



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

“Uso del Aminometilenbisfosfonato de Tetraetilo como intermediario en la síntesis de moléculas bioactivas”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN DISEÑO MOLECULAR Y NANOQUÍMICA

PRESENTA:

Carlos Iván Ortega Espinosa

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Luis Viveros Ceballos

CUERNAVACA, MORELOS

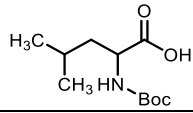
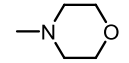
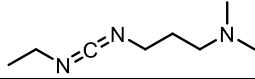
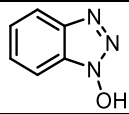
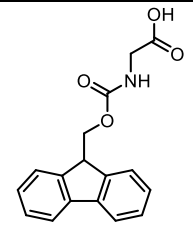
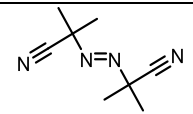
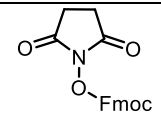
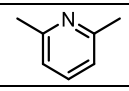
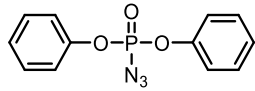
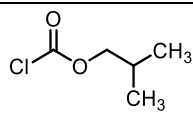
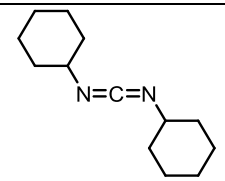
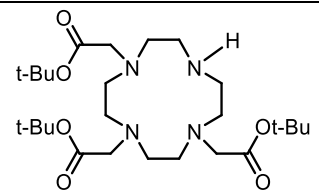
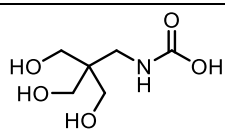
JUNIO, 2022

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM), en el laboratorio 203, bajo la dirección del Dr. José Luis Viveros Ceballos, contando con el apoyo del proyecto CONACYT CB 2015-256985.

Contenido

ESTRUCTURAS	3
1. INTRODUCCIÓN	4
2. MARCO TEÓRICO	7
3. JUSTIFICACIÓN	9
4. OBJETIVO GENERAL	9
4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	9
5. METODOLOGÍA	9
6. AGENTES ANTIBIÓTICOS.	10
7. AGENTES QUELANTES EN INTOXICACIÓN POR METALES.	16
8. AGENTES ACARREADORES.	18
8.1. LIBERACIÓN DE COMPUESTOS ANTIBACTERIANOS.	18
8.2. LIBERACIÓN DE HORMONAS.	24
8.3. LIBERACIÓN DE COMPUESTOS ANTICANCERÍGENOS.....	28
9. AGENTES DE IMAGEN	31
10. DISCUSIÓN	38
11. CONCLUSIONES	39

Estructuras

Nombre	Estructura Química
Boc-Leu-OH	
N-Metilmorfolina	
1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida	
1-hidroxibenzotriazol	
Fmoc-Gly-OH	
AIBN	
Fmoc-OSu	
2,6-Lutidina	
DPPA	
IBCF	
DCC	
t-Bu3DO3A	
Tricina	

1. Introducción.

Los ácidos α -aminofosfónicos son análogos de los α -aminoácidos naturales, donde el grupo carboxílico es reemplazado por el grupo fosfónico, presentando un andamio N-C-P, lo que le permite tener una acción inhibitoria sobre enzimas de diferentes tipos. El grupo carboxilo tiene una geometría trigonal plana, mientras que el grupo fosfónico es tetrahédrico, lo que permite que las enzimas lo reconozcan como un falso sustrato, debido a su capacidad para imitar el intermediario tetraédrico de la hidrólisis enzimática de péptidos.¹

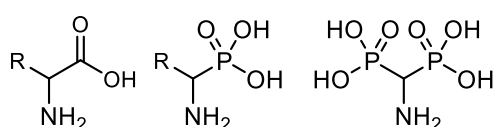


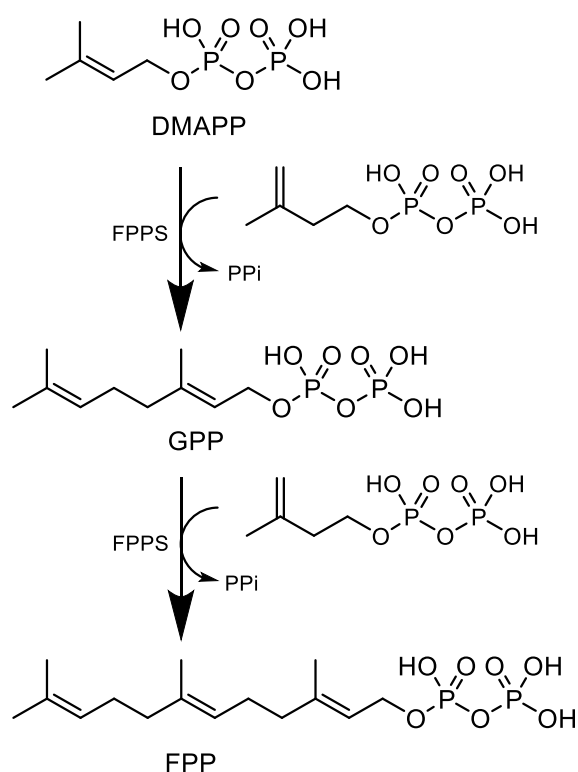
Figura 1. Representación general de un α -aminoácido, ácido α -aminofosfónico y ácido α -aminobisfosfónico^{1,2}

Por otra parte, los ácidos bisfosfónicos y sus derivados son análogos del pirofosfato, donde se ha sustituido el oxígeno del enlace P-O-P por un carbono para formar el arreglo P-C-P. Estos compuestos poseen varias aplicaciones médicas, como en el tratamiento de tumores óseos, o para tratar la osteoporosis.¹ De manera general, los bisfosfonatos se han clasificado en dos tipos: los primeros son aquellos que no tienen un átomo de nitrógeno y actúan como análogos de ATP no hidrolizables, lo que conlleva a la acumulación de metabolitos y a la posterior apoptosis de los osteoclastos. El segundo tipo de bisfosfonatos es aquel que posee un átomo de nitrógeno con una conectividad N-C-P, lo que le otorga una importante actividad biológica. Lo anterior se debe a la inhibición de la enzima farnesil difosfato sintetasa o FPPS, cuya función es la de catalizar la reacción entre el dimetilalil difosfato (DMAPP) y el isopentenil difosfato (IPP), para formar el geranyl difosfato (GPP). La FPPS cataliza la reacción entre GPP y IPP, cuyo producto es el farnesil difosfato (FPP) (Esquema 1). Al detener esta serie de reacciones bioquímicas, se inactivan los

¹ Mucha, A.; Kafarski, P.; Berlicki, L. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5955-5980

² Ordoñez, M.; Viveros, J.; Cativiela, C.; Sayago, F. *Tetrahedron.* **2015**, *71*, 1745-1784

osteoclastos, ocasionando su apoptosis al detener la prenilación de las proteínas Guanosín trifosfato GTP, que son imprescindibles para el citoesqueleto celular.³ A raíz del desarrollo de antiparasitarios a partir de la inhibición de la FPPS, se generaron grandes librerías de bisfosfonatos que tienen actividad biológica contra las enzimas pirofosfatasa, hexoquinasa, geranylgeranildifosfato sintetasa (GGPPS) y 1-desoxixilulosa-5-fosfato reductoisomerasa.⁴



Esquema 1. Reacción de catálisis de la Farnesil Difosfato Sintetasa (FPPS)

Una de las aplicaciones de los α -aminometilbisfosfonatos es en el tratamiento de la osteoporosis. El Incadronato es un fármaco que se utiliza para el tratamiento de la hipercalcemia, y se caracteriza por la presencia del fragmento N-C-P, lo que le confiere una gran afinidad por el tejido óseo (Figura 1).

³ Bergstrom, J. D.; Bostedor, R. G.; Masarachia, P. J.; Reszka, A. A.; Rodan, G. *Arch. Biochem. Biophys.* **2000**, 373, 231–241

⁴ (a) Kotsikorou, E.; Song, Y.; Chan, J. M.; Faelens, S.; Tovian, Z.; Broderick, E.; Bakalara, N.; Docampo, R.; Oldfield, E. *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 6128–6139; (b) Hudock, M. P.; Sanz-Rodríguez, C. E.; Song, Y.; Chan, J. M.; Zhang, Y.; Odeh, S.; Kosztowski, T.; Leon-Rossell, A.; Concepción, J. L.; Yardley, V.; Croft, S. L.; Urbina, J. A.; Oldfield, E. *J. Med. Chem.* **2006**, 49, 215–223; (c) Sanz-Rodríguez, C. E.; Concepción, J. L.; Pekerar, S.; Oldfield, E.; Urbina, J. A. *J. Biol. Chem.* **2007**, 282, 12377–12387; (d) Yajima, S.; Hara, K.; Sanders, J. M.; Yin, F.; Ohsawa, K.; Wiesner, J.; Jomaa, H.; Oldfield, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 10824–10825; (e) Szabo, C. M.; Matsumura, Y.; Fukura, S.; Martin, M. B.; Sanders, J. M.; Sengupta, S.; Cieslak, J. A.; Loftus, T. C.; Lea, C. R.; Lee, H.-J.; Koohang, A.; Coates, R. M.; Sagami, H.; Oldfield, E. *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2185–2196

Lamentablemente, algunos α -aminometilbifosfonatos han presentado efectos adversos serios, como la aparición de osteonecrosis de boca, en el 10% de los pacientes que recibieron tratamiento contra el cáncer de mama, próstata y mieloma múltiple.⁵

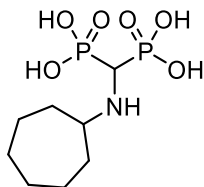


Figura 2. Representación de la molécula Incadronato

Algunos bisfosfonatos se han acoplado a fármacos anticancerígenos ya existentes. Para el caso de los tumores óseos, además de inhibir la actividad de los osteoclastos, los bisfosfonatos pueden generar la apoptosis celular al inhibir las enzimas que se encargan de la prenilación de las proteínas Ras, Rho, Rac, y Rap, causando que el IPP se acumule en grandes cantidades y se convierta en isopentenil éster de ATP (Apppl) que es un proapoptótico muy potente,⁶ desencadenando así, la activación de las células T. La desventaja de los *N*-bisfosfonatos es que su biodisponibilidad es muy baja, y lo que no es absorbido por el hueso, es eliminado rápidamente por la orina sin presentar cambios.⁷

Otra de las aplicaciones que tienen los bisfosfonatos es su utilización como radiomarcadores para estudios de RMN. No se comprende muy bien el por qué, pero se sabe que estos ligantes poliaminofosfonatos macrocíclicos, unidos a iones de lantánidos, también actúan como paliativos de dolor contra el cáncer de hueso. Su actividad radica en la afinidad que tiene el grupo fosfato por el calcio que compone el hueso.⁶

Se realizó una búsqueda en la literatura de trabajos en los que se reportó el uso del aminometilbifosfonato de tetraetilo como intermediario en la síntesis de moléculas bioactivas y los artículos fueron clasificados dependiendo de la

⁵ Drake, M. T.; Clarke, B. L.; Khosla, S. *Mayo Clin. Proc.* **2008**, *83*, 1032–1045

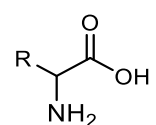
⁶ Gao, Y. G.; Robinson, H.; Song, Y.; No, J. H.; Bergan, K.; Leon, A.; Cass, L.; Goddard, A.; Chang, T. K.; Lin, F. Y.; Van Beek, E.; Papapoulos, S.; Wang, A. H.; Kubo, T.; Ochi, M.; Mukkamala, D.; Oldfield, E. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5153–5162

⁷ Mucha, A.; Kafarski, P.; Berlicki, L. *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 5955–5980

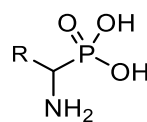
actividad biológica evaluada. Así, estos se agruparon de la siguiente manera: agentes antibióticos, agentes quelantes en intoxicación por metales pesados, agentes acarreadores y agentes de imagen. De manera general, se describe la ruta de síntesis de las moléculas bioactivas y los métodos de acoplamiento del fragmento aminometileno-bisfosfónico a otras moléculas con la finalidad de mejorar su selectividad y biodisponibilidad, potenciar su actividad biológica, o bien, para emplearse como agentes de contraste.

2. Marco teórico

Los ácidos α -aminofosfónicos son análogos estructurales de los α -aminoácidos, donde el grupo fosfónico $[\text{PO}(\text{OH})_2]$ tetraédrico y de mayor demanda estérica, sustituye al grupo carboxílico (CO_2H) trigonal plano. Dadas sus características estructurales, recientemente se han convertido en una clase de compuestos atractivos en química orgánica sintética y farmacéutica.⁸ En este sentido, los ácidos α -aminofosfónicos y sus derivados han mostrado diversas actividades como agentes anticancerígenos,⁹ antibacteriales,¹⁰ fungicidas,¹¹ anti-VIH,¹² antibióticos,¹³ antitumorales,¹⁴ herbicidas,¹⁵ entre otras.



α -Aminoácido



Ácido α -aminofosfónico

⁸ Mucha, A.; Kafarski, P.; Berlicki, L. *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 1580-1589.

⁹ Kukhar, V.P.; Hudson, H.R. *Aminophosphonic and Aminophosphinic Acids: Chemistry and Biological Activity*; Wiley: Chichester, UK, 2000.

¹⁰ Bird, J.; Mello, R. C. M.; Harper, G. P. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 1435-1440.

¹¹ Solodenko, V. A.; Kukhar, V. P. *Tetrahedron Lett.* **1989**, 89, 6369-6412.

¹² (a) Alonso, E.; Solis, A.; del Pozo, C. *Synlett.* **2000**, 698-700; (b) Stowasser, B.; Budt, K.; Jian-Qi, L.; Peyman, A.; Ruppert, D. *Tetrahedron Lett.* **1992**, 33, 6625-6628; (c) Camp, N. P.; Hawkins, P. C. D.; Hitchcock, P. B.; Gani, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1992**, 2, 1047-1052.

¹³ Lejczak, B.; Kafarski, P.; Sztajer, H.; Mastalerz, P. *J. Med. Chem.* **1986**, 29, 2212-2217.

¹⁴ (a) Kafarski, P.; Lejczak, B. *Curr. Med. Chem.* **2001**, 1, 301-312; (b) Lavielle, G.; Hautefaye, P.; Schaeffer, C.; Boutin, J. A.; Cudennec, C. A.; Pierré, A. *J. Med. Chem.* **1991**, 34, 1998-2003.

¹⁵ (a) Kozłowski, H.; Pusino, A.; Swiatek, J.; Spychala, J.; Glowiak, T.; Micera, G.; Gessa, C. *Binding. J. Agric. Food Chem.* **1990**, 38, 1989-1992; (b) Nska, H.; Bonarska, D.; Bielecki, K.; Sarapuk, J. *Cell. Mol. Biol. Lett.* **2002**, 7, 929-935.

La actividad biológica de los ácidos α -aminofosfónicos y sus derivados se ha atribuido a la distribución tetraédrica de los sustituyentes alrededor del átomo de fósforo, lo cual les permite actuar como análogos estables del estado de transición formado durante la hidrólisis peptídica. Así, la hidrólisis de un fosfonopéptido ocurre más lentamente que la hidrólisis de un péptido constituido por aminoácidos naturales; por lo tanto, estos compuestos compiten por los sitios activos de las enzimas y de otros receptores celulares, de ahí su aplicación en la inhibición de diversos procesos fisiológicos.¹⁶

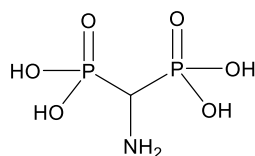
Dentro de esta familia de compuestos, los ácidos aminometilenbisfosfónicos se caracterizan por la presencia del fragmento [P-C(N)-P] y pueden considerarse como análogos hidrolíticamente estables de pirofosfato, en el que un átomo de oxígeno se encuentra unido a los dos átomos de fósforo, sustituyendo el átomo de carbono (Figura 1).¹⁷ Estos compuestos han demostrado actividades biológicas importantes como antivirales y antimicrobianos;¹⁸ además, se distinguen por su capacidad para actuar como agentes quelantes de cationes metálicos.¹⁹ Es esta propiedad, la que explica su aplicación médica principal en el combate de la osteoporosis ya que presentan una afinidad muy fuerte por el tejido óseo, lo que los lleva a ser rápidamente absorbidos por la superficie del hueso.⁹

¹⁶ (a) Rozenfeld, R.; Iturrioz, X.; Okada, M.; Maigret, B.; Llorens-Cortes, C. *Biochemistry* **2003**, *42*, 14785-14793; (b) Hirschmann, R.; Yager, K. M.; Taylor, C. M.; Witherington, J.; Sprengler, P. A.; Phillips, B. W.; Moore, W.; Smith, III, A. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 8177-8190; (c) Hirschmann, R.; Smith, III, A. B.; Taylor, C. M.; Benkovic, P. A.; Taylor, S. D.; Yager, K. M.; Sprengler, P. A.; Benkovic, S. J. *Science* **1994**, *265*, 234-237; (d) Oleksyszyn, J.; Powers, J. C. *Biochemistry* **1991**, *30*, 485-493; (e) Allen, M. C.; Fuhrer, W.; Tuck, B.; Wade, R.; Wood, J. M. *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 1652-1661; (f) Giannousis, P. P.; Bartlett, P. A. *J. Med. Chem.* **1987**, *30*, 1603-1609.

¹⁷ Dunford, J. E.; Thompson, K.; Coxon, F. P.; Luckman, S. P.; Hahn, F. M.; Poulter, C. D.; Ebetino, F. H.; Rogers, M. J. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2001**, *296*, 235-242.

¹⁸ Naydenova, E. D.; Todorov, P. T.; Troev, K. D. *Amino acids*. **2010**, *38*, 23-30.

¹⁹ Kiss, T.; Lázár, I. Structure and Stability of Metal Complexes in Solution. In *Aminophosphonic And Aminophosphinic Acids. Chemistry and Biological Activity*; Kukhar, V. P.; Houdson, H. R.; Eds.; Jhon Wiley & Sons: Chichester. **2000**, 285-325.



Ácido aminometilenbisfosfónico

3. Justificación

La presente revisión bibliográfica es relevante porque al explorar el estado de arte de la utilidad del aminometilenbisfosfonato de tetraetilo como intermediario en la síntesis de moléculas bioactivas, se busca ampliar la visión que se tiene con respecto a las aplicaciones que tienen los compuestos que incorporan dicho fragmento, y también fomentar la creatividad, para poder idear rutas sintéticas de nuevos derivados, profundizar en su estudio y encontrar nuevas moléculas de interés farmacológico.

4. Objetivo general

- Conocer el estado del arte de la utilidad del aminometilenbisfosfonato de tetraetilo como intermediario en la síntesis de moléculas bioactivas.

4.1. Objetivos específicos:

- Realizar la revisión de los reportes de investigación que describan el uso del aminometilenbisfosfonato de tetraetilo como intermediario en la síntesis de moléculas bioactivas.
- Clasificar los reportes identificados dependiendo de la actividad biológica evaluada.
- Describir la ruta de síntesis de las moléculas bioactivas y los métodos de acoplamiento del fragmento aminometilenbisfosfónico a otras moléculas con la finalidad de mejorar su selectividad, biodisponibilidad y potenciar su actividad biológica.

5. Metodología

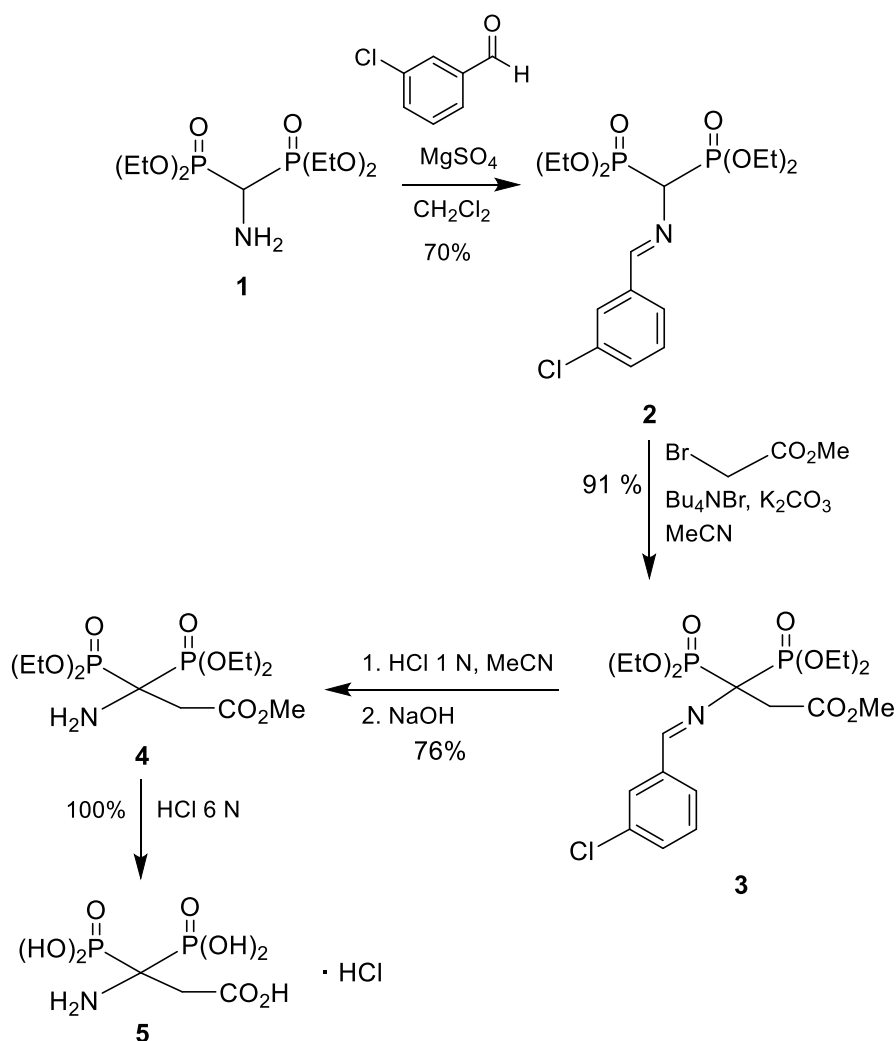
La metodología que se utilizó para llevar a cabo la presente revisión bibliográfica, se describe a continuación. Se realizó una búsqueda en la literatura de trabajos

en los que se reportó el uso del aminometilbisfosfonato de tetraetilo como intermediario en la síntesis de moléculas bioactivas, para lo cual se utilizó la base de datos SciFinder. Los artículos fueron clasificados dependiendo de la actividad biológica evaluada y se agruparon de la siguiente manera: agentes antibióticos, agentes quelantes en intoxicación por metales pesados, agentes acarreadores y agentes de imagen. De manera general, se describe la ruta de síntesis de las moléculas bioactivas y los métodos de acoplamiento del fragmento aminometilbisfosfónico a otras moléculas con la finalidad de mejorar su selectividad y biodisponibilidad, potenciar su actividad biológica, o bien, para emplearse como agentes de contraste.

6. Agentes antibióticos.

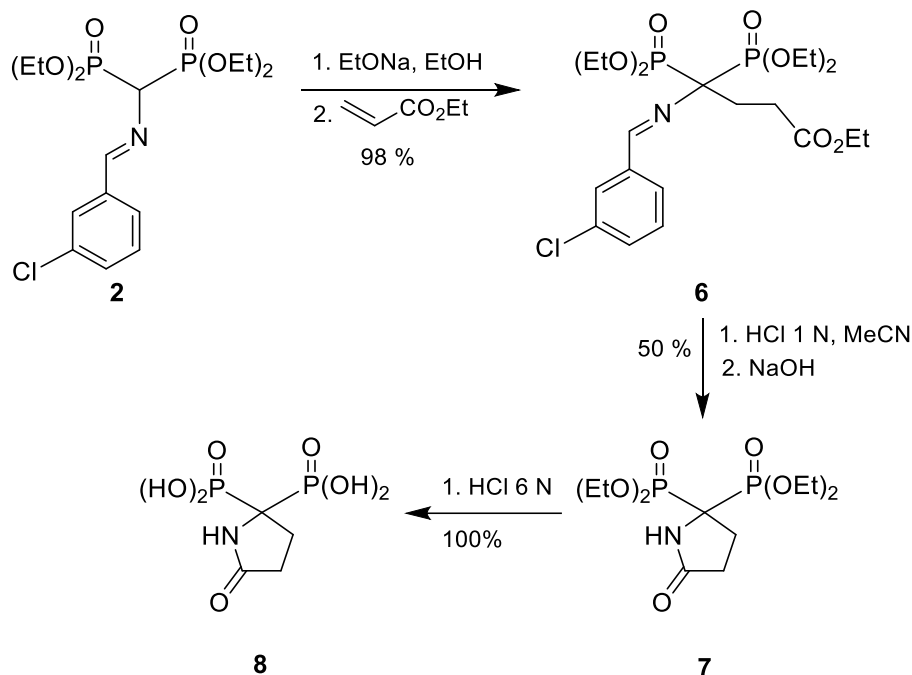
Beck y sus colaboradores incorporaron el grupo fosfónico por ser bioisómeros de los aminoácidos, actuando como un análogo del aminocitrato, generando compuestos con la capacidad de inhibir diversas β -lactamasas.²⁰ De esta manera, el aminometilbisfosfonato de tetraetilo **1** se condensó con el 3-clorobenzaldehído para dar como resultado la imina **2** con un 70% de rendimiento químico. Posteriormente **2** fue tratado con carbonato de potasio, bromuro de tetrabutilamonio y bromoacetato de metilo para obtener el producto de alquilación **3** con un rendimiento del 91%. A continuación, la molécula **4** se obtuvo al llevar a cabo la hidrólisis ácida de la imina, y posteriormente se agregó hidróxido de sodio para concluir este proceso. Finalmente, la hidrólisis del α -aminometilbisfosfonato **4** con una disolución de ácido clorhídrico 6 N, permitió obtener el clorhidrato **5** en forma cuantitativa (Esquema 2).²⁰

²⁰ Beck, J; Gharbi, S.; Herteg-Fernea, A.; Vercheval, L.; Bebrone, C.; Lassaux, P.; Zervonsen, A.; Marchand-Brynaert, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2009**, 85-97



Esquema 2

Por otra parte, también realizaron la síntesis del compuesto azacíclico **8**. De esta manera, se realizó la reacción de **2** con acrilato de etilo en medio básico, generando el producto de α -alquilación **6** con un 98 % de rendimiento químico, cuyo tratamiento con una disolución de ácido clorhídrico 1 N favoreció la hidrólisis de la imina, y simultáneamente, la sustitución nucleofílica intramolecular, dando lugar a la γ -lactama **7** con un rendimiento químico de 50%. En la siguiente etapa, la hidrólisis de **7** con una disolución de ácido clorhídrico 6 N, permitió obtener el ácido bisfosfónico **8** con un rendimiento químico cuantitativo (Esquema 3).²⁰



La actividad biológica de los compuestos **5** y **8** fue evaluada sobre varios tipos de β -lactamasas, las cuales fueron TEM-1, BS3, NMCA, siendo todas de la clase A; P99 para clase C; Oxa-10 para la clase D, y finalmente BcII y VIM-4 para la clase B. Las pruebas se realizaron a un pH de 5 y 7 a 37°C, con una duración de 30 minutos. Se utilizó como sustrato nitrocefina, y por medio de espectrometría UV a 482 nm, se monitoreó la hidrólisis de dicho compuesto para poder determinar la actividad residual de las β -lactamasas respecto a los compuestos de interés. Se adicionaron los compuestos en una concentración de 100 μ M (Tabla 1). Los valores que se encuentran fuera del paréntesis, corresponden a los porcentajes de actividad de las β -lactamasas a un pH de 5, mientras que los valores que se encuentran dentro del paréntesis, a un pH de 7. Desafortunadamente, se puede observar que los porcentajes en ambos casos son elevados, lo que significa que los compuestos sintetizados tuvieron muy poca actividad en contra de las β -lactamasas estudiadas.²⁰

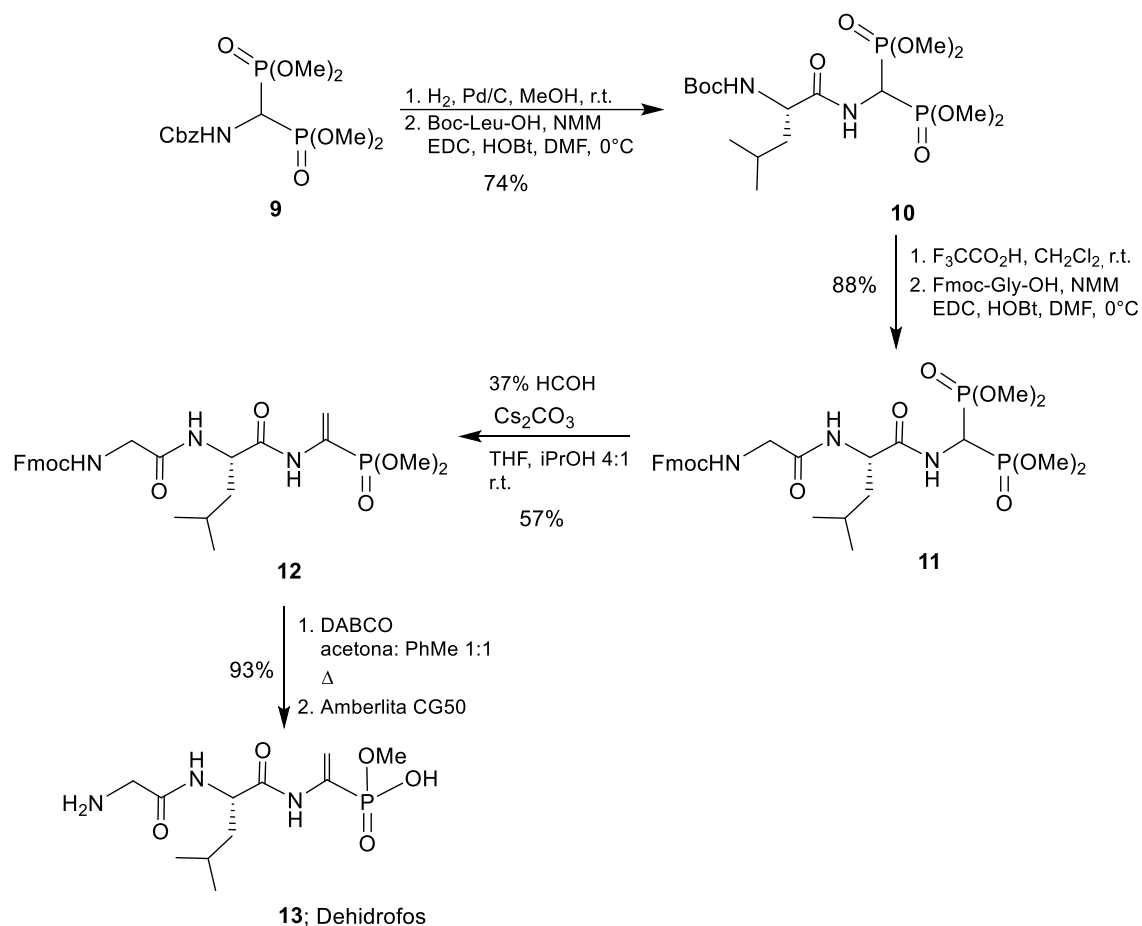
Tabla 1. Evaluación de la actividad inhibitoria de los compuestos **5** y **8**.

Compuesto	TEM-1	BS3	NMCA	P99	Oxa-10	Bc-II	VIM-4
5	93(89)	97(100)	100(100)	100(98)	100(100)	99(100)	X(96)
8	90(100)	89(100)	88(95)	100(86)	100(96)	96(100)	X(89)

El Dehidrofos es un péptido que tiene actividad antibiótica de amplio espectro.²¹ Éste se hidroliza a fosfopiruvato, el cual es tóxico para los microorganismos. De esta manera, el Dehidrofos no actúa como un análogo del estado de transición de la hidrólisis peptídica, como en el caso de otros α -aminofosfonatos. Para poder llevar a cabo la síntesis de este compuesto, se aprovechó la reactividad de un fragmento aminometilenbisfosfonato para introducir un grupo vinilo, a través de una reacción de Horner-Wadsworth-Emmons.

Así, llevaron a cabo la hidrogenólisis del *N*-Cbz aminometilenbisfosfonato de tetraetilo **9**, catalizada por Pd/C, y posterior acoplamiento con el aminoácido protegido *N*-Boc-Leu-OH, en presencia de NMM, EDC y HOBt, permitió obtener el dipéptido **10** con un 74% de rendimiento químico. Después de la remoción del grupo *t*-butoxicarbonilo en **10**, por tratamiento con ácido trifluoroacético, se llevó a cabo la reacción con el aminoácido *N*-protegido Fmoc-Gly-OH, bajo condiciones de acoplamiento similares, obteniendo el tripéptido **11** con un 88% de rendimiento químico. A continuación, de acuerdo con la modificación de la reacción de Horner-Wadsworth-Emmons, se realizó la reacción de **11** con una disolución de formaldehído (37%), en presencia de carbonato de cesio, obteniendo el α,β -dehidroaminofosfonato **12** con un 57% de rendimiento químico. Finalmente, el tratamiento de **12** con DABCO y posterior purificación utilizando Amberlita CG50, permitió realizar la hidrólisis parcial del éster fosfónico y la remoción simultánea del grupo *N*-Fmoc, dando lugar a la molécula objetivo (Esquema 4).²¹

²¹ Jiménez-Andreu, M.; J. Sayago, F.; Cativiela, C. *Eur. J. Org. Chem.* **2018**, 3965-3973

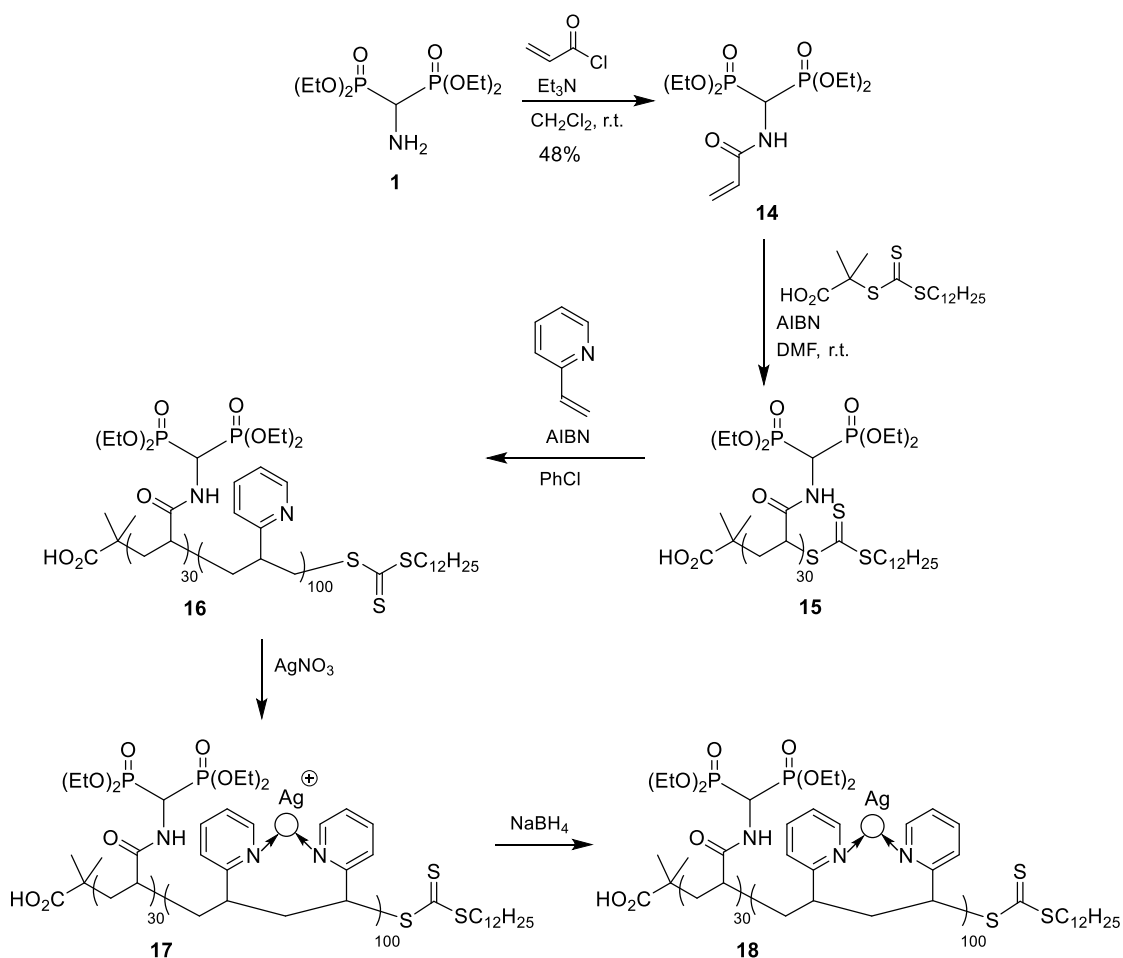


Esquema 4

Qiang y colaboradores²² realizaron la síntesis de polímeros con nanopartículas de plata, los cuales demostraron actividad antibacterial. El interés de este grupo de investigación consistía en evitar la formación de placas bacterianas en los implantes ortopédicos (rodilla, cadera, hombro), lo cual podría derivar en una infección. Considerando la potente actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata y su baja toxicidad en humanos, se sintetizó un copolímero incluyendo estas nanopartículas. Además, se incorporó el grupo aminometilenbisfosfonato por su afinidad con la hidroxiapatita presente en el tejido óseo. La síntesis inició con la reacción del aminometilenbisfosfonato de tetraetilo **1** con cloruro de acrililo en presencia de trietilamina, dando lugar al derivado *N*-acilado **14**, que al reaccionar con RAFT-COOH y AIBN en *N,N*-dimetilformamida, proporcionó el polímero **15**. La reacción de **15** con 2-vinilpiridina, en presencia de AIBN, permitió obtener el derivado **16**. A

²² Zhang, Q.; Serpe, M. *Macromolecules*. **2014**, *47*, 8018-8025

continuación, la adición de nitrato de plata y posterior reducción con borohidruro de sodio generó el copolímero final **18** (Esquema 5).



Esquema 5

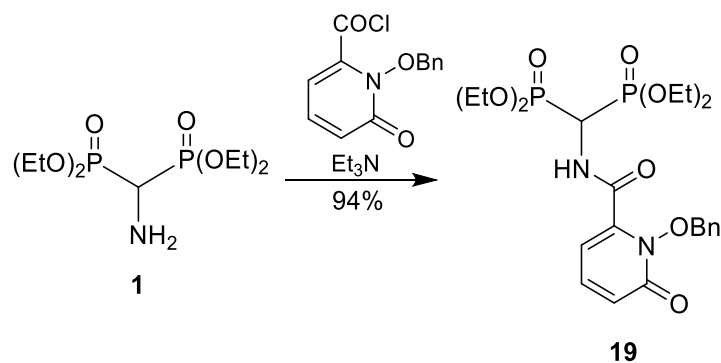
Para evaluar su actividad biológica, el compuesto **18** se colocó en una lámina de vidrio, dejando una capa de un espesor de 2.5 μm . Posteriormente se roció una solución de *L. plantarum* (1×10^6 CFU mL^{-1}) y luego, las láminas de vidrio fueron colocadas en agar de crecimiento (0.7 % agar en un caldo de cultivo de levadura/dextrosa), incubando por 20 h a 37°C. Al retirar el agar con agua y dejar el vidrio descubierto, se comparó con una lámina de vidrio sin el compuesto **18** (control) y se observó que la lámina de vidrio tratada, no hubo crecimiento de bacterias, incluso después de 3 días de incubación.²² También se demostró que **18** se puede depositar en la superficie de hidroxiapatita, formando una capa de aproximadamente 4 nm en su superficie. Partículas de hidroxiapatita fueron

colocadas en una solución del compuesto **18**, la cual fue lavada con CH_2Cl_2 para remover el polímero que no se unió. En seguida, se colocó el compuesto **18** dentro de una solución de AgNO_3 para que los iones de Ag cubrieran el polímero, consecutivamente se redujeron los iones de Ag con NaBH_4 para favorecer la formación de las nanopartículas, de un diámetro de ~5-15 nm, el cual fue determinado por medio de microscopía de transmisión electrónica (TEM). Dichas nanopartículas se agregaron a una solución de *L.plantarum* en un caldo de cultivo de levadura/dextrosa, la cual fue agitada por 10 minutos e incubada a 37°C por 20 horas, utilizando un blanco. Después del periodo de incubación, la solución utilizada como control se tornó turbia por el crecimiento de *L. plantarum*, mientras que la solución con el compuesto **18** se mantuvo clara y transparente, lo que se atribuyó a la inhibición del crecimiento bacteriano. La concentración de *L. plantarum* fue determinada por medio de absorbancia a una longitud de onda de 600 nm. Al comparar la concentración para la solución inicial de *L.plantarum* ($1.71 \times 10^8 \text{ CFU mL}^{-1}$) con la del compuesto de hidroxiapatita tratada con el compuesto **18** (1.99×10^8 - $2.36 \times 10^8 \text{ CFU mL}^{-1}$), se puede observar que la concentración se incrementó poco. Comparado con la concentración de *L. plantarum* en las soluciones de hidroxiapatita, hidroxiapatita colocada en la solución de AgNO_3 sin el compuesto **18**, y el blanco, las concentraciones respectivamente fueron $1.71 \times 10^8 \text{ CFU mL}^{-1}$ a $1.85 \times 10^9 \text{ CFU mL}^{-1}$, $1.74 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$ y $1.86 \times 10^9 \text{ mL}^{-1}$, valores que fueron 10 veces mayores. Esto muestra que las nanopartículas de plata tienen una buena actividad antibacteriana.²²

7. Agentes quelantes en intoxicación por metales.

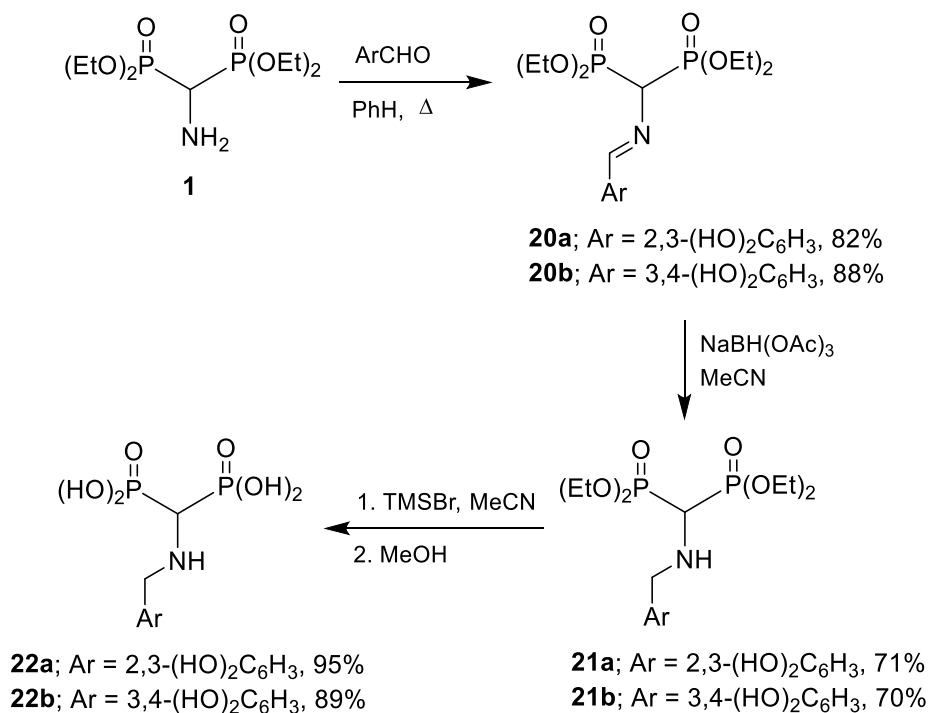
Bailly y colaboradores incorporaron el grupo aminometilenbisfosfonato, por las propiedades quelantes que posee hacia iones metálicos, como son Cu(II), Fe(III) o Al(III). De esta manera, se busca desarrollar nuevos tratamientos para intoxicaciones por metales pesados. La síntesis comenzó con la reacción del aminometilenbisfosfonato **1**, el cloruro de 1-hidroxi-6-oxo-1,6-dihidropiridin-2-carbonil protegido y trietilamina, generando como producto **19** en un 94% de rendimiento químico (Esquema 6).²³

²³ Bailly, T.; Burgada, R.; Prangé, T.; Lecouvey, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*,189-192



Esquema 6

Xu y colaboradores, buscan desarrollar nuevos compuestos para el tratamiento de intoxicación por metales, utilizando la afinidad del grupo aminometilenbisfosfato por los iones metálicos²⁴, por ejemplo el Cu (II), Fe (III) y Al (III). Para la síntesis de **22a** y **22b**, se condensó el aminometilenbisfosfonato de tetraetilo **1**, con el dihidroxibenzaldehído, para dar como resultado **20a** y **20b**. Posteriormente, **20a** y **20b** fueron tratados con triacetoxiborohidruro de sodio para obtener los productos de reducción **21a** y **21b**. A continuación, se agregó bromuro de trimetilsilano en acetonitrilo seco por 2 días, y posteriormente, metanol para dar como producto final las moléculas **22a** y **22b** (Esquema 7).



Esquema 7

²⁴ Guangyu X.; Chunchao Y.; Bo L.; Xihan W.; Yuyuan X. *Heteroat. Chem.* **2004**, 15, 251-257

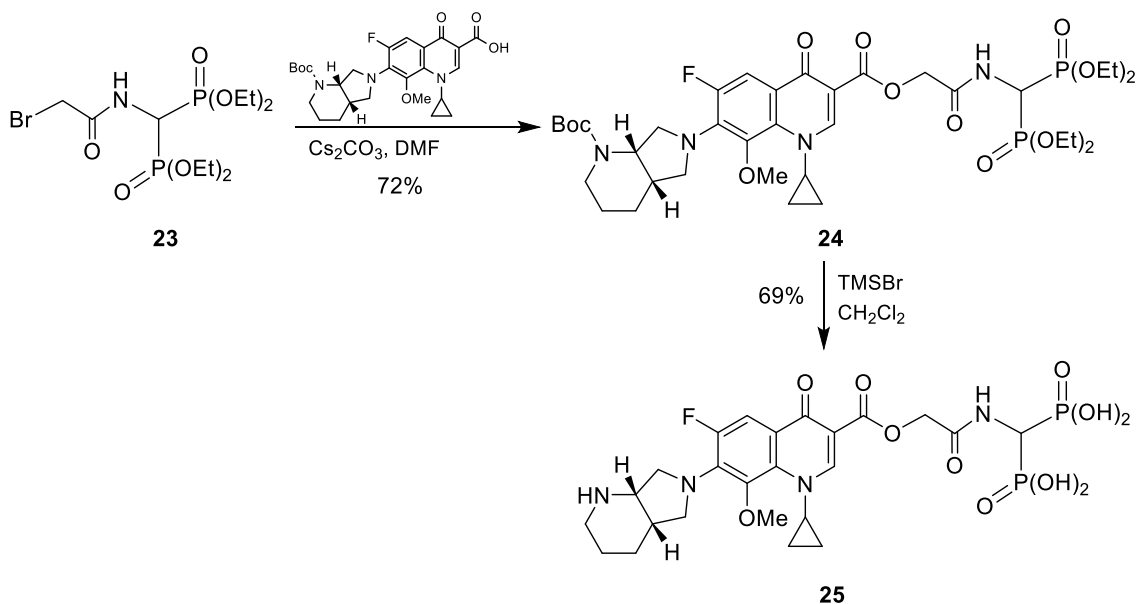
8. Agentes acarreadores.

8.1. Liberación de compuestos antibacterianos.

La osteomielitis es un proceso inflamatorio del hueso, que va acompañado por necrosis ósea, causada por una infección bacteriana. Este tipo de infecciones es complicado de curar debido a que se necesitan altas concentraciones de antibiótico, administrado vía intravenosa, para que actúe sobre hueso. Otro tratamiento es aplicar directamente, por medio de cirugía, el antibiótico sobre el hueso, pero es un proceso que requiere de varias aplicaciones para tener efectividad.²⁵ Takana y colaboradores²⁶ utilizaron el grupo bisfosfonato porque tiene una gran afinidad por la hidroxiapatita, mineral que constituye al hueso. Lo que ellos hicieron fue unir el grupo bisfosfonato a antibióticos conocidos, como las fluoroquinolonas, para que actuaran como profármacos. Una vez alcanzada la hidroxiapatita, el grupo bisfosfonato se unirá al hueso, dejando libre al antibiótico, lo que permitirá que las concentraciones de éste sean mucho mayores, haciendo más efectivo el tratamiento contra la osteomielitis. De esta manera, se realizó la reacción de tetraetil ((2-bromoacetamido) metilen) bis(fosfonato) **23**, y el Moxifloxacina *N*-protegido, tratado con carbonato de cesio en dimetilformamida, para obtener **24** con un rendimiento del 72%. Posteriormente, se agregó bromuro de trimetilsilano a **24**, dando lugar a la molécula **25** con un 69% de rendimiento (Esquema 8).

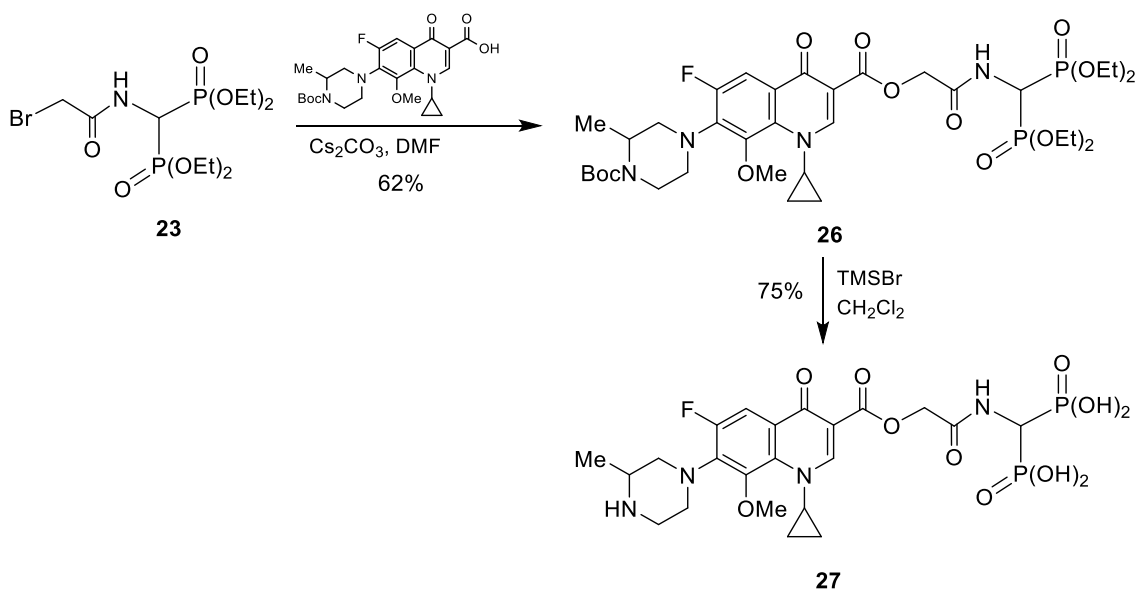
²⁵ Lew, D. P.; Waldvogel, F. A. *Lancet* **2004**, *364*, 369–379

²⁶Tanaka, K.; Houghton, T.; Kang, T.; Dietrich, E.; Delorme, D.; Ferreira, S.; Caron, L.; Viens, F.; Arhin, F.; Sarmiento, I.; Lehoux, D.; Fadhil, I.; Laquerre, K.; Jing L.; Ostiguy, V.; Poirier, H.; Moeck, G.; Parr T.; Rafai Al. *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9217-9229



Esquema 8

Por otra parte, también efectuaron²⁶ la reacción de **23** con el Gatifloxacina, tratado con carbonato de cesio en dimetilformamida, obteniendo **26** con un rendimiento de 62%. A continuación, se adicionó a **26** bromuro de trimetilsilano en diclorometano, consiguiendo **27** con un 75% de rendimiento químico (esquema 9).



Esquema 9

Las moléculas **25** y **27** se probaron en modelos de rata para la prevención de la osteomielitis. Por medio de un procedimiento quirúrgico, se colocó en la tibia de

los roedores la bacteria *S. aureus* (ATCC13709). Se les inyectaron los compuestos vía intravenosa y se sacrificaron 24 horas después. Como control se utilizó el Moxifloxacina, debido a que se conoce su efectividad contra dicha infección. Se utilizó una dosis de 15.8 mg/Kg del compuesto **25** comparado con 10 mg/Kg de Moxifloxacina después de 2 días. El compuesto **27** se comparó con Gatifloxacina, necesitando concentraciones de 17.3 mg/Kg y 10 mg/Kg, respectivamente. En ambos casos, el profármaco logró llegar al tejido óseo para poder atacar a la infección. La buena actividad biológica se atribuye a la habilidad del grupo bisfosfonato para llevar a la fluoroquinolona hasta el hueso con la concentración necesaria para reducir el crecimiento bacteriano.

La osteomielitis es una infección ocasionada por microorganismos, principalmente por bacterias gram-positivas.²⁷ Para desarrollar nuevos tratamientos para este tipo de infecciones, Tanaka y colaboradores utilizaron la Vancomicina, incorporando el grupo aminometilenbisfosfonato por su gran afinidad por la hidroxiapatita, permitiendo que el fármaco se deposite en concentraciones altas sobre el hueso (Esquema 10). La síntesis comenzó haciendo reaccionar la Vancomicina **28**, con Fmoc-OSu, en presencia de bicarbonato de sodio, dioxano y agua, dando lugar a **29**, que al reaccionar con bicarbonato de sodio y 2-bromo acetamidometilenbisfosfonato en *N,N*-dimetilformamida, permitió obtener **30** con un 56% de rendimiento. El tratamiento de **30** con piperidina, bromuro de trimetilsilano, 2,6-lutidina, y piridina hidrogenofluorada, generó la remoción del grupo *N*-Fmoc y permitió acceder a **31** con un rendimiento del 36% (Esquema 11).²⁷

²⁷Tanaka, K.; Dietrich, E.; Ciblat, S.; Métayer, C.; Anhin, F.; Sarmiento, I.; Moeck, G.; Parr, T.; Rafair, A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2010**, *20*, 1355-1359.

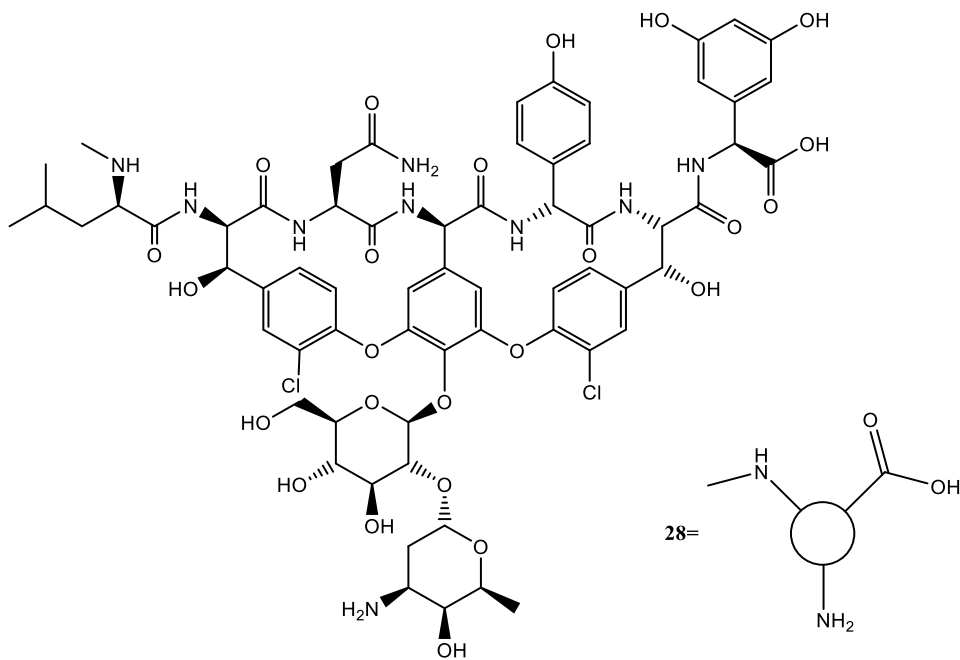
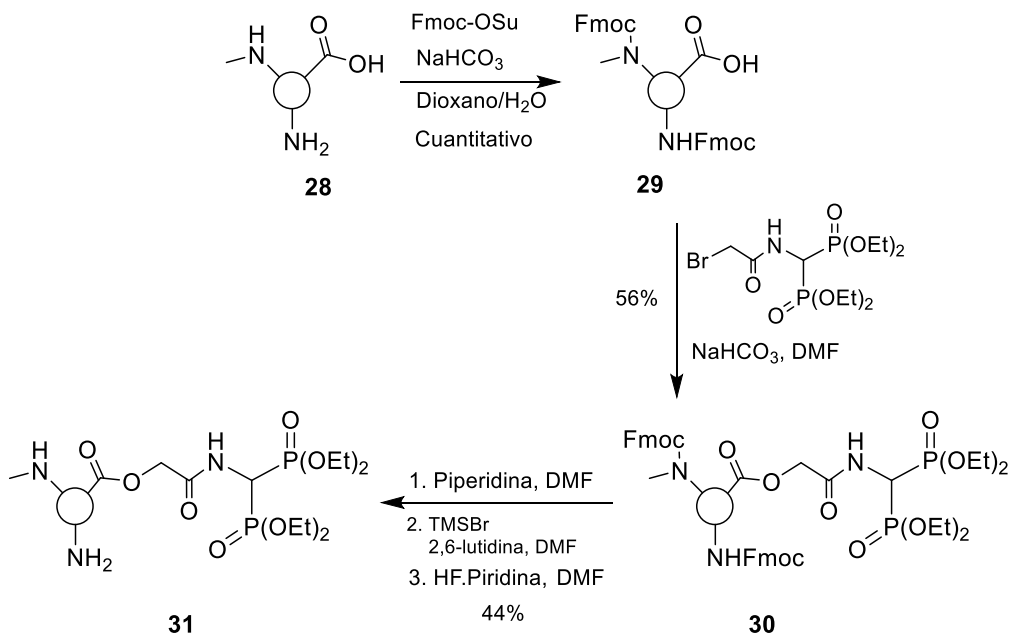


Figura 2. Representación del fármaco Vancomicina



Esquema 10

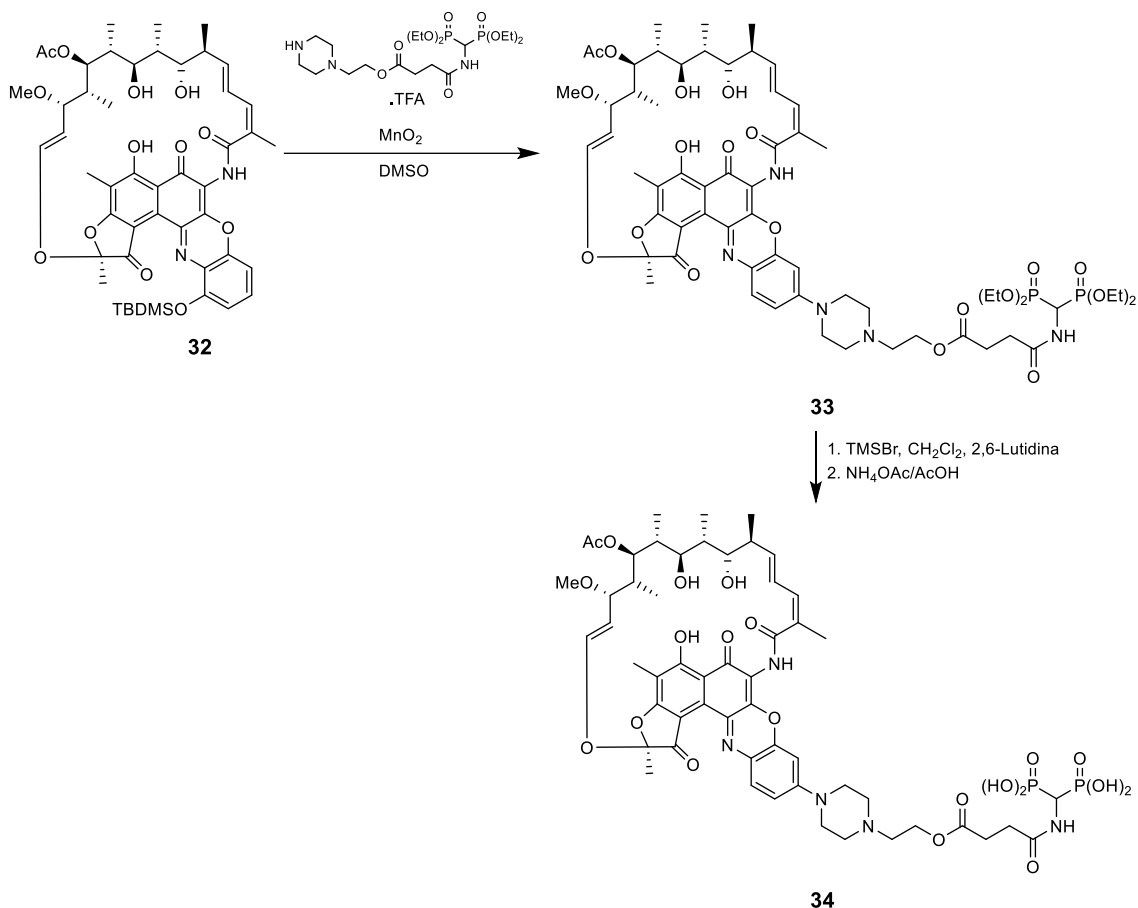
Realizaron la evaluación biológica de la molécula **31** contra *S. aureus* ATCC13709, donde se necesitó una concentración mínima inhibitoria de 16 $\mu\text{g/mL}$ para suero de ratón y de 8 $\mu\text{g/mL}$ para suero de ratón junto con suero humano. El porcentaje de unión fue de 96.5 %, 24 horas posteriores a la

incubación, y el porcentaje de conversión en solución salina buffer de fosfato (PBS) y en suero de rata fue de 2.1 y 2.6 respectivamente.²⁷

El *Staphilococcus aureus* es una bacteria gram-positiva que puede causar osteomielitis. Reddy y colaboradores estudiaron el agente antibacterial rifamicina. Éste es un fármaco muy potente contra las bacterias gram-positivas²⁸. Así, se acopló a la rifamicina el grupo aminometilenbisfosfonato, para aprovechar su afinidad por la hidroxiapatita y depositar el fármaco en altas concentraciones para tratar este tipo de padecimientos.

El precursor **32**, una rifamicina sililada, se hizo reaccionar con un derivado de piperazina, en presencia de dióxido de manganeso, permitiendo obtener **33**, que al reaccionar con bromuro de trimetilsilano, 2,6-lutidina, acetato de amonio y ácido acético, permitió obtener **34** (Esquema 12).²⁸ Los rendimientos de la reacción no están indicados en el artículo.

²⁸ Reddy, R.; Dietrich, E.; Lafontaine, Y.; Houghton, T.; Belanger, O.; Dubois, A.; Arhin, F.; Sarmiento, I.; Fadhil, I.; Laquerre, K.; Ostiguy, V.; Lehoux, D.; Moeck, G.; Parr, T.; Rafair, A. *ChemMedChem*. **2008**, 3, 1863-1868



Esquema 11

Demostraron que el profármaco **34** se acumula en el hueso y se libera durante un periodo largo de tiempo, presentando un tiempo de vida media de 3.2 días resultando en una exposición continua en el sitio de la infección. También se evaluó contra *S. aureus* y se administró por vía intravenosa en ratas 3 días después de inyectar la bacteria en el hueso de la tibia y posteriormente se midió la cantidad de bacterias presentes en el hueso. El ensayo demostró que este profármaco funciona de manera eficaz comparado con su contraparte sin el grupo bisfosfonato. Esto se comprobó calculando el logaritmo de las unidades formadoras de colonias [Log CFU (g hueso)⁻¹]. El profármaco **34** obtuvo un valor de 4.9 ± 0.42 y su contraparte 6.0 ± 0.30 . Se midió la cantidad, expresada en porcentaje, del compuesto **34** que se había unido en la tibia. Para esto, se molió la tibia de las ratas a las que se les administró una dosis de 13 mg Kg^{-1} y posteriormente se lavó con metanol para retirar la rifamicina que no se encontrara unida, posterior a su unión por medio del grupo bisfosfonato. Se incubó a 70°C en PBS con una concentración de 100 nM a un pH 10 para

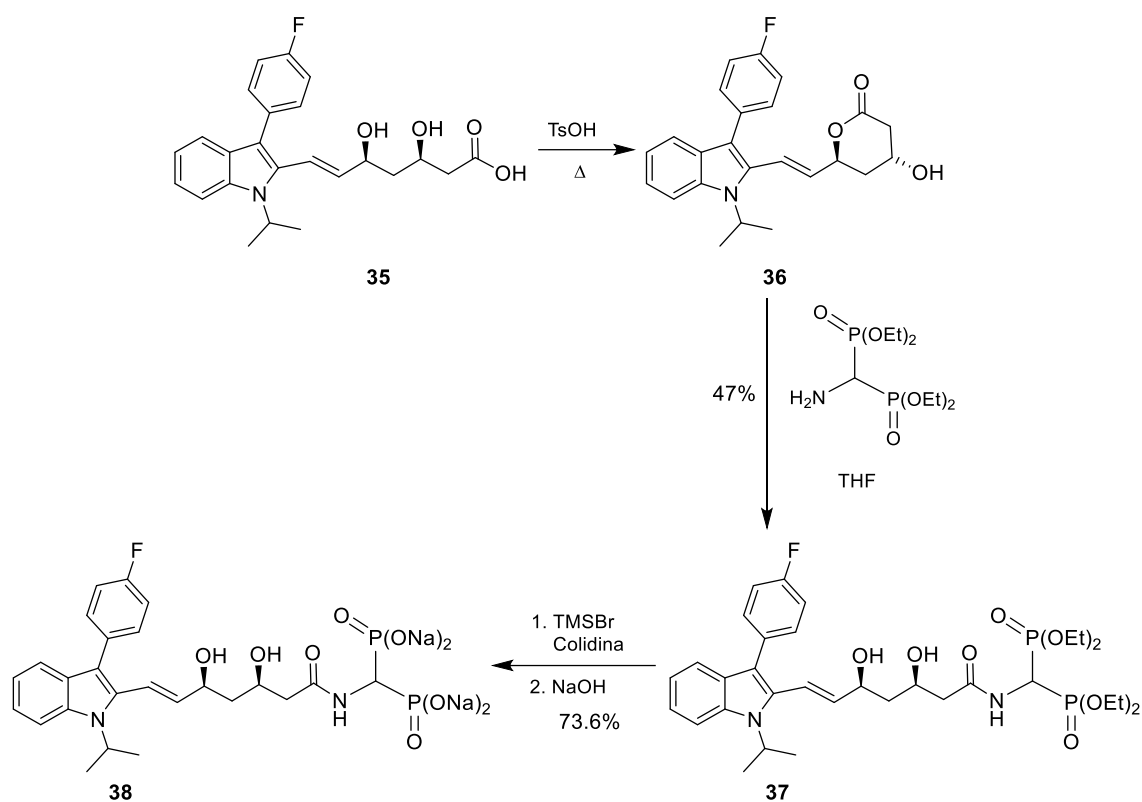
descomponer el compuesto **34** en rifamicina. Por medio de cromatografía de líquido acoplado a espectrómetro de masas (CL-MS) se midió la concentración y se encontró que en experimentos in vivo se elimina más rápido que en experimentos in vitro.²⁸

8.2. Liberación de hormonas.

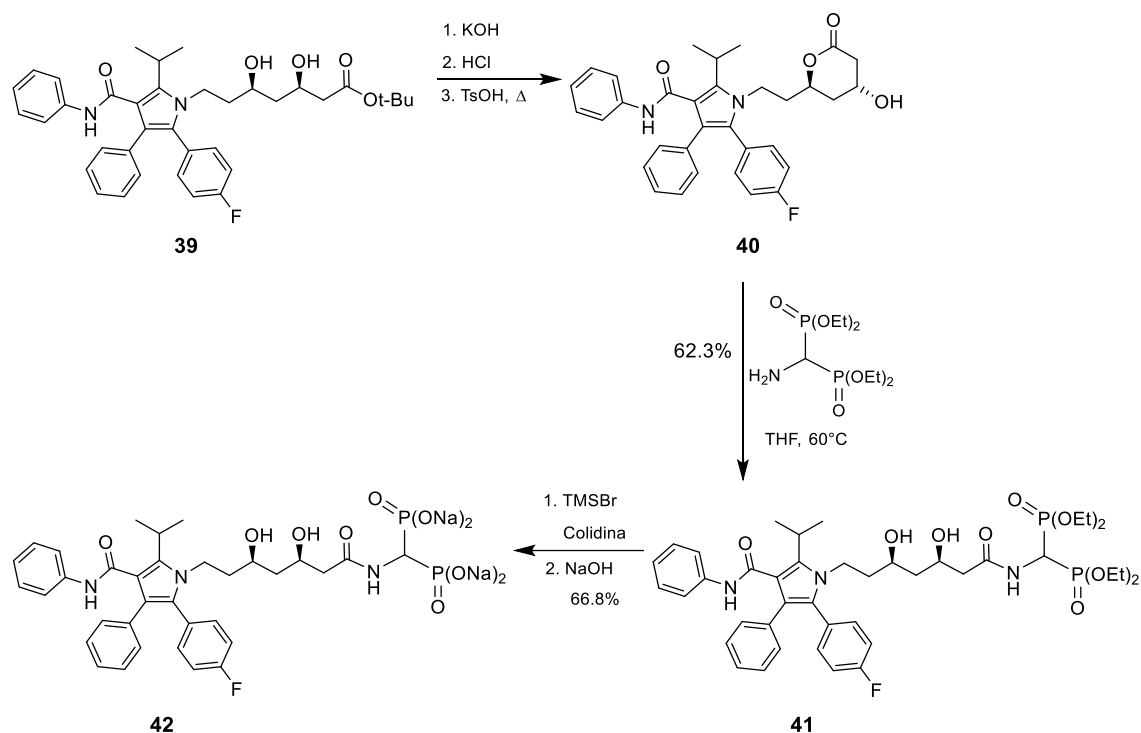
El tratamiento habitual para la osteoporosis es la administración de estatinas, pero, una vez dentro del cuerpo, las estatinas son metabolizadas por el hígado, trayendo como consecuencia que la concentración que logra alcanzar en hueso sea apenas de trazas.²⁹ Xu y colaboradores utilizaron la afinidad del grupo aminometilbisfosfonato por el hueso, para desarrollar nuevos compuestos como tratamiento para osteoporosis.³⁰ Para la síntesis del estatin-bisfosfonato **38**, realizaron la reacción de **35** en un medio ácido para generar la lactona **36**, a la cual se le adicionó el aminometilbisfosfonato de tetraetilo, generando **37** con un rendimiento de 47%. Finalmente, a **37** se le adicionó bromuro de trimetilsilano, colidina, en un medio básico, obteniendo **38** con un rendimiento del 73.6% (Esquema 13).

²⁹ Corsini, A.; Bellosta, S.; Baetta, R.; Fumagalli, R.; Paoletti, R.; Bernini, F. *Pharmacol. Ther.*, **1999**, *84*, 413

³⁰ Guangyu, X.; Gaolei, Z.; Shihua, Z.; Wei, Z. *Lett Org Chem.* **2009**, *6*, 419-423.



Paralelamente, efectuaron³⁰ la síntesis de la estatina-bisfosfonato **42**. De esta manera, se realizó la reacción secuencial de **39** con hidróxido de potasio, ácido clorhídrico y ácido paratoluensulfónico, obteniendo la lactona **40** con un 62.3% de rendimiento. A continuación, se añadió el aminometilbisfosfonato de tetraetilo, obteniendo como producto **41**, que al ser tratado con bromuro de trimetilsilano, colidina e hidróxido de sodio, generó el producto final **42** con un rendimiento del 66.8% (Esquema 14).

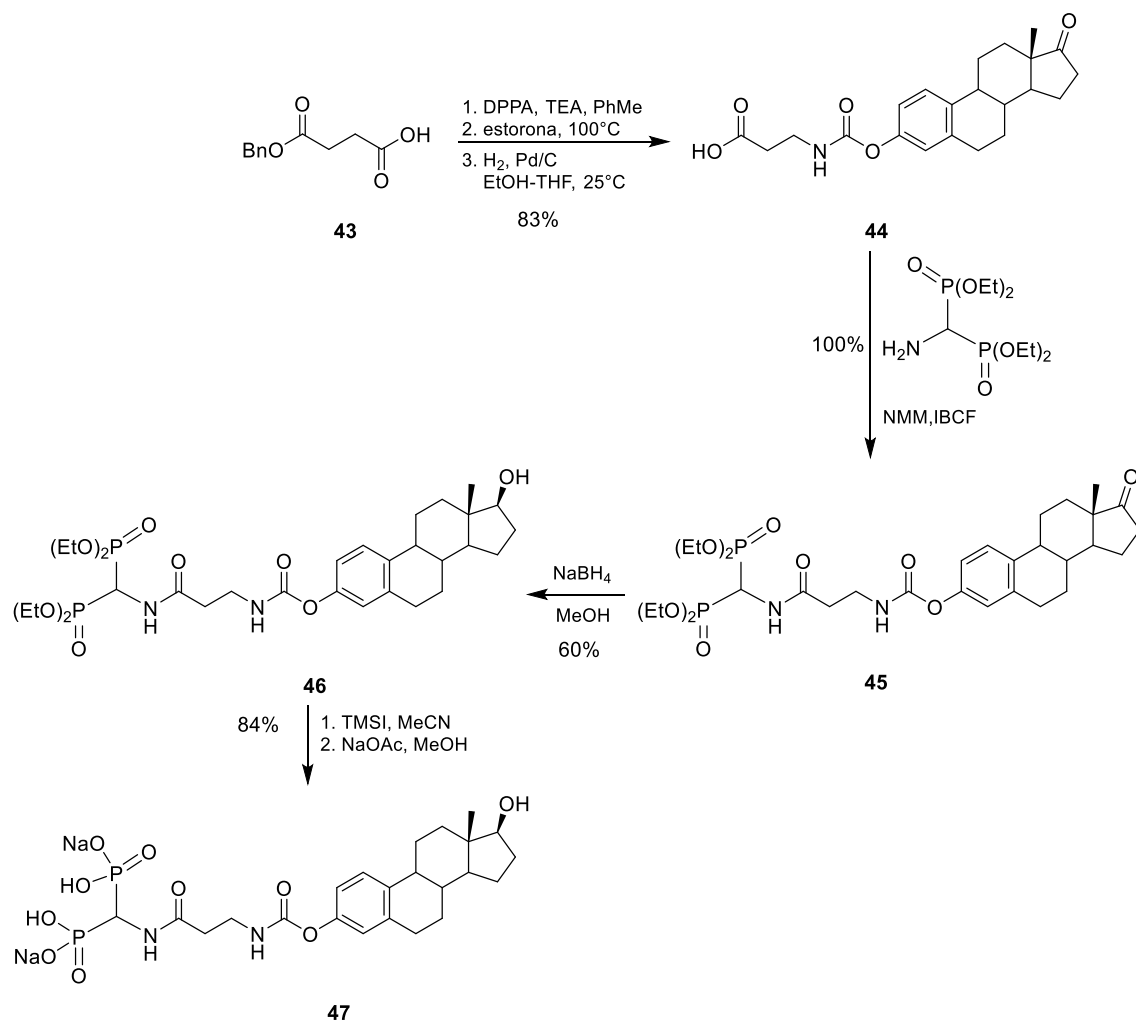


Esquema 13

La osteoporosis se caracteriza por una deficiencia de calcio en los huesos y el tratamiento principal consiste en el suministro de hormonas, como el estrógeno³¹. Desafortunadamente, la terapia con estrógeno no es selectiva y puede generar cáncer de mama o de útero. Morika y colaboradores,³² utilizaron la afinidad del aminometilénbisfosfonato por el hueso, acoplándolo a la estructura del estrógeno, para diseñar un tratamiento más selectivo contra la osteoporosis. De esta manera, la síntesis inició con la reacción del ácido succínico monobencil éster **43** con la difenilfosforilazida, trietilamina y estrona. Posteriormente, se hizo una hidrogenólisis retirando el grupo *N*-Bn, obteniendo como producto **44** con un 83% de rendimiento. A continuación, se agregó al aminometilénbisfosfonato de tetraetilo, en presencia de *N*-metilmorfolina e isobutiltioroformato, obteniendo **45** con un rendimiento cuantitativo. Posteriormente, la reducción con borohidruro de sodio y reacción secuencial con yoduro de trimetilsilano en acetonitrilo y acetato de sodio en metanol, permitió obtener **47** con un 84% de rendimiento químico.

³¹ Eastell, R. N. Eng. *J. Med.* **1998**, 338, 736

³² Masahiko, M.; Akihito, K.; Hiroto, T.; Akihisa, M.; Hiroaki, U.; Shu-ichiro, K.; Yoshihide, N.; Kuniki, K.; Kazou, U. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, 18, 1143-1148

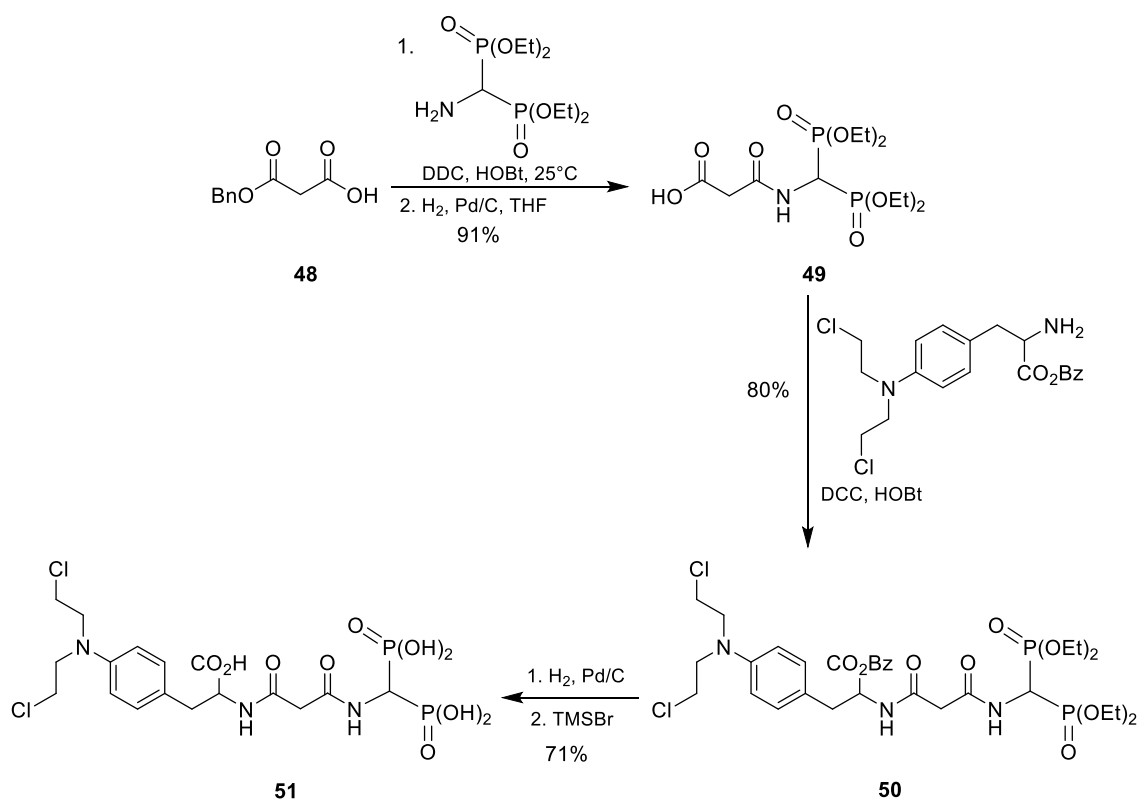


Esquema 14

Para poder realizar las pruebas farmacológicas, les retiraron los ovarios a ratas. Dichas ratas mostraron una pérdida de peso del útero y en la densidad ósea. Al administrarles Estradiol, incrementó la masa de los huesos y del útero, mostrando que existe poca selectividad de este compuesto. Las pruebas biológicas del compuesto **47** se realizaron en ratas similares, a las cuales se les retiró el útero. Posteriormente se les suministró el compuesto en una dosis de 0.1 mg/kg durante 4 semanas. El compuesto **47** incrementó a densidad ósea, sin incrementar el peso del útero, ayudando a prevenir la pérdida de tejido óseo, teniendo una actividad 2000 veces menor en el receptor de estrógeno, comparado con el estradiol. Esto ayuda en el desarrollo de un fármaco que sea más afín por un tipo específico de tejido, y a su vez, presente poca afinidad hacia otros tejidos, evitando así producir efectos secundarios.³²

8.3. Liberación de compuestos anticancerígenos.

Se sabe que, aparte de su buena afinidad por la hidroxiapatita, el grupo bisfosfonato se puede unir a isótopos radiactivos como el ^{99m}Tc , para actuar como un agente de escaneo, o ^{159}Sm , para ser un radioterapéutico³³. Jiang y colaboradores,³⁴ aprovecharon estas características para diseñar nuevos compuestos que puedan ser utilizados como anticancerígenos selectivos. La síntesis comenzó con la reacción de la molécula **48** y el aminometilénbisfosfonato de tetraetilo, en presencia de DCC y HOBT, a temperatura ambiente y, posteriormente, se realizó la remoción del grupo Bn a través de hidrogenólisis, obteniendo **49** con un rendimiento del 91%. A continuación, se agregó *N*-benciloxicarbonil melphalan, en presencia hidroxibenzotriazol y DCC como catalizador, generando como producto **50**. Posteriormente, se llevó a cabo una hidrogenólisis, y el posterior tratamiento con bromuro de trimetilsilano, generó **51** como producto final.



Esquema 15

³³ Willson, T. M.; Henke, B. R.; Momtahan, T. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1996**, 6, 1047

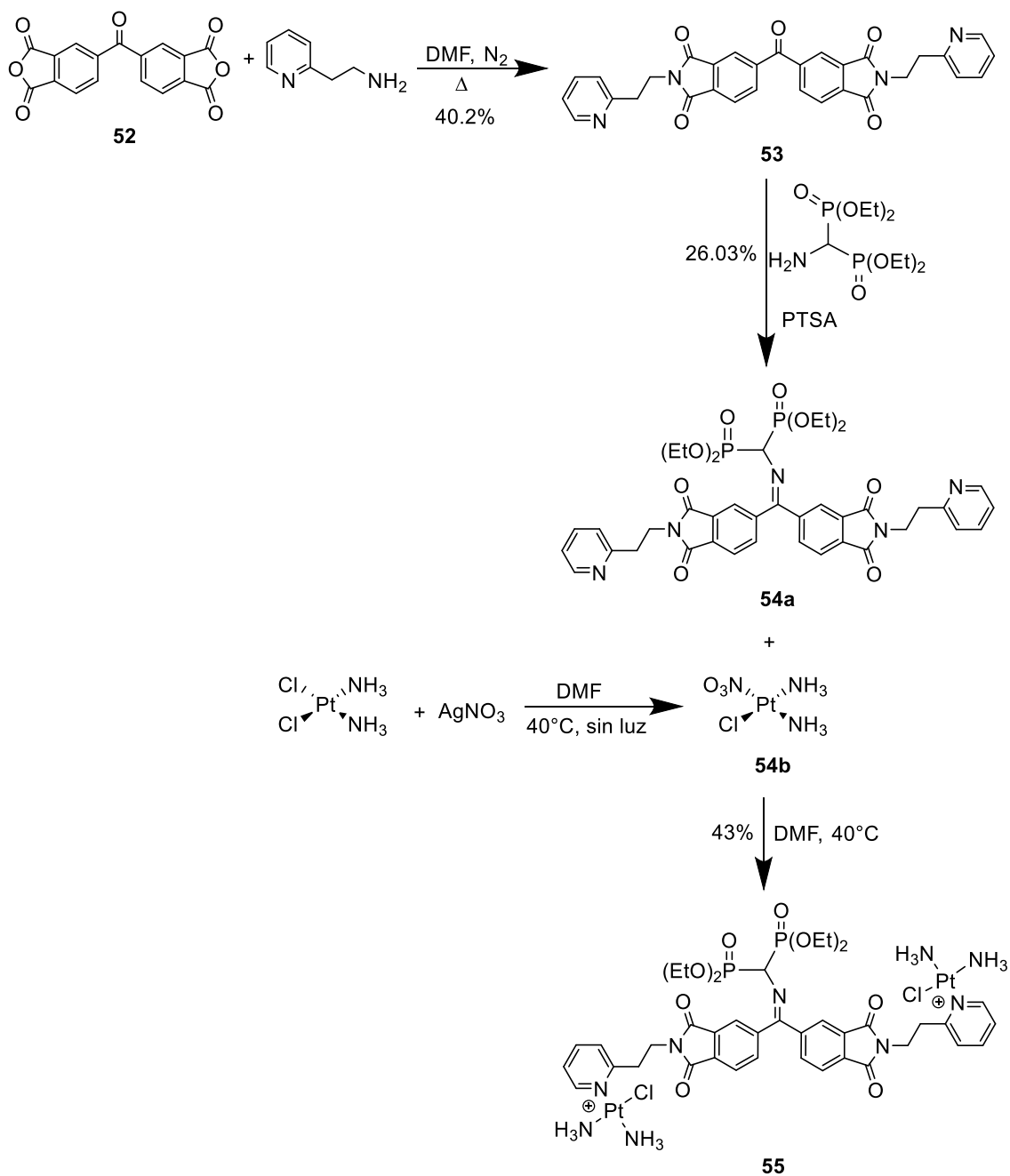
³⁴ Qinglin, J.; Yang, L.; Hai, L.; Yong, W. *Lett Org Chem.* **2008**, 5, 229-233

La evaluación *in vitro* del compuesto **51** la realizaron mezclando en una solución buffer pH 7 con 100 µg/mL de hidroxiapatita (HPA). Posteriormente, se midió la concentración de HPA y se obtuvo 8 µg/mL y un 91.2 % de unión con el compuesto, mostrando que tiene una gran afinidad por la hidroxiapatita.

El osteosarcoma es un tipo de cáncer que afecta principalmente a los adolescentes, y es la segunda causa de muerte en jóvenes relacionada con cáncer.³⁵ Zhang y colaboradores utilizaron la afinidad que posee el grupo aminometilbisfosfonato por la hidroxiapatita, para unirlo a un complejo de platino, haciendo que el fármaco de platino sea más selectivo, minimizando los efectos secundarios durante la terapia anticancerígena.³⁶ La síntesis inició con **52**, al cual se le añadió 2-(piridin-2-il)etanamina en dimetilformamida anhidra en condiciones de reflujo y con atmósfera de nitrógeno, obteniendo como producto **53** con 40.2% de rendimiento. Posteriormente, se añadió el aminometilbisfosfonato de tetraetilo, en presencia de ácido paratoluensulfónico, dando lugar a **54a**. Paralelamente, se realizó la reacción del cisplatino y nitrato de plata, consiguiendo como producto **54b**, el cual se hizo reaccionar con **54a**, obteniendo el complejo de cisplatino **55** con un 43% de rendimiento (Esquema 17).

³⁵ P. C. W. Hogendoorn, *Ann. Oncol.* **2010**, *21*, 204-213; b) P. Kaatsch, *Cancer Treat. Rev.* **2010**, *36*, 277-285

³⁶ Zijan, G.; Zhenqin, Z.; Xiaoyong, W.; Cheng, L.; Chengcheng, Z.; Changli, Z.; Kun, W. *Chem Asian J.* **2017**, *12*, 1659-1667



Esquema 16

Inicialmente, analizaron la permeabilidad celular del compuesto **55** en células de osteosarcoma U2OS por 24 horas y se monitoreó por medio de ICP-MS, encontrando que las células contenían $2.49 \pm 0.12 \mu\text{g Pt}/10^6$ para el complejo de platino, lo que indica que se internalizaba de manera adecuada. Para comprobar la actividad antiproliferativa, utilizaron células de osteosarcoma U2OS y MG-63, encontraron que la IC_{50} del complejo de platino **55** fue de $6.21 \pm 2.69 \mu\text{M}$ contra las células U2OS, mientras que las células MG-63 resultaron ser insensibles a

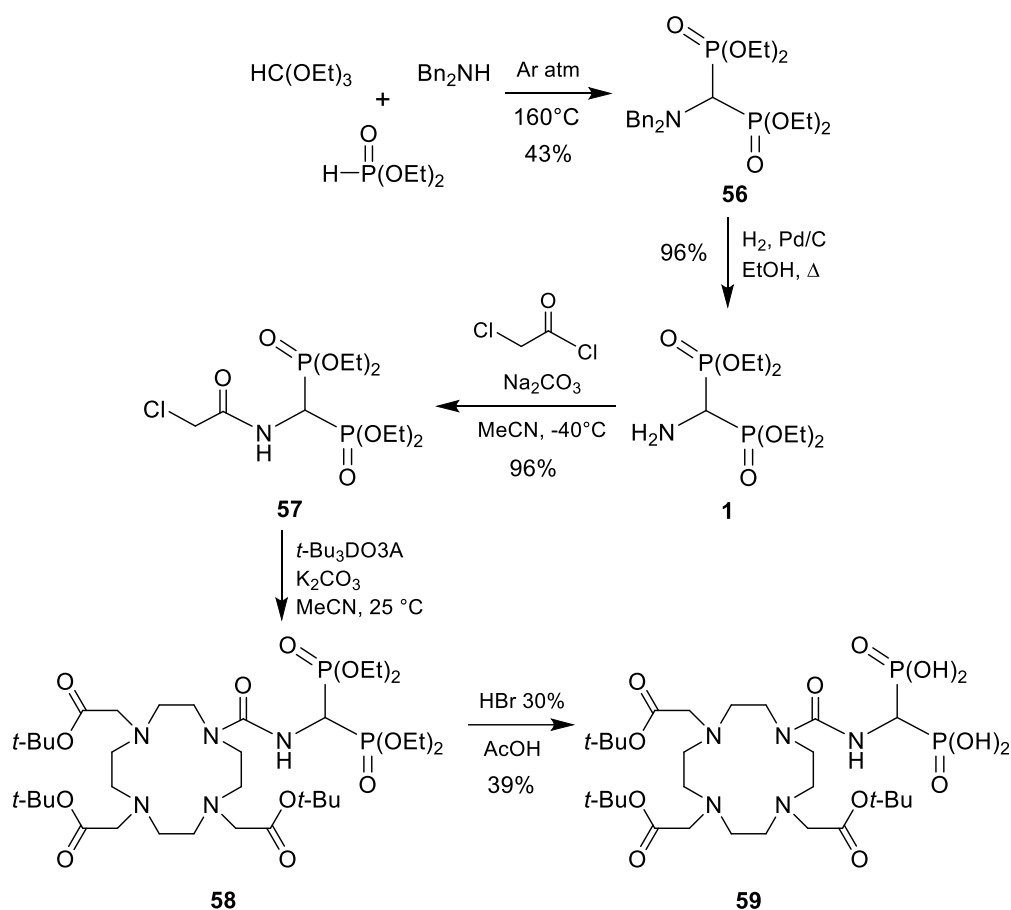
este tipo de compuestos. Para evaluar si la actividad inhibitoria de este tipo de células se debía a la inducción del proceso de apoptosis, llevaron a cabo un ensayo midiendo la fosfatidilserina del citoplasma, permitiendo diferenciar de una apoptosis temprana, tardía o necrosis. El complejo de platino rápidamente expone la fosfatidilserina ocasionando que se pierda la integridad de la membrana plasmática. Para conocer la DL_{50} , se analizó el cambio de peso y la mortalidad en ratones 14 días después de una inyección de este complejo, y se encontró que la DL_{50} se encuentra a una concentración de 4.32 mg Kg^{-1} .

9. Agentes de imagen.

Los estudios que son realizados por medio de la técnica de Resonancia Magnética Nuclear son el método no invasivo más poderoso para poder realizar observaciones de los distintos tejidos que constituyen al cuerpo. Esto se lleva a cabo utilizando un equipo que genera un campo magnético que está entre 0.5 y 2 Teslas. Para este tipo de estudio, se utilizan contrastes paramagnéticos, los cuales permiten observar mejor el tejido corporal. Para realizar estudios de imagen, se utiliza el Gd(III), debido a que posee un momento magnético grande y tiempo de relajación largo. Kubicek y colaboradores³⁷ reportaron la síntesis de análogos de ligantes poliaminocarboxilato fosfonato para investigar su utilidad como agentes de contraste para RMN en estudios de imagen en el tejido óseo.

La síntesis inició con la reacción multicomponente entre ortoformiato de trietilo, bencilamina y fosfito de dietilo, dando como resultado al producto **56** con un rendimiento químico del 43%. Posteriormente, se hizo una hidrogenólisis, obteniendo **1** con un rendimiento del 96%. A continuación, **1** se hizo reaccionar con cloruro de cloroacetilo, en presencia de carbonato de sodio, obteniendo **57** con un rendimiento 96%. En la siguiente etapa, se llevó a cabo la reacción de **57** con $t\text{-Bu}_3\text{DO}_3\text{A}$, en presencia de carbonato de potasio, dando lugar a **58**. Finalmente, se agregó ácido clorhídrico al 30% y ácido acético, obteniendo el compuesto **59**, con un 30% de rendimiento (Esquema 18)

³⁷ Kubicek, V.; Rudovsky, J.; Kotek, J.; Hermann, P.; Elst, L.; Muller, R.; Kolar, Z.; Wolterbeek, H.; Peters, J.; Lukes, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 16477-16485

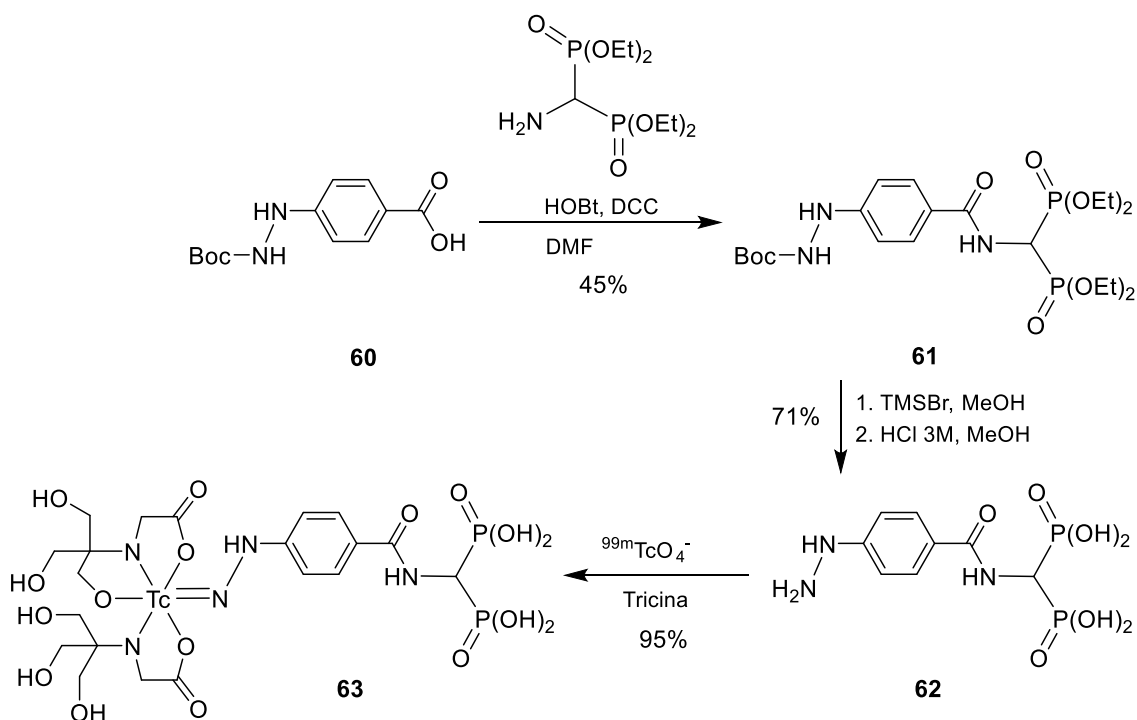


Esquema 17

Para los estudios de imágenes óseas por radio-núcleos, utilizaron contrastes radiactivos, como los complejos de $^{99\text{m}}\text{Tc-MDP}$ y $^{99\text{m}}\text{Tc-HMDP}$. Se requiere de un periodo de tiempo, entre la aplicación y los estudios de imagen, para que la prueba sea efectiva. Liu y colaboradores³⁸ utilizaron la gran afinidad por parte del grupo aminometilénbifosfonato, para sintetizar un ligante que contenga al núcleo de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ e incrementar la concentración del contraste radiactivo en los huesos, mejorando la calidad del estudio. De esta manera, la síntesis inició disolviendo el ácido aminometilénbifosfonato en *N,N*-dimetilformamida y se hizo reaccionar con el ácido 6-(*t*-butoxicarbonil)-hidrazinopiridin-3-carboxílico **60**, en presencia de 1-hidroxibenzotriazol y 1,3-diciclohexilcarbonimida (DCC), obteniendo **61** con un rendimiento químico de 45%. Posteriormente, se añadió bromuro de trimetilsilano y ácido clorhídrico 3 M, dando lugar a **62** con un

³⁸ Liqin, L.; Guangrong, Z.; Yaquian, W.; Min, Z.; Xuebin, W. *J Radioanal Nucl Chem.* **2011**, *288*, 467-473

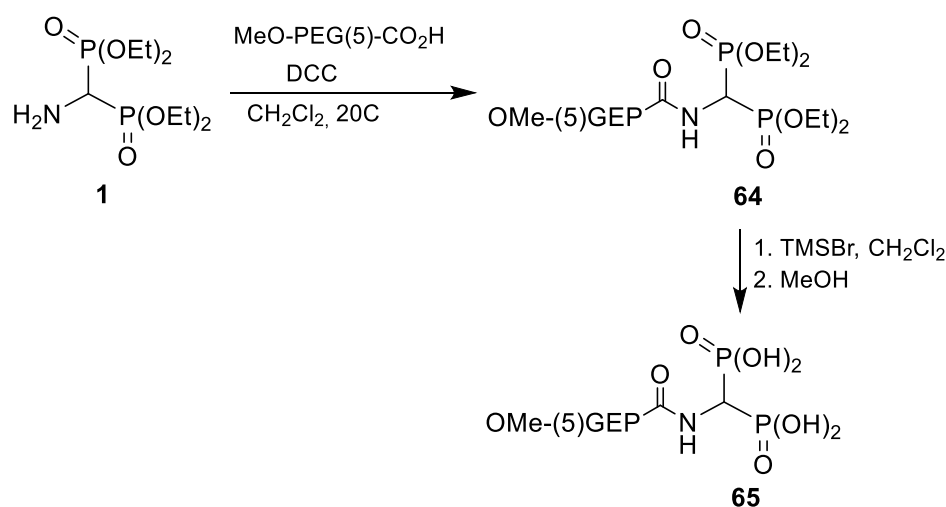
rendimiento del 71%. Para finalizar, se hizo reaccionar **62** con $^{99m}\text{TcO}_4^-$ y tricina, obteniendo **63** con un rendimiento del 95% (Esquema 19).



Realizaron los estudios de biodistribución en ratones y se encontró que la mayor cantidad del compuesto ^{99m}Tc -HYNIC-AMDP **63** se localiza principalmente en los huesos, presentando una concentración de 44.18 ± 8.58 ; 35.08 ± 4.92 ; 36.71 ± 4.99 y 32.41 ± 4.28 %ID/g (porcentaje de dosis inyectada por gramo), medidos en 0.5 h, 1.0 h, 2.0 h y 3.0 h respectivamente. En los riñones se encuentra la segunda mayor concentración, lo que indica que se está eliminando el complejo por medio de las vías urinarias.³⁸

Las nanopartículas de hierro se han utilizado en el campo de la medicina, como contraste en los estudios de resonancia magnética nuclear. El tamaño de las nanopartículas es importante, debido a que, si son muy pequeñas, rápidamente son reconocidas por los macrófagos presentes en el hígado y el bazo, y son retiradas del torrente sanguíneo. Por el contrario, si las partículas son de un tamaño superior a varios micrómetros, éstas pueden acumularse en los capilares de los pulmones, produciendo un daño severo. Para evitar que las nanopartículas

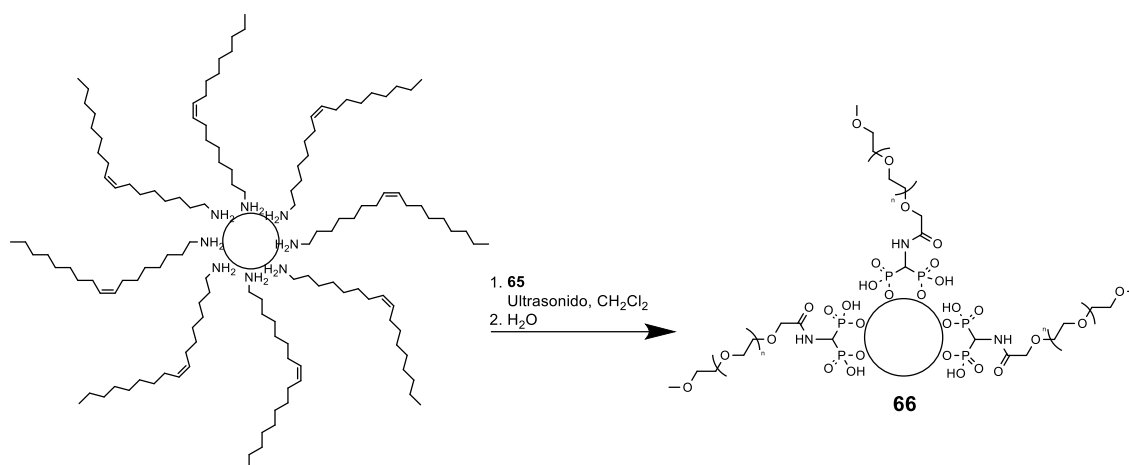
sean capturadas por las células del cuerpo, Sandiford y colaboradores³⁹ plantearon la síntesis de nanopartículas con un largo periodo de circulación para realizar una angiografía, utilizando un polímero que contiene al grupo aminometilénbifosfonato, que recubre las nanopartículas de hierro, confiriéndoles gran estabilidad. Así, se llevó a cabo la reacción entre el aminometilénbifosfonato de tetraetilo **1** y el polímero MeO-PEG(5)-CO₂H, obteniendo **64**. A continuación, se agregó bromuro de trimetilsilano y metanol, con lo cual se obtuvo **65** como producto (Esquema 20).



Esquema 19

Por otra parte, efectuaron la reacción de polimerización de polietilenglicolización. De esta manera, se utilizaron SPIOs (superparamagnetic iron oxide NanoParticles) cubiertas con oleilamina y se hicieron reaccionar con un exceso de **65**, en un baño sónico, hasta que se evaporó casi todo el diclorometano. A continuación, se agregó agua para lavar el polímero con las nanopartículas **66** (Esquema 21).

³⁹ Sandiford, L.; Phinikaridou, A.; Protti, A.; Meszaros, L.; Xianjin, C.; Yong, Y.; Frodsham, G.; Williamson, P.; Gaddum, N.; Botnar, R.; Blower, P.; Green, M.; de Rosales, R. *ACS Nano*. **2013**, *7*, 500-512



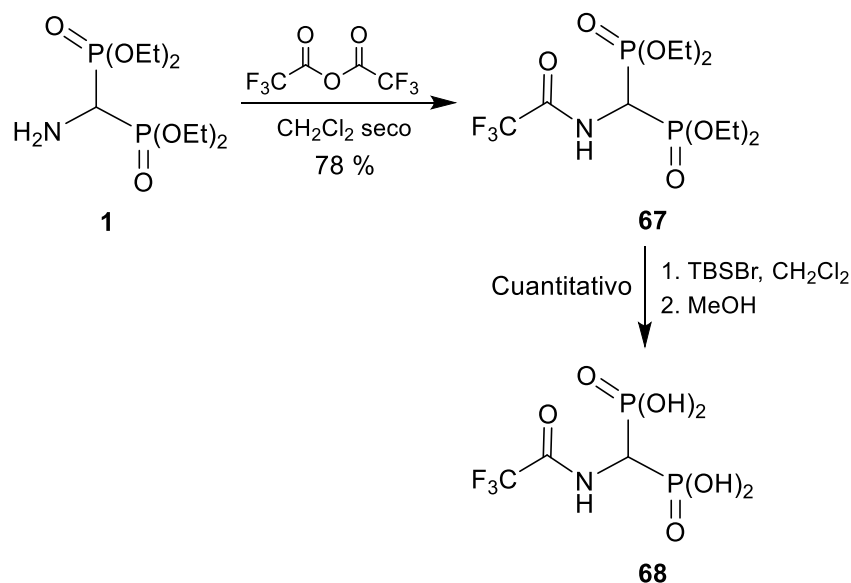
Esquema 20

Como parte de las pruebas *in vitro*, colocaron el compuesto PEG(5)-BP-USPIOs **66** como contraste en un escáner clínico de 1T y se observó un incremento de la señal en la sangre, el corazón y otros órganos vascularizados, cayendo en 40 minutos un 50% de su intensidad. Para poder obtener una imagen clara en humanos se debe de utilizar una concentración de 40-70 $\mu\text{mol Fe/Kg}$, pero con el compuesto **66** se utilizó una concentración de 10 $\mu\text{mol Fe/Kg}$. También llevaron a cabo el estudio de biodistribución con la técnica de imágenes por SPECT, y obtuvieron un resultado similar que con el estudio de MR, donde la mayor parte de la señal se encuentra en el corazón y en los órganos vascularizados. La concentración máxima se alcanzó a los 45 minutos y la fase de eliminación fue después de 80 minutos. Al mismo tiempo, se observó un incremento de la señal en los órganos no vasculares, como los huesos (rodillas) y la vejiga, presentando una vida media de 2.97 horas y sin acumulación en el hígado.³⁹

La técnica de RMN permite obtener imágenes de alta resolución de los tejidos blandos del cuerpo sin que se necesite hacer la emisión de radiación ionizante. Tiene como desventaja que no se puede cuantificar la intensidad de las señales emitidas por los contrastes⁴⁰. A causa de esto, se empezaron a investigar contrastes que contengan ¹⁹Fluor, debido a que la señal que emite puede ser cuantificada. Kenny y colaboradores⁴⁰ utilizaron el grupo

⁴⁰ Kenny, D.; Shaw, K.; Sivachelvam, S.; White, A.; Botnar, R.; de Rosales, R. *J Fluor Chem.* **2016**, *184*, 58-64.

aminometilenbisfosfonato para unirlo a un grupo trifluorometilo y realizar la medición de la señal del flúor. De esta forma, se hizo reaccionar el aminometilenbisfosfonato **1** con el anhídrido trifluoroacético en diclorometano seco, obteniendo **67** con un 78 % de rendimiento químico. Posteriormente, se adicionó bromuro de trimetilsilano en diclorometano y metanol, permitiendo obtener **68** con buenos rendimientos químicos (Esquema 22).

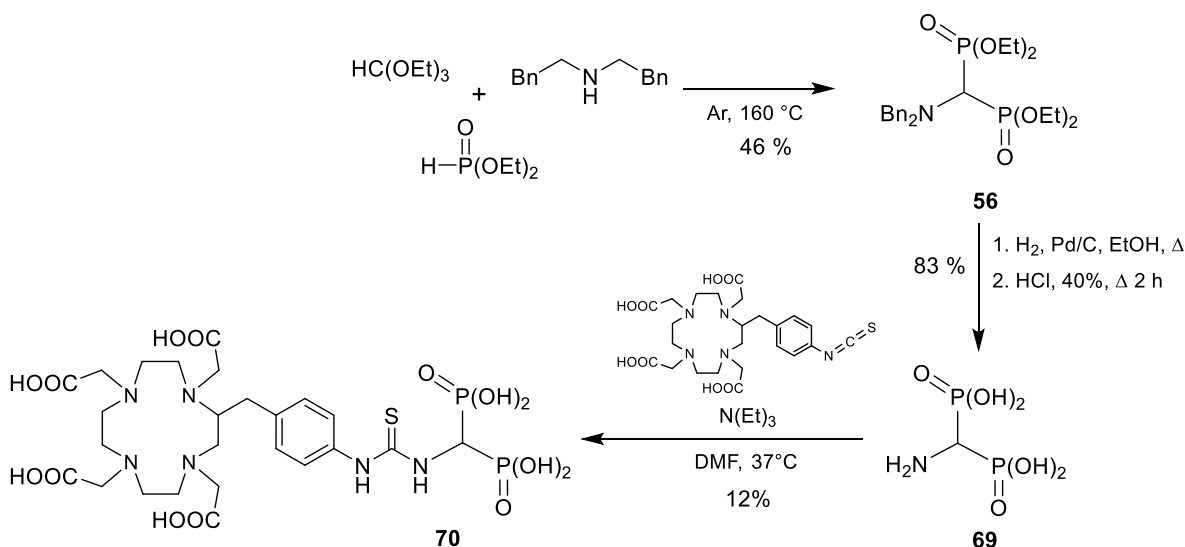


Esquema 21

Para realizar los estudios *in vitro* del compuesto **68** y conocer sus propiedades como agente de contraste, disolvieron⁴⁰ en agua a una concentración de 27, 54 y 108 mM respectivamente, y se utilizó un escáner preclínico de MRI de 9.4 T, mostrando que, a una alta concentración en mM, se puede observar en la muestra. El compuesto es estable por 5 horas a un pH de 7 y a 37°C. Inyectaron el compuesto en ratones, y por medio de un estudio de imagen SPECT, pudieron observar que al inicio, el compuesto solamente se ve en el sistema urinario y en algunas áreas del hígado, lo que se explica por la excreción del compuesto. El hígado fue el órgano que presentó la señal más intensa, posiblemente porque está compuesto principalmente por moléculas lipofílicas, donde la fluoración incrementa la lipofilidad del compuesto **68**. Encontraron que en concentraciones mayores a 20 mg/Kg, se puede presentar toxicidad, y para que la señal de ¹⁹F-MRI sea detectable, se deben de administrar 150 mg/Kg, para un ratón de 20 gramos.

El cáncer de mama, próstata y pulmón, mayoritariamente generan metástasis en el tejido óseo. Para conseguir un diagnóstico, se ha utilizado el complejo ^{99m}Tc -bisfosfonato, aprovechando la afinidad del grupo aminometilenbisfosfonato hacia los iones de Ca^{2+} presentes en la hidroxiapatita. Chakraborty y colaboradores⁴¹ utilizaron el grupo aminometilenbisfosfonato para sintetizar varios complejos con ^{68}Ga y ^{153}Sm , y detectar los sitios donde ocurría la metástasis en el tejido óseo.

La reacción inició con 3 reactivos: el ortoformiato de trietilo, dibencilamina y fosfito de dietilo, en una atmósfera de argón a 160°C , obteniendo **56** con un rendimiento químico del 46%. Posteriormente, se hizo una hidrogenólisis y después se agregó ácido clorhídrico al 40%, bajo condiciones de reflujo, dando lugar a **69** con un 83% de rendimiento. Posteriormente, se añadió *p*-SCN-Bn-DOTA en *N,N*-dimetilformamida, generando **70** con un rendimiento del 12% (Esquema 23).



Esquema 22

En las pruebas de biodistribución en ratas Winstar, encontraron que el complejo de ^{68}Ga -**70** se acumula rápidamente en el esqueleto hasta un 36.27 ± 2.05 % ID los primeros 10 minutos, después de ser administrado, e incrementa hasta los

⁴¹ Chakraborty, S.; Goswami, D.; Chakravarty, R.; Khan, S.; Sarma, H.; Dash, A. *Chem Biol Drug Des.* **2018**, *92*, 1618-1626.

46.23 ± 2.65 % ID, a los 60 minutos posteriores a su administración, siendo eliminado rápidamente de la sangre, y otros tejidos. En los riñones hay una acumulación del 4.13 ± 0.35 % los primeros 10 minutos después de administrar la dosis, pero gradualmente disminuye con el tiempo. Para el caso del complejo $^{153}\text{Sm-70}$, a los 30 minutos después de la administración, se encontró una concentración alta en el esqueleto de 46.36 ± 2.18 % ID, y se eliminó de la sangre en un periodo de 3 horas, sin encontrarse una acumulación significativa en la mayoría de los órganos y tejidos. En el tejido óseo, se encontró que se retenía hasta 96 horas, periodo mayor al periodo de las pruebas del estudio. El complejo $^{68}\text{Ga-70}$ mostró una gran afinidad por la hidroxiapatita con un $K_d = 56 \pm 12$, corroborando los estudios de biodistribución donde se observó que el complejo $^{68}\text{Ga-70}$ se encuentra en su mayoría en el esqueleto. En el caso del complejo $^{153}\text{Sm-70}$, se encontró que también tiene una gran afinidad por la hidroxiapatita obteniendo un $K_d = 1209 \pm 12$. Estos resultados mostraron que estos complejos son muy prometedores como radiofarmacéuticos para actuar como agentes de imagen y como paliativos para tratar el dolor producido por el cáncer.⁴¹

10. Discusión.

El aminometilenbisfosfonato de tetraetilo presenta dos características principales que explican su amplia incorporación en compuestos biológicamente activos: la primera es la presencia del grupo fosfonato que le permite imitar al intermediario tetraédrico de la hidrólisis peptídica y actuar como inhibidores enzimáticos; y la segunda, es su gran afinidad por el tejido óseo, por lo que puede unirse a otras moléculas con actividad conocida para hacerlos más selectivos.

Los trabajos aquí analizados, permiten tener una visión generalizada de la importancia que tienen los α -aminometilenbisfosfonatos. Ya que poseen una gran afinidad por el mineral que constituye el hueso, se pueden utilizar para diseñar nuevos fármacos que sean selectivos para tratar enfermedades específicas del tejido óseo, evitando el uso de otro tipo de fármacos que ocasionan efectos secundarios. Para poder seguir con la investigación de este tipo de compuestos, se necesitan preparar bibliotecas más grandes de

moléculas, que nos permitan entender el efecto de la modificación estructural sobre su actividad biológica.

Al utilizarse como agentes de contraste, dicha afinidad por el tejido óseo, permite identificar dónde se encuentra localizado algún tipo de cáncer óseo, y así poder darle un tratamiento más puntual. En esta revisión, se encontró que la actividad más estudiada es la antibiótica, al actuar como inhibidor de enzimas presentes en bacterias, o como un grupo unido a otro compuesto con actividad antibacteriana conocida, haciéndolo más afín por el hueso y por lo tanto de características ideales para nuevos tratamientos de infecciones óseas, debido a que es bastante complicado que los antibióticos tradicionales lleguen en las concentraciones suficientes para tener un efecto notorio contra la infección.

Respecto a la toxicidad de los compuestos mencionados en esta revisión, para la molécula **68**, se encontró que presenta toxicidad en concentraciones muy bajas, pero se le atribuye a que la molécula es un compuesto fluorado, haciendo que sea altamente liposoluble y por ello se deben de administrar concentraciones bastante altas para poder observar una señal intensa en la prueba de imagen SPECT.

11. Conclusiones.

De esta revisión bibliográfica, se puede concluir que los compuestos que incorporan el α -aminometilenbisfosfonato de tetraetilo, tienen una gran gama de aplicaciones, debido a que se puede aprovechar la afinidad que presentan por el tejido óseo logrando tratamientos mucho más selectivos, disminuyendo los efectos secundarios que puede presentar algunas moléculas y también se puede aprovechar esta característica para poder acoplarlo a compuestos utilizados en estudios de imagen, ayudando a localizar de una manera más sencilla y efectiva los sitios en donde se encuentra algún padecimiento en el tejido óseo, aprovechando que el metabolismo celular en células cancerígenas, es mucho mayor, haciendo que las concentraciones de estos compuestos se acumulen en una zona específica en el cuerpo. Lo anterior también permite disminuir la dosis que debe administrarse, lo que reduce la aparición de efectos secundarios. Se espera que este trabajo de revisión contribuya a ampliar la visión que se tiene

respecto a las aplicaciones que tienen los compuestos que incorporan el fragmento aminometilenbisfosfonato de tetraetilo, y también fomentar la creatividad, para poder idear nuevas rutas sintéticas de derivados de estos compuestos, profundizar en su estudio y encontrar nuevas moléculas de interés farmacológico que puedan ser utilizadas para mejorar la salud y calidad de vida de las personas.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



VOTOS DE APROBATORIOS

Secretaría Ejecutiva del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas Aplicadas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

P r e s e n t e.

Por medio de la presente le informamos que después de revisar la versión escrita de la tesis que realizó el C. **CARLOS IVAN ORTEGA ESPINOSA** con número de matrícula **20164010043** cuyo título es:

“Uso del Aminometilbifosfonato de Tetraetilo como intermediario en la síntesis de moléculas bioactivas”

Consideramos que **SI** reúne los méritos que son necesarios para continuar los trámites para obtener el título de **LICENCIADO EN DISEÑO MOLECULAR Y NANOQUÍMICA**.

Cuernavaca, Mor a 09 de mayo de 2022

Atentamente
Por una universidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM de los siguientes:

Dr. José Mario Ordóñez Palacios	PRESIDENTE
Dr. Iván Omar Romero Estudillo	SECRETARIO
Dr. José Luis Viveros Caballos	VOCAL
Dr. Nazario López Cruz	PRIMER SUPLENTE
Dra. María de los Ángeles Ramírez Cisneros	SEGUNDO SUPLENTE

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSE LUIS VIVEROS CEBALLOS | Fecha:2022-05-09 15:01:27 | Firmante

9s+F6BDhJbtG7IKfIjz+bBiqcTxZBZKT4bqn8QDxYCKBwTYbdoWp62cF/8r4lecl1dBq0rs4L5aiH14scyp0VczpaLjPmmFCUWVHnhuqVisDAQJODNtlhWIFNUHz//hKph8Oxpt7iq7W sN6RNrX9x8UYBsL8qN5lqu5+pSTAKn/TW3qerkNowU6VJ3cGUy0saa5fNzbsthmX9xaQ/+Ez9jGtjz6XSyfo+hTMDIObPNI86p0+7GOTGHw2YDRbJuqM92KLM/x/VDQMriQDFI R3O4vgzZSBEpP7kbaec+DQtkUbMynzmVZvt9j5N/PABmiKI25DVOYasIFqYwitOHCA==

JOSE MARIO ORDOÑEZ PALACIOS | Fecha:2022-05-10 08:09:45 | Firmante

5Blq7z7m4UmYJOVkhIMySrnwT5z1kZ5xEqW8MM1SBkDeXeM2YhxBWXi7r90baAujPho9Ag/gISwb6LAVjLwZbYfXkRbmzOZzISYof1N/OE2pp5V5kIGRCJCGV73uc+QnvuQao yv31rhP0i63AnZCnARmIF6YprV/F+EBYG5MX1JZXMD3cu07jAgnfnOoNC11mtRQKlpV+LRA+kkFwftoQH+b8HPCZFvH7HKddsBp4ux5DJizQTeh72Xat+XmgG0zacBog9SZ5LF P/Atq6aubglDcM+OnU8wggciCYRTMLq0HHLvik0cLtuQzdoG6A6L9oIk/p9N7Ll0adh+AYaKHQ==

MARIA DE LOS ANGELES RAMIREZ CISNEROS | Fecha:2022-05-10 12:36:16 | Firmante

jbrQudZ7LzG9vVpgis7UfzTT8s/3W795i6VZkhsG/yWnpknYTGzVK2tFFQMSmgQ0x4rKEwof8CGZVPkuwNWg7OFNIEGoOyAS+qdKfj3/mbJOYsdRxywyztZw641cBZPYrB8UUW b0c0dJ2bQvd1hXgsMmTLaNMI/iw/JdpCIX3qOjEeauWmdaCH5ITnurMTa6SdnTr3wdjYk2gcEm15xZbNTQ/bmxBIW/7CJ89Om2He1ya6PMkjNdLycIrlsWdkgixsbY8SUsv2gpfY2 FpFKZK8frUblnfrZvhsj8q3xb2utfumNtjVn+XfWq1ttRb1eATfZ3NHN8lc/MmA6P3zA==

NAZARIO LOPEZ CRUZ | Fecha:2022-05-11 17:26:38 | Firmante

HUDZefyJfD9xpDB0fzwoF7ZluPoxqtq7Nmk/9XhaUVD0UQ7aXLYrtGioaE5OAb7qyhkBE0avwgc0c/nivAcNKRTKKOpPG6p8JkyIXhJ/trZ4MFK/7TQM02iQ6ADSciW1bzD3SwO FsUfM7gB8hPB6E4eJXicsWKMmagajWJSGBA/tFP9QkMFk88BS2IPC4BW5fMHa0C8tKMwdsS/Yk3SRndJd+w5k9bYRH+JADnCY3yU15zlutMigL2wvHGR+t5Ee/sdonUkpYvOVKK 0C249Htjd9VnFR0GAzxpDFTn67raXpGwYBDt5AnEYR8JPuGSildaYfrM9B/5FJNXaXpnxJg==

IVAN OMAR ROMERO ESTUDILLO | Fecha:2022-05-18 19:08:14 | Firmante

SUtiqoPoXQ9fFcxikEtY/3nuVDM/vU3gtYqk5gsJvKbsC/Oe7uVWS9bkgFAGtXQeLDhKtkzxd8hWk6egrbiVZLAlYMVERAA4krRuhmWC8TE8UYOeWZAdE4X2FsGtXasN+O0+Z mZrLhNpRhna6NS3vCIsveW4dTJKabl1ZQhnbOgljvUQIGojWE6NAfWS04A9mBNIS3IwvpATHnSBUGBkeifWzD2cgzG3lq+64wcmMMGj8GSMj6ExGcXb/ellZ7XQ5a7S6PxfRmkij Yt/5IS0l/SC8uAFTs/YXsaxk1W+A9czLN6ICU+L87150poUBsMp+mJKndf6Y7G7kpkCOatjA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



fWvR2sjlp

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/RJ4Ma2hzjwBMczn2KMJuueU1scp2owl>