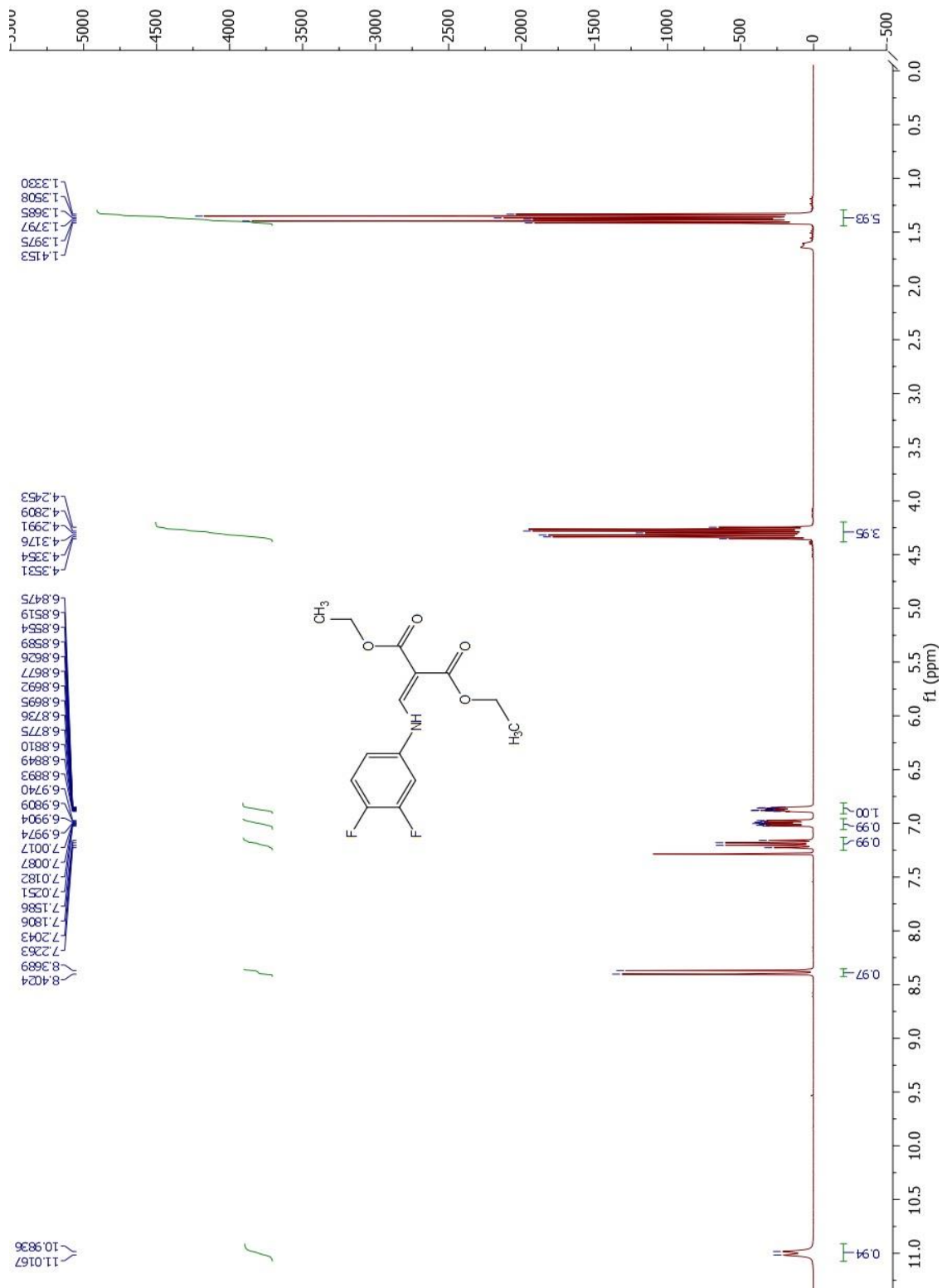
Espectro 35.- UV-Vis del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **169**



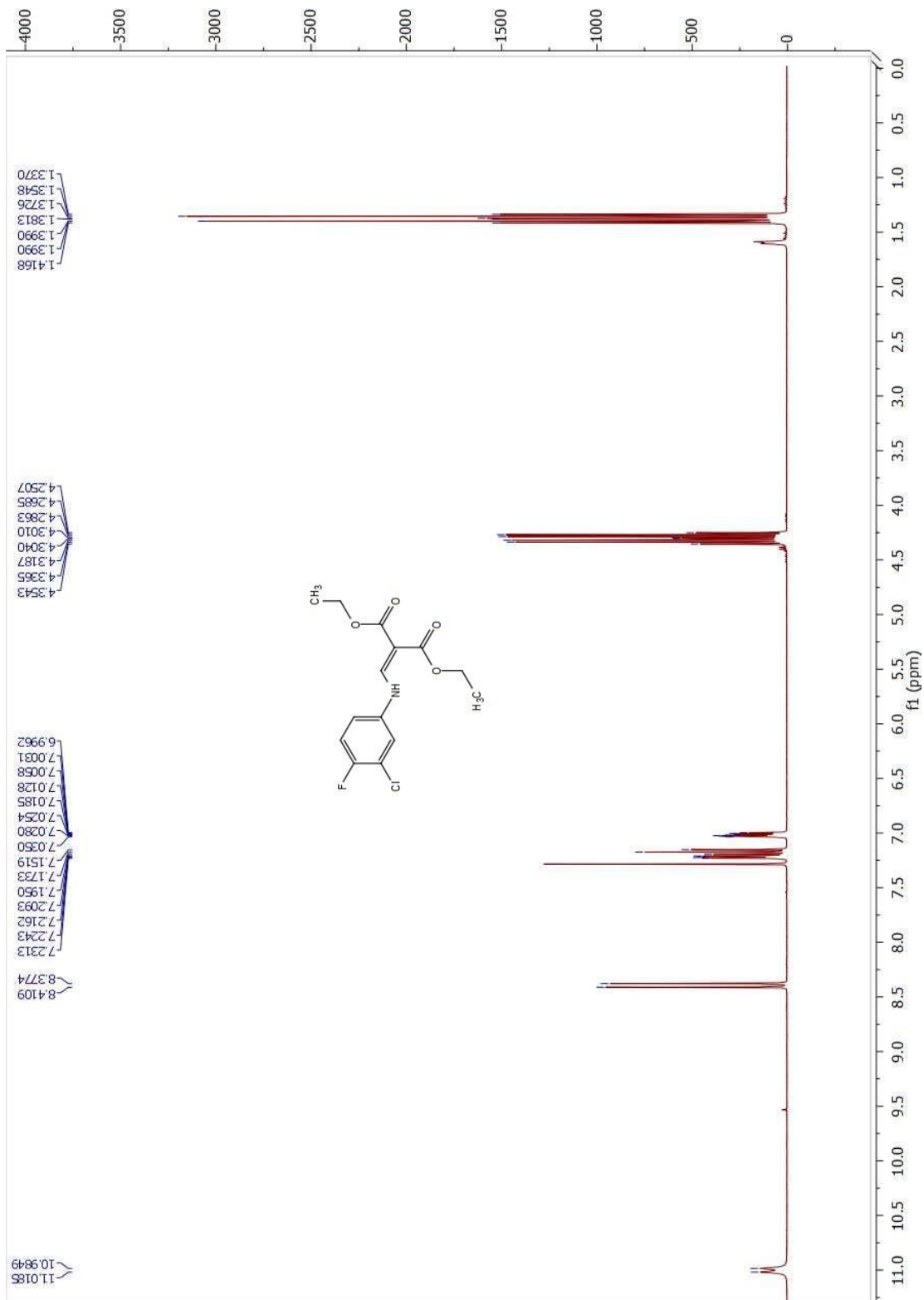
Espectro 36.- UV-Vis del 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **170**

13. APÉNDICE C

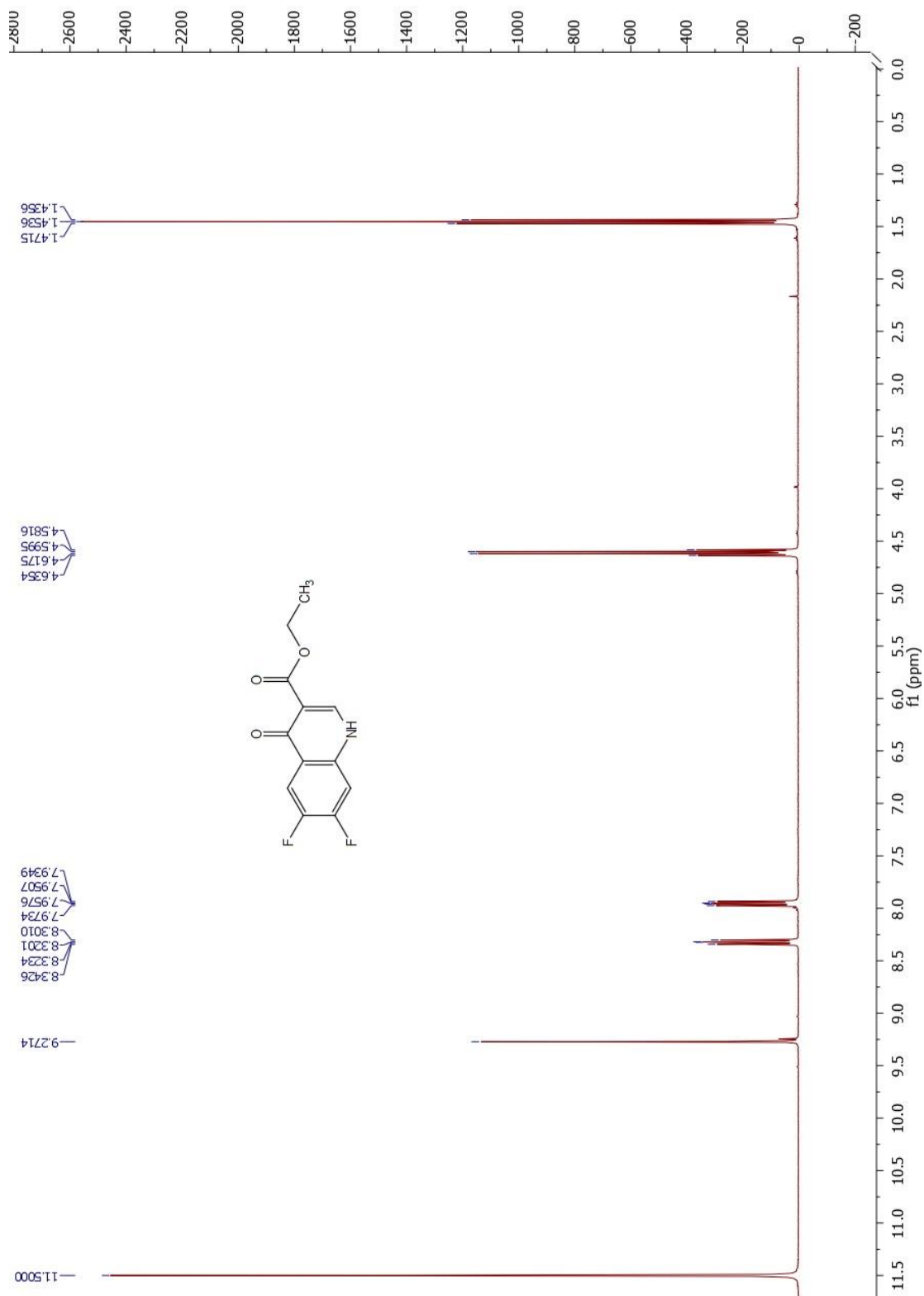
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H



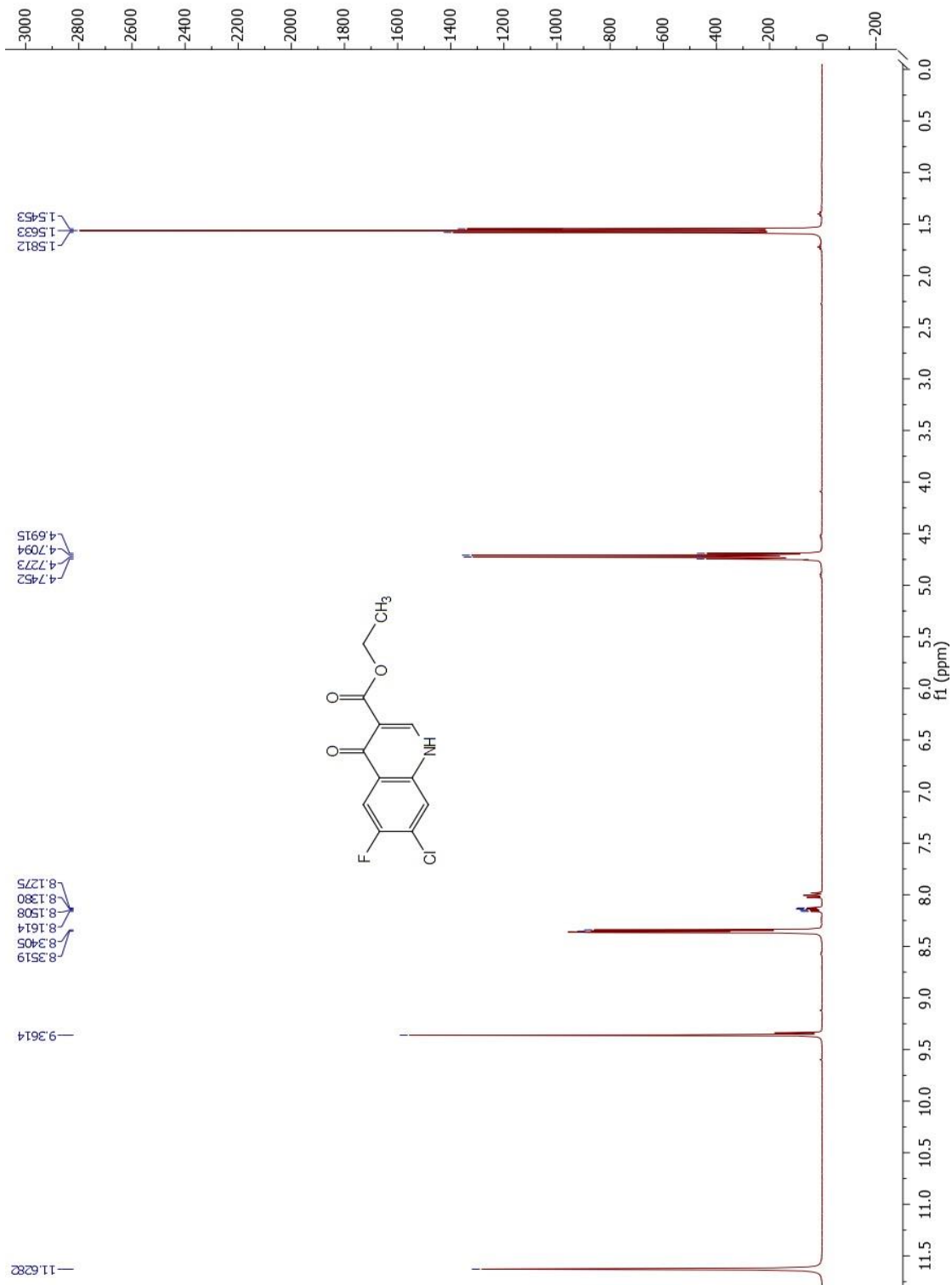
Espectro 37. RMN ¹H del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metileno]-malonato de dietilo **47**



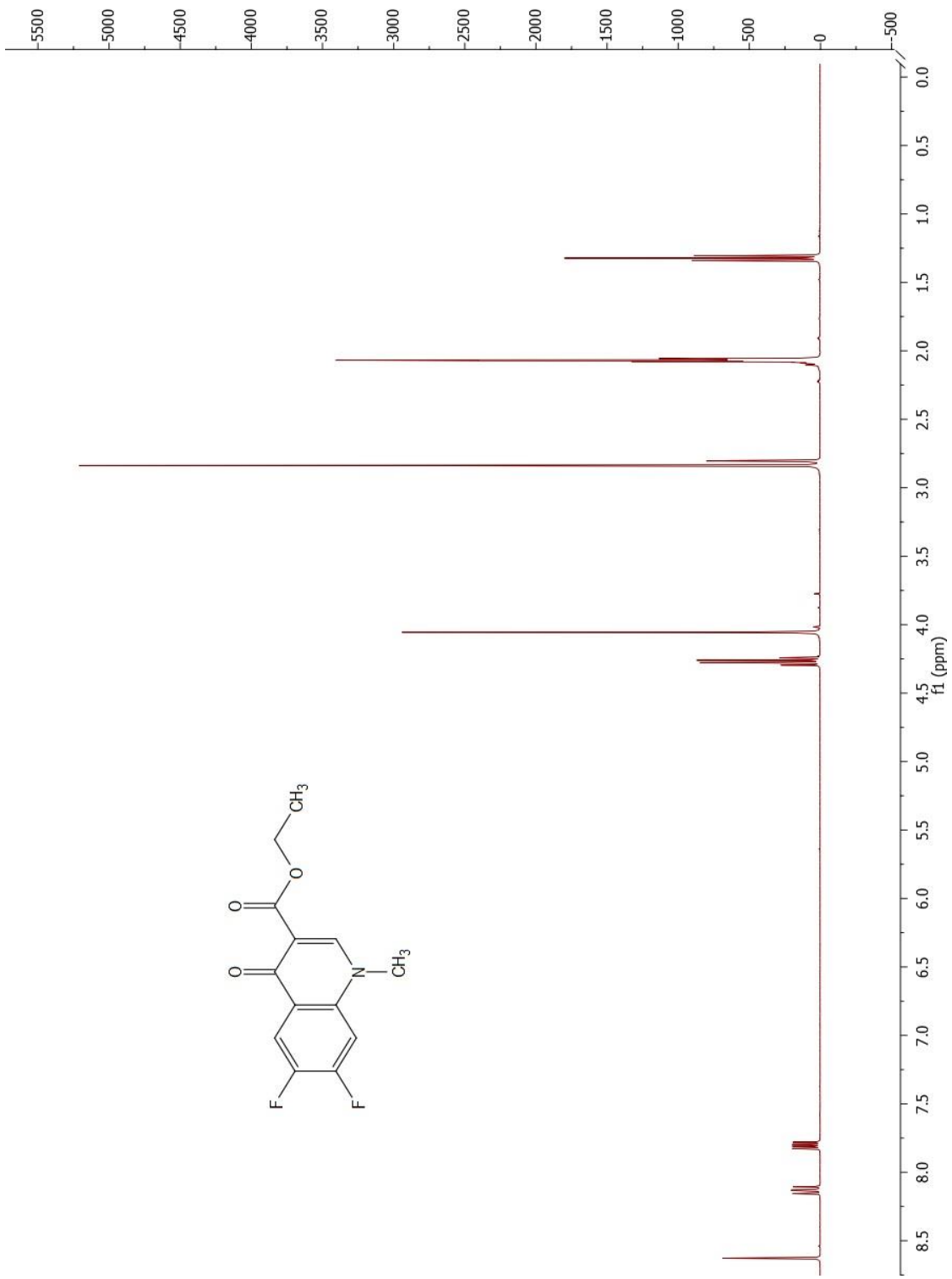
Espectro 38. RMN ¹H del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metileno]-malonato de dietilo **158**



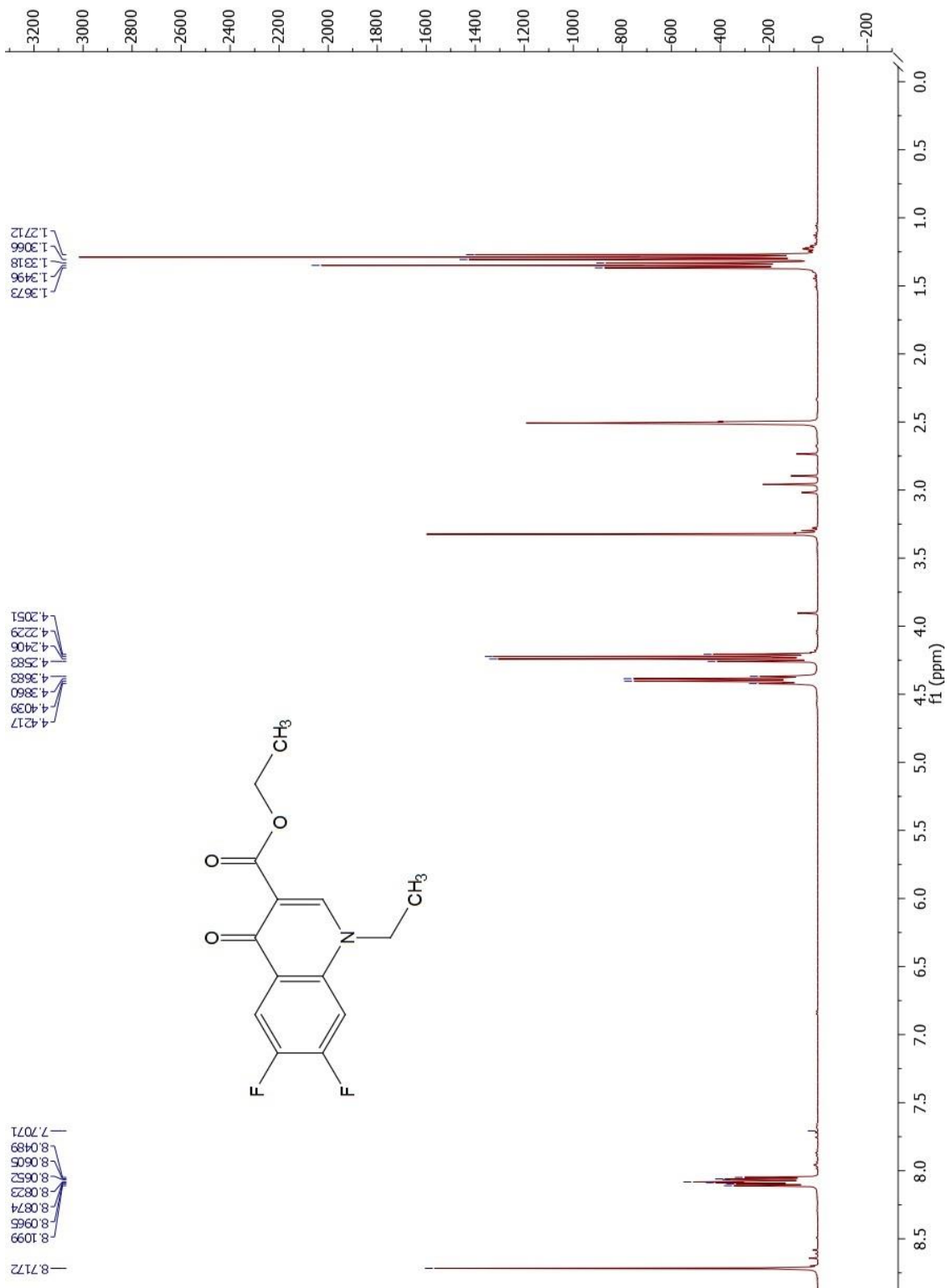
Espectro 39. RMN ¹H del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **48**



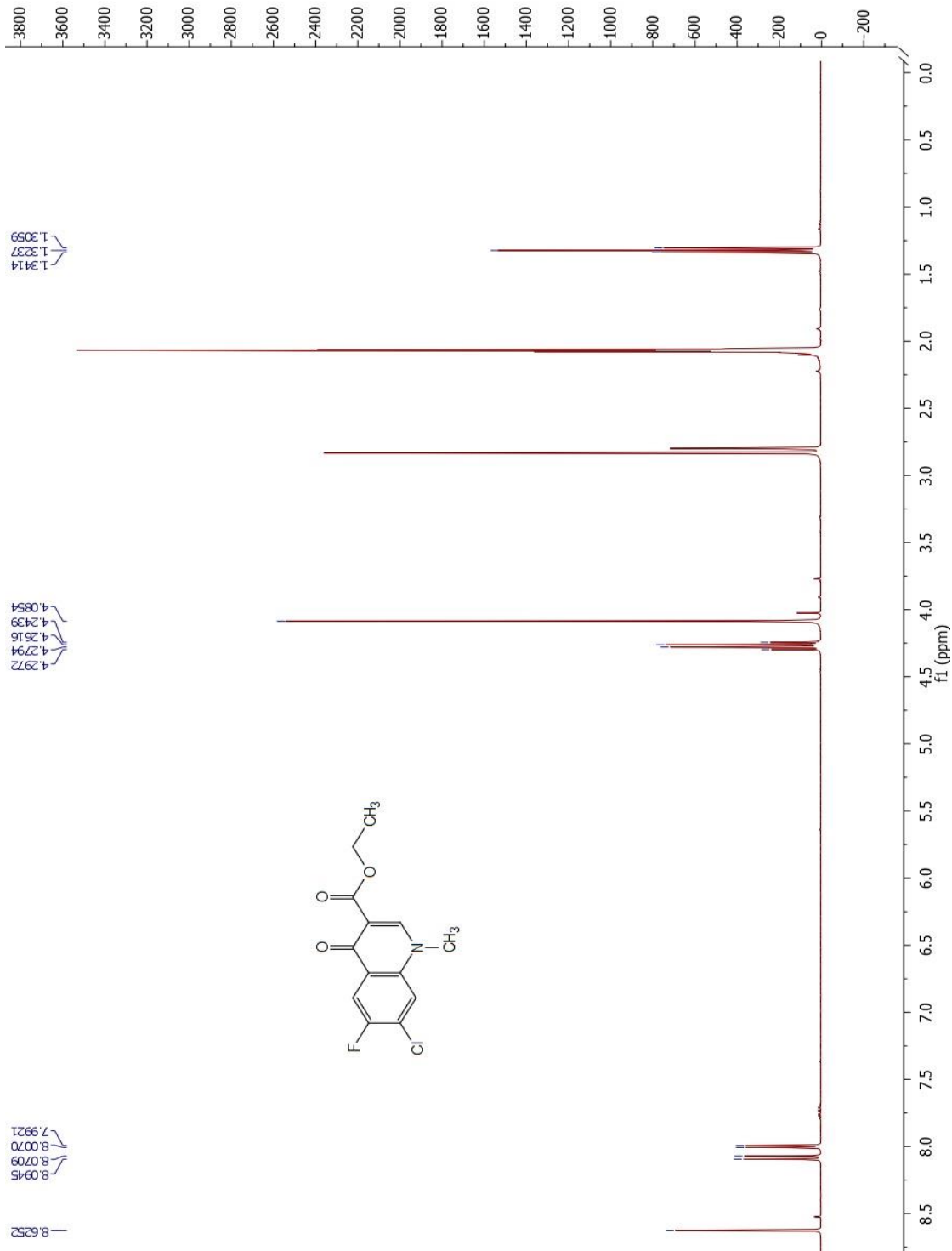
Espectro 40. RMN ¹H del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **140**



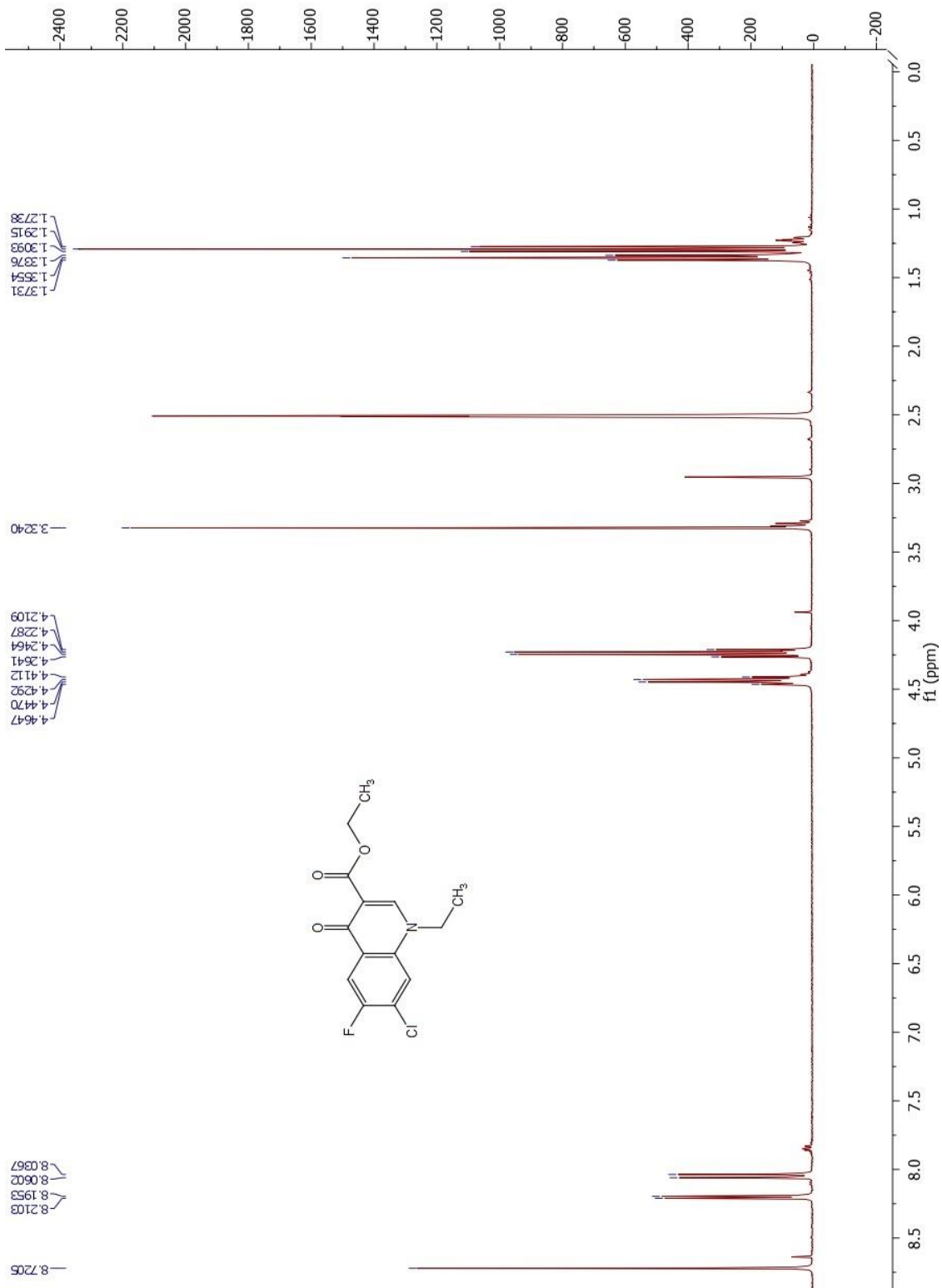
Espectro 41. RMN ¹H del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **159**



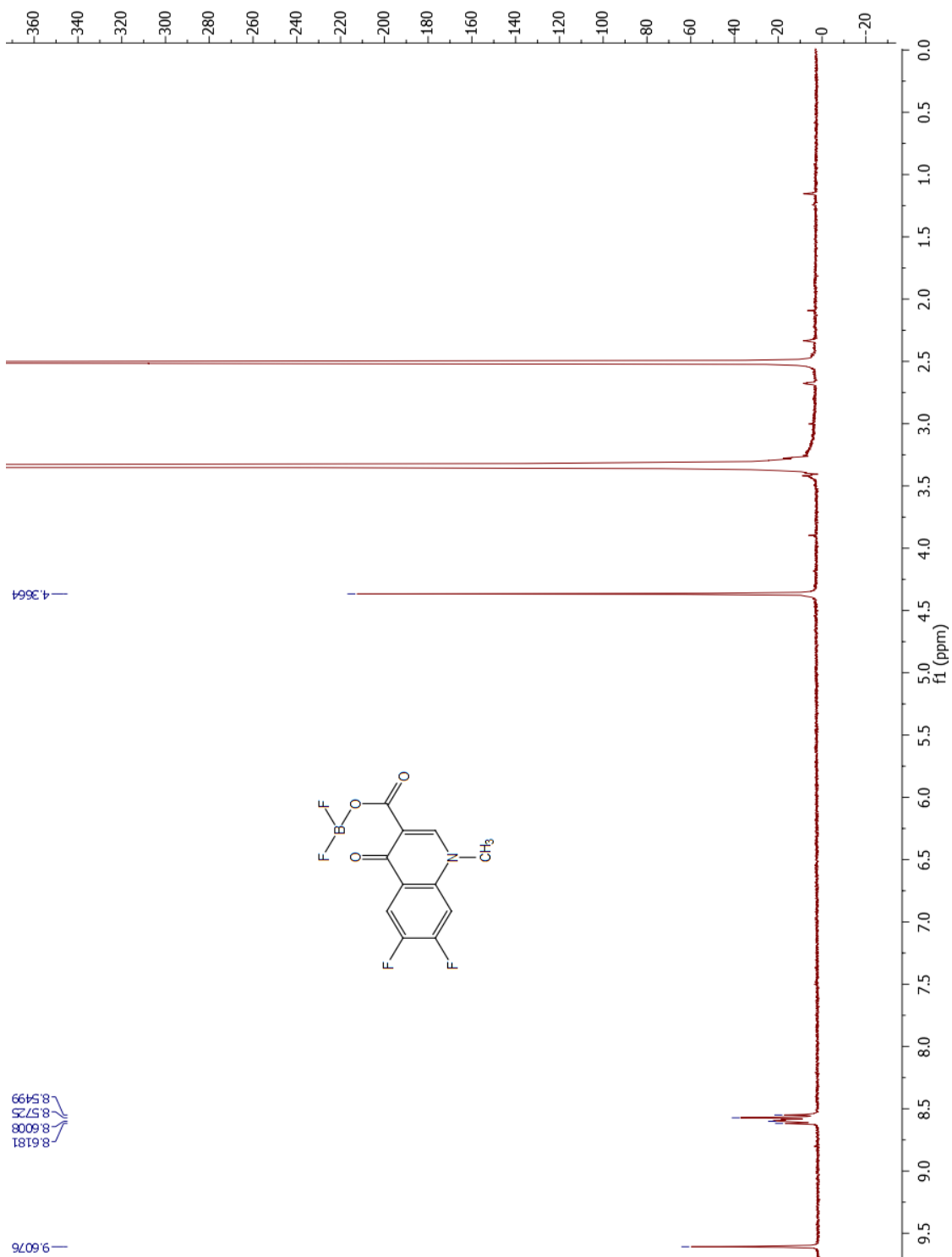
Espectro 42. RMN ¹H del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **49**



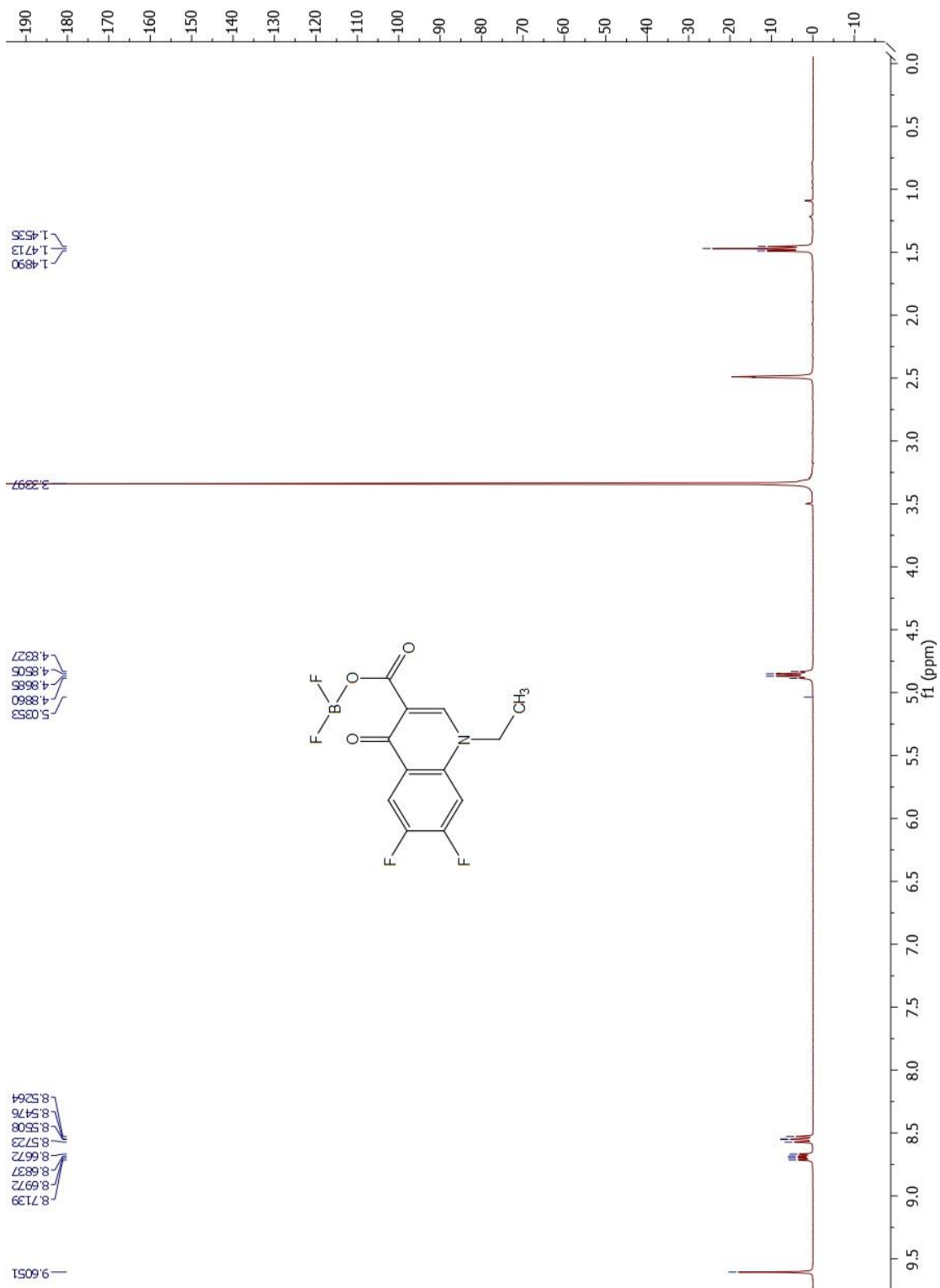
Espectro 43. RMN ¹H del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **160**



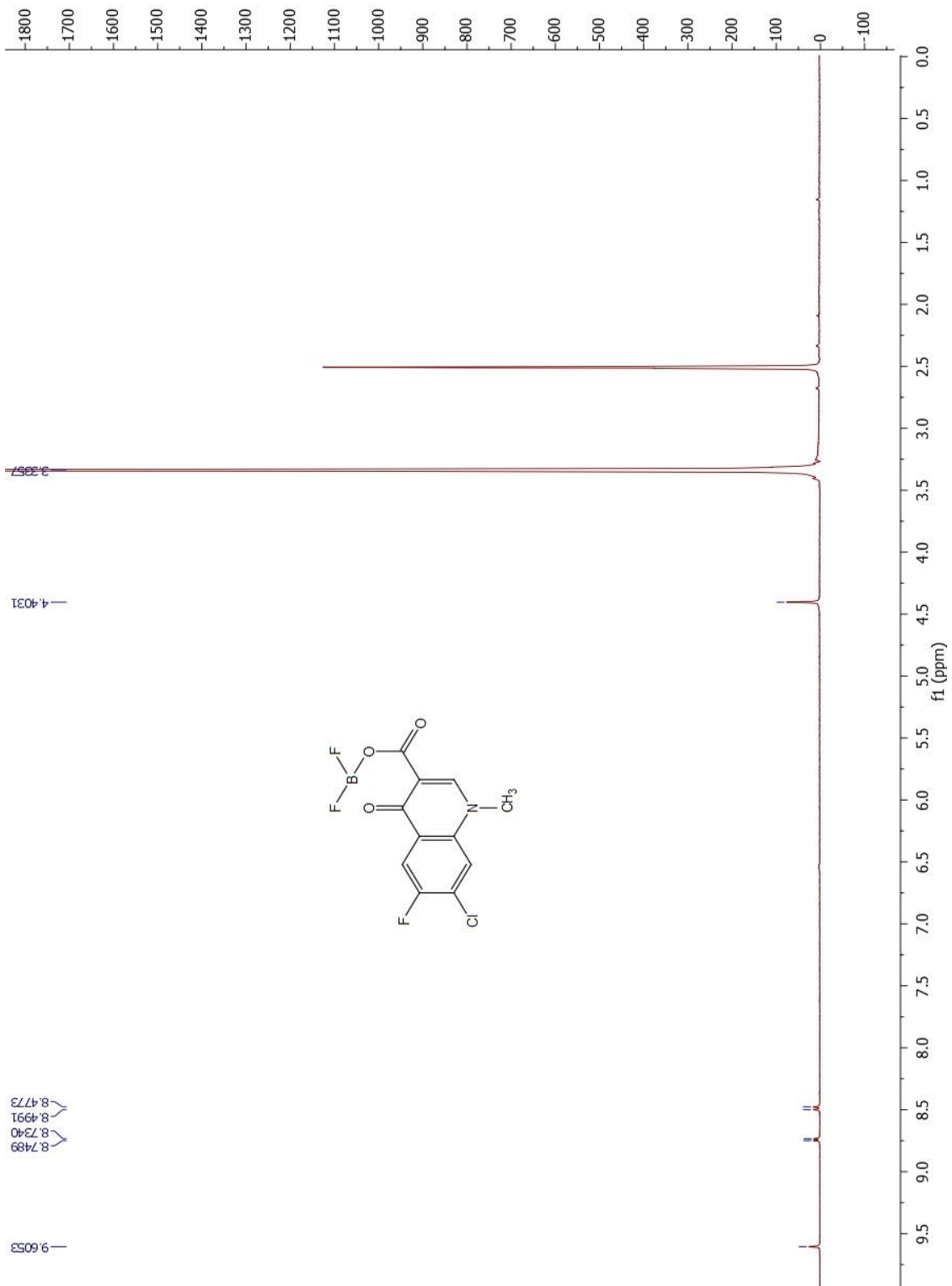
Espectro 44. RMN ¹H del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **161**



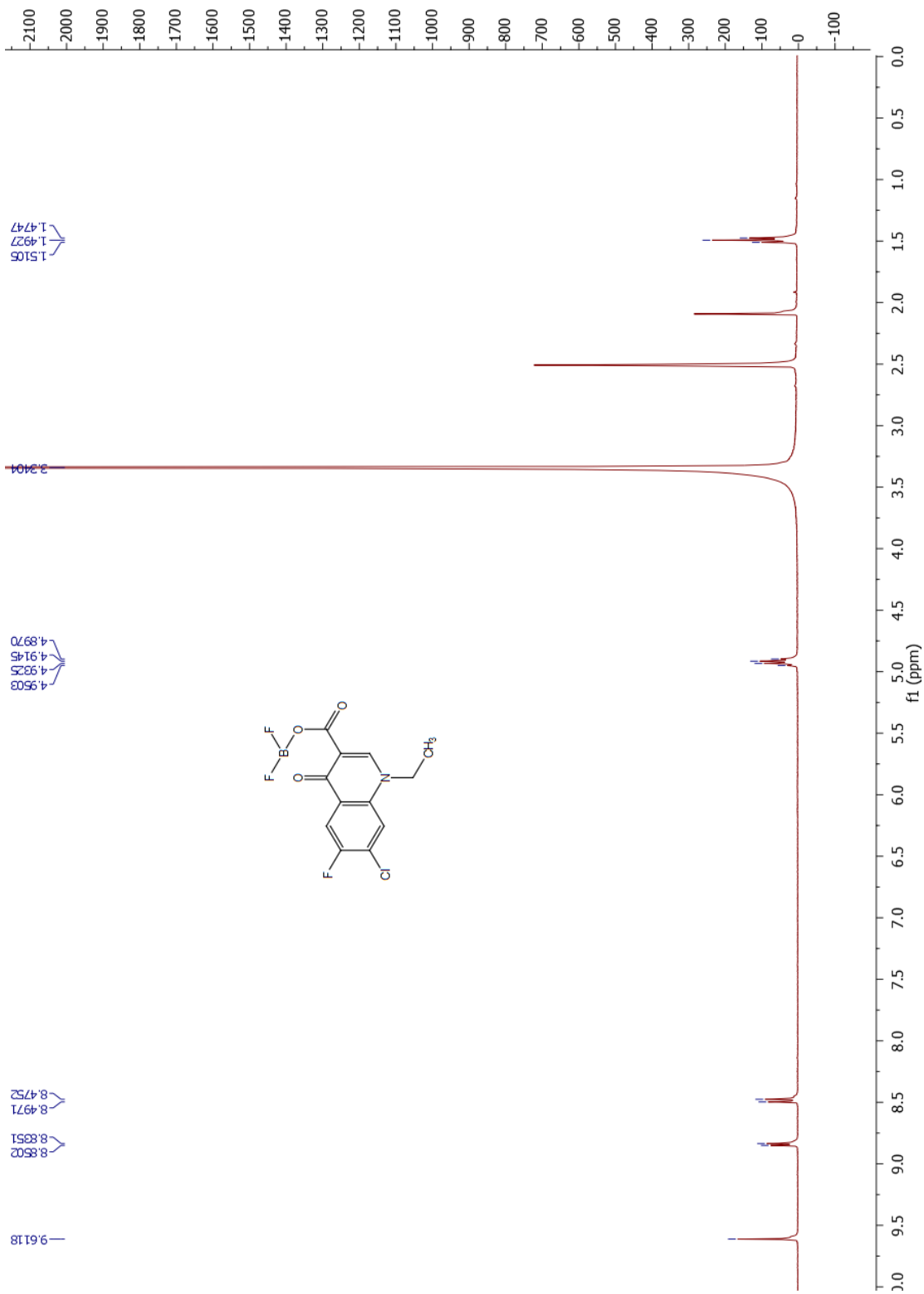
Espectro 45. RMN ^1H del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **162**



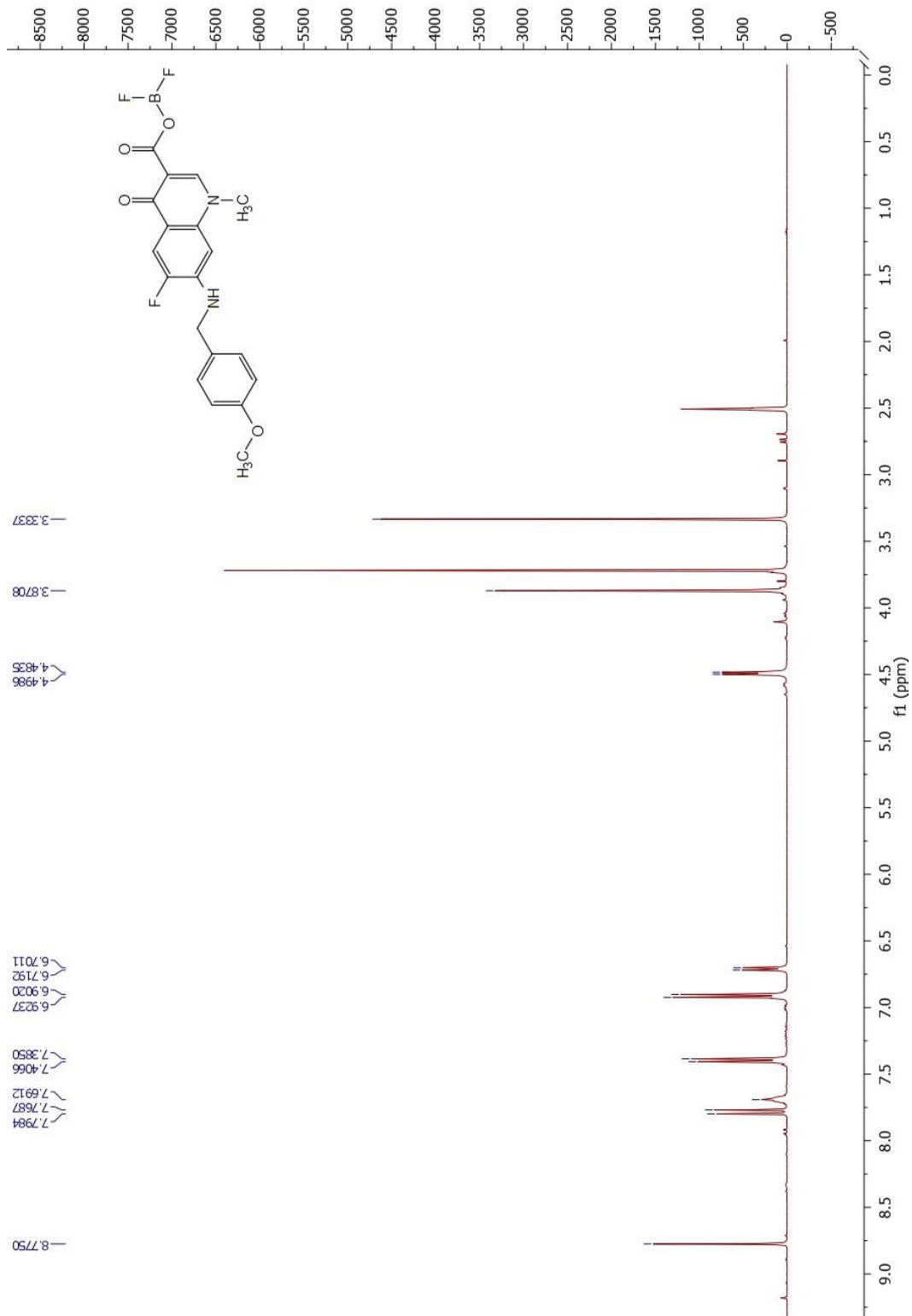
Espectro 46. RMN ¹H del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluorborilo **50**



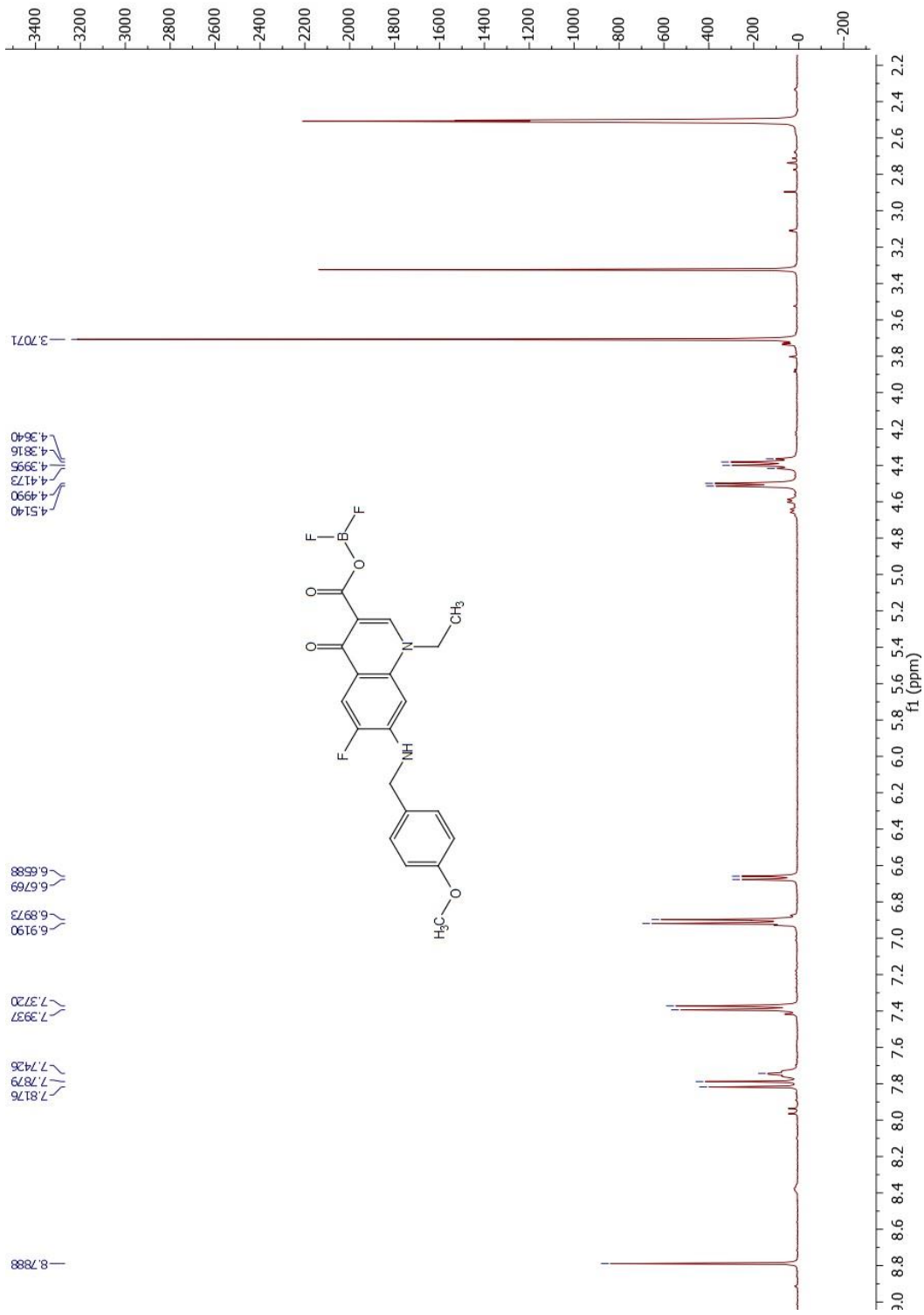
Espectro 47. RMN ¹H del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **163**



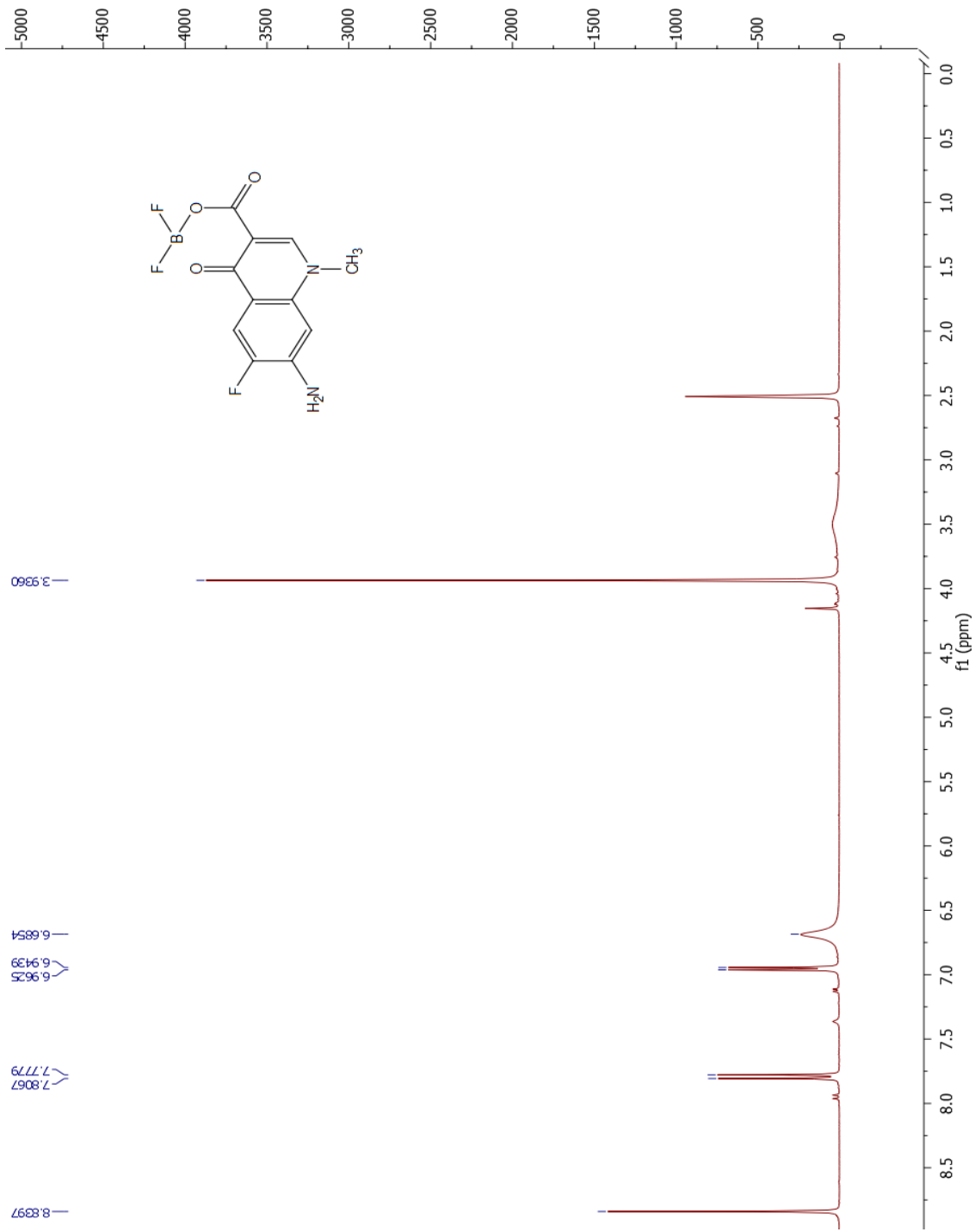
Espectro 48. RMN ^1H del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluorborilo **164**



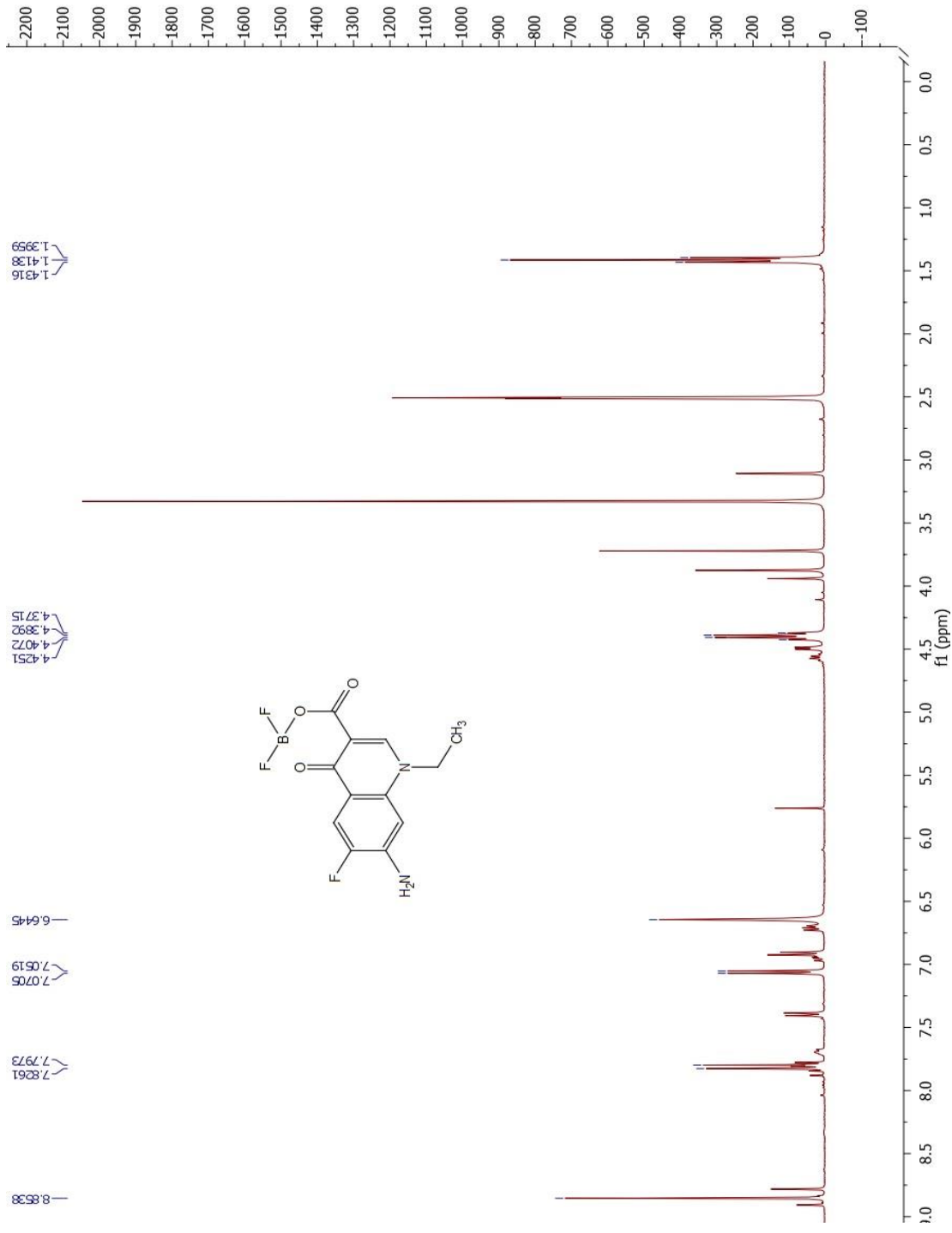
Espectro 49. RMN ¹H del 6-fluoro-1-metil-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **165**



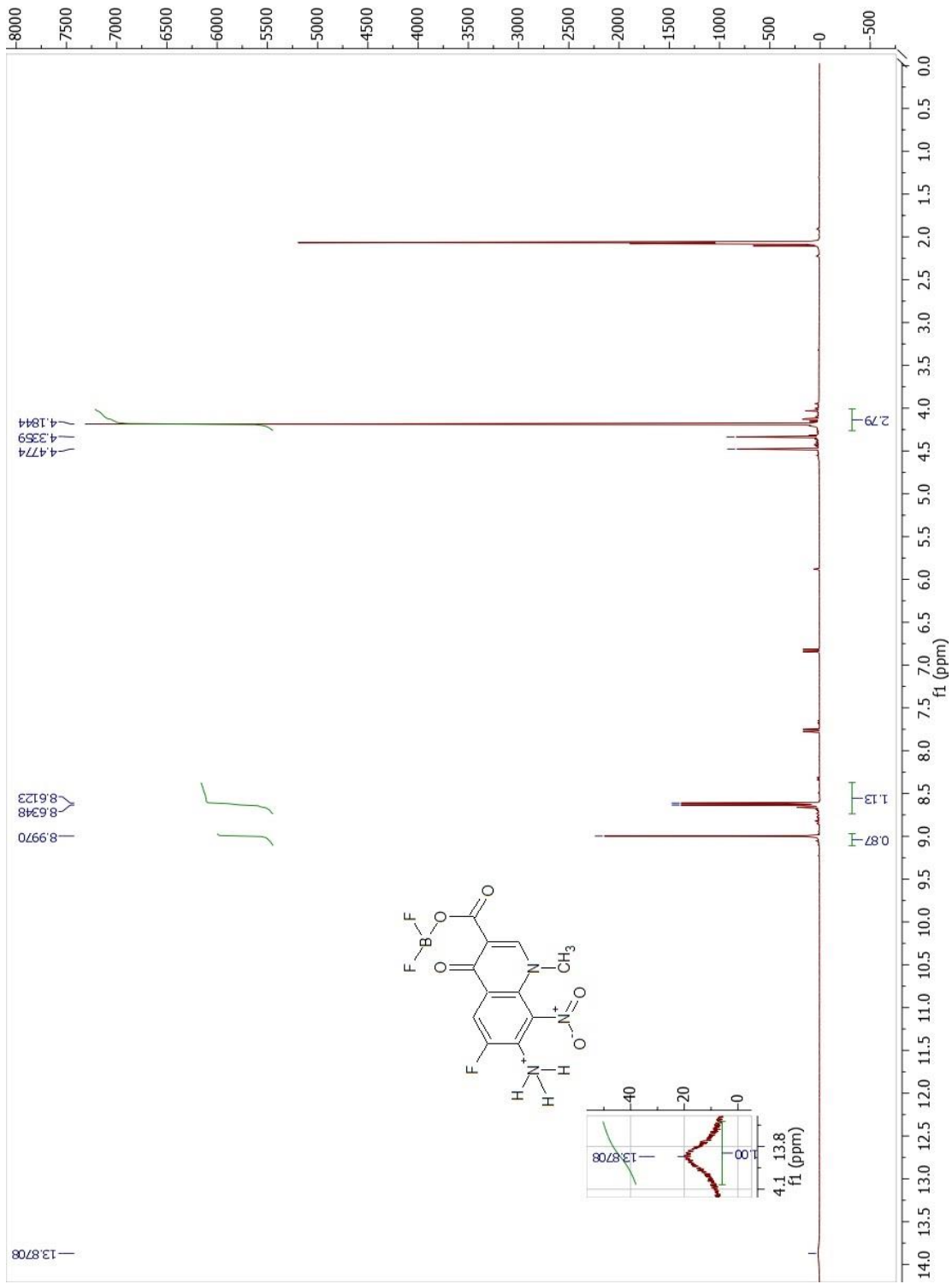
Espectro 50. RMN ¹H del 1-etil-6-fluoro-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **166**



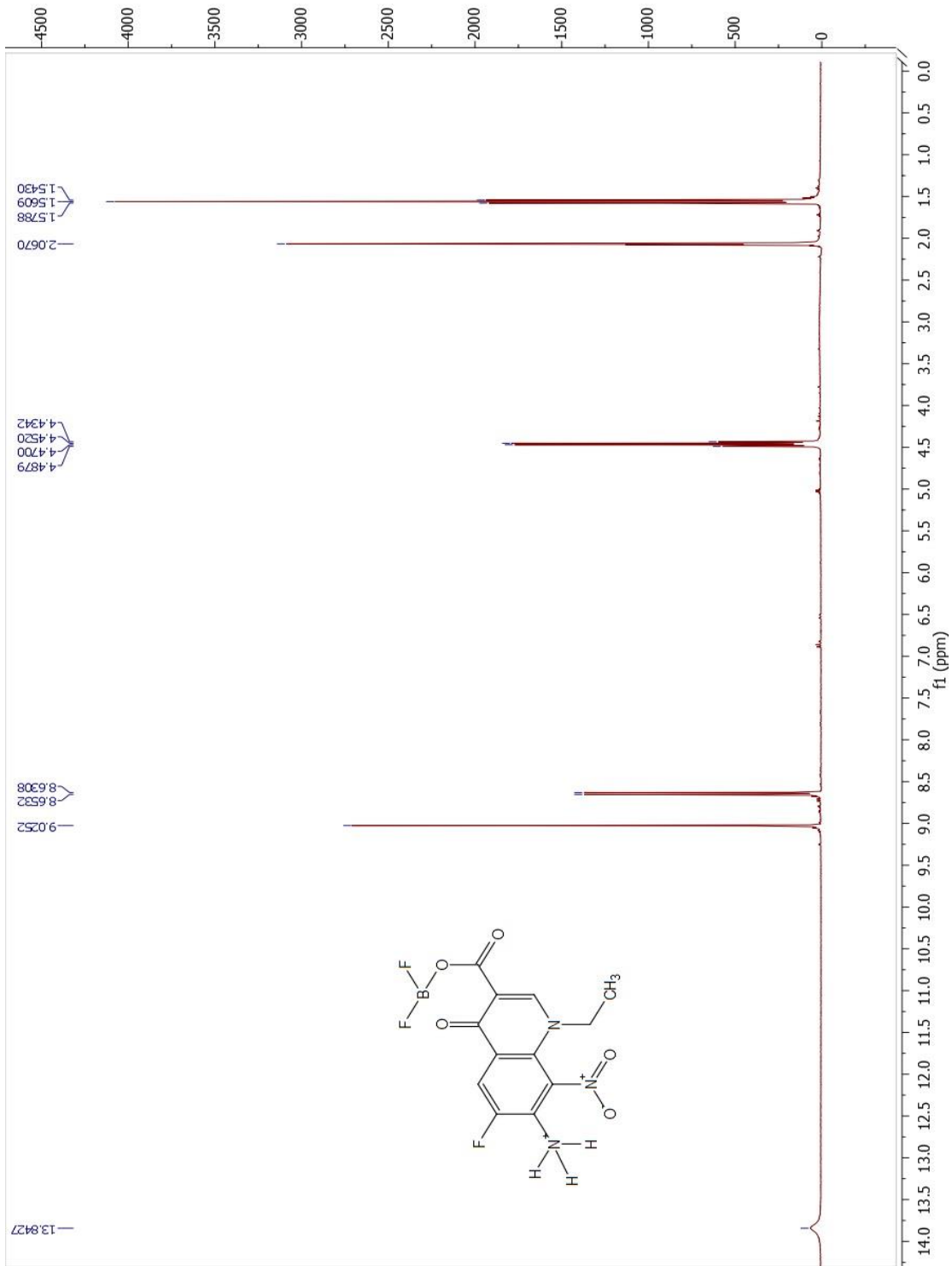
Espectro 51. RMN ¹H del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **167**



Espectro 52. RMN ¹H del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **168**

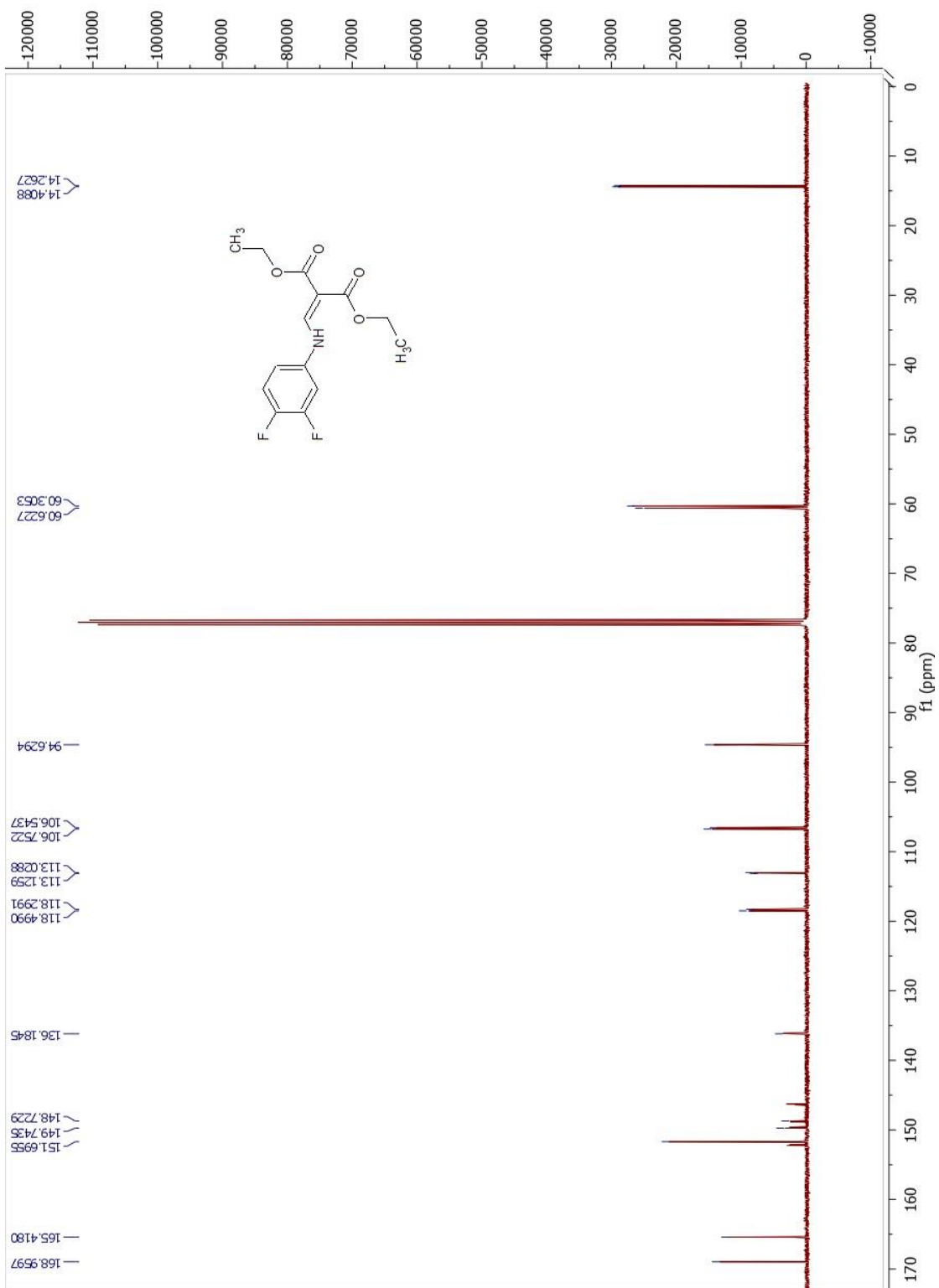


Espectro 53. RMN ¹H del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **169**

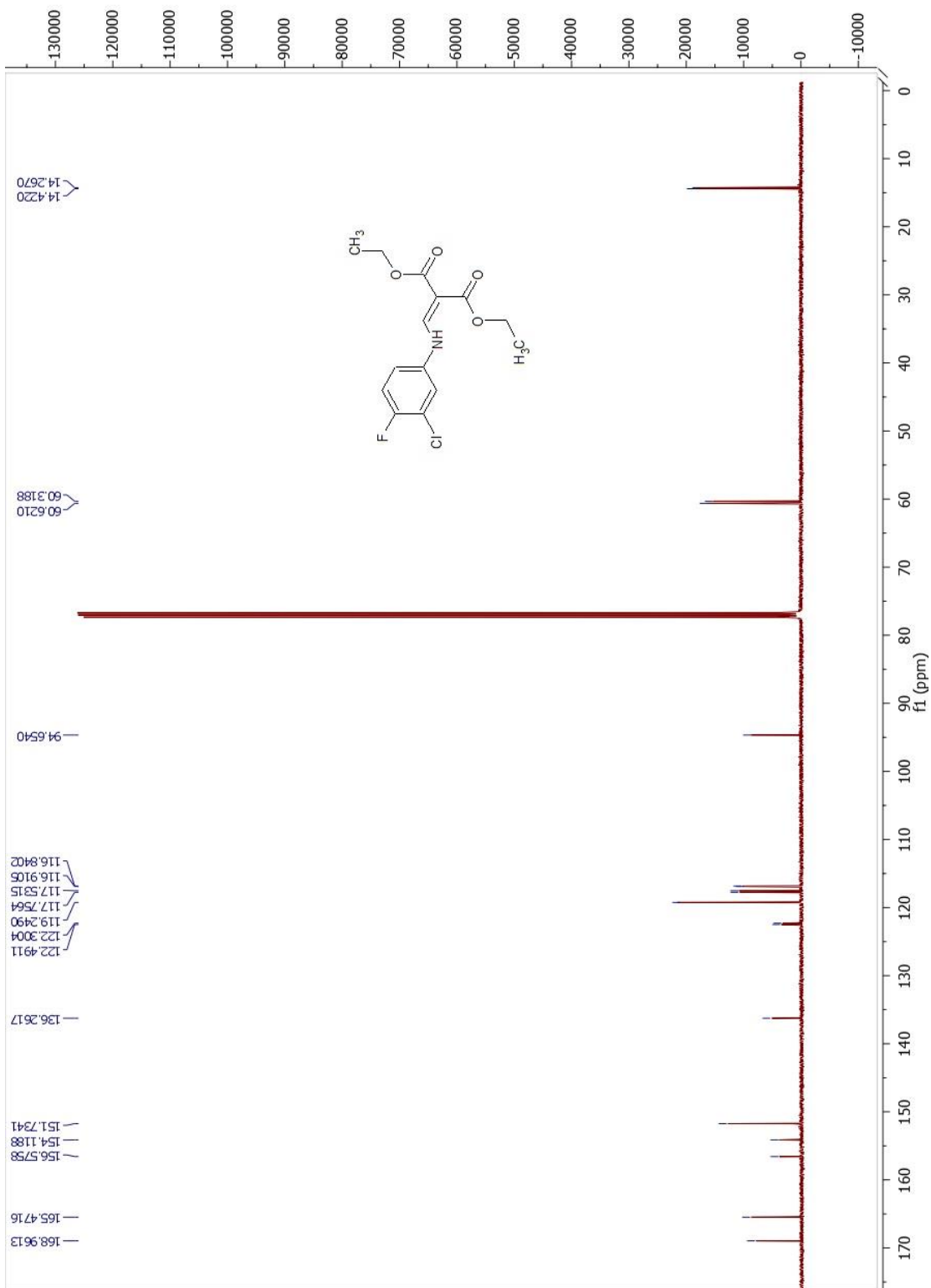


Espectro 54. RMN ¹H del de 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **170**

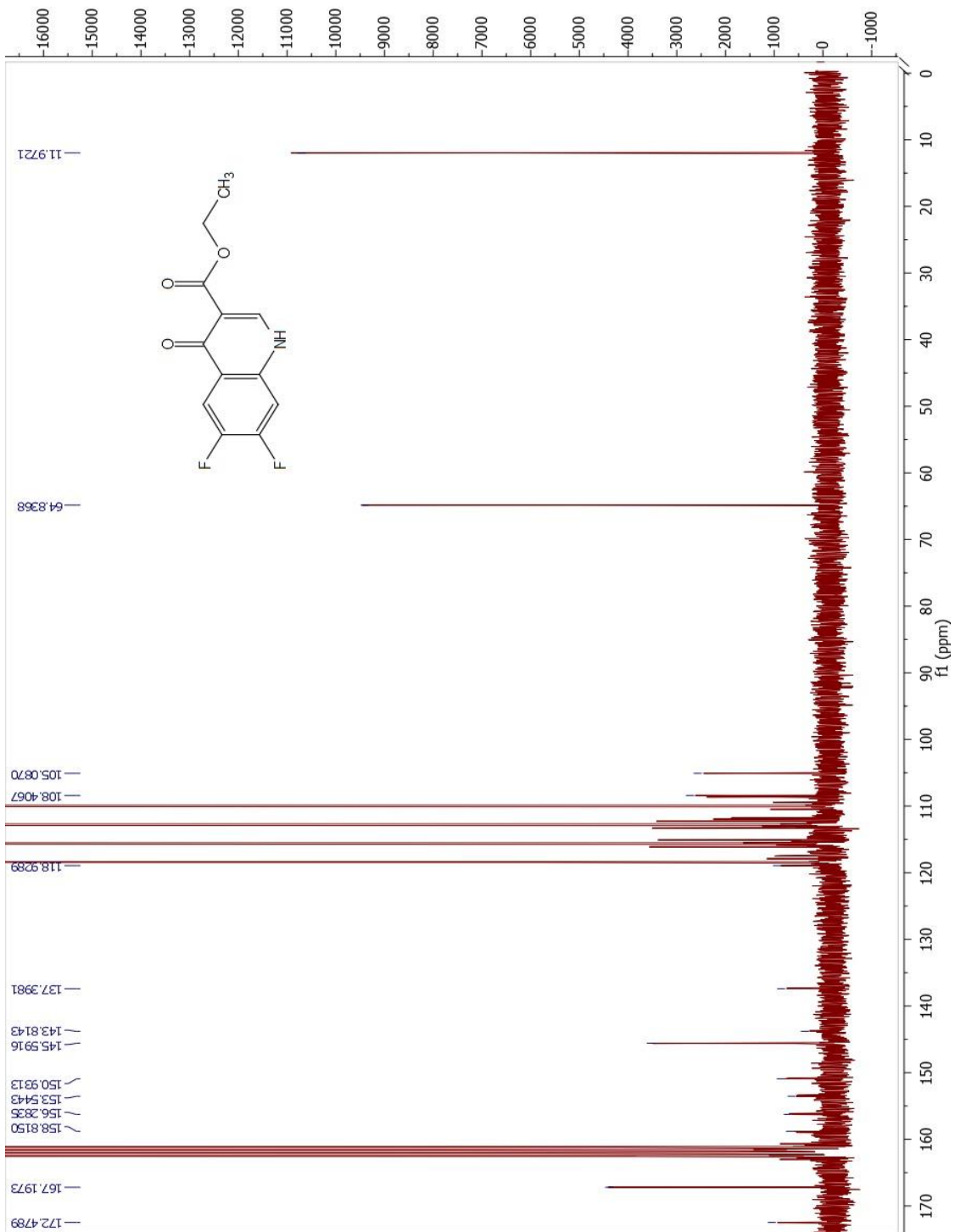
14. APÉNDICE D
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C



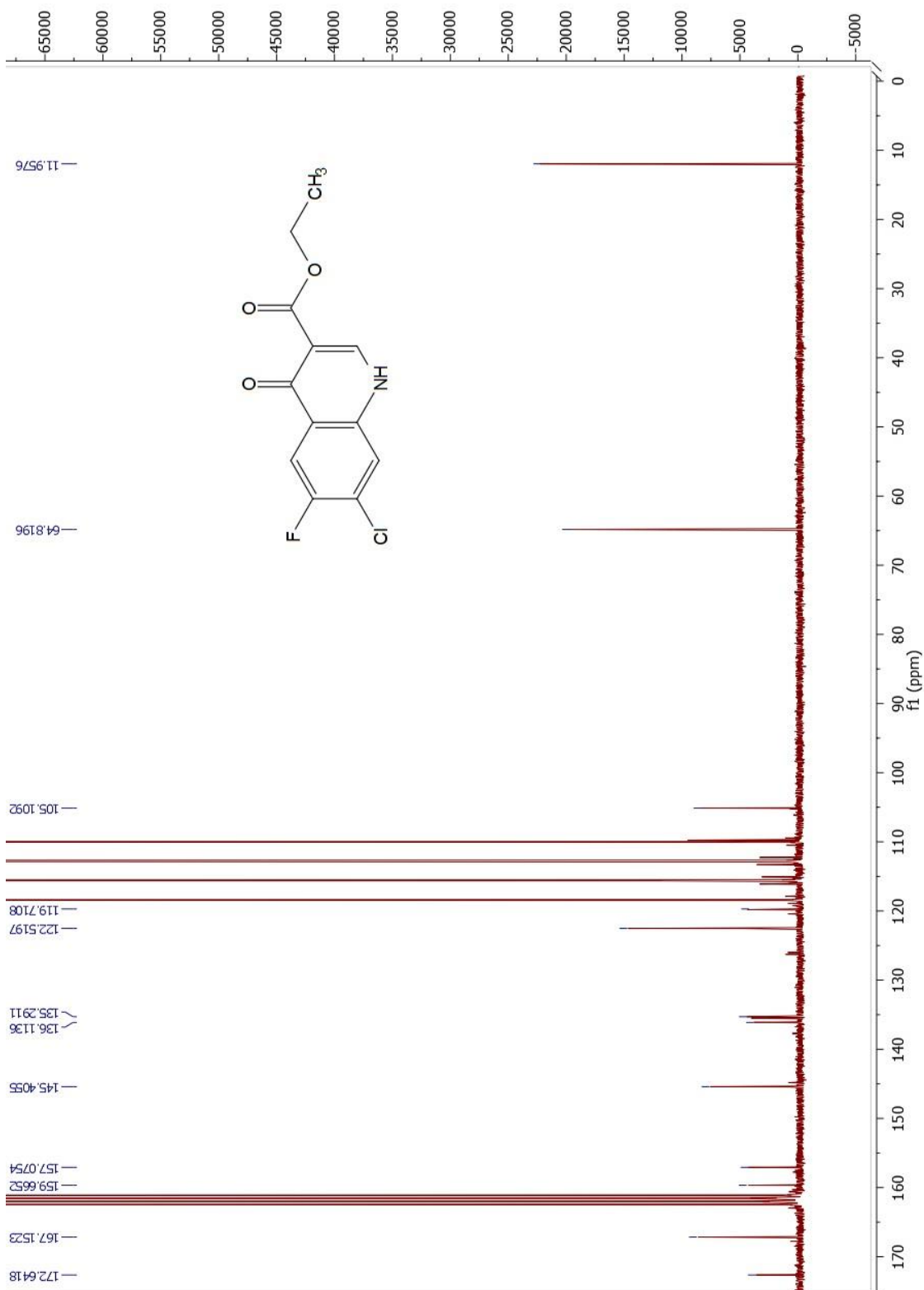
Espectro 55. RMN ¹³C del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilén]-malonato de dietilo **47**



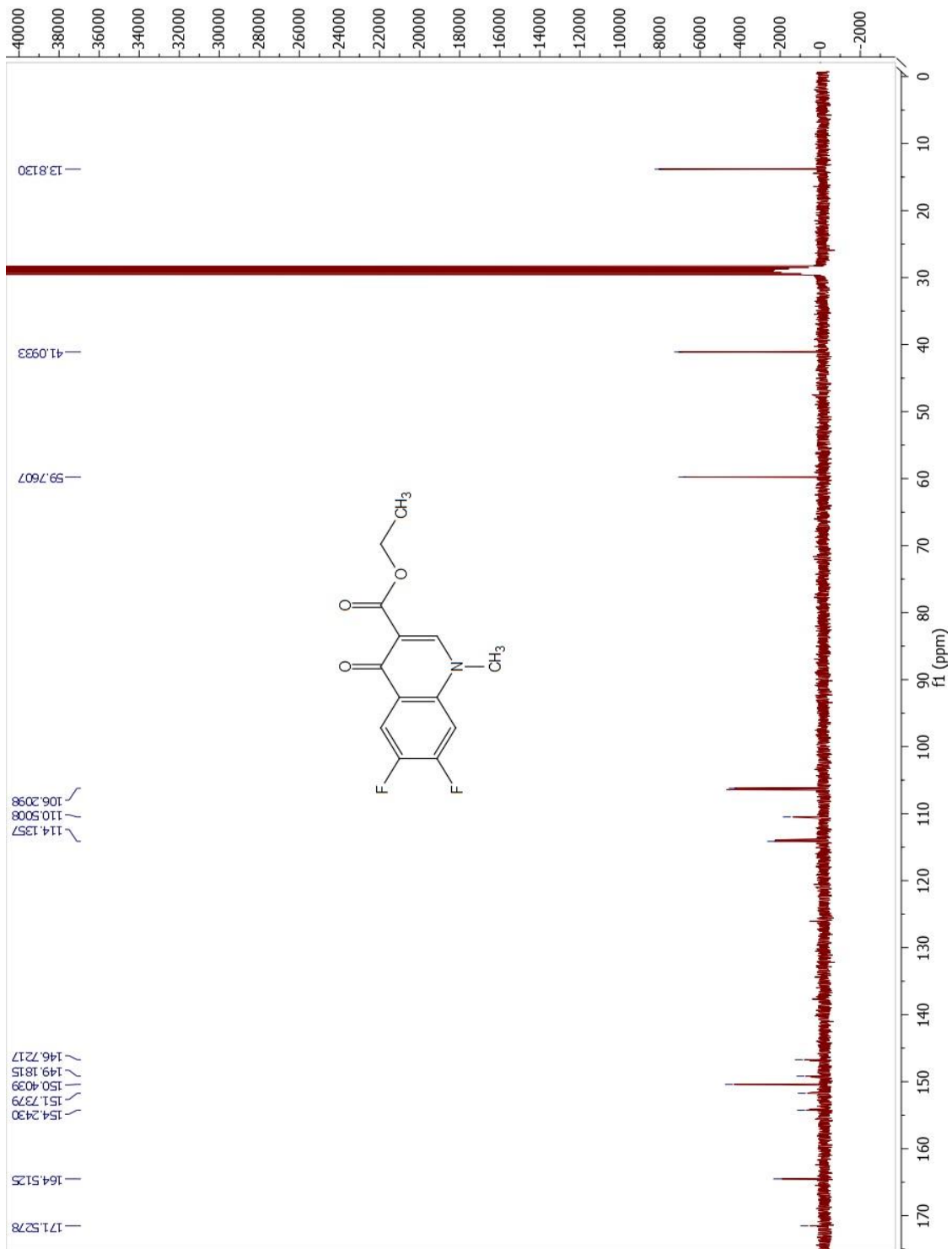
Espectro 56. RMN ¹³C del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metileno]-malonato de dietilo **158**



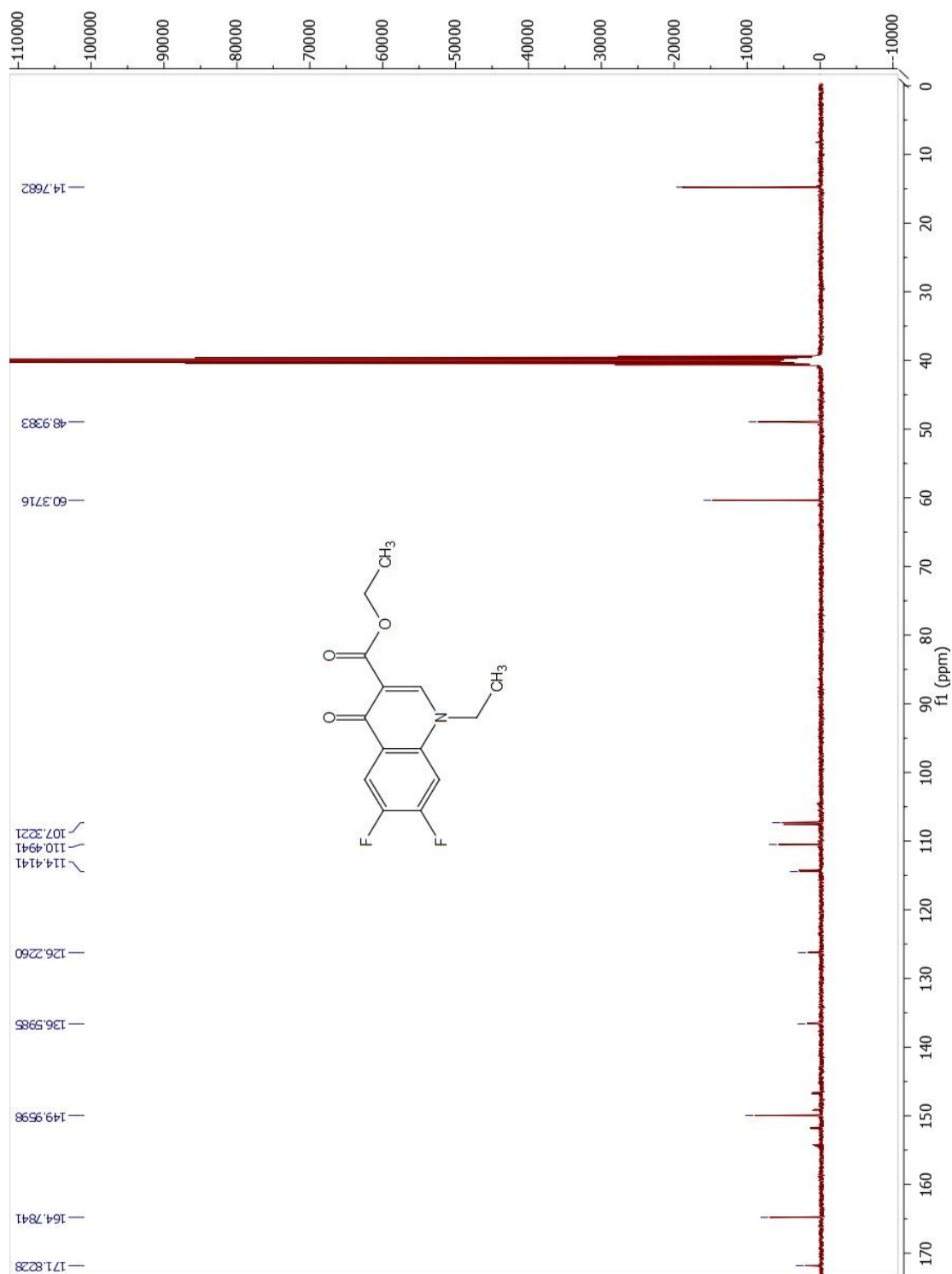
Espectro 57. RMN ¹³C del 6,7-difluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **48**



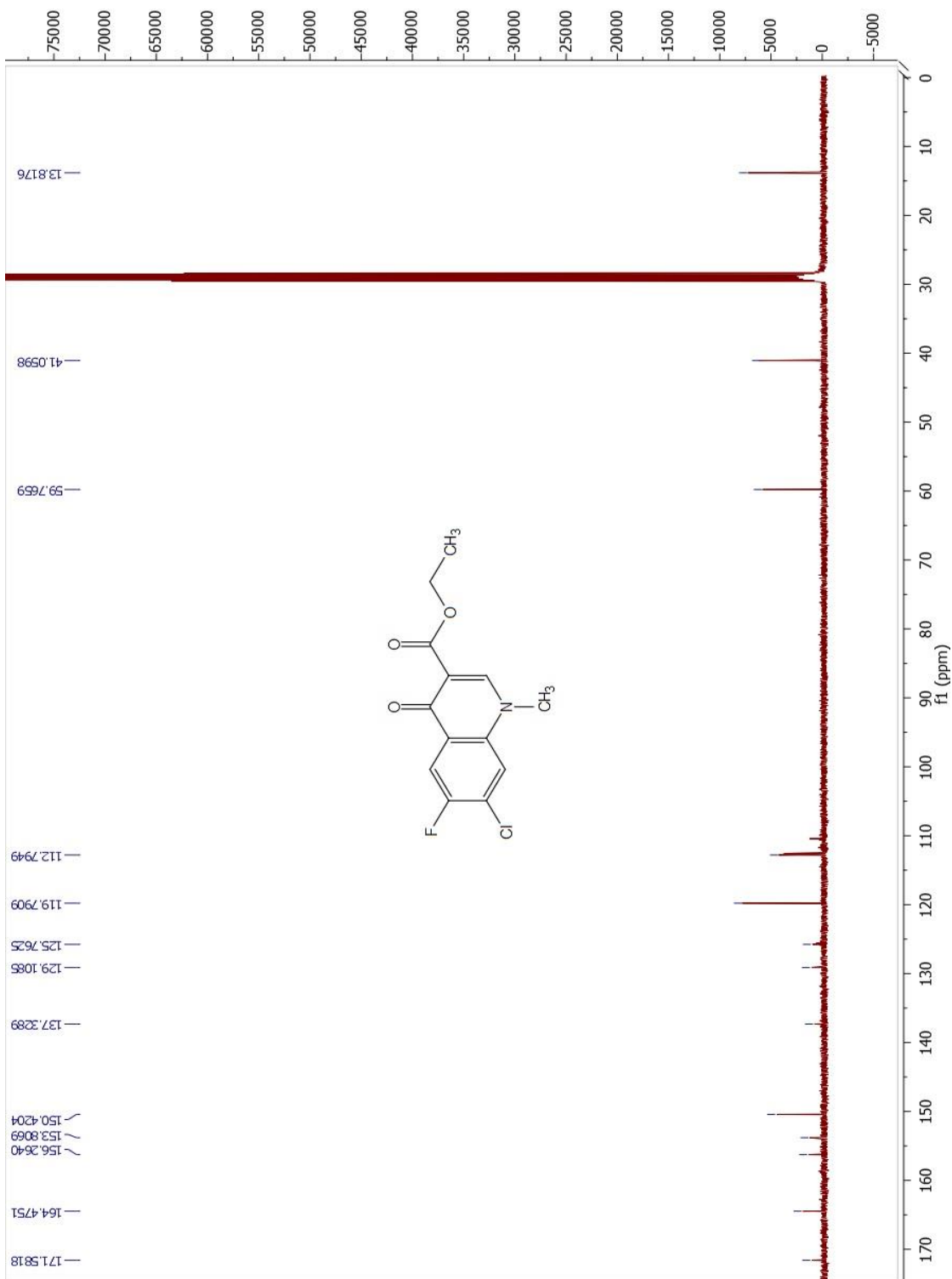
Espectro 58. RMN ^{13}C del 7-cloro-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidro-quinolin-3-carboxilato de etilo **140**



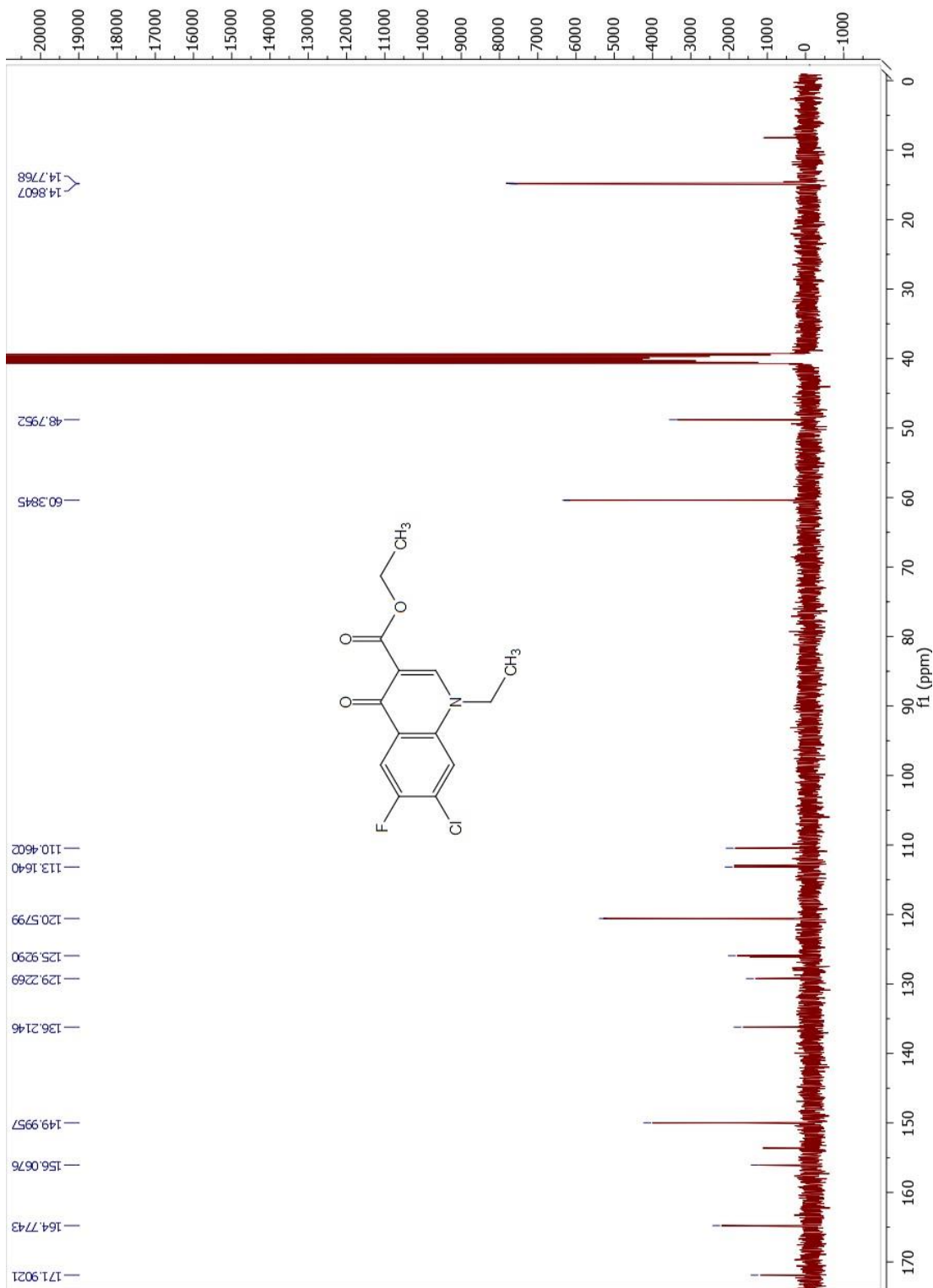
Espectro 59. RMN ¹³C del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **159**



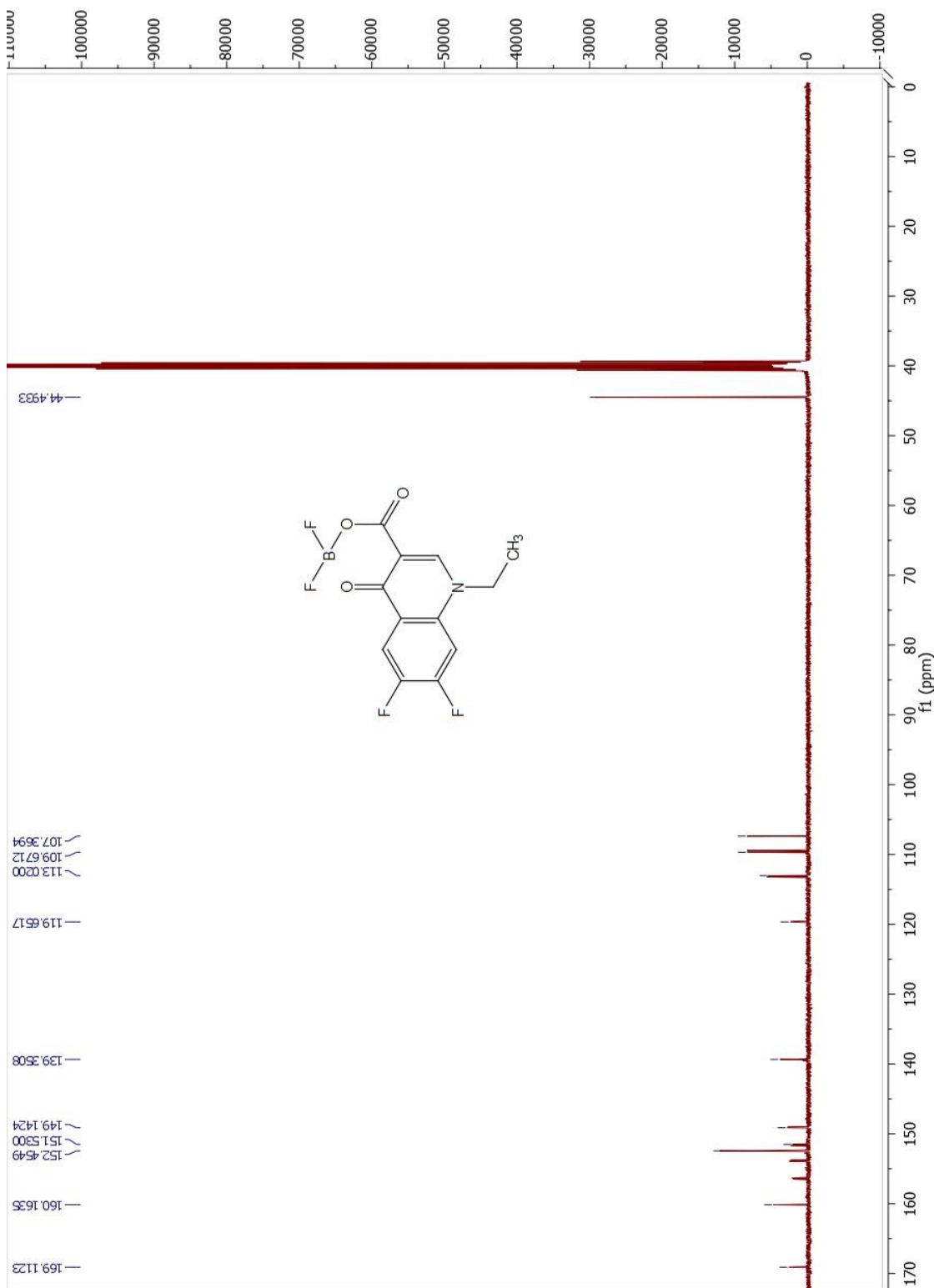
Espectro 60. RMN ¹³C del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **49**



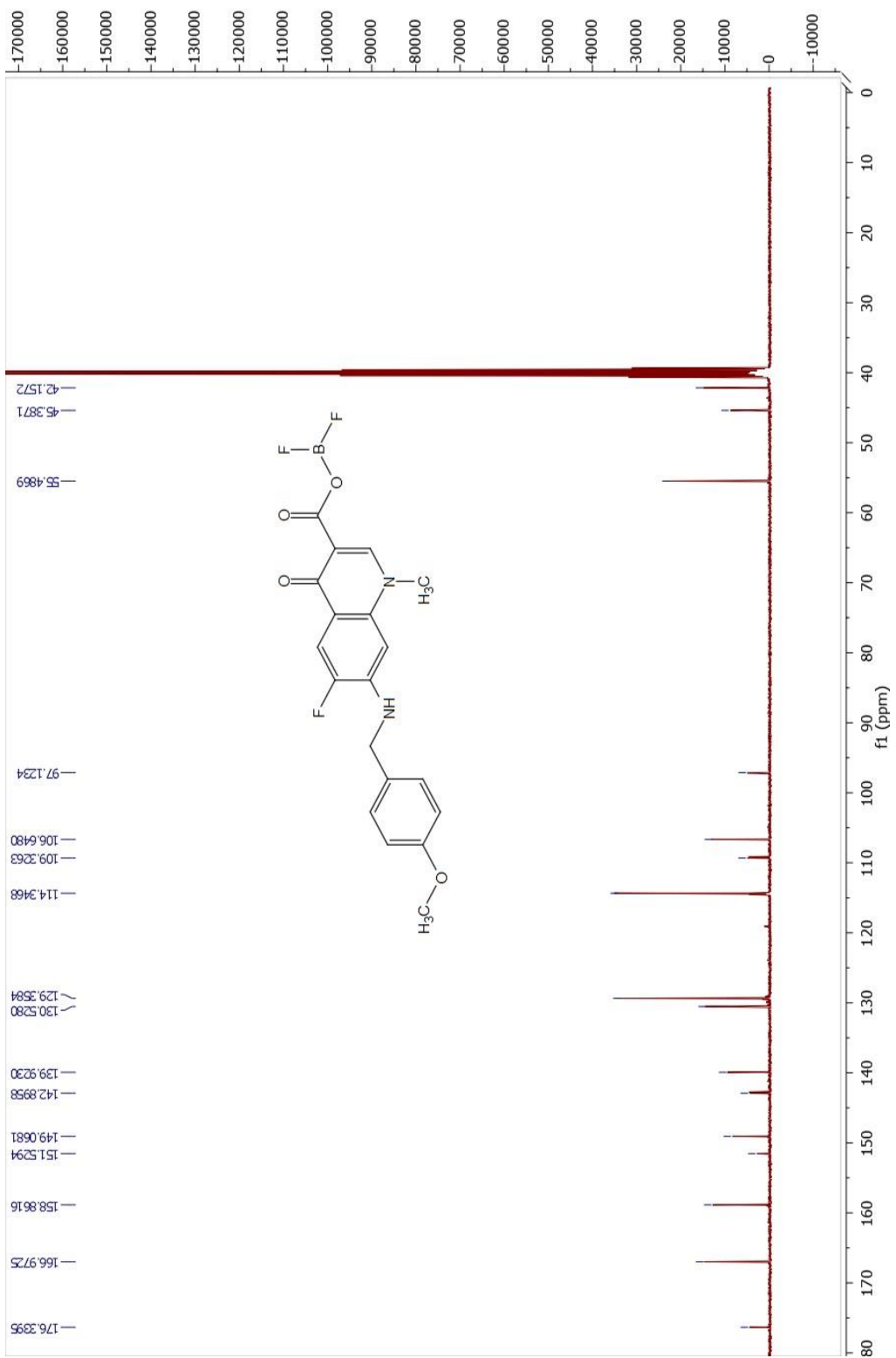
Espectro 61. RMN ¹³C del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **160**



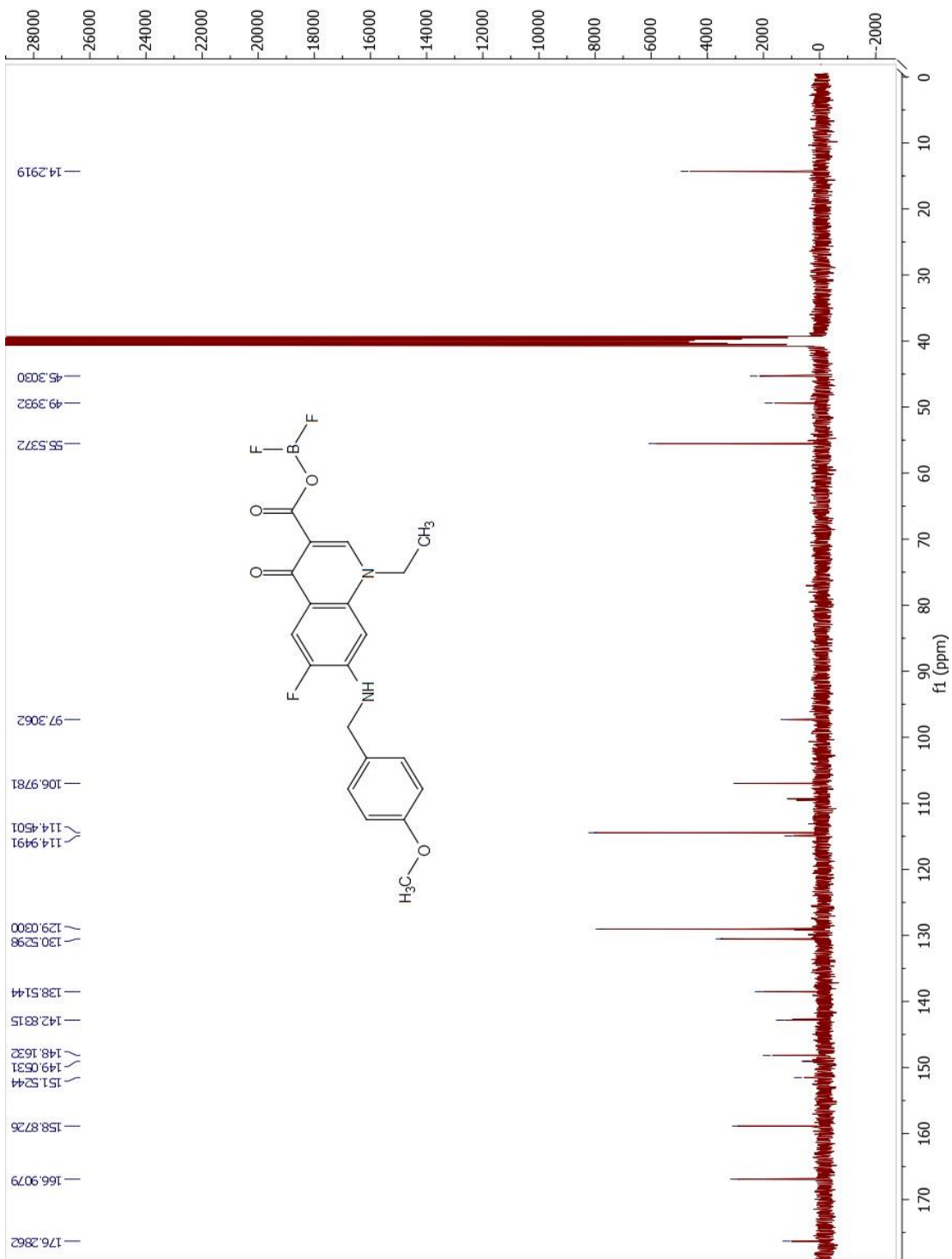
Espectro 62. RMN ^{13}C del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **161**



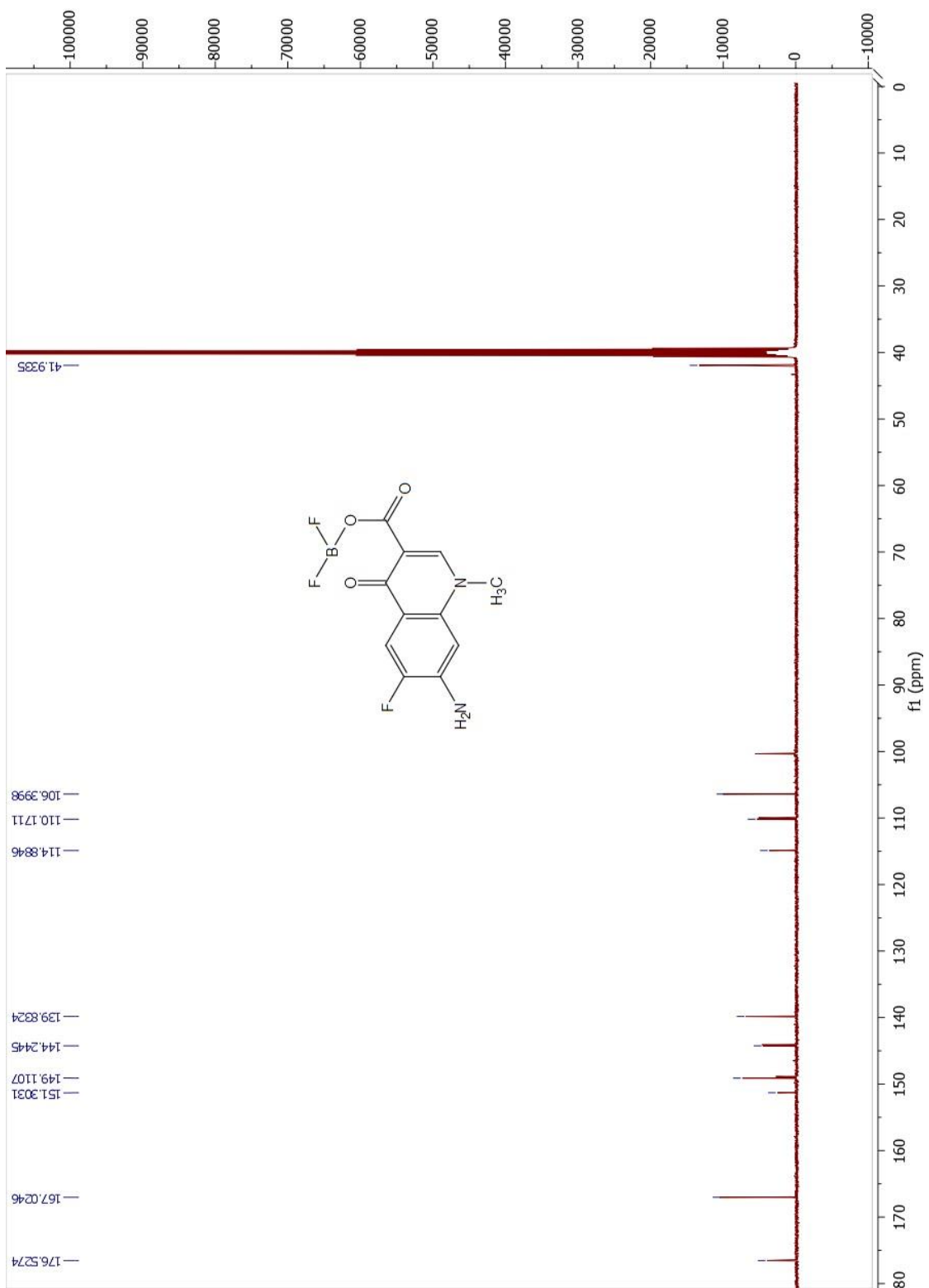
Espectro 63. RMN ^{13}C del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **50**



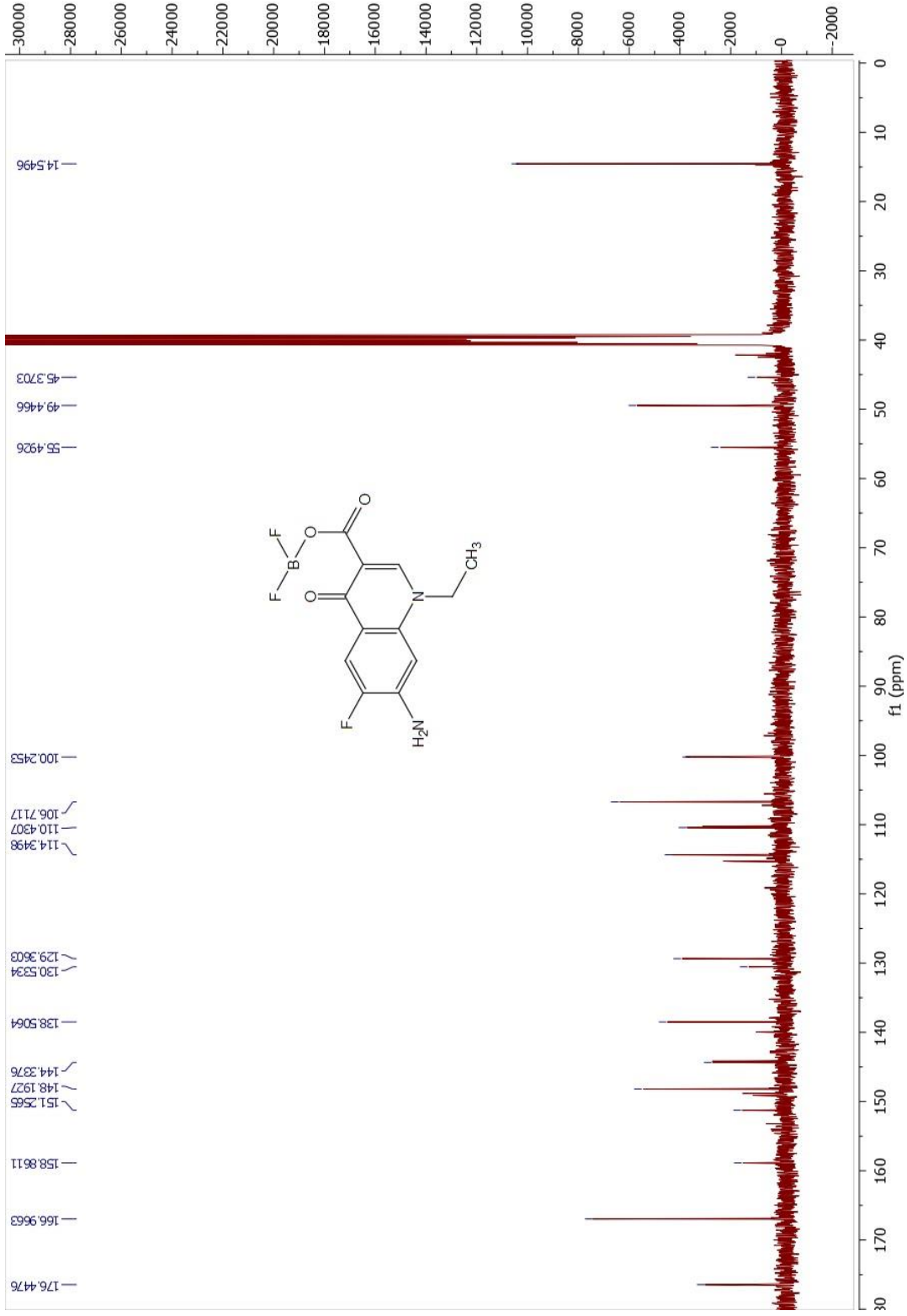
Espectro 64. RMN ¹³C del 6-fluoro-1-metil-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **165**



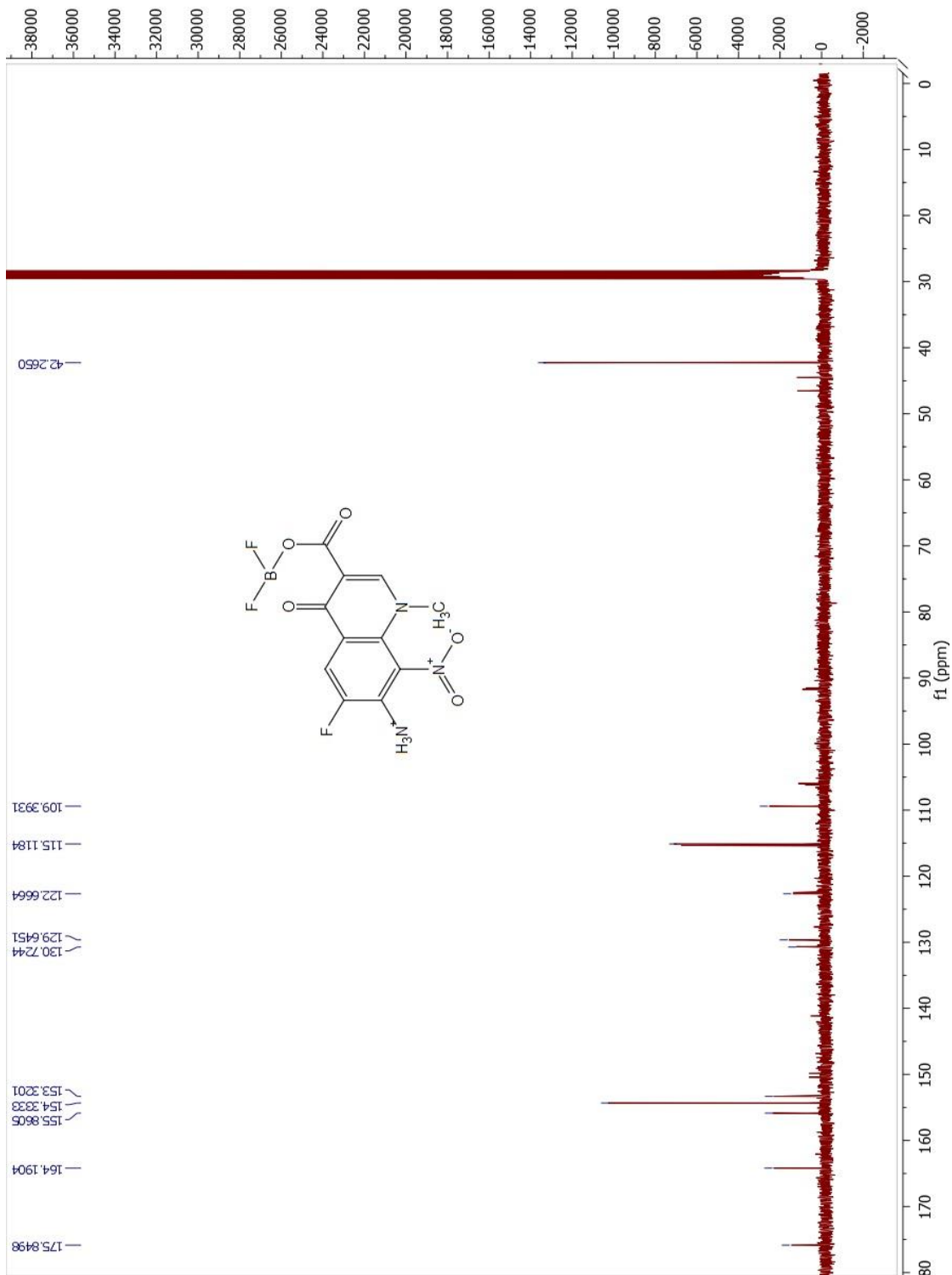
Espectro 65. RMN ¹³C del 1-etil-6-fluoro-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de



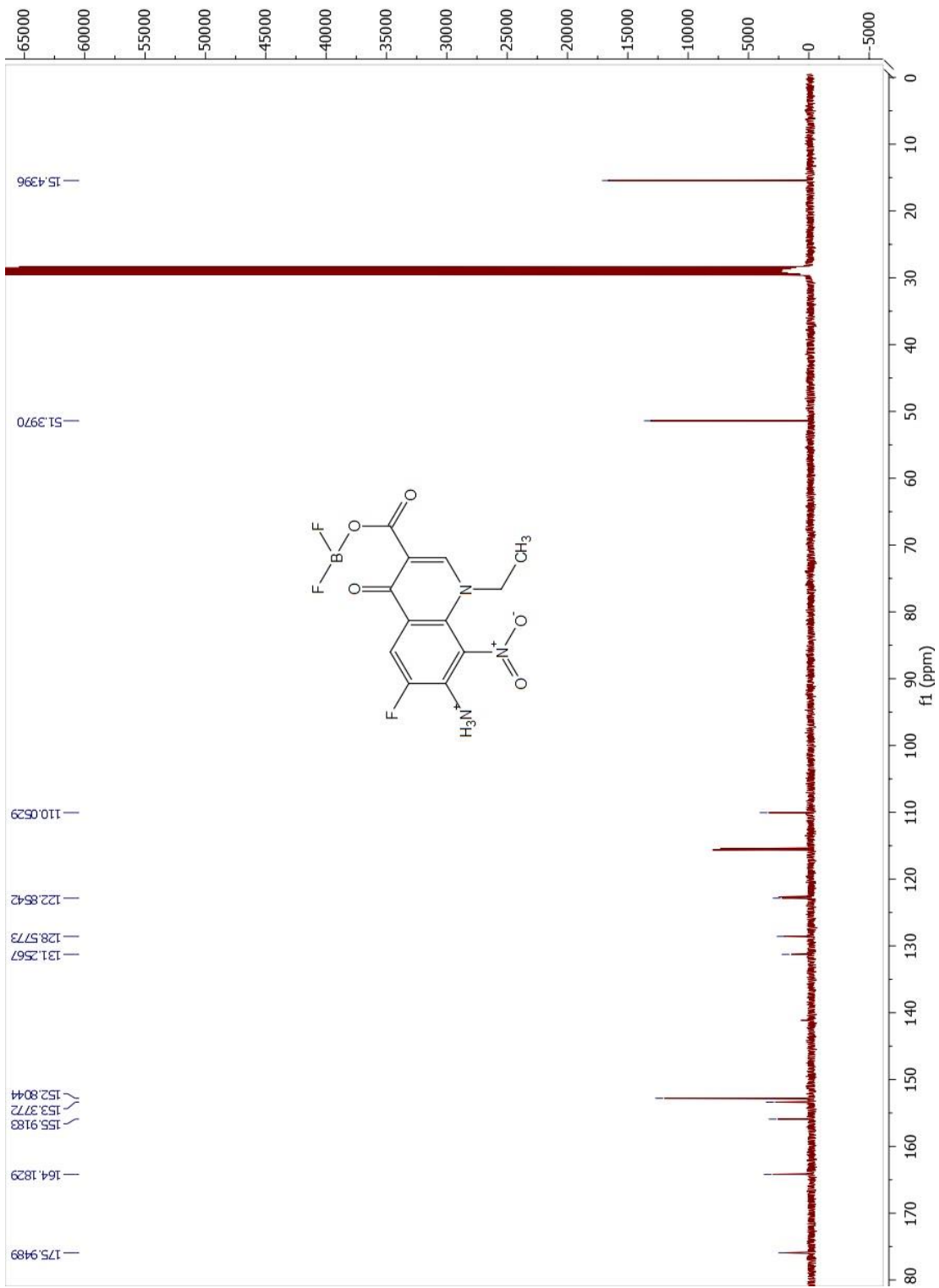
Espectro 66. RMN ^{13}C del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **167**



Espectro 67. RMN ¹³C del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **168**

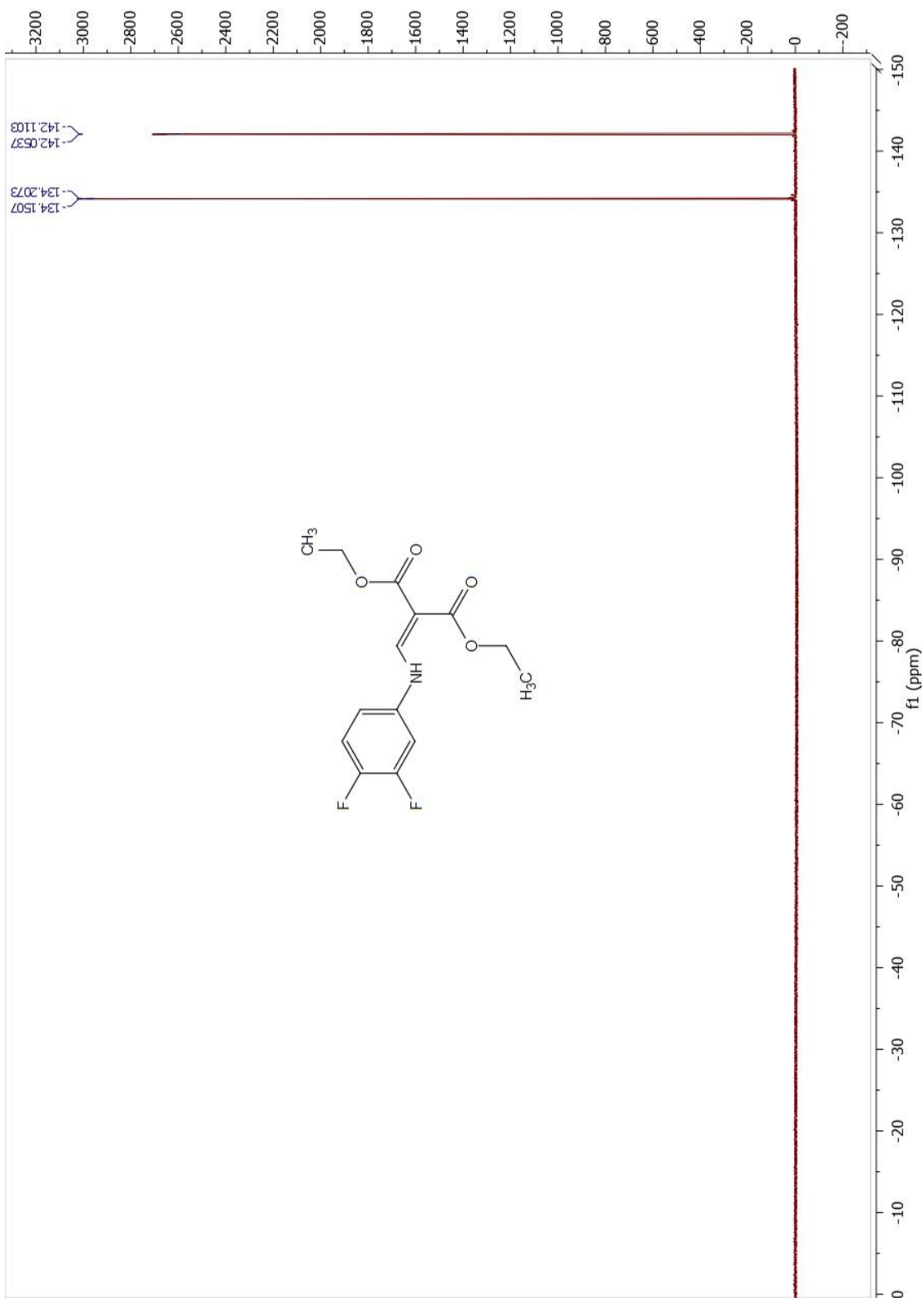


Espectro 68. RMN ^{13}C del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **169**

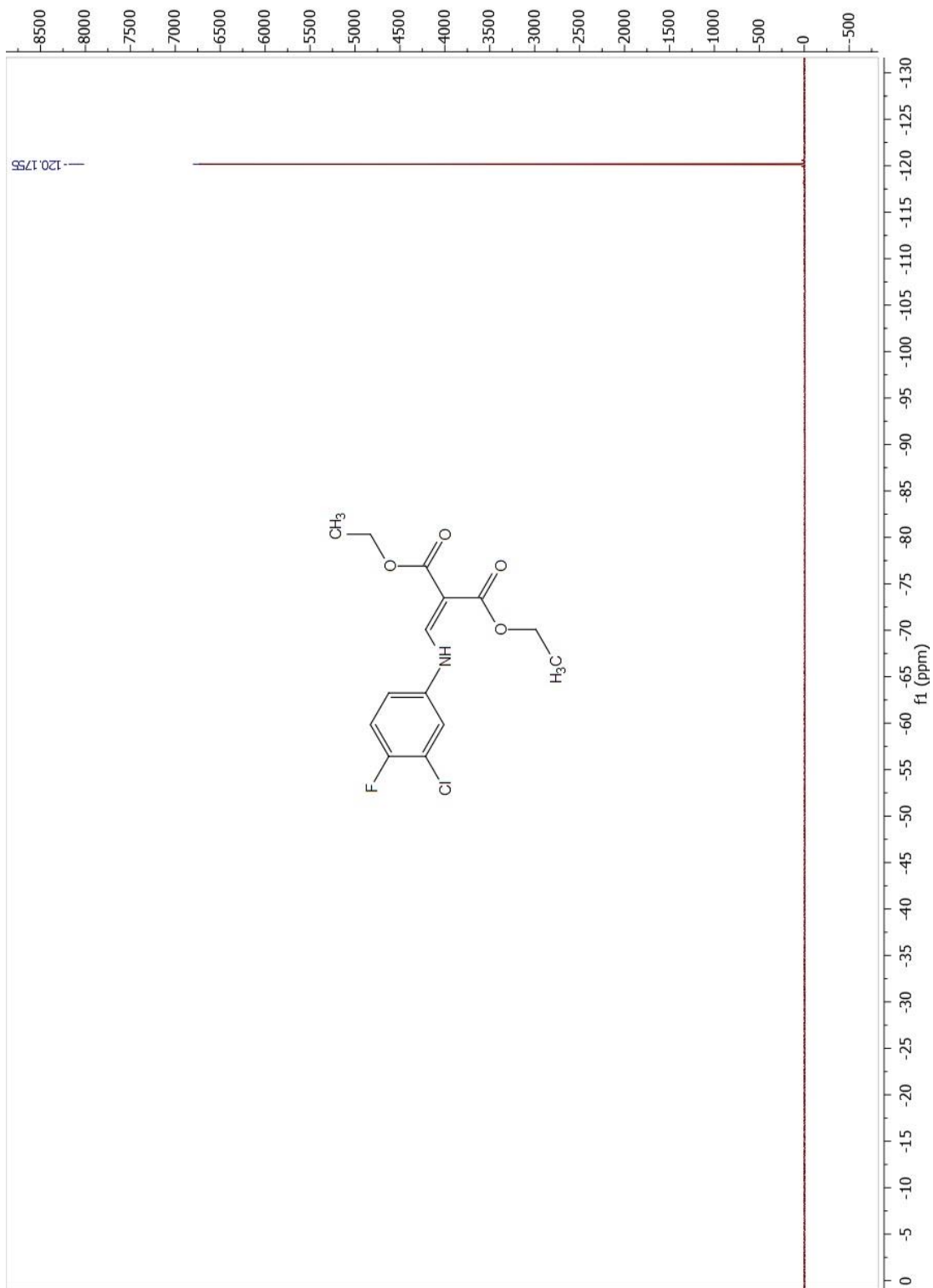


Espectro 69. RMN ^{13}C del 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **170**

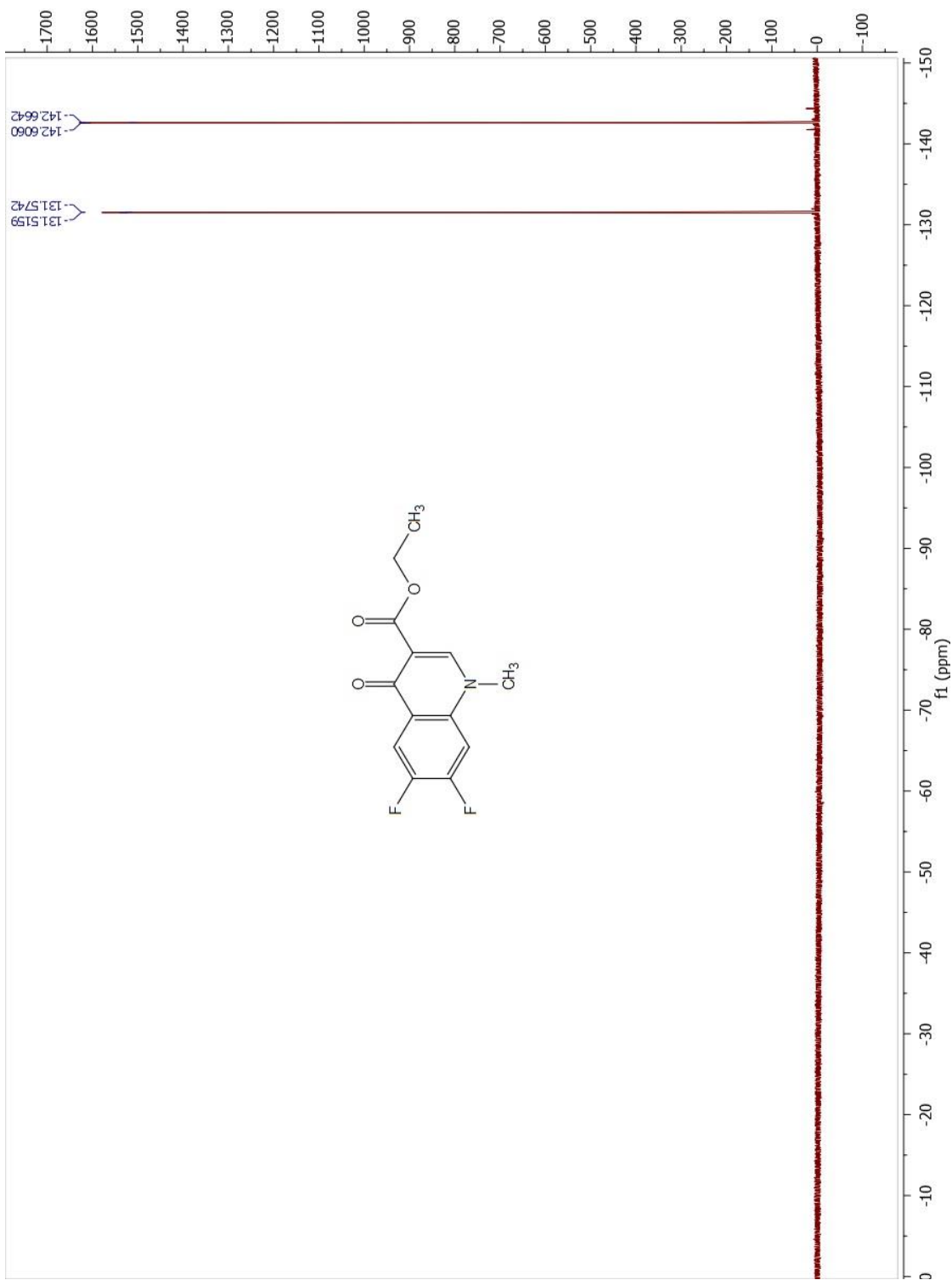
15. APÉNDICE E
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{19}F



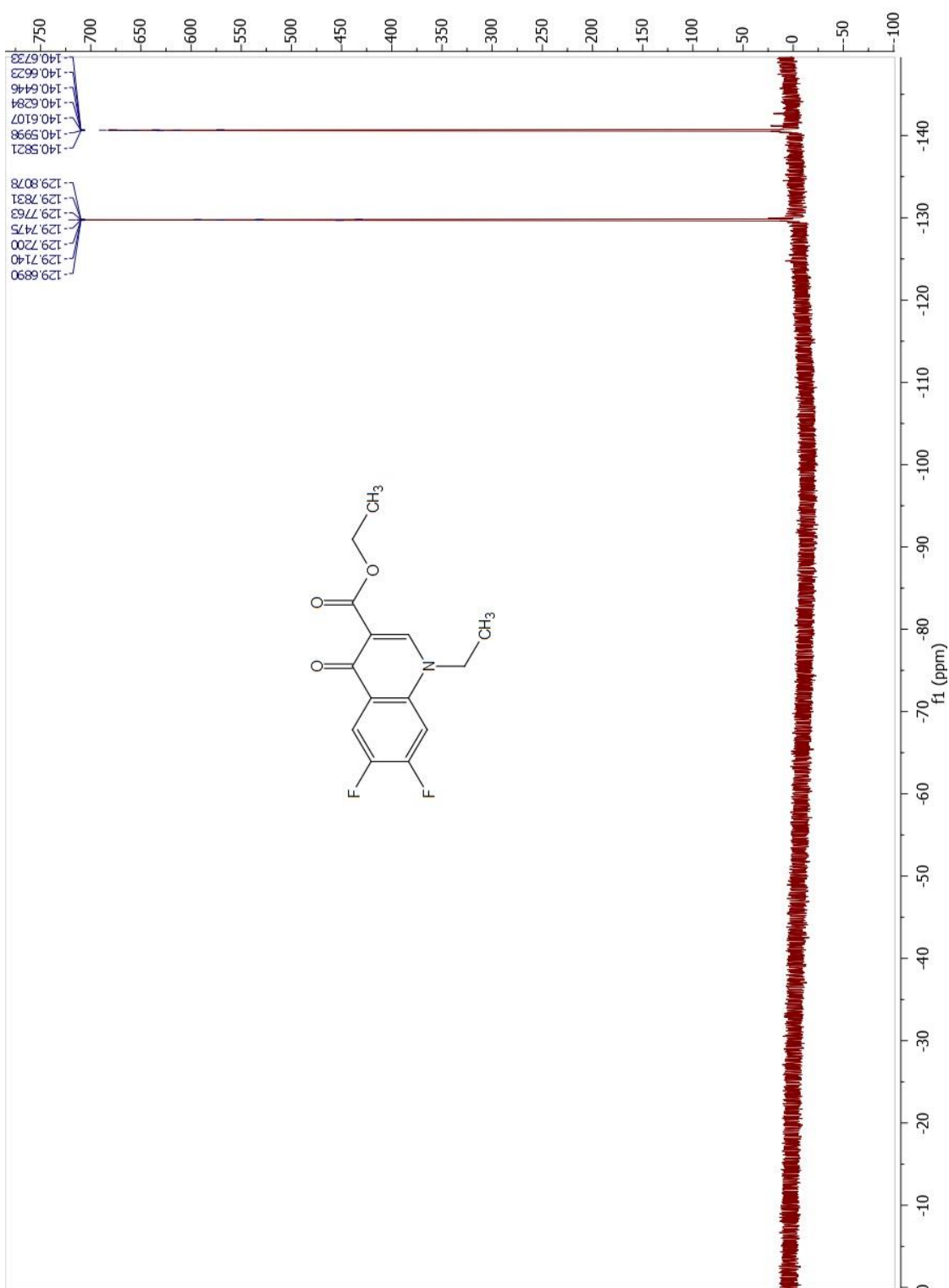
Espectro 70. RMN ^{19}F del 2-[(3,4-difluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo 47



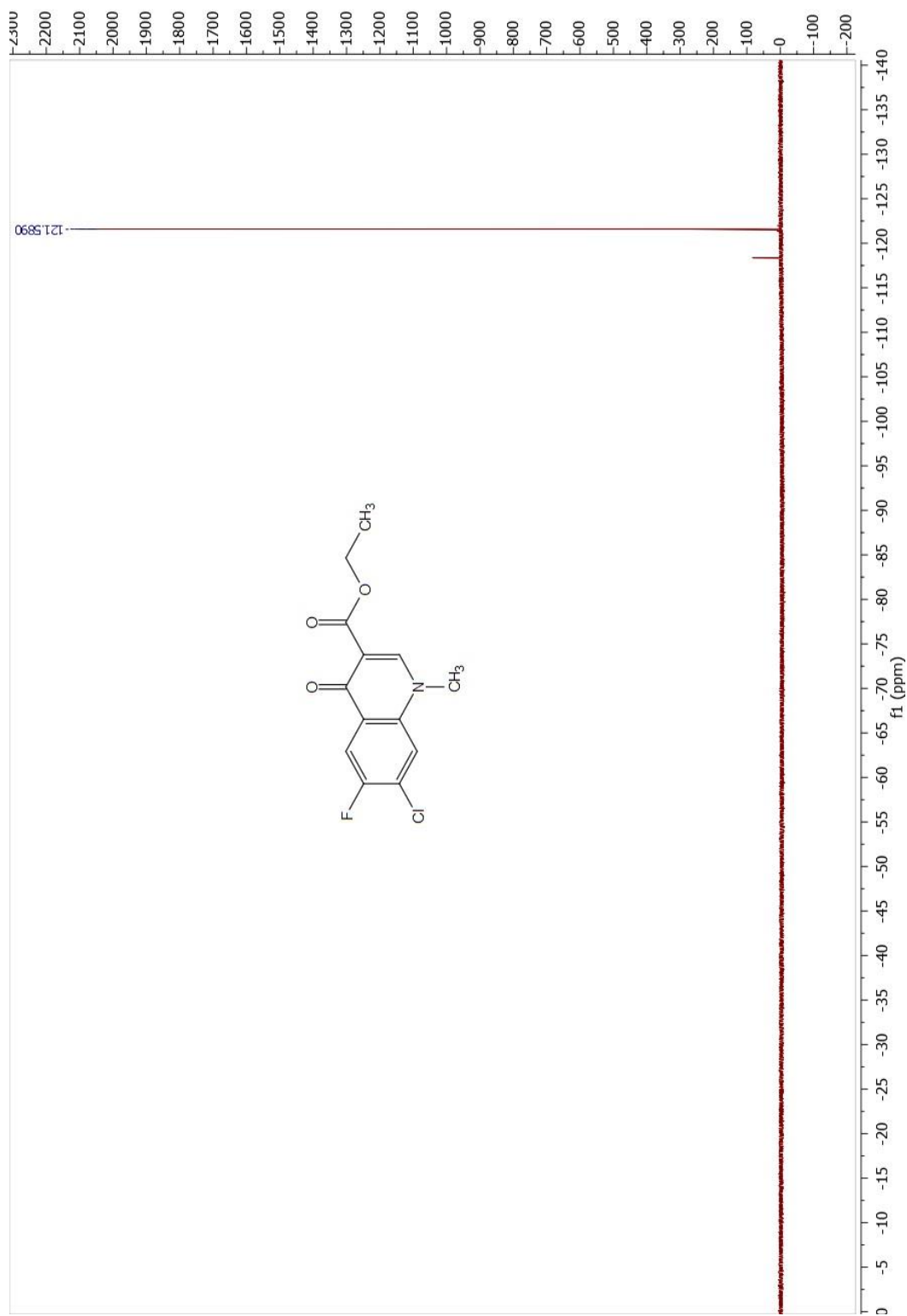
Espectro 71. RMN ^{19}F del 2-[(3-cloro-4-fluoro-fenilamino)-metilen]-malonato de dietilo **158**



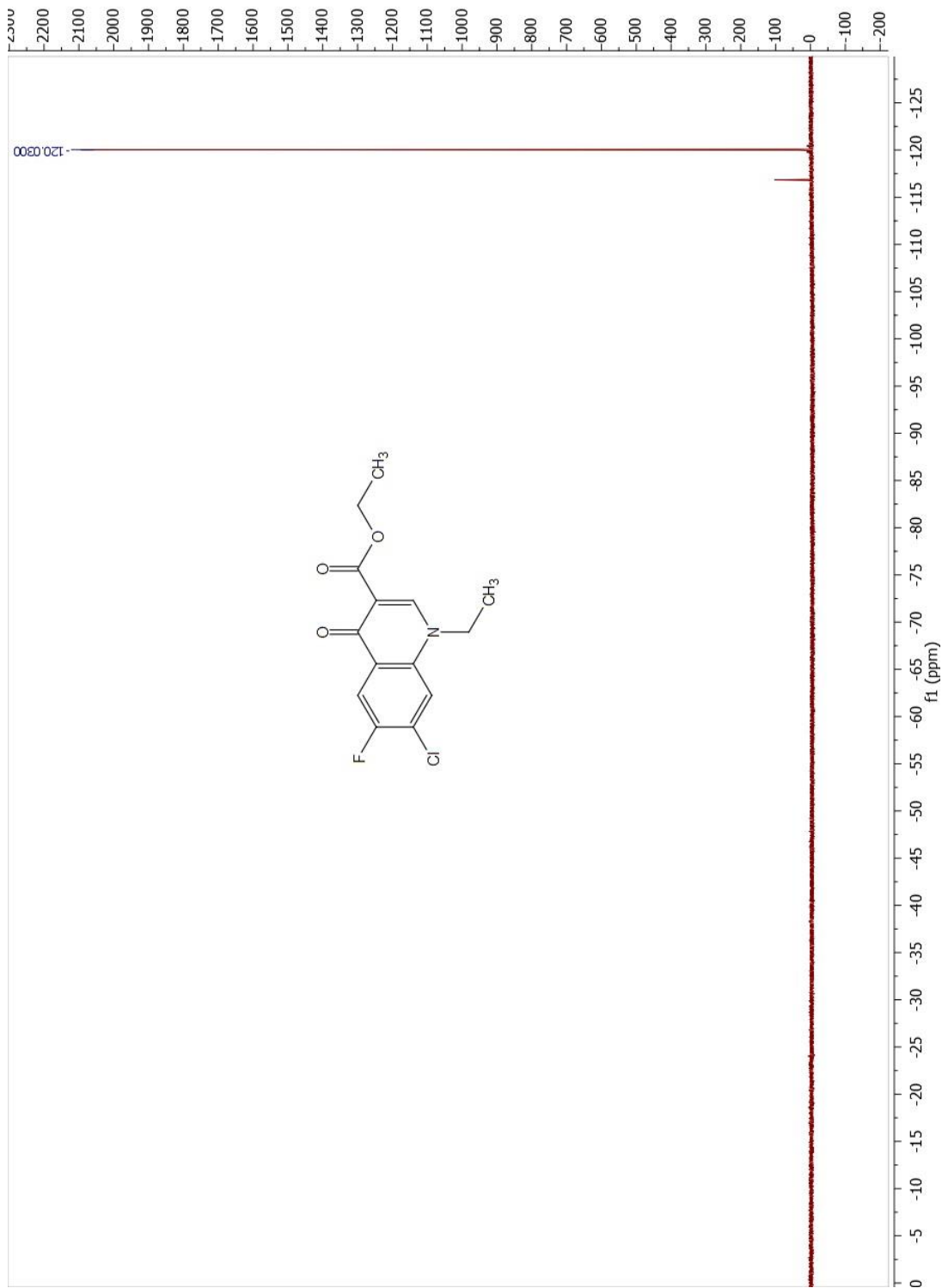
Espectro 72. RMN ^{19}F del 6,7-difluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **159**



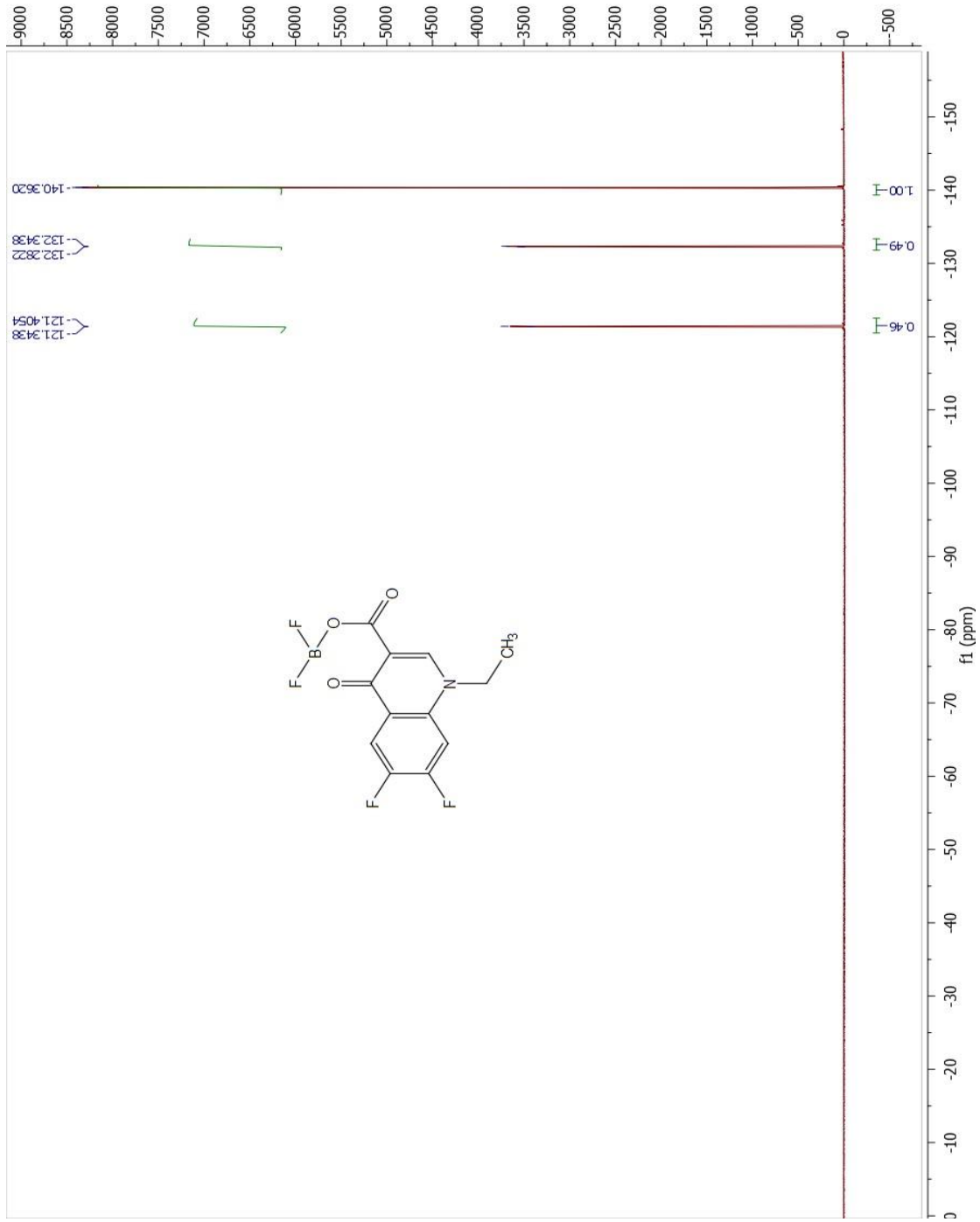
Espectro 73. RMN ^{19}F del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **49**



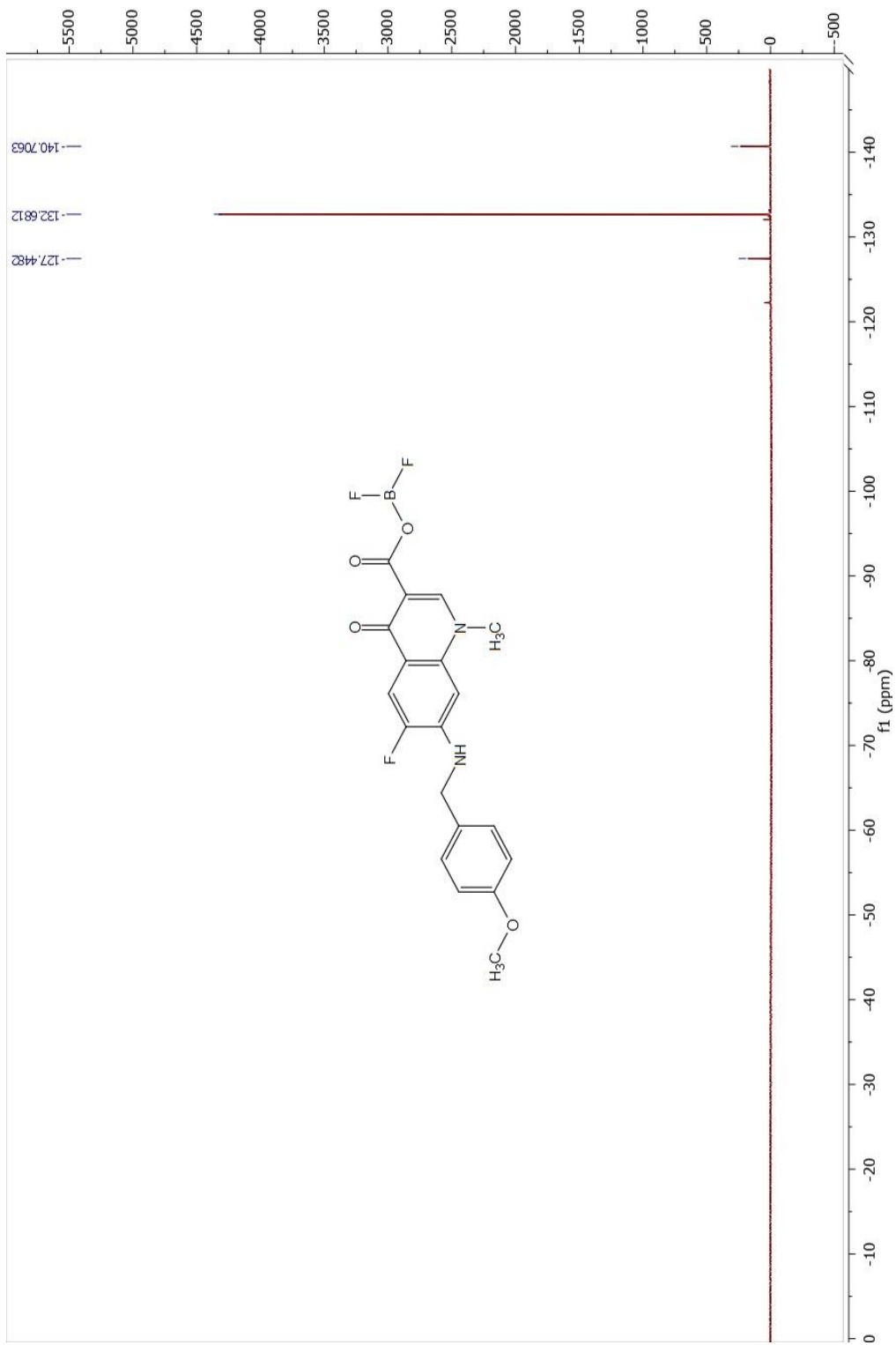
Espectro 73.- RMN ^{19}F del 1-etil-6,7-difluoro-1,4- **Espectro 74.-** RMN ^{19}F del 7-cloro-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **160**



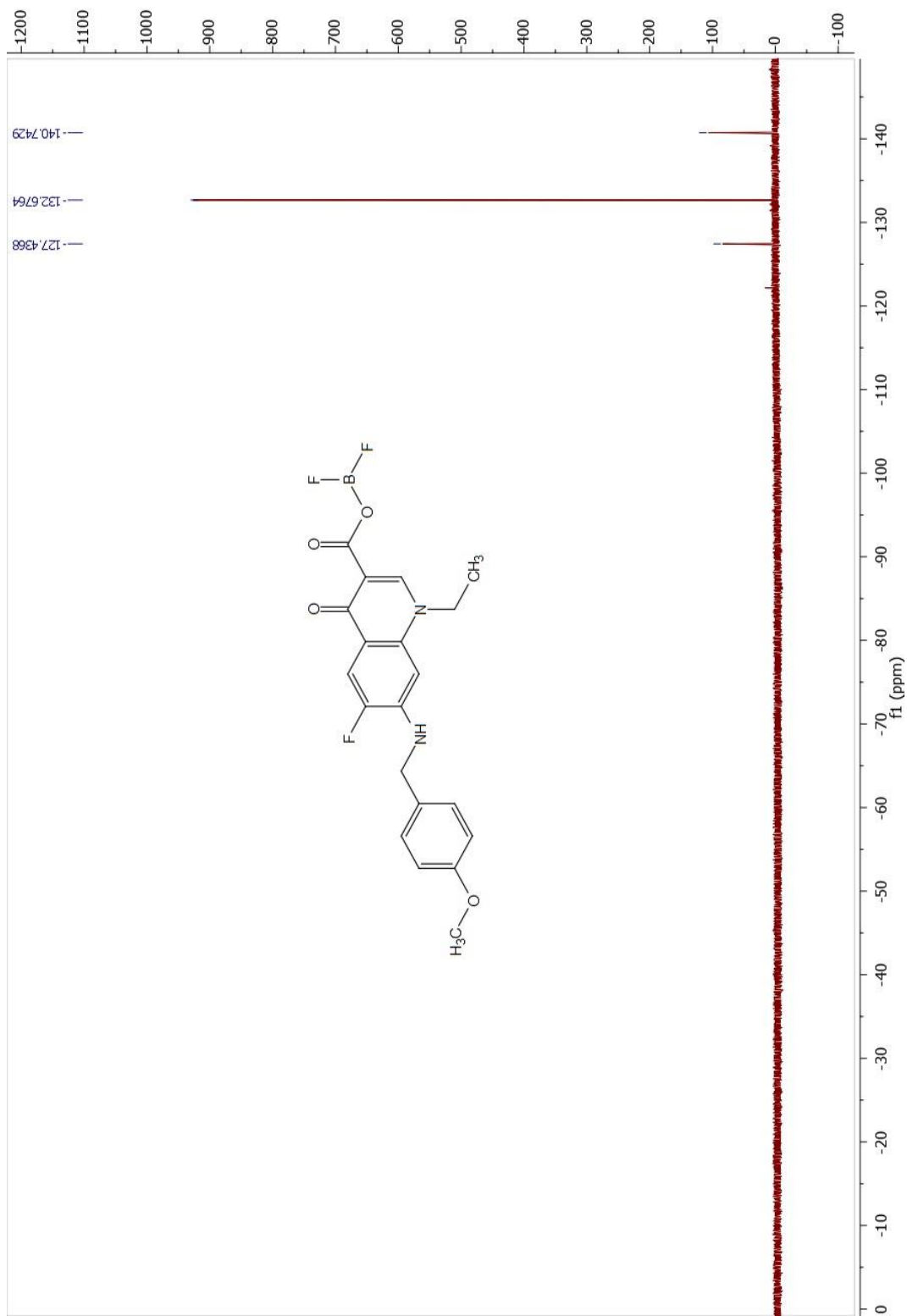
Espectro 75. RMN ^{19}F del 7-cloro-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de etilo **161**



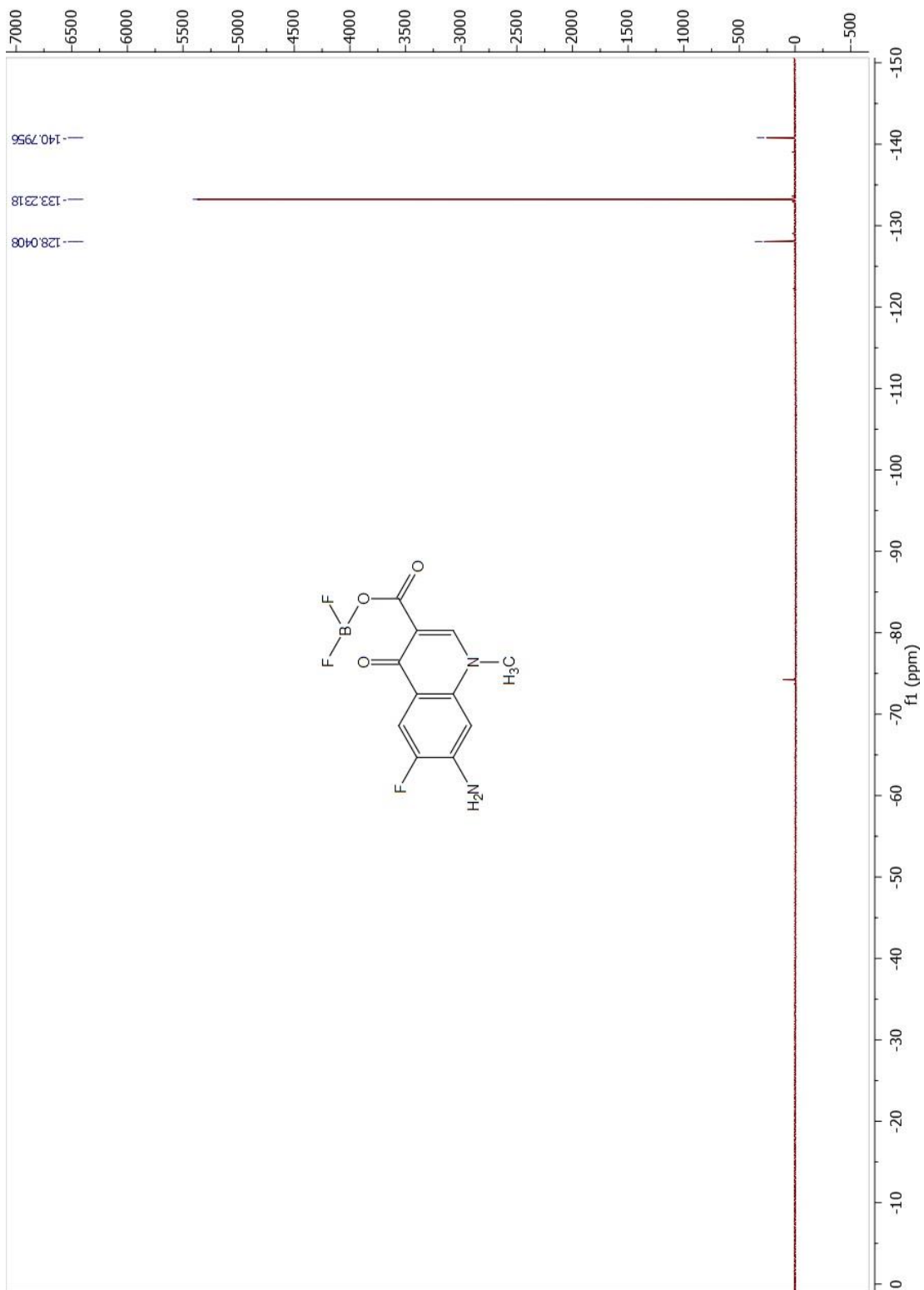
Espectro 76. RMN ¹⁹F del 1-etil-6,7-difluoro-1,4-dihidro-4-oxo-quinolin-3-carboxilato de difluorborilo **50**



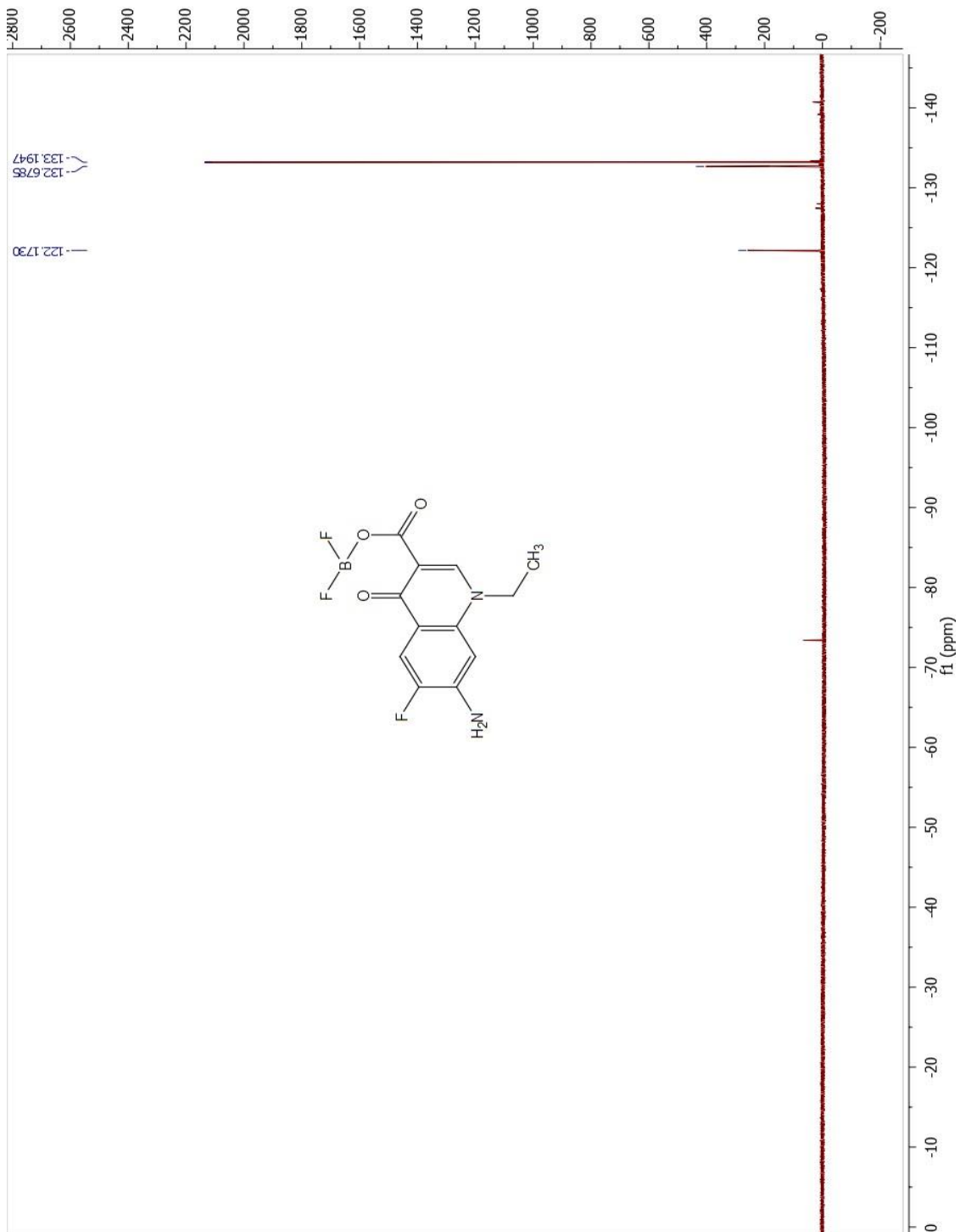
Espectro 77. RMN ¹⁹F del 6-fluoro-1-metil-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **165**



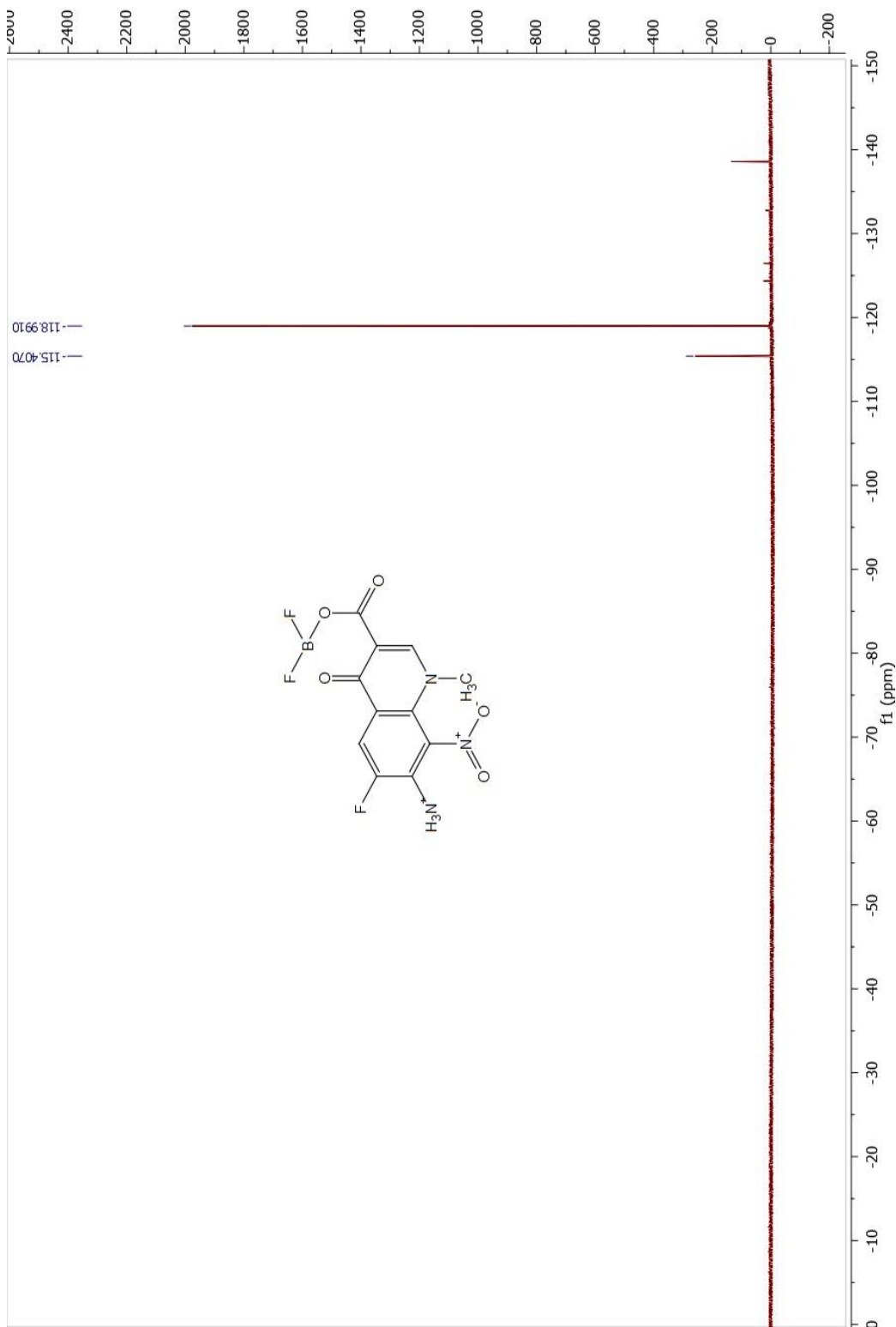
Espectro 78. RMN ¹⁹F del 1-etil-6-fluoro-7-(*para*-metoxibencil-amino)-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **166**



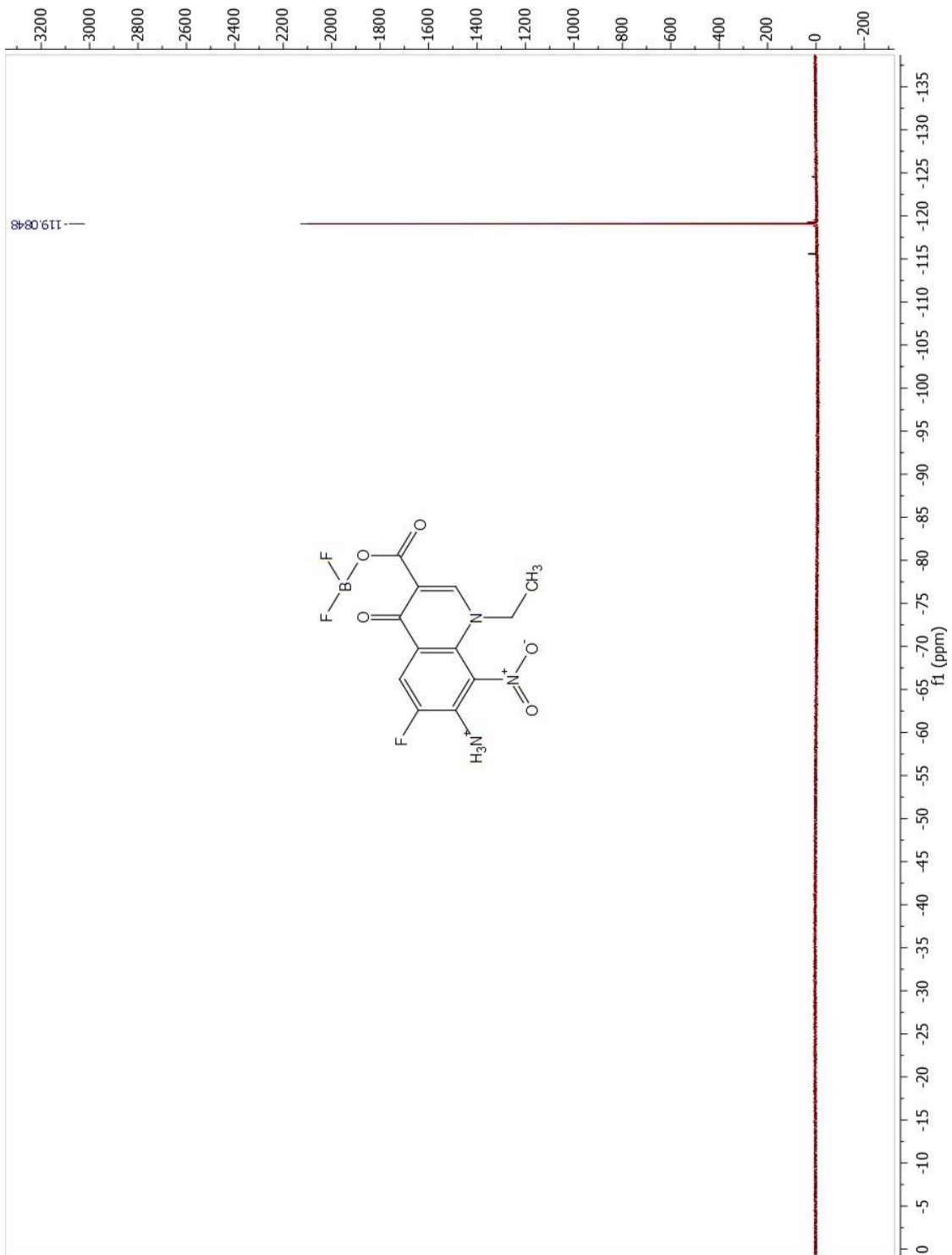
Espectro 79. RMN ^{19}F del 7-amino-6-fluoro-1-metil-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **167**



Espectro 80. RMN ^{19}F del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **168**



Espectro 80. RMN ¹⁹F del 7-amino-1-etil-6-fluoro-1,4- **Espectro 81.**- RMN ¹⁹F del 7-amino-6-fluoro-1-metil-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **169**



Espectro 82. RMN ^{19}F del de 7-amino-1-etil-6-fluoro-8-nitro-1,4-dihidro-4-oxoquinolin-3-carboxilato de difluoroborilo **170**

16. APÉNDICE F

Diagramas de interacción de los ligantes híbridos fluoroquinolona-bencimidazol (171a-j) con la topoisomerasa II de *M. tuberculosis* (PDB: 5BTL).

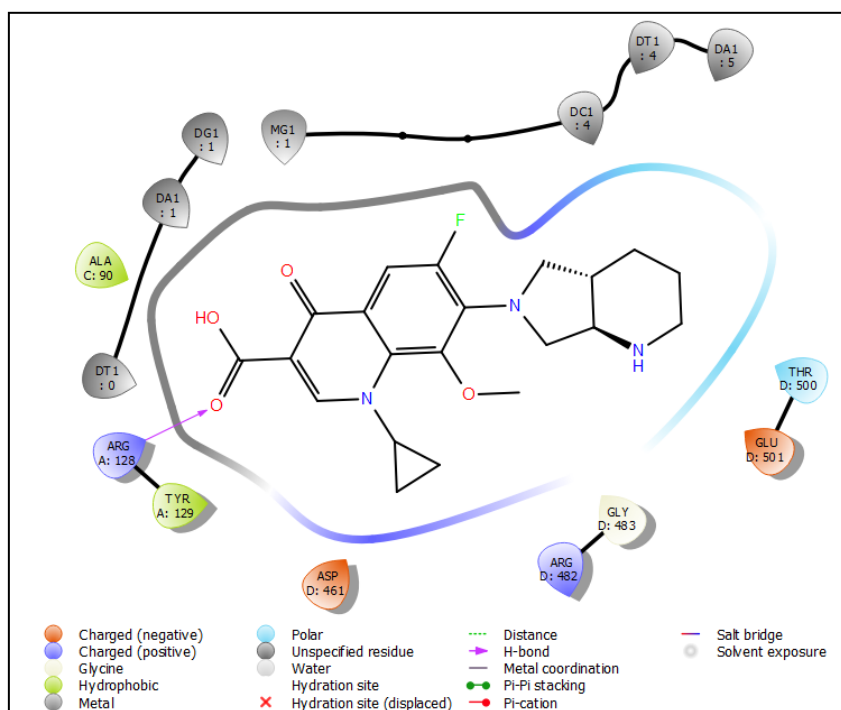


Figura 37. Representación 2D de la interacción de la moxifloxacina **23** con la enzima PDB:5BTL.

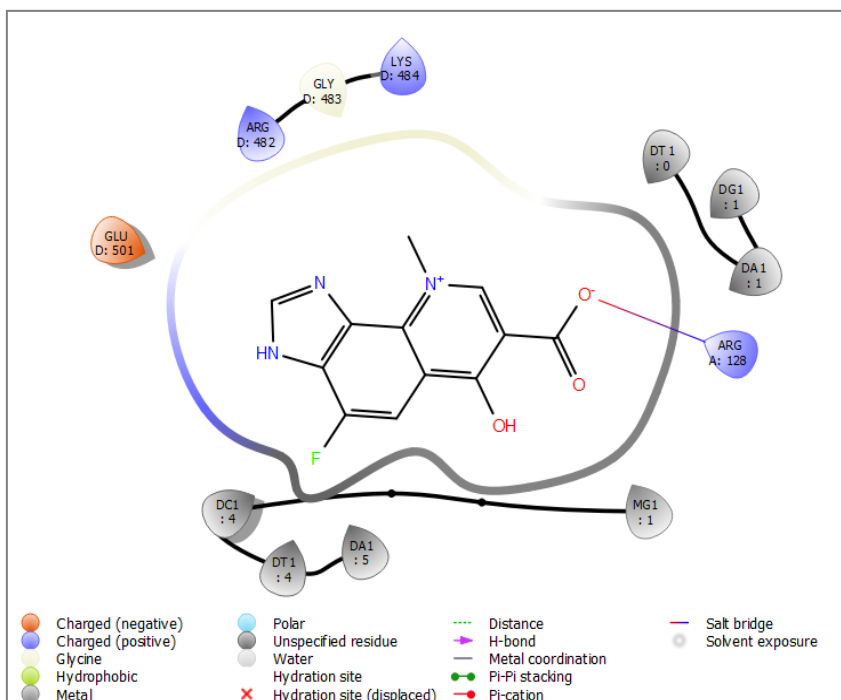


Figura 38. Representación 2D de la interacción del ligando **171-a** con la enzima PDB:5BTL.

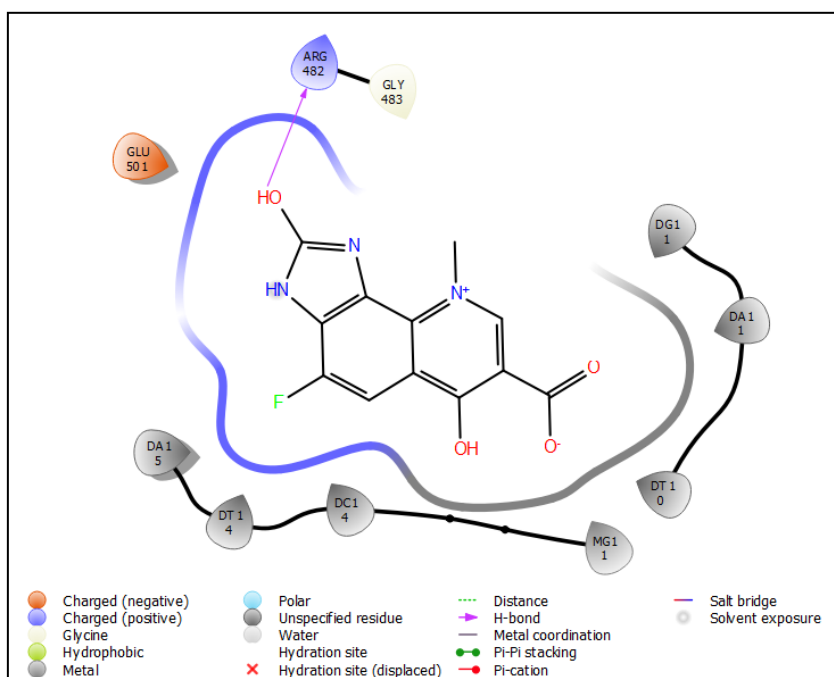


Figura 39. Representación 2D de la interacción del ligando **171-b** con la enzima PDB:5BTL.

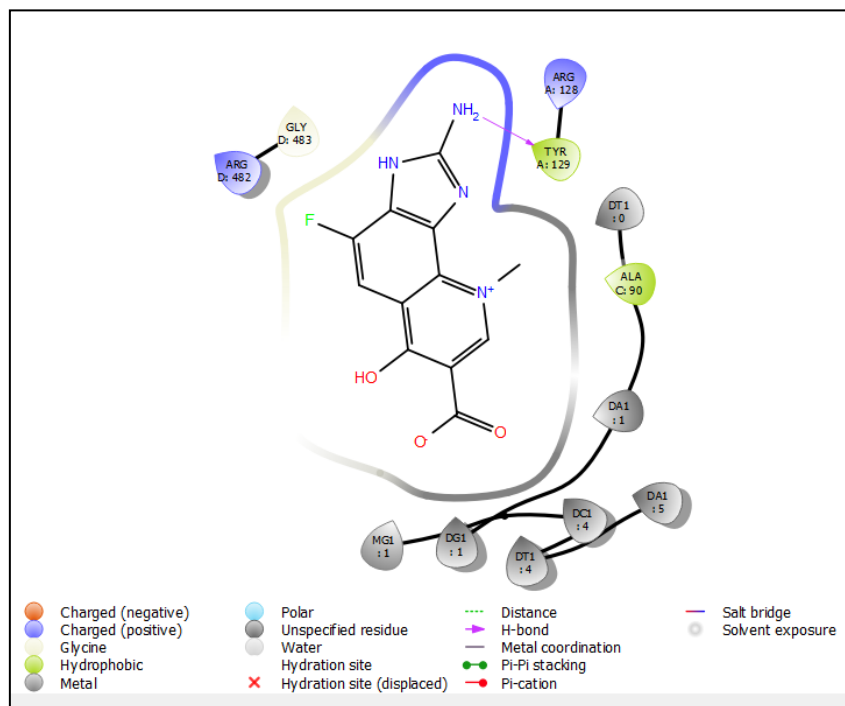


Figura 40. Representación 2D de la interacción del ligando **171-c** con la enzima PDB:5BTL.

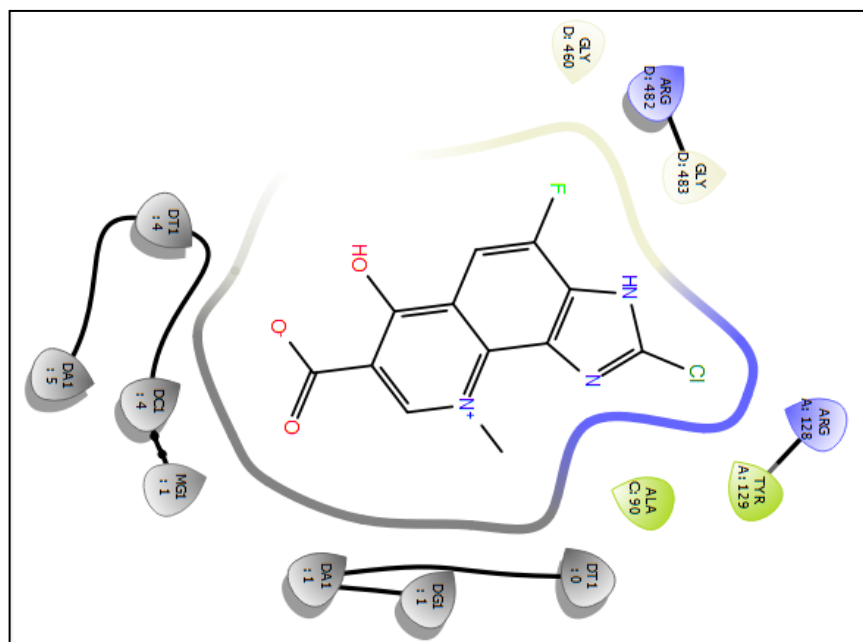


Figura 41. Representación 2D de la interacción del ligando **171-d** con la enzima PDB:5BTL.

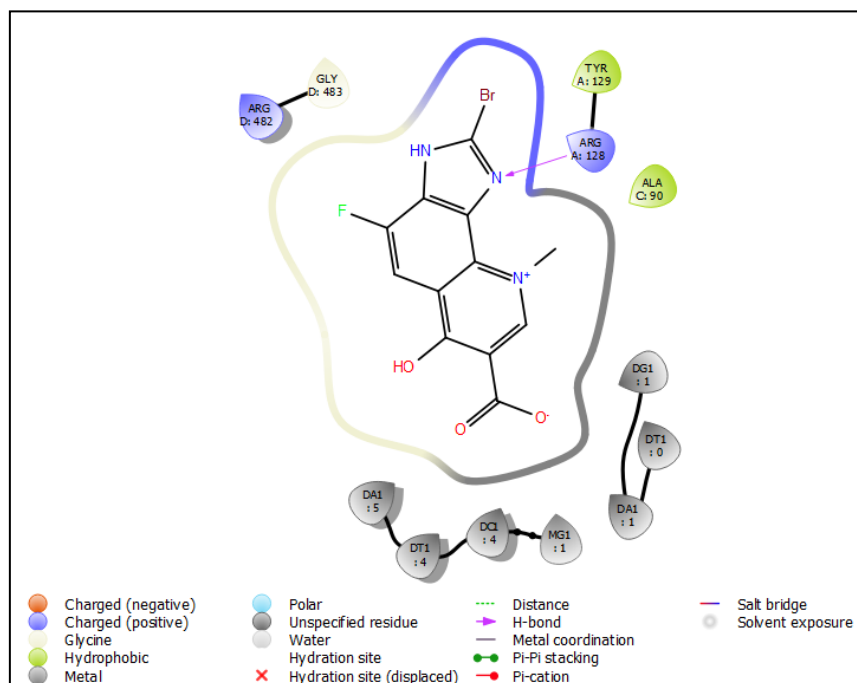


Figura 42. Representación 2D de la interacción del ligando **171-e** con la enzima PDB:5BTL.

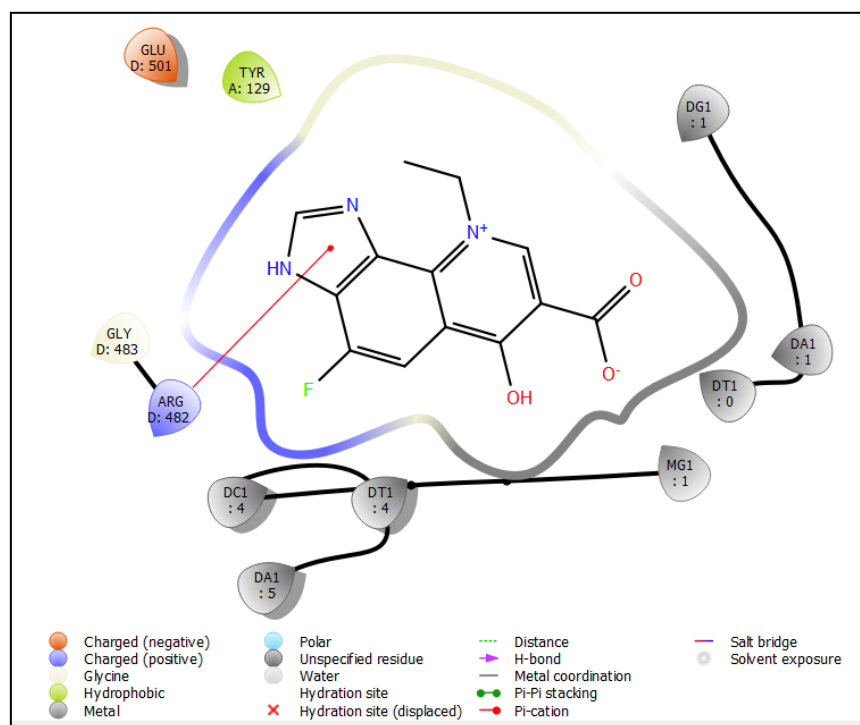


Figura 43. Representación 2D de la interacción del ligando **171-f** con la enzima PDB:5BTL.

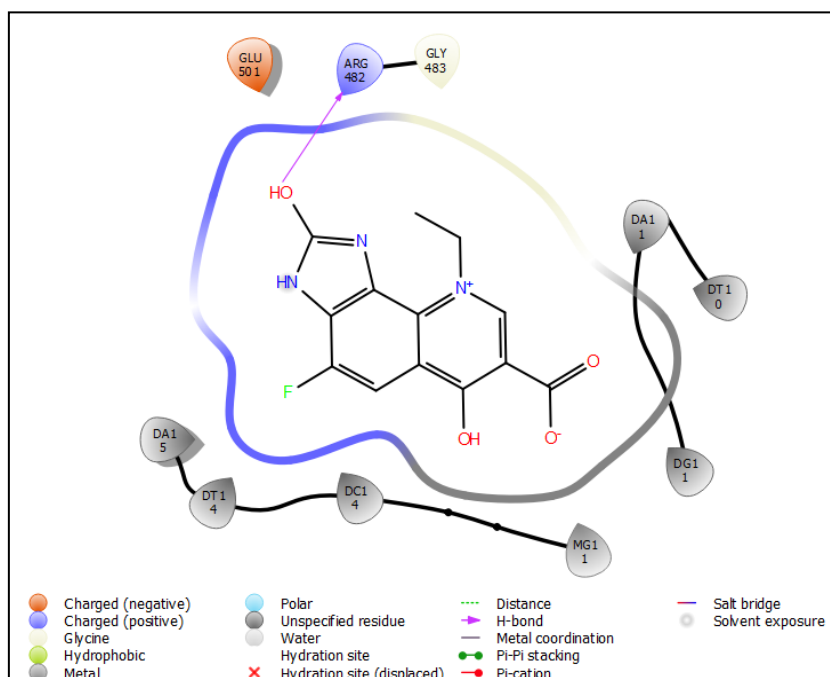


Figura 44. Representación 2D de la interacción del ligando **171-g** con la enzima PDB:5BTL.

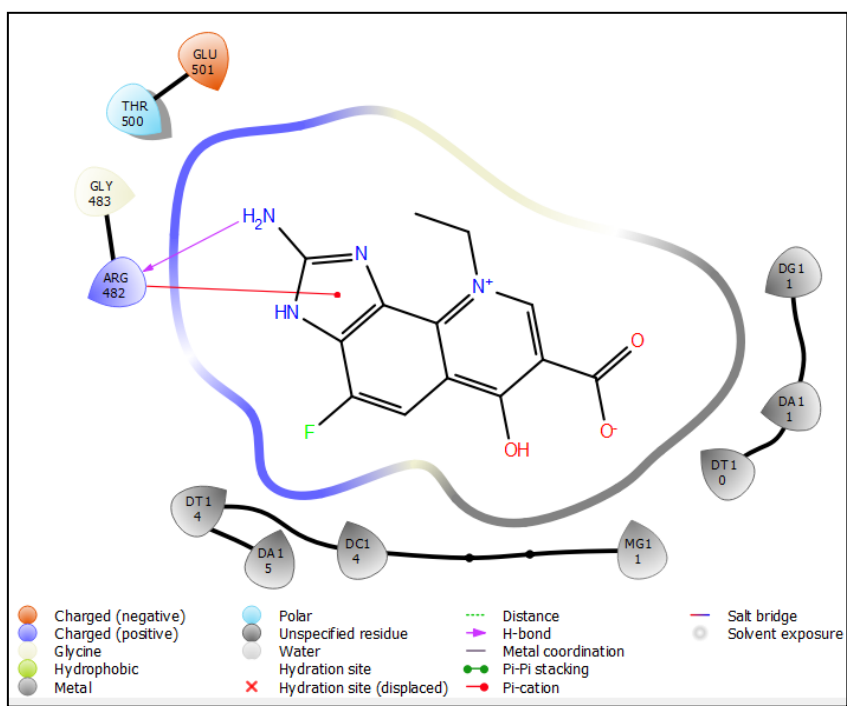


Figura 45. Representación 2D de la interacción del ligando **171-h** con la enzima PDB:5BTL.

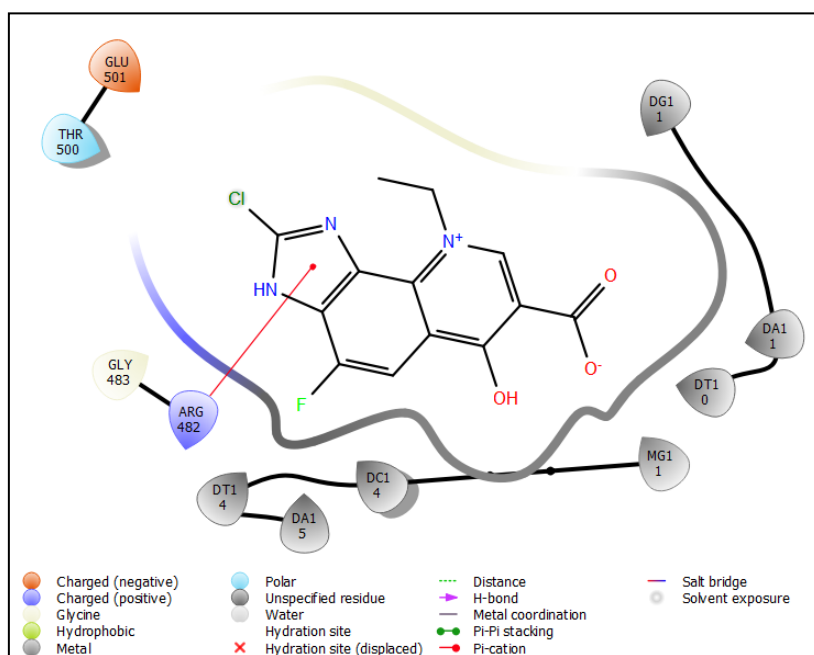


Figura 46. Representación 2D de la interacción del ligando **171-i** con la enzima PDB:5BTL.

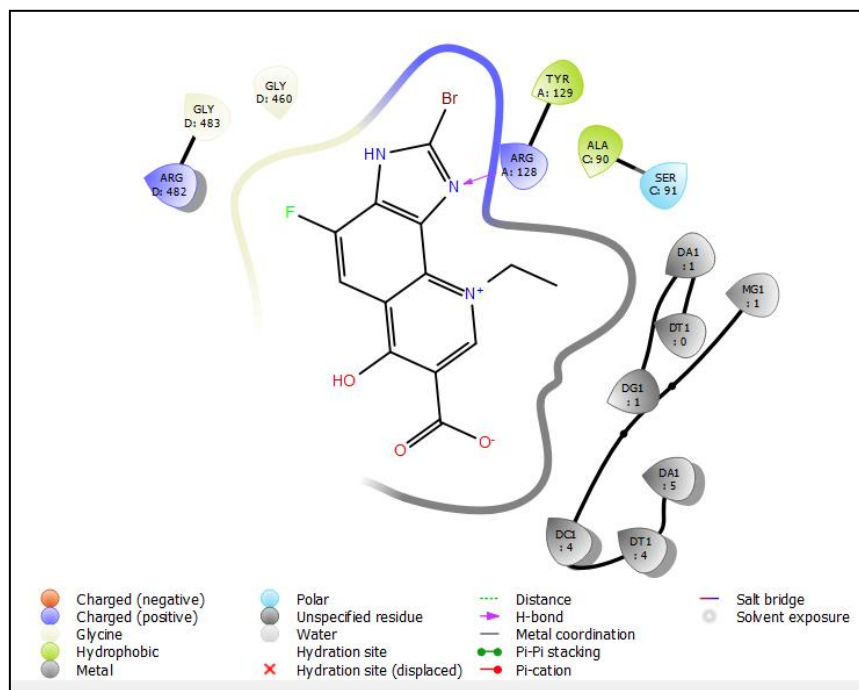


Figura 47. Representación 2D de la interacción del ligando 171-j con la enzima PDB:5BTL.

17. APÉNDICE G

Diagramas de interacción de los ligantes híbridos fluoroquinolona-bencimidazol (171a-j) con la topoisomerasa IIa humana (*PDB: 4FM9*).

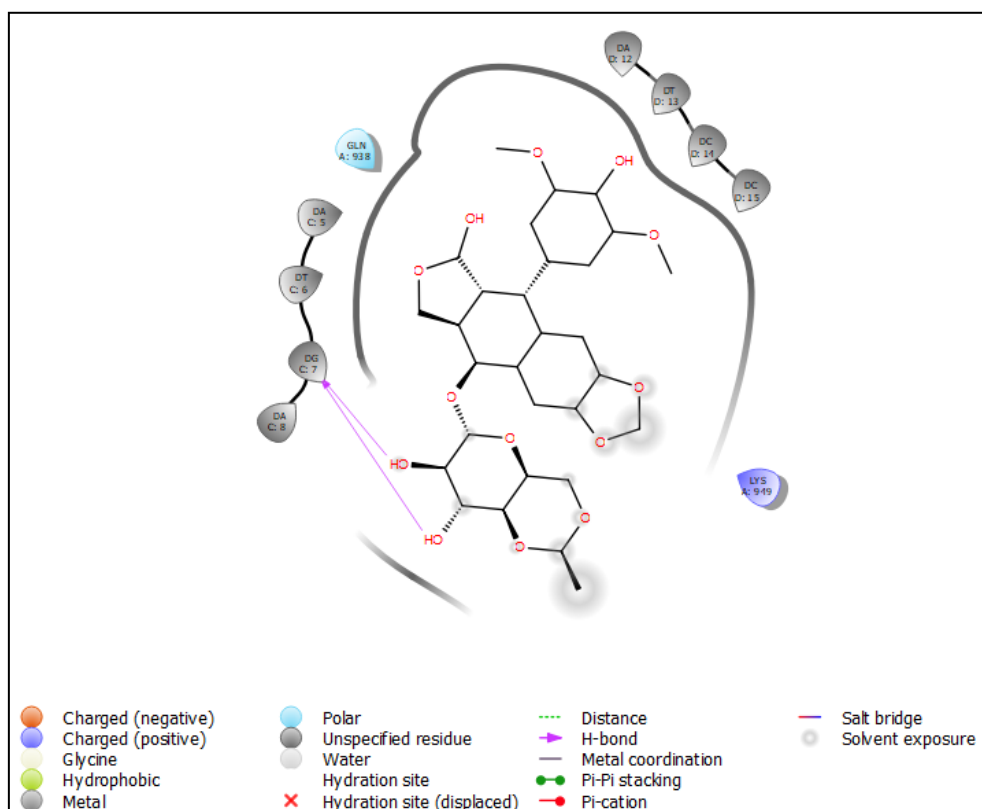


Figura 48. Representación 2D de la interacción del etopósido **172** con la enzima PDB:4FM9.

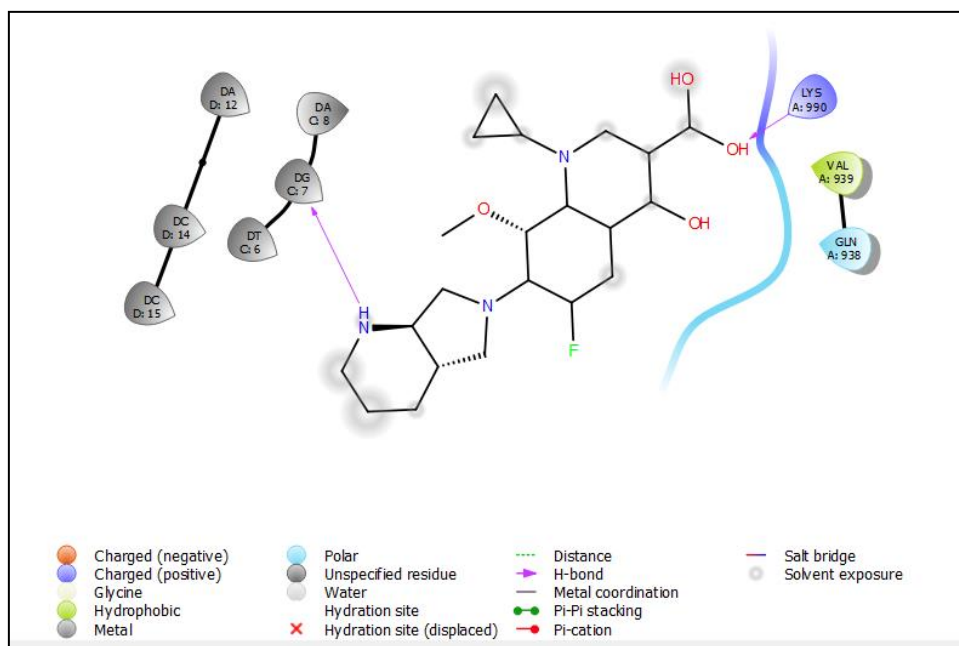


Figura 49. Representación 2D de la interacción de la moxifloxacina **23** con la enzima PDB:4FM9.

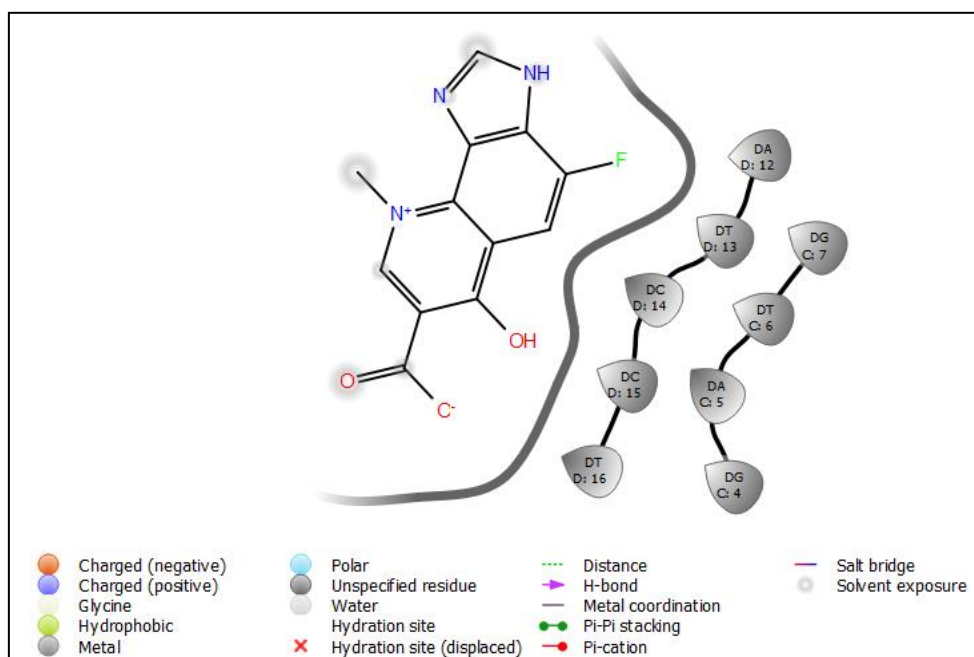


Figura 50. Representación 2D de la interacción del ligando **171-a** con la enzima PDB:4FM9.

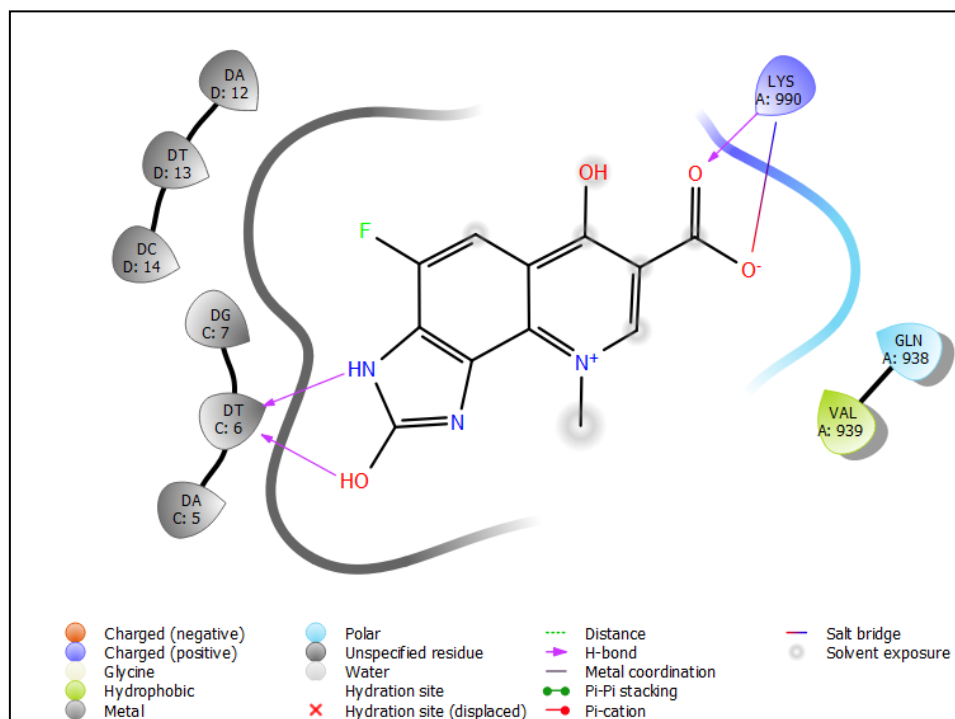


Figura 51. Representación 2D de la interacción del ligando **171-b** con la enzima PDB:4FM9.

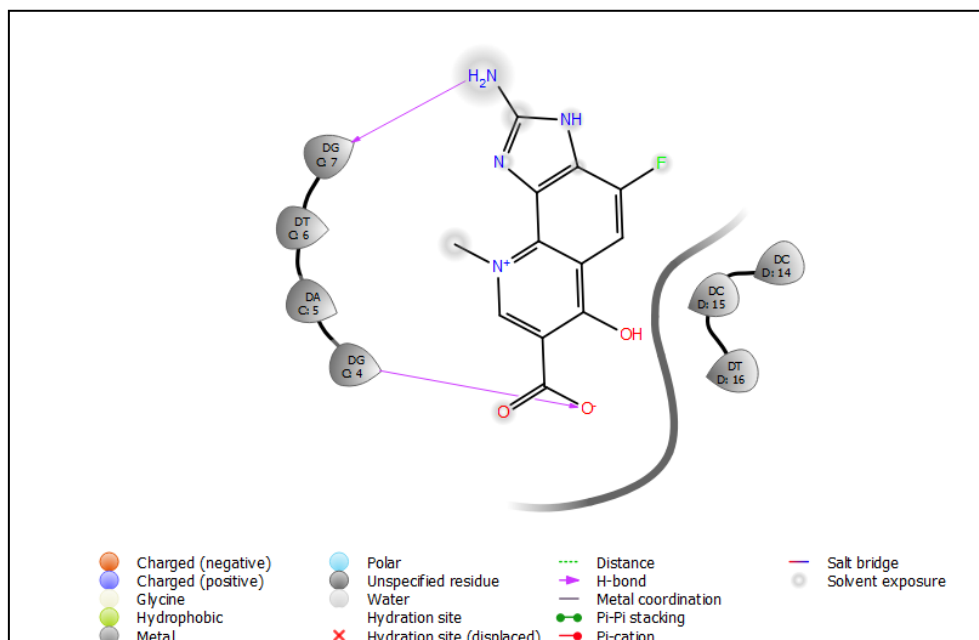


Figura 52. Representación 2D de la interacción del ligando **171-c** con la enzima PDB:4FM9.

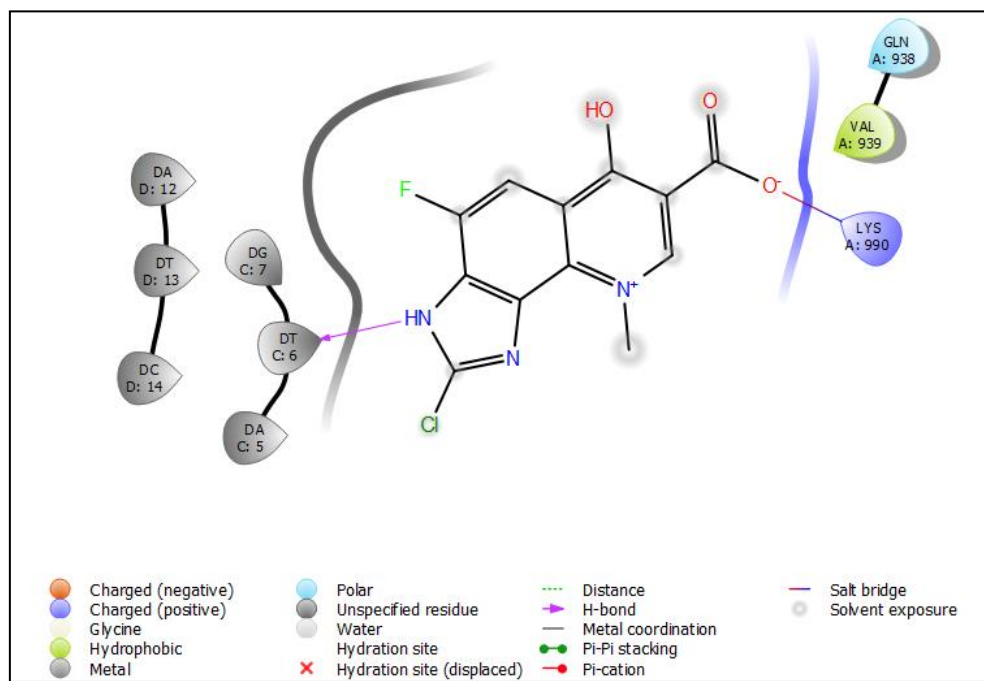


Figura 53. Representación 2D de la interacción del ligando **171-d** con la enzima PDB:4FM9.

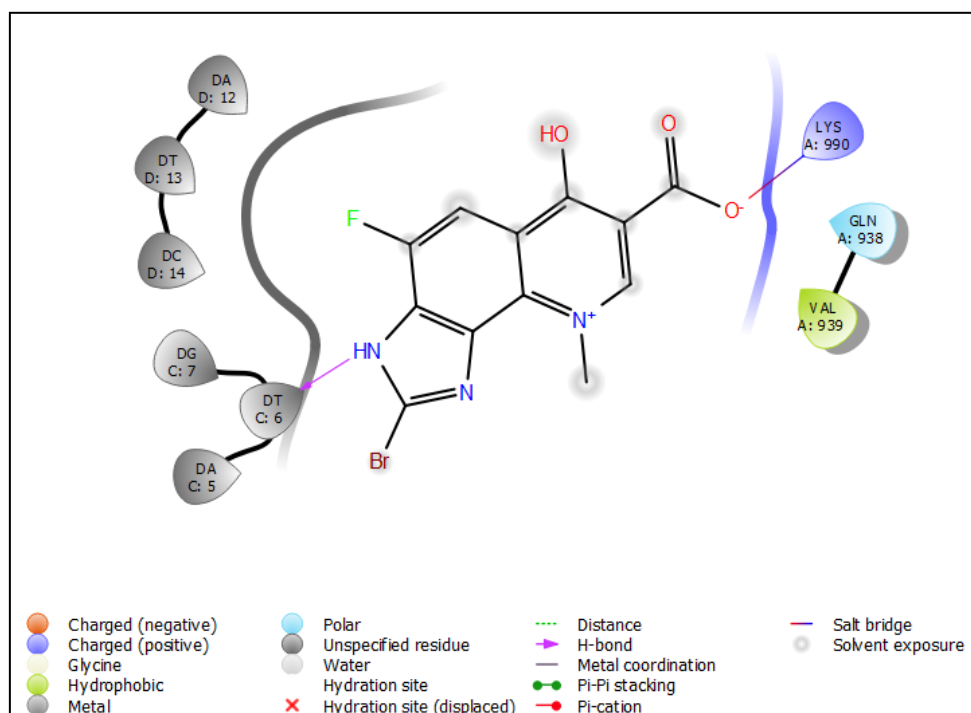


Figura 54. Representación 2D de la interacción del ligando **171-e** con la enzima PDB:4FM9.

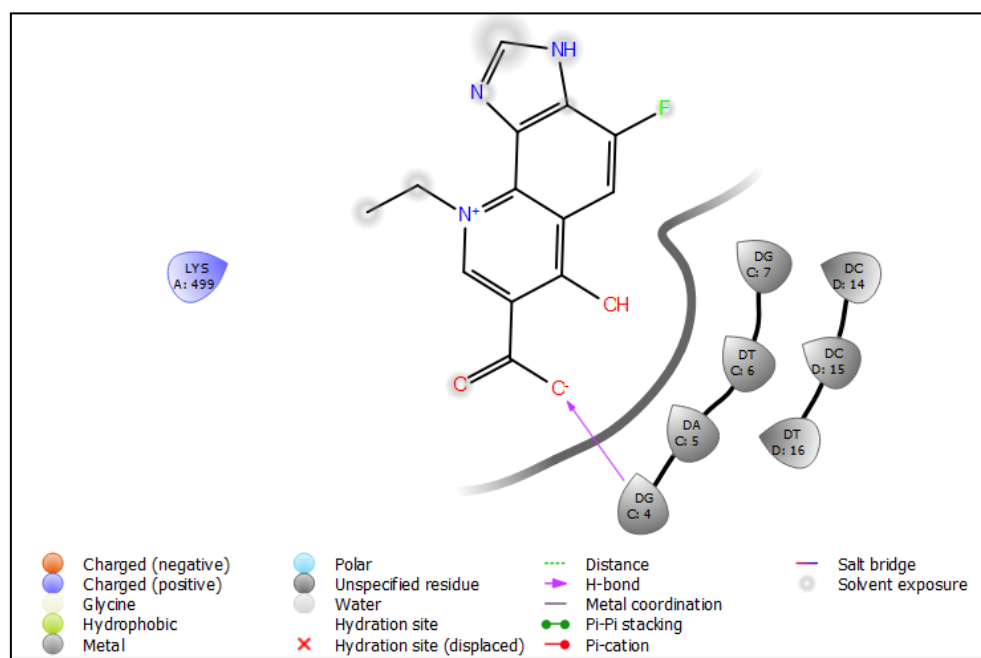


Figura 55. Representación 2D de la interacción del ligando **171-f** con la enzima PDB:4FM9.

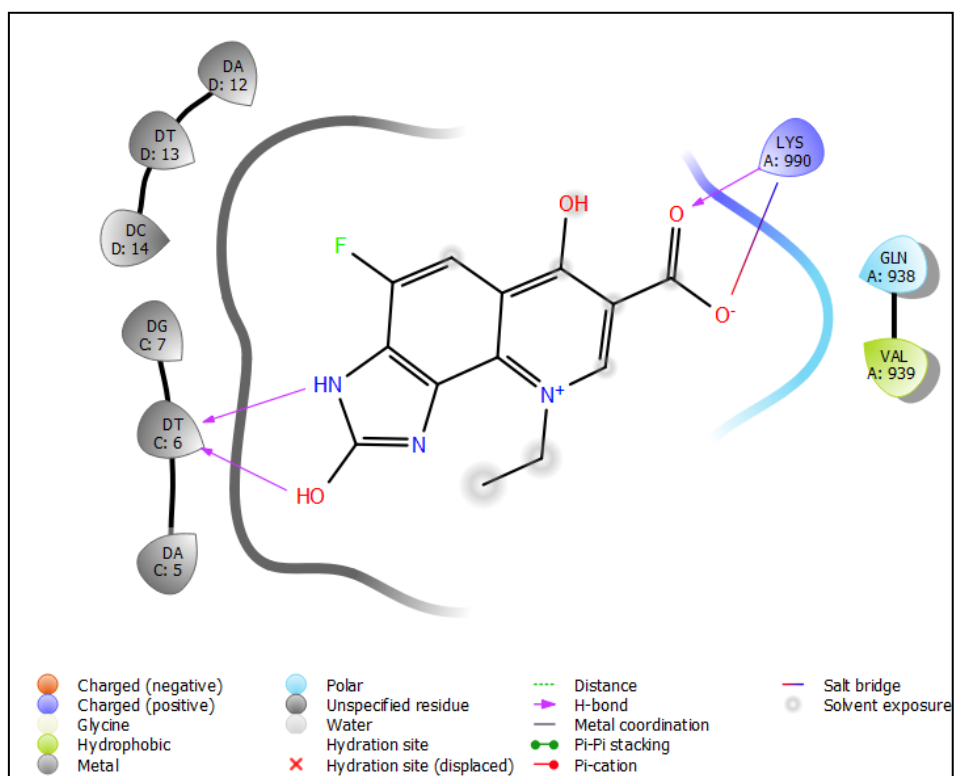


Figura 56. Representación 2D de la interacción del ligando **171-g** con la enzima PDB:4FM9.

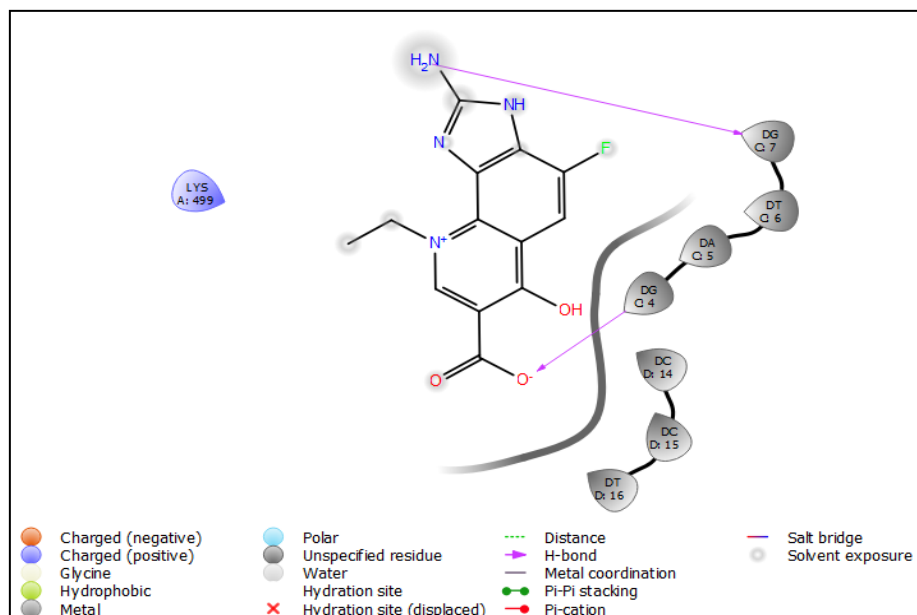


Figura 57. Representación 2D de la interacción del ligando **171-h** con la enzima PDB:4FM9.

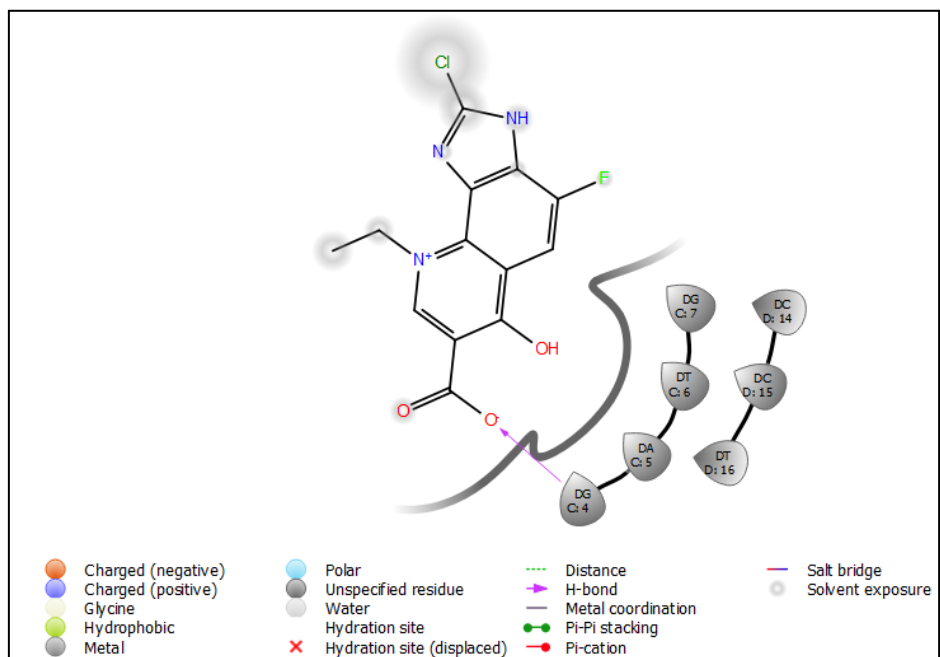


Figura 58.- Representación 2D de la interacción del ligando 171-i con la enzima PDB:4FM9.

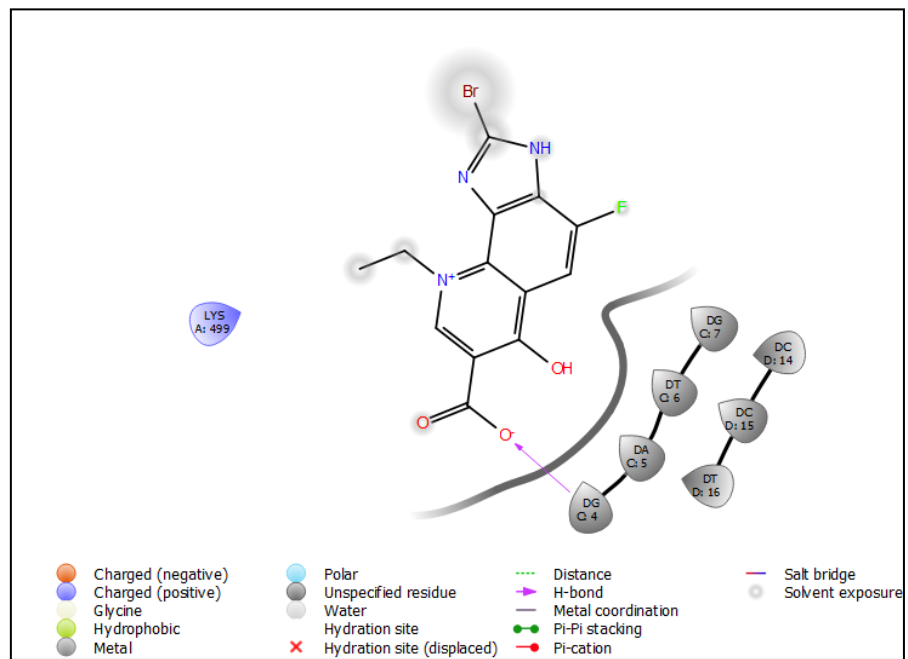


Figura 59.- Representación 2D de la interacción del ligando 171-j con la enzima PDB:4FM9.