





I + D de moléculas bioactivas a partir de 5-hidroximetilfurfural vía reacciones multicomponente verdes

Ing. Jean Pierre Quishpe Nasimba

Tesis de Maestría

Programa de Posgrado en Química de la Facultad de Química Universidad de la República Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas

> Abril 2025 Montevideo – Uruguay





I + D de moléculas bioactivas a partir de 5-hidroximetilfurfural vía reacciones multicomponente verdes

Ing. Jean Pierre Quishpe Nasimba

Tesis de maestría presentada como uno de los requisitos para obtener el título de Magíster en Química

> Directoras de tesis: Prof. Dra. Virginia López G. Dra. Mariana Ingold F.

Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Universidad de la República Laboratorio de Síntesis Orgánica y Desarrollo de Fármacos, Institut Pasteur de Montevideo

> Tribunal de defensa de tesis: Dra. Estefanía Dibello R. Dr. Marcos Couto S. Dra. Romina Pagotto R.

"Un peu de science éloigne de Dieu, mais beaucoup y ramène"

Louis Pasteur

Agradecimientos

Esta experiencia me ha sido gratificante desde el punto de vista personal, ya que me permitió progresar científicamente y desarrollar nuevas habilidades de investigación. En primer lugar, me gustaría expresar mi profundo agradecimiento a mis tutoras, por su orientación y apoyo a lo largo de mi formación. A la Dra. Virginia López, le agradezco por la confianza depositada en mí al brindarme la oportunidad de ser parte de su grupo de investigación en el Laboratorio de Síntesis Orgánica y Desarrollo de Fármacos del Institut Pasteur de Montevideo (IPM). Valoro especialmente su preocupación y su buena disposición en todo momento. Asimismo, quiero agradecer a la Dra. Mariana Ingold, por su disponibilidad, paciencia y acompañamiento durante la etapa experimental de este proceso. También aprecio las oportunidades que me presentaron para viajar y participar en diferentes congresos que enriquecieron mi experiencia de vida.

A la vez, me gustaría agradecer al Dr. Williams Porcal por los numerosos análisis y sus inestimables comentarios perspicaces que contribuyeron a este proyecto. También deseo expresar mi sincero agradecimiento a la Dra. Paola Hernández, quien me recibió en el Departamento de Genética del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) durante las pasantías de investigación, por su invaluable guía y formación práctica en técnicas de cultivo celular.

A continuación, agradezco a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) por su apoyo financiero a través del otorgamiento de una beca de posgrado de dos años (POS_FCE_2021_1_101150), así como al Programa Solidario del Institut Pasteur de Montevideo por haberme otorgado un apoyo económico provisional de seis meses (llamado N° 10-24) para completar el desarrollo de la tesis.

Quiero extender mi agradecimiento a mis compañeros de laboratorio, Q.F. Tiago Tassano, Dr. Alejandro Peixoto, M.Sc. Lucía Colella y Dra. Victoria de la Sovera, por su amabilidad y disposición, y a quienes les deseo éxitos en sus futuros proyectos. También agradezco al Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear de Facultad de Química, donde se realizaron las espectroscopías de RMN, y a la Unidad Tecnológica de Bioquímica y Proteómica Analíticas del IPM, que facilitó la espectrometría de masas.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer especialmente a mi familia en Ecuador por su aliento y apoyo durante este tiempo. Son lo más valioso que tengo en la vida. Siento gran admiración por el profesionalismo de mi madre, Martha Nasimba, quien, al priorizar las necesidades de sus dos hijos por encima de las suyas, me mostró el verdadero significado del amor incondicional. Le estaré eternamente agradecido por su inquebrantable apoyo. A mi padre, Alfonso Quishpe, cuya memoria perdura en mi corazón. A mi adorable hermana, Valentina Quishpe, por estar siempre presente y por su confianza en mis capacidades; te amo mucho. Y a mi abuelita, Valentina Nasimba, por el amor, la fe y los sacrificios que hizo por nuestra familia. Gracias familia por su amor, y contribución a mis logros.

Resumen

En la actualidad, la industria farmacéutica experimenta una creciente demanda de medicamentos de "moléculas pequeñas", impulsada por el aumento de la prevalencia de enfermedades crónicas, la necesidad de medicamentos orales más accesibles y los avances en las tecnologías de descubrimiento de fármacos. No obstante, una parte importante de las materias primas utilizadas en esta industria son de origen fósil, es decir, se puede rastrear su origen hasta el petróleo crudo. Esta dependencia de recursos no renovables plantea desafíos importantes, especialmente en un contexto donde nuestro planeta enfrenta crisis ambientales como el cambio climático, las emisiones de gases de efecto invernadero y el agotamiento de las reservas de petróleo.

El impacto ambiental del uso de recursos no renovables, junto con la contaminación asociada, se ha convertido en una preocupación crítica para la sociedad moderna. En respuesta, la transición a fuentes renovables y el desarrollo de tecnologías sostenibles han emergido como prioridades clave en la investigación científica y tecnológica. Entre los recursos renovables, la biomasa se destaca como una alternativa valiosa, porque se puede reponer en un plazo de tiempo relativamente corto y su suministro es prácticamente ilimitado. Uno de los compuestos orgánicos más interesantes derivados de la biomasa es el 5-hidroximetilfurfural (HMF). Debido a su funcionalidad versátil, el HMF es un intermediario prometedor en la producción de diversos productos químicos de base biológica lo que lo convierte en un actor preponderante en la transición hacia una producción química sostenible.

El presente trabajo emplea la reacción multicomponente de Passerini como estrategia para la síntesis orientada a la diversidad (*diversity-oriented synthesis*, DOS). Esta clase de reacciones son particularmente adecuadas para metodologías de síntesis verde, ya que ofrecen una excelente economía atómica, un menor esfuerzo sintético y una reducida generación de residuos, lo que refuerza su compatibilidad ambiental. Además de aprovechar las características inherentes de las reacciones multicomponente (MCR), se integraron otras consideraciones respetuosas con el ambiente para mejorar aún más el proceso. Este enfoque no sólo permitió obtener compuestos orgánicos estructuralmente diversos de manera rápida y eficiente, sino que también aseguró la alineación con los principios de la química verde y con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030. Estos esfuerzos apuntan a desarrollar procesos de síntesis sostenibles y ambientalmente responsables aplicables a la química medicinal, manteniendo al mismo tiempo una alta versatilidad en la obtención de nuevos compuestos.

El objetivo general de este estudio fue explorar la reactividad del HMF, estudiando su comportamiento como componente carbonílico en la reacción multicomponente de Passerini y en su variante Passerini-Smiles con el fin de generar nuevas moléculas bioactivas. Se sintetizó una quimioteca de 13 α -aciloxi carboxamidas en condiciones sin disolventes, a temperatura ambiente, durante 24 horas y con rendimientos variables (5% – 70%). Además, se obtuvo un producto inesperado, una α -aciloxi carboxamida minoritaria con una formilación en la cadena lateral del sistema furano, ampliando así la diversidad química. Se exploró también la reacción de Passerini-Smiles, aunque en las condiciones probadas no se obtuvieron productos derivados.

Posteriormente, se realizó la evaluación biológica preliminar de algunos de los compuestos sintetizados para determinar su actividad antiproliferativa en líneas celulares de cáncer de vejiga T24 y 253J, observándose una actividad moderada. Dentro de esta serie, se identificaron candidatos con perfiles diferenciados, destacándose uno con mayor eficacia en ambas líneas celulares y otro con actividad "selectiva" sobre 253J. Además, en al menos un caso, el IC₅₀ del compuesto (29,80 μ M) registró un efecto superior al del cisplatino (63,84 μ M) en la línea celular 253J. Estos hallazgos sugieren el potencial de estos compuestos como puntos de partida para futuras optimizaciones en el desarrollo de nuevas moléculas con actividad antitumoral.

En suma, este enfoque no sólo permitió obtener compuestos orgánicos estructuralmente diversos de manera rápida y eficiente, sino que también se alineó con los principios de la química verde y los ODS, demostrando la viabilidad de desarrollar procesos de síntesis sostenibles aplicables a la química medicinal.

Palabras clave:

química verde; 5-hidroximetilfurfural; reacción multicomponente Passerini; cáncer; actividad antiproliferativa

Abstract

The pharmaceutical industry currently faces growing demand for small-molecule drugs, driven by the rising prevalence of chronic diseases, the need for more accessible oral medications, and advances in drug discovery technologies. However, a significant portion of the raw materials used in this industry are fossil-derived, traceable to crude oil. This reliance on non-renewable resources poses major challenges, particularly in the context of global environmental crises such as climate change, greenhouse gas emissions, and the depletion of oil reserves.

The environmental impact of non-renewable resource use, along with the associated pollution, has become a critical concern for modern society. In response, transitioning to renewable feedstocks and developing sustainable technologies have emerged as key priorities in scientific research. Among renewable resources, biomass stands out as a valuable alternative due to its rapid replenishment and virtually unlimited supply. One of the most promising biomass-derived organic compounds is 5-hydroxymethylfurfural (HMF). Owing to its versatile functionality, HMF serves as a key intermediate for producing diverse biobased chemicals, making it a key player in the transition toward sustainable and renewable chemical production.

This work employs the Passerini multicomponent reaction (MCR) as a strategy for diversity-oriented synthesis. MCRs are particularly well-suited for green synthesis methodologies, offering excellent atom economy, reduced synthetic effort, and minimal waste generation, thereby enhancing environmental compatibility. Beyond leveraging inherent MCR advantages, additional eco-friendly considerations were integrated to further optimize the process. This approach not only enabled rapid and efficient synthesis of structurally diverse organic compounds but also aligned with Green Chemistry Principles and the 2030 Agenda's Sustainable Development Goals (SDGs). These efforts aim to develop sustainable, environmentally responsible synthesis processes applicable to medicinal chemistry while maintaining high versatility in generating novel compounds.

The main objective of this study was to explore HMF reactivity by investigating its behavior as a carbonyl component in the Passerini MCR and its variant, Passerini-Smiles, with the goal of generating new bioactive molecules. A chemolibrary of 13 α -acyloxy

carboxamides was synthesized under solvent-free conditions at room temperature over 24 hours, achieving moderate yields (5% – 70%). An unexpected minor product—a formylated α -acyloxy carboxamide on the furan side chain—was also isolated, expanding chemical diversity. The Passerini-Smiles reaction was also explored, although under the tested conditions, no derived products were obtained.

Subsequently, a preliminary biological evaluation of some of the synthesized compounds was carried out to determine their antiproliferative activity on the T24 and 253J bladder cancer cell lines, showing moderate activity. Within this series, candidates with distinct profiles were identified, including one compound with higher efficacy in both cell lines and another with "selective" activity against 253J. Moreover, in at least one case, the compound's IC50 (29.80 μ M) showed a stronger effect than cisplatin (63.84 μ M) on the 253J cell line. These findings suggest the potential of these compounds as starting points for future optimizations in the development of new molecules with antitumor activity.

In summary, this approach not only enabled the rapid and efficient synthesis of structurally diverse organic compounds, but also is aligned with the principles of green chemistry and the SGDs, demonstrating the feasibility of developing sustainable synthesis processes applicable to medicinal chemistry.

Keywords:

green chemistry; 5-hydroxymethylfurfural; Passerini multicomponent reaction; cancer; antiproliferative activity

Abreviaturas

Abreviación	Significado			
ADME	absorción, distribución, metabolismo y excreción			
¹³ C-RMN	resonancia magnética nuclear de carbono-13			
CHEM21	guía de selección de disolventes clásicos y menos clásicos*			
COSY	espectroscopía de correlación *			
DMSO	dimetilsulfóxido			
DOS	síntesis orientada a la diversidad*			
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético*			
EPA	Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos*			
Factor - E	factor ambiental*			
FBS	suero bovino fetal*			
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos*			
GHS	Sistema Globalmente Armonizado*			
HOMO	orbital molecular más alto ocupado*			
HMBC	correlación de enlaces múltiples heteronucleares*			
HMF	5-hidroximetilfurfural			
HMFC	ácido 5-hidroximetil-2-furancarboxílico			
¹ H-RMN	resonancia magnética nuclear de protón			
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución*			
HSQC	coherencia cuántica simple heteronuclear *			
IC ₅₀	concentración inhibitoria media*			
IMCR	reacciones multicomponente basadas en isocianuro*			
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada*			
log P	logaritmo del coeficiente de partición octanol-agua			
LUMO	orbital molecular más bajo desocupado*			
MCR	reacción multicomponente*			
MMF	metoximetilfurfural			
MS	espectrometría de masas*			
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible			
PBS	solución salina tamponada con fosfato*			
P-3CR	reacción de tres componentes de Passerini*			
P. F	punto de fusión			
рКа	logaritmo negativo de la constante de equilibrio ácido (Ka)*			
PS-3CR	reacción de tres componentes de Passerini-Smiles*			
qNMR	resonancia magnética nuclear cuantitativa*			
Ro5	Regla de Lipinski*			
SAR	relación estructura-actividad*			
SRB	Sulforodamina B			
ТА	temperatura ambiente			
TCA	ácido tricloroacético			
TCE	tricloroetileno			

*Abreviaturas originalmente en inglés; traducidas al español para mayor claridad.

Tabla de contenido

Agradecimientos	IV
Resumen	V
Abstract	VII
Abreviaturas	IX
Tabla de contenido	X
Índice de tablas	XII
Índice de figuras	XIII
1. Introducción	16
1.1. La química medicinal: El descubrimiento y desarrollo de fármacos	16
1.2. La química verde, desafiando el status quo para un futuro sostenible	17
1.2.1. Principios de la química verde	19
1.2.2. Factor – E, una métrica de la química verde	21
1.2.3. El rol de los disolventes para la sostenibilidad	22
1.3. Reacciones multicomponente MCR	23
1.3.1. Reacciones multicomponente basadas en isocianuro IMCR	27
1.4. Reacción de Passerini P-3CR	
1.4.1. Mecanismos de Reacción de Passerini	
1.5. Reacción de Passerini-Smiles	
1.6. El 5-hidroximetilfurfural, una plataforma química renovable	
1.7. El cáncer de vejiga	46
2. Objetivos	
2.1. Objetivo general	48
2.2. Objetivos específicos	

3. Estrategia de investigación ²	48
4. Resultados y Discusión	50
4.1. Síntesis química	50
4.1.1. Reacción de Passerini	50
4.1.2. Reacción de Passerini-Smiles	52
4.1.3. Elucidación estructural de los compuestos sintetizados	53
4.2. Evaluación del impacto ambiental: Cálculo y análisis del Factor - E	55
4.3. Propiedades fisicoquímicas	58
4.4. Evaluación de la actividad antiproliferativa mediante ensayo de sulforodamina B	59
5. Conclusiones	74
6. Perspectivas	77
7. Parte Experimental	78
7.1. Síntesis química	78
7.1.1. Generalidades	78
7.1.2. Productos de la reacción de Passerini (P-3CR)	78
7.2. Evaluación biológica <i>in vitro</i>	33
7.2.1. Compuestos evaluados	33
7.2.2. Líneas celulares y condiciones de cultivo	34
7.2.3. Actividad antiproliferativa	34
8. Bibliografía	86

Índice de tablas

Tabla 1. Factores E en diferentes sectores de la industria química	22
Tabla 2. Guía de disolventes CHEM21 de disolventes "clásicos"	23
Tabla 3. Lista cronológica del descubrimiento de algunas reacciones multicomponente	
importantes	26
Tabla 4. Screening de disolventes para la reacción de Passerini modelo de reactividad a	52
Tabla 5. Optimización de las condiciones de reacción	55
Tabla 6. Resultados obtenidos para la P-3CR	60
Tabla 7. Cantidades de las sustancias involucradas en la metodología experimental de la	a
reacción del modelo de reactividad de la P-3CR y cálculo de su factor-E	66
Tabla 8. Predicción in silico de las propiedades fisicoquímicas de los productos de	
Passerini	68
Tabla 9. Efecto antiproliferativo en líneas celulares 253J y T24	71

Índice de figuras

Figura 1. Proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos
Figura 2. (a) Síntesis inicial de múltiples pasos para el intermedio tetralona en
comparación con la ruta mejorada de Finorga de un solo paso. (b) Comparación de la ruta
sintética anterior y mejorada de Pfizer para sertralina (Erythropel et al., 2018)19
Figura 3. Los 12 principios de la química verde y los Objetivos de Desarrollo Sostenible
relacionados20
Figura 4. Comparación de metodologías sintéticas: (a) síntesis convencional de múltiples
pasos y (b) síntesis de un solo paso a través de MCR (Graziano et al., 2023)24
Figura 5. Síntesis de Telaprevir I en base a análisis retrosintético con reacciones
multicomponente (Znabet et al., 2010)
Figura 6. Estructuras de resonancia del isocianuro bajo consideración de los orbitales
atómicos relevantes
Figura 7. Esquema general de la Reacción Multicomponente de Passerini
Figura 8. Síntesis de la euristatina A
Figura 9. Estructura de la azinomicina A
Figura 10. Reacción de Passerini dentro de vesículas formadas por el surfactante catiónico
DODAB en un medio acuoso, destacando el efecto del microentorno en la orientación y
reactividad de los compuestos (Paprocki et al., 2015)
Figura 11. Mecanismo concertado para la Reacción de Passerini basado en la evidencia de
literatura
Figura 12. Mecanismo iónico propuesto para la Reacción de Passerini basado en la
evidencia de literatura
Figura 13. Caminos posibles del ion nitrilio en el mecanismo iónico de la Reacción de
Passerini (Giustiniano et al., 2018)
Figura 14. Mecanismo de pseudo cuatro componentes basado en el método AFIR para la
reacción de Passerini (Maeda et al., 2011)
Figura 15. Mecanismo de pseudo-cuatro componentes basado en el método DFT para la
reacción de Passerini (Ramozzi & Morokuma, 2015)
Figura 16. Esquema general de la Reacción de Passerini-Smiles para el 2-nitrofenol 39

Figura 17. Mecanismo propuesto para la PS-3CR utilizando 2- nitrofenol basado en el
mecanismo concertado de la P-3CR41
Figura 18. Mecanismo propuesto para la PS-3CR utilizando 2-nitrofenol basado en el
mecanismo iónico de la P-3CR41
Figura 19. Deshidratación de carbohidratos de la biomasa a plataformas químicas (Mittal
et al., 2020)
Figura 20. Patrones de reactividad asociados con el HMF (Fan et al., 2019)
Figura 21. Aminación reductiva de 2,5-diformilfurano (DFF) para la síntesis de
norcantarimidas de origen biológico, estableciendo un vínculo entre la biomasa y productos
farmacéuticos con funcionalidad amino (Galkin et al., 2017)
Figura 22. El HMF en reacciones multicomponente
Figura 23. Mortalidad global de cáncer en 2021 (Dattani et al., 2024)
Figura 24. Estrategia de investigación de derivados de HMF potencialmente bioactivos a
través de sistemas multicomponente de Passerini
Figura 25. Modelo de reactividad para P-3CR
Figura 26. Espectros de ¹ H-RMN cuantitativos (400 MHz, CDCl ₃) que comparan las
mezclas de reacción brutas de la síntesis paralela bajo diferentes condiciones de disolvente
y el producto puro. (a) crudo de reacción sin disolvente después de 24 h, (b) crudo de
reacción después de 24 h en un disolvente clásico, CH ₂ Cl ₂ (c) producto de Passerini aislado
y purificado
Figura 27. Materiales de partida sustituidos utilizados para generar diversidad estructural
en la P-3CR. Siete de ellos pueden obtenerse a partir de biomasa vegetal: HMF, MMF,
furfural, HMFC, ácido fórmico, ácido acético y ácido levulínico57
Figura 28. Subproducto adicional utilizando ácido fórmico en la P-3CR
Figura 29. Quimioteca de α -aciloxi carboxamidas obtenidas sustituyendo componentes en
la P-3CR
Figura 30. Reacción multicomponente de Passerini-Smiles ensayada con 2-nitrofenol en
cuatro condiciones experimentales independientes
Figura 31. Espectro de ¹ H-RMN en CDCl ₃ de la α -aciloxi carboxamida 4a63
Figura 32. Espectro de ¹ H-RMN en DMSO de la α-aciloxi carboxamida 5a en la reacción
modelo

Figura 33. Ensayo colorimétrico SRB en placa multiwell, cuatro concentracion	ies
evaluadas por triplicado	70
Figura 34. Efecto antiproliferativo en líneas celulares 253J y T24. Expresado c	omo el valor
de IC ₅₀ \pm el desvío estándar	72

1. Introducción

1.1. La química medicinal: El descubrimiento y desarrollo de fármacos

La química medicinal es una ciencia interdisciplinaria que abarca un vasto dominio situado en la interfaz entre la química y las ciencias de la vida. Se ocupa del diseño y la síntesis de moléculas bioactivas con el objetivo de abordar necesidades médicas (Holbrook & Garneau, 2017). La IUPAC define a la química medicinal como una disciplina centrada en el descubrimiento y el estudio de compuestos biológicamente activos, el estudio de su metabolismo, mecanismos de acción y relaciones estructura-actividad (Wermuth et al., 1998).

La práctica de la química medicinal moderna se asemeja a un proceso de evolución darwiniana forzada dentro del espacio químico. Este enfoque implica ciclos iterativos en los que las moléculas orgánicas se modifican y luego se someten a pruebas biológicas (Tsomaia et al., 2017, p.326). A través de estos ciclos, el químico medicinal desarrolla una comprensión de la relación estructura-actividad (*structure activity relationships*, SAR), identificando las porciones de la molécula esenciales para la actividad biológica y aquellas que no lo son (Patrick, 2023, p.209). Incluso pequeñas modificaciones en la estructura pueden alterar significativamente los tipos y la intensidad de las interacciones de unión con una diana biológica, lo que impacta en la potencia, eficacia y duración de la acción de un fármaco (Harrold & Zavod, 2023, p.165). A pesar de los avances tecnológicos, el descubrimiento de fármacos continúa siendo un proceso que, en muchos casos, se apoya en factores como la serendipia y sobre todo en el conocimiento y la experiencia acumulada de los expertos, más que en la aplicación estricta de métodos sistemáticos.

El desarrollo de un fármaco, por lo general, se divide en cuatro etapas principales (Figura 1): descubrimiento del fármaco, desarrollo preclínico mediante modelos/ensayos celulares y animales, ensayos clínicos en humanos, y finalmente, el proceso de aprobación regulatoria necesario para su comercialización (Biala et al., 2023). El descubrimiento y desarrollo de fármacos son procesos largos y costosos que a menudo superan los 2.000 millones de dólares y suelen tardar más de una década desde el descubrimiento hasta la aprobación final con una elevada tasa de fracaso (Berdigaliyev & Aljofan, 2020; Cai et al., 2020). Entre 2015 y 2020, los fármacos oncológicos representaron el 29 % de las aprobaciones de la FDA, evidenciando un marcado enfoque en el desarrollo de tratamientos contra el cáncer. La mayoría de estos compuestos

cumplieron con la regla de Lipinski, una tendencia también observada en los medicamentos aprobados entre 2010 y 2019 (Bhutani et al., 2021; Brown & Wobst, 2021).



Figura 1. Proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos

En las primeras etapas del descubrimiento de fármacos, la regla de los cinco de Lipinski (Ro5) se emplea para predecir la viabilidad de una molécula como fármaco oral, la vía de administración con mayor aceptación entre los pacientes. Esta regla considera cuatro parámetros: peso molecular (< 500 g/mol), log P (< 5), donantes de enlaces de hidrógeno (< 5) y aceptores de enlaces de hidrógeno (< 10) (Srivastava, 2021). Aunque permite filtrar compuestos con buena absorción y permeabilidad, no contempla factores como los transportadores activos o el metabolismo, que también afectan significativamente la biodisponibilidad (Lipinski et al., 1997), lo que puede limitar la exploración de nuevos espacios químicos. Además, su cumplimiento estricto podría excluir moléculas con potencial terapéutico. En respuesta, se han desarrollado otras reglas, como las de Veber, Egan, Muegge, Ghose y Oprea, que amplían los criterios de evaluación de fármacos orales (Protti et al., 2021).

1.2. La química verde, desafiando el status quo para un futuro sostenible

La química verde, que surgió a principios de los años 90, es un campo relativamente nuevo y emergente enfocado en el diseño de productos y procesos químicos de manera sostenible, mediante la reducción de la contaminación y los riesgos para la salud humana y el ambiente (Anastas & Zimmerman, 2019). Constituye la base de la química sostenible, un concepto más amplio que busca equilibrar el avance de la química con el uso responsable de los recursos naturales (Anastas & Zimmerman, 2018; Anastas et al., 2021). Paul Anastas, científico estadounidense y funcionario de la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), es considerado como el "Padre de la química verde" por sus contribuciones pioneras en este campo (Das et al., 2022). Según la EPA, la química verde, y por extensión la química sostenible, se define como el diseño de productos y procesos químicos que reducen o eliminan tanto el uso como la generación de sustancias peligrosas (Taylor, 2010). Sus principales objetivos incluyen el diseño de reacciones más eficientes, el uso de materiales y fuentes de energía renovables, la utilización de disolventes y reactivos seguros, la prevención de la producción de residuos, entre otros.

La implementación de la química verde en la industria farmacéutica ha dado lugar a avances notables en la optimización de procesos de síntesis. Por ejemplo, Merck y Codexis desarrollaron una síntesis alternativa para la sitagliptina, un fármaco utilizado en el tratamiento de la diabetes tipo 2, que eliminó la necesidad de un catalizador metálico, mejorando tanto el rendimiento como la seguridad del proceso. De manera similar, en la producción de simvastatina, una de las estatinas más prescritas para el control del colesterol, la introducción de una enzima junto con el uso de materias primas de bajo costo permitió un proceso más seguro y eficiente, en reemplazo la síntesis tradicional de varios pasos que dependía de reactivos nocivos (Rathi & Nausheen, 2023). Pfizer optimizó la síntesis de pregabalina, fármaco utilizado para tratar dolor neuropático y la epilepsia, logrando reducir la generación de residuos de 86 kg a solo 17 kg por kg de producto, así como disminuir el consumo energético en un 82% (Taylor, 2010). Además, una ruta optimizada para la síntesis de sertralina (Figura 2), ampliamente utilizada en el tratamiento de trastornos del estado de ánimo y ansiedad, permitió simplificar la obtención del intermediario tetralona, reduciendo el número de pasos de síntesis de cinco a solo uno. A su vez, la modificación de las condiciones de reacción en los pasos posteriores duplicó el rendimiento del producto final y disminuyó el consumo de materia prima. Este nuevo proceso también redujo el número de disolventes empleados de cinco a dos, así como el volumen total de disolvente al 24% del requerido en el proceso original (Erythropel et al., 2018).



Figura 2. (a) Síntesis inicial de múltiples pasos para el intermedio tetralona en comparación con la ruta mejorada de Finorga de un solo paso. (b) Comparación de la ruta sintética anterior y mejorada de Pfizer para sertralina (Erythropel et al., 2018)

1.2.1. Principios de la química verde

En la actualidad, la química enfrenta el desafío de diseñar procesos que sean sostenibles y respetuosos con el ambiente. Es fundamental considerar las propiedades inherentes de las moléculas desde las etapas más tempranas del diseño del proceso químico. Esto permite evaluar si los compuestos y los procesos asociados son agotables o renovables, tóxicos o benignos, y persistentes o fácilmente degradables (Zimmerman et al., 2020). Para mitigar el impacto ambiental causado por los procesos químicos, idealmente se debería utilizar una síntesis perfecta y ambientalmente benigna, con este objetivo se establecieron 12 principios rectores (Figura 3), diseñados para guiar el desarrollo de procesos químicos más sostenibles (Anastas & Eghbali, 2010). Estos principios, introducidos por Paul Anastas y John C. Warner en 1998, proporcionan un marco práctico para la química verde.

La sostenibilidad es un concepto más amplio que abarca no solo el aspecto ambiental, sino también el económico y social a lo largo de todo el ciclo de vida de un producto. Implica crear un equilibrio entre los seres humanos y el uso de los recursos naturales. Está definida como la capacidad de satisfacer nuestras necesidades actuales sin comprometer la capacidad de las generaciones futuras de satisfacer las suyas. En este marco, la implementación de los principios de la química verde se alinea directamente con la consecución de varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Los ODS constituyen 17 objetivos globales adoptados en 2015 por los Estados miembros de las Naciones Unidas (ONU) como parte de la Agenda 2030, con el fin de lograr un cambio social, económico y ambiental. Cada uno de estos objetivos cuenta con metas e indicadores concretos que deben alcanzarse para el año 2030 (Chen et al., 2020).



Figura 3. Los 12 principios de la química verde y los Objetivos de Desarrollo Sostenible relacionados

La prevención de residuos (principio 1) se erige como uno de los pilares de estos principios, porque propone que el diseño de los procesos químicos minimice la generación de residuos. Maximizar la economía atómica (principio 2) garantiza que los átomos de los materiales iniciales utilizados en un proceso se incorporen en su gran mayoría al producto final, minimizando los subproductos innecesarios. El uso de disolventes y auxiliares más seguros (principio 5) reduce los impactos ambientales. El diseño de procesos energéticamente eficientes (Principio 6) ayuda a minimizar el consumo de energía, idealmente operando a temperatura y presión ambiente. Priorizar las síntesis químicas menos peligrosas (principio 3) minimiza la toxicidad para la salud humana y el ambiente. Garantizar que los productos se degraden en sustancias inocuas después de su uso (principio 10) previene la persistencia y la contaminación ambiental. El uso de materias primas renovables (principio 7) respalda el abandono de los recursos no renovables, promoviendo la sostenibilidad (Etzkorn, 2019; Moores, 2009, p.2). Adicionalmente, hoy en día existe una amplia gama de métricas de química verde para comparar rutas sintéticas y metodologías considerando su huella ambiental (Clarke et al., 2018).

1.2.2. Factor – E, una métrica de la química verde

Las métricas de la química verde son un conjunto de indicadores utilizados para describir varios aspectos de un proceso químico determinado en relación con los principios de la química verde (Fantozzi et al., 2023). Para mejorar verdaderamente la eficiencia de un proceso, debemos mirar más allá del rendimiento químico y considerar factores como la selección de disolventes o el uso de materiales derivados de la biomasa, cambiando nuestro enfoque hacia la minimización de residuos (Vaccaro, 2016). Entre algunas métricas cuantitativas se encuentran la eficiencia de carbono, la economía atómica, la eficiencia de masa de reacción o el factor ambiental (Factor - E) (Kurniawan et al., 2021). Cabe mencionar que estas métricas pasan por alto aspectos como la toxicidad, lo que puede subestimar el impacto global del proceso (Phan et al., 2015). También existen métricas semicuantitativas, como la escala ecológica o Eco-escala (Van et al., 2006).

En el contexto de la química verde, el factor E es una métrica empleada para cuantificar el impacto ambiental de un proceso químico, particularmente en términos de producción de residuos. Fue introducido por Roger Sheldon a principios de la década de 1990 como una forma de evaluar la eficiencia y la sostenibilidad de las reacciones químicas. El factor E se define como la relación entre la masa total de residuos generados y la masa del producto deseado. Un valor ideal de factor E igual a 0 representa un proceso con cero residuos. Se considera como residuo a "todo excepto el producto deseado" incluyendo los insumos utilizados en el procesamiento (*work-up*). Si un material se recupera y se reutiliza, no se considera residuo. Esta métrica impulsa la innovación

hacia una síntesis con minimización de residuos (Sheldon et al., 2022). El factor E también es útil para evaluar el impacto ambiental de un proceso industrial específico, como la producción de un dispositivo electrónico. La Tabla 1 muestra los valores de factor E publicados para ciertos sectores de la industria química (Tobiszewski et al., 2015).

Sector industrial	Tonelada del producto	Factor - E
Refinación de petróleo	10^{6} - 10^{8}	< 0.1
Productos químicos básicos	$10^4 - 10^6$	< 1.0 a 5.0
Productos químicos finos	10^{2} - 10^{4}	5.0 a > 50
Industria farmacéutica	10-10 ³	25 a > 100 (25 a > 200)

Tabla 1. Factores E en diferentes sectores de la industria química

1.2.3. El rol de los disolventes para la sostenibilidad

Uno de los desafíos clave en el desarrollo de procesos químicos sostenibles es la selección y el uso de disolventes, ya que estos representan un gran problema por muchas razones, entre ellas: el costo, el tiempo, la energía y la salud humana y ambiental (Denlinger & Mack, 2018). En este contexto, el principio 5 de la química verde enfatiza la importancia de minimizar el impacto ambiental, promoviendo la reducción, sustitución o eliminación de disolventes peligrosos en favor de alternativas más seguras y sostenibles.

La industria farmacéutica, que genera grandes cantidades de residuos, está adoptando cada vez más principios de la química verde como parte de un enfoque más amplio hacia la sostenibilidad. Este compromiso busca minimizar los impactos negativos relacionados con los disolventes y optimizar los procesos (Domingues et al., 2024). Los disolventes representan entre el 80 y el 90 % de la masa total de material no acuoso utilizado en la producción farmacéutica y contribuyen al 75 - 80 % de los residuos generados (Sheldon, 2023), es decir, representan al menos la mitad del material utilizado en un proceso de síntesis de un fármaco. Por ello, limitar su cantidad o seleccionar disolventes "más verdes" mitigarían el impacto ambiental (Prat et al., 2016). Alternativamente, el uso de condiciones sin disolventes también ha demostrado ser una estrategia eficaz para mejorar la sostenibilidad de cualquier reacción química (Chetty et al., 2024).

Una reacción química sin disolvente (*solvent-free*) es un sistema de reacción que se lleva a cabo en ausencia de disolventes, lo que minimiza la generación de desechos y mejora la sostenibilidad del proceso (Sahoo & Banik, 2020, p.524). Los disolventes son un elemento central de la química verde debido a su amplio uso en reacciones, especialmente en las etapas de purificación. Sin embargo, no afectan directamente la composición del producto de la reacción (Byrne et al., 2016). Si bien la función principal de un disolvente en síntesis es solubilizar los reactivos, permitiendo que entren en contacto, interactúen y reaccionen, en ausencia de disolvente, un reactivo líquido puede cumplir esa función, en cantidades mucho menores, lo que reduce la generación de residuos (Métro et al., 2020).

Para mitigar el impacto ambiental asociado al uso de disolventes tradicionales, la química verde promueve el desarrollo y la implementación de disolventes verdes, los cuales se caracterizan por su baja toxicidad, fácil disponibilidad, menor impacto ambiental, no inflamabilidad y la posibilidad de operar a temperaturas de reacción más bajas (Tomar & Jain, 2023). Una guía de selección de disolventes (CHEM21), alineada con el Sistema Global Armonizado (GHS) y regulaciones europeas, clasifica los disolventes en función de criterios de seguridad, salud y ambiente (Prat et al., 2016), como los ejemplos proporcionados en la Tabla 2.

 Tabla 2. Guía de disolventes CHEM21 de disolventes "clásicos"

Familia	Solvente	Seguridad	Salud	Ambiente	Ranking
Agua	H_2O	1	1	1	Recomendado
Éteres	Me-THF	6	5	3	Problemático
Alcoholes	EtOH	4	3	3	Recomendado
	MeOH	4	7	5	Recomendado
Halogenados	CH_2Cl_2	1	7	7	Peligroso

Recomendado: preferible para pruebas iniciales de un proceso. Problemático: se puede utilizar en laboratorios, pero requiere medidas especiales o un alto consumo de energía para aumentar la escala. Peligroso: fuertes restricciones para aumentar la escala; la sustitución es una prioridad.

1.3. Reacciones multicomponente MCR

En la síntesis orgánica clásica, varios pasos conectados en serie conducen al producto final, un enfoque conocido como síntesis de varios pasos (Figura 4). En este proceso, los productos intermedios deben aislarse y purificarse antes de avanzar al siguiente paso, lo que demanda un gran trabajo y tiempo. Además, los rendimientos globales suelen ser bajos, ya que resultan de la multiplicación de los rendimientos individuales de cada paso. Por esta razón, la síntesis orgánica a menudo se mide por la eficiencia y el número de pasos necesarios para producir la molécula de interés. A raíz de ello, si un compuesto estructuralmente elaborado puede sintetizarse en uno o pocos pasos, resulta ventajoso en términos de esfuerzo, costo y tiempo. En este contexto, las reacciones multicomponente (MCR, *multicomponent reaction*), se presentan como una herramienta clave en la química verde, ya que permiten la síntesis de moléculas complejas de forma más eficiente y sostenible. Por definición, las MCR son reacciones *one-pot*, lo que significa que ocurren en un solo recipiente sin la necesidad de aislar intermedios. Esta metodología permite llevar a cabo múltiples transformaciones sintéticas y pasos de formación de enlaces en un único paso, evitando la necesidad de varios pasos intermedios de aislamiento o purificación (Figura 4). Como resultado, se reducen los residuos químicos, lo que simplifica aspectos prácticos (Hayashi, 2016) y acelera la producción de quimiotecas diversas con alta productividad (Cioc et al., 2014).

Las MCR son procesos convergentes que implican la construcción de arquitecturas moleculares relativamente complejas mediante la incorporación simultánea de tres o más bloques de construcción (Dömling et al., 2012); es decir, son transformaciones químicas en las que tres o más reactivos sencillos se combinan en un solo paso para obtener un único producto final complejo. Esta capacidad de integrar múltiples reactivos en un solo paso de reacción presenta una alta economía atómica ya que la mayoría o la totalidad de los átomos presentes en los reactivos se incorporan al producto final (Zarganes et al., 2015). Esto evita que los materiales de partida se desperdicien en subproductos y se generen residuos, lo que está en línea con el principio 2 de los principios de la química verde relacionado a la eficiencia atómica de un proceso.



Figura 4. Comparación de metodologías sintéticas: (a) síntesis convencional de múltiples pasos y (b) síntesis de un solo paso a través de MCR (Graziano et al., 2023)

Las reacciones multicomponente, aunque antiguas, resurgieron en los años 90 con el auge de la química combinatoria. Este enfoque busca acelerar la síntesis de compuestos al construir moléculas complejas y diversas con una estructura central similar (Messire et al., 2024). En las últimas décadas, las crecientes preocupaciones ambientales han impulsado aún más la investigación de las MCR, ya que promueven la sostenibilidad y se alinean con los principios de la química verde (Mohlala et al., 2024). Además, su estudio se ha visto impulsado por la necesidad de la industria farmacéutica de contar con vastas bibliotecas de moléculas pequeñas (*small molecule*) estructuralmente complejas para su evaluación como andamios en programas de descubrimiento y desarrollo de fármacos (Insuasty et al., 2020).

Debido a sus numerosas ventajas, las MCR se consideran ideales para los enfoques sintéticos modernos. Estas ventajas incluyen alta eficiencia, reducción de residuos, simplicidad operativa, condiciones de reacción suaves, alta economía atómica, y un enfoque amigable con el ambiente. Además, las MCR son experimentalmente sencillas de ejecutar, y con frecuencia sin necesidad de condiciones anhidras o una atmósfera inerte (Dömling & AlQahtani, 2014, p.1).

Entre las MCR más estudiadas y aplicadas se encuentran las reacciones de Biginelli, Hantzsch, Mannich, Passerini y Ugi (Tabla 3), importantes en la síntesis de compuestos biológicamente activos (Zhang & Yi, 2019, p.28). En la síntesis orientada a la diversidad (*diversity-oriented synthesis*, DOS), las MCR son herramientas valiosas, ya que permiten introducir múltiples fuentes de diversidad en un solo paso. Esta capacidad permite a los investigadores explorar de manera eficiente el espacio químico biológicamente relevante (Basso et al., 2019). De manera similar, en la síntesis orientada a objetivos (*target-oriented synthesis*, TOS) expanden la diversidad y complejidad molecular, lo que las hace esenciales para aplicaciones en química sintética y medicinal (Li et al., 2024).

Nombre		Reacción
A. Strecker 1850	NH ₃ + HCN +	$H \xrightarrow{O} R \xrightarrow{NC} H^{2} + H_{2}O$
A. Hantzsch 1881	$NH_3 + R_1 + 2$	$R_{2} \xrightarrow{O} OR_{3} \xrightarrow{R_{2}} \xrightarrow{H} R_{2} \xrightarrow{H} R_{2}$
P. Biginelli 1893	H_2N H_2	$H \xrightarrow{O}_{H_{3}} \xrightarrow{H_{1}}_{R_{3}} \xrightarrow{H_{1}}_{R_{1}} \xrightarrow{H_{2}}_{R_{2}} \xrightarrow{H_{2}O}$
C. Mannich 1912	R_1 NH + H O + R_2 H	$R_{4} \xrightarrow[H]{R_{1}} 0 \xrightarrow[R_{2}]{R_{1}} R_{1} \xrightarrow[R_{2}]{R_{3}} R_{4} + H_{2} O$
M. Passerini 1921	R ₁ NC + 0 +	$ \begin{array}{c} 0 \\ R_3 \end{array} H \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} 0 \\ R_2 \end{array} \begin{array}{c} R_3 \\ R_2 \end{array} \begin{array}{c} R_3 \\ R_1 \end{array} H \\ R_1 \end{array} $
A. Asinger 1956	NH ₃ + R ₁ + R ₂ +	$R_{3} \xrightarrow{O}_{SH} R_{4} \xrightarrow{R_{4}} R_{3} \xrightarrow{R_{4}}_{N} \xrightarrow{R_{1}}_{R_{2}} + 2H_{2}O$
I. Ugi 1962	R_1 H $+$ R_2 $ NH_2$ $+$ H R_2	$ \overset{O}{\underset{3}{\longrightarrow}} + R_4 NC \xrightarrow{\qquad} R_1 \overset{O}{\underset{\qquad}{\longrightarrow}} N_{R_4} + H_2 O $
K. Gewald 1966	s + R ₁ +	$ \begin{array}{c} CN \\ EWG \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} R_1 \\ R_2 \\ EWG \end{array} \\ WG \end{array} $
N. Petasis 1993	$H \xrightarrow{O} R_1 + R_2 \xrightarrow{NH_2} +$	$ \begin{array}{c} HO_{B} \longrightarrow H \\ HO_{R_{3}} \longrightarrow R_{2} \longrightarrow R_{1} \end{array} $
Groebke- Blackburn- Bienaymé 1998	$H = R_1 + R_2 + R_2 + R_1$	$ \begin{array}{c} & & \\ & & $

Tabla 3. Lista cronológica del descubrimiento de algunas reacciones multicomponenteimportantes

Las MCR han contribuido al descubrimiento y desarrollo de fármacos al permitir la síntesis rápida y rentable de diversas bibliotecas moleculares. Este enfoque acelera la producción de múltiples análogos de moléculas de interés, lo que reduce los costos de la química medicinal en las primeras etapas y agiliza la optimización de los productos principales (Younus et al., 2020). La síntesis del inhibidor de la proteasa del virus de la hepatitis C, Telaprevir, implica más de 20 pasos lineales. Sin embargo, un estudio logró reducir el número de pasos a casi la mitad incorporando una biotransformación y dos MCR. La MCR de Ugi de 3 componentes utilizó el ácido carboxílico II, la imina cíclica III y el isocianuro IV como materiales de partida (Figura 5). El ácido II se obtuvo a través de la química de péptidos, mientras que la imina quiral III se generó *in situ* a partir del compuesto V mediante la oxidación catalizada por la enzima MAO-N. El isocianuro IV se sintetizó a través de una MCR de Passerini que involucraba los compuestos VI y VII, junto con ácido acético (Zarganes & Dömling, 2014; Znabet et al., 2010).



Figura 5. Síntesis de Telaprevir I en base a análisis retrosintético con reacciones multicomponente (Znabet et al., 2010)

1.3.1. Reacciones multicomponente basadas en isocianuro IMCR

En 1958, Ugi logró producir isocianuros mediante la deshidratación de formamidas, lo que facilitó su disponibilidad (Ugi & Meyr, 1958). Los isocianuros, también conocidos como isonitrilos, son considerados "carbenos estables" debido a que tienen un átomo de carbono capaz de actuar a la vez como nucleófilo y electrófilo (Figura 6). En estas reacciones, el carbono terminal

del isocianuro actúa como punto de reactividad clave; los nucleófilos atacan su orbital LUMO (π^*), mientras que los electrófilos interactúan con su orbital HOMO (σ) (Chatziorfanou et al., 2024).



Figura 6. Estructuras de resonancia del isocianuro bajo consideración de los orbitales atómicos relevantes

Las MCR pueden clasificarse en dos tipos principales: aquellas basadas en isocianuros (IMCR) y las que no los incluyen. Las IMCR destacan por su capacidad para generar compuestos nuevos, complejos y biológicamente activos (Mohlala & Coyanis, 2024). No obstante, un inconveniente asociado a estas reacciones es el olor y la toxicidad de los isocianuros, que se ha abordado mediante estrategias como la generación *in situ* del isonitrilo seguida del agregado del resto de reactivos necesarios para la MCR (Patil et al., 2020).

Entre las IMCR más conocidas están la reacción de Passerini de tres componentes y la reacción de Ugi de cuatro componentes. La reacción de Passerini, descubierta en 1921 por Mario Passerini, es considerada la IMCR más antigua que introduce simultáneamente tres puntos de diversidad al combinar tres componentes (Banfi & Lambruschini, 2024). Más tarde, en 1959, Ivar Ugi desarrolló una extensión de esta reacción al reemplazar el componente carbonílico por una imina como electrófilo, dando lugar a la reacción de Ugi (Lambruschini et al., 2020; Dömling, 2023).

1.4. Reacción de Passerini P-3CR

La reacción de tres componentes de Passerini (*Passerini 3 component reaction*, P-3CR) es la primera reacción multicomponente basada en isocianuros; la misma es una reacción de condensación entre un compuesto carbonílico (aldehído o cetona) **1**, un ácido carboxílico **2** y un isocianuro **3** que conduce a la síntesis en un solo paso de una α -aciloxi carboxamida **4** (Figura 7) (Passerini, 1921).



Figura 7. Esquema general de la Reacción Multicomponente de Passerini

La reacción de Passerini puede generar un nuevo centro estereogénico cuando el componente carbonílico 1 es proquiral o asimétrico (Banfi et al., 2021), es decir, si R₁ es distinto de R₂, se forma un nuevo estereocentro (Marqués & Herrera, 2015, p.283). En cambio, si se utiliza formaldehído o una cetona simétrica, donde ambos sustituyentes son iguales, no se genera dicho estereocentro. En esta reacción típicamente se obtiene una mezcla racémica lo que no supone una limitación significativa cuando el objetivo es la generación de una quimioteca drug-like en la búsqueda de un hit (Lambruschini et al., 2020). No obstante, el uso de un racemato como fármaco no es deseable porque suele requerir una dosis mayor para obtener la respuesta deseada y el enantiómero no deseado puede causar efectos secundarios adversos (Wilk et al., 2021). Si bien el exceso enantiomérico (ee) puede evaluarse rápidamente mediante polarimetría para medir la actividad óptica, la resolución de enantiómeros puede requerir HPLC con una fase estacionaria quiral, métodos enzimáticos o derivatización con agentes quirales (p. ej., el reactivo de Mosher). El desarrollo de métodos para la síntesis de α -aciloxi carboxamidas quirales con estereoquímica definida, el control del estereocentro generado en la reacción, así como la obtención de estereoselectividad bajo condiciones asimétricas, continúan siendo grandes desafíos. En este contexto, la P-3CR enantioselectiva catalítica es un área poco explorada (Banfi et al., 2021; Wilk et al., 2021).

Aunque la reacción de Passerini fue la primera reacción multicomponente que utilizó isonitrilos en ser descubierta, ha sido menos explorada en comparación con su derivada, la reacción de Ugi. Esto se atribuye principalmente a que el motivo α -aciloxi carboxamida, producto característico de la reacción de Passerini, era considerado menos versátil o funcional que las bisamidas en la química medicinal. Sin embargo, el renovado interés por esta reacción surgió a partir de la ampliación de su alcance sintético, que permitió la obtención de una variedad de

productos, incluidos depsipéptidos, heterociclos y peptidomiméticos. Este avance subraya la versatilidad y el potencial de la reacción de Passerini en la generación de compuestos de relevancia biológica y farmacológica (Fouad et al., 2020; Graziano et al., 2023; Quelhas et al., 2021).

Existen numerosos ejemplos en la literatura que destacan la versatilidad de la reacción de Passerini. Esta reacción ha sido empleada como paso clave en la síntesis total de la euristatina A, un macrociclo natural con actividad inhibidora de prolil endopeptidasa, aislado de *Streptomyces eurythermus* (Figura 8). Además, se ha explorado su uso en la generación de una quimioteca de análogos de azinomicina A, un producto natural aislado de *Streptomyces griseofuscus* con propiedades antitumorales (Figura 9). La aplicación de la reacción de Passerini en este contexto ha permitido la construcción de compuestos farmacológicamente activos (Kim et al., 1998; Owens et al., 2001).



Figura 8. Síntesis de la euristatina A



Figura 9. Estructura de la azinomicina A

Si bien los productos típicos de la reacción de Passerini pueden enfrentar desafíos en la química medicinal debido a la labilidad de los grupos éster en condiciones fisiológicas, tienen un potencial significativo como profármacos, moléculas con poca o ninguna actividad farmacológica que están diseñadas con una labilidad estructural incorporada para experimentar su bioconversión *in vivo*, liberando el fármaco activo al sistema. El uso de derivados éster es una aproximación clásica para el desarrollo de profármacos con el fin de mejorar la biodisponibilidad del fármaco (Dahan et al., 2014).

Más recientemente, se han explorado estrategias para superar las limitaciones asociadas con la estabilidad de los ésteres en derivados obtenidos mediante la reacción de Passerini, lo que ha permitido la preparación de α -aciloxi carboxamidas metabólicamente estables. Interesantemente, se ha reportado que su estabilidad varía según la naturaleza de los sustituyentes (Brunelli et al., 2022). Estudios sobre la estabilidad química y enzimática de profármacos que contienen enlaces éster han demostrado que un mayor impedimento estérico alrededor del enlace éster mejora su estabilidad frente a la hidrólisis (Zheng & Nolan, 2015). Por otro lado, en vectores genéticos como nanopartículas lipídicas construidas con lípidos catiónicos generados mediante la reacción de Passerini, la presencia de enlaces éster y amida en las α -aciloxi carboxamidas permite su biodegradación, lo que facilita la liberación de ácidos nucleicos (Chen et al., 2024). Estos ejemplos destacan la versatilidad de las reacciones de Passerini, particularmente cuando la estructura de los materiales de partida se diseña adecuadamente, permitiendo la obtención tanto de profármacos como de potenciales fármacos.

La reacción de Passerini clásica suele llevarse a cabo a temperatura ambiente, en condiciones suaves en un medio ligeramente ácido, con tiempos de reacción que varían desde unas pocas horas hasta varios días (en el caso de las cetonas) (Banfi et al., 2021). En algunos ejemplos se ha optimizado el tiempo de reacción y el rendimiento mediante radiación de microondas, ultrasonido o mecanoquímica (Ingold et al., 2018; Salami et al., 2023). Al ser más rápida en un medio de baja polaridad, la reacción de Passerini suele llevarse a cabo en disolventes convencionales como diclorometano, acetato de etilo, éter dietílico y tetrahidrofurano (Banfi et al., 2021). Además de los disolventes utilizados clásicamente, la P-3CR también se ha llevado a cabo en condiciones respetuosas con el ambiente sustituyéndolos por disolventes verdes como por ejemplo el agua (*in-water*), vesículas acuosas, líquidos iónicos o condiciones libres de disolvente (Figura 10) (Shirini et al., 2012; Paprocki et al., 2015).



Figura 10. Reacción de Passerini dentro de vesículas formadas por el surfactante catiónico DODAB en un medio acuoso, destacando el efecto del microentorno en la orientación y reactividad de los compuestos (Paprocki et al., 2015)

1.4.1. Mecanismos de Reacción de Passerini

El mecanismo exacto de la reacción de Passerini sigue siendo objeto de debate y estudio. A lo largo de los años, se han realizado investigaciones para dilucidar su mecanismo, revelando diferentes intermedios, como hemiacetales, carbocationes y aductos estabilizados por enlaces de hidrógeno. Inicialmente, Passerini propuso que la reacción implicaba la adición del ácido carboxílico al compuesto carbonílico, el cual reaccionaba posteriormente con el isonitrilo para formar el producto final (Passerini, 1921). Actualmente, se reconocen dos mecanismos posibles para esta reacción: el mecanismo concertado y el mecanismo iónico (Maeda et al., 2011; Ramozzi & Morokuma, 2015). No obstante, persisten desafíos, especialmente en las versiones asimétricas de la reacción, debido a problemas de estereocontrol y a la falta de claridad en los pasos relacionados con la inducción quiral (Alvim et al., 2014).

1.4.1.1 Mecanismo concertado

Mario Passerini desarrolló la síntesis de α -aciloxi carboxamidas, basada en la adición de un isonitrilo a un componente carbonílico activado por un ácido carboxílico. Aunque se han propuesto muchos mecanismos de reacción a lo largo de los años, el mecanismo generalmente aceptado es un mecanismo concertado. En 1961, Ugi propuso un mecanismo basado en hallazgos experimentales, en particular en las diferencias de reactividad observadas al cambiar el disolvente de reacción. Este mecanismo, en el que no intervienen intermedios iónicos (mecanismo no iónico), es hoy universalmente aceptado (Banfi et al., 2021). La reacción de Passerini progresa rápidamente en disolventes apróticos no polares, a temperatura ambiente y con relativamente altas concentraciones de los materiales de partida (Maeda et al., 2011). Esto sugiere que la reacción no sigue una vía iónica, sino un mecanismo no iónico y concertado (Alvim et al., 2014), lo que explica los tiempos de reacción más rápidos observados en estos disolventes. Entre los disolventes que favorecen cinéticamente la reacción se encuentran el diclorometano y el tolueno (Ramozzi & Morokuma, 2015; Boukis et al., 2017). El mecanismo concertado, que implica un estado de transición cíclico relativamente apolar, concuerda con la mayor rapidez de la reacción en disolventes apolares (Banfi et al., 2021).



Figura 11. Mecanismo concertado para la Reacción de Passerini basado en la evidencia de literatura

El mecanismo de la reacción de Passerini inicia con la activación del componente carbonílico mediante la formación de un aducto débilmente unido por un enlace de hidrógeno con el ácido carboxílico (Marqués & Herrera, 2015, p.284). Este primer paso genera un aducto cíclico de seis miembros (**X**, Figura 11) que aumenta tanto la reactividad electrofílica del componente carbonílico como el carácter nucleofílico del ácido carboxílico (Boukis et al., 2017). Se cree que

el enlace de hidrógeno desempeña un papel crucial en la formación del intermedio cíclico donde posteriormente reacciona el isocianuro. Además, este aducto influye en la estereoselectividad de la reacción (Alvim et al., 2014).

El siguiente paso es una α -adición concertada. El carbono del isocianuro ataca nucleofílicamente al carbono carbonílico activado, mientras también actúa como electrófilo al reaccionar con el oxígeno del grupo carboxilo. Ambos grupos, carbonilo y ácido carboxílico, se unen simultáneamente al carbono terminal del isocianuro, formando un α -aducto a través de un estado de transición cíclico y relativamente apolar. Este estado de transición cíclico explica la mayor rapidez de la reacción en disolventes apolares (Banfi et al., 2021). Finalmente, el centro quiral en el producto se genera por la α -adición del carbono divalente del isonitrilo al grupo carbonilo (Wang et al., 2012, p. 95). El intermediario de siete miembros formado en esta etapa (**Y**, Figura 11), que contiene los tres componentes, no ha sido aislado porque sufre inmediatamente un reordenamiento que da lugar al aducto α -aciloxi carboxamida de Passerini (Boukis et al., 2017; Alvim et al., 2014). No obstante, la manera en que se forma **Y** sigue siendo objeto de un activo debate (Marqués & Herrera, 2015, p.284).

En el paso final, el α -aducto formado se reordena mediante una transferencia intramolecular de acilo, conocida como reordenamiento de Mumm, lo que conduce a la formación de la α -aciloxi carboxamida. Este proceso implica la migración del acilo al grupo hidroxilo vecino para dar el éster deseado (Sehlinger & Meier, 2014, p.63). El reordenamiento de Mumm, documentado por primera vez en 1910 (Mumm, 1910), consiste en una transferencia de acilo intramolecular 1,4(O-O) en las reacciones de Passerini, convirtiendo un imidato de acilo en una amida con la formación de un enlace C=O. Si bien los pasos anteriores de la reacción son reversibles, este paso es irreversible, desplazando todos los equilibrios hacia la formación del producto final y sirviendo como fuerza impulsora de toda la cascada de reacciones. Sin embargo, persiste la incertidumbre sobre si el paso limitante de la velocidad es la α -adición o el reordenamiento, lo que puede tener consecuencias importantes en el control estereoquímico (Banfi et al., 2021).

1.4.1.2. Mecanismo iónico

En disolventes polares como el metanol o el agua, la reacción seguiría este mecanismo iónico. El componente carbonílico es protonado por el ácido carboxílico, produciendo la activación electrofílica del carbonilo, seguida de una adición nucleofílica del carbono del isocianuro al carbonilo generando un ion nitrilio. Este ion es luego atacado por el anión carboxilato, formando un intermediario imidato que experimenta una transferencia de acilo y una tautomerización para dar la α -aciloxi amida (Karimi et al., 2009; Wang, 2010, p.2122), este paso final corresponde al reordenamiento de Mumm (Figura 12).



Figura 12. Mecanismo iónico propuesto para la Reacción de Passerini basado en la evidencia de literatura

En este mecanismo el nitrilio actúa como un intermedio clave (Majumdar et al., 2017). En el mecanismo iónico clásico de la reacción de Passerini, el ion nitrilio se forma mediante la reacción entre un electrófilo y un isocianuro. Este intermediario efímero puede seguir cuatro rutas sintéticas distintas (Figura 13): (a) ser interceptado intermolecularmente de forma estereoselectiva por un nucleófilo, (b) ser interceptado intramolecularmente por un grupo nucleofílico presente en

uno de los reactivos, (c) disociarse para regenerar el electrófilo y el isocianuro, o (d) romper el enlace N–R₄ para formar un nitrilo (Giustiniano et al., 2018).



Figura 13. Caminos posibles del ion nitrilio en el mecanismo iónico de la Reacción de Passerini (Giustiniano et al., 2018)

En el año 2011, Maeda y colaboradores propusieron un mecanismo para la reacción de Passerini similar al sugerido por Ugi, que incluye la adición del isocianuro al aldehído activado por el ácido seguida de un paso de reordenamiento de Mumm para dar lugar al producto. Utilizando métodos computacionales, particularmente el método AFIR (*Artificial Force-Induced Reaction*), estudiaron detalladamente el mecanismo (Kumar et al., 2023; Maeda et al., 2011).

Sus cálculos en fase gaseosa mostraron que la formación del acil-imidato procede de forma concertada, como se describe ampliamente en la literatura. Sin embargo, descubrieron que el reordenamiento de Mumm requiere una segunda molécula de ácido como catalizador, ya que sin ella no puede tener lugar. En consecuencia, aunque formalmente es una reacción de tres componentes, en realidad sigue una vía de pseudo-cuatro componentes, donde una molécula adicional de ácido carboxílico actúa como donante y aceptor de protones, facilitando la transferencia de protones y reduciendo las barreras energéticas del reordenamiento (Figura 14)
(Maeda et al., 2011). Este mecanismo explica cómo la segunda molécula de ácido carboxílico facilita el reordenamiento de Mumm y permite la formación del aducto final, incluso en disolventes apolares, que son los preferidos en las reacciones convencionales de Passerini (Alvim et al., 2014; Maeda et al., 2011).



Figura 14. Mecanismo de pseudo cuatro componentes basado en el método AFIR para la reacción de Passerini (Maeda et al., 2011)

En el año 2015, Ramozzi y colaboradores realizaron cálculos DFT (*Density Functional Theory*) de alto nivel, los cuales respaldaron el mecanismo de cuatro componentes (Figura 15). Identificaron que el intermedio nitrilio es estable en solución y su formación constituye el paso determinante de la velocidad del proceso, catalizado por una segunda molécula de ácido carboxílico (Kumar et al., 2023). Posteriormente, el nitrilio se convierte rápidamente en el imidato, que a su vez experimenta el reordenamiento de Mumm (Lambruschini et al., 2020). Además, confirmaron que el par-iónico o zwitterión de nitrilio no es apreciable utilizando cálculos en fase gaseosa, como los realizados por Maeda y sus colaboradores en 2011 (Ramozzi & Morokuma, 2015).

El disolvente desempeña un papel clave en el mecanismo. En metanol, los enlaces de hidrógeno entre sus moléculas y los ácidos carboxílicos alteran la simetría estructural observada en disolventes como el diclorometano, reduciendo las interacciones con el aldehído. Esto disminuye la electrofilia del aldehído y dificulta la formación del enlace C-C, como se ha observado experimentalmente. Los cálculos de cargas de Mulliken mostraron que los carbonos del aldehído y del isocianuro son más electrófilos y nucleófilos, respectivamente, en diclorometano que en metanol. Para la reacción de Passerini la ausencia de enlaces de hidrógeno en disolventes apróticos resulta crucial. La mayor eficiencia de esta reacción en disolventes apróticos no se debe a la ausencia del nitrilio, como se ha sugerido, sino a la falta de redes de enlaces de hidrógeno con el disolvente que disminuyen la reactividad de los reactivos durante la formación del nitrilio (Ramozzi & Morokuma, 2015).



Figura 15. Mecanismo de pseudo-cuatro componentes basado en el método DFT para la reacción de Passerini (Ramozzi & Morokuma, 2015)

1.5. Reacción de Passerini-Smiles

En 2006, El Kaim y Grimaud introdujeron la reacción de Passerini-Smiles (PS-3CR), una variante de la reacción de Passerini (El Kaim et al., 2006) en la que el componente ácido carboxílico se reemplaza por un fenol deficiente en electrones, permitiendo una O-arilación (Marqués & Herrera, 2015, p.284). Esta MCR involucra un compuesto carbonílico, un isocianuro y un fenol, para dar como producto final una α -ariloxi amida (Figura 16). En el lugar del clásico reordenamiento de Mumm, el paso final implica una sustitución nucleofílica intramolecular en el anillo aromático deficiente en electrones, conocida como reordenamiento de Smiles (Martinand-Lurin, 2015, p.111).

Los fenoles que contienen grupos atractores de electrones, como grupos nitro, en las posiciones *orto* y/o *para* presentan una mayor acidez que les permite actuar como sustitutos de los ácidos carboxílicos en la reacción de Passerini. Esta mayor acidez es esencial para activar el carbono carbonílico, que es poco electrófilo, y facilitar el reordenamiento de Smiles entre átomos de oxígeno. La PS-3CR podría tener un alcance limitado, ya que pocos fenoles pueden reaccionar directamente con compuestos carbonílicos (El Kaim & Grimaud, 2014a). Los derivados del 2-nitrofenol (pKa = 7,2) y otros fenoles heteroaromáticos deficientes en electrones han demostrado ser adecuados para este tipo de reacción, ya que su mayor acidez favorece tanto la activación del componente carbonílico como el reordenamiento de Smiles para dar lugar a una α -ariloxi amida (El Kaim et al., 2006; El Kaim & Grimaud, 2014b, pp.91-93; El Kaim & Grimaud, 2009).



Figura 16. Esquema general de la Reacción de Passerini-Smiles para el 2-nitrofenol

En general, la reacción de Passerini-Smiles permite la formación de O-aril carboxamidas cuando 2-nitrofenoles reaccionan con un isocianuro y un compuesto carbonílico en metanol. Sin embargo, esta transformación presenta desafíos como la formación de subproductos acetal, especialmente con aldehídos no aromáticos, complicando la purificación. Condiciones como el

uso de aldehídos aromáticos o 4-nitrofenoles modificados mediante la reacción de Mannich han permitido aislar el producto deseado (El Kaim & Grimaud, 2014a).

Para optimizar la reacción, se han reportado diversas estrategias. Las condiciones sin disolventes con ácidos de Lewis como Ti(Oi-Pr)₄ favorecen la formación del producto de Passerini-Smiles, mientras que dietilisopropilamina como catalizador en acetonitrilo logra rendimientos excelentes. Aunque el papel exacto del catalizador sigue sin estar claro, estas condiciones son compatibles con una amplia variedad de aldehídos, incluidos los derivados α , β -insaturados (Dai & Li, 2007). Por otro lado, otros reportes señalan que esta estrategia no siempre resulta exitosa, pero que el uso de DABCO como catalizador permite alcanzar buenos rendimientos y minimizar la formación de subproductos como el acetal (Martinand-Lurin et al., 2014; El Kaim & Grimaud, 2014a).

El mecanismo de reacción aún no ha sido estudiado en profundidad; se requieren más estudios para comprender sus detalles, sin embargo, se han propuesto varias hipótesis. Si bien la P-3CR ha sido objeto de controversia durante mucho tiempo, la literatura sugiere mecanismos similares para la reacción de PS-3CR (El Kaim & Grimaud, 2014b, pp.91-93; Marqués & Herrera, 2015, p.284). Entre las principales propuestas se encuentran: un mecanismo concertado, en el que un intermediario cíclico se forma mediante un enlace de hidrógeno, seguido de la adición del isocianuro para generar una O-ariloxi carboxamida (Figura 17); y un mecanismo iónico, en el que se produce un intermediario de nitrilio (Figura 18), que luego sufre un ataque nucleofílico por el fenolato para formar el producto final. En ambos casos, el reordenamiento de Smiles ocurre a través de un intermediario espiro o un complejo de Meisenheimer (Marqués & Herrera, 2015, p.284; Martinand-Lurin, 2015, p.111).



Figura 17. Mecanismo propuesto para la PS-3CR utilizando 2- nitrofenol basado en el mecanismo concertado de la P-3CR



Figura 18. Mecanismo propuesto para la PS-3CR utilizando 2-nitrofenol basado en el mecanismo iónico de la P-3CR

1.6. El 5-hidroximetilfurfural, una plataforma química renovable

Una plataforma química se define como un producto químico que puede servir como sustrato para la producción de otros productos de mayor valor agregado (Takkellapati et al., 2018). La utilización de moléculas plataforma de origen vegetal para la síntesis de nuevos compuestos, es un camino para dejar de depender de materias primas petroquímicas utilizando recursos renovables, favoreciendo la sostenibilidad (Blanco et al., 2023).

El 5-hidroximetilfurfural (HMF) es una importante plataforma química derivada de biomasa con el potencial de ser utilizado para el desarrollo de moléculas de alto valor agregado (Jessop & MacDonald, 2023; López & Porcal, 2024; Rosatella, et al., 2011) puede utilizarse para producir plásticos, adhesivos, combustibles y productos farmacéuticos (Kucherov et al., 2018). Se aisló por primera vez, a escala de laboratorio, en 1831 (Marullo & D'Anna, 2022). Debido a su importancia, el Departamento de Energía de los EE. UU. lo incluyó entre las 12 principales plataformas químicas con mayor potencial (Birmingham et al., 2021). Estudios recientes han demostrado que las plataformas furánicas son ligeramente tóxicas a prácticamente no tóxicas, por lo que podrían usarse de forma segura para diferentes aplicaciones, debido a sus niveles bajos de ecotoxicidad (Parmaki et al., 2024).

Los carbohidratos presentes en la biomasa se pueden deshidratar químicamente para producir furanos, como el furfural y el HMF (Figura 19) (Birmingham et al., 2021; Mittal et al., 2020). En concreto, la deshidratación de hexosas conduce a la formación de HMF, así como a algunos ácidos orgánicos (Deng et al., 2016; Castro & Fernandes, 2025). Aunque la fructosa representa la ruta más directa al HMF, recientemente se ha prestado más atención a polisacáridos complejos como la inulina, el almidón y la celulosa (Bracchini et al., 2024; Menegazzo et al., 2018).



Figura 19. Deshidratación de carbohidratos de la biomasa a plataformas químicas (Mittal et al., 2020)

El HMF es una molécula plataforma prometedora ya que en su estructura contiene un grupo carbonilo, un grupo hidroxilo, y un núcleo furánico. Esta combinación le otorga una reactividad versátil (Figura 20), permitiendo su transformación en productos de mayor valor (Fan et al., 2019). Los heterociclos oxigenados son la segunda clase de estructuras heterocíclicas más comunes en los fármacos aprobados por la FDA, con 311 medicamentos que contienen al menos uno desde 2017. Entre ellos, los compuestos furánicos son especialmente valiosos para la síntesis de fármacos (Kong et al., 2020). Sin embargo, el HMF es inestable en condiciones ácidas y básicas, propenso a reacciones secundarias y térmicamente sensible. En particular, en medios acuosos ácidos, su descomposición ocurre principalmente por rehidratación, dando lugar a ácido levulínico y ácido fórmico o mediante condensación aldólica seguida de una reticulación a polímeros complejos solubles e insolubles, conocidos como huminas (Bracchini et al., 2024; Fan et al., 2020, p.75).



Figura 20. Patrones de reactividad asociados con el HMF (Fan et al., 2019)

Dado su potencial, el HMF es una de las moléculas más estudiadas para la producción de productos químicos a partir de fuentes renovables. Se ha reportado que posee actividades biológicas como efectos antioxidantes, hepatoprotectores, cardioprotectores y antiinflamatorios (Kong et al., 2019). Sus derivados han sido utilizados como bloques de construcción para sintetizar compuestos bioactivos de origen natural. Por ejemplo, se han sintetizado análogos del fármaco anticancerígeno norcantaridina de manera eficiente utilizando una reacción de un solo paso (Figura 21) (Galkin et al., 2017), así como nitrovinilfuranos con actividad antiproliferativa selectiva (Ortiz et al., 2022), lo que demuestra el potencial del HMF en aplicaciones farmacéuticas, en particular para el tratamiento del cáncer.



Figura 21. Aminación reductiva de 2,5-diformilfurano (DFF) para la síntesis de norcantarimidas de origen biológico, estableciendo un vínculo entre la biomasa y productos farmacéuticos con funcionalidad amino (Galkin et al., 2017)

El HMF también ha sido explorado en reacciones multicomponente, como las de Biginelli, Kabachnik-Fields, Groebcke-Blackburn-Bienaymé (GBB) y Ugi (Figura 22), demostrando su potencial como bloque de construcción de moléculas complejas. Sin embargo, su uso en MCR clásicas sigue siendo limitado, y hasta la fecha se han publicado pocos estudios al respecto (Fan et al., 2020, p. 80; Fan et al., 2019). Por ejemplo, en una secuencia de reacción en tándem Ugi/Diels-Alder, el HMF se utilizó inmovilizado en un soporte sólido a través un enlace formilacetal en el grupo hidroximetilo para sintetizar moléculas policíclicas (Oikawa et al., 2005). Además, vía la reacción de Biginelli con HMF en condiciones libre de disolvente catalizada con cloruro de zinc se obtuvieron dihidropirimidinonas funcionalizadas (Fan et al., 2018a). De manera similar, la reacción de Kabachnik-Fields con HMF, utilizando yodo molecular como catalizador en 2-MeTHF, permitió la síntesis de α -aminofosfonatos en condiciones ambientalmente benignas (Fan et al., 2018b). Además, el HMF en la reacción de GBB catalizada por TFA se utilizó para generar una biblioteca de nuevos imidazoheterociclos (de la Sovera et al., 2022). Estos ejemplos resaltan su versatilidad, aunque su potencial en MCR sigue sin explorarse completamente.



Figura 22. El HMF en reacciones multicomponente

Sorprendentemente, no se han reportado estudios sobre el uso del HMF como sustrato en la reacción de Passerini (P-3CR), a pesar de más de un siglo de historia de esta MCR. En consecuencia, la presente investigación representa el primer estudio que explora la reactividad del HMF como componente carbonílico en la reacción de Passerini incorporando prácticas sostenibles para la obtención de nuevos compuestos con potencial actividad anticancerígena. El avance en este campo tiene el potencial de revolucionar la producción de productos químicos de base biológica, proporcionando alternativas respetuosas con el medio ambiente a los compuestos de derivados fósiles.

1.7. El cáncer de vejiga

El cáncer es una de las principales causas de muerte a nivel mundial (Figura 23). Según proyecciones, en 2050 se registrarán más de 35 millones de nuevos casos, lo que representa un aumento del 77% respecto de los 20 millones de casos estimados en 2022 (Bray et al., 2024). El cáncer de vejiga ocupa el noveno lugar entre los tipos de cáncer más diagnosticados en el mundo, con un notable aumento en incidencia y mortalidad. En 2022, se reportaron más de 600.000 nuevos casos y cerca de 2 millones de personas convivían con esta enfermedad en los cinco años posteriores al diagnóstico. Este tipo de cáncer afecta principalmente a los hombres, siendo el sexto cáncer más común en este grupo (Globocan, 2024).



Figura 23. Mortalidad global de cáncer en 2021 (Dattani et al., 2024)

El carcinoma urotelial, también llamado carcinoma de células transicionales, es el tipo más frecuente de cáncer de vejiga. Se origina en las células epiteliales transicionales de revestimiento del tracto urinario (Halaseh et al., 2022). Actualmente, existe una necesidad insatisfecha de tratamientos efectivos que reduzcan el riesgo de recurrencia/progresión/mortalidad de la enfermedad sin comprometer la calidad de vida de los pacientes (Ertl et al., 2022). La terapia intravesical, que consiste en la administración local de altas concentraciones de agentes terapéuticos mediante un catéter, es el tratamiento estándar (Zhang et al., 2023). El tratamiento quirúrgico y la quimioterapia con cisplatino son opciones comunes, aunque su eficacia se ve limitada por la aparición de metástasis y la resistencia (Pan et al., 2022). De esta manera la búsqueda de nuevos fármacos constituye una herramienta fundamental para mejorar las terapias existentes frente a este tipo de cáncer.

En este contexto, las reacciones multicomponente han resurgido como una estrategia sintética versátil y eficiente para el descubrimiento de nuevas moléculas, contribuyendo a la optimización de las terapias actuales contra este tipo de cáncer. A través de las reacciones multicomponente de Ugi y Groebke-Blackburn-Bienaymé se han sintetizado compuestos liberadores de óxido nítrico con actividad antiproliferativa, sus valores de IC₅₀ e índices de selectividad sugirieron su desarrollo como compuestos líderes (Ingold et al., 2022).

Adicionalmente, la reacción multicomponente de Passerini se ha empleado para la síntesis de imidazotiazoles dirigidos a objetivos para terapias contra el cáncer (Griglio et al., 2018). Además de emplear las MCR como estrategia sostenible, se han incorporado otros enfoques amigables con el ambiente para optimizar aún más el proceso. Por ejemplo, se han sintetizado análogos de tocoferol mediante la reacción de Passerini en condiciones sin disolvente y su optimización se llevó acabo utilizando métodos energéticamente eficientes como irradiación de microondas y ultrasonido. Los derivados obtenidos de esta reacción presentaron una actividad antiproliferativa prometedora (Ingold et al., 2018; Ingold et al., 2019). Estos avances destacan el potencial de las reacciones multicomponente no solo para el desarrollo de nuevas entidades bioactivas, sino también para la implementación de metodologías más sostenibles en la síntesis de compuestos con aplicaciones farmacológicas.

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

 Explorar la reactividad del 5-hidroximetilfurfural (HMF), una plataforma química renovable derivada de biomasa, como componente carbonílico en la reacción multicomponente de Passerini y su variante Passerini-Smiles, siguiendo los principios de la química verde, para generar nuevas moléculas bioactivas y evaluar su actividad biológica como potenciales agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles, en particular el cáncer.

2.2. Objetivos específicos

- Explorar el uso de HMF y derivados en la reacción de Passerini en condiciones verdes y caracterizar estructuralmente una quimioteca diversa.
- Explorar el uso de HMF y derivados en la reacción de Passerini-Smiles en condiciones verdes y caracterizar estructuralmente una quimioteca diversa.
- Evaluar la actividad biológica preliminar de los compuestos sintetizados como potenciales agentes antiproliferativos en líneas células tumorales T24 y 253J.

3. Estrategia de investigación

El presente estudio exploratorio abordará el desarrollo de metodologías sintéticas sostenibles para compuestos bioactivos mediante la investigación del HMF en sistemas multicomponente de Passerini (Figura 24). Dado que no existen precedentes de la aplicación de esta plataforma química en estos sistemas, nuestro trabajo proporcionará información sobre su reactividad. Basándonos en protocolos optimizados de nuestro grupo de investigación siguiendo principios de química verde (Ingold et al., 2014), evaluaremos sistemáticamente el HMF como un nuevo componente carbonílico. En primer lugar, se optimizará un modelo de reactividad que incorpore HMF y se establecerán condiciones de reacción verdes. La diversidad estructural se logrará mediante combinaciones estratégicas de sustratos derivados del HMF, ácidos carboxílicos e isocianuros disponibles comercialmente. Además, se explorará la variante Passerini-Smiles mediante la sustitución del ácido carboxílico con el 2-nitrofenol, un fenol con un grupo electrónatrayente, para obtener α -ariloxi amidas (El Kaim et al., 2006; El Kaim & Grimaud, 2014a). Finalmente, se evaluará la actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados en líneas

celulares tumorales derivadas de cáncer de vejiga, siguiendo los protocolos previamente establecidos por nuestro grupo de investigación (Varela et al., 2023).



Figura 24. Estrategia de investigación de derivados de HMF potencialmente bioactivos a través de sistemas multicomponente de Passerini

4. Resultados y Discusión

4.1. Síntesis química

4.1.1. Reacción de Passerini

En primer lugar, es importante destacar que la elección de la reacción multicomponente de Passerini (P-3CR) se alinea con los principios 1 y 2 de la química verde, que enfatizan la reducción de residuos y la economía atómica, respectivamente. Esta reacción *one-pot* está diseñada para evitar el aislamiento y la purificación de intermedios, minimizando así el uso de disolventes y auxiliares de separación. Además, maximiza la incorporación de todos los materiales de partida en el producto final, logrando una economía atómica ideal del 100%, viabilizando así el uso eficiente de los materiales.

La síntesis de la P-3CR suelen realizarse en disolventes orgánicos apróticos como el diclorometano (CH₂Cl₂) o tolueno, los cuales presentan toxicidad, potencial efecto cancerígeno y un impacto ambiental negativo (Banfi et al., 2021). En consecuencia, se comenzó optimizando el disolvente para un modelo de reacción conformado por HMF **1**, 4- metilbenzoico (ácido *p*-toluoico) **2** y *tert*-butil isonitrilo **3** (Figura 25), evaluando alternativas más sostenibles (Tabla 4). Se utilizaron disolventes "verdes" como 2-metiltetrahidrofurano (Me-THF), agua y etanol (EtOH), así como condiciones sin disolvente. Para comparación, también se incluyeron disolventes clásicos como el metanol y el diclorometano. Las reacciones se realizaron en paralelo en pequeña escala, a temperatura ambiente (TA) durante 24 horas (h) y en proporción equimolar de los materiales de partida.



Figura 25. Modelo de reactividad para P-3CR

La cuantificación absoluta de un compuesto de interés utilizando la RMN cuantitativa (qNMR) permite determinar la masa (o pureza) de un compuesto con estructura conocida (analito) en una mezcla de reacción (muestra). Se basa en la comparación de la señal de RMN del analito

objetivo con la de un calibrador o estándar interno con masa y pureza conocidas. La cuantificación absoluta puede extenderse a múltiples componentes en una mezcla, siempre que se conozcan sus estructuras y se resuelvan sus señales de RMN. Las señales utilizadas para la cuantificación deben corresponder a un número conocido de protones, y el disolvente u otros componentes de la muestra no deben interferir con estas señales. El rendimiento de α -aciloxi carboxamida se cuantificó mediante RMN cuantitativa de protón utilizando como estándar interno, tricloroetileno (TCE) (Figura 26), según el método descrito por Pauli y colaboradores (2014). Al añadir dicho estándar interno (IC), el cálculo general de la pureza (P) se determina de acuerdo a la Ecuación 1. Donde, MW es el peso molecular, m es la masa, n es el número de protones, P es la pureza (%), IC es el calibrador interno, s es la muestra y t es el analito/molécula objetivo.



$$P(\%) = \left(\frac{Int_t}{Int_{IC}}\right) \left(\frac{MW_t}{MW_{IC}}\right) \left(\frac{m_{IC}}{m_s}\right) \left(\frac{n_{IC}}{n_t}\right) P_{IC} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Figura 26. Espectros de ¹H-RMN cuantitativos (400 MHz, CDCl₃) que comparan las mezclas de reacción brutas de la síntesis paralela bajo diferentes condiciones de disolvente y el producto puro. (a) crudo de reacción sin disolvente después de 24 h, (b) crudo de reacción después de 24 h en un disolvente clásico, CH₂Cl₂ (c) producto de Passerini aislado y purificado

La RMN cuantitativa (qRMN) permitió determinar el disolvente óptimo en función del rendimiento. La Tabla 4 muestra los resultados del *screening* de disolventes para el modelo de reactividad de la P-3CR. Entre todas las condiciones ensayadas, se observó que la mejor condición de reacción es aquella en la que no se utilizó ningún disolvente obteniéndose mayoritariamente el producto esperado, la α -aciloxi carboxamida, con rendimientos superiores al 60% (Tabla 4, entradas 1 y 2). Consecuentemente, las reacciones posteriores se llevaron a cabo en condiciones libre disolvente, es decir, únicamente se agregaron los tres componentes necesarios de manera simultánea y se dio tiempo para que la reacción tuviera lugar. Ventajosamente la abstención del uso de un disolvente de reacción coadyuva al desarrollo de un proceso de síntesis verde. Este hallazgo se adhiere al escenario ideal propuesto por el principio 5, que aboga por evitar el uso de disolventes siempre que sea posible.





		Rendimiento				
Entrada	Disolvente	Tiempo (h)	Producto principal 4a	Producto minoritario 5a		
1	Sin disolvente	24	63%	3%		
2	Sin disolvente	48	65%	5%		
3	H_2O	24	28%	5%		
4	H_2O	48	43%	9%		
5	Me-THF	24	16%	-		
6	Me-THF	48	18%	-		
7	EtOH	24	28%	-		
8	EtOH	48	35%	-		
9	MeOH	24	-			
10	MeOH	48	26%	-		
11	CH ₂ Cl ₂	24	22%	11%		
12	CH_2Cl_2	48	25%	19%		

^aSíntesis en paralelo y productos cuantificados por qRMN con estándar interno TCE. (-) No detección de formación de producto.

Si bien el presente trabajo obtuvo el producto deseado de la reacción, una α -aciloxi carboxamida (**4a**, Tabla 4), inusualmente se caracterizó una segunda α -aciloxi carboxamida como producto minoritario (**5a**, Tabla 4) que tiene la estructura del producto principal, pero con una formilación sobre la cadena lateral hidroximetilo del sistema furano. Se ha reportado que el HMF tiende a sufrir degradación parcial en ácido levulínico y ácido fórmico (Labauze et al., 2019), por lo que la presencia de este último en el medio de reacción podría explicar la formación del producto secundario observado. Las impurezas en los reactivos, especialmente en el HMF, podrían contribuir a la formación de productos inesperados. Es por ello que se constató su pureza mediante experimentos de ¹H-RMN.

Como ya se ha mencionado, se sabe que el HMF es algo inestable y tiende a degradarse en ácido fórmico, incluso en condiciones suaves, es por ello que la formación del producto secundario se atribuye a la reactividad intrínseca del HMF. La presencia de ácido fórmico en el medio de reacción, probablemente generado *in situ*, da lugar a la formilación de la cadena lateral a nivel del grupo hidroximetilo del sistema furánico del producto principal, dando lugar al producto secundario secundario observado.

Es importante señalar que la formación consistente de esta α -aciloxi carboxamida secundaria permitió aumentar la diversidad molecular, proporcionando dos compuestos estructuralmente relacionados a partir de una única reacción. Disponer de estos dos compuestos a la vez puede ofrecer más oportunidades para procesos de cribado biológico, ampliar el espacio químico y el descubrimiento de nuevos compuestos con propiedades o actividades únicas que no se habían previsto inicialmente. Esta mayor diversidad es especialmente valiosa en la química medicinal y el descubrimiento de fármacos. Desde un punto de vista verde, la generación de dos productos a partir de un único conjunto de reactivos y condiciones puede ser más eficiente en cuanto al uso de los recursos, ahorrando tiempo y materiales. La reducción de la necesidad de recursos minimiza la generación de residuos (principio 1). Además, el potencial de nuevos descubrimientos justifica aún más la inclusión de este producto secundario en el ámbito de esta investigación. En esta etapa de la investigación, un enfoque de síntesis orientado a la diversidad requiere la preparación de numerosos compuestos para su posterior evaluación biológica. Con base en estos resultados, se puede optimizar las condiciones de reacción para mejorar el rendimiento de **4a** o **5a**. Por lo tanto, la prioridad actual es maximizar el rendimiento global. Una vez determinado el medio de reacción, utilizando la reacción modelo de reactividad, se evaluaron otras condiciones experimentales como: temperatura, tiempo y relación molar de reactivos (Tabla 5). En primer lugar, se estudió cómo afectaba la distribución de productos al duplicar la cantidad del ácido 4-metilbenzoico **2a** (Tabla 5, entradas 1 - 3). Según el mecanismo de reacción, el componente ácido activa al componente carbonílico en el inicio de la reacción. Se encontró que este cambio tiende a aumentar ligeramente la cantidad de α -aciloxi carboxamida global; sin embargo, no difiere en gran medida de los mejores rendimientos totales obtenidos utilizando la relación equimolar a temperatura ambiente. Por tal razón, es posible prescindir del uso de una doble cantidad de tal reactivo. Con ello, se evita el uso innecesario de reactivos en exceso, lo que conlleva a reducir la generación de residuos.

Utilizando un reactor de síntesis de calentamiento eficiente Monowave 50 (mw-50, Anton Paar), que maximiza la transferencia de calor, se aplicaron temperaturas altas con diferentes tiempos de reacción (Tabla 5, entradas 4 – 10), obteniéndose bajos rendimientos. A 120 °C, visualmente se observó una degradación total de la mezcla de reacción, la cual adquirió un aspecto de color negro intenso. Se ha reportado que el HMF presenta baja estabilidad a altas temperaturas, lo que conduce a reacciones secundarias, como la formación indeseable de huminas. Estas últimas son productos secundarios negros y alquitranados que se generan a partir del HMF (Al-Ghatta et al., 2021; Sailer et al., 2022).

La reacción también fue ensayada utilizando irradiación de ultrasonido, que induce la cavitación, como otro método alternativo para suministrar energía, a través de un equipo de baño de ultrasonido Elma Elmasonic P, ajustado a una potencia del 100 % y una frecuencia 37 kHz, manteniendo la temperatura en 35 °C. Se evaluaron dos tiempos de reacción (Tabla 5, entradas 15 y 16). Como resultado, se obtuvieron rendimientos comparables a los alcanzados en las reacciones realizadas a temperatura ambiente en tiempos similares (por ejemplo, comparar entradas 11 vs 16, Tabla 5).

HO O O		
1a sin disolvente	N H +	N N
O OH Sa	→ 4 a HO	5 a
2a		ЪО

Entrada	$\mathbf{T}(\mathbf{OC})$	t (b)	Rela	ción n	ıolar	Re	Rendimiento		Obcomunication
Entraua	I (C)	ι (Π)	1a	2a	3a	4 a	5a	4a+5a	Observaciones
1	30	5	1	2	1	58 %	13 %	71 %	mw-50
2	TA	24	1	2	1	25 %	9 %	34 %	
3	TA	48	1	2	1	41%	15 %	56 %	
4	30	6	1	1	1	45 %	5 %	50 %	mw-50
5	40	1.5	1	1	1	28 %	9 %	37 %	mw-50
6	60	0.50	1	1	1	34 %	4 %	38 %	mw-50
7	60	1	1	1	1	34 %	6 %	40 %	mw-50
8	60	1.5	1	1	1	25 %	36 %	61 %	mw-50
9	60	3	1	1	1	12 %	18 %	30 %	mw-50
10	120	0.25	1	1	1	-	-	-	mw-50
11	TA	8	1	1	1	45 %	6 %	51 %	
12	TA	24	1	1	1	55 %	13 %	68 %	
13	TA	48	1	1	1	66 %	9 %	75 %	
14	TA	72	1	1	1	65 %	6 %	71 %	
15	35	3	1	1	1	35 %	7 %	42 %	US
16	35	6	1	1	1	43 %	8 %	51 %	US

Productos purificados por cromatografía en columna. US: ultrasonido.

En cuanto a las condiciones de reacción ensayadas a temperatura ambiente con una relación molar equivalente 1:1:1 de los tres componentes de partida (Tabla 5, entradas 11 – 14), no se observaron diferencias considerables en los rendimientos entre 24, 48 y 72 horas de reacción. Por ello, en este contexto, se seleccionó como condición óptima la entrada 12, con un rendimiento global del 68 %, que incluye a la α -aciloxi carboxamida esperada **4a** y la α -aciloxi carboxamida minoritaria **5a**.

La exploración de métodos alternativos como la irradiación por ultrasonido o el calentamiento eficiente, refleja el esfuerzo por optimizar la eficiencia energética y reducir el tiempo de reacción. Además, llevar a cabo las reacciones a temperatura ambiente es

intrínsecamente eficiente desde el punto de vista energético, ya que evita la necesidad de calentamiento o enfriamiento adicionales, lo que está en línea con el principio 6. Adicionalmente, la condición seleccionada como óptima minimizó el consumo innecesario de energía, dado que extender el tiempo de reacción no mejoró marcadamente el rendimiento. Si bien la reacción se realiza con agitación utilizando una placa calefactora, la potencia de calentamiento sigue siendo el principal factor de consumo energético, siendo el componente de agitación comparativamente insignificante.

A partir de la reacción modelo optimizada (Tabla 5, entrada 12) y mediante la sustitución de los diferentes componentes de la P-3CR (Figura 27), se obtuvo acceso a una quimioteca de nuevas α -aciloxi carboxamidas, ampliando así el espacio químico conocido para esta clase de compuestos (Tabla 6, Figura 29).

Se varió el componente ácido carboxílico utilizando ácido hidroximetilfuranoico (HMFC), un derivado del HMF (**2b**, Tabla 6, entrada 2), así como ácido acético (**2c**, Tabla 6, entrada 3), ácido fórmico (**2d**, Tabla 6, entrada 4) y ácido levulínico (**2e**, Tabla 6, entrada 5). El componente carbonílico (aldehído) se sustituyó por el metoximetilfurfural (MMF), un derivado del HMF (**1b**, Tabla 6, entrada 6 y 8), y con otro derivado de la biomasa como el furfural (**1d**, Tabla 6, entrada 11). También se utilizó 4-metilbenzaldehído (**1c**, Tabla 6, entrada 10). Por otro lado, se sustituyó el componente isonitrilo por bencil isonitrilo (**3b**, Tabla 6, entrada 7 y 8) e isocianoacetato de etilo (**3c**, Tabla 6, entrada 9).





Figura 27. Materiales de partida sustituidos utilizados para generar diversidad estructural en la P-3CR. Siete de ellos pueden obtenerse a partir de biomasa vegetal: HMF, MMF, furfural, HMFC, ácido fórmico, ácido acético y ácido levulínico

La reacción con ácido 5-hidroximetil-2-furancarboxílico (HMFC) condujo a la formación del producto deseado **4b** con un rendimiento bajo, inferior al de su análogo **4a**, mientras que el subproducto **5b** se obtuvo con un rendimiento similar al de su análogo **5a** (Tabla 6, entrada 1 vs 2). Para evaluar posibles mejoras de rendimiento, la reacción se extendió a 48 horas; sin embargo, no se observó un progreso significativo en comparación con la reacción a 24 horas, en concordancia con nuestros hallazgos de la optimización de la reacción modelo.

Cuando se utilizó ácido acético como componente ácido (Tabla 6, entrada 3), el producto deseado **4c** se obtuvo con un rendimiento bajo. Además, se obtuvo **5c**, una mezcla inseparable de dos α -aciloxi carboxamidas, en la que el grupo hidroximetilo del sistema furánico se encuentra

formilado y acetilado. Las cantidades de estos subproductos fueron similares a las de sus análogos **5a** y **5b** (Tabla 6, entradas 1, 2 y 3).

Cabe señalar que, cuando se realiza la P-3CR utilizando ácido fórmico como componente ácido (Tabla 6, entrada 4), no se logró aislar el producto **4d**. En su lugar, se obtuvo el producto **5d** como producto principal, con un rendimiento similar a sus análogos anteriores. Además, se obtuvo un nuevo subproducto, **6d** (Figura 28), resultante de la hidrólisis selectiva del α -éster, que no fue identificado en las otras reacciones ensayadas.



6d (8%)

Figura 28. Subproducto adicional utilizando ácido fórmico en la P-3CR

Al llevar a cabo la P-3CR utilizando ácido levulínico como componente ácido (Tabla 6, entrada 5), se obtuvo un producto de Passerini inestable, cuya formación pudo detectarse por ¹H-RMN, pero que se descompuso rápidamente, impidiendo su aislamiento en forma pura.

Para explorar la reactividad del sistema en ausencia del grupo hidroximetilo y con el objetivo de mejorar los rendimientos y la selectividad de la reacción, se sustituyó el componente carbonílico por un derivado del HMF, el 5-metoximetilfurfural (MMF, **1b**) (Tabla 6, entradas 6 y 8). Como era de esperar, se obtuvo un producto único, pero el rendimiento no mejoró en comparación con el HMF (Tabla 6, entradas 1 vs. 6). La prolongación del tiempo de reacción a 48 horas para la síntesis de **4f** tampoco mostró un progreso significativo respecto a la reacción de 24 horas.

Por otro lado, se evaluó la variación del componente isocianuro. Al comparar los resultados obtenidos con *tert*-butil isonitrilo y bencil isonitrilo (Tabla 6, entrada 1 vs. entrada 7, entrada 6 vs. entrada 8), se observó que las reacciones se desarrollaron mejor con el isocianuro alifático,

logrando mayores rendimientos. Sin embargo, el uso de isocianoacetato de etilo (Tabla 6, entrada 1 vs. entrada 9) resultó en una disminución significativa del rendimiento. Asimismo, se sustituyó el HMF por otros componentes carbonílicos, como 4-metilbenzaldehído (Tabla 6, entrada 10) y furfural (Tabla 6, entrada 11). El rendimiento de la reacción no varió significativamente comparándolo con el HMF (Tabla 6, entrada 1) teniendo en cuenta la suma de los productos. Cabe destacar que el HMF aportó mayor diversidad de la reacción, al generar dos productos en un solo paso.

Vale la pena señalar que se utilizaron ácido acético, ácido fórmico, ácido levulínico y derivados del HMF (MMF y HMFC), así como furfural, como alternativas "verdes" para sustituir los componentes tradicionales en la P-3CR. Estos reactivos derivan de biomasa renovable, particularmente de azúcares de materiales lignocelulósicos, lo que los convierte en actores clave en la transición hacia la producción química sostenible. Esta estrategia se alinea con el principio 7, que promueve el uso de materias primas sostenibles en lugar de recursos no renovables. Al integrar compuestos químicos derivados de la biomasa en la reacción de Passerini, este trabajo promueve metodologías sintéticas más ecológicas y reduce la dependencia de materias primas fósiles. Además, el uso de estos reactivos destaca el potencial de la biomasa como una fuente renovable de carbono, versátil y respetuosa con el ambiente, para la obtención de moléculas plataforma utilizadas en síntesis orgánica.

La labilidad estructural del enlace éster de las α -aciloxi carboxamidas está bien documentada. Su función éster hidrolizable garantiza que puedan descomponerse mediante hidrólisis enzimática o química. Esta biodegradabilidad incorporada las hace especialmente adecuadas para aplicaciones como fármacos blandos, profármacos o vectores genéticos, que requieren una eliminación controlada y segura. Esta característica estructural está en línea con el principio 10 de la química verde, que se centra en el diseño de productos para la degradación.
 Tabla 6. Resultados obtenidos para la P-3CR

R ₁	0 H 1 a-b	C R2 C R2 C C C C C C C C C C C C C		N [−] R ₃ R H +		N ^{-R} 3 H
			4 a-i		5 a-	i
Entrada	\mathbf{R}_1	\mathbf{R}_2	R ₃	Pro	oducto (R %)	4+5
1	Н		×	4a (55%)	5a (13%)	68%
2	Н	HO	×	4b (15%)	5b (10%)	25%
3	Н	H ₃ C—	\downarrow	4c (19%)	5c (13%) ^a	32%
4 ^b	Н	Н	\swarrow	4d (0%)	5d (13%)	13%
5	Н	0	\mathbf{k}	4e (0%)	5e (0%)	0%
6	CH ₃		×	4f (41%)	5f (0%)	41%
7	Н			4g (36%)	5g (15%)	51%
8	CH ₃			4h (21%)	5h (0%)	21%
9	Н			4i (5%)	5i (0%)	5%
10 ^c			\downarrow	4j (70%)	5j (0%)	70%
11°	©→ H		\downarrow	4k (67%)	5k (0%)	67%

^a Mezcla difícilmente separable de subproductos acetilado y formilado. ^b Se obtiene un compuesto adicional **6d** (8%) que es diferente a **4d** y **5d**. ^c Sustitución de otra molécula como componente carbonílico.









5b (10%)















4g (36%)

II O



4h (21%)



4i (5%)

НÓ

|| 0

4j (70%)

4k (67%)

Figura 29. Quimioteca de α -aciloxi carboxamidas obtenidas sustituyendo componentes en la P-3CR

4.1.2. Reacción de Passerini-Smiles

Por otro lado, se exploró la reacción de Passerini-Smiles (PS-3CR) mediante síntesis paralela. Cada vial se cargó con HMF, 2-nitrofenol y *tert*-butilisonitrilo en proporciones equimolares (0.4 mmol) Para investigar las condiciones que promueven la formación de la α -ariloxi amida, se evaluaron tres sistemas de disolvente distintos: un disolvente convencional como el CH₂Cl₂, metanol y condiciones sin disolvente a temperatura ambiente (Figura 30). El progreso de la reacción se controló mediante TLC durante un periodo de entre 24 horas y cuatro semanas. Sin embargo, no se observó la formación de una nueva mancha correspondiente al producto deseado.



Figura 30. Reacción multicomponente de Passerini-Smiles ensayada con 2-nitrofenol en cuatro condiciones experimentales independientes

Ante estos resultados, la reacción se ensayó en condiciones sin disolvente a 60 °C, utilizando un reactor de síntesis de calentamiento eficiente Monowave 50 y monitoreando por TLC a intervalos de una hora hasta 13 horas. Tras 5 horas, apareció una nueva mancha tenue, apenas perceptible. No obstante, la presencia de los materiales de partida, HMF y 2-nitrofenol, se mantuvo mayormente intensa incluso al finalizar la reacción, lo que hizo injustificada la purificación del aparente producto.

Se ha reportado que el rendimiento de reacciones que involucran un reordenamiento de Smiles se ven profundamente influenciadas por el efecto electrónico, el efecto estérico e incluso el pH (Xia et al., 2014). En este caso, la renuencia de la reacción a proceder puede atribuirse a dos factores principales: (1) las limitaciones inherentes del HMF como sustrato y (2) las condiciones de reacción limitadas ensayadas en este estudio, que resultaron insuficientes para completar la reacción de Passerini-Smiles utilizando HMF. Por lo tanto, se requiere una investigación más profunda de los parámetros de reacción, como el disolvente, la temperatura y la posible incorporación de catalizadores, para optimizar la formación y el aislamiento del producto deseado utilizando HMF como material de partida.

4.1.3. Elucidación estructural de los compuestos sintetizados.

La elucidación estructural de todos los compuestos sintetizados se logró mediante un análisis espectral exhaustivo. La resonancia magnética nuclear de protones (¹H-RMN) y la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de carbono-13 (¹³C-RMN) proporcionaron información detallada sobre los diferentes tipos de protones y carbonos presentes en cada molécula. La asignación precisa de las señales de RMN se corroboró mediante experimentos de espectroscopia de correlación bidimensional (COSY), coherencia cuántica simple heteronuclear (HSQC) y correlación de enlaces múltiples heteronucleares (HMBC). Además, se empleó espectrometría de masas para confirmar los pesos moleculares y la integridad estructural de los compuestos. Estas técnicas combinadas permitieron una caracterización precisa y confiable de las moléculas sintetizadas. A continuación, se presentan como ejemplo los espectros de protón de los productos obtenidos en el modelo de reactividad (Figura 31, Figura 32).



Figura 31. Espectro de ¹H-RMN en CDCl₃ de la α -aciloxi carboxamida 4a

En la Figura 31 se observan las señales de los diferentes protones del producto típico de Passerini obtenido a partir de ácido *p*-toluico, HMF y *tert*-butil isonitrilo. De mayor a menor desplazamiento químico (δ) en partes por millón (ppm) tenemos; en δ =7,98 un doblete que integra dos hidrógenos que corresponden al anillo bencénico (H₃ y H_{3#}) y en δ =7,28 un doblete que integra el otro par de protones del mismo anillo (H₂ y H_{2#}). En δ =6,51 un doblete que integra un hidrógeno del anillo furánico (H₅). En δ =6,30 un singulete que integra uno del protón quiral (H₄). En δ =6,29 un doblete que integra uno correspondiente al otro hidrógeno furánico (H₆). En δ =6,14 un singulete que pertenece al protón de la amida (H₉). En δ =4,59 un singulete que integra dos hidrógenos del metileno (H₇). En δ =2,44 un singulete que integra tres hidrógenos que corresponden al grupo metilo (H₁) en el anillo aromático y en δ =1,40 tenemos un singulete que integra nueve hidrógenos correspondientes al grupo *tert*-butilo de la molécula (H_{10,10#,10##}). El protón del grupo OH (H₈) no se observa porque generalmente este tipo de protones no suele aparecer en el espectro por su intercambiabilidad con el disolvente del experimento.



Figura 32. Espectro de ¹H-RMN en DMSO de la α-aciloxi carboxamida **5a** en la reacción modelo

En la Figura 32 se observan las señales de los diferentes protones de la α -aciloxi amida **5a**. La señal con el mayor desplazamiento químico δ =8,29, correspondiente al singulete, se asignó al protón carbonílico de la fracción formilada (H₈). En δ =7,97 un singulete integra un hidrógeno, este corresponde a la amida. En δ =7,86 un doblete integra dos hidrógenos que corresponden al anillo bencénico de la molécula (H₃ y H_{3#}) y en δ =7,35 un doblete que integra el otro par equivalente de protones del mismo anillo (H₂ y H_{2#}). En δ =6,60 un doblete que integra un protón del anillo furánico (H₅). Las constantes de acoplamiento tanto en el anillo de benceno como en el anillo de furano respaldaron las asignaciones correspondientes. En δ =6,50 un doblete que integra uno pertenece al otro hidrógeno furánico (H₆). En δ =6,12 un singulete integra uno es del protón quiral de la molécula (H₄). En δ =5,15 un singulete que integra dos hidrógenos son del metileno (H₇). En δ =2,39 un singulete que integra tres hidrógenos corresponden al grupo *ter*-butilo de la molécula (H_{10,10#,10##}).

4.2. Evaluación del impacto ambiental: Cálculo y análisis del Factor - E

Como se mencionó en la introducción el factor E es una métrica clave en la química verde, utilizada para cuantificar el impacto ambiental de los procesos químicos. Calcular el factor E permite identificar áreas en las que se pueden realizar mejoras para reducir la cantidad de desechos generados, es decir, oportunidades para la optimización de procesos. Además, esta métrica puede ser complementada con otros indicadores como el índice de eficiencia atómica o el índice de sostenibilidad de procesos para obtener una visión más integral del impacto ambiental.

El factor E se calcula relacionando la masa de residuos generados y la masa de producto obtenido, utilizando la Ecuación 2 (Sheldon, 2017). Este cálculo generalmente excluye el agua del proceso, ya que incluirla puede resultar en valores excepcionalmente altos y complicar las comparaciones significativas entre procesos (Dunn, 2012). El factor E, sin embargo, solo considera la masa de reactivos y productos, no la composición química ni los posibles impactos ambientales de los desechos, como el consumo de energía, las emisiones de gases de efecto invernadero o la toxicidad (Fadlallah & Allais, 2023).

Para calcular el factor E de la reacción modelo, se determinó la masa de los reactivos, disolventes y productos (Tabla 7), sin considerar el agua en el cálculo. El valor obtenido fue significativamente alto: de 2399 kg de desechos generados por cada kg de producto deseado. Este

resultado resalta la necesidad de optimizar los procesos de síntesis, minimizando el uso de disolventes y materiales auxiliares, además de explorar alternativas más sostenibles.

$$Factor E = \frac{m_{residuos}}{m_{Producto}} \text{ (Ecuación 2)}$$

$$Factor E = \frac{m_{materias \ primas} + m_{reactivos} + m_{solventes} - m_{producto}}{m_{Producto}}$$

Tabla 7. Cantidades de las sustancias involucradas en la metodología experimental de la reaccióndel modelo de reactividad de la P-3CR y cálculo de su factor-E

HO O O HO H H S/d				o H N H
O OH 3a 2a		но		0)=0 H
Sustancia	PM (g/mol)	Masa (g)	V Mole (mL) (mol)	es d (g/mL)
Reactivos HMF Ácido 4-metilbenzoico <i>Tert</i> -butil isonitrilo	126.11 136.15 83.13	0.1503 0.1623 0.0991 0.4117	0.001 0.001 _0.134 0.001	19 19 19 0.735
Disolventes (purificación) Hexano Acetato de etilo	-	372.21 207.46 579.67	570 _ 230	0.653 0.902
Auxiliares Sílica gel Bisulfito de sodio (c) Na ₂ SO ₄	-	35 59 10 104	_	1.31
Productos α-Aciloxi carboxamida 4a α-Aciloxi carboxamida 5a	345.40 351.36_	0.2276 0.0574 0.2850	-	

Factor
$$E = \frac{0.4117 + 104 + 579.67 - 0.285}{0.285}$$

Factor E = 2399

La industria farmacéutica reporta los valores más altos de factor E en comparación con otros sectores de la industria química. Esto se debe, principalmente, a la necesidad de obtener productos de muy alta pureza y a reacciones de múltiples pasos durante las cuales se generan muchos subproductos y residuos (Tobiszewski et al., 2015). Esta industria es conocida por su elevado consumo de disolventes, los cuales representan más de la mitad del material utilizado en un proceso de síntesis de un fármaco (Prat et al., 2016). Los factores E pueden oscilar entre 25 y 100 kg de residuos por cada kg de producto. Incluso se ha señalado factores E de hasta aproximadamente 4000 (Pérez et al., 2013; Stanley, 2011).

Nuestro factor-E calculado de 2399 para el modelo de reactividad es considerablemente alto; los disolventes utilizados en la etapa de purificación representaron el 85 % de la masa total (579,67 g de 684,08 g) cuantificada como residuos. Este resultado concuerda con lo reportado en la industria farmacéutica, donde los elevados factores E se asocian estrechamente con el uso extensivo de disolventes. Para mitigar esta problemática, la industria adopta cada vez más el reciclaje de disolventes mediante destilación o adsorción, aunque las estrictas regulaciones de la FDA y la EMA (*European Medicines Agency*) exigen rigurosas evaluaciones de riesgos para prevenir la contaminación cruzada o la degradación de la calidad. En este contexto, de lograrse reciclar los disolventes utilizados durante la fase de purificación en la reacción modelo de este estudio, el factor E se reduciría a 366, evidenciando el impacto positivo que estas prácticas pueden tener en la sostenibilidad del proceso. Este tipo de estimaciones es común en estudios exploratorios, donde el enfoque se centra en evaluar la viabilidad de la reacción y el valor del producto, más que en su potencial de escalado industrial.

El cálculo del factor E nos ha permitido identificar las etapas que requieren mayor atención para reducir los residuos. En nuestro caso, el proceso de purificación destaca como un contribuyente significativo al factor E ya que conlleva el uso de una columna cromatográfica que requiere grandes volúmenes de disolventes. Evidenciar esto abre el camino a la búsqueda de alternativas para optimizar este paso y reducir la cantidad de residuos generados. Entre las estrategias para mitigar este impacto, además de minimizar el uso de disolventes mediante procesos de purificación más eficientes, se pueden considerar métodos alternativos como la cristalización o extracciones ecológicas. Asimismo, el empleo de disolventes conmutables y disolventes "verdes", como disolventes eutécticos profundos o el CO₂ supercrítico (Clarke et al., 2018), representan una vía prometedora para desarrollar procesos más sostenibles.

4.3. Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas teóricas de los compuestos sintetizados se determinaron utilizando el sitio web ADMETlab (Dong et al., 2018), y los resultados se recopilaron en la Tabla 8. Esta herramienta, ampliamente utilizada para la predicción de propiedades ADME, ha demostrado una alta precisión en comparación con datos experimentales (Dulsat et al., 2023). En base a los valores numéricos obtenidos para cada descriptor químico, se verificó que todos los compuestos sintetizados cumplen con los cuatro parámetros de la regla de Lipinski, ya que ninguno de ellos infringe los criterios establecidos (Tabla 8). Si bien la adherencia a la Ro5 sugiere que estos compuestos podrían ser activos por vía oral con buena absorción y biodisponibilidad (Doak et al., 2014), es importante señalar que las directrices de Ro5 no son absolutas. De hecho, varios compuestos fuera del espectro químico de Ro5 han demostrado una permeabilidad celular y biodisponibilidad oral favorables, lo que resalta la necesidad de una interpretación matizada de estas normas (Haritha et al. 2024).

Compuesto			Reglas de	Lipinski	
	PM≤500	Log P≤5	HBA≤10	HBD≤5	Violaciones a la Ro5
4 a	345.40	2.90	5	2	0
4b	351.36	1.67	7	3	0
4 c	269.30	1.30	5	2	0
4f	359.42	3.55	5	1	0
4 g	379.41	3.30	5	2	0
4h	393.44	3.95	5	1	0
4i	375.38	1.66	7	2	0
4j	339.44	4.12	3	1	0
4 k	315.37	3.40	4	1	0
5a	373.41	3.07	6	1	0
5b	379.37	1.85	8	2	0
5d	283.28	1.08	6	1	0
5g	407.42	3.48	6	1	0

Tabla 8. Predicción in silico de las propiedades fisicoquímicas de los productos de Passerini

El log P es un descriptor habitual para medir la lipofilicidad de los compuestos, ya que está relacionado con la permeabilidad a través de las membranas biológicas (Durán et al., 2020). Los fármacos suelen tener valores log P entre -0,4 y 5,6 (Ward et al., 2021), siendo el rango ideal para aquellos dirigidos a la absorción oral e intestinal de 1,35–1,8 (Lewandowski et al., 2020). El compuesto **4j**, derivado del 4-metilbenzaldehído, resultó tener el valor log P más alto (4,12) entre los compuestos analizados (Tabla 8), lo que indica que es el más lipofílico. Esto podría sugerir una mejor permeabilidad a través de la membrana, pero también podría comprometer su solubilidad en medios acuosos. En este sentido, la presencia del anillo de furano en el componente carbonilo disminuye su log P y podría mejorar la solubilidad del compuesto Passerini. En contraste, el compuesto **5d**, derivado del ácido fórmico, presentó el log P más bajo (1,08), por debajo del rango ideal, lo que refleja una menor lipofilia y probablemente una mayor solubilidad en ambientes acuosos, lo que afectaría su permeabilidad de membrana.

4.4. Evaluación de la actividad antiproliferativa mediante ensayo de sulforodamina B

Los programas de descubrimiento de fármacos contra el cáncer emplean diversos ensayos biológicos *in vitro* para evaluar de manera rápida bibliotecas de compuestos y seleccionar potenciales candidatos para estudios preclínicos posteriores (Shakil et al., 2022). Además, proporcionan una fuente indefinida de material biológico para experimentos (Mirabelli et al., 2019). Si bien los cultivos celulares bidimensionales (2D) presentan limitaciones, ya que no reproducen con precisión el complejo entorno biológico de las células *in vivo* (Wei et al., 2021), su simplicidad y escalabilidad los hacen ideales para el cribado inicial de compuestos, donde el objetivo principal es la identificación rápida de compuestos bioactivos en lugar de la fidelidad mecanicista o translacional.

En esta investigación, se utilizó el ensayo colorimétrico de sulforodamina B (SRB) para evaluar el efecto antiproliferativo de algunos compuestos, utilizando placas de 96 pocillos, como se muestra en la Figura 33. La sulforodamina B es un colorante derivado del amino xantano, de color rosa brillante que se une de forma electrostática a los grupos amino de los aminoácidos básicos de las proteínas en condiciones ácidas suaves. La unión es estequiométrica con respecto a la masa celular, lo que permite una cuantificación de la viabilidad celular (Vichai & Kirtikara, 2006). Este ensayo se utiliza en células adherentes y proporciona una evaluación indirecta de la inhibición del crecimiento. Si bien no discrimina entre efectos citotóxicos o de citostásis, una reducción en la señal de SRB se correlaciona fuertemente con una menor proliferación o una pérdida de viabilidad celular, ambos indicadores de actividad antiproliferativa.



Figura 33. Ensayo colorimétrico SRB en placa multiwell, cuatro concentraciones evaluadas por triplicado

Las líneas celulares T24 y 253J son modelos ampliamente utilizados para el estudio del carcinoma transicional humano urotelial invasivo, proporcionando información fundamental sobre la progresión tumoral y la diseminación metastásica (Heijden et al., 2004; Shah et al., 2016; G. Zhang et al., 2007; Hatina et al., 2008). Además, estas líneas celulares se emplean para evaluar los efectos antiproliferativos, antimigratorios y genotóxicos de diversos compuestos químicos (Ingold et al., 2022; Varela et al., 2023).

La línea celular de cáncer de vejiga humana más utilizada es la T24. En la historia de la investigación del cáncer humano, T24 fue la primera línea celular humana en la que se identificó un oncogén, el protooncogén Ha-*ras* (Knuechel & Masters, 2002). Esta línea celular se estableció a partir de un carcinoma de células transicionales de la vejiga en una paciente femenina en 1973 (Harding & Theodorescu, 2007) y proviene de un carcinoma de grado III altamente maligno (Gerhardt et al., 2014). Por otro lado, 253J es una línea celular epitelial de vejiga humana débilmente tumorigénica y con baja capacidad metastásica (Coughlin et al., 2013).

En el presente estudio, se evaluó la actividad antiproliferativa de cuatro de los compuestos sintetizados en ambas líneas celulares mediante el ensayo de SRB. El fin de este cribado preliminar fue identificar rápidamente compuestos con actividad biológica. Por consiguiente, se estimaron los valores de IC_{50} ya que se utilizó un rango de concentración de cuatro puntos. Para los compuestos activos, se refinarán aún más las curvas dosis-respuesta para obtener mediciones

precisas de IC₅₀ e identificar candidatos prometedores que puedan ser optimizados como *hit* y, eventualmente, ser establecidos como líder (*lead compound*) con una actividad biológica mejorada. Los resultados, expresados como la concentración inhibitoria del crecimiento celular en un 50% (IC₅₀) tras 48h de exposición, se presentan en la Tabla 9. Como control positivo se incluyó un fármaco anticancerígeno conocido, el cisplatino.

Compuesto	IC ₅₀ (µM)			
_	253J	T24		
4 a	>100	>100		
4b	29,80 (±9,50)	48,42 (±16,08)		
4 c	>100	>100		
4f	50,63 (±22,08)	>100		
cisplatino	63,84 (±1,09)	12,38 (±1,11)		

 Tabla 9. Efecto antiproliferativo en líneas celulares 253J y T24

Los resultados indican que el compuesto **4b** es el más prometedor de los analizados, mostrando una actividad antiproliferativa moderada contra ambas líneas celulares. Es especialmente interesante su efecto contra la línea celular 253J, donde supera al cisplatino. Mientras que el compuesto **4f** exhibe una actividad moderada y selectiva contra 253J, siendo inactivo en la línea celular T24. En contraste, los compuestos **4a** y **4c** no muestran una actividad antiproliferativa significativa en ninguna de las líneas celulares evaluadas (Figura 34).

Las diferencias en la actividad entre los compuestos moderadamente activos **4b** y **4f** se puede atribuir a sus diferencias estructurales y a cómo estas estructuras interactúan con las células. La actividad moderada de **4b** en ambas líneas celulares sugiere que tiene un espectro de acción más amplio, mientras que la actividad "selectiva" de **4f** en 253J indicaría un objetivo o mecanismo de acción más específico en esa línea celular en particular. Sin embargo, esta "selectividad" puede depender de la concentración, ya que concentraciones más altas pueden comenzar a afectar a T24. Cabe destacar que la actividad principal de **4f** contra la línea 253J, menos tumorígena (en lugar de las células T24, más agresivas), sugiere que, si influye en la proliferación, su efecto es más pronunciado en fenotipos menos agresivos. Estos hallazgos resaltan la importancia de evaluar los índices de selectividad utilizando líneas celulares no tumorígenas para evaluar mejor la especificidad del compuesto.



Figura 34. Efecto antiproliferativo en líneas celulares 253J y T24. Expresado como el valor de $IC_{50} \pm el desvío estándar$

Se observó que la sustitución del grupo hidroximetilo en el compuesto inactivo **4a** por un grupo metoximetilo en el compuesto activo **4f** afecta significativamente su actividad biológica. Esta modificación reduce la capacidad de formar enlaces de hidrógeno y aumenta la lipofilicidad (log P 3.55), lo que probablemente contribuye a la actividad antiproliferativa "selectiva" de **4f** en la línea celular 253J, mientras que **4a** no exhibe el mismo nivel de actividad. Además, al comparar **4a**, con **4b** y **4c**, en los que solo varía el componente ácido carboxílico de la α -aciloxi carboxamida, la incorporación del residuo hidroximetilfurilo, utilizando ácido hidroximetilfuranoico, mejora la actividad biológica. Esto sugiere que tanto la lipofilicidad como la presencia de grupos funcionales específicos desempeñan un papel crucial en la modulación de la eficacia biológica de estos compuestos.
A partir de estos primeros ensayos *in vitro*, se plantea la síntesis de una nueva molécula que combine las características estructurales de los compuestos con mejor IC_{50} (**4b** y **4f**) con el objetivo de optimizar su actividad biológica. En este caso, la P-3CR se llevaría a cabo utilizando el ácido hidroximetilfuranoico como componente ácido y metoximetilfurfural como componente carbonílico.

El compuesto **4b**, sintetizado con dos de sus tres componentes derivados de la biomasa (HMF y ácido hidroximetilfuranoico), junto con su prometedora actividad antiproliferativa, ejemplifica el potencial de la química verde en el descubrimiento de fármacos, que en última instancia conduzcan a candidatos a fármacos innovadores y sostenibles. Al utilizar componentes derivados de la biomasa, este trabajo se alinea con el principio 7, que prioriza el uso de materias primas renovables. Este enfoque promueve síntesis químicas sostenibles, reduce la dependencia de recursos no renovables y genera productos de alto valor agregado.

5. Conclusiones

El objetivo principal de esta tesis de maestría fue explorar la reactividad del 5hidroximetilfurfural (HMF), una plataforma química derivada de la biomasa, en reacciones multicomponente siguiendo principios de la química verde. Esta estrategia busca obtener nuevas moléculas bioactivas como potenciales fármacos para el tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles, en particular el cáncer.

Se optimizó el modelo de reactividad de la reacción multicomponente de Passerini utilizando HMF, llevándola a cabo de manera eficiente, con rendimientos variables (5% - 70%) y en condiciones amigables con el ambiente: sin disolvente, a temperatura ambiente, durante 24 horas y utilizando una relación equimolar de los reactivos.

En estas condiciones, se sintetizaron 13 compuestos derivados de la reacción de Passerini (P-3CR), de los cuales 9 corresponden a α -aciloxi carboxamidas principales y 4 son α -aciloxi carboxamidas obtenidas como productos secundarios. Se demostró que, al variar la naturaleza de los bloques de construcción en la reacción, es posible generar una quimioteca diversa utilizando HMF y sus derivados como materiales de partida. Esto resalta el potencial del HMF como bloque de construcción clave en la síntesis de nuevas moléculas.

La aparición inesperada y consistente de una segunda α -aciloxi carboxamida como producto minoritario, derivada de la formilación de la cadena lateral hidroximetilada del sistema furánico, constituye un hallazgo notable. Esta observación, atribuida a la reactividad intrínseca del HMF y su susceptibilidad a degradarse a ácido fórmico, resalta la complejidad inherente de trabajar con el HMF. Aunque la presencia de este producto secundario podría considerarse un desafío, también ofrece una valiosa oportunidad para ampliar la diversidad molecular, generando nuevos compuestos de interés biológico.

El uso de HMF como sustrato en la reacción de Passerini-Smiles, en condiciones sin disolventes tanto a temperatura ambiente como a 60 °C no produce cantidades detectables de la α -ariloxi amida. El progreso de la reacción se caracterizó por la presencia persistente de materiales de partida, lo que indica una baja eficiencia de conversión en este sistema, lo que sugiere la necesidad de estudios adicionales para optimizar la reacción.

El cálculo del factor-E reveló un valor alto de 2399 atribuible principalmente al uso extensivo de disolventes, que constituyeron el 85% de la masa total cuantificada de residuos. En particular, el proceso de purificación, que requirió grandes volúmenes de disolventes, fue identificado como un importante contribuyente. Su optimización en función de la relevancia biológica del producto llevaría a la reducción considerable de la huella ambiental.

Esta investigación demostró que es posible desarrollar un proceso químico para la generación de α -aciloxi carboxamidas alineado de manera integral con siete principios de la química verde. La reacción multicomponente de Passerini y sus condiciones de reacción permitieron prevenir la generación de grandes cantidades de residuos (principio 1) y maximizar la economía atómica del proceso (principio 2). Se priorizó el uso de reactivos menos peligrosos (principio 3) y materias primas renovables, como el HMF y sus derivados (principio 7). Se eliminó el disolvente de reacción (principio 5), se obtuvieron productos considerados biodegradables (principio 10) y se optimizó la energía utilizada en la reacción (principio 6). Estas medidas y condiciones destacan nuestro esfuerzo por reducir el impacto ambiental y reflejan el compromiso con un enfoque sostenible.

Los resultados de la presente investigación y la aplicación de los principios de la química verde están alineados con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 de la Organización de Naciones Unidas. En particular, este trabajo contribuye al ODS 3: Salud y Bienestar, al impulsar el descubrimiento de potenciales fármacos para el tratamiento efectivo de enfermedades no transmisibles como el cáncer. Además, se alinea con el ODS 12: Producción y Consumo Responsables, promoviendo el uso de recursos renovables, como la biomasa, para la producción de compuestos bioactivos con el fin de disminuir la dependencia de materias primas petroquímicas en la industria farmacéutica y favorecer un ciclo de producción más sostenible.

En cuanto a la evaluación biológica, se identificó el compuesto **4b** como el candidato más prometedor dentro de la serie de cuatro compuestos evaluados. Este presentó una actividad antiproliferativa moderada contra las líneas celulares T24 y 253J, particularmente contra 253J, donde su IC₅₀ (29,80 μ M) fue más potente que la del agente quimioterapéutico cisplatino (63,84 μ M). Por otro lado, el compuesto **4f** también exhibió una actividad moderada, pero "selectiva" contra la línea celular 253J, ya que es inactivo contra la línea celular T24 a las concentraciones evaluadas. Estos hallazgos resaltan el potencial de **4b** como compuesto líder para el desarrollo de nuevas moléculas con actividad antitumoral mejorada. Asimismo, subrayan la importancia de continuar explorando sus mecanismos de acción y su potencial terapéutico.

6. Perspectivas

Los trabajos futuros se centrarán en investigar más a fondo las vías mecanísticas involucradas en la formación de la α -aciloxi carboxamida secundaria y en la resolución enantiomérica de los productos generados en la P-3CR. Además, se planea mitigar el uso de disolventes en la purificación cromatográfica, optimizando el proceso o implementando métodos de purificación alternativos como la recristalización.

Desde el punto de vista sintético, se planea ampliar el estudio del alcance de la P-3CR utilizando HMF y sus derivados como componentes de la reacción. El objetivo es generar una α -aciloxi carboxamida donde todos sus componentes provengan exclusivamente de la biomasa, logrando así productos 100 % obtenidos a partir de recursos renovables. Además, con base en la relación estructura-actividad, se contempla la posibilidad de ampliar la quimioteca generada incorporando farmacóforos con reconocida actividad antitumoral, según investigaciones previas realizadas por nuestro grupo.

Se continuará explorando la reacción de Passerini-Smiles con el propósito de identificar condiciones de reacción óptimas, evaluando variables como el disolvente, la temperatura y el uso de catalizadores, para lograr una formación y un aislamiento eficiente de nuevos productos a partir de HMF y sus derivados. Esta línea de trabajo permitirá expandir la versatilidad de estas metodologías sintéticas y generar nuevos compuestos con potencial aplicación en el desarrollo de agentes terapéuticos.

En cuanto a la evaluación biológica, se completará el estudio en las líneas celulares T24 y 253J para todos los compuestos sintetizados y se determinará su índice de selectividad mediante la comparación de sus efectos citotóxicos en líneas celulares cancerosas y no cancerosas. También se investigará el modo de acción, evaluando su capacidad para inducir apoptosis, alterar el ciclo celular u otras vías celulares involucradas en la progresión del cáncer. Si los resultados *in vitro* son prometedores, los compuestos serán sometidos a estudios en modelos animales para evaluar su eficacia y seguridad en un sistema biológico más complejo. Para ello, se utilizarán técnicas avanzadas, como las ómicas, con el fin de identificar sus blancos moleculares.

7. Parte Experimental

7.1. Síntesis química

7.1.1. Generalidades

Todos los materiales de partida, reactivos y disolventes se adquirieron de fuentes comerciales y se utilizaron sin purificación adicional. El progreso de la reacción se controló por cromatografía en capa fina (TLC) y las manchas se visualizaron bajo luz ultravioleta (254 nm) y asperjado con una mezcla de etanol: ácido sulfúrico: anisaldehído (95:4:1) (v:v:v) y posterior quemado. La cromatografía en columna se realizó utilizando sílica gel (Carlos Erba, 40A, 40-63 μ) o Alúmina neutra (Machery-Negal, 90) y como fase móvil mezclas en diferentes proporciones de hexanos con acetato de etilo (AcOEt). La estructura de los productos sintetizados se elucidó mediante espectroscopía de ¹H-RMN y ¹³C-RMN, junto a la combinación de experimentos HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence), HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) y COSY (COrrelated SpectroscopY). Los espectros se obtuvieron en un espectrómetro Bruker Avance DPX-400 de 400 MHz. El disolvente para las muestras de RMN principalmente fue CDCl₃. Los desplazamientos químicos se informan en partes por millón (δ/ppm). La referencia interna para los espectros de RMN es tetrametilsilano a 0,00 ppm. Las constantes de acoplamiento se expresan en Hertz (J/Hz). Las multiplicidades de las señales se informan utilizando las abreviaturas estándar: singulete (s), doblete (d), triplete (t) y multiplete (m). Los espectros de RMN se analizaron utilizando el software MestreNova versión 12.0.0-20080. Los espectros de masas de alta resolución se registraron con un espectrómetro Thermo Scientific Q Exactive Hybrid Quadrupole Orbitrap utilizando metanol como disolvente. Los puntos de fusión se determinaron experimentalmente utilizando un equipo Electrothermal IA-9100.

7.1.2. Productos de la reacción de Passerini (P-3CR)

Procedimiento *screening* **de disolventes y RMN cuantitativa** (**qNMR**): Se realizó una síntesis paralela en viales individuales. Cada vial se cargó con HMF, el ácido *p*-toluico y el *terbutil*isonitrilo en proporciones equimolares (0.4 mmol). Se evaluaron seis condiciones de disolvente: 2-metiltetrahidrofurano (Me-THF), diclorometano (CH₂Cl₂), agua (H₂O), etanol (EtOH), metanol (MeOH) y condiciones sin disolvente. Las reacciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente (TA) durante 24 y 48 horas. Según Pauli y colaboradores (2014), para ejecutar la RMN cuantitativa absoluta se añade directamente a la muestra una cantidad conocida de estándar interno. Por lo que, finalizada la reacción, se extrajo una alícuota de 100 μ L de cada vial, el disolvente se evaporó a presión reducida y se registró la masa del crudo (muestra). Para el experimento de qRMN, se añadieron a cada muestra 0.6 mL de cloroformo deuterado (CDCl₃) y adicionalmente 5 μ L de tricloroetileno (TCE) como estándar interno. En las reacciones realizadas en H₂O y en condiciones sin disolvente, se realizaron reacciones por duplicado para cada tiempo de reacción puesto que el crudo en estas condiciones requería ser disuelto previamente en metanol para tomar la alícuota.

Procedimiento general: En un balón se añadieron consecutivamente el aldehído (1.1 mmol), el ácido carboxílico (1.1 mmol) y el isonitrilo (1.1 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. Posteriormente, la mezcla de reacción se disolvió en AcOEt. La fase orgánica se lavó con solución saturada de bisulfito de sodio (tres veces), luego se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄), se filtró el agente desecante y se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo se purificó por cromatografía en columna (SiO₂ o alúmina, hexano/AcOEt) para dar el producto deseado.

4-metilbenzoato de 1-(5-(hidroximetil)furan-2-il)-1-(*tert***-butilaminocarbonil)metilo (4a).** Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos HMF, ácido 4-metilbenzoico y *tert*-butil isonitrilo. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (SiO₂, hexano:AcOEt, 80:20 a 60:40) para dar **4a** (228 mg, 55 %) como un sólido blanco, P.F. 122.5 – 124.0 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.98 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.51 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.30 (s, 1H), 6.29 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 4.59 (s, 2H), 2.44 (s, 3H), 1.40 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 165.2, 164.8, 155.2, 148.4, 144.6, 129.9, 129.3, 126.2, 111.9, 108.7, 69.2, 57.4, 51.8, 28.6, 21.7. HRMS (ESI+): *m*/*z* [M+Na]⁺ calculado para C₁₉H₂₃NO₅Na, 368.1474; encontrado, 368.1456.

4-metilbenzoato de 1-(5-(formiloximetil)furan-2-il)-1-(*tert*-butilaminocarbonil)metilo (5a). Este compuesto se obtuvo como subproducto en la reacción para la obtención del producto **4a**. Dicho producto (**5a**) se obtiene como un sólido blanco (57 mg, 13%), P.F. 113.0 – 114.5 °C. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8.29 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.35 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 6.60 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 5.15 (s, 2H), 2.39 (s, 3H), 1.26 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, DMSO-d6) δ 165.2, 164.8, 162.1, 150.3, 150.2, 144.6, 129.9,

129.8, 126.6, 112.6, 111.6, 69.4, 57.3, 51.1, 28.7, 21.6. HRMS (ESI+): *m*/*z* [M+Na]⁺ calculado para C₂₀H₂₃NO₆Na, 396.1423; encontrado, 396.1409.

5-hidroximetilfuranoato de 1-(5-(hidroximetil)furan-2-il)-1-(*tert*-butilaminocarbonil) metilo (**4b**). Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos HMF, ácido hidroximetilfuranoico y *tert*-butil isonitrilo. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (SiO₂, hexano:AcOEt, 50:50 a 40:60) para dar **4b** como un sólido blanco (62 mg, 15%), P.F. 119.0 – 121.0 °C. ¹H NMR (400 MHz, Acetona-*d*₆) δ 7.27 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 7.07 (s, 1H), 6.51 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6.50 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.32 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.12 (s, 1H), 4.61 (s, 2H), 4.53 (s, 2H), 1.37 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, Acetona-*d*₆) δ 205.3, 164.5, 160.7, 156.8, 148.4, 143.0, 119.8, 111.5, 108.9, 107.8, 69.1, 56.4, 56.3, 51.0, 27.8. HRMS (ESI+): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₁₇H₂₁NO₇Na, 374.1216; encontrado, 374.1195.

5-hidroximetilfuranoato de **1-(5-(formiloximetil)furan-2-il)-1-(***tert***-butilaminocarbonil) metilo (5b).** Este compuesto se obtuvo como subproducto en la reacción para la obtención del producto **4b**. Dicho producto (**5b**) se obtiene como un aceite ámbar (43 mg, 10%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.08 (s, 1H), 7.25 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.53 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.45 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 6.43 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.23 (s, 1H), 6.14 (s, 1H), 5.21 – 5.04 (m, 2H), 4.68 (s, 2H), 1.40 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 164.5, 160.4, 159.5, 156.6, 149.9, 149.0, 142.8, 120.4, 112.5, 112.1, 109.7, 68.8, 57.5, 57.2, 51.9, 28.5. HRMS (ESI+): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₁₈H₂₁NO₈Na, 402.1165; encontrado, 402.1148.

Acetato de 1-(5-(hidroximetil)furan-2-il)-1-(*tert*-butilaminocarbonil)metilo (4c). Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos HMF, ácido acético y *tert*-butil isonitrilo. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (SiO₂, CH₂Cl₂:Et₂O, 30:70) para dar 4c como un aceite amarillo (60 mg, 19 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 6.43 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.27 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.03 (s, 2H), 4.57 (s, 2H), 2.53 (s, 1H), 2.17 (s, 3H), 1.39 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 169.1, 165.0, 155.2, 148.2, 111.8, 108.6, 68.9, 57.3, 51.8, 28.6, 20.9. HRMS (ESI+): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₁₃H₁₉NO₅Na, 292.1161; encontrado, 292.1147.

Formiato de 1-(5-(formiloximetil)furan-2-il)-1-(*tert***-butilaminocarbonil)metilo (5d).** Este compuesto se obtuvo como subproducto en la reacción para la obtención del producto **4d**, el cual no fue posible obtener. Dicho producto (**5d**) se obtiene partiendo de los reactivos ácido fórmico,

HMF y *t*-butilisocianuro. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (hexano:AcOEt, 50:50 a 40:60) para dar **5d** como un aceite ámbar (43 mg, 13 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.17 (d, *J* = 1.0 Hz, 1H), 8.10 (d, *J* = 0.9 Hz, 1H), 6.52 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.44 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.18 (s, 1H), 6.08 (s, 1H), 5.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 1.42 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 164.1, 160.3, 158.7, 149.9, 148.7, 112.5, 112.0, 68.1, 5.1, 52.0, 28.5. HRMS (ESI+): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₁₃H₁₇NO₆Na, 306.0954; encontrado, 306.0938.

1-(5-(formiloximetil)furan-2-il)-1-(*tert***-butilaminocarbonil)metanol (6d).** Este compuesto se obtuvo como subproducto en la reacción para la obtención del producto **4d**. Dicho producto (**6d**) se obtiene como un aceite ámbar (23 mg, 8%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.07 (s, 1H), 6.40 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 6.34 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 5.12 (s, 2H), 4.98 (s, 1H), 3.07 (s, 1H), 1.36 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 168.5, 160.4, 153.2, 149.0, 112.1, 109.0, 67.7, 57.3, 51.8, 28.6. HRMS (ESI+): m/z [M+Na]⁺ calculado para C₁₂H₁₇NO₅Na, 278.1004; encontrado, 278.0990.

4-metilbenzoato de 1-(5-(metoximetil)furan-2-il)-1-(*tert*-butilaminocarbonil)metilo (**4f**). Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos metoximetilfurfural (MMF), ácido 4-metilbenzoico y *tert*-butil isonitrilo. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (SiO₂, hexano:AcOEt, 80:20 a 70:30) para dar **4f** como un sólido blanco (140 mg, 41 %), P.F. 105.0-107.0 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.28 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.54 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.34 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.31 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 4.45 – 4.36 (m, 2H), 3.37 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 1.41 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 165.1, 164.8, 152.8, 148.7, 144.5, 129.9, 129.3, 126.3, 111.9, 110.3, 69.3, 66.3, 57.9, 51.7, 28.6, 21.7. HRMS (ESI+): m/z [M+Na]⁺ calculado para C₂₀H₂₅NO₅Na, 382.1630; encontrado, 382.1603.

4-metilbenzoato de 1-(5-(hidroximetil)furan-2-il)-1-(bencilaminocarbonil)metilo (4g). Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos HMF, ácido 4-metilbenzoico y bencil isonitrilo. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (alúmina, hexano:AcOEt, 90:10 a 70:30) para dar **4g** como un aceite ámbar(165 mg, 36 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.35 – 7.22 (m, 5H), 7.21 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.81 (s, 1H), 6.49 (d, J = 3.3 Hz, 1H), 6.42 (s, 1H), 6.24 (d, J = 3.2 Hz, 1H), 4.57 – 4.43 (m, 2H), 4.52 (s, 2H), 2.71 (s, 1H), 2.38 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.4, 165.0, 155.5, 147.8, 144.7,

137.6, 130.0, 129.3, 128.7, 127.6, 127.5, 126.0, 112.3, 108.7, 69.2, 57.3, 43.4, 21.7. HRMS (ESI+): *m*/*z* [M+Na]⁺ calculado para C₂₂H₂₁NO₅Na, 402.1317; encontrado, 402.1312.

4-metilbenzoato de 1-(5-(formiloximetil)furan-2-il)-1-(bencilaminocarbonil)metilo (5g). Este compuesto se obtuvo como subproducto en la reacción para la obtención del producto **4g**. Dicho producto (**5g**) se obtiene como un aceite ámbar (54 mg, 15%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.00 (s, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.29 – 7.15 (m, 7H), 6.53 (s, 1H), 6.50 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.40 (s, 1H), 6.37 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H), 5.06 (s, 2H), 4.57 (dd, *J* = 15.0, 6.0 Hz, 1H), 4.43 (dd, *J* = 15.1, 5.5 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.0, 164.8, 160.3, 149.8, 148.9, 144.8, 130.2, 130.0, 129.3, 129.2, 128.8, 127.7, 127.6, 112.5, 112.1, 69.0, 57.2, 43.4, 21.7. HRMS (ESI+): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₂₃H₂₁NO₆Na, 430.1267; encontrado, 430.1253.

4-metilbenzoato de 1-(5-(metoximetil)furan-2-il)-1-(bencilaminocarbonil)metilo (4h). Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos MMF, ácido 4-metilbenzoico y bencil isonitrilo. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (alúmina, hexano:AcOEt, 90:10 a 70:30) para dar **4h** como un aceite incoloro (88 mg, 21 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.87 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.31 – 7.12 (m, 7H), 6.52 (s, 1H), 6.48 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.39 (s, 1H), 6.26 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 4.55 (dd, *J* = 15.0, 6.2 Hz, 1H), 4.42 (dd, *J* = 15.0, 5.7 Hz, 1H), 4.31 (d, *J* = 2.1 Hz, 2H), 3.27 (s, 3H), 2.33 (s, 3H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 166.2, 164.9, 153.0, 148.1, 144.6, 137.6, 130.0, 129.3, 128.7, 127.6, 127.5, 126.1, 112.3, 110.3, 69.2, 66.3, 57.9, 43.4, 21.7. HRMS (ESI+): *m*/*z* [M+Na]⁺ calculado para C₂₃H₂₃NO₅Na, 416.1474; encontrado, 416.1456.

4-metilbenzoato de 1-(5-(hidroximetil)furan-2-il)-1-(*N*-(**etiloxicarbonilmetil)aminocarbonil)metilo** (**4i**). Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos HMF, ácido 4-metilbenzoico e isocianoacetato de etilo. El crudo fue purificado por cromatografía en columna (alúmina, hexano:AcOEt, 20:80 a 5:95) para dar **4i** como un aceite ámbar (22 mg, 5 %). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.92 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.20 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 6.81 (t, *J* = 5.1 Hz, 1H), 6.51 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 6.38 (s, 1H), 6.22 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 4.52 (d, *J* = 2.0 Hz, 2H), 4.15 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.09 – 3.96 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.21 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H).¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 169.5, 166.4, 164.8, 155.4, 147.6, 144.7, 130.0, 129.3, 126.0, 112.5, 108.7, 68.9, 61.8, 57.5, 41.3, 21.7, 14.1. HRMS (ESI+): m/z [M+Na]⁺ calculado para C₁₉H₂₁NO₇Na, 398.1216; encontrado, 398.1225. **4-metilbenzoato de 1-(4-metilfenil)-1-(***tert***-butilaminocarbonil)metilo (4j).** Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos 4-metilbenzaldehído, ácido 4-metilbenzoico y *tert*-butil isonitrilo. En este caso la fase orgánica únicamente se lavó con solución de bicarbonato de sodio saturado (dos veces). El crudo fue purificado por cromatografía en columna (SiO₂, hexano:AcOEt, 80:20 a 50:50) para dar 4j como un sólido blanco (292 mg, 70 %), P.F. 152.8 – 154.8 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.99 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.42 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.21 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H), 6.20 (s, 1H), 6.02 (s, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 1.38 (s, 9H).¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 167.6, 164.9, 144.3, 138.7, 133.1, 129.8, 129.4, 129.3, 127.4, 126.7, 75.8, 51.5, 28.7, 21.7, 21.2. HRMS (ESI+): *m/z* [M+Na]⁺ calculado para C₂₁H₂₅NO₃Na, 362.1732; encontrado, 362.1722.

4-metilbenzoato de 1-(furil)-1-(*tert***-butilaminocarbonil)metilo (4k).** Este compuesto se obtuvo a través del procedimiento general, partiendo de los reactivos furfural, ácido 4-metilbenzoico y *tert*-butil isonitrilo. Al procedimiento general se añadió un lavado de la fase orgánica con bicarbonato de sodio saturado (dos veces). El crudo fue purificado por cromatografía en columna (SiO₂, hexano:AcOEt, 90:10 a 80:20) para dar **4k** como un sólido blanco (265 mg, 67 %), P.F. 101.3 – 102.3 °C. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.96 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.44 – 7.41 (m, 1H), 7.26 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 6.55 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 6.38 (dd, *J* = 3.4, 1.9 Hz, 1H), 6.32 (s, 1H), 6.06 (s, 1H), 2.42 (s, 3H), 1.39 (s, 9H). ¹³C NMR (101 MHz, CDCl₃) δ 165.1, 164.8, 148.6, 144.5, 143.5, 129.9, 129.3, 126.3, 111.1, 110.6, 69.2, 51.7, 28.6, 21.7. HRMS (ESI+): m/z [M+Na]⁺ calculado para C₁₈H₂₁NO₄Na, 338.1368; encontrado, 338.1358.

7.2. Evaluación biológica in vitro

7.2.1. Compuestos evaluados

La serie de compuestos evaluados (**4a**, **4b**, **4c**, **4f**) se seleccionó a partir de los productos sintetizados disponibles en la quimioteca generada. Las soluciones madre de los compuestos se prepararon en DMSO a una concentración de 10 mM. Los compuestos se utilizaron en un rango de concentraciones de 12,5, 25, 50 y 100 μ M disolviendo la solución madre con el medio de cultivo completo (de modo que el porcentaje de DMSO no excediera el 0,5 %). Como controles negativos se emplearon medio de cultivo completo y medio de cultivo con DMSO al 0,5 %. Los datos correspondientes al IC₅₀ del quimioterapéutico cisplatino como control positivo y también los protocolos descritos en esta investigación fueron tomados de estudios previos (Pérez et al., 2019;

Ingold et al., 2019; Ingold et al., 2022; Varela et al., 2023) puesto que se utilizaron las mismas instalaciones, condiciones y líneas celulares.

7.2.2. Líneas celulares y condiciones de cultivo

Las líneas celulares T24 y 253J (carcinoma de células transicionales de vejiga) se adquirieron en el repositorio de células ABAC (Asociación Banco Argentino de Células). La sulforodamina B, el DMSO y el cisplatino fueron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.). Las células T24 y 253 J se cultivaron en medio McCoy's 5A (Capricorn Scientific) suplementado con 10% de suero bovino fetal SFB (Capricorn Scientific). Se realizaron pasajes de los cultivos celulares dos veces a la semana y el medio se cambió con la misma frecuencia. Los cultivos celulares se mantuvieron en condiciones estándar (5% de CO₂, atmósfera humidificada, 37 °C) y su morfología y confluencia se evaluaron bajo un microscopio óptico con aumento 40X al menos dos veces por semana. Cuando los cultivos se encontraban en fase exponencial las células se desprendieron de la superficie de la placa Petri con una solución de tripsina-EDTA 0,05%. Se realizó el conteo celular y luego la dilución de la suspensión celular para obtener la densidad de células requerida para los ensayos de actividad antiproliferativa.

7.2.3. Actividad antiproliferativa

La actividad antiproliferativa de los compuestos contra las líneas celulares cancerígenas se evaluaron mediante ensayo de sulforodamina B. Para el plaqueo, las células se sembraron en placas *multi-well* de 96 pocillos a una densidad de 8.000 células por pocillo en un volumen final de 100 μ L y se incubaron en condiciones estándar por 24 horas. Dada la reproducibilidad del ensayo no se tomó en cuenta el efecto borde. Posteriormente, el medio de cultivo fue retirado para tratar las células con las soluciones de los compuestos a las cuatro concentraciones por triplicado. Después de 48 h de incubación, se procedió con el ensayo colorimétrico de sulforodamina B. La placa se lavó con solución salina tamponada con fosfato PBS (1X), la fijación se realizó con ácido tricloroacético TCA helado al 10 % durante 1 hora a 4 °C. Después de un lavado con agua Milli-Q, la placa se secó a 45 °C y se procedió a añadir una solución de sulforodamina B al 0,5% incubándose a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, se realizaron lavados con una solución de ácido acético al 1%. Finalmente se agregó 100 μ L de buffer Tris-base 10 mM a pH 10,5 a cada pocillo y se realizó la lectura de las absorbancias utilizando un espectrofotómetro de microplacas (Varioskan Flash, Thermo Fisher, Waltham, MA, EE.UU.) a una longitud de onda

de 510 nm y el fondo a 620 nm. Los valores de IC_{50} se obtuvieron mediante una curva dosis - respuesta calculados con el software GraphPad Prism 10.0. Cada ensayo se reprodujo al menos en tres ensayos independientes.

8. Bibliografía

- Al-Ghatta, A., Zhou, X., Casarano, G., Wilton, J., & Hallett, J. (2021). Characterization and Valorization of Humins Produced by HMF Degradation in Ionic Liquids: A Valuable Carbonaceous Material for Antimony Removal. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 9(5), 2212–2223. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c07963
- 2. Alvim, H., Da Silva, E., & Neto, B. (2014). What do we know about multicomponent reactions? Mechanisms and trends for the Biginelli, Hantzsch, Mannich, Passerini and Ugi MCRs. *RSC Adv*, 4(97), 54282–54299. https://doi.org/10.1039/C4RA10651B
- 3. Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). Green Chemistry: Principles and Practice. *Chem. Soc. Rev.*, 39(1), 301–312. https://doi.org/10.1039/B918763B
- Anastas, P., Nolasco, M., Kerton, F., Kirchhoff, M., Licence, P., Pradeep, T., Subramaniam, B., & Moores, A. (2021). The Power of the United Nations Sustainable Development Goals in Sustainable Chemistry and Engineering Research. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 9(24), 8015–8017. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.1c03762
- Anastas, P., & Zimmerman, J. (2018). The United Nations sustainability goals: How can sustainable chemistry contribute? *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 13, 150–153. https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2018.04.017
- 6. Anastas, P., & Zimmerman, J. (2019). The periodic table of the elements of green and sustainable chemistry. *Green Chemistry*, 21(24), 6545–6566. https://doi.org/10.1039/C9GC01293A
- Banfi, L., Basso, A., Lambruschini, C., Moni, L., & Riva, R. (2021). The 100 facets of the Passerini reaction. *Chemical Science*, 12(47), 15445–15472. https://doi.org/10.1039/D1SC03810A
- 8. Banfi, L., & Lambruschini, C. (2024). 100 years of isocyanide-based multicomponent reactions. *Molecular Diversity*, 28, 1–2. https://doi.org/10.1007/s11030-023-10783-8
- 9. Basso, A., Park, S., & Moni, L. (2019). Diversity Oriented Synthesis. *Frontiers in Chemistry*, 6, 618. https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00668
- 10. Berdigaliyev, N., & Aljofan, M. (2020). An Overview of Drug Discovery and Development. *Future Medicinal Chemistry*, *12*(10), 939–947. https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0307
- 11. Bhutani, P., Joshi, G., Raja, N., Bachhav, N., Rajanna, P. K., Bhutani, H., Paul, A. T., & Kumar, R. (2021). U.S. FDA Approved Drugs from 2015–June 2020: A Perspective. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(5), 2339–2381. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01786
- 12. Biala, G., Kedzierska, E., Kruk, M., Orzelska, J., Hmaidan, S., Skrok, A., Kaminski, J.,

Havrankova, E., Nadaska, D., & Malik, I. (2023). Research in the Field of Drug Design and Development. *Pharmaceuticals*, *16*(9). https://doi.org/10.3390/ph16091283

- Birmingham, W., Toftgaard, A., Dias, M., Bøje, M., Breuer, M., Woodley, J., & Turner, N. (2021). Toward scalable biocatalytic conversion of 5-hydroxymethylfurfural by galactose oxidase using coordinated reaction and enzyme engineering. *Nature Communications*, *12*(1), 4946. https://doi.org/10.1038/s41467-021-25034-3
- 14. Blanco, J., Martín, S., Linares, M., Iglesias, J., & Moreno, J. (2023). Life cycle assessment applied to bio-based platform molecules: Critical review of methodological practices. *Journal of Cleaner Production*, 414, 137513. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137513
- 15. Boukis, A., Monney, B., & Meier, M. (2017). Synthesis of structurally diverse 3,4dihydropyrimidin-2(1 *H*)-ones via sequential Biginelli and Passerini reactions. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 13, 54–62. https://doi.org/10.3762/bjoc.13.7
- Bracchini, G., Mangiacapre, E., Celso, F., Irving, D., Ottaviani, C., Righetti, G., Di Pietro, M., Mele, A., Guazzelli, L., Russina, O., & Triolo, A. (2024). Structural features of neat 5hydroxymethylfurfural (HMF) in the liquid state. *Journal of Molecular Liquids*, 410. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.125622
- Bray, F., Laversanne, M., Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R., Soerjomataram, I., & Jemal, A. (2024). Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 74(3), 229–263. https://doi.org/10.3322/caac.21834
- 18. Brown, D. G., & Wobst, H. J. (2021). A Decade of FDA-Approved Drugs (2010–2019): Trends and Future Directions. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(5), 2312–2338. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01516
- Brunelli, F., Ceresa, C., Fracchia, L., Tron, G., & Aprile, S. (2022). Expanding the Chemical Space of Drug-like Passerini Compounds: Can α-Acyloxy Carboxamides Be Considered Hard Drugs? ACS Medicinal Chemistry Letters, 13(12), 1898–1904. https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.2c00420
- Byrne, F., Jin, S., Paggiola, G., Petchey, T., Clark, J., Farmer, T., Hunt, A., Robert McElroy, & Sherwood, J. (2016). Tools and techniques for solvent selection: green solvent selection guides. *Sustainable Chemical Processes*, *4*, 7. https://doi.org/10.1186/s40508-016-0051-z
- 21. Cai, C., Wang, S., Xu, Y., Zhang, W., Tang, K., Ouyang, Q., Lai, L., & Pei, J. (2020). Transfer Learning for Drug Discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(16), 8683–8694. https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02147
- 22. Castro, G., & Fernandes, S. (2025). Furans derived from lignocellulosic biomass as renewable substrates in multicomponent reactions. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 44, 101948. https://doi.org/10.1016/j.scp.2025.101948

- 23. Chatziorfanou, E., Romero, A., Chouchane, L., & Dömling, A. (2024). Crystal Clear: Decoding Isocyanide Intermolecular Interactions through Crystallography. *The Journal of Organic Chemistry*, 89(2), 957–974. https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c02038
- Chen, J., Guo, Y., Wang, R., Yang, H., Yu, X., & Zhang, J. (2024). Cationic lipids from multicomponent Passerini reaction for non-viral gene delivery: A structure-activity relationship study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 100, 117635. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2024.117635
- 25. Chen, T.-L., Kim, H., Pan, S.-Y., Tseng, P.-C., Lin, Y.-P., & Chiang, P.-C. (2020). Implementation of green chemistry principles in circular economy system towards sustainable development goals: Challenges and perspectives. *Science of The Total Environment*, 716, 136998. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136998
- 26. Chetty, L., Kruger, H., Arvidsson, P., Naicker, T., & Govender, T. (2024). Investigating the efficacy of green solvents and solvent-free conditions in hydrogen-bonding mediated organocatalyzed model reactions. *RSC Advances*, 14(12), 7992–7998. https://doi.org/10.1039/D4RA00679H
- 27. Cioc, R., Ruijter, E., & Orru, R. (2014). Multicomponent reactions: advanced tools for sustainable organic synthesis. *Green Chem.*, 16(6), 2958–2975. https://doi.org/10.1039/C4GC00013G
- 28. Clarke, C., Tu, W.-C., Levers, O., Bröhl, A., & Hallett, J. (2018). Green and Sustainable Solvents in Chemical Processes. *Chemical Reviews*, 118(2), 747–800. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00571
- 29. Coughlin, M., Bielenberg, D., Lenormand, G., Marinkovic, M., Waghorne, C., Zetter, B., & Fredberg, J. (2013). Cytoskeletal stiffness, friction, and fluidity of cancer cell lines with different metastatic potential. *Clinical & Experimental Metastasis*, *30*(3), 237–250. https://doi.org/10.1007/s10585-012-9531-z
- 30. Dahan, A., Zimmermann, E., & Ben-Shabat, S. (2014). Modern Prodrug Design for Targeted Oral Drug Delivery. *Molecules*, *19*(10), 16489–16505. https://doi.org/10.3390/molecules191016489
- Dai, W., & Li, H. (2007). Lewis acid-catalyzed formation of Ugi four-component reaction product from Passerini three-component reaction system without an added amine. *Tetrahedron*, 63(52), 12866–12876. https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.10.050
- 32. Das, A., Sadhukhan, A., Chakraborty, S., Bhattacharya, S., Roy, A., & Bhattacharjee, A. (2022). Role of Green Chemistry in Organic Synthesis and Protection of Environment. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, 10(12), 1850–1853. https://doi.org/10.22214/ijraset.2022.48373

- 33. Dattani, S., Spooner, F., Ritchie, H., Roser, M. (2024). *Causes of Death*. Our World in Data. https://ourworldindata.org/causes-of-death
- 34. de la Sovera, V., López, G. V., & Porcal, W. (2022). Synthetic Study of 5-Hydroxymethylfurfural in Groebke-Blackburn-Bienaymé Reaction. *European Journal of Organic Chemistry*, 2022(10). https://doi.org/10.1002/ejoc.202101369
- 35. Deng, J., Li, M., & Wang, Y. (2016). Biomass-derived carbon: synthesis and applications in energy storage and conversion. *Green Chemistry*, 18(18), 4824–4854. https://doi.org/10.1039/C6GC01172A
- 36. Denlinger, K., & Mack, J. (2018). Solvent-Free Synthesis. In W. Zhang & B. Cue (Eds.), Green Techniques for Organic Synthesis and Medicinal Chemistry (2nd ed., pp. 327–339). John Wiley & Sons Ltd.
- 37. Doak, B., Over, B., Giordanetto, F., & Kihlberg, J. (2014). Oral Druggable Space beyond the Rule of 5: Insights from Drugs and Clinical Candidates. *Chemistry & Biology*, 21(9), 1115– 1142. https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2014.08.013
- Domingues, L., Duarte, A., & Jesus, A. (2024). How Can Deep Eutectic Systems Promote Greener Processes in Medicinal Chemistry and Drug Discovery? *Pharmaceuticals*, 17(2), 221. https://doi.org/10.3390/ph17020221
- Dömling, A. (2023). Innovations and Inventions: Why Was the Ugi Reaction Discovered Only 37 Years after the Passerini Reaction? *The Journal of Organic Chemistry*, 88(9), 5242–5247. https://doi.org/10.1021/acs.joc.2c00792
- 40. Dömling, A., & AlQahtani, A. (2014). General Introduction to MCRs: Past, Present, and Future. In J. Zhu, Q. Wang, & M. Wang (Eds.), *Multicomponent Reactions in Organic Synthesis* (1st ed., pp. 1–12). Wiley. https://doi.org/10.1002/9783527678174.ch01
- 41. Dömling, A., Wang, W., & Wang, K. (2012). Chemistry and Biology Of Multicomponent Reactions. *Chemical Reviews*, *112*(6), 3083–3135. https://doi.org/10.1021/cr100233r
- 42. Dong, J., Wang, N., Yao, Z., Zhang, L., Cheng, Y., Ouyang, D., Lu, A., & Cao, D. (2018). ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of Cheminformatics*, *10*(1), 29. https://doi.org/10.1186/s13321-018-0283-x
- 43. Dulsat, J., López, B., Estrada, R., & Borrell, J. (2023). Evaluation of Free Online ADMET Tools for Academic or Small Biotech Environments. *Molecules*, 28(2), 776. https://doi.org/10.3390/molecules28020776
- 44. Dunn, P. (2012). The importance of Green Chemistry in Process Research and Development. *Chem. Soc. Rev.*, *41*(4), 1452–1461. https://doi.org/10.1039/C1CS15041C

- 45. Durán, N., Díaz, B., & Medina, J. (2020). *In Silico* ADME/Tox Profiling of Natural Products: A Focus on BIOFACQUIM. *ACS Omega*, 5(26), 16076–16084. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01581
- 46. El Kaim, L., Gizolme, M., & Grimaud, L. (2006). *O* -Arylative Passerini Reactions. *Organic Letters*, 8(22), 5021–5023. https://doi.org/10.1021/ol0617502
- 47. El Kaim, L., & Grimaud, L. (2009). Beyond the Ugi reaction: less conventional interactions between isocyanides and iminium species. *Tetrahedron*, 65(11), 2153–2171. https://doi.org/10.1016/j.tet.2008.12.002
- 48. El Kaim, L., & Grimaud, L. (2014a). The Ugi–Smiles and Passerini–Smiles Couplings: A Story About Phenols in Isocyanide-Based Multicomponent Reactions. *European Journal of Organic Chemistry*, 2014(35), 7749–7762. https://doi.org/10.1002/ejoc.201402783
- El Kaim, L., & Grimaud, L. (2014b). Ugi–Smiles and Passerini–Smiles Couplings. In J. Zhu, Q. Wang, & M. Wang (Eds.), *Multicomponent Reactions in Organic Synthesis* (1st ed., pp. 73– 108). Wiley. https://doi.org/10.1002/9783527678174.ch04
- 50. Ertl, I., Lemberger, U., Ilijazi, D., Hassler, M., Bruchbacher, A., Brettner, R., Kronabitter, H., Gutmann, M., Vician, P., Zeitler, G., Koren, A., Lardeau, C., Mohr, T., Haitel, A., Compérat, E., Oszwald, A., Wasinger, G., Clozel, T., Elemento, O., ... Shariat, S. (2022). Molecular and Pharmacological Bladder Cancer Therapy Screening: Discovery of Clofarabine as a Highly Active Compound. *European Urology*, 82(3), 261–270. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2022.03.009
- 51. Erythropel, H., Zimmerman, J., Winter, T., Petitjean, L., Melnikov, F., Lam, C., Lounsbury, A., Mellor, K., Janković, N., Tu, Q., Pincus, L., Falinski, M., Shi, W., Coish, P., Plata, D., & Anastas, P. (2018). The Green ChemisTREE: 20 years after taking root with the 12 principles. *Green Chemistry*, 20(9), 1929–1961. https://doi.org/10.1039/C8GC00482J
- 52. Etzkorn, F. A. (2019). *Green Chemistry: Principles and Case Studies*. The Royal Society of Chemistry. https://doi.org/10.1039/9781839169199
- 53. Fadlallah, S., & Allais, F. (2023). Sustainability Appraisal of Polymer Chemistry Using E-Factor: Opportunities, Limitations and Future Directions. In H. Cheng & R. Gross (Eds.), *Sustainable Green Chemistry in Polymer Research* (Vol. 2, pp. 3–30). American Chemical Society. https://doi.org/10.1021/bk-2023-1451.ch001
- Fan, W., Queneau, Y., & Popowycz, F. (2018a). HMF in multicomponent reactions: utilization of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in the Biginelli reaction. *Green Chemistry*, 20(2), 485– 492. https://doi.org/10.1039/C7GC03425C
- 55. Fan, W., Queneau, Y., & Popowycz, F. (2018b). The synthesis of HMF-based α-amino phosphonates *via* one-pot Kabachnik–Fields reaction. *RSC Advances*, 8(55), 31496–31501. https://doi.org/10.1039/C8RA05983G

- 56. Fan, W., Verrier, C., Queneau, Y., & Popowycz, F. (2019). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) in Organic Synthesis: A Review of its Recent Applications Towards Fine Chemicals. *Current Organic Synthesis*, 16(4), 583–614. https://doi.org/10.2174/1570179416666190412164738
- 57. Fan, W., Verrier, C., Wang, L., Ahmar, M., Tan, J.-N., Popowycz, F., & Queneau, Y. (2020). 5-(Hydroxymethyl)furfural and 5-(glucosyloxymethyl)furfural in multicomponent reactions. In A. Rauter, B. Christensen, L. Somsák, P. Kosma, & R. Adamo (Eds.), *Recent Trends in Carbohydrate Chemistry* (pp. 73–100). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817467-8.00002-5
- Fantozzi, N., Volle, J., Porcheddu, A., Virieux, D., García, F., & Colacino, E. (2023). Green metrics in mechanochemistry. *Chemical Society Reviews*, 52(19), 6680–6714. https://doi.org/10.1039/D2CS00997H
- 59. Fouad, M., Abdel, H., & Ayoup, M. (2020). Two decades of recent advances of Ugi reactions: synthetic and pharmaceutical applications. *RSC Advances*, *10*(70), 42644–42681. https://doi.org/10.1039/D0RA07501A
- Galkin, K., Kucherov, F., Markov, O., Egorova, K., Posvyatenko, A., & Ananikov, V. (2017). Facile Chemical Access to Biologically Active Norcantharidin Derivatives from Biomass. *Molecules*, 22(12), 2210. https://doi.org/10.3390/molecules22122210
- 61. Gerhardt, D., Bertola, G., Dietrich, F., Figueiró, F., Zanotto, A., Moreira, J., Morrone, F., Barrios, C., Battastini, A., & Salbego, C. (2014). Boldine induces cell cycle arrest and apoptosis in T24 human bladder cancer cell line via regulation of ERK, AKT, and GSK-3β. Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations, 32(1), 36.e1-36.e9. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2013.02.012
- Giustiniano, M., Moni, L., Sangaletti, L., Pelliccia, S., Basso, A., Novellino, E., & Tron, G. (2018). Interrupted Ugi and Passerini Reactions: An Underexplored Treasure Island. *Synthesis*, 50(18), 3549–3570. https://doi.org/10.1055/s-0037-1610193
- 63. Globocan. (2024). *GLOBOCAN 2022: Bladder cancer 9th most common worldwide*. World Bladder Cancer Patient Coalition. https://worldbladdercancer.org/news_events/globocan-2022-bladder-cancer-is-the-9th-most-commonly-diagnosed-worldwide/
- 64. Graziano, G., Stefanachi, A., Contino, M., Prieto, R., Ligresti, A., Kumar, P., Scilimati, A., Sotelo, E., & Leonetti, F. (2023). Multicomponent Reaction-Assisted Drug Discovery: A Time- and Cost-Effective Green Approach Speeding Up Identification and Optimization of Anticancer Drugs. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6581. https://doi.org/10.3390/ijms24076581
- 65. Griglio, A., Torre, E., Serafini, M., Bianchi, A., Schmid, R., Coda, G., Massarotti, A., Sorba, G., Pirali, T., & Fallarini, S. (2018). A multicomponent approach in the discovery of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 inhibitors: Synthesis, biological investigation and docking

studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 28(4), 651–657. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2018.01.032

- 66. Halaseh, S., Halaseh, S., Alali, Y., Ashour, M., & Alharayzah, M. (2022). A Review of the Etiology and Epidemiology of Bladder Cancer: All You Need To Know. *Cureus*, 14(7), e27330. https://doi.org/10.7759/cureus.27330
- Harding, M., & Theodorescu, D. (2007). RhoGDI2: A new metastasis suppressor gene: Discovery and clinical translation. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 25(5), 401–406. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2007.05.006
- Haritha, M., Sreerag, M., & Suresh, C. (2024). Quantifying the hydrogen-bond propensity of drugs and its relationship with Lipinski's rule of five. *New Journal of Chemistry*, 48(11), 4896– 4908. https://doi.org/10.1039/D3NJ05476D
- 69. Harrold, M., & Zavod, R. (2023). *Basic Concepts in Medicinal Chemistry* (3rd ed.). American Society of Health-System Pharmacists.
- 70. Hatina, J., Huckenbeck, W., Rieder, H., Seifert, H., & Schulz, W. (2008). Harnblasenkarzinomzelllinien als Modellsysteme zur Pathobiologie des Harnblasenkarzinoms. Der Urologe, 47(6), 724–734. https://doi.org/10.1007/s00120-008-1687-4
- 71. Hayashi, Y. (2016). Pot economy and one-pot synthesis. *Chemical Science*, 7(2), 866–880. https://doi.org/10.1039/C5SC02913A
- Heijden, A., Jansen, C., Verhaegh, G., O'Donnell, M., Schalken, J., & Witjes, J. (2004). The Effect of Hyperthermia on Mitomycin-C Induced Cytotoxicity in Four Human Bladder Cancer Cell Lines. *European Urology*, 46(5), 670–674. https://doi.org/10.1016/j.eururo.2004.06.009
- 73. Holbrook, S., & Garneau, S. (2017). What is medicinal chemistry? Demystifying a rapidly evolving discipline! *MedChemComm*, 8(9), 1739–1741. https://doi.org/10.1039/C7MD90030A
- 74. Ingold, M., Colella, L., Hernández, P., Batthyány, C., Tejedor, D., Puerta, A., García, F., Padrón, J., Porcal, W., & López, G. V. (2019). A Focused Library of NO-Donor Compounds with Potent Antiproliferative Activity Based on Green Multicomponent Reactions. *ChemMedChem*, 14(18), 1669–1683. https://doi.org/10.1002/cmdc.201900385
- 75. Ingold, M., Dapueto, R., Victoria, S., Galliusi, G., Batthyàny, C., Bollati, M., Tejedor, D., García, F., Padrón, J., Porcal, W., & López, G. (2018). A green multicomponent synthesis of tocopherol analogues with antiproliferative activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 1888–1902. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.11.003
- 76. Ingold, M., de la Sovera, V., Dapueto, R., Hernández, P., Porcal, W., & López, G. V. (2022). Greener Synthesis of Antiproliferative Furoxans via Multicomponent Reactions. *Molecules*,

27(6), 1756. https://doi.org/10.3390/molecules27061756

- 77. Ingold, M., López, G. V., & Porcal, W. (2014). Green Conditions for Passerini Three-Component Synthesis of Tocopherol Analogues. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2(5), 1093–1097. https://doi.org/10.1021/sc5002116
- 78. Insuasty, D., Castillo, J., Becerra, D., Rojas, H., & Abonia, R. (2020). Synthesis of Biologically Active Molecules through Multicomponent Reactions. *Molecules*, 25(3), 505. https://doi.org/10.3390/molecules25030505
- 79. Jessop, P., & MacDonald, A. (2023). The need for hotspot-driven research. *Green Chemistry*, 25(23), 9457–9462. https://doi.org/10.1039/D3GC03601D
- Karimi, A., Behzadi, F., & Faghihi, K. (2009). Pseudo five-component synthesis of bis-α-acyloxy-β-diketo amides from diimide-dicarboxylic acids. *Molecular Diversity*, 13(3), 379–383. https://doi.org/10.1007/s11030-009-9119-y
- Kim, S. W., Bauer, S., & Armstrong, R. (1998). Multicomponent solution phase synthesis of dehydroamino acid derivatives based on the Passerini reaction. *Tetrahedron Letters*, 39(39), 7031–7034. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(98)01522-6
- 82. Knuechel, R., & Masters, J. R. W. (2002). Bladder Cancer. In J. Masters & B. Palsson (Eds.), *Human Cell Culture* (Vol. 1, pp. 213–230). Springer. https://doi.org/10.1007/0-306-46872-7_11
- 83. Kong, F., Lee, B., & Wei, K. (2019). 5-Hydroxymethylfurfural Mitigates Lipopolysaccharide-Stimulated Inflammation via Suppression of MAPK, NF-κB and mTOR Activation in RAW 264.7 Cells. *Molecules*, 24(2), 275. https://doi.org/10.3390/molecules24020275
- Kong, Q., Li, X., Xu, H., & Fu, Y. (2020). Conversion of 5-hydroxymethylfurfural to chemicals: A review of catalytic routes and product applications. *Fuel Processing Technology*, 209, 106528. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2020.106528
- 85. Kucherov, F., Romashov, L., Galkin, K., & Ananikov, V. (2018). Chemical Transformations of Biomass-Derived C6-Furanic Platform Chemicals for Sustainable Energy Research, Materials Science, and Synthetic Building Blocks. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 6(7), 8064–8092. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b00971
- 86. Kumar, S., Arora, A., Kumar, S., Kumar, R., Maity, J., & Singh, B. (2023). Passerini reaction: Synthesis and applications in polymer chemistry. *European Polymer Journal*, 190, 112004. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2023.112004
- 87. Kurniawan, Y., Priyangga, K., Krisbiantoro, P., & Imawan, A. (2021). Green Chemistry Influences in Organic Synthesis: a Review. *Journal of Multidisciplinary Applied Natural Science*, 1(1), 1–12. https://doi.org/10.47352/jmans.v1i1.2

- Labauze, H., Camy, S., Floquet, P., Benjelloun, B., & Condoret, J. (2019). Kinetic Study of 5-Hydroxymethylfurfural Synthesis from Fructose in High Pressure CO 2 –Water Two-Phase System. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 58(1), 92–100. https://doi.org/10.1021/acs.iecr.8b04694
- Lambruschini, C., Moni, L., & Banfi, L. (2020). Diastereoselectivity in Passerini Reactions of Chiral Aldehydes and in Ugi Reactions of Chiral Cyclic Imines. *European Journal of Organic Chemistry*, 2020(25), 3766–3778. https://doi.org/10.1002/ejoc.202000016
- 90. Lewandowski, W., Lewandowska, H., Golonko, A., Świderski, G., Świsłocka, R., & Kalinowska, M. (2020). Correlations between molecular structure and biological activity in "logical series" of dietary chromone derivatives. *Plos One*, 15(8), e0229477. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229477
- 91. Li, J., Zheng, Q., & Dömling, A. (2024). Exploring Phthalimide as the Acid Component in the Passerini Reaction. *Organic Letters*, 26(4), 829–833. https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c03962
- 92. Lipinski, C., Lombardo, F., Dominy, B., & Feeney, P. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23(1–3), 3–25. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00423-1
- 93. López, G. V., & Porcal, W. (2024). Renewable carbon resource from biomass: building molecular architectures from furanic platforms. *Pure and Applied Chemistry*, 96(9), 1271– 1277. https://doi.org/10.1515/pac-2024-0230
- 94. Maeda, S., Komagawa, S., Uchiyama, M., & Morokuma, K. (2011). Finding Reaction Pathways for Multicomponent Reactions: The Passerini Reaction is a Four-Component Reaction. Angewandte Chemie International Edition, 50(3), 644–649. https://doi.org/10.1002/anie.201005336
- 95. Majumdar, S., Váradi, A., & Palmer, T. (2017). Isocyanide-Based Multicomponent Reactions Based upon Intramolecular Nitrilium Trapping. In K. Ameta & A. Dandia (Eds.), *Multicomponent Reactions Synthesis of Bioactive Heterocycles* (1st ed., pp. 33–54). CRC Press.
- 96. Marqués, E., & Herrera, R. (2015). Passerini Multicomponent Reactions. In E. Marqués & R. Herrera (Eds.), *Multicomponent Reactions: Concepts and Applications for Design and Synthesis* (1st ed., pp. 283–305). John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1002/9781118863992.ch8
- 97. Martinand-Lurin, É. (2015). Hétérocycles et réactions pallado-catalysées : développements méthodologiques, études mécanistiques et application en synthèse totale. (Publicación No. tel-01359171) [Tesis Doctoral, Université Paris Sud - Paris XI]. PASTEL-Thèses en ligne de ParisTech-HAL. https://theses.hal.science/tel-01359171.

- 98. Martinand-Lurin, E., Dos Santos, A., El Kaim, L., Grimaud, L., & Retailleau, P. (2014). Double Smiles rearrangement of Passerini adducts towards benzoxazinones. *Chem. Commun.*, 50(17), 2214–2217. https://doi.org/10.1039/C3CC49022J
- 99. Marullo, S., & D'Anna, F. (2022). The Role Played by Ionic Liquids in Carbohydrates Conversion into 5-Hydroxymethylfurfural: A Recent Overview. *Molecules*, 27(7), 2210. https://doi.org/10.3390/molecules27072210
- 100. Menegazzo, F., Ghedini, E., & Signoretto, M. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) Production from Real Biomasses. *Molecules*, 23(9), 2201. https://doi.org/10.3390/molecules23092201
- Messire, G., Caillet, E., & Berteina, S. (2024). Green Catalysts and/or Green Solvents for Sustainable Multi-Component Reactions. *Catalysts*, 14(9), 593. https://doi.org/10.3390/catal14090593
- 102. Métro, T., Bantreil, X., Martinez, J., & Lamaty, F. (2020). Solvent-free Chemistry. In J. Goddard, M. Malacria, & C. Ollivier (Eds.), *Biphasic Chemistry and The Solvent Case* (Vol. 3, pp. 169–215). Wiley. https://doi.org/10.1002/9781119695080.ch4
- 103. Mirabelli, P., Coppola, L., & Salvatore, M. (2019). Cancer Cell Lines Are Useful Model Systems for Medical Research. *Cancers*, *11*(8), 1098. https://doi.org/10.3390/cancers11081098
- 104. Mittal, A., Pilath, H., & Johnson, D. (2020). Direct Conversion of Biomass Carbohydrates to Platform Chemicals: 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) and Furfural. *Energy & Fuels*, 34(3), 3284–3293. https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.9b04047
- 105. Mohlala, R., & Coyanis, E. (2024). The vital use of isocyanide-based multicomponent reactions (MCR) in chemical synthesis. *Physical Sciences Reviews*, 9(2), 995–1032. https://doi.org/10.1515/psr-2022-0349
- 106. Mohlala, R., Rashamuse, T., & Coyanis, E. (2024). Highlighting multicomponent reactions as an efficient and facile alternative route in the chemical synthesis of organic-based molecules: a tremendous growth in the past 5 years. *Frontiers in Chemistry*, 12. https://doi.org/10.3389/fchem.2024.1469677
- 107. Moores, A. (2009). Atom Economy Principles and Some Examples. In P. Anastas & R. Crabtree (Eds.), *Handbook of Green Chemistry: Green Catalysis* (1st ed., Vol. 1, pp. 1–13). John Wiley & Sons.
- 108. Mumm, O. (1910). Umsetzung von Säureimidchloriden mit Salzen organischer Säuren und mit Cyankalium. *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 43(1), 886–893. https://doi.org/10.1002/cber.191004301151

- 109. Oikawa, M., Ikoma, M., & Sasaki, M. (2005). Parallel synthesis of tandem Ugi/Diels–Alder reaction products on a soluble polymer support directed toward split-pool realization of a small molecule library. *Tetrahedron Letters*, 46(3), 415–418. https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2004.11.115
- 110. Ortiz, F., Tassano, T., Ingold, M., de la Sovera, V., Puerta, A., Padrón, J., López, G. V., & Porcal, W. (2022). Greener approach for the synthesis of nitrovinylfurans from biomass-derived 5-hydroxymethyfurfural as selective antiproliferative agents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *30*, 100828. https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100828
- 111. Owens, T., Araldi, G., Nutt, R., & Semple, E. (2001). Concise total synthesis of the prolyl endopeptidase inhibitor eurystatin A via a novel Passerini reaction-deprotection-acyl migration strategy. *Tetrahedron Letters*, 42(36), 6271–6274. https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)01287-4
- 112. Pan, Z., Chen, Y., Pang, H., Wang, X., Zhang, Y., Xie, X., & He, G. (2022). Design, synthesis, and biological evaluation of novel dual inhibitors of heat shock protein 90/mammalian target of rapamycin (Hsp90/mTOR) against bladder cancer cells. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 242, 114674. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2022.114674
- 113. Paprocki, D., Koszelewski, D., Walde, P., & Ostaszewski, R. (2015). Efficient Passerini reactions in an aqueous vesicle system. *RSC Advances*, 5(124), 102828–102835. https://doi.org/10.1039/C5RA22258C
- Parmaki, S., Vasquez, M., Patsalou, M., Gomes, R., Simeonov, S., Afonso, C., & Koutinas, M. (2024). Ecotoxicological assessment of biomass-derived furan platform chemicals using aquatic and terrestrial bioassays. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 26(4), 686– 699. https://doi.org/10.1039/D3EM00552F
- 115. Passerini, M. (1921). Sopra gli isonitrili (I).Composto del p-isonitril-azobenzolo con acetone ed acido acetico. *Gazzetta Chimica Italiana*, *51*, 126–129.
- 116. Patil, P., Ahmadian, M., & Dömling, A. (2020). Isocyanide 2.0. *Green Chemistry*, 22(20), 6902–6911. https://doi.org/10.1039/D0GC02722G
- 117. Patrick, G. (2023). An Introduction to Medicinal Chemistry (7th ed.). Oxford University Press.
- Pauli, G., Chen, S., Simmler, C., Lankin, D., Gödecke, T., Jaki, B., Friesen, J., McAlpine, J., & Napolitano, J. (2014). Importance of Purity Evaluation and the Potential of Quantitative
 ¹ H NMR as a Purity Assay. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(22), 9220–9231. https://doi.org/10.1021/jm500734a
- 119. Perez, S., Ortega, E., Salmeron, I., & Sharratt, P. N. (2013). A system view of solvent selection in the pharmaceutical industry: towards a sustainable choice. *Environment, Development and Sustainability*, 15(1), 1–21. https://doi.org/10.1007/s10668-012-9365-5

- 120. Phan, T., Gallardo, C., & Mane, J. (2015). Green Motion: a new and easy to use green chemistry metric from laboratories to industry. *Green Chemistry*, 17(5), 2846–2852. https://doi.org/10.1039/C4GC02169J
- Prat, D., Wells, A., Hayler, J., Sneddon, H., McElroy, C., Abou-Shehada, S., & Dunn, P. (2016). Chem21 selection guide of classical- and less classical-solvents. *Green Chemistry*, 18(1), 288–296. https://doi.org/10.1039/C5GC01008J
- 122. Protti, Í., Rodrigues, D., Fonseca, S., Alves, R., Oliveira, R., & Maltarollo, V. (2021). Do Drug-likeness Rules Apply to Oral Prodrugs? *ChemMedChem*, 16(9), 1446–1456. https://doi.org/10.1002/cmdc.202000805
- Quelhas, A., Gazzeh, H., Roisnel, T., Trolez, Y., & Guillemin, J. (2021). Passerini and Ugi Reactions Involving Kinetically Unstable Isocyanides. *European Journal of Organic Chemistry*, 2021(44), 6002–6005. https://doi.org/10.1002/ejoc.202100787
- 124. Ramozzi, R., & Morokuma, K. (2015). Revisiting the Passerini Reaction Mechanism: Existence of the Nitrilium, Organocatalysis of Its Formation, and Solvent Effect. *The Journal* of Organic Chemistry, 80(11), 5652–5657. https://doi.org/10.1021/acs.joc.5b00594
- 125. Rathi, P., & Nausheen, S. (2023). Green chemistry and technology for sustainable development. *International Journal of Science and Research Archive*, 8(2), 161–165. https://doi.org/10.30574/ijsra.2023.8.2.0225
- 126. Rosatella, A. A., Simeonov, S. P., Frade, R. F. M., & Afonso, C. A. M. (2011). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) as a building block platform: Biological properties, synthesis and synthetic applications. *Green Chemistry*, *13*(4), 754. https://doi.org/10.1039/c0gc00401d
- 127. Sahoo, B. M., & Banik, B. K. (2020). Solvent-less reactions: Green and sustainable approaches in medicinal chemistry. In B. Baño (Ed.), *Green Approaches in Medicinal Chemistry for Sustainable Drug Design* (pp. 523–548). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817592-7.00014-9
- 128. Sailer, W., Rosenfeld, C., Böhmdorfer, S., Bacher, M., Konnerth, J., Rosenau, T., Potthast, A., Geyer, A., & Van-Herwijnen, H. (2022). Scale-Up of production of 5hydroxymethylfurfural-rich adhesive precursors and structural features of humin side products. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(7), 8711–8728. https://doi.org/10.1007/s13399-022-03200-x
- 129. Salami, S., Safari, J., Smith, V., & Krause, R. (2023). Mechanochemically-Assisted Passerini Reactions: A Practical and Convenient Method for the Synthesis of Novel α-Acyloxycarboxamide Derivatives. *ChemistryOpen*, 12(5). https://doi.org/10.1002/open.202200268
- 130. Sehlinger, A., & Meier, M. (2014). Passerini and Ugi Multicomponent Reactions in

Polymer Science. In P. Theato (Ed.), *Multi-Component and Sequential Reactions in Polymer Synthesis* (1st ed., Vol. 269, pp. 61–86). Springer. https://doi.org/10.1007/12_2014_298

- 131. Shah, G., Zhang, G., Chen, F., Cao, Y., Kalyanaraman, B., & See, W. (2016). The Dose-Response Relationship of bacillus Calmette-Guérin and Urothelial Carcinoma Cell Biology. *Journal of Urology*, 195(6), 1903–1910. https://doi.org/10.1016/j.juro.2015.11.073
- Shakil, S., Rana, Z., Hanif, M., & Rosengren, R. (2022). Key considerations when using the sulforhodamine B assay for screening novel anticancer agents. *Anti-Cancer Drugs*, 33(1), 6–10. https://doi.org/10.1097/CAD.00000000001131
- 133. Sheldon, R. (2017). The E factor 25 years on: the rise of green chemistry and sustainability. *Green Chemistry*, *19*(1), 18–43. https://doi.org/10.1039/C6GC02157C
- 134. Sheldon, R. (2023). The E factor at 30: a passion for pollution prevention. *Green Chemistry*, 25(5), 1704–1728. https://doi.org/10.1039/D2GC04747K
- 135. Sheldon, R., Bode, M., & Akakios, S. (2022). Metrics of green chemistry: Waste minimization. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 33, 100569. https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2021.100569
- 136. Shirini, F., Rad, K., & Akbari, S. (2012). Application of Ionic Liquids in Multicomponent Reactions. *Green Solvents II*, 289–334. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2891-2_12
- 137. Srivastava, R. (2021). Theoretical Studies on the Molecular Properties, Toxicity, and Biological Efficacy of 21 New Chemical Entities. *ACS Omega*, *6*(38), 24891–24901. https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03736
- 138. Stanley, E. (2011). *Green Chemistry and the Ten Commandments of Sustainability* (3rd ed.). ChemChar Research.
- 139. Takkellapati, S., Li, T., & Gonzalez, M. (2018). An overview of biorefinery-derived platform chemicals from a cellulose and hemicellulose biorefinery. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(7), 1615–1630. https://doi.org/10.1007/s10098-018-1568-5
- 140. Taylor, D. (2010). Principles into Practice Setting the Bar for Green Chemistry. *Environmental Health Perspectives*, 118(6), A254–A257. https://doi.org/10.1289/ehp.118a254
- 141. Tobiszewski, M., Marć, M., Gałuszka, A., & Namieśnik, J. (2015). Green Chemistry Metrics with Special Reference to Green Analytical Chemistry. *Molecules*, 20(6), 10928– 10946. https://doi.org/10.3390/molecules200610928
- 142. Tomar, P., & Jain, D. (2023). Green solvents. In R. Papadakis & V. Steffen (Eds.), Solvents
 Dilute, Dissolve, and Disperse Insights on Green Solvents and Distillation. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.1002491

- 143. Tsomaia, N., Ufret, M., Bhat, A., & Nakhle, J. (2017). Future of Medicinal Chemistry: Next-Generation Therapeutics. In S. Chackalamannil, D. Rotella, & S. Ward (Eds.), *Comprehensive Medicinal Chemistry III* (3rd ed., Vol. 1, pp. 326–348). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12294-2
- 144. Ugi, I., & Meyr, R. (1958). Neue Darstellungsmethode für Isonitrile. *Angewandte Chemie*, 70(22–23), 702–703. https://doi.org/10.1002/ange.19580702213
- 145. Vaccaro, L. (2016). Green chemistry. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 12, 2763–2765. https://doi.org/10.3762/bjoc.12.273
- 146. Van, K., Strekowski, L., & Patiny, L. (2006). EcoScale, a semi-quantitative tool to select an organic preparation based on economical and ecological parameters. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 2. https://doi.org/10.1186/1860-5397-2-3
- 147. Varela, M., López, M., Ingold, M., Alem, D., Perini, V., Perelmuter, K., Bollati-Fogolín, M., López, G. V, & Hernández, P. (2023). New Nitric Oxide-Releasing Compounds as Promising Anti-Bladder Cancer Drugs. *Biomedicines*, 11(1), 199. https://doi.org/10.3390/biomedicines11010199
- 148. Vichai, V., & Kirtikara, K. (2006). Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. *Nature Protocols*, *1*(3), 1112–1116. https://doi.org/10.1038/nprot.2006.179
- 149. Wang, Q., Zhu, J., & Wang, M. (2012). Enantioselective Passerini Reaction. In M. Christmann & S. Bräse (Eds.), *Asymmetric Synthesis II* (1st ed., pp. 95–101). Wiley. https://doi.org/10.1002/9783527652235.ch13
- 150. Wang, Z. (2010). Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents. John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1002/9780470638859
- 151. Ward, L., Bilbrey, J., Choudhury, S., Kumar, N., & Sivaraman, G. (2021). Benchmarking Deep Graph Generative Models for Optimizing New Drug Molecules for COVID-19. *ArXiv*. https://doi.org/10.48550/arXiv.2102.04977
- 152. Wei, F., Wang, S., & Gou, X. (2021). A review for cell-based screening methods in drug discovery. *Biophysics Reports*, 7(6), 504–516. https://doi.org/10.52601/bpr.2021.210042
- Wermuth, C. G., Ganellin, C. R., Lindberg, P., & Mitscher, L. A. (1998). Glossary of terms used in medicinal chemistry (IUPAC Recommendations 1998). *Pure and Applied Chemistry*, 70(5), 1129–1143. https://doi.org/10.1351/pac199870051129
- 154. Wilk, M., Brodzka, A., Koszelewski, D., Samsonowicz, J., & Ostaszewski, R. (2021). Model Studies on the Enzyme-Regulated Stereodivergent Cascade Passerini Reaction. *European Journal of Organic Chemistry*, 2021(29), 4161–4165. https://doi.org/10.1002/ejoc.202100760

- 155. Xia, S., Wang, L., Zuo, H., & Li, Z. (2014). Smiles Rearrangement in Synthetic Chemistry. *Current Organic Synthesis*, 10(6), 935–946. https://doi.org/10.2174/15701794113106660081
- Younus, H., Al-Rashida, M., Hameed, A., Uroos, M., Salar, U., Rana, S., & Khan, K. M. (2020). Multicomponent reactions (MCR) in medicinal chemistry: a patent review (2010-2020). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 31(3), 267–289. https://doi.org/10.1080/13543776.2021.1858797
- 157. Zarganes, T., Chandgude, A., & Dömling, A. (2015). Multicomponent Reactions, Union of MCRs and Beyond. *The Chemical Record*, *15*(5), 981–996. https://doi.org/10.1002/tcr.201500201
- 158. Zarganes, T., & Dömling, A. (2014). Modern multicomponent reactions for better drug syntheses. Organic Chemistry Frontiers, 1(7), 834–837. https://doi.org/10.1039/C4QO00088A
- 159. Zhang, G., Chen, F., Cao, Y., & See, W. (2007). Bacillus Calmette-Guérin induces p21 expression in human transitional carcinoma cell lines via an immediate early, p53 independent pathway. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 25(3), 221–227. https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2006.07.021
- Zhang, P., Wu, G., Zhang, D., & Lai, W.-F. (2023). Mechanisms and strategies to enhance penetration during intravesical drug therapy for bladder cancer. *Journal of Controlled Release*, 354, 69–79. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.01.001
- 161. Zhang, W., & Yi, W.-B. (2019). *Multicomponent Reactions (MCRs)* (1st ed.). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-22596-4_4
- 162. Zheng, T., & Nolan, E. (2015). Evaluation of (acyloxy)alkyl ester linkers for antibiotic release from siderophore–antibiotic conjugates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 25(21), 4987–4991. https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.02.034
- 163. Zimmerman, J., Anastas, P., Erythropel, H., & Leitner, W. (2020). Designing for a green chemistry future. *Science*, *367*(6476), 397–400. https://doi.org/10.1126/science.aay3060
- 164. Znabet, A., Polak, M., Janssen, E., de Kanter, F., Turner, N., Orru, R., & Ruijter, E. (2010). A highly efficient synthesis of telaprevir by strategic use of biocatalysis and multicomponent reactions. *Chemical Communications*, 46(42), 7918. https://doi.org/10.1039/c0cc02823a