

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INSTITUTO DE QUÍMICA ROSARIO

IQUIR (CONICET-UNR)



**SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE CARPATAMIDA A Y EVALUACIÓN DE
SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

**INFORME DE PRÁCTICA FINAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
LICENCIADA EN QUÍMICA**

AUTORA: MICAELA BELEN RIERA

DIRECTORA: DRA. ANDREA B. BRACCA

-2021-

Agradecimientos

Agradezco profundamente a las siguientes personas e instituciones que me apoyaron durante la realización de este Trabajo Final:

A la Dra. Andrea Bracca, quien me dirigió todos estos años, y que con su paciencia y dedicación me transmitió sus conocimientos y experiencias. Por haberme acompañado gratamente en este proceso de formación, mostrando ser una excelente persona y profesional.

Al Dr. Teodoro S. Kaufman, por haberme brindado un espacio en su grupo de investigación. Por haberme acompañado constantemente en este camino, siempre atento, y que generosamente compartió sus saberes.

A mis padres y a mi hermano, por brindarme su apoyo durante todo este tiempo.

A mi profesora Jor, quién confió en mí y me impulsó para llegar a dónde me encuentro hoy.

A Caren, mi amiga y compañera de hogar, quien me apoya y ayuda en todo momento y siempre está presente.

A mis amigas, compañeras de la vida, que hacen amenos mis días y a mis amigas de la facultad con quienes compartí muchas horas de estudio, cursado, mates y risas.

Un especial agradecimiento, a mi compañera de mesada María Virginia quien siempre estará en mis recuerdos.

A mis compañeros de mesada Didier, Eli, Iván, Javi y Meli que siempre estuvieron dispuestos a ayudarme y enseñarme e hicieron de este trabajo una linda y agradable experiencia.

Por último, agradecerle a toda la comunidad de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (FBIOyF) y del Instituto de Química Rosario (IQUIR) donde considero que residen excelentes profesionales que me brindaron una extraordinaria educación e hicieron de estos espacios mi segundo hogar.

Tabla de contenido

Agradecimientos	1
Abreviaturas y símbolos.....	4
Resumen	6
Capítulo I: Introducción	9
I.1 Los productos naturales.....	9
<i>I.1.1 Los productos naturales como fuente de inspiración de la química medicinal.....</i>	<i>9</i>
<i>I.1.2 Productos naturales de origen marino</i>	<i>12</i>
I.2 Síntesis de productos naturales.....	19
<i>I.2.1 Estrategias de síntesis.....</i>	<i>24</i>
Capítulo II: Objetivos y Planeamiento de Trabajo	31
II.1 Objetivos generales	31
II.2 Objetivos específicos	31
II.3 Planeamiento de Trabajo	32
Capítulo III: Resultados y Discusión	34
III.1 Estudios sintéticos dirigidos hacia carpatamida A.....	34
<i>III.1.1 Síntesis de 3-[5-amino-2,4-bis(metoximetoxi)fenil] propanoato de metilo (III.5) a partir de 2,4-dihidroxibenzaldehído (III.1).....</i>	<i>34</i>
<i>III.1.2 Síntesis del ácido (2E,4E)-7-metilocta-2,4-dienoico (III.13) a partir de isovaleraldehído.....</i>	<i>39</i>
<i>III.1.3 Hacia intermediarios avanzados en la síntesis total de carpatamida A</i>	<i>41</i>
III.2 Síntesis de análogos de carpatamida A.....	45
<i>III.2.1 Optimización de la reacción de amidación.....</i>	<i>45</i>

<i>III.2.2 Optimización de la reacción de desprotección.....</i>	<i>50</i>
<i>III.2.3 Obtención de análogos de carpatamida A</i>	<i>51</i>
Capítulo IV: Conclusiones	61
Capítulo V: Materiales y métodos	63
V.2 Síntesis y Caracterización	68
Capítulo IV: Espectros Selectos	82
Capítulo VI: Referencias Bibliográficas.....	115

Abreviaturas y símbolos

Abreviatura/símbolo	Significado
Ac	Grupo acetilo
Ar	Grupo arilo
cat.	Cantidades catalíticas/catalizador
CCD	Cromatografía en capa delgada
d	Doblete
dd	Doble doblete
DIPEA	<i>N, N'</i> -Diisopropiletilamina
DMAP	4- <i>N, N'</i> -Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N, N'</i> -Dimetilformamida
dt	Doble de tripletes
Ed(s)	Editor(es), Edición
EDCI	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
equiv.	Equivalentes
Et	Grupo etilo
GP	Grupo protector
h	Hora/s
HOBt	Hidroxibenzotriazol
Hz	Hertz, Hercio/s (ciclo/s por segundo)
g	Gramo/s
IR	Infrarrojo
J	Constante de acoplamiento escalar
m	Multiplete
M	Molar, molaridad de una solución
Me	Grupo metilo
mg	Miligramo/s
Mhz	Megahertz, Megahercios= 10 ⁶ Hz

min	Minuto/s
mL	Mililitro/s
mmol	Milimol/es
MO	Microondas (Radiación de)
MOM	Grupo metoximetileno
NBS	N-Bromosuccinimida
p.f.	Punto de fusión
Ph	Grupo fenilo
ppm	Partes por millón
q	Cuarteto
RMN	Resonancia magnética nuclear
s	Singlete
t	Triplete
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
β -CD	Beta-ciclodextrina
Δ	Calentamiento
$^{\circ}\text{C}$	Grados centígrados
δ	Desplazamiento químico, referido a TMS; también densidad
ν	Frecuencia (en unidades de centímetros recíprocos, cm^{-1})

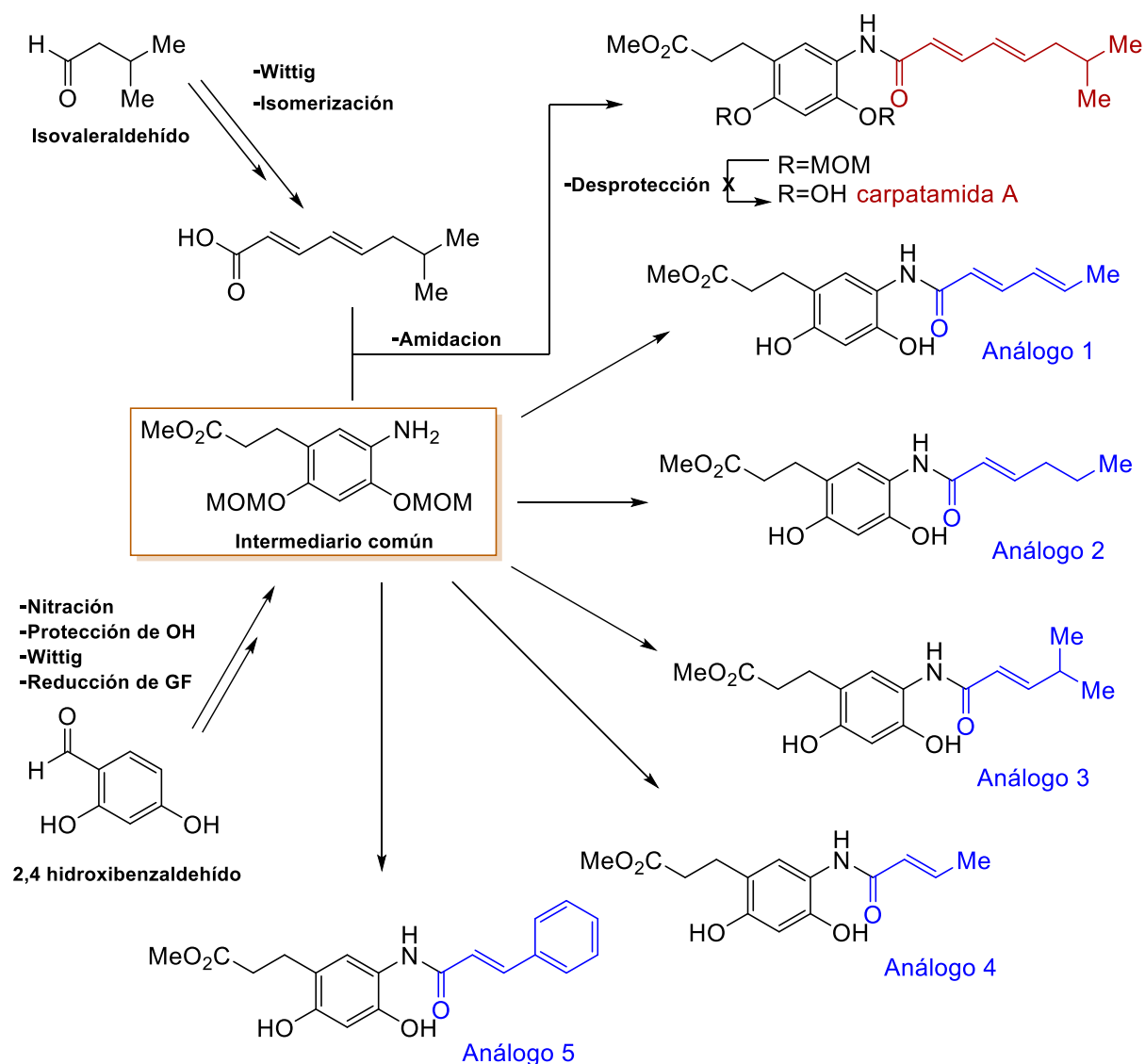
Resumen

El cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) es una de las enfermedades más graves y el cáncer con mayor incidencia en el ser humano, el cual resulta ser, además, relativamente insensible a la quimioterapia comparado con el cáncer de pulmón de células pequeñas.

Recientemente, gracias a los avances tecnológicos, los organismos marinos se convirtieron en una nueva fuente para la búsqueda de productos naturales aún poco explorada. Se ensayaron varias fracciones de productos naturales marinos contra un panel de líneas celulares CPCNP. Como parte de estos estudios, un grupo de investigación aisló una familia de estructuras de *N*-acil arilaminas llamadas carpatamidas A-C; de la actinobacteria *Streptomyces sp.* que demostraron actividad selectiva contra CPCNP. Estos compuestos poseen una estructura de amida que consiste en un núcleo derivado del ácido amino-fenilpropiónico y una cadena lateral de ácido graso α - δ insaturado.

En este trabajo se desarrolló una estrategia sintética para construir el producto natural carpatamida A y 5 análogos estratégicos.

La ruta sintética propuesta del producto natural carpatamida A se realizó por una síntesis convergente en múltiples etapas. A partir de materiales sencillos y accesibles como 2,4-dihidroxibenzaldehído se obtuvo en 4 etapas, involucrando una nitración, la protección de grupos fenólicos, una olefinación y la reducción de grupos funcionales, el intermediario común 3-[5-amino-2,4-bis(metoximetoxi)fenil] propanoato de metilo (**III.5**), mientras que a partir de isovaleraldehído, y en 2 etapas, que incluyeron una olefinación seguida de isomerización de los dobles enlaces se accedió al ácido (2*E*,4*E*)-7-metilocta-2,4-dienoico (**III.13**). Ambos intermediarios se utilizaron para formar la amida intermediaria, precedente al producto natural mediante una amidación con activación previa del ácido en forma de un anhídrido mixto, resultando más eficiente que otros métodos de activación. Por último, a pesar de los múltiples intentos de desprotección de los grupos fenólicos de dicha amida, no se logró observar la formación del producto natural.



Finalmente, con el propósito de aumentar la diversidad estructural y en busca de una estructura incluso aún más prometedora, se lograron sintetizar 5 análogos a partir de la amidación del intermediario aromático de carpatamida A con distintos ácidos comerciales y seguido de la desprotección de los grupos fenoles. De esta manera se obtuvieron estructuras con cadenas laterales de distinta longitud, como así también, distinto grado de insaturación, con y sin *gem*-dimetilo.

Capítulo I:

Introducción

Capítulo I: Introducción

1.1 Los productos naturales

De manera general, un producto natural es un compuesto químico producido por un organismo vivo en la naturaleza e incluye tanto a las moléculas producidas en el metabolismo primario como a las producidas por metabolismo secundario. Los metabolitos primarios son moléculas que están relacionadas con el crecimiento, el desarrollo o la reproducción del organismo vivo. Por el contrario, los metabolitos secundarios no son esenciales para su supervivencia y suelen proporcionar una ventaja competitiva, mediar en la interacción entre otros organismos o en la defensa contra ellos. Una definición más específica es la de la química medicinal que solo acepta como productos naturales a aquellas pequeñas moléculas denominadas metabolitos secundarios.¹

Los metabolitos secundarios proceden de fuentes como plantas, animales y microorganismos, tales como bacterias y hongos. Como son resultado de rutas evolutivas más especializadas, poseen una gran diversidad estructural y debido a ello se han convertido en un desafío para el químico en diferentes áreas, ya sea para la confirmación estructural como para el descubrimiento de nuevas entidades de interés, como fármacos, esencias, sabores, agroquímicos, etc.

1.1.1 Los productos naturales como fuente de inspiración de la química medicinal.

Históricamente, la medicina y los productos naturales han estado estrechamente vinculados. Estos compuestos son una gran y exitosa fuente de potenciales fármacos para la prevención y el tratamiento de enfermedades humanas.

En la antigüedad, los medicamentos de origen vegetal ricos en productos naturales bioactivos se utilizaban en forma de aceites, infusiones y píldoras para tratar resfriados, tos y otras enfermedades. El uso de estos productos naturales de plantas medicinales se basaba principalmente en la experimentación por ensayo y error durante cientos de siglos a través de pruebas de palatabilidad o de muertes

repentinas y de la búsqueda de alimentos disponibles para el tratamiento de enfermedades.²

Durante siglos, China ha estado a la cabeza del mundo en el uso de productos naturales para la curación. Se considera que la compilación más antigua de hierbas chinas es el Herbario Shennong (200 a 100 a.C., 365 fármacos). Por ejemplo, una de las hierbas populares chinas más famosas es la raíz de ginseng (*Panax ginseng*), utilizada para el mantenimiento de la salud y el tratamiento de diversas enfermedades. Otro medicamento popularmente conocido, es el extracto del árbol Ginkgo, *Ginkgo biloba*, beneficioso para la memoria y la agudeza mental.

El registro farmacéutico mejor conocido es el “Papiro Ebers” que data desde 1500 a.C en el antiguo Egipto. Este escrito documenta más de 700 fármacos de plantas y órganos de animales junto con diversos minerales. Este papiro contiene numerosas fórmulas para diversos productos, tales como gargarismos, cataplasmas, infusiones, píldoras y ungüentos, utilizando como vehículos cerveza, leche, vino y miel.³

Hay varios sucesos importantes a lo largo de la historia del descubrimiento de fármacos basados en productos naturales. En 1806, el farmacéutico alemán Friedrich Wilhelm Adam Sertürner reportó haber aislado del opio (*Papaver somniferum*), un polvo cristalino blanco, al cual denominó morfina (**Figura I.1**) en honor a Morfeo, el dios griego de los sueños. Éste constituye el primer registro del aislamiento de un producto natural complejo, y morfina se cuenta entre los primeros productos naturales comercializados como fármacos en forma pura y fue comercializado por Sertürner y su compañía en 1817 como un analgésico.⁴

El concepto de que un microorganismo mate a otro fue introducido por Pasteur, que acuñó el término antibiosis en 1877, pero fue mucho más tarde cuando este concepto se materializó en forma de un antibiótico real. Se considera el inicio de la Edad de Oro de descubrimiento de fármacos basados en productos naturales el descubrimiento del primer antibiótico en 1928, la penicilina, por Alexander Fleming y Howard Florey, así como el descubrimiento de la estreptomicina, el segundo antibiótico, por Selman A. Waksman² (**Figura I.1**).

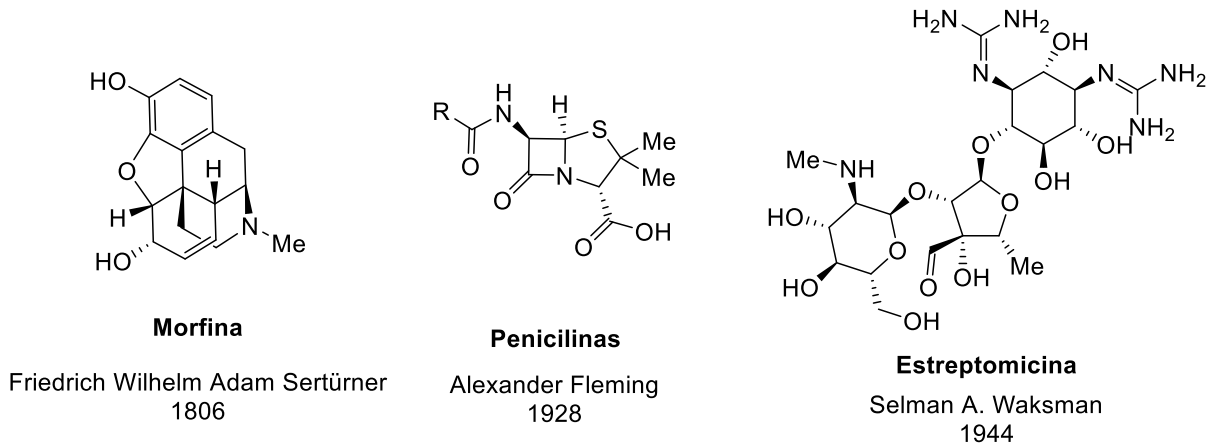


Figura I.1. Estructuras químicas de morfina, penicilinas y estreptomicina.

La necesidad de la continua búsqueda de nuevas drogas y síntesis de fármacos se debe a varias cuestiones. Hasta la fecha aún se encuentran muchas enfermedades sin atender. Además, se pueden mejorar medicamentos existentes que poseen efectos secundarios indeseables, así como también la síntesis de aquellos que presentan dificultades en su producción. Por último, pero no menos importante, se destaca el concepto de resistencia de fármacos, que hace que constantemente se esté en la búsqueda de medicamentos más potentes a los ya encontrados.

En el proceso de descubrimiento de fármacos, un producto natural puede funcionar como una molécula prototipo que tiene la actividad biológica o farmacológica deseada, llamado compuesto líder, pero que generalmente no puede utilizarse en su forma nativa debido a que suele presentar alguna característica indeseable. Dentro del proceso sufrirá transformaciones que nos ayudarán a optimizar su seguridad y eficacia. Se deben examinar decenas de miles de compuestos antes de que un nuevo fármaco salga al mercado.

Un ejemplo de esto puede verse en el desarrollo de la aspirina, uno de los analgésicos más reconocidos que existe. El ingrediente activo de remedios naturales extraídos de los sauces (*Salix spp.*) y otras plantas que han sido utilizados por sus propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias fue identificado por Joseph Büchner, quien obtuvo cristales de salicina (**Figura I.2**) relativamente puros en 1828.

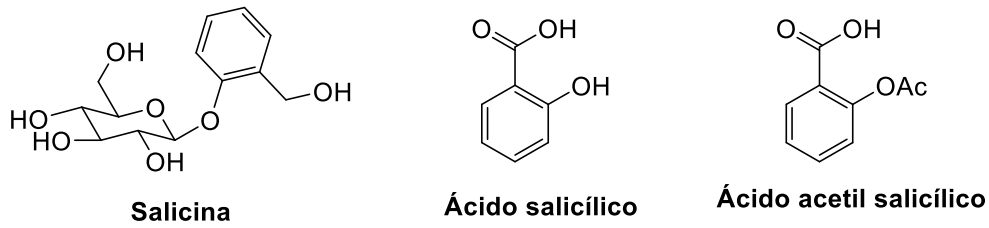


Figura I.2. Ácido salicílico y derivados naturales y sintéticos.

A continuación, el químico italiano Raffaele Piria aisló un componente ácido del extracto de sauce, el ácido salicílico (**Figura I.2**), el cual se utilizaba para la reducción del dolor, fiebre e inflamación, pero su uso fue rápidamente limitado debido a que producía irritación gástrica como efecto adverso. En los esfuerzos para disminuir estos efectos secundarios, químicos de Bayer descubrieron el ácido acetil salicílico en 1897, casi 60 años después.

A partir del año 1899 la comercialización del ácido acetil salicílico (**Figura I.2**) fue un éxito. Este análogo sintético de salicina fue rápidamente aceptado por su menor capacidad de irritación gástrica, que en consecuencia evitó los efectos secundarios producidos por el ácido salicílico y la salicina. Fue el primer fármaco sintético y se comercializó con el nombre de Aspirina.⁵

1.1.2 Productos naturales de origen marino

La vida marina es una fuente de productos naturales aún poco explorada, a diferencia de las fuentes naturales vegetales, debido a la dificultad para tomar muestras desde el fondo del océano y de simular los medios adecuados donde existen. Gracias a los avances tecnológicos en la toma de muestra y en el análisis de la misma, está aumentando la cantidad de metabolitos de origen marino en investigación.⁶

En los ecosistemas marinos, el foco se encuentra en especies sésiles que son normalmente inmóviles o sedentarios, como algas, corales, esponjas y otros microorganismos. Estos organismos se encuentran en una continua competencia por el espacio en el que viven y crecen; se enfrentan a duras condiciones ambientales químicas y físicas por lo que la adaptación a condiciones de estrés como temperaturas frías, alta presión, ausencia de luz y la supervivencia frente a

especies depredadoras han hecho que estas especies desarrollen una variedad de metabolitos secundarios, con propiedades químicas y estructurales únicas. Se observó que estos metabolitos poseen diversas actividades biológicas, lo que los convierte en potenciales compuestos líderes, útiles en el desarrollo de fármacos.

La diversidad de organismos en el medio marino ha inspirado a los investigadores durante muchos años para identificar nuevos productos naturales marinos que podrían convertirse en fármacos. A finales de 1950 el concepto de “fármacos del mar” atrajo a algunos interesados. En 1974, se dieron a conocer citarabina (Ara-C) y vidarabina (Ara-A) (**Figura I.3**) como los dos primeros fármacos de origen marino. Estos compuestos fueron desarrollados a partir del spongouridine, un nucleósido aislado originalmente de la esponja caribeña *Tectitethya crypta*. La citarabina es un medicamento que se emplea en el tratamiento de algunos tipos de cáncer, principalmente leucemia mieloide aguda y linfomas. Recibió la aprobación de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) en 1969. La viradabina fue el primer medicamento contra los virus del herpes. Recibió la aprobación de la FDA en 1976 pero actualmente fue suspendido posiblemente debido al menor margen terapéutico de la vidarabina frente a otros compuestos antivirales actualmente en el mercado.⁷

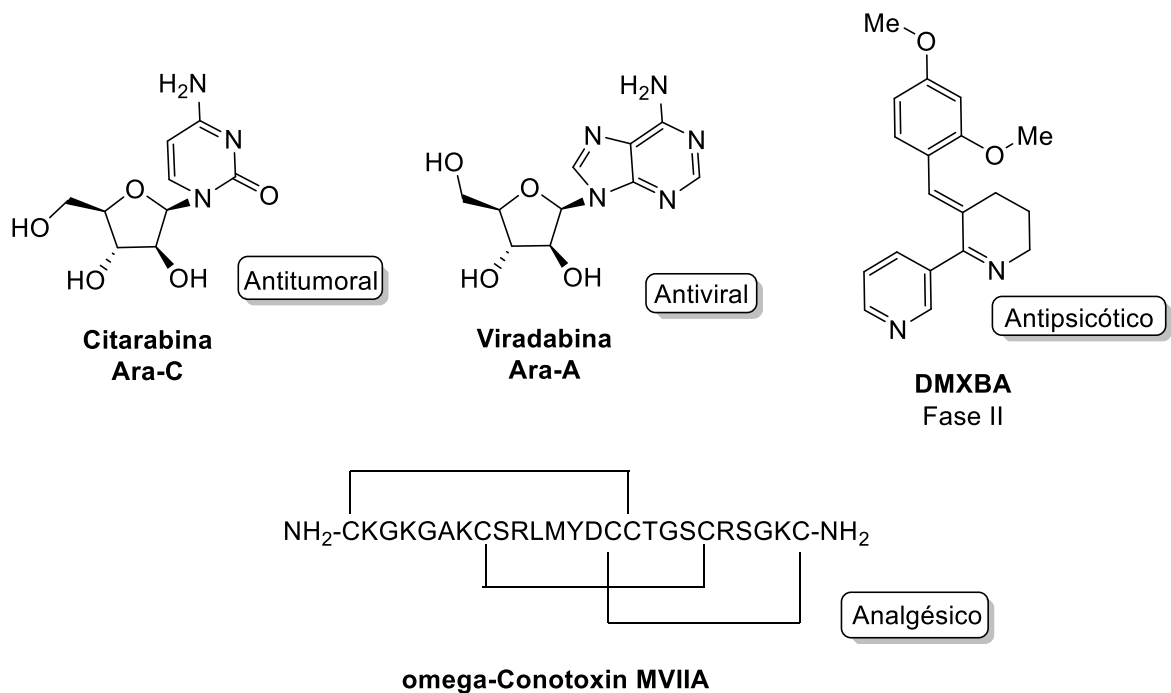


Figura I.3. Productos naturales marinos o sus derivados aprobados como fármacos.

Tomó tres décadas en salir un nuevo medicamento de origen marino, la ziconotida, una forma sintética de ω -conotoxina MVIIA (**Figura I.3**), es un analgésico derivado de las toxinas del caracol cono marino. Fue aprobado por la FDA en 2004 bajo el nombre comercial de Prialt. Está indicado para el tratamiento del dolor crónico. Los caracoles cono poseen en su veneno una gran cantidad de toxinas (conotoxinas) que actúan sinérgicamente para atacar a las presas e inmovilizarlas mediante un ataque al sistema neuromuscular. La ω -conotoxina MVIIA es un péptido policatiónico lineal de 25 aminoácidos que contiene seis residuos de cisteína unidos por tres puentes disulfuro que estabilizan la estructura tridimensional.⁶

Por otro lado, otros fármacos se encuentran en distintas fases de los ensayos clínicos del proceso de aprobación de fármacos. Por ejemplo, el DMXBA (**Figura I.3**), es un derivado sintético de la anabaseína, un alcaloide presente en varias especies de gusanos marinos que muestran efectos nootrópicos y neuroprotectores y se está investigando para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, para la dependencia de la nicotina y lo que es más significativo, para la esquizofrenia.⁷

1.1.2.1 De los organismos marinos a los fármacos contra el cáncer.

El cáncer tiene una de las tasas más altas de mortalidad en el mundo. El cáncer de pulmón y de mama son los cánceres más frecuentemente diagnosticados en todo el mundo y son las principales causas de muerte relacionados con el cáncer en hombres y mujeres, respectivamente. El aumento del riesgo está asociado a la edad y a un estilo de vida poco saludable.⁸ La incidencia del cáncer sigue aumentando debido a los cambios ambientales y a la modernización del estilo de vida.⁹

Existe un considerable interés científico y comercial en el descubrimiento de nuevos agentes anticancerígenos a partir de fuentes de productos naturales.¹⁰ Se está en busca de nuevas sustancias con potencial actividad anticancerígena o una alternativa a los fármacos quimioterápicos ya existentes que poseen una alta toxicidad, efectos secundarios indeseables y además se observa un rápido desarrollo de resistencia a ellos.

Debido a la relativa facilidad de acceso a las plantas, la mayoría de los descubrimientos de compuestos anticancerígenos se derivaban de plantas. Sin

embargo, los organismos marinos también proporcionan muchos compuestos bioactivos prometedores con gran potencial terapéutico, pero su desarrollo se vio muy reducido debido a las dificultades para obtener cantidades adecuadas de dichos compuestos.

Por ejemplo, el agente anticancerígeno ecteinascidina-743 (ET-743/trabectedina) (**Figura I.4**), fue uno de los primeros en ser aislado de una ascidia tropical, *Ecteinascidia turbinata* en 1984.

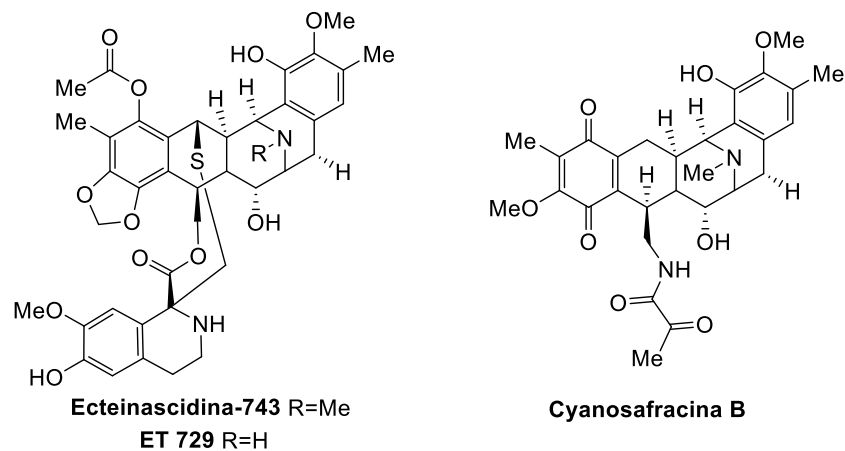


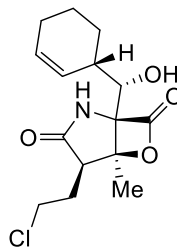
Figura I.4. Ecteinascidina-743 y Cyanosafracina B.

En 1990 se publicó la estructura de alcaloides que se denominaron ecteinascidinas. La obtención del compuesto directamente del tunicado tenía rendimientos extremadamente bajos, por lo que se recurrieron a otras formas de producción. Se logró desarrollar 15 años después un método semisintético que comienza con cyanosafracina B (**Figura I.4**), un antibiótico que se puede producir en el orden de varios kilogramos mediante la fermentación de *Pseudomonas fluorescens*. En 2007, la Comisión Europea autorizó la comercialización de trabectedina, con el nombre comercial Yondelis, y es utilizado para el tratamiento del sarcoma de tejido blando avanzado y el cáncer de ovario.¹¹

La idea de la investigación en bacterias marinas surge de la extrapolación en la experiencia de los estudios llevados a cabo en bacterias terrestres. Esto se ve reflejado en los primeros resultados ya que involucran bacterias aisladas de sedimentos marinos, un hábitat similar al suelo terrestre. Las bacterias marinas recientemente se encuentran bajo la lupa, gracias a los avances tecnológicos que

permiten alcanzar una variedad de hábitats marinos ricos y pobres en nutrientes, tanto en océanos superficiales como profundos.¹² Se trata hoy de una fuente de productos naturales prometedora de estructuras químicas como potenciales fármacos y que requiere una colaboración interdisciplinaria entre los químicos y los microbiólogos.

Un ejemplo es la salinosporamida A (**Figura I.5**), un producto natural estudiado como posible agente anticancerígeno, producido por las bacterias marinas *salinispora tropica* y *salinispora arenicola* que se encuentran en sedimento oceánico. Pertenece a una familia de compuestos, conocidos como salinosporamidas, que poseen un núcleo γ -lactama- β -lactona bicíclico.¹³ La salinosporamida A entró en ensayos clínicos de fase I para el tratamiento del mieloma múltiple solo tres años después de su descubrimiento. Progresó a un desarrollo clínico en etapa III que recibió la designación de medicamento huérfano para el glioblastoma en los Estados Unidos.¹⁴



Salinosporamida A

Figura I.5. Estructura de Salinosporamida A.

I.1.2.1.1 *Streptomyces* sp.

Las actinobacterias son bacterias gram positivas con alto contenido guanina-citosina y conforman el dominio más grande de bacterias. Han producido el 45% (más de 10000 compuestos) de todos los metabolitos secundarios microbianos bioactivos conocidos. Alrededor de 7.600 compuestos son producidos por el subgrupo de especies de *Streptomyces*.¹⁵ Son principalmente organismos del suelo, de hecho, el olor a tierra característico del suelo se debe a la producción por parte de los *streptomyces* de una serie de metabolitos complejos llamados geosmina (**Figura I.6**). Son perceptibles típicamente cuando la tierra se humedece; por

ejemplo, cuando llueve. Algunos *Streptomyces* también se encuentran en los ecosistemas acuáticos. Se caracterizan por poseer un metabolismo secundario complejo. Esta especie ha proporcionado el mayor número de antibióticos, tanto fungicidas (Nistatina, Natamicina) como bactericidas (Neomicina, Ivermectina) en la industria farmacéutica (**Figura I.6**).¹⁶

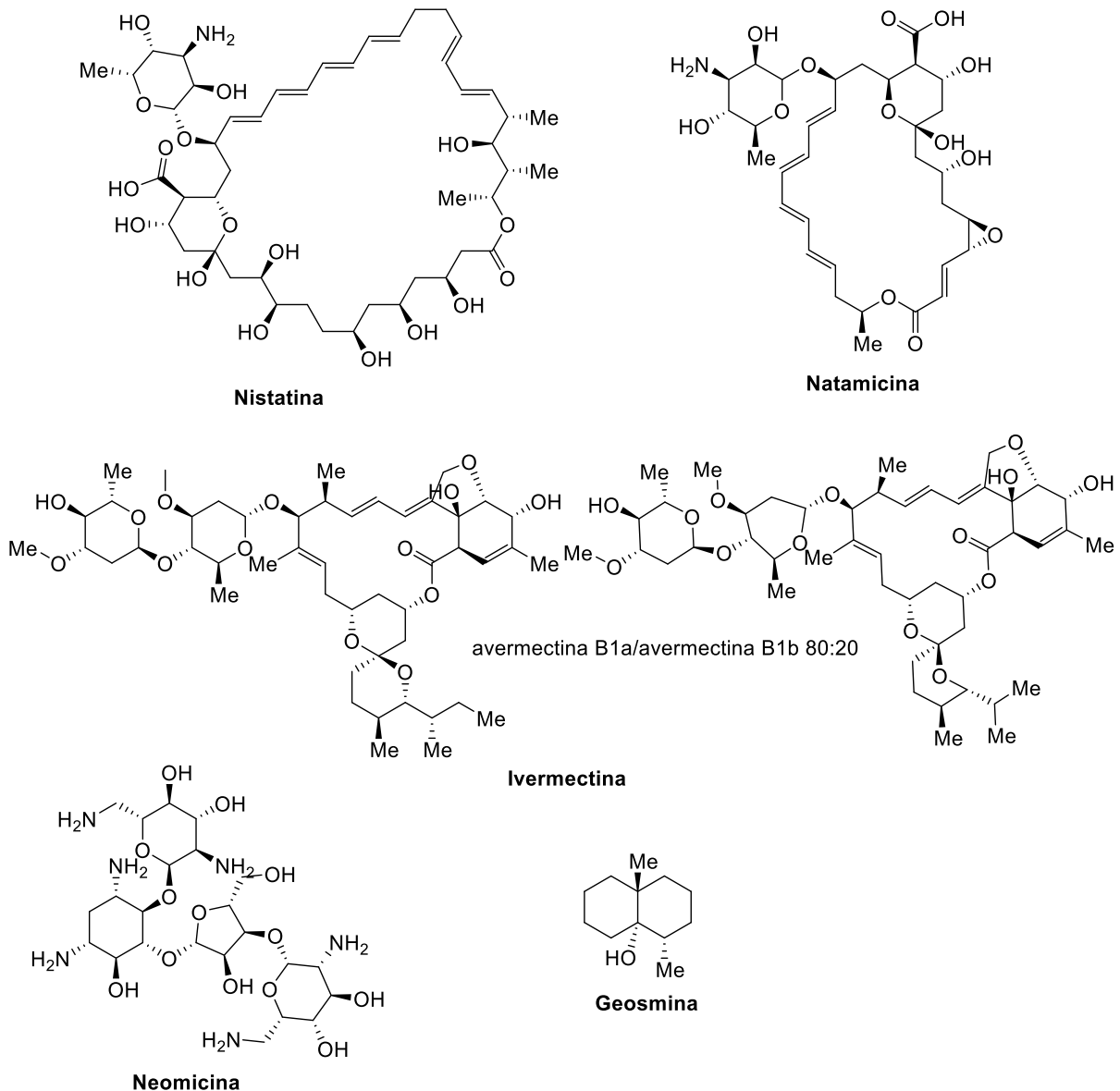


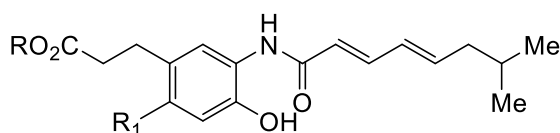
Figura I.6. Algunos productos naturales importantes provenientes de *Streptomyces*.

En los últimos años, gran parte de la atención se ha centrado en los hábitats de entornos más extremos, como las profundidades marinas, el desierto, la criogenia y los entornos volcánicos para el aislamiento de potenciales especies de *Streptomyces*.

Desde finales de 2005, la exploración de *Streptomyces* de las profundidades marinas ha ido creciendo constantemente. El énfasis está en la búsqueda de compuestos novedosos con diversidad estructural y actividad biológica en este hábitat extremo.¹⁷

I.1.2.2 Carpatamidas.

Con el fin de encontrar estructuras con actividad selectiva contra el cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP), la forma más prevalente del cáncer de pulmón, MacMillan y col. ensayaron varias fracciones de productos de una muestra de sedimento marino recolectada de la isla Kiawah, Carolina del Sur (EEUU), en un medio de ácido húmico a base de agua de mar. Se aisló una familia de estructuras de *N*-acil arilaminas llamadas carpatamidas A-C (**Figura I.7**) proveniente de la actinobacteria *Streptomyces sp.*, las cuales mostraron actividad citotóxica frente a líneas celulares contra CPCNP. Estos compuestos presentan una estructura central que deriva de un ácido amino-fenilpropiónico y una cadena de ácido graso insaturado, dienoico, unida al resto amino mediante un enlace amida.¹⁸



R=Me, R₁=OH, **Carpatamida A**
 R=H, R₁=OH, **Carpatamida B**
 R= R₁=H, **Carpatamida C**

Figura I.7. Estructura química de los productos naturales carpatamida A-C.

Carpatamida B no mostró ninguna actividad contra las líneas celulares cancerosas debido a su incapacidad para penetrar en las células cancerosas, ya que los estudios han demostrado que el éster metílico carpatamida A actúa como profármaco y se escinde en las células para dar el fármaco activo.¹⁹

Las carpatamidas no se habían sintetizado hasta la fecha en la que comenzó este trabajo. Las limitadas cantidades provenientes desde su fuente natural y los

prometedores estudios previos nos fomentaron a abordar en el Laboratorio el desafío de la síntesis total concreta de carpatamida A.

1.2 Síntesis de productos naturales

Los químicos orgánicos sintéticos tienen el desafío y la capacidad para replicar las moléculas de la naturaleza con diversas estrategias y tecnologías sintéticas empleando reacciones catalíticas y procesos sintéticos diseñados. La síntesis orgánica se utiliza como una herramienta para la investigación de productos naturales y puede cumplir distintos roles.

Una de las ramas más importantes de la síntesis orgánica se trata de la síntesis total, la cual propone y diseña una ruta para una molécula objetivo compleja a partir de moléculas simples, utilizando reacciones de manera estratégica en la menor cantidad de etapas posibles. Los esmeros en la síntesis total brindaron numerosas estructuras biológicamente activas, naturales o diseñadas, para estudios biológicos y farmacéuticos. La síntesis total de productos naturales también sirve como terreno para el descubrimiento de nuevas reacciones y rutas químicas, el desarrollo de nuevos mecanismos, catalizadores o técnicas.

En la actualidad, a pesar de la complejidad estructural característica asociada a los productos naturales marinos, hay un desarrollo notable de su síntesis química total que a menudo se comunica poco después de su descubrimiento.²⁰ La realización exitosa de su síntesis es beneficiosa en varios aspectos. Nos garantiza el suministro a gran escala de un compuesto bioactivo del que se obtienen cantidades limitadas desde el origen natural. También nos permite realizar ensayos posteriores de estructura-actividad y optimización de compuestos líderes.

Un ejemplo destacable fue el del producto natural marino halicondrina B (**Figura I.8**). En 1986, Uemura y sus col. descubrieron halicondrina B de fracciones de extractos de la esponja marina *Halichondria okadai*. Las halicondrinas han demostrado tener una potente actividad inhibidora del crecimiento celular a concentraciones nanomolares. Las síntesis de la halicondrina B y de la norhalicondrina B se desarrollaron en 1992.⁶ Las estructuras de las halicondrinas eran demasiado complejas para que su producción a escala sea viable por síntesis

total. Finalmente, considerando su mecanismo de acción, nuevos estudios de SAR revelaron un análogo más potente, estructuralmente más simple y más estable, eribulina (E7389) (**Figura I.8**). De esta manera se garantizó la adecuada potencia, seguridad farmacológica, selectividad y suministro a un costo razonable.²⁰

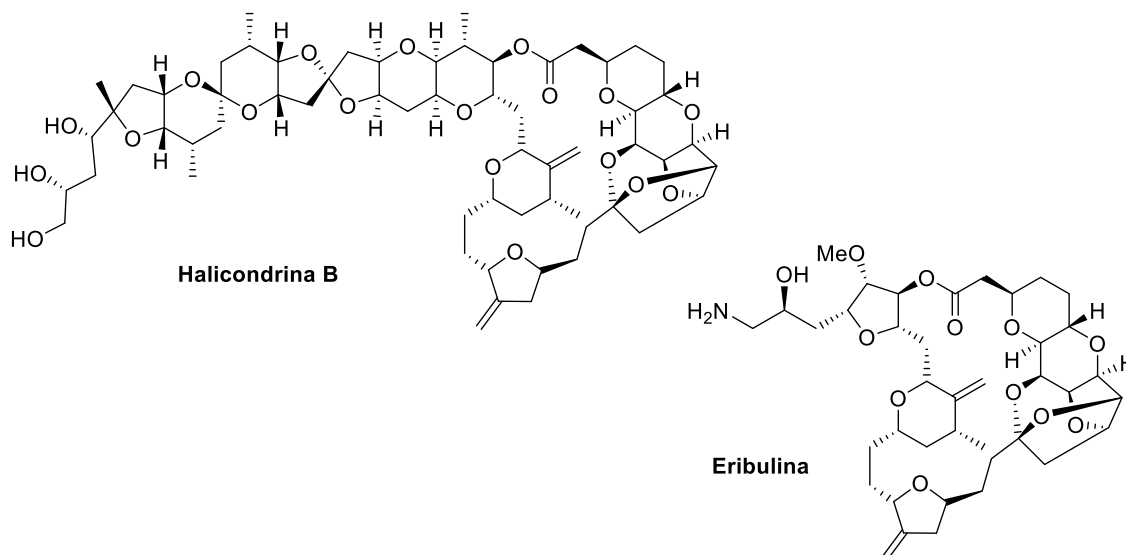
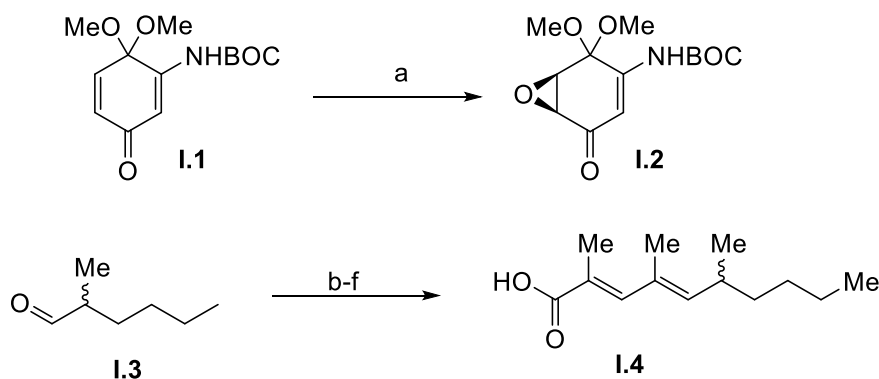


Figura I.8. Estructuras químicas de eribulina y halicondrina B.

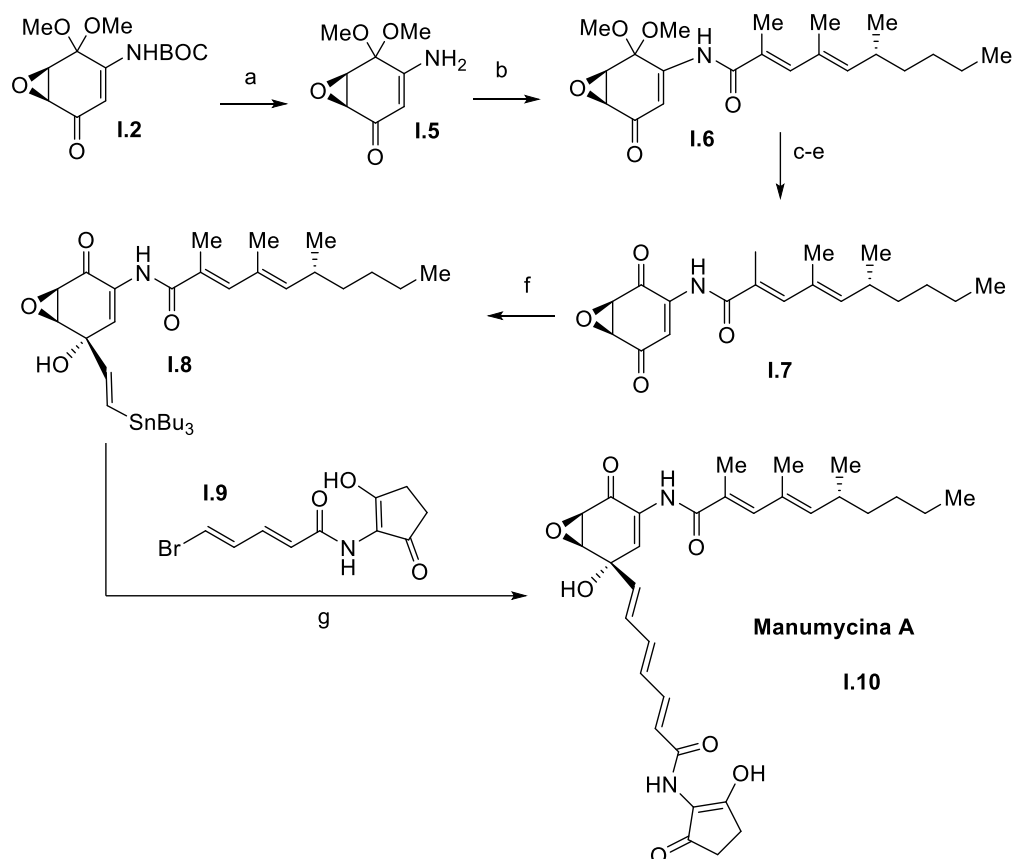
Un patrón estructural similar al de carpatamida A se ha encontrado previamente en manumycina A. En 1963, Buzzetti, Prelog, y col. describieron el aislamiento de este antibiótico estructuralmente único de *Streptomyces parvulus*.²¹ La primera síntesis total de este antibiótico fue publicada en 1998.²² Se trató de una síntesis convergente en la cual se prepararon por separado dos porciones dispuestas a unirse para formar el producto (**Esquema I.1**). El núcleo epóxido se formó en primer lugar a partir del tratamiento de **I.1** mediante una catálisis asimétrica de Wynbergs. Por otro lado, se preparó la cadena lateral superior (**I.4**) a partir de (*R*) y (*S*)-2-metilpropanal (**I.3**) a través de la secuencia que se muestra en el **Esquema I.1**.



Esquema I.1. *Reactivos y condiciones:* a) Cloruro de (-)-*N*-bencilcinconidinio, TBHP, NaOH cat., ta, 6d (32%; 89% ee) b) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{C}(\text{Me})\text{CO}_2\text{Et}$, tolueno, Δ ; c) DIBAL-H, THF, -78°C ; d) MnO_2 , CH_2Cl_2 , Δ ; e) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{C}(\text{Me})\text{CO}_2\text{Et}$, CH_2Cl_2 , Δ , f) LiOH, THF-MeOH. (-), 55%, (+) 60%.

La amina resultante luego de la desprotección del grupo amino (**I.5**), fue acilada con el cloruro de ácido formado con **I.4**. Luego, la amida resultante (**I.6**), se convirtió en la quinona correspondiente (**I.7**) a través de una secuencia de oxidación-desprotección-reducción de tres etapas. Sabiendo que la adición de reactivos organometálicos a epoxiquinonas como **I.7** prodece con estereoselectividad completa, se adicionó un reactivo de vinil litio a la quinona que dio predominantemente una mezcla de productos **I.8**. A través de una reacción de Stille, fue acoplado el bromo dieno (**I.9**) para dar manumycina A (**I.10**, **Esquema I.2**).

A este escenario, se le suma otro de los roles de la síntesis total. A pesar de todas las herramientas que están actualmente disponibles, en algunas ocasiones se sabe que un número no despreciable de estructuras suele ser asignado erróneamente, con una tasa de errores que no cede.²³ Una de las alternativas válidas para la validación final de la estructura continúa siendo la síntesis total de la estructura propuesta y la comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los del producto natural.



Esquema I.2. *Reactivos y condiciones.* a) TFA-CH₂Cl₂ (1:4) (98%); b) *t*-BuOLi, THF, luego cloruro de ácido derivado de **I.4** (91%); c) LiEt₃BH, THF, -78 °C (95%); d) Montmorillonita K10, CH₂Cl₂, t.a (89%); e) PDC, CH₂Cl₂, t.a (91%); f) *E*-Bu₃SnCH=CHLi, THF, -78 °C (25%); g) **I.9**, [5% PdCl₂(Ph₃P)₂, DIBAL-H], THF-DMF, t.a (71%).

Manumycina A (**Figura I.9**) forma parte de un grupo pequeño de compuestos, manumycinas, que presentan actividades antibióticas, citotóxicas, y otras. Otros ejemplos de este grupo son chinikomycinas A y B (**Figura I.9**) que fueron aislados de los sedimentos de la bahía de Jiaozhou en China. Estos compuestos mostraron actividad moderada contra líneas celulares de cáncer de mama y renal. Las daryamides (**Figura I.9**) también pertenecen a esta familia, las cuales fueron recolectados de sedimentos marinos de la costa de San Diego, California y presentaron citotoxicidad contra líneas celulares de carcinoma de colon humano.¹⁵

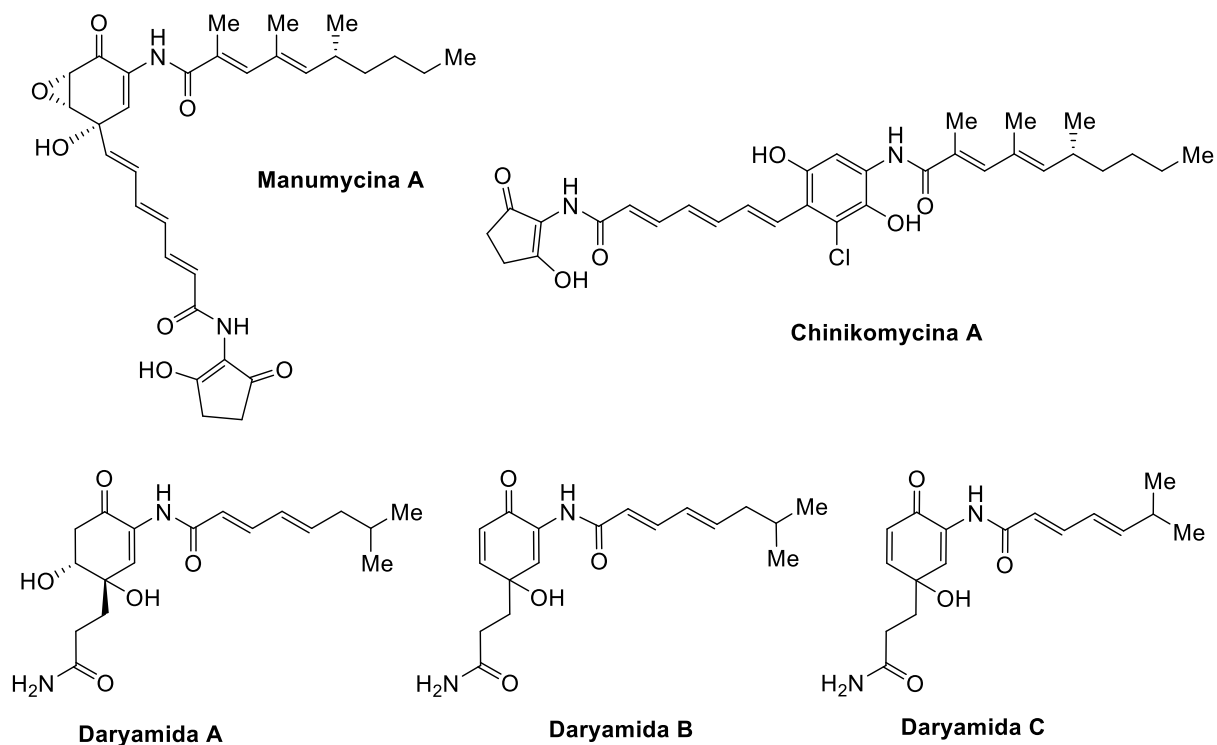


Figura I.9. Estructuras de compuestos de tipo manumycinas.

La selección del producto natural objetivo para la síntesis total por parte del químico orgánico depende de la novedad de su estructura molecular, actividad biológica y escasez natural, entre otros criterios. Así, algunos químicos sintéticos pueden desear utilizar la estructura de la molécula como una oportunidad para descubrir y desarrollar nuevas reacciones para las necesidades no satisfechas de la síntesis orgánica con el fin de construir motivos estructurales inusuales o sensibles. Otros pueden estar interesados en investigar y desarrollar un producto natural biológicamente activo escaso, o una variación del mismo, como una herramienta biológica o un fármaco candidato para su desarrollo como agente clínico para su uso contra enfermedades. Incluso, otros pueden desear emprender una campaña de síntesis total para el desafío intelectual y la pura emoción que proporciona. A estas razones se debe agregar la educación y formación de los jóvenes estudiantes y las habilidades de resolución de problemas que adquieren durante el desarrollo de la síntesis, así como el valor de los descubrimientos realizados.²⁴

1.2.1 Estrategias de síntesis.

Las metodologías en síntesis en química orgánica han ido evolucionando para generar nuevas herramientas para el descubrimiento de fármacos. Se pueden generar desde moléculas individuales a colecciones de compuestos. Cuando uno está frente a una molécula con actividad biológica, se puede desglosar en dos partes. Una parte se trata del esqueleto de la molécula, el cual le confiere la forma en el espacio. La otra parte, se puede hablar de bloques o grupos funcionales que se encuentran unidos al esqueleto y forman un mapa de superficie. En este mapa, se distribuye la densidad electrónica en la superficie de la molécula la cual interacciona directamente con el objetivo biológico. Colectivamente, nos dan una función específica a un blanco específico.

Las estrategias se pueden agrupar por 3 formas en las que pueden ocupar el espacio químico como se puede ver en la **Figura I.10**. Inicialmente, la síntesis total consistía en un proceso orientado a una sola molécula objetivo (**III**). Los químicos sintéticos pueden abordar la síntesis total de productos con una complejidad estructural sin precedentes. Ésto se conoce como una síntesis orientada a objetivo. (TOS, del inglés *target-oriented synthesis*). Estos objetivos suelen ser productos naturales. Utilizando el análisis retrosintético, se puede planificar la ruta sintética desconectando la molécula objetivo en pequeños fragmentos (**I** y **II**) o materiales de partida simples. El propósito de TOS es un punto en el espacio químico que se conoce que posee una actividad biológica determinada. En algunos pocos casos, los productos naturales como tal se registran como fármacos. Todo el proceso de TOS es de naturaleza convergente, a diferencia de la síntesis orientada a la diversidad (DOS, del inglés *diversity-oriented synthesis*) que está diseñada en forma divergente y es una estrategia alternativa a TOS.²⁵

DOS, introducido por primera vez por Schreiber, surgió de la necesidad de explorar compuestos biológicamente activos que cubran una amplia distribución de compuestos en el espacio químico, incluido el espacio actualmente poco poblado (o incluso vacío). Se trata de una táctica para el acceso rápido a bibliotecas de moléculas con énfasis en la diversidad estructural. Desarrolla otros compuestos que no sean a partir de los fármacos ya conocidos o productos naturales, aunque, en

algunos casos los productos naturales le sirven de inspiración en cuanto a motivos subestructurales que pueden insertarse como esqueletos.²⁶

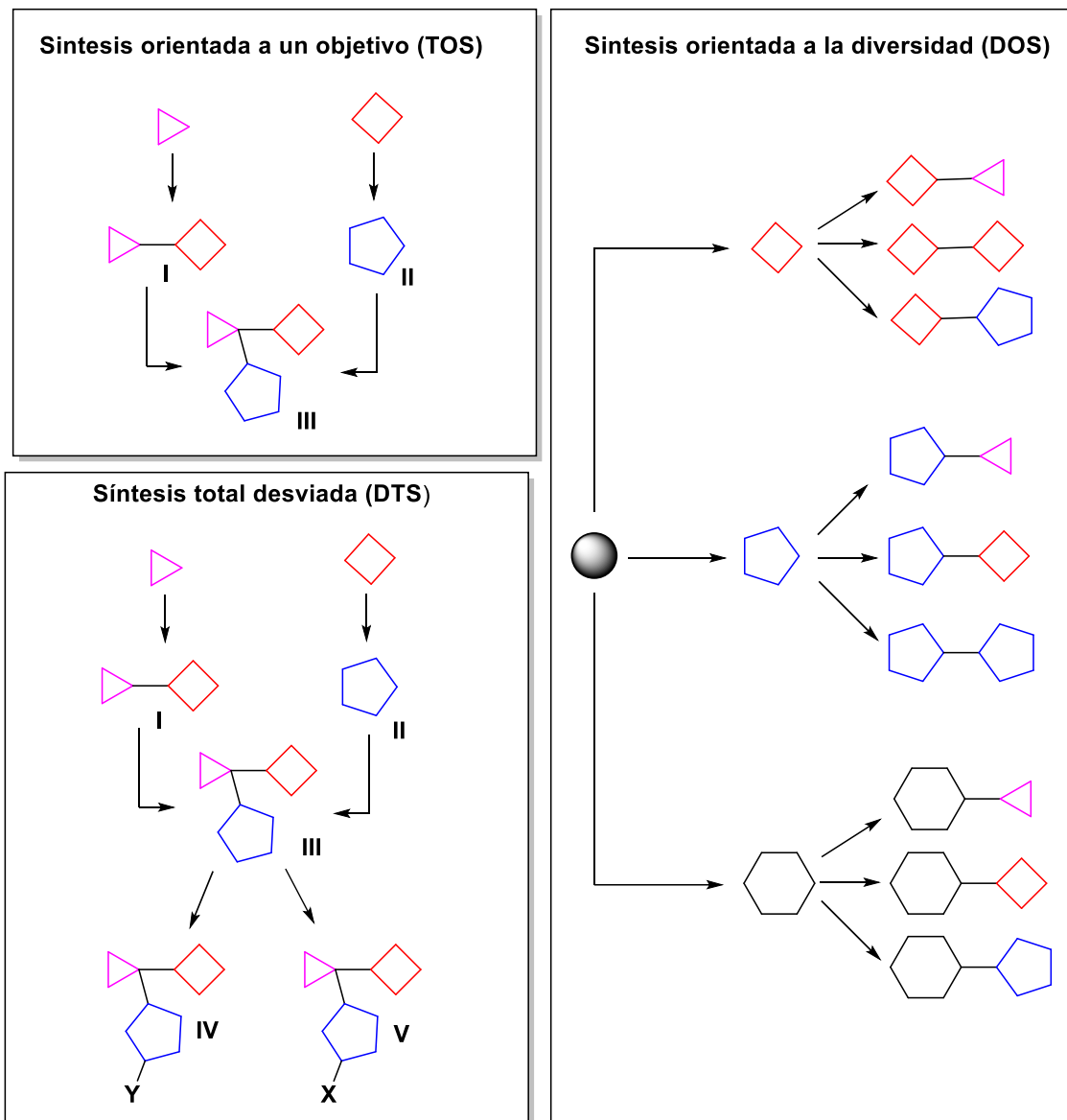


Figura I.10. Diferencias entre TOS, DOS y DTS.

Actualmente, el químico orgánico no busca preparar solo una molécula en particular, sino preparar una molécula y/o una selección de compuestos estructuralmente relacionados. Como consecuencia surge la síntesis total desviada (DTS, del inglés *diverted total synthesis*), que abarca la síntesis orgánica de análogos de productos naturales en lugar del producto natural en sí. Este es un enfoque hacia la preparación de una biblioteca de compuestos similares mediante la

derivatización de un intermediario sintético común y versátil. Tiene como objetivo explorar una región densa del espacio químico en las proximidades de una región precisa conocida por tener propiedades útiles. Un proceso DTS, presenta carácter tanto de TOS como de DOS. El esqueleto (III) ahora se considera como un pseudo-objetivo para la primera síntesis convergente siendo el mismo que en TOS y luego sirve como el punto de partida para DOS y se transforma en una colección de análogos diversos y complejos de productos naturales (IV y V). La planificación debe ser de manera tal que el punto de ramificación, es decir, el intermediario común, tenga una complejidad estructural similar a los compuestos finales para minimizar las transformaciones repetidas necesarias para cada uno de los productos finales.²⁵

1.2.1.1 Síntesis total desviada en el desarrollo de fármacos

El concepto de síntesis total desviada fue introducido por Samuel J. Danishefsky en 2004. En términos generales, se describe la estrategia (**Figura I.11**) iniciando con la ruta de la síntesis total de un producto natural. Una vez alcanzado de manera exitosa un intermediario, que se tratará del punto de ramificación, se procura alcanzar análogos del producto natural. Éstos pueden ser moléculas más complejas o más simples que el producto natural. A menudo, ninguno de estos tipos de estructura se puede alcanzar a partir del producto natural, por razones que surgen de limitaciones químicas. Tampoco es posible llegar por vías metabólicas.²⁷

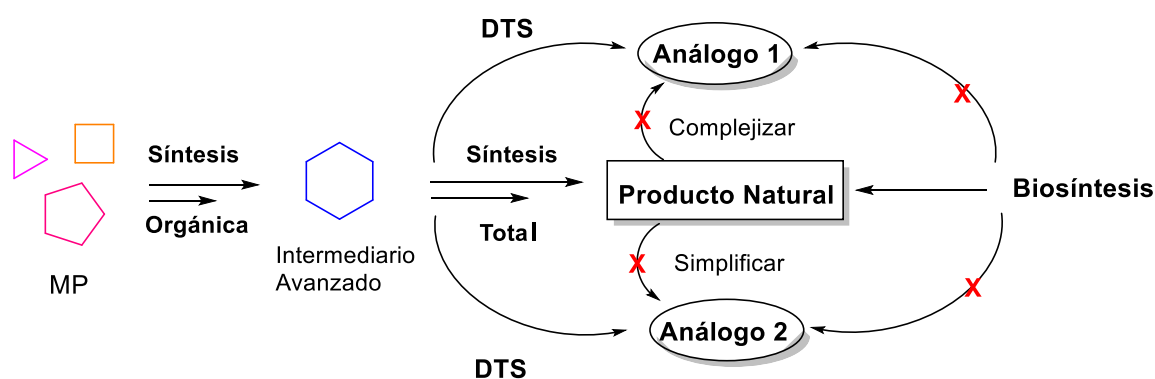


Figura I.11. Síntesis total desviada.

A modo de ejemplo, la síntesis total desviada se ha utilizado en el desarrollo de una serie de candidatos a fármacos basados en productos naturales. Tal es el caso de Migrastatina, un producto natural aislado de la bacteria *Streptomyces sp.*²⁸, su estructura ésta comprendida por un anillo de macrolactona de 14 miembros y se informó que inhibe la migración de células tumorales ofreciendo así un posible medio para inhibir la metástasis. Se demostró que migrastatina y análogos simplificados podrían ser fácilmente sintetizado a partir de un intermedio avanzado común.²⁹ A través de DTS, se prepararon una serie de análogos sintéticos estructuralmente simplificados, muchos de los cuales se encontró que exhiben niveles significativamente más altos de actividad *in vitro* e *in vivo* que el producto natural original (**Figura I.12**).³⁰

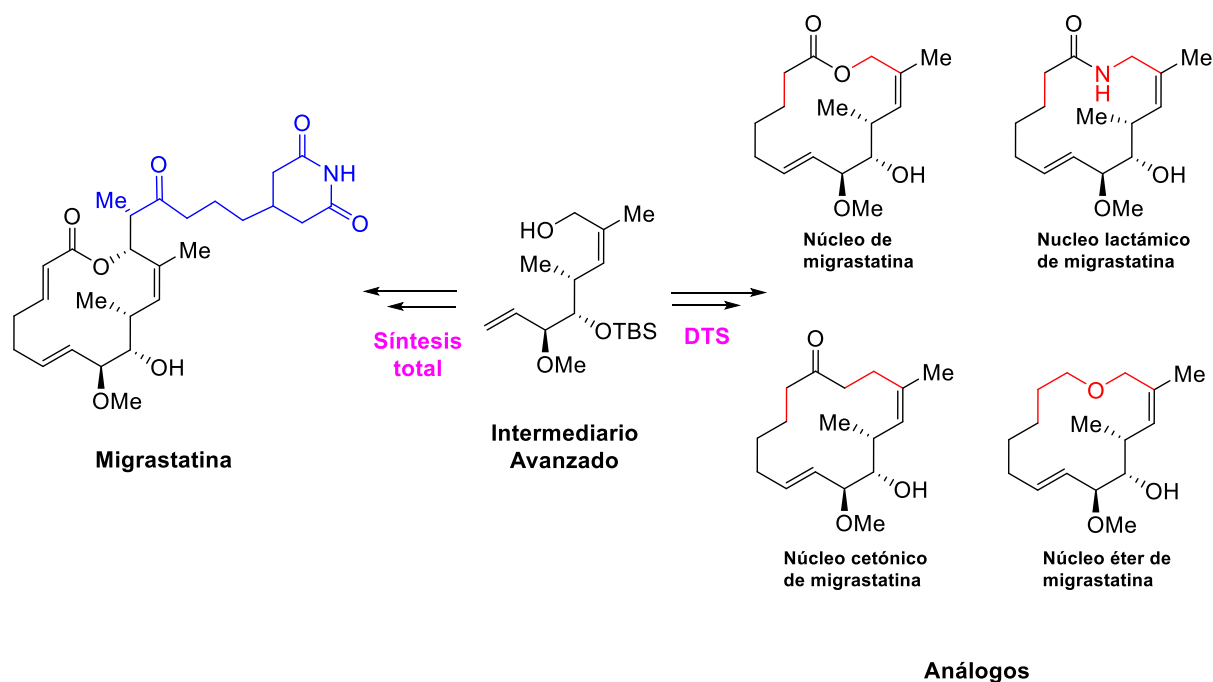


Figura I.12. Comparación esquemática de TOS y DTS de migrastatina y análogos.

En otros casos, la síntesis total desviada ha sido útil para identificar los modos de acción de los productos naturales y fenotipos únicos. Un trabajo reciente de Andrew D. Steele y col.³¹ demostró por DTS el descubrimiento y desarrollo de un nuevo tipo de antibióticos, con un diferente mecanismo de acción que los ya desarrollados con el fin de encontrar una solución a la resistencia a fármacos. A

diferencia de los antibióticos "clásicos" que matan de forma no selectiva a toda una población de bacterias, la interrupción de la captación de hierro ha demostrado ser una estrategia eficaz para reducir el crecimiento y la virulencia de una población bacteriana en particular. Por esta razón, se eligieron baulamycinas, compuestos aislados en 2014 por Sherman y col.³² que demostraron inhibir la adquisición de hierro por parte de las bacterias *in vitro* y debido a que se mostró que la estereoquímica no afectaba la actividad, sirvieron de plataforma ideal para aprovechar la síntesis total desviada (DTS) y comprender mejor el modo de acción biológico. Se llevó a cabo la síntesis total de baulamycinas de forma convergente y a partir de uno de los intermediarios complejos se realizaron ocho análogos diseñados estratégicamente (**Figura I.13**). Seis de los análogos mostraron actividad inhibitoria del crecimiento de la bacteria en estudio, apuntando a un mecanismo alternativo.

La síntesis también es una herramienta valiosa para la modificación sistemática de productos naturales para estudiar aspectos de los mecanismos de acción biológica. El poder de la síntesis química se manifiesta en la capacidad para modificar la estructura a voluntad. Su implementación, cuando se combina con diseño innovador, permite sacar conclusiones en mecanismos que pueden ser decisivos para diferenciar y validar hipótesis biológicas a nivel molecular.

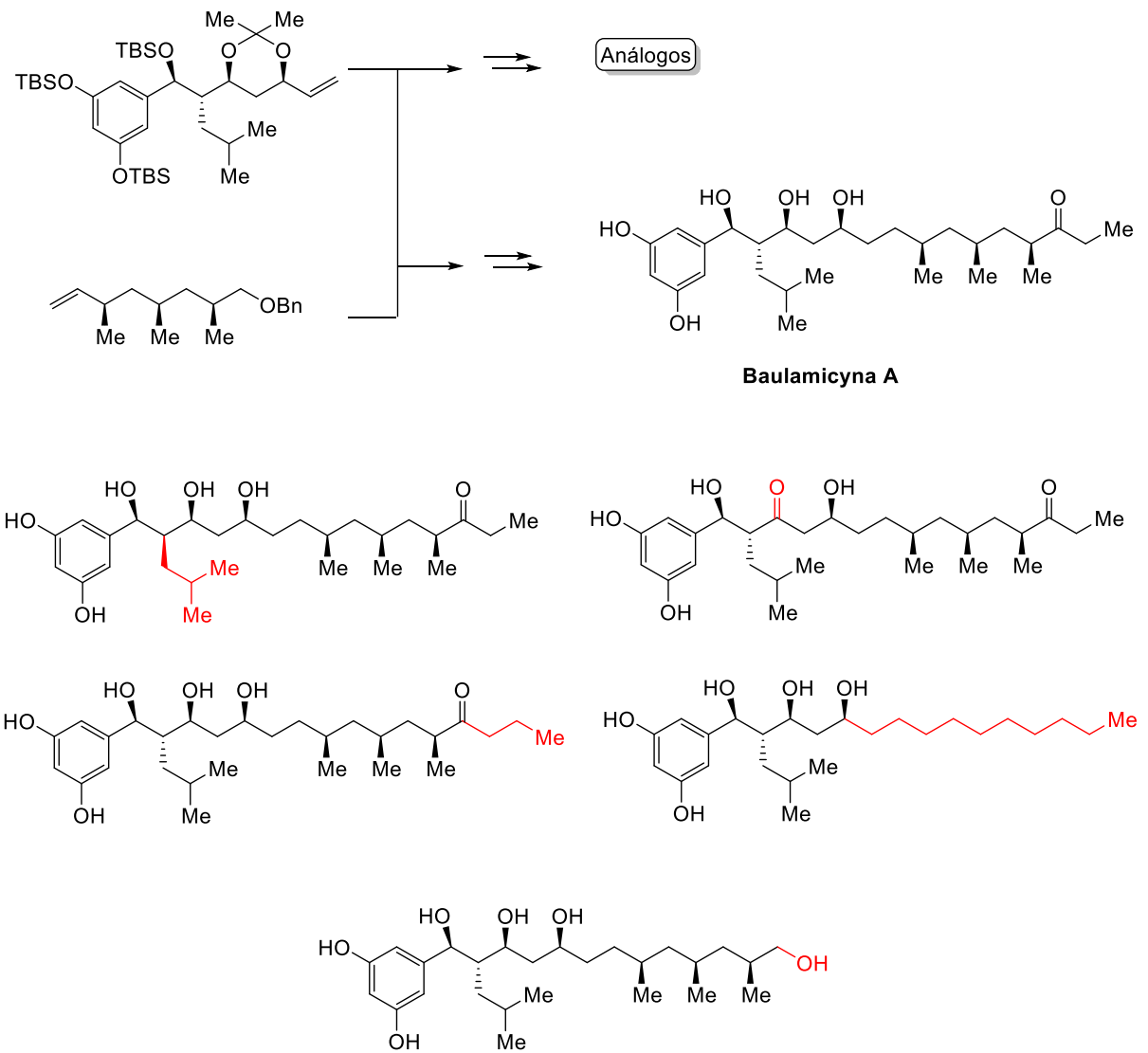


Figura I.13. Síntesis de Baulamicyna A y análogos.

Capítulo II: Objetivos y Planeamiento de Trabajo

Capítulo II: Objetivos y Planeamiento de Trabajo

II.1 Objetivos generales

Se tratará de adquirir las destrezas para el trabajo en un laboratorio de química orgánica de síntesis por medio de la exploración y el desarrollo de una ruta sintética dirigida a la obtención de moléculas complejas, interesantes y desafiantes que se encuentran en la naturaleza, así como también, estructuras relacionadas para formar pequeñas familias con el fin de aumentar la diversidad y acceder a nuevas entidades líder.

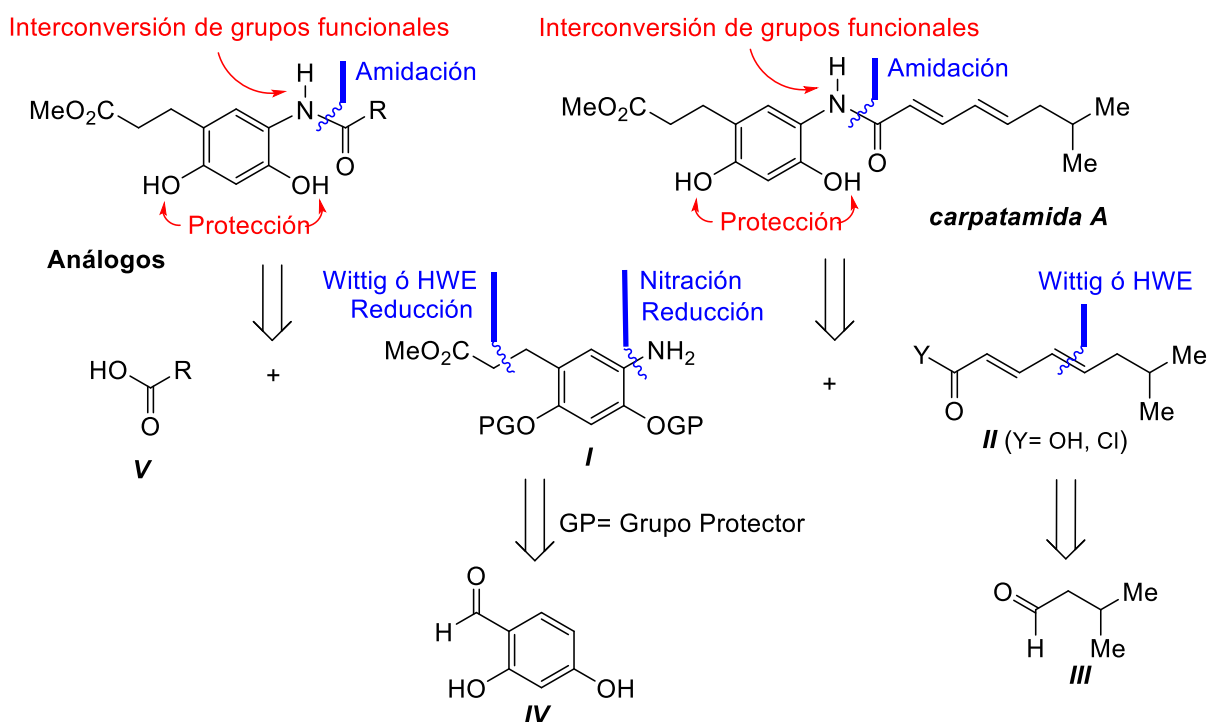
II.2 Objetivos específicos

Para este Trabajo Final se proponen los siguientes objetivos específicos:

- ❖ Desarrollar la síntesis total del producto natural carpatamida A de acuerdo con el análisis retrosintético planteado (**Esquema II.1**) a través de una síntesis convergente de múltiples etapas.
- ❖ Bajo la hipótesis de que la cadena lateral de ácido graso que caracteriza a estos productos naturales puede modular la actividad citotóxica de las carpatamidas, se plantea sintetizar una serie de análogos de carpatamida A modificando dicha cadena.
- ❖ Como objetivo final, se pretende determinar la actividad citotóxica tanto del producto natural como de los análogos, para poder realizar estudios de estructura-actividad.

II.3 Planeamiento de Trabajo

Según los lineamientos que surgen del análisis retrosintético de carpatamida A, la misma podría obtenerse mediante una secuencia convergente, en la cual, uno de los últimos pasos correspondería a la amidación entre la anilina proveniente de la reducción del nitroderivado (**I**) y el ácido graso insaturado (**II**). En esta etapa se podrían obtener los análogos reemplazando **II** por distintos ácidos carboxílicos (**V**), con diferente largo de cadena y grado de insaturación (**Esquema II.1**).



Esquema II.1 Análisis retrosintético de carpatamida A y análogos.

A su vez, teniendo en cuenta las desconexiones C-C y C-N del intermediario (**I**), el mismo podría surgir de 2,4-dihidroxibenzaldehído mediante reacciones de nitración, protección de fenoles, olefinación de tipo Wittig o Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) y reducción. Por otro lado, la desconexión C=C del intermediario (**II**) sugiere que el mismo podría provenir de una olefinación de tipo Wittig o HWE entre isovaleraldehído y el fosforano o fosfonato proveniente del 4-bromocrotonato de metilo respectivamente.

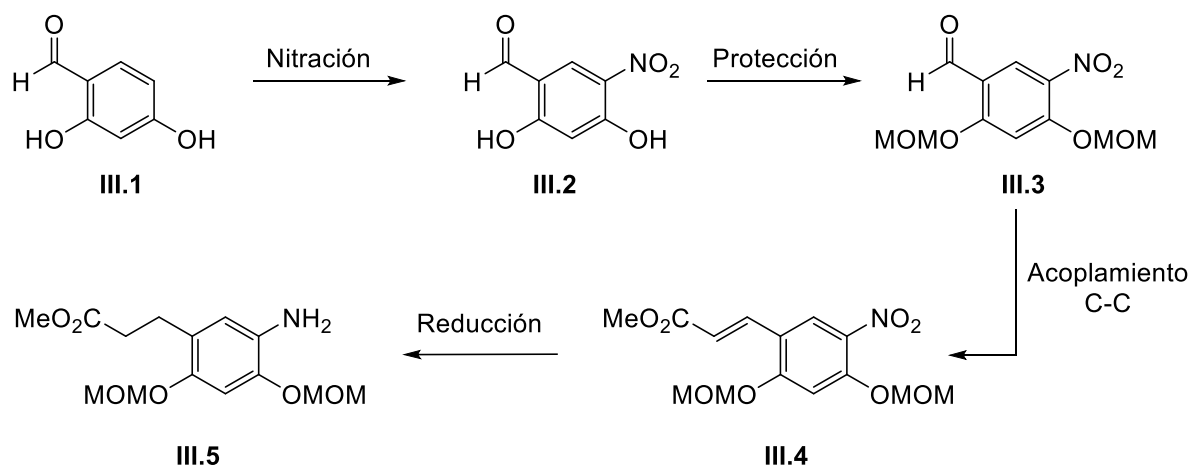
Capítulo III: Resultados y Discusión

Capítulo III: Resultados y Discusión

III.1 Estudios sintéticos dirigidos hacia carpatamida A

III.1.1 Síntesis de 3-[5-amino-2,4-bis(metoximetoxi)fenil] propanoato de metilo (III.5) a partir de 2,4-dihidroxibenzaldehído (III.1)

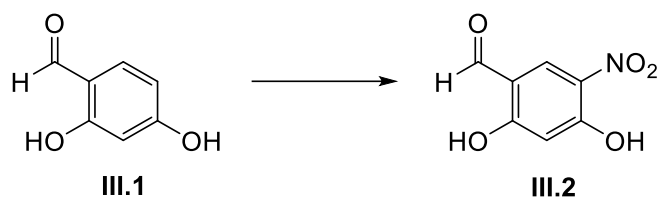
De acuerdo al análisis retró sintético planteado en el **Esquema II.1**, se realizó la síntesis de la porción aromática (**III.5**) en 4 etapas. Comenzó con la nitración de 2,4-dihidroxibenzaldehído (**III.1**) seguido de la protección de los grupos fenoles como metoximetil éteres (MOM), posterior olefinación de tipo Wittig o HWE sobre el aldehído y por último una reducción de la olefina y del grupo nitro de **III.4** en un solo paso para dar el intermediario avanzado (**III.5**).



Esquema III.1 Propuesta sintética realizada dirigida hacia la porción aromática de carpatamida A.

El primer paso consistió en la nitración de 2,4 dihidroxibenzaldehído (**III.1**) obtenido de forma comercial. En una primera instancia se utilizó HNO₃ concentrado en AcOH glacial a reflujo, generando un 19% del producto deseado **III.2**.³³

Debido al bajo rendimiento obtenido, se probó una variante de este protocolo que consistió en el agregado de MeCN para mejorar la solubilidad del material de partida (**Esquema III.2**). Este cambio permitió aumentar el rendimiento de la reacción al 41% en 20 h.



Esquema III.2. *Reactivos y condiciones:* HNO₃ cc, AcOH glacial, MeCN, 0°C → reflujo, 20 h (41%).

El producto de reacción purificado fue caracterizado por estudios espectroscópicos (**Figura III.1**). En el espectro de RMN de ¹H las señales de protones aromáticos fueron concluyentes, observándose el cambio de un doblete en el material de partida a un singlete con un desplazamiento químico de 8,47 ppm del protón vecino al aldehído, además de la desaparición de la señal del H-5.

En el espectro de RMN de ¹³C se determinó la presencia de un carbono cuaternario que presentó un desplazamiento químico correspondiente a un carbono unido a nitrógeno del grupo nitro a 127,9 ppm.

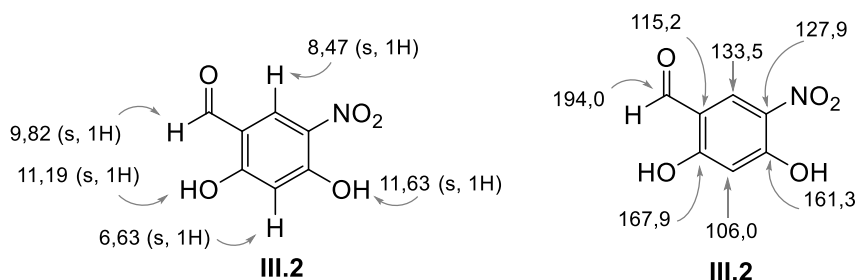
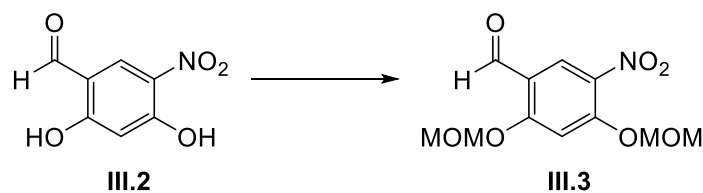


Figura III.1. Asignación de las señales de RMN de ¹H y de ¹³C de **III.2**.

Una vez obtenido el nitroderivado (**III.2**), se procedió a la protección de los grupos fenoles libres como metoximetil éteres utilizando clorometil metil éter (MOMCl), DIPEA como base, DMAP, NaI en cantidades catalíticas y CH₃Cl como solvente (**Esquema III.3**). Se eligió el uso de este grupo protector puesto que soporta las condiciones de las reacciones posteriores de HWE, reducción de grupos funcionales y amidación. Además, protectores como acetales o éteres de bencilo podrían hidrolizarse.³⁴ En una primera instancia, se alcanzó un 37% del producto protegido **III.3**.



Esquema III.3. *Reactivos y condiciones:* MOMCl, DIPEA, DMAP, CHCl₃, 0°C → t.a, 4 h (85%).

El bajo rendimiento de esta reacción podría deberse a una descomposición parcial del MOMCl, el cual es muy sensible a la humedad. Se decidió realizar una preparación fresca de MOMCl previamente a ser utilizado a partir de dimetoximetano, cloruro de etanoilo y bromuro de zinc en tolueno. Utilizando esta preparación de MOMCl, se obtuvo un rendimiento del 85% de **III.3**.³⁵

En los espectros de RMN de ¹H y ¹³C se evidenció que el producto era el esperado (**Figura III.2**). En el espectro de RMN de ¹H se observó la aparición de las señales de la porción metoximetoxi de los grupos protectores mostrando un singlete a 3,55 ppm que integra para los 6 protones metílicos (-OCH₂OCH₃) y dos singletes que integran cada uno para 2 protones metilénicos (-OCH₂OCH₃) a 5,36 y 5,37 ppm, en tanto que en el espectro de RMN de ¹³C las señales de estos grupos se encuentran a 57,0 y 57,1 ppm los carbonos primarios de metilo y a 95,0 y 95,3 ppm los carbonos secundarios de grupo metileno.

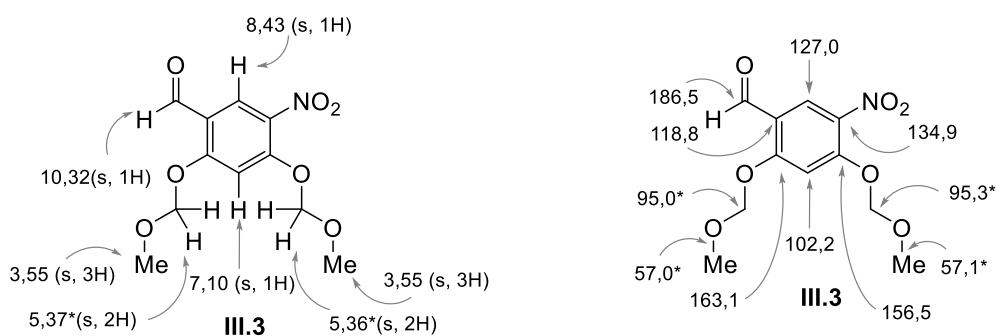


Figura III.2. Asignación de las señales de RMN de ¹H y de ¹³C para el compuesto **III.3**.

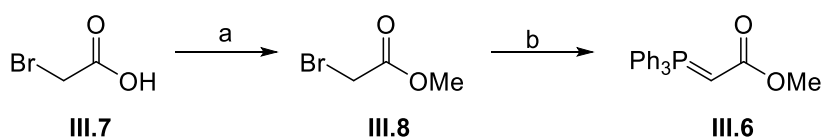
La secuencia prosiguió con una olefinación sobre el grupo aldehído de **III.3**. Para tal fin, en una primera instancia la reacción se llevó a cabo bajo las condiciones de HWE utilizando fosfonoacetato de trimetilo, NaH como base y THF como solvente, generando así un 50% de **III.4** (**Esquema III.4**).³⁶



Esquema III.4. *Reactivos y condiciones:* NaH, fosfonoacetato de trimetilo, THF, t.a, 18 h (50%) ó $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$ (**III.6**), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{tolueno}$, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{t.a}$, 18 h (92%).

No conformes con ese resultado, se decidió estudiar la reacción bajo condiciones de Wittig con el propósito de seleccionar aquellas condiciones que permitan obtener el mejor rendimiento del éster **III.4**.

Para esta última reacción fue necesario previamente sintetizar el fosforano **III.6**. La síntesis se realizó en 2 pasos como se observa en el **Esquema III.5**. El primero de ellos involucró la esterificación del ácido bromoacético mediante el uso de MeOH, y H_2SO_4 cc en tolueno a 90°C para generar el éster metílico **III.8**. El último paso se trató de la reacción de **III.8** con PPh_3 en tolueno, y luego con NaOH en agua para acceder así a un 60% del fosforano deseado **III.6**.³⁷



Esquema III.5. *Reactivos y condiciones:* a) MeOH, H_2SO_4 cc, tolueno, 90°C , 2h; b) 1. PPh_3 , tolueno, t.a, 18 h; 2. NaOH, H_2O (60%, 2 pasos).

Una vez obtenido el (trifenilfosforaniliden)acetato de metilo (**III.6**), se utilizó en la reacción de Wittig sobre el aldehído **III.3**, en una mezcla de $\text{CHCl}_3/\text{tolueno}$ como solvente a temperatura ambiente. Bajo estas condiciones, se generó exitosamente un 92% del éster **III.4**.³⁸

El producto obtenido **III.4** se caracterizó por espectroscopia IR y RMN. El espectro IR mostró la desaparición de la señal de que correspondía al estiramiento C–H del aldehído a 3100 cm^{-1} . En el espectro de RMN de ^1H , se observó la aparición de la señal correspondiente a protones vinílicos, como dos dobletes uno a 6,49 ppm y otro a 7,88 ppm con constante de acoplamiento $J = 16,2\text{ Hz}$ lo cual indica la obtención del isómero trans. Además, se observó la aparición de un singlete perteneciente a los protones metílicos del grupo éster a 3,81 ppm (**Figura III.3**).

En el espectro de RMN de ^{13}C se visualizó la aparición de los carbonos del grupo vinilo a 119,2 y 137,4 ppm y el carbono primario perteneciente al nuevo metilo del grupo éster a 51,7 ppm. También se observó la desaparición del carbono carbonílico de aldehído a 186,5 ppm y la aparición de carbono carbonílico de éster a 167,3 ppm.

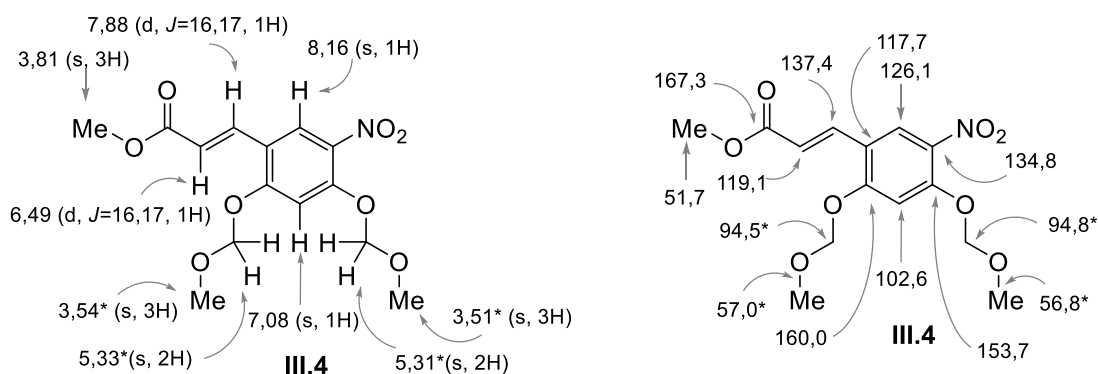
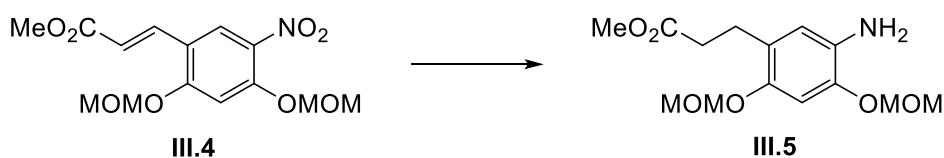


Figura III.3. Asignación de las señales de RMN de ^1H y de ^{13}C para el compuesto III.4.

Para finalizar la síntesis del intermediario aromático, se realizó en un solo paso la reducción de la olefina y del grupo nitro con trietilsilano y bajo catálisis de Pd/C, en un solvente alcohólico como MeOH, el cual proporcionó con un 84% de rendimiento el intermediario avanzado III.5 clave para la síntesis total (**Esquema III.6**).³⁹



Esquema III.6. Reactivos y condiciones: Pd/C, TES, MeOH, t.a, 90 min (84%).

El análisis espectroscópico realizado en la caracterización de la anilina III.5 evidencia, en primera instancia en el espectro IR, la presencia de una banda a 3458-3361 cm^{-1} asignada a la tensión N-H de amina primaria. En el espectro de RMN de ^1H se observó la desaparición de los protones vinílicos y la aparición de los protones de los grupos metileno como tripletes a 2,49 y 2,76 ppm con una constante de acoplamiento de $J = 7,8$ Hz (**Figura III.4**).

El espectro de RMN de ^{13}C mostró el cambio de los carbonos vinílicos a 119,1 y 137,4 ppm a carbonos secundarios de grupos metilenos con un desplazamiento químico de 24,5 y 33,5 ppm.

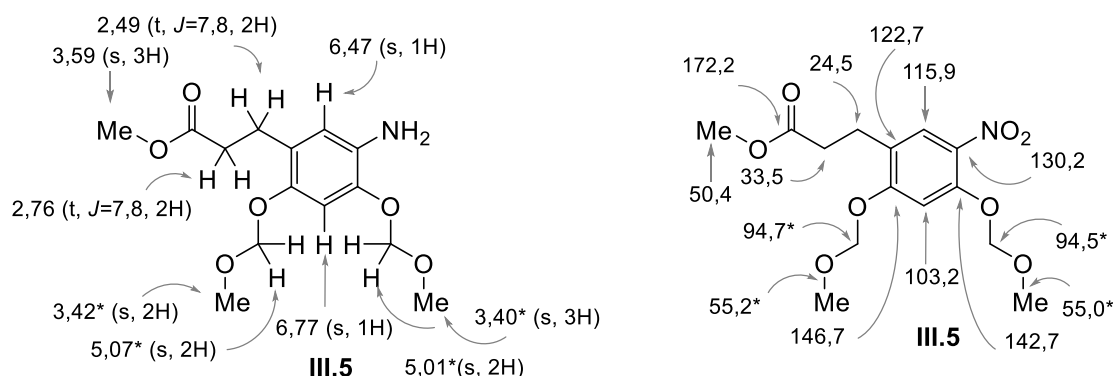
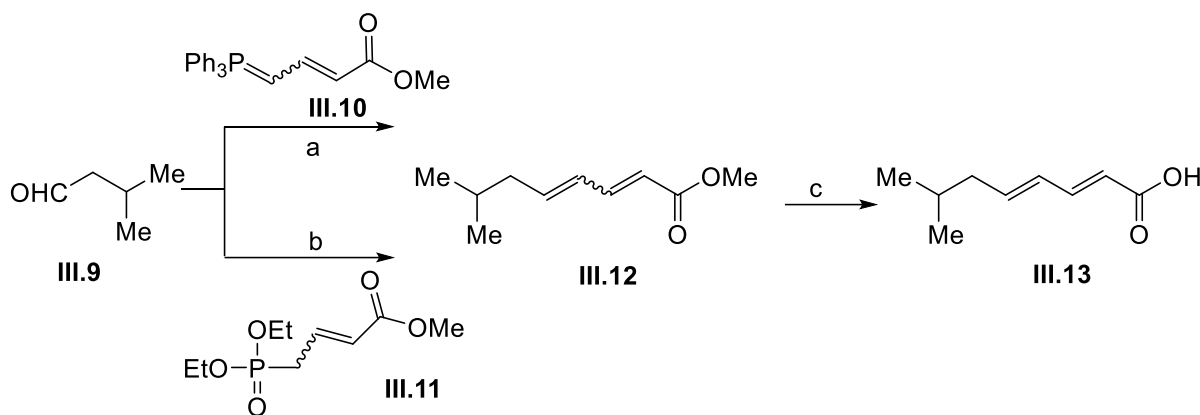


Figura III.4. Asignación de las señales de RMN de ^1H y de ^{13}C para el compuesto III.5.

III.1.2 Síntesis del ácido (2E,4E)-7-metilocta-2,4-dienoico (III.13) a partir de isovaleraldehído

En esta etapa se abordó la síntesis del ácido insaturado III.13 necesario para formar el grupo amida de la molécula objetivo.

La síntesis del ácido insaturado comenzó con una olefinación de Wittig entre isovaleraldehído (III.9) y el fosforano correspondiente III.10. En primer lugar, se sintetizó el fosforano por reacción de 4-bromocrotonato de metilo con trifenilfosfina en tolueno durante una noche y posterior tratamiento con Na_2CO_3 acuoso. De esta manera se obtuvo un 59% de III.10. A continuación, isovaleraldehído fue sometido a una olefinación de Wittig con III.10 en CH_2Cl_2 durante 2 h a temperatura ambiente dando como resultado un 50% del éster III.12 como una mezcla de isómeros (Esquema III.7).⁴⁰



Esquema III.7. Reactivos y condiciones: a) CH_2Cl_2 , 2 h, t a. (50%); b) $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$, THF, TM, 70°C , 18 h (24%); c) NaOH , THF, t a, 18 h (88%).

El análisis espectroscópico confirmó la formación del éster **III.12**. Se asignó en el espectro de RMN de ^1H los protones vinílicos de las dos insaturaciones como un doblete que integra para un protón a 5,78 ppm con $J = 15,5$ Hz, un multiplete que integra para dos protones a 6,03-6,20 ppm y un multiplete que integra para un protón a 7,21-7,30 ppm (**Figura III.5**). Además, se evidenció un singlete a 3,72 ppm atribuible a los protones metílicos del grupo éster. En tanto que, en el espectro de RMN de ^{13}C los carbonos vinílicos aparecieron a un desplazamiento químico de 118,7, 129,3, 143,5 y 145,2 ppm, el carbono primario y carbono carbonílico del grupo éster a 51,4 y 167,7 respectivamente.

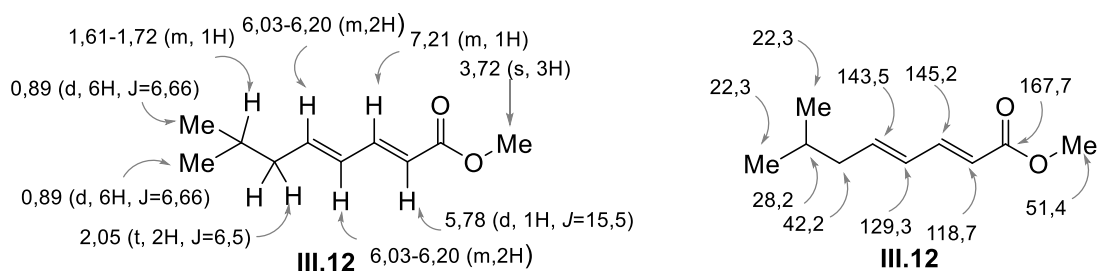


Figura III.5. Asignación de las señales de RMN de ^1H y de ^{13}C para el compuesto **III.12**.

Desafortunadamente, dicha reacción generó una mezcla de productos difícil de purificar, haciendo este protocolo poco práctico para llevar a cabo, por lo cual se decidió probar una alternativa. La misma consistió en la olefinación de HWE promovida por LiOH entre isovaleraldehído (**III.9**) y dietil-4-fosfonocrotonato de metilo (**III.11**). Para ello, previamente, fue necesario preparar el fosfonato **III.11** por reacción de 4-bromocrotonato de metilo y $\text{P}(\text{OEt})_3$ a reflujo durante 2h.⁴¹

Seguidamente, **III.11** sin purificar se sometió a la olefinación junto con isovaleraldehído (**III.9**) a reflujo para obtener el éster **III.12** con un 24% de rendimiento. Se repitió la reacción aumentando la cantidad de equivalentes de **III.11** y base, pero mostró resultados desfavorables dando 10% de **III.12**.⁴² A continuación, el éster (**III.12**) fue tratado con NaOH en THF durante 1 noche para lograr la hidrólisis e isomerización del mismo y obtener así un 88% del ácido *E,E*-(**III.13**).⁴³

Se efectuó la correspondiente caracterización del compuesto **III.13** por IR y RMN. En el espectro IR se observó la aparición de la señal de que correspondería al estiramiento O–H del ácido carboxílico a 3400-2400 cm⁻¹. El espectro de RMN de ¹H mostró la desaparición del singlete a 3,72 ppm correspondiente al metilo del grupo éster. Lo mismo ocurrió en el espectro de RMN de ¹³C con la señal del metilo que aparecía a 51,4 ppm (**Figura III.6**).

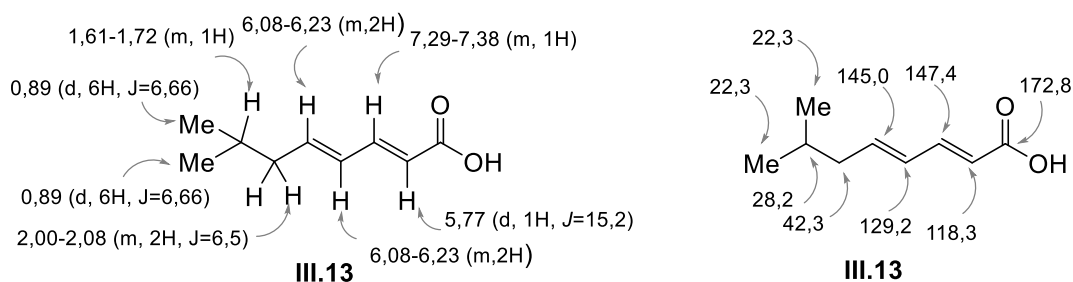
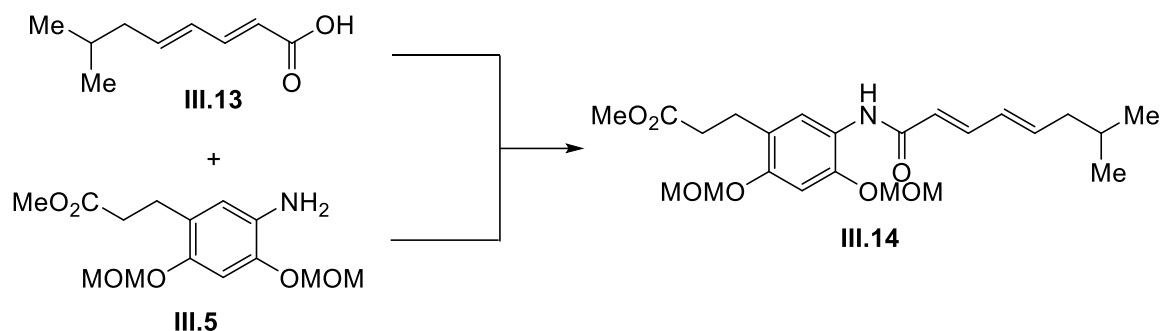


Figura III.6. Asignación de las señales de RMN de ¹H y de ¹³C para el compuesto **III.13**.

III.1.3 Hacia intermediarios avanzados en la síntesis total de carpatamida A

En esta instancia, en primer lugar, se llevó a cabo la reacción de formación de la amida desde la anilina sintetizada **III.5** y el ácido **III.13** utilizando POCl₃ como agente activante, piridina como base, DMF catalítico y CH₂Cl₂ como solvente. En estas condiciones se obtuvo un 39% de rendimiento de la amida **III.14** (**Esquema III.8**).⁴⁴



Esquema III.8. Reactivos y condiciones: POCl₃, piridina, DMF cat, CH₂Cl₂, 22 h, t.a, (39%).

Tras efectuar la amidación y purificación del compuesto, se realizó la caracterización espectroscópica correspondiente. El espectro de RMN de ¹H evidenció los patrones correspondientes a la porción aromática y a la cadena lateral insaturada. Se visualizó la señal de un singlete a 7,60 ppm correspondiente al protón de amida y el corrimiento del singlete de uno de los protones aromáticos vecino al grupo amina de 6,77 ppm a 8,26 ppm (**Figura III.7**).

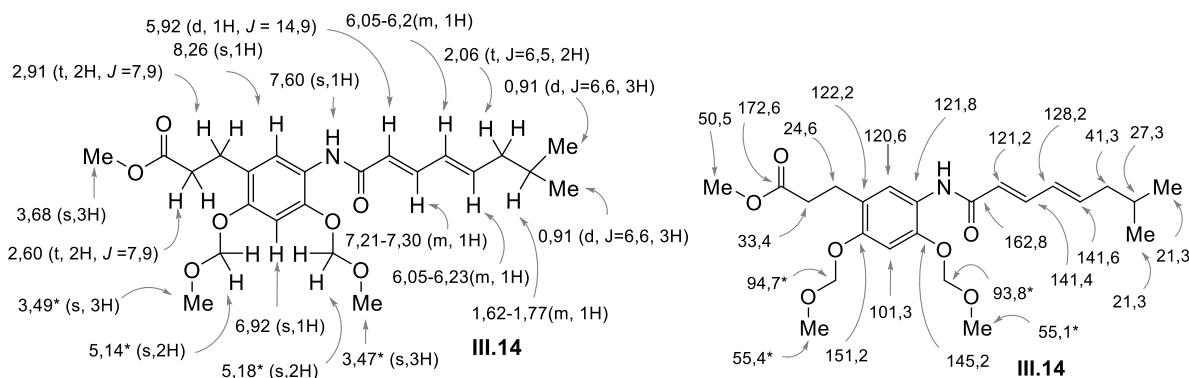


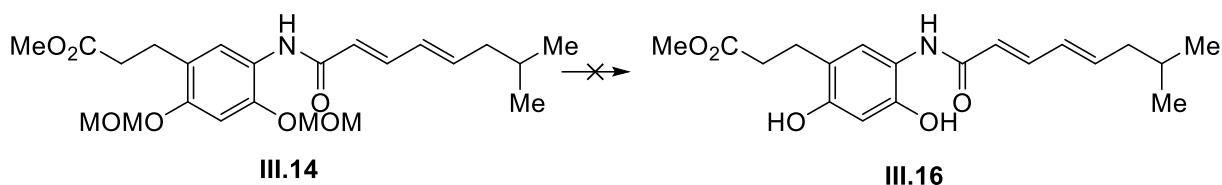
Figura III.7 Asignación de las señales de RMN de ¹H y ¹³C para el compuesto **III.14**.

A continuación, como se contaba con una escasa cantidad del compuesto **III.14** y bajo la hipótesis de que la desprotección requería condiciones suaves de hidrolisis debido a que la molécula está altamente funcionalizada, se probaron condiciones de reacción usando como modelo uno de los intermediarios del núcleo aromático (**III.4**) como se puede ver en el **Esquema III.9**. Se encontró en la literatura que la mencionada desprotección se podía llevar a cabo mediante el uso de Amberlyst-15 en CH₂Cl₂ a temperatura ambiente. Bajo estas condiciones se obtuvo el producto desprotegido **III.15** con un 83% de rendimiento.⁴⁵



Esquema III.9. *Reactivos y condiciones:* Amberlyst-15, CH₂Cl₂, t.a. 48 h (83%).

Teniendo en cuenta el buen resultado obtenido con el modelo, se decidió aplicar las mismas condiciones al intermediario **III.14**. Sin embargo, en este caso, aún luego de incrementar las cantidades de reactivos y el tiempo de reacción, no se obtuvo el producto deseado, observándose en cambio, productos de descomposición (**Esquema III.10**).

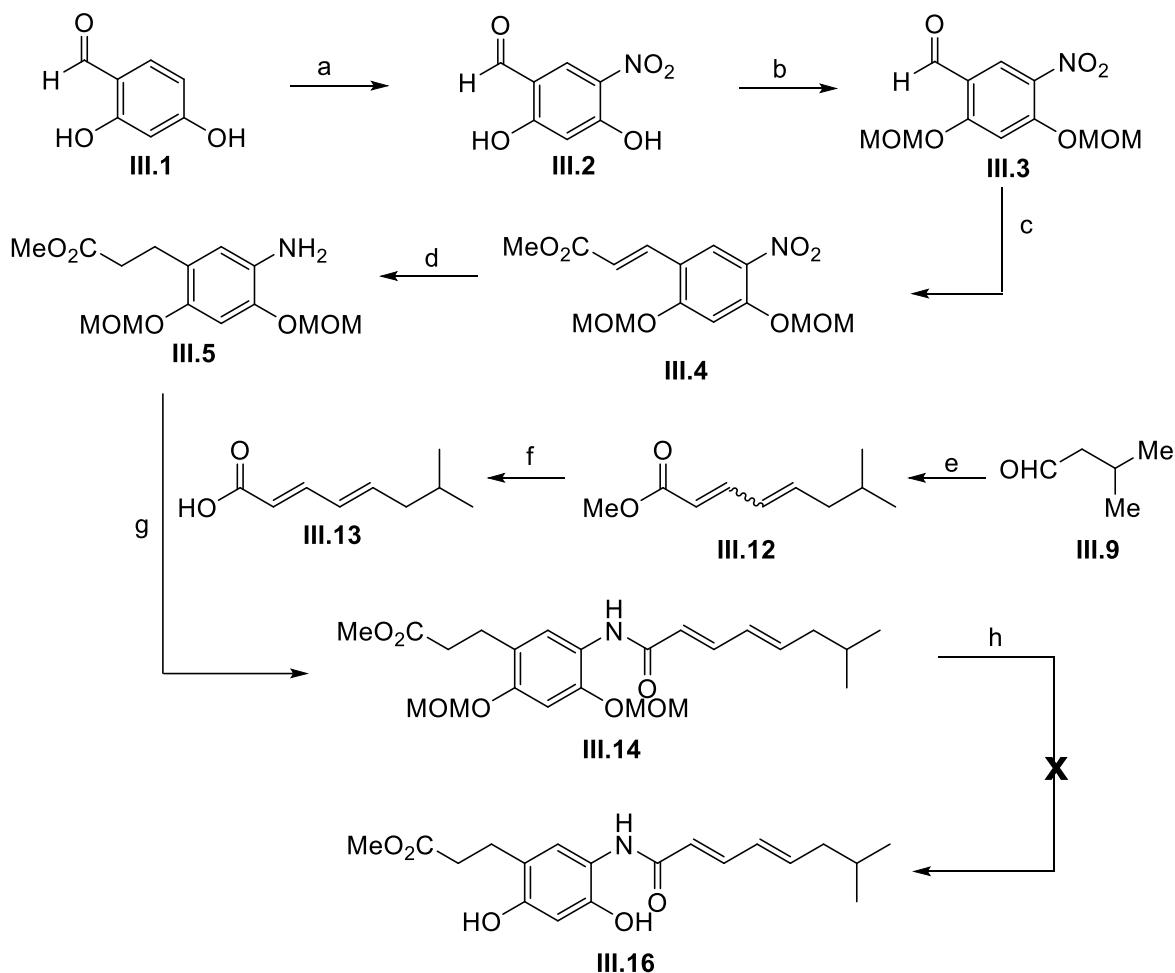


Esquema III.10 *Reactivos y condiciones:* Amberlyst-15, CH₂Cl₂, 96 h, t.a. ó NaHSO₄.SiO₂, H₂O, 96 h, t.a.

Se buscaron otras condiciones suaves y se encontró un procedimiento basado en el uso de NaHSO₄.SiO₂ como un catalizador heterogéneo en CH₂Cl₂ como solvente y a temperatura ambiente. El catalizador fue previamente sintetizado utilizando NaHSO₄.H₂O en H₂O como solvente al cual se le agrega SiO₂ y es calentado hasta obtener el sólido.⁴⁶ Este protocolo se llevó a cabo sobre el compuesto **III.14** y tampoco en este caso se observó la formación del producto de interés.⁴⁷

Los intentos de desprotección acabaron con el material de partida y además desafortunadamente, una publicación concomitante a este trabajo consignó las síntesis totales de las carpatamidas A-D, mediante una estrategia sintética extraordinariamente muy similar a la que estaba desarrollando en el Laboratorio.^{48,19} Este hecho, sin embargo, no hizo otra cosa que poner en evidencia la competitividad de los objetivos sintéticos buscados y la calidad de los análisis retrosintéticos empleados.

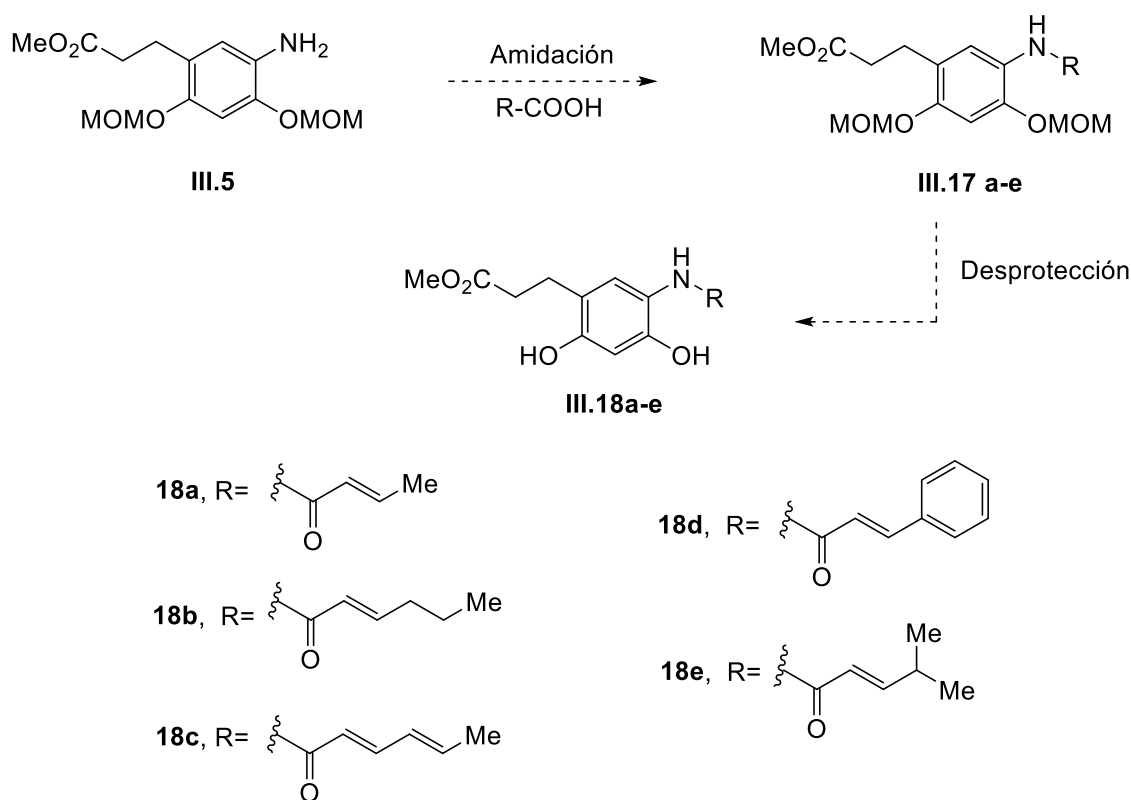
En base a los conocimientos experimentales adquiridos al conseguir la síntesis formal de carpatamida A hasta la *N*-fenilamida protegida **III.14** (Esquema III.11) y a la eventual posibilidad de modificar fácilmente su funcionalidad, se propuso sintetizar análogos de carpatamida A modificando la cadena lateral.



Esquema III.11 *Reactivos y condiciones:* a) HNO_3 cc, AcOH glacial, MeCN, $0^\circ\text{C} \rightarrow$ reflujo, 20 h (41%); b) MOMCl, DIPEA, DMAP, CHCl_3 , $0^\circ\text{C} \rightarrow$ t.a., 4 h (85%); c) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$ (**III.6**), $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{tolueno}$, $0^\circ\text{C} \rightarrow$ t.a., 18 h (92%); d) Pd/C, TES, MeOH, t.a., 90 min (84%) e) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCH}=\text{CHCO}_2\text{Me}$ (**II.10**) CH_2Cl_2 , 2 h, t.a. (50%); f) NaOH, THF, t.a., 18 h (88%) g) POCl_3 , piridina, DMF cat, CH_2Cl_2 , 22 h, t.a. (39%) h) Ambelyst-15, CH_2Cl_2 , 96 h, t.a. ó $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{SiO}_2$, H_2O , 96 h, t.a.

III.2 Síntesis de análogos de carpatamida A

De acuerdo con el análisis retrosintético planteado para carpatamida A, en el último paso correspondiente a la amidación entre la anilina proveniente de la reducción y el ácido graso insaturado, se pudieron obtener análogos del producto natural reemplazando el ácido graso insaturado por distintos ácidos carboxílicos comerciales, con diferentes largos de cadena y grado de insaturación (**Esquema III.12**).



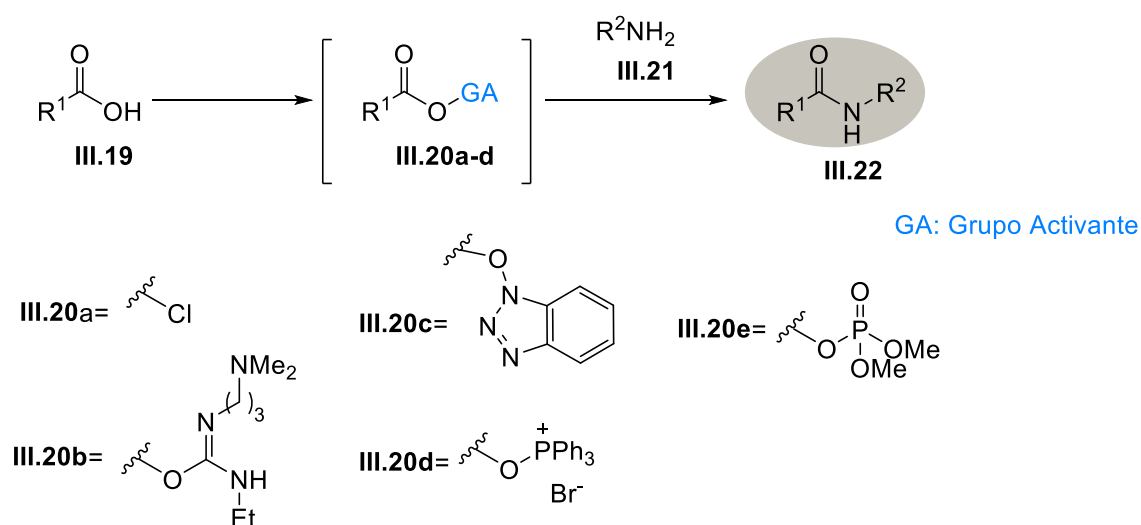
Esquema III.12 Propuesta sintética dirigida hacia análogos de carpatamida A.

III.2.1 Optimización de la reacción de amidación

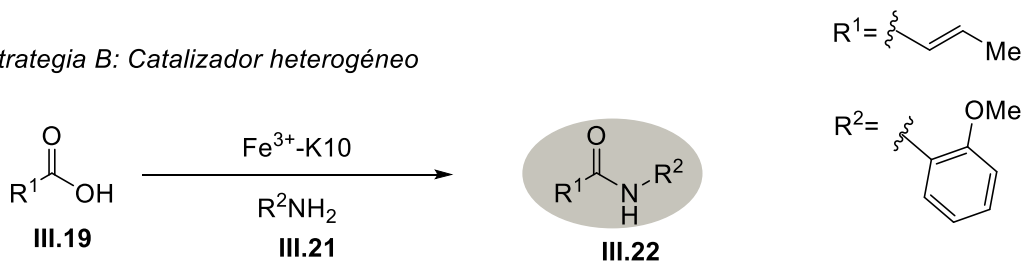
En la síntesis de carpatamida A, la reacción de amidación se puede considerar el paso clave de la ruta sintética. A fin de establecer las condiciones de reacción más favorables y mejorar el rendimiento de esta transformación en la incorporación de los distintos grupos de *N*-acilo de los análogos **18a-e**, se efectuaron diferentes ensayos.

Formalmente, el enlace amida se forma a través de la condensación de un ácido carboxílico y una amina, pero resulta una opción poco adecuada en la síntesis química, ya que compite el intercambio de protones en una reacción ácido-base. Convencionalmente, las amidas α - β insaturadas son preparadas por sustitución nucleofílica de los correspondientes derivados de ácidos carboxílicos activados con aminas. En base a esto se llevaron a cabo distintas estrategias de amidación (**Esquema III.13**).⁴⁹

Estrategia A: Activación del ácido carboxílico.



Estrategia B: Catalizador heterogéneo



Esquema III.13 Estrategias para la reacción de amidación.

La estrategia más frecuente es convertir el ácido en una forma activa más eficiente (Estrategia A). Se plantearon diferentes formas de activación del ácido **III.19**. En primer lugar, se planeó generar el cloruro de ácido **III.20a** con POCl_3 para aumentar su reactividad. La formación del cloruro de ácido es una opción ampliamente estudiada, pero presenta los inconvenientes de ser susceptible a hidrólisis, escisión de grupos funcionales y la posibilidad de tener reacciones secundarias a la esperada. En segundo lugar, se propuso activar mediante el uso de

un agente acoplante como una carbodiimida, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDCI) formando de esta manera la *o*-acilisourea **III.20b**, altamente reactiva que luego reacciona con la amina correspondiente **III.21**. Las *o*-acilisoureas se encuentran entre los intermediarios más activos para el acoplamiento de las amidas. La activación con EDCI tiene la desventaja de la formación de subproductos. Si el intermediario reacciona con una molécula de ácido adicional se produce primero el anhídrido de ácido que acto seguido forma la amida deseada (**III.22**) haciendo más lenta la reacción. Además, se generan productos indeseados, debido a un reordenamiento de la *o*-acilisourea a una *n*-acilurea estable.

También se abordó el agregado de catalizadores como HOBt que forman rápidamente un intermediario altamente reactivo (**III.20c**) ó DMAP y el uso de una base para ayudar en la ionización del ácido y evitar reacciones competitivas. Por otra parte, se propuso convertir el ácido en un iminofosforano (**III.20d**) por medio de una *N*-halosuccinimida, NBS, en combinación con trifenilfosfina. Por último, una activación del ácido mediante la formación de un anhídrido mixto (**III.21e**) con fósforo a partir de un intermediario activo, el yoduro de fosforilo.

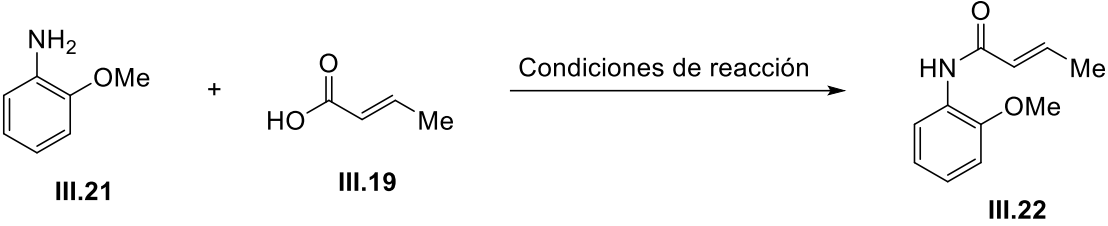
Un protocolo alternativo (Estrategia B), sin activación previa del ácido, se trató de la utilización de un catalizador heterogéneo de Fe³⁺-K10 con las expectativas de evitar la formación de subproductos.

Las estrategias fueron llevadas a cabo sobre un sistema modelo utilizando *o*-anisidina (**III.21**) y ácido crotonico. En la **Tabla III.1** se describen los resultados obtenidos de las diferentes estrategias planteadas.

Para las condiciones de la entrada 1, se llevó a cabo la reacción con POCl₃, en CH₂Cl₂ como solvente, piridina y DMF catalítico que facilitan el acoplamiento, y se formó un 42% de la amida **III.22**.⁴⁴ En otro caso, se decidió efectuar la reacción utilizando el agente activante EDCI/DMAP y CH₂Cl₂ como solvente. En un primer intento se obtuvo un 24% de **III.22**, por lo que nos llevó a incrementar 0.4 equivalentes la cantidad de ácido y 0.8 equivalentes la cantidad de EDCI en un segundo intento, aumentando el rendimiento de la reacción a un 68% (entrada 2). En busca de mejores resultados se incrementó nuevamente la cantidad de equivalentes, pero inesperadamente, no se observó la formación del producto.⁵⁰ En la entrada 3, se decidió reemplazar el uso de DMAP por HOBt y en estas

condiciones se observó la formación de múltiples productos secundarios no deseados. Algo similar sucedió cuando, en la entrada 4, se decidió agregar el uso de una base como Et₃N.⁵¹ La entrada 5 consistió en utilizar NBS y PPh₃ para realizar el acoplamiento, el cual, a pesar de incrementar los equivalentes de reactivos, mostró que aún se observaba material de partida y muchos subproductos de reacción.⁵²

Tabla III.1 Ensayo de condiciones de amidación de *o*-anisidina (**III.21**)

			
Entrada	Condiciones de reacción	t (h)	Rendimiento ^a III.22 (%)
1	POCl ₃ , DMF cat., piridina, CH ₂ Cl ₂ , t.a.	60	42
2	EDCI, DMAP, CH ₂ Cl ₂ , t.a.	4	68
3	EDCI, HOBT, CH ₂ Cl ₂ , t.a.	24	0
4	EDCI, Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , t.a.	24	0
5	NBS, PPh ₃ , piridina, CH ₂ Cl ₂ , t.a.	168	0
6	P(OMe) ₃ /I ₂ , Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , t.a.	3	75
7	Fe ³⁺ -K10, CHCl ₃ , 60°C	7	0

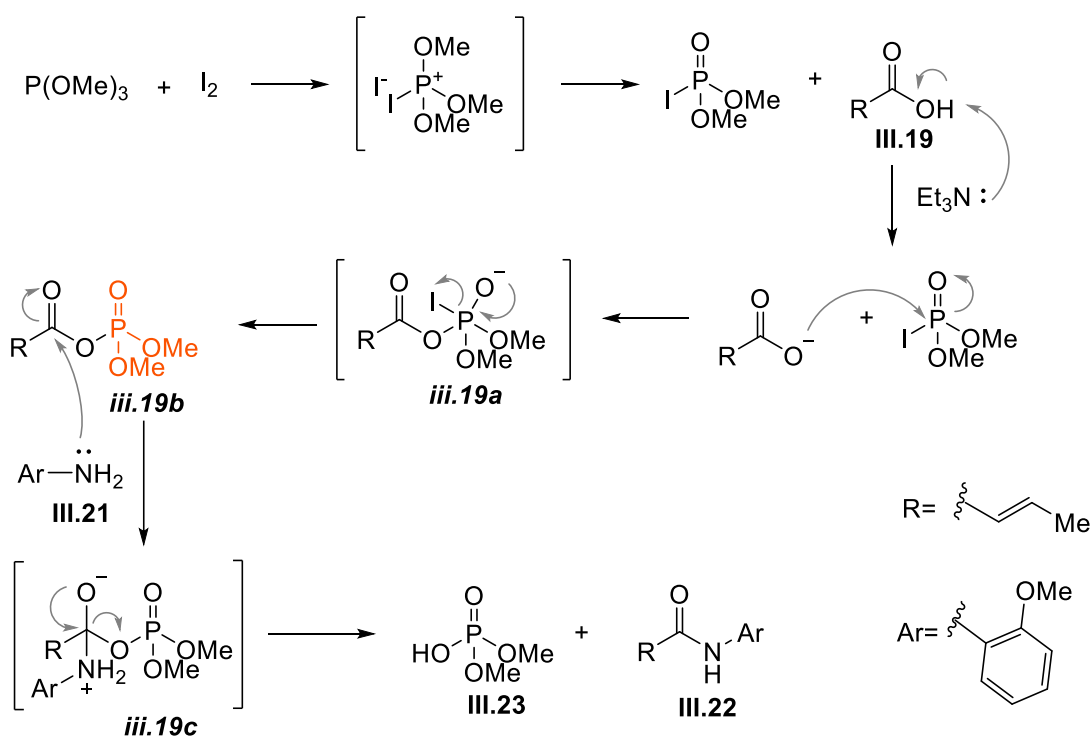
^a Rendimientos calculados después de purificación por cromatografía en columna.

El protocolo de la entrada 6, consistió en una amidación empleando P(OMe)₃ y I₂ como agente activante, trietilamina como base y CH₂Cl₂ como solvente, el cual en 3 h generó un 75% del producto **III.22** del sistema modelo.⁵³

Por el contrario, cuando no se activó el ácido y se llevó a cabo el acoplamiento entre la anilina **III.21** y el ácido **III.19** utilizando un catalizador heterogéneo y CHCl_3 como solvente durante 7 h, no se observó la formación del producto esperado (entrada 7).⁵⁴ Se preparó previamente el catalizador heterogéneo de Fe^{3+} -K10 a partir de FeCl_3 y montmorillonita-K10, fácilmente disponible y económico, como soporte. Este catalizador puede ser reutilizado.⁵⁵

La entrada 6 fue seleccionada como la óptima ya que presentó el mayor rendimiento y transcurrió en menor tiempo que las demás estrategias.

Tal como se muestra en el **Esquema III.14**, el mecanismo propuesto por Qun-Li Luo y col.⁵³ consiste en una serie de etapas donde inicialmente se disuelve el yodo sólido en una mezcla de $\text{P}(\text{OMe})_3$ y CH_2Cl_2 y se forma primeramente el yoduro de trimetoxi-yodofosfonio a 0°C , luego se transforma rápidamente en dimetil yodofosfato. Después de agregar trietilamina se forma un anhídrido mixto (**iii.19b**), siendo este último un intermediario altamente reactivo. Al adicionar la anilina se produce una amidación con el intermediario para dar la amida **III.22** de interés.

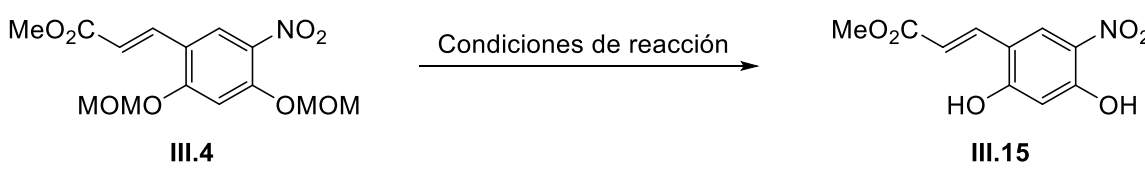


Esquema III.14. Mecanismo propuesto para la reacción de amidación seleccionada.

III.2.2 Optimización de la reacción de desprotección

Luego, en vista de que los resultados obtenidos en la etapa de desprotección del producto de amidación en la síntesis formal de carpatamida A no fueron los esperados se decidió ensayar en un sistema modelo de la desprotección empleando distintas condiciones de reacción. En esta oportunidad se utilizó como modelo el intermediario **III.4** de la síntesis de la porción aromática (**Tabla III.2**).

Tabla III.2: Ensayos de condiciones de desprotección de **III.4**

			
Entrada	Condiciones de reacción	t(h)	Rendimiento III.15 (%)
1	Bi(OTf) ₃ , THF:H ₂ O, t.a.	72	0
2	<i>p</i> -TsOH, CH ₂ Cl ₂ , t.a.	48	Mezcla con monoprotegido
3	HCl(4M), dioxano, t.a.	50	87

En la entrada 1, la reacción se llevó a cabo utilizando Bi(OTf)₃ como catalizador en condiciones bifásicas de solvente THF:H₂O donde no se observó la formación del producto de interés.⁵⁶ En la entrada 2, se utilizó *p*-TsOH como promotor en CH₂Cl₂ dando como resultado una mezcla entre el producto esperado donde se remueven los dos grupos protectores y un producto donde solo uno de los dos grupos protectores es removido.⁵⁷ Por último, en la entrada 3, se realizó una hidrólisis con HCl 4M en dioxano la cual mostró una conversión del 87% en el producto deseado **III.15** con pequeña cantidad del producto monoprotegido. De esta manera, se seleccionaron estas últimas condiciones para su posterior uso.⁴⁸

III.2.3 Obtención de análogos de carpatamida A

Una vez elegidas las mejores condiciones de reacción a partir del sistema modelo se procedió a la preparación de los análogos.

Teniendo en cuenta lo analizado en la **Tabla III.3** se realizó la reacción de amidación entre el núcleo aromático y los ácidos comerciales utilizando $P(OMe)_3$ como agente activante, I_2 , trietilamina como base y CH_2Cl_2 como solvente, logrando aislar los distintos intermediarios avanzados **III.17 a-e**. El siguiente paso, se trató de una desprotección de los grupos fenoles para dar con los derivados **III.18a-e**.

Tabla III.3: Amidación con diferentes ácidos comerciales y desprotección de GP

		<u>Amidación</u>		<u>Desprotección</u>	
Compuesto	R	t(h)	III.17a-e Rendimiento (%)	t(h)	III.18a-e Rendimiento (%)
a		19	92	2	67 ^a
b		24	57	6	53 ^a
c		24	30	6	50 ^a
d		24	48	5	80 ^b
e		48	31	6	40 ^b

Reactivos y condiciones: a) $P(OMe)_3$, I_2 , Et_3N , CH_2Cl_2 , TA b) β -ciclodextrina, H_2O/THF , $CeCl_3$ cat., MW, $90^\circ C$ ó tHCl 4M, dioxano, t.a.

Como se puede observar para la formación del primer análogo **III.18a** se utilizó el ácido crotónico (**III.19**) para el acoplamiento y se obtuvo un 92% de **III.17a** en 19 h. Éste fue caracterizado por estudios espectroscópicos IR y RMN. En el espectro de IR se observó la aparición de las bandas típicas de amida secundaria, una banda a 3311 cm^{-1} asignada a la tensión N–H y una banda de tensión C–O carbonílico a 1735 cm^{-1} . El espectro de RMN de ^1H (**Figura III.8**) mostró la aparición de señales características a la porción que correspondía al ácido (**III.19**), un doble doblete a 1,91 ppm con $J = 1,6$ y 6,9 Hz perteneciente al grupo metilo; los dos protones vinílicos como doble cuarteto a un desplazamiento químico de 5,97 ppm con $J = 1,6$ y 15,2 Hz y como doble cuarteto a 6,89-7,01 ppm con $J = 6,9$ y 15,2 Hz; y un singlete correspondiente al protón del grupo amida a 7,57 ppm.

En tanto que en el espectro de RMN de ^{13}C se visualizaron las señales de carbono primario a 17,8 ppm perteneciente al grupo metilo, carbonos a 125,7 y 140,8 ppm asignables a los carbonos vinílicos y un carbono cuaternario correspondiente al carbonilo del grupo amida a 163,4 ppm.

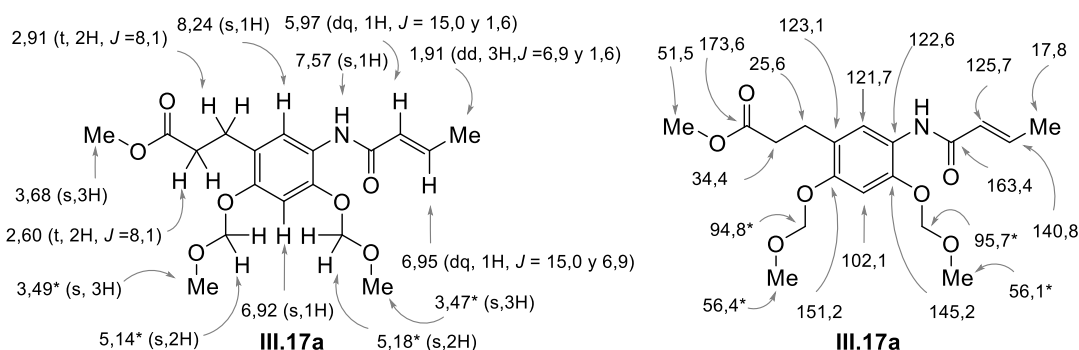


Figura III.8 Asignación de las señales de RMN de ^1H y ^{13}C para el compuesto **III.17a**.

Al realizar la desprotección con HCl (4M) y dioxano como solvente no se observó producto, por lo que se conjeturó que pudo deberse a dos posibles causas, una de ellas es que se dejó mucho tiempo la reacción, el cual fue un imprevisto al momento de llevar a cabo el procedimiento, o bien las condiciones son muy fuertes para el intermediario altamente funcionalizado. Por lo que se decidió probar un nuevo protocolo, primero en el sistema modelo previamente utilizado, el intermediario **III.4**, el uso de un catalizador, suave y amigable con el medio ambiente, β -ciclodextrina (β -CD) en H_2O bajo calentamiento de microondas.⁵⁸

Este modelo mostró la ausencia del material de partida en 1 h 30 minutos y se decidió continuar con el uso de estas condiciones en los intermediarios protegidos (**III.17a-e**).

En el primer intento utilizando como material de partida **III.17a** durante 5 h de calentamiento en MO y agregando 0,1 equivalentes de β -CD se obtuvo un 30% de producto **III.18a**. Se llevó a cabo un segundo ensayo agregando THF como cosolvente y 0,1 equivalentes de $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ como catalizador, ya que el Ce(III) fue descrito en varios protocolos de protección/desprotección.⁵⁹ Estas modificaciones redujeron el tiempo de reacción a 2 h e incrementaron el rendimiento a un 67%.

Mientras que, para acceder al análogo **III.18b** empleando el ácido 2*E*-hex-2-enoico (**III.24**) se obtuvo un 57% del producto de amidación **III.17b** en 24 h, el cual fue desprotegido utilizando el protocolo modificado de β -CD, generando así un 53% de **III.18b** luego de 6 h.

Se realizó la caracterización por ensayos espectroscópicos. En el espectro IR de **III.17b** se observaron las bandas características del nuevo grupo amida, la banda de tensión N–H a 3311 cm^{-1} y tensión C–O de carbonilo a 1734 cm^{-1} . En el espectro de RMN de ^1H se evidenciaron 2 protones vinílicos como un doblete a 5,93ppm con $J = 15,2\text{ Hz}$ y como un multiplete a 6,09-6,9 ppm; un triplete a 0,95 ppm con $J = 7,4\text{ Hz}$ perteneciente a los 3 protones metílicos; un sexteto a 1,52 ppm con $J = 7,4\text{ Hz}$ y cuarteto a 2,22 ppm correspondientes a los grupos metileno. Además, el protón del grupo amida se observó como un singlete a 7,58 ppm (**Figura III.9**).

Por otra parte, en el espectro de RMN de ^{13}C se visualizó una señal de carbono a 13,7 ppm correspondiente al grupo metilo; carbonos secundarios a 21,5 y 34,1 ppm atribuibles a los grupos metileno; carbonos a 124,3 y 145,7 ppm pertenecientes a los grupos vinílicos y el carbono cuaternario carbonílico del grupo amida se observó a 163,5 ppm.

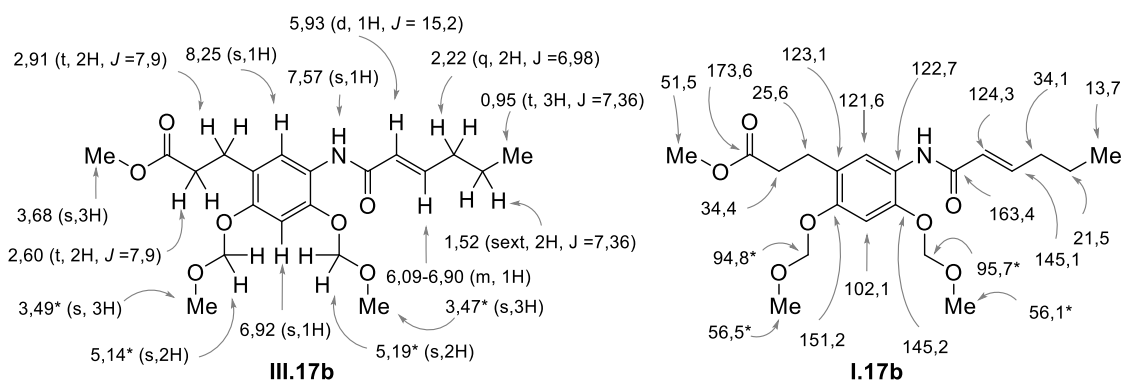


Figura III.9 Asignación de las señales de RMN de ^1H y ^{13}C para el compuesto **III.17b**.

Cuando la amidación se realizó con el ácido sórbico (**III.25**) para acceder al análogo **III.18c**, se aisló solo un 30% de **III.17c** junto con un subproducto donde el intermediario está metilado en el grupo amino, pudiéndose ser ésta la causa del bajo rendimiento en comparación con los demás ácidos. Se propone repetir la reacción en el futuro disminuyendo los equivalentes de $\text{P}(\text{OMe})_3$. En el siguiente paso, la reacción de desprotección duró 6 h luego del agregado total de 4 equivalentes de β -CD y se obtuvo un 50% de **III.18c**.

III.17c se caracterizó por análisis espectroscópico el cual confirmó la formación del producto esperado. El espectro de IR mostró la aparición de las bandas correspondientes al grupo amida. Una banda de tensión N–H a 3288 cm^{-1} y otra de C–O carbonilo a 1726 cm^{-1} . Tras examinación del espectro de RMN de ^1H (**Figura III.10**) se observó el patrón de señales correspondientes a la nueva porción incorporada proveniente del ácido sórbico, 3 protones metílicos como un doblete a 1,86ppm con $J = 6,2\text{ Hz}$; los protones vinílicos se asignaron a un doblete que integra para un protón a 5,91 ppm con $J = 14,9\text{ Hz}$, un multiplete a 6,00-6,26 ppm que integra para dos protones y un multiplete a 7,24-7,33 ppm que integra para un protón; y un singlete a 7,60 ppm de protón pertenecientes al grupo amida.

En el espectro de RMN de ^{13}C , se visualizaron las señales de carbono primario a 18,6 ppm del grupo metilo; carbonos vinílicos a 122,0, 129,6, 134,8, 142,0 ppm; y un carbono cuaternario carbonílico del grupo amida a 163,9 ppm.

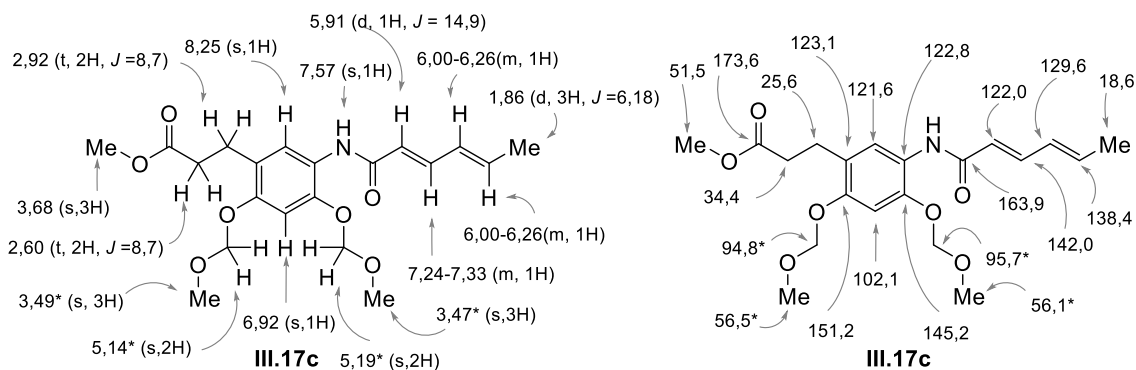


Figura III.10 Asignación de las señales de RMN de ^1H y ^{13}C para el compuesto **III.17c**.

Para el análogo **III.18d**, se llevó a cabo el acoplamiento con ácido cinámico (**III.26**) dando como resultado un 25% de **III.17d** en 24 h. Como en la etapa de purificación se recuperó mucha cantidad de ácido cinámico se concluyó que el bajo rendimiento podía deberse a la etapa de activación del ácido, por lo que en un segundo intento se modificó el tiempo de activación y, de esta manera, el rendimiento se elevó a un 48%.

Se pudo confirmar a través del análisis espectroscópico correspondiente que el producto obtenido era el deseado. En el espectro IR se notó la aparición de las bandas correspondientes al nuevo grupo amida. Una banda de tensión N–H a 3298 cm^{-1} y una banda de tensión C–O de carbonilo a 1735 cm^{-1} . Al realizar el espectro de RMN de ^1H de **III.17d** se notaron las señales provenientes del ácido cinámico, presentando un doblete con un desplazamiento químico de 6,56 ppm y un $J = 15,9$ Hz que corresponde a un protón vinílico; a 7,26-7,77 ppm un multiplete que integra para 6 protones, correspondientes a un protón vinílico y 5 protones aromáticos del grupo fenilo incorporado; y, por último, la aparición de un singlete a 7,70 ppm perteneciente al protón del grupo amida.

Cuando fue analizado el RMN de ^{13}C se determinaron dos carbonos a 121,2 y 141,4 ppm asignados a los carbonos vinílicos; carbonos aromáticos a 127,9, 128,2, 129,8 ppm y carbono cuaternario a 134,0 ppm de grupo fenilo proveniente del ácido cinámico; y un carbono cuaternario correspondiente al grupo carbonilo de la amida a 163,3 ppm (**Figura III.11**).

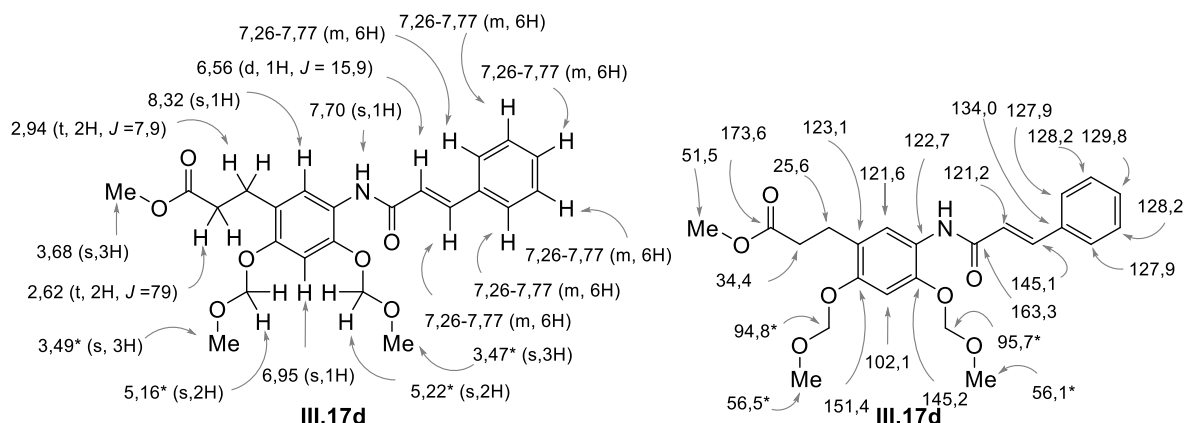


Figura III.11 Asignación de las señales de RMN de ^1H y ^{13}C para el compuesto III.17d.

En la siguiente etapa, la desprotección debió realizarse aumentando la cantidad de β -CD a 3,5 equivalentes y, luego de 8h de calentamiento en microondas se dió por finalizada, aun conteniendo material de partida y el producto parcialmente desprotegido, por lo que se decidió que esta técnica resultaba bastante tediosa y no cumplía con los objetivos de la utilización del microondas. Se probaron nuevamente las condiciones de desprotección con HCl 4M en dioxano durante 4 h y tras confirmar la ausencia del material de partida y del producto parcialmente desprotegido, se aisló 80% de III.18d.

Cuando la amidación se realizó con el ácido (2E) -4-metilpent-2-enoico (III.27) para dar el análogo III.18e, se obtuvo un 31% de la amida III.17e en 48 h de reacción.

Se caracterizó III.17e por estudios espectroscópicos. En el espectro de IR se observó las señales correspondientes al grupo amida formado, tratándose de una banda de tensión N–H a 3315 cm^{-1} y de tensión C–O carbonílico a 1743 cm^{-1} . En el espectro de RMN de ^1H se observó un doblete a 1,09 ppm con $J = 6,7\text{ Hz}$ que integra para 6 protones metílicos correspondientes al grupo isopropilo incorporado; un multiplete a 2,43-2,55 ppm asignado al protón CH del grupo isopropilo; dos protones vinílicos uno como doblete a 5,87 ppm con $J = 15,2$ y $1,4\text{ Hz}$ y el otro como multiplete a 6,90-6,92 ppm; y un singlete a 7,59 ppm perteneciente al protón del grupo amida (Figura III.12).

En el caso del espectro de RMN de ^{13}C se observó una señal de carbono primario a 21,4 ppm perteneciente a los metilos de grupo isopropílico; el carbono terciario a

30,8 ppm del grupo isopropílico; carbonos vinílicos a 121,4 y 152,1 ppm y carbono cuaternario del grupo carbonilo de la amida a 163,8 ppm.

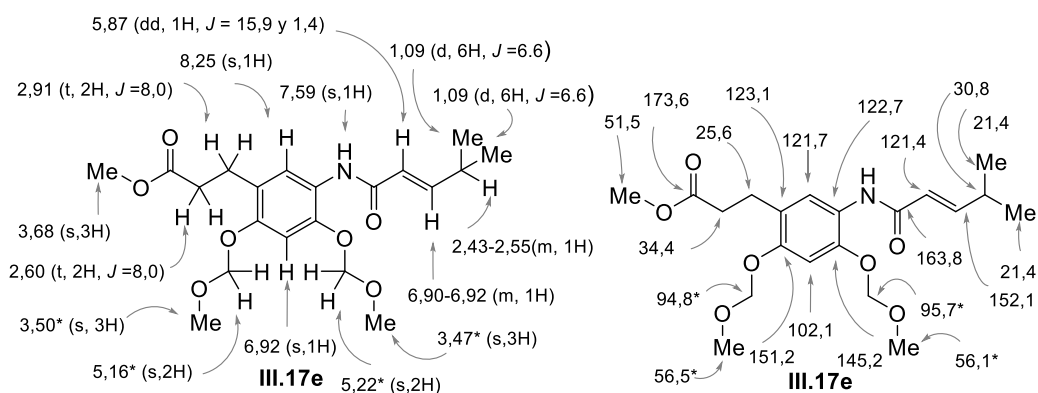
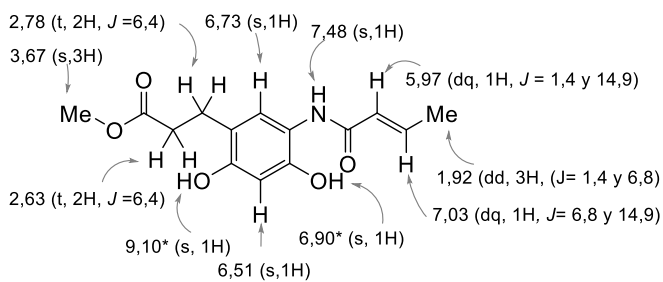


Figura III.12 Asignación de las señales de RMN de ^1H y ^{13}C para el compuesto **III.17e**.

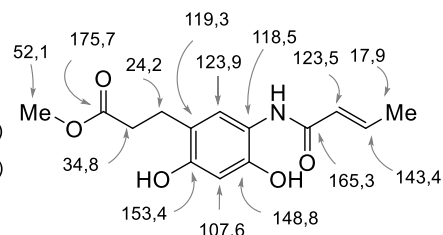
El paso siguiente, la desprotección, se llevó a cabo con HCl 4M en dioxano como solvente, durante 6 h a temperatura ambiente y se obtuvo **III.18e** con un 40% de rendimiento.

Los análogos de carpatamida A **III.18a-e** que resultan de la desprotección de los intermediarios **III.17a-e** se pudieron confirmar por espectroscopía IR y RMN. En los espectros IR se observó la aparición de la banda ancha correspondiente al estiramiento O–H de los fenoles en el rango de $3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$. En los espectros de RMN de ^1H (**Figura III.13**) se observó la desaparición de las señales correspondientes a los grupos protectores, dos singletes en el rango de 3,45-3,40 ppm asignados a los protones metílicos ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$) y dos singletes en el rango de 5,14-5,18 ppm de protones metilénicos ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$). Se observó la aparición de 2 singletes correspondientes a protones fenólicos con un desplazamiento químico en un rango de 6,75-6,90 y 9,10-9,30 ppm.

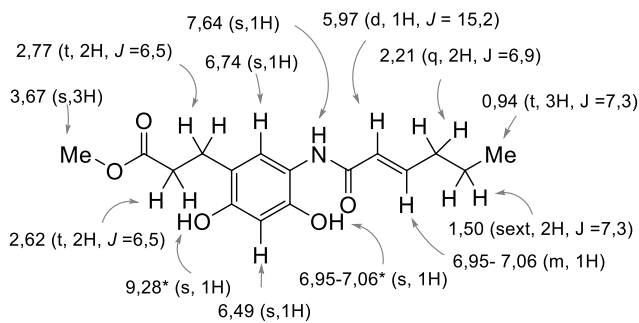
Mientras que en los espectros de RMN de ^{13}C se observó la desaparición de las señales correspondientes a los grupos protectores, los dos carbonos primarios en el rango de 56,0-56,5 ppm de metilo y los dos carbonos secundarios en un rango de 94,0 y 95,9 ppm asignados a los metilenos.



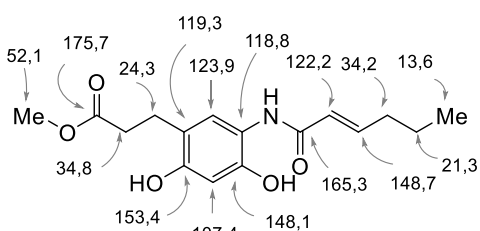
III.18a



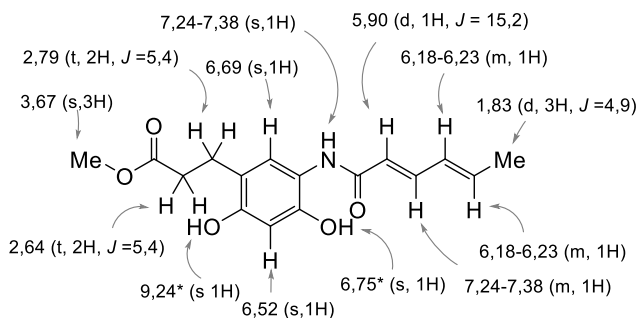
III.18a



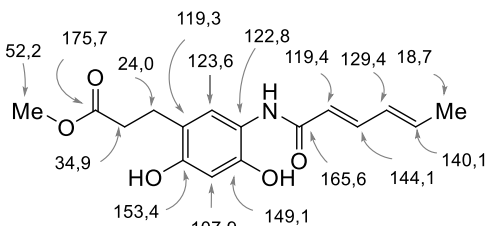
III.18b



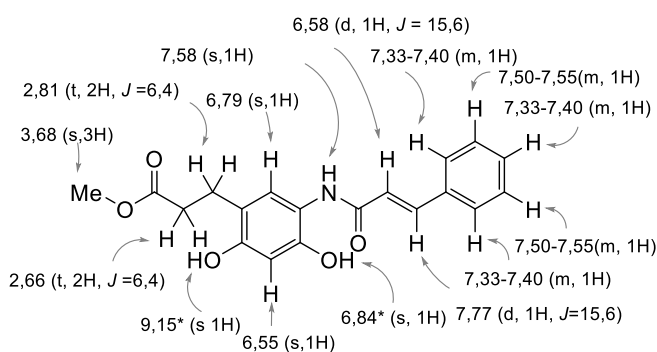
III.18b



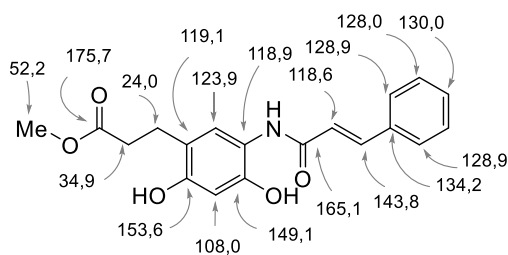
III.18c



III.18c



III.18d



III.18d

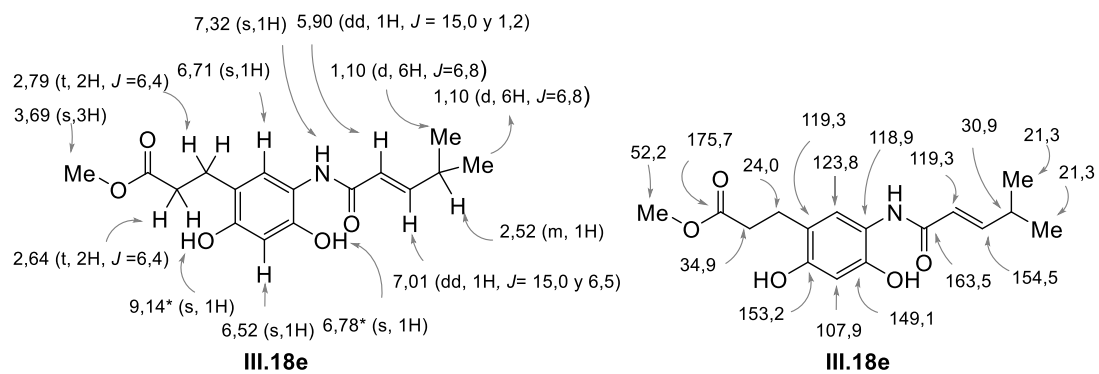


Figura III.13 Asignación de las señales de RMN de ¹H y ¹³C para los análogos III.18a-e.

Capítulo IV:

Conclusiones

Capítulo IV: Conclusiones

Se consiguió realizar la síntesis en 4 etapas del núcleo aromático 3-[5-amino-2,4-bis(metoximetoxi)fenil] propanoato de metilo (**III.5**) a partir de 2,4-dihidroxibenzaldehído comercial. Este compuesto es el intermediario común para la síntesis total de carpatamida A y para la síntesis de sus análogos.

Se desarrolló una estrategia convergente para acceder a carpatamida A, pudiendo lograr la síntesis del último intermediario de la secuencia, **III.14**. Este intermediario avanzado se obtuvo mediante una reacción de amidación entre la anilina **III.5** y el ácido (2*E*,4*E*)-7-metilocta-2,4-dienoico (**III.13**) sintetizado previamente en 2 etapas a partir de isovaleraldehído comercial.

A pesar de diversos ensayos de desprotección de los metoximetil éteres, la reacción no procedió como se esperaba y no se logró obtener carpatamida A. Se probaron condiciones suaves de desprotección debido a que se trata de una molécula altamente funcionalizada. Restaría probar escenarios un poco más fuertes de desprotección.

Se optimizó la reacción de amidación, fundamental para la construcción de la familia de análogos de carpatamida A. Se activaron distintos ácidos comerciales formando un anhídrido mixto mediado por P(OMe)₃, más reactivo, para luego acoplarlos a la anilina **III.5**. Además, se exploraron condiciones de desprotección de los metoximetil éteres. Esta etapa presentó ciertas limitaciones y no dieron rendimientos tan altos como se esperarían para este tipo de reacción. Se propone en un futuro optimizar las condiciones de esta reacción.

Se lograron obtener 5 análogos de carpatamida A, diversificando la estructura del producto natural en su cadena lateral para probar aquella característica que pueda aumentar la actividad citotóxica del compuesto. Acortando el ácido, disminuyendo el número de insaturaciones, quitando el gem-dimetilo y agregando un nuevo grupo funcional fenilo.

Se espera en el futuro poder realizarles pruebas de actividad citotóxica a los 5 análogos obtenidos. Las mismas se llevarán a cabo en colaboración con otro grupo de investigación de nuestra facultad.

Capítulo V: Materiales y métodos

Capítulo V: Materiales y métodos

V.1.1 Condiciones Generales

En las reacciones que necesitaron ser llevadas a cabo bajo presión positiva de gas inerte los gases empleados para generar dichas atmósferas fueron nitrógeno seco o argón de alta pureza, libres de oxígeno. La agitación de las reacciones se llevó a cabo en forma magnética y el seguimiento de las mismas se realizó mediante CCD. Los solventes y reactivos se transfirieron empleando micro-jeringas, jeringas o cánulas según los casos.

Para determinar la pureza de los compuestos se aplicaron los siguientes criterios:

1. La aparición de una única banda en la CCD, llevada a cabo en diversos sistemas de solventes.
2. El intervalo del punto de fusión, en el caso de muestras sólidas.

La remoción de solventes en extractos y fracciones cromatográficas se realizó en un evaporador rotatorio marca Büchi modelo RE 111. Trazas de solventes se eliminaron mediante una bomba de vacío ($P < 5 \text{ mm Hg}$) provista de una trampa enfriada con nitrógeno líquido.

La separación y purificación de los productos de reacción buscados se realizó mediante cromatografía en columna en el modo de gradiente escalonado de mezclas de solventes de polaridad ascendente.

V.1.2 Datos físicos-Instrumental analítico

Los puntos de fusión fueron determinados en un microscopio con platina calefaccionada eléctricamente marca Ernst Leitz Wetzlar modelo 350 y se informan sin corregir.

Los espectros en el infrarrojo se adquirieron en espectrofotómetros con transformada de Fourier marcas Shimadzu modelo Prestige-21 empleando la banda de $1601,4 \text{ cm}^{-1}$ del poliestireno como estándar de calibración. La resolución de los espectros es 4 cm^{-1} .

Las muestras sólidas se determinaron como dispersiones sólidas en pastillas de KBr, preparadas por compresión (carga = 10 Tm/cm²) de una mezcla fina cuya composición aproximada fue de 1 mg de muestra y 100 mg de KBr, usado como medio dispersante, pulverizada en un mortero de ágata. Los valores de frecuencia (ν) de las bandas más significativas se informan en unidades de cm⁻¹.

Las determinaciones espectroscópicas de resonancia magnética nuclear fueron realizadas en un espectrómetro marca Bruker modelo Avance 300, a 300,13 (RMN de ¹H) y 75,33 (RMN de ¹³C) MHz respectivamente, usando la señal del TMS como estándar interno [$\delta_c(\text{CDCl}_3) = 76,9$]. Las medidas se realizaron con la muestra (concentración comprendida entre 0,1-0,3 M) disuelta en CDCl₃.

Tanto en las asignaciones, como en los espectros de RMN de ¹H y RMN de ¹³C, los valores de los desplazamientos químicos están informados en unidades de partes por millón en la escala δ . La información de los espectros de protones, se expresa de la siguiente forma: primero se consigna el valor numérico de la señal (δ) con dos cifras decimales; luego, entre paréntesis y en el siguiente orden: la multiplicidad, valor de la/s constante/s de acoplamiento homonuclear (en Hz) con la apreciación de una cifra decimal, integración y la asignación del protón o conjunto de protones responsable/s de dicha señal.

Las abreviaturas utilizadas para indicar las multiplicidades son: s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto. Se emplean combinaciones como dd para designar un doblete de dobletes y dt para un doblete de tripletes. La letra m se emplea para el caso de multipletes; para denotar que una señal es ancha, se le agrega la letra "a" inmediatamente después de la multiplicidad.

La información proveniente de los espectros de ¹³C se expresa escribiendo en primer término el desplazamiento químico de la señal (δ_c) con una cifra decimal y luego entre paréntesis, el o los átomos de carbono responsables de la misma. Las señales correspondientes a diferentes protones o carbonos cuya atribución puede ser intercambiada fueron designadas con un asterisco (*) o numeral (#) como superíndice luego de la atribución sugerida.

Los espectros de RMN de ¹³C reportados se refieren al espectro totalmente desacoplado (BB, del inglés Broad Band). Asimismo, cuando fue requerido se realizaron experimentos de RMN bidimensional, adquiriéndose los espectros HSQC

(del inglés Heteronuclear Single Quantum Correlation), HMBC (del inglés Heteronuclear Multiple Bond Correlation) o COSY (del inglés COrrrelation SpectroscopY). También se registraron espectros de ^{19}F cuando fue necesario.

A modo de auxiliar en la asignación de algunas señales de ciertos espectros que resultaron dificultosos de atribuir, se utilizaron las rutinas de simulación de espectros de RMN de ^1H y ^{13}C de la aplicación ACDLabs, versión 10.0 (AdvancedChemicalDevelopment, Inc., Toronto, Canadá).

V.1.3 Nomenclatura, Numeración, Composición de Estructuras Químicas y Diagramas

Los nombres IUPAC de todos los compuestos sintetizados se derivaron de la nomenclatura inglesa, provista por la rutina ChemSketch del aplicativo ACDLabs, versión 10.0 (AdvancedChemicalDevelopment, Inc., Toronto, Canadá). Las estructuras químicas de los Esquemas y Figuras fueron realizadas con el programa ChemDraw Ultra, versión 13.0 (Cambridge Soft Corp., Cambridge, MA, EEUU).

V.1.4 Extracción y Manipulación de Extractos. Condiciones Generales:

El procedimiento habitual consistió en agregar solución saturada de NaCl a la mezcla de reacción (5 – 20 mL) y extraer los productos con AcOEt (3 x 20 – 40 mL). Luego, los extractos orgánicos reunidos se lavaron con solución saturada de NaCl (5 mL) y se secaron sobre Na_2SO_4 ; posteriormente, se concentraron en evaporador rotatorio a presión reducida y finalmente fueron sujetos a cromatografía en columna, como método de purificación de los productos de interés.

V.1.5 Métodos Cromatográficos

Las transformaciones químicas efectuadas fueron monitoreadas empleando técnicas de CCD sobre placas comerciales de aluminio marca Merck, art. 5554 (Merck, Darmstadt, Alemania), cubiertas con sílica gel F₂₅₄, que fueron desarrolladas eluyendo con mezclas de solventes hexano-AcOEt de polaridad acorde a la del analito o la mezcla a separar, procurando que la/s mancha/s de interés presente/n

valores de R_f entre 0,20 y 0,80. En algunas ocasiones se han utilizado otros solventes como etanol y diclorometano para realizar las CCD.

Las bandas fueron detectadas en las placas cromatográficas mediante examen a la luz ultravioleta de onda corta (254 nm) y también, cuando fue necesario, mediante examen de la fluorescencia a la luz ultravioleta de onda larga (365 nm). En algunos casos se reveló con revelador ninhidrina para las aminas primarias y para el caso de fenoles, solución FeCl_3 al 1% en EtOH de 96°. Para mejorar la calidad y sensibilidad de la detección, se efectuó un calentamiento cuidadoso de las placas cromatográficas reveladas por rociado mediante una pistola calefactora.

Las separaciones cromatográficas se llevaron a cabo empleando Kieselgel 60 (tamaño de partícula= 0,040-0,063 mm) y empacada en columnas a partir de suspensiones en hexano.

La elución se llevó a cabo empleando mezclas de hexano-AcOEt como eluyente, bajo la modalidad de gradiente escalonado de polaridad creciente de solvente, aplicando presión de aire (0,75 –1 atm.) para acelerar el proceso cromatográfico.

La introducción de la muestra se realizó preadsorbiéndola sobre sílica gel con soluciones de CH_2Cl_2 .

V.1.6 Gases y Solventes Anhidros

El nitrógeno empleado fue secado por pasaje a través de tamices moleculares, mientras que el argón fue usado directamente desde el cilindro. Los solventes anhidros empleados se purificaron y secaron de la siguiente manera:

Metanol (MeOH) absoluto: El producto técnico se calentó a reflujo sobre virutas de magnesio limpias y activadas con cristales de yodo; se destiló el solvente del alcóxido de magnesio así formado, descartándose los extremos del destilado. El solvente se guardó en un envase hermético.

N,N'-Diisopropiletilamina (DIPEA): El reactivo comercial fue adicionado de lentejas de KOH y se conservó sobre las mismas.

Piridina (Py): El producto de grado "pro-análisis" se secó sobre lentejas de KOH a temperatura ambiente; luego se calentó a reflujo sobre lentejas de KOH y posteriormente se destiló; el producto anhidro se conservó sobre KOH.

Solventes clorados (CHCl₃ y CH₂Cl₂): Los productos comerciales fueron calentados a reflujo sobre P₂O₅ durante 6 h bajo atmósfera de nitrógeno seco, destilándose el producto lentamente. El cuerpo del destilado anhidro se almacenó en envases herméticos sobre tamices moleculares activados de 4Å de poro.

Tolueno (PhMe): El solvente grado PA fue calentado a reflujo sobre sodio, en presencia de benzofenona, y destilado del cetilo azul de benzofenona.

Trietilamina (Et₃N): El solvente tipo "pro-análisis" se calentó a reflujo sobre CaH₂ y luego se destiló, conservándose sobre lentejas de KOH.

Todos los otros reactivos utilizados fueron de calidad "pro-análisis", de diversas marcas reconocidas en el país y en el exterior. El manejo y disposición de los mismos se realizó de acuerdo a normas recomendadas tanto por el fabricante como por el proveedor, o lo aconsejado por las buenas prácticas de laboratorio.

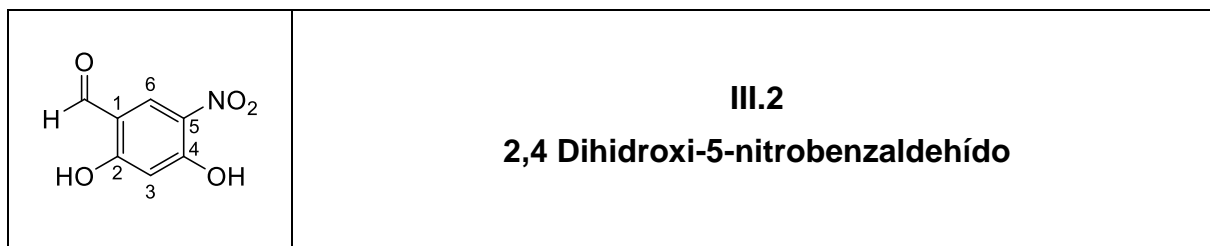
V.1.7 Equipamiento para Operaciones Especiales

Las transformaciones químicas que requirieron calentamiento a reflujo fueron refrigeradas mediante la circulación cerrada de una mezcla EtOH-agua (1:1) de temperatura constante, provista mediante un baño refrigerado con circulador marca Polystat.

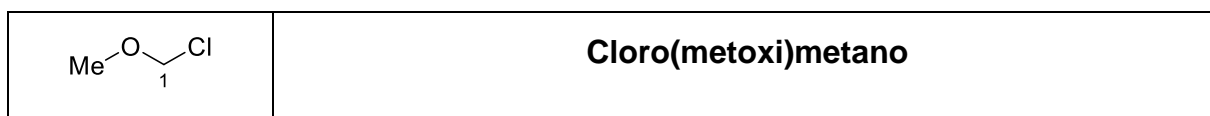
La reacción asistida por microondas fue llevada a cabo en un horno de microondas CEM Discover, utilizando un sistema cerrado.

V.2 Síntesis y Caracterización

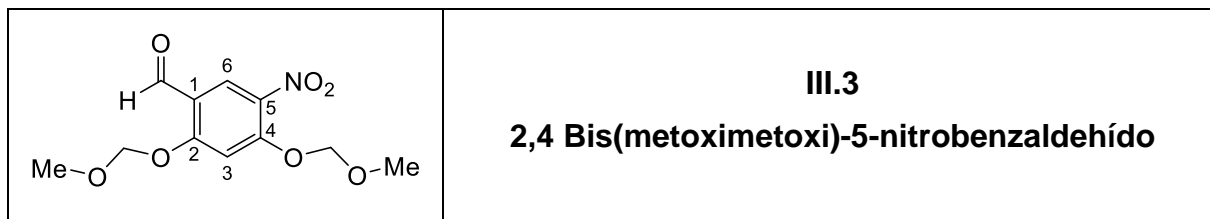
Síntesis de 3-(2,4-bis(metoximetoxi)-5-((2E,4E)-7-metilocta-2,4-dienamida)fenil)propanoato de metilo



A una solución de 2,4 dihidroxibenzaldehído (**III.1**, 1000 mg, 7,24 mmol) en MeCN (4 mL) a 0 °C se agregó gota a gota una solución de HNO₃ cc (1,3 mL) en HAcO glacial (6 mL). Posteriormente, se llevó a reflujo (120 °C) durante 20 h. Transcurrido ese tiempo, la finalización de la reacción fue comprobada por CCD (Hexano-AcOEt 80:20 con 1 gota de ácido acético). Se agregó solución saturada de NaCl (5 mL) y se realizó la extracción de los productos con AcOEt (3 x 15 mL). Las fases orgánicas combinadas fueron secadas sobre MgSO₄ y concentradas a presión reducida. El residuo obtenido fue sometido a cromatografía en columna, aislándose **III.2** (538 mg, 41%), como un sólido amarillo de P.f.: 108-110 °C. IR (KBr, ν): 3263, 3164, 1683, 1601, 1566, 1478, 1432, 1389, 1246, 1215, 1144, 1090, 1061, 835, 815. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ : 6,63 (s, 1H, H-3), 8,43 (s, 1H, H-6), 9,82 (s, 1H, Ar-CHO), 11,19* (s, 1H, 2-OH), 11,63 (s, 1H, 4-OH). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ : 106,0 (C-3), 115,2 (C-1), 127,9 (C-5), 133,5 (C-6), 161,3 (C-4), 194,0 (Ar-CHO).



A una solución de dimetoximetano (2,0 mL, 22,5 mmol) y ZnBr₂ (1mg), en tolueno (7,5 mL) se le añadió gota a gota cloruro de etanoilo (1,6 mL, 20,6 mmol) teniendo la precaución de que la solución no sobrepase los 45 °C. Se agitó a temperatura ambiente por 3 h. Se confirmó la finalización por RMN de ¹H del crudo de reacción en tolueno. Se obtuvo un líquido incoloro de una concentración aproximada de 2,3 M. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ : 3,49 (s, 3H, O-Me), 5,43 (s, 2H, H-1).



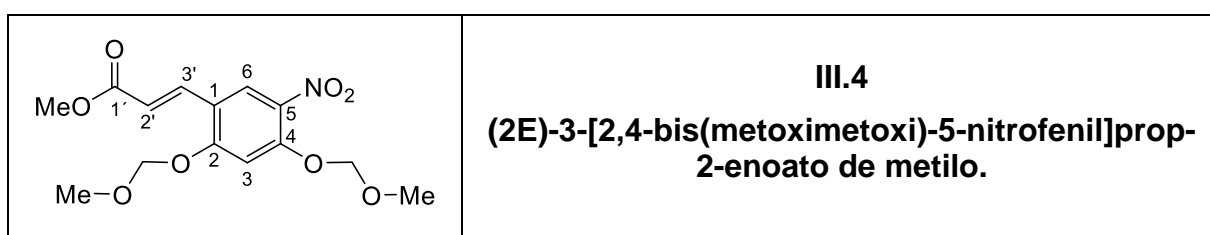
En un balón conteniendo **III.2** (478 mg, 2,61 mmol) disuelto en CHCl_3 anhidro (5,2 mL) a 0 °C se le agregó DIPEA (1,8 mL, 10,44 mmol) y cantidad catalítica DMAP (0,5 mmol). Luego, se añadió MOMCl (10,44 mmol, ~2,3 M) gota a gota. Se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Transcurrido ese tiempo, la finalización de la reacción fue comprobada por CCD (Hexano-AcOEt 80:20 con 1 gota de ácido acético). Luego se agregó solución saturada de NaCl (5 mL) y los productos de reacción se extrajeron con CH_2Cl_2 (3 x 15 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO_4 y luego se concentraron a presión reducida. La cromatografía en columna permitió obtener el producto diprotegido **III.3** (600 mg, 85%) como un sólido amarillo de P.f.: 58 - 60 °C. IR (KBr, ν): 2926, 1683, 1615, 1570, 1485, 1346, 1284, 1149, 1089, 1045, 962, 871. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 3,55 (s, 6H, - OCH_2OCH_3), 5,36* (s, 2H, - OCH_2OCH_3), 5,37* (s, 2H, - OCH_2OCH_3), 7,10 (s, 1H, H-3), 8,43 (s, 1H, H-6), 10,32 (s, 1H, Ar-CHO). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 57,0* (- OCH_2OCH_3), 57,1* (- OCH_2OCH_3), 95,0# (- OCH_2OCH_3), 95,3# (- OCH_2OCH_3), 102,2 (C-3), 118,8 (C-1), 127,0 (C-6), 134,9 (C-5), 163,1 (C-4), 186,5 (Ar-CHO).



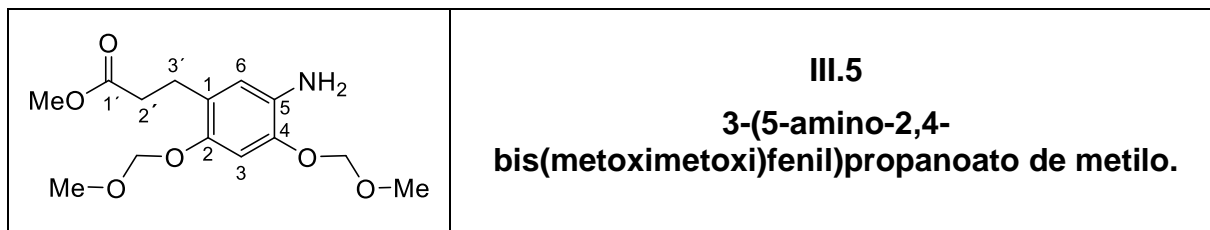
A una solución de ácido bromoacético (10 g, 71,9 mmol) y H_2SO_4 concentrado catalítico (16 μL) disuelto en MeOH (7 mL) se calentó a reflujo (90 °C) durante 2 horas. Se confirmó la finalización por RMN de ^1H del crudo de reacción y luego se destiló en primer lugar el azeótropo de la mezcla de metanol como solvente y agua formada durante la reacción en un rango de 65-85 °C. A continuación, se agregó tolueno (25 mL) para quitar el residuo de agua destilándolo en forma de azeótropo de tolueno y agua a 85 °C, obteniendo 2-bromoacetato de metilo como un aceite marrón. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 3,76 (s, 3H, O-Me), 3,82 (s, 2H, H-1).

Una solución de 2-bromoacetato de metilo (4 mL, 19,5 mmol) en tolueno (2 mL) se adicionó gota a gota a un balón conteniendo trifenilfosfina (5,114 g, 19,5 mmol)

disuelta en tolueno (25 mL) y se dejó 18 h en agitación a temperatura ambiente. Los sólidos se separaron por filtración al vacío y se lavó con tolueno y éter. El residuo se transfirió a un balón y se secó en bomba de vacío para luego ser disuelto en H₂O (100 mL). Se agregaron unas gotas de indicador fenolftaleína y se adicionó una solución de NaOH 2M (6 mL) hasta viraje del indicador. Se extrajo el producto con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución saturada de NaCl (5 mL), se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida para dar un sólido color ocre (**III.6**, 3,896 g, 11,6 mmol).



A una mezcla agitada de **III.6** (1 g, 3,31 mmol) a 0 °C se agregó gota a gota una solución de **III.3** (600 mg, 2,21 mmol) en CHCl₃ anhidro (4 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La reacción se monitoreó por CCD (Hexano-AcOEt 70:30) hasta observar desaparición de material de partida. Una vez finalizada, se añadió solución saturada de NaCl (10 mL) y los productos se extrajeron con EtOAc (3 x 15 mL). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. La cromatografía en sílica gel permitió obtener **III.4** (667 mg, 92%) como un sólido amarillo de P.f.: 76 - 78 °C. IR (KBr, ν): 2916, 1699, 1616, 1521, 1278, 1151, 1055, 960, 918. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ : 3,51* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,54* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,81 (s, 3H, CO₂CH₃) 5,31* (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 5,33* (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 6,49 (d, $J = 16,1$, H-2'), 7,08 (s, 1H, H-3), 7,88 (d, $J = 16,1$, H-3'), 8,16 (s, 1H, H-6). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ : 51,7 (CO₂CH₃), 56,8* (-OCH₂OCH₃), 57,0* (-OCH₂OCH₃), 94,8# (-OCH₂OCH₃), 95,4# (-OCH₂OCH₃), 102,6 (C-3), 117,7 (C-1) 119,1 (C-2'), 126,1 (C-6), 134,8 (C-5), 137,4 (C-3'), 153,4 (C-4), 160,0 (C-2), 167,3 (C-1').

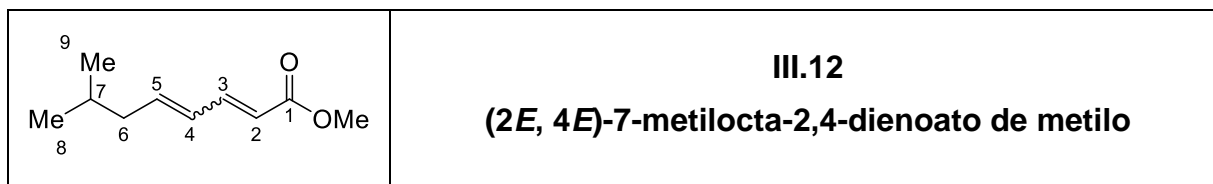


A una solución agitada de **III.4** (260 mg, 0,79 mmol) en MeOH anhidro (5,9 mL) se la desgasificó con un globo de argón. Luego se agregó Pd-C 10% P/P (59 mg, 0,55 mmol) y trietilsilano (1,7 mL, 10,27 mmol) gota a gota. Se continuó agitando a temperatura ambiente durante 90 minutos. Una vez que se observó la desaparición del material de partida en la placa de CCD (Hexano-AcOEt 50:50, ninhidrina), la mezcla se filtró a través de celite y el disolvente se eliminó al vacío. Se añadió solución saturada de NaCl (10 mL) y los productos se extrajeron con EtOAc (3 x 15 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. La purificación final mediante cromatografía en columna permitió obtener **III.6** (200 mg, 84%) como un aceite marrón. IR (film, ν): 3458, 3441, 2949, 2846, 2304, 2080, 1745, 1693, 1556, 1494, 1294, 1172, 905. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ : 2,49 (t, 2H, $J = 7,8$, H-2'), 2,76 (t, 2H, $J = 7,8$, H-1'), 3,40* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,42* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,59 (s, 3H, CO₂CH₃) 5,01# (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 5,07# (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 6,47 (s, 1H, H-6), 6,77 (s, 1H, H-3). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ : 24,5 (C-1'), 33,5 (C-2'), 50,4 (CO₂CH₃), 55,0* (-OCH₂OCH₃), 55,2* (-OCH₂OCH₃), 94,5# (-OCH₂OCH₃), 94,7# (-OCH₂OCH₃), 103,3 (C-3), 115,9 (C-6), 122,7 (C-1), 130,2 (C-5), 142,7 (C-4), 146,7 (C-2), 172,2 (CO₂CH₃).

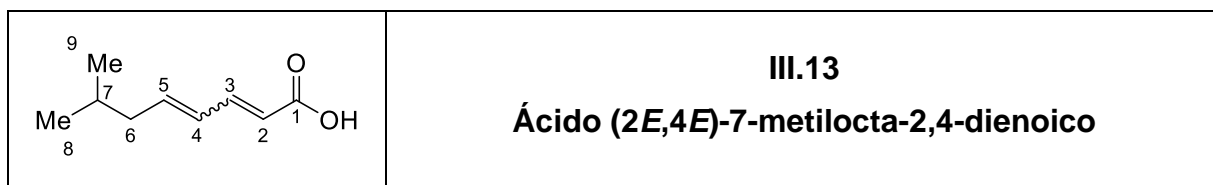


A una solución agitada de trifenilfosfina (668 mg, 2,55 mmol) en tolueno anhidro (4,5 mL) se adicionó 4-bromocrotonato de metilo (300 μ L, 2,55 mmol) gota a gota. Se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 18 h. Los sólidos se separaron por filtración al vacío y se lavaron con tolueno. Se transfirió a un balón y se secó en bomba de vacío durante 10 minutos. Luego se agregó agua (1 mL), 1 gota de indicador fenolftaleína y una solución saturada de Na₂CO₃ (40 mL). Se observó el

viraje del indicador, en este caso el color característico se encontró enmascarado y se vio una coloración naranja. Se agregó solución saturada de NaCl (10 mL) y se realizó una extracción con CH₂Cl₂ (3 x 20 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida para dar un glass color naranja **III.10**. (537 mg, 59%).

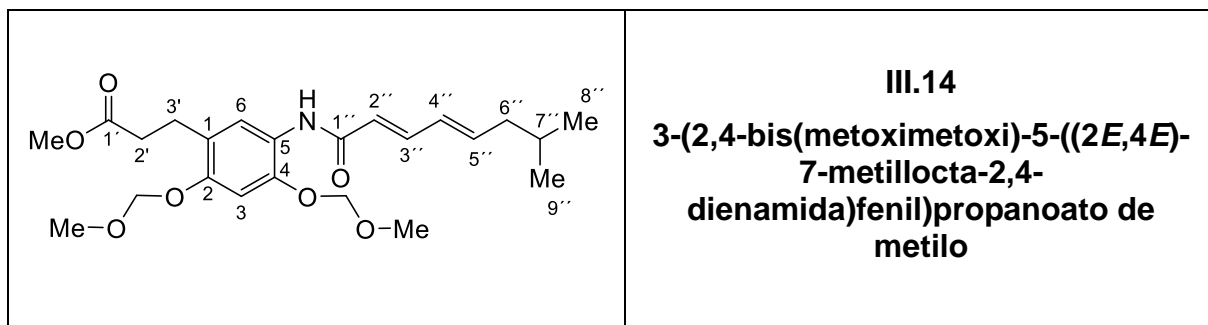


En un balón conteniendo **III.10** (109 mg, 0,30 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ (1,5 mL) se le agregó isovaleraldehído (55 µL, 0,50 mmol) a 0°C. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente con agitación vigorosa por 2 h. Transcurrido ese tiempo, se observó la finalización de la reacción por CCD (Hexano-AcOEt 95:5) y se procedió a evaporar el solvente. Se añadió solución saturada de NaCl (10 mL) y los productos se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. La cromatografía en columna permitió obtener el ácido **III.12** como un aceite incoloro. (25 mg, 50%). IR (film, ν): 2956, 2931, 2852, 1728, 1697, 1469, 1435, 1369, 1303, 1269, 1172, 1035, 981. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 0,89 (d, *J* = 6,5, 6H, H-8 y H-9), 1,61-1,72 (m, 1H, H-7), 2,05 (t, *J* = 6,5, 2H, H-6), 3,72 (s, 3H, CO₂CH₃), 5,78 (d, *J* = 15,5, 1H, H-2), 6,03-6,20 (m, 2H, H-4 y H-5), 7,21-7,30 (m, 1H, H-3). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ: 22,3 (C-8 y C-9), 28,2 (C-7), 42,2 (C-6), 51,4 (CO₂CH₃), 118,7 (C-2), 143,5 (C-5), 145,2 (C-3), 167,7 (CO₂CH₃).



Una solución agitada de **III.12** (41 mg, 0,28 mmol) en THF fue tratada con NaOH al 30% (3,5 mL) y se calentó por 1 h a 100°C. A continuación, se dejó en agitación a temperatura ambiente por 18 h. Confirmada la finalización de la reacción por CCD (Hexano-AcOEt 95:5), se acidificó con HCl 2N hasta pH=2. Luego se agregó

solución saturada de NaCl (5 mL) y los productos de reacción se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x 15 mL). Las fases orgánicas reunidas se secaron sobre MgSO₄ y luego se concentraron a presión reducida. La cromatografía en columna permitió obtener el ácido **III.13** como un sólido blanco con P.f.: 45 - 47°C. IR (KBr, ν): 3194, 3091, 2954, 2727, 2619, 2594, 1712, 1693, 1643, 1454, 1301, 1278, 1002. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ : 0,89 (d, $J = 6,5$, 6H, H-8 y H-9), 1,61-1,72 (m, 1H, H-7), 2,00-2,08 (m, 2H, H-6), 5,77 (d, $J = 15,2$, 1H, H-2), 6,08-6,23 (m, 2H, H-4 y H-5), 7,29-7,36 (m, 1H, H-3). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ : 22,3 (C-8 y C-9), 28,2 (C-7), 42,3 (C-6), 118,3 (C-2), 129,2 (C-4), 145,0 (C-5), 147,4 (C-3), 172,2 (CO₂CH₃).



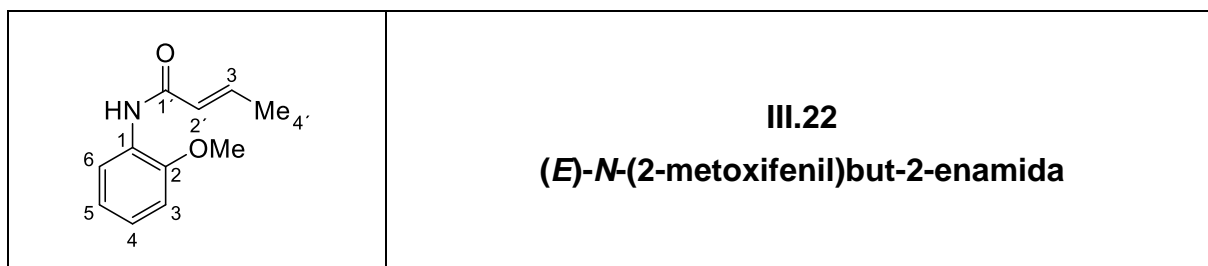
Una solución de **III.13** (12 mg, 0,08 mmol) en CH₂Cl₂ (1,5 mL), DMF (4,4 μ L, 0,06 mmol), piridina (23 μ L, 0,28 mmol) se dejó en agitación a temperatura ambiente 1 h. Se agregó gota a gota una solución de **III.5** disuelto en CH₂Cl₂ (1,5 mL) y luego, se llevó la mezcla a -10°C y se adicionó gota a gota POCl₃. Se agitó a temperatura ambiente por 22 h. La reacción se monitoreó por CCD (Hexano-AcOEt 60:40 *p*-anisaldehído) hasta observar desaparición de material de partida. Una vez finalizada, se añadió solución saturada de NaCl (5 mL) y los productos se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. La cromatografía en sílica gel permitió obtener **III.14** (12 mg, 39%) como un sólido marrón. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ : 0,91 (d, $J = 6,5$, 6H, H-8'' y H-9''), 1,62-1,77 (m, 1H, H-7''), 2,05 (t, $J = 6,5$, 2H, H-6''), 2,60 (t, 2H, $J = 7,9$, H-2'), 2,91 (t, 2H, $J = 7,8$, H-3'), 3,47* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,49* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,68 (s, 3H, CO₂CH₃) 5,14# (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 5,18# (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 5,92 (d, $J = 14,9$, 1H, H-2''), 6,05-6,23 (m, 2H, H-4'' y H-5''), 6,92 (s, 1H, H-3), 7,21-7,30 (m, 1H, H-3''), 7,60 (s, 1H, N-H), 8,26 (s, 1H, H-6). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ : 21,3 (C-8'' y C-9''), 24,6 (C-2'), 27,3 (C-7''), 33,4 (C-3'), 41,3 (C-6''), 50,5 (CO₂OCH₃), 55,1* (-OCH₂OCH₃), 55,4* (-OCH₂OCH₃),

93,8# (-OCH₂CH₃), 94,7# (-OCH₂CH₃), 101,3 (C-3), 120,6 (C-6), 121,2 (C2''), 121,8 (C-5), 122,2 (C-1), 127,2 (C-4'), 141,1 (C-3'), 141,6 (C-5'), 162,2 (C-1'), 172,6 (CO₂CH₃).

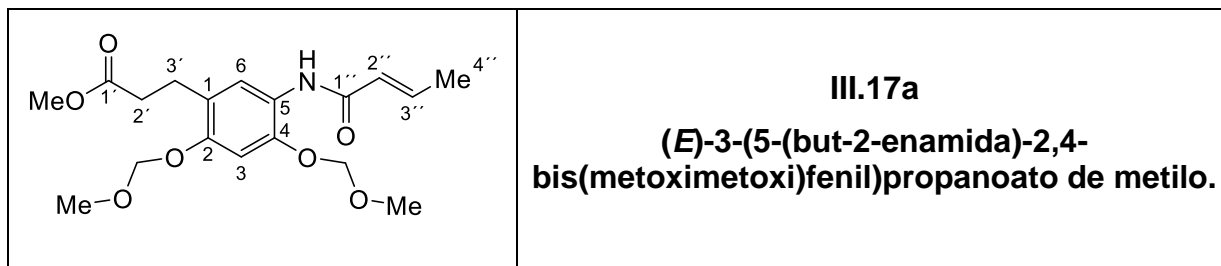
Síntesis de análogos de carpatamida A

Procedimiento general para la reacción de amidación

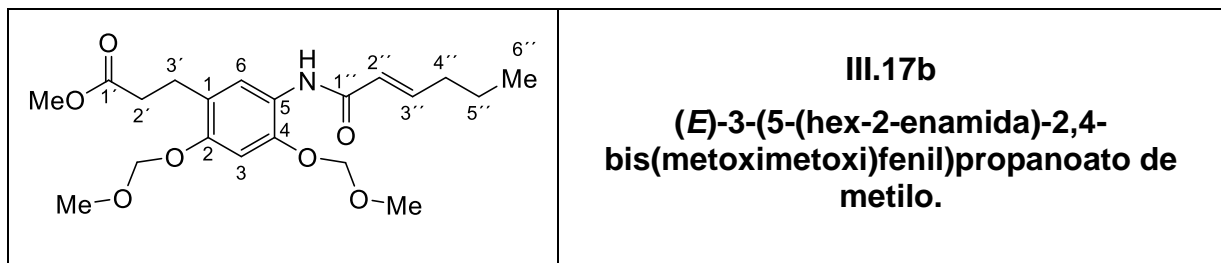
Una solución de P(OMe)₃ (1,5 equiv.) disuelto en CH₂Cl₂ se llevó a 0°C y luego se agregó I₂ (1,5 equiv.) y se agitó vigorosamente hasta observar la disolución total. Se adicionó el ácido correspondiente (1,5 equiv.) y Et₃N (2,5 equiv.) y se agitó durante 10 minutos a 0°C. Se adicionó la amina (1 equiv.) y se agitó durante 10 minutos más. Se dejó agitando a temperatura ambiente. La reacción se monitoreó por CCD hasta observar la desaparición del material de partida. Una vez finalizada, se añadió solución saturada de NaCl (5 mL) y los productos se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con mezclas de hexano y EtOH.



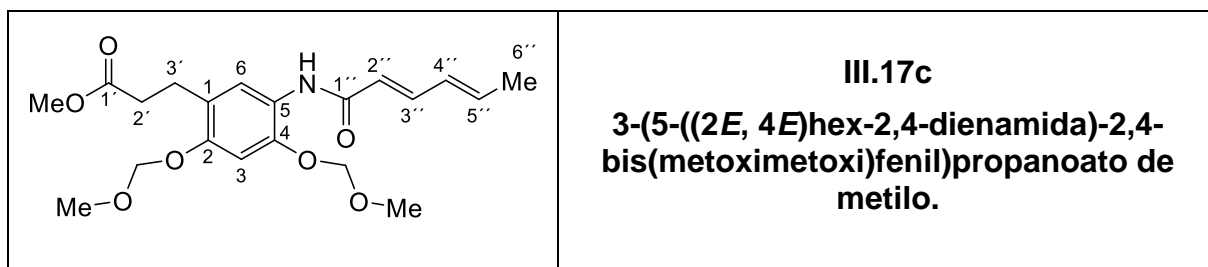
28 mg, 75%, aceite marrón. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ: 1,91 (dd, *J* = 1,5 y 6,8, 3H, H-4'), 3,87 (s, 3H, -OCH₃), 5,94 (dd, *J* = 1,5 y 14,9, 1H, H-2'), 6,87 (dd, *J* = 1,5 y 7,7, 1H, H-3), 6,90-7,07 (m, H-4, H-5, 3H, H-3'), 7,70 (s, 1H, N-H), 8,44 (d, *J* = 7,7, 1H, H-6). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ: 17,8 (C-4'), 55,6 (OCH₃), 109,8 (C3), 119,9 (C-6), 121,1 (C-5), 123,4 (C-4), 125,8 (C-2'), 127,8 (C-1), 141,0 (C-3'), 147,2 (C-2), 163,7 (C-1').



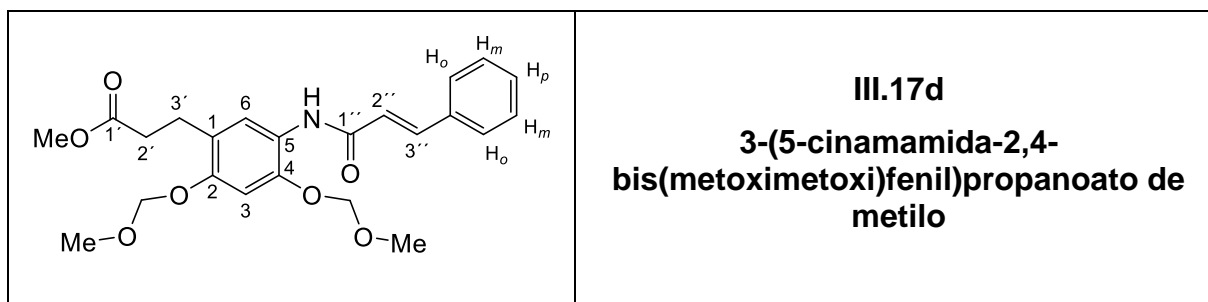
38 mg, 92%. Sólido amarillo. P.f.: 95 - 97°C. IR (KBr, ν): 3545, 3473, 3446, 3311, 2954, 2914, 2848, 1735, 1672, 1533, 1481, 1382, 1273, 1184, 1053, 991, 887. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,91 (dd, $J = 1,6$ y $6,9$, 3H, H-4''), 2,60 (t, $J = 8,1$, 2H, H-2'), 2,91 (t, $J = 8,1$, 2H, H-3'), 3,47* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 3,49* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 3,68 (s, 3H, CO_2CH_3), 5,14# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 5,18# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 5,97 (dq, $J = 1,6$ y $15,2$, 1H, H-2''), 6,89-7,01 (dq, $J = 6,9$ y $15,2$, 1H, H-3''), 6,92 (s, 1H, H-3), 7,57 (s, 1H, N-H), 8,24 (s, 1H, H-6). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 17,8 (C-4''), 25,6 (C-3'), 34,4 (C-2'), 51,5 (CO_2CH_3), 56,1* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 56,4* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 94,8# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 95,7# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 102,1 (C-3), 121,7 (C-6), 122,6 (C-5), 123,2 (C-1), 125,7 (C-2'), 140,8 (C-3''), 145,2 (C-4), 151,2 (C-2), 163,4 (C-1''), 173,6 (CO_2CH_3).



41,8 mg, 57%. Sólido blanco. P.f.: 103 - 105°C. IR (KBr, ν): 3525, 3466, 3412, 3311, 2956, 2924, 1734, 1668, 1534, 1436, 1321, 1205, 1149, 1111, 1054, 984, 877. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 0,95 (t, $J = 7,3$, 3H, H-6''), 1,52 (sext., $J = 7,3$, 2H, H-5''), 2,22 (q, $J = 6,9$, 2H, H-4''), 2,60 (t, $J = 7,9$, 2H, H-2'), 2,91 (t, $J = 7,9$, 2H, H-3'), 3,47* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 3,49* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 3,68 (s, 3H, CO_2CH_3), 5,14# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 5,19# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 5,93 (d, $J = 15,2$, 1H, H-2''), 6,09-6,90 (m, 1H, H-3''), 6,92 (s, 1H, H-3), 7,58 (s, 1H, N-H), 8,25 (s, 1H, H-6). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 13,7 (C-6''), 21,5 (C-5''), 25,6 (C-3'), 34,1 (C-4''), 34,4 (C-2'), 51,5 (CO_2CH_3), 56,1* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 56,5* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 94,8# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 95,7# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 102,1 (C-3), 121,6 (C-6), 122,7 (C-5), 123,2 (C-1), 124,3 (C-2'), 145,2 (C-4), 145,7 (C-3''), 163,5 (C-1''), 173,5 (CO_2CH_3).

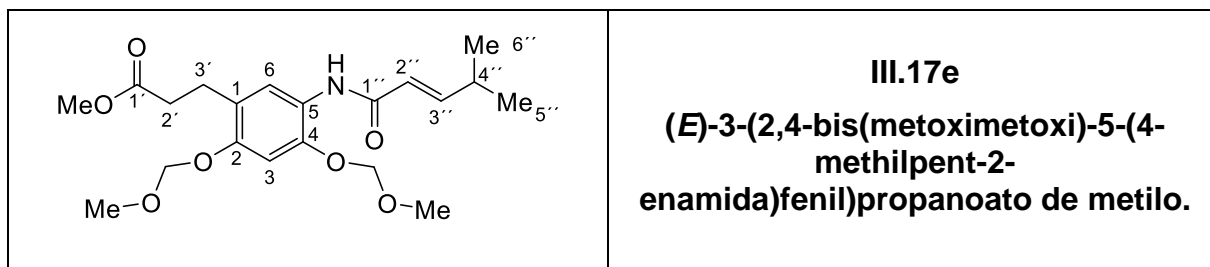


20 mg, 30%. Aceite color ámbar. IR (film, ν): 3545, 3466, 3414, 3288, 2956, 2916, 1726, 1656, 1614, 1533, 1442, 1348, 1261, 1114, 1078, 989. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,86 (d, $J = 6,1$, 3H, H-6''), 2,60 (t, $J = 8,7$, 2H, H-2'), 2,91 (t, $J = 8,7$, 2H, H-3'), 3,47* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 3,49* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 3,68 (s, 3H, CO_2CH_3) 5,14# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 5,19# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 5,91 (d, $J = 14,9$, 1H, H-2''), 6,00-6,26 (m, 2H, H-4'' y H-5''), 6,92 (s, 1H, H-3), 7,24 (m, 1H, H-3''), 7,60 (s, 1H, N-H), 8,20 (s, 1H, H-6). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 18,6 (C-6''), 25,6 (C-3'), 34,4 (C-2'), 51,5 (CO_2Me), 56,1* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 56,5* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 94,8# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 95,7# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 102,1 (C-3), 121,6 (C-6), 122,0 (C-2''), 122,8 (C-5), 123,2 (C-1), 129,6 (C-4''), 134,8 (H-5''), 142,0 (C-3''), 145,2 (C-4), 151,2 (C-2), 163,9 (C-1''), 173,6 (CO_2CH_3).



25 mg, 48%. Sólido ámbar. P.f: 115 - 117°C. IR (KBr, ν): 3417, 3338, 2951, 2929, 2848, 1737, 1732, 1681, 1487, 1217, 995. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 2,62 (t, $J = 7,9$, 2H, H-2'), 2,94 (t, $J = 7,9$, 2H, H-3'), 3,48* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3,51* (s, 3H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$), 3,69 (s, 3H, CO_2CH_3) 5,16# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 5,22# (s, 2H, $-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 6,56 (d, $J = 15,9$, 1H, H-2''), 6,95 (s, 1H, H-3), 7,26-7,77 (m, 6H, H-3'', H_o, H_m, H_p), 7,70 (s, 1H, N-H), 8,32 (s, 1H, H-6). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 25,6 (C-3'), 34,4 (C-2'), 51,5 (CO_2Me), 56,1* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 56,5* ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 94,8# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 95,8# ($-\text{OCH}_2\text{OCH}_3$), 102,1 (C-3), 121,2 (C-2''), 121,7 (C-6)

122,6 (C-5), 123,2 (C-1), 127,9 (C_o), 128,8 (C_m), 129,8 (C_p), 134,0 (C-3''-C), 141,8 (C-3''), 145,3 (C-4), 151,4 (C-2), 163,3 (C-1''), 173,6 (CO₂CH₃).

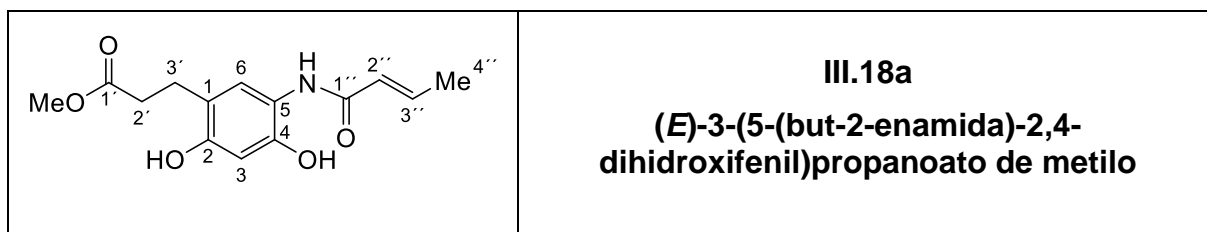


19 mg, 31%. Sólido blanco. P.f.: 118-120 °C. IR (KBr, ν): 3360, 3315, 2956, 2922, 2829, 1734, 1668, 1533, 1436, 1321, 1207, 1165, 1051, 918. Espectro de RMN de ¹H (CDCl₃) δ : 1,09 (d, $J = 6,6$, 6H, H-5'' y H-6''), 2,43-2,55 (m, 1H, H-4''), 2,62 (t, $J = 8,0$, 2H, H-2'), 2,94 (t, $J = 8,0$, 2H, H-3'), 3,47* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,50* (s, 3H, -OCH₂OCH₃), 3,68 (s, 3H, CO₂CH₃) 5,14[#] (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 5,19[#] (s, 2H, -OCH₂OCH₃), 5,87 (dd, $J = 1,4$ y $15,2$, 1H, H-2''), 6,90-6,92 (m, 1H, H-3''), 6,92 (s, 1H, H-3), 7,59 (s, 1H, N-H), 8,25 (s, 1H, H-6). Espectro de RMN de ¹³C (CDCl₃) δ : 21,4 (C-5'' y C-6''), 25,6 (C-3'), 30,8 (C-4''), 34,4 (C-2'), 51,5 (CO₂Me), 56,1* (-OCH₂OCH₃), 56,5* (-OCH₂OCH₃), 94,8[#] (-OCH₂OCH₃), 95,7[#] (-OCH₂OCH₃), 102,1 (C-3), 121,4 (C-2''), 121,7 (C-6), 122,7 (C-5), 123,2 (C-1), 145,3 (C-4), 151,2 (C-2), 152,1 (C-3''), 163,8 (C-1''), 173,6 (CO₂CH₃).

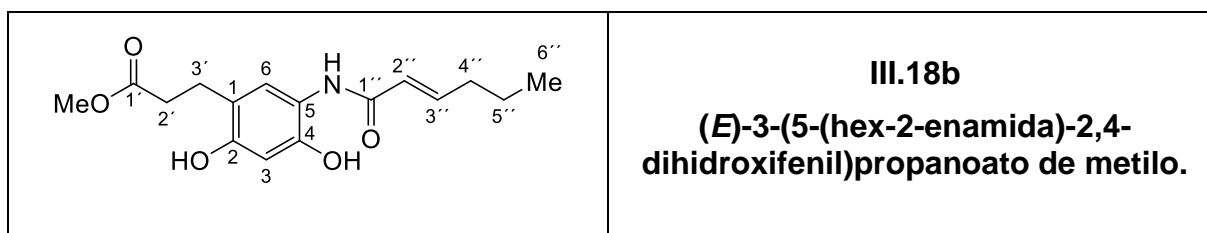
Procedimientos generales para la reacción de desprotección.

Procedimiento A

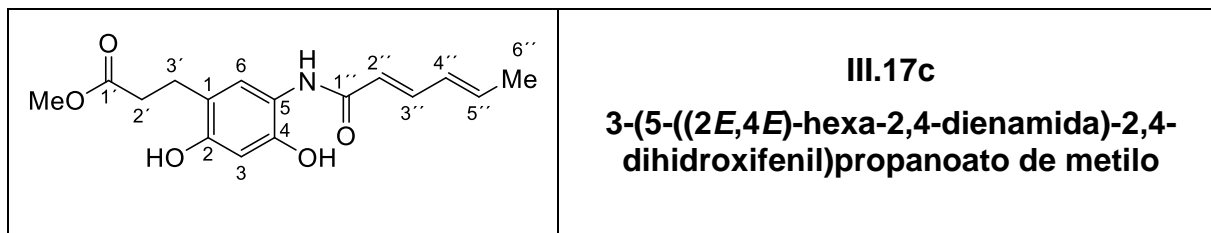
A una mezcla del producto protegido (1 equiv.) disuelto en THF, se agregó β -ciclodextrina (0,5 equiv.) disuelta en H₂O y CeCl₃·7H₂O (0,2 equiv.) Se calienta en microondas con una potencia de 300 W. La reacción se monitoreó por CCD hasta observar la desaparición del material de partida. Una vez finalizada, se añadió solución saturada de NaCl (5 mL) y los productos se extrajeron con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna, eluyendo con mezclas de hexano y EtOH.



10 mg, 67%. Aceite amarillo. IR (film, ν): 3389, 3270, 3172, 2968, 2941, 1714, 1687, 1566, 1454, 1346, 1279, 1111, 974, 883. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,92 (dd, $J = 1,4$ y $6,8$, 3H, H-4'), 2,63 (t, $J = 6,4$, 2H, H-2'), 2,78 (t, 2H, $J = 6,4$, H-3'), 3,67 (s, 3H, CO_2CH_3), 5,99 (dq, $J = 1,4$ y $14,9$, 1H, H-2''), 6,51 (s, 1H, H-3), 6,73 (s, 1H, H-6), 6,90* (s, 1H, O-H), 7,03 (dq, $J = 6,8$ y $14,9$, 1H, H-3''), 7,48 (s, 1H, N-H), 9,10* (s, 1H, O-H), Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 17,9 (C-4'), 24,2 (C-3'), 34,8 (C-2'), 51,5 (CO_2CH_3), 107,6 (C-3), 118,9 (C-5), 119,3 (C-1), 123,5 (C-2''), 123,9 (C-6), 143,4 (C-3''), 148,8 (C-4), 153,4 (C-2), 165,1 (C-1'), 175,7 (CO_2CH_3).



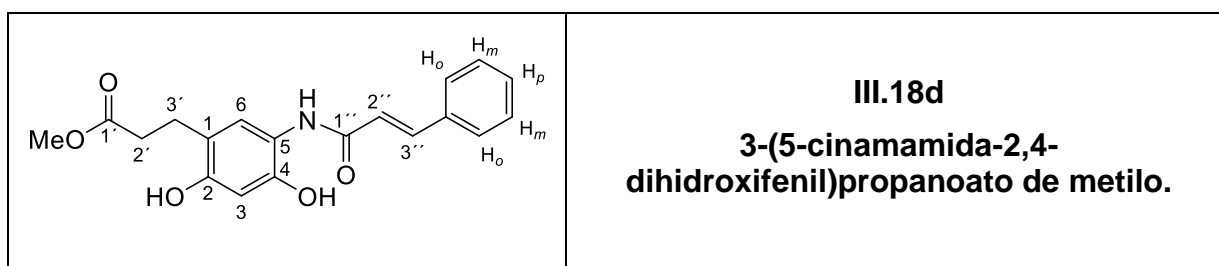
14 mg, 53%. Sólido blanco. P.f.: 124-126°C. IR (KBr, ν): 3379, 3280, 3182, 2958, 2931, 1714, 1697, 1556, 1444, 1336, 1269, 1111, 974, 883. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 0,95 (t, $J = 7,3$, 3H, H-6''), 1,50 (sext., $J = 7,3$, 2H, H-5''), 2,21 (q, $J = 6,9$, 2H, H-4''), 2,62 (t, $J = 6,5$, 2H, H-2'), 2,77 (t, $J = 6,5$, 2H, H-3'), 3,67 (s, 3H, CO_2Me), 5,97 (d, $J = 15,2$, 1H, H-2''), 6,49 (s, 1H, H-3), 6,74 (s, 1H, H-6), 6,90-7,00 (m, 2H, H-3'' y O-H*), 7,64 (s, 1H, N-H), 9,28 (s, 1H, O-H). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 13,6 (C-6''), 21,3 (C-5''), 24,3 (C-3'), 34,2 (C-4'), 34,8 (C-2'), 52,1 (CO_2CH_3), 107,4 (C-3), 118,5 (C-5), 119,1 (C-1), 122,2 (C-2''), 123,9 (C-6), 148,1 (C-4), 148,7 (C-3''), 153,2 (C-2), 165, (C-1'), 175,7 (CO_2CH_3).



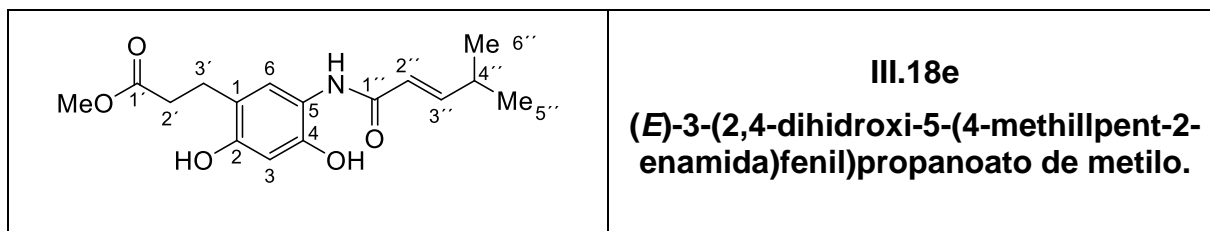
7,3 mg, 50%. Sólido amarillo. P.f.: 55-57°C. IR (KBr, ν): 3400, 3340, 3280, 2960, 2852, 1732, 1714, 1504, 1444, 1263, 1111, 1018, 800. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,83 (d, $J = 4,9$, 3H, H-6''), 2,64 (t, $J = 5,7$, 2H, H-2'), 2,79 (t, $J = 5,4$, 2H, H-3'), 3,67 (s, 3H, CO_2CH_3), 5,90 (d, $J = 15,2$, 1H, H-2''), 6,18-6,23 (m, 2H, H-4'' y H-5''), 6,52 (s, 1H, H-3), 6,75 (s, 1H, O-H), 6,69 (s, 1H, H-6), 7,24-7,38 (m, 2H, H-3'' y H-5''), 6,52 (s, 1H, H-3), 6,75 (s, 1H, O-H), 6,69 (s, 1H, H-6), 7,24-7,38 (m, 2H, H-3'' y H-5''). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 18,7 (C-6''), 24,0 (C-3'), 34,9 (C-2'), 52,2 (CO_2CH_3), 107,9 (C-3), 119,3 (C-1), 119,4 (C-2''), 123,8 (C-6), 129,4 (C-2''), 140,1 (C-5''), 144,1 (C-3'), 149,1 (C-4), 153,4 (C-2), 165,6 (C-1''), 175,7 (CO_2CH_3).

Procedimiento B.

A una mezcla del producto protegido (1 equiv.) disuelto en dioxano, se llevó a 0°C y se agregó una solución de HCl 4M en dioxano (4 equiv.), β -ciclodextrina (0,5 equiv.) disuelta en H_2O y $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2 equiv.) Se dejó en agitación a temperatura ambiente hasta finalizar la reacción. La reacción se monitoreó por CCD hasta observar la desaparición del material de partida. Una vez finalizada, se adicionó solución saturada de Na_2CO_3 hasta neutralizar. Luego, se añadió solución saturada de NaCl (5 mL) y los productos se extrajeron con CH_2Cl_2 (3 x 10 mL). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna eluyendo con mezclas de hexano y EtOH.



9,6 mg, 80%. Aceite amarillo. IR (film, ν): 3415, 3355, 3295, 2975, 2867, 1717, 1714, 1518, 1444, 1263, 1111, 1018, 800. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 2,66 (t, $J = 6,4$, 2H, H-2'), 2,81 (t, $J = 6,4$, 2H, H-3'), 3,68 (s, 3H, CO_2CH_3) 6,58 (d, $J = 15,6$, 1H, H-2''), 6,55 (s, 1H, H-3), 6,79 (s, 1H, H-6), 6,84 (s, 1H, O-H), 7,34-7,40 (m, 3H, H_o , H_p), 7,50-7,55 (m, 2H, H_m), 7,58 (s, 1H, N-H), 7,77 (d, $J = 15,6$, 1H, H-3''), 9,15*(s, 1H, O-H). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 24,0 (C-3'), 34,9 (C-2'), 52,2 (CO_2CH_3), 108,0 (C-3), 118,6 (C-2''), 118,9 (C-5), 119,5 (C-1), 123,9 (C-6), 128,0 (C_o), 128,9 (C_m), 129,9 (C_p), 134,2 (C-3''-C), 143,8 (C-3''), 149,1 (C-4), 153,6 (C-2), 165,1 (C-1''), 175,7 (CO_2CH_3).



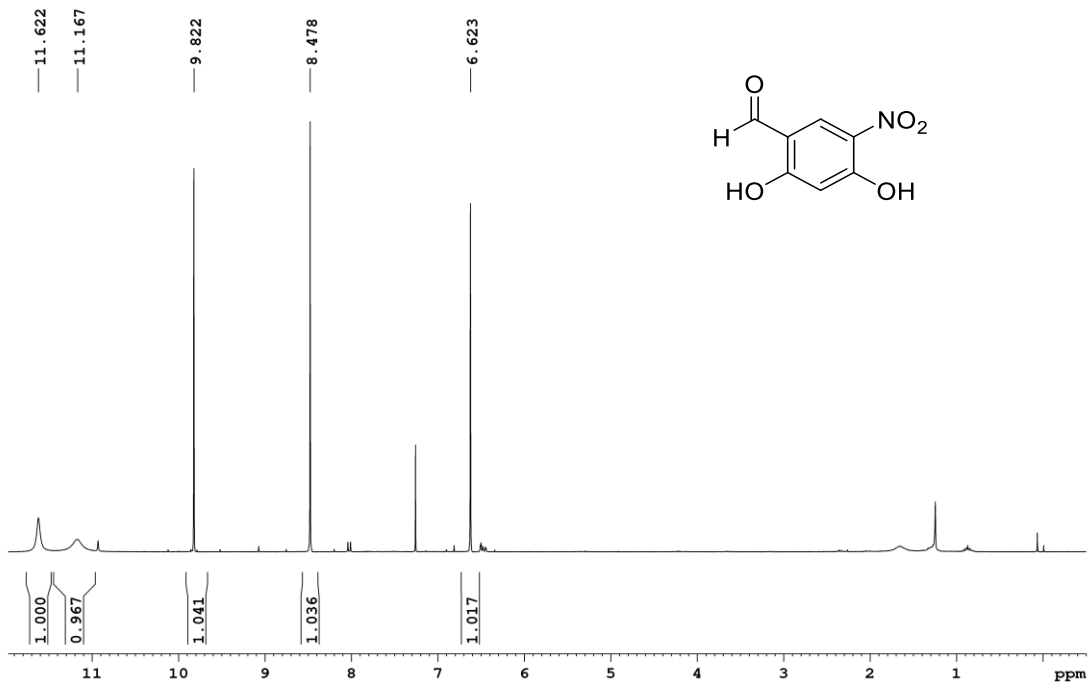
5 mg, 40%. Sólido blanco. Espectro de RMN de ^1H (CDCl_3) δ : 1,10 (d, $J = 6,6$, 6H, H-5'' y H-6''), 2,43-2,55 (m, 1H, H-4''), 2,64 (t, $J = 6,4$, 2H, H-2'), 2,94 (t, $J = 6,4$, 2H, H-3'), 3,69 (s, 3H, CO_2CH_3), 5,90 (dd, $J = 1,2$ y $15,1$, 1H, H-2''), 6,52 (s, 1H, H-3), 6,71 (s, 1H, H-6), 6,78 (s, 1H, O-H), 7,01 (dd, $J = 6,5$ y $15,1$, H-3''), 7,32 (s, 1H, N-H), 9,14 (s, 1H, O-H). Espectro de RMN de ^{13}C (CDCl_3) δ : 21,3 (C-5'' y C-6''), 24,0 (C-3'), 30,9 (C-4''), 34,9 (C-2'), 52,2 (CO_2CH_3), 107,9 (C-3), 118,9 (C-5), 119,3 (C-1 y C-2''), 123,8 (C-6), 149,1 (C-4), 153,2 (C-2), 154,5 (C-3''), 163,5 (C-1''), 175,7 (CO_2CH_3).

Capítulo VI:

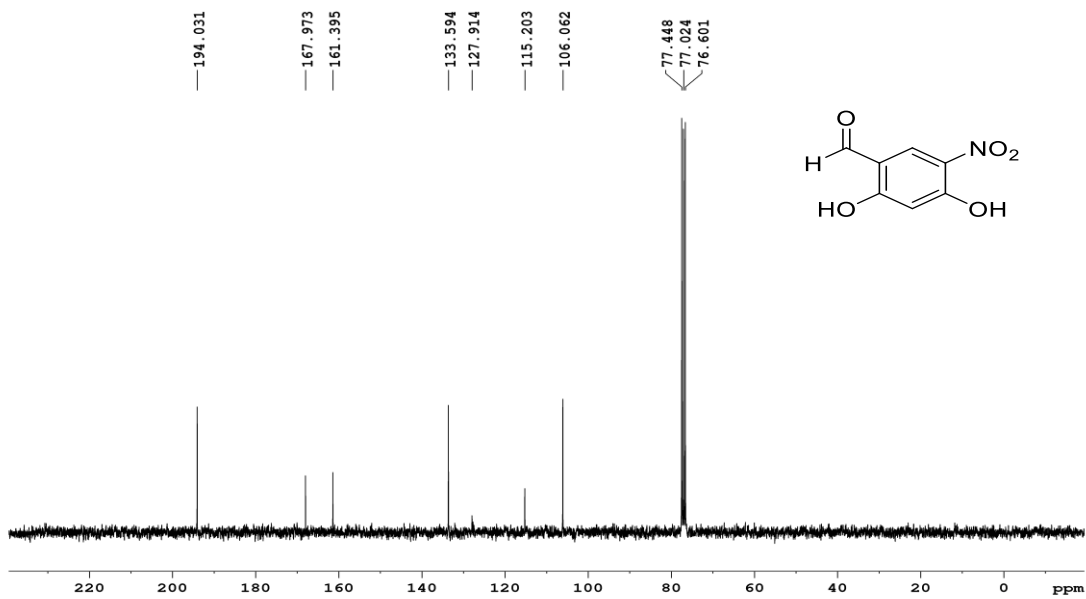
Espectros

Selectos

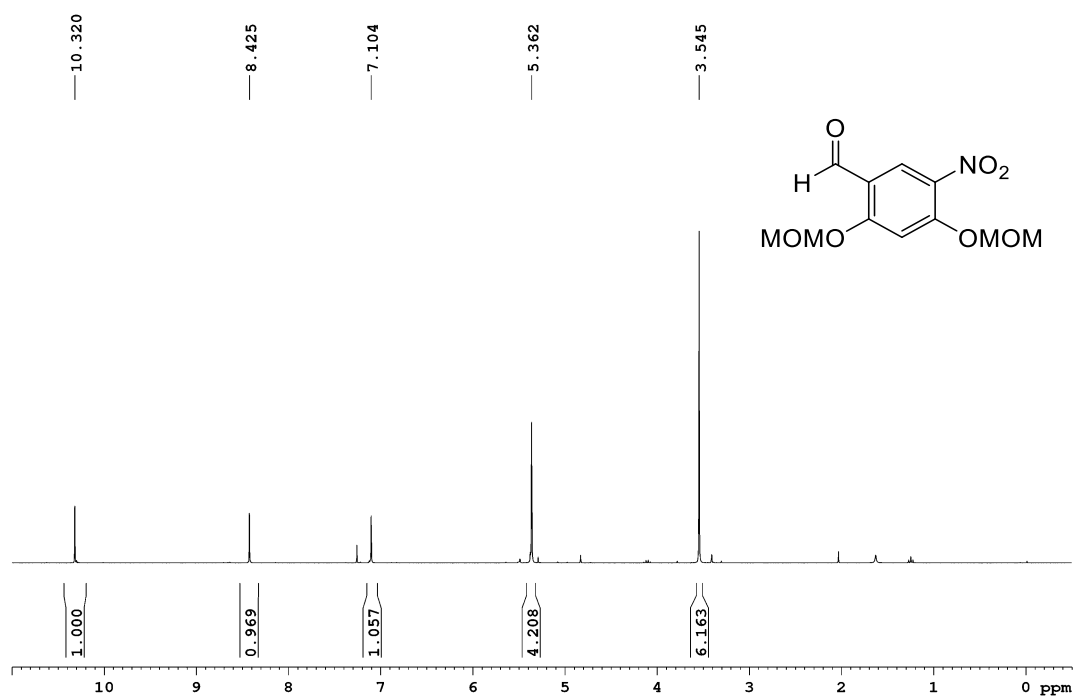
Capítulo IV: Espectros Selectos



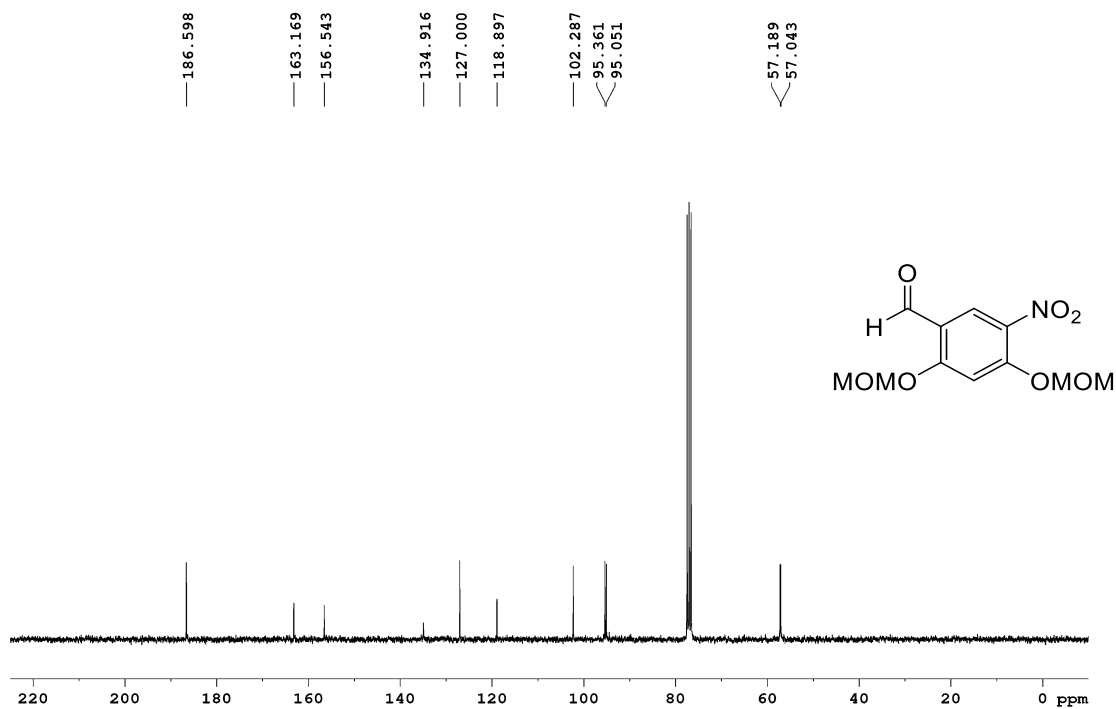
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.2



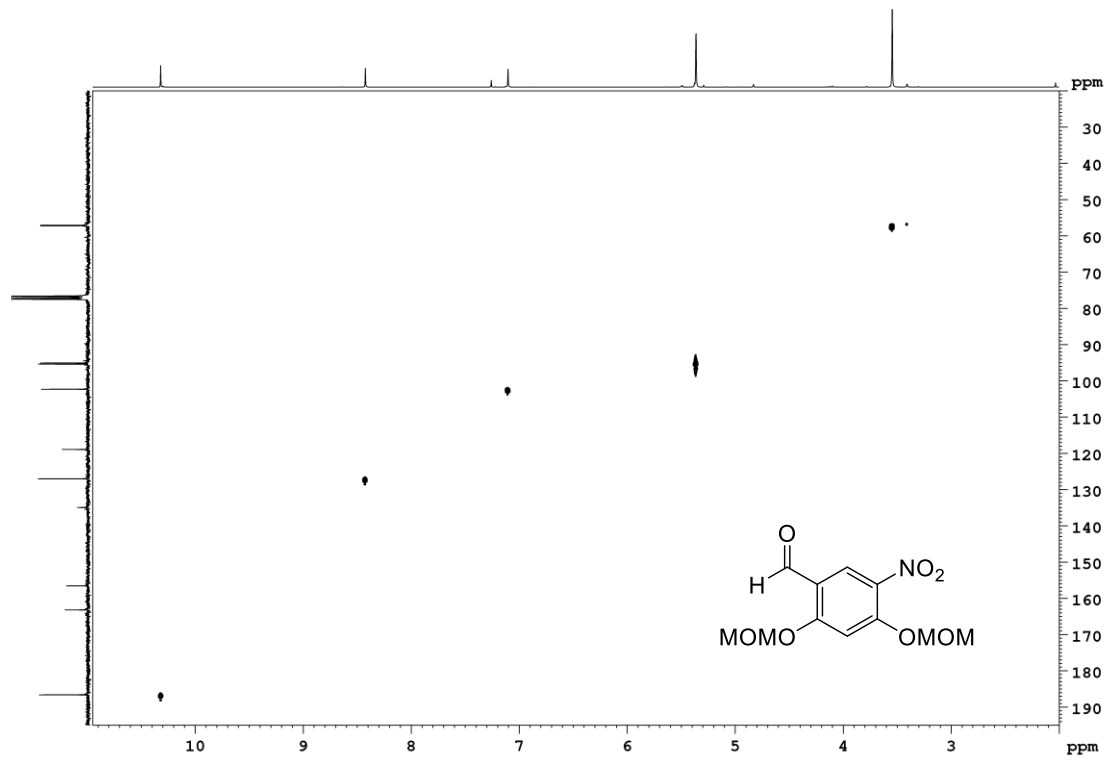
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.2



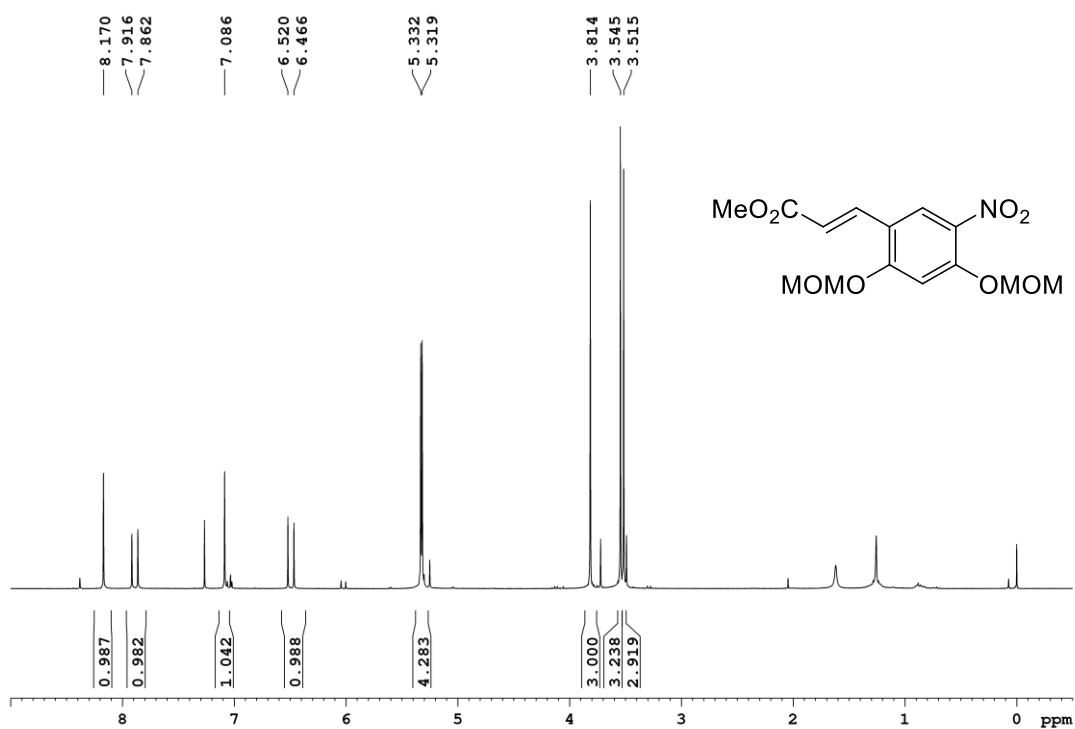
Espectro de RMN de ^1H del compuesto **III.3**



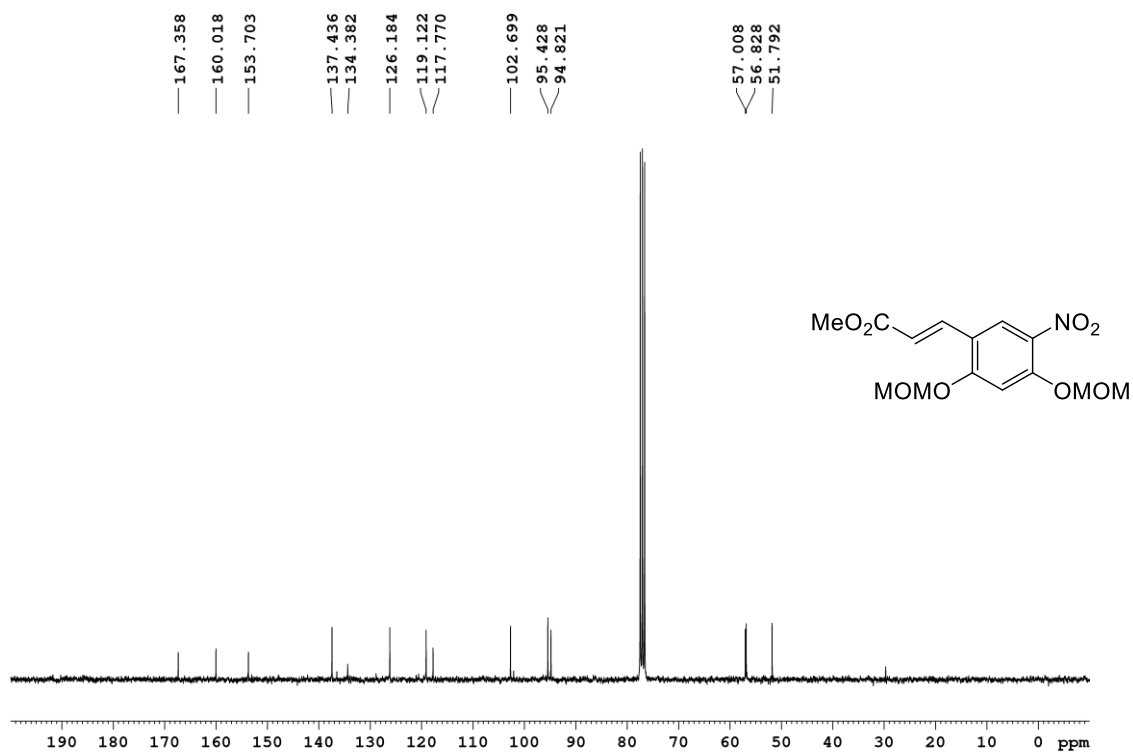
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto **III.3**



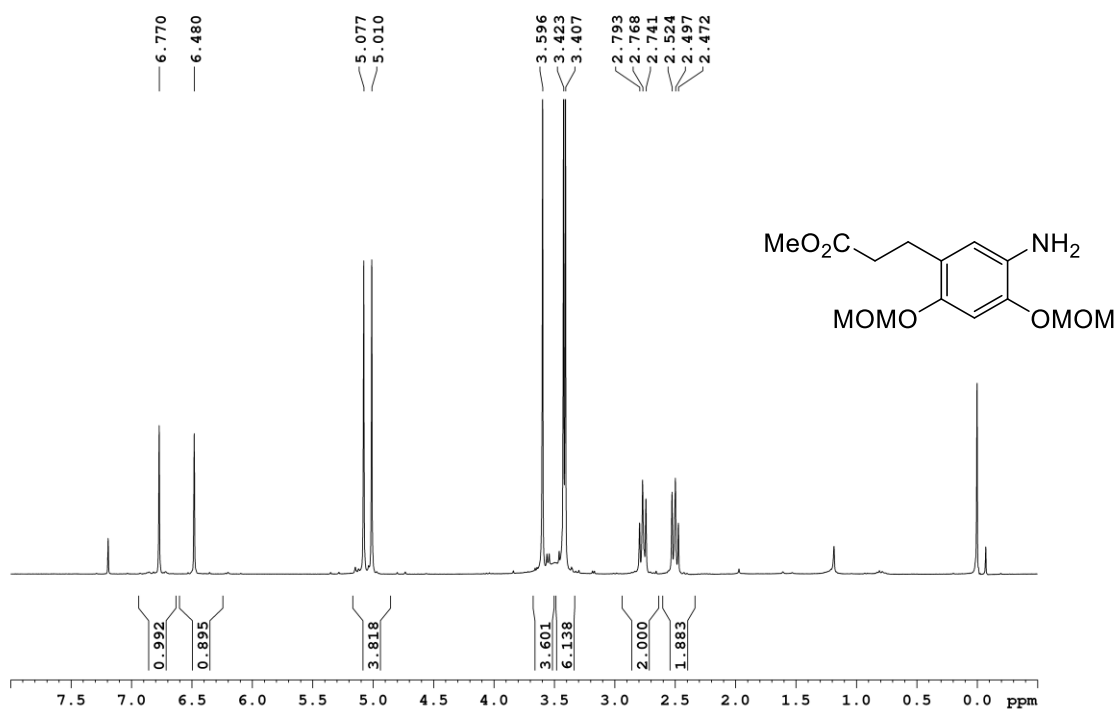
Espectro de HSQC del compuesto III.3



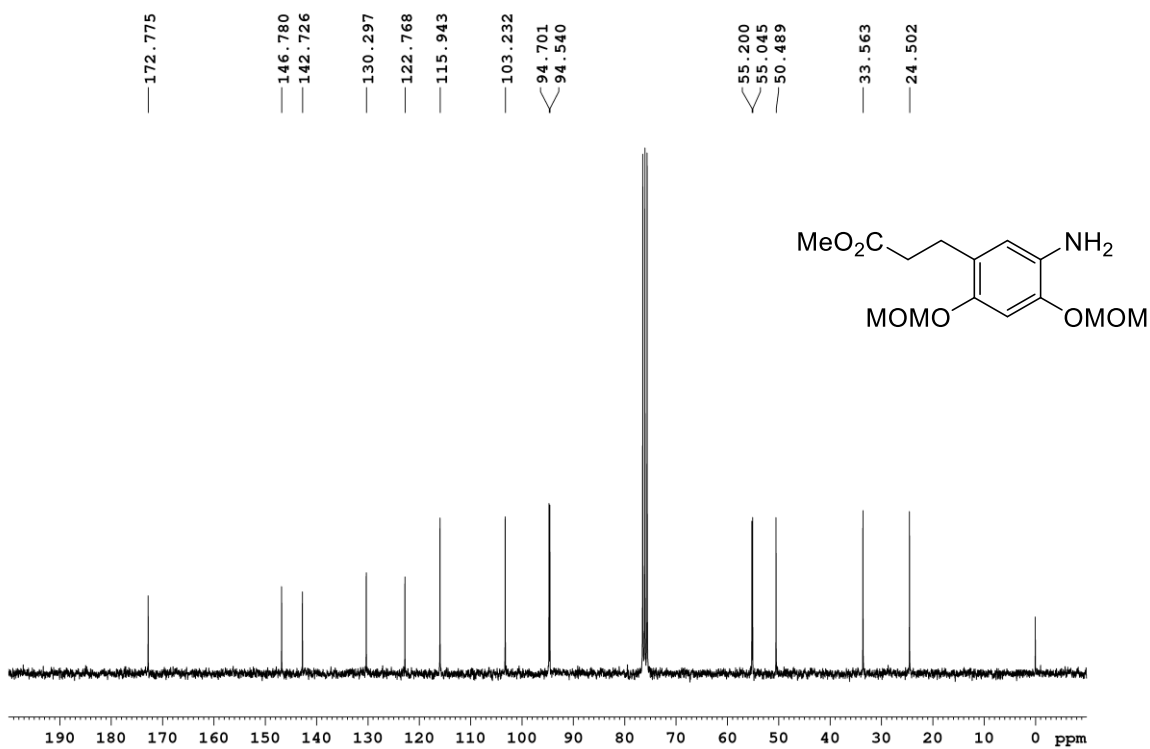
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.4



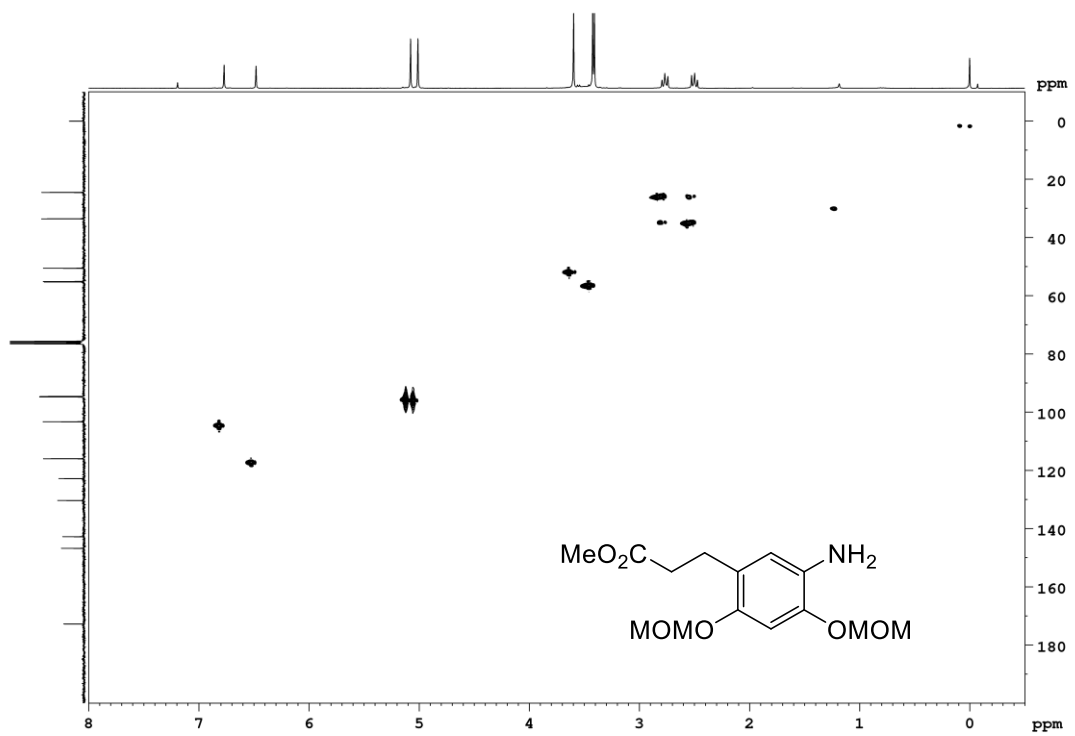
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.4



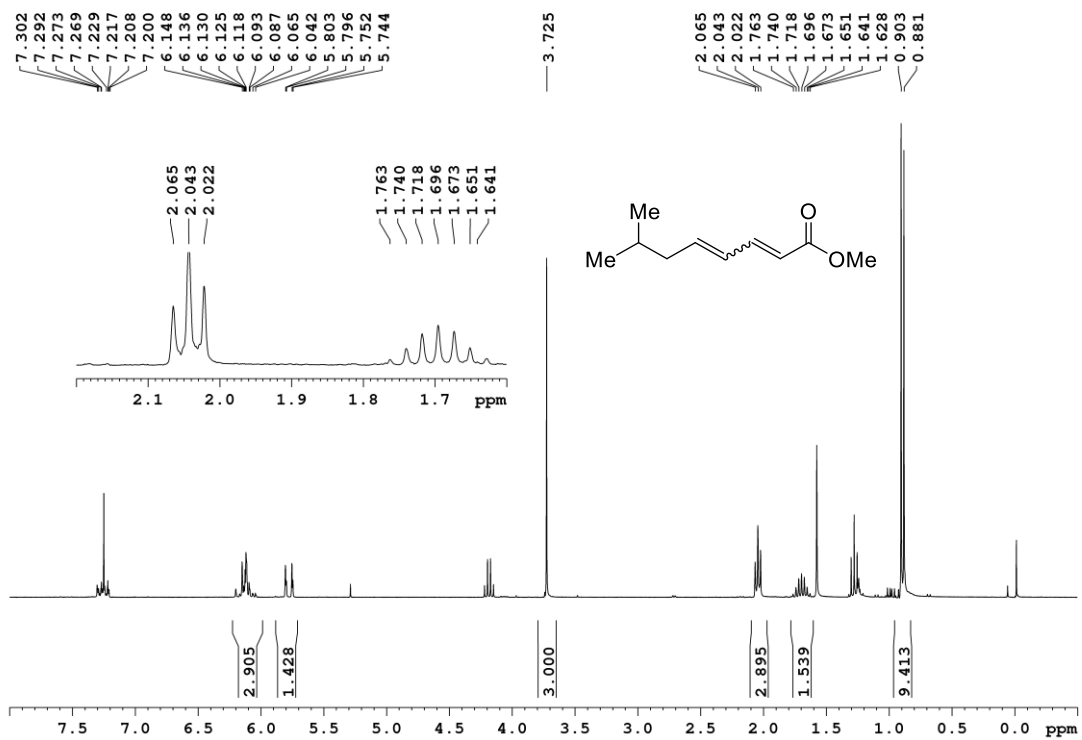
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.5



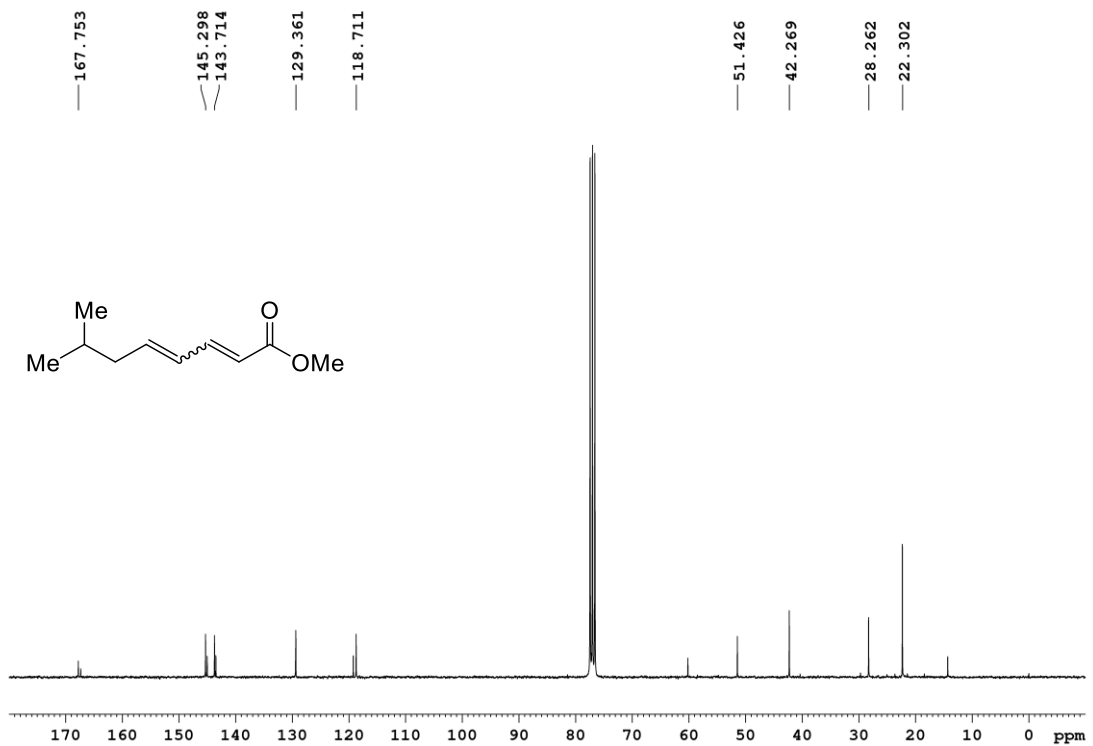
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.5



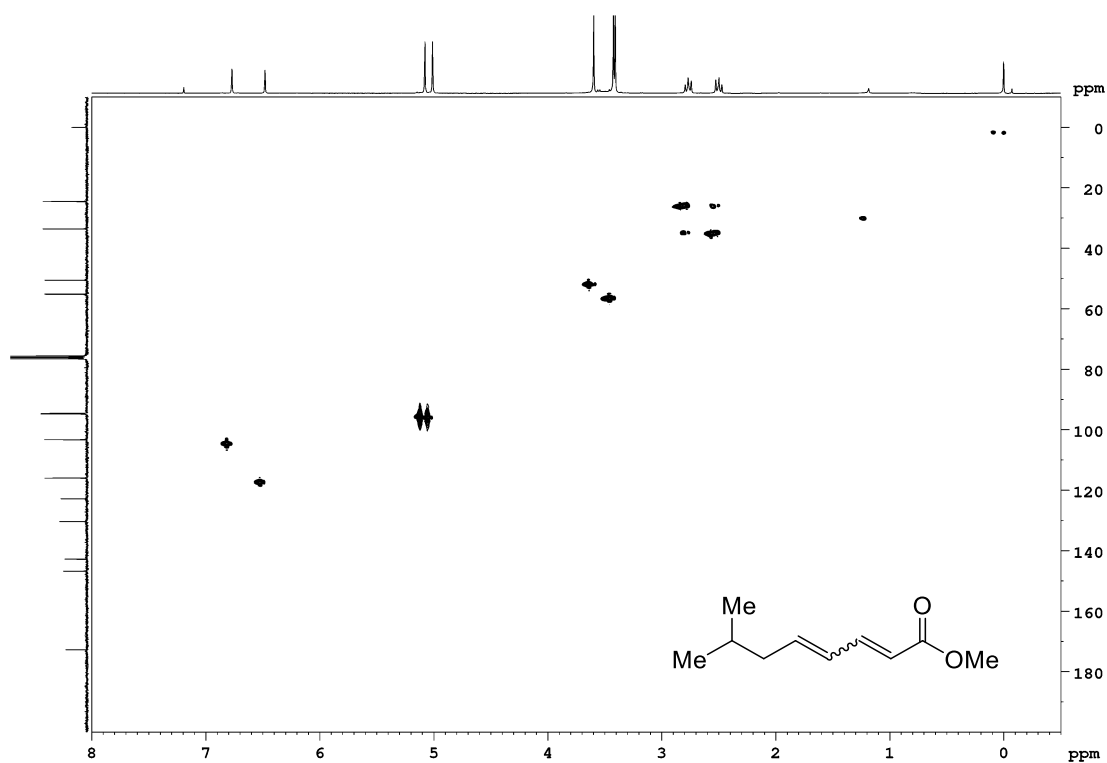
Espectro de HSQC del compuesto III.5



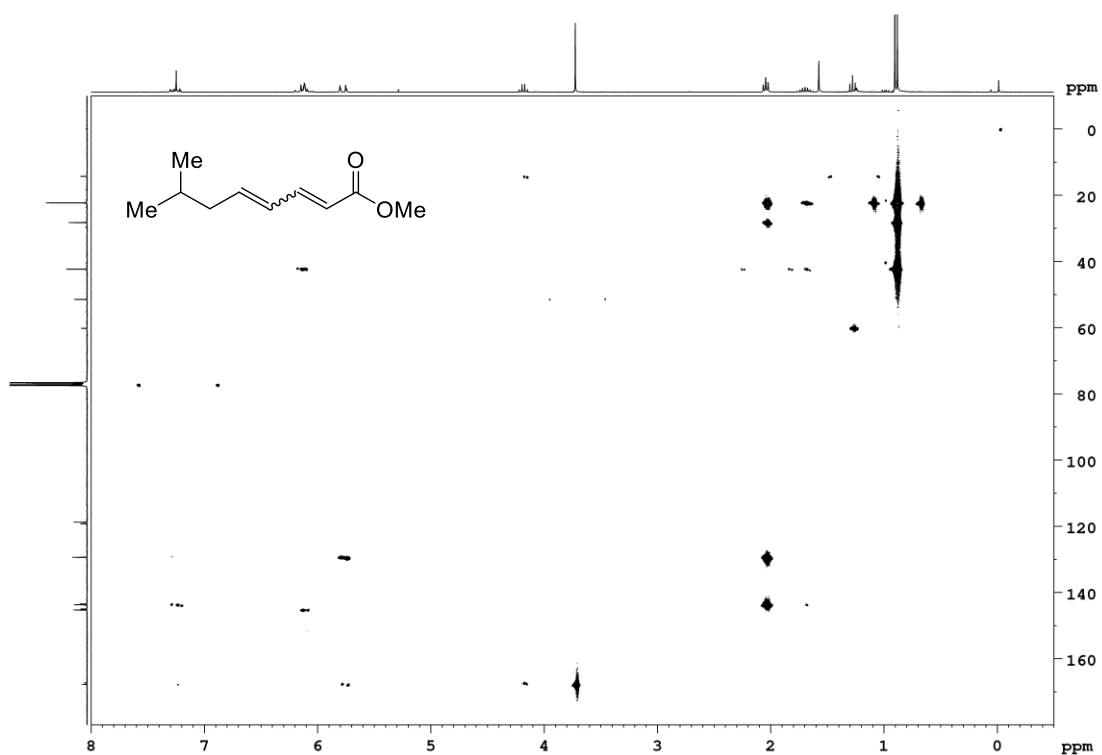
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.12



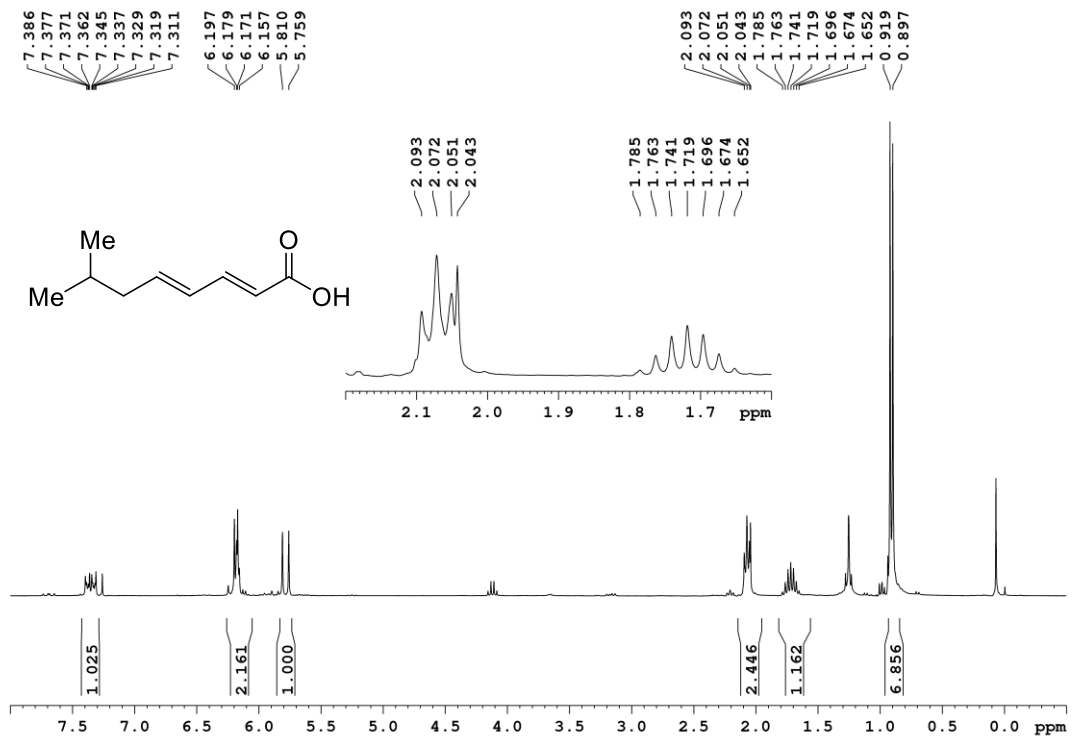
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.12



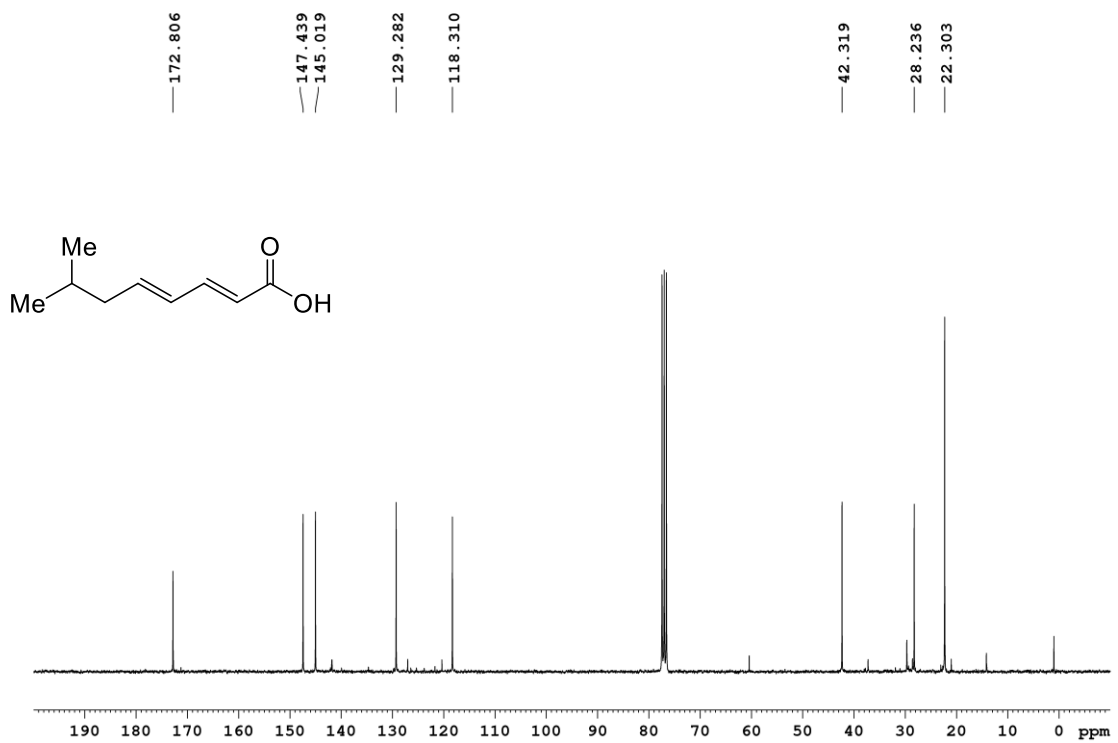
Espectro de HSQC del compuesto III.12



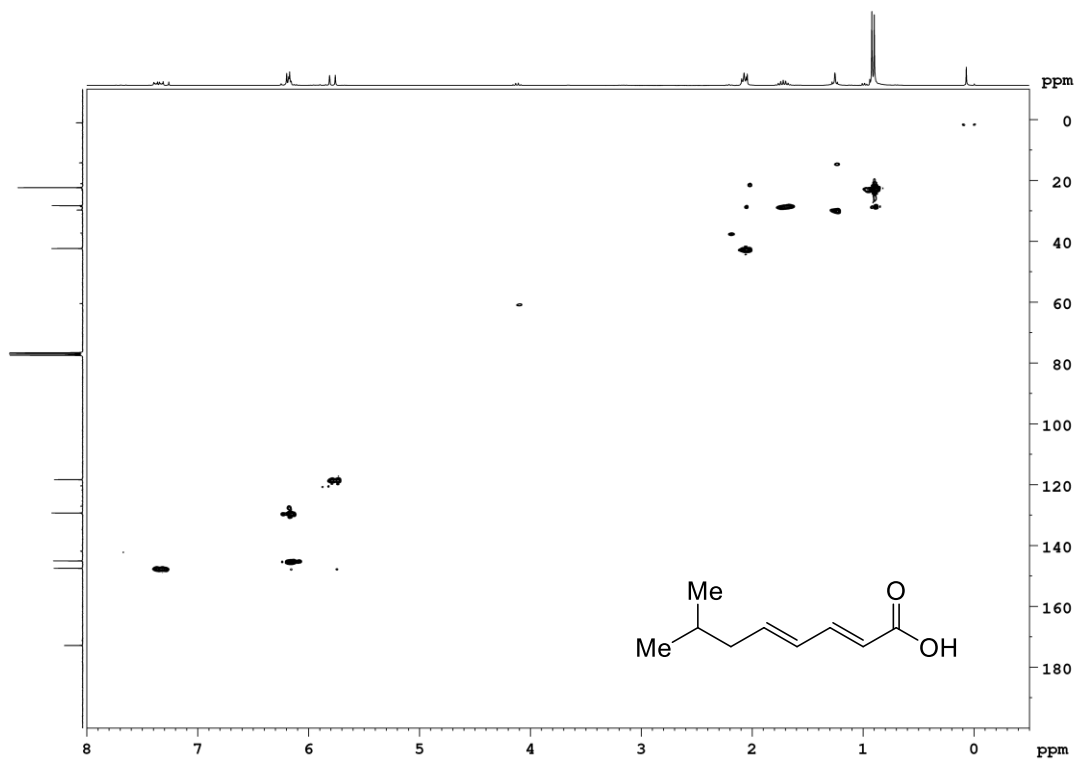
Espectro de HMBC del compuesto III.12



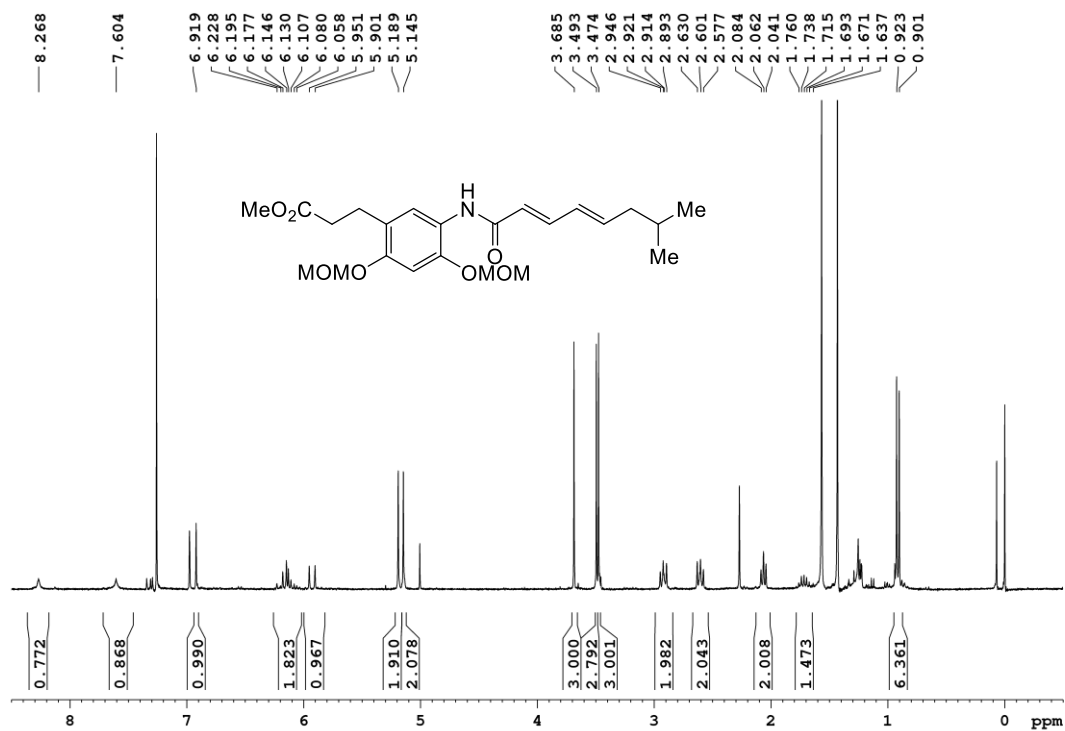
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.13



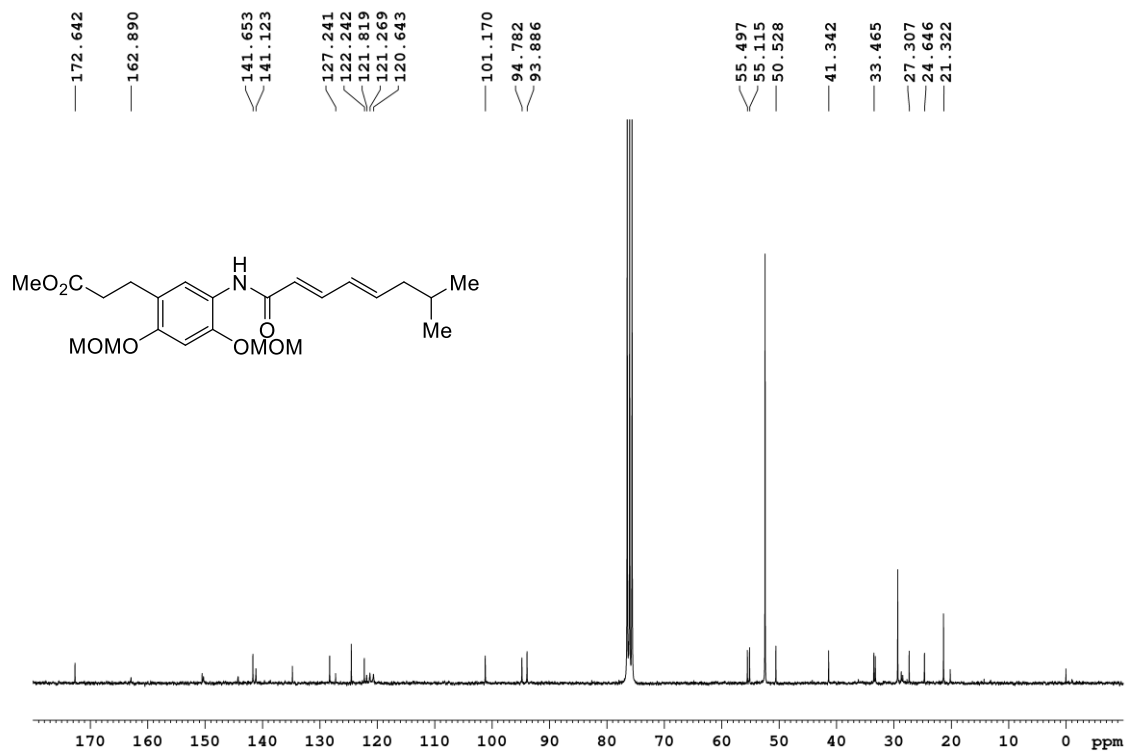
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.13



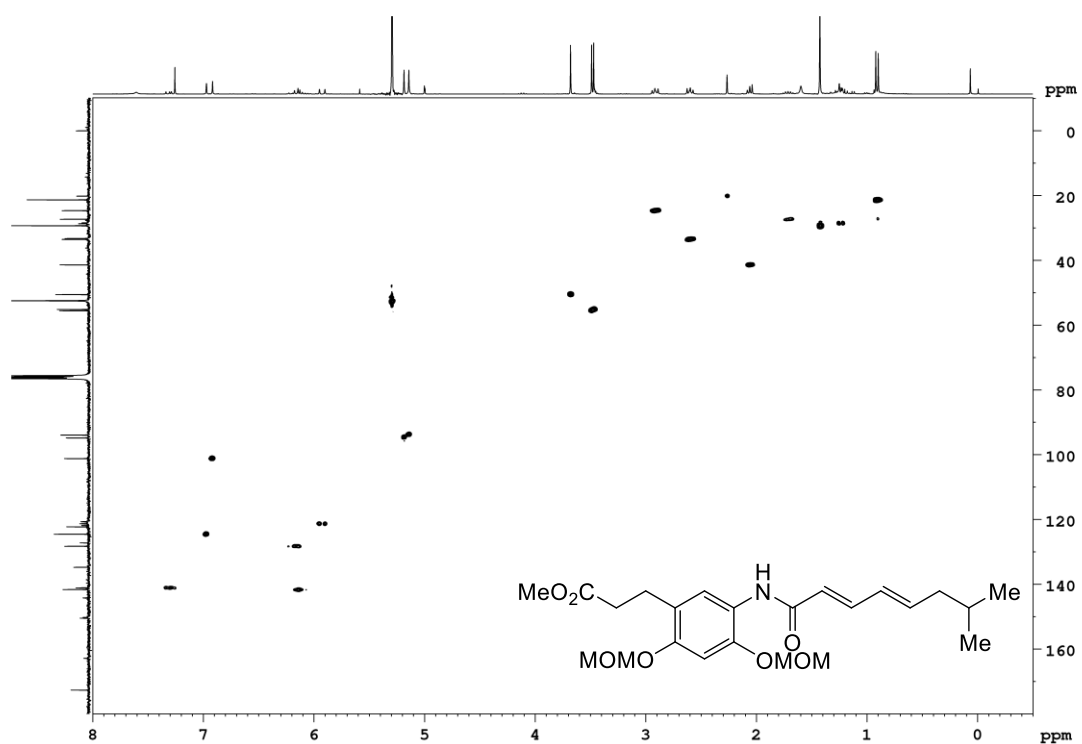
Espectro de HSQC del compuesto III.13



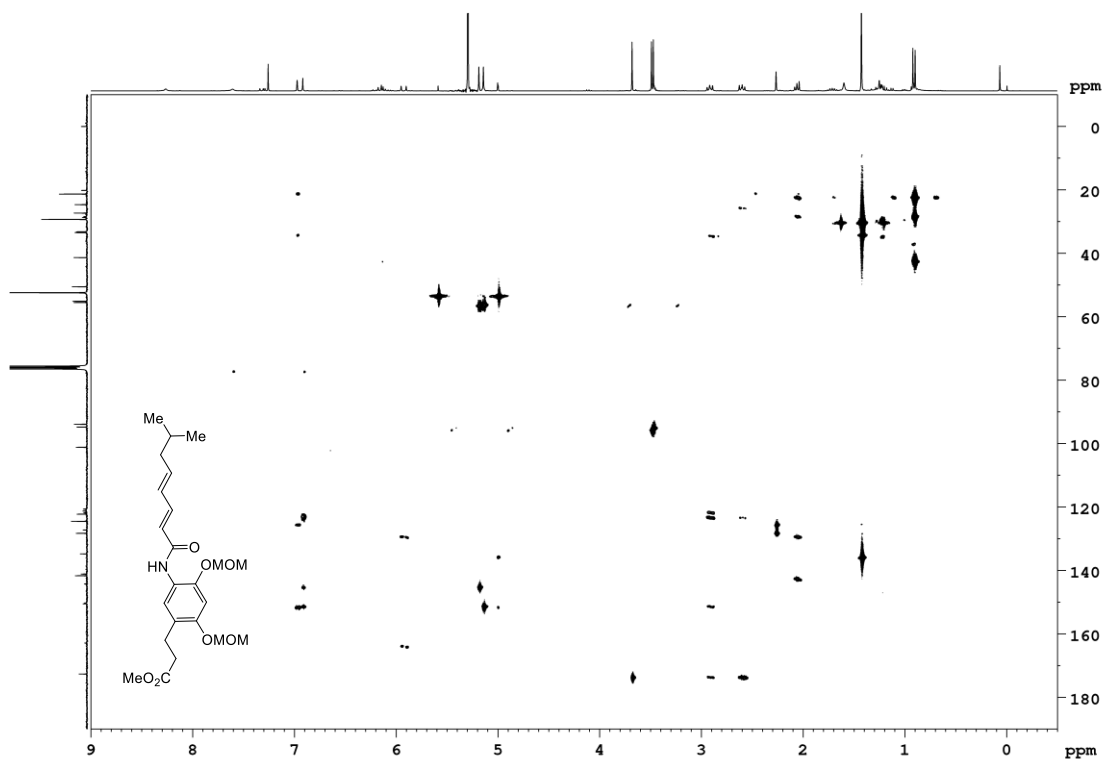
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.14



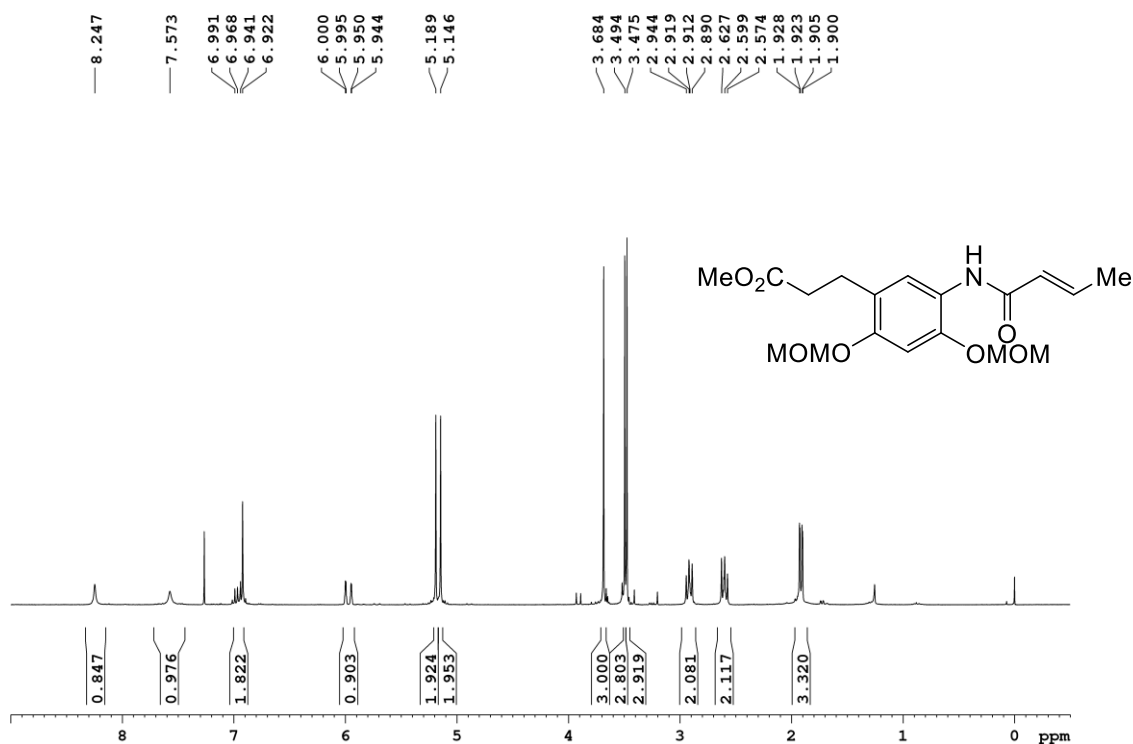
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.14



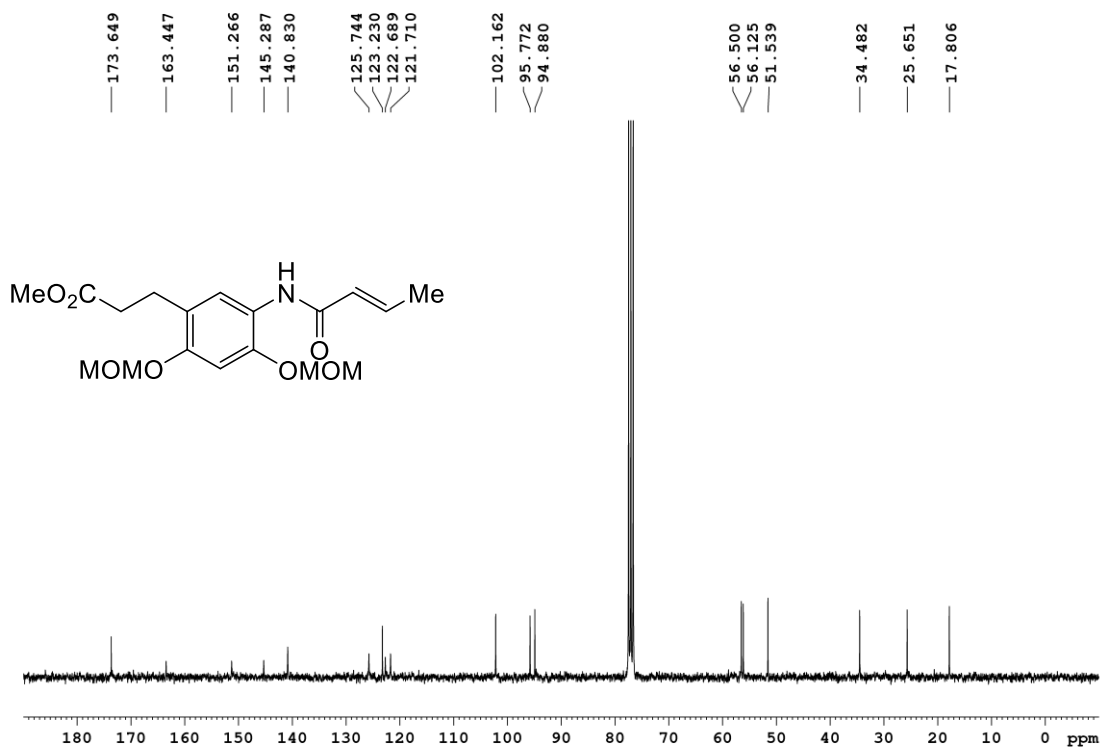
Espectro de HSQC del compuesto III.14



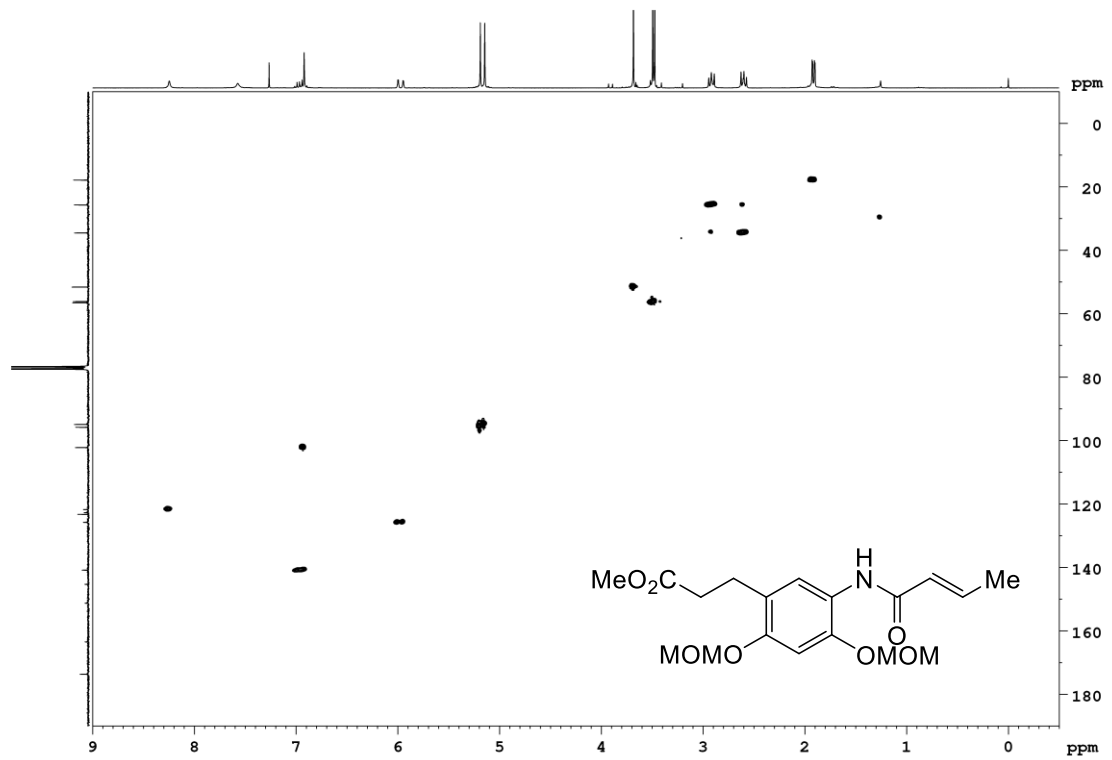
Espectro de HMBC del compuesto III.13



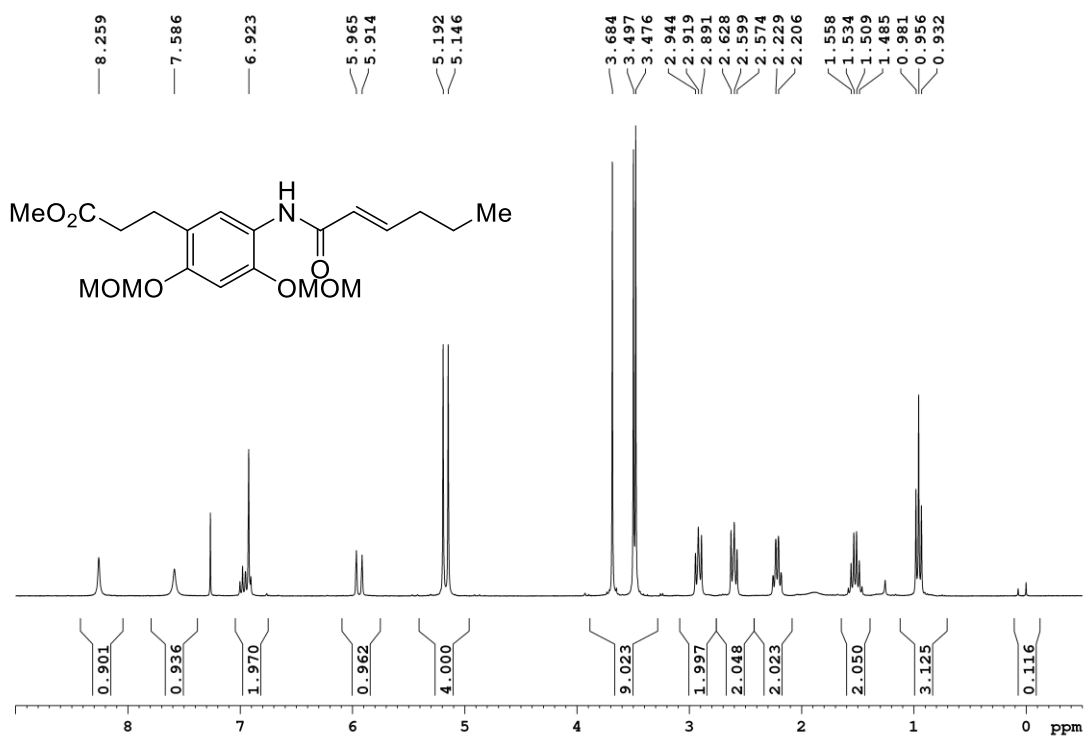
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.17a



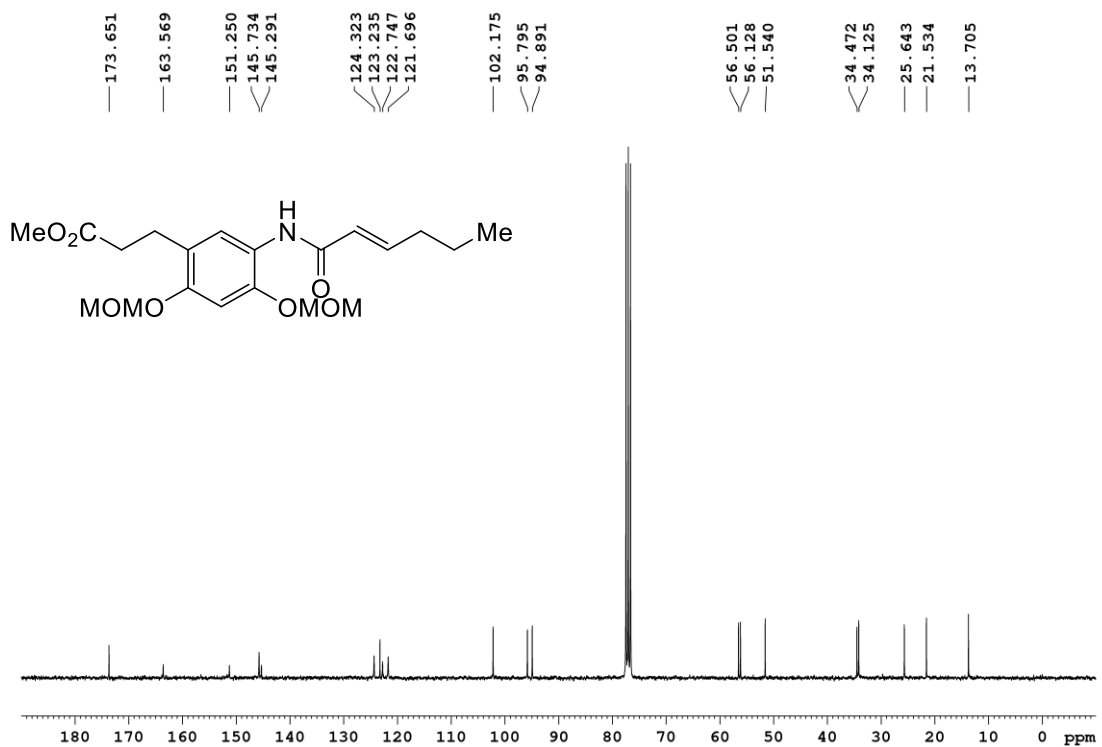
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.17a



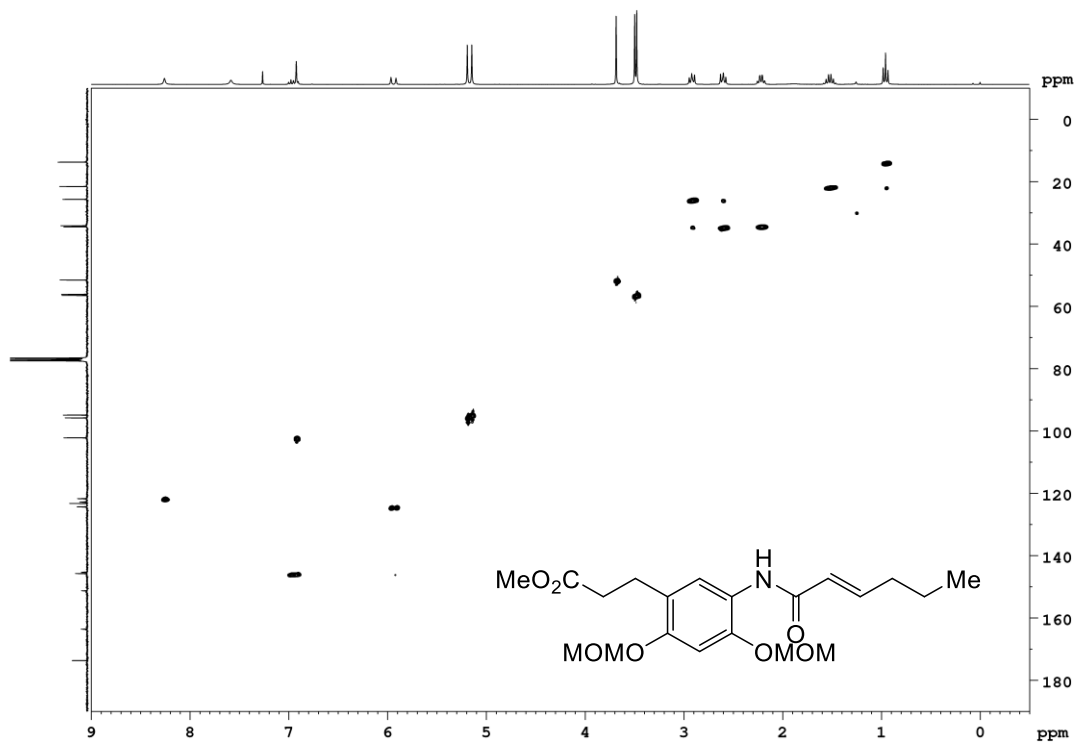
Espectro de HSQC del compuesto III.17a.



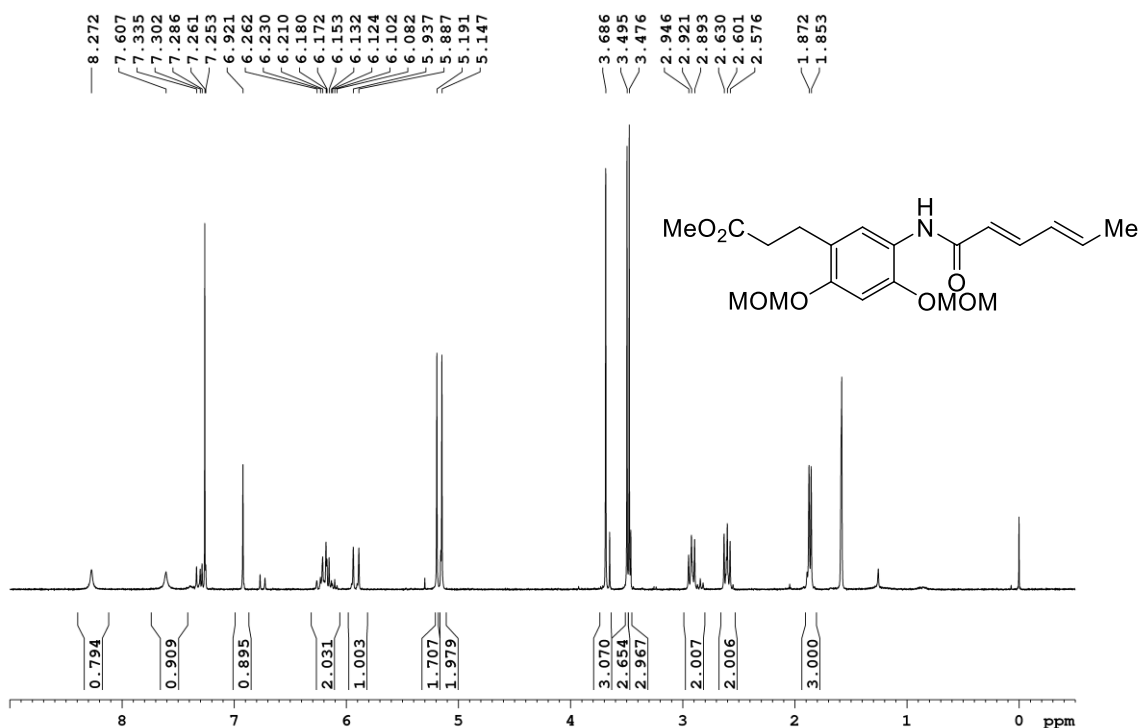
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.17b.



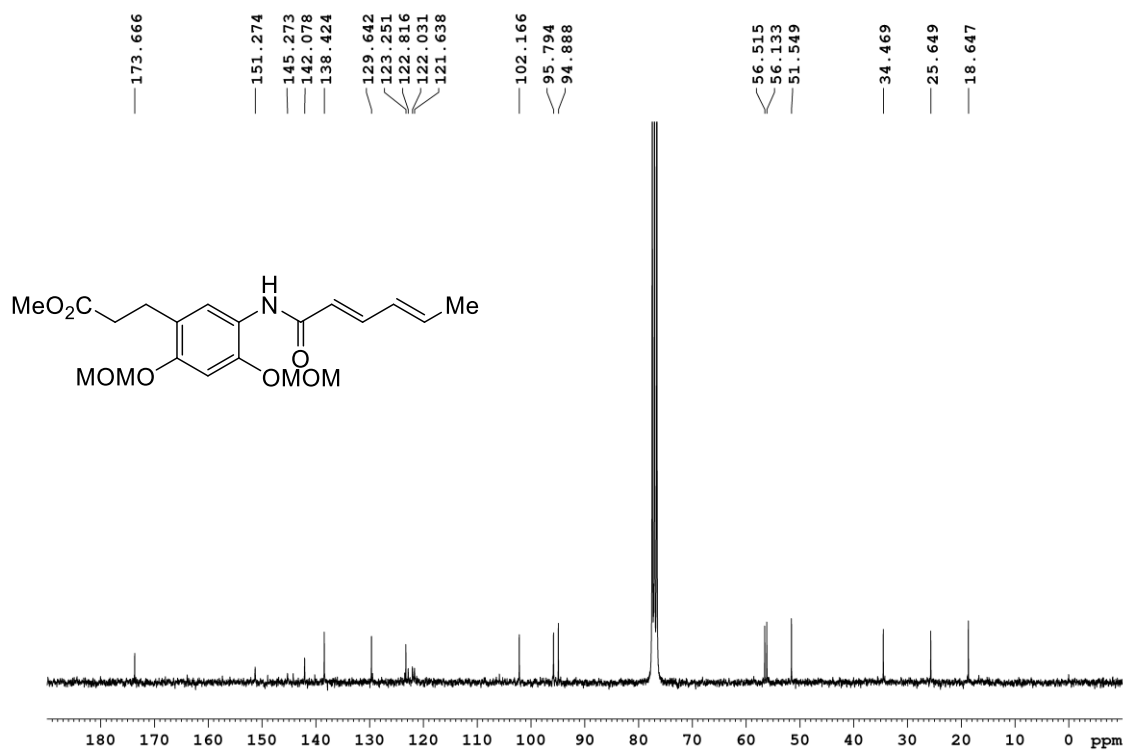
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.17b.



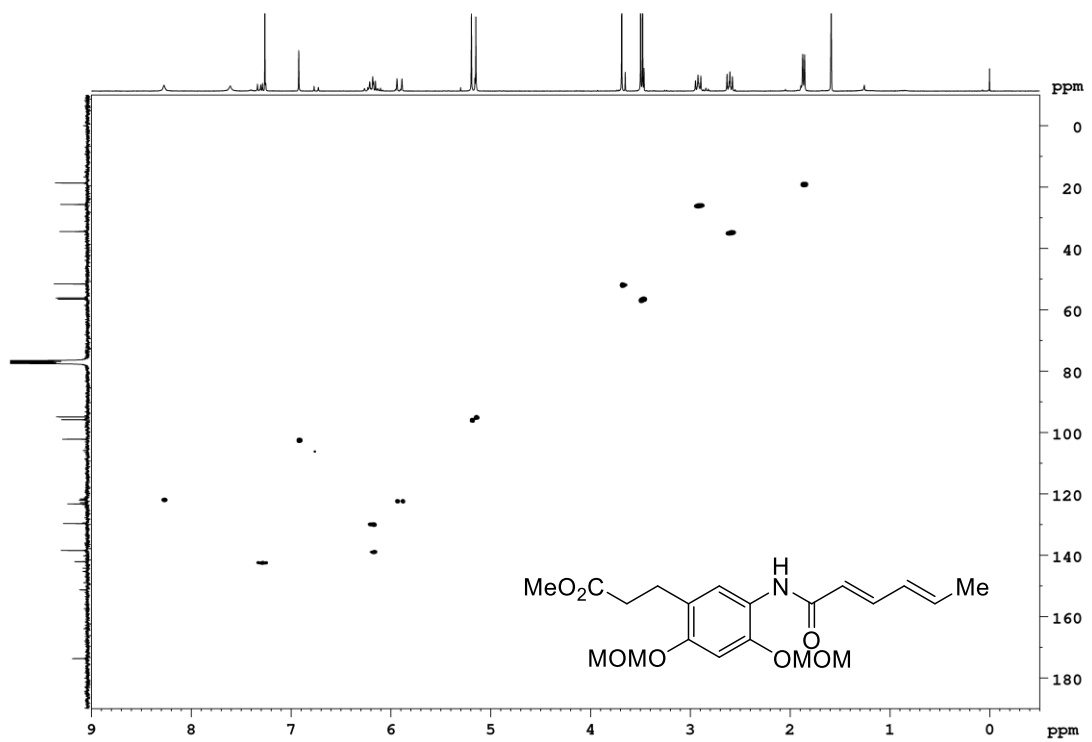
Espectro de HSQC del compuesto III.17b



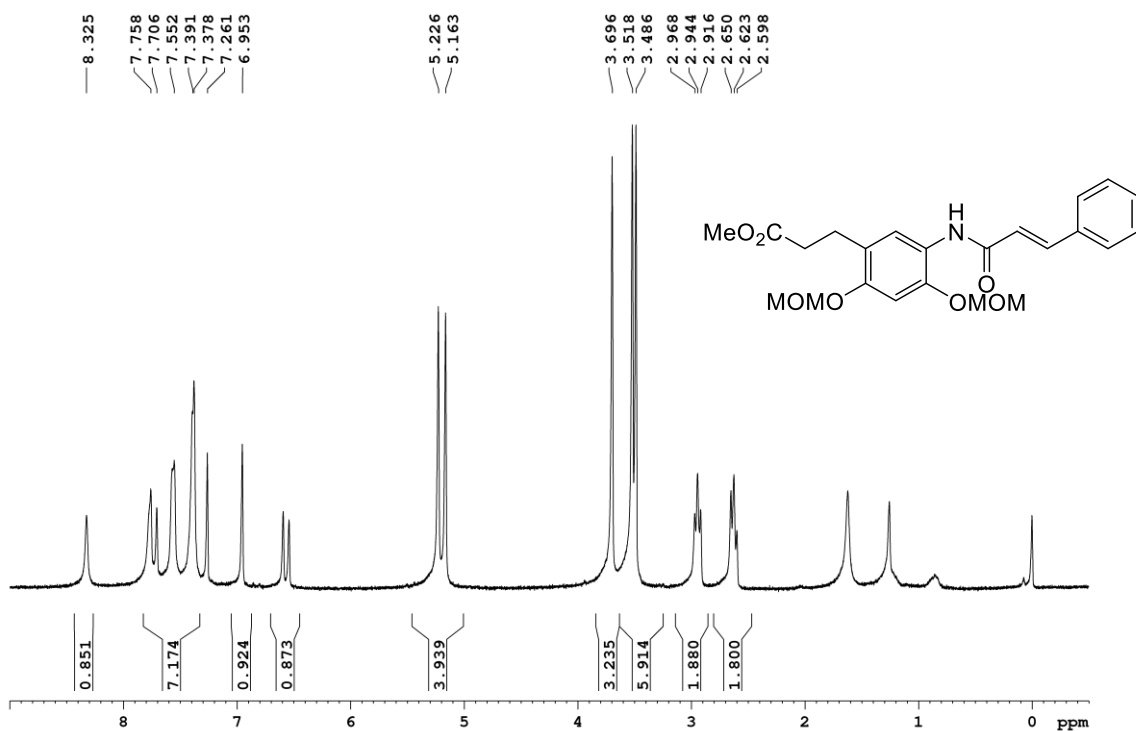
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.17c



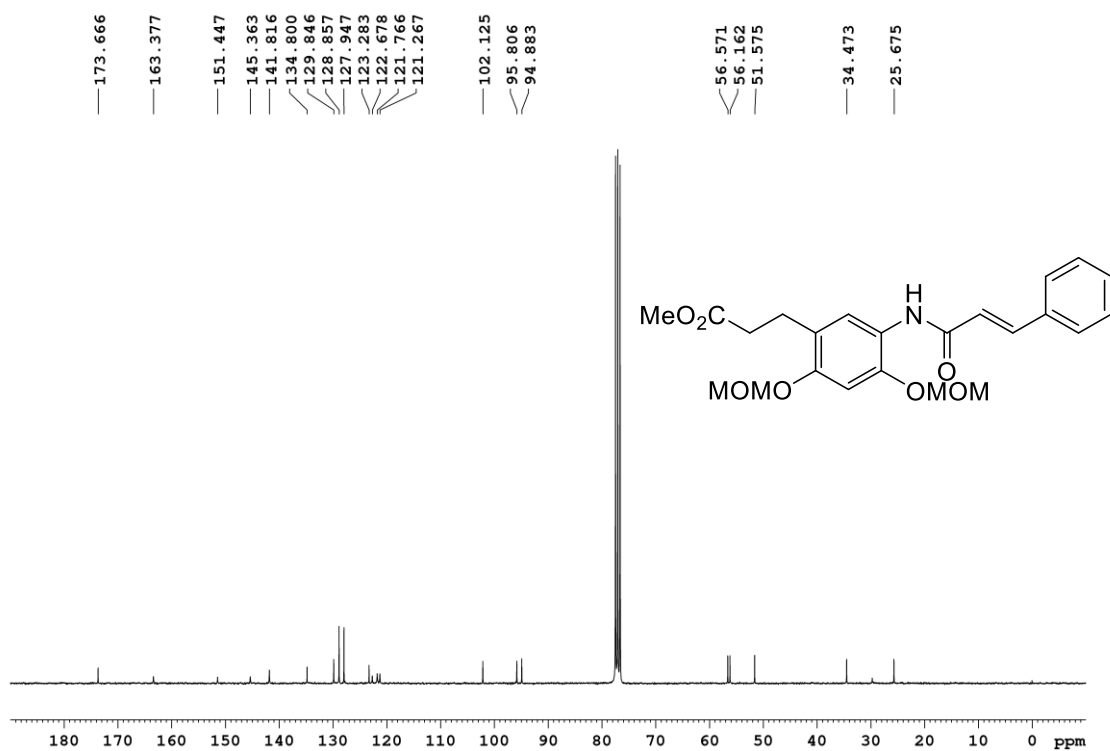
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.17c



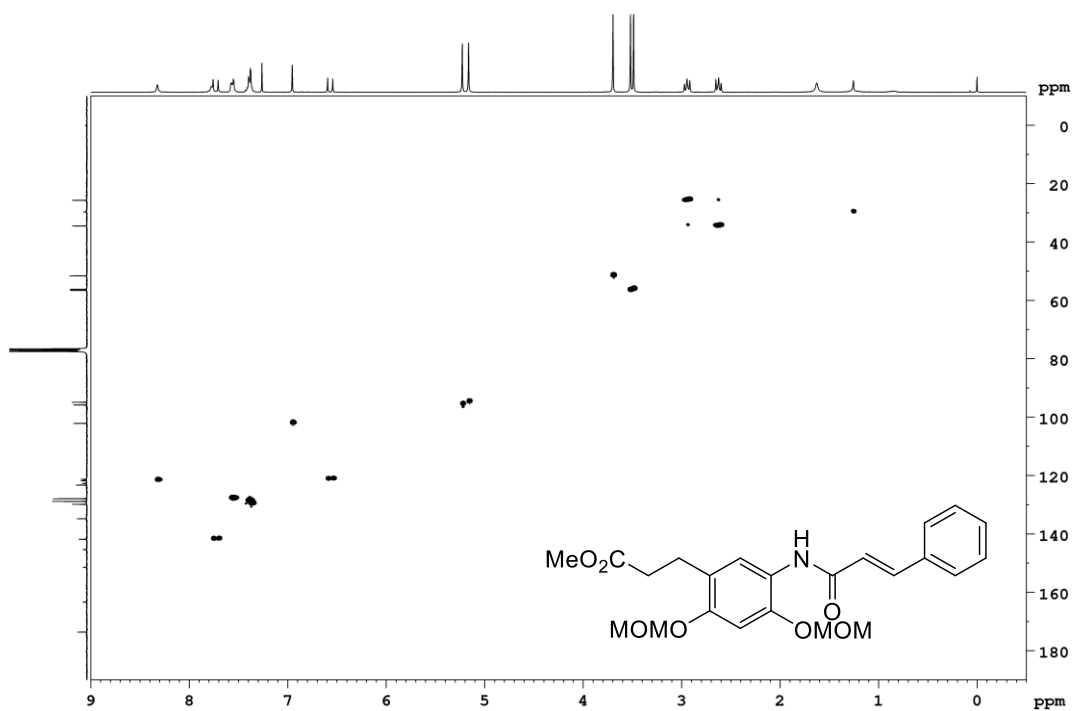
Espectro de HSQC del compuesto III.17c



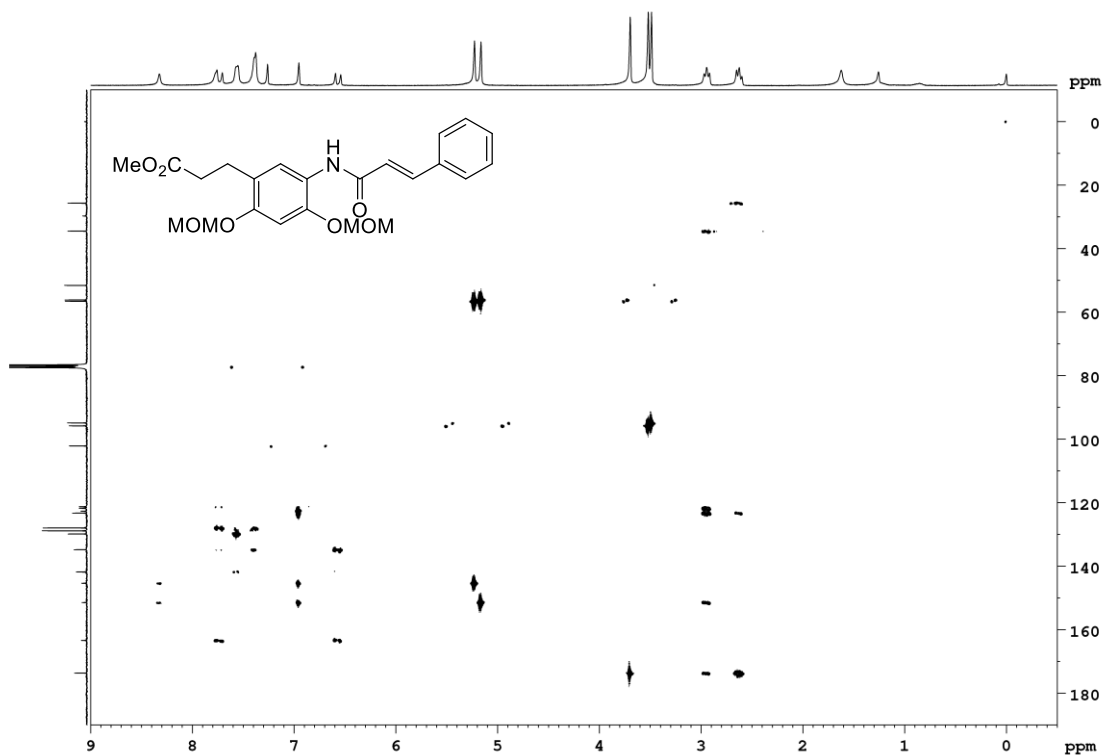
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.17d



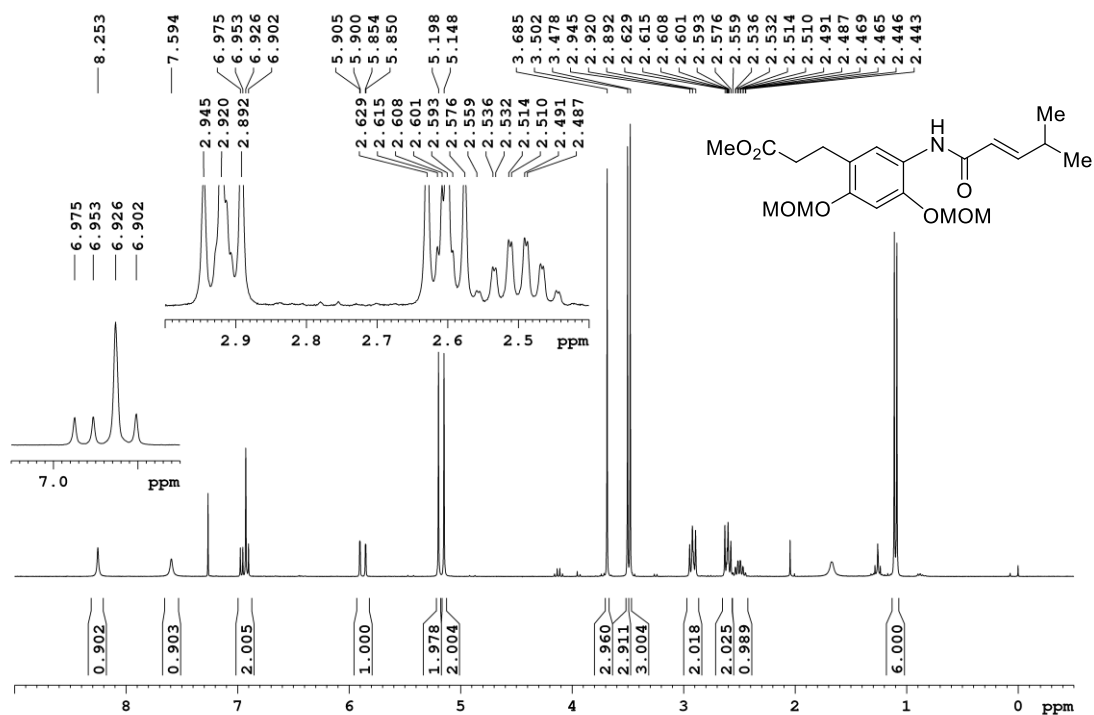
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.17d



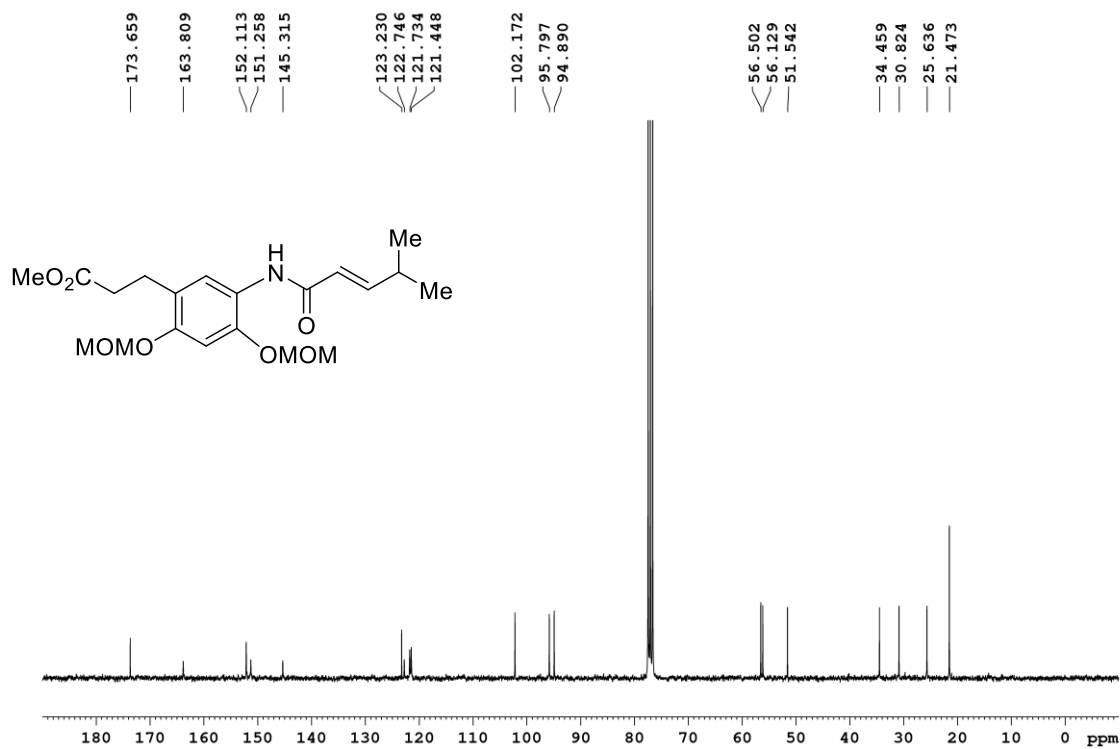
Espectro de HSQC del compuesto III.17d



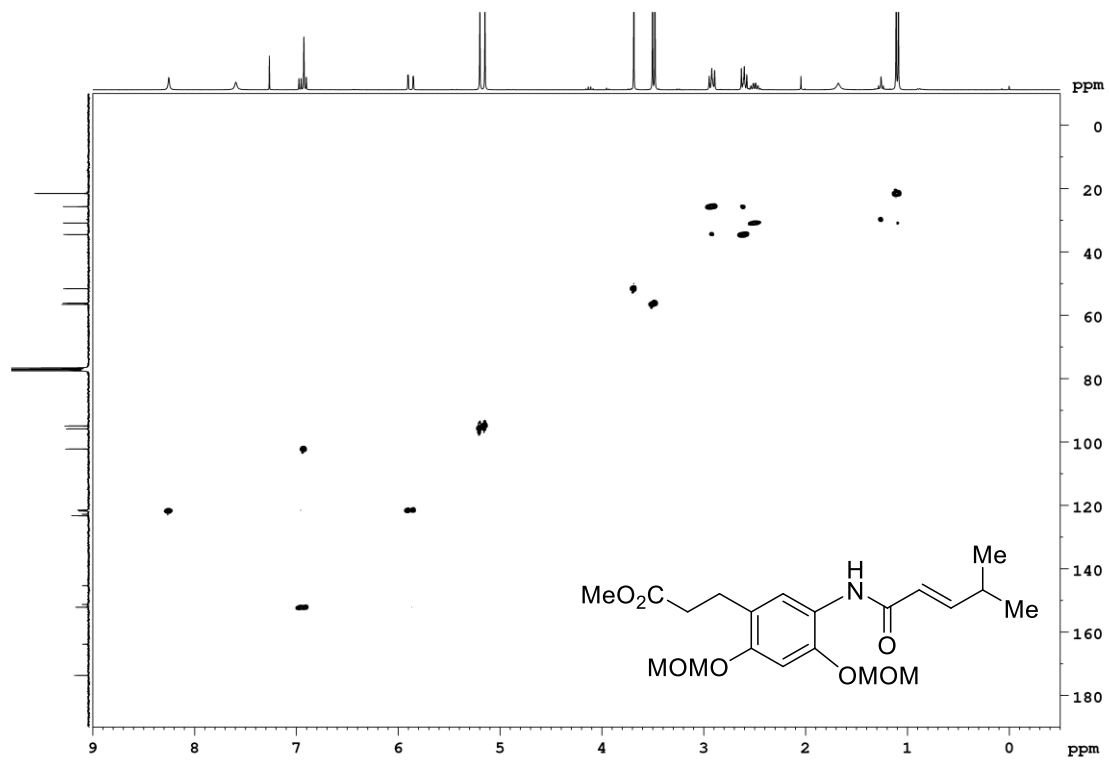
Espectro de HMBC del compuesto III.17d



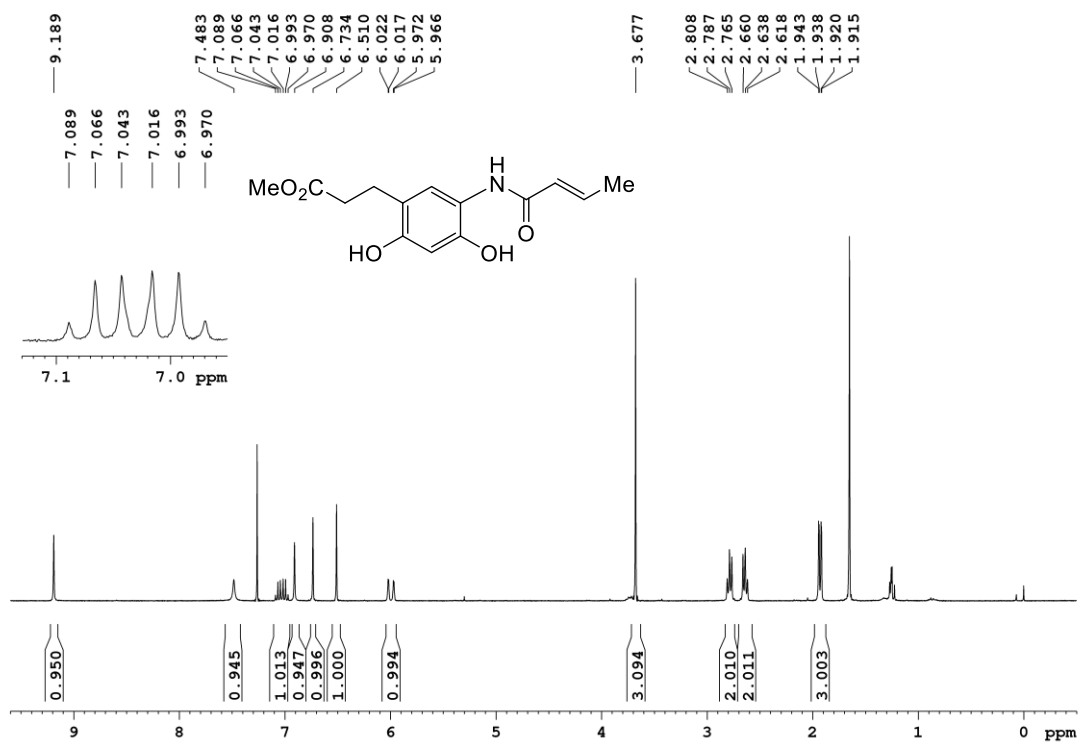
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.17e



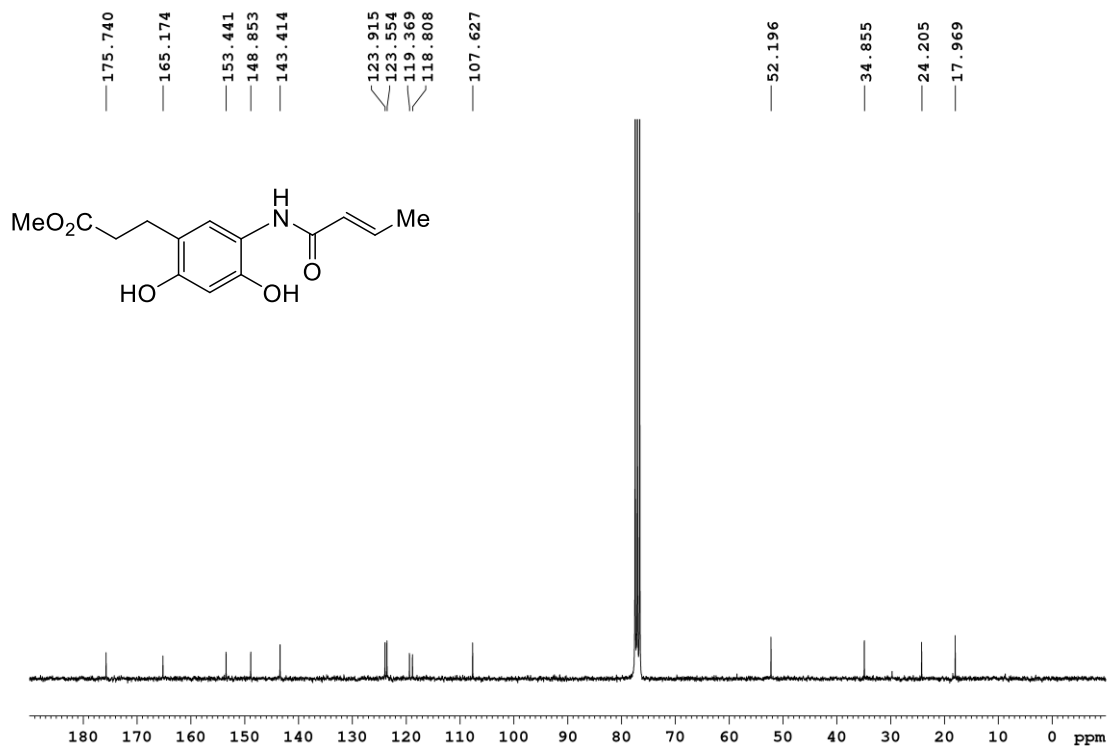
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.17e



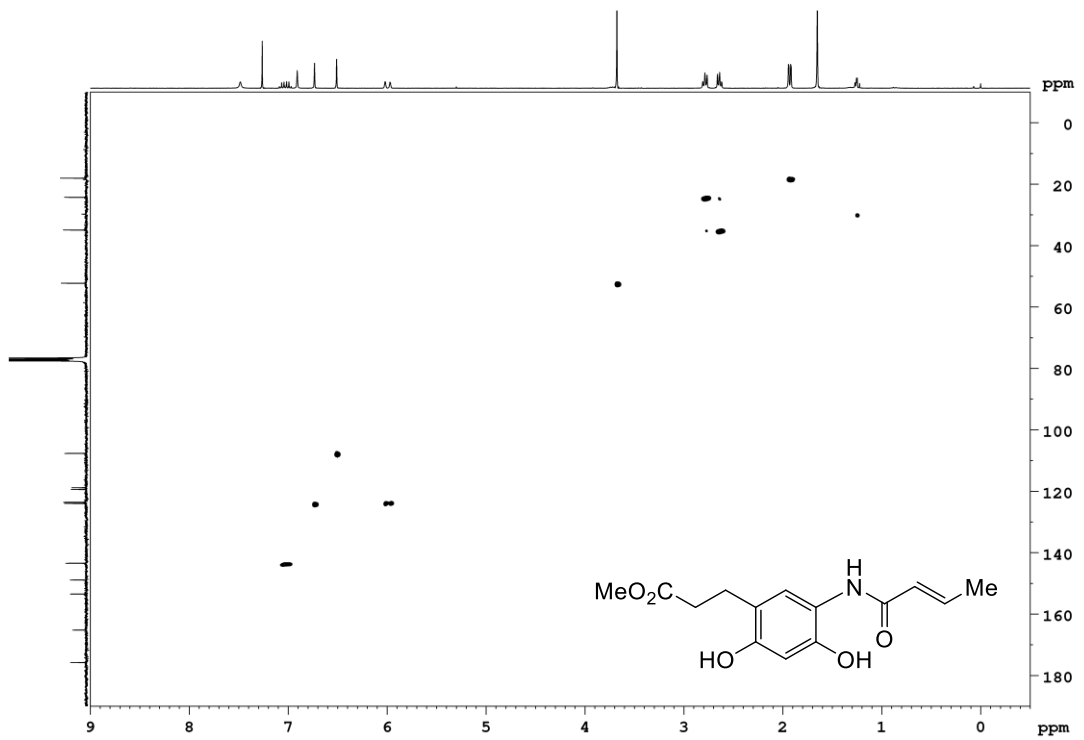
Espectro de HSQC del compuesto III.17e



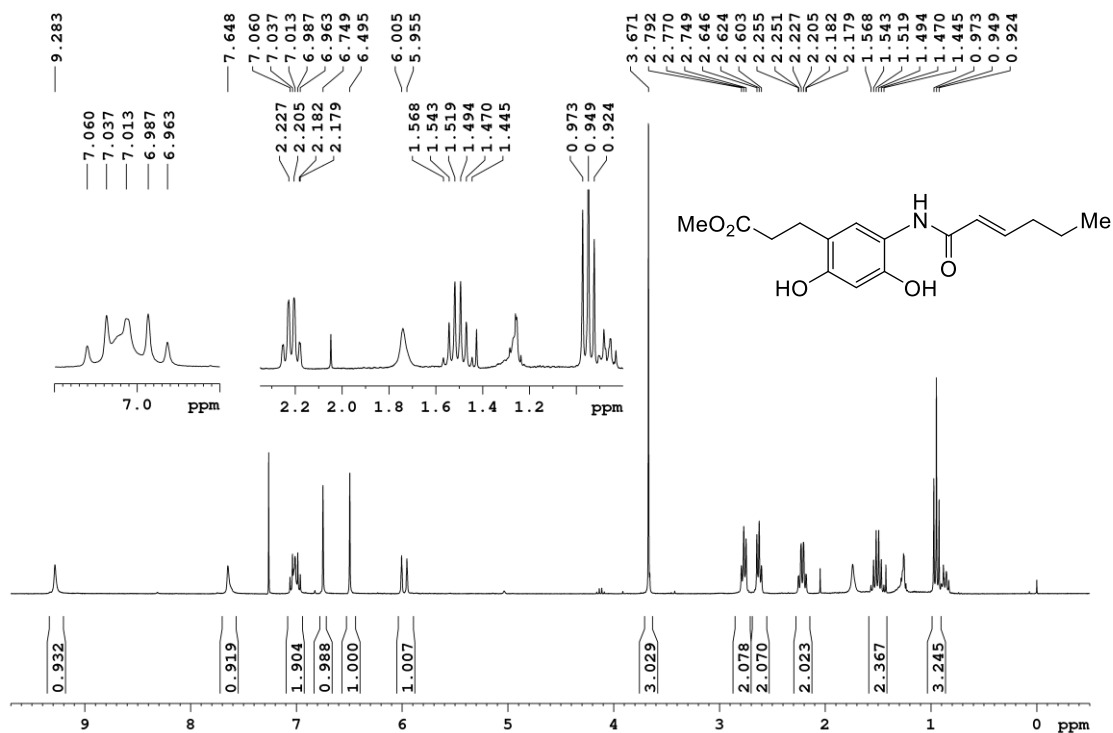
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.18a



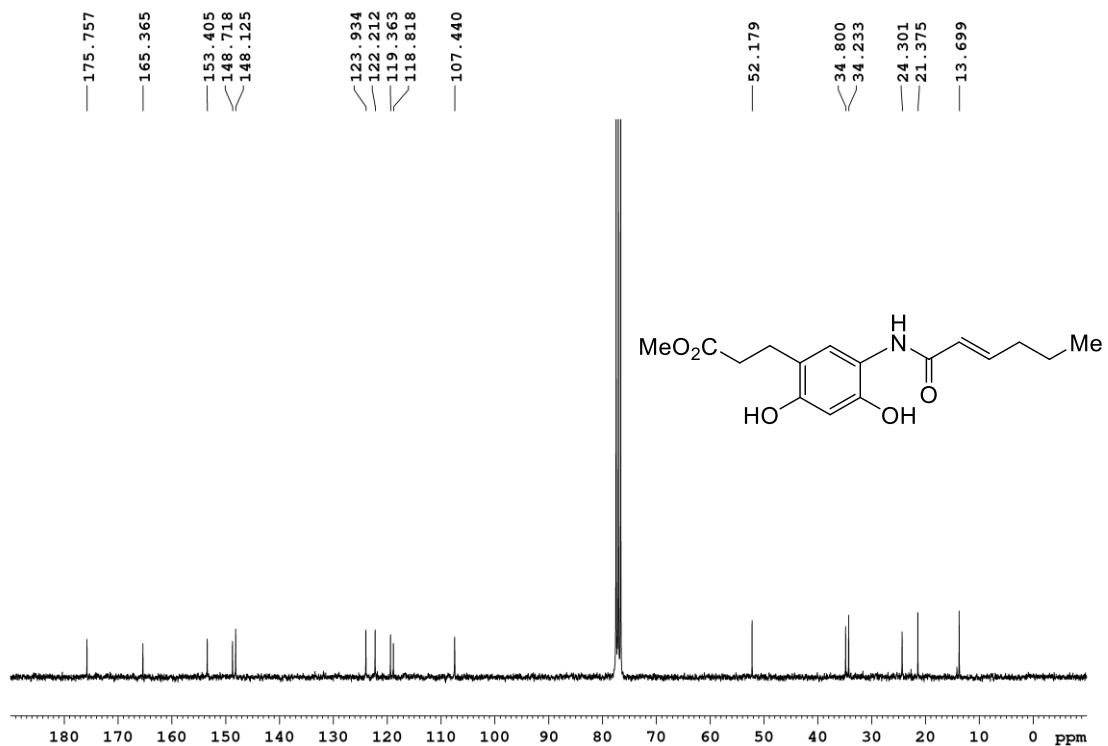
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.18a



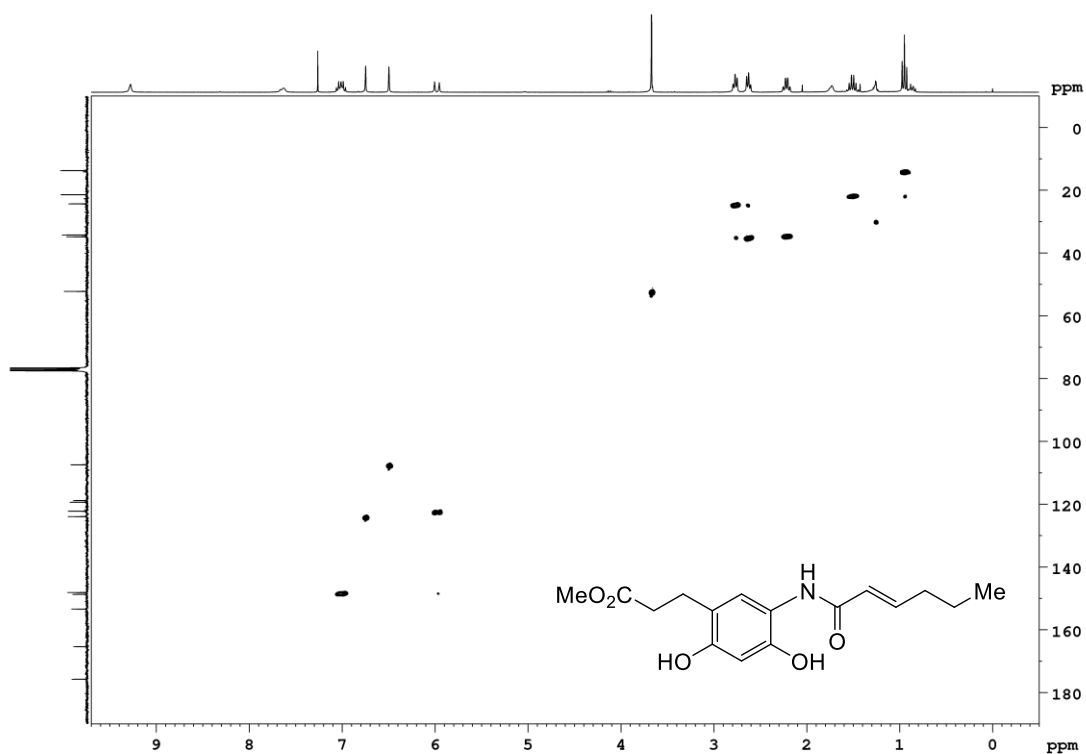
Espectro de HSQC del compuesto III.18a



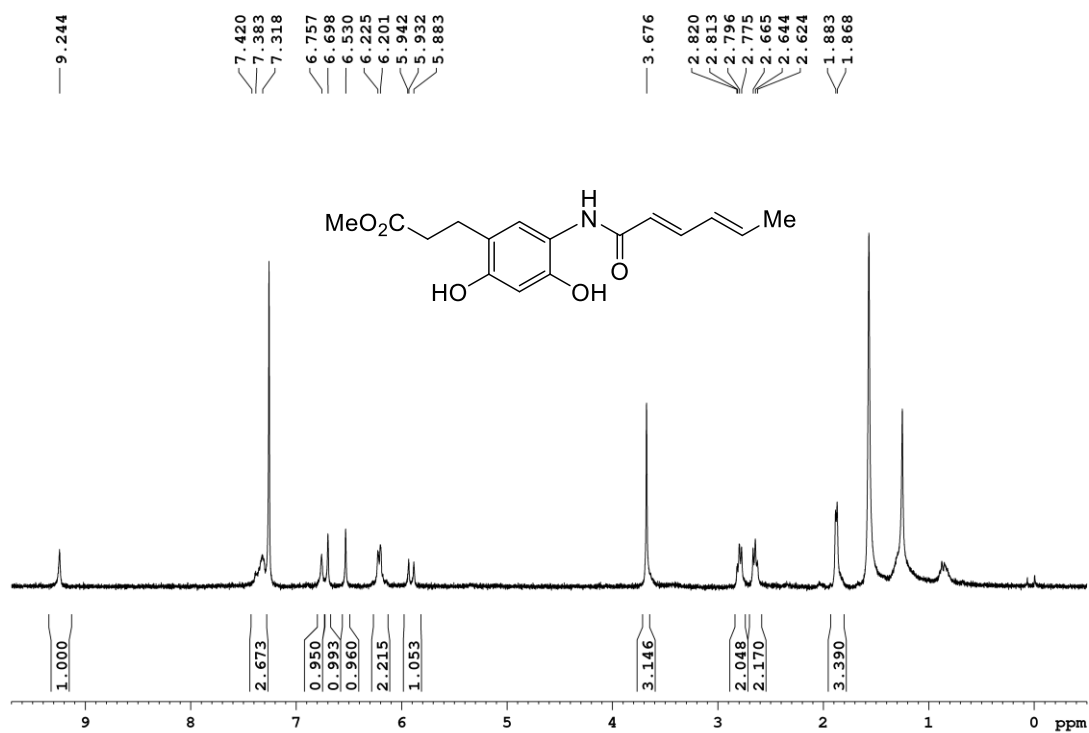
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.18b



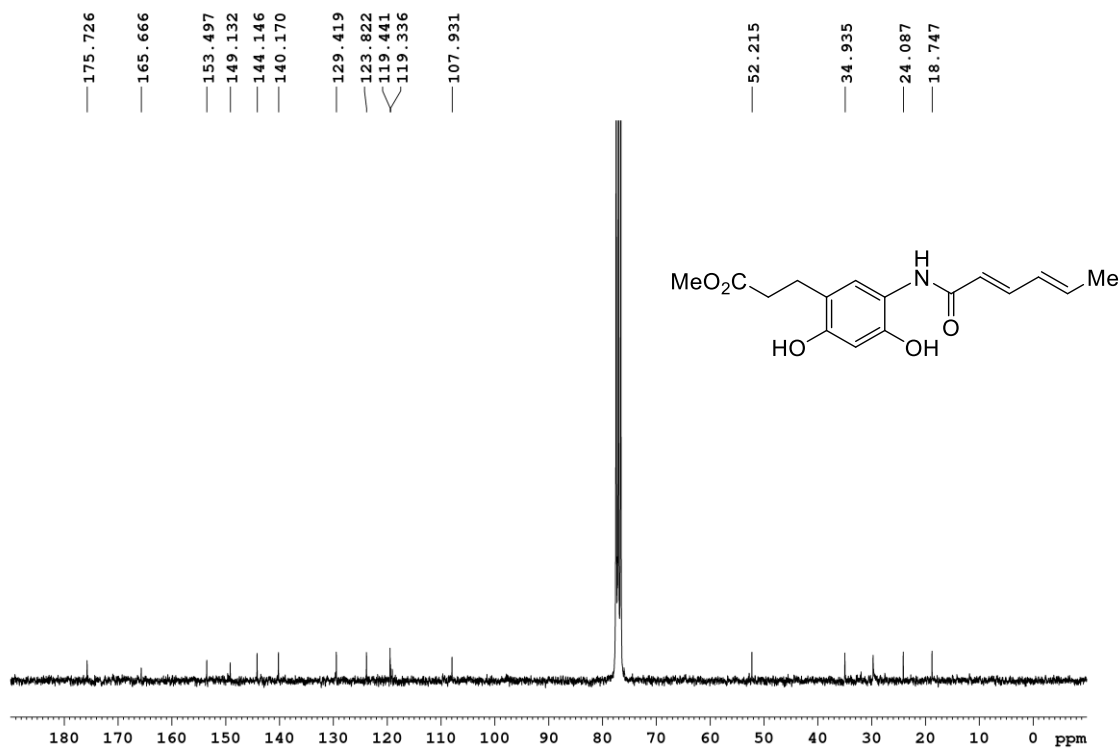
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.18b



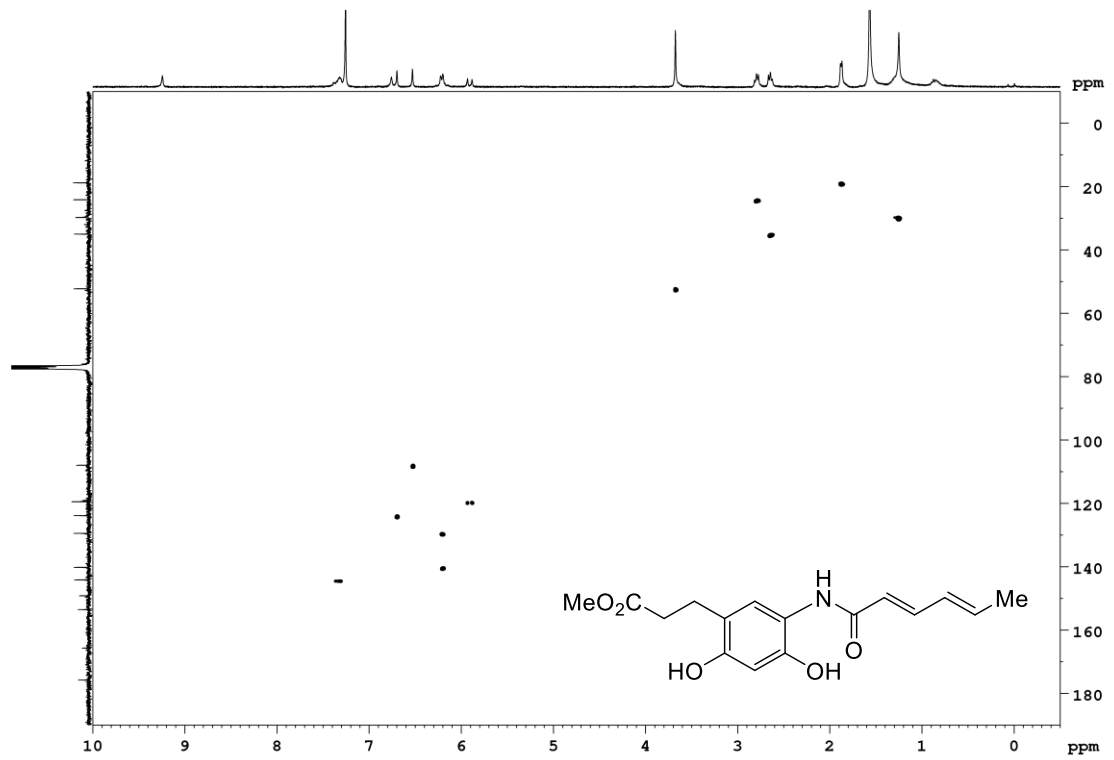
Espectro de HSQC del compuesto **III.18b**



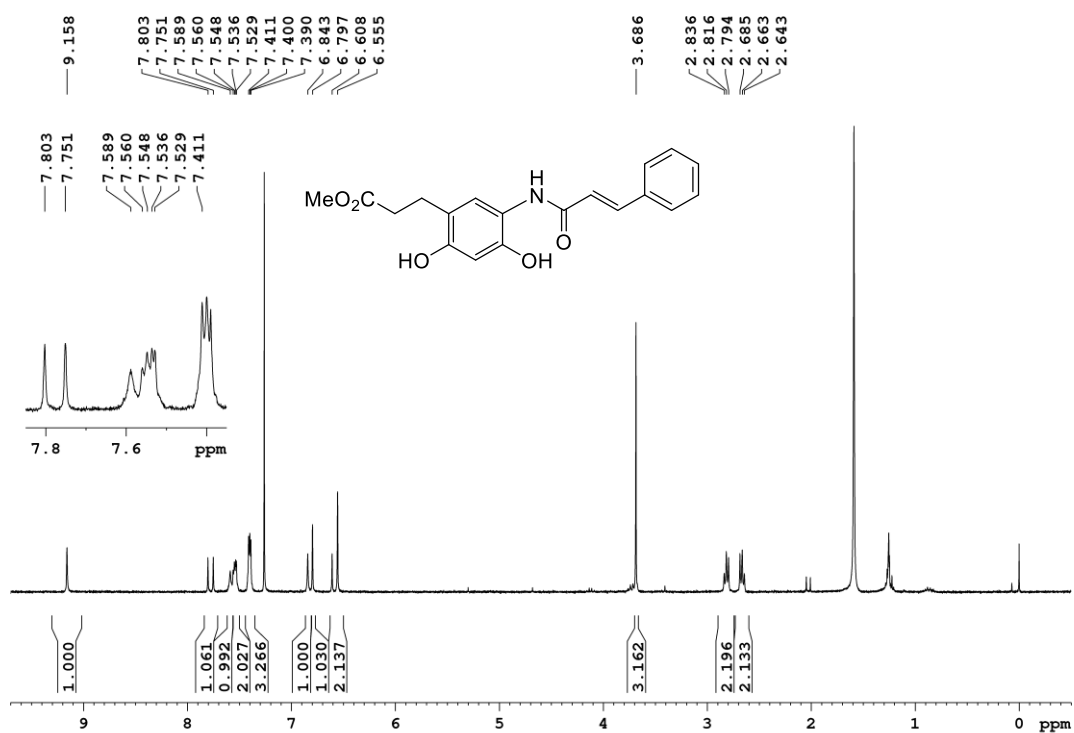
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.18c



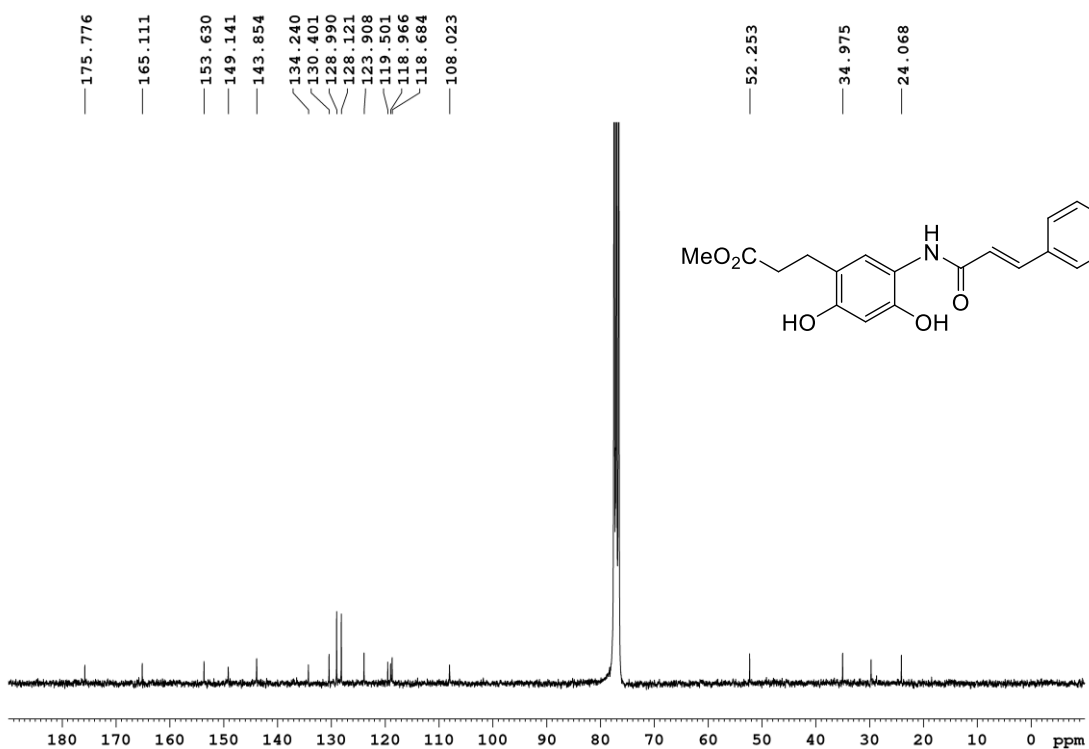
Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.18c



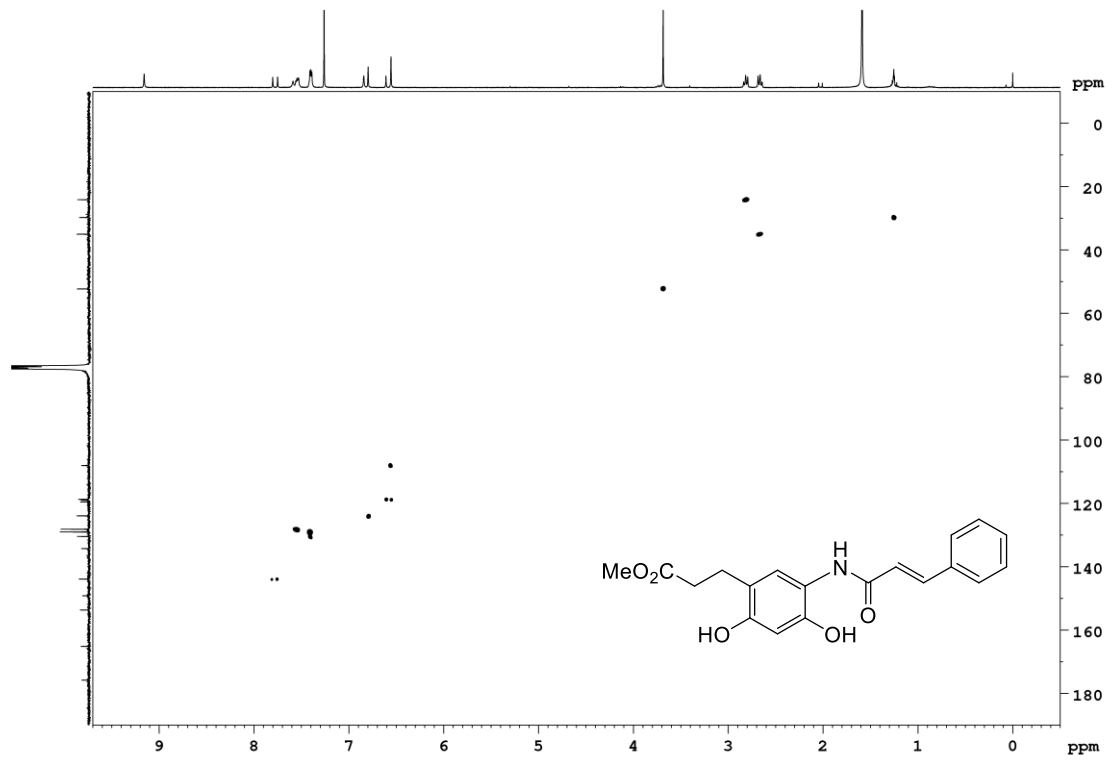
Espectro de HSQC del compuesto III.18c



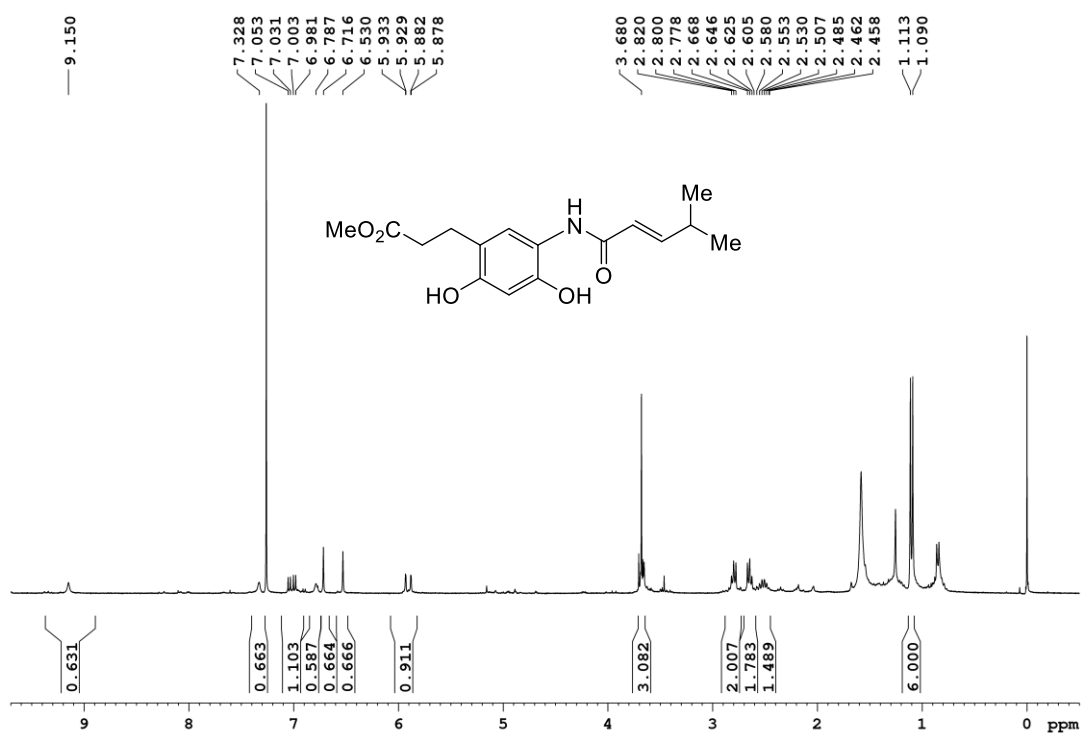
Espectro de RMN de ¹H del compuesto III.18d



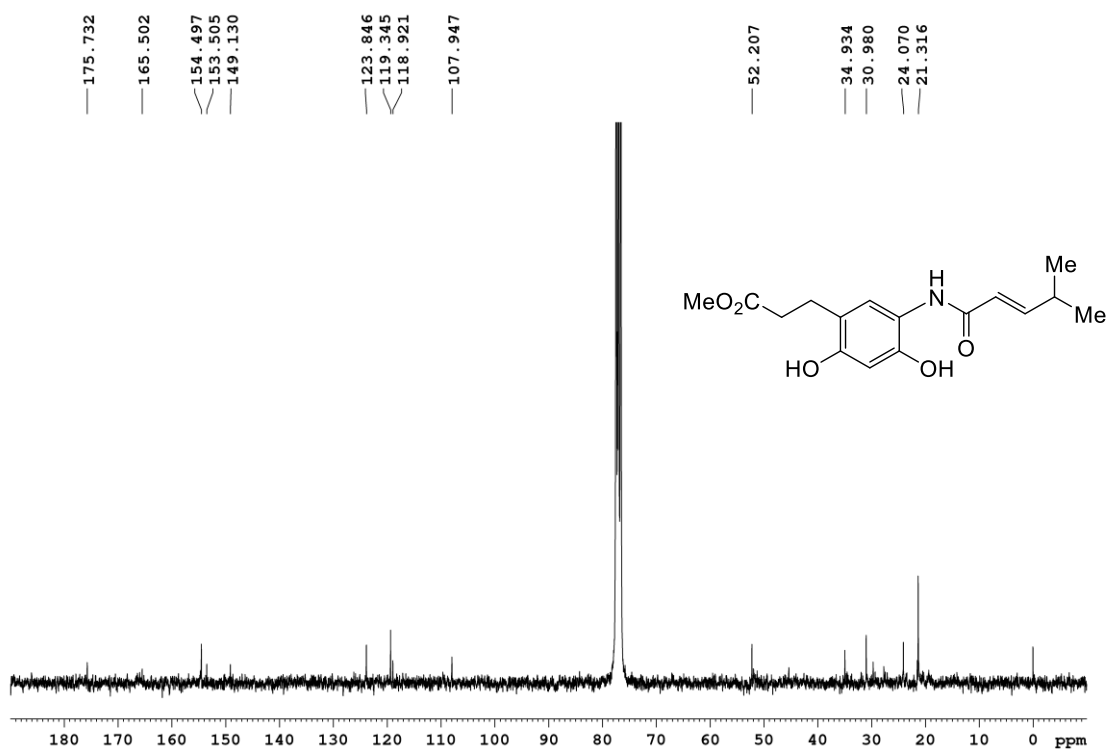
Espectro de RMN de ¹³C del compuesto III.18d



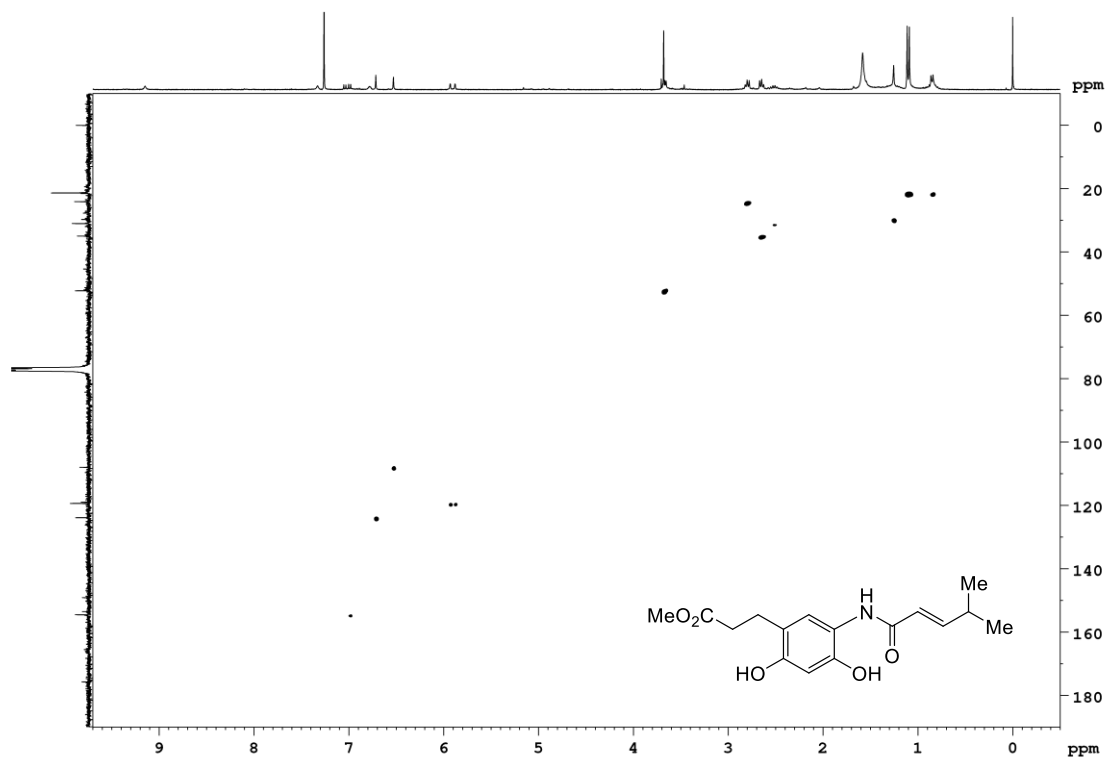
Espectro de HSQC del compuesto III.18d



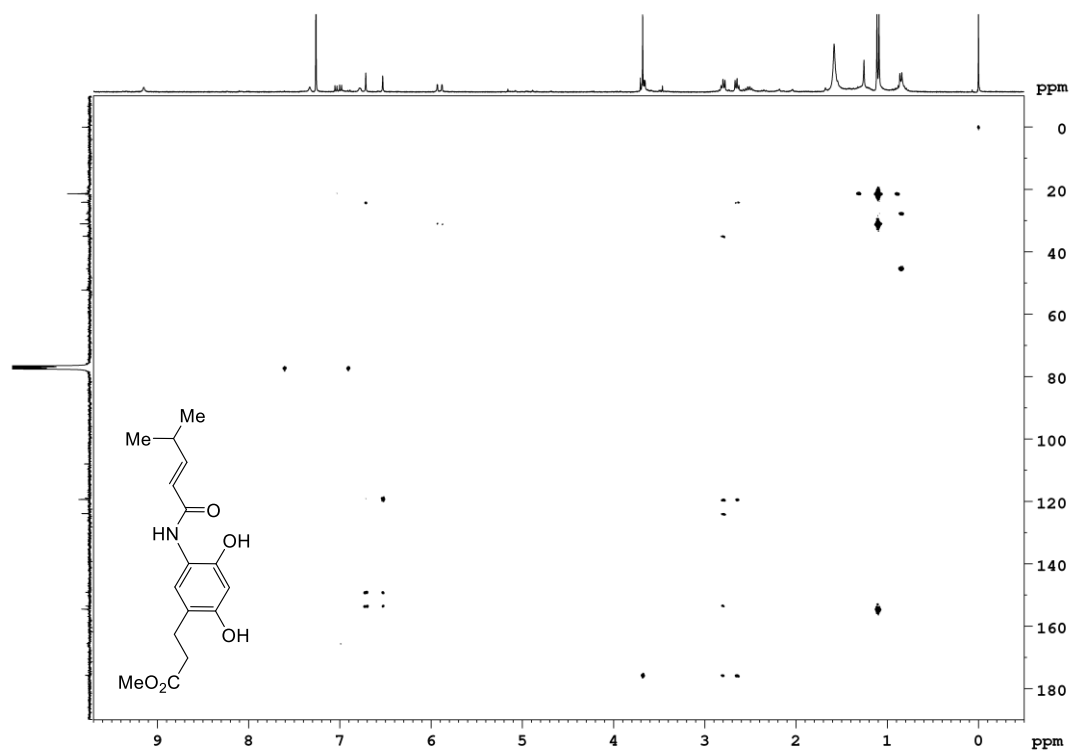
Espectro de RMN de ^1H del compuesto III.18e



Espectro de RMN de ^{13}C del compuesto III.18e



Espectro de HSQC del compuesto III.18e



Espectro de HMBC del compuesto III.18e

Capítulo VI:

Referencias

Bibliográficas

Capítulo VII: Referencias Bibliográficas

- 1 Williams, D.H.; Stone, M.J.; Hauck, P.R. y Rahman, S.K. Why are secondary metabolites (Natural Products) biosynthesized. *J. Nat. Prod.* **52**, 1189–1208 (1989).
- 2 Li, F.; Wang, Y.; Li, D.; Chen, Y. y Dou, Q.P. Are we seeing a resurgence in the use of natural products for new drug discovery? *Expert Opin. Drug Discov.* **14**, 417–420 (2019).
- 3 Nakanishi, K. A Brief History of Natural Products Chemistry. *Compr. Nat. Prod. Chem.* 1–31 (1999).
- 4 Brook, K.; Bennett, J. y Desai, S.P. The Chemical History of Morphine: An 8000-year Journey, from Resin to de-novo Synthesis. *J. Anesth. Hist.* **3**, 50–55 (2017).
- 5 Lichterman, B.L. Aspirin: The Story of a Wonder Drug. *Bmj.* **329**, 1408 (2004).
- 6 Molinski, T.F.; Dalisay, D.S.; Lievens, S.L. y Saludes, J.P. Drug development from marine natural products. *Nat. Rev. Drug Discov.* **8**, 69–85 (2009).
- 7 Mayer, A.M.S.; Glaser, K.B.; Cuevas, C.; Jacobs, R.S.; Kem, W.; Little, R.D.; McIntosh, J.M.; Newman, D.J.; Potts, B.C. y Shuster, D.E. The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. *Trends Pharmacol. Sci.* **31**, 255–265 (2010).
- 8 White, M.C.; Holman, D.M.; Boehm, J.E.; Peipins, L.A.; Grossman, M. y Jane Henley, S. Age and cancer risk: A potentially modifiable relationship. *Am. J. Prev. Med.* **46**, S7–S15 (2014).
- 9 Gurib-Fakim, A. Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol. Aspects Med.* **27**, 1–93 (2006).
- 10 Amaral, R.G.; Santos, S.A. dos; Andrade, L.N.; Severino, P. y Carvalho, A.A. Natural Products as Treatment against Cancer: A Historical and Current Vision. *Clin. Oncol.* **4**, 1–5 (2019).
- 11 Yondelis-EPAR. European Medicines agency. (2020).
- 12 Davidson, B.S. New dimensions in natural products research: cultured marine microorganisms. *Curr. Opin. Biotechnol.* **6**, 284–291 (1995).
- 13 Feling, R.H.; Buchanan, G.O.; Mincer, T.J.; Kauffman, C.A.; Jensen, P.R. y Fenical, W. Salinosporamide A: A highly cytotoxic proteasome inhibitor from a novel microbial source, a marine bacterium of the new genus *Salinospora*. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **42**, 355–357 (2003).
- 14 Pereira, R.B.; Evdokimov, N.M.; Lefranc, F.; Valentaõ, P.; Kornienko, A.; Pereira, D.M.; Andrade, P.B.; Gomes, N.G.M. Marine-derived anticancer agents: Clinical benefits, innovative mechanisms, and new targets. *Mar. Drugs.* **17**, 1–21 (2019).
- 15 Olano, C.; Méndez, C. y Salas, J.A. Antitumor compounds from marine actinomycetes. *Mar. Drugs.* **7**, 210–248 (2009).
- 16 Bender; Madigan; Buckley; Sattley y Stahl. Brock Biology of Microorganisms 15th Edition 2019, Upper Saddle River, NJ, USA.
- 17 Sivalingam, P.; Hong, K.; Pote, J. y Prabakar, K. Extreme environment streptomyces: Potential sources for new antibacterial and anticancer drug leads? *Int. J. Microbiol.* **2019**, (2019).
- 18 Fu, P.; Johnson, M.; Chen, H.; Posner, B.A. y MacMillan, J.B. Carpatamides A-C, cytotoxic arylamine derivatives from a marine-derived streptomyces sp. *J. Nat. Prod.* **77**, 1245–1248 (2014).

- 19 Burman, R.P.; Gupta, S.; Bhatti, J.; Verma, K.; Rajak, D.; Gill, M.S. Convergent synthesis of Carpatamide-A: Cytotoxic arylamine derivative from marine derived *Streptomyces* sp. *Nat. Prod. Res.* **33**, 1147–1157 (2018).
- 20 Montaser, R. y Luesch, H. Marine natural products: A new wave of drugs? *Future Med. Chem.* **3**, 1475–1489 (2011).
- 21 Buzzetti, F.; Gaumann, E.; Hutter, R.; Keller-Schierlein, W.; Neipp, L.; Prelog, V.; Zahner, H. Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, 41. Mitteilung, Manumycin. *Pharm. Acta Helv.* **38**, 871–874 (1963).
- 22 Alcaraz, L.; Macdonald, G.; Ragot, J.P.; Lewis, N. y Taylor, R.J.K. Manumycin A: Synthesis of the (+)-enantiomer and revision of stereochemical assignment. *J. Org. Chem.* **63**, 3526–3527 (1998).
- 23 Nicolaou, K.C. y Snyder, S.A. Chasing molecules that were never there: Misassigned natural products and the role of chemical synthesis in modern structure elucidation. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **44**, 1012–1044 (2005).
- 24 Nicolaou, K.C. Organic synthesis: The art and science of replicating the molecules of living nature and creating others like them in the laboratory. *Proc. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* **470**, (2014).
- 25 Dai, W.-M. Generation of Molecular Shape Diversity. From Privileged Scaffolds to Diverted Total Synthesis. *Divers. Oriented Synth.* **1**, 11–20 (2013).
- 26 Burke, M.D. y Schreiber, S.L. A Planning Strategy for Diversity-Oriented Synthesis. *Angew. Chemie Int. Ed.* **43**, 46–58 (2004).
- 27 Wilson, R.M.; Danishefsky, S.J. Small molecule natural products in the discovery of therapeutic agents: The synthesis connection. *J. Org. Chem.* **71**, 8329–8351 (2006).
- 28 Nakae, K.; Yoshimoto, Y.; Sawa, T.; Homma, Y.; Hamada, M.; Takeuchi, T.; Imoto, M. Migrastatin, a new inhibitor of tumor cell migration from *Streptomyces* sp. MK929-43F1 taxonomy, fermentation, isolation and biological activities. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **53**, 1130–1136 (2000).
- 29 Giralt, E.; Lo Re, D. The therapeutic potential of migrastatin-core analogs for the treatment of metastatic cancer. *Molecules*. **22**, 1–26 (2017).
- 30 Danishefsky, S. On the potential of natural products in the discovery of pharma leads: A case for reassessment. *Nat. Prod. Rep.* **27**, 1114–1116 (2010).
- 31 Steele, A.D.; Ernouf, G.; Lee, Y.E. y Wuest, W.M. Diverted total synthesis of the baulamycins and analogues reveals an alternate mechanism of action. *Org. Lett.* **20**, 1126–1129 (2018).
- 32 Tripathi, A.; Schofield, M.M.; Chlipala, G.E.; Schultz, P.J.; Yim, I.; Newmister, S.A.; Nusca, T.D.; Scaglione, J.B.; Hanna, P.C.; Tamayo-Castillo, G. y Sherman, D.H. Erratum: Baulamycins A and B, broad-spectrum antibiotics identified as inhibitors of siderophore biosynthesis in *Staphylococcus aureus* and *Bacillus anthracis*. *J. Am. Chem. Soc.* **136**, 10541 (2014).
- 33 Gattermann, L. Synthesen aromatischer aldehyde. *Justus Liebigs Annalen der Chemie.* **357**, 313–373 (1907).
- 34 Greene, T. W y Wuts, P. G. M. Protecting Groups in Organic Synthesis, 3^o Ed, Wiley-Interscience: NewYork, (1999).
- 35 Berliner, M. A. y Belecki, K. Simple, rapid procedure for the synthesis of chloromethyl methyl ether and other chloro alkyl ethers. *J. Org. Chem.* **70**, 9818–9621 (2005)
- 36 Wadsworth, W. S. y Emmons, W.D. Ethyl Cyclohexylideneacetate. *Org. Synth.* **45**, 44–45 (1965).
- 37 Natelson, S. y Gottfried S. Ethyl bromoacetate. *Org. Synth.* **23**, 37–39 (1943)

- 38 Andrews, I. P. y Kwon, O. Phosphine-catalyzed [3+2] annulation: synthesis of ethyl 5(terc-butyl)-2-phenyl-1-pyrroline-3-carboxylate. *Org. Synth.* **88**, 138–151 (2011)
- 39 Mandal, P. K. y McMurray, J. S. Pd-C Induced catalytic transfer hydrogenation with triethylsilane. *J. Org. Chem.* **72**, 6599–6601 (2007)
- 40 Mathieson, J.E.; Crawford, J.J.; Schmidtman, M. y Marquez, R. Fast and efficient one step synthesis of dienamides. *Org. Biomol. Chem.* **7**, 2170–2175 (2009).
- 41 Banerji, A. y Pal, S. C. Total Synthesis of sylvamide, a piper alkaloid. *Phytochemistry.* **22**, 1028–1030 (1983).
- 42 Takacs, J.M.; Jaber, M.R.; Clement, F. y Walters, C. A Useful Procedure for the Preparation of (*E,E*)-2,4-Dienoates: Lithium Hydroxide-Promoted Dienylation by 4-Phosphonocrotonate. *J. Org. Chem.* **63**, 6757–6760 (1998).
- 43 Ciabatti, R.; Maffioli, S.I.; Panzone, G.; Canavesi, A.; Michelucci, E.; Tiseni, P.S.; Marzorati, E.; Checchia, A.; Giannone, M.; Jabes, D.; Romanò, G.; Brunati, C.; Candiani, G. y Castiglione, F. Synthesis and Preliminary Biological Characterization of New Semisynthetic Derivatives of Ramoplanin. *J. Med. Chem.* **50**, 3077–3085 (2007).
- 44 Méndez, M. V.; Heredia, D.A.; Larghi, E.L.; Bracca, A.B.J. y Kaufman, T.S. Efficient total synthesis of neocryptolepine and synthetic access to 6-methylquinindoline from a common intermediate. *RSC Adv.* **7**, 28298–28307 (2017).
- 45 Tangdenpaisal, K.; Sualek, S.; Ruchirawat, S. y Ploypradith, P. Factors affecting orthogonality in the deprotection of 2,4-di-protected aromatic ethers employing solid-supported acids. *Tetrahedron.* **65**, 4316–4325 (2009).
- 46 Breton, G.W. Selective Monoacetylation of Unsymmetrical Diols Catalyzed by Silica Gel-Supported Sodium Hydrogen Sulfate. *J. Org. Chem.* **62**, 8952–8954 (1997).
- 47 Ramesh, C.; Ravindranath, N. y Das, B. Simple, efficient, and selective deprotection of phenolic methoxymethyl ethers using silica-supported sodium hydrogen sulfate as a heterogeneous catalyst. *J. Org. Chem.* **68**, 7101–7103 (2003).
- 48 Madala, N.; Ghanta, V.R.; Vinnakota, S.; Mendu, N.; Ingle, A.B.; Ethiraj, K. y Sharma, V. Total synthesis of Carpatamides A–D. *Tetrahedron Lett.* **59**, 2708–2710 (2018).
- 49 Lundberg, H.; Tinnis, F.; Selander, N. y Adolfsson, H. Catalytic amide formation from non-activated carboxylic acids and amines. *Chem. Soc. Rev.* **43**, 2714–2742 (2014).
- 50 Lan, J.; Wang, N.; Huang, L.; Liu, Y.; Ma, X.; Lou, H.; Chen, C.; Feng, Y. y Pan, W. Design and synthesis of novel tetrandrine derivatives as potential anti-tumor agents against human hepatocellular carcinoma. *Eur. J. Med. Chem.* **127**, 554–566 (2017).
- 51 Huang, X.; Hua, S.; Huang, R.; Liu, Z.; Gou, S.; Wang, Z.; Liao, Z. y Wang, H. Dual-targeting antitumor hybrids derived from Pt(IV) species and millepachine analogues. *Eur. J. Med. Chem.* **148**, 1–25 (2018).
- 52 Froyen, P. The Conversion of Carboxylic Acids into Amides via NCS/Triphenylphosphine. *Synthetic Communication: An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry.* **25**, 959–968 (1995).
- 53 Luo, Q.L.; Lv, L.; Li, Y.; Tan, J.P.; Nan, W. y Hui, Q. An efficient protocol for the amidation of carboxylic acids promoted by trimethyl phosphite and iodine. *Eur. J. Org. Chem.* 6916–6922 (2011).

- 54 Srinivas, K.V.N.S. y Das, B. A highly convenient, efficient, and selective process for preparation of esters and amides from carboxylic acids using Fe³⁺-K-10 montmorillonite clay. *J. Org. Chem.* **68**, 1165–1167 (2003).
- 55 Laszlo, P. y Mathy, A. Catalysis of Friedel-Crafts Alkylation by a Montmorillonite Doped with Transition-Metal Cations. *Helvetica chimica acta.* **70**, 577–586 (1987)
- 56 Venkat Reddy, S.; Jagadeeshwar Rao, R.; Sampath Kumar, U. y Madhusudana Rao, J. Highly Efficient and Convenient Deprotection of Methoxymethyl Ethers and Esters Using Bismuth Triflate in an Aqueous Medium. *Chem. Lett.* **32**, 1038–1039 (2003).
- 57 Castillo-Contreras, E.B. y Dake, G.R. DMAP promoted tandem addition reactions forming substituted tetrahydroxanones. *Org. Lett.* **16**, 1642–1645 (2014).
- 58 Kumar, S.; Verma, N. y Ahmed, N. β-Cyclodextrin in water: Highly facile biomimetic one pot deprotection of phenolic THP/MOM/Ac/Ts ethers and concomitant regioselective cyclization of chalcone epoxides and 2'-aminochalcones. *RSC Adv.* **5**, 85128–85138 (2015).
- 59 a) Dalpozzo, R.; De Nino, A.; Maiuolo, L.; Procopio, A.; Nardi, M. Bartoli G. y Romeo R. Highly efficient and versatile acetylation of alcohols catalyzed by cerium(III) triflate. *Tetrahedron Lett.* **44** 5621–5624 (2003); b) Sato T. Cerium(III) trifluoromethanesulfonate. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (2010).