

UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO  
FACULTAD DE CIENCIAS  
BIOQUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



**QUÍMICA EN FASE SÓLIDA COMO  
HERRAMIENTA PARA INCREMENTAR LA  
DIVERSIDAD MOLECULAR DE ESTRUCTURAS  
 $\beta$ -LACTÁMICAS BICÍCLICAS**

INSTITUTO DE QUÍMICA ORGÁNICA DE SÍNTESIS  
-IQUIOS- (CONICET-UNR), Rosario



Tesis para optar al Título de Doctora en Ciencias Químicas

Autora: Boggian, Dora Bernarda

Director: Dr. Ernesto G. Mata

2006

*A Calilo, Iñaki y Maitena*

*A la memoria de mis padres*

*Agradezco de manera muy especial al Dr. Ernesto G. Mata:  
Por haber puesto a mi disposición  
los medios para llevar a cabo esta tesis,  
Por conducir con humildad, y sobre todas las cosas,  
por su generoso espíritu de colaboración.*

*A la Dra. María de los Ángeles Laborde  
por ofrecer su ayuda incondicional,  
su experiencia, y sobre todo su amistad.*

*Al Dr. Oreste A. Mascaretti,  
Por permitirme realizar este trabajo  
de tesis en su laboratorio.*

*Agradezco a todos los integrantes del IQUIOS, por la colaboración, comprensión, el estímulo diario y principalmente, por su empeño en disimular mis errores.*

*Al Prof. Dr. Manuel González Sierra, por haberme posibilitado realizar mi tesis en el IQUIOS y por su amable disposición en la realización y discusión de espectros de RMN.*

*A la Dra. Alejandra Suárez y al Dr. Rolando Spanevello por los consejos brindados, por su constante apoyo y por acompañarme, aún en los momentos difíciles.*

*Al Dr. Sebastián Testero, Por su desinteresada colaboración y amable disposición.*

*A la Dra. Mirta Mischne por ofrecer su ayuda y experiencia.*

*A Carina, Patricia, Luciana, Andrés, Pablo, por hacer del laboratorio un espacio de cordial convivencia.*

*A mis compañeros de la cátedra de Química Orgánica: Cristina, María Teresa, Silvia, Liliana, Silvina y Roberto, por compartir algo más que química.*

*Al Ing. Sergio Tindiglia por su amable disposición en la realización de espectros.*

*A la Sra. María del Carmen Lecuona por su afectuosa compañía.*

*Agradezco a la Facultad de Ciencias Bioquímicas y farmacéuticas, por facilitar el lugar de trabajo para el desarrollo de esta tesis.*

*Finalmente dos agradecimientos muy especiales:*

*A Luis y Nené, por acompañarme siempre y estimularme en mi desarrollo personal.*

*A mis heranos, por compartir mis logros con orgullo y amor.*

Parte del presente trabajo de Tesis ha dado lugar a las siguientes publicaciones

### **Publicaciones**

“Versatile strategy for the solid phase synthesis of penicillin derivatives: efficient preparation of 2 $\beta$ -methyl substituted penams as  $\beta$ -lactamase inhibitor analogues”

Dora B. Boggián and Ernesto G. Mata\*

*Synthesis*, **2006**, 20, 3397-3404

### **Presentaciones a congreso**

“Química en fase sólida como una herramienta para incrementar la diversidad molecular de estructuras  $\beta$ -lactámicas bicíclicas. parte 1: penicilinas”

Dora B. Boggián y Ernesto G. Mata\*

Poster Workshop de Química Farmacéutica, 2005

Ciudad de Buenos Aires

“Estudio sobre la utilización de diferentes soportes sólidos en la síntesis de estructuras  $\beta$ -lactámicas bicíclicas”

Boggián, Dora B., Laborde, María de los Angeles y Mata, Ernesto G.

Poster SAIQO, 2005

Mar del Plata

## Índice general

	<b>Páginas</b>
<b>Índice general</b>	<b>1</b>
<b>Abreviaturas y símbolos</b>	<b>8</b>
<b>Capítulo I: Introducción</b>	<b>11</b>
<b>Sección 1</b>	
<b>Química Combinatoria y Química en Fase Sólida</b>	<b>12</b>
I.1.1-Química Combinatoria	13
I.1.2-Química Orgánica en fase Sólida	17
I.1.3- Soportes Sólidos	19
a- Resinas de poliestireno hidrofóbicas	20
b- Resinas de poliestireno hidrofílicas	22
I.1.4- Ligandos y Espaciadores	23
I.1.5- Clasificación de ligandos	24
a- Ligandos lábiles a ácidos	26
b- Ligandos fotolábiles	27
c- Ligando tipo “Safety-Catch”	28
d- Ligandos que no dejan huellas	28
I.1.6- Monitoreo de las reacciones en la Síntesis Orgánica en Fase Sólida	29
I.1.7- Cinética y tratamiento de reacción en Síntesis Orgánica en Fase Sólida	31
I.1.8- Planificación de la Síntesis en Fase Sólida: Moléculas Orgánicas Pequeñas	33
I.1.9- Validación de la síntesis en fase sólida y optimización de las condiciones de reacción	34
I.1.10- Diseño de la Biblioteca	34
<b>Sección 2</b>	
<b>Compuestos <math>\beta</math>-lactámicos</b>	<b>36</b>
I.2.11- Compuestos $\beta$ -Lactámicos: Aspectos Estructurales y Nomenclatura	37
I.2.12- Compuestos $\beta$ -Lactámicos: actividad biológica	39

	2
I.2.13- Resistencia bacteriana a la quimioterapia por antibióticos β-lactámicos	40
I.2.14- Inhibidores de β-lactamasas	41
<b>Capítulo II: Planeamiento de la Síntesis</b>	<b>44</b>
II.1.1- Objetivos Generales	45
II.1.2-Metodología y plan de trabajo	46
II.1.3-Modificación de penicilinas unida a resina de Merrifield como soporte Sólido	46
a- Modificaciones realizadas en la posición 6 del núcleo penam	46
b-Modificaciones en la posición 2β-metil del núcleo penam	47
c-Modificaciones en la posición 1 del núcleo penam	48
II.1.4-Inmovilización del núcleo penam con resina de Wang y sus Modificaciones	48
II.1.5-Inmovilización del núcleo penam con resina JandaJel y sus Modificaciones	49
<b>Capítulo III: Síntesis y discusión de los resultados</b>	<b>51</b>
III.1.1-Modificaciones realizadas en la posición 6 del núcleo penam	52
a- Preparación del ácido 6,6 dibromo penicilánico (82)	52
b- Preparación del ácido 6α-cloropenicilánico (85)	53
c- Preparación del ácido 6α-bromopenicilánico (86)	53
III.1.2-Modificaciones de penicilinas usando resina de Merrifield	54
III.1.2.1-Unión de la resina de Merrifield al ácido penicilánico modificado en posición 6	54
III.1.2.2-Separación de derivados de penicilinas de su unión a la resina de Merrifield	55
III.1.2.3-Intento de preparación del ácido 6,6-dihidropenicilánico unido a la resina de Merrifield (94)	56
III.1.2.4-Modificaciones en la posición 2β-metil del núcleo penam	59
a- Penicilinas 2β-halometil sustituidas	59
b- Penicilinas 2β-heterocicliometil sustituidas	64
III.1.2.5-Modificaciones en la posición 1 del núcleo penam	67
III.1.2.5a Sulfonas de Penicilinas 2β-halometil sustituidas	67

	3
III.1.3-Modificaciones de penicilinas usando resinas de Wang	70
III.1.3.1-Inmovilización del núcleo penam a la resina de Wang utilizando el reactivo de Mukaiyama.	70
III.1.3.2-Separación de derivados de penicilinas de la resina de Wang usando TFA	74
III.1.3.3-Modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam	75
a- Penicilinas 2 $\beta$ -halometil sustituidas	77
b- Penicilinas 2 $\beta$ -Heterocicliltiometil sustituidas	80
III.1.4- Modificaciones de penicilinas usando resina JandaJel	84
III.1.4.1-Inmovilización del núcleo penam a la resina JandaJel	84
III.1.4.2-Separación de derivados de penicilinas de la resina JandaJel usando AlCl <sub>3</sub>	85
III.1.4.3-Modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam	85
<b>Capítulo IV: Parte experimental</b>	<b>88</b>
<b>Sección 1</b>	
<b>Materiales y Métodos</b>	<b>89</b>
IV.1.1- Condiciones generales	90
IV.1.2- Datos físicos	90
IV.1.3- Cromatografías	91
IV.1.4- Gases y Solventes Anhidros	92
IV.1.5- Reactivos	93
IV.1.6- Metodología general para el desarrollo de la síntesis en fase sólida	93
<b>Sección 2</b>	
<b>Resultados</b>	<b>94</b>
<b>Parte Experimental</b>	<b>95</b>
IV.2.1-Procedimiento general para realizar las modificaciones en el carbono 6 del Núcleo penam	95
IV.2.2-Obtención del ácido 6,6-dibromo-2,2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxílico (ácido 6,6-dibromopenicilánico) (82)	95
IV.2.3-Obtención del ácido 6 $\alpha$ -cloro-2,2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxílico (ácido 6 $\alpha$ -cloropenicilánico) (85)	96

IV.2.4-Obtención del ácido 6 $\alpha$ -bromo-2,2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxílico (ácido 6 $\alpha$ -bromopenicilánico) ( <b>86</b> )	<b>96</b>
IV.2.5-Procedimiento de unión de la resina de Merrifield al ácido penicilánico modificado en posición 6	<b>97</b>
IV.2.6-Procedimiento de la separación de derivados de penicilinas de la resina de Merrifield usando AlCl <sub>3</sub>	<b>98</b>
IV.2.7-Reducción del ácido 6,6-dibromopenicilánico y del ácido 6 $\alpha$ -bromopenicilánico unido a la resina de Merrifield	<b>98</b>
IV.2.8-Intentos de obtención del 6,6 dihidro-2,2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>94</b> )	<b>98</b>
IV.2.9-Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam	<b>99</b>
IV.2.10-Obtención de los sulfóxidos unidos a resina de Merrifield <b>96, 97 y 98</b>	<b>99</b>
IV.2.11-Obtención de los ésteres metílicos de los sulfóxidos <b>96, 97 y 98</b>	<b>100</b>
a 6,6-dibromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>96a</b> )	<b>100</b>
b 6 $\alpha$ -bromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>97a</b> )	<b>101</b>
c 6 $\alpha$ -cloro-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>98a</b> )	<b>101</b>
IV.2.12-Obtención de los disulfuros <b>99, 100 y 101</b> unido a la resina de Merrifield	<b>102</b>
IV.2.13-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -(clorometil)-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>110</b> )	<b>103</b>
IV.2.14-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -(bromometil) 2 $\alpha$ -metilpenam 3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>111</b> )	<b>104</b>
IV.2.15-Obtención del 6 $\alpha$ -bromo-2 $\beta$ -(clorometil)-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>112</b> )	<b>105</b>
IV.2.16-Obtención del 6 $\alpha$ -bromo-2 $\beta$ -(bromometil)-2 $\alpha$ -metilpenam 3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>113</b> )	<b>106</b>
IV.2.17-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -(clorometil)-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>114</b> )	<b>106</b>
IV.2.18-Procedimiento general para la obtención de Penicilinas 2 $\beta$ -heterocicliometil sustituidas	<b>108</b>
IV.2.19-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120a</b> )	<b>108</b>

IV.2.20-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120b</b> )	<b>109</b>
IV.2.21-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato ( <b>120c</b> )	<b>110</b>
IV.2.22-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(benzoxazol-2-il)tio]}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120d</b> )	<b>111</b>
IV.2.23-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(4,5-dihidro-tiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120e</b> )	<b>112</b>
IV.2.24-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(1-methyl-1 <i>H</i> -tetrazol-5-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120f</b> )	<b>113</b>
IV.2.25-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121a</b> )	<b>114</b>
IV.2.26-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121b</b> )	<b>115</b>
IV.2.27-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il) tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121c</b> )	<b>116</b>
IV.2.28-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(benzoxazol-2-il)tio]}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121d</b> )	<b>117</b>
IV.2.29-Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición 1 del núcleo penam	<b>118</b>
IV.2.30-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -(clorometil)-2 $\alpha$ -metilpenam-1,1-dioxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>124</b> )	<b>118</b>
IV.2.31-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -(bromometil)-2 $\alpha$ -metilpenam-1,1-dioxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>125</b> )	<b>119</b>
IV.2.32-Procedimiento de inmovilización del núcleo penam modificado en posición 6, con la resina de Wang utilizando el reactivo de Mukaiyama	<b>120</b>
IV.2.33-Procedimiento de la separación de derivados de penicilinas de la resina de Wang usando TFA	<b>120</b>
IV.2.34-Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam unido a la resina de Wang	<b>121</b>
IV.2.35-Obtención de los sulfóxidos de <b>138</b> , <b>139</b> y <b>140</b> unido a la resina de Wang	<b>121</b>
IV.2.36-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120a</b> )	<b>122</b>

IV.2.37-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120b</b> )	<b>123</b>
IV.2.38-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato ( <b>120c</b> )	<b>124</b>
IV.2.39-Obtención del 6,6 dibromo-2 $\beta$ -{[(benzoxazol-2-il)tio]}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120d</b> )	<b>124</b>
IV.2.40-Obtención del 6,6 dibromo-2 $\beta$ -{[(tiazol)tio]}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120e</b> )	<b>125</b>
IV.2.41-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121a</b> )	<b>126</b>
IV.2.42-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121b</b> )	<b>127</b>
IV.2.43-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il) tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121c</b> )	<b>127</b>
IV.2.44- Procedimiento de inmovilización del núcleo penam modificado en posición 6, con la resina JandaJel ( <b>147, 148 y 149</b> )	<b>128</b>
IV.2.45-Procedimiento de la separación de derivados de penicilinas de la resina JandaJel usando AlCl <sub>3</sub>	<b>129</b>
IV.2.46-Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam unido a la resina JandaJel	<b>129</b>
IV.2.47-Obtención de los sulfóxidos <b>150 y 151</b>	<b>129</b>
IV.2.48-Obtención de los ésteres metílicos <b>96a y 98a</b> de los sulfóxidos <b>150 y 151</b>	<b>130</b>
IV.2.49a-6,6-dibromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>96a</b> )	<b>130</b>
IV.2.49b-6 $\alpha$ -cloro-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>98a</b> )	<b>131</b>
IV.2.50-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120a</b> )	<b>131</b>
IV.2.51-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>120b</b> )	<b>132</b>
IV.2.52-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato ( <b>120c</b> )	<b>133</b>
IV.2.53-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121b</b> )	<b>133</b>

IV.2.54-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il) tio]metil}- 2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo ( <b>121c</b> )	134
<b>Capítulo V: Resumen y conclusiones</b>	<b>136</b>
<b>Capítulo VI: Espectros seleccionados</b>	<b>140</b>
<b>Capítulo VII: Referencias bibliográficas</b>	<b>178</b>

Abreviaturas y Símbolos.

Å	Armstrong
Ac	grupo acetilo
AcOEt	acetato de etilo
AcOH	ácido acético
AlCl <sub>3</sub>	cloruro de aluminio
6-APA	ácido 6β-amino penicilánico
α	Posición relativa de un grupo funcional
benc.	benceno
2-BTT	2-benzotiazolol
Bn	grupo bencilo
β	Posición relativa de un grupo funcional
CaCl <sub>2</sub>	cloruro de calcio
CCD	cromatografía en capa delgada
CHCl <sub>3</sub>	cloroformo
CH <sub>2</sub> N <sub>2</sub>	diazometano
CDCl <sub>3</sub>	cloroformo deuterado
Cl <sub>2</sub> SO <sub>2</sub>	cloruro de sulfurilo
d	doblete
DCM	diclorometano
dd	doble de dobletes
DDQ	2,3 dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
DIC	diisopropilcarbodiimida
DMAP	dimetilaminopiridina
DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
D <sub>2</sub> O	agua deuterada
DVB	divinilbenceno
eq.	equivalente/s
ET	estado de transición
Et	grupo etilo
EtOH	etanol

Et <sub>3</sub> N	trietilamina
FT	transformada de Fourier
g	gramo/s
HF	fluoruro de hidrógeno
h	hora/s
HS-Het	tiol-heterocíclico
Hz	Hertz (ciclo/s por segundo)
IR	espectro infrarrojo
J	constante de acoplamiento
JJ	JandaJel
KBr	bromuro de potasio
KF	fluoruro de potasio
LDA	diisopropilamido de litio
M	Merrifield
2-MBT	2-mercaptobenzotiazol
m	multiplete
<i>m</i> -CPBA	ácido <i>meta</i> -cloroperbenzoico
Me	grupo metilo
MHz	mega-Hertz
MeNO <sub>2</sub>	nitrometano
MeO	grupo metoxi
MeOH	metanol
mg	miligramo/s
mmoles	milimoles
mmoles/g	milimoles por gramo
NaNO <sub>2</sub>	nitrito de sodio
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	sulfato de sodio
NaMeO	metóxido de sodio
NaHCO <sub>3</sub>	bicarbonato de sodio
NO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	nitrometano
PBu <sub>3</sub>	tributilfosfina
PEG	polietilenglicol
P.F.	punto de fusión
Ph	grupo fenilo

PhO	grupo fenoxi
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	pentóxido de fósforo
ppm	partes por millón
PS	poliestireno
<i>p</i> -TsOH	ácido <i>para</i> -toluensulfónico
RMN	resonancia magnética nuclear
RMN de <sup>13</sup> C	resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup> C
RMN de <sup>1</sup> H	resonancia magnética nuclear de <sup>1</sup> H
s	singlete
S <sub>N</sub> 2	sustitución nucleofílica bimolecular
SPOS	Síntesis Orgánica en Fase Sólida
t	triplete
TEA	triethylamina
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
Tol	tolueno
UV	ultravioleta
δ	desplazamiento químico
°C	grados centígrados
ν	frecuencia (en cm <sup>-1</sup> )
W	Wang

# Capítulo I

## INTRODUCCIÓN

## Sección 1

# QUÍMICA COMBINATORIA Y QUÍMICA EN FASE SÓLIDA

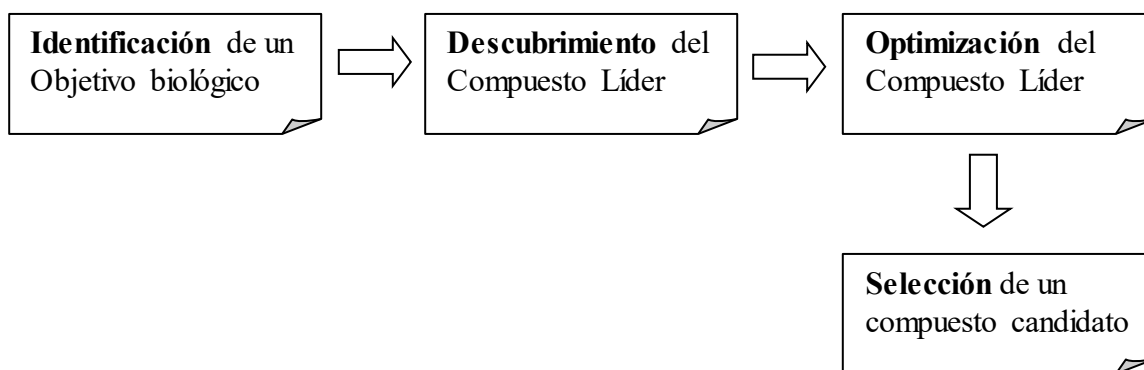
### **I.1.1- Química Combinatoria**

Desde los inicios de la química orgánica sintética, el objetivo de los químicos ha sido producir compuestos únicos en la forma más pura posible. En este camino algunas nuevas moléculas orgánicas fueron preparadas como drogas candidatas y sometidas a ensayos biológicos. Sintetizar cientos de nuevos compuestos uno por uno, y luego realizar el ensayo de cada una de las drogas ha significado que este proceso sea muy tedioso, consume mucho tiempo y resulte oneroso.

Sin embargo, comenzando la década de los 80, se publicaron algunos trabajos innovadores, que fueron cambiando radicalmente la teoría y la práctica del diseño y preparación de nuevas sustancias, hecho que resultó conveniente para las investigaciones farmacéuticas y para otras áreas de aplicación. Los nuevos procedimientos sintéticos, y lo que es más importante, la nueva forma de pensar que han introducido estos trabajos, llevaron rápidamente al crecimiento de un nuevo campo científico: *La Química Combinatoria*. Este procedimiento revolucionó las investigaciones farmacéuticas y se está expandiendo a otras áreas dentro y fuera de la química. Esta filosofía se ha aplicado a la ciencia de los materiales, la química de polímeros, receptores artificiales, colorantes, agentes complejantes, etc.<sup>1</sup>

La búsqueda de nuevas drogas es un proceso complejo<sup>2</sup> que consume mucho tiempo y dinero a causa de que una droga exitosa debe, además de ser potente y selectiva, satisfacer una larga lista de otros requisitos dependientes de la estructura (baja o nula toxicidad, solubilidad en el medio de acción, evitar problemas metabólicos, no poseer actividades biológicas secundarias, etc.). El proceso de descubrimiento de drogas comienza con la identificación del objetivo biológico, esto es, por ejemplo, una enzima que juega un papel fundamental induciendo una determinada enfermedad, la inhibición de la misma por parte de una droga implicaría un paliativo para dicha enfermedad. Luego es necesario encontrar el “compuesto líder”, o sea un compuesto prototipo que posea la actividad biológica o farmacológica deseada pero que no presente las características antes mencionadas como por ejemplo alta toxicidad, insolubilidad, inestabilidad, problemas metabólicos, actividades biológicas secundarias, etc. La optimización de dicho compuesto líder, a través de transformaciones químicas (modificaciones sintéticas) que mejoren las características de la droga, permite la obtención del “compuesto candidato” que es aquel seleccionado para ser sometido a las pruebas clínicas, etapa previa a la aprobación como droga comercial (Esquema 1).

## Descubrimiento de Drogas



Esquema 1

Para las etapas de descubrimiento del líder y su optimización es necesaria una interacción permanente entre los químicos orgánicos medicinales y los biólogos, quienes determinan la actividad biológica de los compuestos provistos por los químicos para poder hallar el compuesto líder y luego realizar la optimización. En esta etapa los resultados biológicos de los compuestos modificados guiarán las siguientes transformaciones químicas que serán nuevamente ensayadas y así sucesivamente hasta encontrar el compuesto candidato. A las pruebas *in vitro* les continúan las pruebas *in vivo*, éstas se clasifican en distintas fases,<sup>3</sup> las fases preclínicas son pruebas en animales para ver si la droga puede ser utilizada en humanos. La fase **I** de las pruebas clínicas se realiza sobre un pequeño grupo de voluntarios sanos, especialmente para determinar efectos secundarios, dosaje, y la farmacocinética que estudia la absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) de la droga. La fase **II** se realiza sobre un pequeño grupo de enfermos, para determinar la efectividad, la fase **III** es donde se tratan un mayor número de pacientes y donde se satisface los requerimientos de eficacia y seguridad de los organismos reguladores. Incluso hay una fase **IV** de control que se realiza cuando la droga ya está en el mercado.

El desarrollo de una nueva droga comercial es claramente un proceso largo y muy costoso en el cual una etapa importante es el descubrimiento del líder y su optimización; allí el químico provee los compuestos y el biólogo los ensaya. Pero los recientes avances en cuanto a la automatización y miniaturización de ensayos biológicos, técnica conocida como "High Throughput Screening" (HTS, ensayos biológicos de alta performance), produjo un cambio drástico en el descubrimiento de drogas ya que el número de compuestos a procesar por biólogo llega a ser de entre 10.000 a 100.000 compuestos por mes. No hay fuente

natural o sintética tradicional que pueda "alimentar" semejante requerimiento. Por síntesis tradicional, en el mejor de los casos, se pueden obtener 10 compuestos por químico y por mes. Las compañías farmacéuticas entonces, recurrieron a sus propias bibliotecas de compuestos (compuestos aislados u obtenidos durante años que habían sido probados solo para algunos objetivos terapéuticos), de todos modos, estos serían alrededor de 500.000 para las grandes compañías, con lo cual esta biblioteca se agotaría en 6 meses. La posibilidad de realizar un HTS junto al descubrimiento continuo de nuevos objetivos terapéuticos (nuevas enzimas o receptores que estén relacionados con nuevos o viejas enfermedades), implicaba que, para acelerar realmente el proceso del descubrimiento de drogas, era necesario encontrar una manera más fácil y barata de obtener una mayor cantidad de compuestos, o sea de acelerar la provisión de compuestos.

El tiempo total de desarrollo de una droga hasta que ésta llega al mercado, se estima entre 10 y 15 años y requiere la preparación y evaluación de cientos de análogos. Los costos se evalúan entre \$300 y \$800 millones de dólares por compuesto, cabe aclarar que sólo el 10% de los productos introducidos recuperan sus costos de desarrollo. Cada día perdido en el proceso de búsqueda de drogas no solo genera pérdidas millonarias a las compañías farmacéuticas, sino que, trasciende lo económico, ya que el acceso más rápido a nuevos medicamentos es un instrumento para mejorar la calidad de vida de la población. Por todo esto es necesario acelerar al máximo posible el descubrimiento y desarrollo de nuevas drogas. Lo que se intenta es reducir el tiempo dedicado a síntesis y *screening* a 1 año, lo que comúnmente lleva entre 3 y 5 años, siendo la *Química Combinatoria* una de las herramientas fundamentales para efectuar este logro.

La *Química Combinatoria* es el proceso por el cual se genera un conjunto de compuestos análogos (*biblioteca combinatoria*) en forma simultánea, rápida y eficiente. Se define como *biblioteca combinatoria* a una entidad integrada por diferentes compuestos individuales que pueden ser preparados a través de la misma estrategia de síntesis. Una biblioteca puede estar formada por miembros individuales aislados o por mezclas de compuestos. A su vez, las bibliotecas pueden ser *primarias*, esto es cuando se sintetiza un gran número de compuestos (cientos a millones) basándose en la diversidad, y en los cuales se dispone de insuficiente o ninguna información del objetivo biológico (Ej: un inhibidor enzimático). También se encuentran las bibliotecas *orientadas*, que son aquellas en las que la síntesis del conjunto de compuestos se basa en la similitud (cientos a miles). Las mismas están dirigidas a la optimización de las estructuras líderes, sobre las cuales se diseñó la biblioteca.

En sus comienzos, a mediados de la década del 80, la química combinatoria fue aplicada a la preparación de bibliotecas de péptidos, a partir principalmente de los trabajos de Rapad Furka y Mario Geysen.<sup>4</sup> Esto no fue casual teniendo en cuenta que desde 1963 se conocía la química en fase sólida de péptidos a partir de la síntesis de bradiquinina de Robert Bruce Merrifield.<sup>5</sup> Este trabajo tuvo un impacto inmediato, ya que facilitaba notablemente las reacciones repetitivas del tipo de la síntesis de péptidos, permitiendo el uso de exceso de reactivos, haciéndolas susceptibles a la automatización, y facilitando la eliminación de las impurezas por simple lavado y filtración de la resina.

Estas características hicieron que las primeras bibliotecas combinatorias fueran de péptidos, sin embargo, los péptidos también poseen propiedades farmacocinéticas desfavorables y son hidrolizadas por enzimas proteolíticas lo que los hace poco atractivos como potenciales drogas.

Cuando se trata de aplicar la síntesis en fase sólida a sustancias no oligoméricas el trabajo se torna complejo debido a la gran variedad de reactivos y condiciones requeridas dado que no se trata de un proceso repetitivo. La gran mayoría de las estructuras de las drogas comerciales encontradas, incluye sustancias no oligoméricas o moléculas pequeñas y que son los objetivos primordiales del proceso de descubrimiento de drogas. La situación en cuanto a las moléculas pequeñas cambió de manera drástica después de una publicación de Bunin y Ellman en 1992, donde informaron la síntesis en fase sólida de una biblioteca de 1,4-benzodiazepin-2-onas.<sup>6</sup> De inmediato otros laboratorios publicaron trabajos de síntesis en fase sólida conteniendo este sistema de anillos y otras moléculas con estructuras de potenciales compuestos activos. Hasta el año 1997, la gran mayoría de bibliotecas reportadas eran de péptidos o peptidomiméticos, con el transcurso de los años el número de las bibliotecas de moléculas pequeñas ha crecido notablemente.

Los trabajos relacionados con la generación de bibliotecas combinatorias han inspirado el desarrollo rápido de una amplia variedad de técnicas auxiliares incluyendo el uso de reactivos sobre soporte sólido, resinas de captura y análisis químicos y biológicos de compuestos unidos a la resina.<sup>7</sup> Las publicaciones en síntesis y aplicación de bibliotecas combinatorias se incrementan año a año. A fines del año 2000, el número de publicaciones en el tema ya habían superado las 1250, siendo el 82% en fase sólida y el 65% proveniente de laboratorios académicos. Para el año 2002, fueron reportadas más de 1000 bibliotecas, muchos de los compuestos incluidos en ellas han demostrado poseer actividad biológica.<sup>8</sup> El renovado interés por las metodologías combinatorias lo demuestra la inversión de 40 millones de dólares en cinco años por parte del National Institutes of Health (NIH) para la

creación de cuatro centros de excelencia en tecnologías combinatorias dentro de los EE.UU y un programa para encontrar compuestos candidatos a partir de bibliotecas combinatorias (<http://nihroadmap.nih.gov/molecularlibraries/index.asp>). La demanda creciente de nuevos compuestos para ensayos biológicos en las distintas áreas de investigación farmacéutica sólo puede ser cubierta por la aplicación de metodologías de Química Combinatoria como una tecnología central para el desarrollo rápido de nuevos compuestos líderes.

### **I.1.2- Química Orgánica en Fase Sólida**

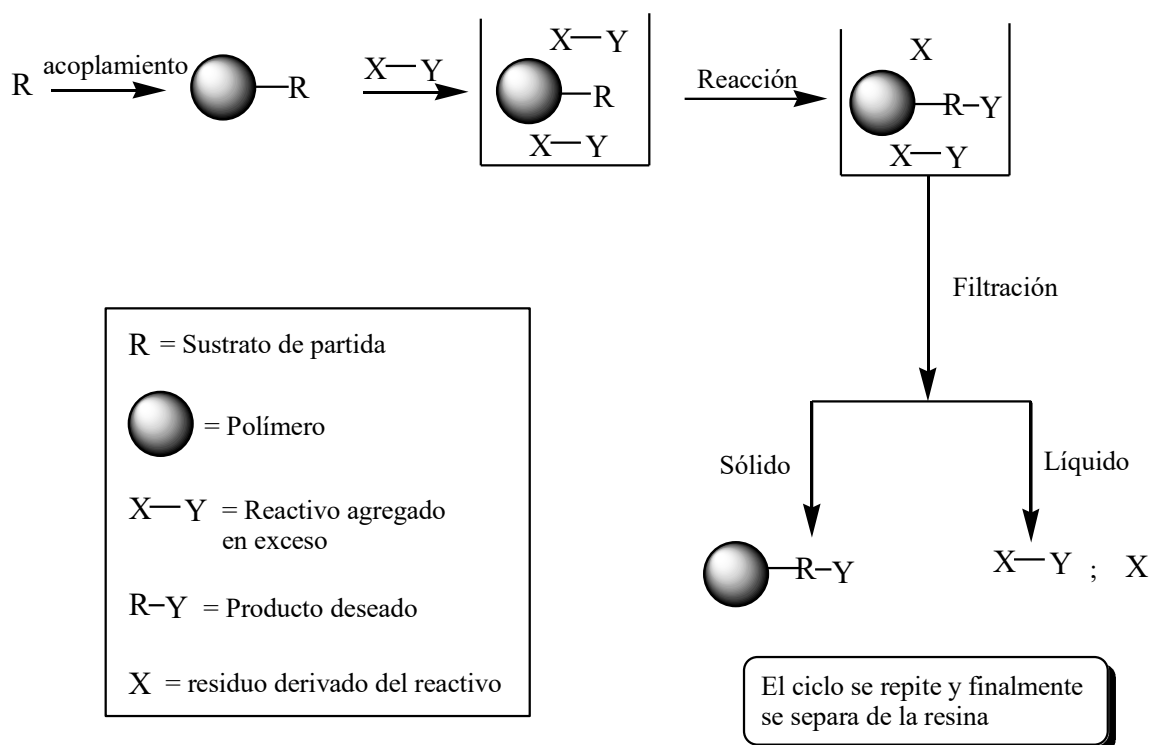
La síntesis en fase sólida es una metodología que permite realizar transformaciones químicas sobre sustratos unidos a un soporte, polimérico e insoluble en solventes orgánicos o acuosos. También se la denomina síntesis orgánica en fase sólida (SPOS; “Solid-Phase Organic Synthesis”).

Al estar unido a un soporte insoluble, el producto de la síntesis será fácilmente separado del exceso de reactivo o compuestos secundarios por una simple filtración y lavados (Esquema 2).

El masivo incremento de publicaciones describiendo el uso de soportes poliméricos en síntesis orgánica, es una efectiva demostración de su impacto en la comunidad química.

Existen una serie de motivos fundamentales que hacen de la síntesis orgánica en fase sólida una metodología ventajosa frente a la síntesis clásica en fase líquida: Cinco factores fundamentales influyen en la popularidad de ésta técnica;

- *Química Fácil*. Las reacciones pueden estar completas en solo tres pasos: adición de reactivos, filtración y lavado de la resina.
- *(II)-Eliminación del proceso de purificación*. Para cada paso de una síntesis en múltiples etapas, la única purificación necesaria es un lavado de la resina; solo el producto final de la síntesis necesita ser purificado.



Esquema 2

- *Se utilizan altas concentraciones de reactivos (normalmente entre 3 y 5 equivalentes):* lo cual favorece la formación de los productos y, por lo tanto lleva a mejores rendimientos.
- *La posibilidad de utilizar solventes de alto punto de ebullición.* A diferencia de la química tradicional en solución, los solventes en las reacciones en fase sólida se eliminan por filtración y no mediante evaporación. Por lo tanto, solventes de alto punto de ebullición como dimetil sulfoxido (DMSO) o dimetilformamida (DMF) se pueden usar sin problemas.
- *Facilita reacciones químicas difíciles* (Ej. ciclaciones). Debido al aislamiento de los sitios de reacción se crea un ambiente de “pseudo dilución”, esto favorece las reacciones intramoleculares (ciclaciones) en detrimento de las reacciones intermoleculares.

El advenimiento de la Química Combinatoria ha llevado a aumentar el uso de la síntesis en fase sólida, ya que, aunque la misma se puede realizar también en solución utilizando química tradicional, la síntesis en fase sólida ha sido la metodología de elección entre los científicos dedicados a esta nueva disciplina tanto en la industria como en los laboratorios académicos.<sup>9</sup> Desde el punto de vista de los objetivos de la Química

Combinatoria (rapidez y eficiencia), la química en fase sólida simplifica la etapa más laboriosa y larga del proceso de síntesis: el aislamiento del producto al final de cada reacción dentro de la secuencia sintética.

### **I.1.3- Soportes sólidos.**

El soporte sólido es la matriz polimérica insoluble. Los más utilizados son los copolímeros de poliestireno y divinilbenceno (DVB). Estas matrices poliméricas tienen como objetivo principal facilitar la separación sólido-líquido por filtración.

Los requerimientos generales para un soporte son estabilidad mecánica y química en las condiciones que van a ser usados. La estabilidad mecánica se requiere para evitar la destrucción de los granos de resina en partículas más pequeñas, las cuales podrían escaparse al filtrar.

Varios materiales poliméricos resultaron ser útiles para la síntesis orgánica en fase sólida, pero no todos los materiales son compatibles con todos los tipos de solventes y reactivos. Por lo tanto para cada aplicación se debe elegir el tipo apropiado de soporte.

Los granos de resina de poliestireno han sido usados en SPOS desde 1963 cuando Merrifield utilizó un copolímero de estireno-DVB clorometilado.<sup>10</sup> Este soporte insoluble posee una estructura tipo gel facilitando la penetración de los reactivos y solventes dentro de los gránulos en el sitio donde se lleva a cabo la reacción química.<sup>11</sup>

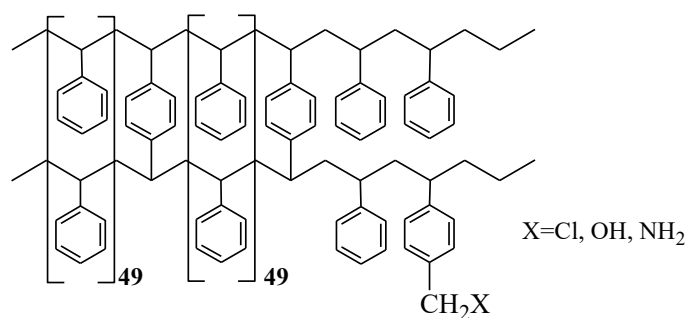
Aparte de las resinas de poliestireno-DVB, se han desarrollado otros materiales como soportes sólidos, por ejemplo, las resinas tentagel (TG) y Argogel (AG) también resinas Kieselguhr/Poliacrilamida (KPA)<sup>12</sup> y vidrio de poro controlado (CPG),<sup>13</sup> también se utiliza un copolímero de polietilenglicol/dimetilacrilamida PEGA.<sup>14</sup> Este último es un material muy polar que tiene la propiedad de hincharse en agua y posee un interior flexible al que pueden acceder una variedad de macromoléculas como las enzimas, sin embargo, tiene baja estabilidad mecánica haciendo difícil su manejo, lo que hace poco probable pensar en su uso a gran escala.

Desde el trabajo publicado por Janda,<sup>15</sup> en 1995, homopolímeros lineales de polietilén glicol monometil éter (MeO-PEG) han surgido como la alternativa de polímero "soluble". Este polímero es soluble en algunos solventes orgánicos pero, insoluble en otros, tales como hexano, dietileter e isopropanol. De esta manera es posible llevar a cabo la reacción con el compuesto unido a la resina en condiciones homogéneas con las ventajas de

la síntesis en solución. Una vez que la reacción se completa, los productos pueden ser purificados precipitando el polímero con dietiléter y eliminando las impurezas por filtración.

### I.1.3.a- Resinas de poliestireno hidrofóbicas.

El soporte sólido hidrofóbico más común es el que está formado por granos de poliestireno entrecruzado con divinilbenceno (Figura 1). A ciertos intervalos, los núcleos aromáticos de poliestireno poseen un grupo “X” que es la funcionalidad de unión al sustrato de la reacción. Los tres soportes de poliestireno más usados son los siguientes: a) *Clorometilpoliestireno* ( $X=Cl$ ): conocida como resina de Merrifield, fue originalmente preparada por postderivatización de resinas usando clorometilmetiléter y  $SnCl_4$ . b) *Hidroximetilpoliestireno* ( $X=OH$ ): preparada desde la resina de Merrifield por esterificación con acetato de potasio seguida de una saponificación o reducción del éster.<sup>16</sup> c) *Aminometilpoliestireno* ( $X=NH_2$ ): esta resina se prepara por sustitución de la resina de Merrifield seguida por hidrazinólisis o por aminometilación directa de la resina de poliestireno. Estas resinas se encuentran unidas a un gran número de distintos espaciadores a través de enlaces amidas, los cuales son estables bajo condiciones fuertemente ácidas.

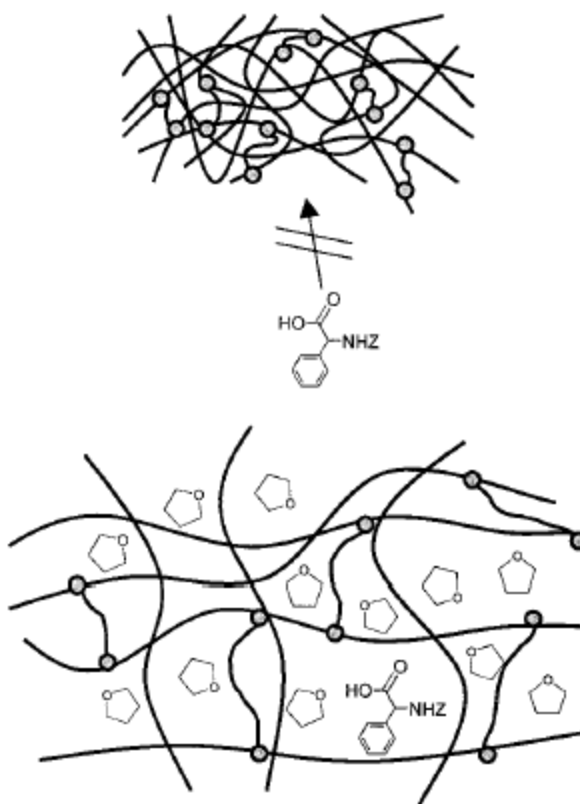


Resina poliestireno-divinilbenceno

**Figura 1**

Las reacciones en fase sólida son verdaderamente síntesis en fase gel, dado que el medio de reacción es una resina altamente solvatada. La expansión del volumen de los granos de resina por solvatación de su red polimérica se denomina *hinchado*, y es uno de los factores fundamentales para el desarrollo de SPOS. Si la resina no se hincha lo suficiente los reactivos no llegan a los sitios activos en el interior del grano. El solvente es “tomado”

dentro de las cadenas del polímero, resultando en un incremento en el volumen (Figura 2)<sup>17</sup>. Los solventes pueden penetrar en diferentes cantidades dentro de la resina, causando que el tamaño de los granos aumente.



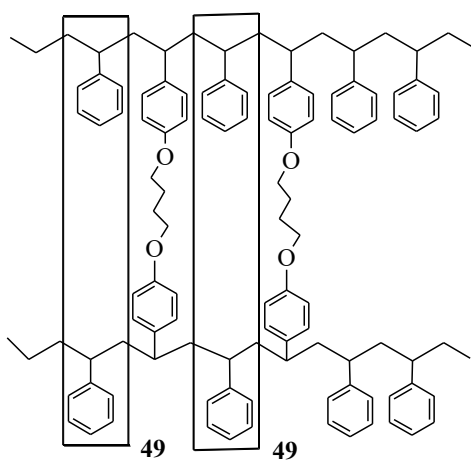
**Figura 2**

Las resinas hidrofóbicas se hinchan apropiadamente en solventes apolares (aumentando de 3 a 8 veces el tamaño de sus granos), sin embargo su hinchamiento es pobre en solventes próticos polares tales como alcoholes y agua. El entrecruzamiento de estas resinas es normalmente entre 1 y 2 %, lo cual provee una relación adecuada entre un buen hinchamiento y estabilidad mecánica de los granos (bajos niveles de entrecruzamiento resultan en granos que son muy frágiles). Los granos de resinas que se usan comúnmente son partículas de entre 90 y 200  $\mu\text{m}$ , esto los hace suficientemente grandes para que un gran número de sitios de reacción se encuentren en un solo grano (en un rango de cientos de picomoles). Su carga, definida como el número de sitios de reacción por gramo de resina, se encuentra normalmente en un rango de 0,5 a 1 mmol/g.

En general, los soportes sólidos toleran un amplio rango de condiciones de reacción como oxidantes débiles (ozono, DDQ), bases fuertes (LDA), y ácidos. Dentro de las limitaciones químicas de estas resinas podemos decir que los oxidantes fuertes a altas

temperaturas, y otros reactivos que puedan causar la modificación de los alquilbencenos, también pueden atacar la matriz de poliestireno.

Existen en la actualidad resinas que tienen la capacidad de duplicar el *hinchado* que se logra con el correspondiente poliestireno entrecruzado con 1% de divinilbenceno, este es el caso de las resinas denominadas “JandaJel”<sup>18</sup> Las resinas del tipo “JandaJel” (Figura 3), están estructuralmente formadas por poliestireno entrecruzado con 1,4-bis(vinilfenoxi)butano<sup>19</sup> en lugar del tradicional divinilbenceno. El grupo vinilfenoxi le confiere mayor flexibilidad a este tipo de resinas que han sido usadas en una gran variedad de transformaciones sintéticas,<sup>20</sup> catálisis,<sup>21</sup> catálisis quiral<sup>22</sup> y síntesis de pequeñas bibliotecas.<sup>23-24</sup>

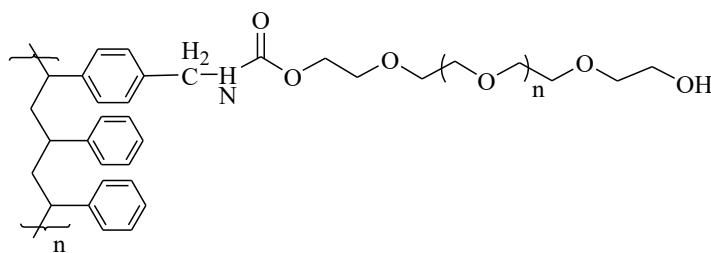


Resina JandaJel

**Figura 3**

### **I.1.3.b- Resinas de poliestireno hidrofílicas.**

Las resinas hidrofóbicas tienen el inconveniente de su pobre hinchamiento en solventes próticos polares. Este impedimento es subsanado uniendo cadenas hidrofílicas de polietilenglicol (PEG) a la resina de poliestireno, esto produce una resina híbrida que permite la utilización de solventes hidrofílicos con estos polímeros (Figura 4).<sup>25</sup>



Resinas PEG-PS

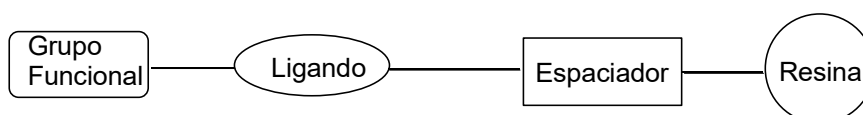
**Figura 4**

Este tipo de resinas, conocidas como PEG-PS, poseen un mayor grado de flexibilidad en las cadenas terminales del polietilenglicol; esto favorece la formación de un micro medioambiente parecido al de una solución real, ampliando, al menos potencialmente, la compatibilidad con un mayor número de reacciones comunes en química orgánica. Facilita además el monitoreo y la determinación de la estructura en el grano por técnicas espectroscópicas.

Sin embargo, las resinas PEG-PS tienen algunas desventajas. Por ejemplo la presencia de cadenas hidrofílicas en resinas PEG-PS disminuye su carga para evitar la interacción entre los sitios de reacción. A pesar de que son comerciales con diferentes grupos funcionales, estas resinas son significativamente más caras que las hidrofóbicas. Las resinas PEG-PS suelen ser usadas para estudios detallados, donde el monitoreo de la reacción por técnicas espectroscópicas es necesario, o cuando se requieren solventes próticos polares en la reacción.

#### **I.1.4- Ligandos y Espaciadores**

Considerando a la resina como una matriz inerte y pasiva químicamente, los ligandos hacen las veces de un grupo protector inmovilizado, al cual está unido el grupo funcional donde se unirá el sustrato por una unión covalente<sup>11</sup> (Esquema 3). El espaciador que se encuentra en algunos tipos de resinas, es el punto de unión entre el ligando y el soporte sólido, son químicamente estables durante la reacción y la ruptura, son generalmente flexibles y disminuyen en cierta medida la influencia de factores propios de la resina, como efectos estéricos o electrónicos. Para la caracterización de compuestos unidos al soporte polimérico por técnicas espectroscópicas como RMN, los espaciadores largos son una ventaja, ya que aumentan la movilidad del sustrato y reducen el ensanchamiento de los picos.

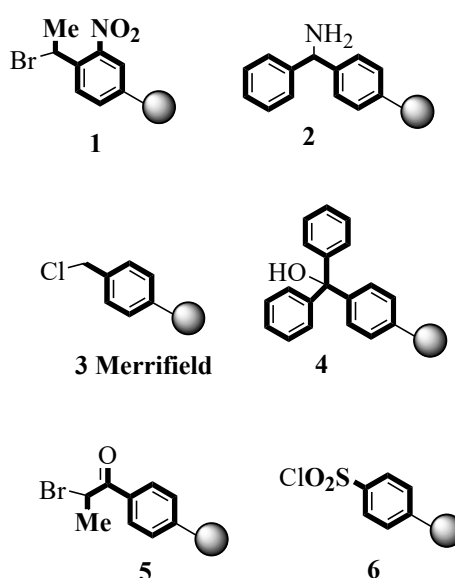


**Esquema 3**

### I.1.5- Clasificación de Ligandos

El número de ligandos de utilidad en SPOS ha crecido a lo largo de los años, desde comienzo de la década del noventa hasta ahora se han desarrollado más de 200 distintos tipos de ligandos.<sup>26</sup>

Se clasifican en dos tipos: *Ligandos integrales* en el cual uno de los anillos aromáticos de la matriz polimérica forma parte del ligando (Figura 5), y los *Ligandos no integrales* en los cuales el ligando está unido a la resina generalmente por medio de un anillo aromático (Figura 6).

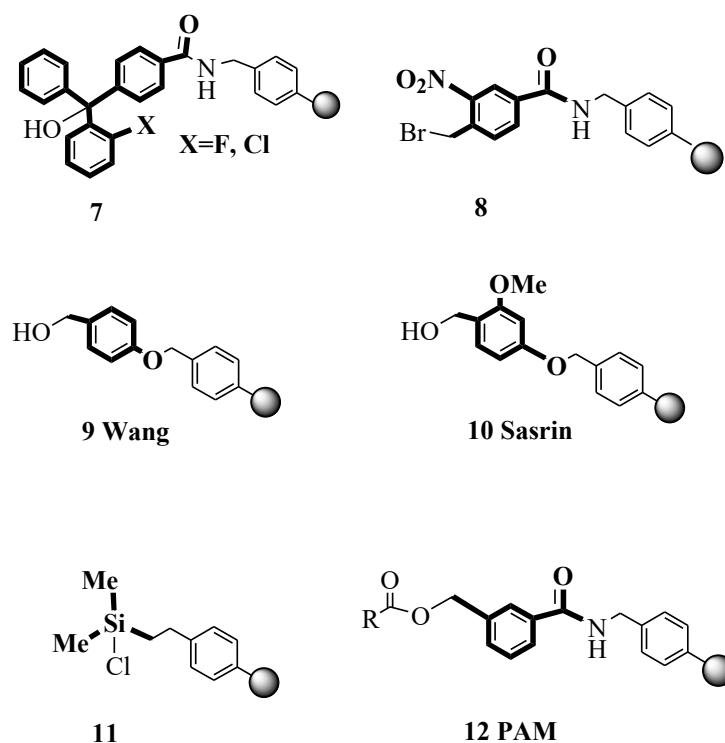


**Figura 5**

Ligandos como el *o*-nitro-( $\alpha$ -metil)bromobencilo (1), preparado por Pillai,<sup>27</sup> es un clásico ejemplo de un ligando integral. Su preparación fue realizada por funcionalización de resinas de poliestireno/DVB con cloruro de acetilo/ $\text{AlCl}_3$ , reduciendo la cetona y bromando el alcohol resultante. El grupo nitro fue incorporado por nitración de la resina. El ligando Benzhidrilamina (BHA) (2) fue preparado por acilación de Friedel-Crafts del poliestireno con cloruro de benzoilo. La benzofenona resultante fue transformada en el producto deseado por a) reducción de una oxima, b) amonólisis del bromoderivado, o c) aminación reductiva con formiato de amonio. La clásica resina clorometilada (3), permitió a Merrifield unir un aminoácido *N*-protegido al soporte sólido por formación de una unión benciléster. El ligando tritilo (4) desarrollado por Leznoff,<sup>28</sup> se prepara por litación del poliestireno y reacción con benzofenona. El ligando 5 se obtiene por funcionalización de la resina de

poliestireno/DVB con cloruro de 2-bromopropionilo/ $\text{AlCl}_3$  bajo condiciones de Friedel-Crafts.<sup>29</sup> En el caso del ligante **6** fue preparado a partir de una resina de intercambio iónico Dowex 50 W ( $-\text{SO}_3\text{H}$ ).<sup>30</sup>

Una desventaja de los ligandos integrales es el control de la síntesis, dado que la misma tiene lugar casi sobre la matriz polimérica, con el elevado riesgo de sufrir efectos estéricos y electrónicos. El grado de carga exacto y la funcionalización puede ser también difícil de controlar. Por las causas antes mencionadas, las resinas con ligandos no integrales (Figura 6), son de gran uso en el mercado.



**Figura 6**

Estos ligandos pueden ser unidos a la resina y luego derivatizados o precargados. En estos casos el ligando se unen a la matriz polimérica por uniones tipo éter, amidas o enlaces C-C

El ligando **7** es un tritilo preparado de una manera no integral por unión de 4-carboxi derivados<sup>31</sup> a través de un enlace amida. El ligando *o*-nitrobencilo (**8**) fue preparado por acoplamiento del ácido 3-nitro-4-bromometilbenzoico sobre una resina de aminometilpoliestireno. La resina de Wang (**9**) con el ligando alcohol *p*-alcoxibencílico, fue inicialmente preparada haciendo reaccionar alcohol 4-hidroxibencilo con resina de Merrifield en presencia de metóxido de sodio.<sup>32</sup> El ligando Sasrin (**10**) fue primero descrito

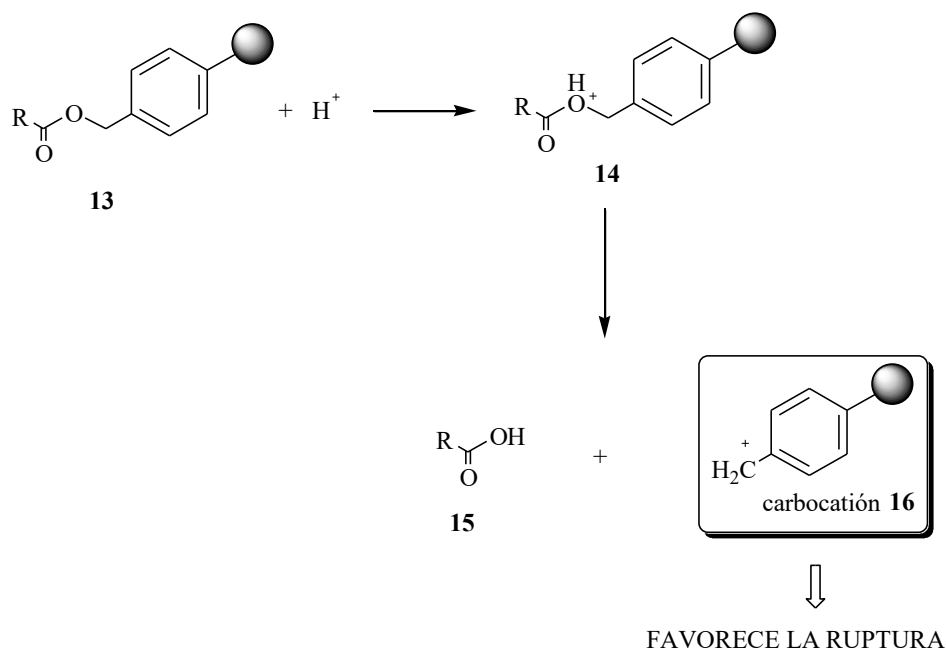
por Mergler y fue inicialmente unido a la resina por eterificación.<sup>33</sup> El ligando **11** se prepara por hidrosililación de (vinil)poliestireno.<sup>34</sup>

El ligando ideal debe ser fácil de preparar y estable a las condiciones de reacción, y a su vez debe ser sensible a las condiciones de ruptura. Es deseable que no cause problemas de subproductos en la ruptura final. Se clasifican comúnmente por las condiciones a las cuales son sometidos para lograr su ruptura.

### I.1.5a- Ligandos lábiles a ácidos

La unión más común al soporte es a través de un enlace éster el cual hace al ligando lábil a condiciones acídicas.

De la estabilización del carbocatión (**16**), formado en la ruptura, dependerá la susceptibilidad a condiciones acídicas de la resina (Esquema 4). Es generalmente aceptado que el mecanismo de la ruptura comienza con la protonación del oxígeno del éster (**13**), generándose el ión oxonio (**14**), seguido de la ruptura del enlace C-O para dar el ácido (**15**) y el carbocatión (**16**).<sup>35</sup>



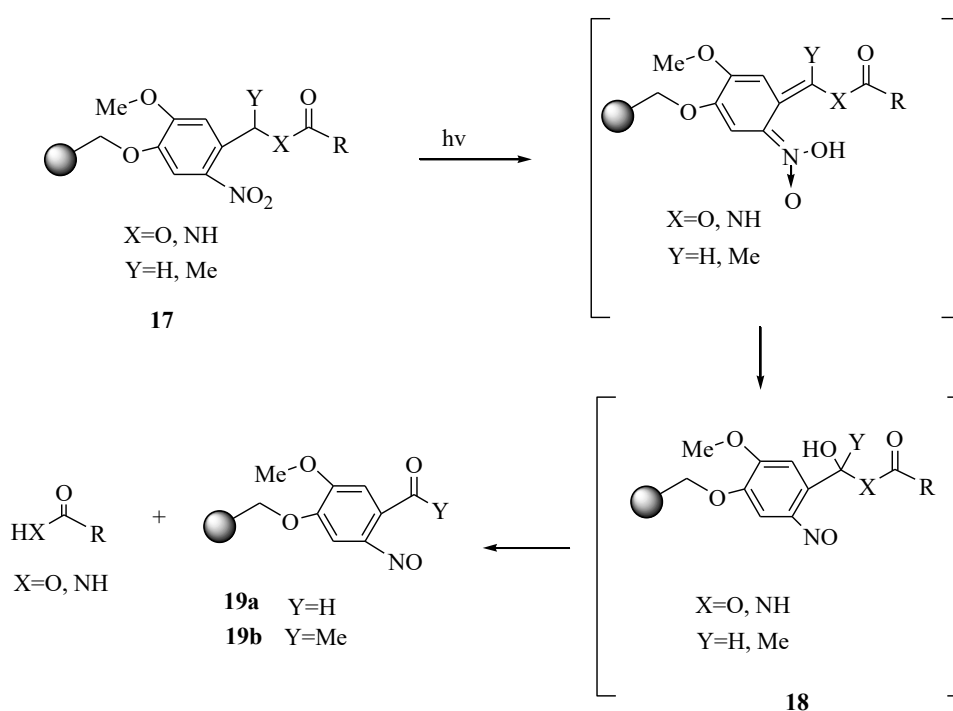
**Esquema 4**

En el caso de la resina de Wang (**9**), el carbocatión está estabilizado por la presencia del oxígeno en posición *para*, con lo cual la ruptura se logra usualmente con concentraciones de 10-30% de TFA. La resina de Sasrin (**10**) es aún más lábil a condiciones

ácidas debido a la presencia de un metoxilo extra en posición *orto*. La resina de Merrifield por no tener grupos dadores de electrones unidos al anillo aromático requiere condiciones fuertemente acídicas, mientras que la resina de PAM (**12**), por tener un grupo atractor de electrones es 100 veces más estable al medio ácido que la resina de Merrifield.

### I 1 5b- Ligandos Fitolábiles

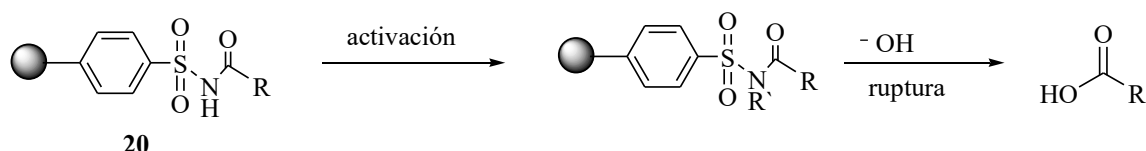
Los ejemplos más comunes de los ligandos fitolábiles están basados en los derivados nitrobenzólicos.<sup>36</sup> La irradiación del compuesto **17** ocurre con abstracción de hidrógeno (Esquema 5). Futuros reordenamientos conducen a la formación de **18** el cual sufre eliminación poniendo en libertad el producto.<sup>37</sup> Generalmente, se ha encontrado que, para el ejemplo ilustrado, si se tiene un grupo metilo en posición  $\alpha$ , la reacción conduce a la formación de una cetona **19b** antes que el aldehído **19a**, dando rendimientos superiores. Esto se debe a dos factores: por una parte la cetona es un cromóforo superior al aldehído, y por otro lado, el producto, una vez que se produce la ruptura, puede reunirse a la fase sólida a través del grupo aldehído.



Esquema 5

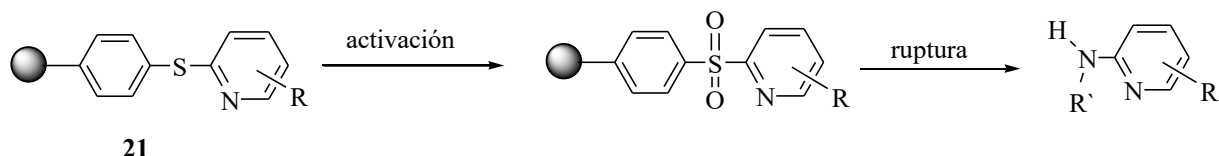
### I.1.5c- Ligandos tipo "Safety-Catch"

Los ligandos tipo “Safety-Catch” son aquellos que cuentan con dos etapas de ruptura,<sup>38</sup> el primer paso involucra la activación del ligando y el segundo la ruptura verdadera. Se ilustra usando dos ejemplos: El primero denominado ligando “safety catch de Kenner” (**20**) es estable a condiciones tanto ácidas como básicas (Esquema 6). Al momento de la separación, se alquila el nitrógeno con diazometano o iodoacetónitrilo una vez activado, la ruptura procede bajo condiciones nucleofílicas.



Esquema 6

Un segundo ejemplo es el ligando tipo pirimidilo (**21**) (Esquema 7).<sup>39</sup> El ligando sulfuro es estable bajo un rango de condiciones, pero una vez activado por oxidación, la ruptura se lleva a cabo por sustitución aromática electrofílica con una amina.

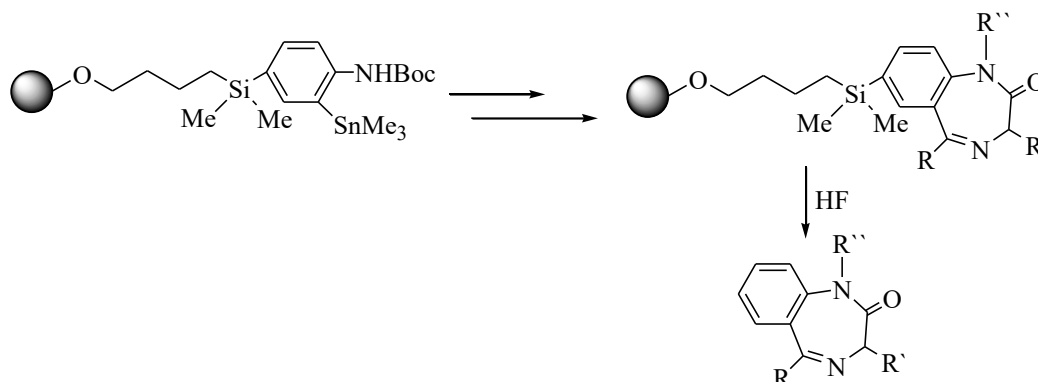


Esquema 7

#### I.1.5d- Ligandos que no dejan huellas

Muchos ligandos dejan un residuo unido a la molécula que ha sufrido la ruptura. Este suele ser un grupo funcional o un derivado del grupo funcional usado para unir la molécula al ligando, por ejemplo: un ácido carboxílico, una amida o un alcohol. La presencia de estos residuos no es siempre deseable para formar una biblioteca. Por esta razón se investigaron un número de ligandos que no dejan residuos sobre la molécula que sufrió la ruptura, estos ligandos se los conoce como *Ligandos “Traceless”* o ligandos que no dejan huellas y son aquellos en los cuales un nuevo enlace carbono-hidrógeno o carbono-carbono es formado en el sitio de unión de la molécula separada.

Los más comunes son los ligandos de aril sililo, que son usados para unir moléculas aromáticas formando nuevos enlaces carbono-hidrógeno (Esquema 8) y usualmente sufren ruptura por ácidos fuertes como el HF, o TFA.



Esquema 8

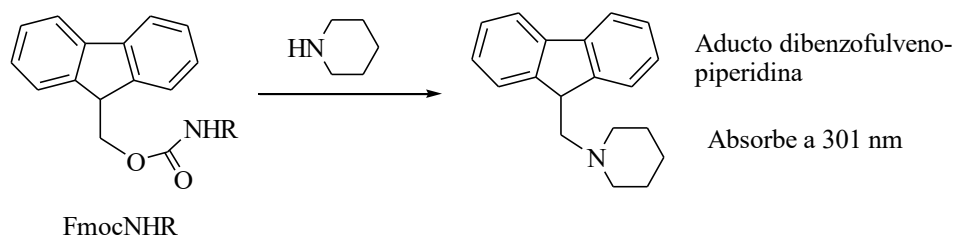
### I.1.6- Monitoreo de las reacciones en la Síntesis Orgánica en Fase Sólida.

Los métodos analíticos en reacciones orgánicas sobre soporte sólido a menudo requieren condiciones diferentes a aquellos usados en solución. El proceso de analizar cada producto por separación de la resina para evaluar el progreso de una síntesis en fase sólida es destructivo y consume mucho tiempo. Además algunos intermediarios sintéticos son inestables a las condiciones de ruptura. Por lo tanto, para evitar estos inconvenientes, se han desarrollado algunas técnicas que permiten determinar el avance de una reacción sin necesidad de producir la separación entre el compuesto y la resina.

Los métodos más usuales son los ensayos colorimétricos. Un ejemplo es el test de la ninhidrina para determinar aminas primarias (Test de Kaiser).<sup>40</sup> Es muy sensible y detecta la presencia de concentraciones muy bajas de aminas primarias sobre el soporte sólido. El método es estrictamente cualitativo, debido a que granos conteniendo entre 10 y 100 % de amina libre dan el mismo resultado. La cuantificación es también posible, aunque los procedimientos suelen ser complejos y el riesgo de obtener resultados poco reproducibles es bastante alto. En el test de Kaiser, unos pocos miligramos de resina se extraen de la reacción, se lavan con una serie de solventes, y se tratan con solución etanólica de ninhidrina y fenol, seguido por tratamiento de una solución de KCN en piridina a 100 °C por 10 min. Si los granos se tornan azul intenso, se evidencia la presencia de amina primaria libre sobre el soporte, mientras que si mantiene su color original estos grupos no estarán presentes en el soporte. Otro reactivo que puede ser utilizado para la detección de aminas es

el ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico y *p*-cloranil/RCOME. Este último reactivo también da coloración azul a los granos de resina con aminas secundarias. Hay también algunos ensayos útiles para la detección de alcoholes y tioles. Existe un ensayo que se utiliza para monitorear la esterificación de alcoholes unidos a la resina. En este ensayo el alcohol se convierte primero en el tosilato correspondiente, el cual es luego tratado con 4-(4-nitrobenzil)piridina.<sup>41</sup> El producto resultante se desprotona para dar la sal de piridonio correspondiente, que absorbe fuertemente dentro del rango correspondiente a la luz visible del espectro electromagnético, dando lugar a colores entre azul oscuro y rojo.

Se puede hacer una estimación de los rendimientos de manera indirecta usando métodos espectrofotométricos. Esto es posible en reacciones donde una especie, como por ejemplo un grupo protector, se libera estequiométricamente en condiciones que no afectan la unión entre el compuesto y la resina. Se cuantifica la sustancia liberada dando una medida aproximada del rendimiento del paso de la síntesis en fase sólida. Un ejemplo de esto es la eliminación del protector Fmoc de aminas en la síntesis de péptidos. En un experimento típico, los granos son tratados con solución al 20 % de piperidina en DMF por 20 minutos y la solución se recoge junto con el líquido de lavado. La solución es llevada a un determinado volumen por adición de DMF, y la cuantificación se realiza por mediciones de absorbancia al UV del complejo piperidina-dibenzofulveno a 301nm contra un blanco de piperidina en DMF. (Esquema 9)



**Esquema 9**

La espectroscopía infrarroja (IR),<sup>42</sup> es un método rápido y simple para la detección cualitativa de ciertos grupos funcionales unidos a soporte polimérico. La espectroscopía IR no es una herramienta analítica muy sensible para la detección de bajas concentraciones de material. Sin embargo, en el caso de intermediarios que tienen absorciones en el IR bien resueltas e intensas, el progreso de sus transformaciones químicas puede ser seguidos utilizando esta herramienta analítica.

Por otro lado, el uso de espectrometría de masas para monitorear reacciones en fase sólida se hace a través de la técnica MALDI-TOF<sup>43</sup> después de la ruptura *in situ* de un pequeño número de granos de resina. La ruptura ocurre directamente en el aparato, por lo tanto se considera *en el grano*. El costo del equipo y la utilidad restringida a compuestos cuya masa es mayor a 600 son limitaciones a la aplicación de este método para el monitoreo de las reacciones en fase sólida. Sin embargo, la extrema sensibilidad (un solo grano es suficiente) incrementará el uso de esta técnica en el futuro.

Los grandes obstáculos para el análisis por resonancia magnética nuclear (RMN) de protones de moléculas unidas a soporte polimérico son, básicamente, las bandas muy anchas debido al movimiento restringido de las mismas y la heterogeneidad de las muestras. La matriz polimérica causa un ambiente magnéticamente heterogéneo a través de la muestra dificultando la calibración del equipo.

La RMN en fase gel usualmente se refiere a la experiencia realizada sobre la resina suspendida en un solvente adecuado que permita su hinchamiento; para tal fin se utiliza un solvente estándar de RMN, tal como el cloroformo deuterado. Se encontró que la utilidad de la RMN en fase gel se logra en núcleos como  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  y  $^{31}\text{P}$ , que tienen rangos amplios de desplazamientos químicos y, por lo tanto, las amplitudes de las señales son menos importantes. Además, las señales suelen estar lo suficientemente aisladas como para ofrecer la información necesaria para ayudar a la elucidación estructural.<sup>44</sup> Dado que la resolución aumenta proporcionalmente a la movilidad de las moléculas unidas al soporte, los compuestos unidos a resinas tipo PEG-PS, dan generalmente mejores espectros que aquellos que utilizan poliestireno como soporte. Una técnica especialmente útil para compuestos en fase sólida es la de RMN-magic-angle spinning (MAS).<sup>45</sup> Esta técnica requiere un accesorio especial, con el cual se mantiene la muestra precesionando en un ángulo específico con respecto al campo magnético.

### **I.1.7- Cinética y tratamiento de reacción en Síntesis Orgánica en Fase Sólida**

Si bien en este último tiempo la síntesis orgánica en fase sólida ha evolucionado de manera significativa, hay una seria carencia de estudios cinéticos para las reacciones en ese medio. El uso del soporte sólido tiene una profunda influencia sobre algunos parámetros de reacción, sobre todo en las velocidades de las mismas, dado que no es solamente repetir en ese medio lo que se ha realizado previamente en solución. Las condiciones son generalmente diferentes debido al ambiente heterogéneo en que se desarrolla una reacción

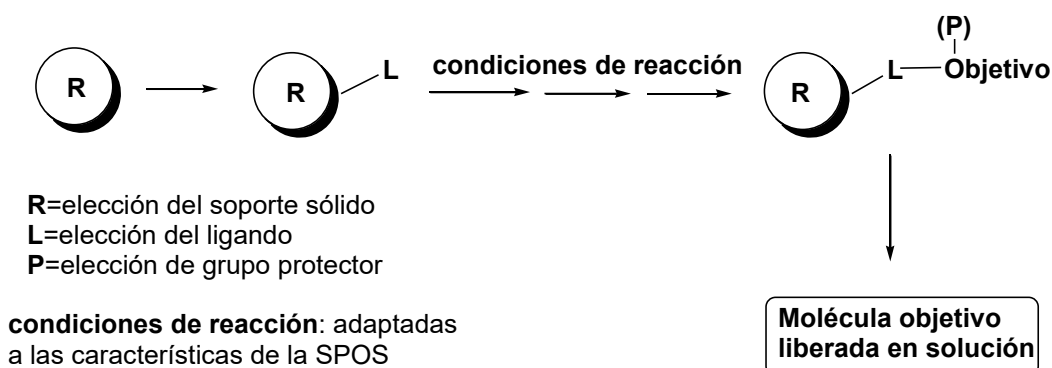
en fase sólida. Cuando la reacción tiene lugar en fase homogénea, los reactantes pueden interactuar libremente, y las velocidades de reacción dependen de los parámetros clásicos (Ej.: concentración y temperatura). Cuando una de las sustancias que intervienen en la reacción está unida al soporte polimérico, la reacción estará indudablemente afectada por la proximidad del grupo reactante respecto a la matriz polimérica.<sup>46</sup> Además, por ser un medio heterogéneo, la cinética va a depender de la velocidad de difusión de la disolución del reactivo dentro y fuera de los granos de resina. Las velocidades de reacción son generalmente más rápidas en solución que en soporte sólido y las sustancias reaccionantes soportadas sobre resinas gelatinosas exhiben diferentes reactividades dependiendo del hinchamiento de la resina por el solvente y de la naturaleza de la matriz polimérica.<sup>47</sup>

La reactividad en el caso de las reacciones en fase homogénea depende del número de encuentros y colisiones entre dos grupos en la misma molécula (intramolecular) o entre grupos de dos moléculas diferentes (intermolecular). La libertad completa de movimiento de cada molécula en solución no impide ningún acoplamiento intermolecular. El soporte sólido disminuye la libertad de cada molécula soportada, favoreciendo las reacciones intramoleculares. Esto implica una clara ventaja de las reacciones en fase sólida ya que, en general, las reacciones intramoleculares son dificultosas en solución y requieren una alta dilución para disminuir al mínimo las dimerizaciones o oligomerizaciones.

Otra diferencia está relacionada al tratamiento de la reacción después de la misma. Como ya se ha expresado anteriormente, cuando la reacción es llevada a cabo en fase sólida, el producto de reacción permanece unido a la resina mientras el exceso de reactivo, el catalizador y las impurezas permanecen en la solución. El procedimiento típico de tratamiento de la reacción consiste en una simple filtración de la resina, seguido por sucesivos lavados con distintos solventes. Es bastante común el uso de diferentes solventes en ciclos de lavado para eliminar impurezas y reactivos solubles, con distintas propiedades fisicoquímicas. Este tipo de tratamiento es fácilmente automatizable. Primero se suele hacer un lavado con un solvente que hinche bien la resina, luego con uno que solubilice las impurezas, y por último con uno que produzca la contracción de los granos para forzar por medios físicos a la salida de las impurezas.

### **I.1.8- Planificación de la Síntesis en Fase Sólida: Moléculas Orgánicas Pequeñas.**

Para que el diseño de una SPOS resulte exitoso, se requiere la selección apropiada de algunas entidades relacionadas a la misma, que no están presentes en la correspondiente planificación de síntesis en solución. Un breve estudio de estas elecciones se grafican en el Esquema 10.<sup>48</sup>



**Esquema 10**

*Elección del soporte sólido:* El soporte sólido se elige generalmente siguiendo las preferencias personales del científico. Muchos soportes tienen similares características y frecuentemente dan similares resultados.

*Elección del ligando:* Si una molécula no contiene una adecuada funcionalización, un enlace C-H de la molécula objetivo puede ser reemplazado por un ligando “traceless” (ligandos que no dejan huellas). Si la molécula puede unirse directamente al grupo activo del soporte sólido, no se necesita ligando. De otro modo se escogerá un ligando disponible comercialmente y adecuado para la planificación de una SPOS. Siempre que sea posible es conveniente elegir un ligando que pueda ser eliminado con reactivos “limpios” (Ej. luz, vapores de TFA, y vapor de amoníaco).

*Elección del grupo protector:* La elección del grupo protector (cuando este sea necesario) se hará teniendo presente la disponibilidad comercial; de hecho es preferible obtener simultáneamente el desprendimiento de la molécula objetivo desde el soporte sólido y desprotección del grupo protector como paso final de la SPOS.

*Condiciones de reacción:* Las condiciones de reacción usadas en solución se adaptan generalmente a la SPOS; los tiempos de reacción, la cantidad de reactivos, y las concentraciones son usualmente incrementados.

### **I.1.9- Validación de la síntesis en fase sólida y optimización de las condiciones de reacción**

Una vez que la síntesis fue diseñada, el paso siguiente es validar las condiciones de reacción, incorporando los ajustes requeridos para la introducción del soporte, el ligando, incluyendo la selección de los ciclos de lavado y secado apropiados. La presencia de los intermediarios se determina por métodos analíticos en el grano o fuera del mismo, y si el compuesto buscado está ausente, se modifican los parámetros de la reacción en forma apropiada. Los parámetros a variar en estas reacciones son los mismos que en las reacciones en solución: temperatura, concentración y solvente. Si un paso de la reacción específica no puede ser transferido en la SPOS después de intentar todas las opciones posibles, se busca una ruta sintética alternativa en fase sólida que puede ser diseñada a partir de distintos cambios a la estrategia, por ejemplo, nuevos reactivos con diferentes grupos protectores, diferentes ligandos o soportes. Si después de todos estos cambios el producto de reacción está ausente, la estrategia de SPOS debe ser cambiada radicalmente, con una nueva ruta sintética ya validada en síntesis en solución o desecharla completamente.<sup>49</sup>

Si la molécula objetivo se obtiene pura y con altos rendimientos utilizando SPOS usando simplemente las condiciones que se utiliza habitualmente en solución, los esfuerzos de optimización no son necesarios.

La cinética de la reacción se evalúa por seguimiento del curso de la misma, tanto sobre el grano de resina como fuera de ella.

#### **I.1.10- Diseño de la Biblioteca**

Una vez optimizada la síntesis, el siguiente paso es el diseño de la biblioteca, esto implica la introducción de diversas unidades constructoras. Se define como unidades constructoras (building block) a “uno de un número de reactivos intercambiables que pueden ser usados en síntesis de bibliotecas combinatorias, parte del cual se incorpora al producto final con el objetivo de introducir diversidad”.<sup>50</sup> Estas variaciones en las unidades constructoras se hacen teniendo en cuenta la disponibilidad comercial de las mismas y un diseño racional de la biblioteca.

El reemplazo de las diferentes unidades constructoras y la generación de distintos grupos funcionales en la molécula final, puede producir un gran número de estructuras análogas de compuestos de potencial actividad biológica.

## SECCIÓN 2

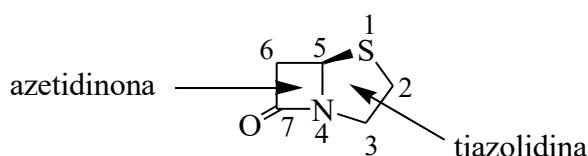
# COMPUESTOS $\beta$ -LACTÁMICOS

### I.2.11- Compuestos $\beta$ -Lactámicos: Aspectos Estructurales y Nomenclatura

Los compuestos  $\beta$ -lactámicos, como su nombre lo indica, contienen una  $\beta$ -lactama en su estructura. Entre dichos compuestos se distinguen dos grandes grupos que son agentes terapéuticos de gran importancia en clínica médica: los antibióticos y los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas.

El interés por la síntesis de nuevos derivados  $\beta$ -lactámicos se ha incrementado con el descubrimiento reciente de compuestos con dicha estructura que poseen actividad como inhibidores del antígeno prostático específico,<sup>51</sup> trombina,<sup>52</sup> proteasa de citomegalovirus humano,<sup>53</sup> elastasa leucocitaria humana,<sup>54</sup> cistein proteasa<sup>55</sup> y absorción de colesterol,<sup>56</sup> entre otras.

Dentro del grupo general de compuestos  $\beta$ -lactámicos se conocen como derivados del núcleo penam o penicilinas a aquellos compuestos que poseen una estructura básica en la cual el anillo  $\beta$ -lactámico (2-azetidiona) está fusionado con un segundo heterociclo de cinco miembros (tiazolidina), a través del nitrógeno y del carbono tetraédrico adyacente (Figura 7).

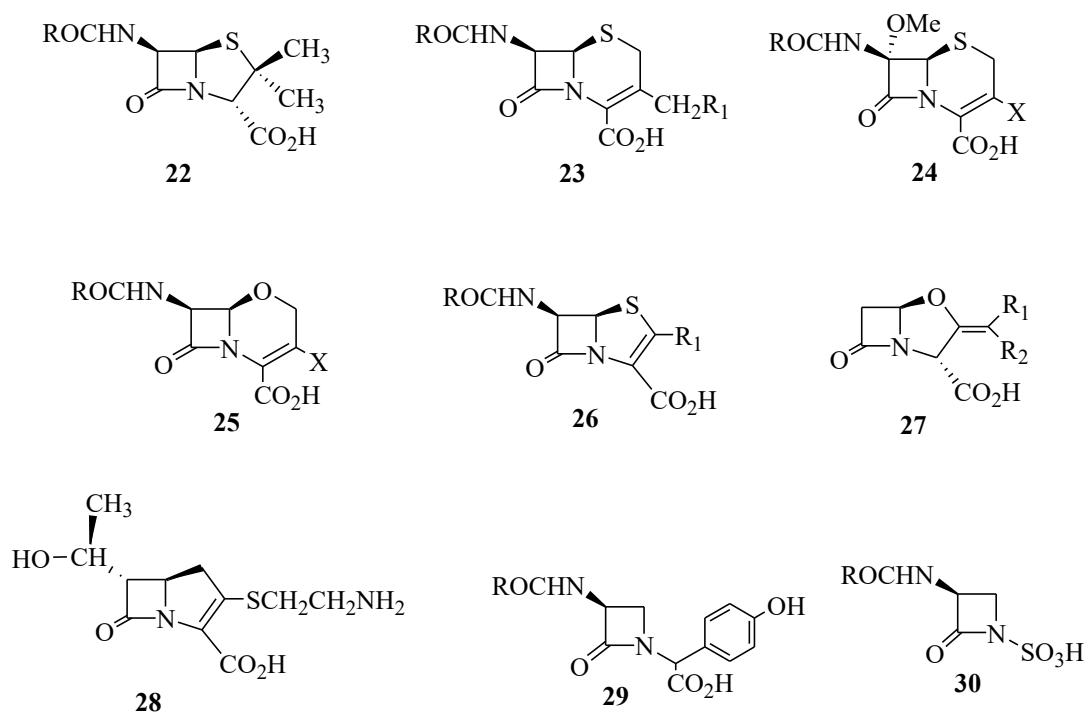


**Figura 7**

Hace ya más de 70 años desde el descubrimiento fortuito de la penicilina por Fleming, y 60 años desde que ésta ingresó al mercado farmacéutico y, no nos equivocáramos al afirmar que su reinado perdura hasta hoy en día.<sup>57</sup> Al finalizar la segunda guerra mundial, el gran interés comercial y académico despertado por los antibióticos  $\beta$ -lactámicos condujo al desarrollo de una amplia variedad de agentes antibacterianos de gran valor terapéutico.

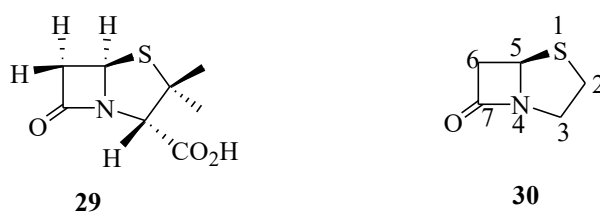
Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos pueden clasificarse en diferentes grupos, algunos de los cuales se muestran en la Figura 8: penicilinas (**22**), cefalosporinas (**23**), cefamicinas (**24**),

oxacefems (**25**), penems (**26**), clavams (**27**) carbapenems (**28**), nocardicinas (**29**) y monobactamas (**30**).



**Figura 8**

Existen dos nomenclaturas ampliamente difundidas para los derivados de penicilinas, la primera toma como base la estructura **29** que se denomina ácido penicilánico, y la segunda se basa en el núcleo penam **30** (Figura 9).

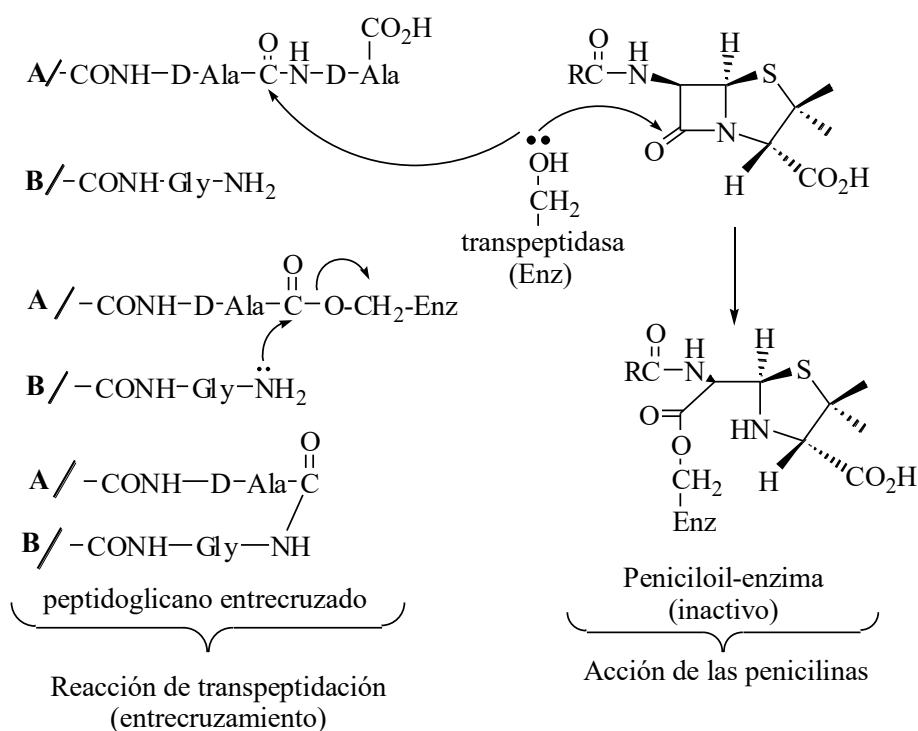


**Figura 9**

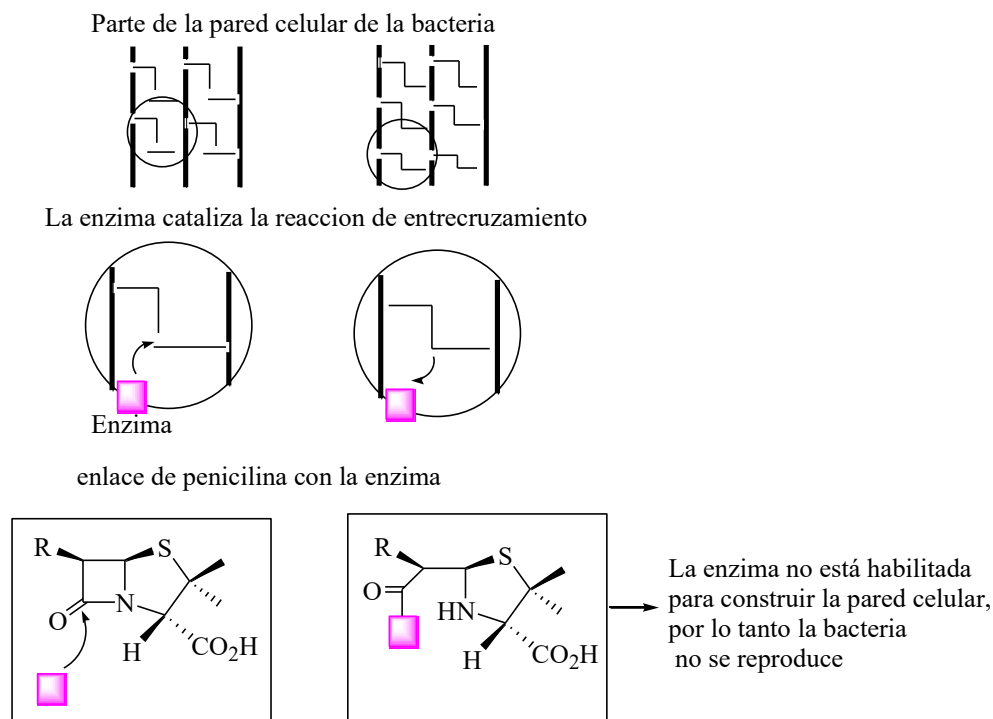
En este trabajo se nombrarán como derivados del ácido penicilánico todos aquellos compuestos que posean la estructura **29**, ya sea con el grupo carboxílico como tal o en forma de éster.

### I.2.12- Compuestos $\beta$ -Lactámicos: actividad biológica

Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos ejercen su actividad antibacteriana inhibiendo la síntesis de la pared celular de las bacterias.<sup>58</sup> El principal componente de la pared celular bacteriana es un polímero altamente entrecruzado llamado peptidoglicano, que es el responsable de la forma, de la integridad estructural y de la insolubilidad de la célula bacteriana. La última etapa de la biosíntesis del peptidoglicano implica el entrecruzamiento entre unidades lineales con catálisis de enzimas denominadas transpeptidasas. Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos simulan el sustrato de las transpeptidasas inhibiendo la etapa del entrecruzamiento del polímero. Para explicar la selectividad de la acción de las penicilinas sobre las transpeptidasas, se ha postulado que el grupo carbonilo del anillo  $\beta$ -lactámico reacciona con grupos nucleofílicos de la enzima, llevando a la formación de una unión covalente entre el antibiótico y la enzima, quedando de este modo irreversiblemente inactivada. (Esquema 11 y 12).



**Esquema 11** Reacciones catalizadas por DD-transpeptidasa en el entrecruzamiento de cadenas lineales de peptidoglicano y en presencia de penicilina



**Esquema 12.** Esquematización de la inhibición de la síntesis de la pared celular bacteriana por los antibióticos  $\beta$ -lactámicos

### **1.2.13- Resistencia bacteriana a la quimioterapia por antibióticos $\beta$ -lactámicos**

El difundido uso y “abuso” de las penicilinas y cefalosporinas se ha traducido en el surgimiento de resistencia bacteriana a estos antibióticos. La evolución de las bacterias las ha llevado a generar un mecanismo metabólico para “defenderse de aquello que las ataca”. Existen varios mecanismos por los cuales una bacteria puede obtener resistencia a un antibiótico, los casos mejor documentados son: *a)* alteración de la permeabilidad hacia la droga; *b)* sobreproducción de la enzima blanco; *c)* alteración del sitio de acción del antibiótico; *d)* producción de una enzima que destruya al fármaco; *e)* sobreproducción del sustrato de la enzima y *f)* desarrollo de una nueva vía metabólica que suplante a la vía inhibida. Las bacterias desarrollan la mayoría de estos mecanismos. En particular los más efectivos resultan ser el cambio de permeabilidad de la pared celular, la modificación del sitio de acción del antibiótico y la presencia de una vía catabólica para la destrucción del fármaco.<sup>59</sup> Este último modo de resistencia es altamente efectivo y resulta ser la principal vía para evitar la acción del fármaco. El antibiótico es destruido en el medio por la expresión de enzimas proteicas denominadas  $\beta$ -lactamasas.

La resistencia bacteriana debida a  $\beta$ -lactamasas es un tema alarmante, fundamentalmente por la transmisión horizontal, esto es, los genes de resistencia a antibióticos se acumulan en los plásmidos y se transfieren de una bacteria a otra por distintos mecanismos, incluso entre diferentes especies bacterianas.

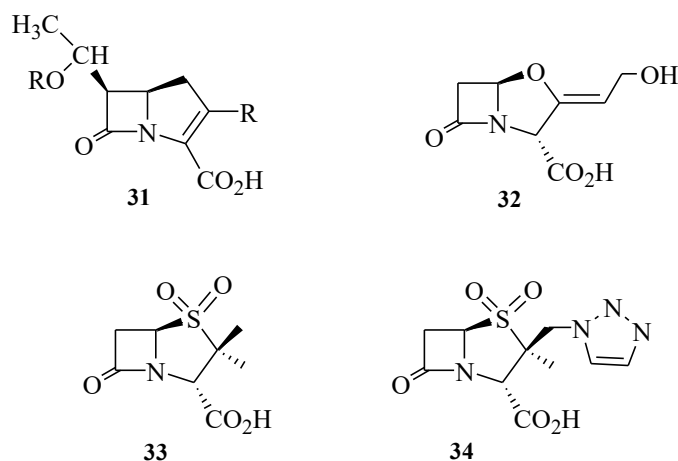
Las enzimas  $\beta$ -lactamasas han sido clasificadas de acuerdo a diferentes esquemas basados en dos características: estructura molecular o función. La clasificación molecular se basa en la división inicial de Ambler,<sup>60</sup> en lo cual las enzimas se clasifican en aquellas que poseen una serina en el sitio activo y aquellas que contienen el ion zinc ( $Zn^{+2}$ ) en el sitio activo.

La clasificación funcional se basa en perfiles de hidrólisis y fueron propuestas por primera vez por Richmond, M. H. y Sykes, R. B.<sup>61</sup> Más tarde se agregaron actualizaciones que diferenciaban las enzimas de acuerdo a sus perfiles de inhibición.<sup>62</sup> Luego se agregaron clasificaciones propuestas por Madeiros, A. A.; Bush, K. y Jacoby, G. A.<sup>63</sup> basadas en características funcionales, donde se correlaciona las propiedades del sustrato y las propiedades inhibitoras con la estructura molecular.

#### **I.2.14- Inhibidores de $\beta$ -lactamasas**

En el mismo instante que el hombre descubre la resistencia bacteriana comienza una batalla que perdura hasta nuestros días, y no tendrá fin ya que su blanco biológico, la bacteria, seguirá su carrera evolutiva desarrollando nuevos mecanismos de resistencia. Así, en la década del 70 los científicos del laboratorio Beecham iniciaron un programa de prueba para la detección de inhibidores naturales de  $\beta$ -lactamasas.<sup>64-65</sup> Como consecuencia de estas pruebas se encontraron varios inhibidores en un cultivo de *Streptomyces olivaceus*. Colectivamente se los conoce como ácidos olivánicos (**31**) (Figura 10), no solo son potentes inhibidores basados en el mecanismo de  $\beta$ -lactamasas, sino también potentes antibióticos. Más tarde, fue detectado también por científicos de Beecham, otro potente inhibidor de  $\beta$ -lactamasas en un cultivo de *Streptomyces clavuligerus*. Este inhibidor fue aislado y caracterizado como el ácido clavulánico (**32**),<sup>66</sup> a pesar de que este compuesto presenta solo una débil actividad antibacteriana, ha demostrado ser un potente inhibidor de muchas  $\beta$ -lactamasas clínicamente importantes.<sup>67</sup> El aislamiento de los ácidos olivánicos y del ácido clavulánico de fuentes naturales estimuló la búsqueda de inhibidores de  $\beta$ -lactamasas con mejores propiedades biológicas. Esto llevó a poner esfuerzo en las modificaciones químicas

de derivados  $\beta$ -lactámicos. El primer logro en este sentido fue la obtención del ácido penicilánico sulfona (sulbactama) (**33**) el cual fue sintetizado por químicos del laboratorio Pfizer a partir del 6 $\beta$ -aminopenicilánico (6 APA). Luego fueron reportados muchos inhibidores semisintéticos de  $\beta$ -lactamasas entre ellos la tazobactama (**34**) (Figura 10).

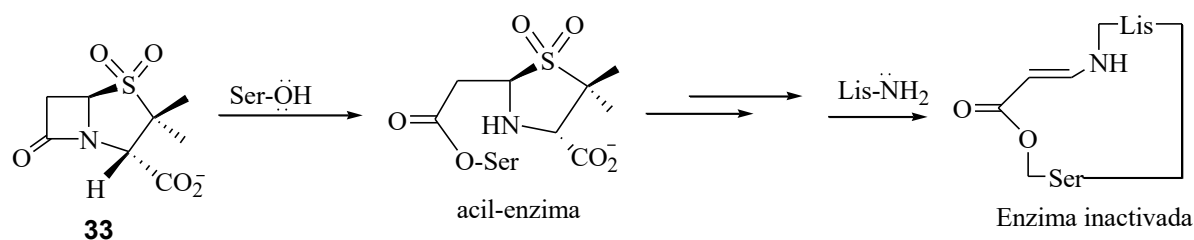


**Figura 10**

Estos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas disminuyen o previenen la catálisis enzimática y el mecanismo de inhibición es irreversible ya que neutraliza la actividad enzimática, sugiriendo la formación de un enlace covalente estable: inhibidor-enzima. Estos inhibidores serán inevitablemente destruidos en el proceso, por ese motivo también se les llama “inhibidores suicidas”.

Los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas protegen a los antibióticos susceptibles de inactivación por dichas enzimas. Al emplearse junto con un antibiótico  $\beta$ -lactámico este sinergismo amplía el espectro de acción de los antibióticos a bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas.

El fundamento de la inhibición es aprovechar la acción hidrolítica de la  $\beta$ -lactamasas para producir su inactivación a través de la formación de un complejo estable enzima-inhibidor, en el caso particular del ácido penicilánico sulfona (sulbactama) (**33**),<sup>68</sup> el mecanismo de acción postula la inactivación definitiva de la enzima a través de la unión covalente con dos residuos, uno de serina y otro de lisina del sitio activo de la misma (Esquema 13).



Esquema 13

Como corolario de la introducción se puede señalar que este trabajo de tesis estuvo dirigido a la síntesis en fase sólida de compuestos  $\beta$ -lactámicos teniendo en cuenta que:

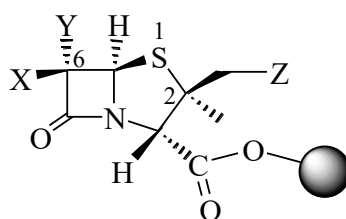
- El descubrimiento del ácido clavulánico en 1976 marcó el inicio de una nueva era en la quimioterapia antibacteriana.
- El amplio interés y entusiasmo surgido de este descubrimiento que ha llevado al desarrollo de nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas semisintéticos de uso en clínica médica en la actualidad.
- El considerable éxito que en todo el mundo se ha logrado con la administración conjunta de un antibiótico y un inhibidor para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas. Esto ha dejado en claro la importancia que estos inhibidores tienen en la lucha por resolver el problema de la resistencia bacteriana.
- Considerando que la Organización Mundial de la Salud estima que el 60% de las infecciones nosocomiales son resistentes a las drogas comerciales, la búsqueda de nuevos compuestos  $\beta$ -lactámicos activos, ya sea nuevos antibióticos o nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, representa un objetivo atractivo dentro de la Química Medicinal moderna.

## Capítulo II

# PLANEAMIENTO DE LA SÍNTESIS

### II.1.1-Objetivos Generales

Nuestra investigación se basó fundamentalmente, en la preparación de bibliotecas de penicilinas modificadas en fase sólida. Dichas modificaciones se llevaron a cabo en las posiciones 6, 1 y 2 $\beta$ -metil del núcleo penam (Figura 11), utilizando distintos tipos de resinas para inmovilizar el ácido penicilánico. Como ya fue mencionado en la introducción, estas modificaciones tienen como objetivo la preparación de compuestos con actividad biológica.



 = resina de Merrifield, Wang o JandaJel

**Figura 11**

Para generar una biblioteca por síntesis en fase sólida de penicilinas modificadas se tuvieron en cuenta dos aspectos: Primero los antecedentes de este tipo de síntesis en solución;<sup>69</sup> en segundo término, el desarrollo y optimización de la secuencia sintética en fase sólida. Para desarrollar este tema fue necesario el estudio y aplicación de técnicas totalmente nuevas dado que la química en fase sólida, como ya fuera mencionado, tiene requerimientos y propiedades marcadamente diferentes a los de la química orgánica tradicional en solución. El proceso implicó adquirir experiencia en distintos aspectos de esta química, tal como la manipulación de las resinas, los métodos de monitoreo, la estabilidad de los ligandos y las condiciones de ruptura, entre otros.

## II.1.2-Metodología y plan de trabajo

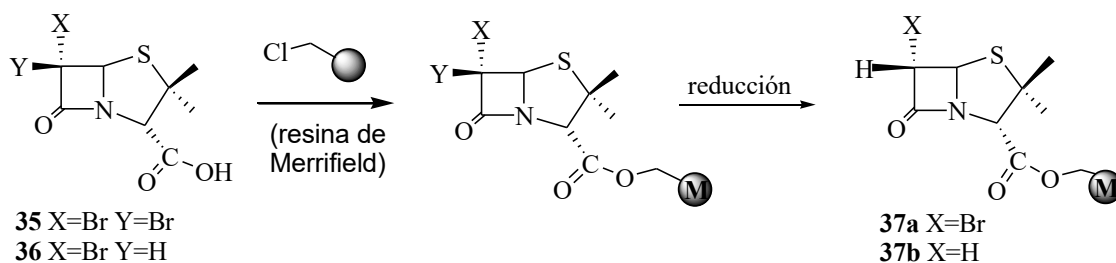
Para mayor claridad en la lectura de este trabajo, todas las transformaciones que se intentaron realizar serán colocadas en ítems separados, organizados de la siguiente manera:

- Modificación de penicilinas unida a resina de Merrifield como soporte sólido
  - Modificaciones realizadas en la posición 6 del núcleo penam
  - Modificación en posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam
  - Modificaciones realizadas en posición 1 del núcleo penam
- Inmovilización del núcleo penam con resina de Wang y sus modificaciones
- Inmovilización del núcleo penam con resina JandaJel y sus modificaciones

### II.1.3-Modificación de penicilinas unida a resina de Merrifield como soporte sólido

#### II. 1.3a.- Modificaciones realizadas en la posición 6 del núcleo penam

Una modificación que se planificó realizar en la posición 6 fue la deshalogenación por reducción selectiva de los ácidos **35** y **36**, preparados en solución y luego unidos a la resina de Merrifield, para obtener el 6,6-dihidro- y/o 6 $\beta$ -halopenicilinato derivados (**37a** y **b**) (Esquema 13).

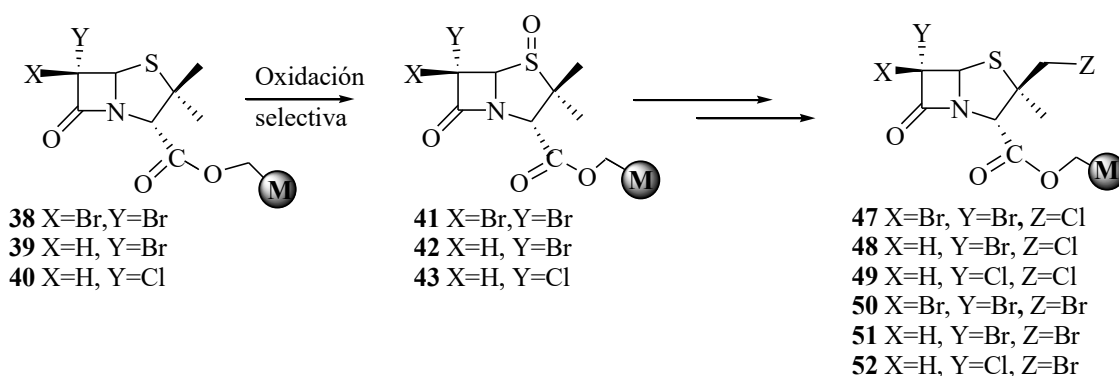


Esquema 13

## II. 1.3b-Modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam

Con el fin de obtener diversidad en el núcleo penam nos propusimos, introducir un átomo de bromo y uno de cloro en las posiciones 2 $\beta$ -metil de dicho núcleo, a los derivados inmovilizados con la resina de Merrifield **38**, **39** y **40**.

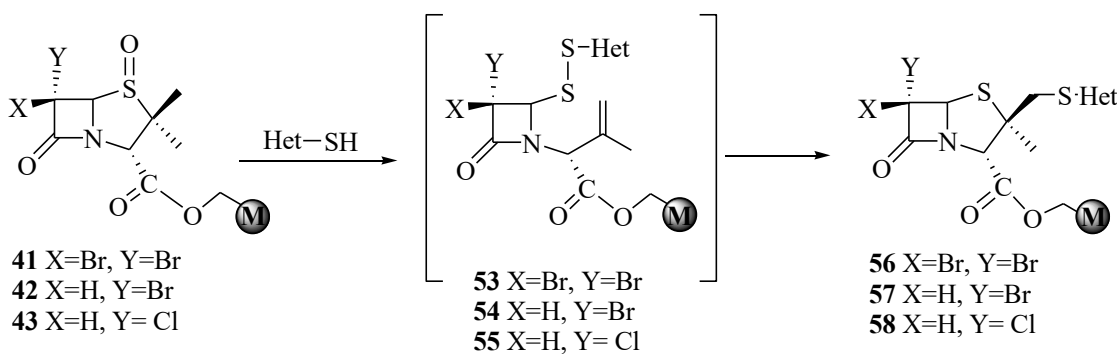
Las penicilinas 2 $\beta$ -halometil sustituidas **47**, **48**, **49**, **50**, **51** y **52** se obtendrían a partir del reordenamiento de los correspondientes sulfóxidos **41**, **42** y **43** (Esquema 14).



Esquema 14

El grupo heterociclilitio es un conocido farmacóforo en antibióticos activos contra estafilococos resistentes a meticilina (MRSA).<sup>70</sup> Esto nos llevó a considerar la posibilidad de sintetizar en fase sólida los 2 $\beta$ -(heterociclilitiometil)penams **56**, **57** y **58**, partiendo de los sulfóxidos **41**, **42** y **43**, como una manera de tener un rápido y eficiente acceso a estos compuestos para su aplicación a la generación de bibliotecas combinatorias.

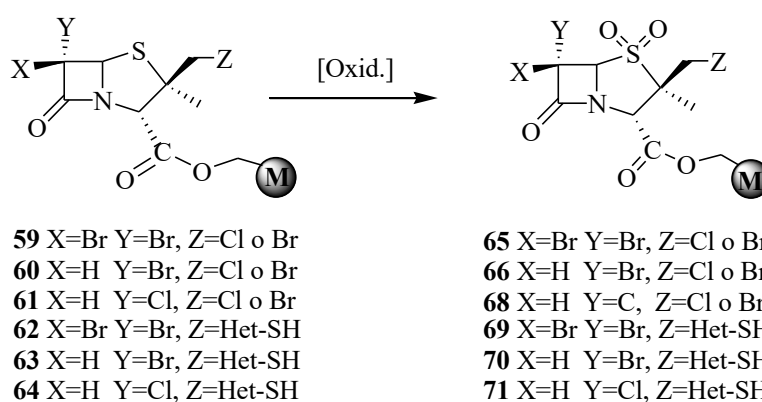
A modo de ejemplo, esquematizaremos en forma general la obtención de 2 $\beta$ -heterociclilitiometil penams unidos a la resina de Merrifield (Esquema 15).



Esquema 15

### II. 1.3c-Modificaciones en la posición 1 del núcleo penam

De acuerdo con el mecanismo de acción de derivados de penicilinas que poseen actividad como inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, es conocida la necesidad de que dichos compuestos posean un buen grupo saliente unido al átomo de carbono 5.<sup>71</sup> La oxidación del átomo de azufre de sulfuro a la correspondiente sulfona lo transforma en un mejor grupo saliente. Esto nos llevó a pensar en la posibilidad de oxidar el sulfuro de la posición 1 a sulfona. La planificación de esta síntesis se basó en buscar un método de oxidación que pudiera ser compatible con la fase sólida y adaptarla a la misma (Esquema 16).



Esquema 16

### II.1.4-Inmovilización del núcleo penam con resina de Wang y sus modificaciones

La resina de Wang, como indicamos en la introducción, es una resina con un ligando no integral, el alcohol *p*-alcoxibencílico (Figura 11). Planeamos unirla al ácido penicilánico mediante una unión éster, para tal fin se pensó en la utilización del reactivo de Mukaiyama para activar el ácido. Esta metodología no tiene antecedentes en la literatura (Esquema 17).

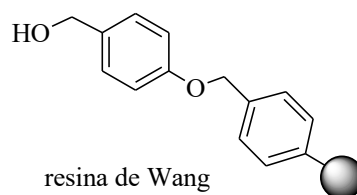
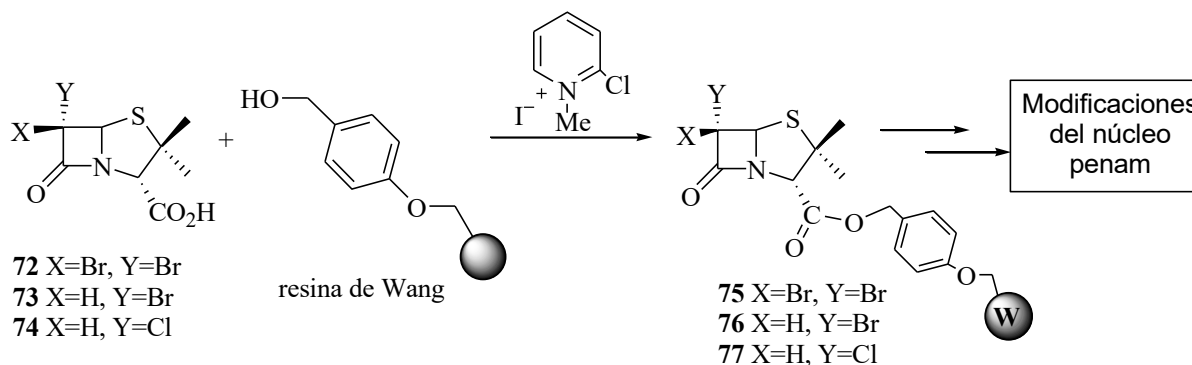


Figura 11



Esquema 17

Luego de la unión de la penicilina a la resina de Wang el objetivo propuesto fue realizar modificaciones en las posiciones 1,6 y 2 $\beta$ -metil del núcleo penam.

### II.1.5-Inmovilización del núcleo penam con resina JandaJel y sus modificaciones

Las resinas JandaJel están estructuralmente formadas por poliestireno entrecruzado con 1,4-bis(vinilfenoxi)-butano (Figura 12)<sup>18</sup>, en lugar del tradicional divinilbenceno. Poseen una interesante característica: es la capacidad de “hincharse” el doble que las resinas de poliestireno-DVB, y esto resulta en una mejor accesibilidad al sitio de unión por parte del reactivo.

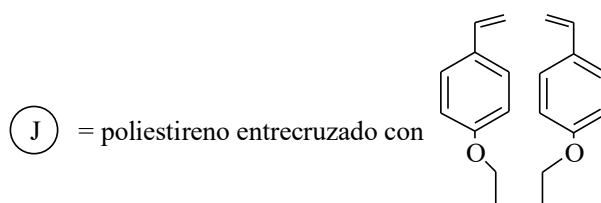
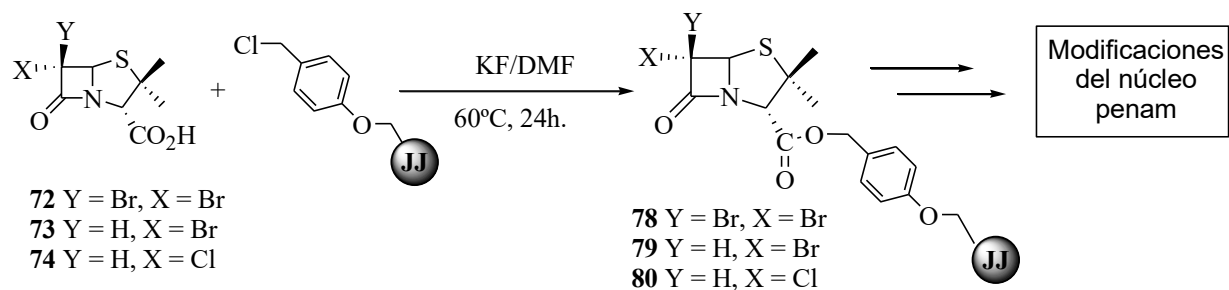


Figura 12

En razón de lo expuesto, diseñamos una metodología para unir los ácidos penicilánicos 72, 73 y 74 a la resina JandaJel funcionalizada con cloro metilo (análoga a la resina de Merrifield), en condiciones similares a las utilizadas para dicha resina (Esquema 18).

La expectativa planteada aquí, fue verificar si los rendimientos de los compuestos sintetizados a partir de la utilización de esta resina eran superiores con respecto a los ya preparados con las resinas de Merrifield y Wang.



**Esquema 18**

## Capítulo III

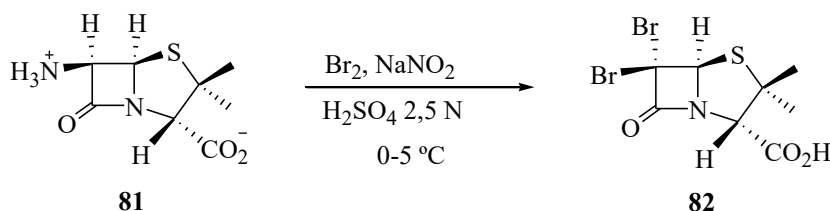
# SÍNTESIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### III.1.1-Modificaciones realizadas en la posición 6 del núcleo penam

El material de partida utilizado para las modificaciones del núcleo penam es el ácido 6β-aminopenicilánico (6-APA) (**81**) que presenta como ventajas su fácil disponibilidad y la presencia en su estructura de grupos funcionales que permiten acceder a la molécula deseada a partir de transformaciones sencillas. Dado que la inmovilización del 6-APA requiere etapas previas de protección, se decidió efectuar su transformación a 6-halo y 6,6-dihaloderivados en solución, previo a su unión a la resina.

#### III.1.1a-Preparación del ácido 6,6-dibromo penicilánico (82)

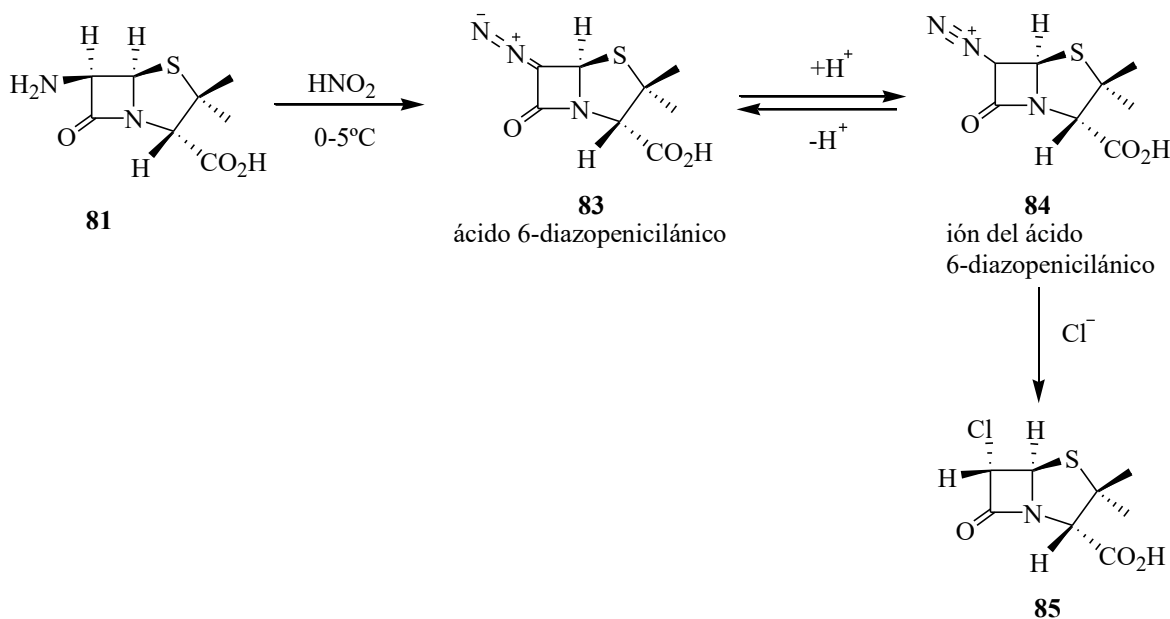
La primera modificación que se realizó sobre la posición 6 del núcleo penam, fue la obtención del ácido 6,6-dibromopenicilánico (**82**), antes de su inmovilización con resina de Merrifield. Esta síntesis fue realizada por primera vez en 1969 por J. P. Clayton.<sup>72</sup> Sin embargo, en este trabajo este compuesto ha sido sintetizado siguiendo el procedimiento de R. A. Volkmann, en 1982.<sup>73</sup> A partir de 6-APA (**81**) se realizó una reacción de diazotación utilizando  $\text{NaNO}_2$  y  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Posteriormente se procedió a efectuar una halogenación *in situ* empleando bromo, obteniéndose el ácido **82** (Esquema 20). Este ácido es un sólido cristalino de fácil recrystalización en agua, soluble en todos los solventes orgánicos, excepto hidrocarburos, y muy estable aún a temperatura ambiente.



Esquema 20

### III.1.1b-Preparación del ácido 6 $\alpha$ -cloropenicilánico (85)

Este ácido fue sintetizado por primera vez en 1962 por Testa y colaboradores,<sup>74</sup> describiéndose su estructura general por espectroscopía infrarroja y análisis elemental, desconociéndose en ese momento la configuración absoluta del carbono 6. Esta fue determinada en 1966 por espectroscopía de RMN de  $^1\text{H}$  luego de la síntesis en condiciones similares reportada por Mc Millan y Stoodley.<sup>75</sup> Siguiendo esta metodología se obtuvo el ácido 6 $\alpha$ -cloropenicilánico (85) como un aceite soluble en DCM, estable aún a temperatura ambiente. Este producto proviene de la formación del intermediario 83 en equilibrio ácido con su ión 84, y su posterior halogenación en una sola etapa, por medio de una sustitución nucleofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ), el ataque se produce por la cara menos impedida del núcleo penam, la cara  $\alpha$  (Esquema 21).

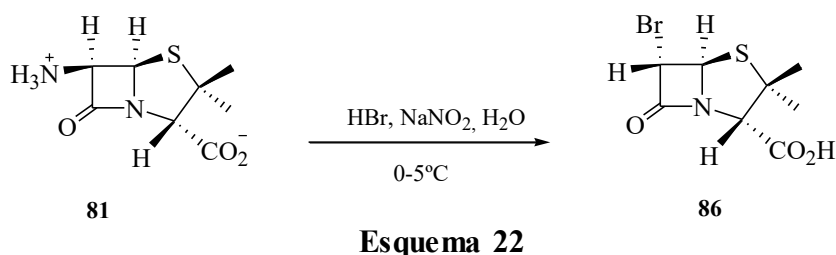


Esquema 21

### III.1.1c-Preparación del ácido 6 $\alpha$ -bromopenicilánico (86)

Durante muchos años el ácido 6 $\alpha$ -bromopenicilánico (86) fue preparado utilizando una técnica que emplea como material de partida el 6-APA (81), en presencia de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  con  $\text{NaNO}_2$  y  $\text{KBr}$  que en medio ácido genera  $\text{HBr}$  aportando el bromuro necesario para la  $\text{S}_{\text{N}}2$ .<sup>76</sup> En nuestro laboratorio se ha logrado mejorar sustancialmente el rendimiento de esta reacción realizando una modificación de esta técnica. La misma consiste en adicionar directamente  $\text{HBr}$  a una mezcla refrigerada de  $\text{NaNO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  y

metanol al 6-APA (**81**) (Esquema 22). El mecanismo general es el mismo que el propuesto para la obtención del ácido 6 $\alpha$ -cloropenicilánico, (Esquema 21).

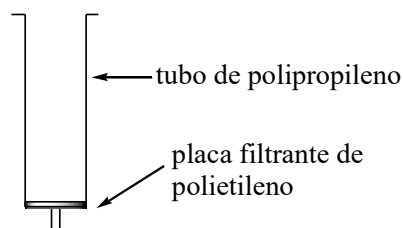


Los ácidos 6 $\alpha$ -bromopenicilánico (**86**) y 6 $\alpha$ -cloropenicilánico (**85**) fueron obtenidos con rendimientos superiores al 85% y utilizados sin purificar para su reacción de unión al soporte sólido.

### III.1.2-Modificaciones de penicilinas usando resina de Merrifield

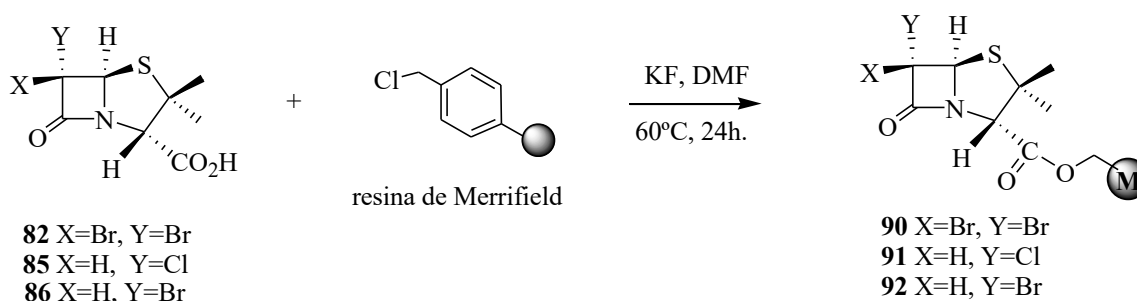
#### III.1.2.1-Unión de la resina de Merrifield al ácido penicilánico modificado en posición 6

La resina de Merrifield, como fue señalado en la introducción, es una resina clorometilada que posee un ligando de tipo integral. La carga de la misma depende del lote particular empleado, en nuestro caso se utilizó un lote de sustitución 0,8 mmoles/g. En las reacciones de síntesis en fase sólida se pueden utilizar cartuchos de polipropileno (Figura 13), a los que se les adiciona un disco poroso de polietileno en el extremo inferior, que posteriormente pueden ser utilizados como filtros al final de la misma cuando son acoplados a un sistema de vacío. Se utiliza agitación magnética colocando un imán en el interior del cartucho y agitando suavemente para evitar destrucción mecánica de los granos de resina.



En el caso que las reacciones se lleven a cabo a temperaturas superiores a la ambiente se utilizan los balones de vidrio que se emplean para la síntesis en solución, tomándose los mismos recaudos para la agitación anteriormente descritos. Por último la filtración se realiza en embudos sinterizados con aplicación de un sistema de vacío.

La metodología empleada para unir la resina de Merrifield al ácido penicilánico modificado es la siguiente: Se suspende la resina en dimetilformamida (DMF) a temperatura ambiente y se agita durante media hora, luego se agrega el ácido penicilánico y fluoruro de potasio.<sup>77</sup> Posteriormente se calienta a 60°C durante 24 h. Este procedimiento se llevó a cabo con los ácidos **82**, **85** y **86** para obtener las penicilinas inmovilizadas **90**, **91** y **92**, (Esquema 23)



**Esquema 23**

### III.1.2.2-Separación de derivados de penicilinas de su unión a la resina de Merrifield

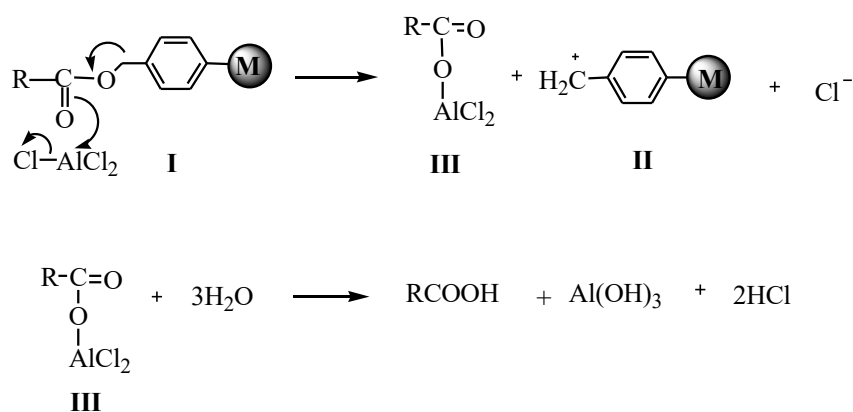
Toda secuencia sintética en fase sólida requiere conocer previamente las condiciones de separación del producto final de su unión a la resina, dado que esto será crucial para recuperar el compuesto deseado al final de la síntesis. Por ello describiremos en esta sección el método utilizado para producir la separación de los derivados de penicilina de la resina de Merrifield.

Como fue indicado en la introducción, la resina de Merrifield por carecer de grupos dadores de electrones unidos al anillo aromático, requiere condiciones fuertemente acídicas para llevar a cabo la separación del compuesto unido a la misma. Las condiciones reportadas en la literatura son ácido fluorhídrico en distintas concentraciones o ácido trifluorometano sulfónico (TFMSA).

Hemos utilizado para este trabajo un método desarrollado en nuestro laboratorio<sup>78</sup> que consiste en usar cloruro de aluminio disuelto en nitrometano

(CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub>) anhidro para desprender de la resina de Merrifield todos los derivados de penicilinas obtenidos. Una vez removidos los ácidos carboxílicos obtenidos, se trataron con diazometano (CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) para transformarlos en los ésteres metílicos correspondientes y, de esa manera, facilitar su purificación por columna cromatográfica.

El mecanismo propuesto para la ruptura del enlace de la resina de Merrifield con los ácidos penicilánicos utilizando cloruro de aluminio, se basa en la elevada afinidad de éste por el oxígeno, dado su carácter de ácido de Lewis (Esquema 24). De esa manera el cloruro de aluminio se coordina con el oxígeno del carbonilo del éster, y asiste la ruptura del enlace C-O en (I), generando el catión bencílico correspondiente (II) y la sal de aluminio (III), la cual es fácilmente hidrolizable en los lavados acuosos al final de la reacción.



Esquema 24

### III.1.2.3-Intento de preparación del ácido 6,6-dihidropenicilánico unido a la resina de Merrifield (94)

En primer lugar se intentó efectuar la reducción de la posición 6 de los ácidos 6,6-dibromo y 6 $\alpha$ -bromopenicilánico inmovilizados con la resina de Merrifield utilizando tributilfosfina (Bu<sub>3</sub>P) como reductor, una metodología que ha dado muy buen resultado en química en solución.<sup>79</sup>

Se describe en la literatura la reducción en solución de ésteres de 6,6-dibromo y 6 $\alpha$ -bromopenicilánatos con tributilfosfina en un solvente prótico como el metanol, y se propone un mecanismo que transcurre a través del intermediario enolato (I) (Figura 14).<sup>79</sup>

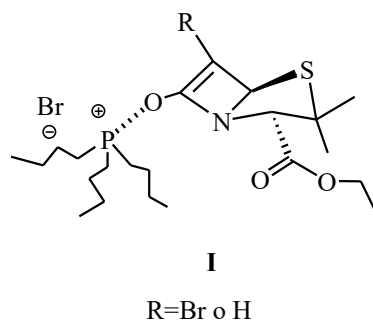
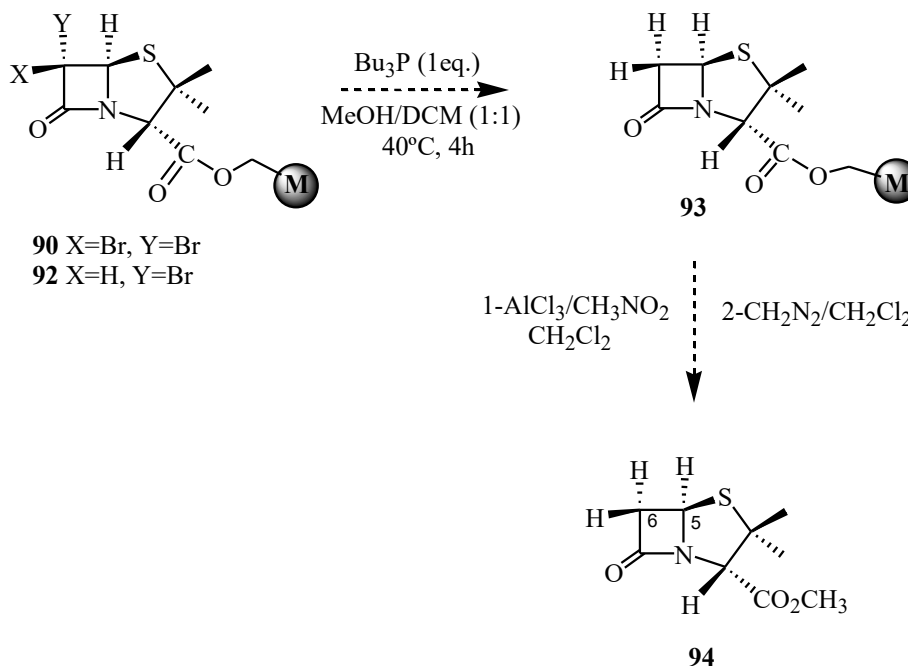


Figura 14

En nuestro caso, se hizo reaccionar un equivalente de  $\text{Bu}_3\text{P}$  con los compuestos **90** y **92** en una mezcla de diclorometano y metanol 1:1 a  $40^\circ\text{C}$  durante 4 h (Esquema 24).

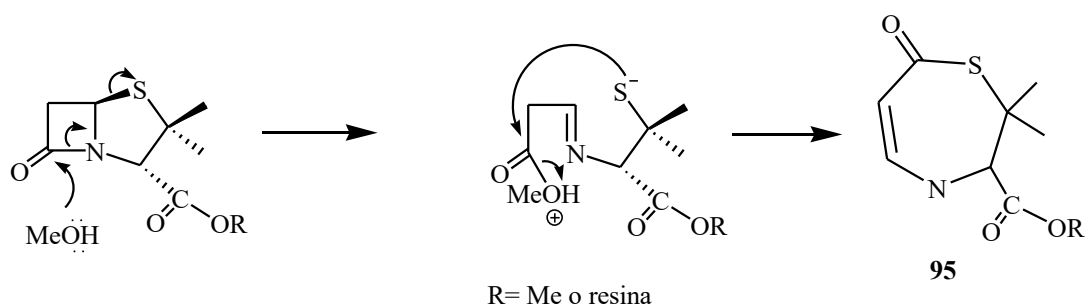


Esquema 24

El compuesto obtenido fue separado de la resina con  $\text{AlCl}_3$  y esterificado posteriormente con  $\text{CH}_2\text{N}_2$ . El análisis del espectro de RMN de  $^1\text{H}$  nos indica que no se logró obtener el éster 6,6-dihidropenicilanoato de metilo (**94**), ya que no se aprecia el patrón de acoplamiento esperado para los protones H-5 y H-6. El análisis realizado por espectrometría de masa nos indica que se trata de un compuesto de peso molecular igual a 215, este valor es consistente con el peso molecular del éster 6,6-dihidropenicilanoato

de metilo esperado (**94**). Sin embargo, el espectro de infrarrojo nos muestra la presencia de dos carbonilos: uno a  $1739\text{ cm}^{-1}$  (éster) y a  $1618\text{ cm}^{-1}$  que podría indicar la presencia de una tiol-lactama, por otro lado, la ausencia de una señal cercana a los  $1800\text{ cm}^{-1}$  indica la falta de un anillo  $\beta$ -lactámico en la molécula.

Un análisis detallado del espectro de RMN de  $^1\text{H}$  nos permite observar lo siguiente: una señal con un desplazamiento químico de 3,82 ppm que integra para tres hidrógenos debida al metilo del éster y dos señales a 1,53 y 1,42 ppm debidas al gem dimetilo. El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  muestra una señal a 190,4 ppm consistente con un carbonilo de tiol-lactama. Finalmente una señal a 169,7 debida al carbonilo del éster metílico. Teniendo en cuenta que el espectro de masa nos aporta el dato de que este compuesto obtenido tiene el mismo peso molecular que el buscado, postulamos que probablemente lo que haya ocurrido es una apertura del anillo  $\beta$ -lactámico del compuesto reducido, seguido de un reordenamiento que lleva a la obtención de un ciclo de siete miembros. La estructura **95** permitiría explicar los espectros de IR, RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$  y masa. (Esquema 25).



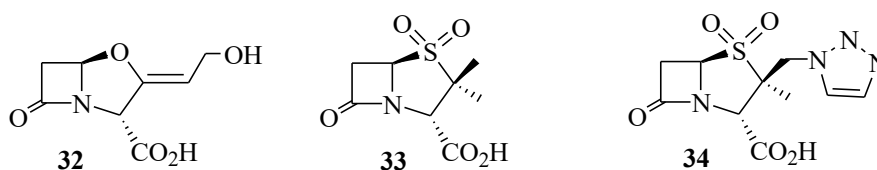
**Esquema 25**

Luego de obtener estos resultados se probaron otras variantes como por ejemplo disminuir la proporción de metanol de la mezcla de solventes, disminuir el tiempo y la temperatura de reacción, pero en ningún caso pudo obtenerse el producto deseado.

### III.1.2.4-Modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam

#### III.1.2.4a-Penicilinas 2 $\beta$ -halometil sustituidas

Desde el descubrimiento de las propiedades inhibitoras de  $\beta$ -lactamasas del ácido clavulánico (**32**), han sido desarrollados un considerable número de inhibidores semisintéticos. Los más destacados son: Sulbactama (**33**) y sus análogos 2 $\beta$ -metil sustituidos como Tazobactama (**34**).

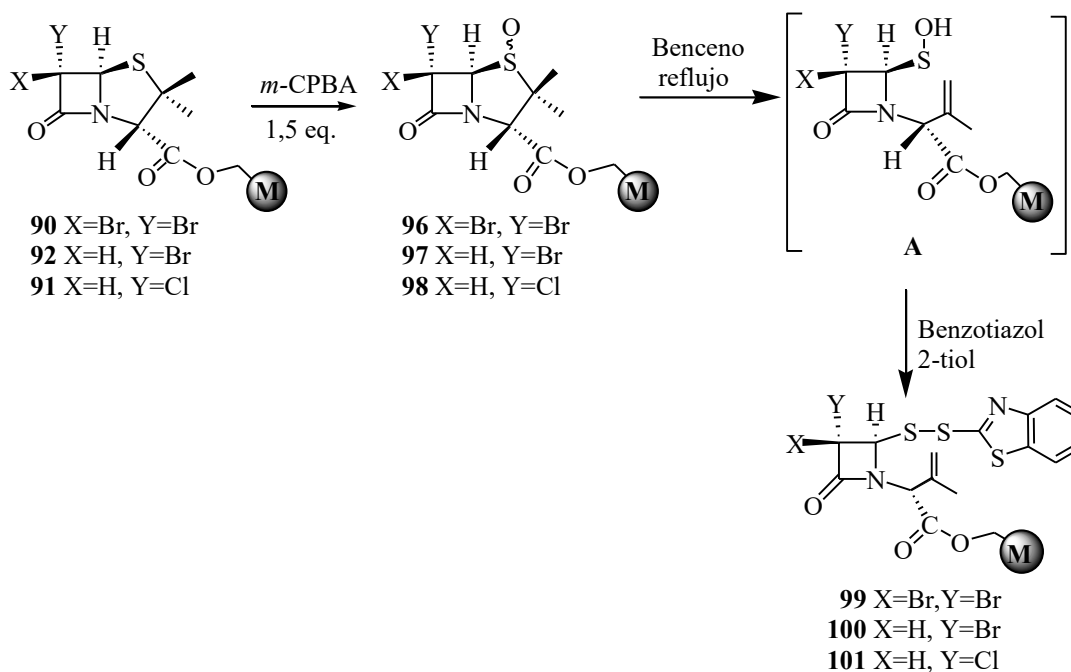


En el año 1981 Gottstein y col.<sup>80</sup> informaron la introducción de un átomo de cloro en el metilo de posición 2 $\beta$  de penicilinas por medio de una síntesis en solución, en la que se utiliza un proceso de apertura térmica del anillo de tiazolidina en sulfóxidos de penicilinas. El reordenamiento posterior de los mismos conduce a derivados 2 $\beta$ -clorometil sustituidos.

Con el fin de obtener una biblioteca de compuestos modificados en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam en fase sólida, estudiamos la introducción de diferentes átomos o grupos de átomos en esta posición.

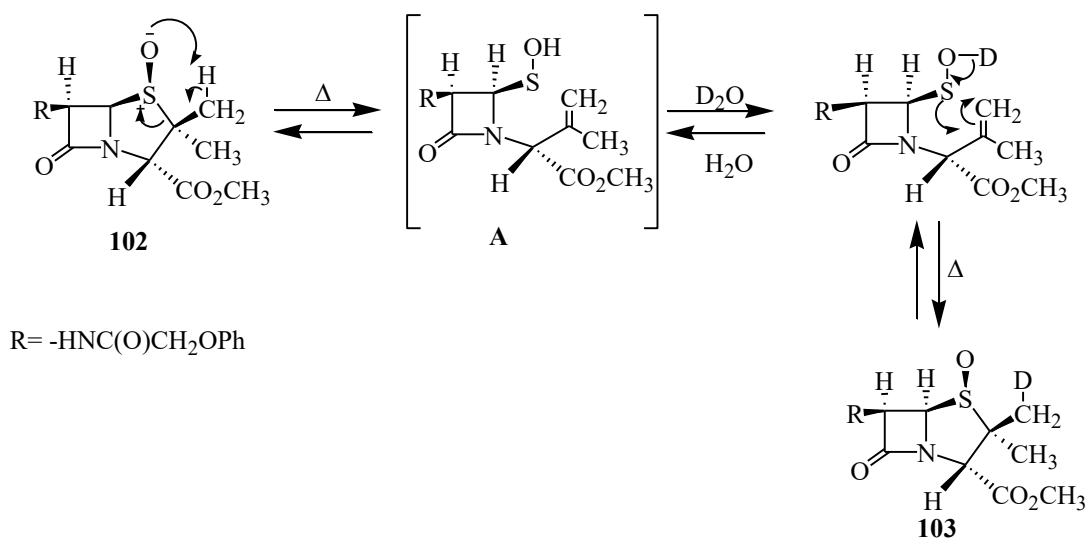
Nuestra síntesis parte de los 6,6-dihalo 6 $\alpha$ -halopenicilanatos unidos a la resina de Merrifield **90**, **91** y **92**. Estos compuestos fueron tratados con 1,5 equivalentes de ácido *m*-cloroperbenzoico (*m*-CPBA),<sup>81</sup> obteniéndose de manera selectiva los sulfóxidos **96**, **97** y **98**, ya que estas condiciones evitan la sobreoxidación a la correspondiente sulfona (Esquema 26). La obtención de los sulfóxidos se comprueba tomando una alícuota de la resina obtenida y sometiéndola a las condiciones de ruptura y posterior esterificación con diazometano del ácido liberado. Los espectros de RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C de los ésteres metílicos obtenidos confirman la formación de los sulfóxidos esperados como mezcla de sus  $\alpha$  y  $\beta$  isómeros. Dichos sulfóxidos son sometidos a termólisis por calentamiento con 1,5 equivalentes de benzotiazol-2-tiol en benceno a reflujo durante 12 h, obteniéndose los correspondientes disulfuros **99**, **100** y **101**. Estos compuestos se obtienen cuando el benzotiazol-2-tiol atrapa el ácido sulfénico (A) formado por el reordenamiento térmico de los sulfóxidos<sup>82</sup> (Esquema 26).

Las condiciones óptimas para llevar a cabo esta termólisis en fase sólida fueron ajustadas utilizando la resina de Wang como soporte sólido (ver más adelante Pag. 77)



### Esquema 26

La formación del estado de transición del ácido sulfénico (A) ha sido debidamente corroborada por Cooper<sup>83</sup> al realizar el siguiente experimento: calentando a 80 °C por 24 h. una solución del éster metílico de la penicilina V  $\beta$ -sulfóxido (**102**) en benceno con un gran exceso de óxido de deuterio ( $D_2O$ ), se recuperó cuantitativamente el sulfóxido (**103**) conteniendo un átomo de deuterio en el metilo  $\beta$  (Esquema 27).



### Esquema 27

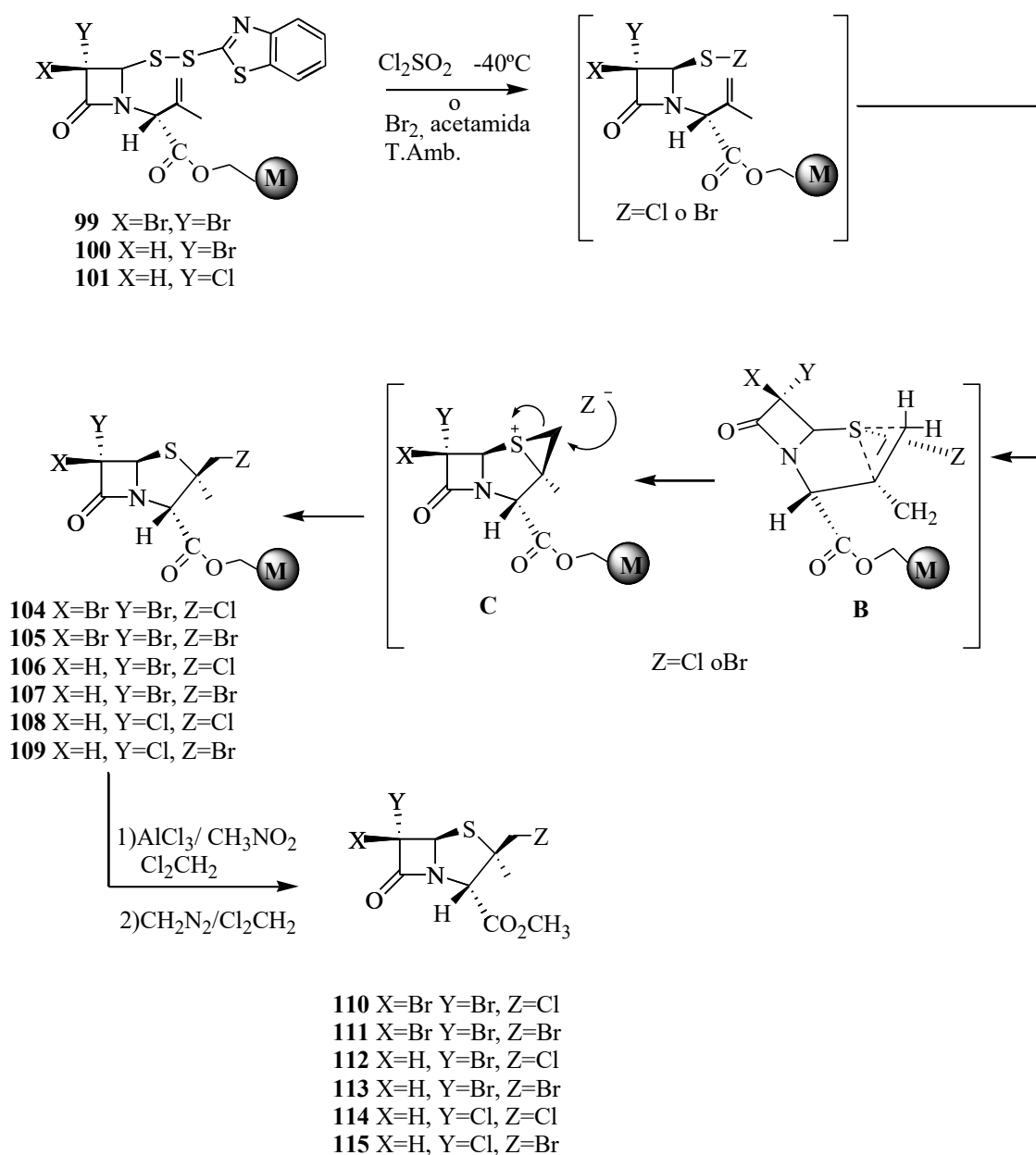
Estos resultados indican la existencia de un equilibrio térmico entre el sulfóxido y el ácido sulfénico, ya que en presencia de D<sub>2</sub>O se produce un intercambio hidrógeno-deuterio en el ácido sulfénico con la consecuente incorporación de deuterio en el grupo metilo β del sulfóxido.

Una vez obtenidos los disulfuros **99**, **100** y **101** se hicieron reaccionar con 1,2 equivalentes de cloruro de sulfurilo (Cl<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>),<sup>84</sup> en presencia de tamices moleculares y a -40°C durante 1 hora, este procedimiento permite la reconstrucción del anillo de tiazolidina para dar el 6,6-dibromo-2β-clorometilpenicilinato (**104**), el 6α-bromo-2β-clorometilpenicilinato (**106**) y el 6α-cloro-2β-clorometilpenicilinato (**108**) (Esquema 28). Estos derivados unidos a la resina de Merrifield fueron sometidos a la reacción de ruptura con cloruro de aluminio. Los ácidos así obtenidos fueron esterificados con diazometano, obteniéndose los ésteres metílicos **110**, **112** y **114**.

Posteriormente se trataron los disulfuros **99**, **100** y **101** con bromo y acetamida (1,2 eq.) a temperatura ambiente durante tres horas en vistas de obtener los derivados 2β-bromometil sustituidos. El tratamiento del 6,6-dibromo disulfuro **99** luego de la reacción con bromo, separación de la resina y esterificación, condujo a la obtención del 6,6-dibromo-2β-bromometilpenicilinato de metilo (**111**). En cambio, la reacción del 6α-bromo-disulfuro **100** condujo a la obtención de la mezcla de 6α-bromo-2β-bromometilpenicilinato de metilo (**113**) y el 6α-bromo-2β-clorometilpenicilinato de metilo (**112**), lo que fue corroborado por el espectro de RMN de <sup>1</sup>H de los ésteres metílicos que se obtuvieron luego de tomar una alícuota de la resina, someterla a la ruptura con cloruro de aluminio y efectuar su posterior esterificación con diazometano. La obtención del compuesto **112** puede deberse a la presencia de una fuente de iones cloruros en el medio de reacción, tal vez provenientes del diclorometano utilizado como solvente de la reacción.

Por último, la utilización de 6α-cloropenicilánico-disulfuro **101** como material de partida, no condujo a la obtención de 6α-cloro-2β-bromometilpenicilinato de metilo (**115**).

De acuerdo al mecanismo generalmente aceptado,<sup>83</sup> la ciclación procede a través de un haluro de episulfonio C, el cual podría generarse por ataque del doble enlace sobre el azufre en B. El episulfonio C es luego abierto por el ataque nucleofílico del anión haluro para dar las penicilinas 6α-halo o 6,6-dihalo-2β-halometil sustituidas unidas a la resina de Merrifield **104**, **105**, **106**, **107** y **108** (Esquema 28).



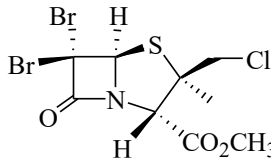
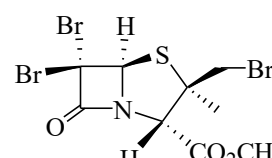
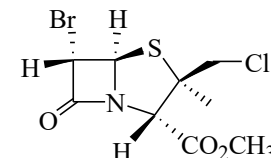
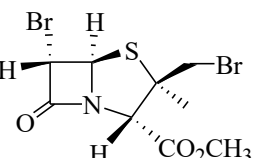
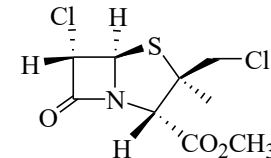
### Esquema 28

La estereoquímica del episulfonio **C** se asume  $\beta$ , lo que podría explicarse de la siguiente manera: frente al ataque del doble enlace al azufre en **B**, el átomo de halógeno puede salir con mayor facilidad por la cara  $\alpha$  de la molécula, menos impedida estéricamente, favoreciendo la formación del  $\beta$  episulfonio.

En la tabla I se muestran los rendimientos de los  $2\beta$ -halometil derivados obtenidos luego de su purificación por cromatografía en columna. Los compuestos

fueron identificados por RMN de  $^1\text{H}$ , RMN de  $^{13}\text{C}$ , I.R y espectrometría de masa y en algunos casos por análisis elemental.

**Tabla I** 2 $\beta$ -halometilpenicilinas obtenidas utilizando resina de Merrifield como soporte sólido.

COMPUESTOS	REND.	PRODUCTO	REND.
 <p>(110)</p>	49 %	 <p>(111)</p>	51 %
 <p>(112)</p>	48 %	 <p>(113)</p>	47 % en mezcla <b>113-112</b> (~1:2)
 <p>(114)</p>	54 %		

El rendimiento total de la secuencia sintética se determinó en función de la carga original de la resina de partida. La carga teórica de la resina en cada paso de síntesis va variando en función de la ganancia o la pérdida de masa unida al soporte sólido.

La carga teórica de la resina se calcula de acuerdo a la siguiente ecuación:<sup>85</sup>

$$\text{carga teórica de la resina} = \frac{\text{carga de resina de partida (mmol/g)}}{1 + \frac{(\text{carga res. de partida en mmol/g} \times \text{peso ganado o perdido en g/mol res})}{1000}}$$

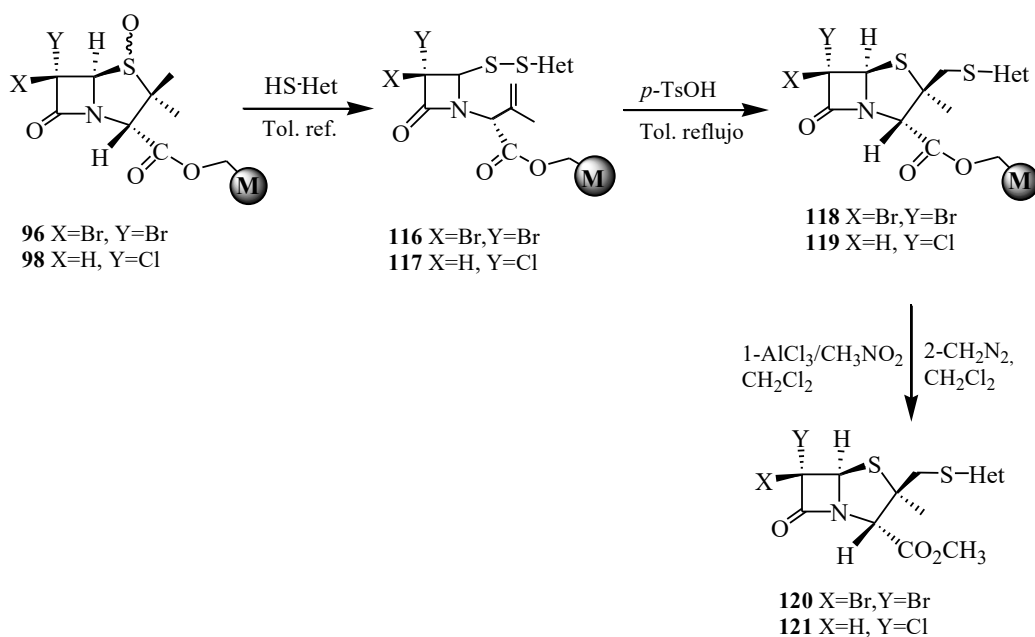
### III.1.2.4b-Penicilinas 2 $\beta$ -heterocicliltiometil sustituidas

Otro grupo de penicilinas 2 $\beta$ -metil sustituidas de interés biológico son las 2 $\beta$ -tiometil sustituidas.

En 1988 Torii y col. reportaron la introducción de tio sustituyentes en el metilo de configuración  $\beta$  de penicilinas.<sup>86</sup> En 1993 Von Daehne y col. informaron la síntesis de varios ácidos 2 $\beta$ -heterocicliltiometil penicilánicos en solución.<sup>87</sup>

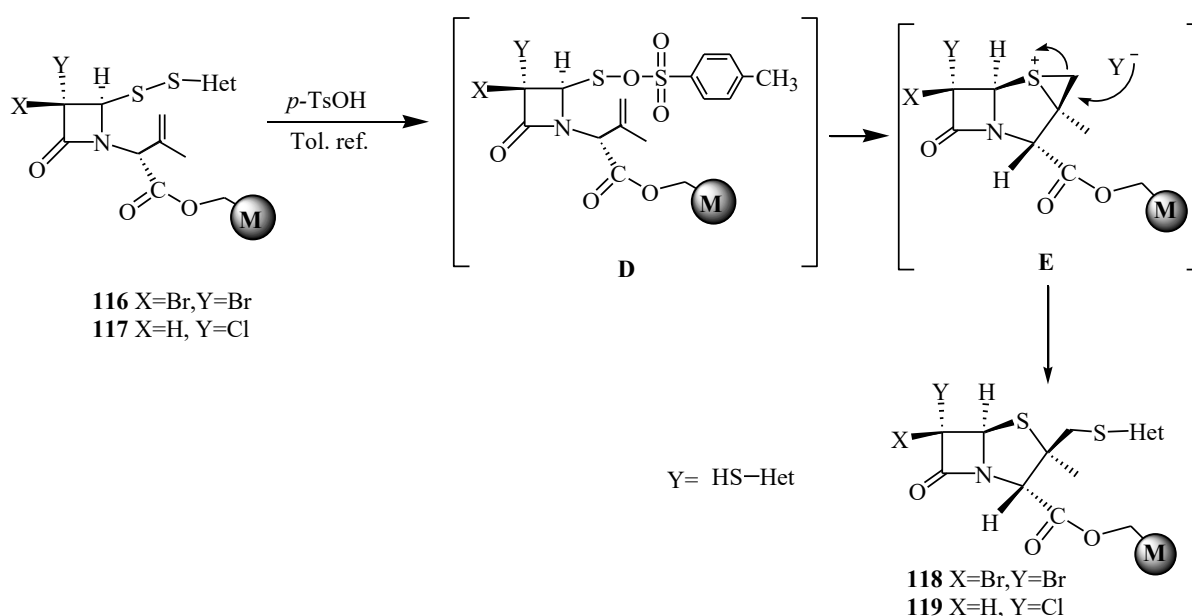
Teniendo en cuenta los antecedentes de estas modificaciones para reacciones en solución, se puso a punto la técnica para generar una biblioteca con penicilinas 2 $\beta$ -tiometil sustituidas. Estas reacciones fueron realizadas sobre el 6 $\alpha$ -cloro y 6,6-dibromopenicilinato unido a la resina de Merrifield **90** y **91**, respectivamente (Esquema 26). En primer término se efectuó la reacción de oxidación a los correspondientes sulfóxidos **96** y **98** en condiciones similares a las descriptas anteriormente. El posterior reordenamiento térmico de los disulfuros para obtener los 6 $\alpha$ -halo y 6,6 dihalo-2 $\beta$ -heterocicliltiometil penicilanos inmovilizados con la resina de Merrifield (**118** y **119**), se logra en presencia de catálisis ácida utilizando el ácido *p*-toluensulfónico (*p*-TsOH)<sup>88</sup> (Esquema 29).

Con el propósito de obtener una biblioteca de compuestos modificados en esta posición, se utilizaron diferentes tioles heterociclicos. Una vez obtenidas las penicilinas 2 $\beta$ -tiometil sustituidas fueron tratadas con AlCl<sub>3</sub> en CH<sub>3</sub>NO<sub>2</sub> y luego esterificadas con CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub> para obtener los ésteres metílicos correspondientes (Esquema 29).



Esquema 29

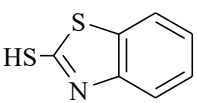
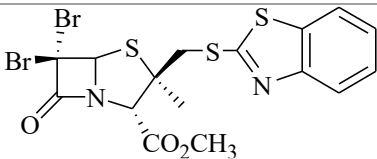
De acuerdo a lo reportado por Alpegiani,<sup>88</sup> se ha postulado que durante el reordenamiento catalizado por ácido se formaría un “anhídrido mixto” (**D**) a partir de los disulfuros **116**, **117** y el catalizador, con liberación del heterociclil-tiol. El grupo *p*-toluensulfonato, en **D**, debido a su tamaño sale de la molécula por la cara  $\alpha$  (menos impedida) formando estereoselectivamente el episulfonio  $\beta$  (endo) (**E**). Luego **E** sufre el ataque nucleofílico del heterociclil-tiol, haciendo que la reacción evolucione hacia los productos cinéticos, las penicilinas 2 $\beta$ -tiometil sustituidas (Esquema 30).

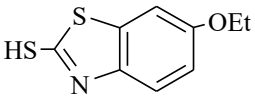
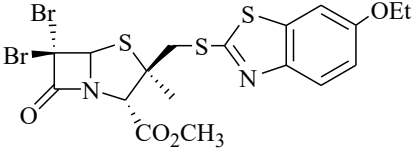
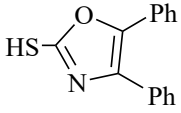
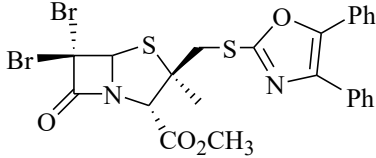
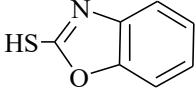
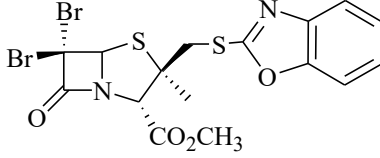
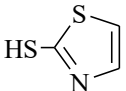
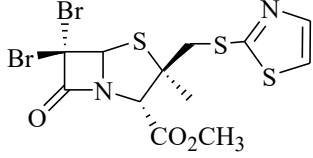
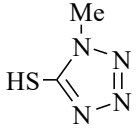
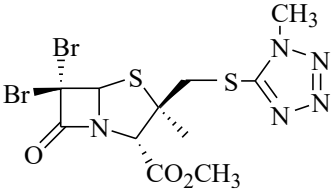
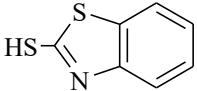
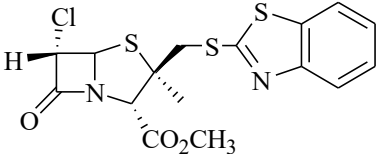
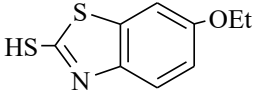
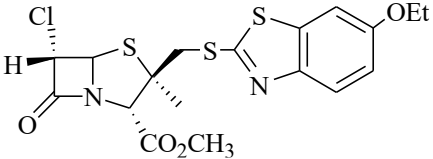


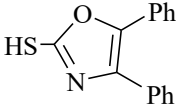
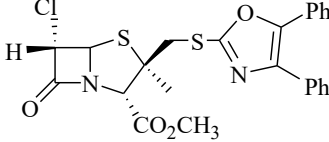
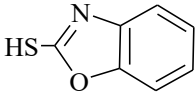
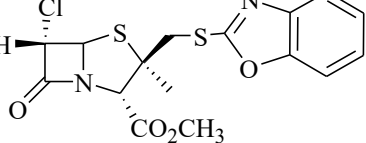
**Esquema 30**

La tabla II muestra las penicilinas 2 $\beta$ -tiometil sustituidas obtenidas con sus rendimientos totales (basados en la carga inicial de la resina de Merrifield) aislados luego de cromatografía en columna. Se determinaron sus estructuras por espectroscopía RMN de  $^1\text{H}$  y RMN de  $^{13}\text{C}$ , I.R, análisis elemental y espectrometría de masas.

**Tabla II** Penicilinas 2 $\beta$ -Heterocicliltiometil sustituidas obtenidas utilizando resina de Merrifield como soporte sólido.

HS-Het	PRODUCTO	REND.
 2-benzotiazoltiol	 <b>120a</b>	52 %

 <p>6-etoxi-2-benzotiazolol</p>	 <p><b>120b</b></p>	44 %
 <p>4,5-difenil-2-oxazolol</p>	 <p><b>120c</b></p>	48 %
 <p>benzoxazolol</p>	 <p><b>120d</b></p>	49%
 <p>thiazolol</p>	 <p><b>120e</b></p>	48%
 <p>1-metil-tetrazolol</p>	 <p><b>120f</b></p>	55%
 <p>2-benzotiazolol</p>	 <p><b>121a</b></p>	36%
 <p>6-etoxi-2-benzotiazolol</p>	 <p><b>121b</b></p>	42 %

 <p>4,5-difenil-2-oxazoltiol</p>	 <p><b>121c</b></p>	33 %
 <p>benzoxazoltiol</p>	 <p><b>121d</b></p>	35%

### III.1.2.5-Modificaciones en la posición 1 del núcleo penam

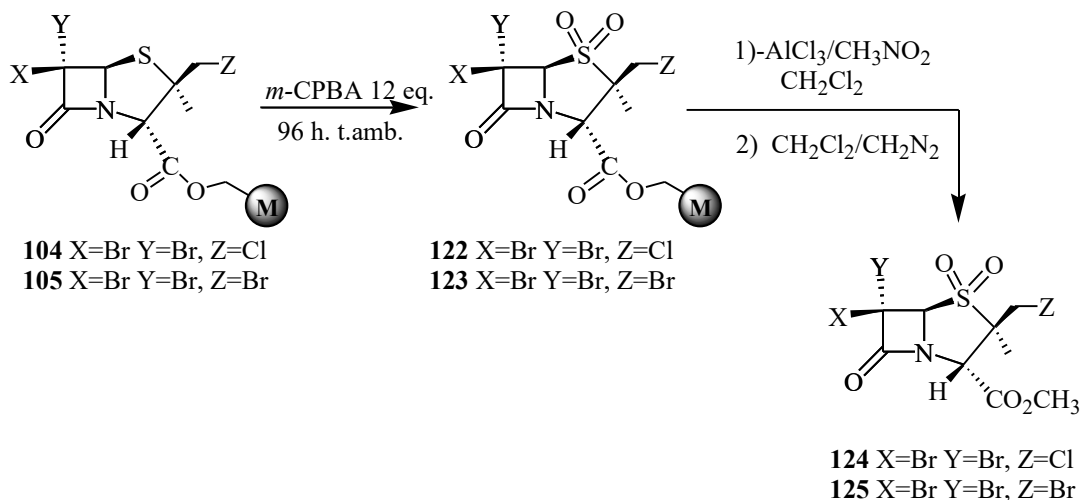
Existen numerosos métodos para lograr la oxidación de penicilinas a sus respectivas sulfonas en solución, uno de ellos es la oxidación con oxone en presencia de alúmina húmeda,<sup>89</sup> otro es la utilización de permanganato de potasio en un sistema bifásico con catalizador de transferencia de fase.<sup>90</sup>

Al escoger un método a utilizar, se debe tener en cuenta que el mismo se adapte a al soporte sólido utilizado y las condiciones generales de trabajo en química en fase sólida. Particularmente, solventes polares no permitirán el buen hinchamiento de la resina.

Teniendo en cuenta que la oxidación del átomo de azufre para la obtención de los sulfóxidos **96**, **97** y **98** se realizó sin inconvenientes utilizando 1,5 equivalentes de ácido *meta*-cloroperbenzoico (*m*-CPBA), pensamos que aumentando los equivalentes y el tiempo de reacción podríamos efectuar la oxidación del azufre de la posición 1 a sulfona.<sup>91</sup>

#### III.1.2.5a-Sulfonas de Penicilinas 2 $\beta$ -halometil sustituidas

Los compuestos **104** y **105** fueron sometidos a oxidación variando la cantidad de equivalentes de *m*-CPBA y aumentando el tiempo de reacción hasta lograr la obtención de las sulfonas deseadas **122** y **123** (Esquema 31).



### Esquema 31

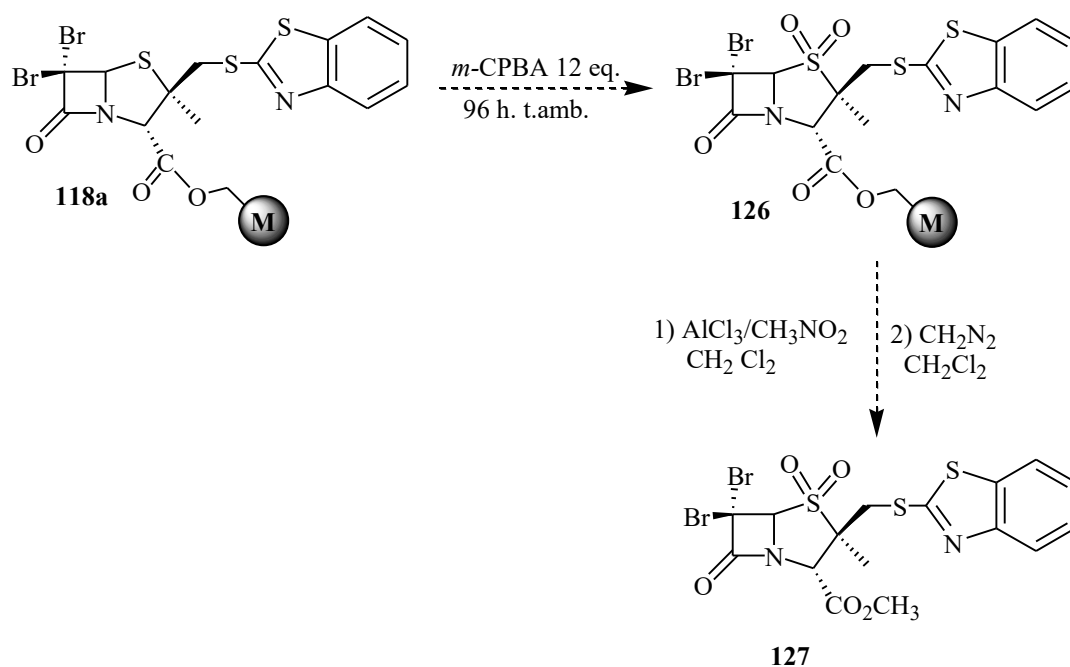
Antes de encontrar la concentración de oxidante y el tiempo de reacción adecuados, se realizaron varias pruebas en diferentes condiciones, los compuestos obtenidos se monitorearon en fase sólida por análisis de espectroscopía infrarroja. Se esperaban bandas de absorción debidas al grupo sulfona a  $1350\text{-}1310\text{ cm}^{-1}$  y  $1160\text{-}1120\text{ cm}^{-1}$  claramente diferentes de las bandas debidas a sulfóxidos entre  $1060\text{-}1040\text{ cm}^{-1}$ .

Fueron necesarios 12 eq. de *m*-CPBA durante 96 h a temperatura ambiente para obtener exclusivamente las sulfonas **122** y **123**. Las mismas fueron sometidas a la acción del  $\text{AlCl}_3$  disuelto en  $\text{CH}_3\text{NO}_2/\text{DCM}$  anhidro y luego esterificadas con  $\text{CH}_2\text{N}_2$  obteniéndose los ésteres **124** y **125**, con rendimientos globales, aislado después de purificación por columna cromatográfica, de 41% y 30% respectivamente. Las estructuras fueron corroboradas por espectrometría de masa, y por espectroscopía de RMN de  $^1\text{H}$  y RMN de  $^{13}\text{C}$ .

Dado que en solución hay antecedentes de la oxidación del átomo de azufre del anillo tiazolidina sin modificar el estado de oxidación de los demás átomos de azufre de penicilinas  $2\beta$ -heterocicliltiometil sustituidas decidimos intentar la oxidación de tales derivados.

Se efectuó la oxidación el ácido 6,6-dibromo- $2\beta$ -benzotiazolpenicilánico unido a Merrifield (**118a**) utilizando las condiciones de reacción anteriormente descritas

(Esquema 32) pero, aún variando las condiciones de reacción en ningún caso se logró obtener la sulfona esperada **127**, luego de la separación de la resina.



**Esquema 32**

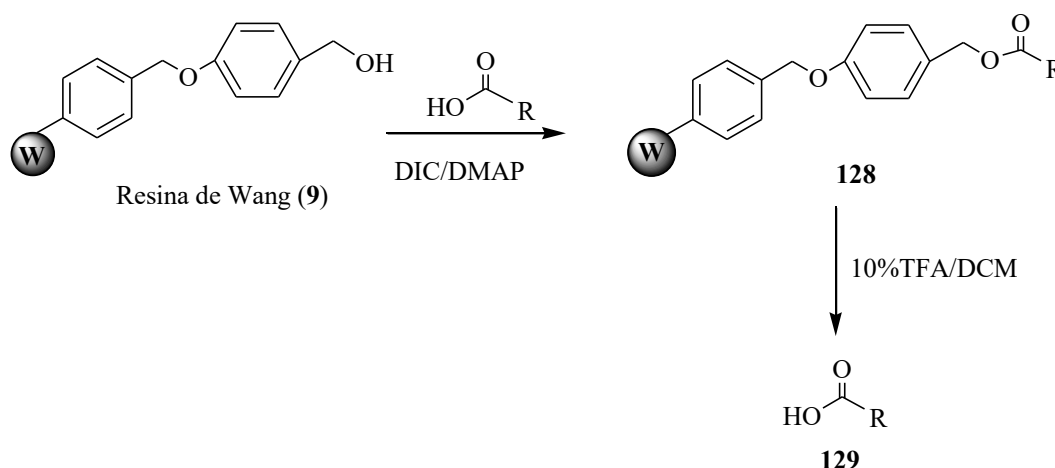
El espectro de RMN de  $^1\text{H}$  del compuesto obtenido después de la separación de la resina y posterior esterificación con diazometano, no nos permite determinar fehacientemente el compuesto obtenido, pero podríamos pensar que se produciría también la oxidación de alguno de los átomos de azufre del tioheterociclo unido a la posición  $2\beta$ -metil.

### III.1.3-Modificaciones de penicilinas usando resinas de Wang

#### III. 1.3.1-Inmovilización del núcleo penam a la resina de Wang utilizando el reactivo de Mukaiyama

La resina de Wang (9) posee un ligando no integral que como se expuso en la introducción, posee la ventaja de controlar mejor la síntesis y disminuir los efectos estéricos y electrónicos. Otra ventaja a destacar es la posibilidad de controlar la síntesis realizando análisis espectroscópicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel, dado que se pueden determinar las señales debidas al 4-(hidroximetil)fenoximetil-poliestireno (resina de Wang)<sup>44</sup> y evaluar de este modo las señales restantes.

La resina de Wang con el ligando alcohol *p*-alcoxibencilo<sup>32</sup> fue desarrollada para la unión con ácidos carboxílicos (Esquema 33).



Esquema 33

Existen varios métodos de unión de la resina de Wang a un ácido carboxílico, siendo el más común la utilización de diisopropilcarbodiimida (DIC) o dicitlohexilcarbodiimida (DCC) en presencia de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) en condiciones catalíticas.<sup>92</sup> Este método fue empleado en nuestro laboratorio conduciendo a resultados variados y poco satisfactorios, por lo que se decidió buscar nuevas alternativas de unión.

En este trabajo de tesis se ha desarrollado un nuevo método que no tiene antecedentes en la literatura, para la inmovilización inicial del ácido penicilánico a la

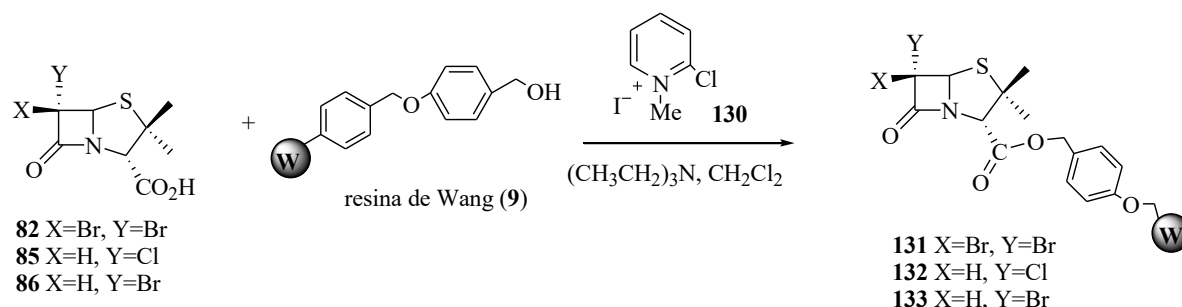
resina de Wang. El mismo consiste en la utilización del reactivo de Mukaiyama (yoduro de 2-cloro-1-metil-piridinio) (**130**) para activar el ácido carboxílico (Esquema 34).

Con el fin de optimizar las condiciones de acoplamiento del ácido penicilánico a la resina de Wang, se probaron distintas variables, como tiempo y temperatura, distintos solventes y distintas cantidades de reactivos. Los resultados se presentan en la Tabla III, se logró una muy buena optimización llegando a valores de incorporación del 100 %.

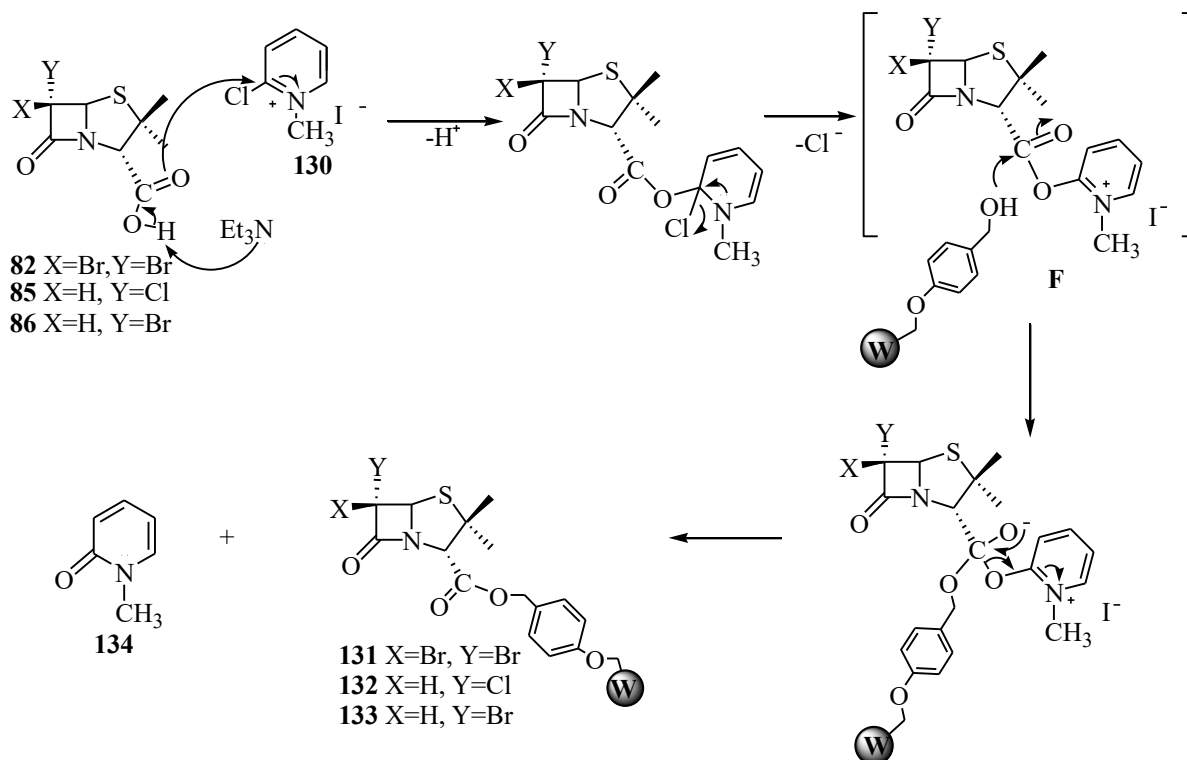
**Tabla III**

Reactivo de Mukaiyama	Et <sub>3</sub> N	Ácido penicilánico (82)	Temp.	Solvente	Tiempo	% incorporación a la resina (*)
2 eq.	2 eq.	2 eq.	reflujo	CHCl <sub>3</sub>	2 h	30 %
2 eq.	. 2 eq.	2 eq.	reflujo	CHCl <sub>3</sub>	4 h	10 %
4 eq.	4 eq.	4 eq.	reflujo	CHCl <sub>3</sub>	4 h	16 %
4 eq.	4 eq.	4 eq.	T°. amb	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	24 h	60 %
4 eq.	6 eq.	4 eq.	T°. amb	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	48 h	100 %

(\*) Basado en el incremento de masa de la resina luego de la reacción.



**Esquema 34**



Esquema 35

El mecanismo propuesto para la inmovilización del ácido penicilánico con la resina de Wang se muestra en el Esquema 35. El mismo sugiere como resultado final una sustitución nucleofílica aromática con asistencia de la base  $\text{Et}_3\text{N}$ , a través de un proceso de adición-eliminación para formar el intermediario activado (**F**), y en un segundo paso el ataque nucleofílico del oxidrilo de la función alcohol de la resina de Wang sobre el carbono carbonílico del ácido penicilánico con eliminación de 1-metilpiridinona (**134**).

Las reacciones sobre el anillo penam unido a la resina de Wang se pueden monitorear cada una por separado sin tener que separar el compuesto del grano de resina utilizando espectroscopía infrarroja y fundamentalmente RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel. Esto resulta significativo dado que podemos verificar la obtención del producto sin separarlo de la resina.

En la Figura 15 se representa el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel del 6 $\alpha$ -bromopenicilánico (**133**) unido a la resina de Wang, donde se pueden apreciar señales características del derivado penicilánico, particularmente las correspondientes a los metilos C-9 y C-10 y de los átomos de C-5 y C-6 que se encuentran en zonas en las que no aparecen las señales de la matriz polimérica.

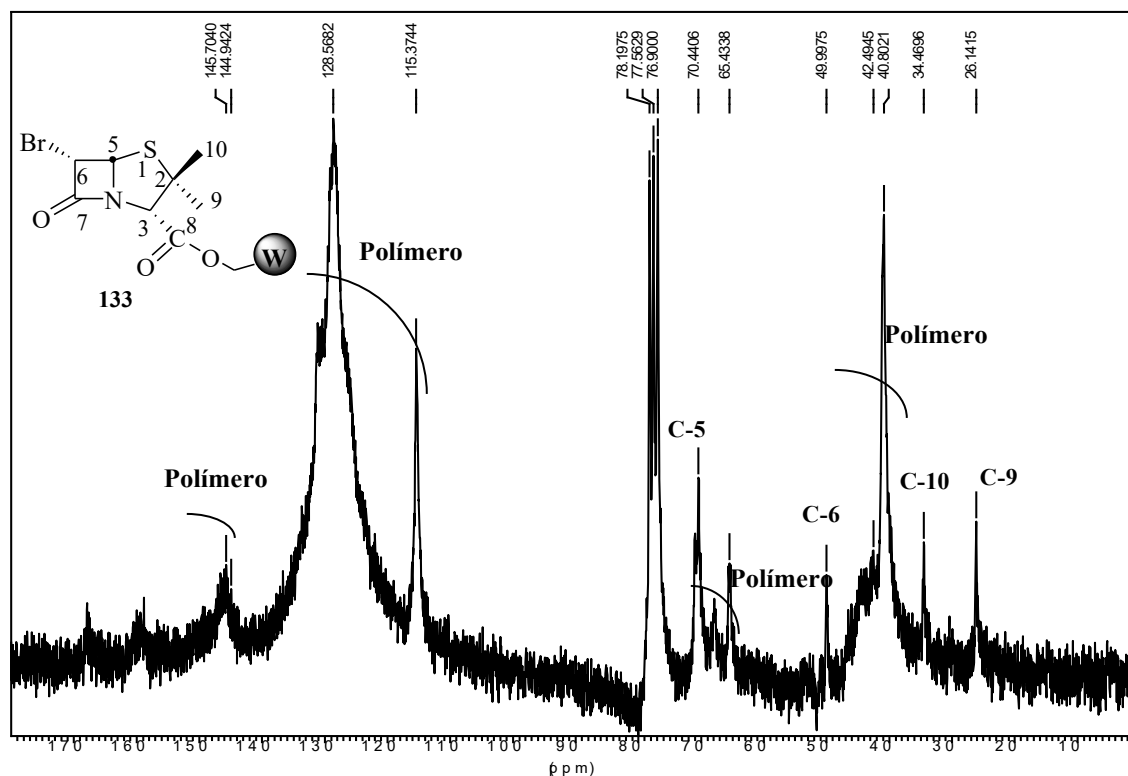


Figura 15

De esta manera, se constató la unión del compuesto a la resina lo que nos permitió continuar con nuestro trabajo de síntesis.

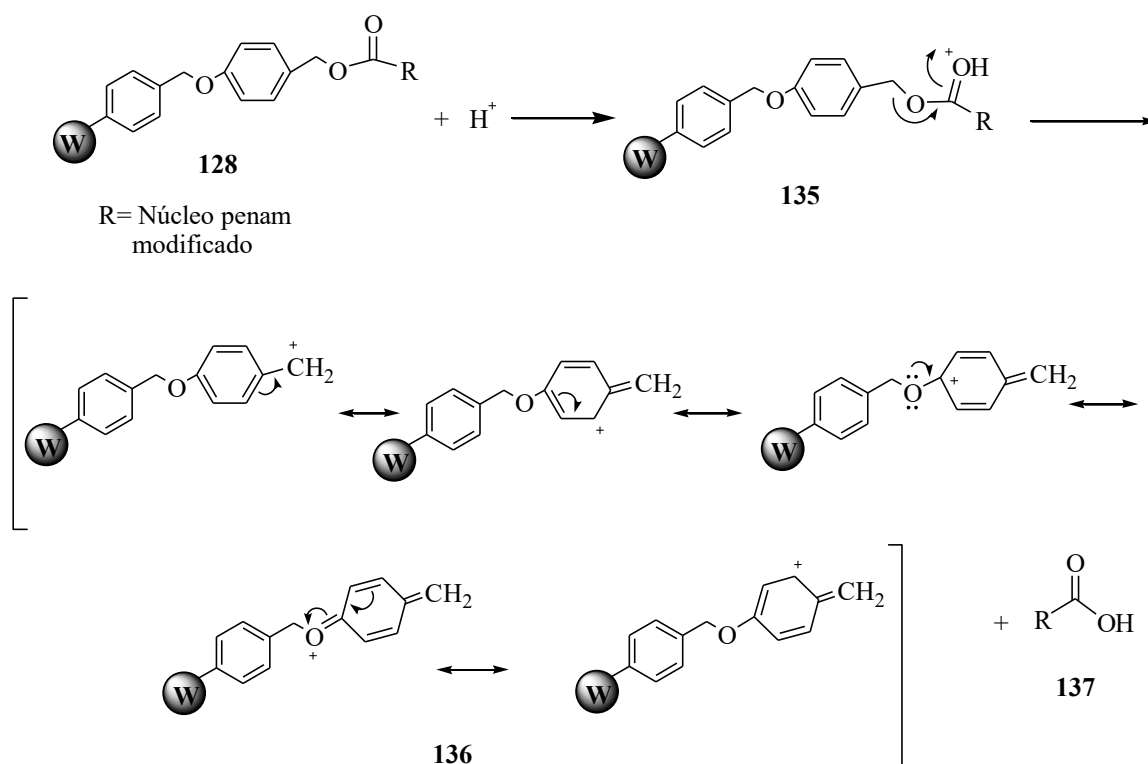
La inmovilización con la resina de Wang se llevó a cabo sobre los ácidos 6,6-dibromopenicilánico (**82**), 6 $\alpha$ -cloropenicilánico (**85**) y 6 $\alpha$ -bromopenicilánico (**86**). Respecto al uso del reactivo de Mukaiyama como activante para la unión de ácidos carboxílicos a la resina de Wang, podemos decir que el trabajo realizado nos ha permitido desarrollar un método alternativo eficiente para producir tales uniones, las que no siempre dan rendimientos aceptables con los métodos tradicionales.

### III.1.3.2-Separación de derivados de penicilinas de la resina de Wang usando TFA

El ácido forma una unión éster con la resina, que es susceptible al ataque nucleofílico, por lo que este ligando puede ser considerado lábil en condiciones básicas, por ejemplo el compuesto **128** (Esquema 36) puede ser tratado con NaOMe<sup>93</sup> o TEA/MeOH/KCN<sup>94</sup> para dar el metil éster. La posición bencílica, rica en electrones es también susceptible a la ruptura oxidativa.<sup>95, 96</sup> También ha sido reportado, que el *m*-CPBA<sup>97</sup> puede usarse para dicha ruptura. Otra alternativa que da buenos resultados es el AlCl<sub>3</sub>.

En nuestro caso hemos utilizado ácido trifluoroacético (TFA) en DCM al 10%<sup>98</sup> dado que es un reactivo accesible y la reacción se lleva a cabo en pocos minutos a temperatura ambiente con rendimientos cuantitativos.

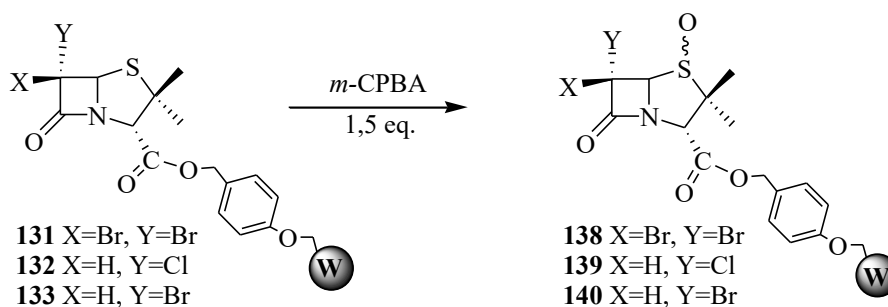
Como se ha indicado en la introducción, en la resina de Wang el carbocatión **135** está estabilizado por la presencia del oxígeno en posición *para* (**136**), con lo cual la ruptura se logra usualmente en concentraciones de 10-30% de TFA/DCM liberando el producto como ácido (**137**) (Esquema 36).



Esquema 36

### III. 1.3.3-Modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam

Luego de inmovilizar el anillo penam a la resina de Wang (compuestos **131**, **132** y **133**) y verificado tal acoplamiento en el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  fase gel, se pasó a la segunda etapa de la síntesis, la obtención de los sulfóxidos **138**, **139** y **140** utilizando 1,5 eq. de *m*-CPBA. Cabe señalar que estos compuestos son estables y pueden guardarse a temperatura ambiente por un largo período de tiempo, resultando esto interesante, debido a que se pueden preparar como material de partida en cantidades suficiente (Esquema 37).



Esquema 37

El espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel del sulfóxido del 6 $\alpha$ -cloropenicilánico unido a la resina de Wang (**139**) nos indica que se trata de una mezcla de  $\alpha$  y  $\beta$  sulfóxido (Figura 16).

Las asignaciones de los desplazamientos químicos de RMN de  $^{13}\text{C}$  para los distintos átomos de carbonos de los  $\alpha$  y  $\beta$  sulfóxidos del 6 $\alpha$ -cloropenicilánico unido a la resina de Wang (**139**) (tabla IV) concuerdan con los valores respectivos de los  $\alpha$  y  $\beta$  sulfóxidos del 6,6-dibromopenicilánato de pivaloilmetilo reportado por el Dr. Belinzoni, D. en su tesis doctoral.<sup>99</sup>

Tabla IV

	C9	C10
$\alpha$ sulfóxido	14,06	20,9
$\beta$ sulfóxido	17,9	19,6

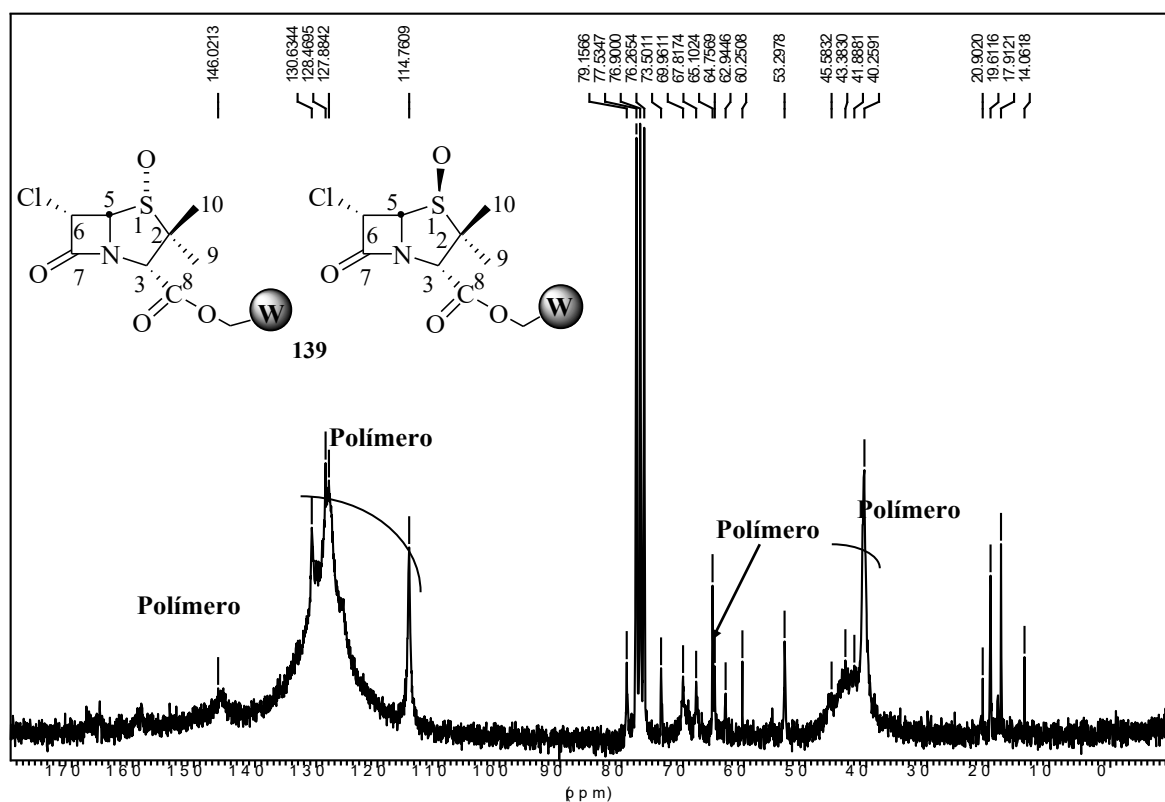


Figura 16

Harrison y Hodge,<sup>100</sup> muestran el comportamiento de los desplazamientos que experimentan las señales del núcleo penam a lo largo de la serie de transformaciones:

Como dato interesante mostraremos el análisis realizado de estos desplazamientos químicos para el 6,6 dibromopenicilinato de metilo con distintos estados de oxidación del átomo de azufre (Figura 17).

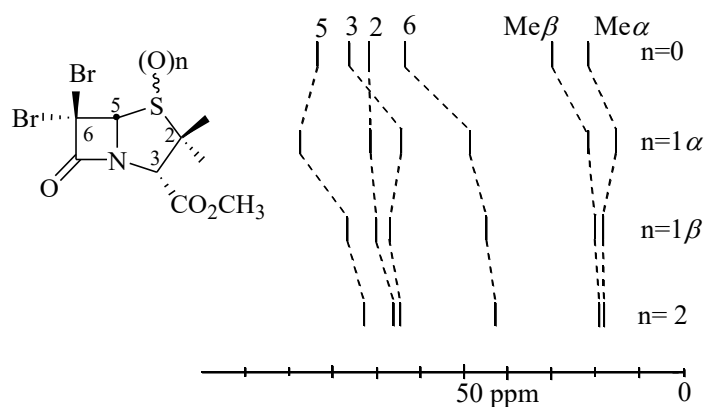


Figura 17

Harrison y Hodge proponen su aplicación para asignar la configuración del átomo de azufre en los sulfóxidos, utilizando para ello los desplazamientos químicos de los metilos geminales que, como se ve en la figura 17, sus señales se hallan a campos más altos en el  $\alpha$  y  $\beta$  sulfóxido con respecto al sulfuro, mientras que en el caso del  $\beta$  sulfóxido ambos metilos están más próximos entre sí que en el  $\alpha$  sulfóxido y en el sulfuro.

De este análisis podemos deducir que, en el caso del compuesto **139** el resultado es una mezcla de  $\alpha$  y  $\beta$  sulfóxido donde el  $\beta$  sulfóxido es el producto mayoritario a juzgar por el tamaño de los picos de los metilos geminales (Figura 17). Esto concuerda con lo esperado para este tipo de estructuras ya que, el sustituyente voluminoso en C-6 y de orientación  $\alpha$  favorecería, por efecto estérico, la entrada del *m*-CPBA por la cara  $\beta$  de la molécula.

De acuerdo a estudios previos en solución la formación de una mezcla de sulfóxidos no afecta las reacciones posteriores ya que ambas sufren de igual manera el reordenamiento térmico que genera las 2 $\beta$ -halometil penicilinas.

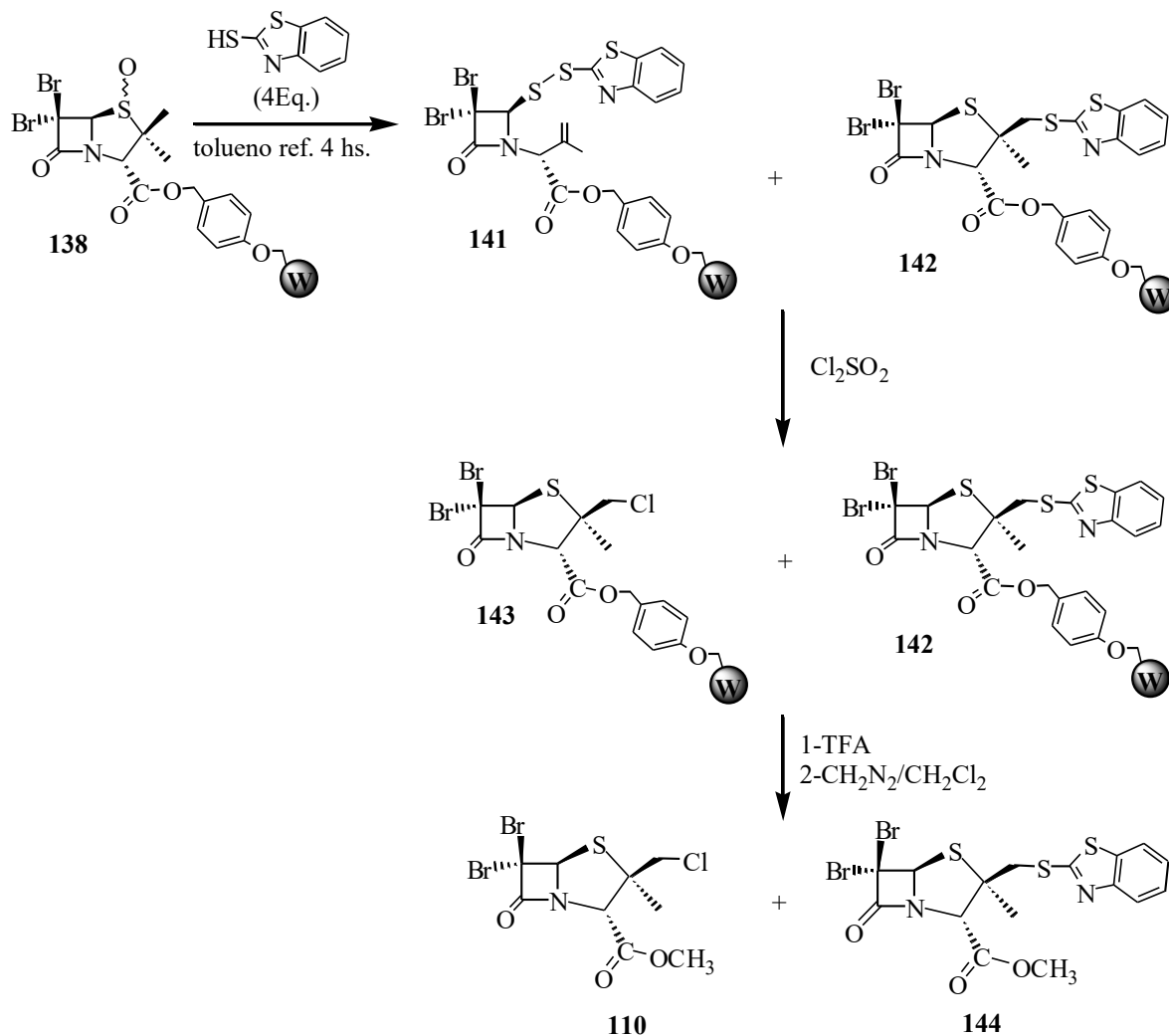
### **III. 1.3.3a-Penicilinas 2 $\beta$ -halometil sustituidas**

Una vez obtenido los sulfóxidos, el siguiente paso fue estudiar la posibilidad de obtener los derivados 2 $\beta$ -halometilpenams unidos a resina de Wang.

Las modificaciones realizadas en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam, unido a la resina de Wang, se realizaron teniendo en cuenta los datos reportados en la literatura para fase homogénea.<sup>101</sup> Estas reacciones fueron realizadas al comienzo de este trabajo de tesis y los resultados obtenidos luego de optimizar y ajustar las condiciones para fase sólida, se tomaron como base para las modificaciones utilizando la resina de Merrifield como soporte sólido (ver pag. 60).

Teniendo en cuenta los reportes en química en solución,<sup>101</sup> en un principio se siguió una técnica que consistía en el tratamiento a reflujo con tolueno de 4 equivalentes de 2-benzotiazotiol durante 4 h, seguido del agregado de cloruro de sulfúrico. Luego de separar de la resina con 10% de TFA en DCM y esterificación con diazometano se obtenía una mezcla 1:1 del producto deseado, 2 $\beta$ -clorometil derivado **110**, y

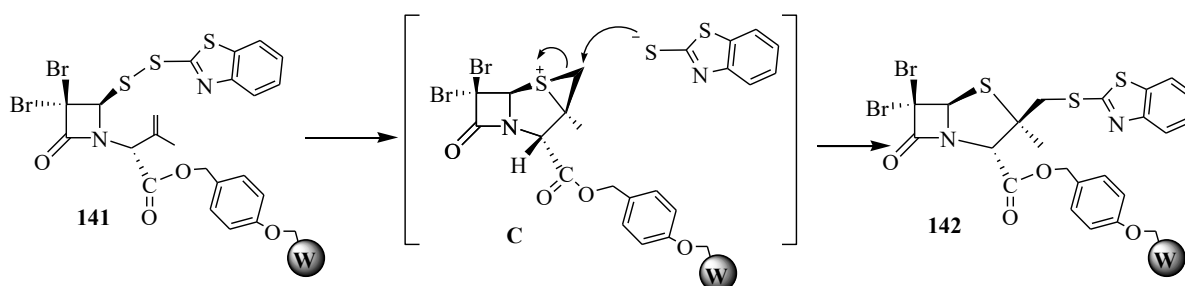
2 $\beta$ -(benzotiazol-2-il)tiometil penicilina **144** con un bajo rendimiento global (Esquema 38). A raíz de este resultado se decidió investigar sus razones.



Esquema 38

El espectro en fase gel de RMN de <sup>13</sup>C de la resina antes de la adición del cloruro de sulfúrico mostró la presencia del disulfuro **141** junto con el 2 $\beta$ -(heterociclil)tiometil derivado **142**. Esto puede ser explicado por una prematura liberación del 2-benzotiazolthiol del disulfuro, conduciendo a la formación del episulfonio C, el cual luego sufre el ataque nucleofílico del anión del 2-benzotiazolthiol para dar el 2 $\beta$ -metil derivado **142** (Esquema 39).

El mecanismo descrito en el Esquema 39 es muy similar al de formación de los derivados 2 $\beta$ -(heterocicli)tiometil mostrado en el Esquema 30, sin embargo no existen antecedentes en química homogénea de la formación de derivados del tipo **142** en las condiciones utilizadas por nosotros. Estos compuestos, en química en solución, se obtienen bajo catálisis de p-TsOH o cuando existe una congestión estérica en posición 6 de manera que la formación del derivado 2 $\beta$ -(heterocicli)tiometil a partir del disulfuro libera tal congestiónamiento.<sup>88</sup> Ninguno de estos dos casos se presenta en nuestra reacción. Por supuesto, hasta nuestro trabajo no existían antecedentes de esta reacción en química sobre soporte sólido.



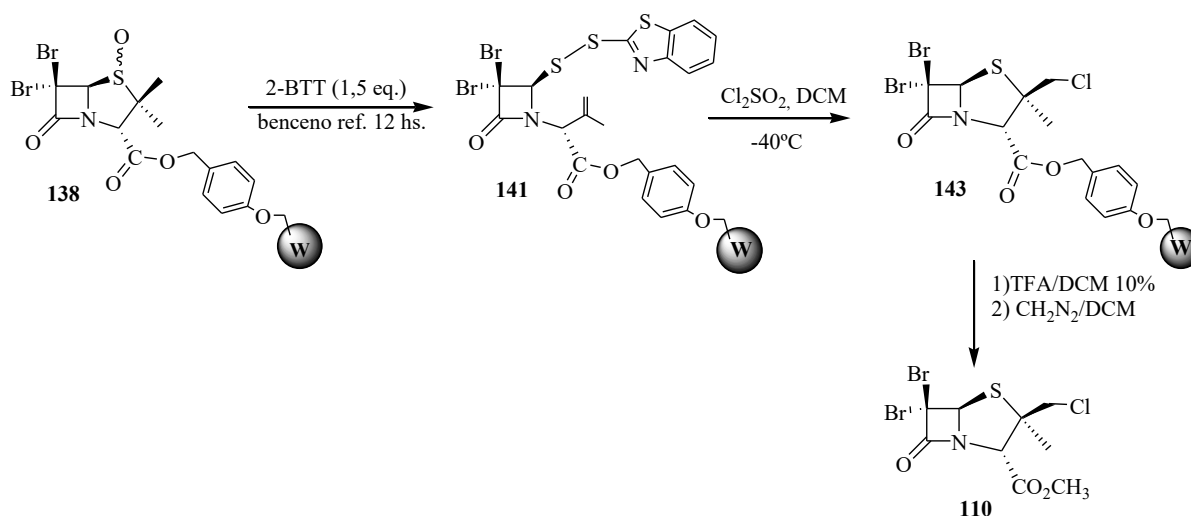
**Esquema 39**

En función de estos resultados se reexaminaron las condiciones de reacción cuidadosamente, variando la temperatura, solvente y equivalentes de 2-benzotiazolthiol.

Cuando se trabaja en benceno a reflujo durante 12 h y 1,5 equivalentes de 2-benzotiazolthiol, se encuentra que se forma exclusivamente el disulfuro **141** (Esquema 40). Esto indica que a esa temperatura (80 °C) no se produce la termólisis que lleva a la formación del compuesto **142**. Es interesante destacar que, en química en solución, la síntesis de disulfuros del tipo de **141** es usualmente bastante engorrosa en cuanto a la purificación del producto. Generalmente son necesarias al menos dos purificaciones por columnas cromatográficas para eliminar los subproductos generados por el reactivo 2-benzotiazolthiol. En el caso de la resina **141**, las impurezas son eliminadas por simple filtración, lo cual implica una ventaja extra de esta metodología.

Una vez lograda la formación exclusiva del disulfuro **141** se trató con cloruro de sulfurilo en diclorometano a -40°C y, luego de separar la resina con TFA al 10% y esterificar con diazometano, se comprobó la formación del 2 $\beta$ -clorometil penicilina

**110.** Sin embargo, el rendimiento global fue muy bajo (<10%), probablemente por una prematura ruptura de la resina de Wang debida a la generación de HCl en el medio durante la reacción con cloruro de sulfurilo.

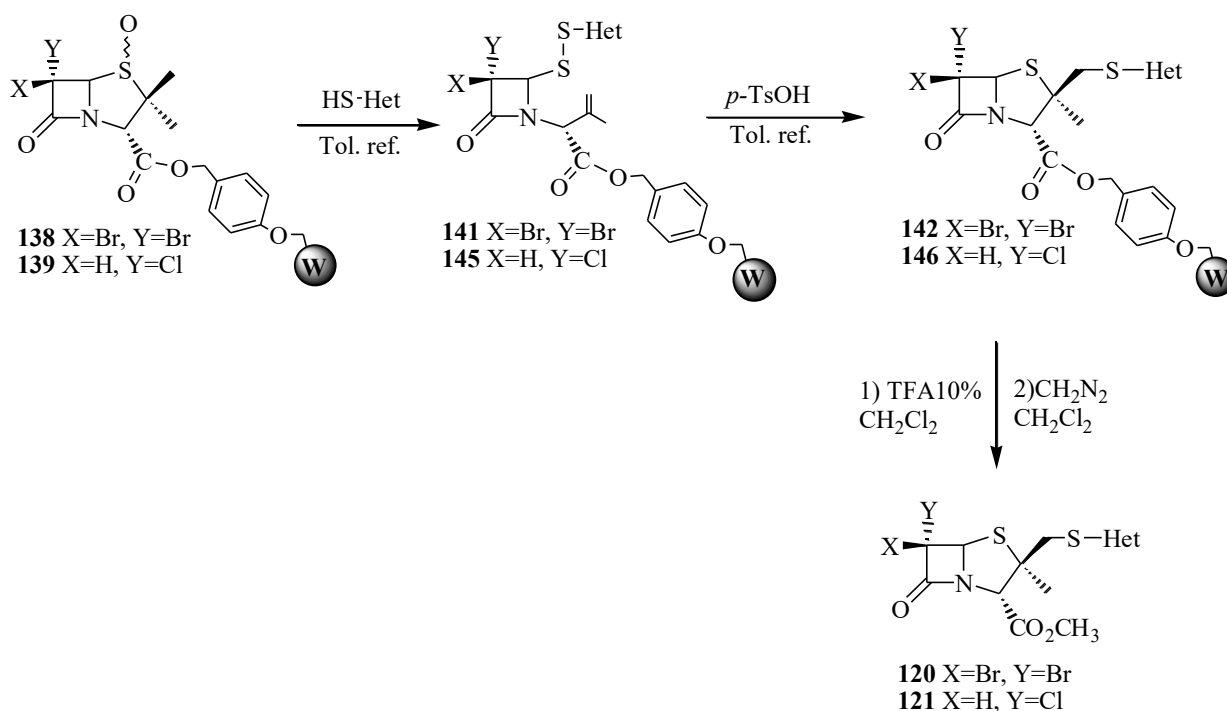


**Esquema 40**

Ante esta perspectiva se dejó de lado la síntesis de  $2\beta$ -halometilpenicilinas utilizando resina de Wang como soporte sólido. Sin embargo, las condiciones optimizadas fueron aplicadas a la síntesis de estos compuestos unido a la resina de Merrifield (Ver Pág. 60)

### **III.1.3.3b-Penicilinas $2\beta$ -Heterocicliotimetil sustituidas**

Los sulfóxidos **138** y **139** unido a la resina de Wang, se trataron con distintos heterocicliotimetos en tolueno a reflujo y ácido *p*-TsOH (cuidadosamente en cantidades catalíticas, dado que el pKa de éste ácido es similar al del trifluoracético y podría desprenderse compuesto de la resina), dando los compuestos **142** y **146** a partir de los disulfuros **141** y **145** (Esquema 41).



Esquema 41

A modo de ejemplo presentamos la reacción del sulfóxido del 6 $\alpha$ -cloropenicilánico unido a la resina de Wang (**139**) para dar la penicilina 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -4,5-difenil-oxazol-2-il-tiometil unida a la resina de Wang (**146c**). La reacción se lleva a cabo en las condiciones ya descritas, en presencia de 4,5-difenil-2-oxazotiol. En la Figura 18 se muestra el espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel del producto de la reacción, donde se puede apreciar una señal para el metileno de configuración  $\beta$  que se encuentra a 46,3 ppm, quedando una señal a 22,9 ppm correspondiente al metilo de configuración  $\alpha$ .

Una vez obtenidos las penicilinas 2 $\beta$ -tiometil sustituidas sobre soporte sólido se las trató con TFA/DCM 10% y luego se los esterificó con  $\text{CH}_2\text{N}_2$  para obtener los correspondientes ésteres metílicos **120**, **121** (Esquema 41).

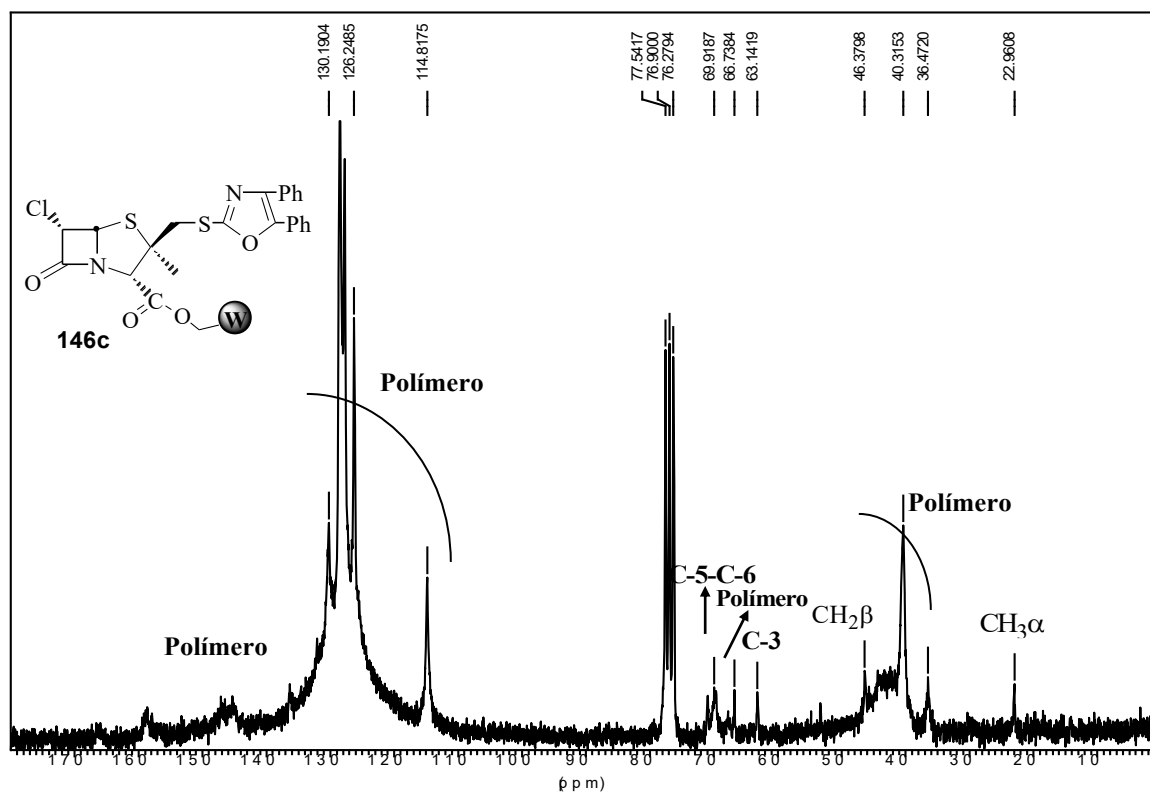
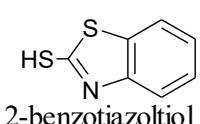
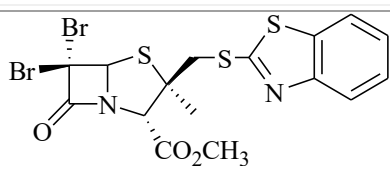
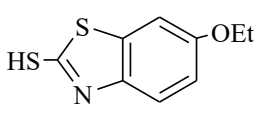
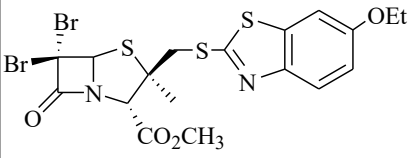
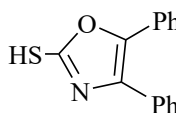
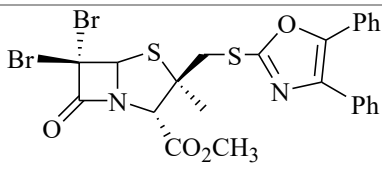
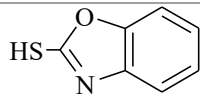
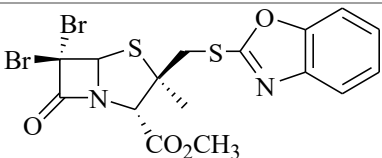
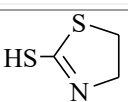
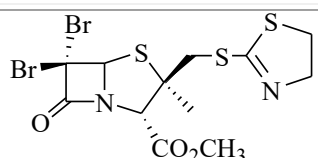
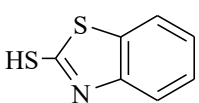
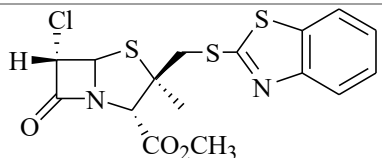
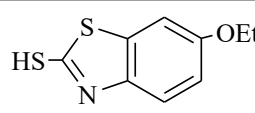
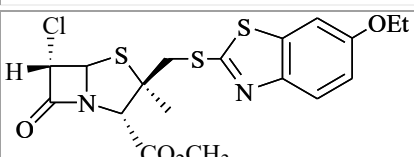
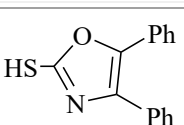
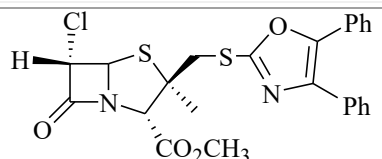


Figura 18

La tabla V muestra las penicilinas 2 $\beta$ -tiometil sustituidas con sus rendimientos totales aislados después de la cromatografía en columna (basados en la carga inicial de la resina de Wang), se determinaron sus estructuras por espectroscopía RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ , I.R, espectroscopía de masa y análisis elemental.

**Tabla V.** Penicilinas 2 $\beta$ -Heterocicliotiometil sustituidas obtenidas utilizando resina de Wang como soporte sólido.

HS-Het	PRODUCTO	REND.
 2-benzotiazolol	 <b>120a</b>	60 %

 <p>6-etoxi-2-benzotiazolol</p>	 <p><b>120b</b></p>	48 %
 <p>4,5-difenil-2-oxazolol</p>	 <p><b>120c</b></p>	70 %
 <p>2-benzoxazolol</p>	 <p><b>120d</b></p>	28 %
 <p>Thiazolol</p>	 <p><b>120e</b></p>	48 %
 <p>2-benzotiazolol</p>	 <p><b>121a</b></p>	39 %
 <p>6-etoxi-2-benzotiazolol</p>	 <p><b>121b</b></p>	44 %
 <p>4,5-difenil-2-oxazolol</p>	 <p><b>121c</b></p>	46 %

Como se observa en la tabla V, se lograron obtener, en varios casos, mayores rendimientos que los logrados con la resina de Merrifield.

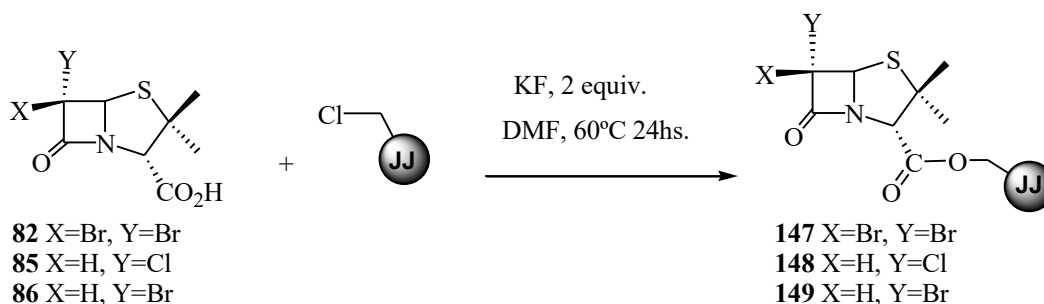
### **III.1.4-Modificaciones de penicilinas usando resina JandaJel**

#### **III.1.4.1-Inmovilización del núcleo penam a la resina JandaJel**

Como indicamos anteriormente, la resina Janda Jel (Figura 3) es una alternativa interesante para la síntesis en fase sólida de compuestos de interés biológico, ya que es una resina de poliestireno entrecruzado con 1,4-bis(vinilfenoxi)-butano, lo cual aumenta al doble su capacidad de “hinchado” respecto a las resinas comunes. Este aumento en la capacidad de hinchado implica un mejor contacto entre los reactivos y el sustrato unido a la resina. La carga de la misma depende del lote particular que se utilice, en nuestro caso utilizamos un lote cuya sustitución era de 0,575 mmoles/g.

La resina JandaJel posee una funcionalidad clorometilo, por lo que, para la unión con el núcleo penam modificado en posición 6, la estrategia empleada fue similar a la utilizada para la resina de Merrifield, si bien se realizaron algunas pequeñas modificaciones que consistieron en aumentar 0,5 equivalentes las cantidades de ácido penicilánico y de KF. De esta manera, el procedimiento comienza con la suspensión de la resina JandaJel en DMF y la agitación de la mezcla durante media hora a temperatura ambiente; luego se agregan 2 equivalentes de ácido penicilánico y 2 equivalentes de KF, se calienta a 60°C y se deja agitando durante 24 h. Este procedimiento se llevó a cabo con los ácidos penicilánicos **82**, **85** y **86** para obtener las penicilinas inmovilizadas **147**, **148** y **149** (Esquema 42).

Se calculó la cantidad porcentual incorporada a la resina y se obtuvieron valores próximos al 100%.



Esquema 42

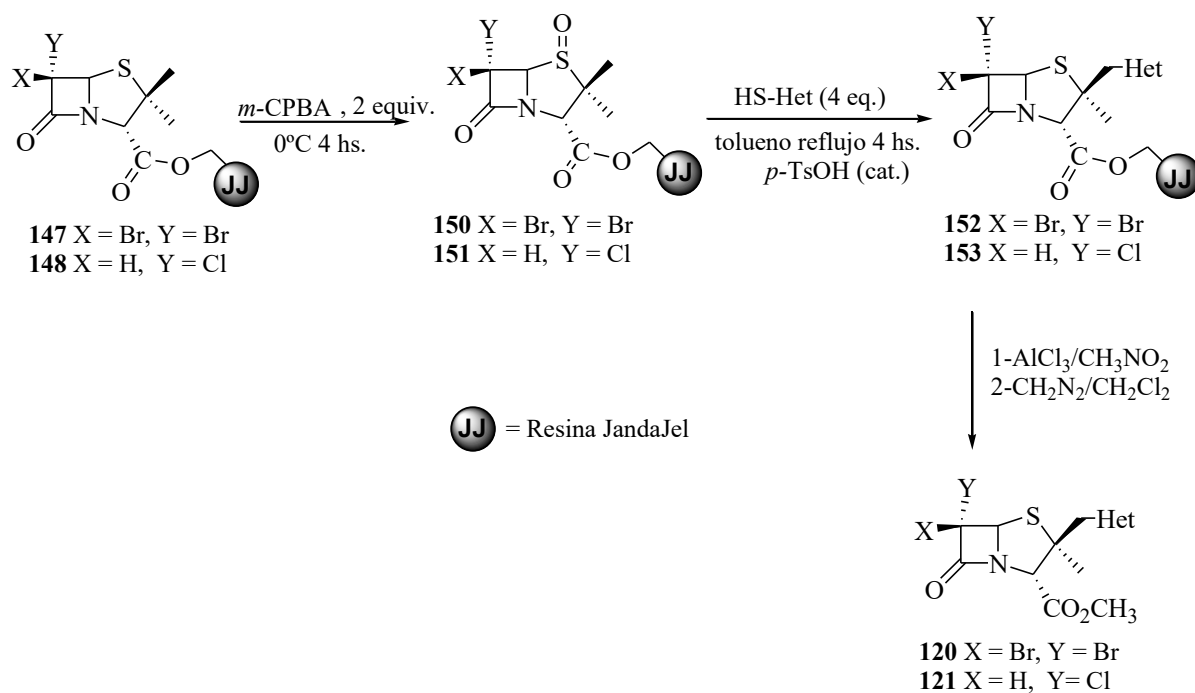
La resina de JandaJel no pudo ser evaluada por RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel como en el caso de la resina de Wang debido a la superposición de las señales de ésta con las señales de los compuestos obtenidos, por tal motivo para verificar los resultados se debió liberar los compuestos sintetizados de la resina y realizar la caracterización de los mismos por las técnicas habituales de química en fase homogénea.

#### III.1.4.2-Separación de derivados de penicilinas de la resina JandaJel usando $\text{AlCl}_3$

La resina JandaJel utilizada tiene un ligando integral similar a la resina de Merrifield lo que implica que requiere condiciones fuertemente ácidas para la separación al final de la secuencia sintética. Por esta razón, utilizamos  $\text{AlCl}_3$  disuelto en nitrometano ( $\text{CH}_3\text{NO}_2$ ) anhidro<sup>78</sup> para desprender de la resina JandaJel todos los derivados de penicilinas. Una vez removidos de la resina se trataron con diazometano ( $\text{CH}_2\text{N}_2$ ) para transformarlos en ésteres metílicos y proceder a su purificación por cromatografía en columna.

#### III.1.4.3-Modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam

Las modificaciones realizadas en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam, unido a la resina JandaJel se realizaron en condiciones similares a las realizadas al anillo penam unido a las resinas de Merrifield y Wang (Esquema 43).



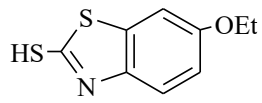
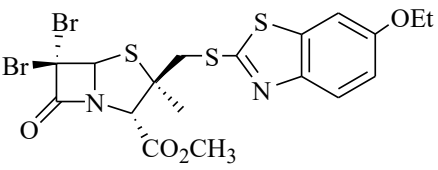
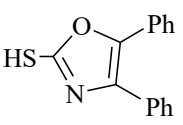
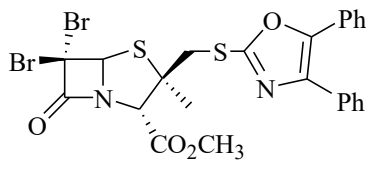
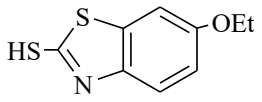
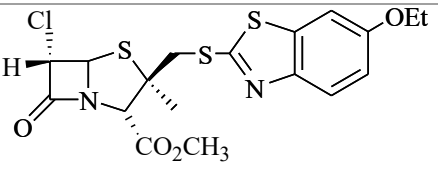
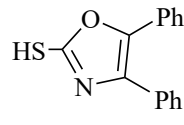
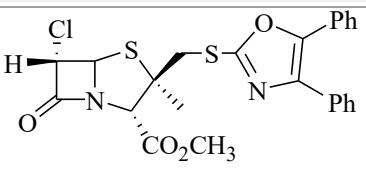
### Esquema 43

Luego de la inmovilización de los derivados de penicilinas a la resina Janda Jel (compuestos **147** y **148**), pasamos a la segunda etapa de la síntesis, la obtención de los sulfóxidos **150** y **151** utilizando 2 equivalentes de *m*-CPBA a 0° por 4h. Luego le agregamos 4 equivalentes de los diferentes tiol heterociclos y cantidades catalíticas de *p*-TsOH en tolueno a reflujo durante 4 h. Una vez obtenidas las penicilinas 2β-tiometil sustituidas se las trató con  $\text{AlCl}_3$  en  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  y luego se las esterificó con  $\text{CH}_2\text{N}_2$  para obtener los ésteres metílicos **120** y **121** (Esquema 43).

La tabla VI muestra las penicilinas 2β-tiometil sustituidas obtenidas con sus rendimientos totales aislados después de la cromatografía en columna (basados en la carga inicial de la resina de JandaJel).

**Tabla VI** Penicilinas 2β-Heterociciltiometil sustituidas obtenidas utilizando resina JandaJel como soporte sólido

<p>2-benzotiazolthiol</p>	<p><b>120a</b></p>	55 %
---------------------------	--------------------	------

HS-Het	PRODUCTO	REND.
 6-etoxi-2-benzotiazolthiol	 <b>120b</b>	48 %
 4,5-difenil-2-oxazolthiol	 <b>120c</b>	20 %
 6-etoxi-2-benzotiazolthiol	 <b>121b</b>	10 %
 4,5-difenil-2-oxazolthiol	 <b>121c</b>	21 %

Las expectativas planteadas mediante el uso de la resina JandaJel no resultaron satisfactorias, puesto que los rendimientos de los compuestos obtenidos fueron menores que los logrados con la resina de Wang y en la mayoría de los casos aún con la resina Merrifield los resultados fueron mejores.

# Capítulo IV

## PARTE EXPERIMENTAL

## Sección 1

# MATERIALES Y MÉTODOS

#### **IV.1.1- Condiciones generales.**

Las reacciones en atmósfera inerte se llevaron a cabo bajo atmósfera de nitrógeno seco o de argón de alta pureza.

Los solventes y reactivos se transfirieron con jeringa bajo presión de nitrógeno seco o argón de alta pureza.

Las soluciones se evaporaron a presión reducida en evaporador rotatorio. Restos de solventes fueron eliminados mediante una bomba de vacío (< 5 mm de Hg).

Los criterios para determinar pureza en los productos fueron:

I- La aparición de una única mancha en CCD en diversos sistemas de solventes.

II- La presencia de las señales correspondientes a la estructura del compuesto asignado por resonancia magnética nuclear de protones y de carbono (RMN de  $^1\text{H}$  y RMN de  $^{13}\text{C}$ ).

III- El intervalo del punto de fusión en el caso de muestras sólidas.

#### **IV.1.2- Datos físicos.**

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

Los espectros infrarrojos fueron registrados en un espectrómetro FT IR Bruker modelo IFS25 y en un espectrómetro FT IR Shimadzu modelo 8101, empleando como patrón de calibración la banda de  $1604,4\text{ cm}^{-1}$  del poliestireno, y los datos espectroscópicos son reportados parcialmente. Las muestras sólidas se midieron como dispersiones en pastillas de KBr, realizadas por compresión de una mezcla finamente pulverizada en un mortero de ágata, cuya composición aproximada fue de 1mg de muestra y 100 mg de KBr. Los aceites se determinaron puros, formando una película fina (film) soportado sobre dos pastillas de NaCl.

Los valores de  $\nu$  se informan en  $\text{cm}^{-1}$  para las bandas más significativas.

Los primeros espectros de RMN fueron registrados en un espectrómetro marca Bruker modelo AC-200-E a 200,13 MHz ( $^1\text{H}$ , usando la señal del tetrametilsilano a 0 ppm, como patrón de referencia interno) y a 50 MHz ( $^{13}\text{C}$ , usando la señal del solvente  $\text{CDCl}_3$  a 76,9 ppm, como patrón de referencia interno), los últimos, realizados en un espectrómetro marca Bruker modelo Avance II de 300 MHz, (para  $^1\text{H}$ , usando la señal del

tetrametilsilano a 0 ppm, como patrón de referencia interno) y a 75 MHz ( $^{13}\text{C}$ , usando la señal del solvente  $\text{CDCl}_3$  a 76,9 ppm, como patrón de referencia interno), Las mediciones se realizaron con la muestra disuelta en  $\text{CDCl}_3$ . Los espectros de RMN de  $^1\text{H}$  se informaron indicando los desplazamientos químicos de las señales ( $\delta$ ) y, a continuación entre paréntesis y en este orden, se detalló la multiplicidad de la señal, las constantes de acoplamiento (J), la integración de la señal y su asignación. Los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  se informaron indicando los desplazamientos químicos de las señales ( $\delta$ ) y, a continuación entre paréntesis la asignación. Los desplazamientos químicos se informaron en unidades de partes por millón (ppm), relativas al patrón de referencia (TMS) correspondiente y las constantes de acoplamiento (J) en hercios. Las abreviaturas utilizadas para indicar las multiplicidades de las señales fueron, s: singlete, d: doblete, t: triplete, c: cuarteto, dd: doble doblete, m: multiplete. La abreviatura a, indica señal ancha.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$  reportados incluyen: espectro totalmente desacoplado BB (Inglés: Broad Band) y espectros con intensificación sin distorsión por transferencia de polarizabilidad DEPT (Inglés: Distortionless Enhancement by Polarization Transfer) que permiten diferenciar carbonos cuaternarios, metínicos, metilénicos, metílicos.

Los espectros de análisis elemental fueron realizados por la firma Atlantic Microlab, Inc., Norcross, GA, U.S.A. Los espectros de masa fueron realizados en el Servicio de Espectrometría de Masas Universidad de California Riverside, usando un Espectrómetro Micromass VG7070EHF y los análisis de GC-MS fueron realizados en un aparato Hewlett Packard 5898A.

#### **IV.1.3- Cromatografías.**

Las CCD se realizaron sobre placas comerciales de aluminio cubiertas con sílica gel Merck (60 F<sub>254</sub>) y se desarrollaron con sistemas de solventes adecuados a cada muestra, se revelaron con lámpara UV (254nm) y/o rociando con los reactivos reveladores 2% *p*-anisaldehído-ácido sulfúrico en EtOH.

Las separaciones cromatográficas en columna se realizaron sobre sílica gel Merck 60 H (malla 230-400), de acuerdo a la técnica de cromatografía "Flash" reportada por Still.<sup>102</sup>

Las siembras se realizaron con solución concentrada en diclorometano. Las eluciones se realizaron con cantidades crecientes de acetato de etilo en hexano con ayuda de presión de aire comprimido, salvo indicación en contrario.

#### **IV.1.4- Gases y Solventes Anhidros.**

Los gases empleados (argón, nitrógeno) fueron secados por pasaje a través de tamices moleculares o alternatively, de ácido sulfúrico concentrado.

Los solventes utilizados como eluyentes en CCD o cromatografía en columna fueron purificados por destilación.

Todos los solventes de reacción fueron calidad “Pro análisis” y en los casos necesarios se sometieron a ulterior purificación tal como se describe a continuación, según los métodos de bibliografía.<sup>103</sup>

Diclorometano anhidro: secado sobre  $\text{CaCl}_2$  y luego destilado sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$  bajo atmósfera de nitrógeno y almacenado en botellas herméticas sobre tamices moleculares 4Å.

N,N-Dimetilformamida anhidra: secada sobre  $\text{BaO}$ , destilada a presión reducida y almacenada en botellas herméticas sobre tamices moleculares 4Å.

Metanol anhidro: El producto técnico, previamente destilado, fue tratado con limaduras de magnesio hasta la formación de metóxido de magnesio, luego calentado a reflujo durante 4 horas y destilando el producto a presión normal. El compuesto destilado se guardó en envases herméticos sobre tamices moleculares 4Å.

Tolueno anhidro: secado y almacenado sobre Na.

Trietilamina anhidra: destilada sobre  $\text{CaH}_2$  y almacenada en botellas herméticas sobre tamices moleculares 4Å.

Cloroformo anhidro: Calentado a reflujo sobre  $\text{P}_2\text{O}_5$  y luego destilado sobre el mismo bajo atmósfera de nitrógeno. Se conservó en envase hermético sobre tamices moleculares 4Å.

Benceno: secado y almacenado sobre Na.

#### IV.1.5- Reactivos

A menos que se indique el procedimiento de preparación, los reactivos utilizados fueron comerciales.

#### IV.1.6- Metodología general para el desarrollo de la síntesis en fase sólida

Las reacciones en fase sólida realizadas a temperaturas entre  $-10^{\circ}\text{C}$  y temperatura ambiente, se llevaron a cabo en cartuchos de polipropileno (Marca Supelco, Bellefonte, PA, U.S.A.) equipados con un filtro del mismo material y un buzo para agitación magnética. Las reacciones que requieren reflujo se llevaron a cabo en material de vidrio convencional. En las reacciones en fase sólida la agitación magnética se llevó a cabo de la manera más lenta posible, para disminuir la destrucción mecánica de los granos de resina. Aunque es una práctica común en síntesis en fase sólida el realizar un “pre-hinchado” de la resina agregándole el solvente unos 30 minutos antes del momento en el que se van a agregar los reactivos, en nuestra experiencia esto no ha afectado la eficiencia o rendimiento de la reacción.

Para la realización de las pastillas de IR en muestras en las que el compuesto se encuentra unido al soporte polimérico se usó una concentración de 3 mg de resina y 100 mg de KBr. La filtración de la resina se realizó colocando el cartucho de polipropileno en un distribuidor de vacío (manifold, marca Watman), lavando con los solventes indicados en cada caso. En la preparación de las muestras para RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel, se colocan 50-80 mg de resina en un tubo de RMN convencional y se agregan unos 0,5 mL de  $\text{CDCl}_3$  para obtener un gel, el cual se homogeneiza por sonicación. Los espectros fueron realizados de acuerdo a la literatura.<sup>44</sup>

Las resinas utilizadas se adquirieron a Novabiochem (San Diego, CA, U.S.A.).

La carga teórica de la resina se determinó asumiendo la completa conversión del sustrato unido a la resina, y calculando de acuerdo a la siguiente ecuación:<sup>85</sup>

$$\text{carga teórica de la resina} = \frac{\text{carga de resina de partida}}{1 + \frac{(\text{carga de res. de partida} \times \text{peso ganado o perdido en g/mol de la resina})}{1000}}$$

## SECCIÓN 2

# RESULTADOS

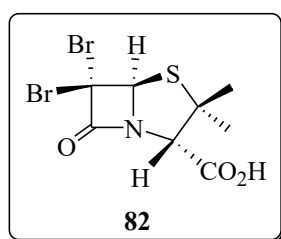
## Parte Experimental

### IV.2.1- Procedimiento general para realizar las modificaciones en el carbono 6 del

#### Núcleo penam

### IV.2.2- Obtención del ácido 6,6-dibromo-2,2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxílico

#### (ácido 6,6-dibromopenicilánico) (82)<sup>73</sup>



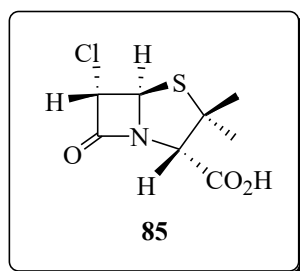
Se coloca en baño de hielo un balón con 50 ml de  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ , luego se agrega lenta y secuencialmente bromo líquido (12 g, 75 mmoles) y 20 ml de una solución acuosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2,5 N y  $\text{NaNO}_2$  (3,45g, 50 mmoles), la mezcla se agita hasta homogeneizar y se agrega cuidadosamente el ácido 6 $\beta$ -aminopenicilánico (6-APA) (5,4 g, 0,025 moles) en una sola porción, observando que la temperatura del sistema no sobrepase los 10°C, se continúa la agitación por 35 minutos al cabo de los cuáles se agrega gota a gota una solución acuosa de bisulfito de sodio 1 M hasta total desaparición del color del bromo, (aproximadamente 40 ml). Se separan las capas orgánicas y acuosa y esta última se extrae con  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  se juntan las fases orgánicas y se lavan con solución concentrada de NaCl (2 X 10 ml) luego se secan con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtran y evaporan. Se obtiene así el ácido 6,6-dibromopenicilánico en forma de agujas marrones que se recrystalizan con agua, se obtienen 7,8 g de un sólido cristalino con un rendimiento del 85,7 %. Los datos espectroscópicos coinciden con los citados en la literatura.

Caracterización: Sólido cristalino P.F= 144-146 °C

**IR:** (KBr): 1790  $\text{cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama), 1745  $\text{cm}^{-1}$  (carbonilo del ácido)

**RMN  $^1\text{H}$ :** ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  = 1,56 (s, 3H, Me  $\alpha$ ), 1,65 (s, 3H, Me  $\beta$ ), 4,58 (s, 1H, 3-H), 5,78(s, 1H, 5-H).

**IV.2.3-Obtención del ácido 6 $\alpha$ -cloro-2,2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxílico  
(ácido 6 $\alpha$ -cloropenicilánico) (85)**



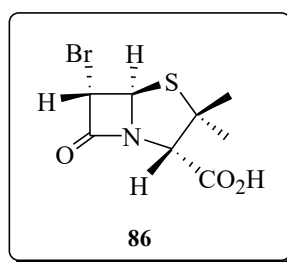
En una mezcla de 60 ml de MeOH, 10 ml de agua y 6 ml de HCl concentrado se agregan 420 mg de NaNO<sub>2</sub> en baño de hielo, se agita unos minutos y se agrega (1 g, 3,29 mmoles) de 6-APA. Se continúa agitando durante 2 horas a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se agregan 30 ml de C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>Cl, se trasvasa a una ampolla de decantación, la capa acuosa se extrae con C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>Cl (2 X 20 ml), se secan las fases orgánicas con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y evapora el solvente. Se obtienen así 0,87 g de un aceite de color amarillo: el ácido 6 $\alpha$ -cloropenicilánico (85).

Caracterización:

**IR:** (film) 1788 cm<sup>-1</sup> ( $\beta$ -lactama), 1745 cm<sup>-1</sup> (carbonilo del ácido).

**RMN <sup>1</sup>H:** (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1,57 (s, 3H, Me  $\alpha$ ); 1,64 (s, 3H, Me  $\beta$ ); 6,22 (s, 1H, COOH); 4,77 (d, 1H, J= 1,45 Hz, 6 $\beta$  H); 5,33 (d, 1H, J=1,45 Hz, 5 $\alpha$  H); 4,63 (s, 1H, 3-H).

**IV.2.4-Obtención del ácido 6 $\alpha$ -bromo-2,2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxílico  
(ácido 6 $\alpha$ -bromopenicilánico) (86) <sup>74</sup>**



En una mezcla de 60 ml de MeOH, 10 ml de agua y 6 ml de HBr concentrado se agrega 420 mg de NaNO<sub>2</sub> en baño de hielo, se agita unos minutos y se agrega (1 g, 3.29

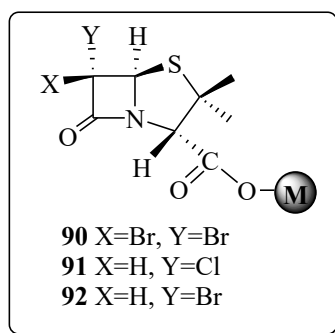
mmoles) de 6-APA. Se continúa agitando durante 2 horas a temperatura ambiente, pasado ese tiempo se agregan 30 ml de  $\text{Cl}_3\text{CH}$ , se trasvasa a una ampolla de decantación, la capa acuosa se extrae con  $\text{Cl}_3\text{CH}$  (2 X 20 ml), se secan las fases orgánicas con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtra y evapora a presión reducida el solvente. Se obtienen así 0,989 g de un aceite de coloración verde: el ácido 6 $\alpha$ -bromopenicilánico (**86**), con un rendimiento de 62,3 %. Los datos espectroscópicos coinciden con los reportados en la literatura.

Caracterización:

**IR:** (film); 1788  $\text{cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama), 1745  $\text{cm}^{-1}$  (carbonilo del ácido).

**RMN  $^1\text{H}$ :** ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,56 (s, 3H, Me  $\alpha$ ); 1,65 (s, 3H, Me  $\beta$ ); 9,85 (s, 1H, COOH); 5,43 (d, 1H, J= 1Hz, 6 $\beta$  H); 4,9 (d, 1H, J=1Hz, 5 $\alpha$  H); 4,63 (s, 1H, 3-H).

**IV.2.5- Procedimiento de unión de la resina de Merrifield al ácido penicilánico modificado en posición 6**



Se suspende (1,25 g, 1 mmol) de resina de Merrifield con una sustitución de 0,8 mmoles por gramo de resina, en 10 ml de DMF y se deja 30 min. a temperatura ambiente. Luego se agregan 1,5 equivalentes del ácido penicilánico correspondiente (**82**, **85** y **86**) junto con 1,5 equivalentes de KF. Se calienta la mezcla a 60° C durante 24 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava el compuesto con: MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$ , EtOH,  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío para obtener las penicilinas **90**, **91** y **92** unidas a la resina de Merrifield.

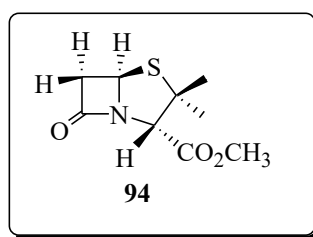
#### IV.2.6-Procedimiento de la separación de derivados de penicilinas de la resina de Merrifield usando $\text{AlCl}_3$

Se suspenden los compuestos unidos a la resina de Merrifield en  $\text{C}_2\text{H}_2$  durante media hora a temperatura ambiente luego se agregan gota a gota 4 eq. de  $\text{AlCl}_3$  disueltos en  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  anhidro, se deja agitando a  $0^\circ\text{C}$  durante 1 hora. Se filtra a presión reducida con embudo sinterizado, se lava con  $\text{AcOEt}$  (5 X 3 ml) y se trasvasa a una ampolla de separación. Se agrega  $\text{HCl}$  0,5 M y se realizan 2 lavados sobre la fase orgánica (2 X 4ml). Luego se hacen 2 extracciones de la fase acuosa con  $\text{AcOEt}$  (2 X 5ml) se juntan las fases orgánicas, se secan con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtra y evapora el solvente a presión reducida.

Los ácidos así obtenidos se disuelven en  $\text{C}_2\text{H}_2$  se enfría la solución a  $0^\circ\text{C}$ , luego se agrega una pequeña porción de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  manteniendo la solución en baño de hielo, pasada media hora se destruye el exceso de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  con unas gotas de ácido acético glacial y se evapora el  $\text{C}_2\text{H}_2$  en rotavapor para dar los ésteres metílicos correspondientes.

#### IV.2.7-Reducción del ácido 6,6-dibromopenicilánico y del ácido $6\alpha$ -bromopenicilánico unido a la resina de Merrifield.

#### IV.2.8-Intentos de obtención del 6,6-dihidro-2-dimetilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (94)



Se suspende el ácido 6,6-dibromopenicilánico unido a la resina de Merrifield (90) en una mezcla de  $\text{C}_2\text{H}_2:\text{MeOH}$  (1:1) durante 30 minutos, transcurrido ese tiempo, agregamos 1 equivalente de  $\text{PBU}_3$  y calentamos durante 4 horas a  $40^\circ\text{C}$ . Luego se filtra con embudo sinterizado y vacío, se lava el filtrado 3 veces con  $\text{MeOH}$ ,  $\text{AcOEt}$  y  $\text{C}_2\text{H}_2$ . Se seca en desecador con vacío. Se somete el compuesto obtenido a la reacción con 4 eq. de  $\text{AlCl}_3$  y se metila con diazometano, según el procedimiento antes descrito.

Caracterización:

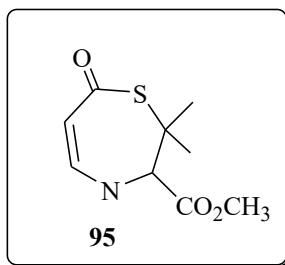
**IR:** (film) 1618  $\text{cm}^{-1}$  (carbonilo), 1739  $\text{cm}^{-1}$  (éster)

**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,53 (s, 3H, Me); 1,42 (s, 3H, Me); 3,82 (s, 3H, Me ester); 4,46 (d, 1H), 5,13 (dd, 1H); 6,61 (dd, 1-H).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  25,42, 27,21, 47,40, 52,67, 68,96, 101,7, 141,4, 169,7, 190,4.

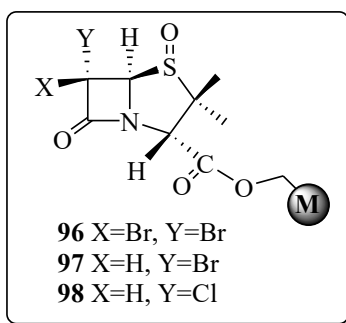
**MS (EI)  $m/z$  (%):** 215(26), 187(44), 141(58), 109(90), 81(100), 59(70), 41(57).

Sobre la base de los datos espectroscópicos podemos corroborar que no se pudo obtener el compuesto **94**. Se propone, en base a todos los análisis realizados que el compuesto obtenido podría ser **95**.



#### IV.2.9- Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición 2 $\beta$ -metil del núcleo penam

#### IV.2.10- Obtención de los sulfóxidos unidos a resina de Merrifield **96**, **97** y **98**



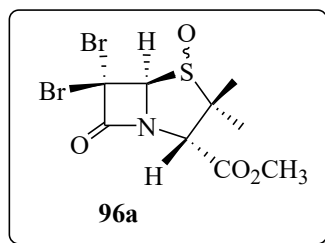
Se toma 1 gramo de 6,6-dibromopenicilanato unido a la resina de Merrifield (**90**), se suspende en 10 ml de  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ , se agita a temp. amb. durante 30 minutos, se agrega 1,5

equivalentes de *m*-CPBA disueltos en  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ , dejándose a  $0^\circ\text{C}$  durante 4 horas. Pasado este tiempo se deja en el freezer durante 12 horas. Luego se filtra en embudo sinterizado con vacío, se lava con: MeOH, AcOEt,  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ , (3 veces cada uno) y se seca en desecador con vacío. Se obtiene de esta manera el 6,6-dibromopenicilanato sulfóxido unido a la resina de Merrifield (**96**). Utilizando un procedimiento similar se obtienen los sulfóxidos unidos a la resina de Merrifield **97** y **98**.

#### IV.2.11-Obtención de los ésteres metílicos de los sulfóxidos **96**, **97** y **98**

Para determinar la obtención de los respectivos sulfóxidos se los trató con 4 eq. de  $\text{AlCl}_3$  y se esterificó con diazometano de acuerdo al procedimiento ya descrito, para dar los ésteres metílicos de los sulfóxidos: **96a**, **97a** y **98a**.

##### IV.2.11a- 6,6-dibromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (**96a**)



##### Caracterización:

**IR** (film):  $1789\text{ cm}^{-1}$  (carbonilo),  $1747\text{ cm}^{-1}$  (éster),  $1058\text{ cm}^{-1}$  (sulfóxido).

##### Para el $\beta$ -sulfóxido:

**RMN  $^1\text{H}$** :  $\delta$  1,71 (s, 3H, Me- $\beta$ ); 1,26 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,85 (s, 3H, Me éster); 4,73 (s, 1H, 3-H); 5,22 (s, 1H, 5-H).

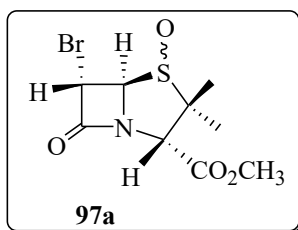
**RMN  $^{13}\text{C}$** :  $\delta$  18,1; 19,5; 43,8; 65,5; 74,7; 83,6; 165,8; 165,9.

##### Para el $\alpha$ -sulfóxido:

**RMN  $^1\text{H}$** :  $\delta$  1,62 (s, 3H, Me- $\beta$ ); 1,43 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 4,58 (s, 1H, 3-H); 5,29 (s, 1H, 5-H).

**RMN  $^{13}\text{C}$** :  $\delta$  16,6; 24,5; 11,7; 65,9; 72,7; 91,1; 162,8; 164,8.

**IV.2.11b- 6 $\alpha$ -bromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (97a)**



Caracterización:

**IR (film):** 1789  $\text{cm}^{-1}$  (carbonilo), 1747  $\text{cm}^{-1}$  (éster) 1058  $\text{cm}^{-1}$  (sulfóxido).

Para el  $\beta$ -sulfóxido:

**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,54 (s, 3H, Me- $\beta$ ); 1,36 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,82 (s, 3H, Me éster); 4,46 (s, 1H, 3-H); 5,14 (s, 1H, 5-H); 5,43 (d, 1H, J= 1Hz, 6 $\beta$  H).

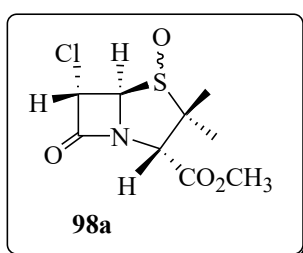
**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  17,8; 19,4; 38,6; 65,1; 73,2; 79,1; 165,7; 166,0.

Para el  $\alpha$ -sulfóxido:

**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,53 (s, 3H, Me- $\beta$ ); 1,41 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 4,51 (s, 1H, 3-H); 5,13 (s, 1H, 5-H); 5,41 (d, 1H, J= 1Hz, 6 $\beta$  H).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  15,7; 23,8; 41,9; 64,9; 71,3; 82,5; 164,5; 165.

**IV.2.11c- 6 $\alpha$ -cloro-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (98a)**



Caracterización:

**IR (film):** 1790  $\text{cm}^{-1}$  (carbonilo), 1748  $\text{cm}^{-1}$  (éster), 1055  $\text{cm}^{-1}$  (sulfóxido).

Para el  $\beta$ -sulfóxido

**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,67 (s, 3H, Me- $\beta$ ); 1,26 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,83 (s, 3H, Me éster); 4,56 (s, 1H, 3-H); 5,09 (s, 1H, 5-H); 5,40 (d, 1H, J= 1Hz, 6 $\beta$  H).

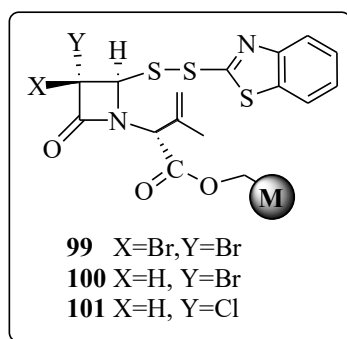
**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  17,5; 19,0; 53,2; 64,6; 72,8; 78,8; 165,1; 165,8.

Para el  $\alpha$ -sulfóxido:

**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,52 (s, 3H, Me- $\beta$ ); 1,42 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 4,52 (s, 1H, 3-H); 5,10 (s, 1H, 5-H); 4,80 (d, 1H,  $J = 1\text{Hz}$ , 6 $\beta$  H).

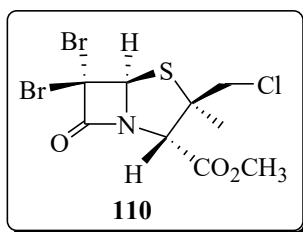
**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  15,8; 23,9; 56,6; 64,9; 65,4; 69,8; 165,5; 166,1.

#### IV.2.12-Obtención de los disulfuros **99**, **100** y **101** unidos a la resina de Merrifield



El sulfóxido 6,6-dibromopenicilanato unido a la resina de Merrifield (**96**), se suspende en 10 ml de benceno, se agita a temp. amb. durante 30 min. Luego se agregan 1,5 equivalentes de 2-MBT y se calienta a reflujo durante 12 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt,  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ , (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío. Se obtiene de esta manera el disulfuro 6,6-dibromopenicilanato unido a la resina de Merrifield (**99**). Utilizando un procedimiento similar se obtienen los disulfuros unidos a la resina de Merrifield **100** y **101** a partir de los sulfóxidos unidos a la resina de Merrifield **97** y **98**.

#### IV.2.13-Obtención del 6,6-dibromo-2β-(clorometil)-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (110)



Se suspenden (0,466 g del disulfuro 0,294 mmoles) de **99** en 6 ml  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  a temperatura ambiente durante 30 minutos, se agrega una punta de espátula de tamices moleculares, se coloca la reacción a  $-40^\circ\text{C}$ , con una mezcla de nitrógeno líquido y aceto nitrilo. Se adicionan 1,2 equivalentes de  $\text{Cl}_2\text{SO}_2$  se agita y se mantiene esa temperatura durante 1 hora. Al término de este tiempo se agrega  $\text{NaHCO}_3$  al 5%, luego se filtra con embudo sinterizado con conexión de vacío, se lava con MeOH, AcOEt,  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  (3 veces cada uno), y por último se seca en desecador con vacío, para obtener el 6,6-dibromo-2β-clorometilpenicilánico unido a la resina de Merrifield.

Se somete dicho compuesto a la reacción del  $\text{AlCl}_3$  como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 52,71 mg del éster metílico **110** luego de purificarlo por columna cromatográfica, con un rendimiento del 49% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización: Sólido cristalino blanco PF=  $135^\circ\text{C}$ .

**IR:** (KBr);  $1780\text{ cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama),  $1752\text{ cm}^{-1}$  (éster).

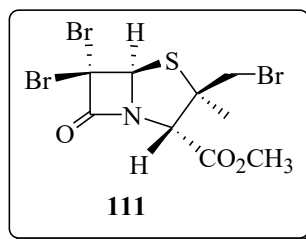
**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,54 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,61 (d, 1H, AB sistema,  $J=12\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 3,63 (d, 1H, AB sistem,  $J=12\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 3,82 (s, 3H, Me éster); 5,09 (s, 1H, 3-H); 5,85 (s, 1H, 5-H).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  21,08; 51,9; 52,61; 58,26; 64,12; 68,32; 80,03; 163,56; 166,57.

**MS (DEI)  $m/z$  (%):** 409 (26), 407 (35), 405 ( $\text{M}^+$ , 17), 295 (63), 293 (73), 291 (27), 218 (18), 172 (52), 59 (100).

**Anal. HRMS calc. para:**  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{ClNO}_3\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ,  $m/z$ ): 404,8437; encontrado: 404,8428; anal Calc. Para:  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{ClNO}_3\text{S}$ : C, 26,53; H, 2,47; N, 3,44; Br, 39,22; encontrado: C, 26,63; H, 2,40; N, 3,35; Br, 39,36.

#### IV.2.14-Obtención del 6,6-dibromo-2β-(bromometil) 2α-metilpenam 3α-carboxilato de metilo (111)



Se suspenden (0,330 g del 0,208 mmoles) del disulfuro **99** en 5 ml de  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  a temperatura ambiente durante 30 minutos y se agrega 1,2 equivalentes de acetamida y 1,2 equivalentes de  $\text{Br}_2$  en baño de hielo, luego se saca el baño y se agita por 3 horas a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt,  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ , (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío para obtener 359 mg de 6,6-dibromo-2β-bromometilpenicilánico unido a la resina de Merrifield.

Se somete dicho compuesto a la reacción del  $\text{AlCl}_3$  como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 40,9 mg del éster metílico **111** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 51% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

##### Caracterización:

**IR:** (film);  $1790\text{ cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama),  $1760\text{ cm}^{-1}$  (éster).

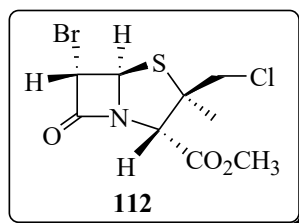
**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,57 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,57 (d, 1H, sistema AB,  $J=11\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ); 3,58 (d, 1H, sistema AB,  $J=11\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ); 3,82 (s, 3H, Me éster); 5,15 (s, 1H, 3-H); 5,87 (s, 1H, 5-H).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  22,24; 41,4; 52,61; 58,30; 64,92; 67,66; 80,23; 163,35; 166,60.

**MS (DEI)  $m/z$ (%):** 455 (15), 453 (45), 451 (41), 449 ( $\text{M}^+$ , 16), 341 (21), 339 (50), 337 (49), 335 (18), 192 (24), 172 (97), 112 (56), 59 (100).

**Anal. HRMS calc. para:**  $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{Br}_3\text{NO}_3\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ,  $m/z$ ): 448,7931; encontrado: 448,7925.

**IV.2.15-Obtención del 6 $\alpha$ -bromo-2 $\beta$ -(clorometil)-2 $\alpha$ -metilpenam-  
3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (112)**



Se suspenden (0,3202 g, 0,192 mmoles) del disulfuro **100** en 5 ml  $\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_2$  a temperatura ambiente durante 30 minutos, se agrega una punta de espátula de tamices moleculares, se coloca la reacción a  $-40^\circ\text{C}$ , con una mezcla de nitrógeno líquido y aceto nitrilo. Se adicionan 1,2 equivalentes de  $\text{C}_2\text{SO}_2$  se agita y se mantiene esa temperatura durante 1 hora. Al término de este tiempo se agrega 1,5 ml aproximadamente de  $\text{NaHCO}_3$  al 5%, luego se lava con MeOH, AcOEt,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_2$  (3 veces cada uno), y por último se seca en desecador con vacío, para obtener el 6 $\alpha$ -bromo-2 $\beta$ -clorometilpenicilánico unido a la resina de Merrifield.

Se somete dicho compuesto a la reacción del  $\text{AlCl}_3$  como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 30 mg del éster metílico **112** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 48% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

**IR:** (film);  $1790\text{ cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama),  $1752\text{ cm}^{-1}$  (éster).

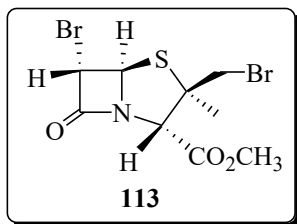
**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta=1,55$  (s,3H, Me- $\alpha$ ); 3,53 (d, 1H, sistema AB,  $J=11$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 3,62 (d, 1H, sistema AB,  $J=11$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 3,81 (s, 3H, Me éster); 4,80 (d, 1H,  $J=1,3$  Hz, 6-H); 5,08 (s, 1H, 3-H); 5,48 (d, 1H,  $J=1,3$  Hz, 5-H).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  21,06; 49,63; 52,47; 52,56; 64,43; 68,76; 70,04; 166,00; 166,85.

**MS (DEI)  $m/z$  (%):** 329 (24), 327 ( $\text{M}^+$ , 23), 217 (20), 215 (84), 213 (58), 210 (40), 208 (100), 112 (43), 59 (76)

**Anal. HRMS calc. para:**  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{BrClNO}_3\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ,  $m/z$ ): 326,9332; encontrado: 326,9344.

#### IV.2.16-Obtención del 6 $\alpha$ -bromo-2 $\beta$ -(bromometil)-2 $\alpha$ -metilpenam 3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (113)



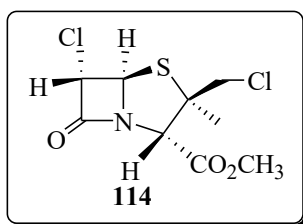
Se suspenden (0,377 g, 0,226 mmoles) del disulfuro **100** en 5 ml de  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$  a temperatura ambiente durante 30 minutos y se agrega (16,08 mg, 1,2 equivalentes) de acetamida y (0,271 ml, 1,2 equivalentes) de  $\text{Br}_2$  en baño de hielo, luego se saca el baño y se agita por 3 horas a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt,  $\text{Cl}_2\text{CH}_2$ , (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío para obtener 0,366 g de 6 $\alpha$ -bromo-2 $\beta$ -bromometilpenicilánico unido a la resina de Merrifield.

Se somete dicho compuesto a la reacción del  $\text{AlCl}_3$  como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 37,8 mg de una mezcla inseparable de los ésteres metílicos **112** y **113**, en una proporción 2:1 determinada a partir del análisis del espectro de  $^1\text{H}$  RMN del crudo de reacción.

##### Caracterización:

**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,58 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,54 (d, 1H, AB sistema,  $J=11$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ); 3,65 (d, 1H, AB sistema,  $J=11$  Hz,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ); 3,81 (s, 3H, Me éster); 4,79 (d, 1H,  $J=1,3$  Hz, 6-H); 5,14 (s, 1H, 3-H), 5,50 (d, 1H,  $J=1,3$  Hz, 5-H).

#### IV.2.17-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -(clorometil)-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (114)



Se suspenden (0,4012 g, 0,2487 mmoles) del disulfuro **101** en 6 ml  $\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_2$  a temperatura ambiente durante 30 minutos, se agrega una punta de espátula de tamices moleculares, se coloca la reacción a  $-40^\circ\text{C}$ , con una mezcla de nitrógeno líquido y aceto nitrilo. Se adicionan (0,22 ml, 1,2 equivalentes) de  $\text{Cl}_2\text{SO}_2$  se agita y se mantiene esa temperatura durante 1 hora. Al término de este tiempo se agrega 1,6 ml de  $\text{NaHCO}_3$  al 5%, luego se lava con MeOH, AcOEt,  $\text{C}_2\text{H}_2\text{Cl}_2$  (3 veces cada uno), y por último se seca en desecador con vacío, para obtener 419 mg de  $6\alpha$ -cloro- $2\beta$ -clorometilpenicilánico unido a la resina de Merrifield.

Se somete dicho compuesto a la reacción del  $\text{AlCl}_3$  como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 41 mg del éster metílico **114** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 54% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización :Sólido cristalino de color blanco de PF=  $112^\circ\text{C}$ .

**IR:** (KBr);  $1790\text{ cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama),  $1748\text{ cm}^{-1}$  (éster).

**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,55 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,48 (d, 1H, AB sistema,  $J=12\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 3,64 (d, 1H, AB sistema,  $J=12\text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ), 3,81 (s, 3H, Me éster); 4,75 (d, 1H,  $J=1,1\text{ Hz}$ , 6-H); 5,07 (s, 1H, 3-H); 5,41 (d, 1H,  $J=1,1\text{ Hz}$ , 5-H).

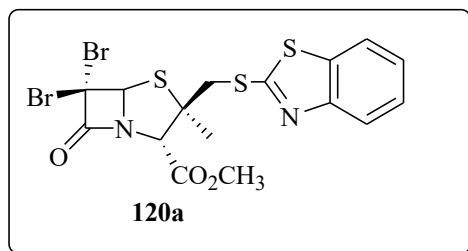
**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  21,02; 52,51; 63,78; 64,18; 68,57; 70,77; 165,47; 166,86.

**MS (DEI)  $m/z$  (%):** 285 (21), 283 ( $\text{M}^+$ , 30), 210 (36), 208 (100), 169 (70), 59 (46).

**Anal. HRMS calc. para:**  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}_3\text{S}$  ( $\text{M}^+$ ,  $m/z$ ): 282,9837; encontrado: 282,9836; anal Calc. Para  $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{NO}_3\text{S}$ : C, 38,04; H, 3,90; N, 4,93; Cl, 24,95; encontrado: C, 37,80; H, 3,89; N, 4,84; Cl, 25,15.

**IV.2.18- Procedimiento general para la obtención de Penicilinas  
2β-heterocicliltiometil sustituidas**

**IV.2.19- Obtención del 6,6-dibromo-2β-[(benzotiazol-2-  
il)tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (120a)**



Se suspende (0,4588 g, 0,289 mmoles) del sulfóxido **96** en 8,5 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min. Luego se agregan 4 equivalentes (0,193 g, 1,156 mmoles) de 2-benzotiazolitiol en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt,  $\text{CH}_2\text{CH}_2$ , (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 0,413 g (0,233 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del  $\text{AlCl}_3$  como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 20,14 mg del éster metílico **120a** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 52% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

**IR:** (film); 1789  $\text{cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama), 1748  $\text{cm}^{-1}$  (éster).

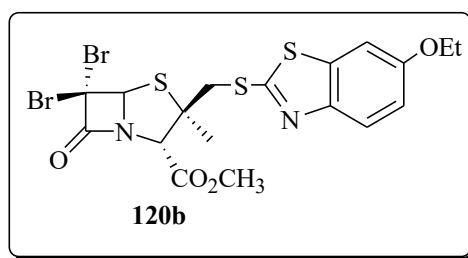
**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,54 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,74 (d, 1H, AB sistema,  $J=14$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S-Het}$ ); 3,80 (s, 3H, Me éster); 4,01 (d, 1H, AB sistema,  $J=14$  Hz,  $\text{CH}_2\text{S-Het}$ ); 4,91 (s, 1H, 6-H); 5,05 (s, 1H, 3-H); 5,36 (s, 1H, 5-H); 7,26-7,43 (m, 2H, Ar); 7,75 (d, 1H,  $J=9$  Hz, Ar); 7,89 (d, 1H,  $J=9$  Hz, Ar).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  22,82; 29,86; 45,83; 52,85; 58,93; 67,04; 69,76; 121,23; 122,01; 124,82; 126,40; 135,84; 152,86; 163,75; 165,08; 166,92.

**MS (DCI/ $\text{NH}_3$ )  $m/z$  (%):** 541 (57), 539 (100), 537 ( $\text{MH}^+$ , 45), 461 (11), 459  $z$  (%): 541 (57), 539 (100), 537 ( $\text{MH}^+$ , 45), 461 (11), 459 (10,5), 168 (30,2).

**Anal. HRMS calc. para:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_3\text{S}_3$  ( $\text{MH}^+$ ,  $m/z$ ): 536,8612; encontrado: 536,8591.

IV.2.20-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[[6-etoxi-benzotiazol-2-il]tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (**120b**)



Se suspende (0,2063 g, 0,130 mmoles) del sulfóxido **96** en 5 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min, luego se agregan 4 equivalentes (0,107 g, 0,52 mmoles) de 6-etoxi-2-benzotiazol-2-iltio en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 0,217 g (0,121 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 30,36 mg del éster metílico **120b**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 44% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

**IR:** (film); 1798 cm<sup>-1</sup> (β-lactama), 1748 cm<sup>-1</sup> (éster)

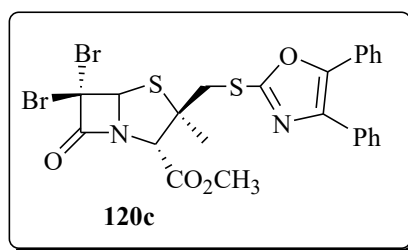
**RMN <sup>1</sup>H:** δ 1,43 (t, 3H, J=7 Hz, Me); 1,54 (s, 3H, Me-α ); 3,70 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,80 (s, 3H, Me éster); 3,96 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 4,06 (q, 2H, J=7 Hz, CH<sub>2</sub>); 4,97 (s, 1H, 3-H); 5,83 (s, 1H, 5-H); 6,95- 7,21 (m, 2H, Ar); 7,77 (d, 1H, J=9 Hz, Ar).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ 14,42; 22,28; 45,62; 52,27; 63,81; 66,41; 69,24; 80,11; 104,53; 115,17; 121,94; 136,65; 146,86; 156,60; 161,06; 163,18; 166,40.

**MS (FAB) *m/z* (%):** 585 (30,6), 583 (68,4), 581 (MH<sup>+</sup>, 26), 543 (13), 518 (11), 212 (97,5), 211 (100), 147 (99,6)

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub> (MH<sup>+</sup>, *m/z*): 580,8874; encontrado: 580,8894.

IV.2.21-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[(4,5-difenil-oxazol-2-il)tio]metil}-2α-metilpe na m-3α-carboxilato (120c)



Se suspende (1,625 g, 1,026 mmoles) del sulfóxido **96** en 15 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min. luego se agregan 4 equivalentes (1,03 g, 4,104 mmoles) de 4,5-difenil-2-oxazoliol en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 1,995 g (1,08 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 130,7 mg del éster metílico **120c**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 48% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

**IR:** (film); 1798 cm<sup>-1</sup> (β-lactama), 1747 cm<sup>-1</sup> (éster)

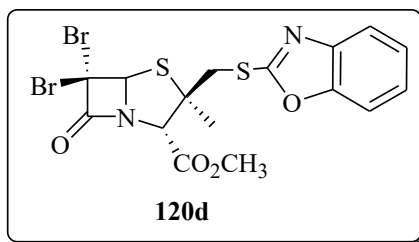
**RMN <sup>1</sup>H:** δ 1,58 (s, 3H, Me-α); 3,70 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,74 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,80 (s, 3H, Me éster); 4,95 (s, 1H, 3-H); 5,83 (s, 1H, 5-H); 7,33-7,66 (m, 10H, Ar).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ 22,40; 45,70; 52,50; 58,48; 66,64; 69,29; 80,36; 126,36; 127,78; 128,26; 128,32; 128,45; 131,73; 136,38; 147,71; 157,44 ; 163,75 ; 166,56.

**MS (FAB) *m/z* (%):** 627 (20,8) ; 625 (48,5) ; 623 (MH<sup>+</sup>, 22,8) ; 307 (20), 289 (15) ; 254 (52,4) ; 154 (100, matrix)

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>24</sub>H<sub>21</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (MH<sup>+</sup>, *m/z*): 622,9309; encontrado: 622,9300.

#### IV.2.22-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[(benzoxazol-2-il)tio]}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (120d)



Se suspende (1,12 g, 0,70 mmoles) del sulfóxido **96** en 10 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min. Luego se agregan 4 equivalentes (0,64 g, 4,30 mmoles) de benzoxazoliol en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 1,100 g (0,642 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 159 mg del éster metílico **120d**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 49% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

##### Caracterización:

**IR** (film) 1798 cm<sup>-1</sup> (β-lactama), 1748 cm<sup>-1</sup> (éster).

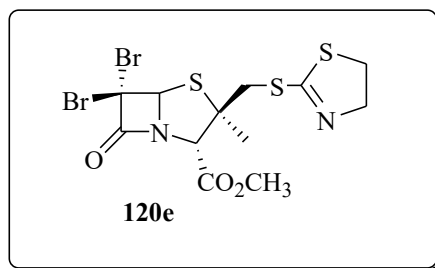
**RMN <sup>1</sup>H:** δ 1,56 (s, 3H, Me-α ); 3,74 (d, 1H, AB sistema, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,88 (s, 3H, Me éster); 3,93 (d, 1H, AB sistema, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 4,91 (s, 1H, 3-H); 5,85 (s, 1H, 5-H); 7,26-7,30 (m, 2H, Ar); 7,44-7,58 (d, 2H, J=9 Hz, Ar).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ 22,27; 45,20; 52,63; 58,49; 66,80; 69,21; 80,46; 109,98; 118,54; 124,20; 124,43; 141,44; 152,03; 163,36; 163,66; 166,47.

**MS (FAB) *m/z* (%):** 585 (30,6); 583 (68,4); 581 (MH<sup>+</sup>, 26); 543 (13); 518 (11); 212 (97,5); 211 (100); 147 (99,6).

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub> (MH<sup>+</sup>, *m/z*): 580,8874; encontrado: 580,8894.

**IV.2.23-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[(4,5-dihidro-tiazol-2-il)tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (120e)**



Se suspenden (0,650 g, 0,406 mmoles) del sulfóxido **96** en 7 ml de tolueno anhidro, se deja agitando durante media hora a temperatura ambiente, luego se agregan cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y 4 equivalentes (0,184g, 1,625 mmoles) de tiazolol, se calienta a 95°C y se agita durante 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,203g, 0,120 mmoles).

Se suspende (0,203 g) en 7 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. a temperatura ambiente, se filtra y se lava con DCM (·3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 92,6 mg del éster metílico **120e**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 48 % basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

**IR (film):** 1785 cm<sup>-1</sup>(β-lactama), 1740 cm<sup>-1</sup>(éster).

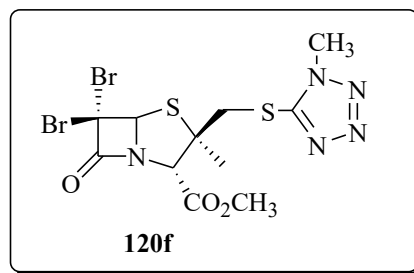
**RMN <sup>1</sup>H:** δ 1,49 (s, 3H, Me-α); 3,42 (t, 1H, CH<sub>2</sub>); 3,47 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,74 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,80 (s, 3H, Me éster); 4,18 (t, 1H, CH<sub>2</sub>); 4,84 (s, 1H, 3-H); 5,81 (s, 1H, 5-H).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ 22,31; 35,93; 44,75; 52,55; 58,61; 63,57; 66,56; 69,19; 80,26; 163,41; 164,19; 166,67.

**MS (DCI/NH<sub>3</sub>) m/z (%):** 493 (58); 491 (100); 489 (MH<sup>+</sup>, 43,6); 413 (4,2); 411 (5); 120 (7,2).

**HRMS (DCI/NH<sub>3</sub>) m/z calc. para C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>3</sub> (MH<sup>+</sup>):** 488,8612; encontrado: 488,8627.

V.2.24-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (120f)



Se suspenden (0,850g, 0,530 mmoles) del sulfóxido **96** en 9 ml de tolueno anhidro, se deja agitando durante media hora a temperatura ambiente, luego se agregan cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y 4 equivalentes (0,2462g, 2,12 mmoles) de 1-metil-tetrazolol, se calienta a 95°C y se agita durante 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,927g, 0,564 mmoles).

Se suspende (0,927 g) en 7 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. a temperatura ambiente, se filtra y se lava con DCM (·3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 139 mg del éster metílico **120f**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 55 % basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

PF= 168°C.

IR (KBr) 1780 cm<sup>-1</sup> (β-lactama), 1740 cm<sup>-1</sup> (éster).

RMN <sup>1</sup>H: δ 1,55 (s, 3H, Me-α); 3,73 (d, 1H, sistema AB, J=14Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,82 (s, 3H, Me éster); 3,94 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,95 (s, 3H, Me); 4,85 (s, 1H,3-H); 5,85 (s, 1H, 5-H).

RMN <sup>13</sup>C: δ 22,58; 33,45; 46,15; 52,71; 58,05; 66,71; 69,36; 80,32; 153,38; 163,67; 166,27.

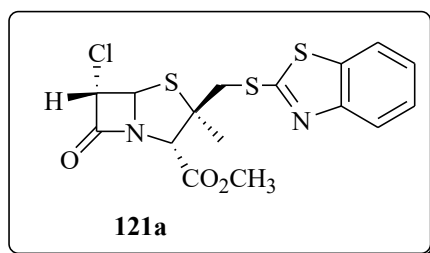
MS (DCI/NH<sub>3</sub>) *m/z* (%): 490 (20); 488 (34); 486 (MH<sup>+</sup>,14); 459 (22); 410 (27); 408 (25); 294 (35,5); 292 (38,6); 214 (70); 117 (100).

Anal. HRMS calc. para: C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>

(MH<sup>+</sup>, *m/z*): 485,8905; encontrado: 485,8904.

**Anal. calc. para:** C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub>: C, 27,12; H, 2,69; N,14,37; Br, 32,80; encontrado: C, 27,62; H, 2,71; N, 14,08; Br, 32,84.

**IV.2.25-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-  
2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (121a)**



Se suspende (0,526 g, 0,354 mmoles) del sulfóxido **98** en 7 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min. luego se agregan 4 equivalentes (234 mg 1,42 mmoles) de 2-benzotiazol-2-iltio en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 0,5374 g (0,3878 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 55,7 mg del éster metílico **121a**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 36% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

**IR:** (film); 1790 cm<sup>-1</sup> ( $\beta$ -lactama), 1748 cm<sup>-1</sup> (éster).

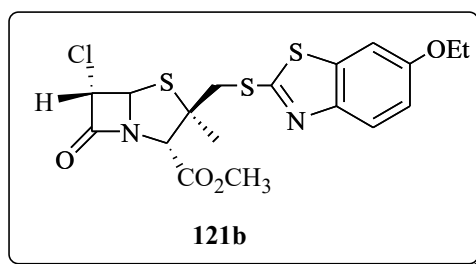
**RMN <sup>1</sup>H:**  $\delta$  1,56 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,66 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,81 (s, 3H, Me éster); 4,05 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>SHet); 4,91 (s, 1H, 3-H); 5,05 (d, 1H, J=1,4 Hz, 6-H); 5,36 (d, 1H, J=1,4 Hz, 5-H); 7,25-7,47 (m, 2H, Ar); 7,73-7,91 (m, 2H, Ar).

**RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  21,72; 44,40; 50,92; 61,83; 65,45, 68,15; 69,42; 119,51; 119,97; 123,04; 124,69; 134,02; 150,79; 163,56; 164,34; 166,45.

**MS (DCI/NH<sub>3</sub>) *m/z* (%):** 417 (32); 415 (MH<sup>+</sup>, 88); 250 (12); 248 (16,7); 214 (16,4); 168 (100).

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>3</sub> (MH<sup>+</sup>, *m/z*): 415,0012; encontrado: 415,0020.

#### IV.2.26-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (**121b**)



Se suspende (0,620 g, 0,418 mmoles) del sulfóxido **98** en 7 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min. Luego se agregan 4 equivalentes (349 mg 1,652 mmoles) de 6-etoxi-2-benzotiazol-2-iltio en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 0,615 g (0,364 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 72,61 mg del éster metílico **121b**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 42% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

#### Caracterización:

**IR:** (film); 1790 cm<sup>-1</sup> ( $\beta$ -lactama), 1748 cm<sup>-1</sup> (éster).

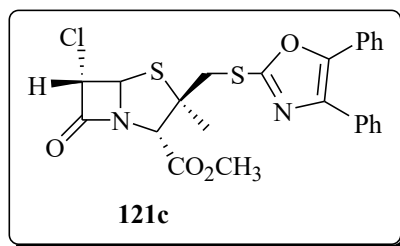
**RMN <sup>1</sup>H:**  $\delta$  1,43 (t, 3H, J=7 Hz, Me); 1,55 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,60 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,80 (s, 3H, Me éster); 3,96 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 4,06 (q, 2H, J=7 Hz, CH<sub>2</sub>); 4,90 (s, 1H, 3-H); 5,02 (d, 1H, J=1,4 Hz, 6-H); 5,35 (d, 1H, J=1,4 Hz, 5-H); 6,96-7,22 (m, 2H, Ar); 7,74 (d, 1H, J=9 Hz, Ar).

**RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  14,68; 23,22; 46,22; 52,43; 63,36; 64,10; 66,93; 69,71; 71,92; 104,97; 115,48; 121,96; 136,88; 146,88; 161,66; 165,86; 167,00.

**MS (DCI/NH<sub>3</sub>) *m/z* (%):** 461 (32,7); 459 (MH<sup>+</sup>, 52,6); 250 (13); 214 (19); 212 (100);

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>18</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>3</sub> (MH<sup>+</sup>, *m/z*): 459,0274; encontrado: 459,0270.

**IV.2.27-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il) tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (121c)**



Se suspende (0,712 g, 0,480 mmoles) del sulfóxido **98** en 8 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min. Luego se agregan 4 equivalentes (487 mg 1,92 mmoles) de 4,5-difenil-2-oxazoltioil en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 0,738 g (0,434 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 69,6 mg del éster metílico **121c**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 33% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización:

**IR:** (film); 1790 cm<sup>-1</sup> ( $\beta$ -lactama), 1747 cm<sup>-1</sup> (éster).

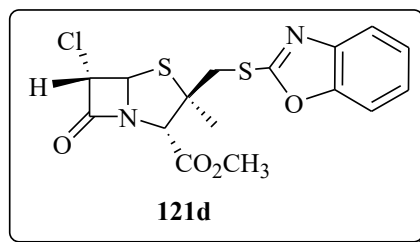
**RMN <sup>1</sup>H:**  $\delta$  1,58 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,58 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,80 (s, 3H, Me éster), 3,85 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 4,89 (s, 1H, 3-H); 4,98 (d, 1H, J=1,3 Hz, 6-H); 5,34 (d, 1H, J=1,3 Hz, 5-H); 7,25-7,55 (m, 10H, Ar).

**RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  23,08; 29,58; 48,24; 52,52; 63,17; 66,75; 69,48; 70,92; 126,36; 127,66; 127,79; 128,28; 128,57; 128,61; 131,51; 136,14; 147,66; 157,84; 166,13; 166,94.

**MS (DCI/NH<sub>3</sub>)** *m/z* (%): 503 (45); 501 (MH<sup>+</sup>, 100); 467 (5); 254 (69,3).

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (MH<sup>+</sup>, *m/z*): 501,0710; encontrado: 501,0716.

#### IV.2.28-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(benzoxazol-2-il)tio]}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (**121d**)



Se suspende (1,06 g, 1,018 mmoles) del sulfóxido **98** en 10 ml de tolueno anhidro, se agita a temp. amb. durante 30 min. Luego se agregan 4 equivalentes (0,615 g, 4,072 mmoles) de benzoxazoliol en presencia de cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y se calienta a reflujo durante 4 horas. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces). Se seca en desecador con vacío, se obtienen así 1,103 g (0,905 mmoles) del compuesto, se somete dicho compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 121,15 mg del éster metílico **121d**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 26% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

##### Caracterización:

**IR:** (film): 1790 cm<sup>-1</sup> ( $\beta$ -lactama), 1748 cm<sup>-1</sup> (éster).

**RMN <sup>1</sup>H:**  $\delta$  1,58 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,63 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 3,84 (s, 3H, Me éster); 3,89 (d, 1H, sistema AB, J=14 Hz, CH<sub>2</sub>S-Het); 4,90 (s, 1H, 3-H); 5,06 (d, 1H, J=1,3 Hz, 6H); 5,38 (d, 1H, J=1,3 Hz, 5-H); 7,26-7,62 (m, 4H, Ar).

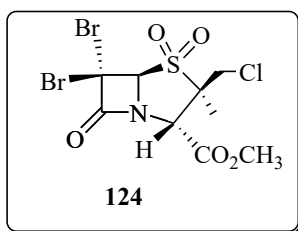
**RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  23,08; 45,82; 52,49; 63,23; 66,75; 69,33; 71,02; 109,97; 118,47; 124,22; 124,48; 141,30; 152,09; 163,50; 165,78; 166,85.

**MS (DCI/NH<sub>3</sub>) *m/z* (%):** 401 (40,7); 399 (MH<sup>+</sup>, 100); 250 (17,6); 248 (46,2); 214 (15); 172 (22); 152 (92,5).

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub> (MH<sup>+</sup>, *m/z*): 399,0240; encontrado: 399,0235.

#### IV.2.29- Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición 1 del núcleo penam

#### IV.2.30- Obtención del 6,6-dibromo-2β-(clorometil)-2α-metilpenam-1,1-dioxido-3α-carboxilato de metilo (124)



Se suspende (110 mg, 0,067 mmoles) el ácido 6,6-dibromo-2β-(clorometil)-2α-metilpenam-3α-carboxílico unido a la resina de Merrifield (**104**) en 2,5 ml de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$  a temperatura ambiente durante 30 minutos, luego se agregan 12 equivalentes de *m*CPBA (139 mg, 0,804 mmoles) disueltos en 2,5 ml de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$  y se deja agitando 96 horas a temperatura ambiente, luego se filtra con embudo sinterizado y lava con MeOH, AcOEt,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$ , (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío para obtener 113mg (0,0688 mmoles) del compuesto.

Se somete dicho compuesto a la acción de (36,68 mg, 0,275 mmoles) de  $\text{AlCl}_3$  (de acuerdo al procedimiento ya descrito), el ácido obtenido se esterifica con diazometano ( $\text{CH}_2\text{N}_2$ ), obteniéndose 14,64 mg del éster metílico **124**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 41% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización: sólido cristalino de color blanco, P:F= 173-174°C.

**IR:** (KBr); 1805  $\text{cm}^{-1}$  ( $\beta$ -lactama), 1750  $\text{cm}^{-1}$  (éster), 1343  $\text{cm}^{-1}$  (sulfona) 1143  $\text{cm}^{-1}$  (sulfona).

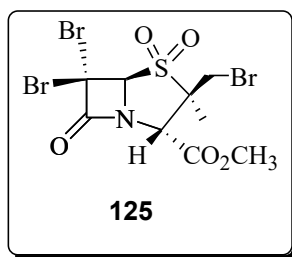
**RMN  $^1\text{H}$ :**  $\delta$  1,58 (s, 3H, Me- $\alpha$ ); 3,86 (s, 3H, Me éster); 3,88 (d, 1H, sistema AB, J=12 Hz,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 4,05 (d, 1H, sistema AB, J=12 Hz,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ); 4,77 (s, 1H, 3-H); 5,06 (s, 1H, 5-H).

**RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  15,74; 44,30; 44,91; 53,50; 60,53; 67,59; 74,99; 163,18; 166,38.

**MS (DCI/ $\text{NH}_3$ )  $m/z$  (%):** 461 (18); 459 (77); 457 (100); 455 ( $\text{MNH}_4^+$ , 42); 379 (14,8); 262 (11,7); 260 (13,4); 113 (26).

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>2</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S (MNH<sub>4</sub><sup>+</sup>, *m/z*): 454,8679; encontrado: 454,8689.

#### IV.2.31-Obtención del 6,6-dibromo-2β-(bromo metil)-2α-metilpenam-1,1-dioxido-3α-carboxilato de metilo (125)



Se suspende (449 mg, 0,271 mmoles) el ácido 6,6-dibromo-2β-(bromometil)-2α-metilpenam-3α-carboxílico unido a la resina de Merrifield (**105**) en 4 ml de Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante 30 minutos, luego se agregan 12 equivalentes de *m*CPBA (562,6 mg, 3,26 mmoles) disueltos en 6 ml de Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> y se deja agitando 96 horas a temperatura ambiente, luego se filtra con embudo sinterizado y lava con MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío para obtener 337mg (0,203 mmoles) del compuesto, dicho compuesto se somete a la acción de (0,813 mmoles, 108,4 mg) de AlCl<sub>3</sub> (de acuerdo al procedimiento ya descrito), el ácido obtenido se esterifica con diazometano (CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>), obteniéndose 14,21 mg del éster metílico **125**, luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 30% basado sobre la carga inicial de la resina de Merrifield.

Caracterización: Sólido cristalino de color blanco P:F= 191-192°C.

**IR:** (KBr); 1815 cm<sup>-1</sup> (β-lactama), 1757 cm<sup>-1</sup>(éster), 1343 cm<sup>-1</sup> (sulfona) 1143 cm<sup>-1</sup> (sulfona).

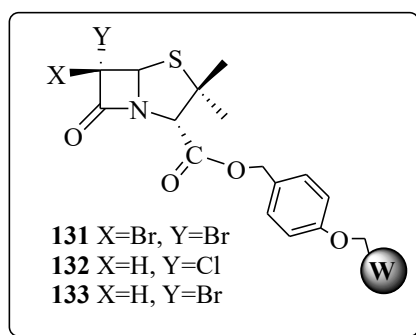
**RMN <sup>1</sup>H:** δ 1,58 (s, 3H, Me-α); 3,70 (d, 1H, sistema AB, J=11,5 Hz, CH<sub>2</sub>Br); 3,90 (d, 1H, sistema AB, J=11,5 Hz, CH<sub>2</sub>Br); 3,87 (s, 3H, Me éster); 4,85 (s, 1H, 3-H); 5,08 (s, 1H, 5-H).

**RMN <sup>13</sup>C:** δ 16,87; 31,71; 45,25; 53,48; 61,29; 67,12; 75,31; 163,13; 165,40.

**MS (DCI/NH<sub>3</sub>) *m/z* (%):** 505 (37); 503 (100); 501 (99,6); 499 (MNH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 35); 425 (11); 423 (22); 421 (12); 340 (35); 262 (42); 260 (40); 113 (73).

**Anal. HRMS calc. para:** C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>Br<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S (MNH<sub>4</sub><sup>+</sup>, *m/z*): 498,8174; encontrado: 498,8156.

#### IV.2.32- Procedimiento de inmovilización del núcleo penam modificado en posición 6, con la resina de Wang utilizando el reactivo de Mukaiyama



Se suspende (0,300 mmol, 0,312 g) de resina de Wang con una sustitución de 0,96 mmoles por gramo de resina, en 4 ml de DCM y se deja 30 min. a temperatura ambiente, se prepara en otro balón 4 eq. del ácido 6,6-dibromopenicilánico (**82**), junto con 4 eq. del reactivo de Mukaiyama y 6 eq. de Et<sub>3</sub>N y 5 ml de DCM se agrega gota a gota a la resina y se deja agitando con atmósfera de nitrógeno durante 48 horas a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava el compuesto con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío para obtener el 6,6-dibromopenicilato unido a la resina de Wang (**131**). Utilizando un procedimiento similar se obtienen los compuestos **132** y **133**.

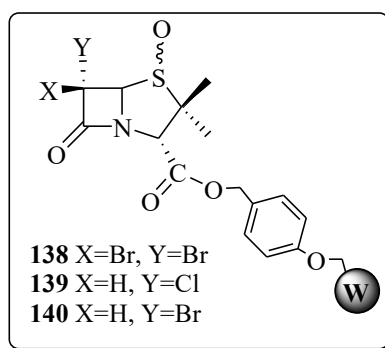
#### IV.2.33- Procedimiento de la separación de derivados de penicilinas de la resina de Wang usando TFA

Se suspenden los compuestos unidos a la resina de Wang en Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> durante media hora a temperatura ambiente luego se agregan 5 ml de TFA al 10% en DCM anhidro, se deja a T.A durante 1 hora. Pasado ese tiempo se filtra, se lava con DCM, se deja secando en desecador toda la noche. Los ácidos así obtenidos se disuelven en Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> luego se

agrega una pequeña porción de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  manteniendo la solución en baño de hielo, pasada media hora se destruye el exceso de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  con unas gotas de ácido acético glacial y se evapora el  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  en rotavapor para dar los ésteres metílicos correspondientes.

#### IV.2.34- Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición $2\beta$ -metil del núcleo penam unido a la resina de Wang

#### IV.2.35- Obtención de los sulfóxidos de 138, 139 y 140 unido a la resina de Wang



Se toma (0,300 mg, 0,835 mmol) del ácido 6,6-dibromopenicilánico **131**, unido a la resina de Wang y se suspenden en 3 ml de  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$ , se agita a temp. amb. 30 min. y se le agrega 2 equivalentes de *m*-CPBA disueltos en  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$ , dejando a  $0^\circ\text{C}$  durante 4 horas. Pasado este tiempo se deja en el freezer por 12 horas. Luego se filtra en embudo sinterizado con vacío, se lava con: MeOH, AcOEt,  $\text{C}_2\text{H}_5\text{Cl}$ , (3 veces cada uno) y se seca en desecador con vacío, obteniéndose el sulfóxido **138**. Se procede de igual forma con los ácidos unidos a la resina de Wang **132** y **133** para obtener los sulfóxidos **139** y **140** respectivamente.

#### Caracterización del ácido 6,6-dibromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxílico unido a resina de Wang (**138**)

**IR:** (KBr);  $1804\text{ cm}^{-1}$  (carbonilo),  $1742\text{ cm}^{-1}$  (éster),  $1027\text{ cm}^{-1}$  (sulfóxido).

Para el  $\beta$ -sulfóxido: **RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  17,26; 21,52; 44,82; 67,3; 72,85; 93,31; 162,7; 166,5

Para el  $\alpha$ -sulfóxido: **RMN  $^{13}\text{C}$ :**  $\delta$  14,69; 25,09; 56,6; 64,9; 65,4; 69,8; 166,5; 166.

Caracterización del ácido 6 $\alpha$ -cloro-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxílico unido a resina de Wang (139)

**IR:** (KBr); 1805 cm<sup>-1</sup> (carbonilo), 1732 cm<sup>-1</sup> (éster), 1027 cm<sup>-1</sup> (sulfóxido).

Para el  $\beta$ -sulfóxido: **RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  17,9; 19,61; 53,29; 64,75; 69,96; 73,5; 165,1; 165,8.

Para el  $\alpha$ -sulfóxido: **RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  14,06; 20,9; 56,6; 64,9; 65,4; 69,8; 165,5; 166,1.

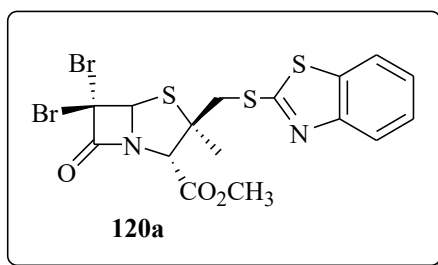
Caracterización del ácido 6 $\alpha$ -bromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxílico unido a la resina de Wang (140)

**IR** (KBr): 1804 cm<sup>-1</sup> (carbonilo), 1742 cm<sup>-1</sup> (éster), 1067 cm<sup>-1</sup> (sulfóxido)

Para el  $\beta$ -sulfóxido: **RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  17,6; 19,8; 38,2; 65,1; 73,2; 79; 165,7; 166,0.

Para el  $\alpha$ -sulfóxido: **RMN <sup>13</sup>C:**  $\delta$  15,2; 23,6; 42; 64,6; 71; 82,5; 164,5; 165.

#### IV.2.36-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (120a)



Se suspende (0,105 g, 0,051mmoles) del sulfóxido **138** con 5 ml de tolueno anhidro, dejo agitando media hora a temperatura ambiente, pasado ese tiempo agrego ácido *p*-TsOH en cantidades catalíticas, 4 equivalentes de 2-benzotiazol, (49,22 mg, 0,204 mmoles), se deja agitando a 95 °C durante 4 h. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,0872g, 0,055 mmoles).

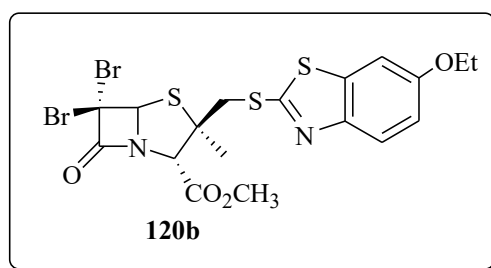
Se suspende (0,0872 g) en 4 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. a temperatura ambiente, se filtra y se lava con DCM (3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 18,34 mg

del éster metílico **120a** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 60 % basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.37-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (**120b**)**



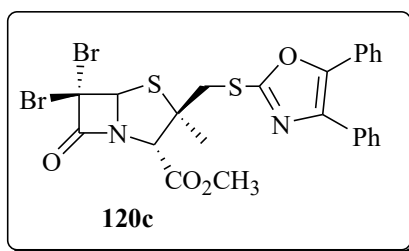
Se suspenden (0,321 g, 0,228 mmoles) del sulfóxido **138** en 7 ml de tolueno anhidro, se agita media hora a temperatura ambiente, pasado ese tiempo se agrega ácido *p*-TsOH en cantidades catalíticas, y 4 equivalentes de 6-etoxi-2-benzotiazol-2-iltio, (193,3 mg, 0,914 mmoles), se deja agitando a 95 °C durante 4 h. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,272g, 0,171 mmoles).

Se suspende los (0,272 g) en 4 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. a temperatura ambiente, se filtra y se lava con DCM (3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 46,6 mg del éster metílico **120b** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 48 % basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.38-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato (120c)**



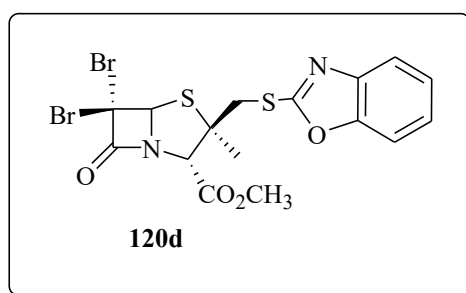
Se suspenden (0,286 g, 0,204 mmoles) del sulfóxido **138** en 5 ml de tolueno anhidro, se deja agitando durante media hora a temperatura ambiente, pasado ese tiempo se agrega 4 eq: (0,2075 g 0,816 mmoles) de 4,5-difenil-2-oxazoliol con cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH, se calienta a 95 °C y se deja agitando durante 4 h. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,269g, 0,162 mmoles).

Se suspende los (0,269 g) en 4 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. a temperatura ambiente, se filtra y se lava con DCM (·3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 79,9 mg del éster metílico **120c** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 70 % basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.39-Obtención del 6,6 dibromo-2 $\beta$ -{[(benzoxazol-2-il)tio]}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (120d)**



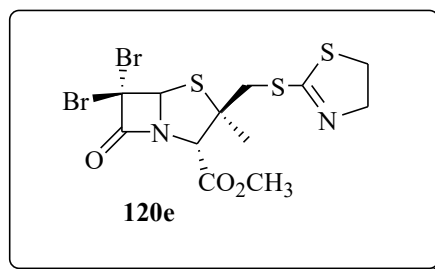
Se suspenden (0,348 g, 0,231 mmoles) del sulfóxido **138** en 7 ml de tolueno anhidro, se deja agitando durante media hora, luego se agregan cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y 4 eq. de 2-benzoxazotiol (0,140g, 0,924 mmoles), se calienta a 95°C y se deja agitando 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,261g, 0,170 mmoles).

Se suspende los (0,261 g, 0,170mmoles) en 5 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. a temperatura ambiente, se filtra y se lava con DCM (3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 93,8 mg del éster metílico **120d** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 28 % basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

#### Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

#### IV.2.40-Obtención del 6,6 dibromo-2β-{{(tiazol)tio}}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (**120e**)



Se suspenden (0,3922 g, 0,279 mmoles) del sulfóxido **138** en 7 ml de tolueno anhidro, se deja agitando durante media hora a temperatura ambiente, luego se agregan cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH y 4 equivalentes (0,133g, 1,117 mmoles) de tiazotiol, se calienta a 95°C y se agita durante 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,347g, 0,231 mmoles).

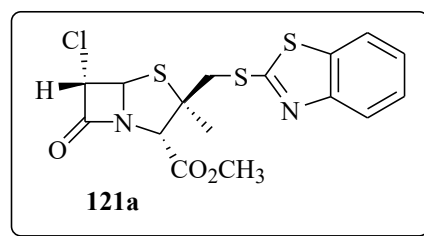
Se suspende (0,347 g) en 7 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. a temperatura ambiente, se filtra y se lava con DCM (3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 52,8 mg

del éster metílico **120e** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 48 % basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.41-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2-il)tio]metil}-  
2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (**121a**)**



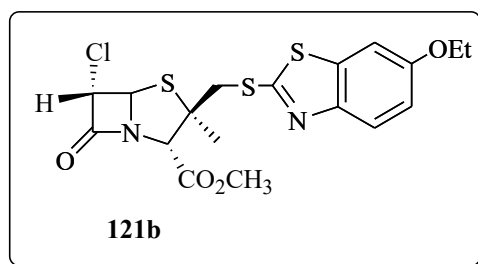
Se suspende (0,1069 g, de 0,0838 mmoles) de sulfóxido **139** en 3 ml de tolueno anhidro, se agita media hora a temperatura ambiente y se agregan 4 equivalentes de 2-benzotiazol, (56,05 mg, 0,33 mmoles) y ácido *p*-TsOH en cantidades catalíticas, se calienta a 95 °C y se deja agitando durante 4 h. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,093g, 0,067 mmoles).

Se suspende los (0,093 g) en 4 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. Se filtra y se lava con DCM (·3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 10,6 mg del éster metílico **121a** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 39% basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.42-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (121b)**



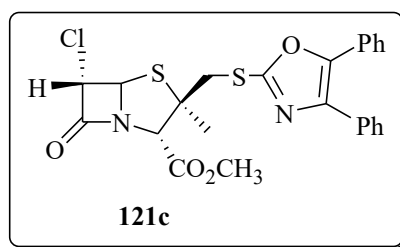
Se suspenden (0,2116 g, 0,165 mmoles) del sulfóxido **139** en 5 ml de tolueno anhidro, se deja agitando durante media hora a temperatura ambiente, pasado ese tiempo se agrega ácido *p*-TsOH en cantidades catalíticas, 4 equivalentes de 6-etoxi-2-benzotiazol-2-iltio, (140 mg, 0,66 mmoles), se deja agitando a 95 °C durante 4 h. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,128g, 0,0873 mmoles).

Se suspenden los (0,128 g) en 4 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. Se filtra y se lava con DCM (3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 17,16 mg del éster metílico **121b** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 44% basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.43-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il) tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (121c)**



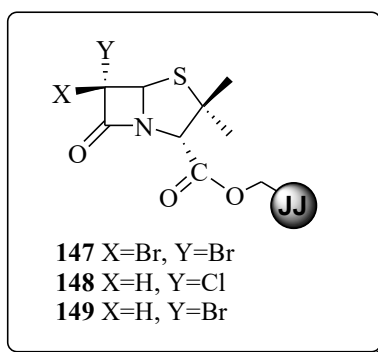
Se suspenden (0,240 g, 0,157 mmoles) del sulfóxido **139** en 5 ml de tolueno anhidro se agita a temperatura ambiente durante media hora, luego se agrega ácido *p*-TsOH en cantidades catalíticas, 4 equivalentes de 4,5-difenil-2-oxazotiol, (0,159 g, 0,629 mmoles), se deja agitando a 95 °C durante 4 h. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,204g, 0,139 mmoles).

Se suspende los (0,204 g) en 4 ml de TFA al 5% en DCM, se deja agitando durante 50 min. Se filtra y se lava con DCM (·3 veces), se evapora el solvente en rotavapor, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 33 mg del éster metílico **121c** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 46 % basado sobre la carga inicial de la resina de Wang.

#### Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

#### IV.2.44- Procedimiento de inmovilización del núcleo penam modificado en posición 6, con la resina JandaJel



Se suspenden (1,07g, 0,615 mmoles) de resina JandaJel con una sustitución de 0,575 mmoles/g en 12 ml de DMF anhidro, se agita media hora a temperatura ambiente, pasado ese tiempo se agregan 2 eq. de ácido 6,6-dibromopenicilánico (**82**), y 2 equivalentes de KF (71,34 mg), se calienta a 60 °C y se deja agitando durante 24 h. Pasado ese tiempo se filtra en embudo sinterizado con vacío y se lava el compuesto con: MeOH, H<sub>2</sub>O, EtOH, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (3 veces cada uno). Se seca en desecador con vacío para obtener el ácido **147** unido a la resina JandaJel. Utilizando el mismo procedimiento con los ácidos **85** y **86** para obtener los compuestos **148** y **149** unido a la resina JandaJel.

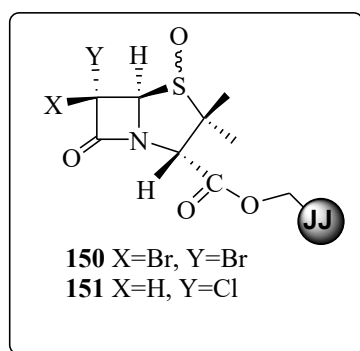
#### IV.2.45- Procedimiento de la separación de derivados de penicilinas de la resina JandaJel usando $\text{AlCl}_3$

Se suspende el compuesto unido a la resina JandaJel en  $\text{C}_2\text{H}_2$  anhidro durante media hora a temperatura ambiente luego se agrega gota a gota 4 eq. de  $\text{AlCl}_3$  disueltos en nitrometano anhidro (se recomienda muy especialmente que el  $\text{AlCl}_3$ , el  $\text{CH}_3\text{NO}_2$  y el material de vidrio utilizado se encuentren perfectamente secos), se deja a  $0^\circ\text{C}$  durante 1 hora. Se filtra aplicando vacío, se lava con  $\text{AcOEt}$  (5 X 3ml) y se trasvasa a una ampolla de separación. Se agrega  $\text{HCl}$  0,5 N y se realizan dos lavados sobre la fase orgánica. Luego se hacen dos extracciones de la fase acuosa con  $\text{AcOEt}$ , se juntan las fases orgánicas, se secan con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtra y evapora el solvente con vacío.

Los ácidos así obtenidos se disuelven en  $\text{C}_2\text{H}_2$  se enfría la solución a  $0^\circ\text{C}$ , luego se agrega una pequeña porción de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  manteniendo la solución en baño de hielo, pasada media hora se destruye el exceso de  $\text{CH}_2\text{N}_2$  con unas gotas de ácido acético glaciar y se evapora el  $\text{C}_2\text{H}_2$  en rotavapor para dar los ésteres metílicos correspondientes.

#### IV.2.46- Procedimiento general para realizar las modificaciones en la posición $2\beta$ -metil del núcleo penam unido a la resina JandaJel

#### IV.2.47- Obtención de los sulfóxidos 150 y 151



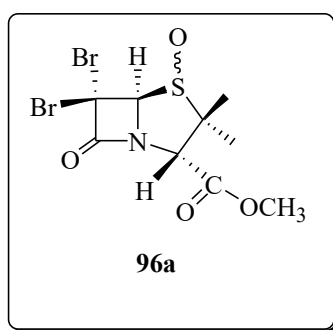
Se toma 1 gramo del ácido 6,6-dibromopenicilánico unido a la resina JandaJel (**147**), se suspende en 10 ml de  $\text{C}_2\text{H}_2$ , se agita a temp. amb. durante 30 minutos, se agrega 2 equivalente de *m*-CPBA disueltos en  $\text{C}_2\text{H}_2$ , dejándose a  $0^\circ\text{C}$  durante 4 horas.

Pasado este tiempo se deja en el freezer durante 12 horas. Luego se filtra en embudo sinterizado con vacío, se lava con: MeOH, AcOEt, Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (3 veces cada uno) y se seca en desecador con vacío obteniéndose el sulfóxido **150**. Se realiza el mismo procedimiento para el ácido unido a la resina JandaJel **148**, para obtener el sulfóxido **151**.

#### IV.2.48-Obtención de los ésteres metílicos **96a** y **98a** de los sulfóxidos **150** y **151**

Para determinar la obtención de los sulfóxidos se trataron los compuestos **150** y **151** con 4 eq. de AlCl<sub>3</sub>, y se esterificó con diazometano, de acuerdo al procedimiento ya descrito, para dar los ésteres metílicos **96a** y **98a**.

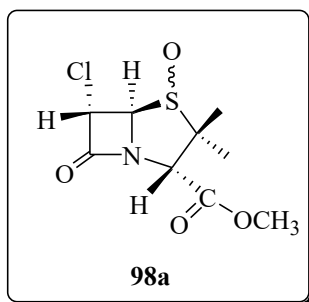
#### IV.2.49a-6,6-dibromo-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (**96a**)



#### Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

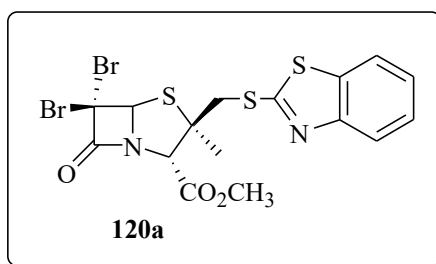
#### IV.2.49b-6 $\alpha$ -cloro-2,2-dimetilpenam-1-óxido-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (98a)



#### Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

#### IV.2.50-Obtención del 6,6-dibromo-2 $\beta$ -{[(benzotiazol-2- il)tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (120a)



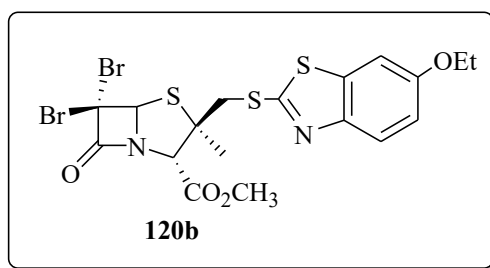
Se suspenden (0,322 g, 0,164 mmoles) del sulfóxido **150** en 7 ml de tolueno anhidro media hora a temperatura ambiente, luego agrego (0,109 g, 0,657 mmoles) de 2-benzotiazol-2-iltio, se calienta a 95°C y se deja agitando 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,335g, 0,150 mmoles).

Se toman (0,335) g del compuesto obtenido y se suspende en 6 ml de DCM media hora a temperatura ambiente, se lo hace reaccionar con AlCl<sub>3</sub> y se esterifica con diazometano, de acuerdo al procedimiento ya descrito, para dar 43,39 mg del éster metílico **120a** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 55 % basado sobre la carga inicial de la resina JandaJel.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.51-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[[6-etoxi-benzotiazol-2-il]tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (**120b**)**



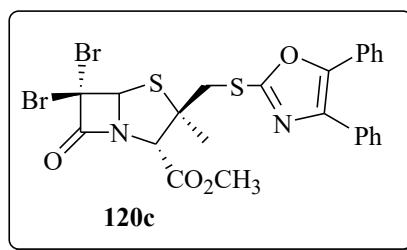
Se suspenden (0,2825 g, 0,1336 mmoles) del sulfóxido **150** en 5 ml de tolueno anhidro media hora a temperatura ambiente, luego agrego (0,1129 g, 0,5344 mmoles) de 6-etoxi-2-benzotiazolol, se calienta a 95°C y se deja agitando 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,291g, 0,180 mmoles).

Se toman (0,291 g) del compuesto obtenido y se suspende en 5 ml de DCM media hora a temperatura ambiente, se lo hace reaccionar con  $\text{AlCl}_3$  y se metila con diazometano, según al procedimiento ya descrito, para dar 35mg del éster metílico **120b** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 48% basado sobre la carga inicial de la resina JandaJel.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.52-Obtención del 6,6-dibromo-2β-[(4,5-difenil-oxazol-2-il)tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato (120c)**



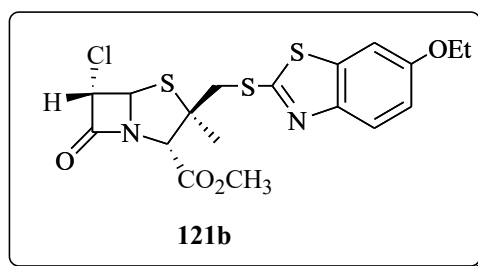
Se suspenden (0,1886 g, 0,089 mmoles) del sulfóxido **150** en 5 ml de tolueno anhidro media hora a temperatura ambiente, luego agrego (0,0943 g, 0,356 mmoles) de 4,5-difenil-2-oxazotiol, se calienta a 95°C y se deja agitando 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,204g, 0,088 mmoles).

Se toman los 0,204 g del compuesto obtenido y se suspenden en 5 ml de DCM media hora a temperatura ambiente, se lo hace reaccionar con AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 10,7 mg del éster metílico **120c** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 20 % basado sobre la carga inicial de la resina JandaJel.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

**IV.2.53-Obtención del 6α-cloro-2β-[(6-etoxi-benzotiazol-2-il)tio]metil}-2α-metilpenam-3α-carboxilato de metilo (121b)**



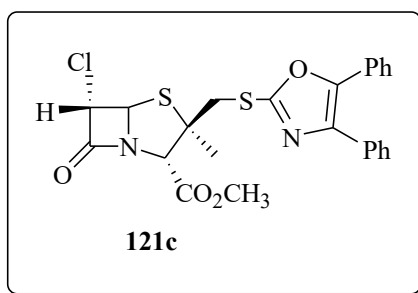
Se suspenden (0,257 g, 0,140 mmoles) del sulfóxido **151** en 6 ml tolueno anhidro media hora a temperatura ambiente, luego agrego 4 equivalentes (87,9 g, 0,416 mmoles) de 6-etoxi-2-benzotiazolol y cantidades catalíticas de ácido *p*-TsOH, se calienta a 95 °C y se deja agitando durante 4 h. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,202g, 0,092 mmoles).

Se someten los 0,202 g del compuesto a la reacción del AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección y se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 8,27 mg del éster metílico **121b** luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 10 % basado sobre la carga inicial de la resina JandaJel.

#### Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis

#### IV.2.54-Obtención del 6 $\alpha$ -cloro-2 $\beta$ -{[(4,5-difenil-oxazol-2-il) tio]metil}-2 $\alpha$ -metilpenam-3 $\alpha$ -carboxilato de metilo (**121c**)



Se suspenden (0,196 g, 0,100 mmoles) del sulfóxido **151** en 5 ml tolueno anhidro media hora a temperatura ambiente, luego agrego (0,1014 g, 0,40 mmoles) de 4,5-difenil-2-oxazolol se calienta a 95°C y se deja agitando 4 horas. Pasado este tiempo se filtra en embudo sinterizado se lava con MeOH, AcOEt y DCM 3 veces, se deja secando toda la noche en desecador y se obtienen (0,235g, 0,107 mmoles).

Se toman (0,235 g) del compuesto obtenido y se suspende en DCM media hora a temperatura ambiente, se lo hace reaccionar con AlCl<sub>3</sub> como se explica en esta sección, se metila el ácido así obtenido con diazometano para dar 11,27 mg del éster metílico **121c**

luego de la purificación por columna cromatográfica, con un rendimiento del 21 % basado sobre la carga inicial de la resina JandaJel.

Caracterización:

Coinciden con los reportados previamente en esta tesis.

# Capítulo V

## RESUMEN Y CONCLUSIONES

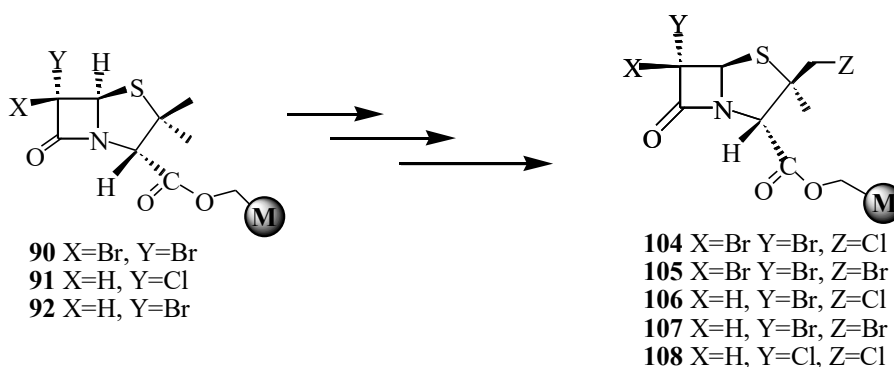
A lo largo de este trabajo se ha mencionado la importancia que la química combinatoria ha tenido en el desarrollo de la industria farmacéutica en las últimas décadas. Además se debe tener en cuenta que la síntesis en fase sólida de moléculas pequeñas es la técnica de elección para el desarrollo de dicha disciplina.

La importancia clínica de los compuestos  $\beta$ -lactámicos es inobjetable ya que su estructura se encuentra presente en una gran cantidad de antibióticos e inhibidores de  $\beta$ -lactamasas, ampliamente distribuidos en el mercado farmacéutico.

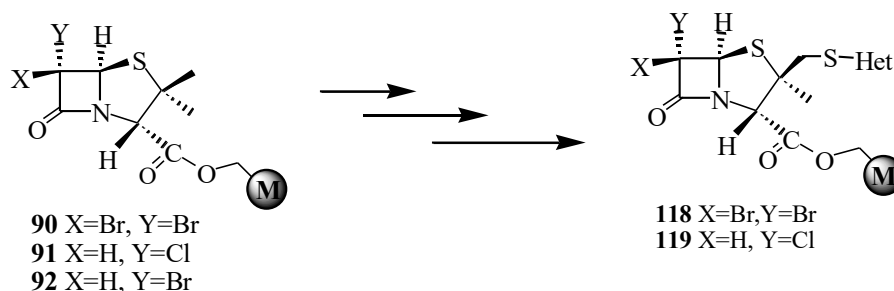
En este trabajo de tesis se describe el desarrollo de las modificaciones realizadas en distintas posiciones del ácido penicilánico unido a diferentes resinas comerciales, en función de obtener una biblioteca de derivados  $\beta$ -lactámicos con posible actividad biológica. El trabajo se inició con grandes expectativas debido a que poco se había realizado en síntesis en fase sólida de este tipo de compuestos hasta ese momento.

El primer objetivo fue desarrollar derivados modificados en las posiciones 6, 1 y  $2\beta$ -metil del núcleo penam. Para este fin se utilizaron resinas con características marcadamente diferentes, ajustando las condiciones de síntesis para obtener la mayor diversidad de compuestos y efectuar la comparación de los rendimientos obtenidos en cada una de ellas.

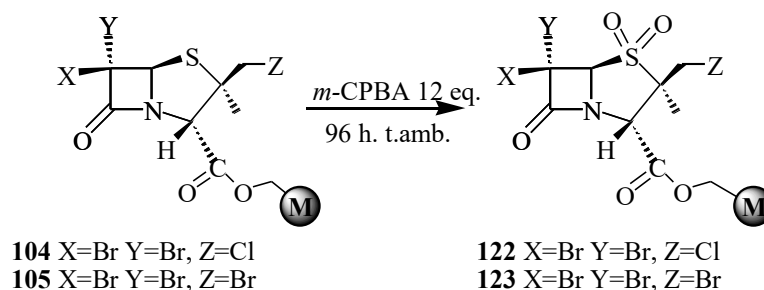
De esta manera se puso a punto una técnica para obtener penicilinas halometil sustituidas en la posición  $2\beta$ -metil del núcleo penam. Las primeras experiencias se llevaron a cabo con la resina de Wang adaptando luego esta metodología para el empleo de la resina de Merrifield obteniendo buenos resultados en la síntesis de los compuestos deseados.



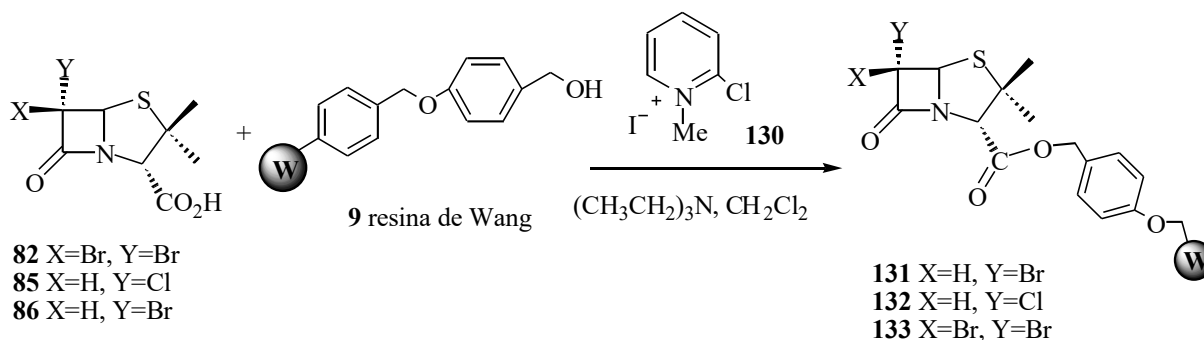
La reacción de distintos heterociclioles con el ácido penicilánico unido a la resina de Merrifield resultó satisfactoria y se lograron obtener diez compuestos distintos con rendimientos de buenos a muy buenos para el total de la secuencia sintética.

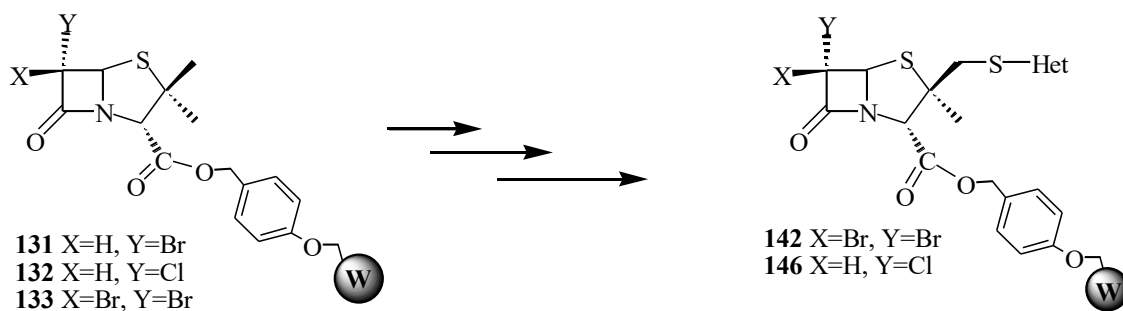


Se llevó a cabo la oxidación del azufre de posición 1 a la correspondiente sulfona con buenos rendimientos sobre penicilinas 2 $\beta$ -halometil sustituidas soportadas en resina de Merrifield. En cambio no se logró oxidar dicho azufre en el caso de los 2 $\beta$ -heterocicliometil derivados.

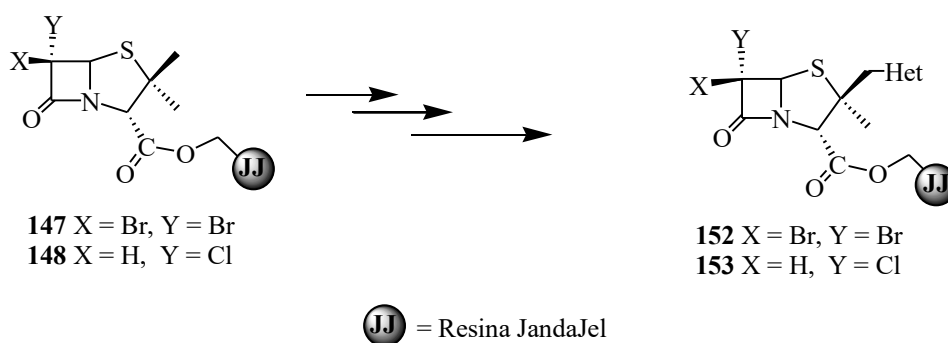


Se logró poner a punto una metodología de unión de los compuestos  $\beta$ -lactámicos a la resina de Wang utilizando el reactivo de Mukaiyama, con excelentes resultados. Los compuestos generados por modificación del núcleo penam unido a esta resina se identificaron por RMN de  $^{13}\text{C}$  en fase gel. En este caso cabe destacar el beneficio de reducir el tiempo que insume la identificación de los compuestos sintetizados, dado que no es necesario desprenderlo de la resina para su posterior evaluación. Utilizando la resina de Wang se pudo elaborar una biblioteca de derivados  $\beta$ -lactámicos modificados con rendimientos, en algunos casos, mayores a los logrados con la resina de Merrifield.





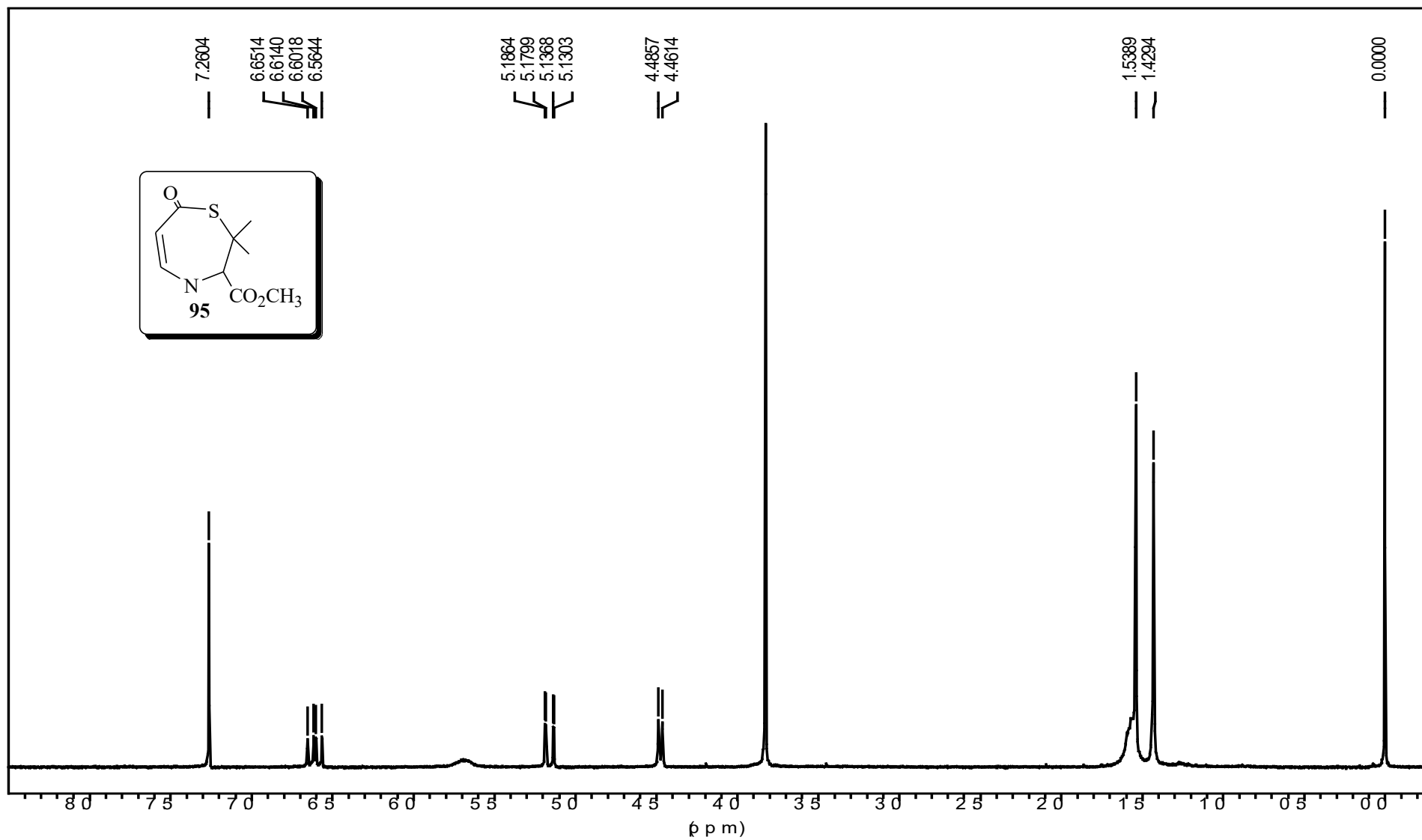
Por último se utilizó como soporte sólido la resina JandaJel, alternativa interesante ya que aumenta al doble su capacidad de “hinchado” respecto a las resinas comunes. Sin embargo, la síntesis en fase sólida de penicilinas 2 $\beta$ -heterocicliometil sustituidas utilizando esta resina no produjo mejores rendimientos que aquellos con la resinas de Merrifield y Wang, a pesar de las expectativas planteadas por las características anteriormente descritas de esta resina.

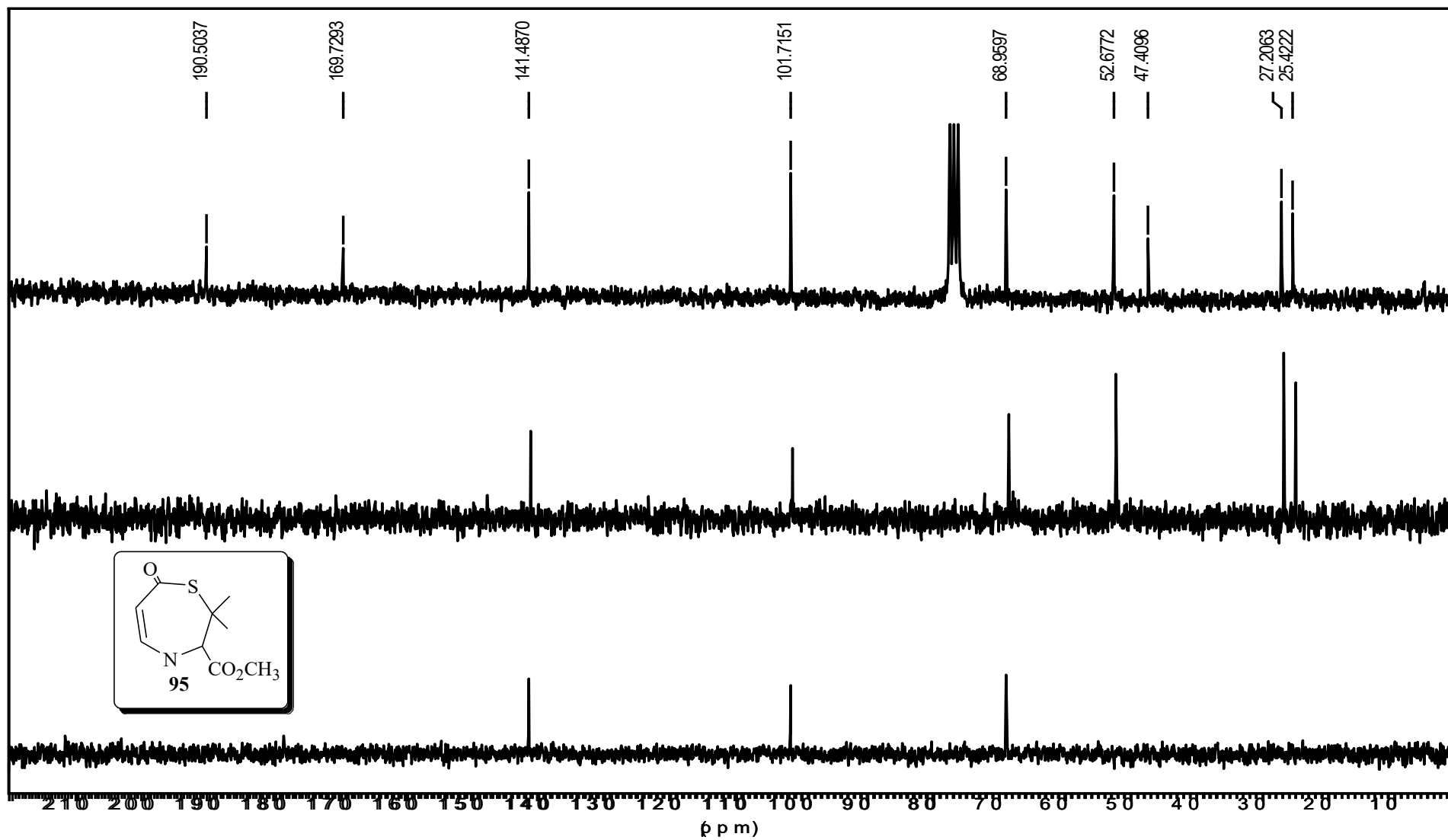


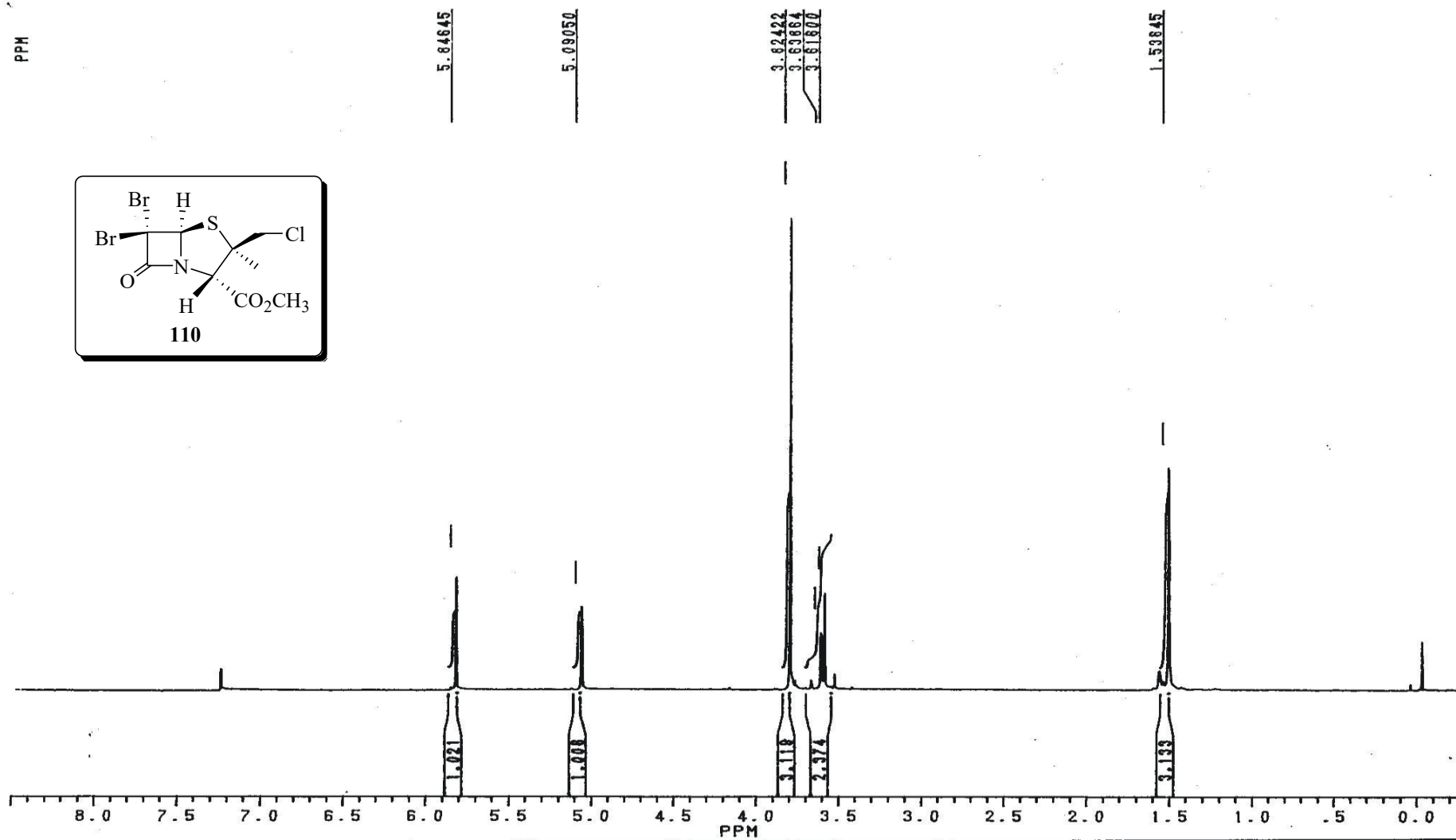
En conclusión, este trabajo de tesis ha demostrado la aplicabilidad de la química sobre soporte sólido a derivados de penicilinas. La unión a las resinas comerciales de Merrifield, Wang y JandaJel han sido optimizadas, destacándose una nueva metodología de unión de los compuestos  $\beta$ -lactámicos a la resina de Wang utilizando el reactivo de Mukaiyama. Se ha demostrado además la posibilidad de ruptura al final de la síntesis bajo condiciones suaves, a través del uso de  $\text{AlCl}_3$  o ácido trifluoracético, dependiendo de la resina utilizada. Finalmente se llevó a cabo la funcionalización de los derivados del núcleo penam sobre soporte sólido llevando a un método muy conveniente para la síntesis penicilinas 2 $\beta$ -metil sustituidas. Esta estrategia puede ser muy útil para la generación de bibliotecas de compuestos de potencial actividad biológica.

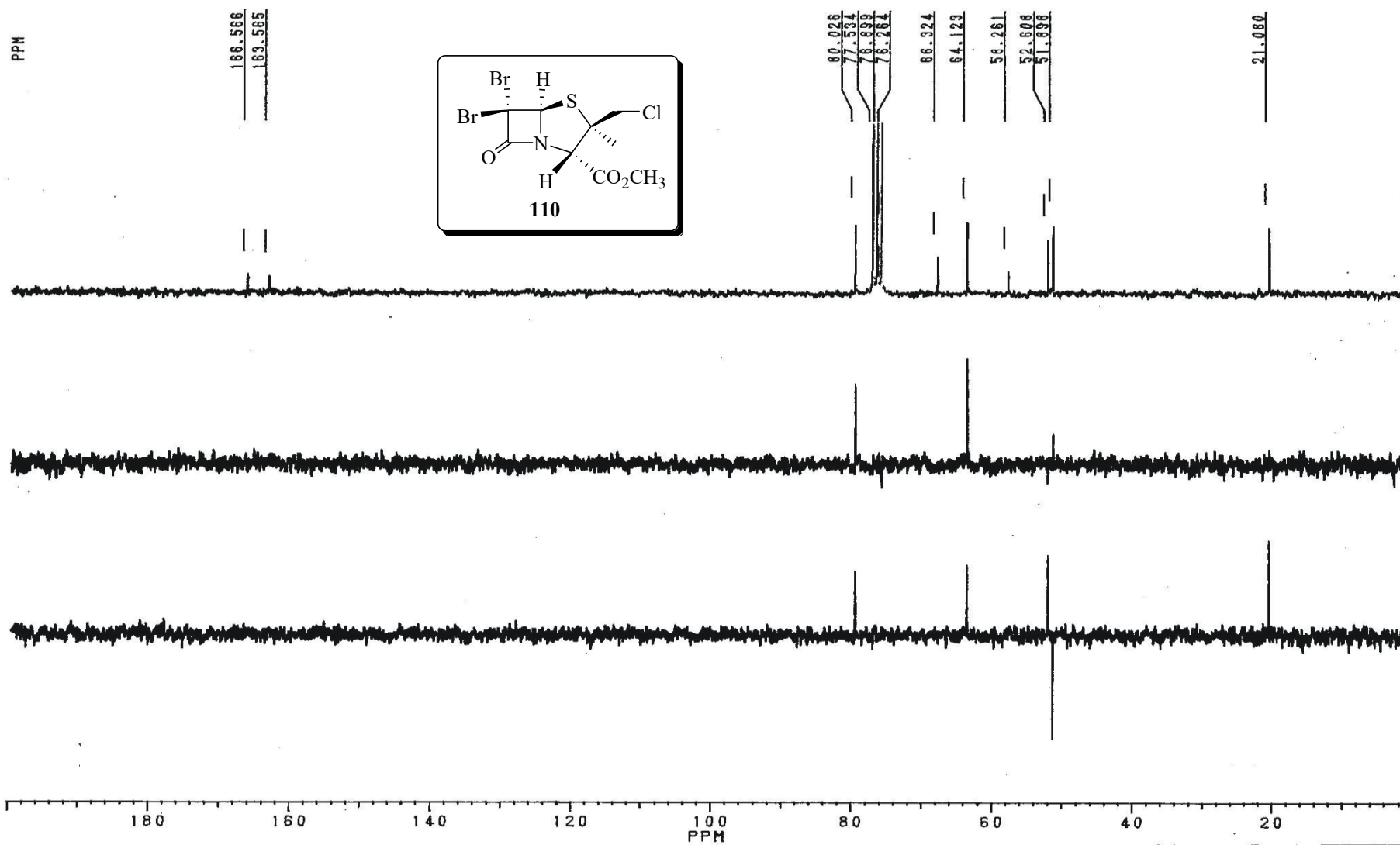
# Capítulo VI

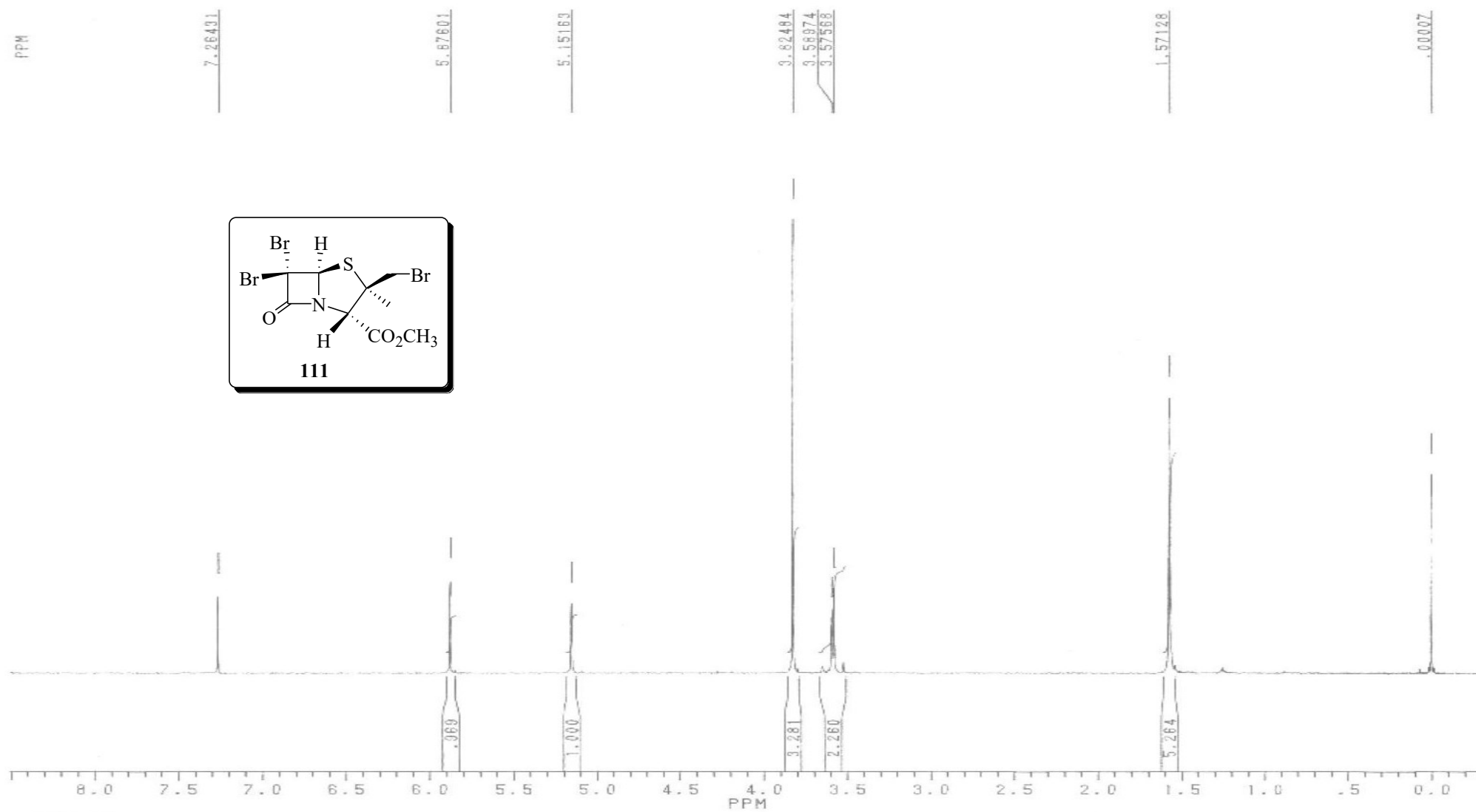
## ESPECTROS SELECCIONADOS

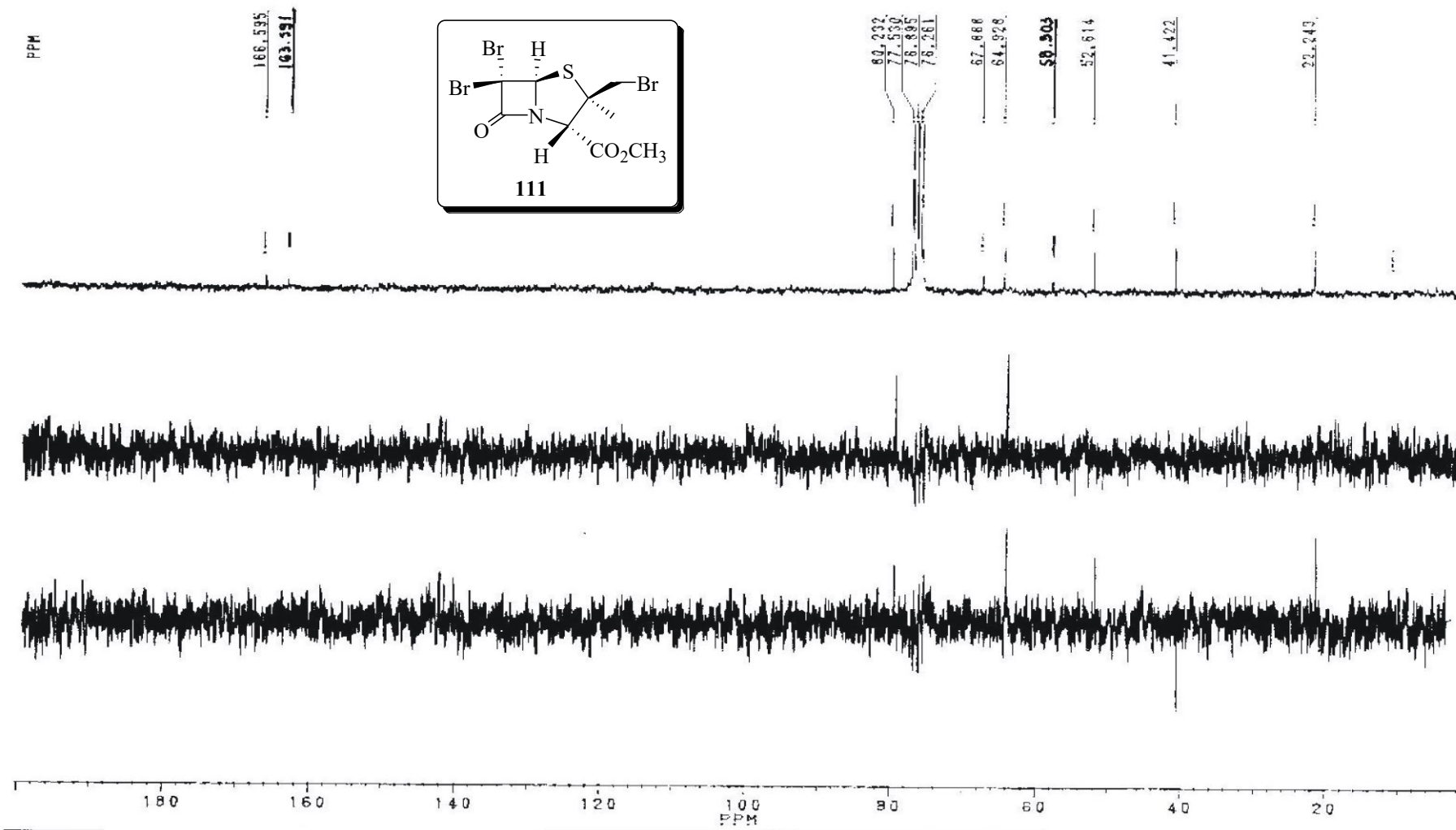


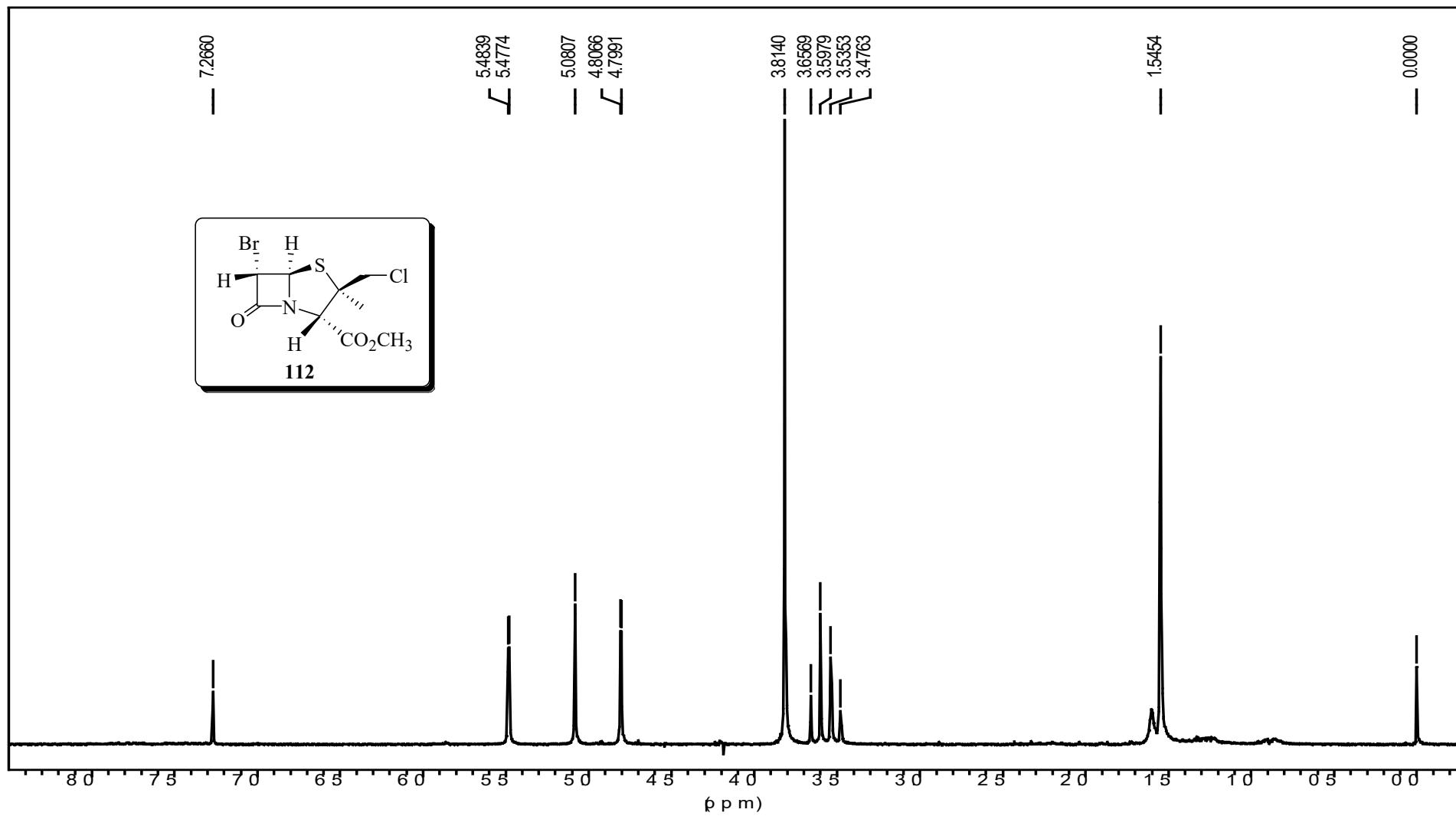


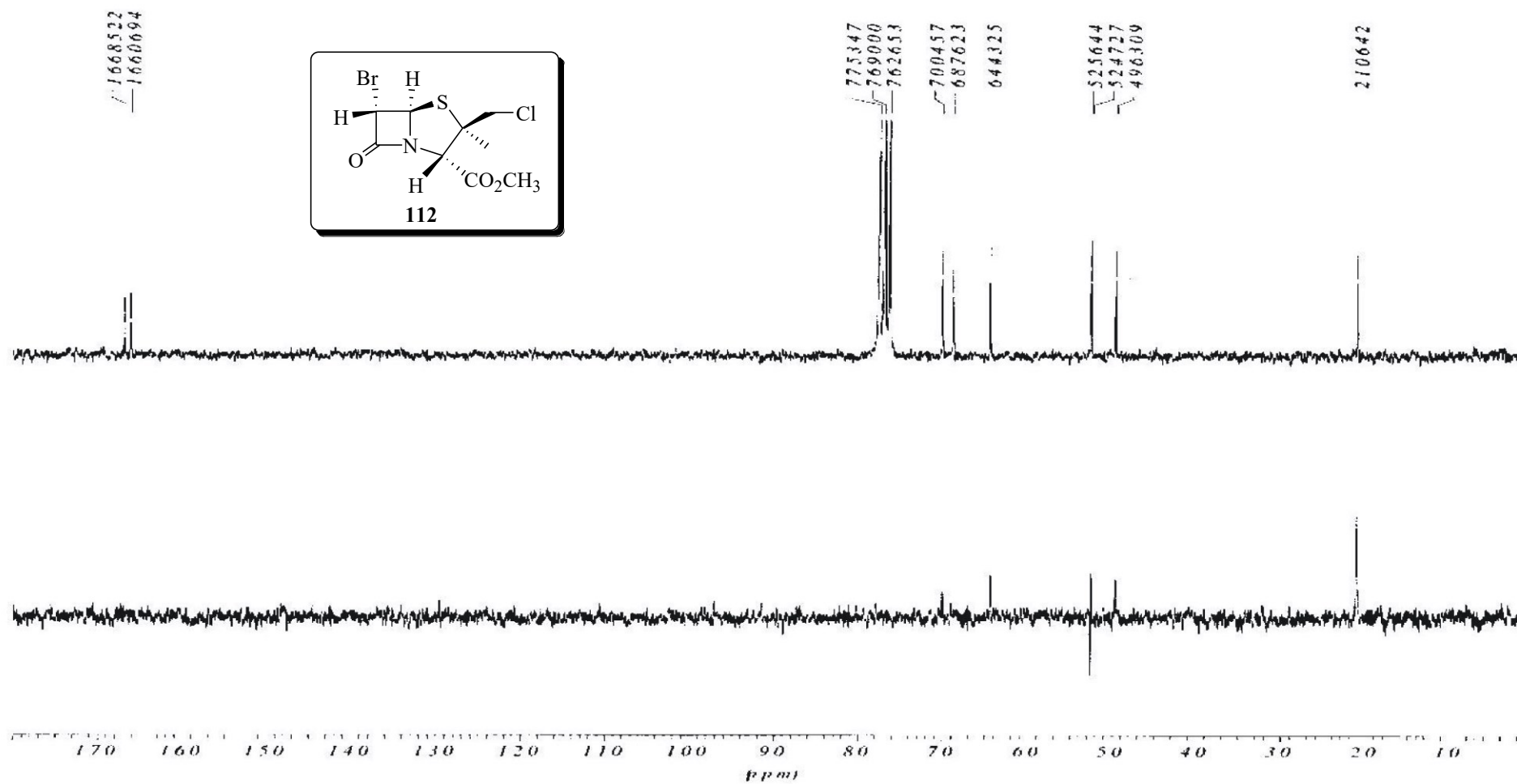


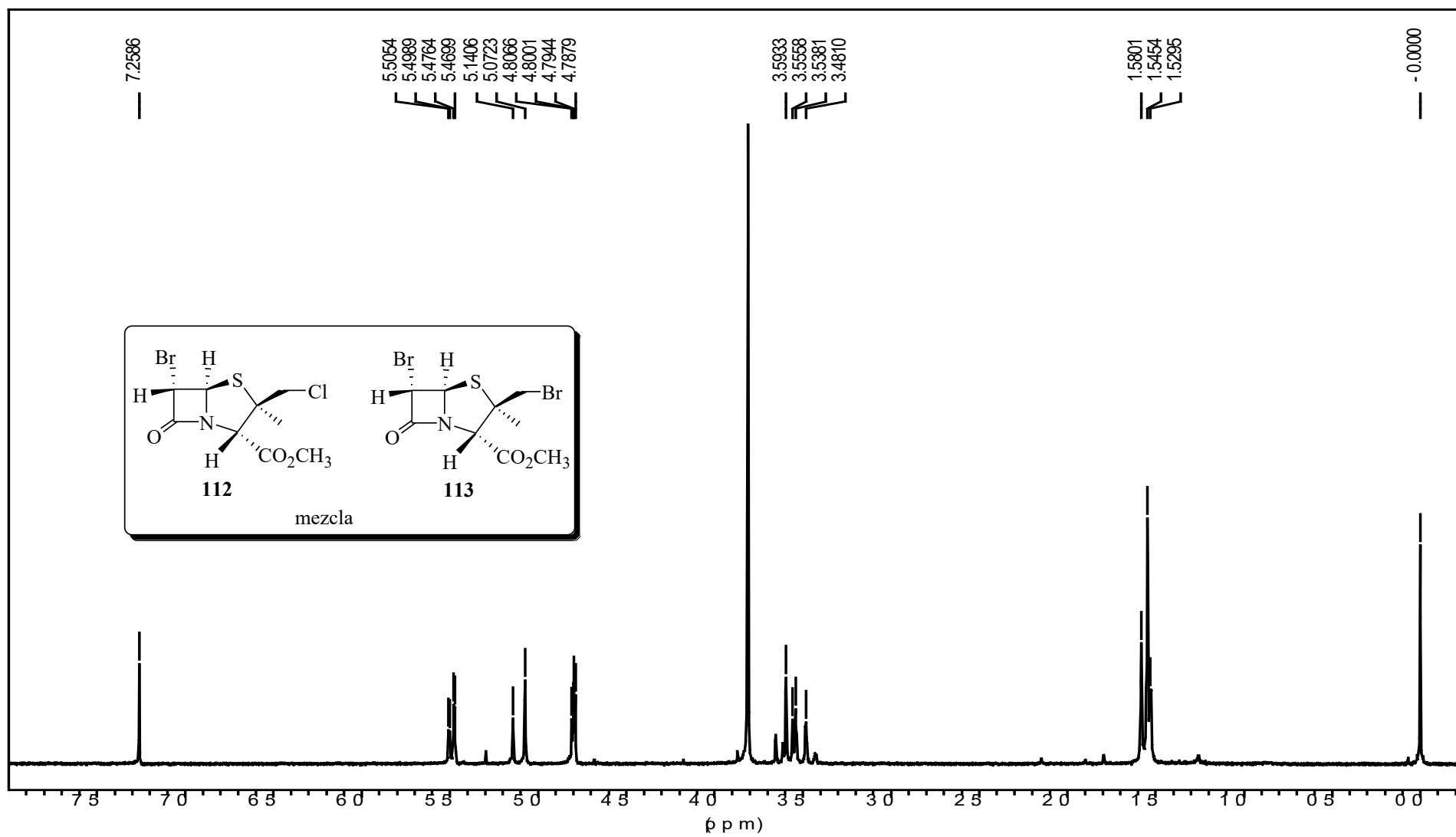


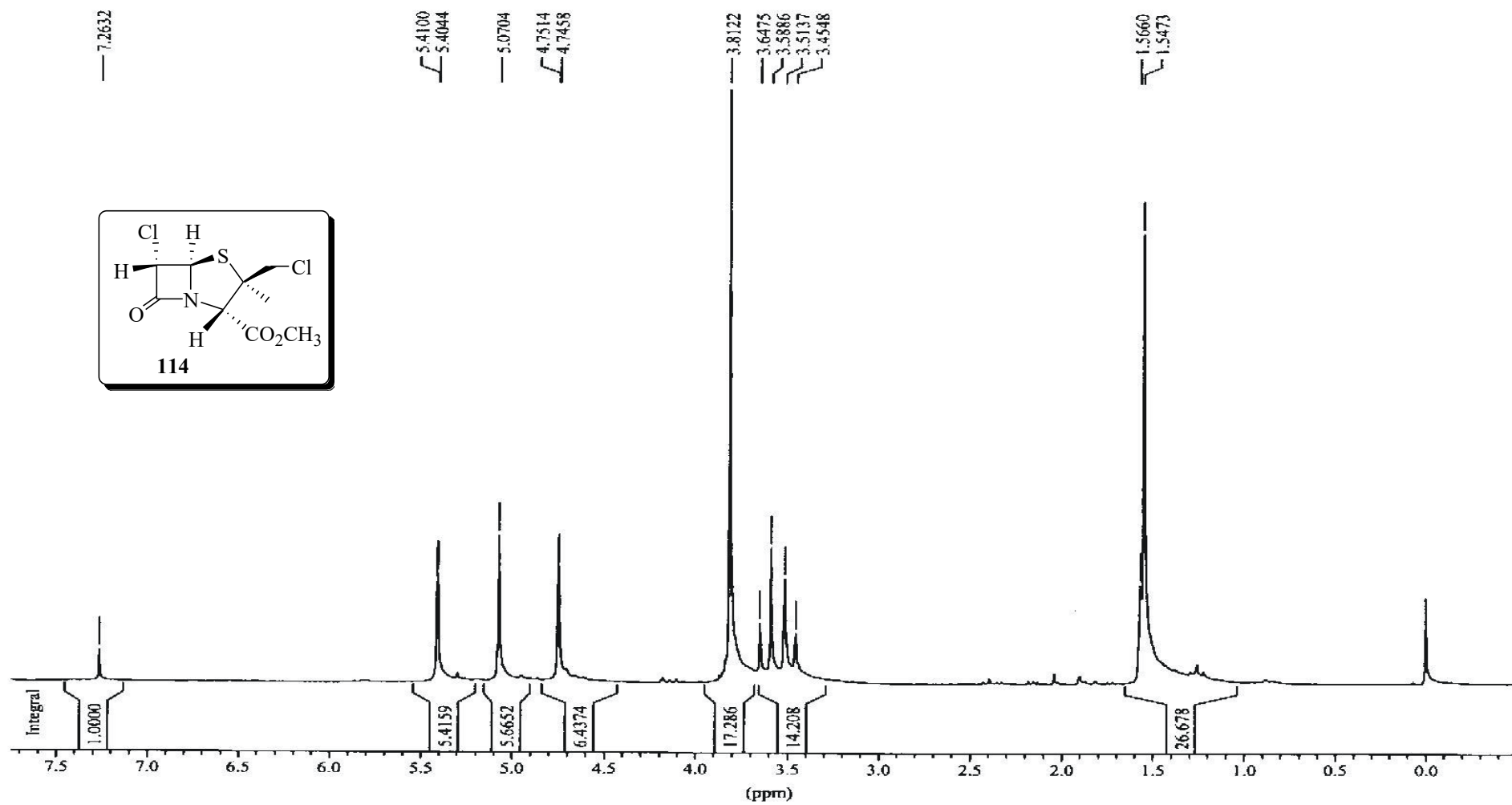


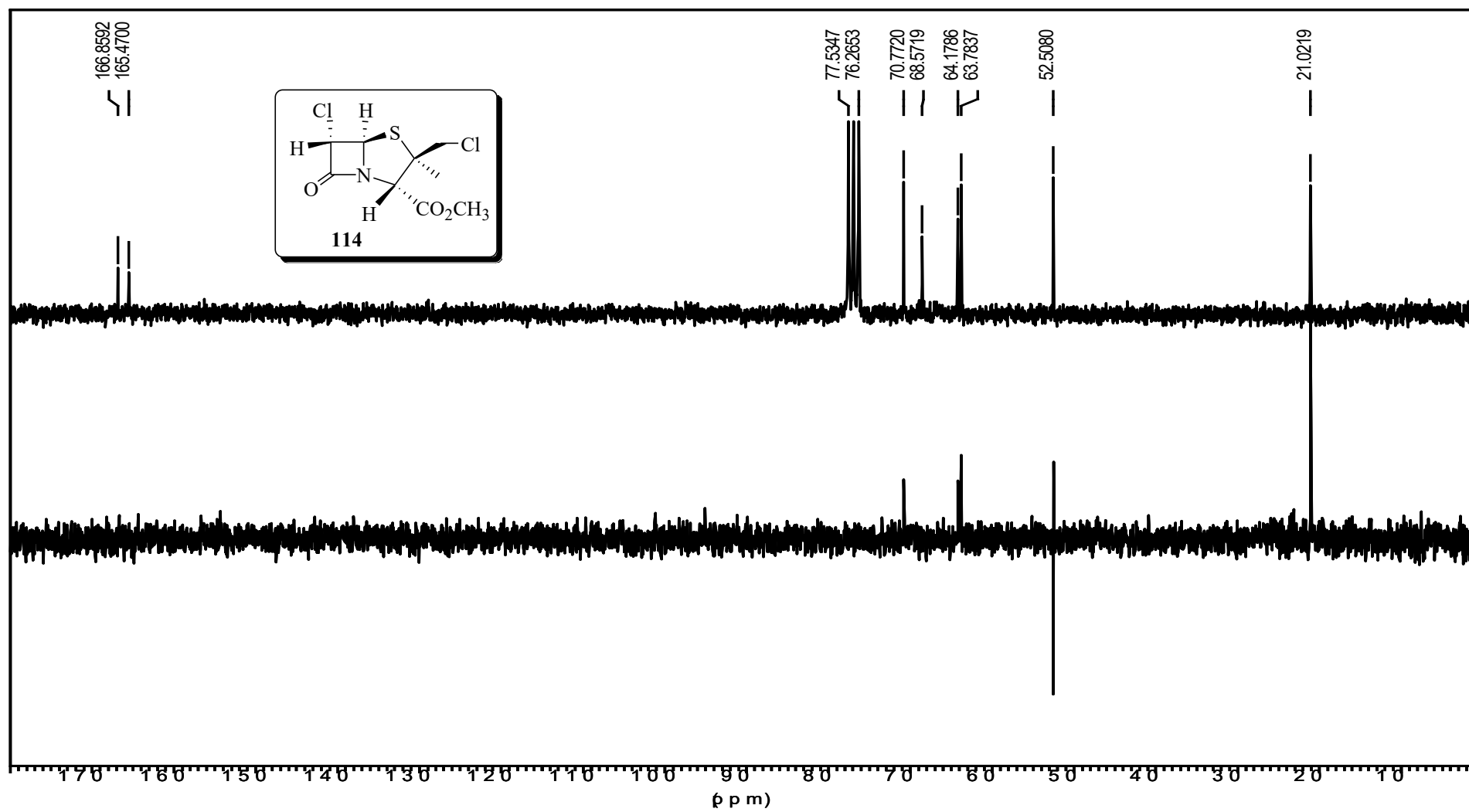


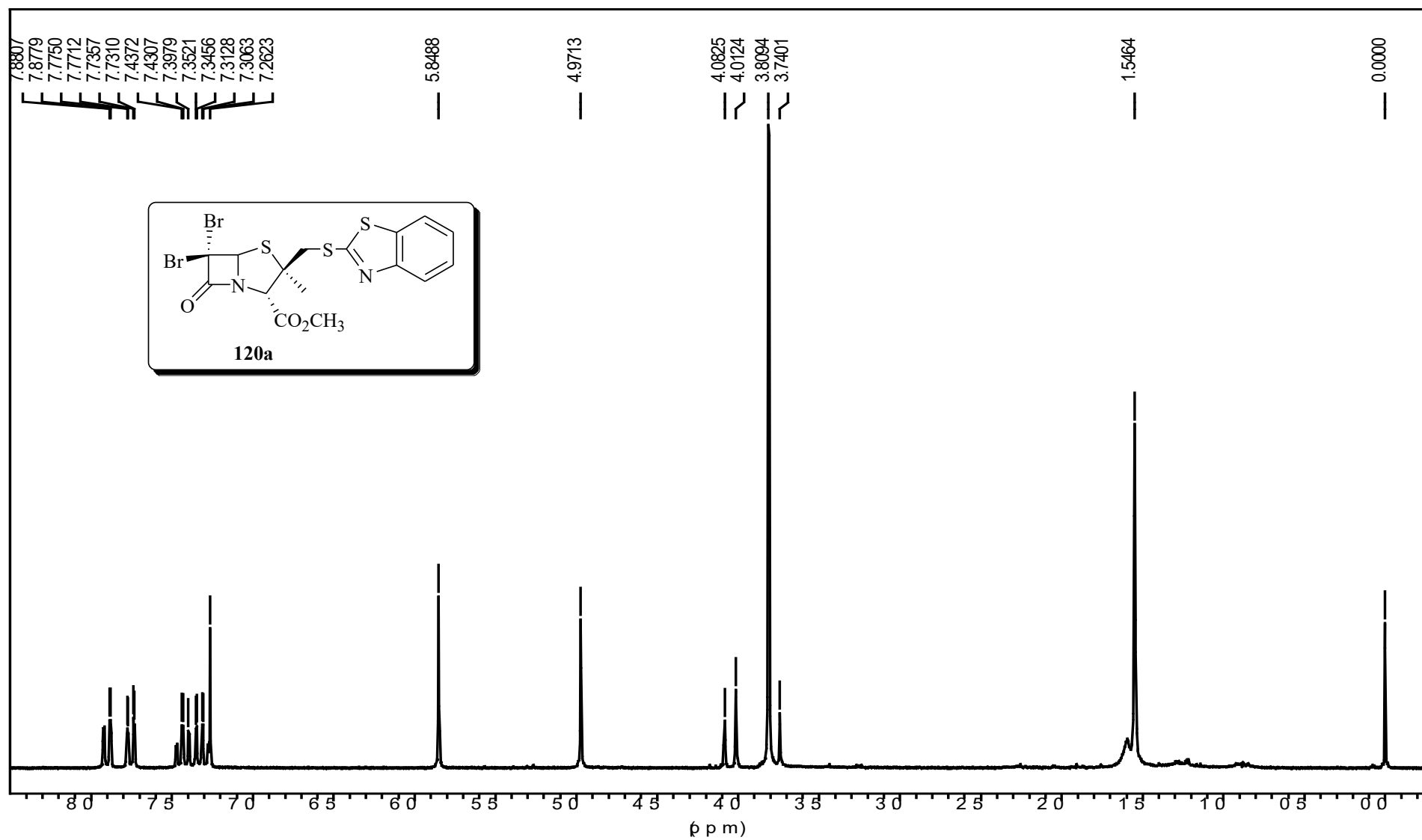


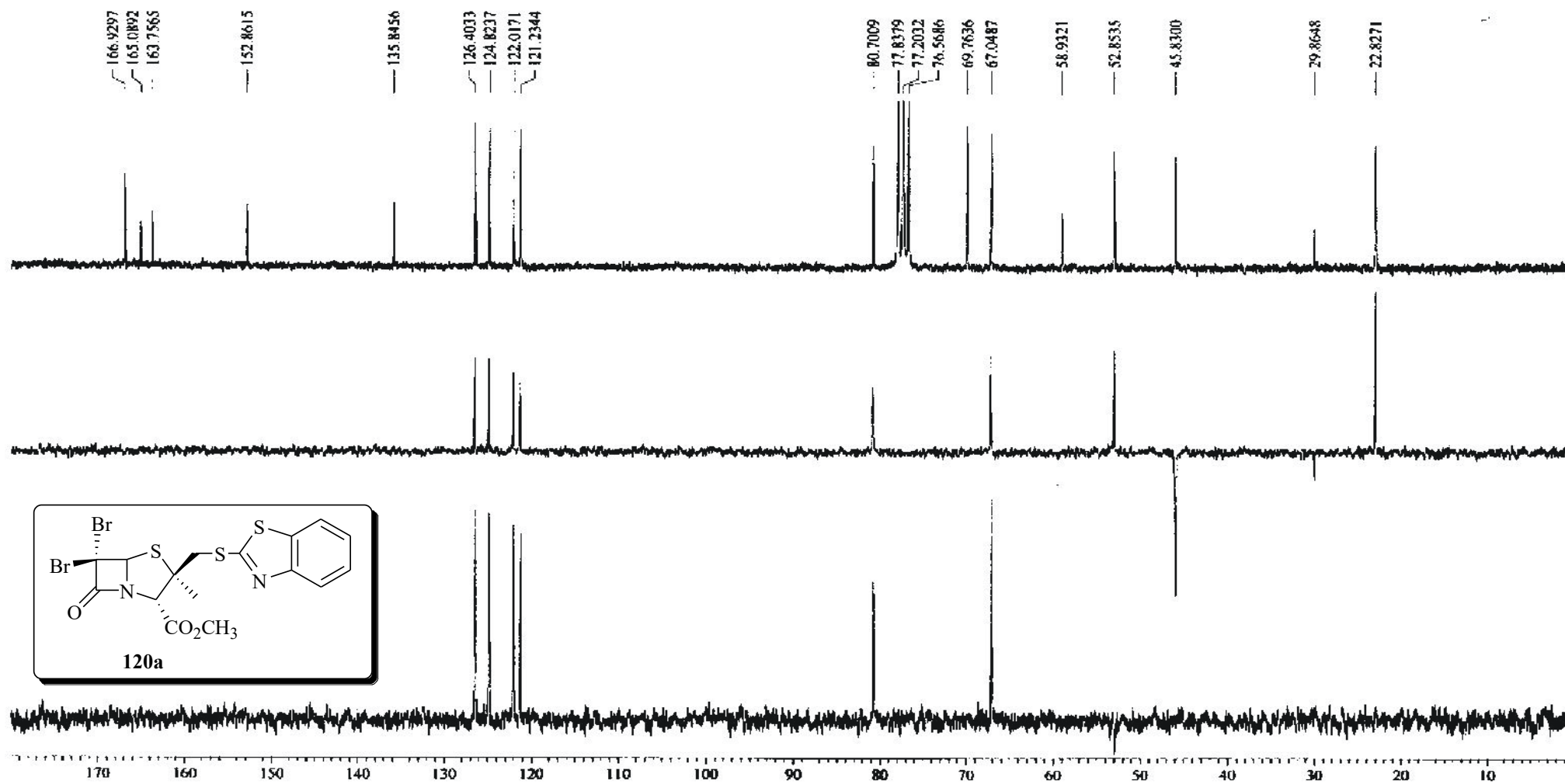


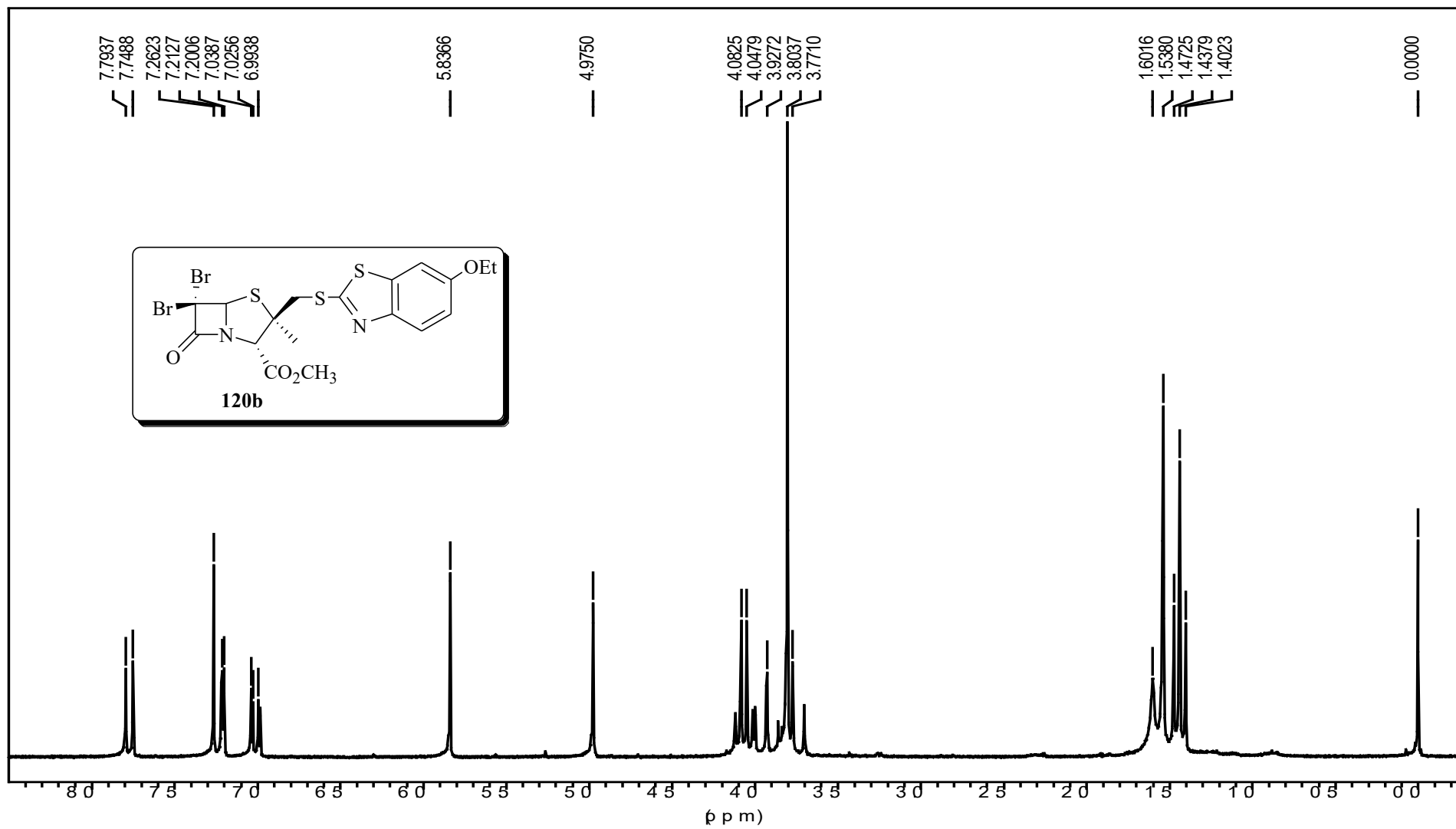


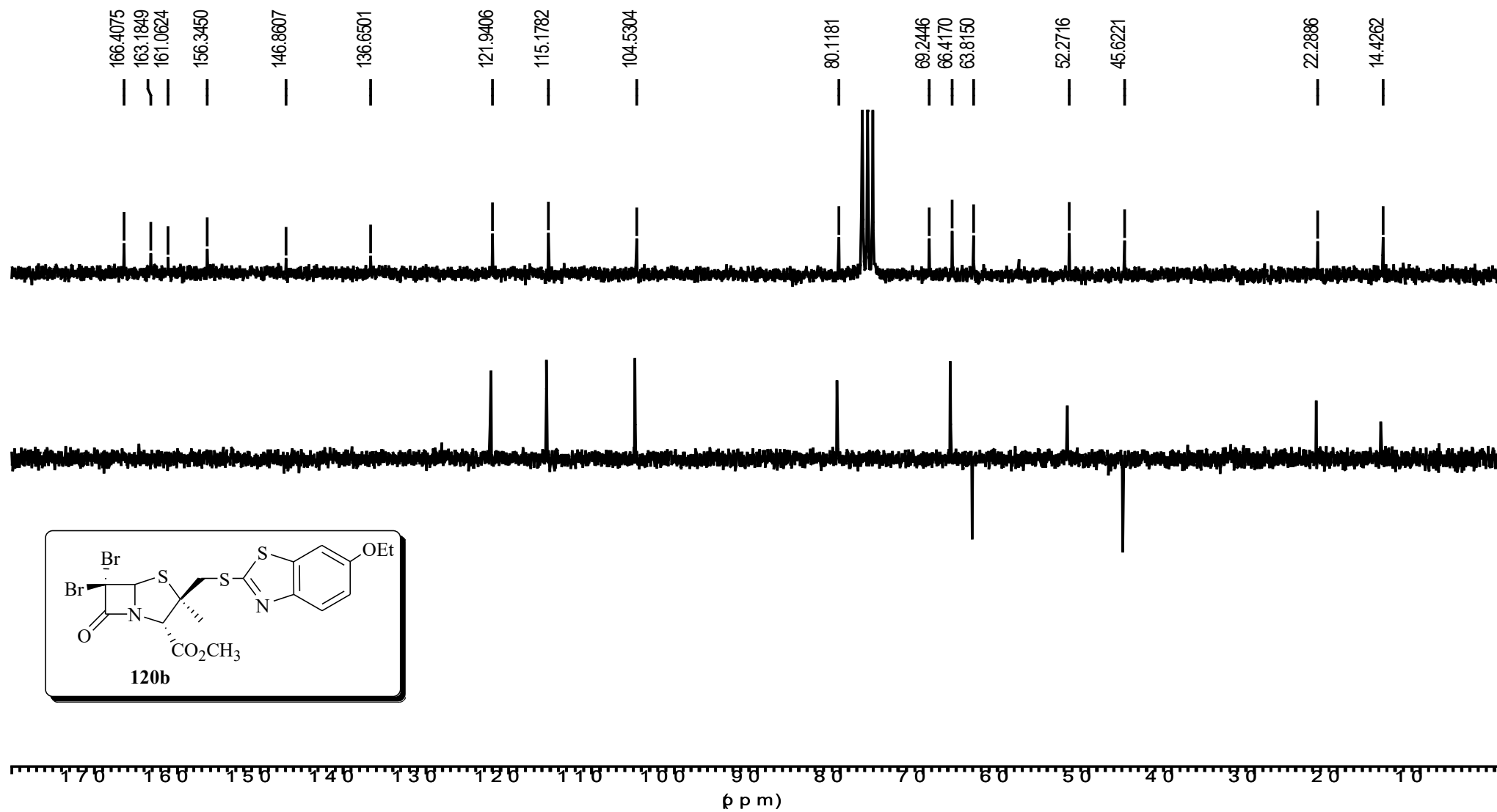


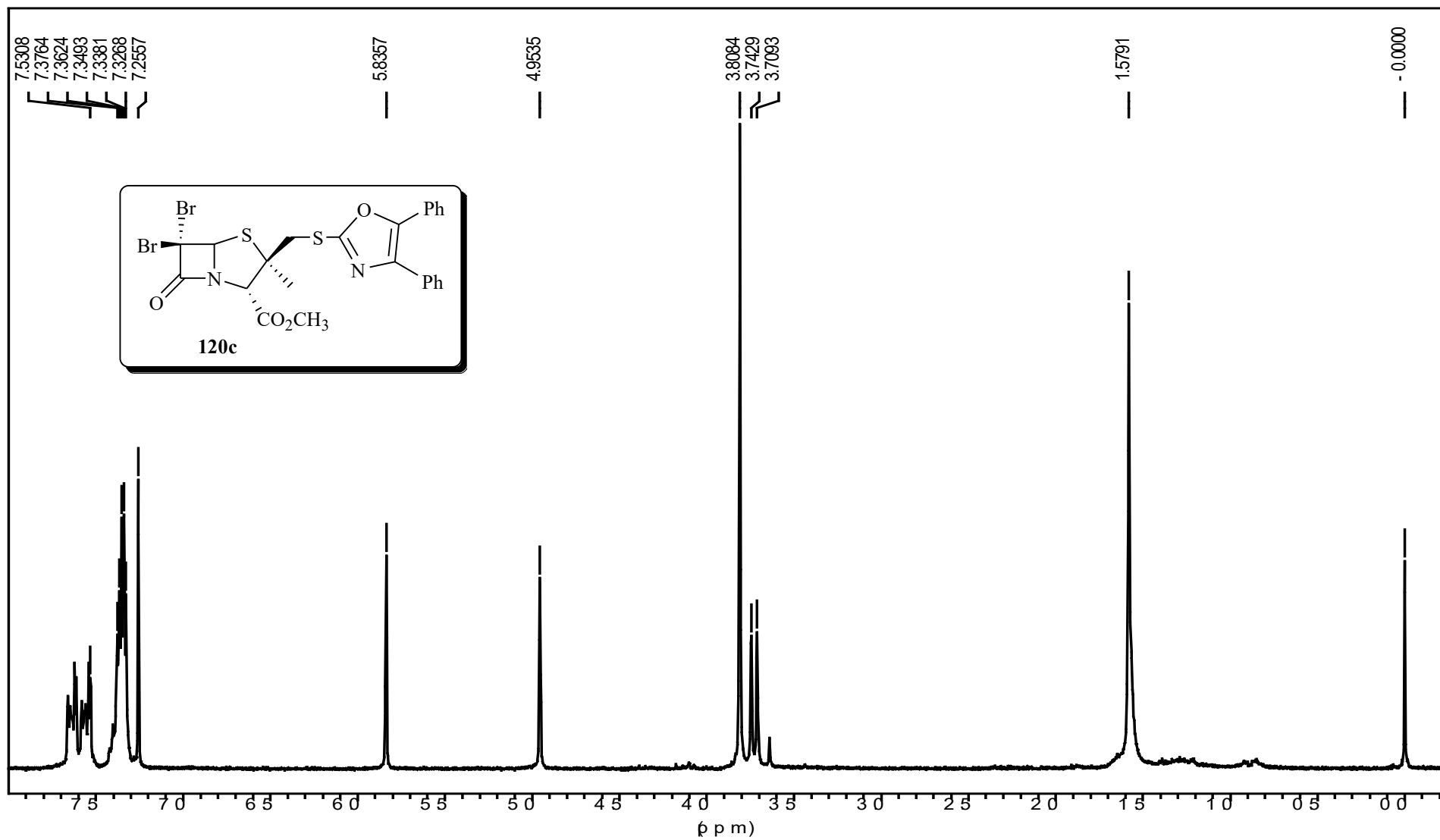


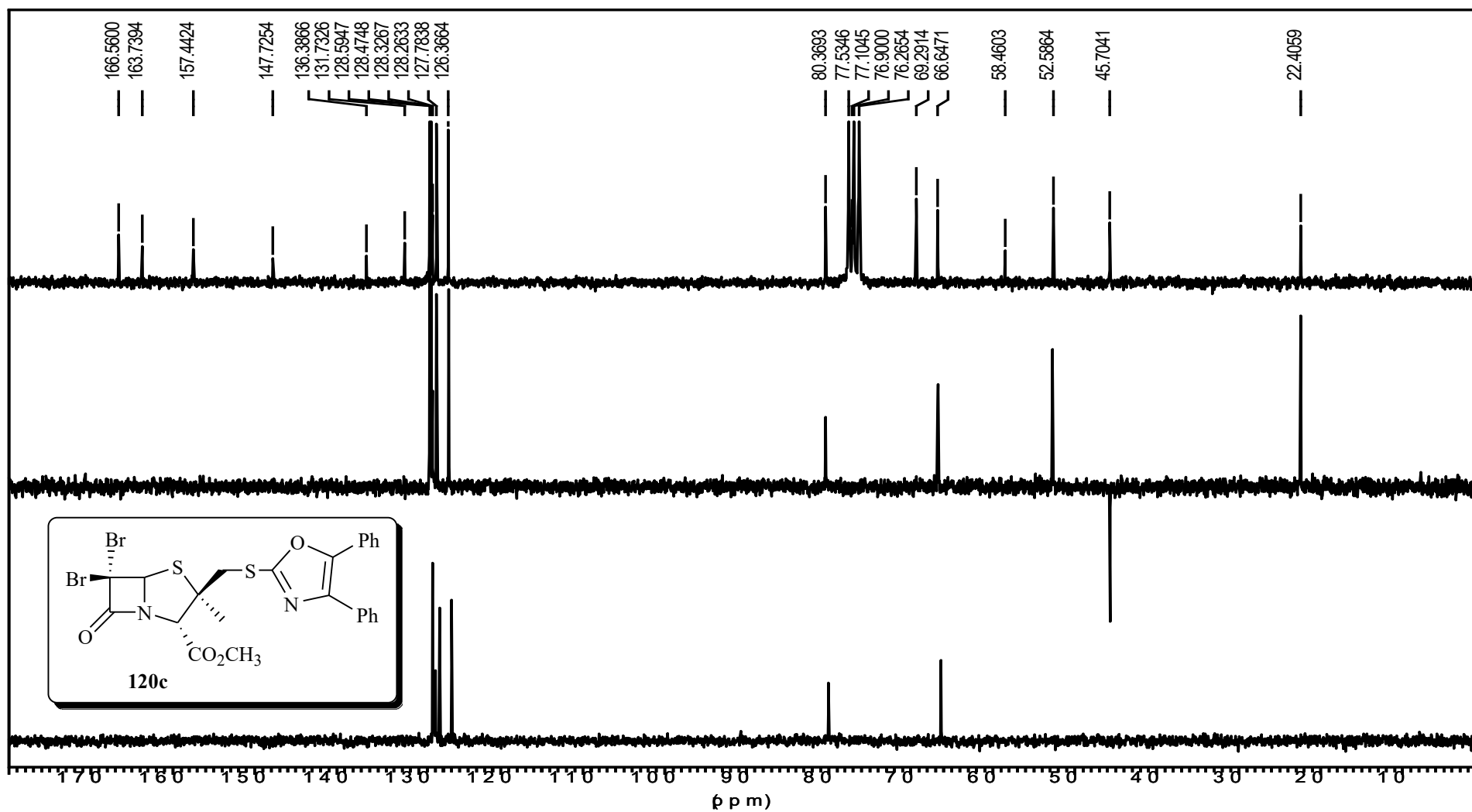


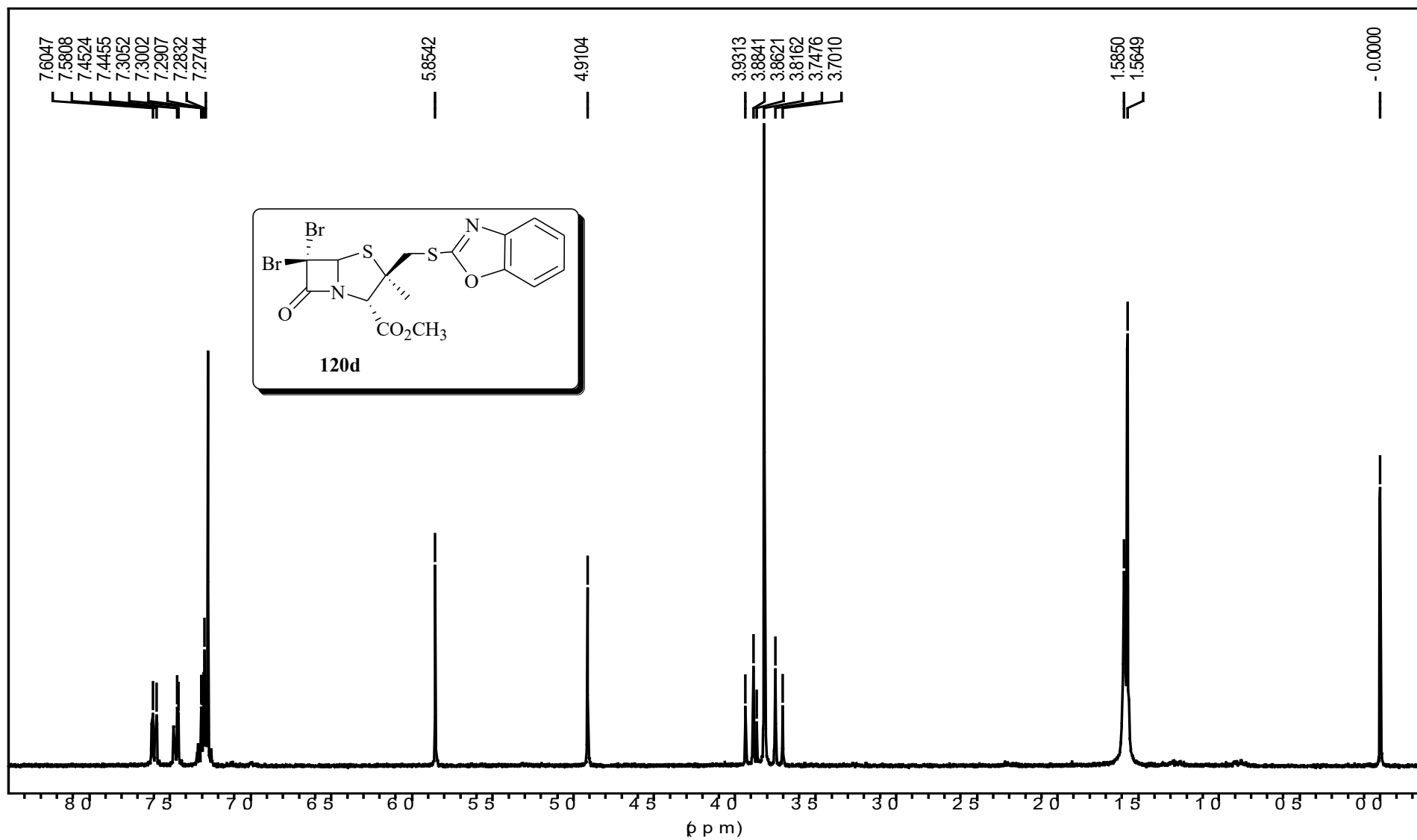


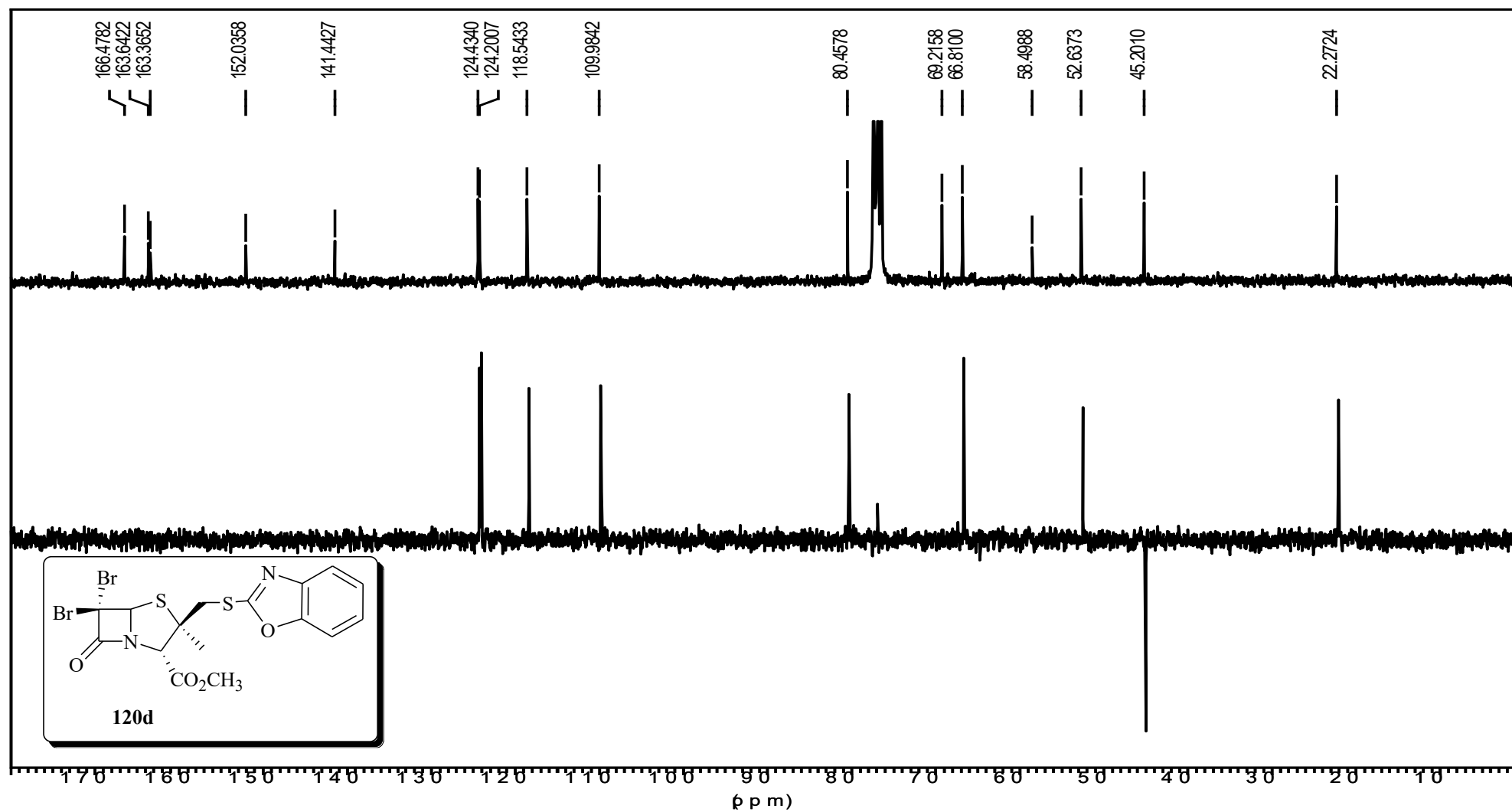


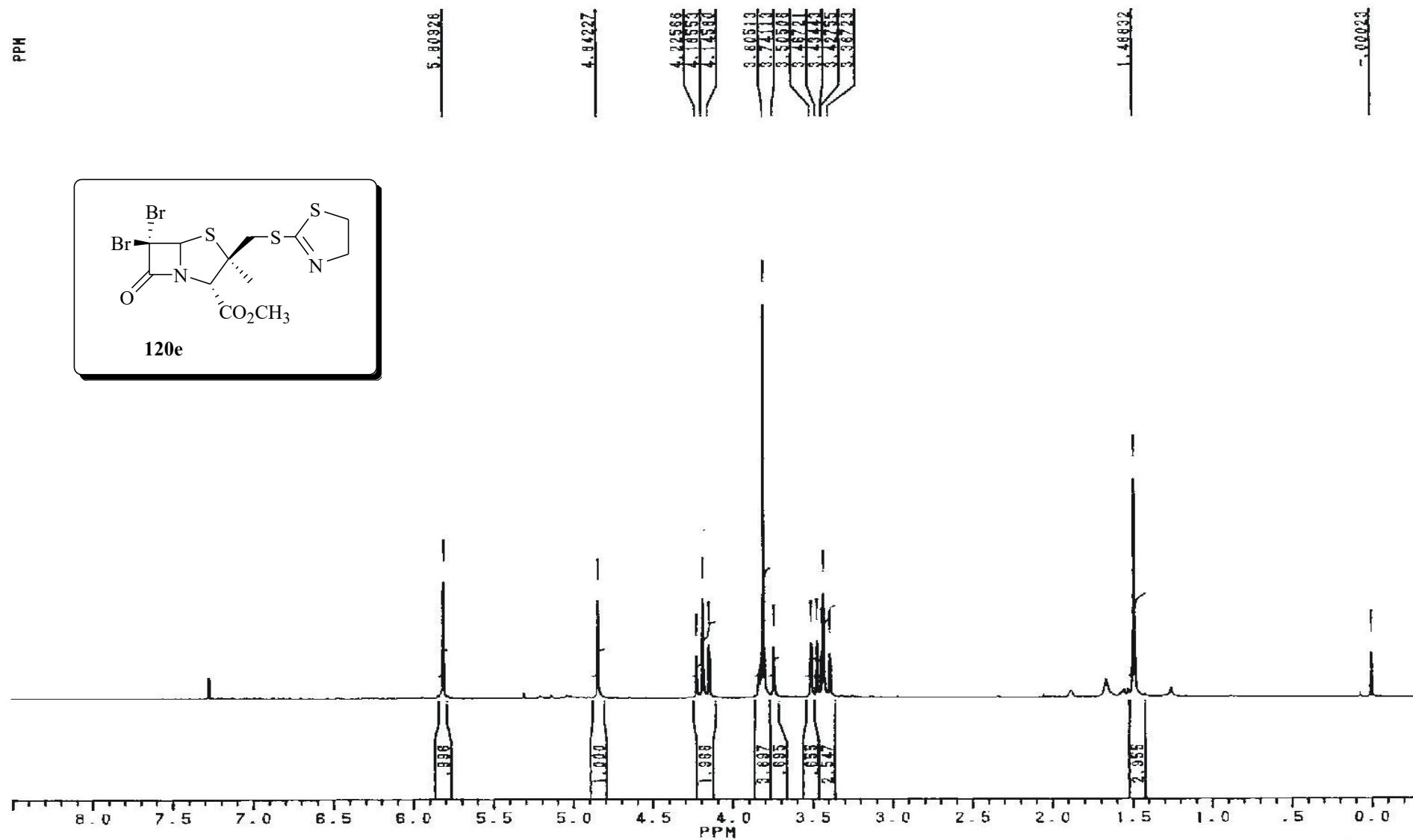


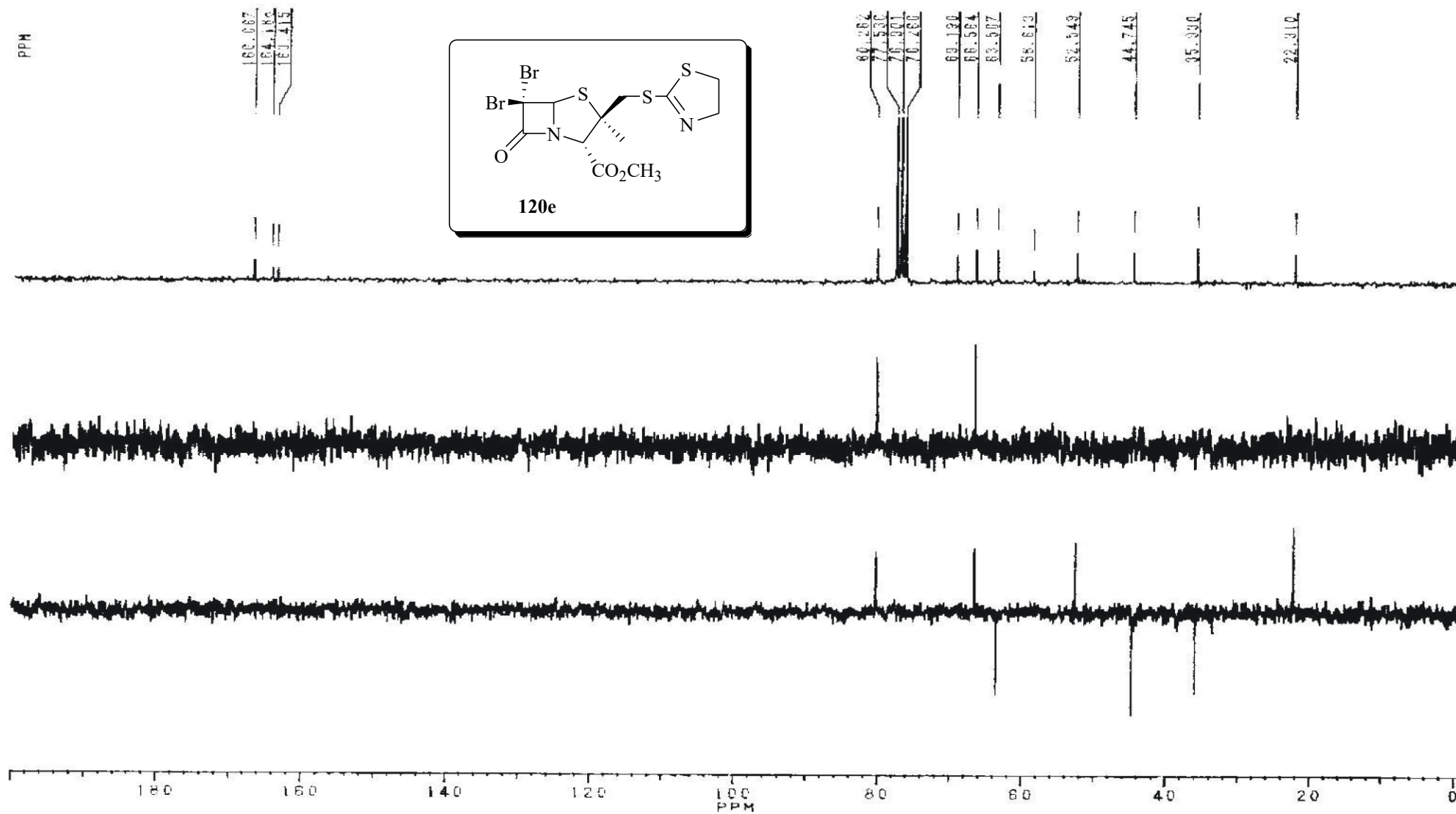


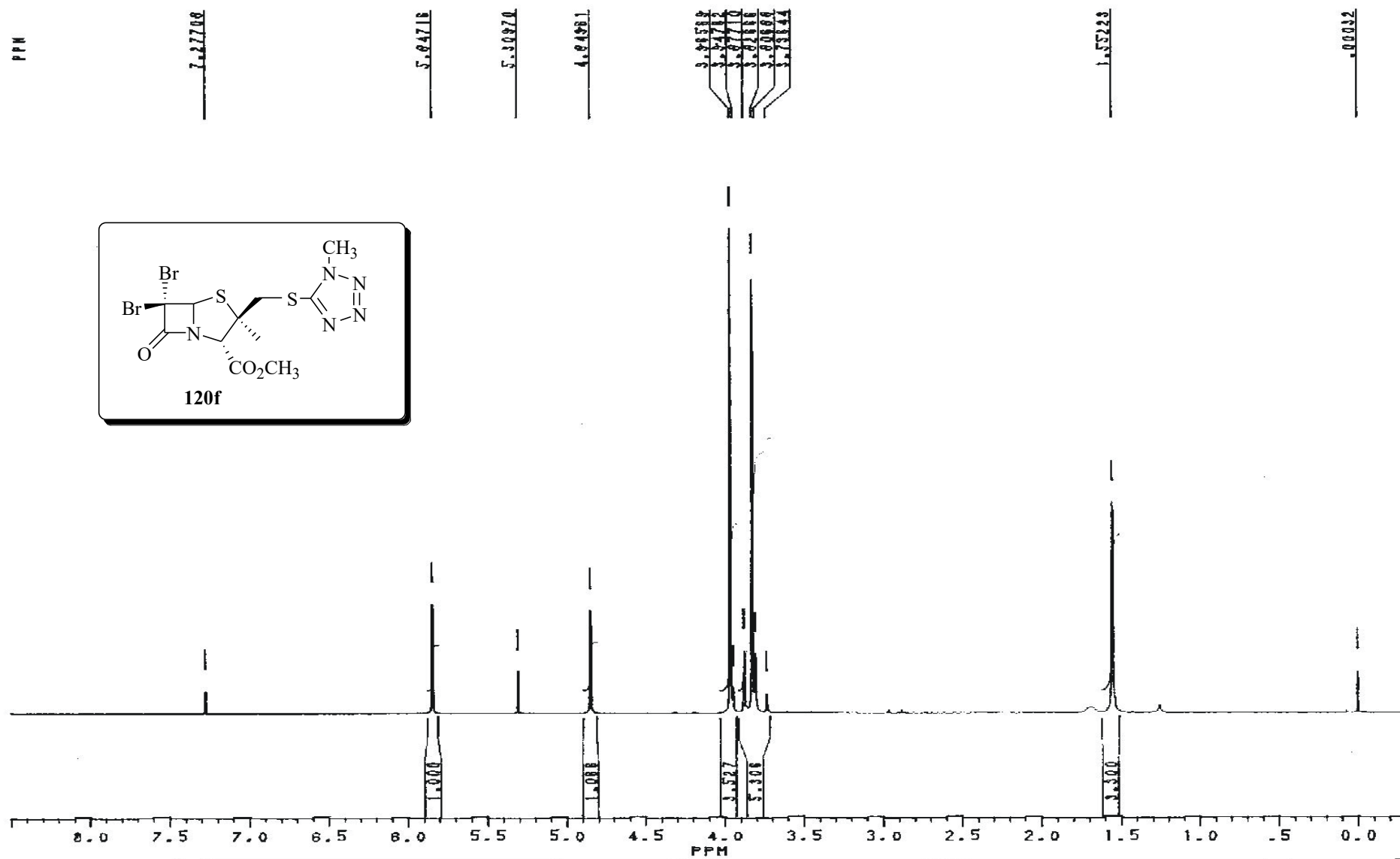


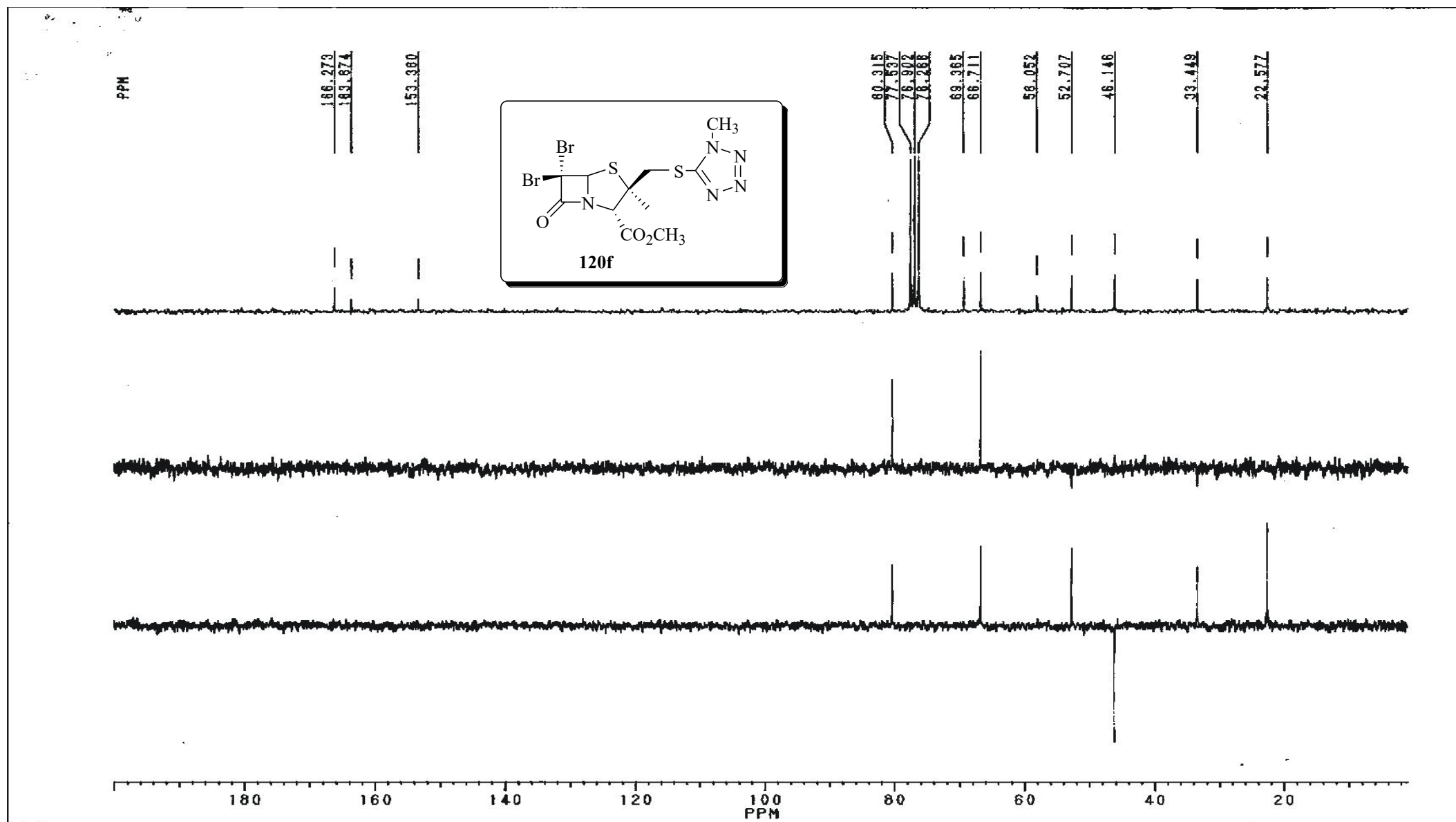


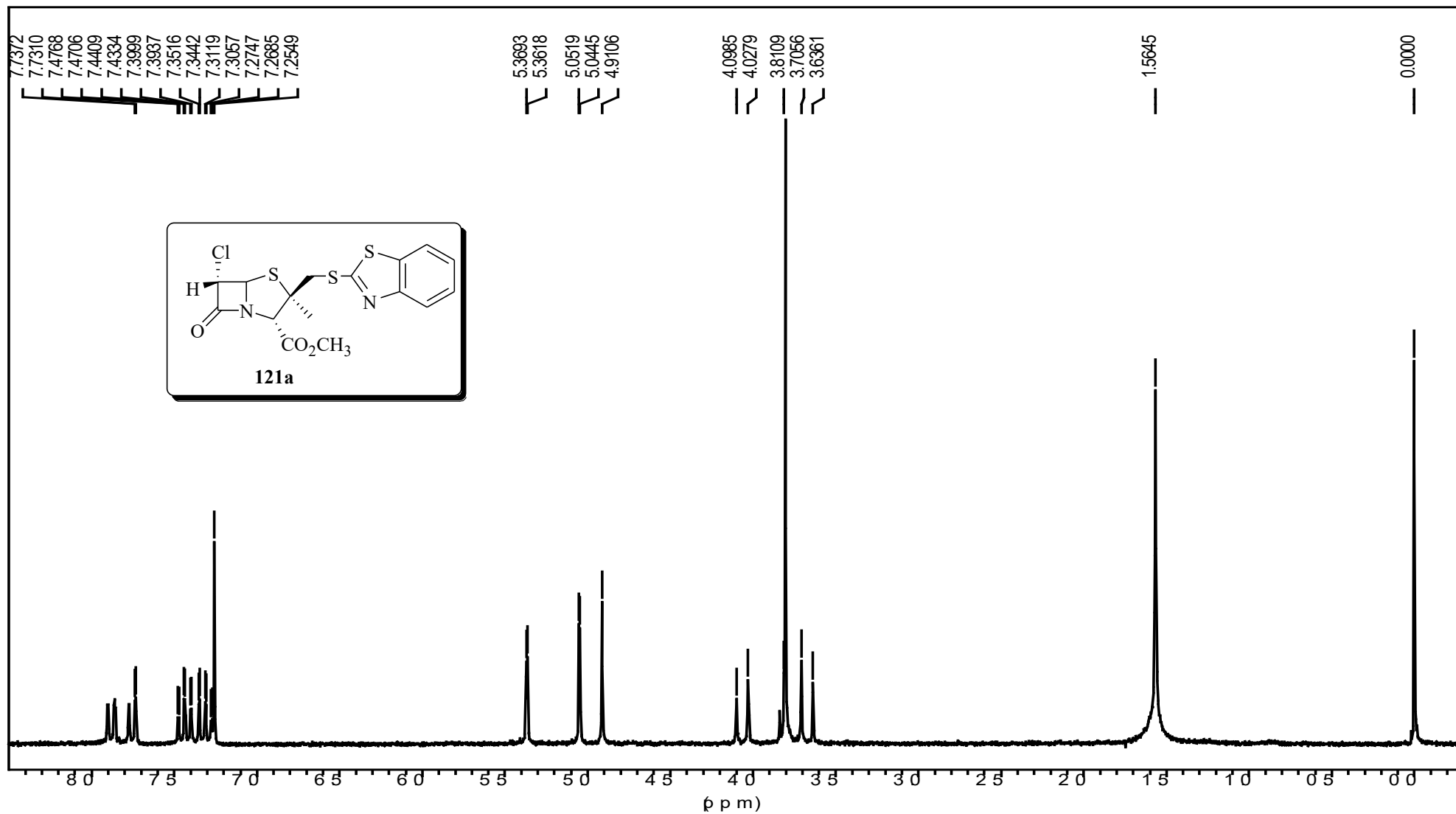


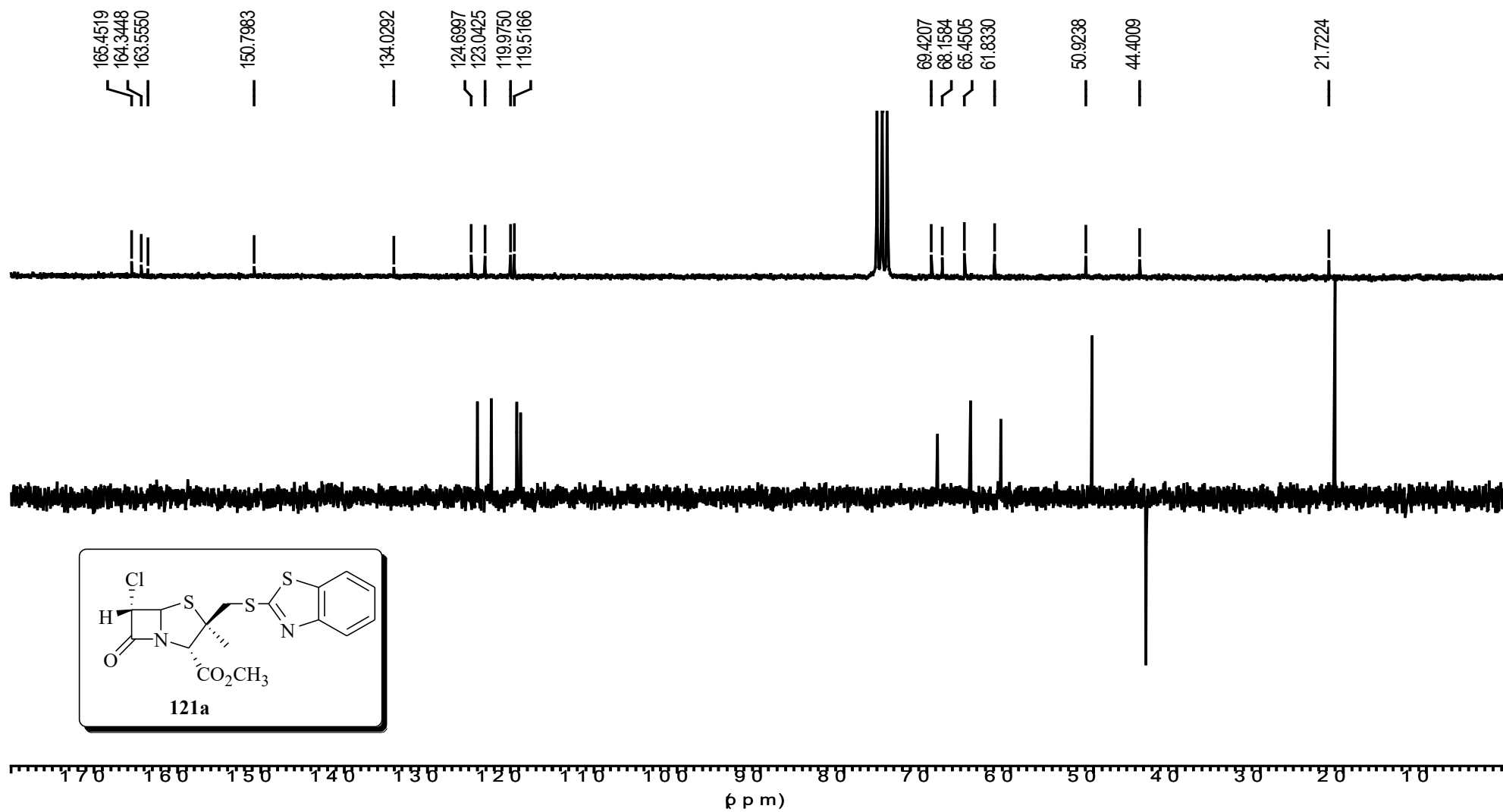


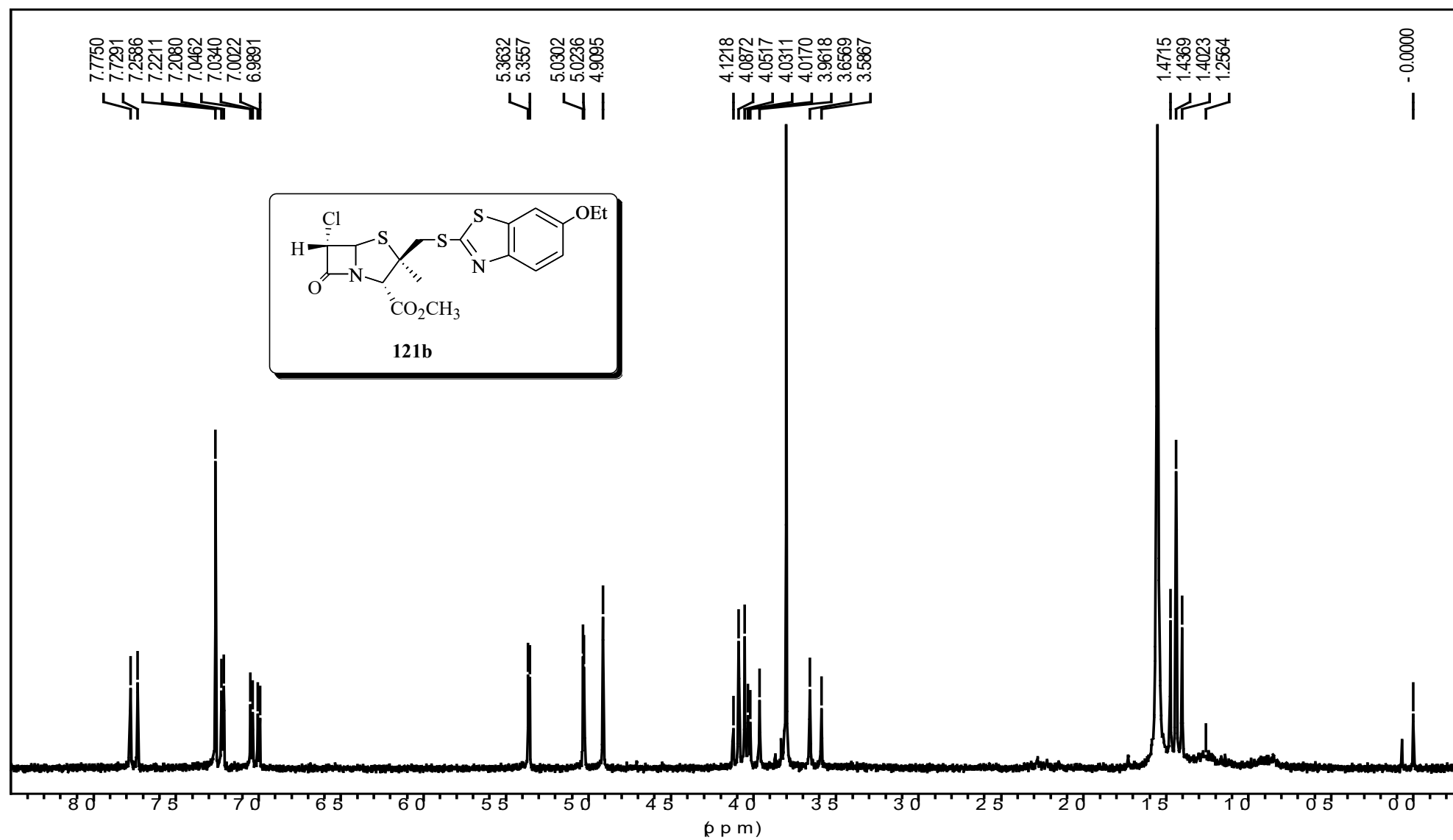


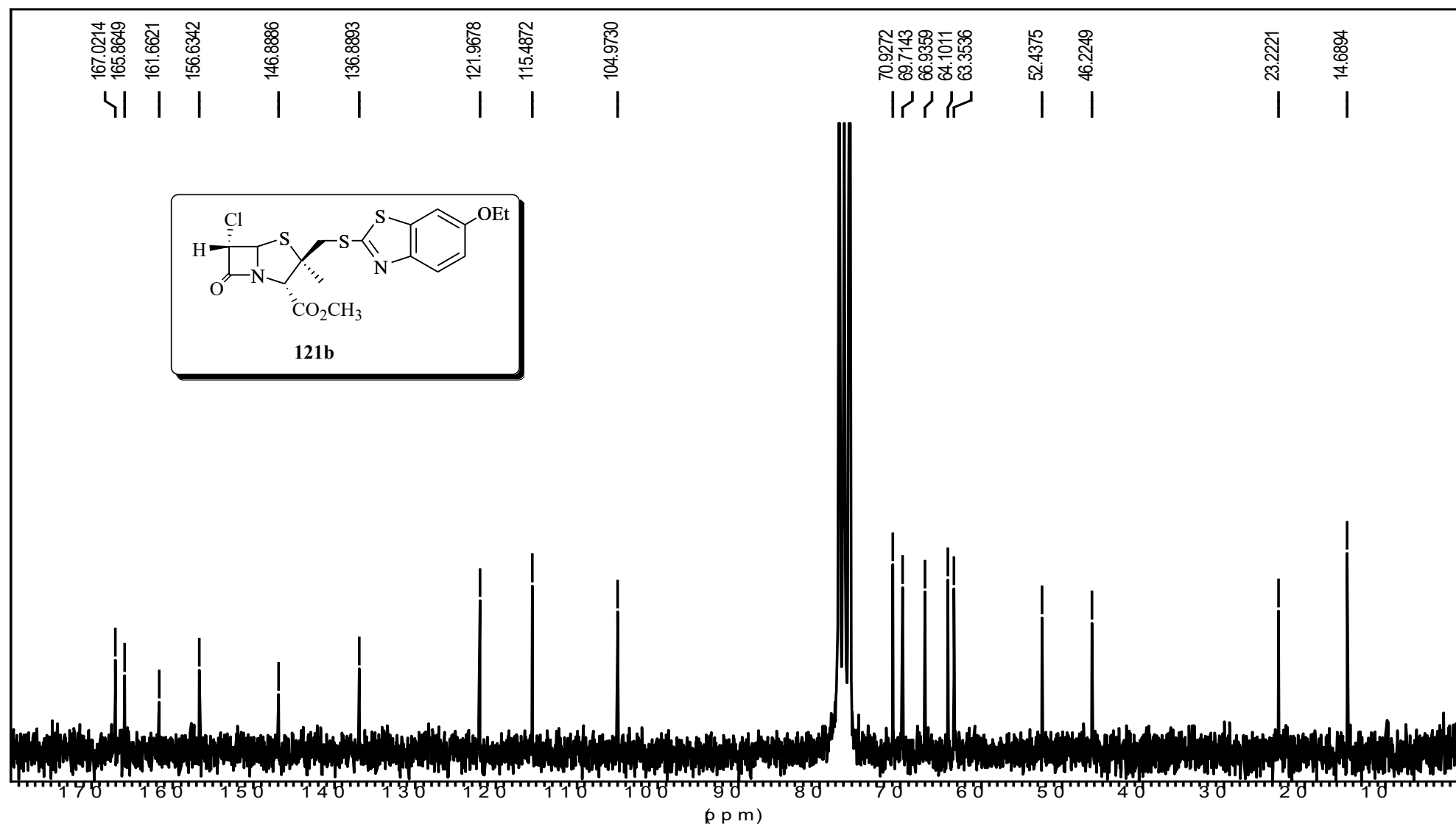


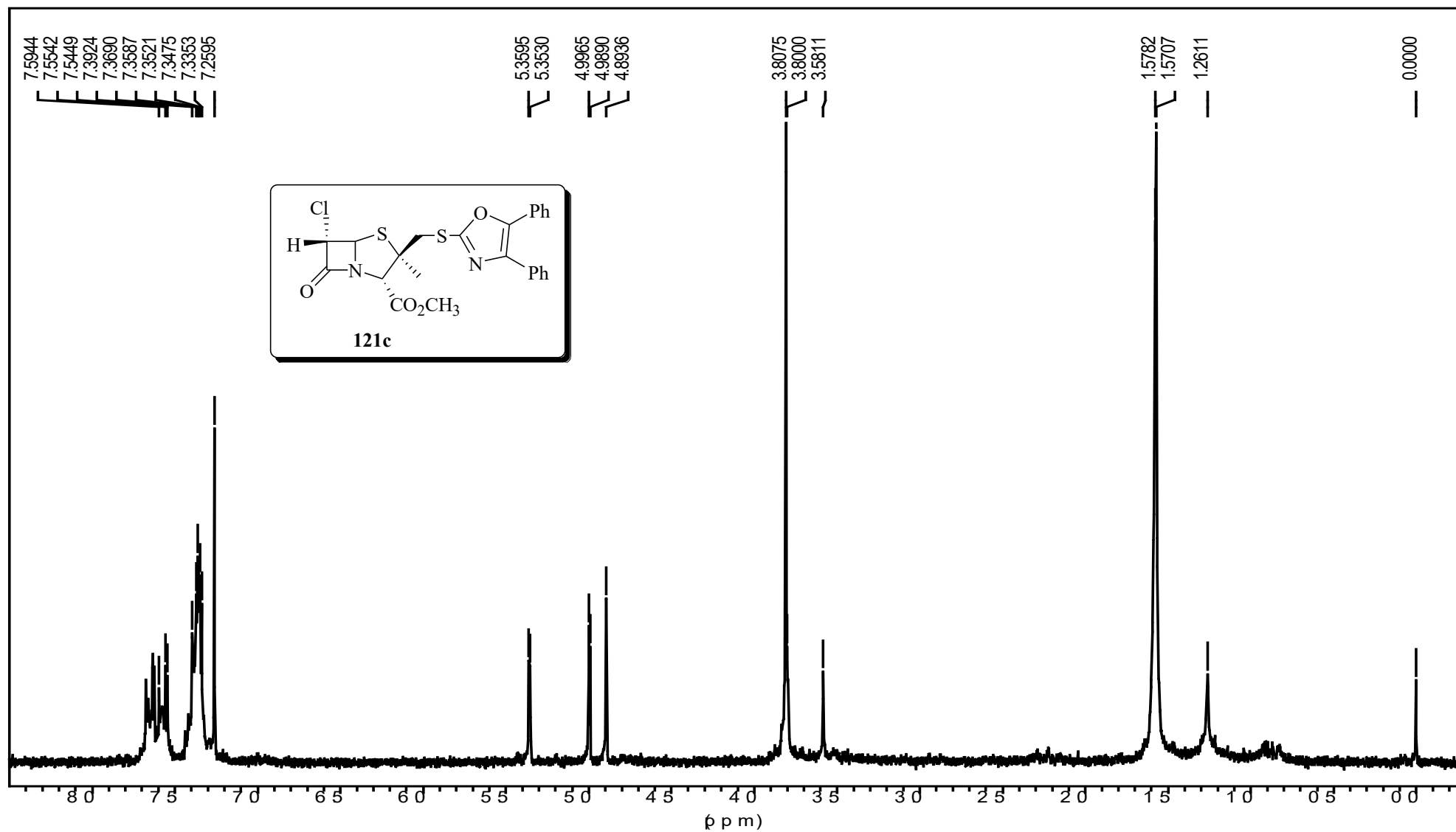


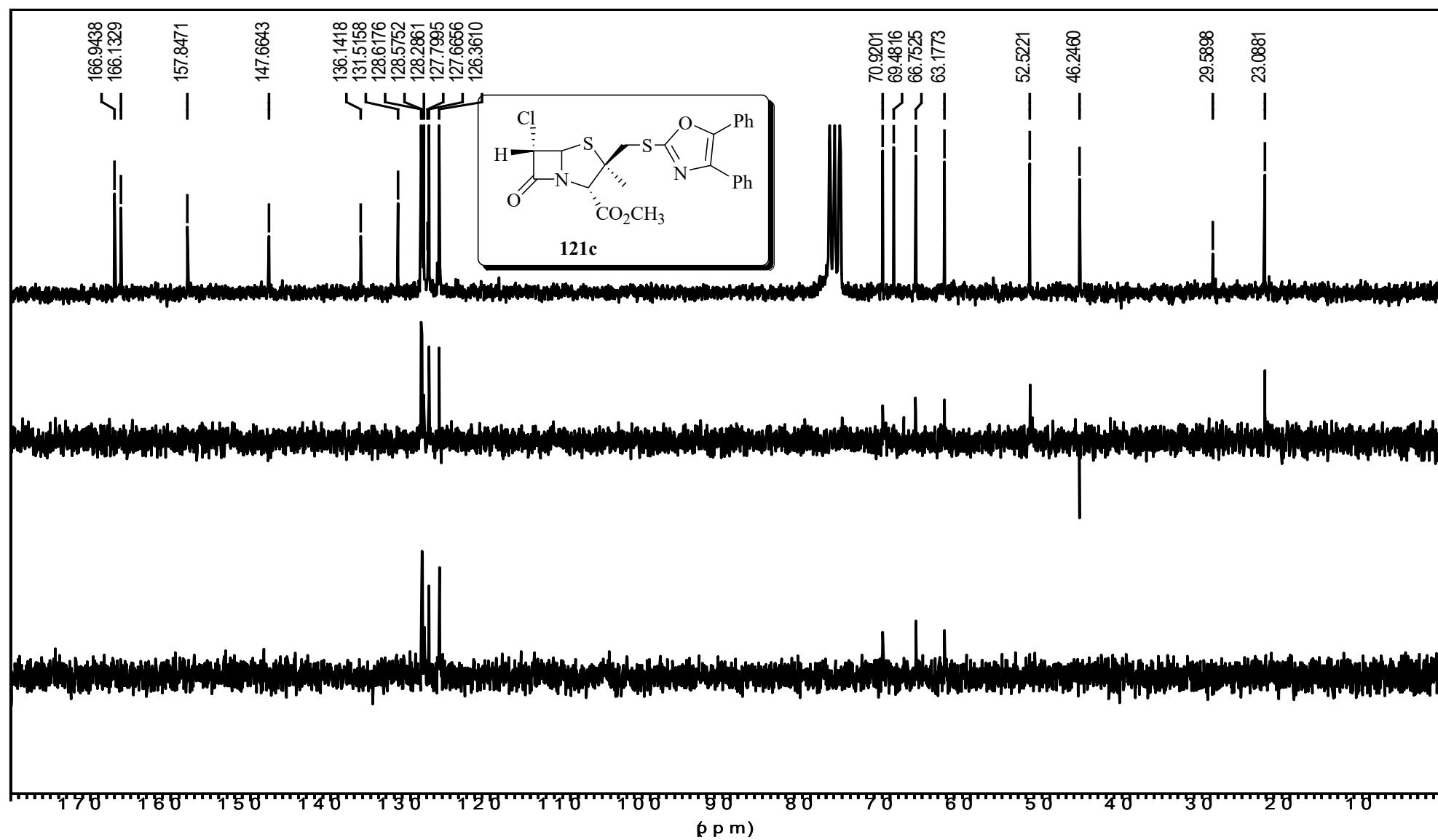


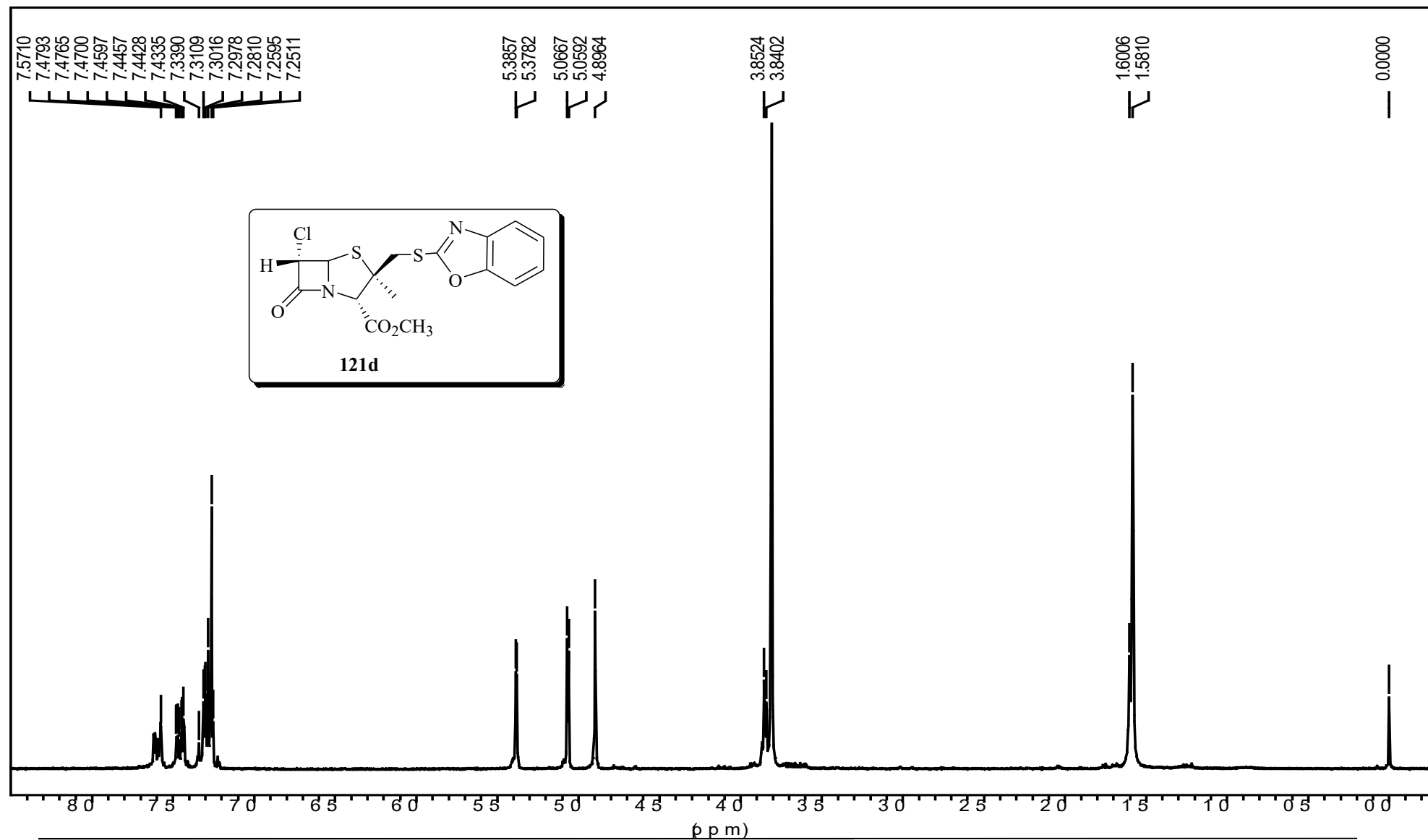


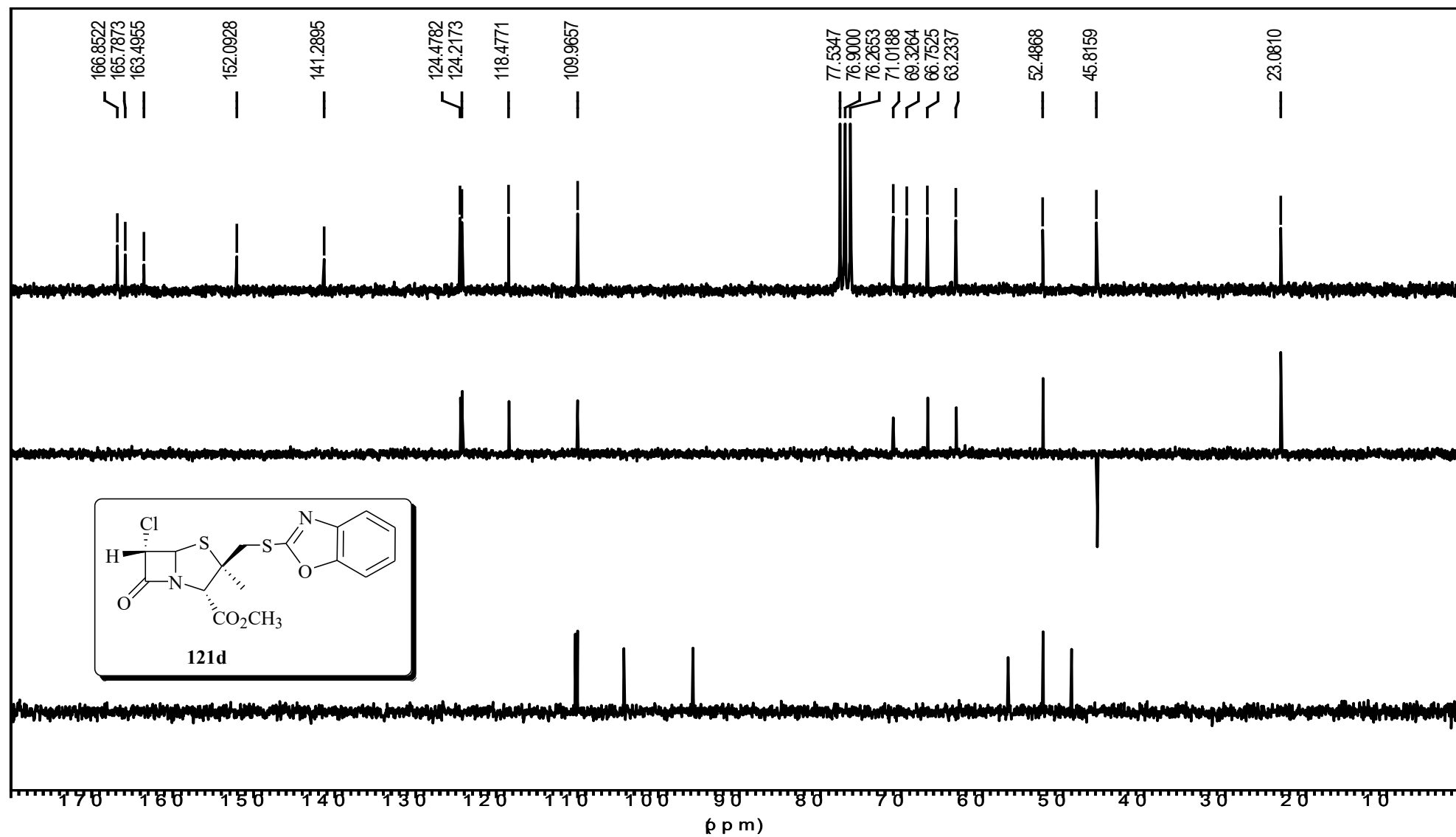


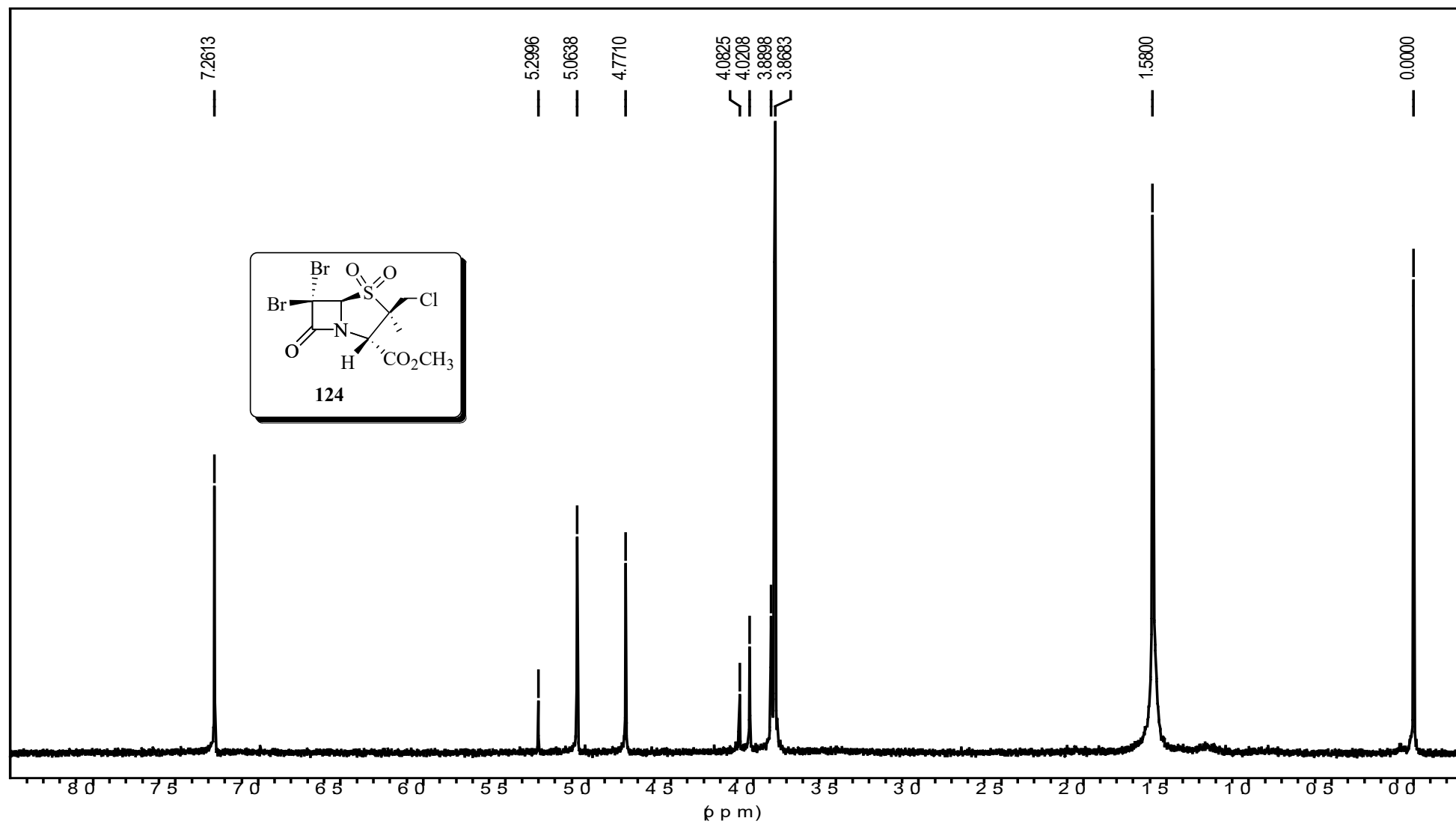


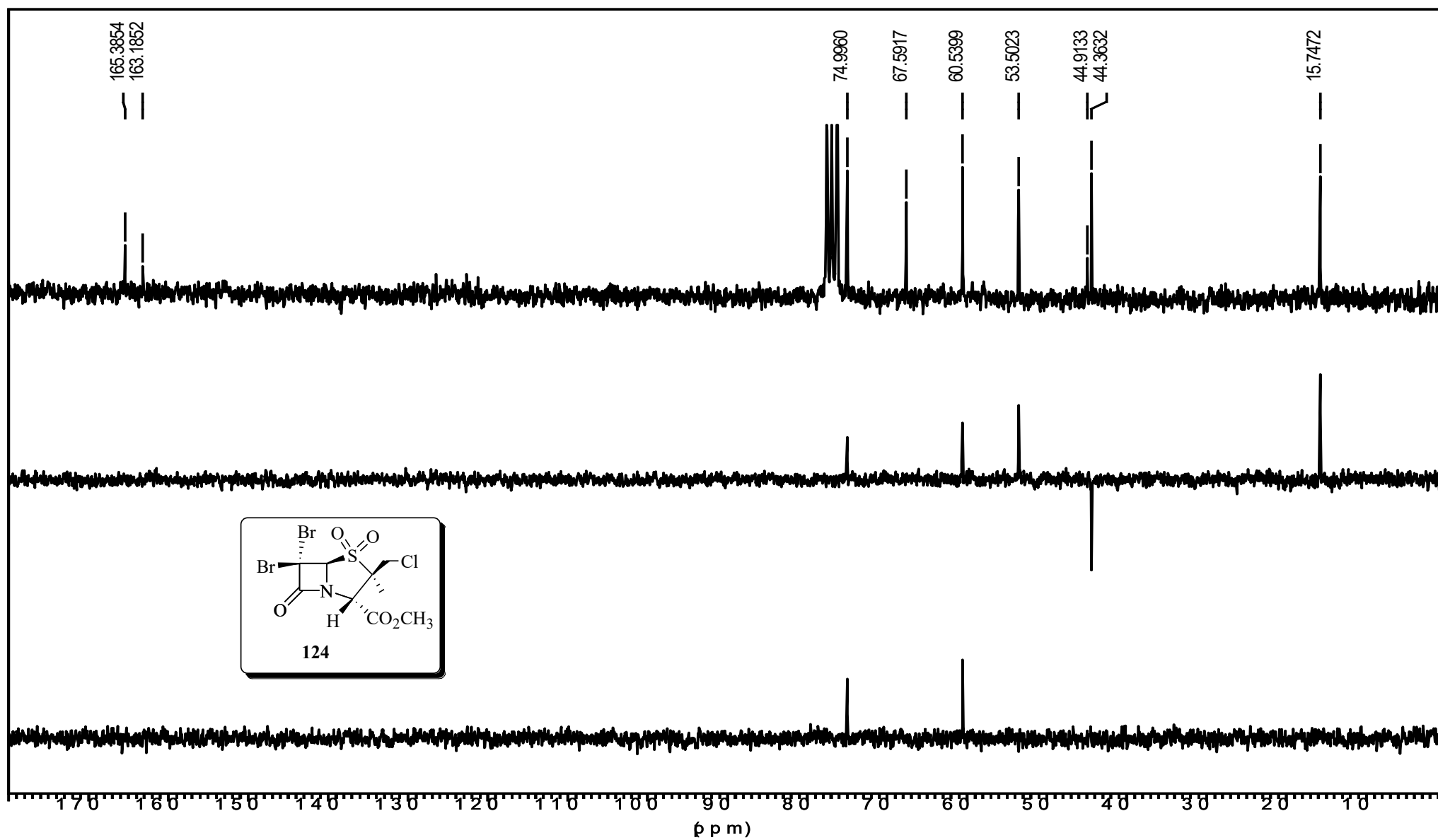






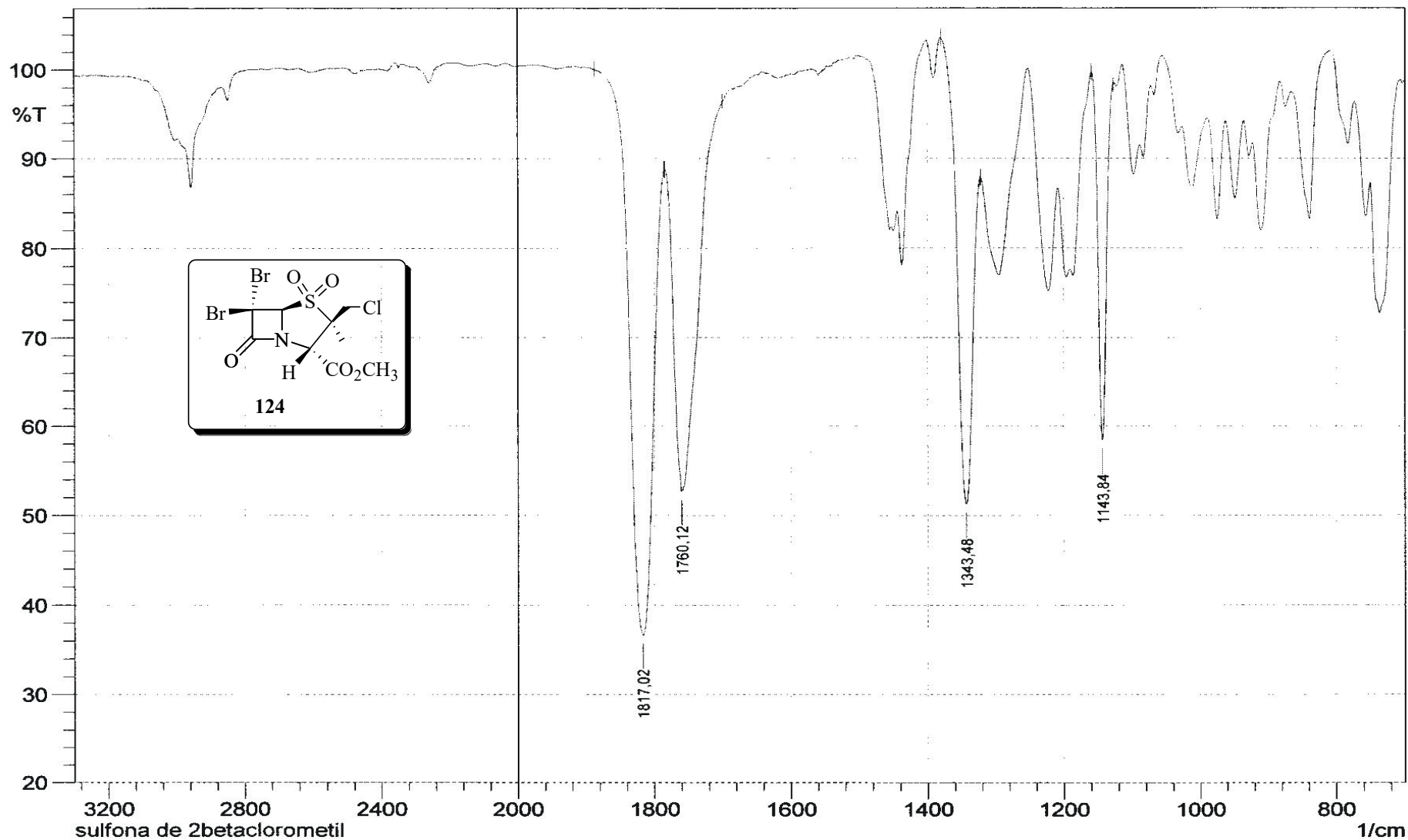




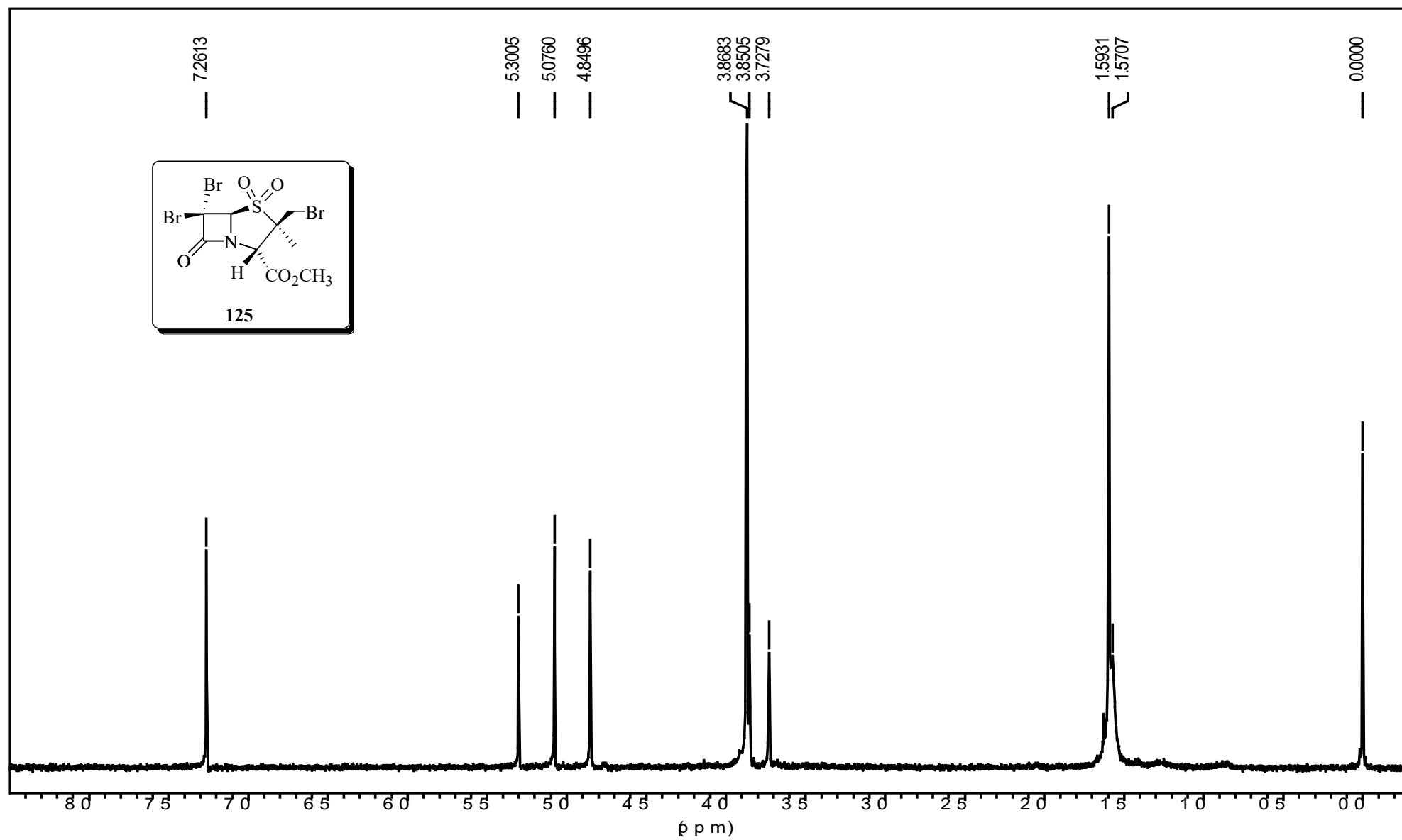


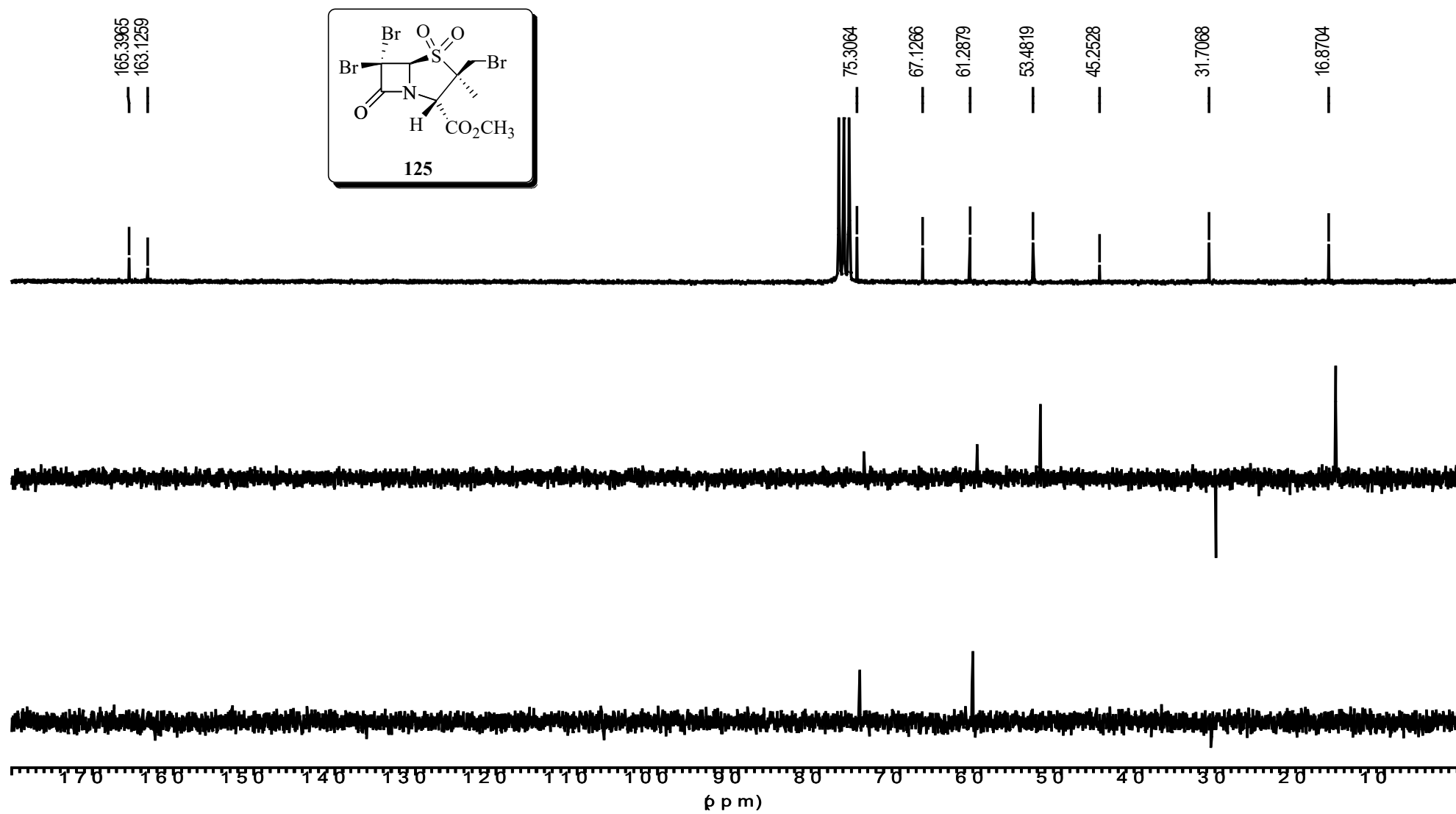
D:\espectros IR\Bibi\BB270.smf

Descripción: sulfona de 2betaclorometil

28/07/2005  
12:28:23 p.m.

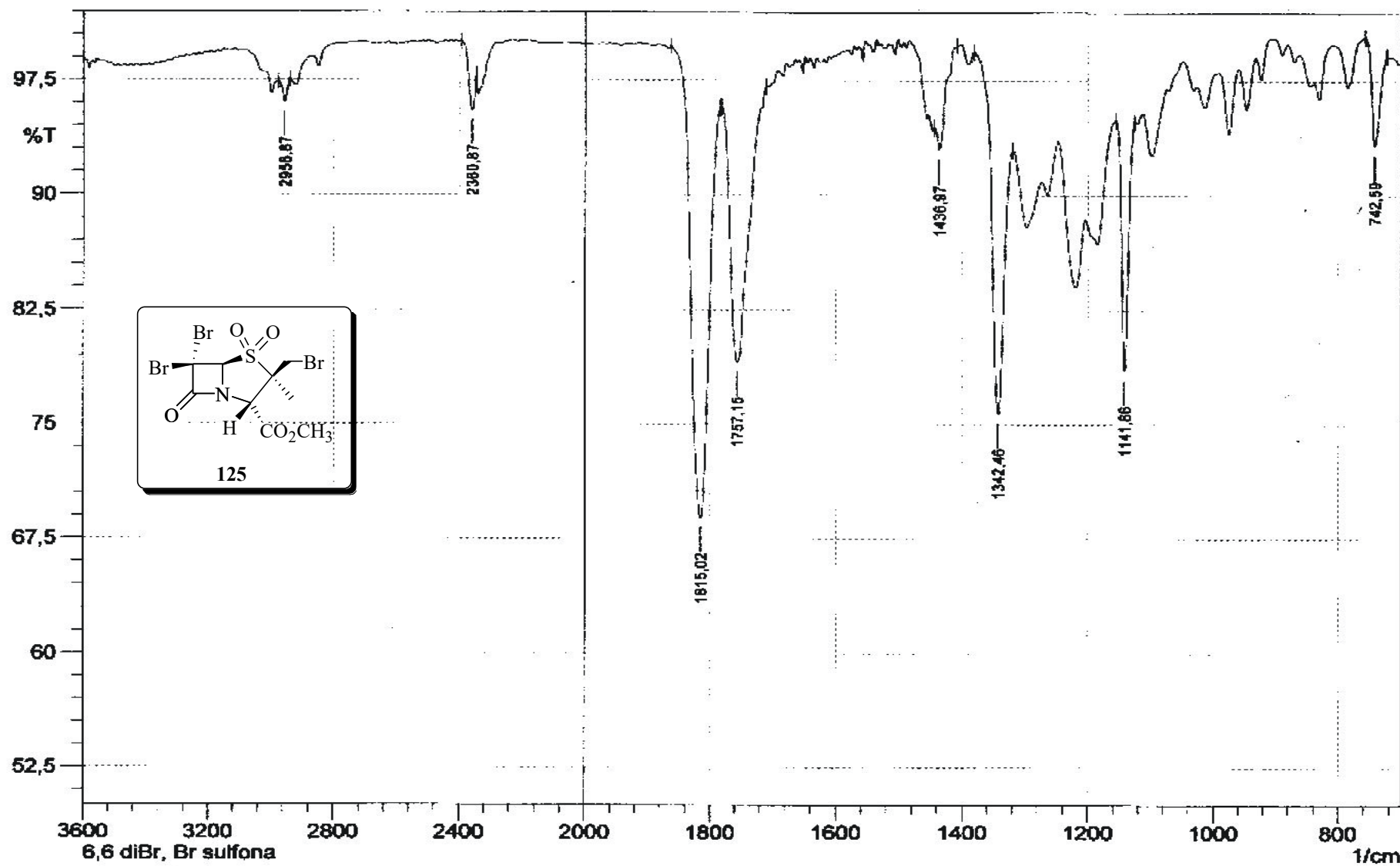
Peak	Corr. H
1	651,97 6,901
2	1143,8 40,728
3	1343,4 42,468
4	1760,1 38,363
5	1817,0 55,644





D:\espectros IR\Bibi\BB165.smf

Descripción: 6,6 diBr, Br sulfona

02/03/2005  
11:17:39 a.m.

# Capítulo VII

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Furka, A. "Introducción to Combinatorial Chemistry". *Advanced Chemtech Handbook of Combinatorial Solid Phase Organic Chemistry*. **1998**. pag.7.
- 2.- Seneci, P., *Solid-Phase Synthesis and Combinatorial Technologies*, Wiley-Interscience: New York, **2000**, pag. 136-137.
- 3.- Thomas, G.; "Medicinal Chemistry an Introduction" John Wiley & Sons: Chichester, Cap 1, **2000**.
- 4.- Furka, A., "Combinatorial chemistry: 20 years on..." *Drug Discov. Today*, **2002**, 7, 1-4.
- 5.- a) Merrifield, R.B., "Solid Phase Peptide Synthesis. I The Synthesis of a Tetrapeptide" *J. Am. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 2149-2185. b) Merrifield, R.B., "Solid-phase síntesis" *Science*, **1986**, 232, 341-347.
- 6.- Bunin, B.A.; Ellman, J. "A General and Expedient Method for the Solid-Phase Synthesis of 1,4-Benzodiazepine Derivatives" *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, 114, 10997-10998.
- 7.- Mitscher, L.; Dutta, A., "Combinatorial Chemistry and Multiple Parallel Synthesis" *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, John Wiley & Sons, 6° ed., **2003**, 2, 1-36.
- 8.- a) Dolle, R.E., "Comprehensive Survey of Combinatorial Library Synthesis: 2000" *J. Comb. Chem.*, **2001**, 3, 477-517. b) Dolle, R.E., "Comprehensive Survey of Combinatorial Library Synthesis: 2001" *J. Comb. Chem.*, **2002**, 4, 369-417. c) Dolle, R.E., "Comprehensive Survey of Combinatorial Library Synthesis: 2002" *J. Comb. Chem.*, **2003**, 5, 693-753. d) Dolle, R.E., "Comprehensive Survey of Combinatorial Library Synthesis: 2003" *J. Comb. Chem.*, **2004**, 6, 623-679.
- 9.- a) Zaragoza Dörwald, F., *Organic Synthesis on Solid Phase*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**. b) Burgess, K., *Solid Phase Organic Synthesis*, Wiley-Interscience: New York, **2000**. c) Czarnik, A.W., *Solid-Phase Organic Synthesis*, Wiley-Interscience: New York, **2001**. d) Referencia 2.
- 10.- Ver ref. [5a]
- 11.- Guillier, F.; Orain, D.; Bradley, M. "Linker and Cleavages Strategies in Solid-Phase Organic Synthesis and Combinatorial Chemistry" *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 2091-2158.
- 12.- Dryland, A.; Sheppard, R. C. "Solid-Phase Synthesis: Oligomeric Molecules" *J. Chem. Soc. , Perkin Trans. I*, **1986** , 125-131.

- 13.- Albericio, F.; Pons, M.; Pedroso, E.; Giralt, E. "Comparative study of supports for solid-phase coupling of protected-peptide segments". *J. Org. Chem.*, **1989**, 54-360-366.
- 14.- Meldal, M. "Pega: a flow stable polyethylene glycol dimethyl acrylamide copolymer for solid phase synthesis" *Tetrahedron Lett.*, **1992**, 33, 3077-3080.
- 15.- Han, H.; Wolfè, M.M.; Brenner, S.; Janda, K.D., "Liquid-phase combinatorial synthesis" *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **1995**, 92, 6419-6423.
- 16.- Wang, S.S "Solid-phase synthesis of protected peptide hydrazides. Preparation and application of hydroxymethyl resin and 3-(*p*-benzyloxyphenyl)-1,1-dimethylpropyloxycarbonylhydrazide resin" *J.Org.Chem.*, **1975** , 40, 1235-1239.
- 17.- Vaino, A.R.; Janda, K. D. "Solid-Phase Organic Synthesis: A Critical Understanding of the Resin" *J. Comb. Chem.*, **2000**, 2, 579-596.
- 18.- Toy, P. H.; Janda, K. D. "New supports for solid-phase organic synthesis: development of polystyrene resins containing tetrahydrofuran derived cross-linkers" *Tetrahedron Lett.*, **1999**, 40, 6329.-6332.
- 19.- Choi, M.; Toy, P. H. "An improved and general synthesis of monomers for incorporating trityl linker groups into polystyrene synthesis supports" *Tetrahedron*, **2004**, 60, 2903-2907.
- 20.- But, T.; Tashino, Y.; Togo, H.; Toy, P. H. "A multipolymer system for organocatalytic alcohol oxidation" *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, 970-971.
- 21.- Gilbertson, S.; Yamada, S "A study of catalyst selectivity with polymer bound palladium phosphine complexes on various solid phase synthesis supports" *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, 3917-3920.
- 22.- Takamura, M.; Funabashi, K.; Kanai, M. "Catalytic Enantioselective Reissert-Type Reaction: Development and Application to the Synthesis of a Potent NMDA Receptor Antagonist (-)-L-689,560 Using a Solid-Supported Catalyst" *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 6801-6808.
- 23.- Fujimori, T.; Wirsching, P.; Janda, K. "Preparation of a Kröhnke Pyridine Combinatorial Library Suitable for Solution-Phase Biological Screening" *J. Comb. Chem.*, **2003**, 5, 625-631.
- 24.- Clapham, B.; Lee, S.; Koch, G.; Janda, K. "The preparation of polymer bound  $\beta$ -ketoesters and their conversion into an array of oxazoles". *Tetrahedron Lett.*, **2002**, 43, 5407-5410.

- 25.- a) Bayer, E., "Towards the Chemical Synthesis of Proteins" *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **1991**, *30*, 113-129. b) Rapp, W.E., *Combinatorial Chemistry: Synthesis and Application*, Wilson, S. R.; Czarnik, A. W., (Eds.) Wiley, New York, **1997**, 65-93.
- 26.- Lloyd-Williams, P.; Albericio, F.; Giralt, E. "Convergent solid-phase peptide synthesis" *Tetrahedron*, **1993**, *49*, 11065-11133.
- 27.- Ajayagosh, A.; Pillai, V.N. "Polymer-supported synthesis of protected peptide segments on a photosensitive o-nitro(a-methyl)bromobenzyl resin" *Tetrahedron*, **1988**, *44*, 6661-6666.
- 28.- Fyles, T.; Leznoff, C. "The use of polymer Supports in Organic Synthesis" *Can.J. Chem.*, **1976**, *54*, 935-942.
- 29.- Wang, S. "Solid phase synthesis of protected peptides via photolytic cleavage of the .alpha-methylphenacyl ester anchoring linkage". *J. Org. Chem.*, **1976**, *41*, 3258-3261.
- 30.- Holte, P.; Thijs, L.; Zwanenburg, B. "Solid-phase synthesis of 3,5-disubstituted 1,3-oxazolidin-2-ones by an activation/cyclo-elimination process" *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 7407-7410.
- 31.- Zicos, C.; Ferderigos, N. "(R, S) 2-fluoro (chloro)-4'-carboxy-triphenyl methanol. Novel acid labile trityl type handles for solid phase peptide synthesis". *Tetrahedron Lett.*, **1994**, *35*, 1767-1768.
- 32.- Wang, S. "*p*-Alkoxybenzyl Alcohol Resin and *p*-Alkoxybenzyl oxycarbonylhydrazide Resin for Solid Phase Synthesis of Protected Peptide Fragments" *J. Am. Chem. Soc.*, **1973**, *95*, 1328-1333.
- 33.- Mergler, M.; Tanner, R.; Gosteli, J "Peptide synthesis by a combination of solid-phase and solution methods I: A new very acid-labile anchor group for the solid phase synthesis of fully protected fragments" *Tetrahedron Lett.*, **1988**, *29*, 4005-4008.
- 34.- Stranix, B.; Liu, H."Functional Polymers from (Vinyl)polystyrene. Recyclable Polymer-Supported Organosilicon Protecting Groups for Solid-Phase Synthesis". *J. Org. Chem.*, **1997**, *62*, 6183-6186.
- 35.- Stewart, J. M. *Solid Phase Peptide Synthesis*, Pierce Chemical Company, **1984**.
- 36.- Rich, D. H.; Gurwara, S.K. "Preparation of a new o-nitrobenzyl resin for solid-phase synthesis of tert-butyloxycarbonyl-protected peptide acids". *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**, *97*, 1575-1579.

- 37.- Pillai, V.N. "Photoremovable Protecting Group in Organic Synthesis" *Synthesis*, **1980**, 1-26.
- 38.- Link, A. ;Van Calenberg, S.; Herdewijin, P. "Practical method for the parallel synthesis of 2'-amido-2'-deoxyadenosines" *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 5175-5176.
- 39.- Gayo, L. M.; Suto, M. "Traceless linker: Oxidative activation and displacement of a sulfur-based linker" *Tetrahedron Lett.*, **1997**, *35*, 211-214.
- 40.- Kaiser, E.; Colescott, R.L.; Bossinger, C.D.; Cook, P.I., "Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptides" *Anal. Biochem.*, **1970**, *34*, 595-598.
- 41.- Ver en ref [9a], pag. 6-7.
- 42.-Yan, B. "Monitoring the Progress and the yield of Solid-Phase Organic" *Acc. Chem. Res.*, **1998**, *31*, 621-630.
- 43.- Egner, B. J.; Langley, G. J.; Bradley, M. "Solid Phase Chemistry: Direct Monitoring by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry. A Tool for Combinatorial Chemistry" *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 2652-2653.
- 44.- Giralt, E.; Rizo, J.; Pedroso, E. "Application of Gel-Phase <sup>13</sup>C-NMR to Monitor Solid Phase Peptide Synthesis" *Tetrahedron*, **1984**, *40*, 4141-4152.
- 45.- Wehler, T.; Westman, J., "Magic Angle Spinning NMR: A Valuable tool for Monitoring the Progress of Reactions in Solid Phase Synthesis" *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 4771-4774.
- 46.- Hodge, P. "Polymer-supported organic reactions: what takes place in the beads?". *Chem. Soc. Rev.*, **1997**, *26*, 417-424.
- 47.- Blackburn, C.; Albericio, F.; Kates, S.A. "Resin and linkers for Solid-Phase Synthesis of small molecules" *Recent Res. Devel. In Organic Chem.*, **1997**, *1*, 477-495.
- 48.- Seneci, P. *Solid-Phase Synthesis and Combinatorial Technologies*, Wiley-Interscience: New York, **2000**, Cap. 3, pag. 93-95.
- 49.- Ver en ref. [48], pag. 95-96.
- 50.- Ver: Glosario de términos usados en Química Combinatoria, IUPAC, *Pure Appl. Chem.*, **1999**, *71*, 2349-2365.
- 51.- Adlington, R. M.; Baldwin, J. E.; Chen, B.; Cooper, S. L.; McCoull, W.; Pritchard, G. J.; Howe, T. J.; Becker, G. W.; Hermann, R. B.; McNulty, A. M.;

- Neubauer, B. L. "Design and Synthesis of novel Monocyclic  $\beta$ -Lactam Inhibitors of Prostate Specific Antigen" *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1997**, *7*, 1689–1694.
- 52.- Han, W. T.; Trehan, A. K.; Wright, J. J.; Federeci, M. E.; Seiler, S. M.; Meanwell, N. A. "Stereoselective Synthesis, Chemistry and Antiviral Evaluation of 1-(2,3-Dideoxy-3-C-hydroxymethyl- $\beta$ -D-*threo*-pentofuranosyl)thymine Derivatives" *Bioorg. Med. Chem.*, **1995**, *3*, 1123–1143.
- 53.- Borthwick, A. D.; Weingarten, G.; Haley, T. M.; Tomaszewski, M.; Wang, W.; Hu, Z.; Bedard, J.; Jih, H.; Yuen, L.; Mansour, T. S., "Desing and Synthesis of Monocyclic  $\beta$ -Lactams as Mechanism-Based Inhibitors of Human Cytomegalovirus Protease" *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, *8*, 365–370.
- 54.- Cvetovich, R.J.; Chartran, M.; Hartner, F.W.; Roberge, C.; Amato, J.S.; Grabowski, E.J., "An Asymmetric Synthesis of L-694,458, a Human Leukocyte Elastase Inhibitor, via Novel Enzyme Resolution of  $\beta$ -Lactam Esters" *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 6575-6580.
- 55.- a) Setti, E. L.; Davis, D.; Chung, T.; McCarter, J. "3,4-Disubstituted Azetidiones as Selective Inhibitors of the Cysteine Protease Cathepsin K. Exploring P2 Elements for Selectivity" *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 2051–2053. b) Zhou, N. E.; Guo, D.; Thomas, G.; Reddy, A. V. N.; Kaleta, J.; Purisima, E.; Menard, R.; Micetich, R. G.; Singh, R. "3-Acylamino-azetidin-2-one as a Novel Class of Cysteine Proteases Inhibitors" *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**, *13*, 139–141.
- 56.- Rosenblum, S.B.; Huynh, T.; Alfonso, A.; Davis, H.R.; Yumibe, N.; Clader, J.W.; Burnett, D.A. "Discovery of 1-(4-Fluorophenyl)-(3*R*)-[3-(4-fluorophenyl)-(3*S*)-hydroxypropyl]-(4*S*)-(4-hydroxyphenyl)-2-azetidinone (SCH 58235): A Designed, Potent, Orally Active Inhibitor of Cholesterol Absorption" *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 973-980.
- 57.- Chain, E.; Florey, H.; Gardner, A.; Heatley, N.; Jennings, M.; Orr-Ewing, J "Penicillin as a Chemoterapeutic Agent" *Lancet*, **1940**, *2*, 226-228
- 58.- Page, M. I., "The Chemistry of  $\beta$ -lactams"; *Chapman and Hall*, Londres, **1992**, Cap. 5.
- 59.- Fisher, J.; Meroueh, S. Mobasherry, S. "Bacterial resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics: Compelling opportunism, compelling opportunity" *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 395-424.

- 60.- Ambler, R. "The Structure of  $\beta$ -lactamasas" *Phil. Trans. R. Soc.Lond. B.* **1980**, 289, 321-331.
- 61.- Richmond, M. H.; Sykes, R. B. "The  $\beta$ -lactamases of gram-negative bacteria and their possible physiological role" *Adv. Microv. Physiol.*, **1973**, 9, 31-88.
- 62.- Bush, K.; "Characterization of  $\beta$ -lactamases" *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1989**, 33, 259-263.
- 63.- Bush, K.; Jacoby, G. A.; Madeiros, A. A.; "A funtional Classification Scheme for  $\beta$ -lactamases and its Correlation with Molecular Structure" *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **1995**, 39, 1211-1233.
- 64.- Brown, A.; Butterworth, D.; Cole, M.; Hanscomm, G.; Hood, J.; Reading, C. "Naturally-occurring  $\beta$ -lactamase inhibitors with antibacterial activity" *Journal of Antibiotics*, **1976**, 29, 668-669.
- 65.- Brown, A.; Corbett, D.; Eglinton, A. ; Hoharth, T. "Structures of olivanic acid derivative MM4550 and MM 13902" *J. Chem. Soc.; Chem. Commun.*, **1977**, 523-525.
- 66.- a) Howart, T. T.; Brown, A. G.; King, T. J. "Clavulanic acid, a novel  $\beta$ -lactam isolated from *Streptomices clavuligerus*; X-ray cristal structure analysis". *J.Chem.Soc., Chem Commun.*, **1976**, 266-267. b) Reading, C.; Cole, M. "Clavulanic acid: a  $\beta$ -lactamase-inhibition  $\beta$ -lactam from *Streptomices clavuligerus*", *Antimicrob. Agents Chemoter.*, **1977**, 11, 852-857.
- 67.- a) Neu, H. C.; Fu, K. P.; "Clavulanic acid, a novel inhibitor of  $\beta$ -lactamases"; *Antimicrob. Agents Chemoter.*, **1978**, 14, 650-655. b) Reading, C.; Hepburn, P. "The inhibition of Staphylococcal  $\beta$ -lactamase by clavulanic acid" *Biochem. J.*, **1979**, 179, 67-76.
- 68.- Knowles, J. R. "Penicillin resistance: the chemistry of  $\beta$ -lactamase inhibition" *Acc. Chem. Res.*, **1985**, 18, 97-104.
- 69.- Danelon, G."Síntesis y evaluación de análogos de inhibidores enzimáticos con estructura  $\beta$ -lactámica" Tesis doctoral (IQUIOS), **1995**, pag. 33-45.
- 70.- Hecker. S.J. " Discovery of MC-02,331, a new Cephalosporin exhibiting Potent Activity Against Methicillin Resistant *Stafilococcus aureus*" *Journal of Antibiotics*, **1998**, 51, 722-734.

- 71.- Fisher, J. Charmas, R.L. Bradley, S. M. Knowles, J. R.; "Inactivation of the RTEM  $\beta$ -lactamase from *Escherichia Coli*. Interaction of Penam Sulfones with enzyme" *Biochemistry*, **1981**, 20, 2726-2727.
- 72.-Clayton, J.P. "Chemistry of penicillanic acids. I. 6,6-dibromo and 6,6-diiodo derivatives", *J. Chem. Soc. C.*, **1969**, 16, 2123-2127.
- 73.- Volkmann, R. A.; Carroll, R. D.; Drolet, R. B.; Elliot, M. L.; Moore, B. S. "Efficient Preparation of 6,6-Dihalopenicillanic Acids. Synthesis of Penicillanic Acid S,S-Dioxide (Sulbactam)" *J. Org. Chem.*, **1982**, 47, 3344-3347.
- 74.- Testa, E. Signarella, G. Pifferi, G. "6-Chloro- and 6-Bromopenicillanic Acids". *J. Org. Chem.*, **1962**, 27, 2668-2669.
- 75.- McMillan, I; Stoodley, R. J. "A novel rearrangement of methyl 6-chloropenicillanate" *Tetrahedron Lett.*, **1966**, 7, 1205-1207.
- 76.- Micetich, G. R.; Maiti, S. N.; Spevak, P. "Synthesis 2 $\beta$ -azidometilpenicillin-1,1-dioxides and 3 $\beta$ -azido-3 $\alpha$ -metilcephan-1,1-dioxides" *Synthesis*, **1986**, 292-296.
- 77.- Hiriki, K. Igano, K. Inouye, K. "Synthesis of the Merrifield resin esters of N-protected amino acids with the aid of hydrogen bonding" *Chem. Lett.*, **1978**, 165-168.
- 78.- Mata, E. G. " $\beta$ -lactams on Solid Support: Mild and Efficient Removal of Penicillin Derivatives from Merrifield resin using Aluminium Chloride", *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 6335-6338.
- 79.- Ishiwuata, A.; Kotra, P.; Nagase, T.; Mobasherry, S. "Stereoselective Reduction of  $\alpha$ -bromopenicillanates by Tributylphosphine" *Organic Lett.*, **2000**, 2, 2889-2892.
- 80.- Gottstein, W. J. ; Crast, L. B.; Graham, R. G. "Synthesis and  $\beta$ -lactamase inhibitory properties of 2 $\beta$ -(chloromethyl)-2 $\alpha$ -methylpenam-3 $\alpha$ -carboxylic acid 1,1 dioxido" *J. Med. Chem.*, **1981**, 24, 1531-1534.
- 81.- Chauvette, R.R.; Pennington, P. A.; Ryan, C. W.; Cooper, R. D. G.; José, F.L.; Wright, I. G.; Van Heyningen, E. M.; Huffman, G. W. "Chemistry of Cephalosporin Antibiotics. XXI. Conversion of penicillins to cephalixin" *J. Org. Chem.*, **1971**, 36, 1259-1267.
- 82.- Kamiya, T.; Teraji, T.; Saito, T.; Saito, Y.; Hashimoto, M.; Nakagushi, O.; Oku, T. "Studies on  $\beta$ -lactam Antibiotics. I. A novel Conversion of Penicillins into Cephalosporins" *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 32, 3001-3004.

- 83.- Cooper, R. D.; "Structural studies on Penicillin derivatives. V. Penicillin sulfoxide-sulfenic acid equilibrium" *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, *92*, 5010-5011.
- 84.- Maiti, S.M.; Spevak, P.; Wong, R.; Reddy, N. A. V.; Micetich, R. G.; Ogawa, K. "Synthesis and  $\beta$ -Lactamase Inhibitory Activity of 2,2-Bis(Monosubstituted) Methylpenicillin Sulfones". *Heterocycles*, **1991**, *32*, 1505-1515.
- 85.- "Advanced Chemtech Handbook of Combinatorial & Solid Phase Organic Chemistry"; Advanced Chemtech, Louisville, Kentucky, **1998**, pág. 101.
- 86.- Torii, S.; Tanaka, H. ; Tanaka, M.; Nakai, A. "Synthesis and  $\beta$ -lactamase inhibitory properties of 2 $\beta$ -(thio-substituted methyl)-penam 1,1 dioxides", *Journal of Antibiotics*, **1988**, *4*, 579-582.
- 87.- Von Daehne, W. ; Hoffmeyer, L. ; Keiding, J. "Rearrangement of unsymmetrical ezetidione disulfides to 2 $\beta$ -(heterocyclthiometil)-penams, a synthetic approach to new  $\beta$ -lactamase inhibitors" *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, **1993**, *3*, 2247-2252.
- 88.- Alpegiani, M.; Giudici, F.; Perrone, E.; Borghi, D. "Rearrangement of unsym-azetidione disulphides to 2 $\beta$ -(thio-substituted methyl)penams" *Tetrahedron Lett.*, **1990**, *24*, 3509-3512.
- 89.- Greenhalgh, R. P. "Selective Oxidation of Phenyl Sulphides to Sulphoxides or Sulphones Using Oxone and wet Alumina" *Synlett*, **1992**, 235-236. (Oxone es marca registrada de Aldrich Chemical Co. y contiene 2 mol equiv. de KHSO<sub>5</sub>, 1 mol equiv. de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y 1 mol equiv. de KHSO<sub>4</sub>).
- 90.- Gokel, G. W.; Gerdes, H. M.; Dishong, "Sulfur Heterocycles Heterogeneous, Phase-transfer, and acid-catalized Potassium Permanganate Oxidation of Sulfides to Sulfonas and a Survey of their <sup>13</sup>C Nuclear Magnetic Resonance Spectra" *J. Org. Chem.*, **1980**, *45*, 3634-3639.
- 91.- Belinzoni, D.; Setti, E. ; Mascaretti, O. "Stereocontrolled acces to (R) and (S) sulphoxides of penam derivatives and conformational analysis by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR.of (pivaloyloxi)methyl 6,6-dibromopenicillanates, their sulphoxides and sulphones" *J. Chem. Research (S)*, **1988**, 176-177; *J. Chem. Research (M)*, **1988**, 1501-1536.
- 92.- Lloyd-Williams, P.; Albericio, F.; Giralt, E. Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins; CRC: Boca Ratón, Florida, USA, **1997**.

- 93.- Bhalay, G.; Blaney, P.; Palmer, V. H.; Baxter, D. "Solid-phase synthesis of diverse tetrahydro-1,4-benzodiazepine-2-ones" *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, 8375-8378.
- 94.- Kuster, G.J.; Schereen, H.W. "High pressure promoted tandem [4+2]/[3+2] cycloadditions on the solid phase" *Tetrahedron Lett.*, **1998**, 39, 3613-3616.
- 95.- Kim, C.U.; Misco, P.F. "New oxidatively removable carboxy protecting groups" *Tetrahedron Lett.*, **1985**, 26, 2002-2030.
- 96.- Mori, S.; Iwakura, H.; Takechi, S. "A new amidoalkynylation using alkynylzinc reagent" *Tetrahedron Lett.*, **1988**, 29, 5391-5394.
- 97.- James, I. W. "Linker for Solid Phase Organic Synthesis" *Tetrahedron*, **1999**, 55, 4855-4946
- 98.- Delpiccolo, C.M.L.; Méndez, L.; Fraga, M.A.; Mata, E.G. "Exploring the Solid-Phase Synthesis of 3,4-Disubstituted  $\beta$ -Lactams: Scope and Limitations" *J. Comb. Chem.* **2005**, 7, 331-344.
- 99.- Belinzoni, D. U., Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires, **1985**, pág. 17-21, 70-76, 117-119, 147.
- 100.- Harrison, C.; Hodge, P. "Determination of the configuration of some Penicillin S-oxides by  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy" *J. Chem. Soc., Perkin Trans I*, **1976**, 1772-1776.
- 101.- Gottstein, W. J.; Haynes, U. J.; McGregor, D. N. "Synthesis and beta-lactamase inhibitory properties of beta-[(acyloxy)methyl]-alpha-methylpenam-alpha-carboxylic acid 1,1-dioxides" *J. Med. Chem.*, **1985**, 28, 518-522.
- 102.- Still, W.C.; Kahn, M.; Mitra, A.J. "Rapid chromatographic technique for preparative separations with moderate resolution" *J. Org. Chem.*, **1978**, 43, 2923-2925.
- 103.- (a) Furniss, B. S.; Hannaford, A. J.; Rogers, V.; Smith, P. W. G.; Tatchel, A. R. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*; 4<sup>o</sup> ed.; Longman Inc.: New York, **1978**. (b) Perrin, D. D.; Armarengo, W. L. F.; Perrin, D. R. *Purification of laboratory Chemicals*; 2<sup>o</sup>: Pergamon Press: Oxford, **1980**.