



Universidad Autónoma de Madrid
Facultad de Ciencias
Departamento de Química Orgánica

*Síntesis, estructura y actividad biológica de heterociclos,
híbridos péptido-heterociclo y péptido-carbohidrato*



Memoria que presenta
Roberto Chicharro Martín
Para optar al grado de
Doctor en Ciencias Químicas

Madrid, 2007

A mis padres y hermanos

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis Doctoral ha sido realizada en los Departamentos de Productos Naturales y Quimioterapia de los Institutos de Química Orgánica General y Química Médica del CSIC respectivamente, bajo la dirección de los Drs. Bernardo Herradón y Vicente J. Arán, a quien quiero expresar mi más sincero agradecimiento por haber sabido transmitirme su entusiasmo, ánimo, buenos consejos y permanente apoyo durante todos estos años.

También agradezco su labor al Dr. Bernardo Herradón y a la Dra. Pilar Goya, Directores de los Institutos de los Química Orgánica General y Química Médica respectivamente, así como a sus predecesores.

A la Dras. Marta Iglesias y Camino González del Instituto de Ciencias de Materiales de Madrid del CSIC, por ofrecerme la posibilidad de realizar una de las principales reacciones de esta Tesis Doctoral en su laboratorio.

A los Drs. M. A. Maestro de la Universidad de A Coruña, y Enrique Gutiérrez Puebla del Instituto de Ciencias de Materiales de Madrid del CSIC, por los experimentos de difracción de Rayos X.

Al Dr. José M^a Navas, del Instituto Nacional de Investigaciones y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), por facilitarnos tanto el espacio como el instrumental para llevar a cabo las medidas de actividad biológica.

A la Dra. M^a Luisa Jimeno por su ayuda en la realización de los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear. Igualmente, quisiera hacer extensivo este agradecimiento al personal especializado del centro (IR, Masas, Microanálisis, RMN, etc.) y especialmente a Dña. Mercedes Plaza y Dña. M^a Dolores Casado, gracias a su ayuda y eficiencia se ha agilizado enormemente el trabajo llevado a cabo durante estos últimos años, les estoy sinceramente muy agradecido.

A la empresa Ercros S.A., División de Farmacia, al Ministerio de Ciencia y Tecnología (proyecto CTQ 2004-01978), a la Comunidad Autónoma de Madrid (proyecto GR/SAL/0652/2004) y a la Fundación "La Caixa" (proyecto 02/162-02), por el apoyo financiero prestado para el desarrollo de esta Tesis Doctoral.

A continuación, y una vez finalizados los agradecimientos formales, quisiera agradecer de forma individual la labor realizada o el apoyo prestado durante la realización de esta Tesis Doctoral:

Al Dr. Vicente J. Arán, que aparte de ser mi codirector es uno de los principales responsables de la finalización de este trabajo, puesto que allá por el año 1999 me aceptó en su grupo mostrándome poco a poco el mundo de la Química Orgánica y contagiándome paulatinamente y día tras día su entusiasmo hasta tal punto que creo que no voy a poder desligarme de esta disciplina.

A los Drs. Enrique Mann y Ana Montero, por ofrecerme la oportunidad de pertenecer al grupo del Dr. Bernardo Herradón así como su apoyo y amistad prestados durante esta andadura.

A Iván Escabias y Ana María Onivea por su enorme ayuda e interés en el trabajo diario del laboratorio, siendo ambos mi mano derecha en gran parte del trabajo presentado en esta Tesis Doctoral.

A Mercedes Alonso por la realización de los ensayos de actividad biológica y difracción de Rayos X; estudios sin los que este trabajo estaría cojo al igual que el grupo sino teuviésemos, gracias por tu apoyo y buenos consejos en todo momento.

A Carlos Miranda por llevar a cabo concienzudamente los estudios de modelización molecular y, muy especialmente por la amistad que nos une forjada a base de golpes del destino mas o menos certeros.

A Federico Estévez y Mayte Mazo por su constante amistad a pesar de mi mal humor y riñas (merecidas) en muchos momentos de esta travesía.

Finalmente, quisiera agradecer a todos mis amigos y compañeros del centro que han hecho mucho más agradables y llevaderos estos años:

A los Antonios, Ángela, Alfredo, Carolina, Christophe, a las Cristinas, Esperanza, Felipe, Isabel, Laura, Laurent, Manfred, Mariana, Ana Nácher, Nadine, Nono, a los Joses, Juanjo, Pablo Herrera, Sergio, Sonia, etc., a la gente del departamento de Síntesis (Jorge, Mariola, Ana, Aída, Alex, Nadia, Mercedes, Luis, Sergio, etc.), a la gente de Productos Naturales (Elsa, Héctor, Mari Carmen de la Torre, ...), así como a la de Fermentaciones Industriales (Tomás, Juan y Hugo) e Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (Dr. Bello).

Por último, y no por ello menos importante, quisiera agradecer, de una manera muy especial, a mis padres y hermanos, a quien va dedicada esta Tesis Doctoral, por su enorme apoyo durante tantos años y por estar ahí, en todo momento.

A TODOS... Muchas gracias.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1.- INTRODUCCIÓN	1
1.2.- OBJETIVOS	6

CAPÍTULO 2: SÍNTESIS, ESTUDIO Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE HÍBRIDOS PÉPTIDO HETEROCICLO

2.1.- INTRODUCCIÓN.....	9
2.2.-ESPOSICIÓN DE RESULTADOS	25
2.2.1.- Construcción del anillo de isoquinolina: síntesis de ácidos (1-oxoisoquinol-4-iliden)acéticos.....	25
2.2.2.- Transformaciones químicas de ácidos (1-oxoisoquinol-4-iliden)acéticos y derivados ..	37
2.2.2.1.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona	37
2.2.2.2.- <i>N</i> -Metilación de ésteres	42
2.2.2.3.- Síntesis de ésteres del ácido 30	43
2.2.2.4.- Síntesis de amidas del ácido 30	45
2.2.2.5.- Síntesis de híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona	47
2.2.2.6.- Síntesis de ácidos (1-tioxisoquinol-4-iliden)acéticos y derivados	48
2.2.2.7.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona	54
2.2.2.8.- Síntesis del ácido (1-cloroisoquinol-4-il)acético y derivados	55
2.2.2.9.- Síntesis de ésteres del ácido (1-oxo-4-vinilisoquinol-4-il)acético y derivados vía transposición de Claisen-Johnson, y de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona.	57
2.3.- ANÁLISIS CONFORMACIONAL DE HÍBRIDOS PÉPTIDO-ISOQUINOLINA	59
2.3.1.- Conformación de péptidos	59
2.3.1.1.- Espectroscopía IR mediante transformada de Fourier (FT-IR)	62
2.3.1.2.- Resonancia magnética nuclear	64
2.3.2.- Análisis conformacional de compuestos sin fragmento peptídico, híbridos péptido heterociclo e híbridos bifenilo-isoquinolinona	67
2.3.2.1.- Experimentos de espectroscopia IR mediante transformada de Fourier (FT-IR)67	

2.3.2.2. Experimentos de espectroscopia de RMN	81
2.3.2.2.1.- Cálculo de los coeficientes de temperatura de los grupos NH en los compuestos 24 , 39 , 61-63 , 67	83
2.3.3.- Modelización computacional	94
2.3.3.1.- Metodología empleada	94
2.3.3.2.- Análisis conformacional de 61	95
2.3.4 RMN a temperatura variable de los compuestos 61 y 62	96
2.3.4.1.- Calculo de los parámetros termodinámicos en el proceso de isomerización de 61 y 62 mediante RMN dinámica	98
2.4.- ESTUDIOS DE INHIBICIÓN DE CALPAÍNA	107
2.4.1.- Las calpaínas	107
2.4.2.- Inhibidores de calpaínas	113
2.4.3.- Isoquinolinas, inhibidores sintéticos e híbridos péptido isoquinolina como inhibidores de calpaína	119
2.5.- PARTE EXPERIMENTAL	137
2.5.1.- Técnicas generales utilizadas	137
2.5.2.- Síntesis de ácidos (1-oxoisoquinol-4-iliden)acéticos	140
2.5.3.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolina. Síntesis derivados de ácidos (1-oxoisoquinol-4- iliden)acéticos	160
2.5.3.1.- Procedimiento general para la síntesis de péptidos	160
2.5.3.2.- Procedimiento general par la síntesis de híbridos péptido-isoquinolina	161
2.5.4.- Síntesis derivados de ácidos (1-oxoisoquinol-4-iliden)acéticos	183
2.5.4.1.- Procedimiento para la <i>N</i> -metilación de 24	183
2.5.4.2.- Síntesis de ésteres del ácido 30 . Procedimiento general	184
2.5.4.3.- Síntesis de amidas del ácido 30 . Procedimiento general	190
2.5.4.4.- Síntesis de híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona a partir de 62 . Procedimiento general	195
2.5.4.5.- Síntesis de ácidos (1-tioisoquinoliniliden)acéticos y derivados	202
2.5.4.6.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona. Procedimiento general	207
2.5.4.7.-Síntesis del ácido (1-cloroisoquinolin-4-il)acético y derivados. Procedimiento general	209
2.5.4.8.- Síntesis de ésteres del ácido (1-oxo-4-vinilisoquinolin-4-il)acético y derivados. Síntesis de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona	214

CAPÍTULO 3: SÍNTESIS Y ESTUDIO BIOLÓGICO DE HÍBRIDOS PÉPTIDO CARBOHIDRATO

3.1.- INTRODUCCIÓN.....	221
3.2.-ESPOSICIÓN DE RESULTADOS	226
3.2.1.- Síntesis y transformaciones químicas sobre derivados de 3,6-dihidro-2 <i>H</i> -pirano	226
3.2.2.- Transformaciones químicas sobre el compuesto 91	230
3.2.2.1.- Síntesis de los benzoatos 101-108	230
3.2.2.2.- Síntesis de los híbridos aminoácido-carbohidrato 109 y 110	231
3.2.2.3.- Síntesis de los monobenzoatos 112 y 114	232
3.2.2.4.- Síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato 116	233
3.3.-ESTUDIOS DE INHIBICIÓN DE CALPAÍNA	234
3.4.- PARTE EXPERIMENTAL	241
3.4.1.- Técnicas generales utilizadas	241
3.4.2.- Síntesis de derivados de 3,6-dihidro-2 <i>H</i> -pirano	244
3.4.3.- Transformaciones químicas sobre el compuesto 91	255
3.4.3.1.- Procedimiento general para la síntesis de compuestos diacilados	255
3.4.3.2.- Procedimiento general para la síntesis de los híbridos 109 y 110	262
3.4.3.3.- Procedimiento general para la síntesis de compuestos mono-acilados y derivados	264
3.4.3.4.- - Procedimiento general para la síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato 116	267

CAPÍTULO 4: SÍNTESIS DE ATORVASTATINA CÁLCICA.

4.1.- INTRODUCCIÓN	273
4.1.1.- El colesterol y su problemática en nuestros días	273
4.1.2.- Fármacos anticolesterolérgicos	277
4.1.3.- Las estatinas como anticolesterolergicos. Otras aplicaciones actuales	280
4.1.4.- Antecedentes en la síntesis de atorvastatina	283
4.1.5.- Medicamentos genéricos	295

4.2.-ESPOSICIÓN DE RESULTADOS	297
4.2.1.- Síntesis de atorvastatina	297
4.2.2.- Transformaciones químicas sobre derivados intermedios de la secuencia sintética	306
4.2.2.1.- Síntesis de la yodo lactona 125	307
4.2.2.2.- Cianación catalizada por paladio(0). Síntesis de 126 y transformaciones sobre éste	308
4.2.2.3.- Síntesis de futuros inhibidores de calpaína	309
4.3.- PARTE EXPERIMENTAL	311
4.3.1.- Técnicas generales utilizadas	311
4.3.2.- Síntesis de atorvastatina cálcica	314
4.3.3.- Transformaciones químicas sobre derivados intermedios de la secuencia sintética	322
4.3.3.1.- Hidrólisis de los grupos protectores de 120 : formación de la lactona 6-(4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)[2-(3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]-4-hidroxitetrahidropiran-2-ona (124) y derivados	322
4.3.3.2.- Cianación del pirrol 121 : síntesis de 2-{6-(4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)[2-(4-ciano-3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]}-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il} acetato de <i>terc</i> -butilo (126) y derivados	324
4.3.3.3.- Síntesis de (<i>S</i>)-2-(3-fenil-2-fluorofenil-5-isopropilpirrol-1-il)-3-fenilpropanoato de metilo (128) y derivados	326

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

5.1.- CONCLUSIONES	331
---------------------------------	------------

ANEXOS

ANEXO I. ESPECTROS DE RMN	335
ANEXO II. DIFRACCIÓN DE RAYOS X	357

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

1.1.- INTRODUCCIÓN	1
1.2.- OBJETIVOS	6

1.1.-INTRODUCCIÓN

A la hora de buscar nuevos compuestos con actividad frente a una determinada diana terapéutica, el reto se puede abordar de diversas maneras: en primer lugar y de forma tradicional, se han buscado nuevas entidades químicas en la naturaleza, ya sea en la flora o en la fauna, tanto en la terrestre como, más recientemente, en la marina. Otra posibilidad es la transformación de estas entidades en otras por medio de modificaciones químicas para mejorar o posibilitar la actividad en cuestión. Una última opción a reseñar, consiste en tomar estas estructuras presentes en la naturaleza o sus posteriores modificaciones y utilizarlas como moldes de anclaje de otras entidades también de origen natural (aminoácidos, terpenos, alcaloides, etc.) o de origen sintético, generando de este modo gran diversidad molecular.

Los péptidos y compuestos relacionados se han utilizado¹ con fines diversos, entre los que podemos destacar el estudio del mecanismo de plegamiento de proteínas,² la obtención de nuevos materiales con fines tecnológicos³ o como catalizadores quirales,⁴ aunque siempre teniendo en mente como principal objetivo la obtención de nuevos fármacos.

¹ A. E. P. Adang, P. H. H. Hermkens, J. T. M. Linders, H. C. J. Ottenheijm, C. J. van Staveren, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, *113*, 63-78. A. Undén, T. Bartfai en *Interface between Chemistry and Biochemistry*; Eds., P. Jollès, H. Jörnvall, Birkhäuser Verlag: Basel; **1995**; pp 229-255. *Peptides: Synthesis, Structures, and Applications*; Ed., B. Gutte; Academic Press: San Diego; **1995**. A. Giannis, F. Rübsam, *Adv. Drug Res.* **1997**, *29*, 1-77. A. S. Ripka, D. H. Rich, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 441-452. S. H. Gellman, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, *2*, 717-725. M. J. I. Andrews, A. B. Tabor, *Tetrahedron* **1999**, *55*, 11711-11743.

² I. L. Karle, *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 693-701. R. B. Hill, D. P. Raleigh, A. W. Lombardi, F. DeGrado, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 745-754. G. D. Rose, R. Wolfenden, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1993**, *22*, 381-415.

³ N. Voyer, *Topics in Current Chemistry* **1997**, *184*, 1-38. T. J. Deming, *Adv. Mater.* **1997**, *9*, 299-311. N. Mizoshita, K. Hanabusa, T. Kato, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 392-394. K. A. Jolliffe, *Supramol. Chem.* **2005**, *17*, 81-86.

⁴ G. T. Copeland, E. R. Jarvo, S. J. Miller, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 6784-6785. S. J. Degrado, H. Mizutani, A. H. Hoveyda, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 755-756. D. Skropeta, K. A. Jolliffe, P. Turner, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 8804-8809.

Se han encontrado diferentes actividades en numerosos péptidos; entre las más recientes destacan algunos péptidos que estimulan la secreción de la hormona somatotropina (implicada en procesos de crecimiento),⁵ tienen actividad antiangiogénica,⁶ presentan propiedades antimicrobianas⁷ en determinadas especies, siendo componentes esenciales en sus mecanismos de defensa, o manifiestan una actividad opiode potente,⁸ por último cabe reseñar la actividad de diversas especies peptídicas como inhibidores de la enzima ACE⁹ (*Angiotensin-I-Converting Enzyme*), implicada en los procesos de hipertensión arterial.

Aunque, como ya se ha comentado anteriormente, numerosos péptidos poseen actividad biológica, el potencial terapéutico de los mismos está limitado por diferentes factores como son la baja selectividad, pobre biodisponibilidad, baja estabilidad metabólica frente a las proteasas, así como su dificultad para atravesar la barrera hematoencefálica.¹⁰ Otra desventaja a tener en cuenta es la elevada libertad conformacional que posee cada subunidad de la cadena peptídica, pudiendo variar la conformación de equilibrio al producirse pequeñas modificaciones en el medio. También es conocido que la actividad biológica de las citadas estructuras se debe a la existencia de una conformación mayoritaria (conformación bioactiva),¹¹ la cual posibilita su asociación con una biomolécula complementaria (receptor) provocando la activación o inactivación de la misma.

⁵ E Ghigo, E Arvat, G Muccioli, F Camanni, *Eur. J. Endocrinology*, **2006**, *136*, 445-460.

⁶ D. W. Dawson, O. V. Volpert, S. Frieda A. Pearce, A. J. Schneider, R. L. Silverstein, J. Henkin, N. P. Bouck, *Mol. Pharmacol* **1999**, *55*, 332-338.

⁷ R. E.W. Hancock, M. G. Scott, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **2000**, *97*, 8856-8861.

⁸ A. Mollica, P. Davis, S. W. Ma, F. Porreca, J. Lai, V. J. Hruby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 367-372.

⁹ R. J. FitzGerald, B. A. Murray, D. J. Walsh, *J. Nutr.* **2004**, *134*, 980S-988S. M. Miguel, M. A. Alexandre, M. Ramos, R. López-Fandiño, *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, *54*, 726-731.

¹⁰ A. Abell en *Advances in Amino Acids Mimetics and Peptidomimetics*; JAI Press: Greenwich 2, **1999**.

¹¹ S. K. Burt, J. Greer, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1988**, *23*, 285-294. G. R. Marshall, D. D. Beusen, G. V. Nikiforovich en *Peptides: Synthesis, Structures, and Applications*; Ed., B. Gutte; Academic Press: San Diego, **1995**; 193-245.

Con objeto de fijar una conformación prioritaria dentro del abanico de posibilidades conformacionales, se han utilizado diversas estrategias¹² entre las que destaca la construcción de peptidomiméticos,¹³ estructuras conteniendo moldes o fragmentos privilegiados no peptídicos, cuya función dentro de la estructura peptídica consiste en restringir el número de grados de libertad conformacionales existentes, adoptando la cadena peptídica de este modo una estructura favorecida para su interacción con la biomolécula deseada, así como proporcionar una alta estabilidad metabólica y una biodisponibilidad adecuada.

Un requerimiento de esta estrategia es que el molde sea fácilmente accesible y robusto, tanto desde el punto de vista sintético como desde el punto de vista metabólico. Partiendo de estos postulados, se han empleado diferentes tipos de moldes tales como carbohidratos¹⁴, esteroides¹⁵, arenos¹⁶, carbociclos¹⁷ y heterociclos.¹⁸

¹² V. J. Hruby, G. Li, C. Haskell-Luevano, M. Shenderovich, M. *Biopolymers* **1997**, *43*, 219-266. S. Hanessian, G. McNaughton-Smith, H-G. Lombart, W. D. Lubell, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 12789-12854. N. Voyer, *Topics in Current Chemistry*, **1996**, *184*, 1-12. J. Gante, *J. Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1699-1720. G. L. Olson, D. R. Bolin, M. P. Bonner, M. Bös, C. M. Cook, D. C. Fry, B. J. Graves, M. Hatada, D. E. Hill, M. Kahn, V. S. Madison, V. K. Rusiecki, R. Sarabu, J. Sepinwall, G. P. Vincent, M. E. Voss, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3039-3049. A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1244-1267. *Peptide Secondary Structure Mimetics*, Tetrahedron Symposia-in-print, Número 50, *Tetrahedron*, **1993**, *49*(17); Khan, M.; Guest Ed.; Pergamon Press, Oxford. J. Rizo, L. M. Gierasch, *Annu. Rev. Biochem.* **1992**, *61*, 387-418. R. Hirschmann, *Angew. Int. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 1278-1301. G. Schmidt, *Topics in Current Chemistry* **1986**, *136*, 109-160.

¹³ Se podría definir peptidomimético como un compuesto que imita la estructura y/o propiedades de un péptido, tanto a nivel ligando-receptor como a nivel inhibidor-enzima, sin los inconvenientes asociados con su estabilidad y biodisponibilidad.

¹⁴ B. Aguilera, G. Siegal, H. S. Overkleeft, N. J. Meeuwnoord, F. P. J. T Rutjes, J. C. M. van Hest, H. E. Schoemaker, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, M. Overhand, M. *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 1541-1547. T. Opatz, C. Kallus, T. Wunberg, H. Kunz, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 8613-8626. J. J. Turner, D. V. Filippov, M. Overhand, G. A. van der Marel, J. H. van Boom, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 5763-5767. C. Palomo, M. Oiarbide, A. Landa, M. C. González-Rego, J. M. García, A. González, J. M. Odriozola, M. Martín-Pastor, A. Linden, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8637-8643. Y. Suhara, M. Izumi, M. Ichikawa, M. B. Penno, Y. Ichikawa, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 7167-7170.

¹⁵ R. Hirschmann, P. A. Sprengeler, T. Kawasaki, J. W. Leahy, W. C. Shakespeare, A. B. Smith, III, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3665-3676.

¹⁶ E. Junquera, J. S. Nowick, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 2527-2531. M. Planas, E. Cros, R-A. Rodríguez, R. Ferre, E. Bardají, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4431-4434.

En la *Figura 1.1* se muestran dos ejemplos de miméticos de la hormona somatostatina,¹⁹ un péptido que posee funciones biológicas relacionadas con la regulación de la insulina y la hormona del crecimiento.

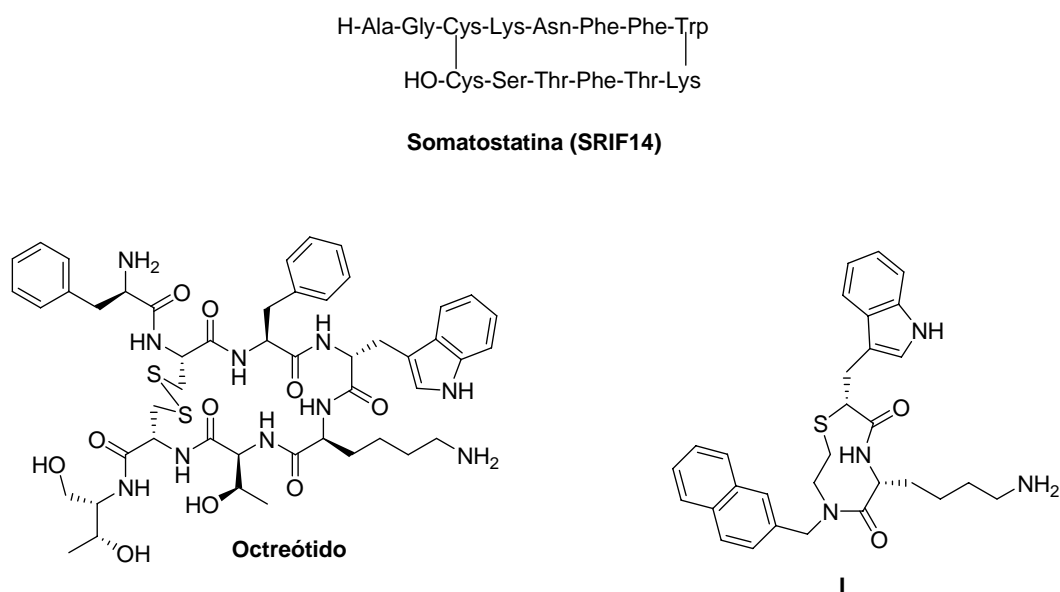


Figura 1.1. Estructura de la somatostatina y miméticos conformacionalmente restringidos.

El octreótido es un análogo peptídico cíclico de la somatostatina que mimetiza la región responsable de su reconocimiento por parte del receptor

¹⁷ D. Ranganathan, V. Haridas, S. Kurur, R. Nagaraj, E. A. Bikshapathy, C. Kunwar, A. V. S. Sarma, M. Vairamani, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 365-374. S. Bosi, T. Da Ros, G. Spalluto, M. Prato, *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, *38*, 913-923.

¹⁸ H. A. Lashuel, S. R. LaBrenz, L. Woo, L. C. Serpell, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5262-5277. J. I. Gavriilyuk, G. Evindar, R. A. Batey, *J. Comb. Chem.* **2006**, *8*, 237-246. D. F. McComsey, M. J. Hawkins, P. Andrade-Gordon, M. F. Addo, D. Oksenberg, B. E. Maryanoff, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *10*, 1423-1428. J. H. Grimes, Jr., W. Zheng, W. D. Kohn, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *44*, 6333-6336. W. D. Kohn, L. Zhang, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *41*, 4453-4457.

¹⁹ Para revisiones sobre somatostatina ver: P. Brazeay, W. Vale, R. Burgus, N. Ling, M. Butcher, J. River, R. Guillemin, *Science* **1973**, *179*, 77-79. T. Florio, G. Schettini, *Minerva Endocrinol.* **2001**, *26*, 91-102.

aunque, desafortunadamente, posee una pobre biodisponibilidad oral. Por otro lado el compuesto **I** es un ejemplo de peptidomimético conformacionalmente restringido, diseñado siguiendo la estrategia comentada anteriormente de emplear un compuesto cíclico rígido que imita los ángulos de torsión de un fragmento del esqueleto peptídico de esta hormona.

Como continuación del trabajo de nuestro grupo en la preparación de productos naturales y compuestos relacionados,^{20,21,22,23,24} hemos abordado la síntesis de *híbridos péptido-molde*,²⁵ como alternativa a los péptidos naturales. Un objetivo de la primera parte de esta *Tesis Doctoral* es la síntesis, estudios estructurales y actividad biológica de híbridos péptido-molde donde como moldes hemos usado derivados parcialmente hidrogenados de isoquinolina²⁶ y derivados de 3,6-dihidro-2*H*-pirano.²⁷

La estrategia a seguir consistiría en combinar estructuras cíclicas y heterociclos aromáticos, similares a los que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza (carbohidratos, alcaloides, etc.), con fragmentos de origen peptídico. En los híbridos así generados, el resto no peptídico convenientemente funcionalizado serviría como molde

²⁰ Aplicaciones sintéticas de carbohidratos quirales: S. Valverde, B. Herradón, M. Martín-Lomas, *Tetrahedron Lett.* **1985**, *26*, 3731-3734. B. Herradón, *Tetrahedron Asymmetry* **1991**, *2*, 191-194.

²¹ Síntesis de los productos naturales anamarina, olguina, asperlina y derivados: S. Valverde, A. Hernández, B. Herradón, R. M. Rabanal, M. Martín-Lomas, *Tetrahedron* **1987**, *43*, 3499-3504. S. Valverde, B. Herradón, R. M. Rabanal, M. Martín-Lomas, *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 339-342. S. Valverde, B. Herradón, R. M. Rabanal, M. Martín-Lomas, *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 332-338. S. Valverde, M. Martín-Lomas, B. Herradón, *J. Carbohydr. Chem.* **1987**, *6*, 685-690.

²² F. Sánchez-Sancho, S. Valverde, B. Herradón, *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 3209-3246. B. Herradón, E. Fenude, R. Bao, S. Valverde *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 1143-1147.

²³ Síntesis de aminoácidos no proteinogénicos, alcaloides de piperidina e indolicidina: F. Sánchez-Sancho, B. Herradón *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 1951-1965.

²⁴ Síntesis de heterociclos aromáticos polianulares con estructura del tipo yohimbano, berberano y pirido[1,2-*b*]isoquinolina: F. Sánchez-Sancho, E. Mann, B. Herradón, *Synlett* **2000**, 509-513.

²⁵ Se define un *híbrido péptido-molde* como la estructura que posee uno o varios restos peptídicos unidos compuesto cíclico no peptídico.

²⁶ Algunos artículos sobre la química y aplicaciones de isoquinolinas, ver: J. D. Scout, R. M. Williams, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 1669-1730. J. L. Vicario, D. Badia, L. Carrillo, J. Etxebarria, *Curr. Org. Chem.* **2003**, *7*, 1775-1792. V. A. Glushkov, Y. V. Shklyayev, *Chem. Heterocycl. Comp* **2001**, *37*, 663-678. K. W. Bentley, *Nat. Prod. Rep.* **2000**, 247-267.

²⁷ Algunos artículos donde utilizan derivados de 3,6-dihidro-2*H*-pirano, ver: T. S. Jin, L. B. Liu, Y. Zhao, T. S. Li, *J. Chem. Res.* **2005**, *3*, 162-163. B. C. Soderberg, S. R. Rector, S. N. O'Neil, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 3657-3660.

donde anclar cadenas peptídicas, con el objetivo de que éstas adoptaran conformaciones bien definidas. Los compuestos serían interesantes desde el punto de vista farmacológico, al conjugar en una sola molécula las propiedades que presentan tanto los péptidos como los carbohidratos o heterociclos aromáticos por separado.

En relación con nuestras investigaciones sobre heterociclos, hemos desarrollado una nueva ruta de síntesis de atorvastatina cálcica (EFG, especialidad farmacéutica genérica) cuya aplicación terapéutica es la de antihipercolesterolémico, que constituye el objetivo de la segunda parte de esta Memoria.

A continuación se exponen los objetivos de esta *Tesis Doctoral* de manera más concreta.

1.2.-OBJETIVOS

Los objetivos planteados para el desarrollo general de esta *Tesis Doctoral* se enumeran a continuación:

1.- Llevar a cabo la síntesis de híbridos péptido-isoquinolina así como su estudio sobre la influencia que ejerce la estructura del heterociclo aromático, que sirve como molde, en la estructura secundaria del péptido unido al mismo. Debido al interés de nuestro grupo por los inhibidores de calpaína, procedente de un proyecto anteriormente desarrollado relacionado con la síntesis de híbridos péptido-isoquinolina y péptido-pirido[1,2-*b*]isoquinolina, se previó también la evaluación de los compuestos sintetizados con el fin de descubrir nuevos inhibidores de la enzima calpaína.

2.- Llevar a cabo la síntesis de nuevos híbridos péptido-carbohidrato, centrado en la búsqueda de nuevos peptidomiméticos con posibles aplicaciones terapéuticas.

3.- Desarrollar una nueva ruta de síntesis de atorvastatina cálcica en el marco de un proyecto financiado por la empresa Ercros S.A., División de Farmacia, enfocado hacia el diseño de nuevas estrategias sintéticas para la fabricación de medicamentos genéricos, con posibilidad de que éstas puedan ser industrializables.

Los resultados obtenidos en la consecución de los objetivos anteriormente planteados se recogen en la presente memoria divididos en tres capítulos diferentes, correspondientes a la síntesis y estudio conformacional y biológico de *híbridos péptido-isouquinolina* (capítulo 2), síntesis y estudio biológico de *híbridos péptido-carbohidrato* (capítulo 3) y síntesis de *atorvastatina cálcica* (capítulo 4). En el último capítulo (capítulo 5), se exponen de forma conjunta las conclusiones correspondientes a los resultados obtenidos en esta *Tesis Doctoral*.

Al final de la memoria se recogen algunos espectros de resonancia magnética nuclear seleccionados, representativos de los distintos tipos de compuestos sintetizados (anexo I) y los datos correspondientes a las estructuras cristalinas resueltas por difracción de rayos X (anexo II).

El objetivo más importante de la presente *Tesis Doctoral*, que engloba los enumerados anteriormente, es el adquirir conocimientos y experiencia en diferentes campos de la investigación química como son la *síntesis orgánica*, *el estudio conformacional de los compuestos preparados mediante diferentes técnicas*, *la interpretación de las estructuras obtenidas mediante difracción de rayos X* y *la síntesis de estructuras con aplicación directa en la industria farmacéutica en plena colaboración con la misma*.

SÍNTESIS, ESTUDIO Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE HÍBRIDOS PÉPTIDO
HETEROCICLO

2.1.- INTRODUCCIÓN.....	9
2.2.-ESPOSICIÓN DE RESULTADOS	25
2.2.1.- Construcción del anillo de isoquinolina: síntesis de ácidos (1-oxoisoquinol-4-iliden)acéticos.....	25
2.2.2.- Transformaciones químicas de ácidos (1-oxoisoquinol-4-iliden)acéticos y derivados ..	37
2.2.2.1.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona	37
2.2.2.2.- <i>N</i> -Metilación de ésteres	42
2.2.2.3.- Síntesis de ésteres del ácido 30	43
2.2.2.4.- Síntesis de amidas del ácido 30	45
2.2.2.5.- Síntesis de híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona	47
2.2.2.6.- Síntesis de ácidos (1-tioxisoquisoquinoliden)acéticos y derivados	48
2.2.2.7.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona	54
2.2.2.8.- Síntesis del ácido (1-cloroisoquinol-4-il)acético y derivados	55
2.2.2.9.- Síntesis de ésteres del ácido (1-oxo-4-vinilisoquinol-4-il)acético y derivados vía transposición de Claisen-Johnson, y de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona.	57
2.3.- ANÁLISIS CONFORMACIONAL DE HIBRIDOS PÉPTIDO-ISOQUINOLINA	59
2.3.1.- Conformación de péptidos	59
2.3.1.1.- Espectroscopía IR mediante transformada de Fourier (FT-IR)	62
2.3.1.2.- Resonancia magnética nuclear	64
2.3.2.- Análisis conformacional de compuestos sin fragmento peptídico, híbridos péptido heterociclo e híbridos bifenilo-isoquinolinona	67
2.3.2.1.- Experimentos de espectroscopía IR mediante transformada de Fourier (FT-IR).....	67
2.3.2.2. Experimentos de espectroscopía de RMN	81

2.3.2.2.1.- Cálculo de los coeficientes de temperatura de los grupos NH en los compuestos 24 , 39 , 61-63 , 67	83
2.3.3.- Modelización computacional	94
2.3.3.1.- Metodología empleada	94
2.3.3.2.- Análisis conformacional de 61	95
2.3.4 RMN a temperatura variable de los compuestos 61 y 62	96
2.3.4.1.- Calculo de los parámetros termodinámicos en el proceso de isomerización de 61 y 62 mediante RMN dinámica	98
2.4.- ESTUDIOS DE INHIBICIÓN DE CALPAÍNA	107
2.4.1.- Las calpaínas	107
2.4.2.- Inhibidores de calpaínas	113
2.4.3.- Isoquinolinas, inhibidores sintéticos e híbridos péptido isoquinolina como inhibidores de calpaína	119
2.5.- PARTE EXPERIMENTAL	137
2.5.1.- Técnicas generales utilizadas	137
2.5.2.- Síntesis de ácidos (1-oxoisoquinol-4-iliden)acéticos	140
2.5.3.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolina. Síntesis derivados de ácidos (1-oxoisoquinolinol-4-iliden)acéticos	160
2.5.3.1.- Procedimiento general para la síntesis de péptidos	160
2.5.3.2.- Procedimiento general par la síntesis de híbridos péptido-isoquinolina	161
2.5.4.- Síntesis derivados de ácidos (1-oxoisoquinolinol-4-iliden)acéticos	183
2.5.4.1.- Procedimiento para la <i>N</i> -metilación de 24	183
2.5.4.2.- Síntesis de esteres del ácido 30 . Procedimiento general	184
2.5.4.3.- Síntesis de amidas del ácido 30 . Procedimiento general	190
2.5.4.4.- Síntesis de híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona a partir de 62 . Procedimiento general	195
2.5.4.5.- Síntesis de ácidos (1-tiooxoisoquinoliniliden)acéticos y derivados	202
2.5.4.6.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona. Procedimiento general	207
2.5.4.7.-Síntesis del ácido (1-cloroisoquinolin-4-il)acético y derivados. Procedimiento general	209
2.5.4.8.- Síntesis de ésteres del ácido (1-oxo-4-vinilisoquinolin-4-il)acético y derivados. Síntesis de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona	214

2.1.-INTRODUCCIÓN

Los péptidos y las proteínas desempeñan importantes funciones en sistemas fisiológicos, pudiendo actuar como biocatalizadores de diversos procesos,²⁸ mensajeros transmisores de información entre las células del organismo,²⁹ neurotransmisores, neuromoduladores u hormonas, activadores de receptores específicos normalmente acoplados a proteínas G o a receptores específicos de membrana, etc.³⁰ Además, su implicación en funciones vitales como metabolismo, modulación del sistema inmune, digestión, respiración, sensibilidad al dolor, reproducción, conducta, control de niveles de electrolitos, etc.³¹ hacen de los péptidos unas moléculas con propiedades únicas en el organismo, convirtiéndoles en inagotable fuente de inspiración (junto con la reciente elucidación del genoma humano) para el desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.

Por otro lado, también existen enormes limitaciones para su uso como fármacos, como son el rápido metabolismo frente a proteasas, la baja absorción en el tracto gastrointestinal, así como el paso casi nulo través de la barrera hematoencefálica, la rápida excreción por el hígado y los riñones y, por último, la baja especificidad por los receptores.³²

²⁸ M. J. Corey, E. Corey, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 11428-11434. Para revisiones actuales, ver: L. Cipolla, *Comb Chem High Throughput Screen.* **2004**, *2*, 101-114. A. Tholey, E. Heinzle, *Adv. Biochem Eng. Biotechnol.* **2002**, *74*, 1-19. M. Goodman in *Synthesis of peptides and peptidomimetics* en Houben Weyl in *Methods in Organic chemistry*, Eds., A. Felix, L. Moroder, C. Toniolo Thieme Stuttgart-New York **2003**, vol E22a-c.

²⁹ K. L. Visick, C. Fuqua, *J. Bacteriol.* **2005**, *187*, 5507-5519. C. Fuqua E. P. Greenberg, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2002**, *3*, 685-695. K. K. Warry, *Cell Commun. Signal.* **2005**, *3*, 7.

³⁰ Tienen especialmente importancia los siete receptores de proteína G acoplados (GPCR), ver: J. P. H. Burbach, O. C. Meijer, *Eur. J. Pharmacol. Mol. Pharmacol.* **1992**, *227*, 1-18. A. D. Strosberg, *Eur. J. Biochem.* **1991**, *196*, 1-10.

³¹ T. M. Savarese, C. M. Fraser, *J. Biochem.* **1992**, *283*, 1-19. M. Berridge, *Nature* **1993**, *361*, 315-325.

³² J. A. Fix, *Pharm. Res.* **1996**, *13*, 1760-1764. G. L. Olson, D. R. Bolin, M. P. Bonner, M. Bös, C. M. Cook, D. C. Fry, B. J. Graves, M. Hatada, D. E. Hill, M. Kahn, V. S. Madison, V. K. Rusiecki, R. Sarabu, J. Sepinwall, G. P. Vicent, M. E. Voss, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3039-3049. R. M. J. Liskamp, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1994**, *113*, 1-19.

La gran diversidad de funciones desempeñadas por los péptidos, así como las limitaciones anteriormente comentadas, están directamente correlacionadas con el alto número de estructuras tridimensionales que se pueden obtener a partir de una determinada secuencia de aminoácidos; de este modo, conociendo mejor la conformación que posibilita la activación/inhibición biológica en una diana terapéutica podremos tener más éxito a la hora de diseñar fármacos activos.

Las conformaciones secundarias más comunes en los péptidos y las proteínas son: hélices α , láminas β (paralelas y antiparalelas), bucles y giros reversos (*Figura 2.1*).³³ Estos elementos estructurales están situados en ocasiones en la superficie de la proteína y suelen desempeñar funciones de reconocimiento. Otros fragmentos polipeptídicos situados en otras regiones de la proteína pueden adoptar, así mismo, algunas de las citadas conformaciones.³³ Entre los giros reversos, los principales son los giros β y γ , siendo menos frecuentes los giros α .

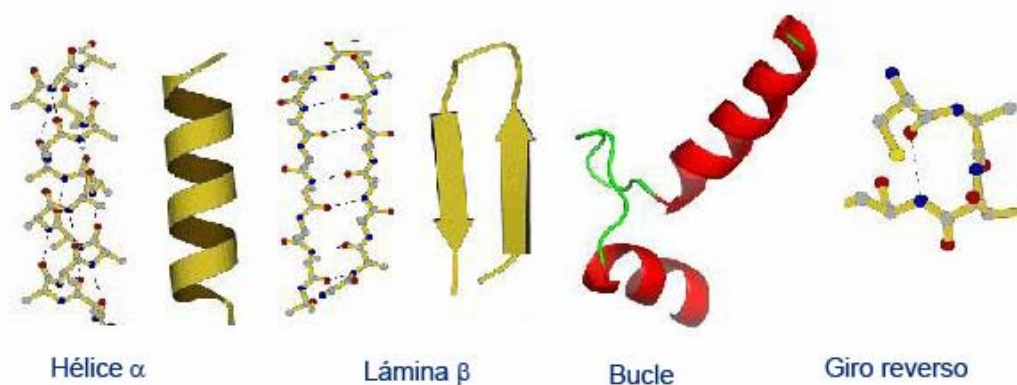


Figura 2.1. Conformaciones secundarias más comunes en los péptidos y las proteínas.

³³ J. A. Smith, L. G. Pease, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, 8, 315-399. G .D. Rose, L. M. Gierasch, J. A. Smith, en *Advan. Prot. Chem.*; C. B Anfinsen, J. T Edsall, F. M. Richards, Ed.: Academic Press: Orlando, Florida, **1985**; Vol. 37, p 1-109.

Los giros β son las principales conformaciones de reconocimiento de péptidos y proteínas.³⁴ Algunos ejemplos de reconocimiento por medio de giros β se han deducido a partir de datos estructurales obtenidos por difracción de rayos X de alta resolución que incluye complejos péptido-anticuerpo,³⁵ en la estructura de diversas hormonas como la angiotensina II,³⁶ la bradiquinina,³⁷ o la colecistoquinina,³⁸ y en hormonas relacionadas con la gonadotropina³⁹ y la somatostatina.⁴⁰

Los giros β están constituidos por una secuencia de cuatro aminoácidos consecutivos (i , $i+1$, $i+2$ e $i+3$), plegada a una distancia menor o igual a 7 Å⁴¹ por formación de un enlace de hidrógeno entre el oxígeno carbonílico de i y el NH de $i+3$, que origina un pseudociclo de diez eslabones (Figura 2.2).⁴²

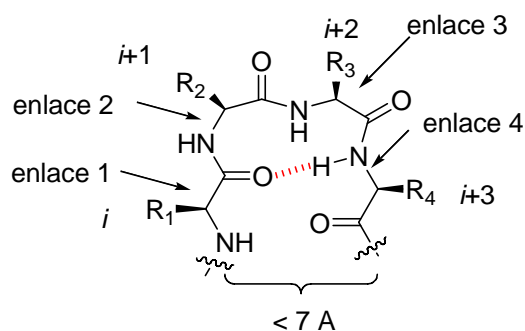


Figura 2.2. Características de un giro β .

³⁴ C. M. Venkatachalam, G. M. Ramachandran, *Annu. Rev. Biochem.*, **1969**, 38, 45-82. W. Kabsch, C. Sander, *Biopolymers* **1983**, 22, 2577. E. G. Hutchinson, J. M. Thornton, *Protein Science* **1994**, 3, 2207-2216.

³⁵ C. M. Wilmont, J. M. Thornton, *J. Mol. Biol.* **1988**, 203. V. J. Hruby, J. Al-Obeidi, W. Kazmierski, *Biochem. J.* **1990**, 268, 249-262.

³⁶ C. Toniolo, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1990**, 35, 287-300. R. M. Freidinger, D. F. Veber, D. S. Perlow, J. R. Brooks, R. Saperstein, *Science* **1980**, 210, 656-658.

³⁷ J. Aubé, en *Advance in Amino Acid Mimetics and Peptidomimetics*; A. Abell, Ed.; JAI Press: Greenwich, **1997**, Vol. 2, p 193-232.

³⁸ S. Hanessian, G. McNaughton-Smith, H-G. Lombart, W. D. Lubell, *Tetrahedron* **1997**, 53, 12789-12854.

³⁹ B. L. Sibanda, J. M. Thornton, *Nature*, **1985**, 316, 170-174.

⁴⁰ T. S. Haque, J. C. Little, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 6975-6985. M. Eguchi, M. S. Lee, H. Nakanishi, M. Stasiak, S. Lovell, M. Kahn, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 12204-12205.

⁴¹ W. Kabsch, C. Sander, *Biopolymers* **1983**, 22, 2577-2637.

⁴² P. N. Lewis, F. A. Momany, H. A. Scheraga, *Biophys. Acta* **1973**, 303, 211-229.

Los giros β pueden clasificarse en ocho tipos y sus imágenes especulares [I, I', II, II', III, III', IV, V, V', VI (a y b), VII y VIII]⁴³ de acuerdo con el valor de los ángulos diedros Φ y Ψ de los residuos $i+1$ e $i+2$, siendo los más comunes los tipos I, I', II, y II'. En la *Tabla 2.1* se observan los valores permitidos de los ángulos diedros Φ y Ψ para la formación de giros β de tipo I, I', II, y II'.

Tabla 2.1. Valores ideales para los ángulos diedros de los subtipos de giro β más comunes.

Tipo de giro ^a	Φ_{i+1}	Ψ_{i+1}	Φ_{i+2}	Ψ_{i+2}
I	-60	-30	-90	0
I'	60	30	90	0
II	-60	120	80	0
II'	60	-120	-80	0

^aLa prima (') indica la imagen especular del giro correspondiente.

Esta clasificación de los giros β se basa en el esqueleto, no estando totalmente clara la posición relativa de los enlaces 1, 2, 3 y 4 (ver *Figura 2.1*), lo que supone un inconveniente a la hora de diseñar miméticos no peptídicos en los que el enlace peptídico ha sido remplazado por otro tipo de enlace. Debido a este problema, existe otra clasificación alternativa de giros β , en la cual se define el ángulo diedro β como el ángulo entre la secuencia consecutiva de átomos $C_1-C_{\alpha 2}-C_{\alpha 3}-N_4$ (*Figura 2.3*). De este modo, el ángulo β define la relación topológica entre los enlaces peptídicos situados al inicio y al final del giro, así como la orientación relativa de los sustituyentes de los aminoácidos $i+1$ e $i+2$.⁴⁴

⁴³ J. S. Richardson, *Adv. Protein Chem.* **1981**, *34*, 167-339. C. M. Wilmont, J. M. Thornton, *Protein Eng.* **1990**, *3*, 479-493. J. B. Ball, P. F. Alewwod, *J. Mol. Recog.* **1990**, *3*, 55-64. E. G. Hutchinson, J. M. Thornton, *Protein Science* **1994**, *3*, 2207-2216.

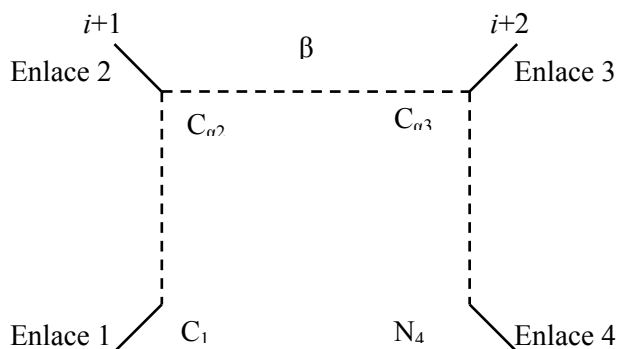


Figura 2.3. Definición del ángulo β .⁴⁴

Existen numerosos ejemplos en la bibliografía de compuestos que imitan o inducen giros β .⁴⁵ Estos miméticos de giros se han incorporado a cadenas peptídicas con una total libertad conformacional o a moléculas con alguna restricción conformacional. Los miméticos de giro β se pueden clasificar en dos grupos:

- miméticos de dipéptidos, los más comunes, que sustituyen los residuos $i+1$ e $i+2$ del giro;
- miméticos de tetrapéptidos que reemplazan los cuatro residuos implicados en el giro.

Algunos ejemplos de miméticos de giro β se muestran en la *Figura 2.4*.

⁴⁴ C. M. Wilmont, J. M. Thornton, *J. Mol. Biol.* **1988**, 203. J. Ball, R. A. Hughes, P. F. Alewood, P. R. Andrews, *Tetrahedron* **1993**, 49, 3467-3678.

⁴⁵ Para ejemplos recientes, ver: M. A. Estiarte, M. Rubiralta, A. Diez, M. Thormann, E. Giralt, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 6992-6999. W. Wang, C. Xiong, V. J. Hruby, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 3159-3161. R. V. Somu, R. L. Johnson, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 5954-5963. T. Moriuchi, T. Nagai, T. Hirao, *Org. Lett.* **2006**, 8, 31-34. M. Martín-Martínez, N. de la Figuera, M. Latorre, M. T. García-López, E. Cenarruzabeitia, J. del Río, R. González-Muñiz, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 7667-7674. D. Pappo, Y. Kashman, *Org. Lett.* **2006**, 8, 1177-1179.

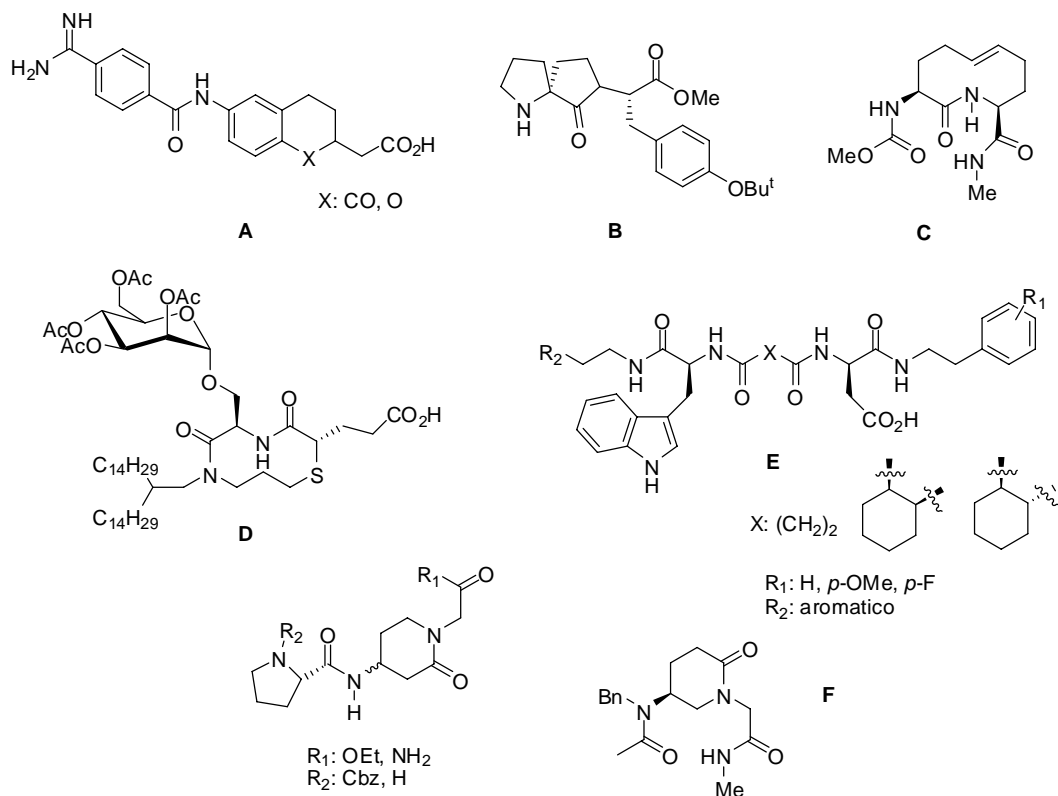


Figura 2.4. Ejemplos de miméticos de giro β (A,⁴⁶ B,⁴⁷ C,⁴⁸ D,⁴⁹ E⁵⁰, F⁵¹).

Los giros γ se encuentran menos frecuentemente en las conformaciones de las cadenas peptídicas. Este motivo estructural está estabilizado por medio de un enlace de

⁴⁶ M. J. Fisher, U. Giese, C. S. Harms, M. D. Kinnick, T. D. Lindstrom, J. R. Cowan, H-J. Mest, J. M. Morin Jr, J. T. Mullaney, M. Paal, A. Rapp, G. Rührter, K. J. Ruterbories, D. J. Sall, R. M. Scarborough, T. Schotten, W. Stenzel, R. D. Towner, S. L. Um, B. G. Utterback, V. L. Wyss, J. A. Jakunowski, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 385-389.

⁴⁷ M. G. Hinds, N. G. Richards, J. A. Robinson, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1988**, 1447-1449.

⁴⁸ B. E. Fink, P. R. Kym, J. A. Katzenellenbogen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4334-4344.

⁴⁹ K. Kurokawa, H. Kumita, H. Kondo, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1827-1830.

⁵⁰ C. M. R. Low, J. W. Black, H. B. Bruoghton, I. M. Buck, J. M. R. Davies, D. J. Dunstone, R. A. D. Hull, S. B. Kalindjian, I. M. McDonal, M. J. Petter, N. P. Shankley, I. M. Steel, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3505-3517.

⁵¹ K. Weber, U. Ohnmacht, P. Gmeiner, *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 7406-7416.

hidrógeno entre el oxígeno carbonílico del residuo i y el NH del residuo $i+2$, dando como resultado un pseudociclo de siete eslabones (Figura 2.5).³³

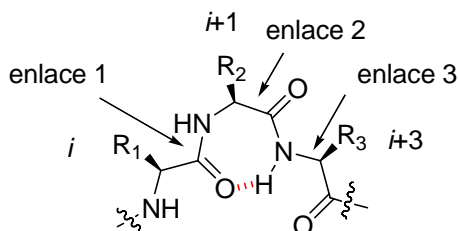


Figura 2.5. Características de un giro γ .

Los giros γ se clasifican en dos tipos, denominados inverso y clásico, de acuerdo con los valores de los ángulos diedros Φ y Ψ (Tabla 2.2).⁵²

Tabla 2.2. Valores ideales para los ángulos diedros de los subtipos de giro γ más comunes.

Tipo de giro	Φ_{i+1}	Ψ_{i+1}
Inverso	-70 a -85	60 a 70
Clásico	70 a 85	-60 a -70

En el giro γ inverso el residuo $i+1$ suele orientarse en posición ecuatorial, mientras que en el clásico suele adoptar posición axial. Los giros γ no son muy habituales, aunque pueden encontrarse con cierta frecuencia en algunas proteínas y péptidos pequeños, especialmente cíclicos.⁵²

³³ J. A. Smith, L. G. Pease, *CRC Crit. Rev. Biochem.* **1980**, 8, 315-399. G .D. Rose, L. M. Gierasch, J. A. Smith, en *Advan. Prot. Chem.*; C. B Anfinsen, J. T Edsall, F. M. Richards, Ed.: Academic Press: Orlando, Florida, **1985**; Vol. 37, p 1-109.

⁵² G .D. Rose, L. M. Gierasch, J. A. Smith, en *Adv. Prot. Chem.*; C. B Anfinsen, J. T Edsall, F. M. Richards, Ed.: Academic Press: Orlando, Florida, **1985**; Vol. 37, p 1-109. E. J. Milner-White, B. M. Ross, R. Ismail, K. Belhadj-Mastefa, R. Poet, *J. Mol. Biol.* **1988**, 204, 777-782. E. J. Milner-White, *J. Mol. Biol.* **1990**, 216, 386-397.

En los últimos años ha habido un incremento importante en el número de miméticos de giro γ descritos en la bibliografía,⁵³ aunque éstos siguen siendo aun escasos en comparación con los miméticos de giro β . Gran parte de los miméticos descritos consisten en heterociclos de 6 o 7 eslabones, aunque existen también estructuras con esqueletos lineales (Figura 2.6.).

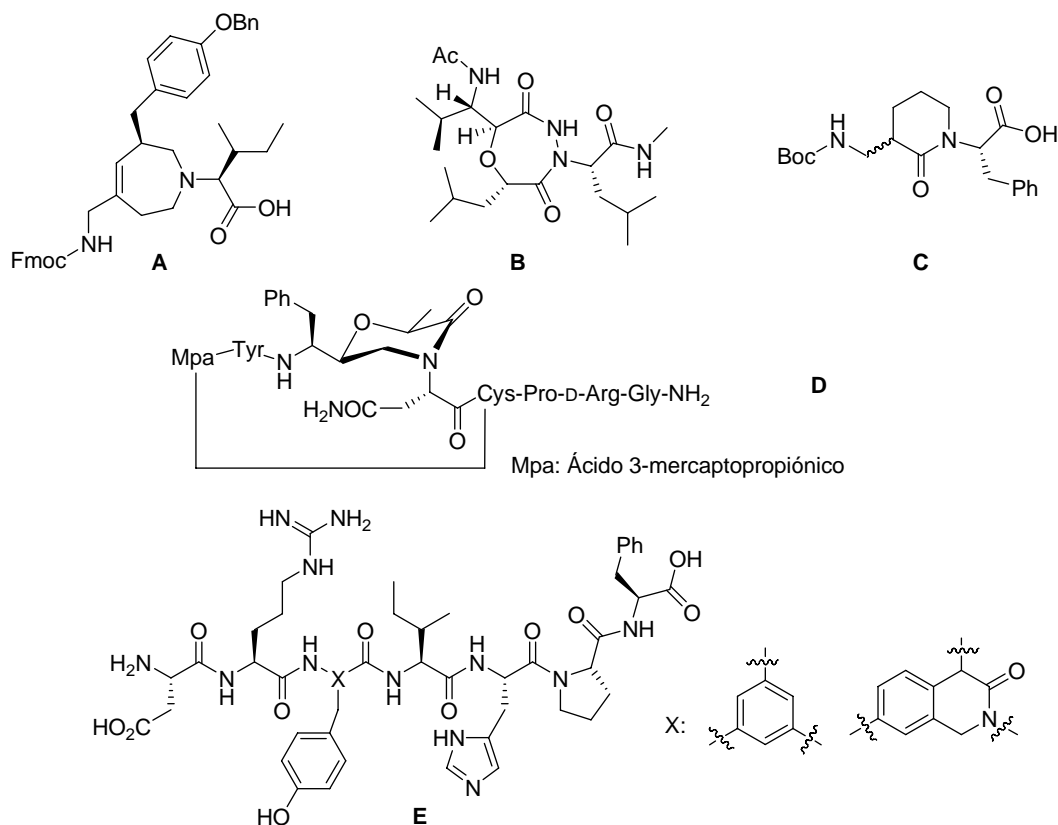


Figura 2.6. Ejemplos de miméticos de giro γ (A,⁵⁴ B,⁵⁵ C,⁵⁶ D,⁵⁷ E⁵⁸).

⁵³ Algunos artículos sobre giros γ , ver: K. Brickmann, Z. Yuan, I. Sethson, P. Somfai, J. Kihlberg, *Chemistry - A Eur. J.* **1999**, *5*, 2241-2253. T. Moriuchi, T. Nagai, T. Hirao, *Org. Lett* **2006**, *8*, 31-34. J. F. Callahan, K. A. Newlander, J. L. Burgess, D. S. Eggleston, A. Nichols, A. Wong, W. F. Huffman, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 3479-3488. T. P. Curran, N. M. Chandler, R. J. Kennedy, M. T. Keaney, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1933-1936. M. K. Lindvall, K. Rissanen, J. M. L. Hakala, A. M. P. Koskinen, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7427-7430. A. I. Jiménez, C. Cativiela, M. Marraud, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 5353-5356.

⁵⁴ B. Schmidt, S. Lindman, W. Tong, G. Lindeberg; A. Gogoll, Z. Lai, M. Thornwall, B. Synnergren, A. Nilsson, C. J. Welch, M. Sohtell, C. Westerlund, F. Nyberg, A. Karlén A. Hallberg, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 903-919.

Los giros α son mucho menos frecuentes que los citados anteriormente. Se caracterizan por un enlace de hidrógeno entre el oxígeno carbonílico del residuo i y el NH del residuo $i+4$ de una secuencia de cinco aminoácidos consecutivos, dando como resultado un pseudociclo de trece eslabones (Figura 2.7)

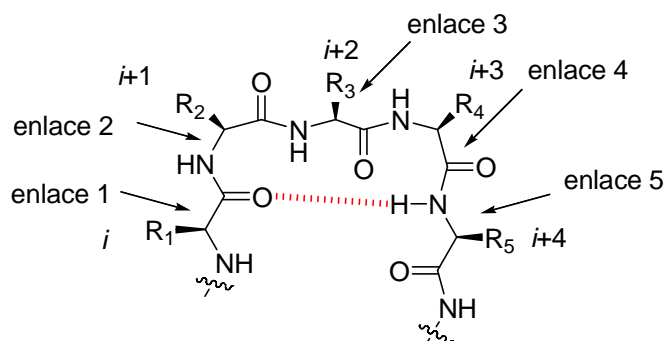


Figura 2.7. Características de un giro α .

Los giros α se consideran la mínima unidad repetitiva de una hélice α y suelen encontrarse en péptidos compuestos de 15 unidades o menos. A partir del estudio de 356 giros α encontrados en diversas proteínas o cadenas peptídicas pertenecientes a proteínas, Pavone *et al.*⁵⁹ los clasifica en nueve tipos de acuerdo con los valores de los ángulos diedros Φ y Ψ (Tabla 2.3).

⁵⁵ M. D. Ferguson, J. P. Meara, H. Nakanishi, H. Lee, M. Kahn, *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 6961-6964.

⁵⁶ M. Sato, J. Y. H. Lee, H. Nakanishi, M. E. Johnson, R. A. Chrusciel, M. Kahn, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1992**, 187, 99-1006.

⁵⁷ M. Hedenström, Z. Yuan, K. Brickmann, J. Carlsson, K. Ekholm, B. Johansson, E. Kreutz, A. Nilsson, I. Sethson, J. Kihlberg, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 2501-2511.

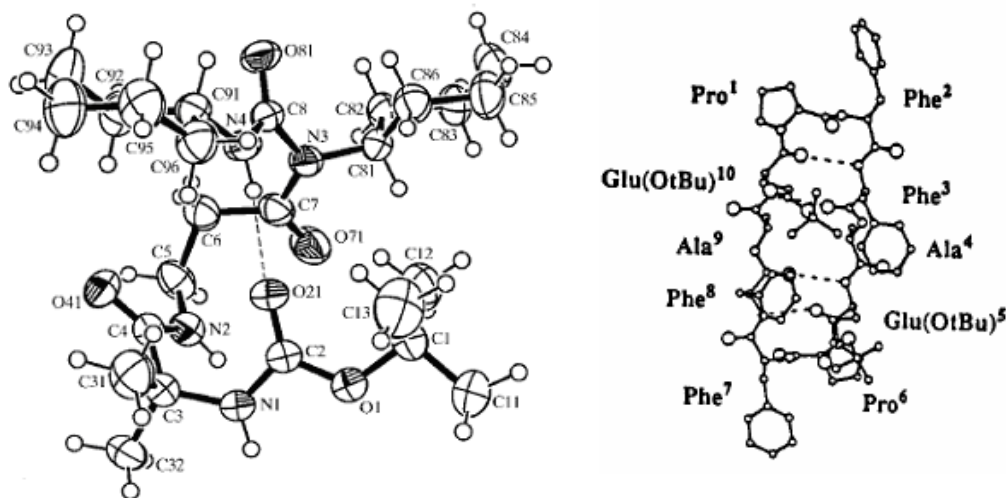
⁵⁸ S. Lindman, G. Lidénberg, F. Nyberg, A. Karlén, A. Hallberg, *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, 8, 2375-2383.

⁵⁹ V. Pavone, G. Gaeta, A. Lombarda, F. Natri, O. Maglio, *Biopolymers* **1996**, 38, 705-721.

Tabla 2.3. Valores ideales para los ángulos diedros de los subtipos de giro α .

Tipo de giro	Φ_{i+1}	Ψ_{i+1}	Φ_{i+2}	Ψ_{i+2}	Φ_{i+3}	Ψ_{i+3}
I- α_{RS}	-60	-29	-72	-29	-96	-20
I- α_{LS}	48	42	67	33	70	32
II- α_{RS}	-59	129	88	-16	-91	-32
II- α_{LS}	53	-137	-95	81	57	38
I- α_{RU}	59	-157	-67	-29	-68	-39
I- α_{LU}	-61	158	64	37	62	39
II- α_{RU}	54	39	67	-5	-125	-34
II- α_{LU}	-65	-20	-90	16	86	37
I- α_C	-103	143	-85	2	-54	-39

No existen muchos ejemplos en la bibliografía de giros α ; normalmente aparecen en péptidos cortos o en ciclopéptidos de 7-9 aminoácidos.⁶⁰ (Figura 2.8)

**Figura 2.8.** Ejemplos de péptidos y ciclopéptidos con giro α .

⁶⁰ N. E. Shepherd, H. N. Hoang, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 2974-2983. N. E. Shepherd, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2004**, *43*, 2687-2690. B. Di Blasio, F. Rossi, E. Benedetti, V. Pavone, C. Pedone, P. A. Temussi, G. Zanotti, T. Tancredi *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8277-8283. G. Zanotti, F. Rossi, M. Saviano, T. Tancredi, G. Saviano, A. Maione, M. Filizola, B. Di Blasio, C. Pedone *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 8651-8658. Y. Iitaka, H. Nakamura, K. Takada, T. Takada, *Acta Cryst. B* **1974**, *30*, 2817-2825.

Por otro lado, hay numerosos ejemplos de compuestos que mimetizan hélices α pequeñas haciendo uso de plantillas helicoidales,⁶¹ aminoácidos no proteinogénicos,⁶² restrictores no covalentes de la libertad conformacional (puentes salinos, interacciones hidrofóbicas),⁶³ conectores covalentes (puentes disulfuro,⁶⁴ hidrazonas,⁶⁵ puentes lactámicos⁶⁶), remplazamiento de restos peptídicos del esqueleto por restos no peptídicos que induzcan conformaciones restringidas (oligoamidas,⁶⁷ bifenilos,⁶⁸ terfenilos,⁶⁹ tereftalimidas,⁷⁰ y otras unidades capaces de albergar dos o tres sustituyentes en distintas

⁶¹ D. S. Kemp, T. J. Allen, S. L. Oslick, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 6641-6657. D. S. Kemp, T. J. Allen, S. L. Oslick, J. G. Boyd, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4240-4255. A. Lewis, M. D. Ryan, D. Gani, *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. 1* **1998**, 3767-3775. A. Lewis, T. J. Rutherford, J. Wilkie, T. Jenn, D. Gani, *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. 1* **1998**, 3795-3806. A. Lewis, J. Wilkie, T. J. Rutherford, D. Gani, *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. 1* **1998**, 3777-3793. K. Mueller, D. Obrecht, A. Knierzinger, C. Stankovic, C. Spiegler, W. Bannwarth, A. Trzeciak, G. Englert, A. M. Labhardt, P. Schoenholzer, *Perspect. Med. Chem.* **1993**, 513-531. R. E. Austin, R. A. Maplestone, A. M. Sefler, K. Liu, W. N. Hruzewicz, C. Liu, H. S. Cho, D. E. Wemmer, P. A. Bartlett, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 6461-6472.

⁶² S. D. Bryant, R. Guerrini, S. Salvadori, C. Bianchi, R. Tomatis, M. Attila, L. H. Lazarus, *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2579-2587. R. Banerjee, G. Basu, P. Chene, S. Roy, *J. Pept. Res.* **2002**, *60*, 88-94. C. Zhang, W. Miller, K. J. Valenzano, D. J. Kyle, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 5280-5286. C. Garcia-Echeverria, P. Chene, M. J. J. Blommers, P. Furet, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3205-3208.

⁶³ L. K. Tsou, C. D. Takto, M. L. Waters, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14917-14921. S. M. Butterfield, P. R. Patel, M. L. Waters, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 9751-9755. J. S. Albert, A. D. Hamilton, *Biochemistry* **1995**, *34*, 984-990. P. C. Lyu, L. A. Marky, N. R. Kallenbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 2733-2734.

⁶⁴ M. Pellegrini, M. Royo, M. Chorev, D. F. Mierke, *J. Pept. Res.* **1997**, *49*, 404-414. A. Leduc, J. O. Trent, J. L. Wittliff, K. S. Bramlett, S. L. Briggs, N. Y. Chirgadze, Y. Wang, T. P. Burris, A. F. Spatola, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2003**, *100*, 11273-11278. D. Y. Jackson, D. S. King, J. Chmielewski, S. Singh, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 9391-9392. J. H. B. Pease, R. W. Storrs, D. E. Wemmer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1990**, *87*, 5643-5647.

⁶⁵ E. Cabezas, A. C. Satterthwait, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3862-3875. J. C. Calvo, K. C. Choconta, D. Diaz, O. Orozco, M. M. Bravo, F. Espejo, L. M. Salazar, F. Guzman, M. E. Patarroyo, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5389-5394.

⁶⁶ E. Peggion, *J. Pept. Sci.* **1999**, *5*, 330-337. C. Bracken, J. Gulyas, J. W. Taylor, J. Baum, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 6431-6432. J. W. Taylor, C. Yu, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 161-175. C. Yu, J. W. Taylor, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1731-1734. M. Zhang, B. Wu, J. Baum, J. W. Taylor, *J. Pept. Res.* **2000**, *55*, 398. J. W. Taylor, *Biopolymers* **2002**, *66*, 49-75.

⁶⁷ J. T. Ernst, J. Becerril, H. S. Park, H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2003**, *42*, 535-539.

⁶⁸ E. Jacoby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 891-893.

⁶⁹ J. T. Ernst, O. Kutzki, A. K. Debnath, S. Jiang, H. Lu, A. D. Hamilton, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **2001**, *41*, 278-281. O. Kutzki, H. S. Park, J. T. Ernst, B. P. Orner, H. Yin, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11838-11839. B. P. Orner, J. T. Ernst, A. D. Hamilton, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 5382-5383.

⁷⁰ H. Yin, A. D. Hamilton, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 1375-1379.

direcciones⁷¹) o el uso de metales (Zn^{2+} , Pd^{2+} , etc.) a modo de plantilla para inducir la formación de la hélice.⁷² (Figura 2.9).

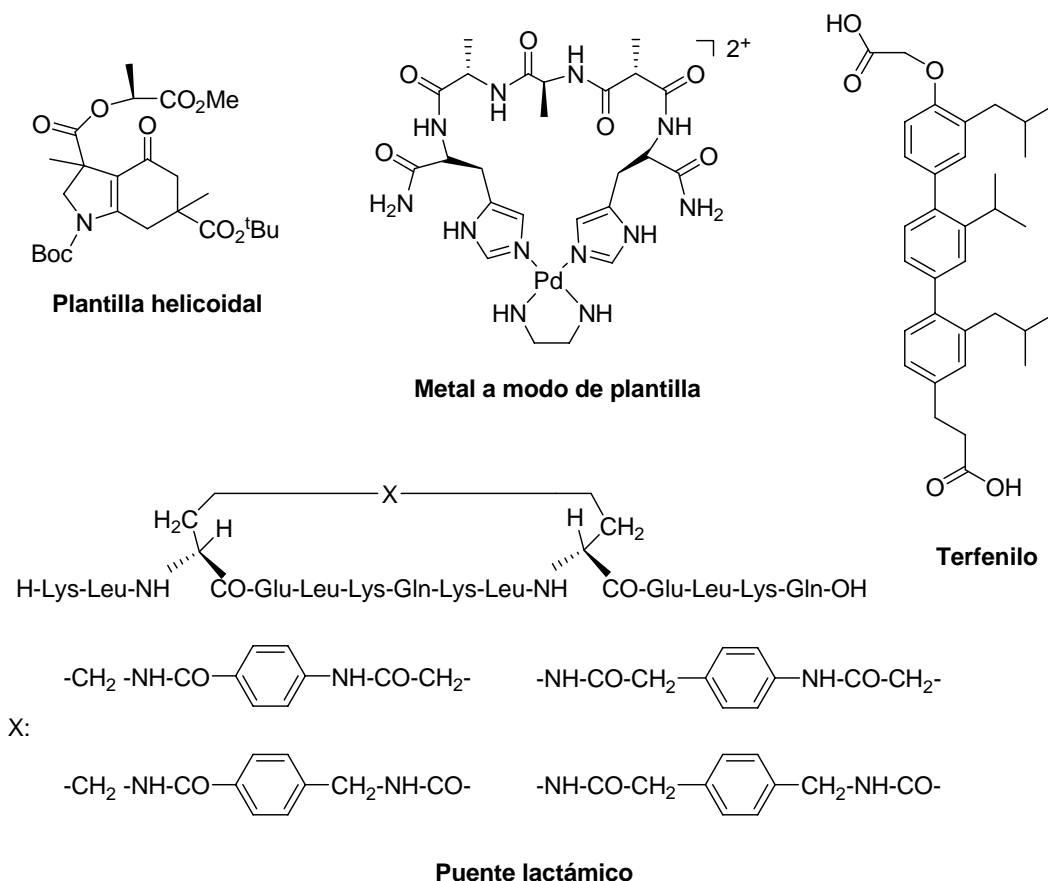


Figura 2.9. Ejemplos de compuestos que mimetizan pequeñas hélices α .

⁷¹ R. K. Guy, I. D. Kuntz, L. U. Felice, WO 03/040402 A2, **2003**. R. K. Guy, J. D. Baxter, B. Darimont, W. Feng, R. J. Fletterick, P. J.; Kushner, R. L. Wagner, B. L.; West, K. R. Yamamoto, T. R. Geistlinger, J. R.; Arnold, I. D. Kuntz, WO 02/02488 A2, **2001**.

⁷² K. A. Magnus, B. Hazes, H. Ton-That, C. Bonaventura, J. Bonaventura, W. G. Hol, *Proteins* **1994**, *19*, 302-309. H. A. Greisman, C. O. Pabo, *Science* **1997**, *275*, 657-661. D. R. Holland, A. C. Hausrath, D. Juers, B. W. Matthews, *Protein Sci.* **1995**, *4*, 1955-1965. M. J. Kelso, R. L. Beyer, H. N. Hoang, A. S. Lakdawala, J. P. Snyder, W. V. Oliver, T. A. Robertson, T. G. Appleton, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4828-4842.

Puesto que los péptidos interactúan con los receptores a través de una conformación preferente es necesario diseñar estructuras privilegiadas (peptidomiméticos) que imiten o induzcan estas conformaciones en su estructura. Otros retos de los peptidomiméticos son los de mejorar la acción del péptido nativo (actividad biológica, especificidad, etc.),⁷³ paliar los inconvenientes anteriormente comentados, así como el mejor entendimiento de las relaciones estructura-actividad del complejo péptido-proteína.⁷⁴

Ripka y Rich⁷⁵ dividen los peptidomiméticos en tres clases:

- (a) Clase I, los miméticos que normalmente alternan el enlace amida dentro de la cadena peptídica.
- (b) Clase II, los miméticos que no necesariamente reproducen la estructura del péptido nativo.
- (c) Clase III, estructuras en las que se reemplaza el enlace amida de la cadena peptídica por un molde o plantilla.

Desde el punto de vista químico esta última clase es la más interesante. Existen numerosos ejemplos de moldes descritos en la bibliografía que van desde heterociclos⁷⁶ hasta carbohidratos⁷⁷ pasando por péptidos y polipéptidos naturales o modificados,⁷⁸

⁷³ V. J. Hruby, *Drug Discov. Today* **1997**, 2, 165-167. G. R. Marshall, *Tetrahedron* **1993**, 49, 3547-3558. A. Giannis, F. Rübsam, *Adv. Drug. Res.* **1997**, 29, 1-78. V. J. Hruby, P. M. Balse, *Curr. Med. Chem.* **2000**, 7, 945-970.

⁷⁴ A. Giannis, T. Kolter, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1993**, 32, 1244-1267. V. J. Hruby, C. Haskell-Luevano, M. Shenderovich, *Biopolymers* **1997**, 43, 219-266.

⁷⁵ A. S. Ripka, D. H. Rich, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1998**, 2, 441-452.

⁷⁶ A. D. Abell, *Lett. Peptide Sci.* **2002**, 8, 267-272. D. Boeglin, S. Cantel, A. Heitz, J. Martinez, J. A. Fehrentz, *Org. Lett.* **2003**, 5, 4465-4468. C. J. Creighton, C. W. Zapf, J. H. Bu, M. Goodman, *Org. Lett.* **1999**, 1, 1407-1409. S. Herrero, A. Salgado, M. T. García-López, R. Herranz, *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 4899-4902. J. M. Dougherty, D. A. Probst, R. E. Robinson, J. D. Moore, T. A. Klein, K. A. Snelgrove, P. R. Hanson, *Tetrahedron* **2000**, 50, 9781-9790. S. Boudjabi, G. Dewynter N. Voyer, L. Toupet, J-L. Montero, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2275-2283.

⁷⁷ T. K. Chakraborty, S. Jayaprakash, S. Ghosh, *Comb. Chem. High Throughput Screen.* **2002**, 5, 373-387. T. K. Chakraborty, S. Ghosh, S. Jayaprakash, J. A. Sarma, V. Ravikanth, P. V. Diwan, R. Nagaraj, A. C. Kunwar, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 6441-6457. N. Moitessier, S. Dufour, F. Chretien, J. P. Thiery, B. Maigret, Y. Chapleur, *Bioorg. Med. Chem.* **2001**, 2, 511-523. F. Chery, P. V. Murphy, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 2067-2069.

macrociclos,⁷⁹ diversos esqueletos carbonados (alcanos y cicloalcanos, compuestos aromáticos),⁸⁰ etc. Algunos ejemplos se muestran en la *Figura 2.10*.

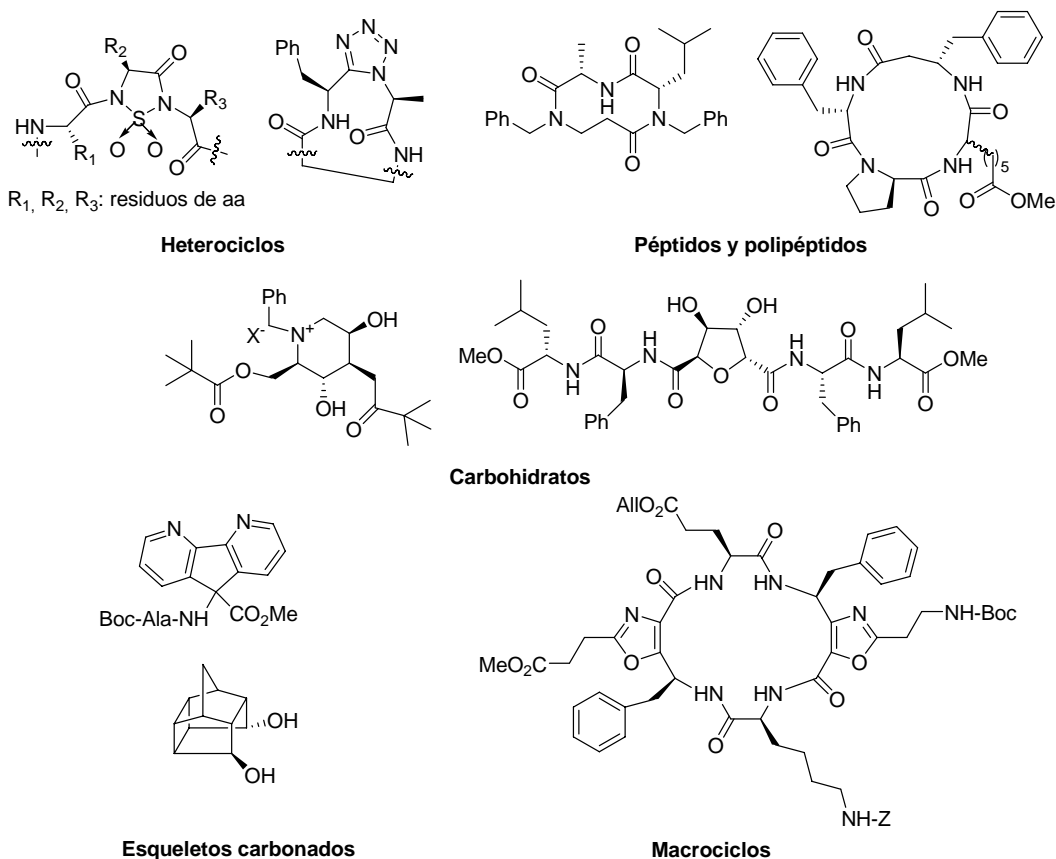


Figura 2.10. Ejemplos de peptidomiméticos de clase III.

⁷⁸ K. S. Rotonda, L. M. Gierasch, *Biopolymers* **2006**, *84*, 13-22. S. A. Fossey, G. Nemethy, K. D. Gibson, H. A. Scheraga, *Biopolymers* **1991**, *13*, 1529-1541. B. Wels, J. A. Kruijtzter, R. M. Liskamp, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2173-2176. M. P. Glenn, M. J. Kelso, J. D. Tyndall, D. P. Fairlie, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 640-641.

⁷⁹ T. Velasco-Torrijos, P. V. Murphy, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3961-3964. A. G. Barrett, A. J. Hennessy, R. Le Vezouet, P. A. Procopiu, P. W. Seale, S. Stefaniak, R. J. Upton, A. J. White, D. J. Williams, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 1028-1037. E. Mann, H. Kessler, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4567-4570.

⁸⁰ A. Gaucher, F. Bintein, M. Wakselman, J-P. Mazaleyrat, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 575-578. C. M. R. Low, J. W. Black, H. B. Bruoghton, I. M. Buck, J. M. R. Davies, D. J. Dunstone, R. A. D. Hull, S. B. Kalindjian, I. M. McDonal, M. J. Petter, N. P. Shankley, I. M. Steel, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3505-3517. J-P. Mazaleyrat, K. Wright, M. Wakselman, F. Formaggio, M. Crisma, C. Toniolo, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, *10*, 1821-1829. E. Jacoby, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 891-893. M. Axt, H. Oulyadi, X. Pannecoucke, J-C. Quirion, A. R. Pohlmann, V. E. U. Costa, *J. Mol. Struct.* **2004**, *689*, 49-60.

Dentro del amplio campo de los compuestos heterocíclicos, el esqueleto de isoquinolina es una estructura que aparece frecuentemente en la naturaleza, presentando sus derivados diversas aplicaciones terapéuticas.⁸¹ Estos hechos, unidos a la capacidad del anillo de isoquinolina para actuar como molde de anclaje de cadenas peptídicas,⁸² convierten a este heterociclo en un candidato ideal para conseguir muchos de los objetivos planteados en esta *Tesis Doctoral*.

En este sentido, nuestro grupo de investigación lleva tiempo trabajando en la síntesis de peptidomiméticos y en el estudio conformacional de los mismos, así como en su aplicación en la inhibición de enzimas relevantes, con implicación en enfermedades de interés. Como moldes donde anclar la o las cadenas peptídicas se han empleado los anillos de isoquinolina o de su análogo condensado pirido[1,2-*b*]isoquinolina, así como unidades de bifenilo 2,2' disustituído (*Figura 2.11*).⁸³ Los bifenilos, diferentemente sustituidos, son estructuras que ya han sido empleadas en la preparación de nuevos materiales,⁸⁴ como catalizadores quirales en síntesis orgánica,⁸⁵ en la generación de

⁸¹ C. E. Muller, *Mini Rev. Med. Chem.* **2001**, *4*, 417-427. M. Tamura, H. Nakao, H. Yoshizaki, M. Shiratsuchi, H. Shigyo, H. Yamada, T. Ozawa, J. Totsuka, H. Hidaka, *Biochim. Biophys. Acta.* **2005**, *1754*, 245-252. E. Kupeli, M. Kosar, E. Yesilada, K. Husnu, C. Baser, *Life Sci.* **2002**, *72*, 645-657. M. Sawa, T. Tsukamoto, T. Kiyoi, K. Kurokawa, F. Nakajima, Y. Nakada, K. Yokota, Y. Inoue, H. Kondo, K. Yoshino, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 930-936.

⁸² Algunos ejemplos recientes en los que el anillo de isoquinolina actúa como molde, ver: Y-H. Chen, Y-H. Zhang, H.-J. Zhu, D-Z. Liu, M. Gu, J-Y. Li, F. Wu, X-Z. Zhu, J. Li, F-J. Nan, *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 1613-1623. P. Gilleron, R. Millet, J. Domarkas, A. Farce, R. Houssin, J-P. Hénichart, *J. Peptide Sci.* **2006**, *12*, 140-146. C. W. Zapf, J. R. Del Valle, M. Goodman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4033-4036.

⁸³ F. Sánchez-Sancho, E. Mann, B. Herradón, *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 360-368. E. Mann, A. Chana, F. Sánchez-Sancho, C. Puerta, A. García-Merino, B. Herradón, *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 855-867. A. Montero, M. Alonso, E. Benito, A. Chana, E. Mann, J. M. Navas, B. Herradón, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2753-2757. A. Montero, F. Albericio, M. Royo, B. Herradón, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4089-4092. A. Montero, E. Mann, A. Chana, B. Herradón, *Chem. Biodiv.* **2004**, *1*, 442-457.

⁸⁴ Para ejemplos recientes, ver: D. Vizitui, C. Lazar, B. J. Halden, R. P. Lemieux, *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 8229-8236. C. Lazar, H. D. Wand, R. P. Lemieux, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 12586-12587. M. Köbel, T. Beyersdorff, X. H. Cheng, C. Tschierske, J. Kain, S. Diele, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 6809-6818.

⁸⁵ M. McCarthy, P. J. Guiry., *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 3809-3844.

cristales líquidos⁸⁶ o como farmacóforos en compuestos con distintas actividades biológicas.⁸⁷

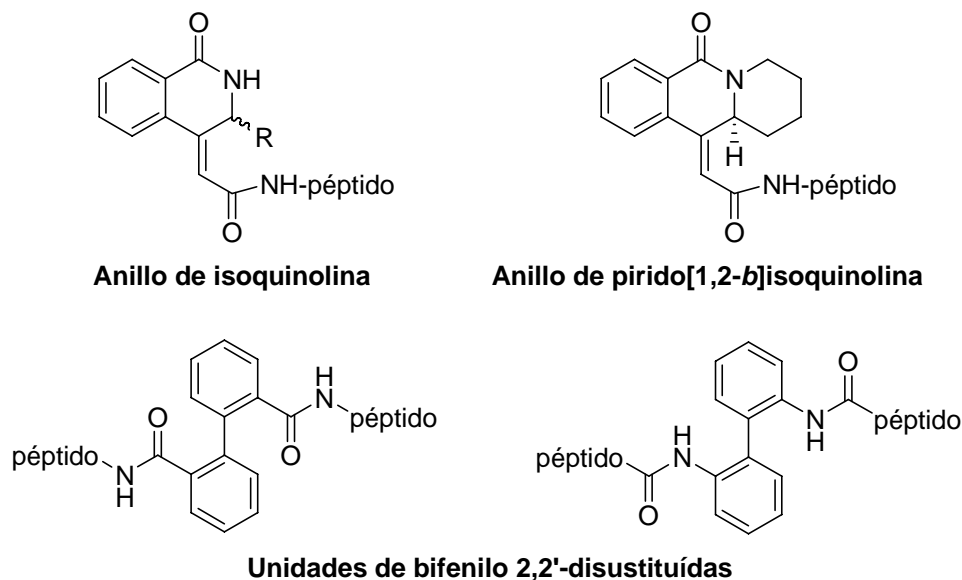


Figura 2.11. Moldes usados por nuestro grupo.

⁸⁶ C. Lazar, M. D. Wand, R. P. Lemieux, *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 12586-12587.

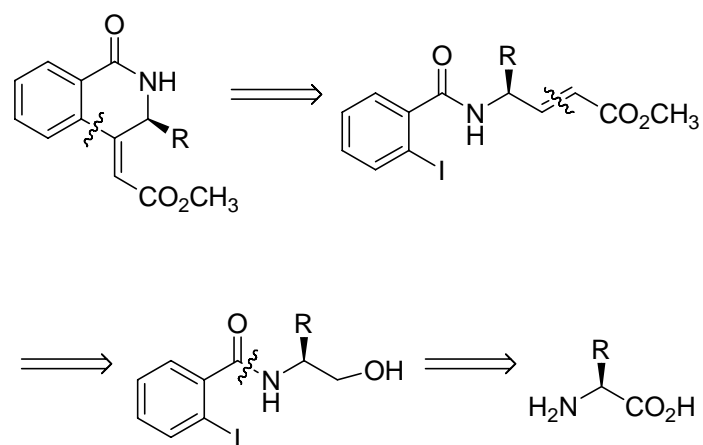
⁸⁷ Para ejemplos recientes, ver: Y. Liao, H. Böttcher, J. Harting, H. Greiner, C. van Amsterdam, T. Cremers, S. Sundell, J. März, W. Rautenberg, H. Wikström, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 517-525. M. S. Malamas, J. Sredy, C. Moxham, A. Katz, W. Xu, R. McDevitt, F. O. Adebayo, D. R. Sawicki, L. Seestaller, D. Sullivan, J. R. Taylor, *J. Med. Chem.*, **2000**, *43*, 1293-1310. D. M. Springer, B. Y. Luh, J. J. Bronson, K. E. McElhone, M. M. Mansuri, K. R. Gregor, D. O. Nettleton, P. L. Stanley, K. M. Tramosch, *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, *8*, 1087-1109.

2.2.- EXPOSICIÓN DE RESULTADOS

2.2.1.- CONSTRUCCIÓN DEL ANILLO DE ISOQUINOLINA: SÍNTESIS DE ÁCIDOS (1-OXOISOQUINOL-4-ILIDEN)ACÉTICOS

El esquema retrosintético planteado para la síntesis de isoquinolinas consta de tres etapas; una primera en la cual se lleva a cabo la *N*-acilación del correspondiente aminoácido, a continuación una segunda en la que se produce la elongación de la cadena y, por último, una tercera etapa en la que tiene lugar una reacción de Heck⁸⁸ (*Esquema 2.1*). Esta última etapa constituye la clave de la síntesis, permitiéndonos la ciclación intramolecular del sustrato adecuado para dar lugar como producto de reacción a la isoquinolina buscada; los compuestos así obtenidos son ópticamente puros excepto en un caso en el que se obtiene el producto racémico.

⁸⁸ Para revisiones sobre algunos aspectos de la reacción de Heck, ver: R. F. Heck, *Organic Reactions* **1982**, *27*, 345-390. R. F. Heck, en *Comprehensive Organic Synthesis*, B. M. Trost, I. Fleming, M. F. Semmelhack, Eds., Pergamon Press: Oxford, **1991**, *Vol. 4*, pp 833-865. A. de Meijere, F. E. Meyer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 2379-2411. A. Heumann, M. Réglie, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 9289-9346. S. E. Gibson, R. J. Middleton, *Contemp. Org. Synth.* **1996**, *3*, 447-471. M. Shibasaki, C. D. J. Boden, A. Kojima, *Tetrahedron* **1997**, *53*, 7371-7395. G. T. Crisp, *Chem. Soc. Rev.* **1998**, *27*, 427-436. B. A. Lorbach, M. J. Kurth, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1549-1581. I. P. Beletskaya, A. V. Cheprakov, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 3009-3066. A. Yamamoto, Y. Kayaki, K. Nagayama, I. Shimizu, *Synlett* **2000**, 925-937. C. Amatore, A. Jutand, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 314-321. A. Biffis, M. Zecca, M. Basato, *J. Mol. Catal. A: Chemical* **2001**, *173*, 249-274. N. J. Whitcombe, K. K. Hii, S. E. Gibson, *Tetrahedron* **2001**, *57*, 7449-7476. A. B. Dounay, L. E. Overman, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 2945-2963. A. F. Littke, G. C. Fu, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 4176-4211. P. J. Guiry, D. Kiely, *Curr. Org. Chem.* **2004**, *8*, 781-794. M. Shibasaki, E. M. Vogl, T. Ohshima, *Adv. Synth. Catal.* **2004**, *346*, 1533-1552. A. M. Trzeciak, J. J. Ziolkowski, *Coord. Chem. Rev.* **2005**, *249*, 2308-2322.

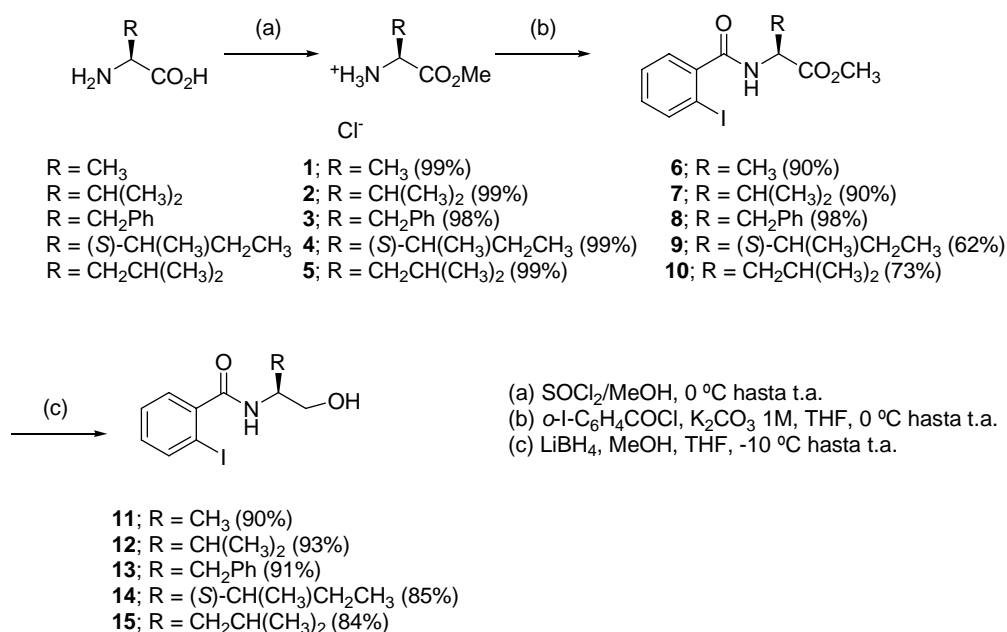


Esquema 2.1. Esquema retrosintético diseñado para la obtención de isoquinolinas.

Como aminoácidos de partida se escogieron L-alanina, L-valina, L-fenilalanina, L-isoleucina y L-leucina.

La ruta empleada para abordar la síntesis del citado esqueleto comprende cinco etapas, las cuales podemos dividir en dos tramos:

- Un primer tramo (*Esquema 2.2*) que comprende las etapas de formación del éster metílico del aminoácido usado en cada caso, la *N*-acilación de éste y la reducción del resto de éster metílico presente en la molécula resultante.



Esquema 2.2. Esquema de síntesis de los aminoalcoholes **11-15**.

Los aminoácidos de partida se esterificaron haciendo uso de cloruro de tionilo en presencia de metanol obteniendo de este modo los hidrocloruos de los aminoésteres **1-5** con rendimientos cuantitativos. A continuación, estos compuestos se *N*-acilaron por reacción con cloruro de *orto*-yodobenzoilo en condiciones básicas originando las benzamida **6-10**. El siguiente paso de la secuencia, la reducción de los compuestos **6-10** con borohidruro de litio en presencia de metanol,⁸⁹ condujo a los β-aminoalcoholes⁹⁰ correspondientes **11-15** con excelentes rendimientos.

⁸⁹ P. Meffre, P. Durand, E. Branquet, F. Le Goffie, *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 2147-2152.

⁹⁰ Este tipo de compuestos se utilizan generalmente como intermedios para la síntesis de aminoaldehídos, aunque también han sido ampliamente utilizados en otros aspectos como en síntesis asimétrica, química farmacológica, resolución de mezclas racémicas, además de ser constituyentes de moléculas más complejas. Algunos ejemplos de estas aplicaciones son: J. Jurczak, A. Golebiowski, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 149-164. E. Mann, Tesina de licenciatura: "Influencia del disolvente en el resultado estereoquímico de la reacción de Wittig de α-aminoaldehídos *N*-protegidos con iluros estabilizados". Universidad Autónoma de Madrid. Junio **2000**. C. Bolm, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, *30*, 542-543. C. Auvin-Guette, S. Rebuffa, Y. Prigent, B. Bodo, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2170-2174. M. Kawai, Y. Omori, H. Yamamura, Y. Butsugan, *Tetrahedron: Asymmetry.* **1992**, *3*, 1019-1020. G. R. Pettit, S. B. Singh, F. Hogan, P.

Cabe reseñar que se obtuvieron monocristales (por recristalización de metanol) del compuesto **14** adecuados para su estudio por difracción de rayos X.⁹¹ En la estructura cristalina (*Figura 2.1*) se observa la estabilización de la molécula por la formación de dos enlaces de hidrógeno bifurcados intermoleculares por parte del oxígeno carbonílico de una de ellas y, respectivamente, el NH de la amida [O(1)··H(1A) = 2.008 Å, $\hat{\angle}$ (NHO) = 149.4]⁹² y el protón hidroxílico de otra molécula contigua [O(1)··H(2A) = 1.998 Å, $\hat{\angle}$ (OHO) = 178.5]; además, se observa apilamiento de los anillos aromáticos en planos paralelos estabilizados por interacciones areno-areno.⁹³

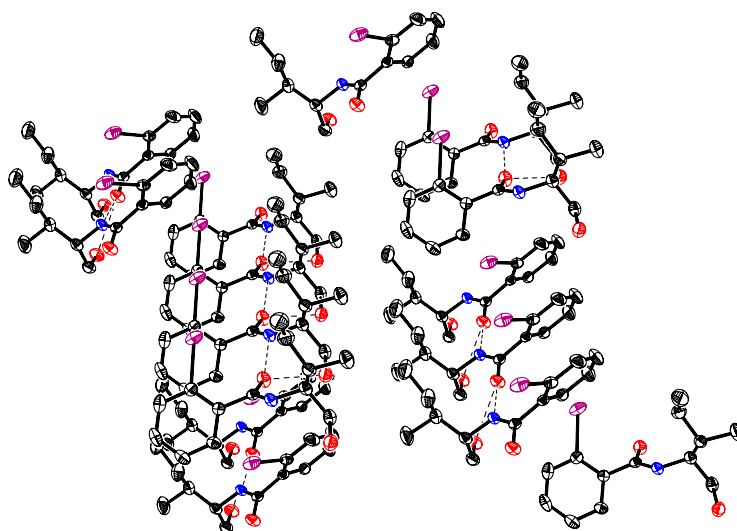


Figura 2.1. Estructura de rayos X del compuesto **14**, mostrando el apilamiento de las moléculas en la red cristalina.

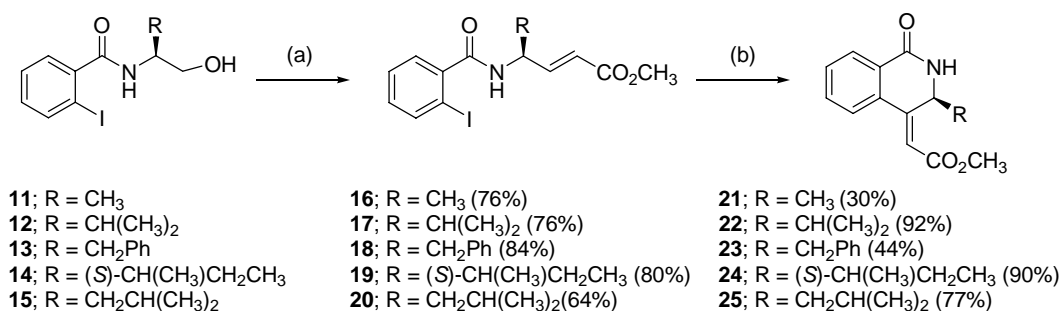
Lloyd-Williams, D. L. Herald, D. D. Burkett, P. J. Clelow, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 5463-5465.

⁹¹ Los datos de difracción de rayos X del compuesto **14** se muestran en el anexo I.

⁹² En trabajos científicos es habitual separar los decimales con puntos (.) y no con comas (,), como sería correcto en castellano, por lo que se seguirá este criterio en esta *Tesis Doctoral*.

⁹³ J. N. Low, J. Cobo, J. Mera, J. Quiroga, C. Glidewell, *Acta Cryst. C*, **2004**, *60*, 265-269. S. J. Gaden, C. Glidewell, J. N. Low, J. M. Skakle, J. L. Wardell, *Acta Cryst. C*, **2005**, *61*, 145-147. H. Yu, Y. Huang, W. Zang, T. Matsumura, J. Meng, *J. Mol. Struct.* **2002**, *642*, 53-62. S. Tsuzuki, K. Honda, T. Uchimar, M. Mikami, K. Tanabe, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 104-112. C. A. Hunter, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1993**, *32*, 1584-1586. P. Bello, N. J. Heaton, A. Chana, J. Jiménez-Barbero, E. Riande, B. Herradón, *J. Phys. Org. Chem.* **2004**, *17*, 71-82.

• El segundo tramo de la ruta (*Esquema 2.3*) abarca la transformación del alcohol en el correspondiente aldehído por medio de la oxidación de Swern,⁹⁴ seguida de una reacción de Wittig;⁹⁵ los sustratos α,β -insaturados resultantes fueron sometidos a una ciclación intramolecular por medio de la reacción de Heck,⁹⁶ dando como productos finales del proceso las correspondientes isoquinolinas.⁹⁷



(a) (i) DMSO/(COCl)₂, CH₂Cl₂, -78 ° C hasta t.a.

(ii) Ph₃P=CHCO₂CH₃, CH₂Cl₂, t.a.

(b) Pd(OAc)₂, Ph₃P, Et₃N, CH₃CN, 70 °C

Esquema 2.3. Esquema de síntesis de las isoquinolinas 21-25.⁹⁸

⁹⁴ A. J. Mancuso, S. L. Huang, D. Swern, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2480-2482. A. J. Mancuso, D. Swern, *Synthesis* **1981**, 165-185. Para una revisión sobre la reacción de Swern y relacionadas, ver: T. V. Lee, en *Comprehensive Organic Synthesis*; Ed., B. M. Trost, I. Fleming, S. V. Ley; Pergamon Press; Oxford **1991**, pp 291-327.

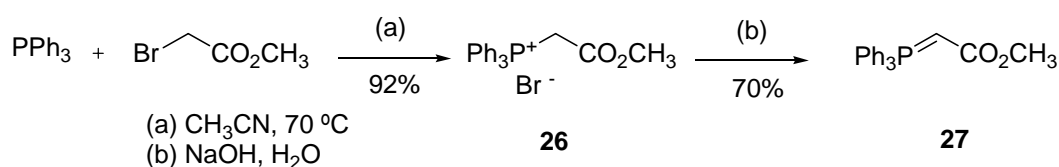
⁹⁵ Para revisiones sobre la reacción de Wittig, ver: B. E. Maryanoff, A. B. Reitz, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 863-927. E. Vedejs, M. J. Peterson, *Top. Stereochem.* **1994**, *21*, 1-157. H.-J. Cristau, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 1299-1313. J. Clayden, S. Warren, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 241-270. K. C. Nicolau, M. W. Harter, J. L. Gunzner, A. Nadin *Liebigs Ann./Recueil* **1997**, 1283-1301. A. H. Li, L. X. Dai, V. K. Aggarwal, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 2341-2372. A. D. Abell, M. K. Edmmons, en *Organophosphorus Reagents*; Ed., P. J. Murphy; Oxford University Press; Oxford **2004**, pp 99-127. A. D. Abell, M. K. Edmmons, en *Modern Carbonyl Olefination*; Ed., T. Takeda, Wiley-VCH; Weinheim, Alemania **2004**, capítulo 1.

⁹⁶ S. K. Chattopadhyay, S. Maity, B. K. Pal, S. Panja, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 5079-5081. K. Yamazaki, Y. Nakamura, Y. Kondo, *J. Chem. Chem., Perkin Trans 1*, **2002**, 2137-2138. V. Gracias, J. D. Moore, S. T. Djuric, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 417-420.

⁹⁷ T. Hundlicky, H. F. Olivo, B. McKibben, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 5108-5115. M. Shibasaki, M. Sodeoka, *Pure & Appl. Chem.* **1998**, *70*, 411-414. Q. Hunag, R. C. Larock, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 3557-3560. Z. Xing, T. Luo, K. Lu, J. Cui, X. Shi, R. Fathi, J. Chen, Z. Yang, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3155-3158. Md. W. Khan, A. F. G. Masud-Reza, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 11204-11210.

⁹⁸ Las tetrahydroisoquinolinas **21**, **22**, **24** y **25** se obtuvieron enantioméricamente puras, mientras que **23** se obtuvo en forma racémica; este aspecto fue comprobado por HPLC (*Figura 2.4*).

Según lo expuesto, la oxidación de Swern⁹⁴ de los aminoalcoholes **11-15** y la posterior reacción de Wittig⁹⁵ de los aldehídos resultantes, se llevaron a cabo de forma consecutiva en el mismo matraz de reacción,⁹⁹ obteniéndose de esta forma los γ -aminoesteres α,β -insaturados **16-20**; de acuerdo con los valores de las constantes de acoplamiento de los protones olefinicos observados en los espectros de RMN-¹H, el doble enlace de estos compuestos presenta una configuración *E*. De esta forma podemos acceder de una forma simple y eficaz a esteris α,β -insaturados de gran interés sintético.¹⁰⁰ Por su parte, el iluro de fosforano **27** utilizado en la reacción de Wittig se preparó previamente de una forma sencilla,¹⁰¹ con buenos rendimientos y alta escala (*Esquema 2.4*).



Esquema 2.4. Esquema de síntesis del iluro usado en la reacción de Wittig.

La reacción de Heck⁹⁶ intramolecular, etapa clave del proceso sintético propuesto se llevó a cabo a cabo en condiciones normales a las descritas por Overman^{102,103} pero en

⁹⁹ R. E. Ireland, D. W. Norbeck, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 2198-2200. Para ejemplos ver: S. S. Harried, C. P. Lee, G. Yang, T. I. H. Lee, D. C. Myles, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6646-6660. T. K. Chakraborty, S. Tapadar, S. Roy, *Arkivoc*, **2005**, (iii), 170-178. P. Davoll, A. Spaggiari, L. Castagnetti, F. Pratl, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 38-47.

¹⁰⁰ Para una revisión ver: M. T. Reetz, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 1121-1162. Para aplicaciones ver: A. P. Kozikowski, D. Steensma, G. L. Araldi, W. Tuckmantel, S. Wang, S. Pshenichkin, E. Surima, J. T. Wroblewski, *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 1641-165. J. Ahman, P. Somfai, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 303-306. E. Lee, K. S. Li, J. Lim, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1445-1446.

¹⁰¹ O. Tisler, H. Gutmann, M. Montavon, R. Ruegg, G. Ryser, P. Zeller, *Helv. Chim. Acta* **1975**, *40*, 1242.

¹⁰² M. M. Abelman, T. Oh, L. E. Overman, *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 4130-4133.

¹⁰³ Para ejemplos de la reacción de Heck en presencia de sales de plata (I), ver: K. Carabelas, A. Hallberg, C. Westerlund, *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3896-3900. L. F. Tietze, R. Hannemann, W. Buhr, M. Lögers, P. Menningen, M. Lieb, D. Starck, T. Grote, A. Döring, I. Schuberth, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2674-2677. F. Miyazaki, K. Uotsu, M. Shibasaki, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 13073-13078. S. Honzawa, T. Mizutani, M. Shibasaki, *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 311-

ausencia de sales de plata, puesto que resultados previos del grupo¹⁰⁴ mostraron que la presencia de sales de Ag^+ provoca el acoplamiento oxidativo dando lugar a bifenilos. Dada la gran variedad de parámetros modificables en este tipo de reacciones (especie de paladio, ligandos, aditivos, disolventes, codisolventes, temperatura, tiempos de reacción, etc.), las condiciones concretas utilizadas fueron establecidas en trabajos anteriores de nuestro equipo.¹⁰⁴ De este modo, la ciclación de los esteres insaturados **16-20** condujo a las correspondientes tetrahidroisoquinolinas **21**, **22**, **24** y **25** enantioméricamente puras y con el doble enlace con estereoquímica *Z*. En la *Figura 2.2* se recogen los cromatogramas de HPLC con detección de UV y DC los cuales confirman la naturaleza enantioméricamente pura del compuesto **24**.

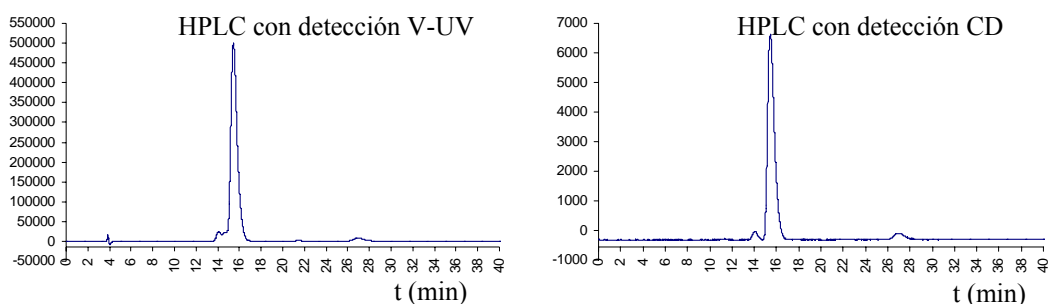


Figura 2.2. Cromatogramas de HPLC con detección V-UV y DC del compuesto **24**.

Estas características estructurales han sido confirmadas mediante un estudio de difracción de rayos X (por recristalización de metanol) de algunos de los compuestos preparados.¹⁰⁵ En la *Figura 2.3* se muestra la estructura resuelta del compuesto **25**, en la que puede comprobarse la formación del enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el oxígeno carbonílico lactámico de una molécula y el NH de la otra [$\text{O}(1)\cdots\text{H}(1) = 2.025 \text{ \AA}$,

314. M. M. Segorbe, J. Adrio, J. C. Carretero, *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 1983-1986. V. K. Jain, L. Jain, *Coor. Chem. Rev.* **2005**, *249*, 3075-3197.

¹⁰⁴ F. Sánchez-Sancho, E. Mann, B. Herradón, *Adv. Synt. Catal.* **2001**, *343*, 360-368.

¹⁰⁵ Los datos de difracción de rayos X del compuesto **25** se muestran en el anexo I.

$\hat{A}(\text{NHO}) = 179.9]$ y viceversa [$\text{H}(1)\cdots\text{O}(1) = 2.025 \text{ \AA}$, $\hat{A}(\text{NHO}) = 179.9]$, dando lugar a la presencia de dímeros en el cristal con el motivo cristalográfico $R_2^2(8)$.¹⁰⁶

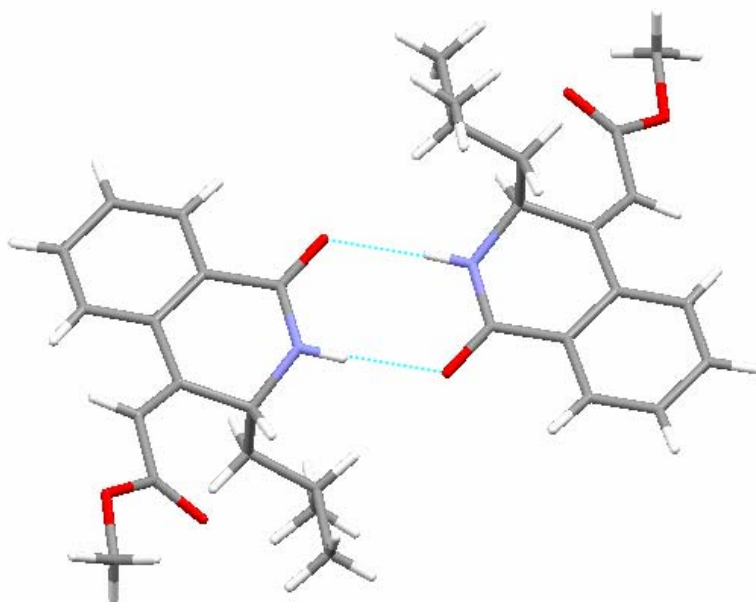


Figura 2.3. Estructura de rayos X del compuesto **25**.

Por otra parte, el análisis por difracción de rayos X¹⁰⁷ de un monocristal del compuesto **23** se observa (*Figura 2.4*), al igual que ocurría en el compuesto anterior, la existencia de dos enlaces de hidrógeno intermoleculares, uno entre el oxígeno carbonílico lactámico de una molécula y el NH de otra [$\text{O}(1)\cdots\text{H}(1\text{A}) = 2.035 \text{ \AA}$, $\hat{A}(\text{NHO}) = 167.9]$, y el segundo entre el NH de la primera y el oxígeno carbonílico lactámico de una tercera [$\text{H}(1\text{A})\cdots\text{O}(7) = 2.035 \text{ \AA}$, $\hat{A}(\text{NHO}) = 167.9]$ con el motivo $R_2^2(8)$.¹⁰⁶ Otro dato de interés obtenido a partir del análisis por difracción de rayos X es que la molécula cristaliza en el grupo espacial centrosimétrico $P2(1)/n$, que junto con los datos observados en los cromatogramas de UV y DC confirman la naturaleza racémica del mismo.

¹⁰⁶ M. C. Etter, *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*, 120-126. J. Bernstein, R. E. Davis, L. Shimoni, N.-L. Chang, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 1555-1573.

¹⁰⁷ Los datos de difracción de rayos X del compuesto **23** se muestran en el anexo I.

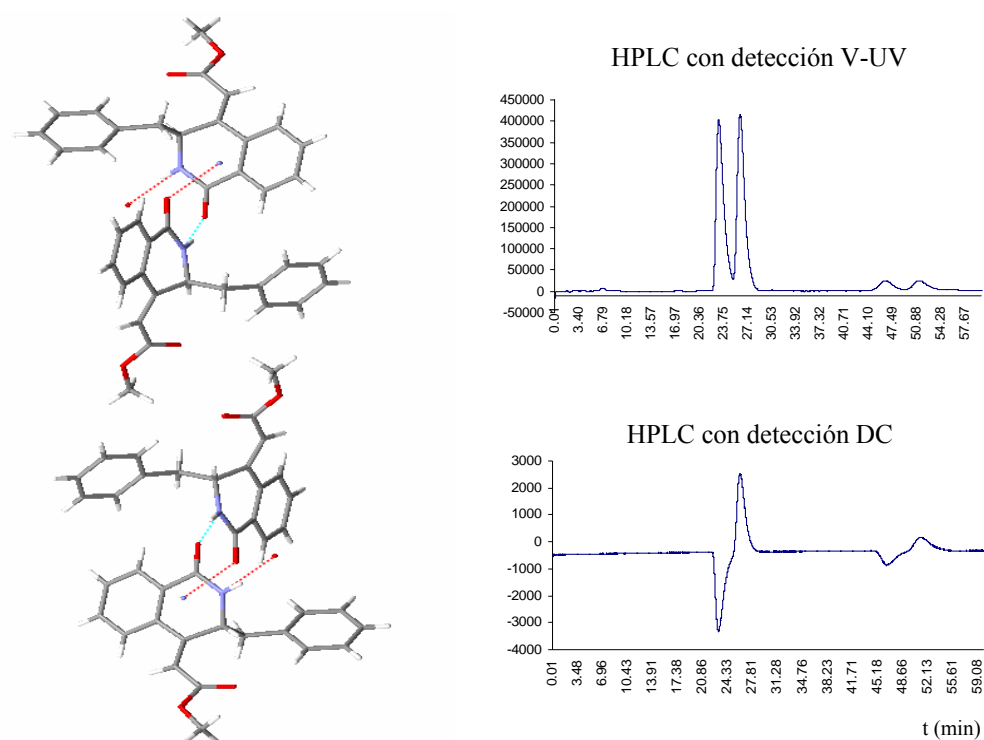
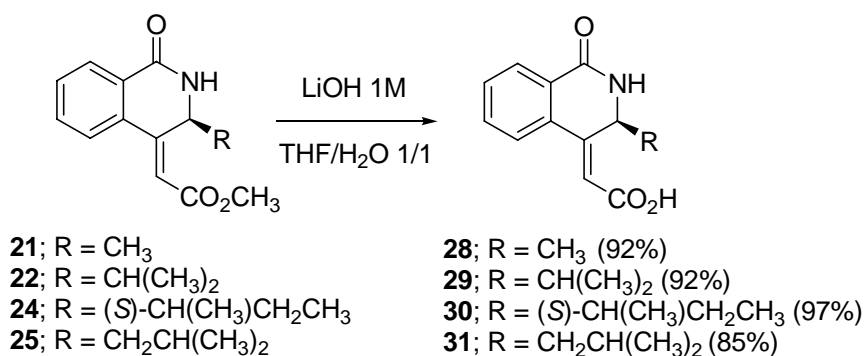


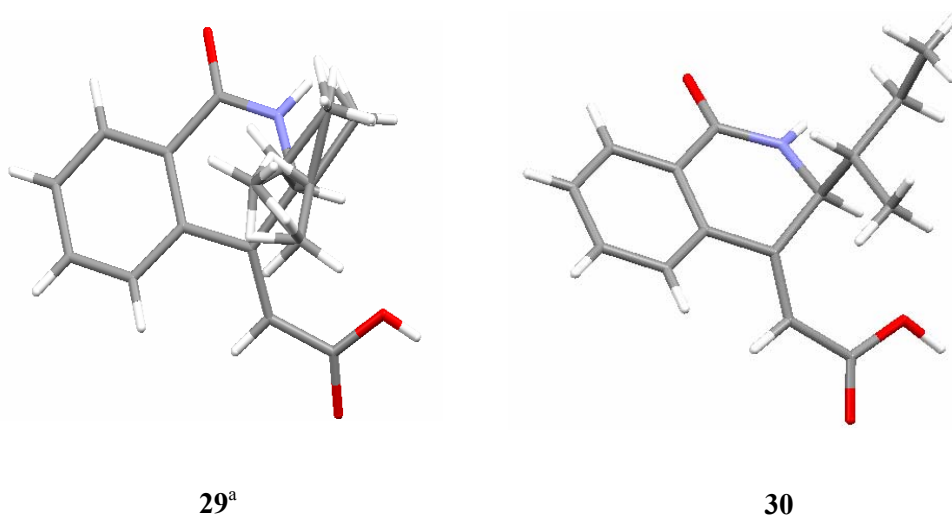
Figura 2.4. Estructura de rayos X del compuesto **23**. HPLC con detección V-UV y DC.

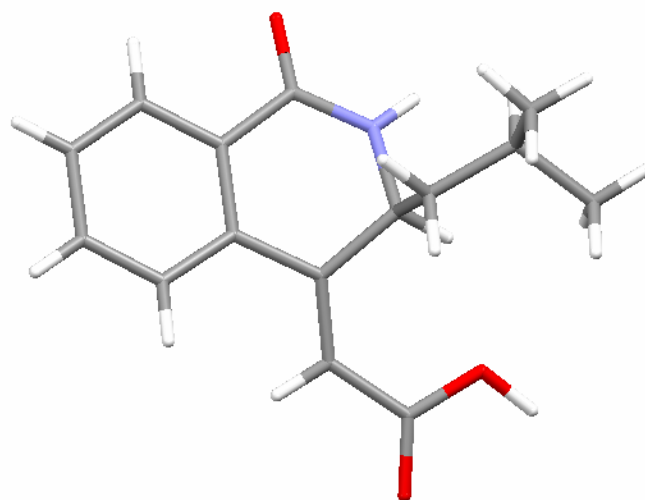
Finalmente, con objeto de obtener la funcionalidad adecuada que permita el posterior acoplamiento de las isoquinolinas obtenidas a otras moléculas, se llevó a cabo la hidrólisis de los ésteres metílicos **21**, **22**, **24** y **25** en presencia de LiOH, obteniéndose de este modo los correspondientes ácidos carboxílicos **28-31** (*Esquema 2.5*).



Esquema 2.5. Esquema de síntesis de los ácidos carboxílicos **28-31**.

Se obtuvieron cristales adecuados para su estudio por difracción de rayos X (*Figura 2.5*) de los compuestos **29**, **30** y **31**.





31

^aEl resto de isopropilo se encuentra oscilando entre dos posiciones.

Figura 2.5. Estructura de rayos X¹⁰⁸ de los compuestos 29-31.

De nuevo al igual que en el compuesto 14, podemos observar el apilamiento de anillos aromáticos en el cristal (*Figura 2.6*), tanto para el compuesto 30 como para 31.

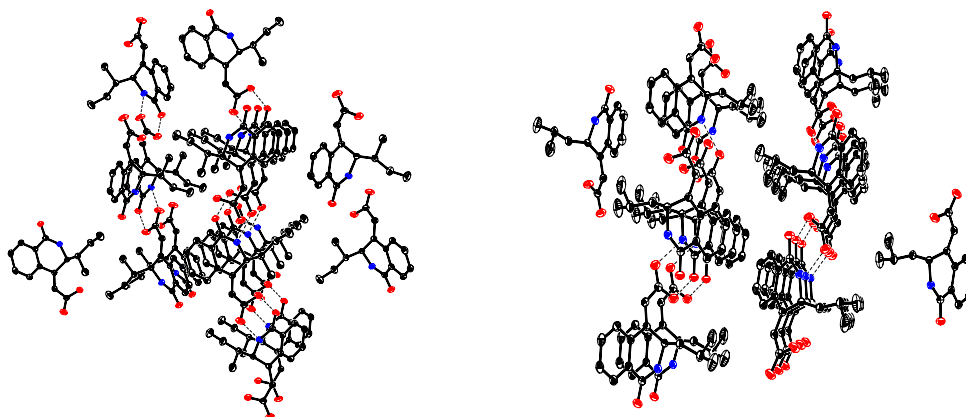


Figura 2.6. Estructura de rayos X de los compuestos 30 y 31, donde se observa el apilamiento de anillos aromáticos.

¹⁰⁸ Los datos de difracción de rayos X de los compuestos 29-31 se muestran en el anexo I.

También se observa la presencia de enlaces de hidrógeno intermoleculares (*Figura 2.7*) entre el oxígeno carbonílico del ácido y el NH de la amida [$O(2)\cdots H(1A) = 2.044 \text{ \AA}$, $\hat{\angle}(NHO) = 165.3$], y entre el protón del ácido y el oxígeno carbonílico de la lactama [$O(1)\cdots H(3A) = 1.608 \text{ \AA}$, $\hat{\angle}(COH) = 175.1$]; dando lugar a una cadena infinita de moléculas.

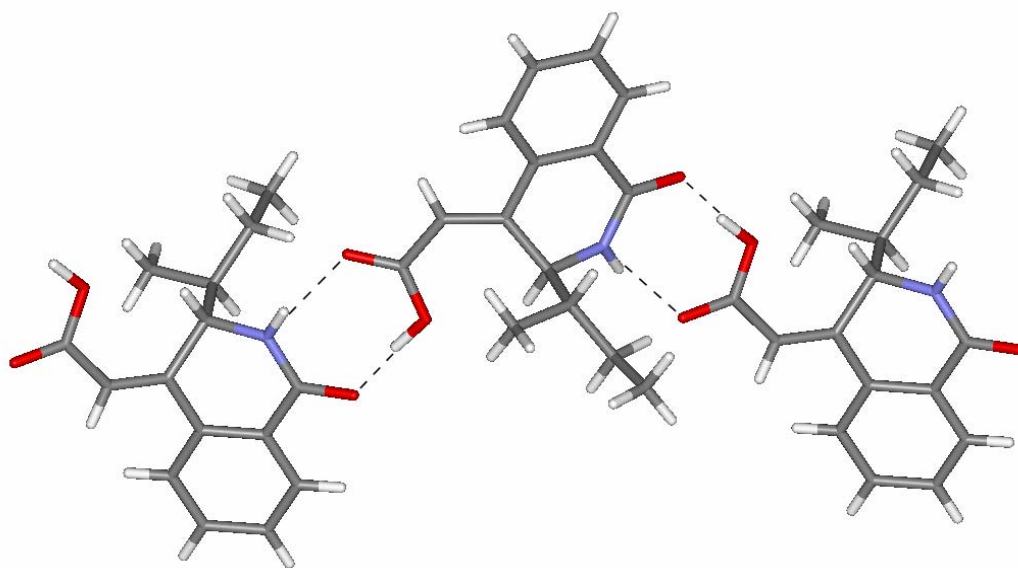


Figura 2.7. Estructura de rayos X del compuesto **30**, donde se observan los enlaces de hidrógeno.

Estas interacciones hacen que al cristalizar la molécula se propague en el espacio dando lugar a cadenas infinitas. En la *Figura 2.8a* se muestra el crecimiento de las cadenas a lo largo del eje *b*, observándose la formación de dos hebras paralelas no coplanares, las cuales disponen los restos de *sec*-butil alternativamente por encima o debajo de la línea de crecimiento. Entre ambas hebras existe una nueva hebra estabilizada con las anteriores por medio de interacciones no covalentes de tipo CH- π ,¹⁰⁹ formando un

¹⁰⁹ M. Nishio, *Topics in Stereochemistry* **2006**, 25, 255-302:

ángulo con respecto a las anteriores de 70.7° . En la *Figura 2.8b* se observa el crecimiento de las cadenas a lo largo del eje *c*.

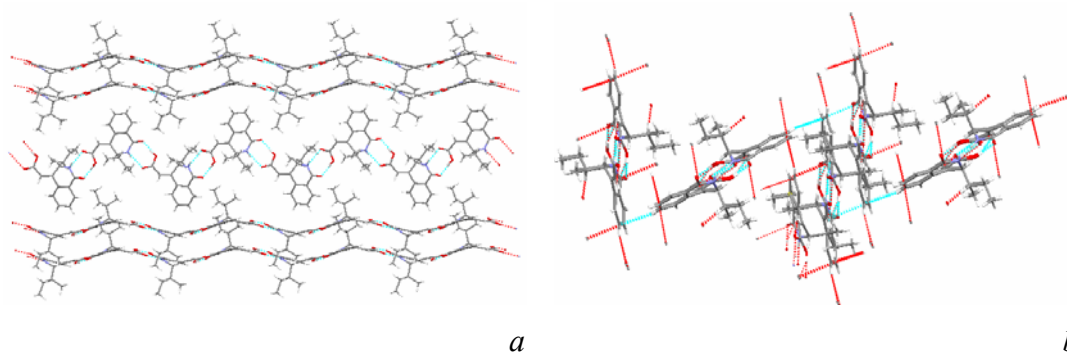


Figura 2.8. Estructura de rayos X del compuesto **30**, donde se observa los la dirección de la cristalización.

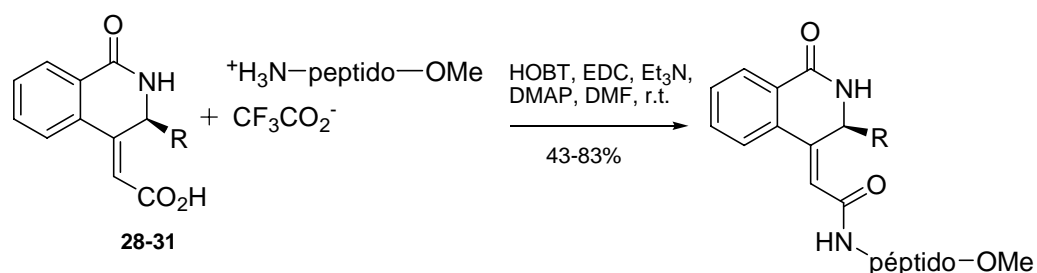
2.2.2.- TRANSFORMACIONES QUÍMICAS DE ÁCIDOS (1-OXOISOQUININOL-4-ILIDEN)ACÉTICOS Y DERIVADOS

2.2.2.1. Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona.

Los ácidos carboxílicos **28-31** se anclaron a las distintas cadenas peptídicas empleando la siguiente combinación de reactivos de acoplamiento: 1-hidroxibenzotriazol (HOBT)¹¹⁰, 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC)¹¹¹, Et₃N y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) (*Esquema 2.6*).

¹¹⁰ B. Lygo en *Handbook of Reagents for Organic Synthesis. Activating Agents and Protecting Groups*; Eds., A. J. Pearson, W. R. Roush; John Wiley and Sons: Chichester **1999**, pp 220-222.

¹¹¹ R. S. Pottorf, P. Szeto en *Handbook of Reagents for Organic Synthesis. Activating Agents and Protecting Groups*; Eds., A. J. Pearson, W. R. Roush; John Wiley and Sons: Chichester **1999**, pp 186-188.

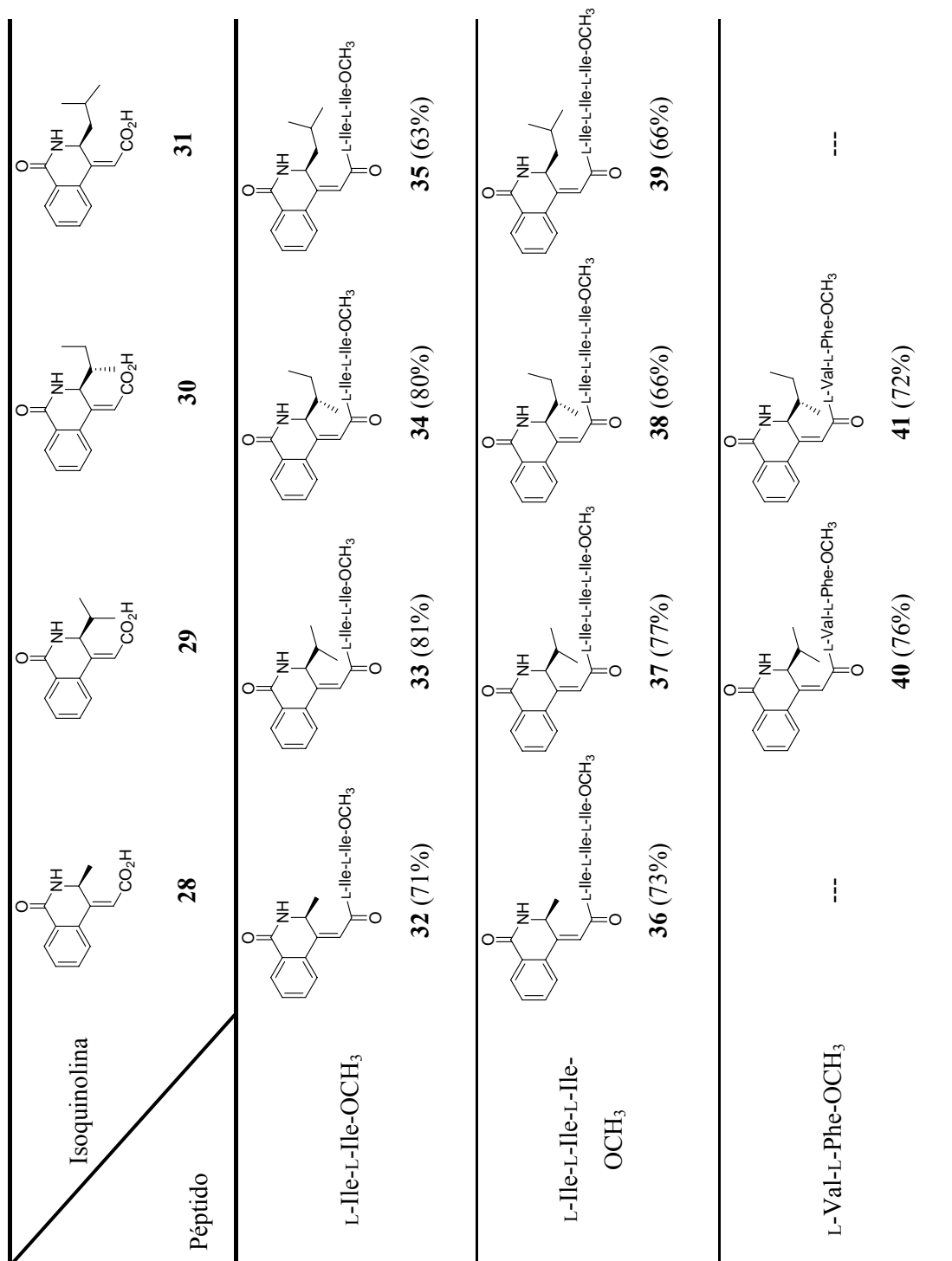


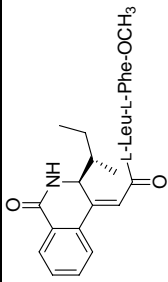
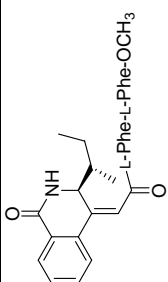
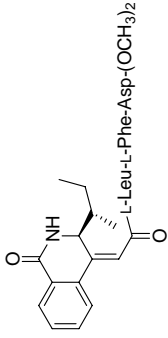
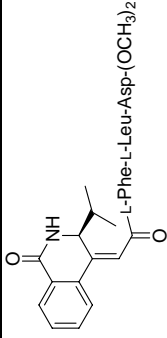
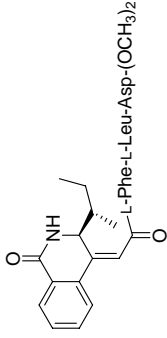
Esquema 2.6. Esquema general de síntesis de los híbridos péptido-isoquinolina.

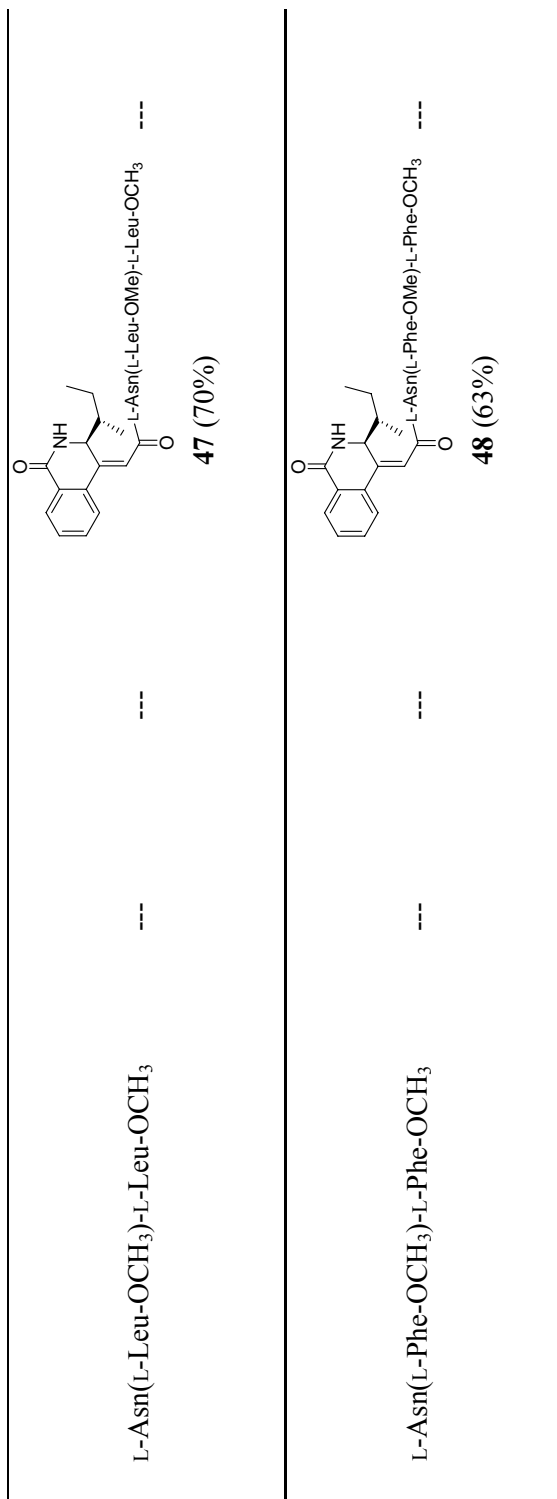
Los péptidos usados en estos procesos se sintetizaron haciendo también uso de los reactivos de acoplamiento anteriormente citados, además de proteger y desproteger las posiciones adecuadas de la molécula con los grupos requeridos en cada etapa.

En la *Tabla 2.1* se muestran las estructuras de los híbridos péptido-isoquinolina sintetizados, así como los rendimientos de producto aislado:

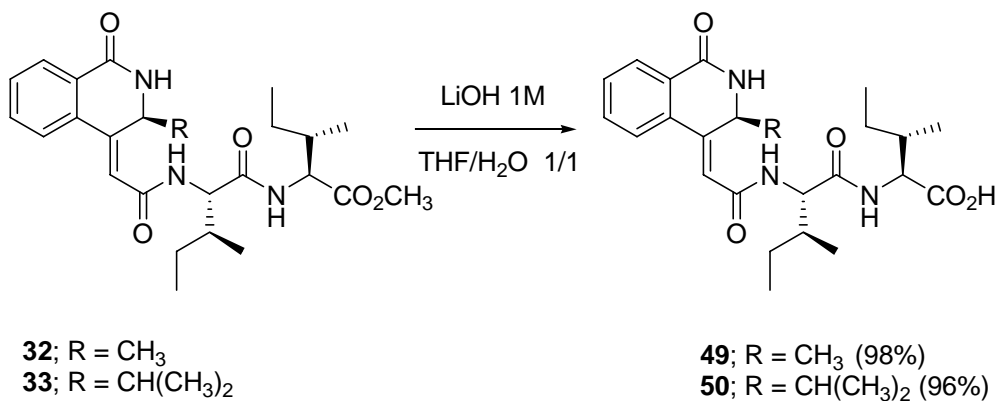
Tabla 2.1. Híbridos péptido-heterociclo sintetizados.



L-Leu-L-Phe-OCH ₃	---	---	---	 <p>42 (83%)</p>	---
L-Phe-L-Phe-OCH ₃	---	---	---	 <p>43 (82%)</p>	---
L-Leu-L-Phe-L-Asp-(OCH ₃) ₂	---	---	---	 <p>44 (81%)</p>	---
L-Phe-L-Leu-L-Asp-(OCH ₃) ₂	---	---	---	 <p>45 (67%)</p>	---
				 <p>46 (43%)</p>	---



Dado que no fue posible obtener cristales adecuados para su estudio por difracción de rayos X de ninguno de los híbridos péptido-isoquinolina preparados, y como se observa es más sencillo obtenerlos de moléculas con grupos de ácido carboxílico, además con la idea de disponer de mayor diversidad molecular de cara a los ensayos biológicos, se hidrolizaron los ésteres metílicos **32** y **33** utilizando para este fin LiOH; se obtuvieron de este modo, con rendimientos excelentes, los ácidos **49** y **50** (*Esquema 2.7*). Desafortunadamente, tampoco pudieron obtenerse cristales de estos últimos compuestos susceptibles de ser estudiados por difracción de rayos X.



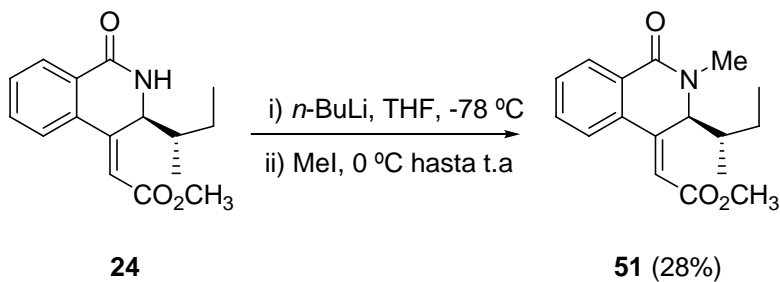
Esquema 2.7. Hidrólisis de los ésteres **32-33** a los ácidos **49-50**.

2.2.2.2. *N*-Metilación de ésteres.

La primera transformación química realizada sobre los citados sustratos consistió en la *N*-metilación de la tetrahydroisoquinolona **24**. Con esta finalidad se llevaron a cabo diversos ensayos,¹¹² resultando todos fallidos hasta que se utilizaron las condiciones

¹¹² R. Chicharro, S. de Castro, J. L. Reino, V. J. Arán, *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2314-2326. A. G. Schultz, S. J. Kiricich, R. Rahm, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4551-4554. G. J. Wells, M. Tao, K. A. Josef, R. Bihovxksky, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3488-3503.

descritas por Schultz *et al*¹¹³ para sustratos relacionados, con las que se obtuvo el producto deseado aunque con bajo rendimiento (*Esquema 2.8*).

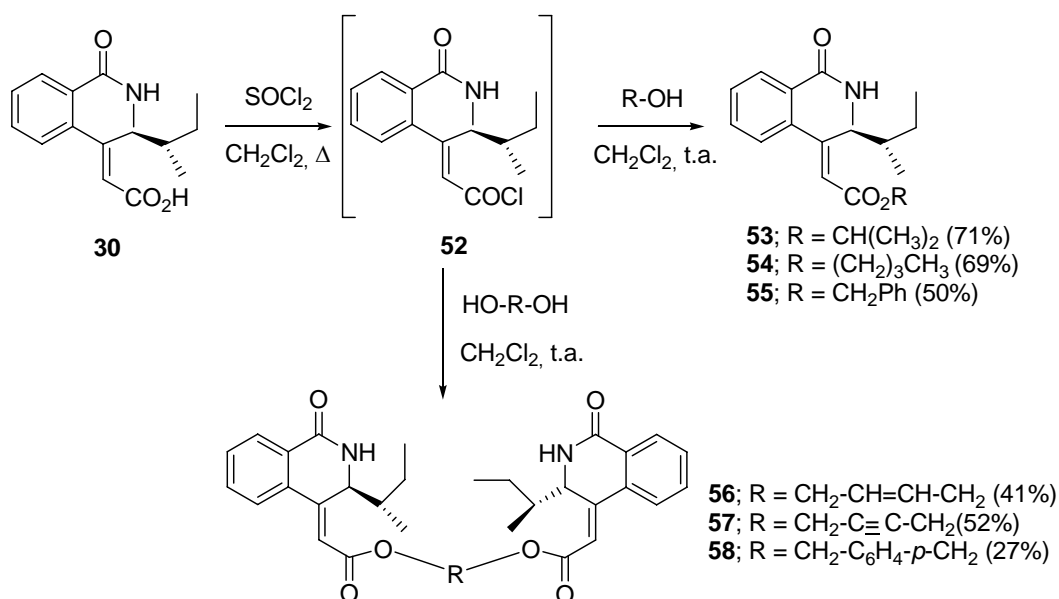


Esquema 2.8. *N*-Metilación de **24**.

2.2.2.3. Síntesis de ésteres del ácido **30**.

Con el objeto de estudiar la influencia en la actividad biológica (ver *Sección 2.4.4.*) del resto éster de **24**, se prepararon diversos ésteres del ácido carboxílico **30** (*Esquema 2.9*) por acilación de alcoholes alifáticos y dioles terminales de diversa naturaleza con el correspondiente cloruro de ácido **52**; se obtuvieron, de este modo, los compuestos **53-58** con rendimientos de moderados a buenos.

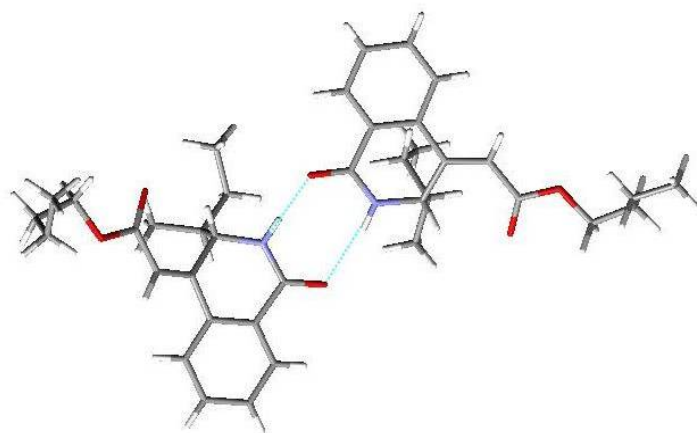
¹¹³ A. G. Schultz, T. J. Guzi, E. Larson, R. Rahm, K. Thakkar, J. M. Bidlack, *J. Med. Chem.* **1998**, *63*, 7795-7804.



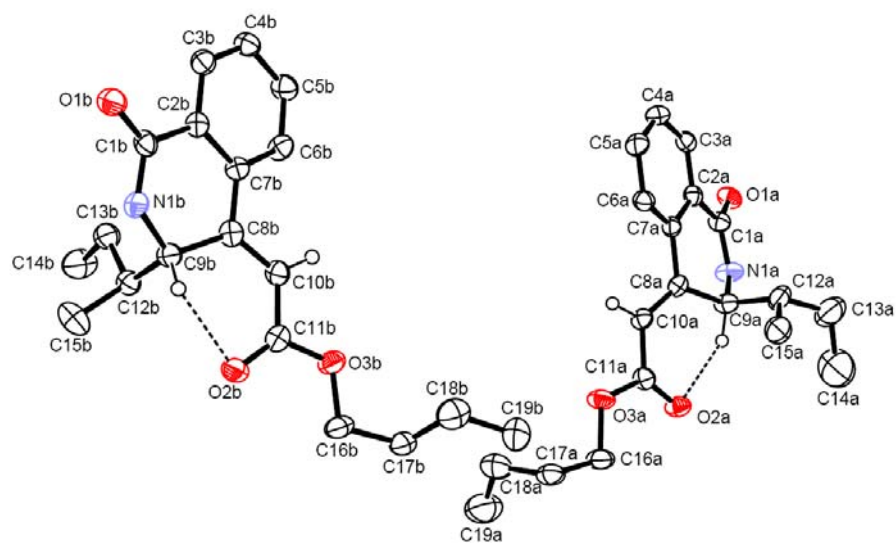
Esquema 2.9. Reacción de esterificación del ácido carboxílico **30**.

Se obtuvieron monocristales del compuesto **54** que se estudiaron por difracción de rayos X¹¹⁴ (*Figura 2.9a*), observándose la existencia de enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el oxígeno carbonílico del resto lactámico de una molécula y el NH de la otra [O(4)··H(1A) = 1.948 Å, ∠(NHO) = 174.3] y viceversa [O(1)··H(2A) = 2.258 Å, ∠(NHO) = 155.5], originando la formación de dímeros en la red cristalina con el motivo cristalográfico R₂²(8). En la *Figura 2.9b* se observa la existencia de un enlace de hidrógeno no clásico intramolecular entre el protón que soporta el carbono 3' y el oxígeno carbonílico [C(9)-H(9)··O(2B) = 2.265 Å, ∠(CHO) = 118.0].

¹¹⁴ Los datos de difracción de rayos X del compuesto **54** se muestran en el anexo I.



a



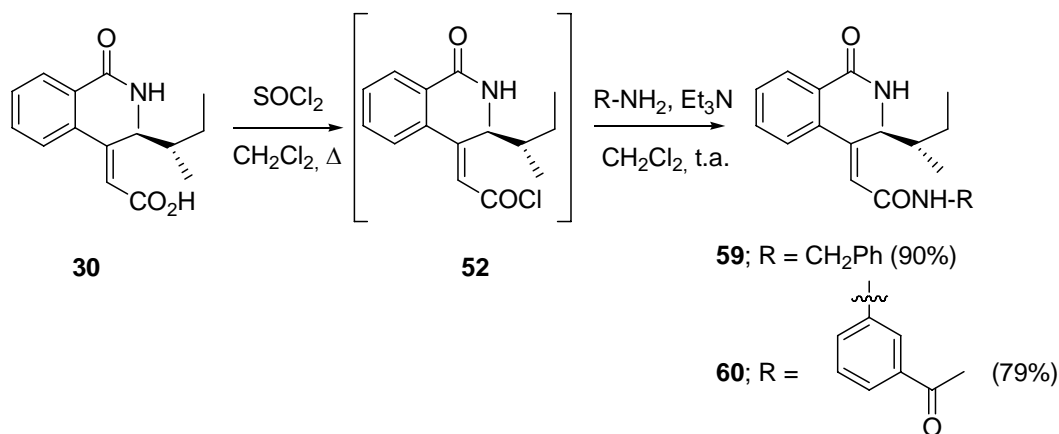
b

Figura 2.9. Estructura de rayos X del compuesto **54** donde se observan los enlaces de hidrógeno intra- e intermoleculares.

2.2.2.4. Síntesis de amidas del ácido 30.

Continuando con la idea de generar diversidad molecular a partir del ester **24**, se preparó también una pequeña colección de amidas *N*-sustituidas (*Esquema 2.10*) por

reacción del cloruro de ácido **52** con diversas aminas, obteniéndose así los compuestos **59**, **60**, **62** y **63** con rendimientos de buenos a moderados.



Esquema 2.10. Síntesis de amidas del ácido carboxílico **30**.

Con las amidas, al igual que con los alcoholes, se decidió preparar compuestos con dos fragmentos de isoquinolina. Para ello, se eligió como amina¹¹⁵ la bifeníl-2,2'-diamina (**61**),¹¹⁶ que se obtuvo como producto principal, junto con la fenantridona como producto secundario, en la reacción de Schmidt¹¹⁷ llevada a cabo a partir de ácido difénico en ácido sulfúrico y azida sódica.

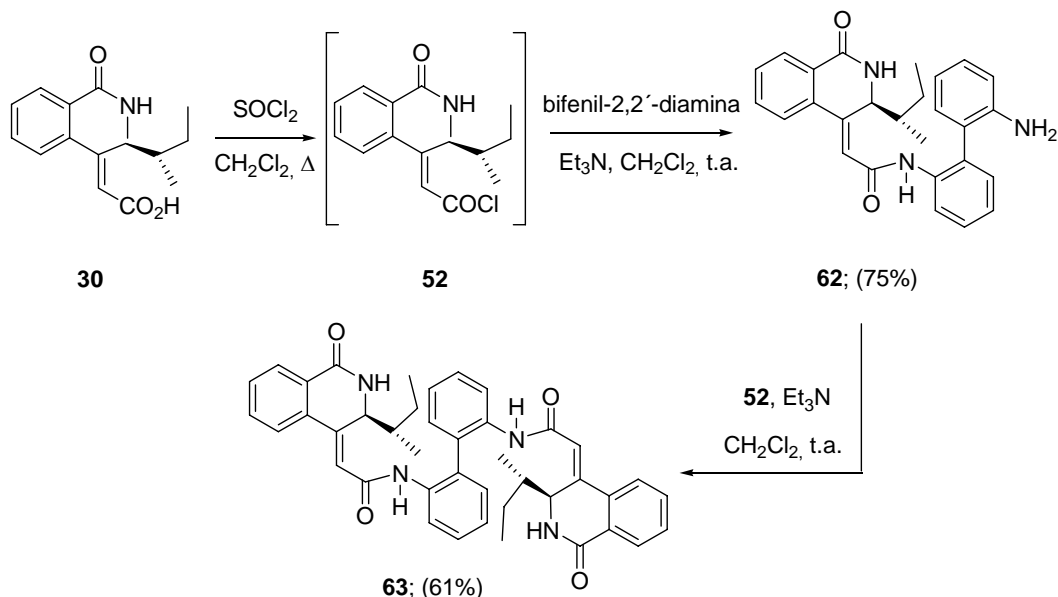
La reacción de la la bifeníl-2,2'-diamina (**61**) con un exceso (2.5 eq.) del cloruro de ácido **52** no dio lugar al compuesto de diacilación, sino que se obtuvo como único producto el procedente de la monoacilación de la amina **62**. Sin embargo, la posterior acilación de **62** (*Esquema 2.11*) con el cloruro de ácido **52**, recién preparado por

¹¹⁵ Esta diamina ya había sido utilizada anteriormente en el grupo, ver: Ana Montero, Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid **2004**. A. Montero, M. Alonso, E. Benito, A. Chana, E. Mann, J. M. Navas, B. Herradón, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2753-2757. A. Montero, F. Albericio, M. Royo, B. Herradón, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4089-4092. A. Montero, E. Mann, A. Chana, B. Herradón, *Chem. Biodiv.* **2004**, *1*, 442-457.

¹¹⁶ E. M. F. J. Stephenson, *J. Chem. Soc.* **1954**, 2354-2357.

¹¹⁷ G. I. Koldobskii, V. A. Ostrovskii, B. V. Gidasov, *Russ. Chem. Rev.* **1978**, *47*, 1084-1094.

tratamiento del ácido con cloruro de tionilo en cloruro de metileno a reflujo, permitió obtener el bis-derivado, **63** con buen rendimiento.



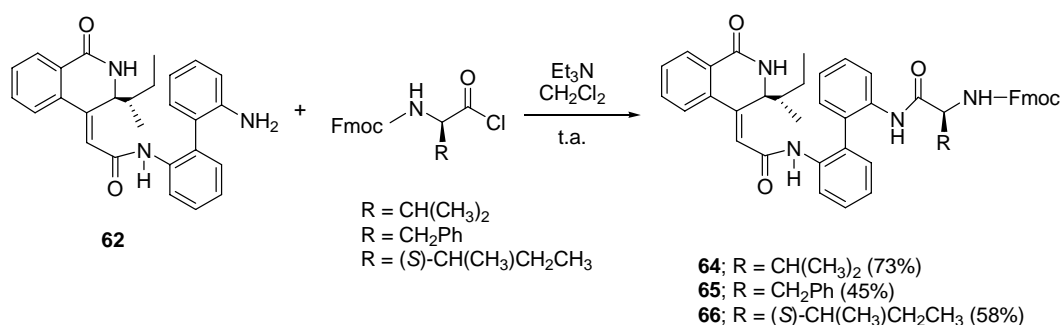
Esquema 2.11. Síntesis de los compuestos **61** y **62**.¹¹⁸

2.2.2.5. Síntesis de híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona.

La síntesis de los híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona se llevó a cabo mediante el acoplamiento (Esquema 2.12) de **62** con el correspondiente cloruro del aminoácido *N*-protegido, preparado *in situ* mediante el método descrito por Carpino *et al.*,¹¹⁹ se obtuvieron de este modo los compuestos **64-66** con rendimientos de moderados a buenos.

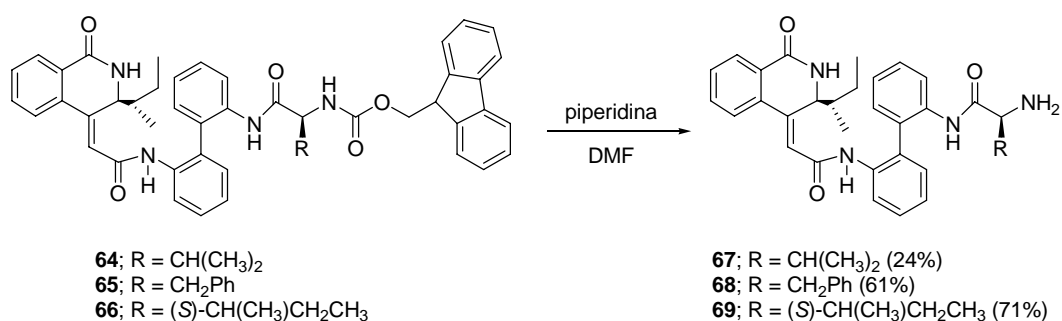
¹¹⁸ Estos compuestos están siendo estudiados actualmente exhaustivamente.

¹¹⁹ L. A. Carpino, B. J. Cohen, K. E. Stephens Jr., S. Y. Sadat-Aalae, J. H. Tien, D. C. Langriedge, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 3732-3734.



Esquema 2.12. Síntesis de híbridos isoquinolinona-bifenilo-aminoácido.

A continuación se llevó a cabo la eliminación (*Esquema 2.13*) de los grupos protectores Fmoc por tratamiento con piperidina en DMF^{120} como disolvente, para dar lugar a las aminas libres **67-69** con rendimientos de moderados a buenos.



Esquema 2.13. Eliminación del grupo Fmoc; síntesis de **67-69**.

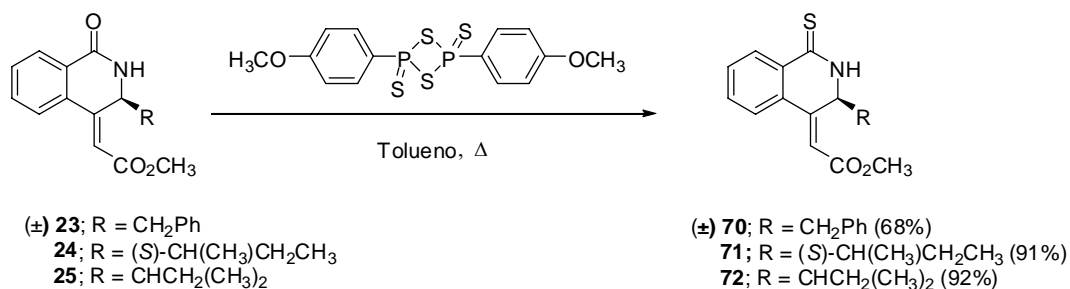
2.2.2.6. Síntesis de ácidos (1-tioxisoquinoliden)acéticos y derivados.

Las tioamidas son unos compuestos interesantes desde el punto de la actividad biológica, puesto que remplazar el enlace amida por tioamida confiere una mayor estabilidad enzimática, por otro lado estas tienen una menor capacidad de formación de

¹²⁰ L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* **1972**, *37*, 3404-3409.

EH que las lactamas. Esta estrategia ya ha sido utilizada en moléculas interesantes desde el punto de vista biológico, como en la síntesis de tiociclosporinas,¹²¹ en la de inhibidores de papaina,¹²² etc.

La síntesis de isoquinolintionas (*Esquema 2.14*) se llevó a cabo a partir de las correspondientes isoquinolinonas **23-25**, por reacción con el reactivo de Lawesson¹²³ ([2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3-ditio-2,4-difosfetano-2,4-disulfuro]) a reflujo de tolueno, obteniéndose de este modo las correspondientes tiolactamas **70-72** con rendimientos de buenos a excelentes.



Esquema 2.14. Síntesis de las tiolactamas **70-72**.

Se intentó obtener cristales apropiados para su estudio por difracción de rayos X¹²⁴ de algunas tiolactamas, pero únicamente pudieron obtenerse del compuesto **72** (por recristalización de metanol) (*Figura 2.10*). En la estructura obtenida para este compuesto, se observa que el centro quiral presente en la molécula tiene configuración *S*.

¹²¹ D. Seebach, S. Y. Ko, H. Kessler, M. Köck, M. Reggelin, P. Schmeider, M. D. Walkinshaw, J. Bolsterli, D. Bevec, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 1953-1990.

¹²² K. L. Foje, R. P. Hanzlitz *Biochem. Biophys. Acta* **1994**, *1201*, 447-453.

¹²³ B. S. Pedersen, S. Scheiby, N. H. Nilsson, S.-O. Lawesson, *Bull. Soc. Chim. Belg.* **1987**, *87*, 223-228. M.-P. Cava, M. I. Levison, *Tetrahedron* **1985**, *41*, 5061-5087. M. Jerrberger, T. P. Davis, L. Barner, *Synthesis* **2003**, 1929-1958.

¹²⁴ Los datos de difracción de rayos X del compuesto **72** se muestran en el anexo I.

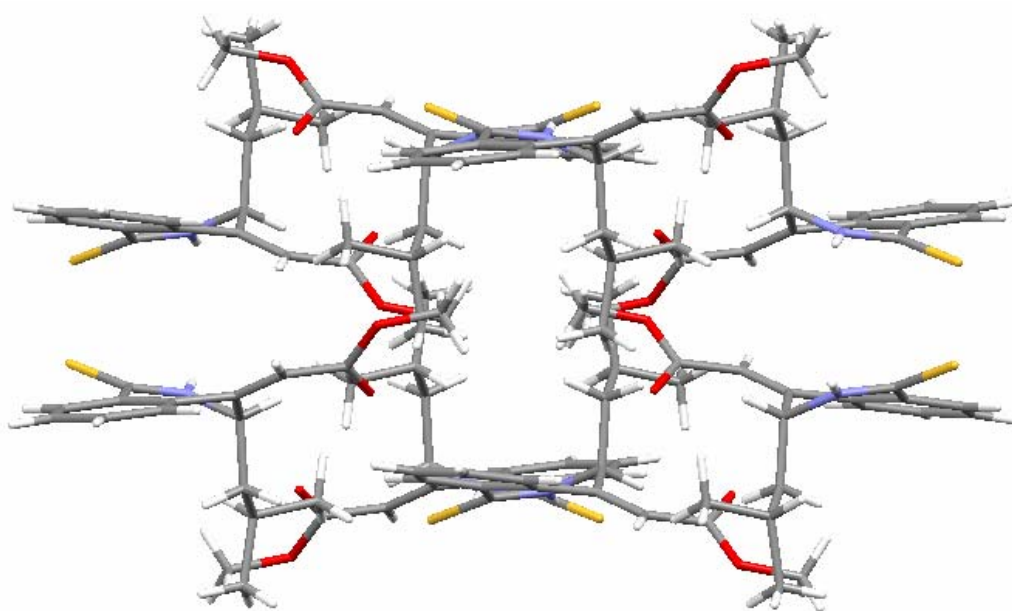


Figura 2.10. Empaquetamiento cristalino del compuesto **72**.

En cambio, el grupo espacial en el que cristaliza la molécula es centrosimétrico $C2/c$, lo que implica la presencia de un centro de inversión en el centro de la celda unidad (*Figura 2.11*) dando lugar al mismo número de moléculas de configuración *R* y *S*, indicando que el cristal es racémico. Otro dato significativo es la medida de la rotación óptica del cristal usado para la difracción cuyo valor se aproxima mucho a cero. Estos resultados nos hacen pensar que durante el proceso de cristalización se ha producido una racemización.

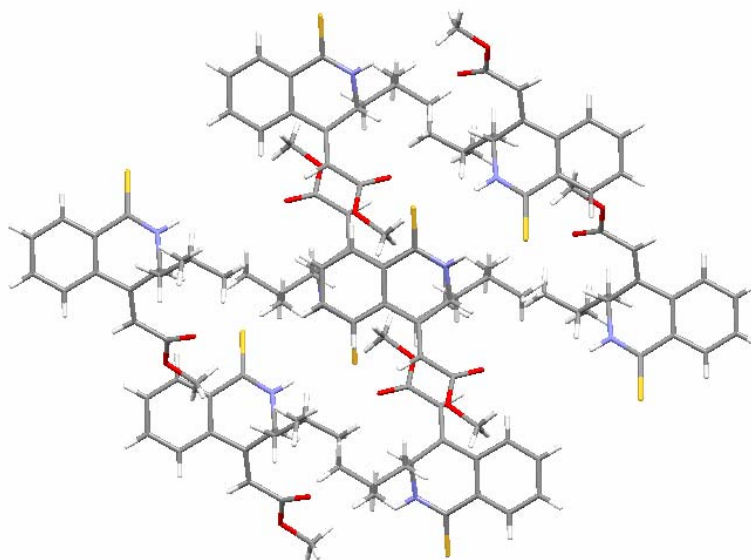
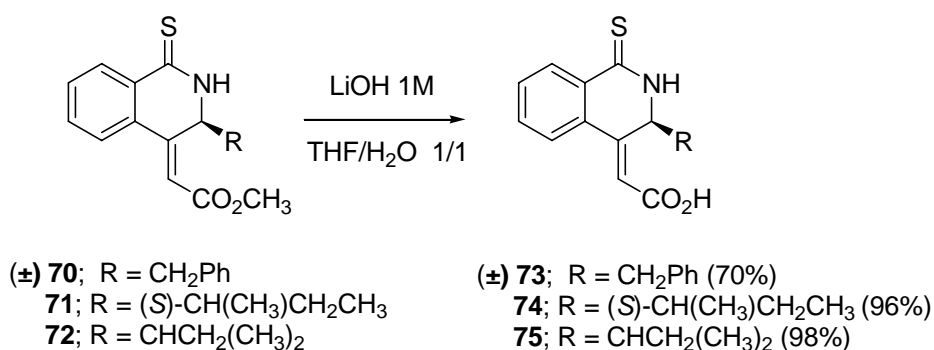


Figura 2.11. Estructura de rayos X de la celdilla unidad del compuesto **72**.

Seguidamente, se llevó a cabo la hidrólisis básica (*Esquema 2.15*) de los ésteres metílicos **70-72** por tratamiento con LiOH 1M en un mezcla de THF/H₂O, obteniéndose de este modo los correspondientes ácidos carboxílicos **73-75** con rendimientos de buenos a excelentes.



Esquema 2.15. Síntesis de los ácidos **73-75**.

De los ácidos anteriormente citados sólo fue posible obtener cristales aptos para su estudio por difracción de rayos X del compuesto **74** (Figura 2.12).¹²⁵

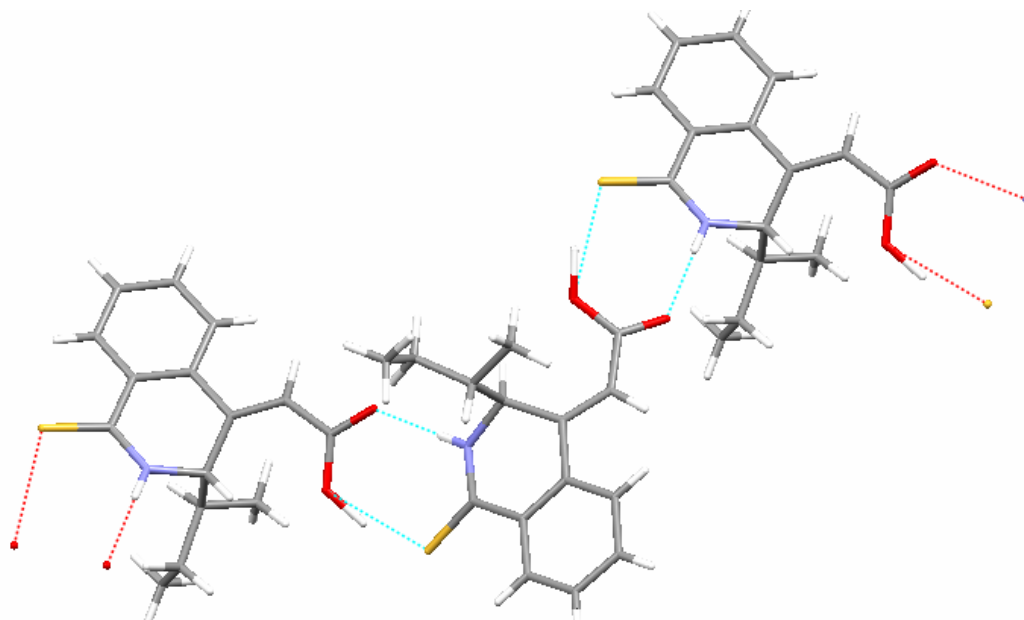


Figura 2.12. Estructura de rayos X del compuesto **74**.

Al estudiar el empaquetamiento del cristal (Figura 2.12) se puede observar la existencia de dos tipos de enlaces de hidrógeno intermoleculares: por una parte, existe uno de estos enlaces entre el azufre del grupo tiolactama de una molécula y el OH del grupo carboxilo de otra [$S(1)\cdots H(2A) = 2.363 \text{ \AA}$, $\hat{\angle}(SHO) = 128.2$]; por otra parte, se detecta otro enlace de hidrógeno entre el NH de la tiolactama de la primera molécula y el oxígeno carbonílico del grupo carboxilo de la segunda [$H(1A)\cdots O(1) = 2.008 \text{ \AA}$, $\hat{\angle}(NHO) = 173.6$].

¹²⁵ Los datos de difracción de rayos X del compuesto **74** se muestran en el anexo I.

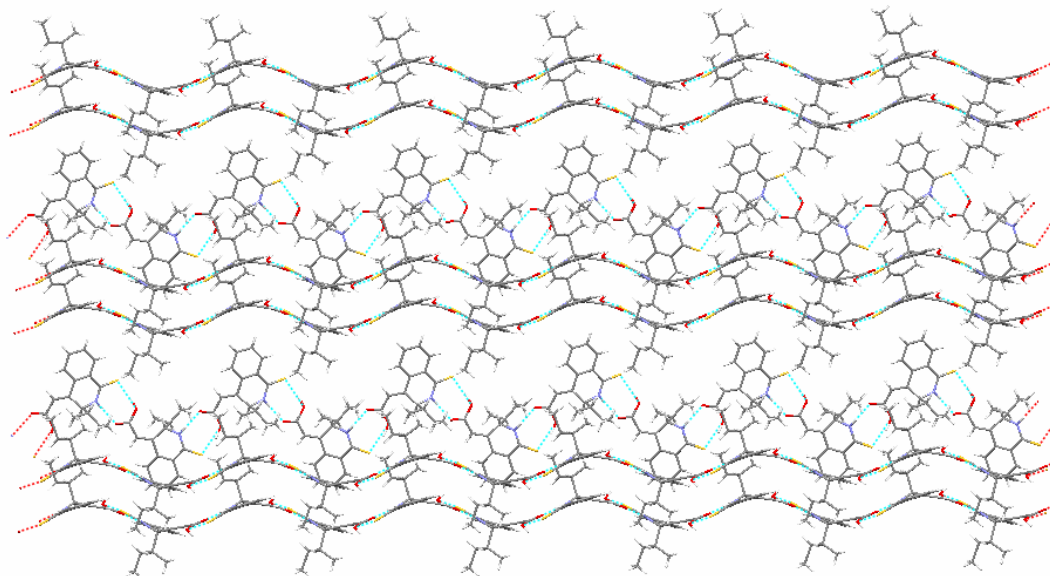


Figura 2.13. Empaquetamiento cristalino del compuesto **74** en la dirección del eje *b*.

De nuevo, al igual que en los ácidos carboxílicos **30** y **31**, la propagación del crecimiento de las moléculas en el cristal tiene lugar en la dirección del eje *b* por medio de la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares, dejando los restos *sec*-butil, alternativamente, por encima y por debajo del eje de crecimiento (*Figura 2.13*).

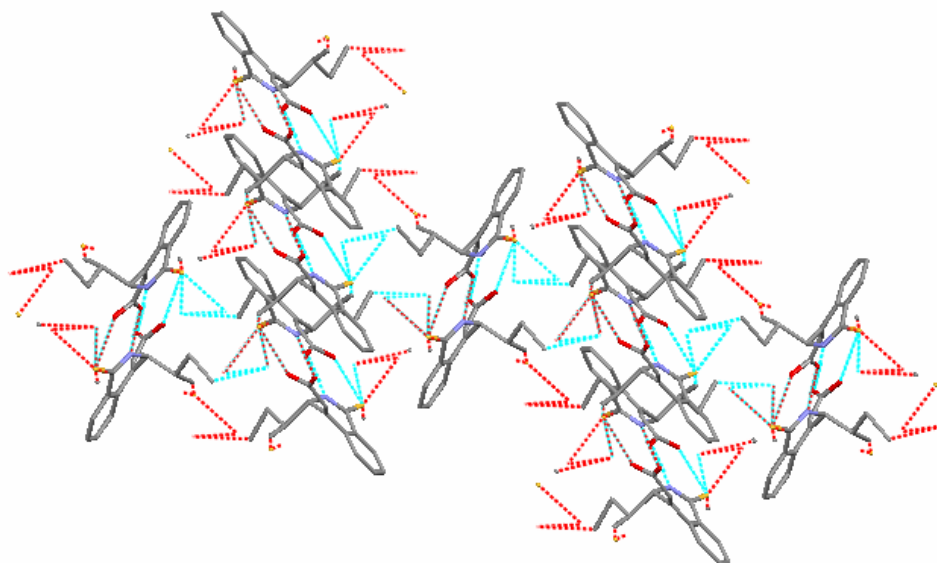
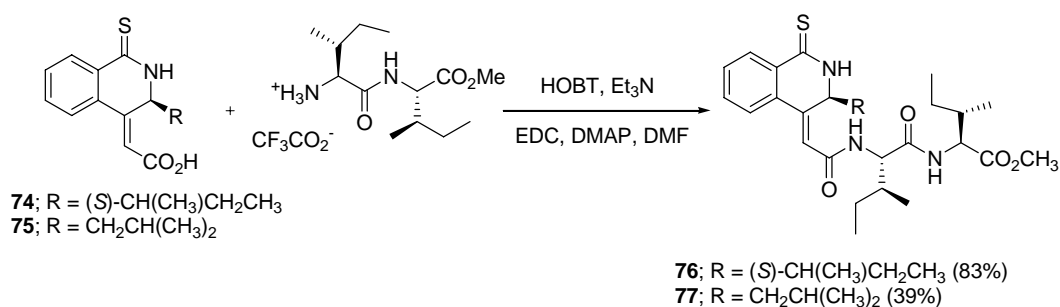


Figura 2.14. Empaquetamiento cristalino del compuesto **74** en la dirección del eje *c*.

En la *Figura 2.14* se muestra el crecimiento de las moléculas en la dirección del eje *c*, observándose la estabilización de estructura por enlaces de hidrógeno intramoleculares, anteriormente comentados, e interacciones no covalentes de tipo CH- π .¹⁰⁹ Esta segunda hebra forma un ángulo con respecto a las anteriores de 65.79°.

2.2.2.7. Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona.

A partir de los ácidos **74** y **75** previamente sintetizados, se prepararon los compuestos **76** y **77**, tio-análogos de los híbridos péptido-heterociclo tratados en el apartado 2.2.2.1 (*Esquema 2.16*). El acoplamiento de los respectivos ácidos derivados de isoquinolina con los péptidos correspondientes se ha llevado a cabo en presencia de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT),¹¹⁰ 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC),¹¹¹ Et₃N y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) y transcurre con rendimientos de moderados a buenos.

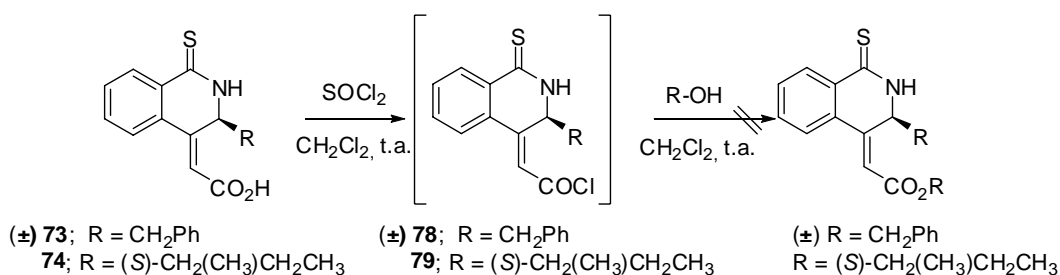


Esquema 2.16. Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinona.

2.2.2.8. Síntesis del ácido (1-cloroisoquinol-4-il)acético y derivados.

Se deseaba preparar una pequeña colección de ésteres derivados de isoquinolinona con el fin de comparar la actividad inhibitoria de ambos compuestos frente a calpaina.

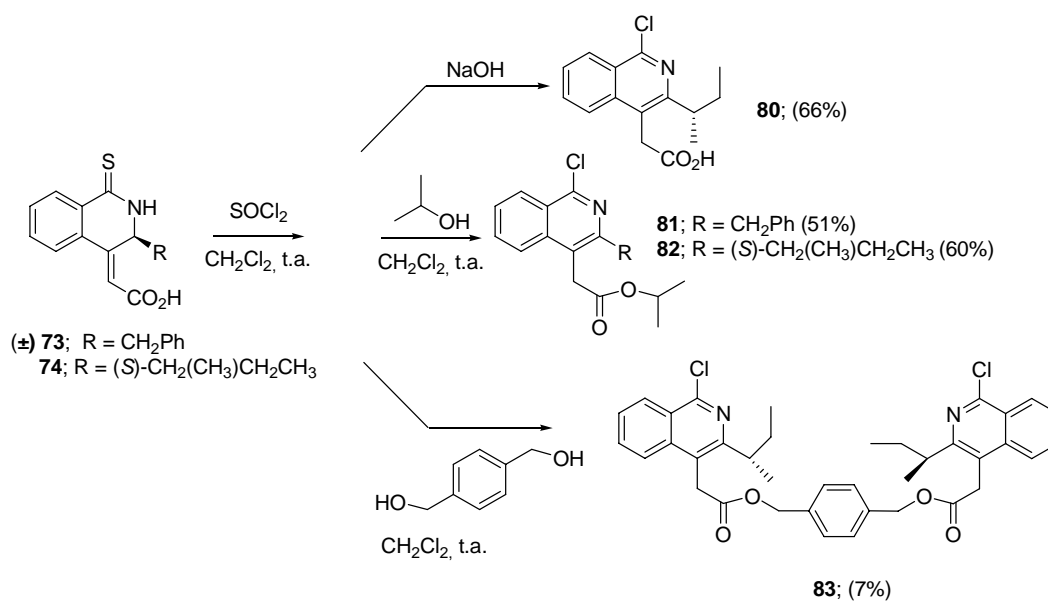
Para ello, con objeto de formar los correspondientes cloruros de ácido **78** y **79**, se trataron los ácidos carboxílicos **73** y **74** con un exceso de cloruro de tionilo en cloruro de metileno a temperatura ambiente (*Esquema 2.17*) y, seguidamente, se añadieron los alcoholes con el propósito de obtener los correspondientes ésteres.



Esquema 2.17. Intentos de síntesis de ésteres de isoquinolinona.

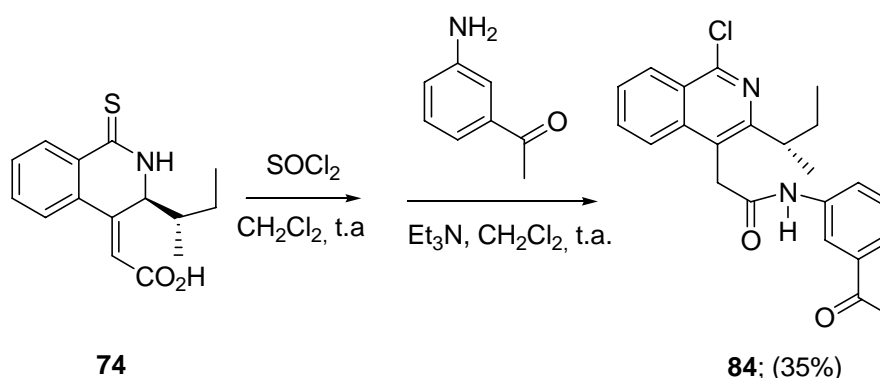
Sin embargo, la reacción no transcurre según lo esperado. En efecto el estudio de las características de los compuestos resultantes mostró que, además de la esterificación

del grupo carboxilo, en el proceso se produce la sustitución del átomo de azufre del fragmento de tiolactama por uno de cloro y la isomerización del doble enlace exocíclico, con la consiguiente aromatización del anillo de heterociclo (*Esquema 2.18*). Los rendimientos globales no son muy elevados, pero, aun así, son considerables teniendo en cuenta las múltiples etapas a través de las cuales transcurre el proceso.



Esquema 2.18. Síntesis del ácido (1-cloroisoquinol-4-il)acético y derivados.

Siguiendo un proceso análogo al descrito anteriormente, se sintetizó una amida derivada de 1-cloroisoquinolina a partir de la isoquinolintionona **74** y 3-aminoacetofenona (*Esquema 2.19*).



Esquema 2.19. Síntesis de amida de la 1-cloroisoquinolina.

2.2.2.9. Síntesis de ésteres del ácido (1-oxo-4-vinilisoquinol-4-il)acético y derivados vía transposición de Claisen-Johnson,¹²⁶ y de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona.

En primer lugar se llevó a cabo la reducción del grupo carboxilo del compuesto **28** utilizando el método del anhídrido mixto,¹²⁷ la cual condujo con rendimiento moderado al alcohol alílico **85**. Con el objeto de obtener estructuras isoquinolínicas más elaboradas tales como el compuesto **88**, se aplicó a continuación la transposición de Claisen¹²⁸ en la variante de Johnson¹²⁹ al mencionado alcohol **85**, empleando ortoacetato de trietilo como reactivo y disolvente y ácido propanoico como catalizador en presencia de hidroquinona como inhibidor radicalico¹³⁰ (*Esquema 2.20*). Seguidamente, se realizó la hidrólisis del éster etílico obtenido **86** por tratamiento con LiOH, obteniéndose de este modo, con buenos rendimientos, el ácido **87**, a partir del cual se prepararon los “híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona”

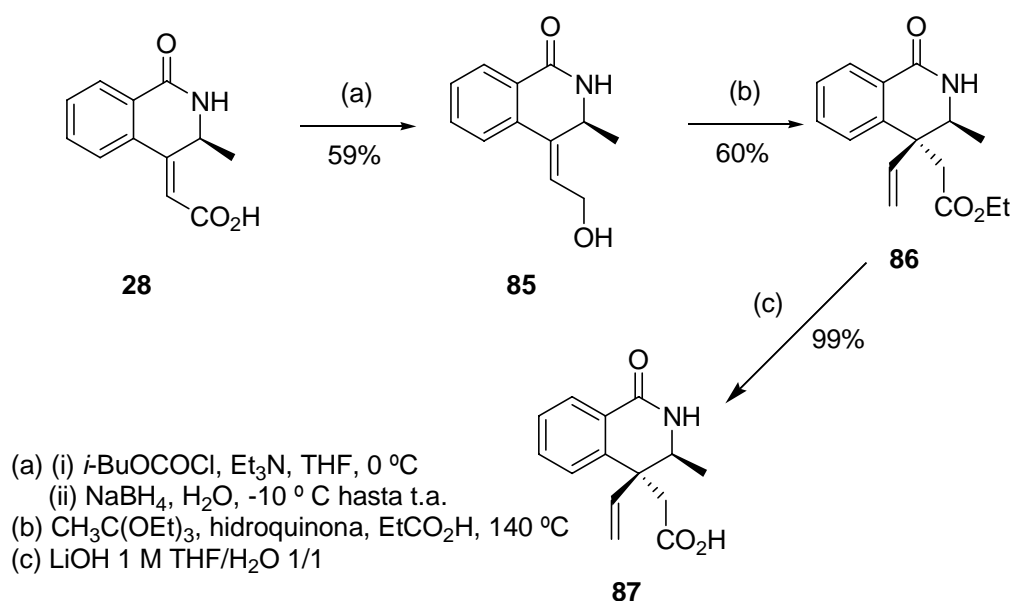
¹²⁶ Estos compuestos ya habían sido preparados anteriormente por el Dr. Enrique Mann, miembro de nuestro grupo.

¹²⁷ G. Kokotos, J. Noula, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6994-6996.

¹²⁸ P. Wipf en *Comprehensive Organic Synthesis*; Ed.: B. M. Trost, I. Fleming, L. A. Paquette; Pergamon Press: Oxford 1991, Vol 5, pp 827-873 y referencias incluidas. S. Pereira, *Aldrichm. Acta* **1993**, *26*, 17-29. A. Giardinà, E. Marcantoni, T. Mecozzi, M. Petrini, *Eur. J. Org. Chem.* **2001**, 713-718

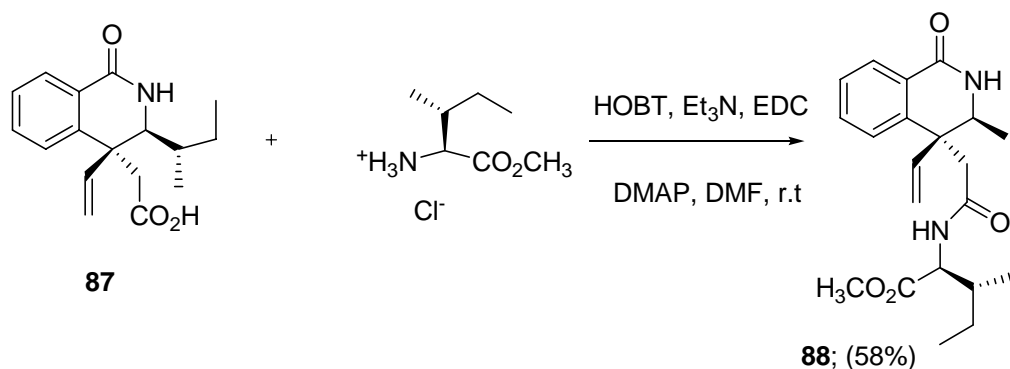
¹²⁹ W. S. Johnson, L. Wertheman, W. R. Nartlett, T. J. Brocksom, T. T. Li, D. J. Faulkner, M. R. Petersen, *J. Am. Chem. Soc.* **1970**, *92*, 741-743.

¹³⁰ R. Bao, S. Valverde, B. Herradón, *Synlett* **1992**, 217-219.



Esquema 2.20. Síntesis del ácido procedente de la transposición de Claisen-Johnson.

La síntesis del híbrido **88**, único miembro de esta familia que se ha preparado, se llevó a cabo a partir del ácido **87** y el éster metílico de *L*-isoleucina, utilizando como reactivos de acoplamiento: (*Esquema 2.21*) 1-hidroxibenzotriazol (HOBT),¹¹⁰ 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC),¹¹¹ Et₃N (como base) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP).



Esquema 2.21. Síntesis de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona.

2.3.- ANÁLISIS CONFORMACIONAL DE HÍBRIDOS PÉPTIDO-ISOQUINOLINA

Para conocer la conformación más probable de la cadena peptídica unida al anillo de isoquinolina o al resto de bifenilo, se llevó a cabo un estudio conformacional tanto mediante experimentos de FT-IR, RMN (RMN-¹H) y DC como utilizando métodos computacionales (mecánica molecular).

En primer lugar se expondrán algunos conceptos sobre el análisis conformacional de péptidos así como el empleo de las técnicas espectroscópicas (IR e RMN) utilizadas para tal fin.

2.3.1.- CONFORMACIÓN DE PÉPTIDOS¹³¹

La conformación de una cadena peptídica está definida por los ángulos de torsión ϕ , ψ y ω de cada residuo y por los ángulos χ correspondientes a las cadenas laterales.¹³² El rango de valores de cada uno de estos ángulos se encuentra entre +180° y -180°. Cada ángulo de torsión toma el valor de +180° (que es el mismo que -180°) cuando la cadena está totalmente extendida. Por otro lado, la rotación en torno al enlace peptídico está definida por el ángulo ω que es 0° en la configuración *cis* y $\pm 180^\circ$ en la configuración *trans* (Figura 2.15).

¹³¹ Algunos artículos sobre conformación de cadenas peptídicas: C. Toniolo, M. Crisma, F. Formaggio, C. Peggion, *Pept. Sci.*, **2002**, *60*, 396-419. J. Bredenbeck, J. Helbing, J. R. Kumita, G. A. Woolley, P. Hamm, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 2379-2384. C. Toniolo, M. Crisma, F. Formaggio, Q. Broxterman, B. Kaptein, *J. Incl. Phen. Macromol. Chem.* **2005**, *51*, 121-136.

¹³² IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *J. Mol. Biol.* **1970**, *52*, 1-17. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature, *Biochemistry* **1970**, *9*, 3471-3479.

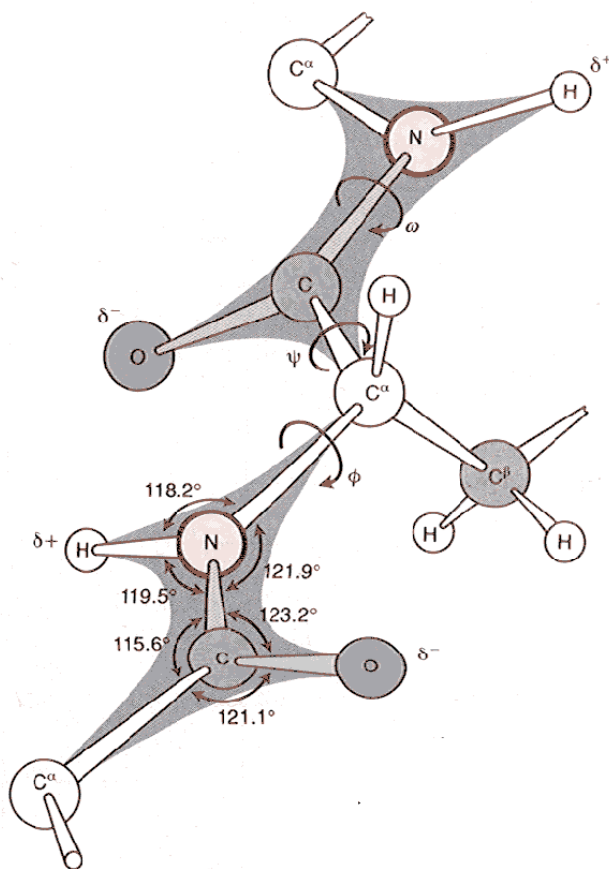


Figura 2.15. Representación esquemática de la geometría del esqueleto peptídico. ψ describe el ángulo de rotación en torno al enlace C α -C y ϕ el ángulo de rotación en torno al enlace C α -N. ω describe el ángulo de rotación del enlace amida.

Sólo ciertos valores de ϕ y ψ están permitidos, debido a que muchas rotaciones en torno a estos ángulos dan lugar a interacciones estéricas desfavorables entre átomos del mismo residuo o vecinos. La combinación de los ángulos de torsión ϕ y ψ en un residuo se suelen representar en diagramas de Ramachandran,¹³³ donde aparecen indicados los valores permitidos (Figura 2.16). Estos valores, los cuales dependen del

¹³³ G. N. Ramachandran, V. Sasisekharan, *Adv. Protein Chem.* **1968**, 23, 283-437.

tamaño y forma de la cadena lateral, difieren para cada residuo: así, por ejemplo, el intervalo de ángulos ϕ y ψ permitidos para la glicina es mucho mayor que para cualquier otro aminoácido debido a la ausencia de cadena lateral. En la *Figura 2.16* se muestran los diagramas de Ramachandran para los aminoácidos glicina (**a**) y alanina (**b**). Como se puede observar, las zonas del espacio $\langle \phi, \psi \rangle$ permitidas (color claro) son mucho más extensas en el caso de glicina.

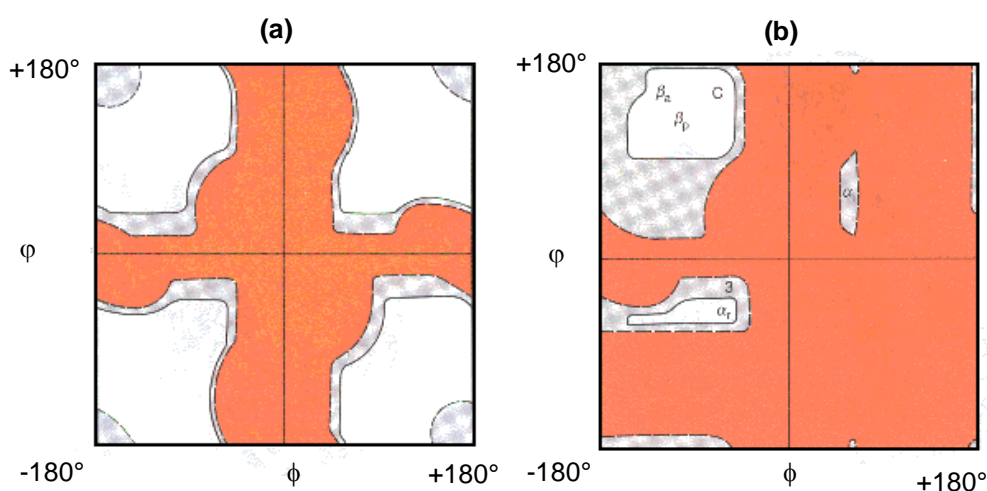


Figura 2.16. Diagramas de Ramachandran en el cual se comparan los valores permitidos de ϕ y ψ para los aminoácidos glicina (**a**) y alanina (**b**). Las regiones totalmente permitidas se muestran en color claro. Las áreas de color naranja indican las zonas donde se dan interacciones estéricas desfavorables si los átomos se consideran esferas rígidas.¹³⁴

La mayoría, si no todos, de los péptidos lineales cortos, se encuentran en disolución como un conjunto de conformaciones rápidamente interconvertibles entre sí. En los casos más favorables, la población de una de estas conformaciones es lo suficientemente alta como para ser detectada mediante técnicas espectroscópicas. Se han empleado diferentes métodos espectroscópicos para la elucidación de conformaciones de

¹³⁴ N. J. Darby, T. E. Creighton *en In Focus: Protein Structure*; Ed. D. Rickwood; IRL Press; Oxford; **1993**.

péptidos en disolución, incluyendo dicroísmo circular (DC), espectroscopía vibracional [e. g., infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR)] y RMN (resonancia magnética nuclear).

Cada técnica espectroscópica tiene diferentes escalas de tiempo. Así, por ejemplo, mediante técnicas de espectroscopia IR se pueden distinguir especies que interconvierten en escalas de tiempo de subpicosegundos ($\approx 10^{-13}$ s), mientras que con técnicas de RMN las distintas especies sólo son distinguibles si la velocidad de interconversión se encuentra en la escala de milisegundos a segundos. De esta manera, únicamente la isomerización *cis-trans* del enlace péptidico,¹³⁵ sobre todo en restos de prolina,¹³⁶ es suficientemente lenta como para que puedan observarse dos especies distintas en el espectro de RMN.¹³⁷

Mientras que las técnicas “ópticas” como IR pueden en principio dar información sobre las poblaciones de distintos conformeros de un péptido en disolución, los parámetros obtenidos a través de RMN reflejan un *promedio ponderado* de las poblaciones de todas las conformaciones, por lo que en principio estas poblaciones sólo se pueden deducir de manera indirecta.¹³⁸

2.3.1.1. Espectroscopía IR mediante transformada de Fourier (FT-IR).

La principal aplicación de la espectroscopía IR en el estudio de péptidos y análogos en disolución es la detección de enlaces de hidrogeno (EH).¹³⁹ El equilibrio entre los estados en los cuales un grupo NH está formando EH (asociado) o se encuentra “libre” (no asociado), es lo suficientemente lento en la escala de tiempos de IR como para

¹³⁵ G. Fischer, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 1415-1436. W. E. Stewart, T. H. Siddall, *Chem. Rev.* **1970**, *70*, 517-551.

¹³⁶ Ver, por ejemplo: A. Troganis, I. P. Gerothanassis, Z. Athanassiou, T. Mavromoustakos, G. E. Hawkes, C. Sakarellos, *Biopolymers* **2000**, *53*, 72-83.

¹³⁷ Para una revisión general sobre el estudio de rotaciones impedidas en enlaces mediante RMN, ver: H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1970**, *9*, 219-235.

¹³⁸ H. J. Dyson, P. E. Wright, *Annu. Rev. Biophys. Biophys. Chem.* **1991**, *20*, 519-538.

¹³⁹ Para una revisión sobre el estudio de enlaces de hidrógeno intramoleculares en general mediante IR en moléculas pequeñas, ver: H. S. Aaron, *Top. Stereochem.* **1980**, *11*, 1-52.

dar lugar a dos bandas distintas en el espectro, con unas frecuencias de absorción características. Así, mientras los grupos NH amídicos que no forman EHs (libres) aparecen como bandas agudas entre 3400-3500 cm^{-1} , los grupos NH asociados tanto intra- como intermolecularmente aparecen como bandas anchas entre 3300-3400 cm^{-1} .¹⁴⁰ Por otro lado, la intensidad de las bandas debidas a la formación de EH intramoleculares son *independientes* de la concentración, mientras que las bandas correspondientes a EH intermoleculares disminuyen de intensidad al decrecer la concentración de las muestras.

Hay que comentar que la aplicación de la espectroscopía IR en moléculas complejas, está limitada en parte debido al solapamiento de señales cuando existen más de dos grupos NH amídicos. Este problema se ha solventado en gran medida gracias a la introducción de tratamientos matemáticos que permiten el análisis de los datos espectrales obtenidos a partir de FT-IR¹⁴¹ mediante la técnica de deconvolución.¹⁴²

2.3.1.2. Resonancia magnética nuclear.

El uso de la RMN como herramienta para la elucidación de conformaciones de péptidos en disolución se ha incrementado espectacularmente en las últimas dos décadas debido sobre todo al gran desarrollo de técnicas basadas en RMN multidimensional.¹⁴³

Debido a la “lentitud” en la escala de tiempos de los experimentos de RMN, toda la información obtenida es un promedio ponderado de todas las estructuras coexistentes en el conjunto de conformaciones. Esto implica que la interpretación de los parámetros de

¹⁴⁰ Para ejemplos de la interpretación de datos en la zona de tensión N-H, ver: S. H. Gellman, G. P. Dado, G.-B. Liang, B. R. Adams, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1164-1173. G. P. Dado, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4228-4245. G. P. Dado, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1054-1062. K. Y. Tsang, H. Diaz, N. Graciani, J. W. Kelly, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3988-4005. J. S. Nowick, M. Abdi, K. A. Bellamo, J. A. Love, E. J. Martinez, G. Noronha, E. M. Smith, J. W. Ziller, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 89-99, y referencias citadas en ellos.

¹⁴¹ Ver por ejemplo: R. R. Gardner; L-B Liang; S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 1806-1816.

¹⁴² J. Wei, Y. Z. Lin, J. M. Zhou, C. L. Tsou, *Biochim. Biophys. Acta*, **1991**, *1080*, 29-33.

¹⁴³ H. Kessler *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1982**, *21*, 512-523. K. Wüthrich *NMR of Proteins and Nucleic Acids*; Wiley; New York; **1986**. J. N. S. Evans *Biomolecular NMR Spectroscopy*; Oxford University Press; Oxford; **1995**, Cap. 4. S. Zerkout, V. DuPont, A. Aubry, J. Vidal, A. Collet, M. Marraud, *Int. J. Pept. Protein Res.* **1994**, *44*, 378-387. S. Prasad, R. B. Rao, P. Balaram, *Biopolymers* **1995**, *35*, 11-20. S. Sakakibara, *Biopolymers* **1995**, *37*, 17-28.

RMN extraídos de los diferentes experimentos se debe llevar a cabo con *algunas precauciones*.

Los desplazamientos químicos (δ) de RMN son muy sensibles a las distribuciones electrónicas locales, estados de hibridación y anisotropías magnéticas locales. Este hecho determina que este parámetro se haya utilizado de manera extensiva en el análisis conformacional de cadenas peptídicas.

En los protones amídicos, la formación de EHs influye sensiblemente en el desplazamiento químico de los mismos. En general, se observa que las señales de los NHs involucrados en la formación de EHs aparecen desplazados a campo mas bajo (desapantallados) que los correspondientes NHs no implicados en EHs. Esta diferencia en el desplazamiento químico se debe a la pérdida de densidad electrónica en torno al protón dador implicado en la formación del EH.

La utilidad de las medidas de RMN para el estudio de los enlaces de hidrógeno está limitada sin embargo por dos factores:

(i) otras fuentes de anisotropía magnética distintas a la propia formación del enlace de hidrógeno pueden influir en el desplazamiento químico del protón de la amida;

(ii) el equilibrio entre los estados en uno de los cuales un NH se encuentra formando EH y en el otro no (NH libre) es generalmente rápido en la escala de tiempos de RMN, lo que significa que los desplazamientos químicos observados son realmente promedios ponderados de ambos estados (en contraste con lo que se comentó anteriormente sobre las técnicas de IR, donde sí es posible observar para un mismo NH una banda correspondiente a la forma libre y otra a la asociada por EH).

La constante de acoplamiento vecinal 3J entre dos protones se puede relacionar con el ángulo diedro θ que forman mediante ecuaciones tipo Karplus,¹⁴⁴ cuya fórmula general se muestra a continuación:

$${}^3J_{\text{H-H}'} = A \cos^2\theta - B \cos\theta + C$$

En el caso de cadenas peptídicas, las constantes de acoplamiento ${}^3J_{\text{NHC}\alpha\text{H}}$ son de particular interés ya que son dependientes del ángulo diedro ϕ (ver *Figura 2.16*). Debido a que los coeficientes A , B y C se obtienen de manera empírica mediante ajustes a partir de datos obtenidos experimentalmente, se han propuesto diferentes expresiones para esta ecuación.¹⁴⁵ De todas estas expresiones, la más empleada es la conocida como ecuación Karplus-Bystrov:

$${}^3J_{\text{NHC}\alpha\text{H}} = 6.4 \cos^2\theta - 1.4 \cos\theta + 1.9$$

Sin embargo, no es fácil llegar a resultados claros a través de estas medidas debido en parte a la ambigüedad intrínseca de la propia ecuación de Karplus¹⁴⁶ y, por otro lado, a que la presencia de distintas conformaciones en equilibrio da lugar a constantes en el rango de 6.0-7.5 Hz, que corresponde a los valores observados en péptidos con estructuras desordenadas.

Un dato que a nuestro entender ha sido interpretado en numerosas ocasiones de manera errónea, son los coeficientes de temperatura de los protones amídicos ($\Delta\delta_{\text{NH}}/\Delta T$). Este parámetro indica la variación del desplazamiento químico de estos protones con respecto a la temperatura. En general, en disolventes orgánicos polares, como por ejemplo DMSO, coeficientes de temperatura pequeños ($|\Delta\delta_{\text{NH}}/\Delta T| < 3$ ppb/K) son indicativos de

¹⁴⁴ M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11-15. M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2870-2871.

¹⁴⁵ Ver por ejemplo: G. N. Ramachandran, R. Chandrasekaran, K. D. Kopple, *Biopolymers* **1971**, *10*, 2113-2131. V. F. Bystrov, *Progr. NMR Spectrosc.* **1976**, *10*, 41-81. A. DeMarco, M. Llinás, K. Wüthrich, *Biopolymers* **1978**, *17*, 637-650. A. Pardi, M. Billeter, K. Wüthrich, *J. Mol. Biol.* **1984**, *180*, 741-751.

¹⁴⁶ La mayoría de las 3J medidas pueden corresponder a cuatro valores de ángulo diferentes.

que el correspondiente grupo NH se encuentra involucrado en la formación de EH, mientras que coeficientes de temperatura mayores sugieren que dicho protón amídico se encuentra expuesto al disolvente (no forma EH).¹⁴³ En el caso de disolventes apolares la interpretación de los datos es más confusa: valores pequeños de $\Delta\delta_{\text{NH}}/\Delta T$ se han asociado generalmente con protones amídicos que se encuentran o *totalmente implicados* en la formación de EH o bien *completamente expuestos* al disolvente (libres).¹⁴⁷ Sin embargo, esta suposición no es siempre correcta: Gellman y col. demostraron en una serie de trabajos rigurosos¹⁴⁸ que en disolventes apolares no coordinantes, por ejemplo cloroformo, los protones amídicos pueden presentar bajos coeficientes de temperatura incluso si existe equilibrio entre los estados libre y asociado. Para distinguir esta situación de los casos en los que un protón amídico se encuentra totalmente involucrado en la formación de un EH o completamente expuesto al disolvente, se debe acudir siempre que sea posible (en moléculas sencillas) a estudios complementarios mediante IR en disolución. En el caso de compuestos más complejos (es decir que presenten dos o más grupos NH), los desplazamientos químicos absolutos de dichos protones pueden ser bastante útiles a la hora de sacar alguna conclusión, ya que como se comentó anteriormente los protones amídicos implicados en la formación de EHs suelen aparecer a campo más bajo.

La observación de NOE entre un par de protones dados implica la presencia de cierta población de confórmeros en la cual la distancia entre esos protones es relativamente corta ($< 3.5 \text{ \AA}$ para péptidos en disolución).¹⁴⁹ Al igual que en todos los parámetros de RMN, hay que resaltar de nuevo que la intensidad del NOE observado es una media ponderada de todas las conformaciones presentes. Sin embargo, los NOEs pueden aportar una información valiosa a acerca de la estructura secundaria de un péptido

¹⁴⁷ E. S. Stevens, N. Sugawara, G. M. Bonora, C. J. Toniolo, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7048-7050.

¹⁴⁸ S. H. Gellman, B. R. Adams, G. P. Dado, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 460-461. G. P. Dado, J. M. Desper, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8630-8632. S. H. Gellman, G. P. Dado, G. Liang, B. R. Adams, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1164-1173. G. P. Dado, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1054-1062.

¹⁴⁹ H. J. Dyson, M. Rance, R. Houghten, R. A. Lerner, P. E. Wright, *J. Mol. Biol.* **1988**, *201*, 201-217.

ya que se observan diferentes pautas de conectividades dependiendo del rango de valores de ϕ y φ entre los que fluctúe el conjunto de conformaciones de dicho péptido.¹⁵⁰ Así por ejemplo, la presencia de NOE entre el protón en el C α de un residuo (i) y el NH del siguiente residuo ($i+1$) se denomina $d_{\alpha N}(i, i+1)$. De manera similar $d_{NN}(i, i+1)$ indica el NOE entre los protones amídicos de dos residuos adyacentes. La presencia de NOEs intensos del tipo $d_{\alpha N}(i, i+1)$ en ausencia de NOEs del tipo $d_{NN}(i, i+1)$ son indicativos de una conformación predominante donde la cadena péptidica se encuentra *extendida*. Por otro lado, la presencia de ambos tipos de NOEs [$d_{NN}(i, i+1)$ y $d_{\alpha N}(i, i+1)$] a la vez en una misma zona del péptido, es a menudo indicativa de que el conjunto de conformaciones del péptido posee estructuras locales que forman giros β del tipo II.

2.3.2.- ANÁLISIS CONFORMACIONAL DE COMPUESTOS SIN FRAGMENTO PEPTÍDICO, HÍBRIDOS PÉPTIDO HETEROCICLO E HÍBRIDOS BIFENILO-ISOQUINOLINONA.

Este apartado está dedicado al análisis conformacional de los citados compuestos por medio de espectroscopia IR y mediante técnicas de RMN.

2.3.2.1. Experimentos de espectroscopia IR mediante transformada de Fourier (FT-IR).

Se registraron los espectros IR en CHCl₃ de los distintos compuestos a temperatura ambiente y a diferentes concentraciones. En primer lugar a baja concentración ($\leq 2 \times 10^{-3}$ M) con el fin de evitar la aparición de bandas debidas a la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares y poder observar las bandas debidas a la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares (≈ 3400 cm⁻¹). A continuación, se registraron los espectros a mayor concentración ($\approx 20 \times 10^{-3}$ M) para observar la

¹⁵⁰ M. Billeter, W. Braun, K. Wüthrich, *J. Mol Biol.* **1982**, 155, 321-346. K. Wüthrich, M. Billeter, W. Braun, *J. Mol Biol.* **1984**, 180, 715-740. K. Wüthrich, *NMR of Proteins and Nucleic Acids*; Wiley; New York; **1986**; pp 124-129.

aparición de bandas debidas a la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares ($\approx 3300\text{ cm}^{-1}$) junto con las correspondientes a los enlaces de hidrógeno intramoleculares.

Por medio de esta técnica se estudia la presencia o no de enlaces de hidrógeno, así como, en los casos positivos, la naturaleza de estos en diversos tipos de compuestos, desde compuestos sencillos sin fragmento peptídico (heterociclo), pasando por los que tienen dos o tres unidades peptídicas unidas al heterociclo (híbridos péptido-heterociclo), hasta los que tienen la unidad de biarilo unida al heterociclo y al fragmento de aminoácido (híbridos aminoácido-bifenilo-heterociclo).

En primer lugar se analizarán compuestos sencillos sin fragmento peptídico; como ejemplo representativo y debido a su interesante actividad como inhibidor de calpaína (veremos más adelante, *Sección 2.4.4.*), se ha elegido el compuesto **24**.

Para realizar el estudio IR de **24** se registraron los espectros en CHCl_3 a temperatura ambiente, tanto a alta como a baja concentración. En la *Figura 2.17* se muestra la zona de tensión N-H ($3500\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$) de los espectros correspondientes a muestras de concentración 20.5 mM y 2.5 mM. Se observa la presencia de una única banda estrecha a 3412 cm^{-1} , independiente de la concentración, correspondiente a la tensión N-H en amidas libres.

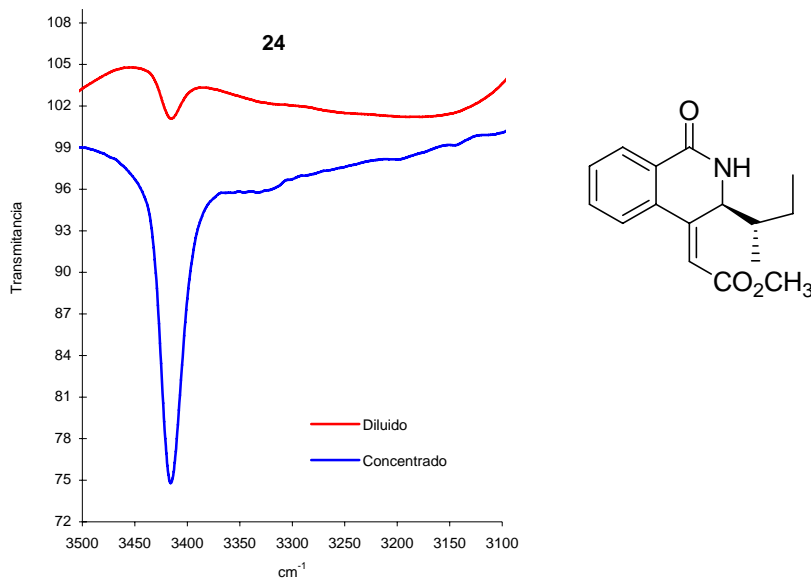
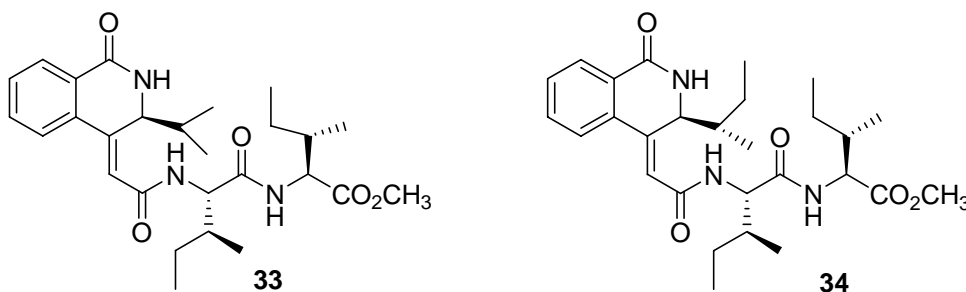


Figura 2.17. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **24** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. Concentrado: $c = 20.5 \text{ mM}$ (máximo a 3413 cm^{-1}); diluido: $c = 2.5 \text{ mM}$ (máximo a 3412 cm^{-1}).

En cuanto a los híbridos, se han estudiado en primer lugar los híbridos dipéptido-isoquinolinona **33** y **34**.



En la *Figura 2.18* se muestran los espectros del compuesto **33** a concentraciones alta **(a)** (21.3 mM) y baja **(b)** (2.0 mM). Por una parte, aparece una banda ancha (3273 cm^{-1}) correspondiente a los N-H implicados en enlaces de hidrógeno, cuya intensidad varía poco con la dilución de la muestra, sugiriendo la existencia de EHs intramoleculares. Por otra parte, aparece una banda estrecha, correspondiente a la tensión de N-H en amidas libres (3414 cm^{-1}), cuya intensidad relativa es similar en ambas muestras.

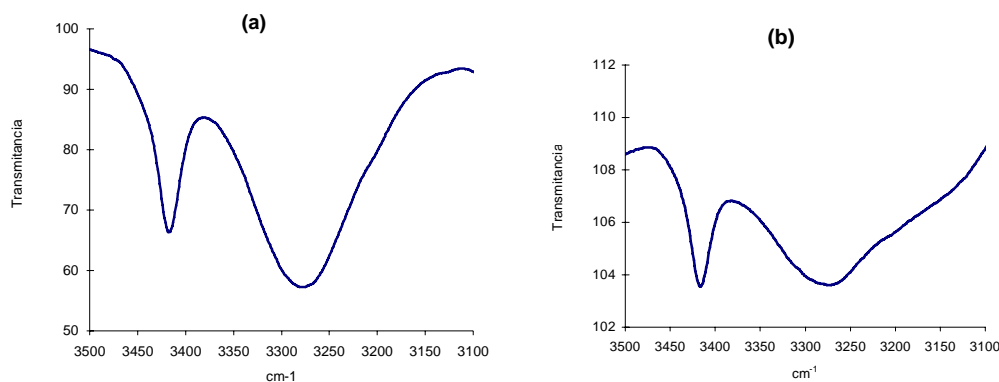


Figura 2.18. Región de la tensión NH de los espectros IR-FT del compuesto **33** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 21.3\text{ mM}$ (máximos a 3414 y 3273 cm^{-1}); **(b)** $c = 2.0\text{ mM}$ (máximo a 3414 y 3273 cm^{-1}).

La *Figura 2.19* muestra los espectros del compuesto **34**, a alta **[(a), 20 mM]** y baja **[(b), 0.6 mM]** concentración. En el primero, se observa la presencia de dos bandas, una estrecha correspondiente a la tensión de N-H en amidas libres (3413 cm^{-1}) y otra ancha (3280 cm^{-1}), correspondiente a los N-H implicados en enlaces de hidrógeno. En el segundo, correspondiente a la muestra diluida, esta última banda no aparece, indicando la presencia de EHs intermoleculares.

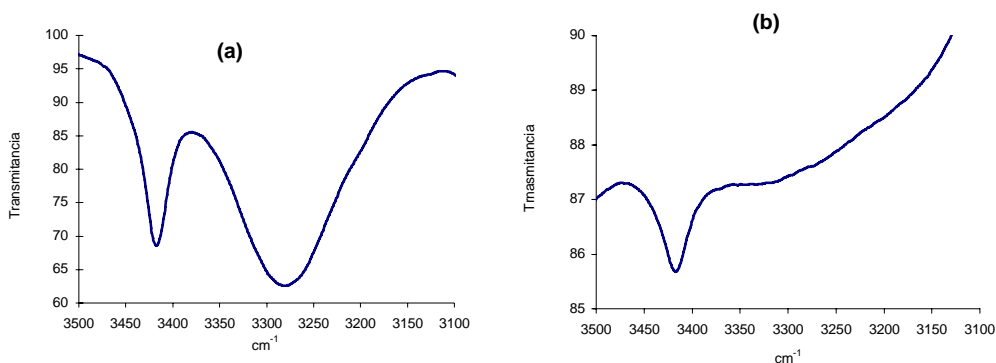
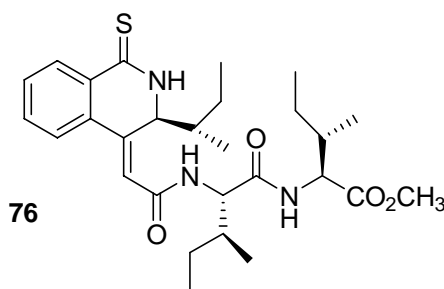


Figura 2.19. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **34** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro del CHCl_3 puro. **(a)** $c = 20 \text{ mM}$ (máximos a 3413 y 3280 cm^{-1}); **(b)** $c = 0.6 \text{ mM}$ (máximo a 3412 cm^{-1}).

Con objeto de comparar como afecta a la formación de enlaces de hidrógeno la sustitución del átomo de oxígeno carbonílico de la isoquinolinona por uno de azufre, se registraron los espectros IR del compuesto **76**, tio-análogo del híbrido péptido-heterociclo **34**, tanto a alta **(a)** (20 mM) como a baja concentración **(b)** (1.49 mM).



En la *Figura 2.20* se muestran los espectros de IR a ambas concentraciones. En los dos casos se observa una banda estrecha correspondiente a la tensión de N-H en amidas libres (3410 cm^{-1}) y otra ancha (3250 cm^{-1}); la intensidad de esta última disminuye en la muestra diluida sin llegar a desaparecer completamente, lo que implica que al menos en parte de la población existen enlaces de hidrógeno intramoleculares así como intermoleculares.

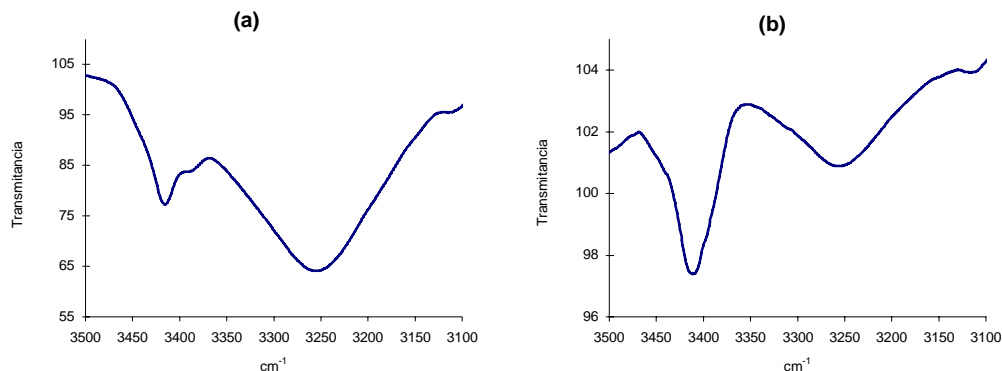
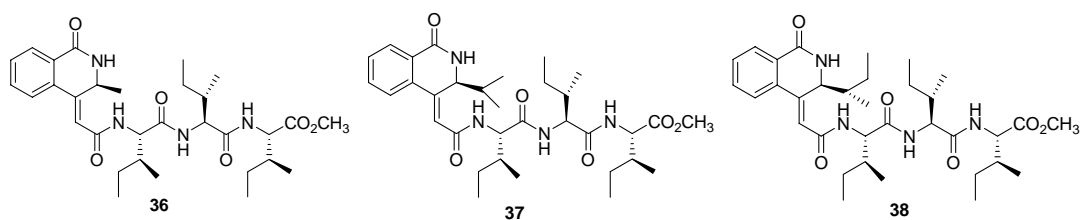


Figura 2.20. Región de la tensión NH de los espectros IR-FT del compuesto **76** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 21.3$ mM (máximos a 3414 y 3273 cm^{-1}); **(b)** $c = 2.0$ mM (máximo a 3414 y 3273 cm^{-1}).

A continuación se estudió el comportamiento de los híbridos tripéptido-isoquinolinona **36-38**, cuyos espectros IR en CHCl_3 se registraron, al igual que en los casos comentados anteriormente, a temperatura ambiente y tanto a alta como a baja concentración.



En la *Figura 2.21*, correspondiente al híbrido **36**, se observa la presencia de tres bandas en el espectro a alta concentración **(a)** (21 mM): una banda estrecha correspondiente a amidas libres (3410 cm^{-1}) y otra, ancha (3299 cm^{-1}), correspondiente a los N-H implicados en enlaces de hidrógeno junto con un hombro a frecuencia algo mayor. En el espectro IR registrado a baja concentración **(b)** (1.9 mM) se aprecia que la

banda ancha presente en el espectro **(a)** ha disminuido tanto de frecuencia de vibración (3299 a 3255 cm^{-1}) como de intensidad; Teniendo en cuenta este comportamiento, podemos deducir que en el compuesto **36** existen poblaciones de conformeros que presentan enlaces de hidrógeno intramoleculares.

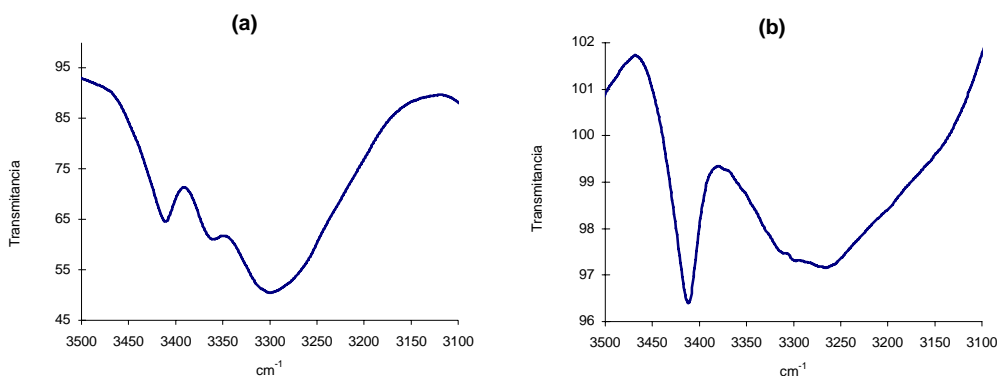


Figura 2.21. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **36** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 21 \text{ mM}$ [máximos a 3410, 3359 (hombro) y 3299 cm^{-1}]; **(b)** $c = 1.9 \text{ mM}$ (máximos a 3410 y 3255 cm^{-1}).

Las Figuras 2.22 y 2.23 muestran los espectros de IR de los híbridos **37** y **38**. En ella se observa que ambos compuestos presentan un comportamiento muy similar; en efecto, sus espectros IR a alta concentración **(a)** (23 mM en el caso de **37** y 21 mM en el de **38**) muestran la existencia de tres bandas: una ancha e intensa a 3297 cm^{-1} , con un hombro a 3353 cm^{-1} , correspondiente a los NH implicados en EH y una adicional, estrecha, a 3416 cm^{-1} correspondiente a la tensión N-H en amidas libres. En los espectros IR a baja concentración **(b)** (1.86 mM y 0.98 mM para **37** y **38**, respectivamente), la banda estrecha (3415 cm^{-1}) permanece prácticamente invariable, mientras que la banda ancha presente en el espectro **(a)** disminuye de intensidad aunque sigue siendo significativa. Nuevamente estos datos indican que en los híbridos **37** y **38** existen

poblaciones de conformeros que presentan enlaces de hidrógeno intramoleculares en su estructura.

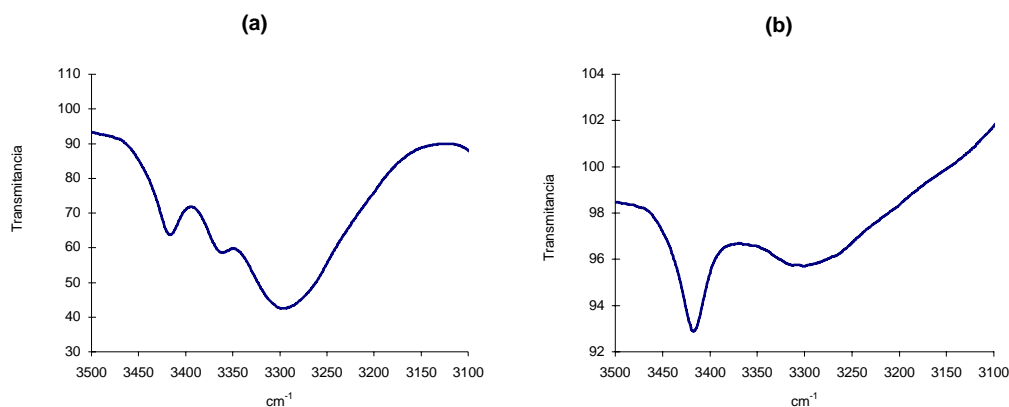


Figura 2.22. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **37** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 23 \text{ mM}$, [máximos a 3416 , 3353 (hombro) y 3297 cm^{-1}]; **(b)** $c = 1.86 \text{ mM}$, (máximos a 3416 y 3296 cm^{-1}).

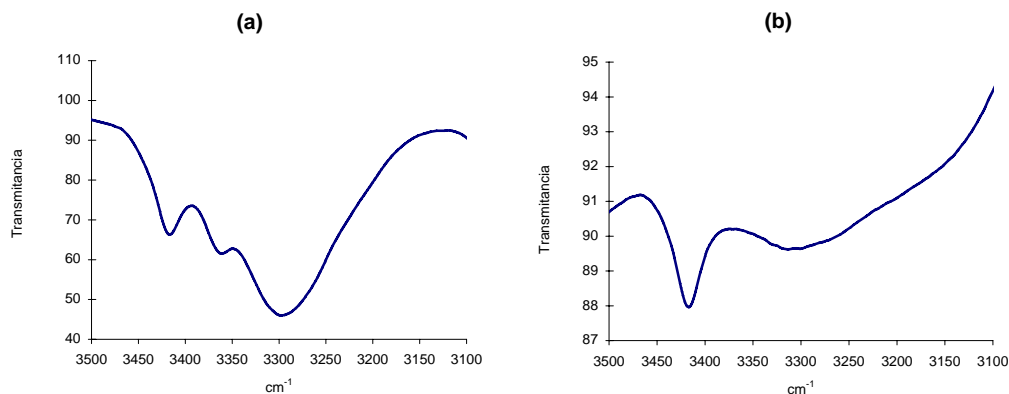
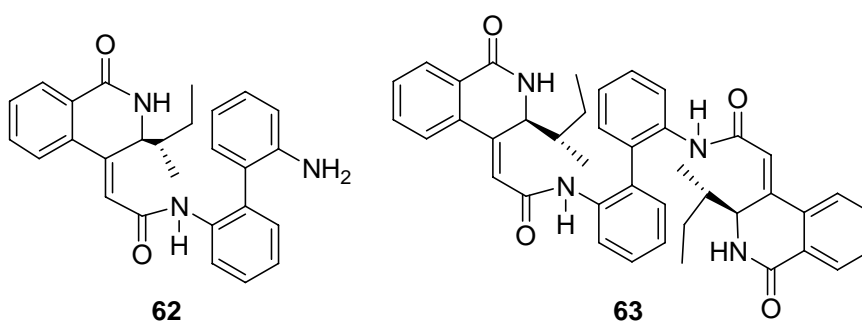


Figura 2.23. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **38** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 21 \text{ mM}$ [máximos a 3416 , 3353 (hombro) y 3297 cm^{-1}]; **(b)** $c = 0.98 \text{ mM}$ (máximos a 3416 y 3296 cm^{-1}).

Por último se han analizado diversos híbridos bifenilo-isoquinolinona y aminoácido-bifenilo-isoquinolinona con objeto de estudiar como afecta la concentración a las distintas bandas que aparecen en sus espectros IR.

En primer lugar se analizan los compuestos **62** y **63** (híbridos bifenilo-isoquinolinona) cuyos espectros IR se registraron en CHCl_3 a temperatura ambiente, tanto a baja como a alta concentración.



En la *Figura 2.24*, correspondiente al compuesto **62**, se observa la presencia de una única banda estrecha a 3404 cm^{-1} , tanto en el espectro a alta concentración (**a**) (20.6 mM) como en el de baja concentración (**b**) (2.1 mM), correspondiente a la tensión de N-H en amidas libres. También se ve la existencia en ambos espectros IR de una pequeña banda (3347 cm^{-1} y 3349 cm^{-1} en las muestras concentrada y diluida, respectivamente) que corresponderían a grupos N-H implicados en enlaces de hidrógeno intramoleculares.

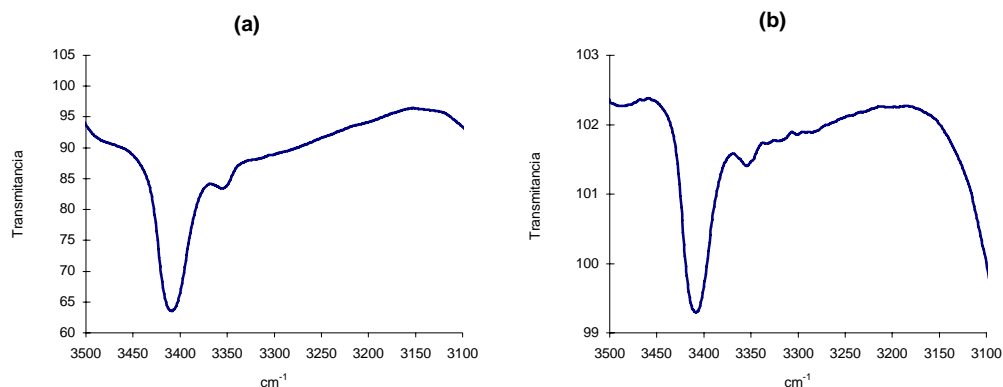


Figura 2.24. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **62** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 20.6 \text{ mM}$ (máximos a 3404 y 3347 cm^{-1}); **(b)** $c = 2.1 \text{ mM}$ (máximos a 3405 y 3349 cm^{-1}).

La *Figura 2.25* corresponde al compuesto **63**; en el espectro a alta concentración **(a)** (14.8 mM) se observa la existencia de dos bandas: una estrecha, a 3409 cm^{-1} , que corresponde a la tensión de N-H en amidas libres y otra muy ancha, entre $3330\text{-}3190 \text{ cm}^{-1}$, correspondiente a los N-H implicados en EH intra- e intermoleculares. En el espectro registrado a baja concentración **(b)** (1.9 mM) se observa que la banda estrecha no sufre alteración, mientras que la banda ancha ($3313\text{-}3190 \text{ cm}^{-1}$) aparece muy difuminada.

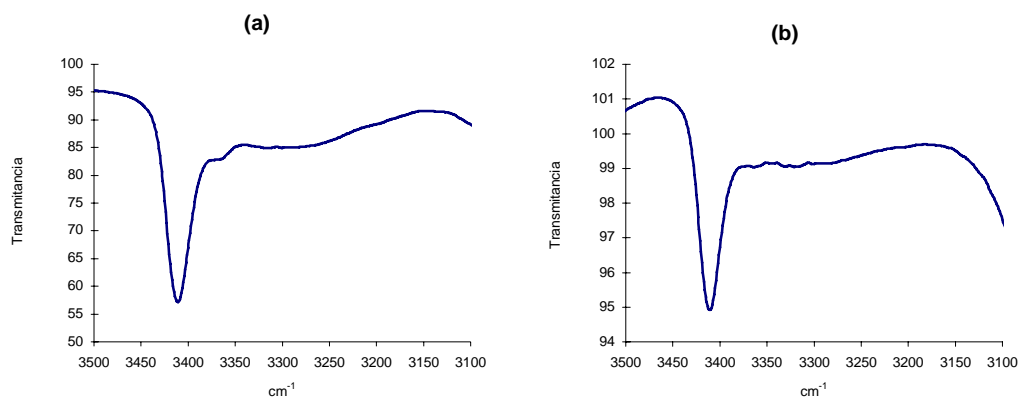
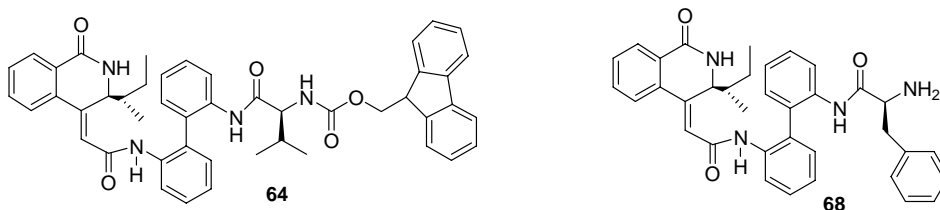


Figura 2.25. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **63** en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 14.8$ mM, (máximos a 3409 y $3330\text{-}3190$ cm^{-1}); **(b)** $c = 1.9$ mM, (máximos a 3408 y $3313\text{-}3190$ cm^{-1}).

Para finalizar el estudio conformacional por medio de espectroscopia IR, se analizaron los compuestos **64** y **68**, híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona, cuyos espectros se registraron en condiciones análogas a las descritas anteriormente.



En las Figuras 2.26 y 2.27, correspondientes a los compuestos **64** y **68** respectivamente, se puede comprobar que ambos compuestos presentan un comportamiento similar, prácticamente independiente de la dilución, tanto a alta **(a)** (18.9 mM y 20.6 mM para **64** y **68**, respectivamente) como a baja concentración **(b)** (1.9 mM y 2.0 mM para **64** y **68**, respectivamente). En los espectros IR se observa una banda

ancha y extensa de 3220 a 3340 cm^{-1} correspondiente a la tensión de grupos N-H amídicos implicados en EH, junto con otra banda a 3410 cm^{-1} correspondiente a la tensión de N-H libre. La independencia de la banda ancha y extensa con la concentración (más significativo en **68**), implica la presencia de enlaces de hidrógeno intramoleculares en la estructura de estos compuestos en disolución.

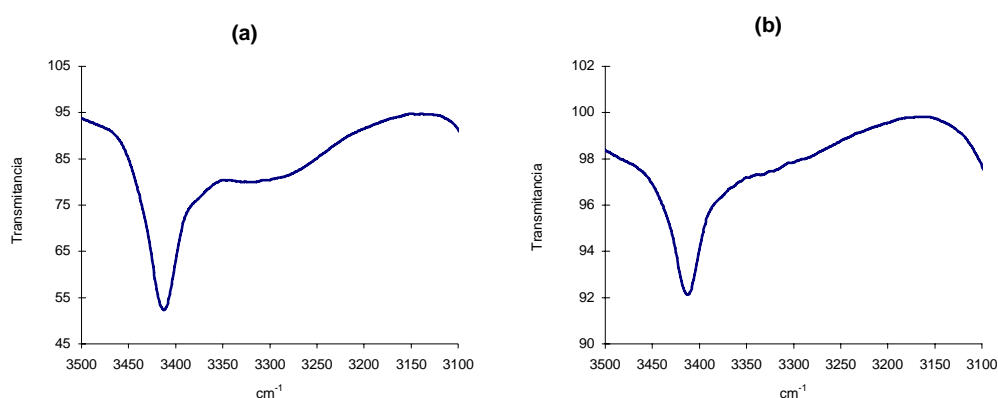


Figura 2.26. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **64**, en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 18.9 \text{ mM}$, (máximo a 3410 cm^{-1}); **(b)** $c = 1.9 \text{ mM}$, (máximo a 3410 cm^{-1}).

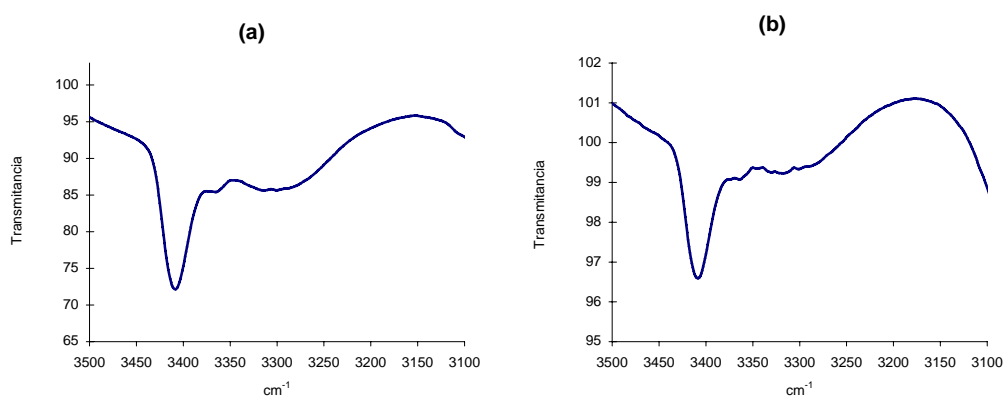
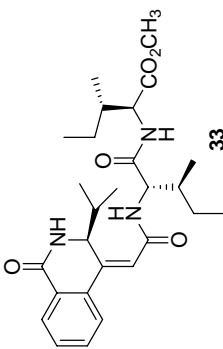
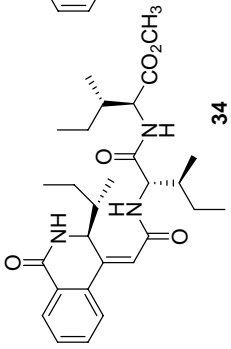
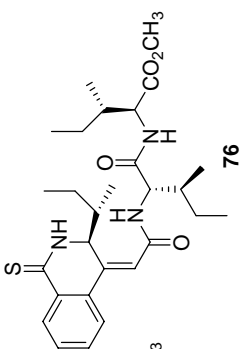
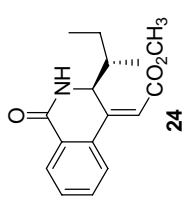
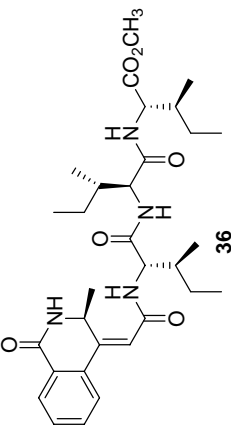
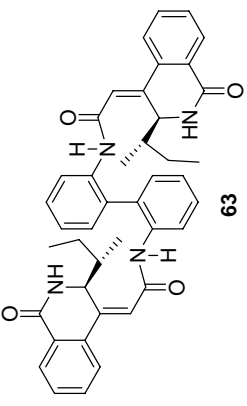
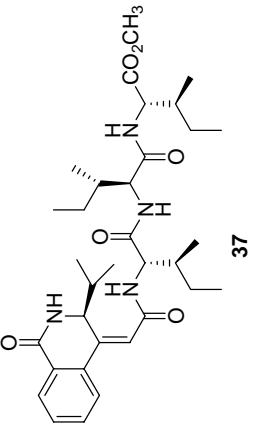


Figura 2.27. Región de la tensión N-H de los espectros IR-FT del compuesto **68**, en CHCl_3 a temperatura ambiente después de la substracción del espectro de CHCl_3 puro. **(a)** $c = 20.6 \text{ mM}$ (máximo a $3220\text{-}3340 \text{ cm}^{-1}$); **(b)** $c = 2.0 \text{ mM}$ (máximo a $3220\text{-}3340 \text{ cm}^{-1}$).

EH intramolecular	EH intermolecular	Ambos	Ninguno
 <p>33</p>	 <p>34</p>	 <p>76</p>	 <p>24</p>
 <p>36</p>	---	---	 <p>63</p>
 <p>37</p>	---	---	---

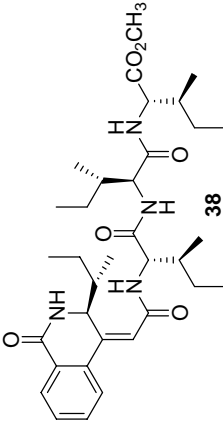
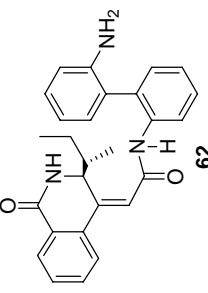
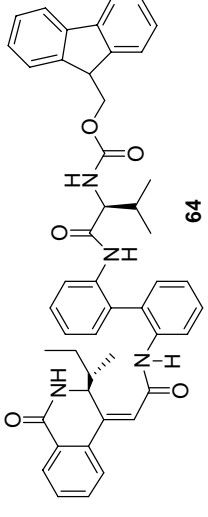
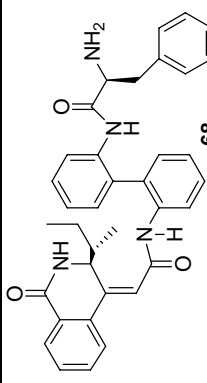
 38	---	---	---
 62	---	---	---
 64	---	---	---
 68	---	---	---

Tabla 2.2. Resumen de los EH por medio de espectroscopia IR

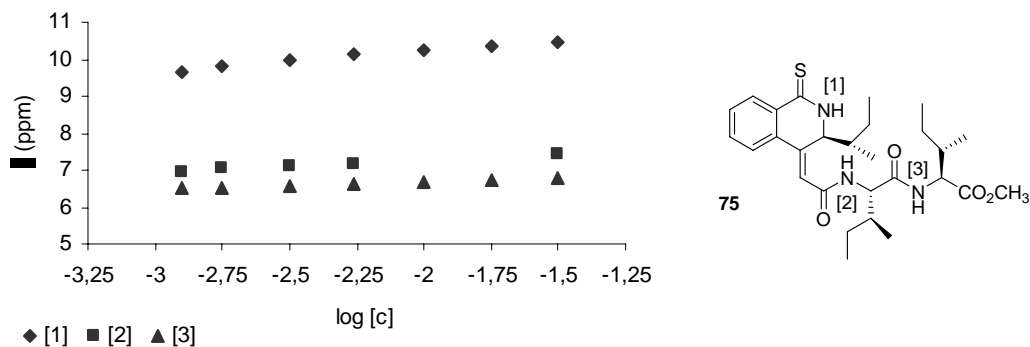
En la *Tabla 2.2* se muestra un resumen de la existencia o no de EH por medio de espectroscopia IR.

2.3.2.2. Experimentos de espectroscopia de RMN.

El objetivo de esta parte del trabajo es el estudio del tipo de enlaces de hidrógeno (intra- e intermoleculares) presentes en diversas estructuras por medio de diferentes técnicas de RMN, así como los parámetros termodinámicos del proceso de isomerización de las estructuras que contienen el agrupamiento bifenilo.

Basándonos en los experimentos de espectroscopía IR anteriormente comentados, los espectros de RMN-¹H se registraron con muestras lo suficientemente diluidas como para evitar la formación de agregados que interfiriesen en los resultados. Para hallar el rango de concentraciones en el cual no se forman los citados agregados, se llevaron a cabo experimentos a concentración variable con compuestos significativos de cada una de las familias sintetizadas.

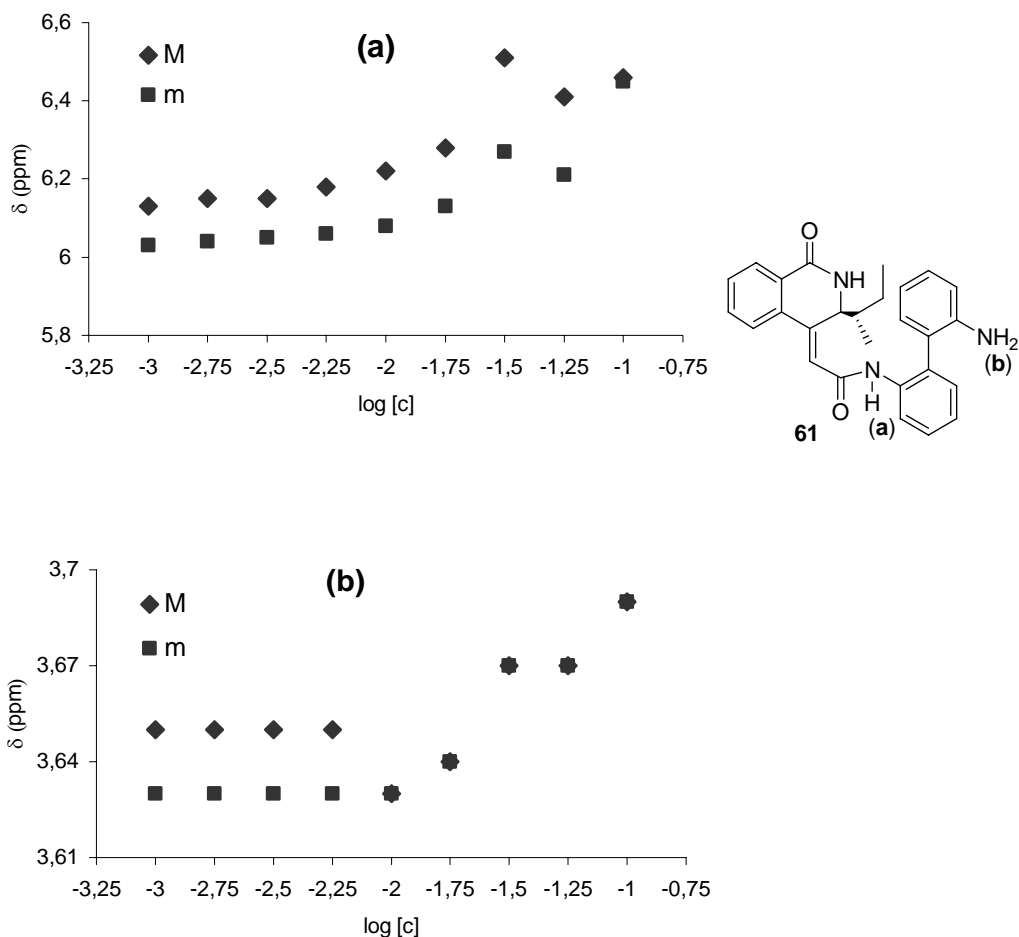
En primer lugar, se realizó el experimento con el compuesto **75** como ejemplo de híbrido péptido-heterociclo. En la *Gráfica 2.1* se representa la variación del desplazamiento químico de los protones amídicos en función del logaritmo de la concentración en CDCl₃. Como se puede comprobar, no existe esta variación en el intervalo de 10⁻³ a 10⁻² M, lo cual indica que este compuesto no forma agregados en este intervalo de concentraciones, siendo éstas, por consiguiente, a las que se registraron los espectros de RMN-¹H.



Gráfica 2.1. Desplazamiento químico (RMN-¹H) de los protones amídicos de **75** en CDCl₃ con la concentración.

En el caso de los híbridos bifenilo-heterociclo o los híbridos péptido-bifenilo-heterociclo, se eligió como ejemplo representativo el compuesto **61**. De igual forma que en el caso anterior, en la *Gráfica 2.2* se representa la variación del desplazamiento químico de los protones de los grupos NH-Bif (**a**) y NH₂ (**b**) del compuesto **61** en CDCl₃, tanto del conformero mayoritario (**M**) como del minoritario (**m**), en función del logaritmo de la concentración.¹⁵¹ De nuevo, se observa el mismo comportamiento que en el caso anterior, es decir, existe una independencia del desplazamiento químico frente a la concentración en el rango de 10⁻³ a 10⁻² M, por lo que de nuevo se registraron los espectros de RMN-¹H en ese intervalo.

¹⁵¹ Las señales de los protones de los grupos NH lactámicos aparecen solapadas con las de los protones aromáticos del bifenilo y no pudieron ser incluidas en este estudio.



Gráfica 2.2. Desplazamiento químico en CDCl_3 de los protones de los grupos NH-Bif (a) y NH_2 (b) de **61** con la concentración.

2.3.2.2.1 Cálculo de los coeficientes de temperatura de los grupos NH en los compuestos **24**, **39**, **61-63**, **67**.

Se llevó a cabo el cálculo de los coeficientes de temperatura de los grupos NH de compuestos de diversa naturaleza: derivados de isoquinolinona sencillos, híbridos péptido-heterociclo (con fragmentos peptídicos de distinta longitud), híbridos bifenilo-heterociclo y, por último, híbridos aminoácido-bifenilo-heterociclo. Estos experimentos se realizaron para probar la formación de enlaces de hidrógeno (EHs) intramoleculares a

temperatura ambiente (303 K) y en un disolvente no competitivo como el CDCl_3 . En estas condiciones, los grupos NH involucrados en la formación de enlaces de hidrógeno presentan generalmente desplazamientos químicos a campo bajo (~ 7.0 - 9.0 ppm) en relación con los grupos NH que no forman enlaces de hidrógeno (~ 5.5 - 6.0 ppm). En amidas acíclicas, los NHs que forman enlaces de hidrógeno presentan desplazamientos químicos que muestran una gran dependencia de la temperatura ($\Delta\delta/\Delta T \sim -10$ hasta -13 ppb/K)¹⁵² en relación con los NHs libres, cuya dependencia no es tan acusada ($\Delta\delta/\Delta T \sim -3$ ppb/K).^{147,148} Por otro lado, las amidas que están en equilibrio entre estructuras con y sin enlace de hidrógeno presentan dependencias intermedias con respecto a la temperatura ($\Delta\delta/\Delta T \sim -7$ hasta -10 ppb/K) y desplazamientos químicos a temperatura ambiente en el intervalo de 5.5 a 6.5 ppm.

De un modo similar a como se analizaron los espectros IR, se llevó a cabo un estudio complementario mediante los datos obtenidos de los espectros de RMN-¹H. En primer lugar se analizarán los datos pertenecientes a compuestos sencillos sin fragmento peptídico e híbridos dipéptido-heterociclo.

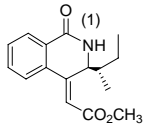
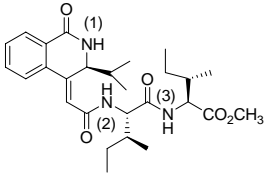
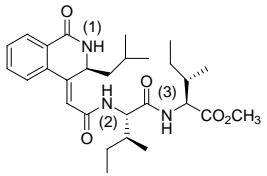
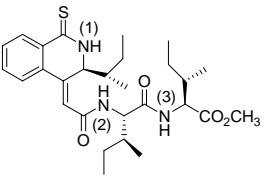
Los datos procedentes de los espectros de RMN-¹H del compuesto **24** y de los híbridos dipéptido-heterociclo **33**, **35** y **75** se recogen en la *Tabla 2.3*.

¹⁵² ppb = 10^{-3} ppm, aunque en castellano ppb = 10^{-12} , todos estos datos están totalmente en concordancia con lo publicado en la bibliografía.

¹⁴⁷ S. H. Gellman, B. R. Adams, G. P. Dado, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 460-461. G. P. Dado, J. M. Desper, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8630-8632. S. H. Gellman, G. P. Dado, G. Liang, B. R. Adams, *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 1164-1173. G. P. Dado, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 1054-1062.

¹⁴⁸ H. J. Dyson, M. Rance, R. Houghten, R. A. Lerner, P. E. Wright, *J. Mol. Biol.* **1988**, *201*, 201-217.

Tabla 2.3. Parámetros de RMN-¹H de los compuestos **24**, **33**, **35** y **75**.

Compuesto (concentración)	Señal	δ (ppm) ^a	J_{NH} (Hz) ^a	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K) ^b
 24 (1.9×10^{-3})	NH(1)	6.14	— ^c	-2.68
 33 (3.9×10^{-3})	NH(1)	7.62	3.7	-22.16 ^d
	NH(2)	6.89	8.8	-9.85 ^d
	NH(3)	6.97	7.8	-11.27 ^d
 35 (3.7×10^{-3})	NH(1)	7.62	— ^c	-20.95
	NH(2)	6.47	8.4	-0.52 ^e
	NH(3)	7.36	— ^c	-16.25
 75 (1.4×10^{-3})	NH(1)	9.79	8.5	-21.42 ^d
	NH(2)	6.53	8.4	-6.22 ^d
	NH(3)	7.03	7.8	-12.00 ^d

^aDatos tomados a 303 K en CDCl₃ a la concentración indicada. ^bDatos medidos entre 243-323 K. ^cSeñal ancha. ^dDato medido entre 293-323 K. ^eEsta medida tiene un coeficiente de regresión de 0.48.

De los datos observados en la tabla hay que destacar:

- De los datos recogidos en la tabla anterior hay que señalar el bajo desplazamiento químico del protón amídico del compuesto **24** (< 7 ppm), junto con el bajo valor absoluto del coeficiente de temperatura; estos

datos indican que este NH no participa en la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares, hecho que está totalmente de acuerdo con lo deducido a partir los experimentos de espectroscopia IR. Además, la formación de tal EH sería estéricamente muy desestabilizante.

En cuanto a los híbridos dipéptido-heterociclo **33**, **35** y **75** hay que destacar:

- Los altos valores de desplazamiento químico del grupo NH(1) de estos compuestos, que aparece en todos los casos por encima de 7 ppm.
- Los valores de los desplazamientos químicos de los grupos NH(2) y NH(3) que, en la mayoría de los casos, están próximos o son superiores a 7 ppm.
- Los altos coeficientes de temperatura que presentan los protones amídicos de todos estos compuestos; los mayores valores absolutos se observaron para los grupos NH(1) del anillo de isoquinolinona (~ -20 ppb/K), a continuación, para los protones amídicos NH(3) y, finalmente, para los protones amídicos NH(2).
- La mayoría de los valores de $J_{\text{NHC}\alpha\text{H}}$ medibles son altos, pudiéndose relacionar mediante ecuaciones tipo Karplus con valores del ángulo ϕ entre -145° y -90° . Los valores de $J \geq 7.5$ Hz son consistentes con conformaciones extendidas.¹⁵³ Por otra parte, el bajo valor de $J_{\text{NHC}\alpha\text{H}}$ (3.7 Hz) encontrado en el caso de NH(1) del híbrido **33**, hace pensar en la participación de este grupo en un enlace de hidrógeno similar a los que se encuentra en las hélices α .

Estos datos parecen indicar que en los compuestos **33**, **35** y **75** los grupos NH(1) y NH(3) participan en la formación de EHs intramoleculares. Por otro lado, los valores de los coeficientes de temperatura de los protones NH(2) apuntarían a que éstos se

¹⁵³ Las constantes de acoplamiento $^3J_{\text{NHC}\alpha\text{H}}$ con valores mayores de 7.5 Hz se consideran generalmente compatibles con estructuras tipo lámina β (extendida), mientras que valores < 6 Hz son consistentes con estructuras de hélice α . Ver por ejemplo: K. Wuthrich en *NMR of Proteins and Nucleic Acids*; Wiley: New York, **1986**, pp 166-168.

encuentran implicados en un equilibrio entre las estructuras libre y asociada. Estos datos están, en principio, de acuerdo con lo observado en los experimentos de espectroscopia IR.

Con el fin de conseguir información adicional sobre el tipo de conformación que adoptan los compuestos **33**, **35** y **75** en disolución de CDCl_3 , se llevaron a cabo experimentos NOE selectivos y NOESY.¹⁵⁴ Todos los compuestos presentaron NOEs muy parecidos; podemos destacar la presencia de una interacción a larga distancia entre el grupo NH(1) del heterociclo y el protón CH_α del primer resto de aminoácido y, por otra parte, otra entre el protón olefínico y NH(2). De manera adicional, en el compuesto **35** se detecta una efecto Overhauser entre el protón CH_α del primer resto de aminoácido y el grupo NH(3). En la *Figura 2.28* se muestran los principales NOEs encontrados para las citadas estructuras.

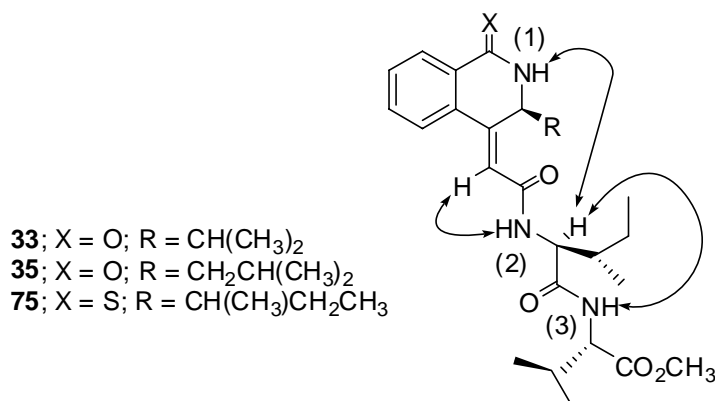


Figura 2.28. NOEs no adyacentes más relevantes detectados en los compuestos **33**, **35** y **75**.

Los datos extraídos de los experimentos de IR y RMN comentados anteriormente, conducen a que los compuestos **33**, **35** y **75** en disolución de CHCl_3 se encuentran en equilibrio entre tres conformaciones (ver *Figura 2.29* para el híbrido **33**). Dos de los

¹⁵⁴ Los espectros NOESY de estos compuestos se muestran en el anexo II.

confórmeros presentarían pseudoanillos de 13 (giro α) o 7 eslabones (giro γ) respectivamente, estabilizados mediante la formación de sendos enlaces de hidrógeno intramoleculares, mientras que el tercero adoptaría una forma extendida.

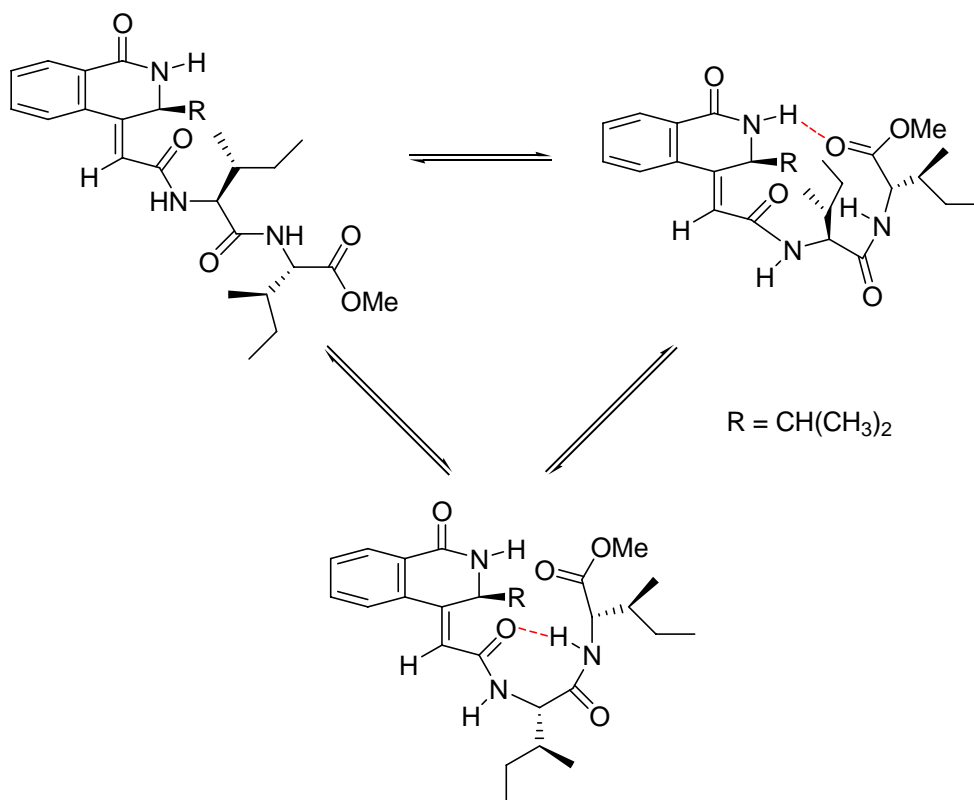
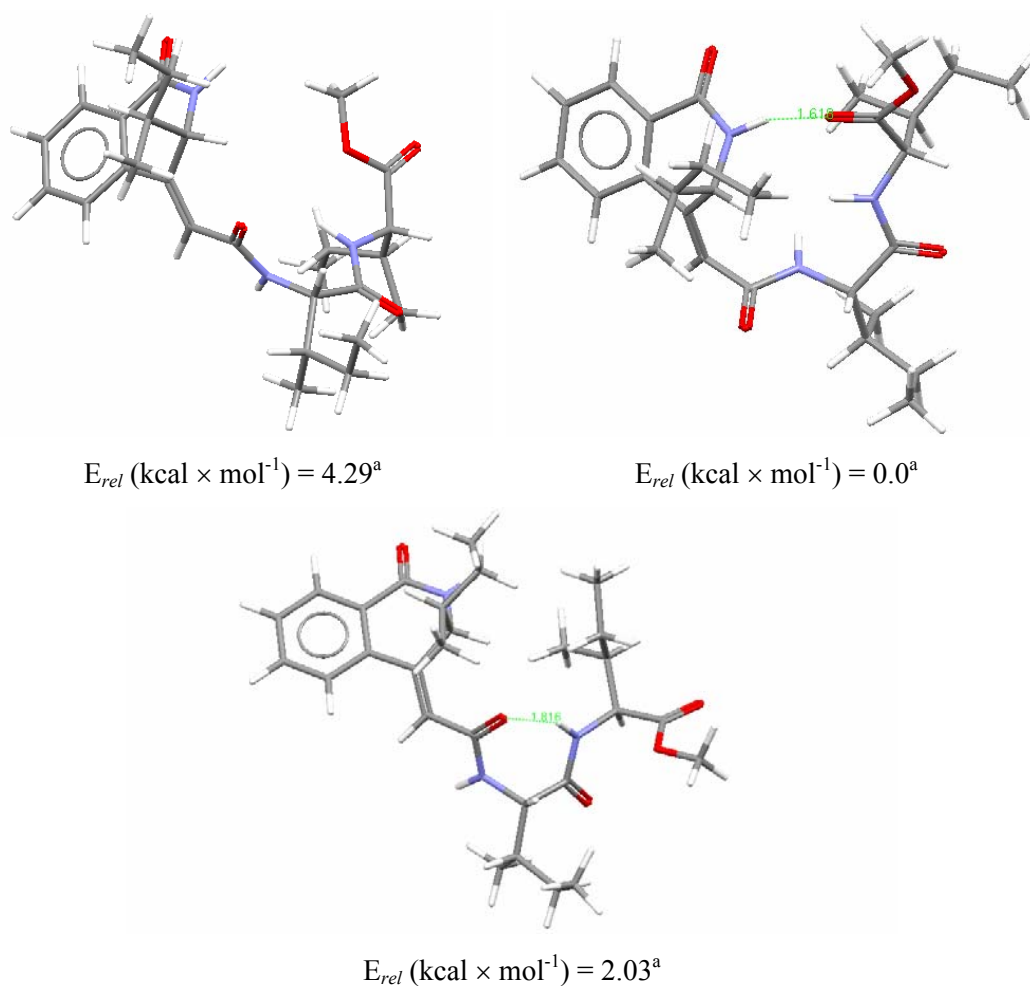


Figura 2.29. Confórmeros propuestos para el híbrido **33** en disolución de CHCl₃.

También se llevó a cabo una simulación de los confórmeros del compuesto **34** en el vacío por medio de mecánica molecular,¹⁵⁵ observándose (Figura 2.30) que las

¹⁵⁵ Los cálculos fueron realizados por Carlos Miranda, Instituto de Química Orgánica General, CSIC utilizando el programa Sybyl 7.0 with Update#1 en una estación de trabajo Dell Precision 450 Workstation equipada con procesador Intel Xeon 2.66 GHz. El campo de fuerzas empleado para este estudio fue MMFF94s, ver: T. A. Halgren *J. Comp. Chem.* **1999**, 7, 720-729.

conformaciones de menor energía son aquellas en las que se forman los enlaces de hidrógeno intramoleculares que se han propuesto en la figura anterior.



^aLos valores de energía están referidos al conformero más estable.

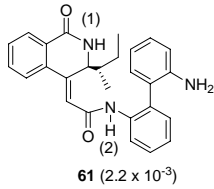
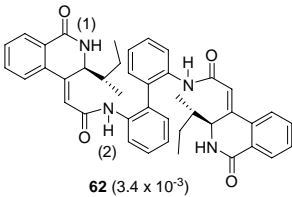
Figura 2.30. Confómeros propuestos para el compuesto **34** obtenidos mediante mecánica molecular.

A la vista de los coeficientes de temperatura y las energías relativas de los confómeros podemos observar que existe una relación directa entre ambos parámetros;

es decir, el conformero más estable es a su vez el que mayor coeficiente de temperatura posee.

Seguidamente se analizarán los datos obtenidos de los espectros de RMN-¹H (Tabla 2.4) de los híbridos heterociclo-bifenilo **61** y **62**. En este caso, los espectros se complican debido a la existencia de atropisómeros originados por la rotación restringida del resto de bifenilo (**M** y **m**, relación 1:1).

Tabla 2.4. Parámetros de RMN-¹H de los compuestos **61** y **62**.

Compuesto (concentración)	Señal	δ (ppm) ^a	J_{NH} (Hz) ^a	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K) ^b
 61 (2.2×10^{-3})	NH ₂	3.72	—	-0.15
	NH(1), M	6.17	— ^c	-3.56
	NH(1), m	6.05	— ^d	-2.56
	NH(2), M	7.92	—	-7.58
	NH(2), m	7.86	—	-12.45
 62 (3.4×10^{-3})	NH(1), M	6.44	2.9	-5.97
	NH(1), m	6.18	4.2	-4.20
	NH(2), M	8.19	— ^c	-0.08 ^e
	NH(2), m	8.12	— ^c	0.33

^aDatos tomados a 303 K en CDCl₃ a la concentración indicada. ^bDatos medidos entre 243-323 K en CDCl₃. ^cSeñal ancha. ^dNo pudo determinarse debido al solapamiento con otras señales. ^eEsta medida tiene un coeficiente de regresión de 0.22.

De los datos observados en la tabla hay que destacar:

- Los muy altos valores de los desplazamientos químicos de los grupos NH(2), incluso para amidas aromáticas, de ambos conformeros de **61** y **62**, que aparecen en todos los casos muy por encima de 7 ppm.

- Los altos coeficientes de temperatura del grupo NH(2) de ambos conformeros de **61**, así como los bajos valores de dicho coeficiente en los dos conformeros de **62**.

A la vista de los desplazamientos químicos se puede decir que en ambos conformeros del compuesto **61** el grupo NH(2) participa, en cierta extensión, en la formación de EHS intramoleculares. Además, los valores de los coeficientes de temperatura de estos protones apuntarían a que en esta molécula existe un equilibrio entre los estados libre y asociado, hecho que estaría de acuerdo con las conclusiones obtenidas a partir de los espectros IR en disolución. Por otro lado, según los datos reflejados en la tabla anterior, los protones de los grupos NH₂ y NH(1) de este compuesto no parecen estar involucrados en la formación de EHS intramoleculares

En relación a **62**, cabe destacar los bajos valores de los coeficientes de temperatura de los protones NH(1) y los muy bajos de NH(2), tanto en el conformero mayoritario (**M**) como en el minoritario (**m**); estos hechos son indicativos de su nula participación en la formación de EHS intramoleculares. Por ello, el elevado desplazamiento químico al que aparecen los protones NH(2) debe ser atribuido a otros efectos distintos de la formación de EHS.

Con el fin de conseguir información adicional sobre el tipo de conformación que adopta el compuesto **61** en disolución de CDCl₃, se llevaron a cabo experimentos NOE selectivos y NOESY,¹⁵⁶ pudiendo destacar la presencia de dos interacciones a larga distancia del grupo NH₂, una con el grupo NH(2) y otra con el resto *sec*-butilo. En la *Figura 2.31* se muestran los principales NOEs encontrados para la citada estructura.

¹⁵⁶ Los espectros NOESY de estos compuestos se muestran en el anexo II.

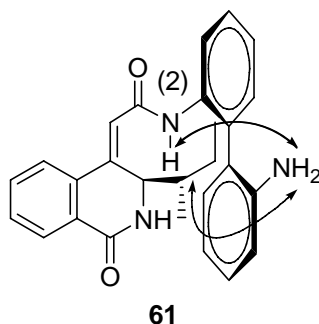


Figura 2.31. NOEs no adyacentes más relevantes detectados en el compuesto **61**.

Los datos extraídos de los experimentos de IR y RMN comentados anteriormente, indican que el compuesto **61** en disolución de CHCl_3 aparece como una mezcla en equilibrio de dos atropisómeros (*Figura 2.32*). Cada uno de ellos presenta un pseudoanillo de 7 eslabones (giro γ), estabilizado mediante la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares de distinta fortaleza; de acuerdo con los coeficientes de temperatura.

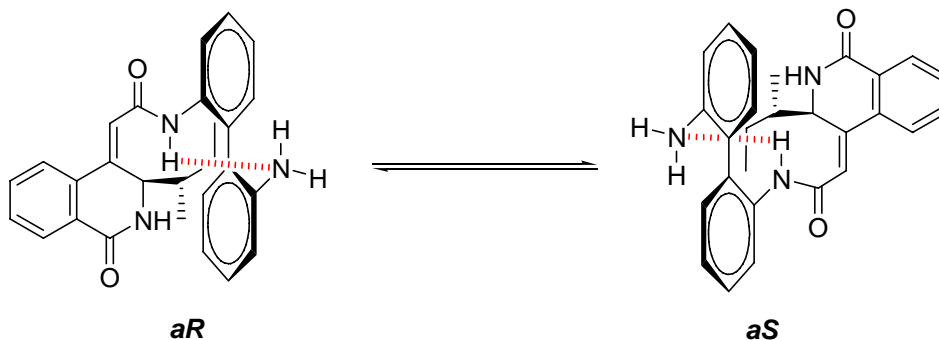


Figura 2.32. Confómeros propuestos para el híbrido **61** en disolución de CHCl_3 .

Para finalizar el estudio conformacional por medio de $\text{RMN-}^1\text{H}$ (*Tabla 2.5*) se analizaron los híbridos aminoácido-bifenilo-heterociclo **63** y **67**.

Tabla 2.5. Parámetros de RMN-¹H de los compuestos **63** y **67**.

Compuesto (concentración)	Señal	δ (ppm) ^a	J_{NH} (Hz) ^a	$\Delta\delta/\Delta T$ (ppb/K) ^b
<p>63 (3.2×10^{-3})</p>	NH(1), M	6.20	— ^c	-3.89
	NH(1), m	6.14	— ^c	-5.18
	NH(2)	— ^d	—	—
	NH(3)	— ^d	—	—
	NH(4), M	5.19	— ^c	-8.70
	NH(4), m	5.11	— ^c	-3.85
<p>67 (1.7×10^{-3})</p>	NH ₂	1.56	— ^c	—
	NH(1), M	6.17	4.4	-3.50
	NH(1), m	6.15	4.9	-3.81
	NH(2), M	9.32	—	-3.14
	NH(2), m	9.29	—	-2.51
	NH(3)	— ^d	—	—

^aDatos tomados a 303 K en CDCl₃ a la concentración indicada. ^bDatos medidos entre 243-323 K en CDCl₃. ^cSeñal ancha. ^dNo pudo determinarse debido al solapamiento con otras señales.

De los parámetros presentados en la tabla se pueden extraer algunas conclusiones:

- Los bajos valores de los desplazamientos químicos de los grupos NH de ambos conformeros de los compuestos **63** y **67**, excepción hecha de los grupos NH(2) del segundo.
- El valor intermedio del coeficiente de temperatura (~ 9 ppb/K) en el caso de NH(4) del conformero **M** de **63** y los bajos coeficientes del resto de los grupos NH de ambas estructuras.

El estudio de los coeficientes de temperatura de estos compuestos parece indicar que únicamente el grupo NH(4) del conformero **M** (mayoritario) de **63** podría estar implicado en la formación de EHs. Sin embargo, el desplazamiento químico de estos protones, dentro del rango usual en carbamatos sin EHs,¹⁵⁷ no confirma esta deducción. En cuanto al resto de los grupos NH de los compuestos **63** y **67**, no parecen estar implicados en la formación de enlaces de hidrógeno. Nuevamente, los elevados desplazamientos químicos de los protones NH(2) de **67** (~ 9.3 ppm) no parecen ser consecuencia de la participación de estos protones en EHs. Estas conclusiones están, así mismo, de acuerdo con los datos obtenidos a partir de los espectros IR de estos compuestos en disolución de CHCl₃.

2.3.3.- MODELIZACIÓN COMPUTACIONAL.¹⁵⁸

2.3.3.1.- Metodología empleada.

Se ha llevado a cabo un estudio del híbrido aminoácido-bifenilo-isoquinolinona **61** mediante el empleo de cálculos computacionales de mecánica molecular simulando un entorno de vacío. Todos los cálculos se han llevado a cabo utilizando el programa Sybyl 7.0 en una estación de trabajo Dell Precision 450 equipada con procesador Intel Xeon 2.66 GHz.

Las estructuras iniciales se construyeron con configuraciones del grupo *sec*-butilo de la isoquinolina tanto en posición pseudoaxial como pseudoecuatorial. Los cálculos de mecánica molecular se realizaron en vacío, con una constante dieléctrica de 1.0 dependiente de la distancia, empleando el campo de fuerzas MMFF94s¹⁵⁵ y cargas MMFF94. Todos los compuestos se minimizaron usando el método Powell hasta alcanzar una convergencia final de 0.01 kcal × mol⁻¹ Å⁻¹.

Las búsquedas conformacionales se llevaron a cabo en dos pasos:

¹⁵⁷ El desplazamiento químico de los protones del grupo carbamato oscila entre 5.1-5.5 ppm.

¹⁵⁸ Los cálculos fueron realizados por Carlos Miranda, Instituto de Química Orgánica General, CSIC.

⁶³ T. A. Halgren *J. Comput. Chem.* **1999**, *7*, 720-729.

a) Inicialmente, se emplearon 4000 ciclos del algoritmo *Random Search* implementado en Sybyl, con los parámetros predefinidos en el programa, manteniendo la quiralidad y desechando aquellas conformaciones que superaban en $24 \text{ kcal} \times \text{mol}^{-1}$ al mínimo obtenido.

b) Seguidamente y partir de los atropisómeros *aR* y *aS* de mínima energía, se realizaron 40 ciclos de *simulated annealing* en los que la temperatura se aumentó hasta 1073 K y descendió de forma exponencial hasta 473 K. Las conformaciones resultantes se minimizaron según los criterios anteriormente mencionados.

Finalmente, se descartaron todos los conformeros de energía relativa superior a $5 \text{ kcal} \times \text{mol}^{-1}$ respecto al mínimo conformacional.

Las dinámicas moleculares de los mínimos conformacionales se llevaron a cabo a 300 K en condiciones de temperatura y volumen constantes con el campo de fuerzas MMFF94. El tiempo de simulación fue de 100 ps con un tiempo de paso de 1 fs, dejando los primeros 10 ps como periodo de equilibrado.

2.3.3.2. Análisis conformacional de 61.

Según los cálculos realizados podemos observar diferencias significativas entre ambos atropisómeros. En el atropisómero *aS* se forma un enlace de hidrógeno entre el NH de la lactama y el NH_2 del bifénilo; este enlace se conservó durante el 47% del tiempo de la trayectoria y además se observó la formación de otro adicional entre el NH de la amida contigua al bifénilo y el NH_2 libre, durante el 7% del tiempo. Por otro lado, en el atropisómero *aR* se forma un enlace de hidrógeno entre el NH del grupo amida contiguo al bifénilo y el NH_2 libre que se mantiene durante el 42% (37 ps) de la trayectoria de la dinámica (*Figura 2.33*). Este enlace es el que se observa experimentalmente a través del cálculo de los coeficientes de temperatura ($\delta = 7.86 \text{ ppm}$ y $\Delta\delta/\Delta T = -12.45 \text{ ppb/K}$). En cuanto a la diferencia energética entre ambos atropisómeros es muy pequeña ($0.6 \text{ kcal} \times \text{mol}^{-1}$).

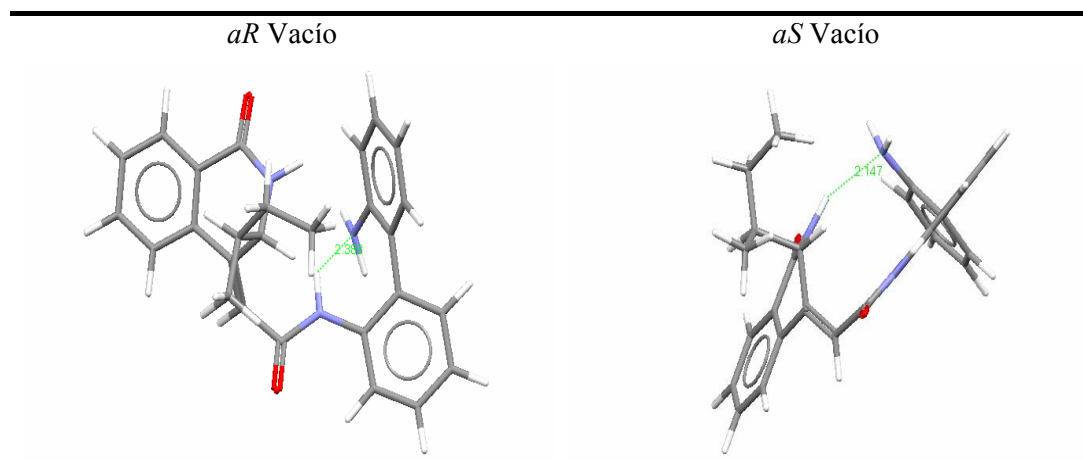


Figura 2.33. Mínimos conformacionales de **61** obtenidos por cálculos de mecánica molecular utilizando como campo de fuerzas MMFF94s en vacío.

2.3.4.- RMN a temperatura variable de los compuestos **61** y **62**.

Se ha descrito que en general los compuestos con estructura de biarilo requieren al menos la presencia de *dos*¹⁵⁹ o *tres*¹⁶⁰ sustituyentes en las posiciones *orto* para evitar la libre rotación en torno al enlace arilo-arilo. Dado que dichos sustituyentes poseen dos centros estereogénicos (como ejemplo representativo se muestra **62**, con configuración *S* en ambos), sería de esperar, si el giro en torno al enlace que une los dos grupos aromáticos fuera lo “suficientemente lento”,^{161,162} la detección de dos rotámeros (*S,S,aR,S,S*) y (*S,S,aS,S,S*) en equilibrio cuyo elemento adicional de asimetría está definido por el eje, estereogénicamente lábil, presente en el bifenilo (*Figura 2.34*).

¹⁵⁹ A. Patti, S. Pedotti, A. Fornib, Gianluigi Casalone, *Tetrahedron Asymmetry*, **2005**, *16*, 3049–3058 y referencias contenidas.

¹⁶⁰ A. I. Meyers, R. J. Himmelsbach, *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, *107*, 682-685. D. Rawson, A. I. Meyers, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1992**, 494-496.

¹⁶¹ M. Oki, *Top. Stereochem.* **1983**, *14*, 1-81.

¹⁶² Se entiende suficientemente lento en la escala de tiempos de RMN. Ver: M. Oki, Applications of Dynamic NMR Spectroscopy in Organic Chemistry. In *Methods in Stereochemical Analysis*, Marchand, A. P., Ed: VCH: Florida. **1995**, *4*, pp 325-370.

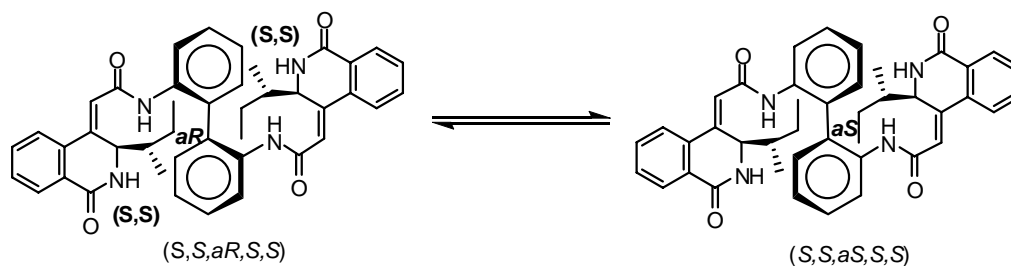


Figura 2.34. Equilibrio entre los rotámeros presente en el compuesto **62**, ejemplo representativo de los híbridos heterociclo-bifenilo.

Se registraron los espectros de RMN- ^1H de todos los compuestos a temperatura ambiente, observándose notables diferencias dependiendo del disolvente empleado para realizar el experimento.¹⁶³ Así, cuando se utilizó CDCl_3 , se observó la presencia de dos conjuntos de señales bien definidas correspondientes, en principio, a cada uno de los rotámeros presentes en equilibrio. La proporción entre estos se mantuvo fija en la mayoría de los compuestos, siendo en todos casos 1:1 (**M:m**)¹⁶⁴ excepto para los compuestos **64** y **67** donde la relación de rotámeros es 1.5:1 (**M:m**) y 2.5:1 (**M:m**), respectivamente. Por otro lado, cuando se empleó $\text{DMSO-}d_6$ como disolvente los espectros mostraron un único conjunto de señales. En la *Figura 2.35* se representan los espectros del compuesto **61** en CDCl_3 (**A**) y $\text{DMSO-}d_6$ (**B**) a 303 K.

¹⁶³ Se registraron espectros tanto en CDCl_3 como en $\text{DMSO-}d_6$ de todos los compuestos.

¹⁶⁴ **M**: conformero mayoritario, **m**: conformero minoritario, en el equilibrio.

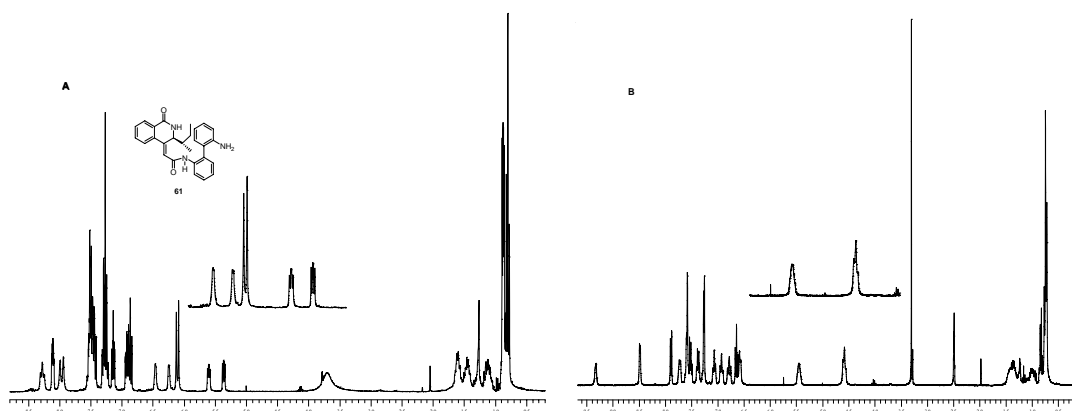


Figura 2.35. Espectros de RMN-¹H (300 MHz) del compuesto **61** en CDCl₃ (A) y DMSO-*d*₆ (B) a 303 K.

Por otro, lado al emplear CDCl₃ se observó un ensanchamiento de las señales a medida que se aumentó la temperatura, no apreciándose este comportamiento al utilizar DMSO-*d*₆ como disolvente. Estos datos parecían indicar que en disolución de DMSO la barrera de energía entre los dos rotámeros en equilibrio era menor que cuando el disolvente empleado era CDCl₃.¹⁶⁵ Con el objetivo de calcular estas barreras de energía nos decidimos a llevar a cabo un estudio mediante RMN dinámica.

2.3.4.1.- Cálculo de los parámetros termodinámicos en el proceso de isomerización de **61** y **62** mediante RMN dinámica.

Para llevar a cabo dicho estudio se eligieron como compuestos modelo **61** y **62** (bifenilos disustituídos) debido a la ausencia de solapamiento de señales en la zona correspondiente a los protones olefinicos (*ca.* 6.00-6.10 ppm a 303 K).

En primer lugar se registraron los espectros de RMN-¹H de **61** en cloroformo deuterado (*c* = 20 mM) en el intervalo de 243 a 323 K observándose, como se comentó

¹⁶⁵ Es decir, $T_c \text{ CDCl}_3 > T_c \text{ DMSO-}d_6$, siendo T_c la temperatura de coalescencia. En dicha temperatura las señales de ambos conformeros convergen, dando lugar a una única señal ancha.

anteriormente, un ensanchamiento paulatino de las señales según aumentaba la temperatura, sin llegar en ningún momento a convertirse en una única señal. Otro hecho a tener en cuenta es que en el intervalo anteriormente citado se observó que los espectros apenas experimentaban variaciones, lo que da una idea de la alta energía de activación del proceso (Figura 2.36, A). El proceso se repitió con otra muestra de **61** en una mezcla DMSO- d_6 /CDCl₃ (1:1)¹⁶⁶ observándose de nuevo a temperatura ambiente (298 K) la presencia de dos conjuntos de señales (proporción 1.4:1) las cuales experimentaron un ensanchamiento progresivo según se aumentó la temperatura (de 298 a 333 K) hasta colapsar en una única señal. Al bajar ésta de nuevo, se registró un espectro idéntico al original, confirmando la existencia de un equilibrio dinámico reversible (Figura 2.36, B).

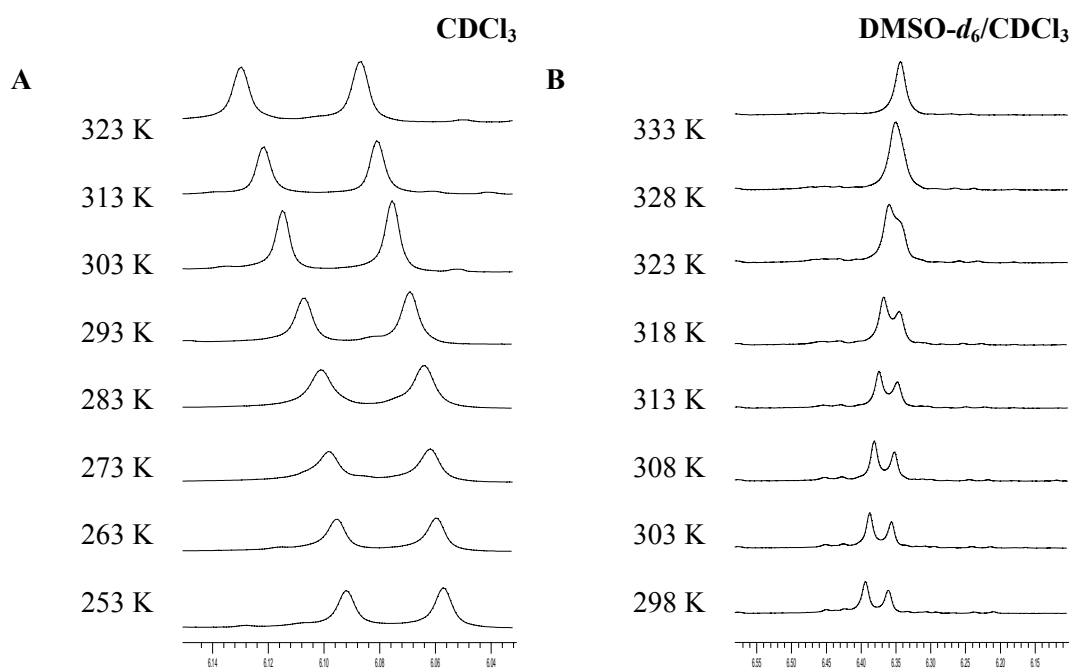


Figura 2.36. Experimentos de temperatura variable realizados con el compuesto **61**.

Con el fin de obtener el valor de los parámetros termodinámicos implicados en el proceso, se llevó a cabo un análisis mediante “ajuste de la forma” de las señales, para lo

¹⁶⁶ Debido al punto de fusión que presenta el DMSO- d_6 (p.f. \approx 18 °C) tuvimos que emplear esta mezcla.

cual se simularon¹⁶⁷ las señales procedentes de los protones olefinicos. Para cada temperatura se calcularon las constantes de velocidad (k) probando diferentes valores de la misma, hasta que el espectro calculado teóricamente se ajustó con el obtenido experimentalmente. En la *Figura 2.37* se muestran los espectros experimentales en disolución de DMSO- d_6 /CDCl₃ (1:1) de la región de los protones olefinicos del compuesto **61** junto con las respectivas simulaciones.

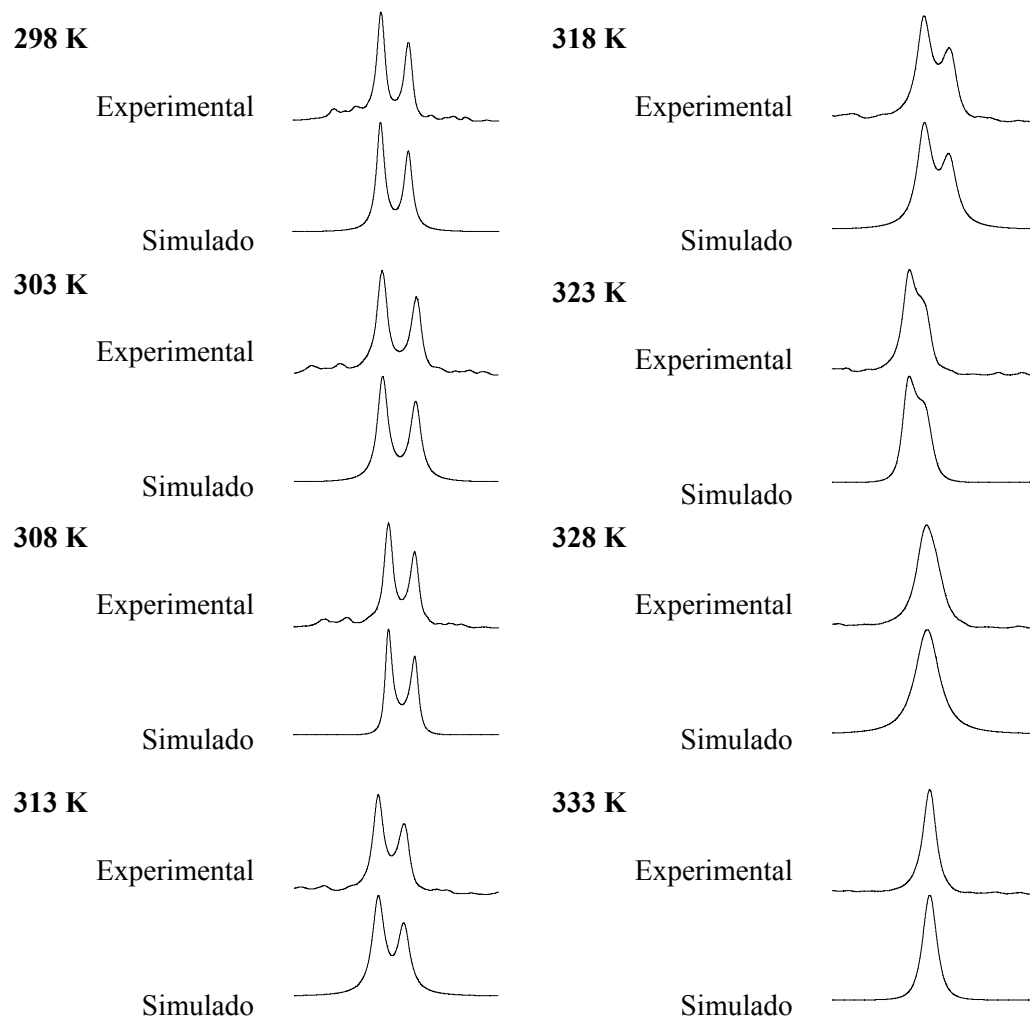


Figura 2.37. Espectros obtenidos experimentalmente y simulados en la región de los protones olefinicos del compuesto **61**.

¹⁶⁷ Para la simulación de los espectros se empleó el programa gNMR, v. 5.0 para Windows (Cherwell Scientific Publishing Limited, United Kingdom).

Una vez conocidas las constantes de velocidad (k) a cada temperatura, se pueden calcular los valores de los parámetros termodinámicos del proceso mediante la ecuación de Eyring (*Ecuación 2.1*).¹⁶⁸

$$k = f \frac{k_B T}{h} e^{-\Delta G^\ddagger/RT} \quad (\text{Ec. 2.1})$$

donde k es la constante de velocidad a cada temperatura, f es el coeficiente de transmisión (que depende de la curva de potencial del proceso considerado y que normalmente se toma como la unidad),¹⁶⁹ k_B es la constante de Boltzmann ($1.3793 \cdot 10^{-23} \text{ J} \times \text{K}^{-1}$), h es la constante de Planck ($6.6198 \cdot 10^{-34} \text{ J} \times \text{s}$) y R es la constante de los gases ($8.3064 \text{ J} \times \text{mol}^{-1} \times \text{K}^{-1}$). Sustituyendo estos valores en la ecuación de Eyring y teniendo en cuenta la relación existente entre ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger y ΔS^\ddagger (*Ecuación 2.3*) se obtiene la *Ecuación 2.2*:

$$\ln \frac{k}{T} = 23'76 + \frac{\Delta S^\ddagger}{R} - \frac{\Delta H^\ddagger}{RT} \quad (\text{Ec. 2.2})$$

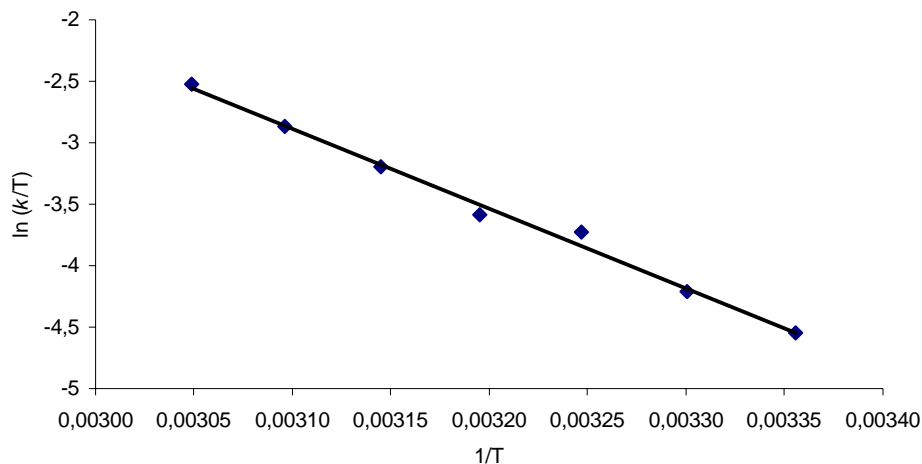
la cual correlaciona linealmente $\ln(k/T)$ con la inversa de la temperatura ($1/T$). A partir de la ecuación de la recta pueden calcularse la entalpía y entropía de activación (ΔH^\ddagger y ΔS^\ddagger), que sustituidas en la *Ecuación 2.3*, permite obtener el valor de la energía libre de activación (ΔG^\ddagger).

$$\Delta G^\ddagger = \Delta H^\ddagger - T \Delta S^\ddagger \quad (\text{Ec. 2.3})$$

La representación gráfica de $\ln(k/T)$ frente a $1/T$ en cada caso, proporcionó las rectas que se muestran en la *Gráfica 2.3*, la cual se ajustó mediante regresión lineal ($R^2 = 0.99$).

¹⁶⁸ H. Eyring, *J. Chem. Phys.* **1935**, 3, 107-115. G. A. Petersson, *Theor. Chem. Acc.* **2000**, 103, 190-195.

¹⁶⁹ J. Sandsröm en *Dynamic NMR Spectroscopy*; Ed., H. B. Jovanovich; Academic Press; London **1982**.



Gráfica 2.3. Representación de $\ln(k/T)$ con respecto a $1/T$ para el compuesto **61** en la mezcla DMSO- d_6 /CDCl₃ (1:1).

A partir de las ecuaciones de dichas rectas se calcularon los valores de ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger e ΔS^\ddagger para el proceso estudiado (Tabla 2.6).

Tabla 2.6. Parámetros termodinámicos para el compuesto **61** a 298 K.

	T (K)	ΔG^\ddagger ^a	ΔH^\ddagger ^a	ΔS^\ddagger ^b
DMSO- d_6 /CDCl ₃	298	70 ± 2	54	-54

^akJ × mol⁻¹. ^bJ × mol⁻¹ × K⁻¹.

Los valores calculados para ΔG^\ddagger son superiores a los descritos en la bibliografía para compuestos similares. Este comportamiento se puede atribuir a que este compuesto forma enlaces de hidrógeno intramoleculares, lo cual aumentaría la barrera energética del proceso debido a que la interconversión entre ambos rotámeros iría asociada a la ruptura de dicho(s) enlace de hidrógeno con la consiguiente penalización energética. Esta

posibilidad justificaría en parte el valor calculado para ΔG^\ddagger cuando el disolvente es DMSO- d_6 /CDCl₃. Está demostrado que la energía de los enlaces de hidrógeno disminuye según aumenta tanto la polaridad como la capacidad de formar enlaces de hidrógeno del disolvente.¹⁷⁰ Por ello, en un medio como DMSO- d_6 /CDCl₃ la penalización energética debida a la ruptura de enlaces de hidrógeno, necesaria para que se dé el proceso de interconversión entre ambos rotámeros, debe ser menor que en el caso de emplear únicamente CDCl₃ (recuérdese que en los espectros registrados en este disolvente no se observa coalescencia de señales). Esto conlleva la disminución del valor de ΔG^\ddagger , que únicamente pudo ser calculado en DMSO- d_6 /CDCl₃. Por otro lado, la entropía de activación negativa suele darse en procesos intramoleculares con estados de transición estéricamente impedidos, los cuales requieren un alto grado de orden.¹⁷¹

Con objeto de evaluar la influencia sobre el valor de los parámetros termodinámicos asociados al proceso de isomerización de la introducción de un resto adicional de isoquinolina en la unidad de bifenilo, decidimos realizar un estudio a temperatura variable con el compuesto **62**, el cual posee dos restos de isoquinolina unidas a sendas posiciones 2 y 2' del bifenilo. Nuevamente, el compuesto **62** presentó en disolución un comportamiento similar al observado en el producto comentado anteriormente. El espectro de resonancia magnética nuclear de protón en CDCl₃ presentó dos conjuntos de señales bien definidas correspondientes a los dos rotámeros en equilibrio en una proporción 1:1, mientras que en DMSO- d_6 se obtuvo un único conjunto de señales.

Se simularon las señales correspondientes a los protones olefínicos de los espectros obtenidos experimentalmente en disolución de CDCl₃ (entre 253 y 323 K; *Figura 2.38, A*) y DMSO- d_6 /CDCl₃ (1/1) (entre 298 y 333 K; *Figura 2.38, B*),

¹⁷⁰ I. M. Klotz, J. S. Franzen, *J. Am. Chem. Soc.*, **1962**, *84*, 3461-3466. S. H. Gellman, G. P. Dado, G-B. Liang, B. R. Adams, *J. Am. Chem. Soc.*, **1991**, *113*, 1164-1173.

¹⁷¹ Y. Nagawa, T. Yamagaki, H. Nakanishi, M. Nakagawa, T. Tezuba, T. *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 1393-1396. M. I. Rodríguez-Franco, I. Dorronsoro, A. Castro, A. Martínez, *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 1739-1743.

calculándose las correspondientes constantes de velocidad únicamente en el segundo disolvente, que fue en el único en que se pudo observarse coalescencia de señales.

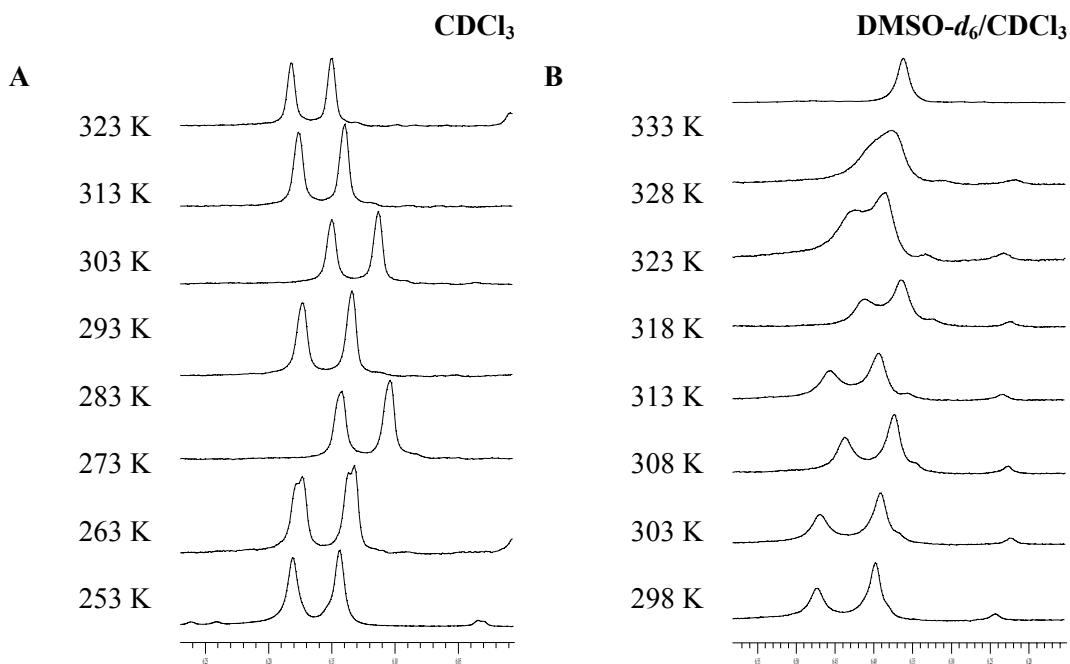
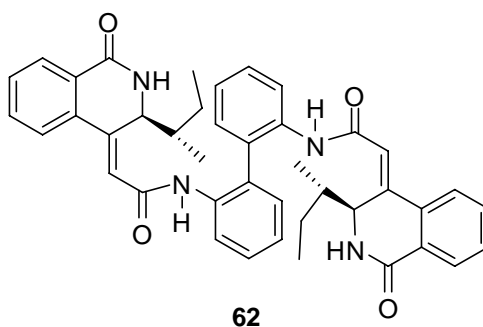


Figura 2.38. Experimentos de temperatura variable realizados con el compuesto **62**.



De modo análogo al comentado anteriormente, se pudo obtener el valor de los parámetros termodinámicos implicados en el proceso de isomerización por medio de un análisis mediante “*ajuste de la forma*” de las señales. De este modo, se simularon las

señales correspondientes a los protones olefínicos a distintas temperaturas, hasta que los espectros calculados teóricamente se ajustaron con los obtenidos experimentalmente. En la *Figura 2.39* se muestran distintas simulaciones junto con los correspondientes espectros experimentales de la región de los protones olefínicos de **62** en disolución de DMSO- d_6 /CDCl $_3$ (1:1).

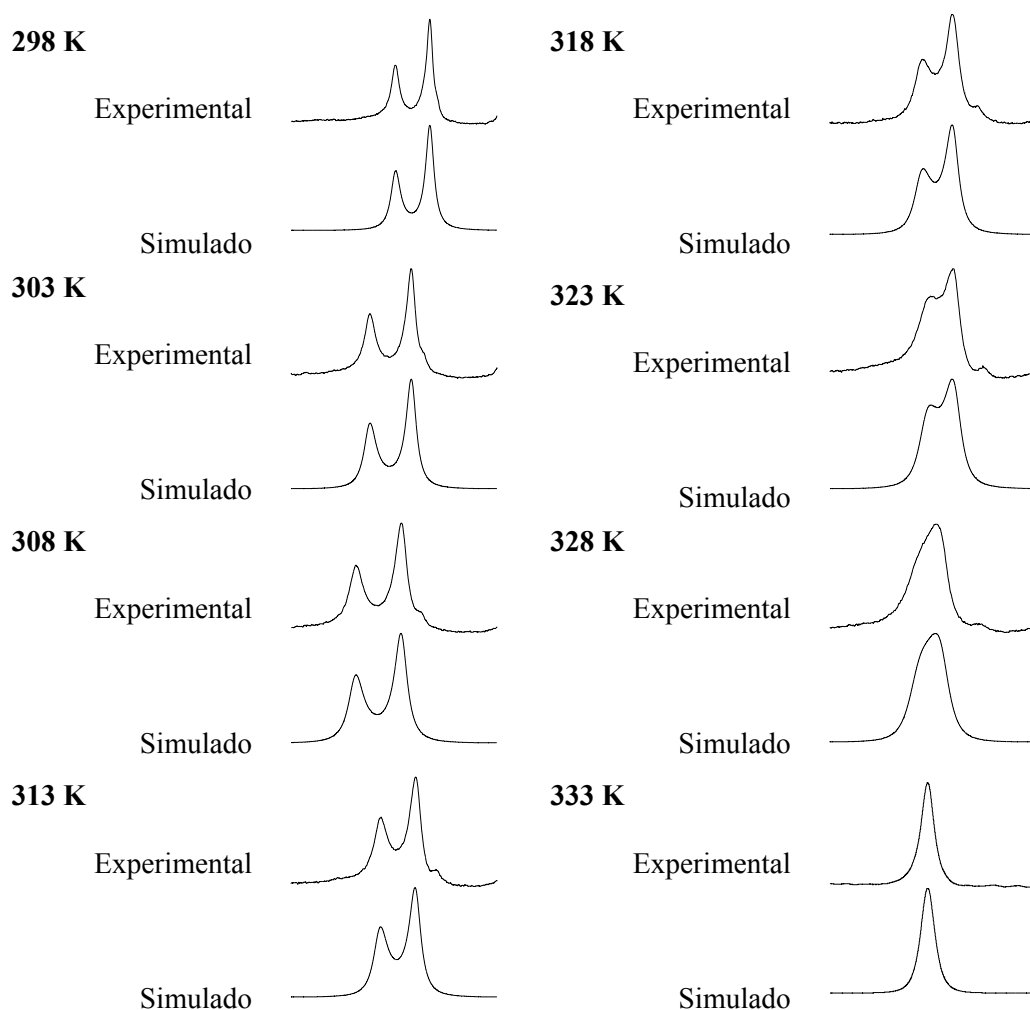
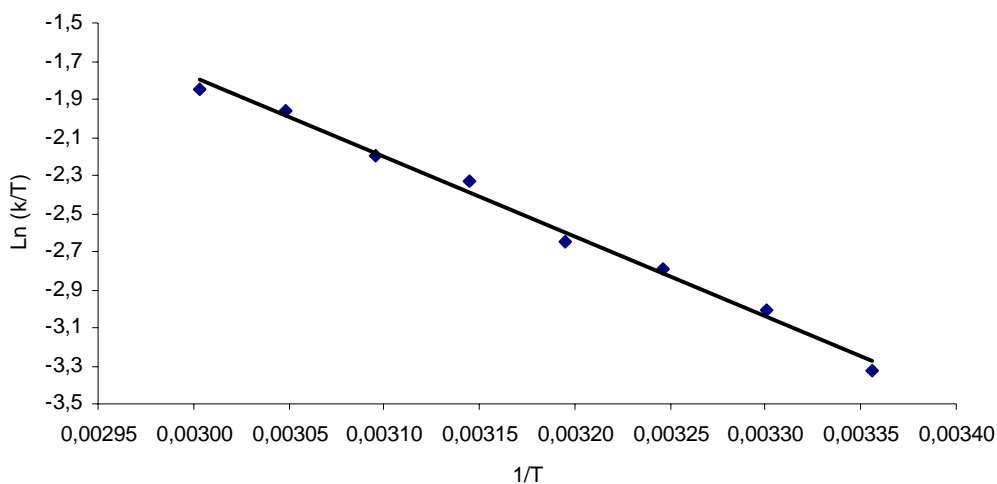


Figura 2.39. Espectros obtenidos experimentalmente y simulados en la región de los protones olefínicos del compuesto **62**.

Nuevamente la representación de $\ln(k/T)$ frente a $1/T$ dió lugar a la recta que se muestra en la *Gráfica 2.4*, la cual se ajustó mediante regresión lineal ($R^2 = 0.99$).



Gráfica 2.4. Representación de $\ln(k/T)$ con respecto $1/T$ para el compuesto **62** en la mezcla DMSO- d_6 /CDCl₃ (1:1).

A partir de las ecuaciones de dicha recta se calcularon los valores de ΔG^\ddagger , ΔH^\ddagger e ΔS^\ddagger para el proceso estudiado (*Tabla 2.7*).

Tabla 2.7. Parámetros termodinámicos a 298 K para el compuesto **62**.

	T (K)	ΔG^\ddagger ^a	ΔH^\ddagger ^a	ΔS^\ddagger ^b
DMSO- d_6 /CDCl ₃	298	67 ± 1	35	-108

^akJ × mol⁻¹. ^bJ × mol⁻¹ × K⁻¹.

La gran diferencia de valores obtenidos de ΔS^\ddagger entre los compuestos **61** y **62** (-54 y -108 J × mol⁻¹ × K⁻¹ respectivamente) es debida a una restricción del giro en torno al

enlace del bifenilo por la existencia adicional en **62** de un grupo bastante voluminoso. Estos valores son semejantes a los descritos en la bibliografía para la conformación twisted de la rotación en torno al doble enlace del 2-ciano-2-(2,6-dimetil-4H-piran-4-iliden)acetato de metilo (**A**)¹⁷² en CD₃CN ($-115 \text{ J} \times \text{mol}^{-1} \times \text{K}^{-1}$) y del 3,3-bis(metiltio)-2-nitroacrilonitrilo (**B**)¹⁷³ en *o*-diclorobenceno ($-63 \pm 2 \text{ J} \times \text{mol}^{-1} \times \text{K}^{-1}$).

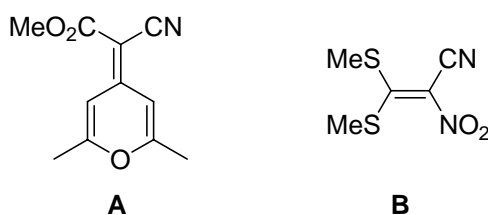


Figura 2.40. Compuestos con ΔS^\ddagger parecidos a **61** y **62**.

2.4.-ESTUDIOS DE INIBICIÓN DE CALPAÍNA

2.4.1.- LAS CALPAÍNAS.

Las calpaínas (EC 3.422.17; clan CA; familia C02) componen una familia de enzimas dependientes de calcio, pertenecientes al grupo de las cisteín proteasas neutras citosólicas, de las que hasta la fecha se conocen en mamíferos 20 isoenzimas.¹⁷⁴ A su vez, también se pueden clasificar según como se expresen, ya sean en tejidos específicos como la p94 (en el músculo), la Lp82 y 85 (en el cristalino), la n-CI-2 y n-CI-2' (en el estómago) o la Rt88 (en la retina),¹⁷⁵ o las que se expresan de forma ubicua como la μ - y

¹⁷² C. Dreier, L. Henriksen, S. Kalsson, J. Sandström, *Acta Chem. Scand.* **1978**, B32, 281.

¹⁷³ T. Belsky, H. Dodiuk, Y. Shvo, *J. Org. Chem.* **1977**, 42, 2734-2741.

¹⁷⁴ H. Sorimachi, S. Ishiura, K. Suzuki, *Biochem. J.* **1997**, 328, 721-732. D. E. Goll, V. F. Thompson, H. Li, W. Wei, J. Cong, *Physiol. Rev.* **2003**, 83, 731-801.

¹⁷⁵ Y. Ono, H. Sorimachi, K. Suzuki, en *Calpain: Pharmacology and Toxicology of Calcium-Dependent Protease*. Ed.: Taylor & Francis, Philadelphia, **1999**, pp 1.

la *m*-calpaína. En los organismos inferiores como insectos, nemátodos, hongos y levaduras se han encontrado un gran número de homólogos de calpaína “atípicos”. Los miembros más conocidos¹⁷⁶ de esta familia son la calpaína I o μ -calpaína y la calpaína II o también conocida como *m*-calpaína; los prefijos μ - y *m*- derivan de las concentraciones (~5 μ M y ~0.3-0.5 mM respectivamente) de ión calcio (II) requeridas para su activación,¹⁷⁷ comportamiento que se debe a que difieren en la secuencia de aminoácidos en un 38%. Existen otras diferencias entre ambas como por ejemplo su comportamiento frente a inhibidores o como que la μ - promueve una migración y polarización de neutrófilos mientras que la *m*-calpaína no lo hace.¹⁷⁸ Estas enzimas desempeña un papel importante en varios procesos como la hidrólisis de proteínas¹⁷⁹ involucradas en el remodelado del citoesqueleto de la célula¹⁸⁰ o la modulación de la señal de transducción de proteínas,¹⁷⁴ están implicadas en procesos de apoptosis,¹⁸¹ en la progresión del ciclo celular,¹⁸² en la activación de las proteínas encargadas de la síntesis de plaquetas,¹⁸³ y en la degradación de la quinasa *cdck5*, activador específico del gen *p35*.¹⁸⁴ En relación con las funciones fisiológicas, las calpaínas están implicadas en diversas patologías como isquemia cerebral,¹⁸⁵ infarto de miocardio,¹⁸⁶ traumatismo encefálico,¹⁸⁷ enfermedades de

¹⁷⁶ P. Johnson, *Int. J. Biochem.* **1990**, *22*, 811-822.

¹⁷⁷ D. E. Croall, G. N. DeMartino, *Physiol. Rev.* **1991**, *71*, 813.-847. D. E. Goll, V. F. Thompson, H. Li, W. Wei, J. Cong, *Physiol. Rev.* **2003**, *83*, 731-801. P. Friedrich, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *323*, 1131-1133.

¹⁷⁸ M. A. Lokuta, P. A. Nuzzi, A. Huttenloncher, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 4006-4011.

¹⁷⁹ P. Trompa, P. Buzlder-Lantos, A. Tantos, A. Farkas, A. Szlagyi, Z. Banoczi, F. Hudecz, P. Friedrich, *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 20775-20785 y referencias incluidas.

¹⁸⁰ K. Sato, S. Kawashima, *Biol. Chem.* **2001**, *382*, 743-781.

¹⁸¹ K. K. Wang, *Trends Neurosci.* **2000**, *23*, 20-26. C. Volbracht, E. Fava, M. Leist, P. Nicotera, *Neuroreport* **2001**, *12*, 3645-3648. J. K. Newcomb-Fernández, X. Zhao, B. R. Pike, K. K. Wang, A. Kampfl, R. Beer, S. M. DeFord, R. L. Hayes, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2001**, *12*, 1281-1294. C. Tagliarano, J. J. Pink, G. R. Dubyak, A. L. Niemienn, D. A. Boothman, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 19150-19159.

¹⁸² L. Santilla, K. Kyojuka, L. De Riso, E. Carafilo, *Cell Calcium* **1998**, *23*, 123-130.

¹⁸³ M. Azam, S. S. Andrabi, K. R. Sahr, L. Kamath, A. Kuliopulos, A. H. Chist, *Mol. Cell. Biol.* **2001**, *21*, 2213-2220.

¹⁸⁴ S. M. Lee, T. K. Young, L. Mingwei, P. Junmin, R. M. Friedlander, L. H. Tasai, *Nature* **2000**, *405*, 360-364.

¹⁸⁵ C. G. Markgraf, N.-L. Velayo, M. P. Johnson, D. R. McCarty, S. Medhi, J. R. Koelhl, P. A. Chmielwki, M. D. Link, *Stroke* **1998**, *29*, 152-158. T. Zalewska, *Folia Neuropathol.* **1996**, *34*, 121-127.

Alzheimer y de Parkinson,¹⁸⁸ cataratas,¹⁸⁹ cáncer,¹⁹⁰ inflamación,¹⁹¹ esclerosis múltiple¹⁹² y distrofia muscular.¹⁹³

Las calpaínas I y II son las que están mejor caracterizadas; son heterodímeros compuestos por una subunidad S (de *small*) de 30 kDa, común en ambas, y sendas subunidades L (de *large*) de 80 kDa, distintas pero bastante similares. La molécula de calpaína II es alargada y multi-dominio con unas dimensiones aproximadas de 100 × 60 × 50 Å. La subunidad L está constituida por cuatro dominios distintos (D-I, -II, -III, -IV) y un fragmento adicional *N*-terminal de 19 aminoácidos en forma de hélice α . Esta clasificación de dominios deriva de la estructura cristalina (Figura 2.41),¹⁹⁴ y es algo diferente de la previamente postulada a partir de la secuencia de aminoácidos que componen la enzima.

¹⁸⁶ H. Iwamoto, T. Miura, T. Okamura, K. Shirakawa, M. Iwatate, S. Kawamura, H. Tatsuno, Y. Ikeda, M. Matsuzaki, *J. Cardiovas. Pharmacol.* **1999**, *33*, 580-586. D. E. Goll, V. F. Thompson, H. Li, W. Wei, J. Cong, *Physiol. Rev.* **2003**, *83*, 731-801. F. Urthaler, P. E. Wolkowicz, S. B. Digerness, K. D. Harris, A. A. Walker, *Cardiovas. Res.* **1997**, *35*, 60-67.

¹⁸⁷ N. L. Banik, D. C. Shields, S. Ray, B. Davis, D. Matzelle, G. Wilford, E. L. Hogan, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1998**, *844*, 131-137.

¹⁸⁸ B. Bolnad, V. Campbell, *Neurobiol. Aging* **2003**, *24*, 179-186. K. Takuma, A. Baba, T. Matsuda, *Prog. Neurobiol.* **2004**, *72*, 111-137. M. S. Lee, L. H. Tasai, *J. Alzheimers Dis.* **2003**, *5*, 127-137. T. G. Sazaoutova, A. A. Matkevich, Y. V. Arkhipenko, *Pathophysiology* **1999**, *6*, 91-102. Y. H. Huang, K. K. Wang, *Trends Mol. Med.* **2001**, *7*, 355-362. M. Zatz, A. Starling, *N. Engl. J. Med.* **2005**, *8*, 684-700.

¹⁸⁹ M. Nakamura, M. Yamaguchi, O. Sakai, J. Inoue *J. Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1371-1379.

¹⁹⁰ M. E. Guicciardi, G. J. Gores, *Can. Biol. Ther.* **2003**, *2*, 153-164. X. Liu, T. V. Vleet, R. G. Schnellmann, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2004**, *44*, 349-370.

¹⁹¹ S. Kunz, E. Niederberger, C. Rhnert, O. Coste, A. Pfenninger, J. Kruip, T. M. Wendrich, A. Schmidtko, I. Tegeerder, G. Geisslinger, *Pain* **2004**, *110*, 409-418.

¹⁹² D. C. Shields, W. R. Tyro, G. E. Deibber, E. L. Hogan, N. L. Banik, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1998**, *95*, 5768-5772.

¹⁹³ S. Baghigian, M. Martin, I. Richard, F. Pons, C. Astier, N. Bourg, R. T. Hay, R. Chemaly, G. Halaby, J. Loiselet, L. V. B. Anderson, A. L. De Munain, M. Fardeau, P. Mangeat, J. S. Beckman, G. Lefranc, *Nature Medicine* **1999**, *5*, 503-511.

¹⁹⁴ S. Strobl, C. Fernández-Catalán, M. Braun, R. Huber, H. Masumoto, K. Nakagawa, A. Irie, H. Sorimachi, G. Bourenkow, H. Bartunik, K. Suzuki, W. Bode, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **2000**, *97*, 588-592. D. Reverter, M. Braun, C. Fernández-Catalán, S. Strobl, H. Sorimacho, A. Bode, *Biol. Chem.* **2002**, *383*, 1414-1422. C. M. Holsfield, J. S. Elce, P. L. Davis, Z. Jia, *Eur. Mol. Biol. Org.* **1999**, *18*, 6880-6889.

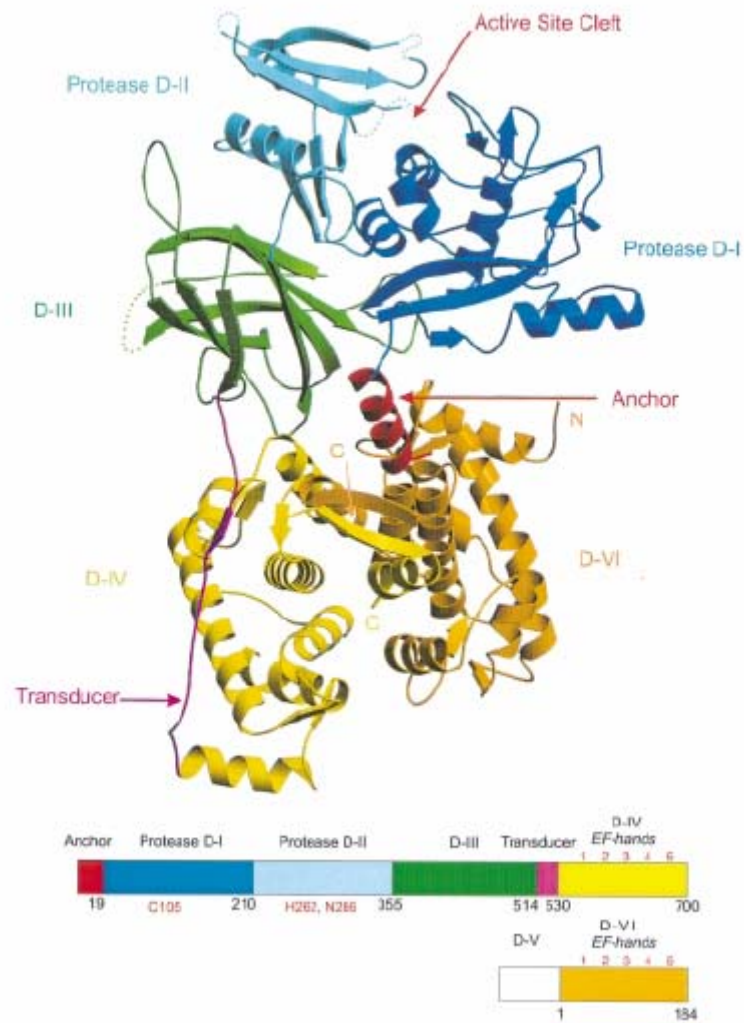


Figura 2.41. Estructura cristalina de la *m*-calpaína.¹⁹⁵

¹⁹⁵ C. M. Holsfield, J. S. Elce, P. L. Davis, Z. Jia, *Eur. Mol. Biol. Org*, **1999**, *18*, 6880-6889. En el esquema inferior se representa la organización de dominios de *m*-calpaína (los colores se corresponden con los que aparecen en la enzima). La subunidad de 80 kDa está compuesta por 19 residuos (*anchor*) coloreada en rojo, los dominios I, II, III y IV están coloreados de azul, cian, verde y amarillo respectivamente, y los 15 residuos aproximadamente del *transducer* en magenta. La subunidad reguladora está incluida en el dominio VI y su color es naranja. La triada de residuos catalíticos está indicada en rojo en su dominio correspondiente y con su número.

Como en otras cisteín proteasas, los residuos de la triada de catalítica (Cys105 en el D-I e His262 y Asn286 en el D-II) se localizan en la interfase entre D-I y D-II (Figura 2.42).¹⁹⁶

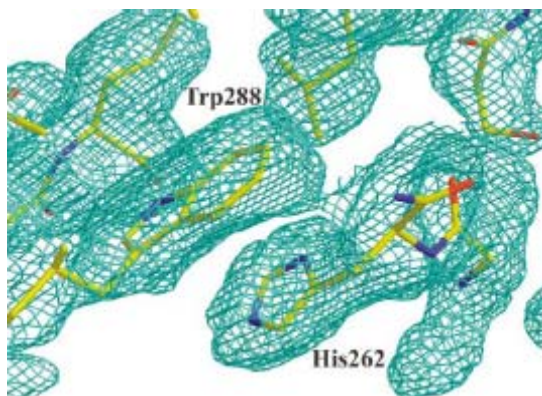


Figura 2.42. Sección del mapa de densidad electrónica con el residuo catalítico His262.^{197,198}

El dominio I (residuos 20-210) presenta una hélice central rodeada por un grupo de hélices α y dos láminas β antiparalelas. Aparte de la hélice α que contiene la Cys105, algo más corta que la hélice análoga presente en algunas enzimas de la familia de la papaína, D-I es completamente diferente del dominio correspondiente de la mencionada tiol proteasa, ya que es más largo y presenta una estructura global muy diferente.¹⁹⁹ Las diferencias tanto en la secuencia de aminoácidos como en la estructura del D-I en relación con otras tiol proteasas, puede contribuir a la especificidad proteolítica de la calpaína.¹⁷⁴

¹⁹⁶ P. J. Berti, A. C. Strorer, *J. Mol. Biol.* **1995**, 246, 273-283. M. R. Groves, R. Coloumbe, J. Jenkis, M. Cygler, *Proteins* **1998**, 32, 504-514.

¹⁹⁷ G. P. Pal, T. De Veyra, J. S. Elce, Z. Jia, *Structure* **2003**, 11, 1521-1526.

¹⁹⁸ En la figura se muestra la existencia de un apilamiento entre His262 y Trp288.

¹⁹⁹ J. G. Kampius, K. H. Kalk, M. B. A. Swarte, *J. Mol. Biol.* **1984**, 179, 233-256.

El plegamiento de D-II es parecido al encontrado en otras cisteín proteasas¹⁹⁹ y contiene dos láminas β constituidas cada una de ellas por tres hebras antiparalelas. Estas hebras orientan la His262 y la Asn286 de la triada catalítica hacia la interfase entre D-I y D-II. Además en D-II existe una hélice α de tres vueltas que contacta en diversos puntos con D-III, el cual está compuesto por un sandwich β de ocho hebras antiparalelas que comparte características estructurales con el dominio C₂.²⁰⁰

El D-III, que contacta con cada uno de los dominios de la enzima, dispone de un fragmento extendido de unos 15 residuos que conecta D-III con D-IV, dominio este último responsable de la unión del Ca²⁺. Este fragmento conector carece de estructura secundaria, a excepción de tres residuos (516-518) que forman, junto con los residuos 636-638 de D-IV, una corta lámina β antiparalela.

D-IV y D-VI, los dominios similares a la calmodulina de cada subunidad,²⁰¹ son idénticos en un 50% en cuanto a su secuencia de aminoácidos; están compuestos fundamentalmente por hélices α y cada uno de ellos contiene cinco manos-EF. La heterodimerización de las subunidades catalítica y reguladora tiene lugar principalmente a través de interacciones hidrofóbicas en las regiones C-terminales de los dominios IV y VI, como ya había predicho Blanchard *et al.*²⁰² y Lin *et al.*²⁰³ a partir de la estructura cristalina de D-VI en forma de homodímero, prácticamente idéntica a la que adopta en el heterodímero. Se ha demostrado que las manos-EF 1-4 de D-VI unen Ca²⁺, mientras que la mano-EF 5 no participa en el proceso.

En ausencia de Ca²⁺, la *m*-calpaina contiene numerosas regiones desordenadas, característica común con otras proteasas en su forma inactiva. Las regiones desordenadas

²⁰⁰ R. B. Sutton, B. A. Davetov, A. M. Berghuis, T. C. Sudhof, S. R. Sprang, *Cell* **1995**, *80*, 929-938. J. Rizo, T. C. Sudhof, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 15879-15882.

²⁰¹ Inhibidor natural.

²⁰² H. Blanchard, P. Grochulski, Y. Li, J. S. C. Arthur, P. L. Davis, J. S. Elce, M. Cygler, *Nature Struc. Biol.* **1997**, *4*, 532-538.

²⁰³ G. D. Lin, *Nature Struc. Biol.* **1997**, *4*, 538-547.

de las proteasas juegan un papel importante en el mantenimiento de la enzima en una conformación inactiva y experimentan enormes cambios en cuanto a conformación y rigidez durante el proceso de activación.²⁰⁴

2.4.2.- INHIBIDORES DE CALPAÍNAS.

La proteína calpastatina²⁰⁵ es el inhibidor endógeno natural. Su secuencia de aminoácidos se agrupa en dominios repetitivos, cada uno de los cuales es capaz de unirse a una molécula de calpaína inactivándola.

En la bibliografía existe un gran número de inhibidores de calpaína,²⁰⁶ tanto irreversibles como reversibles. Un rasgo estructural frecuente es que, en muchos casos, son péptidos o peptidomiméticos²⁰⁷ compuestos por unos pocos aminoácidos hidrófobos (entre 2 y 6) y con alguna funcionalidad electrófila. Entre los inhibidores irreversibles (Figura 2.43), que poseen grupos que se unen covalentemente al grupo SH de la cisteína presente en el centro catalítico de la enzima, podemos mencionar algunos epóxidos,²⁰⁸ halometilcetonas²⁰⁹ y (aciloxi)metilcetonas,²¹⁰ diazocetonas,²¹¹ α -halocetonas²¹² y vinilsulfonas.²¹³

²⁰⁴ H. Jin, K. J. Macon, D. Moore, L. J. De Lucas, J. E. Volanakis, S. V. L. Narayana *Eur. Mol. Biol. Org.* **1999**, *18*, 804-814.

²⁰⁵ Para revisiones sobre calpastatina ver: A. Wendt, V. F. Thompson, D. E. Gell, *Biol. Chem.* **2004**, *385*, 465-472. H. Kawasaki, S. Kawashima, *Mol. Memb. Biol.* **1996**, *13*, 217-224. P. B. DePetrillo, *Drugs* **2002**, *5*, 568-576.

²⁰⁶ K. K. W. Wang, P. Yuen, *Adv. Pharmacol.* **1996**, *37*, 117-152. H. Otto, T. Schirmeister, *Chem. Rev.* **1997**, *97*, 133-172. I. O. Donkor, *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 1171-1188.

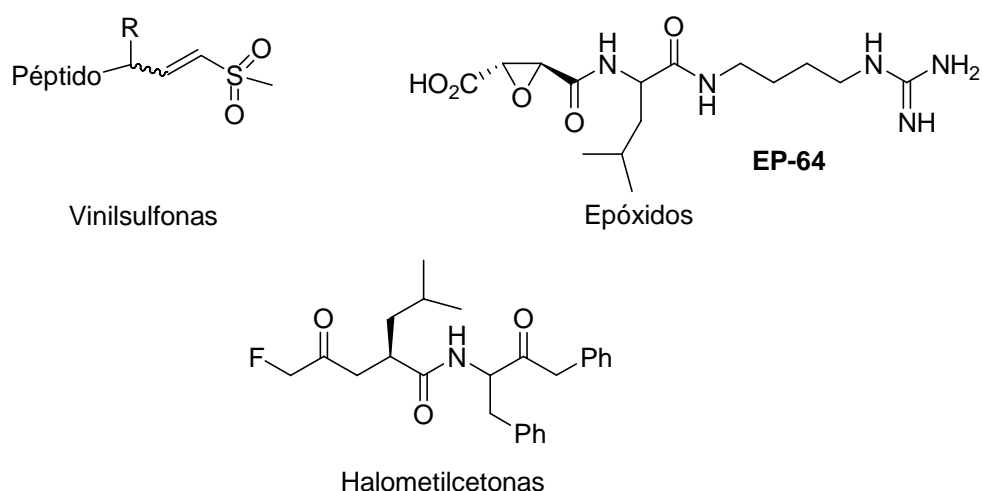
²⁰⁷ El término peptidomimético se emplea en un sentido amplio, como un sustrato que imita la estructura o las propiedades de un péptido, tanto a nivel *ligando-receptor* como a nivel *inhibidor-enzima*. Es posible que el término *peptoide* sea más apropiado, aunque el uso de éste no está tan extendido en la bibliografía.

²⁰⁸ K. Hanada, M. Tamai, S. Ohmura, J. Sawada, I. Tanaka, *Agric. Biol. Chem.* **1978**, *42*, 523. A. Barrett, A. A. Kembhavi, M. A. Brown, H. Kirschke, C.G. Knigh, M. Tamai, K. Hanada, *Biochem. J.* **1982**, *201*, 189-198.

²⁰⁹ J. Anagli, J. Hagmann, E. Shaw, *Biochem. J.* **1993**, *289*, 93-99.

²¹⁰ A. L. Harris, J. S. Gregory, A. Maycock, T. L. Graybill, I. K. Osifo, S. J. Schmidt, R. E. Dolle, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 393-398.

²¹¹ C. Crawford, R. W. Mason, P. Wikstrom, E. Shaw, *Biochem. J.* **1982**, *253*, 751-755.

**Figura 2.43.** Inhibidores irreversibles de calpaína

Entre los inhibidores reversibles cabe señalar peptidil aldehídos²¹⁴ o α -cetoamidas,²¹⁵ como los bien conocidos **MDL-28170**²¹⁶ o **AK-295**²¹⁷ (Figura 2.44), α -cetoésteres²¹⁸ y peptidil hidrazonas.²¹⁹ Los grupos carbonilo de estos compuestos, como

²¹² H. Angliker, J. Anagli, E. Shaw, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 216-220. S. Chatterjee, K. A. Josef, M. Iqbal, R. Bohosky, J. P. Mallamo, M. A. Ator, D. Bozycko-Coyne, S. Mallya, S. Senadhi, R. Siman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 1619-1622.

²¹³ A. J. Rivett, R. C. Gardner, *J. Peptide Sci.* **2000**, *6*, 478-488.

²¹⁴ M. Iqbal, P. A. Messina, B. Freed, M. Das, S. Chatterjee, R. Tripathy, M. Tao, K. A. Josef, B. Dembofsky, D. Dum, E. Driffith, R. Siman, S. E. Senadhi, W. Biazzo, D. Bozycko-Coyne, S. L. Meyer, M. A. Ator, G. Wells, R. Bihovsky, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1997**, *7*, 539-544. T. Sasaki, M. Kishi, M. Saito, T. Tanaka, N. Higuchi, E. Kominami, N. Katsumuma, T. Murachi, *Enzym. Inhib.* **1990**, *3*, 195-202. J. Inoue, M. Nakamura, Y.-S. Cui, Y. Sakai, O. Sakai, J. R. Hill, K. K. W. Wang, P.-W. Yuen, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 868-871.

²¹⁵ Z. Li, A. Ortega-Vilain, G. S. Patil, D. L. Chu, J. E. Foreman, D. D. Eveleth, J. C. Powers, *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 4089-4098. S. L. Harbeson, S. M. Abelleira, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2918-2929.

²¹⁶ S. Mehdi, *Trends Biol. Sci.* **1991**, *16*, 150-153.

²¹⁷ R. T. Bartus, N. J. Hayward, P. J. Elliott, S. D. Sawyer, K. L. Baker, R. L. Dean, A. Akiyama, J. A. Straub, S. L. Harbeson, Z. Li, J. C. Powers, *Stroke* **1994**, *25*, 2265-2270. Y. Sakamoto, T. Nakajima, C. Fukiage, O. Sakai, Y. Yoshida, M. Azuma, T. R. Shearer, *Curr. Eye Res.* **2000**, *21*, 571-580.

²¹⁸ M. R. Angelastro, S. Medhi, J. P. Burkhart, N. P. Peet, P. Bey, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 11-13.

²¹⁹ M. Nakamura, J. Inoue, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1603-1606.

tales o enmascarados, reaccionan con la cisteína del centro activo de la calpaína formando hemitioacetales o cetales lábiles.

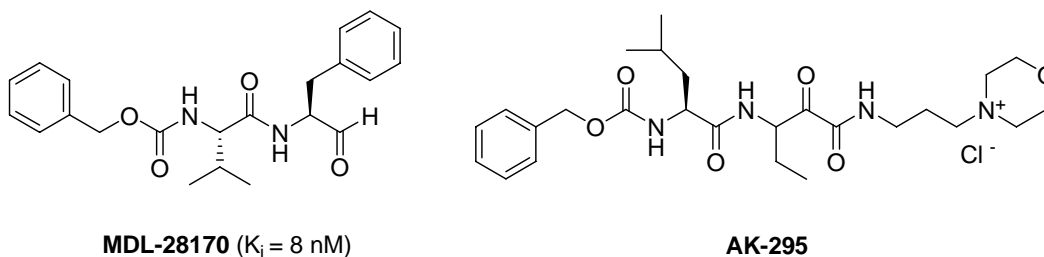


Figura 2.44. Inhibidores de calpaína.²²⁰

Algunos grupos han centrado sus esfuerzos en la modificación de algunos compuestos modelo que han demostrado actividad inhibitoria, con objeto de mejorar diversas propiedades farmacocinéticas como solubilidad en agua, transporte, descomposición durante el almacenamiento o degradación por el metabolismo.²²¹ Podemos citar aquí las peptidil α -cetoamidas solubles en agua **A** sintetizadas por Shirasaki *et al.*,²²² las peptidil hidrazonas **B**, también solubles en agua, preparadas por Nakamura e Inoue²²³ o las α -cetoamidas **C** descritas por Lescop *et al.*,²²⁴ que poseen restos lipófilos ofreciendo así una mejor penetración en la célula (Figura 2.45).

²²⁰Nosotros obtuvimos un valor de $IC_{50} = 240 \text{ nM}$ para **MDL-28170**. Sin embargo, esta discrepancia no es sorprendente ya que son diferentes parámetros y sustratos así como diferentes fuentes de la enzima (humana, y porcina en nuestro caso). Este compuesto se utiliza como referencia de inhibición, asumiendo por nuestra parte que estructuras con menor IC_{50} son considerados buenos inhibidores.

²²¹J. A. Fehrentz, B. Castro, *Synthesis* **1983**, 676-678. G. J. Wells, R. Bihovky, *Exp. Opin. Ther. Pat.* **1998**, *8*, 1707-1727. D. Leung, G. Abbenante, D. P. Fairlie, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 305-341.

²²²Y. Shirasaki, H. Miyashita, M. Yamaguchi, J. Inoue, M. Nakamura, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, *13*, 4473-4484.

²²³M. Nakamura, J. Inoue, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1603-1606.

²²⁴C. Lescop, H. Herzner, H. Siendo, R. Bolliguer, M. Henneböhle, P. Weyermann, A. Briguet, I. Courdier-Fruh, M. Erb, M. Foster, T. Meier, J. P. Magyar, A. Von Sprecher, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 5176-5181.

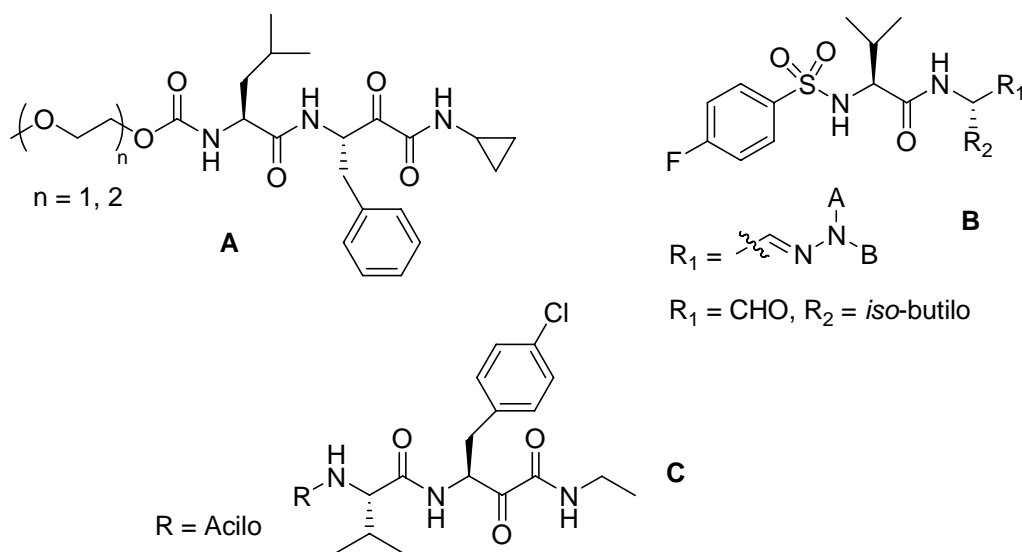


Figura 2.45. Inhibidores de calpaína sintetizados por Shirasaki *et al.* (A), Nakamura e Inoue (B) y Lescop *et al.* (C).

Otros inhibidores relacionados con los anteriormente comentados son las 6-hidroxi-3-morfolinonas **A** sintetizados por Nakamura *et al.*,²²⁵ más estables al ataque nucleofílico que el modelo **MDL-28170**, o las carboxamidas derivadas de cromona **B** preparadas por Lee y col.,²²⁶ con una actividad biológica comparable a la del modelo anteriormente citado (Figura 2.46).

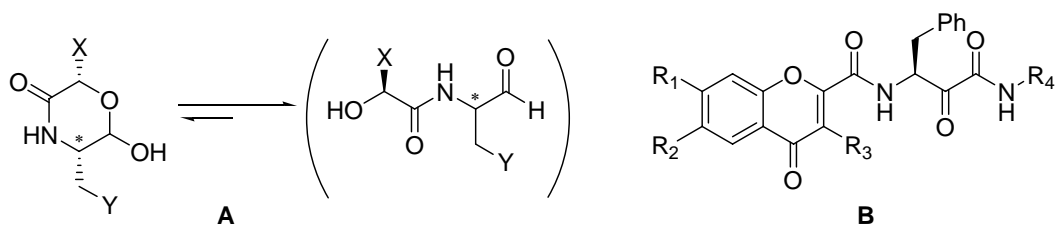


Figura 2.46. Inhibidores de calpaína sintetizados por Nakamura *et al.* (A) y por Lee y col. (B).

²²⁵ M. Nakamura, H. Miyashita, M. Yamaguchi, Y. Shirasaki, Y. Nakamura, J Inoue, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5449-5460.

²²⁶ K. S. Lee, S. H. Seo, Y. H. Lee, D. Kim, M. H. Son, B. Y. Cheng, J. Y. Lee, C. Jin, Y. S. Lee, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2857-2860.

Existen diversos compuestos naturales (Figura 2.47) que son inhibidores de calpaína como, por ejemplo, la dicetopiperazina derivada de la *N*-metiltirosina,^{227,228} la piperazinona 3,6-disustituida fevalina,²²⁹ o la lactona penicilida.²²⁹ Basándose en las estructuras de algunos de estos productos naturales, diversos grupos han preparando nuevos análogos con esqueleto de dicetopiperazina; podemos citar los trabajos de Zeng *et al.*,²³⁰ Donkor y Sanders²³¹ y Marcuccio y Elix.²³²

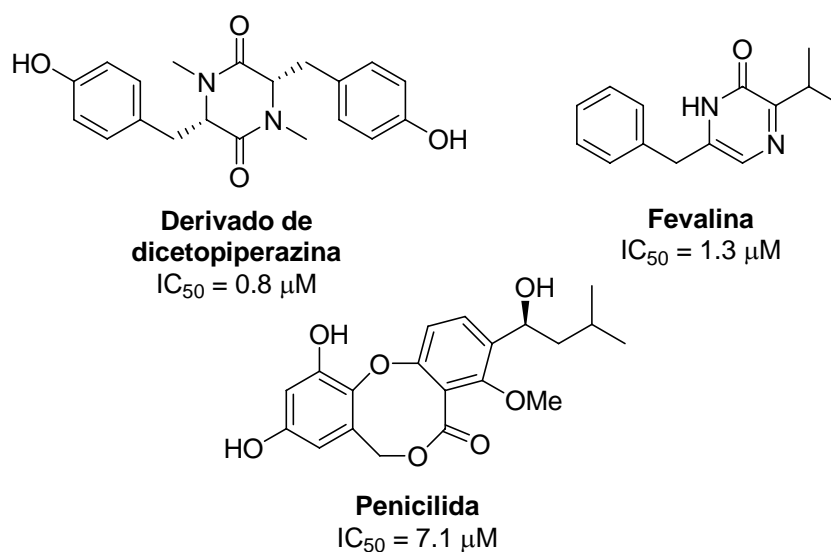


Figura 2.47. Algunos inhibidores naturales de calpaína no peptídicos.

Un especial interés por disponer de similitudes estructurales, tales como átomos de yodo sobre anillos aromáticos o α,β -insaturaciones, con nuestros compuestos presenta el ácido α -mercaptocinámico **PD-150606** (Figura 2.48), aunque hay datos que parecen

²²⁷ M. E. Álvarez, D. R. Houck, C. B. White, J. E. Brownell, C. A. Rodger, M. B. Stawicki, H. Sun, A. M. Gillium, R. Cooper, *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 1195-1201.

²²⁸ Esta afirmación ha sido cuestionada por otros autores; ver ref. 138.

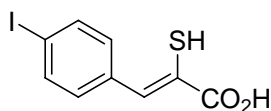
²²⁹ M. E. Álvarez, C. B. White, J. Gregory, G. C. Kydd, A. Harris, H. Sun, A. M. Gillum, R. J. Cooper, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1165-1167.

²³⁰ Y. Zeng, Q. Li, R. P. Hanzlik, J. Aubé, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 3034-3038.

²³¹ I. O. Donkor, M. L. Sanders, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 2647-2649.

²³² S. M. Marcuccio, J. A. Elix, *Aust. J. Chem.* **1984**, *37*, 2397-2402.

indicar que no se une al centro activo de la calpaína sino a la zona responsable de la unión de Ca^{2+} .²³³ Recientemente se ha estudiado la influencia de este compuesto y algunos análogos como inhibidores de calpaína en la apoptosis neuronal.²³⁴



PD-150606

Figura 2.48. Inhibidor de calpaína **PD-150606**.²³⁵

Nuestro grupo ha tenido un gran interés por los inhibidores de calpaínas y en este contexto se han desarrollado previamente varios proyectos sobre síntesis y actividad biológica de derivados de isoquinolina²³⁶ y biarilos²³⁷ (Figura 2.49). Nuestros trabajos de investigación sobre este tipo de estructuras han permitido descubrir varios inhibidores de calpaína muy potentes, así como obtener numerosas conclusiones que posibilitan avanzar en el diseño y síntesis de inhibidores cada vez más eficaces.

²³³ K. K. W. Wang, R. Nath, A. Posner, J. K. Raser, M. Buroker-Kilgore, I. Hajimohammadreza, A. W. Probert Jr, F. W. Marcoux, Q. Ye, E. Takano, M. Hatanaka, M. Maki, H. Caner, J. L. Collins, A. Regus, K. S. Lee, E. A. Lunney, S. J. Hays, P.-W. Yuen, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 6687-6692.

²³⁴ E. Verdaguer, D. Alvira, A. Jiménez, V. Rimbau, A. Camins, M. Pallàs, *Br. J. Pharmacol.* **2005**, *145*, 1103-1111.

²³⁵ Este compuesto tiene un IC_{50} de 0.4 μM , ver ref. 137.

²³⁶ F. Sánchez-Sancho, E. Mann, B. Herradón, *Adv. Synth. Catal.* **2001**, *343*, 360-368. E. Mann, A. Chana, F. Sánchez-Sancho, C. Puerta, A. García-Merino, B. Herradón, *Adv. Synth. Catal.* **2002**, *344*, 855-867. B. Herradón, R. Chicharro, V. J. Arán, M. Alonso, Patente española, nº ES2255848. R. Chicharro, M. Alonso, M. T. Mazo, V. J. Arán, B. Herradón, *Chem. Med. Chem.* **2006**, *1*, 710-714.

²³⁷ A. Montero, M. Alonso, E. Benito, A. Chana, E. Mann, J. M. Navas, B. Herradón, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 2753-2757. A. Montero, F. Albericio, M. Royo, B. Herradón, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4089-4092. A. Montero, E. Mann, A. Chana, B. Herradón, *Chem. Biodiv.* **2004**, *1*, 442-457.

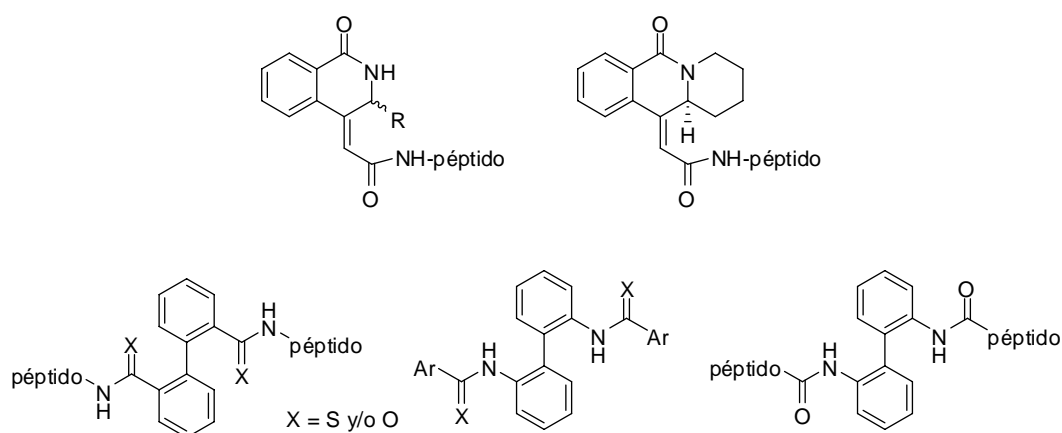


Figura 2.49. Inhibidores de calpaína sintetizados anteriormente en el grupo.

2.4.3. ISOQUINOLINAS, INHIBIDORES SINTÉTICOS E HÍBRIDOS PÉPTIDO-ISOQUINOLINA COMO INHIBIDORES DE CALPAÍNA.

Los derivados de isoquinolina diferentemente sustituidos se han usado como farmacóforos en compuestos con diversas actividades biológicas,²³⁸ por otro lado, los aminoácidos y los compuestos relacionados, tales como, los compuestos aminocarbonílicos, poseen diversas propiedades biológicas.²³⁹ También el fragmento bifenilo ya había sido usado anteriormente como inhibidor de proteasas, aunque la función que había desempeñado era la de espaciador o soporte del resto de la

²³⁸ A. Melikian, P. L. Ornstein, US-5576435, 19 de Noviembre de 1996. A. Takami, M. Iwakubo, Y. Okada, T. Kawata, H. Odai, N. Takahashi, K. Shindo, K. Kimura, Y. Tagami, M. Miyake, K. Fukushima, M. Inaki, M. Amano, K. Kaibuchi, H. Iijima, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2115-2137. A. M. Qandil, M. M. Lewis, A. Jansen, S. K. Leronard, R. B. Mailman, D. E. Nichols, *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1452-1464. W-J. Cho, E-K. im, I-Y. Park, E-Y. Jeong, T-S. Kim, T. N. Lee, D-D. Kim, E-J. Lee, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 2953-2961. E. Sperlinga, P. Koson, Z. Urbanczyk-Lipkowska, G. Roinsevalle, D. B. Carr, A. W. Lipkowski, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 2467-2469. P. G. Baraldi, R. Romagnoli, M. A. Tabrizi, A. Bovero, D. Preti, F. Fruttarolo, A. R. Moorman, P. A. Borea, *Il Farmaco* **2005**, *60*, 185-202.

²³⁹ A. LeTiran, J. P. Stables, H. Kohn, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 4762-4773. G. C. B. Arriman, C. F. Schwender, D. Gallart, N. A. Cochran, M. J. Briskin, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*, 1497-1499.

estructura,²⁴⁰ aunque también existen ejemplos en la bibliografía de uso como farmacóforo.²⁴¹

Todos los compuestos preparados en el transcurso de esta *Tesis Doctoral* fueron ensayados²⁴² como inhibidores de calpaína, utilizando el ensayo fluorimétrico de proteasas EnzChek[®] (fluorescencia verde) de *Molecular Probes*.²⁴³ Como enzima se usó calpaína I de eritrocito porcino o humano y, como sustrato, caseína marcada con BODIPY-FL[®] (*Figura 2.50*). El procedimiento está basado en que el residuo de BODIPY-FL[®] no muestra fluorescencia cuando está unido a la caseína, pero sí cuando lo está a los diferentes péptidos que resultan de la hidrólisis de la caseína por acción de una proteasa, en este caso concreto, la calpaína. De este modo, la variación de la fluorescencia con el tiempo es proporcional a la actividad de la proteasa y permite determinar la actividad de nuestros compuestos como inhibidores de calpaína.

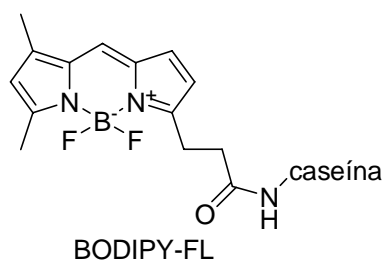


Figura 2.50. Estructura química del conjugado caseína-BODIPY-FL[®].

²⁴⁰ A. C. Bennisten, W. Clegg, R. W. Harriton, P. Li, *Acta Cryst.* **2004**, E60, o2452-o2454. F. Uchiyama, Y. Tanaka, Y. Minari, N Tokui, *J. Bioscience and Bioengineering* **2005**, 99, 448-456. N. J. Nelson, *J Natl. Cancer Inst.* **1998**, 90, 960-963. J. C. Gillis, A. Markham, A. Irbesatan, *Drugs.* **1997**, 54, 885-902. R. L. DesJarlais, D. S. Yamashita, H. J. Oh, I. N. Unzikas, K. F. Erhard, A. C. Allen, R. C. Haltiwanger, B. G. Zhao, W. W. Smith, S. S. AbdelMeguid, K. Dalessio, C. A. Jason, M. S. McQueney, T. A. Tomaszeck, M. A. Levy, D. F. Veber, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 9114-9115.

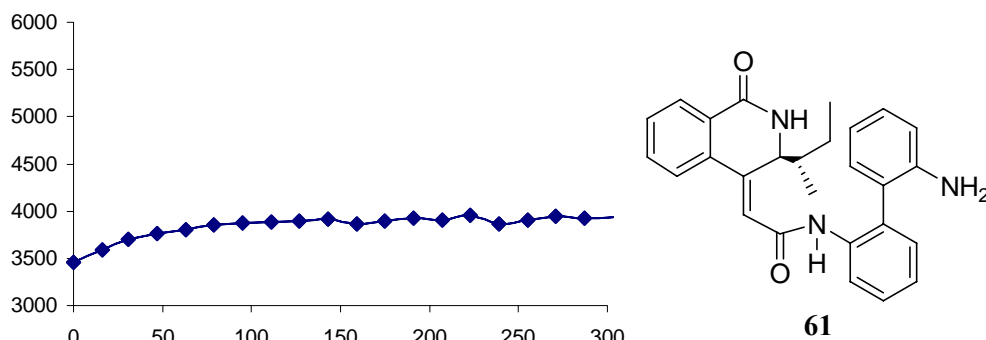
²⁴¹ P. J. Hajduk, M. Bures, J. Praestagaard, S. W. Fesik, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3443-3447. Y. Hu, J. S. Xiang, M. J. DiGrandi, X. Du, M. Ipek, L. M. Laakso, J. Li, W. Li, T. S. Rush, J. Schmid, J. S. Skotnicki, S. Tam, R. Thomason, Q. Wang, J. I. Levin, *Bioorg. Med. Chem.* **2005**, 13, 6629-6644. C. S. Chang, Y-T. Lin, S-R. Shih, C-C. Lee, Y-C. Lee, C-T. Taia, S-N. Tseng, J-H. Chern, *J. Med. Chem.* **2005**, 48, 3522-3535. N-H. Lin, L. W. Wang, X. Wang, G. T. Wang, J. Cohen, W-Z. Gu, H. Zhang, S. H. Rosenberg, H-L. Sham, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 5057-5062.

²⁴² Los compuestos fueron ensayados por Mercedes Alonso (Instituto de Química Orgánica General, CSIC) en el INIA (Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria).

²⁴³ V. F. Thomson, S. Saldaña, J.Cong, D.E. Goll, *Anal. Biochem.* **2000**, 279, 170-178.

Según el tipo de ensayo que proponemos, la fluorescencia permanecería prácticamente constante en el caso de que el compuesto estudiado fuese un inhibidor de calpaína; por el contrario, en el caso de un compuesto inactivo, la fluorescencia aumentaría con el tiempo debido a la progresiva hidrólisis de la caseína marcada.

Un ejemplo ilustrativo de inhibidor de calpaína es el compuesto **61**, un híbrido heterociclo-bifenilo con una IC_{50} de 86 nM en las condiciones del ensayo inicial,²⁴⁴ es decir, que a una concentración 132 μ M produce una curva de fluorescencia como la que se muestra en la *Gráfica 2.5*.

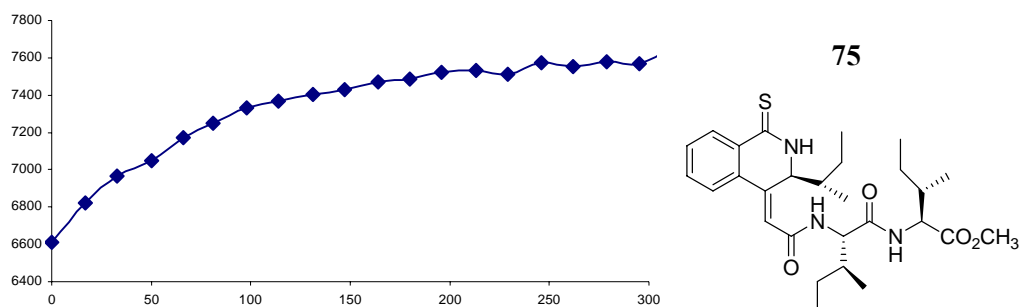


Gráfica 2.5. Gráfica en la que se representa la variación de la fluorescencia frente a tiempo en un ensayo positivo de inhibición de calpaína con el compuesto **61**.²⁴⁵

Por el contrario, a la vista del aumento de la fluorescencia con el tiempo (*Gráfica 2.6*), se considera que el híbrido dipéptido-isoquinolinona **75** no muestra actividad inhibitoria de la calpaína a una concentración 210 μ M.

²⁴⁴ En este ensayo inicial se buscan positivos a concentraciones relativamente altas.

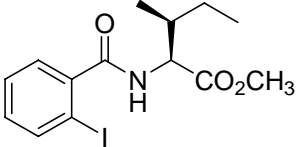
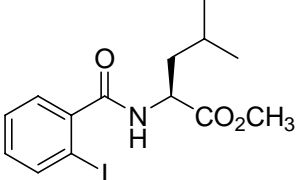
²⁴⁵ El tiempo 0 de ensayo marca el instante de adición de Ca^{2+} ; la evolución posterior mostrando la falta de aumento de fluorescencia indica la inhibición de la enzima por parte del compuesto a una determinada concentración.

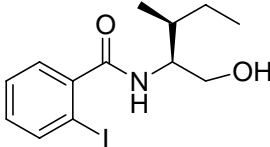
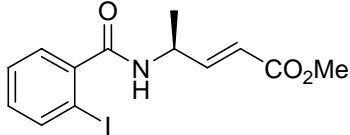
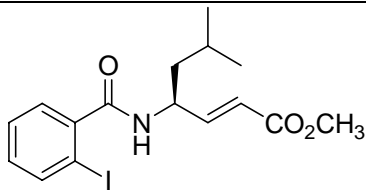
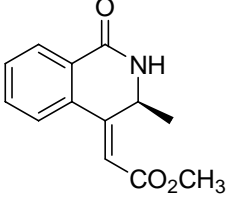
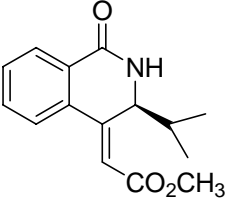
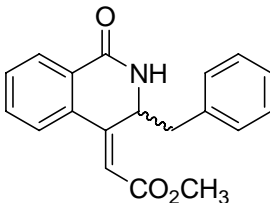
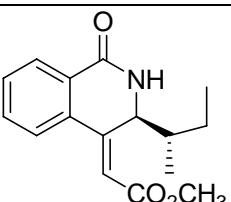


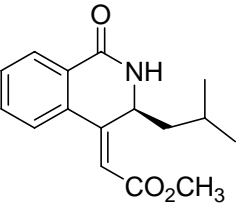
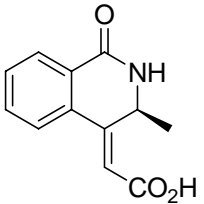
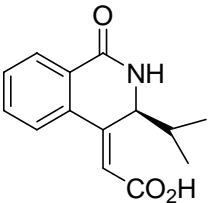
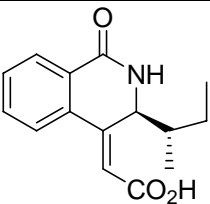
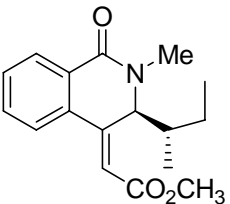
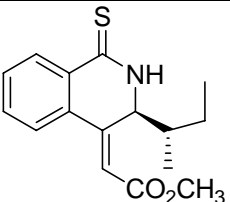
Gráfica 2.6. Gráfica en la que se representa la variación de la fluorescencia frente al tiempo en un ensayo negativo de inhibición de calpaína con el compuesto **75**, en el que se observa un aumento de la fluorescencia a lo largo del tiempo.

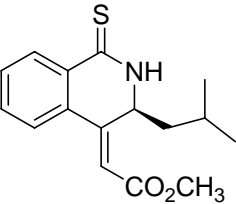
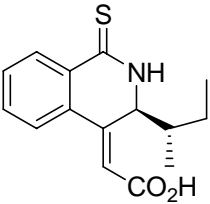
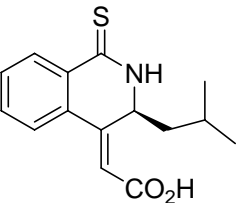
A continuación, en las *Tablas 2.8 a 2.13* se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de inhibición de calpaína de los compuestos preparados en esta *Tesis Doctoral*:

Tabla 2.8. Ensayos de inhibición de calpaína por compuestos sencillos sin fragmento peptídico.

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀ (nM)
9		NO	–
10		NO	–

14		NO	–
16		SI	64
19		SI	0.041
21		SI	453
22		NO	–
23		NO	–
24		SI	25

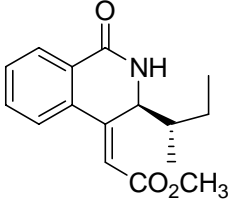
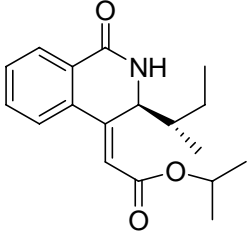
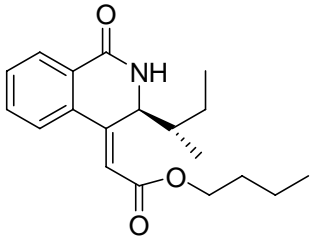
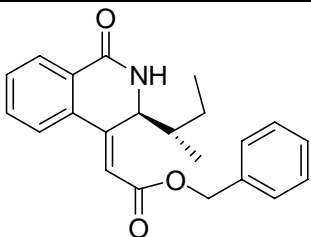
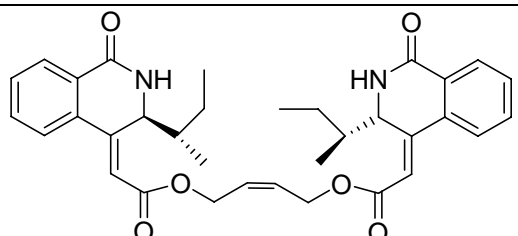
25		SI	0.159
28		NO	–
29		NO	–
30		NO	–
51		NO	–
70		SI	0.038

71		SI	479
73		NO	–
74		SI	0.049

En la *Tabla 2.8* se muestran los datos de inhibición de calpaína por parte de compuestos sencillos sin fragmento peptídico unido, tanto derivados de isoquinolina (lactamas, tiolactamas, ésteres metílicos, ácidos carboxílicos, *N*-metilactamas) como diversos precursores. Entre ellos existe un gran número de inhibidores de diferentes potencias; hay algunos no muy potentes como por ejemplo **25** (159 μ M), otros (la gran mayoría) intermedios como, por ejemplo **21** o **71** (453 nM, 479 nM respectivamente), y otros de elevada potencia como **16** (64 nM) o, especialmente **24**, (25 nM).²⁴⁶

²⁴⁶ Actualmente el compuesto **24** se está ensayando en diversas áreas terapéuticas.

Tabla 2.9. Ensayos de inhibición de calpaína por ésteres derivados del ácido **30**.

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀ (nM)
24		SI	25
52		NO	-
53		SI	0.140
54		SI	0.134
55		SI	0.085

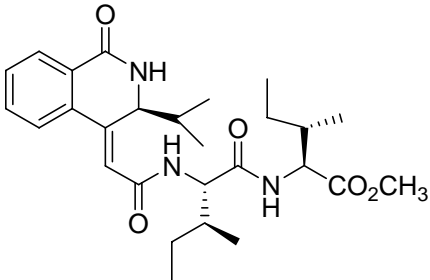
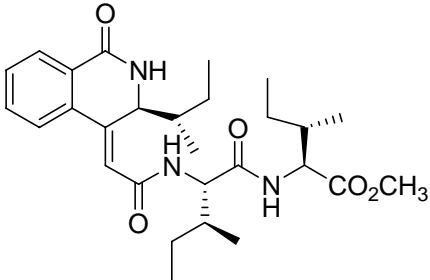
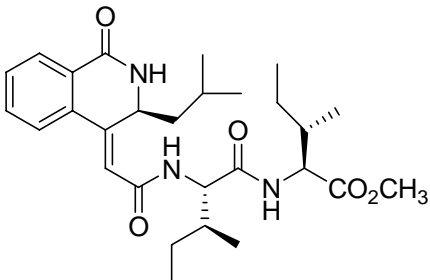
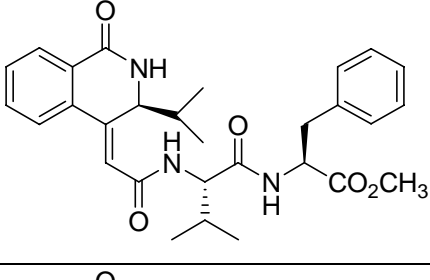
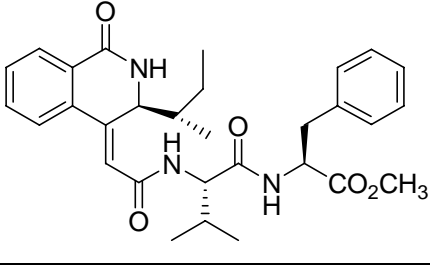
56		SI	0.059
57 ^a		SI	0.005

^aEste compuesto se ensayó con calpaína humana.

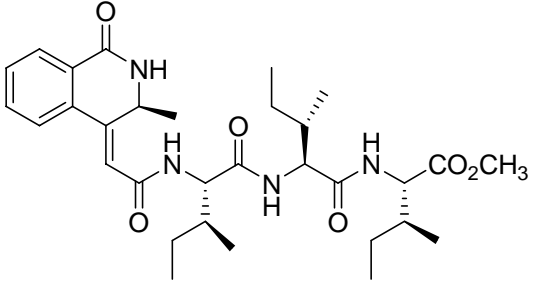
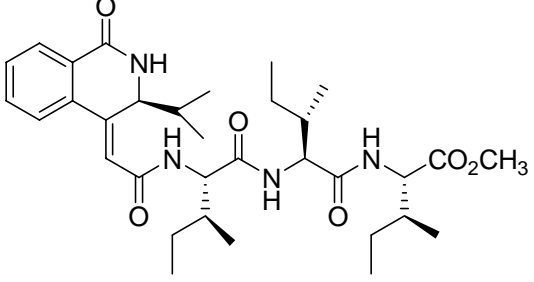
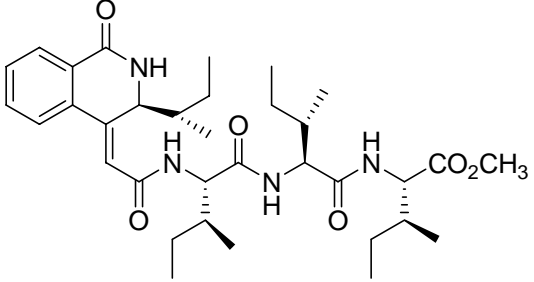
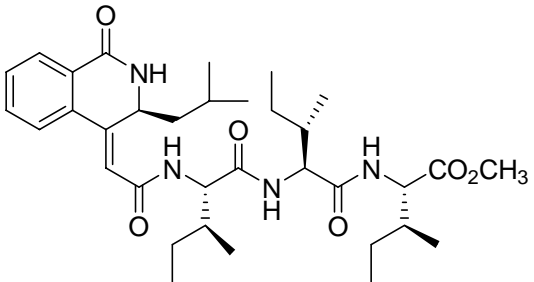
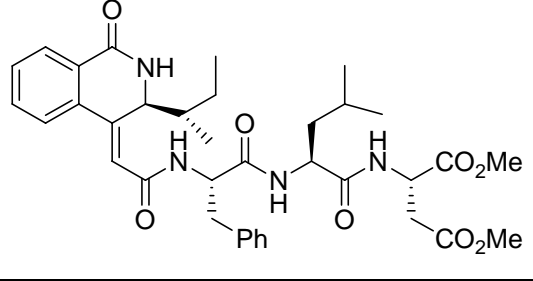
A la vista de los resultados de inhibición de calpaína por parte del éster metílico **24** (ver *Tabla 2.8*), se prepararon y ensayaron una batería de compuestos de diversa naturaleza variando el resto del éster (diversos residuos alifáticos, aromáticos, bis compuestos y manteniendo el grupo *sec*-butilo en la posición 3 de anillo de isoquinolina, que había mostrado ser el sustituyente idóneo en dicha posición. Analizando los datos de la tabla anterior se observa que todos los compuestos excepto **52** son inhibidores pero débiles, no pudiendo mejorar en ningún momento la inhibición presentada por **24**.

Tabla 2.10. Ensayos de inhibición de calpaína por híbridos péptido-heterociclo.

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀ (nM)
32		NO	-

33		SI	477
34		SI	447
35		SI	632
40		SI	0.029
41		SI	626

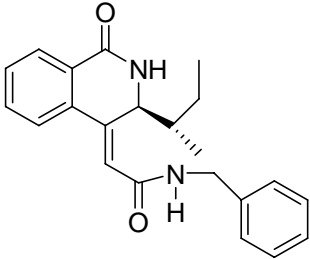
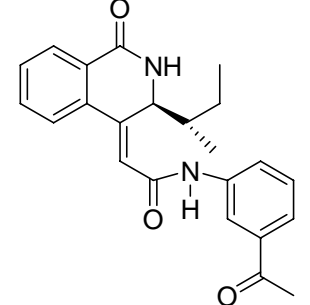
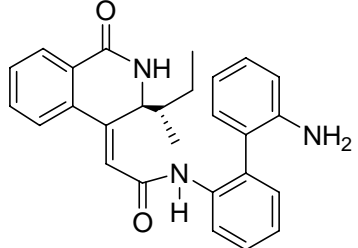
42		SI	66
49		NO	-
50		NO	-
75		NO	-
76		SI	0.011

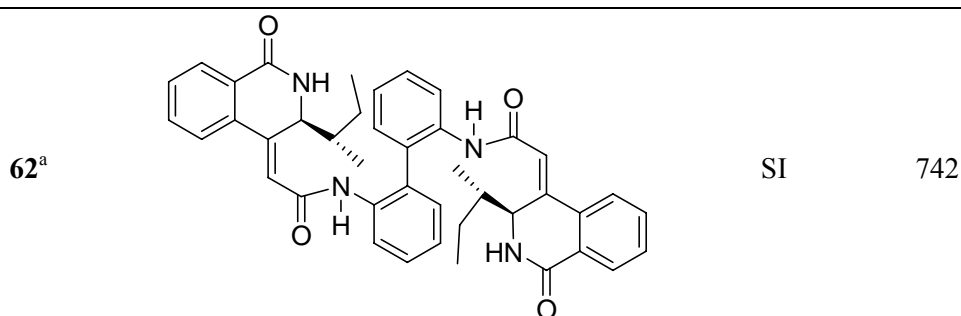
36		SI	702
37		NO	–
38		SI	159
39		SI	392
46 ^a		NO	–

^aEstos compuestos se ensayaron con calpaína humana.

En el caso de los híbridos di- o tripéptido-heterociclo los valores de inhibición en calpaína son valores de moderados a bajos, existiendo además un gran número de compuestos que no presentan inhibición, a excepción del compuesto **42** el cual posee un valor comparable al de la isoquinolina **24**, el mejor de los inhibidores preparados.

Tabla 2.11. Ensayos de inhibición de calpaína por amidas derivadas del ácido **30**.

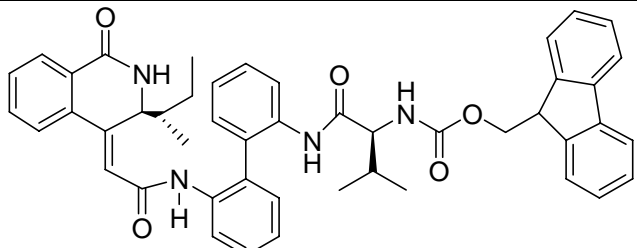
Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀ (nM)
58		SI	> 0.100
59		SI	0.130
61		SI	86



^aEstos compuestos se ensayaron con calpaína humana.

Continuando con la variación estructural (preparación de diversos ésteres) iniciada anteriormente sobre el ácido carboxílico **30** y de acuerdo a la experiencia adquirida y buenos resultados obtenidos en el grupo con amidas aromáticas²⁴⁷ se prepararon y ensayaron diferentes derivados, siendo todos inhibidores moderados a excepción de **61**²⁴⁸ que resultó especialmente activo (86 nM).

Tabla 2.12. Ensayos de inhibición de calpaína por híbridos péptido-heterociclo-bifenilo preparados a partir de **61**.

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀ (nM)
63^a		SI	0.103

²⁴⁷ A. Montero, Tesis Doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, 2004.

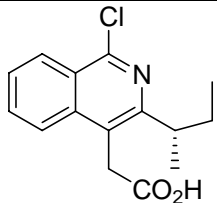
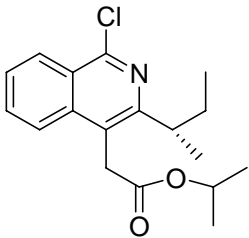
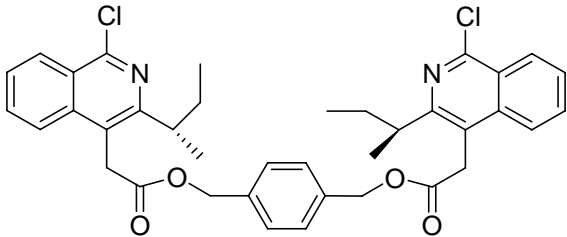
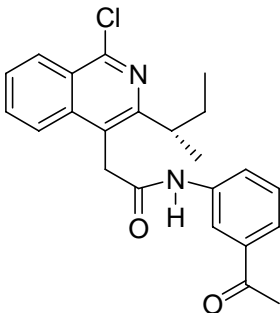
²⁴⁸ Se ensayó sola la bifenil-2,2'-diamina y se comprobó que no era inhibidor.

64 ^a		SI	0.107
65 ^a		SI	0.005
66 ^a		SI	0.093
67 ^a		SI	0.106
68 ^a		SI	0.05

^aEstos compuestos se ensayaron con calpaína humana.

De nuevo se llevó a cabo un proceso de variación estructural de **61** por medio del acoplamiento de diversos aminoácidos. En la *Tabla 2.12* se observa que todos los compuestos son de nuevo inhibidores pero débiles, sin que en ningún caso se alcancen valores de inhibición nanomolares.

Tabla 2.13. Ensayos de inhibición de calpaína por 1-cloroisoquinolinas.

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀ (nM)
77 ^a		SI	0.023
78 ^a		SI	0.1
80 ^a		SI	0.097
81 ^a		SI	0.042

^aEstos compuestos se ensayaron con calpaína humana.

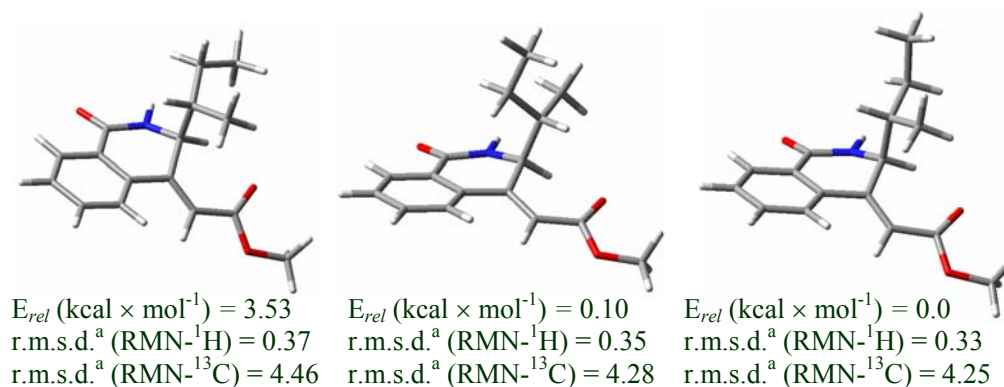
En el caso de los derivados del ácido (1-cloroisoquinol-4-il)acético presentados en la *Tabla 2.13* existe una variabilidad estructural reducida (ácido carboxílico, ésteres, amida) por lo que cabe la posibilidad de que exista algún compuesto con valores de actividad de moderados o incluso nulos. Al analizar los datos de la tabla anterior nos damos cuenta que todos los compuestos son inhibidores pero débiles, dato totalmente en concordancia con lo mencionado anteriormente.

Dada la amplia variedad estructural de los compuestos ensayados y la falta de seguridad sobre que todos actúen al mismo nivel, no resulta sencillo establecer los requisitos estructurales responsables de la actividad como inhibidores de calpaína que presentan algunos de ellos. Es posible que los derivados peptídicos como el híbrido **42**, por su relación estructural con los inhibidores clásicos de calpaína (derivados de péptidos con restos de aminoácidos hidrófobos), actúen a nivel del centro activo, por adición de Michael del grupo SH de la cisteína al sistema α,β -insaturado. Los derivados de isoquinolina sin fragmentos peptídicos o el éster α,β -insaturado **16** podrían actuar, en virtud de su similitud estructural con el ácido α -mercaptocinámico **PD-150606** (ver apartado 2.4.2), en la zona de unión del Ca^{2+} .

En general, podemos comentar que la presencia de un grupo *sec*-butilo en la posición 3 del anillo de isoquinolina así como la ausencia de sustitución en el NH lactámico aumentan espectacularmente la actividad inhibitoria de calpaína y que la presencia de cadenas peptídicas no es absolutamente necesaria para lograr tal actividad biológica. El hecho de que no sea necesaria la presencia de cadenas peptídicas en este tipo de compuestos incrementa notablemente su potencial utilidad terapéutica como inhibidores enzimáticos: Es de esperar que estos derivados de isoquinolina sin cadena peptídica sean más estables metabólicamente y su transporte celular sea más eficaz que los híbridos péptido-heterociclo.

Por otro lado, también se están llevando a cabo actualmente en el grupo estudios computacionales con el fin de elucidar el mecanismo de acción y los factores que influyen en la actividad biológica de estos compuestos. De estos estudios podemos

concluir,²⁴⁹ que en el posible mecanismo de acción de los compuestos sin fragmento peptídico, y más especialmente del compuesto **24**, está involucrada una reacción del SH de la cisterna del centro activo de la calpaína con el doble enlace presente en estas estructuras, debido a que éste está muy accesible (*Figura 2.51*).



^ar.m.s.d. calculado entre los desplazamientos químicos de ¹H y ¹³C experimentales y calculados computacionalmente.

Figura 2.51. Conformaciones calculadas para el compuesto **24**.

²⁴⁹ M. Alonso, R. Chicharro, V. J. Arán, M. A. Maestro, B. Herradón, datos pendientes de publicación.

2.5.-PARTE EXPERIMENTAL

Todas las reacciones con reactivos sensibles se realizaron en atmósfera inerte (argón). Todos los disolventes utilizados para dichas reacciones se secaron siguiendo la metodología habitual.²⁵⁰ La mayoría de los reactivos utilizados se adquirieron en Aldrich o Fluka y se usaron sin purificar. Cuando se necesitó purificar algún reactivo se utilizaron los procedimientos descritos.²⁵⁰

2.5.1.- TÉCNICAS GENERALES UTILIZADAS

Cromatografía

Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron utilizando placas de gel de sílice (Merck, 60 F₂₅₄) de 0.2 mm de espesor. Las manchas se visualizaron con luz UV (365 nm y 254 nm) o utilizando reveladores químicos como ácido fosfomolibdico, permanganato potásico, yodo y ninhidrina.

Las cromatografías en columna se realizaron con gel de sílice (Merck, 230-400 mesh ASTM), utilizando la técnica de columna seca con elución a presión (Flash-chromatography).²⁵¹ El eluyente empleado se encuentra indicado en cada caso.

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C fueron realizados en los siguientes equipos: Varian-UNITY-500, Varian-INOVA-400, Varian-INOVA-300, Varian-GEMINI-200. Los desplazamientos químicos se describen en partes por millón (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se indican en hercios (Hz). Los espectros de RMN-¹H están referenciados con respecto a la señal residual de protón del disolvente deuterado utilizado en cada caso. La asignación de los distintos protones se hizo en base a experimentos de doble resonancia, así como experimentos bidimensionales tipo COSY, TOCSY, NOESY, ROESY, HMQC y HMBC utilizando la secuencia de pulsos estándar

²⁵⁰ D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon Press, Oxford **1980**.

²⁵¹ W. C. Still, M. Khan, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

para cada uno de ellos. Cuando fue posible, los protones diastereotópicos fueron designados con los subíndices a y b. Los sistemas de spines complejos (2° orden; $\Delta\nu/J < 10$) fueron analizados como tales y las constantes de acoplamiento entre los distintos protones del sistema se calcularon cuando fue posible. El subíndice α indica el protón correspondiente al centro quirral del amino ácido, el subíndice β indica los protones en el carbono vecino al centro quirral del amino ácido. Los espectros de RMN- ^{13}C , desacoplados de protón en todos los casos, están referenciados respecto al desplazamiento químico de los correspondientes disolventes deuterados. La asignación de los distintos carbonos se hizo, en algunos casos, basándose en experimentos bidimensionales tipo HMQC y HMBC. Si no se indica de otro modo, todos los espectros se registraron a temperatura ambiente.

Espectroscopia Infrarroja

Los espectros de infrarrojo (**IR**) se registraron en un espectrómetro Perkin-Elmer 657 o en un Perkin Elmer-Spectrum One FT-IR. Las frecuencias del espectro se indican en cm^{-1} . Los espectros en disolución se registraron a una resolución de 4 cm^{-1} , utilizando una célula de NaCl para líquidos de longitud de paso de 0.5 mm. Los espectros de fondo (background) se registraron con el disolvente en la célula. Se tomaron entre 64 y 128 acumulaciones para cada espectro. Los espectros se trataron con los programa OMNIC E.S.P. y “Spectrum for Windows” de Perkin-Elmer.

Espectrometría de Masas

Los espectros de masas [**EM** (ES^+)], salvo que se indique de otro modo, se registraron por inyección directa de la muestra en el aparato por medio de la técnica de electrospray en modo positivo, registrándose los espectros con un espectrómetro Hewlett Packard 100 MSD, o por medio de la técnica impacto electrónico (70 eV) de baja resolución RMU-GMG de Hitachi-Perkin Elmer. Los espectros se describen en unidades de relación masa/carga (m/z) y entre paréntesis se indican las intensidades relativas de cada pico respecto al pico base, considerado como 100%.

Análisis Elemental

Los análisis elementales (**AE**) fueron realizados en un equipo Carlo Erba EA 1180 (Centro de Química Orgánica Manuel Lora-Tamayo, CSIC).

Puntos de fusión

Los puntos de fusión (**P.f.**) se midieron en un aparato de platina calentable tipo Kofler o en capilares con un aparato Gallenkamp.

Rotación óptica específica ($[\alpha]_D$)

La rotación óptica observada (α) se midió en un polarímetro Perkin-Elmer 241 MC ($l = 1$ dm) a temperatura ambiente, con las concentraciones ($c = \text{g}/100 \text{ mL}$) y los disolventes indicados en cada caso, calculándose la rotación óptica específica por medio de la siguiente fórmula:

$$[\alpha]_D = \alpha \times 100/l \times c$$

HPLC

Las cromatografías HPLC analíticas se realizaron en un aparato Jasco, utilizando columnas de fase reversa de tipo Nucleosil C₁₈ (250 × 4.0 mm, 5 μm). La fase móvil empleada en todos los casos corresponde a mezclas de CH₃CN/H₂O en modo gradiente de 100/0 a 10/90. En todos los casos el flujo fue de 1 mL/min y la detección de picos se realizó por UV a 254 nm.

Difracción de rayos X

La difracción de Rayos X se realizó en un aparato Siemens Smart CCD, en la Universidad de A Coruña (SXAIN, Dr. Miguel Angel Maestro) o en el Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid (CSIC) (Mercedes Alonso y el Dr. Enrique Gutiérrez Puebla).

2.5.2.- SÍNTESIS DE ÁCIDOS (1-OXOISOQUINOL-4-ILIDEN)ACÉTICOS**Síntesis de *N*-(2-yodobenzoil)aminoésteres (6-10). Procedimiento general.**

A una solución del correspondiente hidrocloreto del éster metílico de L-alanina, L-valina, L-fenilalanina, L-leucina y L-isoleucina (**1-5**) (72.0 mmol) en THF (300 mL) y H₂O (300 mL) se añadió K₂CO₃ (39.80 g, 288 mmol). La mezcla se enfrió a 0 °C y tras 5 minutos de agitación se añadió cloruro de 2-yodobenzoilo (19.18 g, 72.0 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos y posteriormente se dejó que alcanzase temperatura ambiente lentamente durante toda la noche. Se eliminó el THF y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 × 50 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por recristalización de AcOEt/hexano.

(*S*)-2-(2-Yodobenzoilamino)propanoato de metilo (6).

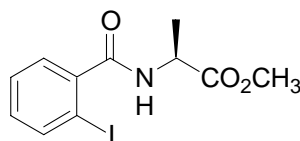
Se obtuvo con un rendimiento del 90% (21.6 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir del éster metílico de L-alanina. Sólido blanco.

P.f.: 129-130 °C.

[α]_D = + 2.3 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) ν: 3400, 3250, 1730, 1640, 1525, 1320, 1210, 1000.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.86 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.40 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.10 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.40 (*d ancho*, *J* = 6.2, 1 H, NH); 4.80 (*m*, 1 H, H-C(2)); 3.78 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.55 (*d*, *J* = 7.1, 3 H, H-C(3)).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 174.0 (CO₂Me); 169.5 (CONH); 142.3 (C(1')); 140.8 (C(3')); 132.2 (C(4')); 129.2, 129.1 (C(5'), C(6')); 93.3 (C(2')); 53.5 (CO₂Me); 49.5 (C-(2)); 19.3 (C(3)).

EM m/z: 333 (M⁺, 15), 274 (53), 231 (100), 203 (22), 132 (6), 105 (9), 76 (37).

AE: Calculado para C₁₁H₁₂INO₃: C 39.66, H 3.63, N 4.20.

Encontrado: C 39.83, H 3.91, N 4.34.

(S)-3-Metil-2-(2-yodobenzoilamino)butanoato de metilo (7).

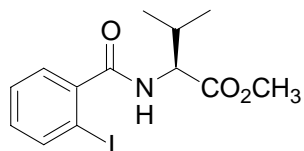
Se obtuvo con un rendimiento del 90% (23.4 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir del éster metílico de L-valina. Sólido blanco.

P.f.: 109-110 °C.

[α]_D = + 3.0 (c = 0.6, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3400, 3250, 1720, 1625, 1565, 1525, 1315, 1195, 1000.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.87 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.40 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.10 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.29 (*d ancho*, *J* = 8.6, 1 H, NH); 4.77 (*dd*, *J* = 8.6, 4.6, 1 H, H-C(2)); 3.77 (*s*, 3 H, CO₂Me); 2.32 (*m*, 1 H, H-C(3)); 1.07 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(3)); 0.99 (*d*, *J* = 6.9, 3 H, H-C(4)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 172.0 (CO₂Me); 168.9 (CONH); 141.7 (C(1')); 149.9 (C(3')); 131.2 (C(4')); 128.3, 128.1 (C(5'), C(6')); 92.2 (C(2')); 57.4 (C(2)); 52.2 (CO₂CH₃); 31.4 (C(3)); 19.0 (Me-C(3)); 17.9 (C(4)).

EM m/z: 361 (M⁺, 4), 302 (23), 247 (36), 231 (100), 203 (25), 132 (12), 105 (11), 76 (37).

AE: Calculado para C₁₃H₁₆INO₃: C 43.23, H 4.47, N 3.88.

Encontrado: C 43.08, H 4.71, N 3.92.

(S)-3-Fenil-2-(2-yodobenzoilamino)propanoato de metilo (8).

Se obtuvo con un rendimiento del 98% (28.9 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir del éster metílico de L-fenilalanina. Sólido blanco.

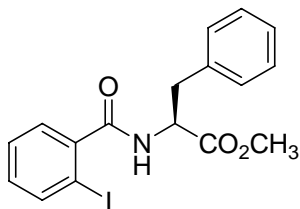
P.f.: 96-97 °C.

[α]_D = + 63.8 (c = 1.2, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3380, 3220, 1715, 1620 1500, 1185, 985.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.85 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.38-7.14 (*m*, 7 H, H-C(5'), H-C(6'), Ar-C(3)); 7.08 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.27 (*d ancho*, *J* = 7.8, 1 H, NH); 5.08 (*m*, 1 H,

H-C(2)); 3.76 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.28 (*d*, *J* = -13.9, 1 H, H_a-C(3)); 3.26 (*d*, *J* = -13.9, 1 H, H_b-C(3)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 171.7 (CO₂Me); 168.7 (CONH); 141.3 (C(1')); 140.2 (C(3')); 135.8 (C(Ar)); 131.4 (C(4')); 129.5 (2 C, C(5'), C(6')); 128.7 (2 C, C(Ar)); 128.3, 128.2, 127.3 (C(Ar)); 92.5 (C(2')); 53.7 (C(2)); 52.6 (CO₂CH₃); 37.9 (C(3)).

EM *m/z*: 409 (M⁺, 4), 350 (9), 247 (85), 231 (100), 203 (23), 162 (29), 131 (15), 104 (9), 91 (25), 76 (22).

AE: Calculado para C₁₇H₁₆INO₃: C 49.90, H 3.94, N 3.42.

Encontrado: C 50.11, H 4.25, N 3.51.

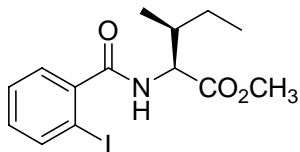
(*S,S*)-3-Metil-2-(2-yodobenzoilamino)pentanoato de metilo (9).

Se obtuvo con un rendimiento del 62% (16.7 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir del éster metílico de L-isoileucina. Sólido blanco.

P.f.: 67-70 °C.

[α]_D = + 9.2 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) *v*: 3436, 3294, 2964, 1743, 1644, 1585, 1525, 1463, 1201, 1015.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.87 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.41 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.11 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.33 (*d ancho*, *J* = 8.1, 1 H, NH); 4.83 (*dd*, *J* = 8.1, 4.6, 1 H, H-C(2)); 3.78 (*s*, 3 H, CO₂Me); 2.06 (*m*, 1 H, H-C(3)); 1.52 (*m*,

1 H, H_a-C(4)); 1.29 (*m*, 1 H, H_b-C(4)); 1.03 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(3)); 0.97 (*t*, *J* = 7.6, 3 H, H-C(5)).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 171.9 (CO₂Me); 168.7 (CONH); 141.7 (C(1')); 139.9 (C(3')); 131.2 (C(4')); 128.3, 128.0 (C(5'), C(6')); 92.2 (C(2')); 56.7 (C(2)); 52.1 (CO₂Me); 38.0 (C(3)); 25.2 (C(4)); 15.6 (Me-C(3)); 11.6 (C(5)).

EM (ES⁺) *m/e*: 376 ([M + H]⁺), 398 ([M + Na]⁺), 773 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para $C_{14}H_{18}INO_3$: C 44.82, H 4.84, N 3.73.

Encontrado: C 45.12, H 5.10, N 4.00.

(S)-4-Metil-2-(2-yodobenzoilamino)pentanoato de metilo (10).

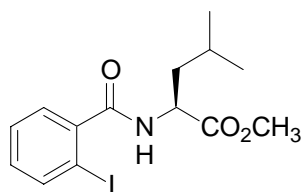
Se obtuvo con un rendimiento del 73% (19.7. g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir del éster metílico de L-isoleucina. Sólido blanco.

P.f.: 58-60 °C.

$[\alpha]_D = -7.2$ (c = 1.0, $CHCl_3$).

IR (KBr) v: 3435, 3257, 2957, 1731, 1644, 1550, 1432, 1211, 1015.

RMN-¹H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.79 (m, 1 H, H-C(3')); 7.33 (m, 2 H, H-C(5')), H-C(6')); 7.05 (m, 1 H, H-C(4')); 6.29 (d ancho, $J = 8.1$, 1 H, NH); 4.77 (m, 1 H, H-C(2)); 3.71 (s, 3 H, CO_2Me); 1.70 (m, 3 H, H-C(3), H-C(4)); 0.96 (d, $J = 6.3$, 3 H, Me-C(4)); 0.92 (d, $J = 6.3$, 3 H, H-C(5)).



RMN-¹³C (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 172.9 (CO_2Me); 168.7 (CONH); 141.5 (C(1')); 139.8 (C(3')); 131.1 (C(4')); 128.2, 128.0 (C(5'), C(6')); 92.1 (C(2')); 52.1 (CO_2Me); 51.0 (C(2)); 41.4 (C(3)); 24.8 (C(4)); 22.7 (Me-C(4)); 21.9 (C(5)).

EM (ES^+) m/e: 376 ($[M + H]^+$), 398 ($[M + Na]^+$), 773 ($[2M + H]^+$).

AE: Calculado para $C_{14}H_{18}INO_3$: C 44.82, H 4.84, N 3.73.

Encontrado: C 44.75, H 4.91, N 3.80.

Síntesis de N-(2-yodobenzoil)aminoalcoholes (11-15). Procedimiento general.

A una solución del correspondiente éster metílico del N-(2-yodobenzoil)aminoácido (6-10) (22.5 mmol) en THF (50 mL) a -10 °C se añadió $LiBH_4$ (1.47 g, 67.5 mmol). Seguidamente se añadió lentamente MeOH (5 mL), la mezcla se agitó a -10 °C durante 10 minutos y a continuación se calentó hasta temperatura ambiente. Posteriormente se añadió H_2O , se eliminó el THF y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 x 50 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre $MgSO_4$. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvieron los productos brutos, los

cuales se purificaron por recristalización de AcOEt/hexano (**11-13**, **15**) o por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:1 a 1:9) y luego AcOEt (**14**).

(S)-N-(1-Hidroxi-2-propil)-2-yodobenzamida (11).

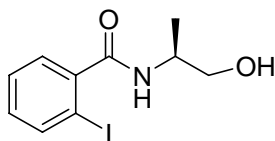
Se obtuvo con un rendimiento del 90% (6.2 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **6**. Sólido blanco.

P.f.: 95-98 °C.

$[\alpha]_D = +0.8$ (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 3280, 3220, 1615, 1505, 1010.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 7.83 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.50-7.30 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')), 7.08 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.02 (*d ancho*, *J* = 5.1, 1 H, NH); 4.25 (*m*, 1 H, H-C(2)), 3.83-3.57 (*m*, 1 H, H-C(1)); 2.65 (*s ancho*, 1 H, OH); 1.28 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, H-C(3)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 170.1 (CONH); 142.9 (C(1')); 140.5 (C(3')); 131.9 (C(4')); 129.0 (2 C, C(5'), C(6')); 93.4 (C(2')); 66.8 C(1)); 49.0 (C(2)); 17.6 (C(3)).

EM *m/z*: 305 (M⁺, 2), 274 (59), 248 (39), 231 (100), 203 (31), 148 (11), 105 (29), 76 (22).

AE: Calculado para C₁₀H₁₂INO₂: C 39.37, H 3.96, N 4.59.

Encontrado: C 39.53, H 4.04, N 4.80.

(S)-N-(1-Hidroxi-3-metil-2-butil)-2-yodobenzamida (12).

Se obtuvo con un rendimiento del 93% (6.9 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **7**. Sólido blanco.

P.f.: 108-110 °C.

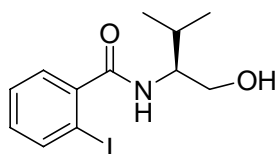
$[\alpha]_D = -23.0$ (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 3400, 3250, 1630, 1530.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, mezcla de rotámeros **M** y **m**, en proporción 11.5:1) δ : 7.83 (*d*, *J* = 8.0, 0.8 H, H-C(3'), **M**); 7.74 (*d*, 0.2 H, *J* = 7.1, H-C(3'), **m**); 7.48-7.31 (*m*, 2 H,

H-C(5'), H-C(6'), **M+m**); 7.10-7.04 (*m*, 1 H, H-C(4'), **M+m**); 6.41 (*s ancho*, 0.2 H, NH, **m**); 6.04 (*d ancho*, $J = 6.1$, 0.8 H, NH, **M**); 3.95-3.85 (*m*, 1 H, H-C(2), **M+m**); 3.85-3.72 (*m*, 2 H, H-C(1), **M+m**); 2.80 (*s ancho*, 0.2 H, OH, **m**); 2.55 (*s ancho*, 0.8 H, OH, **M**); 1.98 (*m*, 1 H, H-C(3), **M+m**); 1.02 (*d*, $J = 6.7$, 4.8 H, *Me*-C(3), H-C(4), **M**); 0.99 (*d*, $J = 6.2$, 1.2 H, *Me*-C(3), H-C(4), **m**).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 11.5:1) δ : 170.8 (CONH,



M); 169.0 (CONH, **m**); 143.1 (C(1'), **M**); 140.4 (C(1'), **m**); 135.1 (C(3'), **m**); 132.1 (C(3'), **M**); 131.7 (C(4'), **m**); 129.2 (C(4'), **M**); 128.8 (C(5'), C(6'), **m**); 127.7 (C(5'), C(6'), **M**); 93.1 (C(2')); 64.0 (C(1), **M**); 63.7 (C(1), **m**); 58.2 (C(2), **m**); 58.0 (C(2), **M**); 29.8 (C(3), **M**); 29.6 (C(3), **m**); 20.3 (*Me*-C(3),

C(4), **m**); 19.8 (*Me*-C(3), C(4), **M**).

EM m/z : 333 (M^+ , 1), 302 (40), 290 (5), 248 (13), 231 (100), 203 (23), 176 (10), 105 (48).

AE: Calculado para C₁₂H₁₆INO₂: C 43.26, H 4.84, N 4.20.

Encontrado: C 42.99, H 4.84, N 4.30.

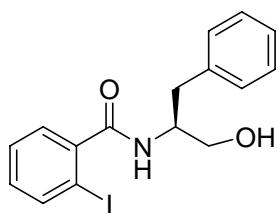
(*S*)-*N*-(3-Fenil-1-hidroxi-2-propil)-2-yodobenzamida (**13**).

Se obtuvo con un rendimiento del 91% (7.8 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **8**. Sólido blanco.

P.f.: 139-140 °C.

$[\alpha]_D = -20.6$ ($c = 1.0$, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 3400, 3277, 1645, 1538, 698.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.82 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.37-7.19 (*m*, 7 H, H-C(5'), H-C(6'), H-(Ar)); 7.06 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.02 (*d ancho*, $J = 7.6$, 1 H, NH); 4.39 (*m*, 1 H, H-C(2)); 3.86-3.67 (*m*, 2 H, H-C(1)); 3.00 (*d*, $J = 7.3$, 2 H, H-C(3)); 2.38 (*t muy ancho*, 1 H, OH).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 169.8 (CONH); 142.1 (C(1')); 139.8 (C(3')); 137.6 (C(Ar)); 131.2 (C(4')); 129.4 (2 C, C(5'), C(6')); 128.7 (2 C, C(Ar)); 128.2, 128.1, 126.8 (C(Ar)); 92.5 (C(2')); 63.5 (C(1)); 53.3 (C(2)); 36.8 (C(3)).

EM m/z: 381 (M⁺, 5), 350 (7), 290 (57), 248 (18), 231 (100), 203 (23), 105 (18), 91 (19), 76 (19).

AE: Calculado para C₁₆H₁₆INO₂: C 50.41, H 4.23, N 3.67.

Encontrado: C 50.50, H 4.51, N 3.76.

(S,S)-N-[(1-Hidroxi-3-metil-2-pentil)-2-yodobenzamida (14).

Se obtuvo con un rendimiento del 85% (6.6 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **9**. Sólido blanco.

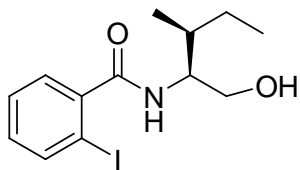
P.f.: 125-126 °C.

[α]_D = - 27.8 (c = 1.0, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 19.20 min.

IR (KBr) v: 3410, 3295, 1628, 1544, 1076.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃, mezcla de rotámeros **M** y **m**, en proporción 4:1) δ: 7.81 (*m*, 0.7 H, H-C(3'), **M**); 7.72 (*m*, 0.3 H, H-C(3'), **m**); 7.50-7.31 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6'), **M+m**); 7.10-7.04 (*m*, 1 H, H-C(4'), **M+m**); 6.42 (*d ancho*, *J* = 8.1, 0.2 H, NH, **m**); 6.06 (*d ancho*, *J* = 8.1, 0.8 H, NH, **M**); 3.99-3.85 (*m*, 1 H, H-C(2), **M+m**); 3.85-3.72 (*m*, 2 H, H-C(1), **M+m**); 2.88 (*t ancho*, *J* = 5.4, 0.2 H, OH, **m**); 2.62 (*t ancho*, *J* = 5.4, 0.8 H, OH, **M**); 1.80-1.50 (*m*, 2 H, H-C(4), **M+m**); 1.28-1.14 (*m*, 1 H, H-C(3), **M+m**); 0.97 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, *Me*-C(3)); 0.92 (*t*, *J* = 7.5, 3 H, H-C(5)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 170.0 (CONH); 142.4 (C(1')); 139.7 (C(3')); 131.1 (C(4')); 128.5, 128.1 (C(5'), C(6')); 92.3 (C(2')); 63.2 (C(1)); 56.4 (C(2)); 35.5 (C(3)); 25.6 (C(4)); 15.6 (*Me*-C(3)); 11.3 (C(5)).

ES (ES⁺) m/e: 348 ([M + H]⁺), 370 ([M + Na]⁺), 717 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₃H₁₈INO₂: C 44.97, H 5.23, N 4.03.

Encontrado: C 45.11, H 5.26, N 4.18.

(S)-N-(1-Hidroxi-4-metil-2-pentil)-2-yodobenzamida (15).

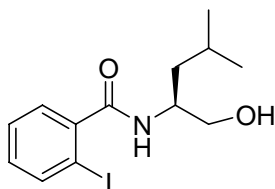
Se obtuvo con un rendimiento del 84% (6.5 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **10**. Sólido blanco.

P.f.: 104-106 °C.

$[\alpha]_D = -21.7$ (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3428, 3287, 2953, 1641, 1538.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, mezcla de rotámeros **M** y **m**, en proporción 5.3:1) δ : 7.77 (*d*, *J* = 7.8, 0.7 H, H-C(3'), **M**); 7.69 (*d*, *J* = 7.1, 0.3 H, H-C(3'), **m**); 7.48-7.25 (*m*, 2 H, H-C(4'), H-C(5'), **M+m**); 7.06-6.92 (*m*, 1 H, H-C(6'), **M+m**); 6.46 (*d ancho*, *J* = 8.3, 0.2 H, NH, **m**); 6.11 (*d ancho*, *J* = 8.3, 0.8 H, NH, **M**); 4.22-4.12 (*m*, 1 H, H-C(2), **M+m**); 3.80-3.52 (*m*, 2 H, H-C(1), **M+m**); 2.99 (*s ancho*, 1 H, OH); 1.80-1.58 (*m*, 1 H, H-C(4), **M+m**); 1.54-1.35 (*m*, 1 H, H-C(3), **M+m**); 0.93 (*m*, 6 H, Me-C(4), H-C(5)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 5.3:1) δ : 169.9 (CONH); 142.2 (C(1')); 139.6 (C(3')); 130.9 (C(6')); 128.0 (2C, C(4'), C(5')); 92.3 (C(2')); 65.8 (C(1), **m**); 65.4 (C(1), **M**); 50.3 (C(2), **M+m**); 40.2 (C(3), **m**); 39.9 (C(3), **M**); 24.9 (C(4), **M**); 24.8 (C(4), **m**); 23.0 (Me-C(4)); 22.2 (C(5)).

ES (ES⁺) *m/e*: 348 ([*M* + H]⁺), 370 ([*M* + Na]⁺), 717 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₃H₁₈INO₂: C 44.97, H 5.23, N 4.03.

Encontrado: C 45.20, H 5.40, N 4.11.

Síntesis de los N-benzoilaminoésteres insaturados 16-20. Procedimiento general.**Síntesis del iluro utilizado en la reacción de Wittig (27).**a) Síntesis de la sal de fosfonio **26**.

Una mezcla de bromoacetato de metilo (25.8 mL, 278.7 mmol) y trifenilfosfina (70.3 g, 268 mmol) en CH₃CN anhidro (70 mL) se reflujo durante 1 h. Seguidamente se dejó enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente durante 1 h, formándose un precipitado

blanco que se recogió por filtración y se secó a vacío. El producto bruto así obtenido (102.3 g, 92%), puro por RMN, fue utilizado directamente en la siguiente etapa.

P.f.: 160-163 °C (con reblandecimiento previo) (lit.,²⁵² 161-163 °C).

IR (KBr) ν : 3429, 2892, 1723, 1440, 1319, 1110, 748, 522.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.57-7.84 (*m*, 15 H, H-C(Ar)); 5.46 (*d*, *J* = 13.4, 2 H, H-C(2)); 3.50 (*s*, 3 H, CO₂Me).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 164.9 (*d*, *J* = 3.0, CO₂Me); 135.0 (*d*, *J* = 3.0, C(4')); 133.7 (*d*, *J* = 10.6, C(2')); 130.2 (*d*, *J* = 13.1, C(3')); 117.6 (*d*, *J* = 89.1, C(1')); 53.3 (CO₂Me); 32.8 (*d*, *J* = 57.9, C(2)).

ES (ES⁺) *m/e*: 335 ([*M* - Br]⁺), 336 ([*M* + H]⁺).

AE: Calculado para C₂₁H₂₀BrO₂P: C 60.74, H 4.85.

Encontrado: C 60.82, H 4.90.

b) Síntesis del fosforano **27**.

Se disolvió la sal de fosfonio **26** (102.3 g, 246.3 mmol) en 1.7 L de agua y a continuación se añadió una disolución de NaOH 1M (300 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, formándose un precipitado blanco que se recogió por filtración. Una vez seco el precipitado, se suspendió en AcOEt y de nuevo se filtró, obteniéndose el compuesto **27** como un sólido blanco, puro por RMN, con un rendimiento del 76% (62.9 g).

P.f.: 157-160 °C (con reblandecimiento previo) (lit.,²⁵² 167-168 °C).

IR (KBr) ν : 3435, 1619, 1435, 1348, 1123, 1103, 881, 693, 519.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, mezcla de rotámeros **M** y **m**, 9:1) δ : 7.37-7.75 (*m*, 16 H, H-C(Ar), H-C(2)); 3.49 (*s*, 2.7 H, CO₂Me, **M**); 2.88 (*s*, 0.3 H, CO₂Me, **m**).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 171.4 (*d*, *J* = 13.1, CO₂Me); 132.5 (*d*, *J* = 10.1, C(2')); 131.7 (*d*, *J* = 2.6, C(4')); 128.5 (*d*, *J* = 12.1, C(3')); 127.6 (*d*, *J* = 90.1, C(1')); 49.5 (CO₂Me); 29.6 (*d*, *J* = 126.4, C(2)).

²⁵² T. M. Werkhoven, R. van Nispen, J. Lugtenburg, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 2909-2914.

ES (ES⁺) m/e: 335 ([M + H]⁺).

AE: Calculado para C₂₁H₂₀O₂P: C 75.44, H 5.73.

Encontrado: C 75.30, H 5.84.

Síntesis de los *N*-benzoilaminoésteres insaturados 16-20.

A una solución comercial de cloruro de oxalilo 2M en CH₂Cl₂ anhidro (10.33 mL, 20.8 mmol) diluida con el mismo disolvente (12 mL) a -78 °C, se añadió gota a gota una disolución de DMSO anhidro (2.9 mL, 41.0 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (30 mL). La mezcla se agitó durante 30 minutos a -78 °C tras los cuales se añadió una disolución del alcohol correspondiente (12.8 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (25 mL) gota a gota vía cánula. La mezcla se agitó durante 1 hora a -78 °C y a continuación se añadió Et₃N (10.2 mL, 74.0 mmol) gota a gota. Después de 1 hora de agitación a -78 °C, cuando la oxidación del aldehído se ha completado (CCF) se añadió Ph₃P=CHCO₂Me, previamente sintetizado, (6.0 g, 19.0 mmol) dejando que la reacción alcanzase lentamente temperatura ambiente durante toda la noche. La eliminación del disolvente a vacío, seguida de cromatografía del producto bruto usando como eluyentes mezclas de hexano/AcOEt (4:1 a 1:1), dio lugar a los correspondientes isómeros *E* de los *N*-benzoilaminoésteres insaturados.

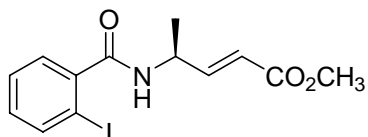
(*S,E*)-4-(2-Yodobenzoilamino)-2-pentenoato de metilo (16).

Se obtuvo con un rendimiento del 76% (3.5 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **11**. Sólido blanco.

P.f.: 83-86 °C.

[α]_D = - 4.8 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3435, 3265, 1720, 1641, 1531, 1430, 1293, 1196, 1015, 979, 723.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.85 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.39 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.10 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.98 (*dd*, *J* = -15.7, 5.0, 1 H, H-C(3)); 6.04 (*dd*,

J = -15.7, 1.8, 1 H, H-C(2)); 5.76 (*d ancho*, *J* = 7.8, 1 H, NH); 4.94 (*m*, 1 H, H-C(4)); 3.73 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.42 (*d*, *J* = 7.0, 3 H, H-C(5)).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 168.9 (CONH); 166.9 (CO₂Me); 148.6 (C(3)); 142.0 (C(1')); 140.0 (C(3')); 131.4 (C(4')); 128.4, 128.3 (C(5'), C(6')); 120.7 (C(2)); 92.6 (C(2')); 51.9 (CO₂Me); 46.4 (C(4)); 20.0 (C(5)).

EM m/z: 359 (M⁺, 5), 231 (85), 203 (30), 128 (100), 105 (6), 96 (21), 76 (22).

AE: Calculado para C₁₃H₁₄INO₃: C 43.45, H 3.93, N 3.90.

Encontrado: C 43.56, H 3.94, N 3.86.

(S,E)-5-Metil-4-(2-yodobenzoilamino)-2-hexenoato de metilo (17).

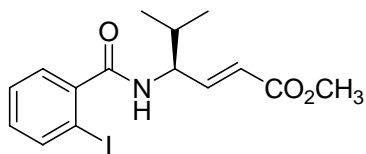
Se obtuvo con un rendimiento del 76% (3.7 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **12**. Sólido blanco.

P.f.: 96-98 °C.

[α]_D = - 4.1 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3380, 3220, 2900, 1690, 1615, 1500, 1400.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.86 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.38 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.12 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.94 (*dd*, *J* = -15.7, 5.6, 1 H, H-C(3)); 6.07 (*dd*, *J* = -15.7, 1.5, 1 H, H-C(2)); 5.85 (*d ancho*, *J* = 9.2, 1 H, NH); 4.72 (*m*, 1 H, H-C(4)); 3.73 (*s*, 3 H, CO₂Me); 2.04 (*m*, 1 H, H-C(5)); 1.03 (*d*, *J* = 6.9, 3 H, Me-C(5)); 1.01 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, H-C(6)).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 169.1 (CONH); 166.8 (CO₂Me); 146.5 (C(3)); 142.4 (C(1')); 140.1 (C(3')); 131.4 (C(4')); 128.5, 128.4 (C(5'), C(6')); 122.2 (C(2)); 92.4 (C(2')); 56.0 (C(4)); 51.9 (CO₂Me); 32.3 (C(5)); 19.2 (Me-C(5)); 18.6 (C-(6)).

EM m/z: 387 (M⁺, 3), 344 (23), 248 (5), 231 (100), 203 (25), 156 (34), 140 (10), 114 (10), 105 (12), 76 (28).

AE: Calculado para C₁₅H₁₈INO₃: C 46.53, H 4.69, N 3.62.

Encontrado: C 46.54, H 4.93, N 3.58.

(S,E)-5-Fenil-4-(2-yodobenzoilamino)-2-pentenoato de metilo (18).

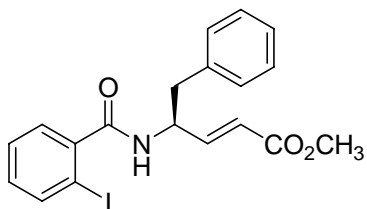
Se obtuvo con un rendimiento del 84% (4.7 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **13**. Sólido blanco.

P.f.: 99-101 °C.

[α]_D = - 2.5 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3430, 3270, 1725, 1642, 1529, 1433, 1315, 1173, 1016.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.81 (*m*, 1 H, H-C(3')); 7.36-7.05 (*m*, 8 H, H-C(4'), H-C(4''), H-C(6'), H-C(Ar)); 6.99 (*dd*, *J* = -15.7, 5.3, 1 H, H-C(3)); 6.03 (*dd*, *J* = -15.7, 1.7, 1 H, H-C(2)); 5.85 (*d ancho*, *J* = 8.2, 1 H, NH); 5.13 (*m*, 1 H, H-C(4)); 3.72 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.03 (*d*, *J* = 4.8, 2 H, H-C(5)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 169.0 (CONH); 166.7 (CO₂Me); 146.9 (C(3)); 142.0 (C(1')); 140.1 (C(3')); 136.3 (C(Ar)); 131.4 (C(4')); 129.6 (2 C, C(5'), C(6')); 129.0 (2 C, C(Ar)); 128.3 (2 C, C(Ar)); 127.3 (C(Ar));

121.7 (C(2)); 92.5 (C(2')); 51.9 (CO₂Me); 51.6 (C(4)); 40.4 (C(5)).

EM m/z: 435 (M⁺, 3), 344 (80), 231 (100), 203 (34), 188 (12), 129 (14), 105 (16), 91 (19).

AE: Calculado para C₁₉H₁₈INO₃: C 52.41, H 4.17, N 3.22.

Encontrado: C 52.70, H 4.42, N 3.46.

(S,S,E)-5-Metil-4-(2-yodobenzoilamino)-2-heptenoato de metilo (19).

Se obtuvo con un rendimiento del 80% (4.1 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **14**. Sólido blanco.

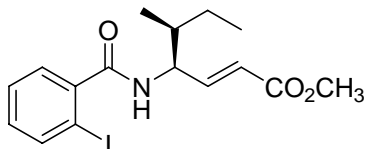
P.f.: 124-125 °C.

[α]_D = + 1.7 (c = 1.0, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 19.87 min.

IR (KBr) v: 3347, 3275, 2958, 1721, 1640, 1531.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.85 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, H-C(3')); 7.37 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.10 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.92 (*dd*, *J* = -15.8, 5.9, 1 H, H-C(3)); 6.05 (*dd*, *J* = -15.8, 1.7, 1 H, H-C(2)); 5.93 (*d ancho*, *J* = 8.8, 1 H, NH); 4.79 (*m*, 1 H, H-C(4)); 3.72 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.79 (*m*, 1 H, H-C(5)); 1.54 (*m*, 1 H, H_a-C(6)); 1.22 (*m*, 1 H, H_b-C(6)); 0.97 (*m*, 6 H, Me-C(5), H-C(7)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 168.7 (CONH); 166.5 (CO₂Me); 145.9 (C(3)); 142.0 (C(1')); 139.9 (C(3')); 131.2 (C(4')); 128.3, 128.2 (C(5'), C(6')); 122.0 (C(2)); 92.1 (C(2')); 54.8 (C(4)); 51.7 (CO₂Me); 38.7 (C(5)); 25.4 (C(6)); 15.4 (Me-C(5)), 11.6 (C(7)).

EM (ES⁺) *m/e*: 402 ([*M* + H]⁺), 424 ([*M* + Na]⁺), 803 ([2*M* + H]⁺), 825 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₆H₂₀INO₃: C 47.89, H 5.02, N 3.49.

Encontrado: C 48.11, H 5.13, N 3.61.

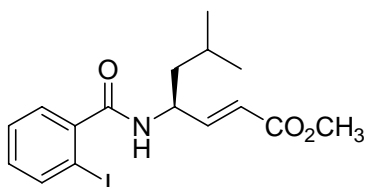
(*S,E*)-6-Metil-4-(2-yodobenzoilamino)-2-heptenoato de metilo (20).

Se obtuvo con un rendimiento del 64% (3.3 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **15**. Sólido blanco.

P.f.: 91-94 °C.

[α]_D = - 3.8 (c = 0.5, CHCl₃).

IR (KBr) *v*: 3435, 3266, 2953, 1727, 1639, 1530.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.81 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, H-C(3')); 7.32 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.06 (*m*, 1 H, H-C(4')); 6.89 (*dd*, *J* = -15.6, 5.6, 1 H, H-C(3)); 6.04 (*dd*, *J* = -15.6, 1.5, 1 H, H-C(2)); 5.87 (*d ancho*, *J* = 8.5, 1 H, NH); 4.83 (*m*, 1 H, H-C(4)); 3.70 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.81 (*m*, 1 H, H-C(6)); 1.49 (*m*, 2 H, H-C(5)); 0.96 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, Me-C(6)); 0.94 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, H-C(6)).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 168.6 (CONH); 166.6 (CO₂Me); 147.7 (C(3)); 141.9 (C(1')); 139.9 (C(3')); 131.2 (C(4')); 128.2, 128.1 (C(5'), C(6')); 12.8 (C(2)); 92.2 (C(2')); 51.6 (CO₂Me); 48.9 (C(4)); 43.4 (C(5)); 24.8 (C(6)); 22.7 (Me-C(6)), 22.1 (C(7)).

EM (ES⁺) m/e: 402 ([M + H]⁺), 424 ([M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₆H₂₀INO₃: C 47.89, H 5.02, N 3.49.

Encontrado: C 47.76, H 5.38, N 3.55.

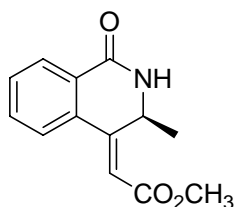
Síntesis de las dihidroisoquinolinonas 21-25. Procedimiento general.

Una mezcla del correspondiente *N*-benzoilaminoéster metílico insaturado (10.4 mmol), Pd(OAc)₂ (80 mg, 0.035 mmol), Ph₃P (288 mg, 1.08 mmol) y Et₃N (3.2 mL, 20.6 mmol) en CH₃CN anhidro (250 mL) se refluyó durante 3 días bajo argón con agitación vigorosa. A continuación la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente y tras posterior adición de H₂O (250 mL), se extrajo con CHCl₃ (3 × 50 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (4:1 a 2:3).

(*S,Z*)-(3-Metil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (21).

Se obtuvo con un rendimiento del 30% (721 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **16**. Sólido blanco.

P.f.: 172-175 °C.



[α]_D = - 335.0 (c = 0.5, CHCl₃).

IR (KBr) ν: 3432, 1716, 1693, 1626, 1597, 1432, 1371, 1282, 1169, 767.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 8.18 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.63-7.52 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.50 (*s ancho*, 1 H, NH); 6.32 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.71 (*m*, 1 H, H-C(3')); 3.77 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.38 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, H-C(1')).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 166.0 (CONH); 163.7 (CO₂Me); 151.6 (C(4')); 133.8 (C(4a')); 133.0, 131.1 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.5 (C(8')); 128.3 (C(4')); 124.8 (C(5') o C(6') o C(7')); 114.5 (C(2)); 51.9 (CO₂Me); 48.2 (C(3')); 23.9 (C(1'')).

EM m/z: 231 (M⁺, 52), 216 (28), 198 (23), 184 (16), 172 (100), 156 (15), 129 (16), 101 (14), 84 (25).

AE: Calculado para C₁₃H₁₃NO₃: C 67.52, H 5.67, N 6.06.

Encontrado: C 67.22, H 5.65, N 6.14.

(S,Z)-(3-Isopropil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (22).

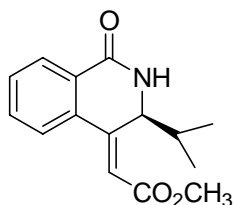
Se obtuvo con un rendimiento del 92% (2.5 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **17**. Sólido blanco.

P.f.: 36-38 °C.

[α]_D = - 340.6 (c = 1.5, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3198, 2962, 1715, 1671, 1597, 1367, 1246, 1167, 768.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 8.13 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.58-7.50 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.85 (*s ancho*, 1 H, NH); 6.34 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.40 (*m*, 1 H, H-C(3')); 3.76 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.86 (*m*, 1 H, H-C(1')); 0.93 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, H-C(2'')); 0.80 (*d*, *J* = 6.7, 3 H, H-C(2''')).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 166.0 (CONH); 164.3 (CO₂Me); 150.8 (C(4')); 135.4 (C(4a')); 132.8, 130.7 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.6 (C(8')); 128.1 (C(4')); 123.8 (C(5') o C(6') o C(7')); 116.2 (C(2)); 56.8 (C(3')); 51.7 (CO₂Me); 35.6 (C(1')); 19.4 (C(2'')); 17.9 (C(2''')).

EM m/z: 259 (M⁺, 32), 216 (100), 200 (18), 184 (30), 156 (20), 129 (18), 102 (11).

AE: Calculado para C₁₅H₁₇NO₃: C 69.48, H 6.61, N 5.40.

Encontrado: C 69.70, H 6.45, N 5.23.

(±,Z)-(3-Bencil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (23).

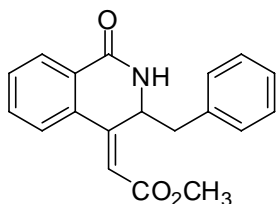
Se obtuvo con un rendimiento del 44% (1.4 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **18**. Sólido blanco.

P.f.: 145-146 °C.

HPLC: Tiempo de retención: 23.09 y 26.10 min.

IR (KBr) v: 3432, 1713, 1676, 1434, 1366, 1299, 1245, 1175, 731.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.22 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.72-7.58 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 7.33-7.20 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 6.44 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.98 (*s ancho*, 1 H, NH); 5.77 (*m*, 1 H, H-C(3')); 3.83 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.07 (*dd*, *J* = -13.0, 3.6, 1 H, H_a-C(1')); 2.73 (*dd*, *J* = -13.0, 9.9, 1 H, H_b-C(1')).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 166.7 (CONH); 164.1 (CO₂Me); 150.8 (C(4')); 137.6 (C(4a')); 134.7 (C(Ar)); 133.6, 131.8 (C(Ar)); 130.6 (2 C, C(5') o C(6') o C(7')); 129.4 (2 C, C(Ar)); 129.2 (C(8')); 129.1 (C(8a')); 127.7 (C(Ar)); 125.2 (C(5') o C(6') o C(7')); 115.7 (C(2)); 54.7 (C(3')); 52.6 (CO₂Me); 44.7 (C(1')).

EM m/z: 307 (M⁺, 12), 216 (100), 188 (14), 184 (25), 156 (19), 129 (16), 102 (12), 91 (28).

AE: Calculado para C₁₉H₁₇NO₃: C 74.25, H 5.58, N 4.56.

Encontrado: C 74.55, H 5.70, N 4.49.

(S,S,Z)-(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (24).

Se obtuvo con un rendimiento del 90% (2.5 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **19**. Sólido amorfo blanco.

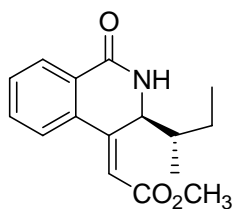
[α]_D = - 365.8 (c = 0.5, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 15.43 min.

IR (KBr) v: 3434, 1715, 1669, 1568, 1195, 1167, 774.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 8.13 (*m*, 1 H; H-C(8')); 7.57 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.60 (*d ancho*, *J* = 3.4, 1 H, NH); 6.34 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.45 (*m*, 1 H, H-C(3'));

3.77 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.61 (*m*, 1 H, H-C(1'')); 1.45 (*m*, 1 H, H_a-C(2'')); 1.15 (*m*, 1 H, H_b-C(2'')); 0.87 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(1'')); 0.81 (*t*, *J* = 7.6, 3 H, H-C((3''))).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 165.4 (CONH); 164.0 (CO₂Me); 150.7 (C(4')); 135.3 (C(4a')); 132.7, 130.5 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.4 (C(8a')); 127.9 (C(8')); 123.8 (C(5') o C(6') o C(7')); 116.4 (C(2)); 55.8 (C(3')); 51.5 (CO₂Me); 41.5 C(1''); 24.4 (C(2'')); 15.1 (Me-C(1'')); 11.0 (C(3'')).

EM (ES⁺) m/e: 274 ([*M* + H]⁺), 296 ([*M* + Na]⁺), 547 ([2*M* + H]⁺), 569 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₆H₁₉NO₃: C 70.31, H 7.01, N 5.12.

Encontrado: C 70.21, H 6.70, N 4.85.

(*S,Z*)-(3 -Isobutil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (25).

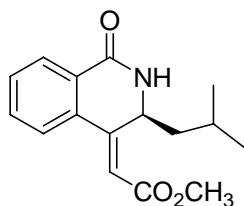
Se obtuvo con un rendimiento del 77% (2.2 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **20**. Sólido blanco.

P.f.: 124-126 °C.

[α]_D = - 152.6 (c = 0.5, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3419, 1709, 1669, 1568, 1193, 1172, 773.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.17 (*m*, 1 H; H-C(8'')); 7.58 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.52 (*d ancho*, *J* = 3.8, 1 H, NH); 6.30 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.66 (*m*, 1 H, H-C(3')); 3.79 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.81 (*m*, 1 H, H-C(2'')); 1.59 (*m*, 1 H, H_a-C(1'')); 1.33 (*m*, 1 H, H_b-C(1'')), 1.04 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, Me-C(2'')); 0.88 (*t*, 3 H, *J* = 6.6, H-C((3''))).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 165.7 (CONH); 163.4 (CO₂Me); 151.2 (C(4')); 134.5 (C(4a')); 132.7, 130.7 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.3 (C(8'')); 128.1 (C(8a')); 124.4 (C(5') or C(6') or C(7')); 114.5 (C(2)); 51.6 (CO₂Me); 50.2 (C(3')); 46.0 C(1''); 24.5 (C(2'')); 23.6 (Me-C(1'')); 21.0 (C(3'')).

EM (ES⁺) m/e: 274 ([*M* + H]⁺), 296 ([*M* + Na]⁺), 547 ([2*M* + H]⁺), 569 ([2*M* + H + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₆H₁₉NO₃: C 70.31, H 7.01, N 5.12.

Encontrado: C 70.21, H 6.70, N 4.85.

Síntesis de las dihidroisoquinolona **21**, **22**, **24** y **25**. Procedimiento general.

A una disolución de la correspondiente dihidroisoquinolona **21**, **22**, **24** y **25** (1.0 mmol) en una mezcla 1:1 de thf-h₂o (10 mL) a temperatura ambiente se añadió una solución de liOH (83.9 mg, 2.0 mmol) en H₂O (2 mL). la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, y a continuación se acidificó con hcl 5% hasta pH = 2. se eliminó el THF a vacío y la fase acuosa se extrajo con acoet (3 × 50 mL). las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre mgso₄. una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por recristalización de acoet/hexano.

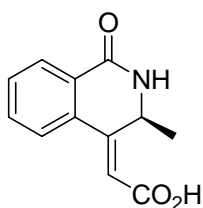
Ácido (*S,Z*)-(3-metil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acético (**28**).

Se obtuvo con un rendimiento del 92% (200 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **21**. Sólido blanco.

P.f.: >230 °C.

[α]_D = - 182.6 (c = 0.65, MeOH).

IR (KBr) v: 3436, 1687, 1625, 1599, 1417, 1287, 1258, 1212, 963, 878, 773.



RMN-¹H (300 MHz, MSO-*d*₆) δ: 8.31 (*d*, *J* = 4.4, 1 H, NH); 7.97 (*dd*, 1 H, *J* = 7.3, 1.7, H-C(8′)); 7.84 (*dd*, 1 H, *J* = 7.2, 1.7, H-C(5′)); 7.65-7.55 (*m*, 2 H, H-C(6′), H-C(7′)); 6.38 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.47 (*dd*, *J* = 6.5, 4.4, 1 H, H-C(3′)); 1.20 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, H-C(1′)).

RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 166.5 (CONH); 161.8 (CO₂H); 149.8 (C(4′)); 133.4 (C(4a′)); 132.7, 130.6 (C(6′), C(7′)); 128.1 (C(8a′)); 127.3 (C(8′)); 125.1 (C(5′)); 115.7 (C(2)); 46.5 (C(3′)); 23.6 (C(1′)).

EM m/z: 217 (M⁺, 61), 202 (27), 172 (100), 131 (29), 101 (16).

AE: Calculado para C₁₂H₁₁NO₃: C 66.35, H 5.10, N 6.45.

Encontrado: C 66.99, H 4.84, N 6.53.

Ácido (S,Z)-(3-isopropil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acético (29).

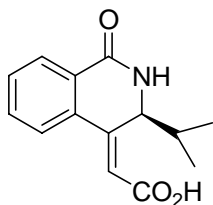
Se obtuvo con un rendimiento del 92% (225 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **22**. Sólido blanco.

P.f.: >230 °C.

[α]_D = - 330.0 (c = 0.5, MeOH).

IR (KBr) v: 3430, 2965, 1674, 1645, 1597, 1444, 1295.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 9.55 (*s muy ancho*, 1 H, CO₂H); 8.11 (*dd*, 1 H, *J* = 7.5, 1.6, H-C(8')); 7.67-7.54 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.43 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.64 (*m*, 1 H, H-C(3')); 2.09 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.06 (*d*, 3 H, *J* = 6.9, 3 H, H-C(2')); 0.83 (*d*, *J* = 6.7, 3 H, Me-C(1')).



RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 167.2 (CONH); 163.0 (CO₂H); 149.5 (C(4')); 135.5 (C(4a')); 133.1, 130.9 (C(6'), C(7')); 129.1 (C(8a')); 127.5 (C(8')); 124.8 (C(5')); 118.0 (C(2')); 55.6 (C(3')); 35.6 (C(1')); 19.7 (C(2')); 18.7 (Me-C(1')).

EM m/z: 245 (M⁺, 26), 202 (100), 184 (7), 158 (14), 131 (19), 103 (12).

AE: Calculado para C₁₄H₁₅NO₃: C 68.56, H 6.16, N, 5.71.

Encontrado: C 68.85, H 6.42, N 5.57.

Ácido (S,S,Z)-(3-sec-butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acético (30).

Se obtuvo con un rendimiento del 97% (251 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **24**. Sólido blanco.

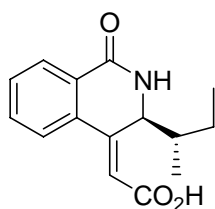
P.f.: 215-216 °C (con reblandecimiento previo).

[α]_D = - 333.8 (c = 0.49, DMF).

IR (KBr) v: 3435, 2966, 1674, 1306.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.64 (*s ancho*, 1 H, CO₂H); 8.60 (*d*, *J* = 4.9, 1 H, NH); 7.91 (*dd*, *J* = 7.3, 1.5, 1 H, H-C(8')); 7.75 (*dd*, *J* = 7.9, 1.3, 1 H, H-C(5')); 7.64-7.53 (*m*, 2 H, H-C(6'), H-C(7')); 6.36 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.24 (*dd*, *J* = 7.7, 4.9, 1 H, H-C(3'));

1.47 (*m*, 1 H, H_a-C(2'')); 1.45 (*m*, 1 H, H-C(1'')); 1.16 (*m*, 1 H, H_b-C(2'')); 0.74 (*m*, 6 H, Me-C(1''), H-C(3'')).



RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 166.7 (CONH); 162.5 (CO₂H); 149.1 (C(4')); 135.1 (C(4a')); 132.6, 130.3 (C(6'), C(7')); 128.7 (C(8a')); 127.0 (C(8')); 124.4 (C(5')); 117.6 (C(2)); 53.9 (C(3')); 41.2 (C(1'')); 24.3 (C(2'')); 15.0, 10.9 (Me-C(1''), C(3'')).

EM (ES⁺) *m/e*: 260 ([*M* + H]⁺), 282 ([*M* + Na]⁺), 519 ([2*M* + H]⁺), 541 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₅H₁₇NO₃: C 69.48, H 6.61, N 5.40.

Encontrado: C 69.25, H 7.00, N 5.41.

Ácido (*S,Z*)-(3-isobutil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acético (31).

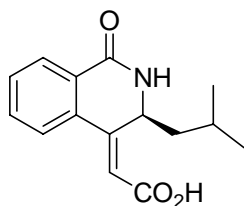
Se obtuvo con un rendimiento del 85% (220 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **25**. Sólido blanco.

P.f.: 228-230 °C.

[α]_D = - 59.8 (*c* = 0.5, MeOH).

IR (KBr) *v*: 3430, 2958, 1670, 1636.

RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 12.64 (*s ancho*, 1 H, CO₂H); 8.52 (*d*, *J* = 4.4, 1 H, NH); 7.90 (*d*, *J* = 7.2, 1 H, H-C(8')); 7.75 (*d*, *J* = 7.6, 1 H, H-C(5')); 7.60-7.52 (*m*, 2 H, H-C(6'), H-C(7')); 6.30 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.43 (*m*, 1 H, H-C(3')); 1.66 (*m*, 1 H, H-C(2'')); 1.33 (*m*, 1 H, H_a-C(1'')); 1.13 (*m*, 1 H, H_b-C(1'')); 0.87 (*d*, *J* = 6.4, 3 H, Me-C(2'')); 0.77 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, H-C(3'')).



RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 166.5 (CONH); 162.1 (CO₂H); 149.9 (C(4')); 134.2 (C(4a')); 132.5, 130.4 (C(6'), C(7')); 128.3 (C(8a')); 127.2 (C(8')); 124.8 (C(5')); 115.7 (C(2)); 48.5 (C(3')); 46.6 (C(1'')); 23.9 (C(2'')); 23.5 (Me-C(2'')); 21.4 (C(3'')).

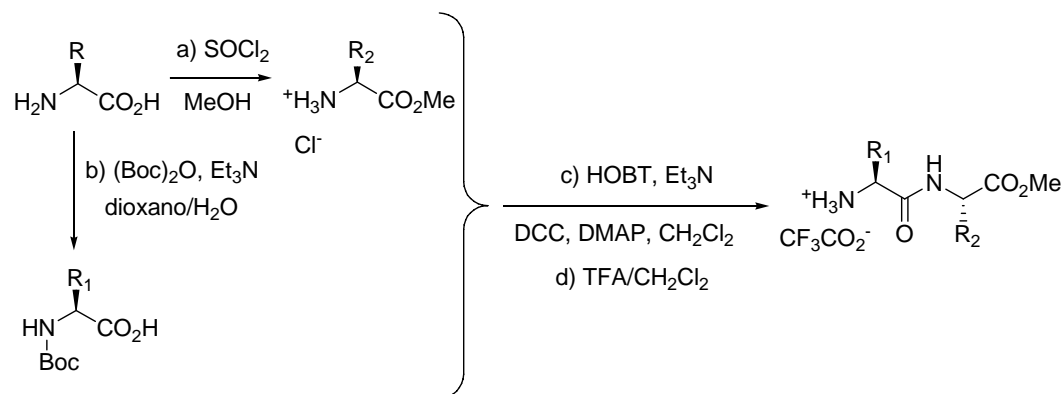
EM (ES⁺) *m/e*: 260 ([*M* + H]⁺), 282 ([*M* + Na]⁺), 519 ([2*M* + H]⁺), 541 ([2*M* + H + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₅H₁₇NO₃: C 69.48, H 6.61, N 5.40.

Encontrado: C 69.67, H 6.96, N 5.45.

2.5.3- SÍNTESIS DE HÍBRIDOS PÉPTIDO-ISOQUINOLINA. SÍNTESIS DE DERIVADOS DE ÁCIDOS (1-OXISOQUINOL-4-ILIDEN)ACÉTICOS.

2.5.3.1.- Procedimiento general para la síntesis de péptidos.



a) Esterificación de los aminoácidos.

Sobre una suspensión del correspondiente aminoácido (67 mmol) en MeOH (100 mL) a 0 °C se añadió gota a gota cloruro de tionilo (7.45 mL, 100.5 mmol). A continuación la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente durante toda la noche. Una vez eliminado el disolvente a vacío se obtuvo el producto bruto, que se purificó por recristalización de MeOH/Et₂O dando lugar a los aminoésteres puros en forma de hidrocloreto (95-99% rendimiento).

b) Protección del grupo amino de los aminoácidos con Boc.

Sobre una suspensión del correspondiente aminoácido (85.4 mmol) en una mezcla dioxano/H₂O 1/1 (100 mL) a 0 °C se añadió Et₃N (16.9 mL, 128.1 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (16.4 g, 93.9 mmol). A continuación la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente durante toda la noche. Se eliminó el dioxano a vacío, se acidificó con HCl 5% hasta pH = 2 y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 × 50 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez

eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto puro por CCF dando lugar a los *N*-Boc-aminoácidos (91-99% rendimiento).

c) Acoplamiento peptídico.

Sobre una suspensión del hidrocloreto del aminoéster correspondiente (23.2 mmol) en CH₂Cl₂ o DMF anhidros (100 mL) bajo argón, se añadieron secuencialmente el correspondiente *N*-Boc-aminoácido (30.2 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (HOBT, 3.3 g, 25.5 mmol), Et₃N (4.6 ml, 34.8 mmol), diciclohexilcarbodiimida (DCC, 5.3 g, 25.5 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 2.8 mg, 23 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Posteriormente, se filtró sobre celita el bruto, el disolvente se eliminó a vacío y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna con el disolvente apropiado en cada caso, para dar los productos de acoplamiento peptídico correspondientes (68-82% rendimiento).

d) Desprotección de *N*-Boc-péptidos.

Sobre una disolución del correspondiente *N*-Boc-péptido (20.5 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (100 mL) se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (50 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2-8 h. Posteriormente, el disolvente orgánico se eliminó a vacío para dar los correspondientes péptidos en forma de trifluoroacetato (*ca.* 99% rendimiento).

2.5.3.2.- Procedimiento general para la síntesis de híbridos péptido-isoquinolina.

A una disolución del ácido correspondiente **28-31** (0.58 mmol) en DMF anhidra (2 mL) bajo argón, se añadió secuencialmente el péptido correspondiente (como trifluoroacetato) (0.70 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (HOBT, 92 mg, 0.70 mmol), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC, 134.4 mg, 0.70 mmol), Et₃N (0.23 mL, 1.74 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 7 mg, 0.058 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Posteriormente, el disolvente orgánico se eliminó a vacío y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna para dar el híbrido péptido-isoquinolina correspondiente.

***N*-[(*S,Z*)-(3-Metil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-isoleucil-*L*-isoleucinato de metilo (**32**).**

Se obtuvo con un rendimiento del 71% (189 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **28** y el péptido $\text{CF}_3\text{CO}_2^- \text{ }^+\text{H-L-Ile-L-Ile-OCH}_3$. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (2:3 a 9:1) y posteriormente AcOEt. Sólido blanco.

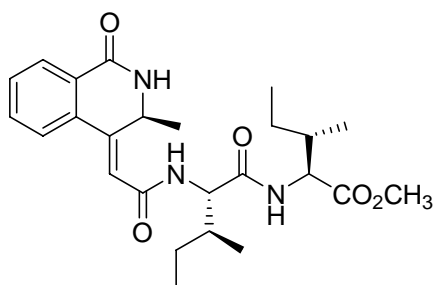
P.f.: 120-122 °C.

[α]_D = - 168.4 (c = 0.25, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 3429, 2695, 1743, 1655, 1532, 1207.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.22 (*d*, $J = 4.1$, 1 H, NH-L-Miq²⁵³); 8.02 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.44 (*d*, $J = 9.0$, 1 H, NH-L-Ile[1]); 7.39-7.25 (*m*, 4 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), NH-L-Ile[2]); 6.14 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.65 (*m*, 1 H, H-C(3')); 4.67 (*m*, 1 H, CH_α -L-Ile[2]); 4.38 (*dd*, $J = 7.3, 5.4$, 1 H, CH_α -L-Ile[1]); 3.71 (*s*, 3 H, CO_2Me); 1.99-1.43 (*m*, 2

H, CH_β -L-Ile[1], CH_β -L-Ile[2]); 1.38 (*d*, $J = 6.6$, 3 H, Me de L-Miq); 1.33-1.07 (*m*, 4 H, CH_2 -L-Ile[1], CH_2 -L-Ile[2]); 1.03 (*d*, $J = 6.8$, 3 H, [$\text{CH}-\text{CH}_3$] de L-Ile[2]); 0.91 (*t*, $J = 7.4$, 3 H, [CH_2-CH_3] de L-Ile[2]); 0.79 (*d*, $J = 6.8$, 3 H, [$\text{CH}-\text{CH}_3$] de L-Ile[1]); 0.69 (*t*, $J = 7.3$, 3 H, [CH_2-CH_3] de L-Ile[1]).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl_3) δ : 172.1, 171.9 (CO_2Me , CONH-L-Ile[2]); 164.9, 164.0 ($=\text{CH}-\text{CONH}$, CONH-L-Miq); 147.9 ($\text{C}(4')$), 134.3 ($\text{C}(4a')$); 132.5, 129.8, 124.3 ($\text{C}(5')$, $\text{C}(6')$, $\text{C}(7')$); 127.7 (2 C, $\text{C}(8a')$, $\text{C}(8')$); 117.3 (CH olefínico); 57.5 (CH_α -L-Ile[2]); 57.1 (CH_α -L-Ile[1]); 51.8 (CO_2Me); 47.5 ($\text{C}(3')$); 38.4, 36.9, (CH_β -L-Ile[1], CH_β -L-Ile[2]); 25.1 (2 C, CH_2 -L-Ile[1], CH_2 -L-Ile[2]); 23.4 (Me de L-Miq); 15.3, 15.2 ([$\text{CH}-\text{CH}_3$] de L-Ile[1], [$\text{CH}-\text{CH}_3$] de L-Ile[2]); 11.3 (2 C, [CH_2-CH_3] de L-Ile[1], [CH_2-CH_3] de L-Ile[2]).

EM (ES^+) m/e : 458 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 480 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 915 ($[\text{2M} + \text{H}]^+$), 937 ($[\text{2M} + \text{Na}]^+$).

²⁵³ Los acrónimos Miq, Iiq, Biq y Giq se usan para el radical acilo procedente de **28**, **29**, **30** y **31** respectivamente. Los restos de aminoácidos se denotan por el código standard de tres letras.

AE: Calculado para C₂₅H₃₅N₃O₅: C 65.62, H 7.71, N 9.18.

Encontrado: C 65.79, H 7.71, N 9.05

***N*-[(*S,Z*)-(3-Isopropil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-isoleucil-L-isoleucinato de metilo (**33**).**

Se obtuvo con un rendimiento del 81% (228 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **29** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (1:4 a 1:1). Sólido blanco.

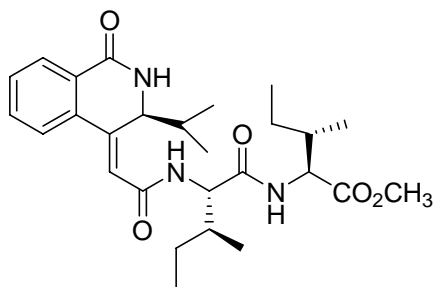
P.f.: 203-205 °C.

[α]_D = - 130.4 (c = 0.5, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3434, 2965, 1743, 1655, 1534, 1207.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.38 (*d*, *J* = 4.9, 1 H, NH-L-Iiq²⁵³); 7.97 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.44 (*d*, *J* = 7.6, 1 H, NH-L-Ile[1]); 7.36-7.25 (*m*, 4 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), NH-L-Ile[2]); 6.13 (*s*, 1 H, H olefinico); 5.56 (*m*, 1 H, H-C(3')); 4.72 (*m*, 1 H, CH_α-L-Ile[2]); 4.39 (*dd*, *J* = 7.6, 5.4, 1 H, CH_α-L-Ile[1]); 3.71 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.95-1.59 (*m*, 3

H, [CH-Me₂] de L-Iiq, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 1.41-1.13 (*m*, 4 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 1.05-0.70 (*m*, 18 H, [CH-Me₂] de L-Iiq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 172.1, 171.9 (CO₂Me, CONH-L-Ile[2]); 164.8, 164.6 (=CH-CONH, CONH-L-Iiq); 147.5 (C(4')), 135.9 (C(4a')); 132.5, 129.5, 123.6 (C(5'), C(6'), C(7')); 128.2 (C(8a')); 127.5 (C(8')); 119.0 (CH olefinico); 57.2 (CH_α-L-Ile[2]); 56.9 (CH_α-L-Ile[1]); 55.7 (C(3')); 51.9 (CO₂Me); 38.3, 37.1, 35.1 ([CH-Me₂] de L-Iiq, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 25.1, 24.9 (CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 19.2, 18.3, 15.4, 15.2, 11.4, 11.1 ([CH-Me₂] de L-Iiq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

EM (ES⁺) m/e: 486 ([M + H]⁺), 508 ([M + Na]⁺), 971 ([2M + H]⁺), 993 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₇H₃₉N₃O₅: C 66.78, H 8.09, N 8.65.

Encontrado: C 66.49, H 8.18, N 8.59.

***N*-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-isoleucil-*L*-isoleucinato de metilo (**34**).**

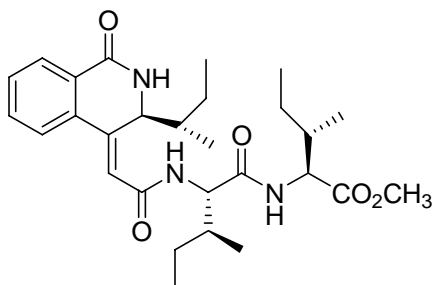
Se obtuvo con un rendimiento del 80% (232 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (1:4 a 3:2). Sólido blanco.

P.f.: 147-150 °C.

[α]_D = - 247.6 (c = 0.25, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3436, 2965, 1743, 1652, 1544.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.26 (*d*, *J* = 5.1, 1 H, NH-L-Biq²⁵³); 7.96 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.38-7.21 (*m*, 5 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), NH-L-Ile[1], NH-L-Ile[2]); 6.09 (*s*, 1 H, H olefinico); 5.57 (*dd*, *J* = 7.2, 5.1, 1 H, H-C(3')); 4.68 (*m*, 1 H, CH_α-L-Ile[2]); 4.43 (*dd*, *J* = 7.6, 5.1, 1 H, CH_α-L-Ile[1]); 3.72 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.93-1.79 (*m*, 3 H, [Me-CH-Et] de L-Biq, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 1.66-1.08 (*m*, 6 H, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 1.04-0.74 (*m*, 18 H, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 172.0, 171.9 (CO₂Me, CONH-L-Ile[2]); 164.8, 164.5 (=CH-CONH, CONH-L-Biq); 147.5 (C(4')), 136.0 (C(4a')); 132.4, 129.5, 123.6 (C(5'), C(6'), C(7')); 128.3 (C(8a')); 127.5 (C(8')); 119.2 (CH olefinico); 57.3 (CH_α-L-Ile[2]); 56.9 (CH_α-L-Ile[1]); 54.9 (C(3')); 51.9 (CO₂Me); 41.3, 38.3, 37.1 ([Me-CH-Et] de L-Biq, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 25.1, 24.9 (3 C, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 15.4, 15.3, 15.0, 11.4, 11.2 (6 C, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [Me-CH-

CH₂CH₃] de L-Biq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

ES (MS⁺) m/e: 500 ([M + H]⁺), 522 ([M + Na]⁺), 999 ([2M + H]⁺), 1021 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₈H₄₁N₃O₅: C 67.31, H 8.27, N 8.41.

Encontrado: C 67.48, H 8.04, N 8.65.

***N*-[*(S,Z)*-(3-Isobutil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-isoleucil-L-isoleucinato de metilo (35).**

Se obtuvo con un rendimiento del 63% (183 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **31** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (3:7 a 7:3). Sólido blanco.

P.f.: 126-128 °C.

[α]_D = - 192.4 (c = 0.5, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3435, 2963, 1743, 1657, 1535, 1207.

RMN⁻¹**H** (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.32 (*d*, *J* = 4.4, 1 H, NH-L-Giq²⁵³); 7.91 (*dd*, *J* = 7.6, 1.2,

1 H, H-C(8′)); 7.85 (*d*, *J* = 9.3, 1 H, NH-L-Ile[1]);

7.24 (*td*, *J* = 7.6, 1.2, 1 H, H-C(6′)); 7.12 (*td*, *J* =

7.6, 1.2, 1 H, H-C(7′)); 7.03 (*d*, *J* = 7.6, 1 H, H-

C(5′)); 6.59 (*d*, *J* = 8.5, 1 H, NH-L-Ile[2]); 5.94

(*s*, 1 H, H olefinico); 5.44-5.38 (*m*, 1 H, H-C(3′));

4.53 (*dd*, *J* = 8.5, 5.1, 1 H, CH_α-L-Ile[2]); 4.45

(*dd*, *J* = 9.3, 6.8, 1 H, CH_α-L-Ile[1]); 3.71 (*s*, 3 H,

CO₂Me); 1.91-1.77 (*m*, 3 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 1.46-

1.18 (*m*, 6 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 1.03-0.78 (*m*, 18 H,

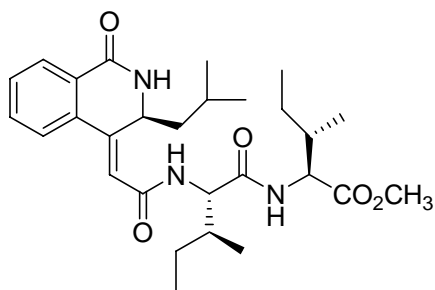
[CH₂-CHMe₂] de L-Giq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-

Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

RMN⁻¹³**C** (75 MHz, CDCl₃) δ: 172.4, 172.3 (CO₂Me, CONH-L-Ile[2]); 165.1, 164.9

(=CH-CONH, CONH-L-Giq); 146.9 (C(4′)); 135.0 (C(4a′)); 132.3, 129.4, 123.9 (C(5′),

C(6′), C(7′)); 127.5 (C(8a′)); 127.3 (C(8′)); 117.4 (CH olefinico); 57.9 (CH_α-L-Ile[2]);



56.6 (CH_α-L-Ile[1]); 52.1 (CO₂Me); 49.7 (C(3')); 45.8 ([CH₂-CHMe₂] de L-Giq); 37.6, 37.5 (CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 25.1, 24.8, 24.5 ([CH₂-CHMe₂] de L-Giq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 23.7, 20.9, 15.5, 11.4, 11.3 (6 C, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

ES (MS⁺) m/e: 500 ([M + H]⁺), 522 ([M + Na]⁺), 999 ([2M + H]⁺), 1021 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₈H₄₁N₃O₅: C 67.31, H 8.27, N 8.41.

Encontrado: C 67.50, H 8.12, N 8.60.

***N*-[(*S,Z*)-(3-Metil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-ileucil-L-ileucil-L-ileucinato de metilo (36).**

Se obtuvo con un rendimiento del 73% (241 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **28** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes CH₂Cl₂/MeOH (50:1 a 20:1). Sólido blanco.

P.f.: 150-153 °C.

[α]_D = - 143.5 (c = 0.13, CHCl₃).

IR (CHCl₃) v: 3410, 3299, 1730, 1655, 1516, 1158.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.25 (*m*, 8 H, NH-L-Miq²⁵³, NH-L-Ile[1], NH-L-Ile[2],

NH-L-Ile[3], H-C(5'), H-C(6'), H-C(6'),

H-C(7')); 6.71 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.39

(*dd*, *J* = 6.1, 4.4, 1 H, H-C(3'));

4.37-4.16 (*m*, 3 H, CH_α-L-Ile[1], CH_α-L-Ile[2], CH_α-L-Ile[3]);

3.58 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.78-1.63

(*m*, 3 H, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2], CH_β-L-Ile[3]),

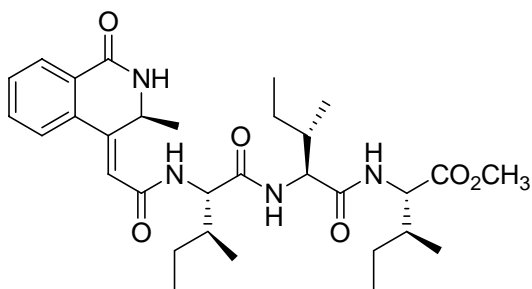
1.62-1.55 (*m*, 1 H, [CH-Me₂] de L-Miq);

1.44-1.32 (*m*, 3 H, CH₂-L-Ile[1],

CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]), 1.13-1.00 (*m*, 6 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3],

Me de L-Miq); 0.81 (*m*, 18 H, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de

L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]).



RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 171.7, 171.3, 170.8 (CONH-L-Ile[1], CONH-L-Ile[2], =CH-CONH); 164.6, 162.9 (CONH-L-Iiq, CO₂Me); 145.1 (C(4')); 139.9 (C(4a')); 132.8 (C(5') o C(6')); 131.0 (C(7')); 128.4 (C(8a')); 126.7 (C(8')); 122.5 (C(5') o C(6')); 122.5 (CH olefínico); 56,9; 56.5, 56.3 (CH _{α} -L-Ile[1], CH _{α} -L-Ile[2], CH _{α} -L-Ile[3]); 52.9 (C(3')); 51.5 (CO₂Me); 36.7, 36.5, 35.9 (CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2], CH _{β} -L-Ile[3]); 24.6, 24.5, 24.3 (4 C, [CH-Me] de L-Miq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]); 15.3, 15.2, 15.0, 10.9, 10.8 (6 C, [CH-Me] de L-Miq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]).

ES (MS⁺) m/e: 571 ([*M* + H]⁺), 593 ([*M* + Na]⁺), 1164 ([2*M* + Na]⁺).

***N*-[(*S,Z*)-(3-Isopropil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-isoleucil-L-isoleucil-L-isoleucinato de metilo (37).**

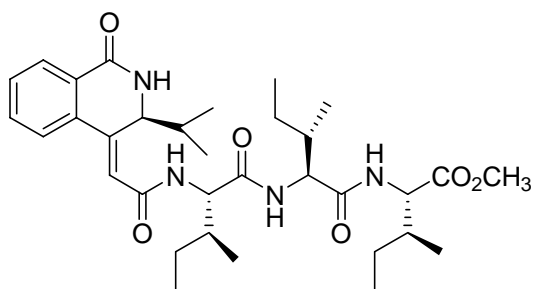
Se obtuvo con un rendimiento del 77% (267 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **29** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (4:1 a 9:1) y posteriormente AcOEt. Sólido blanco.

P.f.: 152-155 °C.

[α]_D = - 208.0 (c = 0.45, MeOH).

IR (KBr) v: 3435, 2965, 1738, 1648, 1536, 1210.

RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.41 (*d*, *J* = 4.7, 1 H, NH-L-Iiq²⁵³); 8.22 (*d*, *J* = 8.7, 1 H, NH-L-Ile[3]); 8.12 (*d*, *J* = 7.5, 1 H, NH-L-Ile[1]); 7.96 (*d*, *J* = 8.6, 1 H, NH-L-Ile[2]); 7.87 (*dd*, *J* = 7.7, 1.0, 1 H, H-C(8')); 7.63-7.55 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.47 (*td*, *J* = 7.7, 1.0, 1 H, H-C(7')); 6.70 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.39 (*dd*, *J* = 6.4, 4.6, 1 H, H-C(3')); 4.33 (*dd*, *J* = 8.7, 1.0, 1 H, CH _{α} -L-Ile[3]); 4.21 (*t*, *J* = 8.6, 1 H, CH _{α} -L-Ile[2]); 4.14 (*t*, *J* = 7.5, 1 H, CH _{α} -L-Ile[1]); 3.56 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.78-1.64 (*m*, 3 H, CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2], CH _{β} -L-Ile[3]), 1.63-1.56 (*m*, 1 H, [CH-Me₂] de



L-Iiq); 1.45-1.32 (*m*, 3 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]), 1.11-1.00 (*m*, 3 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]), 0.79-0.77 (*m*, 18 H, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]), 0.72 (*d*, *J* = 6.7, 3 H, [CH-Me₂] de L-Iiq); 0.67 (*d*, *J* = 6.7, 3 H, [CH-Me₂] de L-Iiq).

RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 171.7, 171.3, 170.8 (CONH-L-Ile[1], CONH-L-Ile[2], =CH-CONH); 164.6, 162.7 (CONH-L-Iiq, CO₂Me); 143.6 (C(4')); 135.9 (C(4a')); 132.4 (C(5') o C(6')); 129.5 (C(7')); 128.5 (C(8a')); 126.9 (C(8')); 123.7 (C(5') o C(6')); 120.3 (CH olefínico); 56.5, 56.2 (3 C, CH_α-L-Ile[1], CH_α-L-Ile[2], CH_α-L-Ile[3]); 54.6 (C(3')); 51.5 (CO₂Me); 36.8, 36.5, 35.9 (CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2], CH_β-L-Ile[3]); 24.6, 24.3 (4 C, [CH-Me₂] de L-Iiq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]); 19.1, 18.1 ([CH-Me₂] de L-Iiq); 15.3, 15.2, 15.0, 10.9, 10.8 (6 C, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]).

ES (MS⁺) *m/e*: 599 ([*M* + H]⁺), 621 ([*M* + Na]⁺), 1197 ([2*M* + H]⁺), 1219 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₃₃H₅₀N₄O₆: C 66.19, H 8.42, N 9.36

Encontrado: C 66.29, H 8.67, N 9.35.

***N*-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-isoleucil-L-isoleucil-L-isoleucinato de metilo (38).**

Se obtuvo con un rendimiento del 66% (234 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (4:1 a 9:1) y posteriormente AcOEt. Sólido blanco.

P.f.: 151-154 °C.

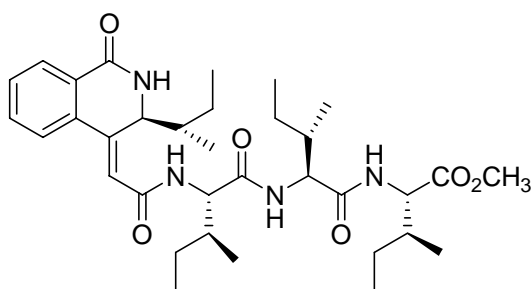
[α]_D = - 100.9 (c = 0.33, MeOH).

IR (KBr) *v*: 3302, 2965, 1739, 1650, 1529, 1207.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.49 (*d*, *J* = 4.5, 1 H, NH-L-Biq²⁵³); 8.25 (*d*, *J* = 8.5, 1 H, NH-L-Ile[3]); 8.14 (*d*, *J* = 7.3, 1 H, NH-L-Ile[1]); 7.99 (*d*, *J* = 8.7, 1 H, NH-L-Ile[2]); 7.88 (*dd*, *J* = 7.3, 0.8, 1 H, H-C(8')); 7.66-7.58 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.50 (*td*, *J* =

7.6, 0.9, 1 H, H-C(7')); 6.70 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.47 (*dd*, $J = 7.3, 4.5$, 1 H, H-C(3')); 4.35 (*t*, $J = 8.5$, 1 H, CH_α-L-Ile[3]); 4.24 (*t*, $J = 8.7$, 1 H, CH_α-L-Ile[2]); 4.17 (*t*, $J = 7.3$, 1 H, CH_α-L-Ile[1]); 3.58 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.84-1.62 (*m*, 3 H, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2], CH_β-L-Ile[3]); 1.52-0.91 (*m*, 9 H, [Me-CH-Et] de L-Biq, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]); 0.90-0.68 (*m*, 24 H, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃]

de L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]).



RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 171.7, 171.2, 170.7 (CONH-L-Ile[1], CONH-L-Ile[2], =CH-CONH); 164.6, 162.6 (CONH-L-Biq, CO₂Me); 144.0

(C(4')); 136.0 (C(4a')); 132.4 (C(5') o C(6')); 129.5 (C(7')); 128.6 (C(8a')); 126.9 (C(8')); 123.7 (C(5') o C(6')); 120.3 (CH olefínico); 56.5, 56.4, 56.2 (CH_α-L-Ile[1], CH_α-L-Ile[2], CH_α-L-Ile[3]); 54.6 (C(3')); 51.5 (CO₂Me); 41.3 ([Me-CH-Et] de L-Biq); 36.8, 36.5, 35.9 (CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2], CH_β-L-Ile[3]); 24.6, 24.2 (4 C, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]); 15.3, 15.2, 15.0, 14.9, 11.0, 10.9, 10.8 (8 C, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]).

ES (MS⁺) m/e: 613 ([M + H]⁺), 635 ([M + Na]⁺), 1226 ([2M + H]⁺), 1247 ([2M + Na]⁺).

***N*-[(*S,Z*)-(3-Isobutil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-isoleucil-*L*-isoleucinato de metilo (39).**

Se obtuvo con un rendimiento del 66% (234 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **31** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (1:1 a 7:3) y posteriormente AcOEt. Sólido blanco.

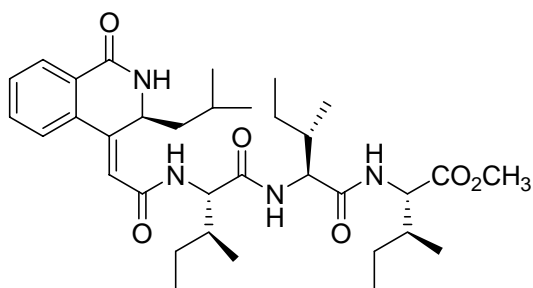
P.f.: 153-156 °C.

[α]_D = - 35.0 (c = 0.1, MeOH).

IR (KBr) ν : 3435, 2964, 2877, 1733, 1648, 1535, 1210.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.41 (*d*, *J* = 4.5, 1 H, NH-L-Giq²⁵³); 8.21 (*d*, *J* = 8.7, 1 H, NH-L-Ile[3]); 8.08 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, NH-L-Ile[1]); 7.96 (*d*, *J* = 8.6, 1 H, NH-L-Ile[2]); 7.88 (*dd*, *J* = 7.7, 1.0, 1 H, H-C(8')); 7.65-7.57 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.49 (*td*, *J* = 7.7, 1.5, 1 H, H-C(7')); 6.63 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.63 (*ddd*, *J* = 9.0, 4.5, 4.5, 1 H, H-C(3')); 4.32 (*t*, *J* = 8.7, 1 H, CH _{α} -L-Ile[3]); 4.21 (*t*, *J* = 8.6, 1 H, CH _{α} -L-Ile[2]); 4.15 (*t*, *J* = 7.8, 1 H, CH _{α} -L-Ile[1]); 3.56 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.80-1.58 (*m*, 4 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2], CH _{β} -L-Ile[3]); 1.44-1.28 (*m*, 4 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq,

CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]); 1.19-1.02 (*m*, 4 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Iiq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]); 0.86-0.75 (*m*, 24 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]).



RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 171.7, 171.2, 170.7 (CONH-L-Ile[1], CONH-L-Ile[2], =CH-CONH); 164.5, 162.3 (CONH-L-Giq, CO₂Me); 145.0 (C(4')); 135.2 (C(4a')); 132.3 (C(5') o C(6')); 129.6 (C(7')); 128.2 (C(8a')); 127.2 (C(8')); 124.3 (C(5') o C(6')); 118.7 (CH olefínico); 56.6, 56.5, 56.2 (CH _{α} -L-Ile[1], CH _{α} -L-Ile[2], CH _{α} -L-Ile[3]); 51.5 (CO₂Me); 47.9 (C(3')); 46.7 ([CH₂-CHMe₂] de L-Giq); 36.7, 36.5, 35.9 (CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2], CH _{β} -L-Ile[3]); 24.5, 24.3, 23.8 (CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2], CH₂-L-Ile[3]); 236, 21.6 (2 C, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq); 15.3, 15.2, 15.0, 10.9, 10.8 (6 C, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de L-Ile[3], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[3]).

ES (MS⁺) *m/e*: 613 ([*M* + H]⁺), 635 ([*M* + Na]⁺), 1226 ([2*M* + H]⁺), 1247 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₃₄H₅₂N₄O₆: C 66.64, H 8.55, N 9.14.

Encontrado: C 65.44, H 8.52, N 9.14.

***N*-[(*S,Z*)-(3-Isopropil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-valil-*L*-fenilalaninato de metilo (40).**

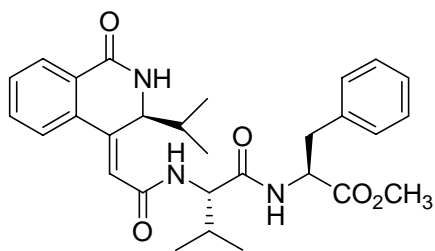
Se obtuvo con un rendimiento del 76% (307 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **29** y el péptido $\text{CF}_3\text{CO}_2^- \text{ }^+\text{H-L-Val-L-Phe-OCH}_3$. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (3:2 a 4:1). Sólido blanco.

P.f.: 179-183 °C.

$[\alpha]_{\text{D}} = -54.8$ ($c = 0.5$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 3435, 3273, 2693, 1742, 1655, 1532, 1213.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.27 (*d*, $J = 5.9$, 1 H, NH-L-Iiq²⁵³); 7.99 (*d*, $J = 6.9$, 1 H, H-C(8')); 7.44-7.00 (*m*, 10 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), NH-L-Ile, NH-L-Phe, H aromáticos de L-Phe); 6.08 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.54 (*t*, $J = 5.9$, 1 H, H-C(3')); 4.72 (*dd*, $J = -13.5, 6.8$, 1 H, CH_α -L-Phe); 4.49 (*dd*, $J = 9.1, 6.7$, 1 H, CH_α -L-Val); 3.65 (*s*, 3 H, CO_2Me); 2.93 (*dd*, $J = -13.5, 6.8$, 2 H, CH_β -L-Phe); 2.09 (*m*, 1 H, CH_β -L-Val); 1.82 (*m*, 1 H, [CH-Me₂] de L-Iiq); 1.05-0.81 (4 *d*, 12 H, Me₂ de L-Val, CH-Me₂ de L-Iiq).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl_3) δ : 172.0, 171.6 (CONH-L-Val, CO_2Me); 164.9, 164.7 (CONH-L-Iiq, =CH-CONH); 147.2 (C(4')); 135.8, 132.5, 129.6, 129.2, 128.4, 128.2, 127.4, 126.9, 123.5 (12 C, C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8a'), C(8'), C aromáticos de L-Phe); 119.0 (CH olefínico); 58.3 (CH_α -L-Phe); 55.9 (C(3')); 53.4 (CH_α -L-Val); 52.2 (CO_2Me); 37.5 (CH_β -L-Phe), 35.2 (CH-Me₂ de L-Iiq); 31.6 (CH_β -L-Val); 19.2, 18.2 (4 C, Me₂ de L-Val, CH-Me₂ de L-Iiq).

ES (ES^+) m/e : 506 ($[M + \text{H}]^+$), 528 ($[M + \text{Na}]^+$), 1011 ($[2M + \text{H}]^+$), 1033 ($[2M + \text{Na}]^+$).

AE: Calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_5$: C 68.89, H 6.98, N 8.31.

Encontrado: C 68.98, H 7.03, N 8.42

***N*-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-valil-*L*-fenilalaninato de metilo (**41**).**

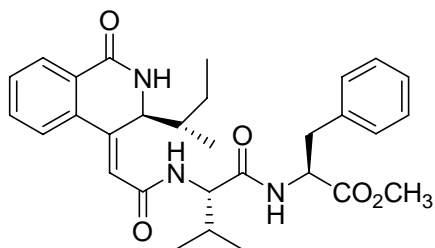
Se obtuvo con un rendimiento del 72% (217 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido $\text{CF}_3\text{CO}_2^- \text{ }^+\text{H-L-Val-L-Phe-OCH}_3$. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes AcOEt/hexano (2:3 a 3:2). Sólido blanco.

P.f.: 174-176 °C.

$[\alpha]_{\text{D}} = -129.0$ ($c = 0.5$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 3436, 2964, 1743, 1655, 1538.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.24 (*d*, $J = 4.6$, 1 H, NH-L-Biq²⁵³); 7.96 (*dd*, $J = 7.6$, 1.4, 1 H, H-C(8')); 7.37-7.03 (*m*, 10 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), NH-L-Ile, NH-L-Phe, H aromáticos de L-Phe); 6.06 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.57 (*dd*, $J = 7.3$, 4.9, 1 H, H-C(3')); 4.74 (*dd*, $J = -14.0$, 6.3, 1 H, CH_α -L-Phe); 4.48 (*dd*, $J = 9.1$, 6.6, CH_α -L-Val); 3.66 (*s*, 3 H, CO_2Me); 2.91 (*dd*, $J = -14.0$, 6.3, 2 H, CH_β -L-Phe); 2.11 (*m*, 1 H, CH_β -L-Val); 1.57-1.48 (*m*, 2 H, [Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq); 1.17-1.09 (*m*, 1 H, [Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq); 1.00 (*d*, $J = 6.7$, 3 H, Me_2 de L-Val); 0.96 (*d*, $J = 6.7$, 3 H, Me_2 de L-Val); 0.85 (*d*, $J = 6.7$, 3 H, [Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq); 0.80 (*t*, $J = 7.3$, 3 H, [Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl_3) δ : 172.0, 171.5 (CONH-L-Val , CO_2Me); 164.9, 164.6 ($=\text{CH-CONH}$, CONH-L-Biq); 147.2 (C(4')); 135.9, 135.7, 132.5, 129.6, 129.2, 128.5, 128.3, 127.4, 127.0, 123.6 (12 C, C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8a'), C(8'), C aromáticos de L-Phe); 119.1 (CH olefínico); 58.3 (CH_α -L-Phe); 55.0 (C(3')); 53.3 (CH_α -L-Val); 52.1 (CO_2Me); 41.3 ([Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq), 37.5 (CH_β -L-Phe), 31.6 (CH_β -L-Val); 24.7 ([Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq); 19.2, 18.2 (Me_2 de L-Val); 15.1 ([Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq); 11.3 ([Me-CH- CH_2CH_3] de L-Biq).

ES (ES^+) m/e : 520 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 542 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1039 ($[2\text{M} + \text{H}]^+$), 1061 ($[2\text{M} + \text{Na}]^+$).

AE: Calculado para $C_{30}H_{37}N_3O_5$: C 69.34, H 7.18, N 8.09.

Encontrado: C 68.99, H 7.00, N 7.93.

***N*-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-leucil-L-fenilalaninato de metilo (42).**

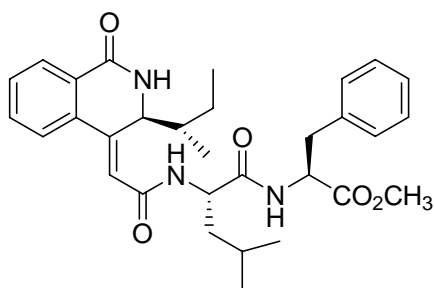
Se obtuvo con un rendimiento del 83% (257 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido $CF_3CO_2^- \ ^+H-L-Leu-L-Phe-OCH_3$. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (3:2 a 1:4). Sólido blanco.

P.f.: 185-188 °C.

$[\alpha]_D = -198.1$ ($c = 0.27$, $CHCl_3$).

IR (KBr) ν : 3420, 3271, 3058, 2960, 1746, 1657, 1277, 699.

RMN-¹H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.12 (*d*, $J = 4.9$, 1 H, NH-L-Biq²⁵³); 8.00 (*dd*, $J = 7.3$, 1.3, 1 H, H-C(8')); 7.38-7.01 (*m*, 10 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), NH-L-Leu, NH-L-Phe, H aromáticos de L-Phe); 5.99 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.56 (*dd*, $J = 7.2$, 4.8, 1 H, H-C(3')); 4.71-4.60 (*m*, 2 H, CH_α -L-Phe, CH_α -L-Leu); 3.62 (*s*, 3 H, CO_2Me); 2.98 (*dd*, $J = -13.9$, 6.1, 1 H, CH_β -L-Phe); 2.87 (*dd*, $J = -13.9$, 6.6, 2 H, CH_β -L-Phe); 1.74-1.44 (*m*, 5 H,



CH_β -L-Leu, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 1.07-1.17 (*m*, 1 H, [CH-Me₂] de L-Leu); 0.95 (*d*, $J = 6.1$, 3 H, [CH-Me₂] de L-Leu); 0.92 (*d*, $J = 6.4$, 3 H, [CH-Me₂] de L-Leu); 0.85 (*d*, $J = 6.8$, 3 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 0.79 (*t*, $J = 7.3$, 3 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

RMN-¹³C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 172.5, 171.9, 164.8, 164.8, 164.6 (CO_2Me , CONH-L-Leu, CONH-L-Phe, CONH-L-Biq); 147.3 (C(4')); 135.9, 135.8, 132.5, 129.7, 129.3, 128.4, 128.3, 127.5, 126.9, 123.5 (12 C, C aromáticos de L-Phe, C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a')); 118.9 (CH olefínico); 55.2 (C(3')); 53.3 (CO_2Me); 52.2, 51.6 (CH_α -L-Phe, CH_α -L-Leu); 41.7 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 41.5 (CH_β -L-Leu); 37.5 (CH_β -L-Phe); 24.8 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 24.6 ([CH-

Me₂] de L-Leu); 22.8, 22.1 ([CH-Me₂] de L-Leu); 15.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 11.3 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

ES (ES⁺) m/e: 534 ([M + H]⁺), 556 ([M + Na]⁺), 1067 ([2M + H]⁺), 1089 ([2M + Na]⁺).

AE Calculado para C₃₁H₃₉N₃O₅: C 69.77, H 7.37, N 7.87.

Encontrado: C 69.16, H 7.74, N 7.99.

***N*-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-fenilalanil-*L*-fenilalaninato de metilo (43).**

Se obtuvo con un rendimiento del 82% (270 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Phe-L-Phe-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (2:3 a 3:2). Sólido blanco.

P.f.: 131-134 °C.

[α]_D = - 207.9 (c = 0.14, CHCl₃).

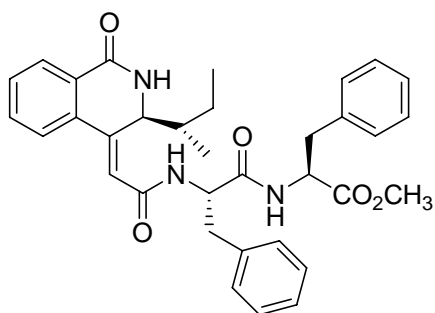
IR (KBr) v: 3411, 3274, 3058, 2929, 1743, 1656, 1213, 744, 699.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.02 (*dd*, *J* = 7.6, 1.5, 1 H, H-C(8′)); 7.75 (*d*, *J* = 4.6, 1 H, CONH-L-Biq²⁵³); 7.42-6.99 (*m*, 14 H, NH-L-Phe[1], H-C(5′), H-C(6′), H-C(7′), H

aromáticos L-Phe[1], H aromáticos L-Phe[2]); 6.79 (*d*, *J* = 7.6, 1 H, NH-L-Phe[2]); 5.96 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.48 (*dd*, *J* = 7.2, 5.1, 1 H, H-C(3′)); 4.78 (*dd*, *J* = 15.5, 7.5, 1 H, CHα-L-Phe[1]); 4.70 (*dd*, *J* = 13.8, 6.5, 1 H, CHα-L-Phe[2]); 3.65 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.17-2.82 (*m*, 4 H, CHβ-L-Phe[1], CHβ-L-Phe[2]); 1.56-1.04 (*m*, 3 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq);

0.88 (*m*, 6 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 171.6, 171.2, 164.6, 164.5 (CO₂Me, CONH-L-Biq, CONH-L-Phe[1], CONH-L-Phe[2]); 147.2 (C(4′)); 136.6, 135.5, 135.6, 132.5, 129.4, 129.3, 129.2, 128.5, 128.4, 128.2, 127.4, 126.9, 126.8, (17 C, C aromáticos de L-Phe[1], C aromáticos de L-Phe[2], C(4a′), C(5′), C(6′), C(8′), C(8a′)); 123.5 (C(7′)); 118.7 (CH



olefinico); 55.2 (C(3')); 54.4, 53.5 (CH α -L-Phe[1], CH α -L-Phe[2]); 52.2 (CO₂Me); 44.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 38.6, 37.6 (CH β -L-Phe[1], CH β -L-Phe[2]); 24.5 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 15.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 11.3 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

ES (ES⁺) m/e: 568 ([M + H]⁺), 590 ([M + Na]⁺), 1135 ([2M + H]⁺), 1157 ([2M + Na]⁺).

AE Calculado para C₃₄H₃₇N₃O₅: C 71.94, H 6.57, N 7.40.

Encontrado: C 71.90, H 6.61, N 7.23.

***N*-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-leucil-L-fenilalanil-L-aspartato de dimetilo (44).**

Se obtuvo con un rendimiento del 81% (384 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Leu-L-Phe-L-Asp-(OCH₃)₂. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:1 a 1:4). Sólido blanco.

P.f.: 120-124 °C.

[α]_D = - 205.4 (c = 0.26, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3436, 3290, 3058, 2957, 1743, 1657, 1535, 1216.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.04 (*dd*, *J* = 7.6, 1.7, 1 H, H-C(8')); 7.85 (*s ancho*, 1 H, NH-L-Phe); 7.63 (*d*, *J* = 7.3, 1 H, NH-L-Biq²⁵³); 7.46-7.00 (*m*, 8 H, H-C(5'), H-C(6'), H-

C(7'), H aromáticos de L-Phe); 6.91 (*d*, *J*

= 8.3, 1 H, NH-L-Asp); 6.51 (*d*, *J* = 8.5, 1

H, NH-L-Leu); 5.97 (*s*, 1 H, H olefinico);

5.56 (*dd*, *J* = 7.8, 4.6, 1 H, H-C(3'));

4.78 (*m*, 1 H, CH α -L-Asp); 4.67 (*m*, 1 H, CH α -

L-Leu); 4.63 (*m*, 1 H, CH α -L-Phe); 3.67

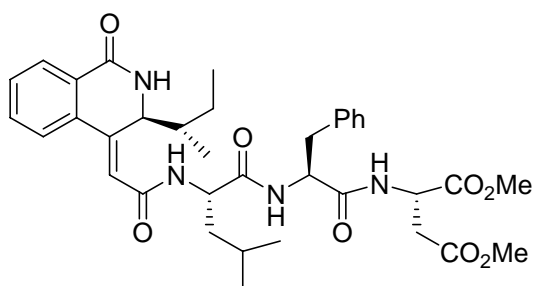
(*s*, 3 H, CO₂Me); 3.66 (*s*, 3 H, CO₂Me);

3.13-3.09 (*m*, 1 H, CH β -L-Phe); 2.98-2.89

(*m*, 2 H, CH β -L-Asp, CH β -L-Phe); 2.82-2.79 (*m*, 1 H, CH β -L-Asp); 1.65-1.51 (*m*, 4 H,

CH β -L-Leu, [CH-Me₂] de L-Leu, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 1.17-1.05 (*m*, 2 H, [Me-

CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 0.97 (*d*, *J* = 5.4, 3 H, [CH-Me₂] de L-Leu); 0.95 (*d*, *J* = 6.3, 3 H,



[CH-Me₂] de L-Leu); 0.84 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 0.81 (*t*, *J* = 7.6, 3 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 172.3, 171.3, 170.8, 170.7, 164.7, 164.5 (CONH-L-Biq, CONH-L-Asp, CONH-L-Phe, CONH-L-Leu, CO₂Me, CO₂Me); 147.7 (C(4')); 136.5, 135.9, 132.7, 129.8, 129.3, 128.4, 128.2; 127.6, 126.7, 123.6 (12 C, C aromáticos de L-Phe, C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a')); 118.8 (CH olefinico); 54.9 (C(3')); 54.8 (CH_α-L-Phe); 52.7, 52.1 (CO₂Me, CO₂Me); 51.7 (CH_α-L-Leu); 48.6 (CH_α-L-Asp); 41.8 (CH_β-L-Leu); 41.3 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 37.5 (CH_β-L-Phe); 35.9 (CH_β-L-Asp); 24.9, 24.8 ([CH-Me₂] de L-Leu, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 22.8, 22.0 ([CH-Me₂] de L-Leu); 15.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 11.4 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

ES (ES⁺) *m/e*: 663 ([*M* + H]⁺), 685 ([*M* + Na]⁺), 1325 ([2*M* + H]⁺), 1347 ([2*M* + Na]⁺).

AE Calculado para C₃₆H₄₆N₄O₈: C 65.24, H 7.00, N 8.45.

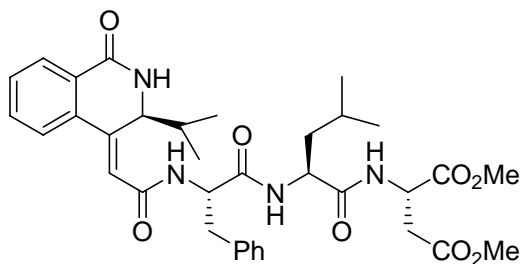
Encontrado: C 65.23, H 7.04, N 8.45.

***N*-[(*S,Z*)-(3-Isopropil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-fenilalanil-L-leucil-L-aspartato de dimetilo (45).**

Se obtuvo con un rendimiento del 67% (252 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **29** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Phe-L-Leu-L-Asp-(OCH₃)₂. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:1 a 1:4). Sólido blanco.

P.f.: 132-136 °C

[α]_D = - 168.4 (c = 0.40, CHCl₃).



IR (KBr) *v*: 3413, 3057, 1742, 1653, 1528, 1214, 699.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.97 (*dd*, *J* = 7.3, 1.5, 1 H, H-C(8')); 7.89 (*d*, *J* = 3.9, 1 H, NH-L-Iiq²⁵³); 7.71 (*d*, *J* = 6.8, 1 H, NH-L-Leu); 7.45-7.16 (*m*, 8 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), H aromáticos de L-Phe);

6.98 (*d*, *J* = 8.1, 1 H, NH-L-Asp); 6.81 (*d*, *J* = 8.3, 1 H, NH-L-Phe); 5.96 (*s*, 1 H, H

olefinico); 5.47 (*m*, 1 H, H-C(3')); 5.15 (*dd*, $J = 14.4, 8.2$, 1 H, CH α -L-Phe); 4.80 (*m*, 1 H, CH α -L-Asp); 4.36 (*dd*, $J = 13.6, 7.4$, 1 H, CH α -L-Leu); 3.71 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.69 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.21-2.81 (*m*, 4 H, CH β -L-Phe, CH β -L-Asp); 1.68-1.21 (*m*, 4 H, CH β -L-Leu, [CH-Me₂] de L-Leu, [CH-Me₂] de L-Iiq); 0.79-0.72 (*m*, 12 H, [CH-Me₂]de L-Leu, [CH-Me₂] de L-Iiq).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 171.8, 171.5, 171.4, 170.9, 164.5, 164.3 (CONH-L-Iiq, CONH-L-Phe, CONH-L-Asp, CONH-L-Leu, CO₂Me, CO₂Me); 147.2 (C(4')); 136.6 (C(4a')); 135.7, 132.6, 129.8, 129.3, 128.5, 128.2, 127.5, 126.8, 123.6 (C aromáticos de L-Phe, C(5'), C(6'), C(7'), C(8a'), C(8')); 118.5 (CH olefinico); 55.7 (C(3')); 54.1 (CH α -L-Phe), 52.8 (CH α -L-Leu); 52.1, 52.2 (CO₂Me, CO₂Me); 48.5 (CH α -L-Asp); 40.5 (CH β -L-Leu); 38.9 (CH β -L-Phe); 35.9 ([CH-Me₂] de L-Iiq); 34.9 (CH β -L-Asp); 24.4 ([CH-Me₂] de L-Leu); 22.6, 21.8 ([CH-Me₂] de L-Leu); 19.1, 18.3 ([CH-Me₂] de L-Iiq).

ES (ES⁺) *m/e*: 649 ([M + H]⁺), 671 ([M + Na]⁺), 1297 ([2M + H]⁺), 1319 ([2M + Na]⁺).

AE Calculado para C₃₅H₄₄N₄O₈: C 64.80, H 6.84, N 8.64.

Encontrado: C 64.50, H 7.17, N 8.42.

***N*-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-fenilalanil-L-leucil-L-aspartato de dimetilo (46).**

Se obtuvo con un rendimiento del 43% (165 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Phe-L-Leu-L-Asp-(OCH₃)₂. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:1 a 1:4). Sólido blanco.

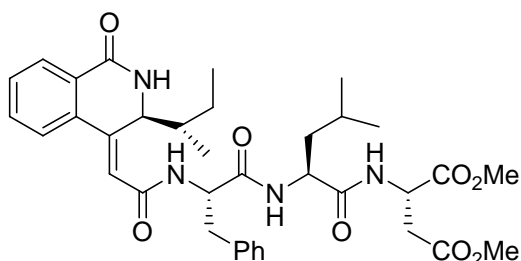
P.f.: 119-123 °C.

[α]_D = -155.2 (*c* = 0.25, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 3421, 3057, 2958, 2958, 1742, 1654, 1521, 1214.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 8.06 (*d*, $J = 4.7$, 1 H, NH-L-Biq²⁵³); 7.96 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.84 (*d*, $J = 7.2$, 1 H, NH-L-Leu); 7.44-6.97 (*m*, 10 H, NH-L-Phe, NH-L-Asp, H aromáticos de L-Phe, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 5.98 (*s*, 1 H, H olefinico); 5.54 (*dd*, $J = 7.9, 4.9$, 1 H, H-C(3')); 5.06 (*m*, 1 H, CH α -L-Phe); 4.79 (*m*, 1 H, CH α -L-Asp); 4.36 (*m*, 1 H, CH α -L-Leu); 3.71 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.68 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.17 (*dd*, $J = -13.9, 5.7$, 1

H, $\text{CH}_\beta\text{-L-Phe}$); 3.06-2.96 (*m*, 2 H, $\text{CH}_\beta\text{-L-Asp}$, $\text{CH}_\beta\text{-L-Phe}$); 2.83 (*m*, 1 H, $\text{CH}_\beta\text{-L-Asp}$); 1.59-0.93 (*m*, 6 H, $\text{CH}_\beta\text{-L-Leu}$, $[\text{CH-Me}_2]$ de L-Leu, $[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq, $[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq); 0.79-0.65 (*m*, 12 H, $[\text{CH-Me}_2]$ de L-Leu, $[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq, $[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq).



RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 171.8, 171.5, 171.4, 170.9, 164.5, 164.3 (CONH-L-Biq, CONH-L-Asp, CONH-L-Phe, CONH-L-Leu, CO_2Me , CO_2Me); 147.8 ($\text{C}(4')$); 136.7 ($\text{C}(4a')$); 135.9, 132.6, 129.8, 129.4, 128.4, 128.3, 127.5, 126.8, 123.8 (11 C, C aromáticos de L-Phe, $\text{C}(5')$,

$\text{C}(6')$, $\text{C}(7')$, $\text{C}(8')$, $\text{C}(8a')$); 118.7 (CH olefínico); 54.7 ($\text{C}(3')$); 54.0 ($\text{CH}_\alpha\text{-L-Phe}$); 52.8, 52.2 (CO_2Me , CO_2Me); 52.1 ($\text{CH}_\alpha\text{-L-Leu}$); 48.5 ($\text{CH}_\alpha\text{-L-Asp}$); 41.1 ($[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq); 40.5 ($\text{CH}_\beta\text{-L-Leu}$); 39.0 ($\text{CH}_\beta\text{-L-Phe}$); 35.9 ($\text{CH}_\beta\text{-L-Asp}$); 24.8 ($[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq); 24.4 ($[\text{CH-Me}_2]$ de L-Leu); 22.7, 21.8 ($[\text{CH-Me}_2]$ de L-Leu); 14.9 ($[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq); 11.4 ($[\text{Me-CH-CH}_2\text{-CH}_3]$ de L-Biq).

ES (ES^+) *m/e*: 663 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 685 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1325 ($[\text{2M} + \text{H}]^+$), 1347 ($[\text{2M} + \text{Na}]^+$).

AE Calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{46}\text{N}_4\text{O}_8$: C 65.24, H 7.00, N 8.45.

Encontrado: C 65.19, H 7.33, N 8.35.

***N* $_\alpha$ -[(*S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*N* $_\gamma$ -[(*S*)-3-metil-1-(metoxicarbonil)butil]-L-asparaginil-L-leucinato de metilo (47).**

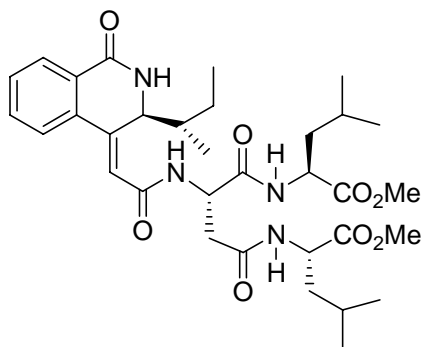
Se obtuvo con un rendimiento del 70% (255 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido $\text{CF}_3\text{CO}_2^- \text{ } ^+\text{H-L-Asn(L-Leu-OCH}_3\text{)-L-Leu-OCH}_3$. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:1 a 1:4). Sólido blanco.

P.f.: 114-118 °C.

$[\alpha]_D$ = - 170.8 (*c* = 0.21, CHCl_3).

IR (KBr) *v*: 3315, 3055, 2959, 1743, 1659, 1534, 1273, 1208, 1155.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.99-7.95 (*m*, 2 H, H-C(8'), NH-L-Asn); 7.89 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, NH-L-Leu); 7.61 (*d*, *J* = 4.4, 1 H, NH-L-Biq²⁵³); 7.35-7.22 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'));



6.68 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, NH-L-Leu); 6.06 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.45 (*dd*, *J* = 6.7, 4.8, H-C(3')); 4.88 (*m*, 1 H, CH_α-L-Asn); 4.58 (*m*, 2 H, CH_α-L-Leu[1], CH_α-L-Leu[2]); 3.74 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.69 (*s*, 3 H, CO₂Me); 2.92 (*dd*, *J* = -14.9, 4.2, 1 H, CH_β-L-Asp); 2.68 (*dd*, *J* = -14.9, 6.8, 1 H, CH_β-L-Asn); 1.78-1.51 (*m*, 5 H, [CH-Me₂] de L-Leu[1], [CH-Me₂] de L-Leu[2], [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 1.36-0.99

(*m*, 4 H, CH_β-L-Leu[1], CH_β-L-Leu[2]); 0.97-0.89 (*m*, 12 H, [CH-Me₂] de L-Leu[1], [CH-Me₂] de L-Leu[2]); 0.85 (*d*, *J* = 6.8, 3 H [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 0.74 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 173.9, 173.6, 171.5, 170.7, 164.7, 164.6 (CO₂Me, CO₂Me, CONH-L-Biq, CONH-L-Asn, CONH-L-Phe[1], CONH-L-Phe[2]); 146.6 (C(4')); 135.6, 132.4, 129.5, 127.9, 127.2, 123.3 (C(4a'), C(5'), C(6'), C(8'), C(8a'), C(7')); 118.9 (CH olefínico); 55.4 (C(3')); 52.4, 52.3 (CO₂Me, CO₂Me); 51.2, 51.1 (CH_α-L-Leu[1], CH_α-L-Leu[2]); 49.9 (CH_α-L-Asn); 41.6 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 40.8, 40.5 ([CH-Me₂] de L-Leu[1], [CH-Me₂] de L-Leu[2]); 37.4 (CH_β-L-Asn); 24.7, 24.6 (CH_β-L-Leu[1], CH_β-L-Leu[2]); 24.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 22.9, 22.8, 21.7, 21.6 ([CH-Me₂] de L-Leu[1], [CH-Me₂] de L-Leu[2]); 15.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 11.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

ES (ES⁺) *m/e*: 629 ([*M* + H]⁺), 651 ([*M* + Na]⁺), 1257 ([2*M* + H]⁺), 1279 ([2*M* + Na]⁺).

AE Calculado para C₃₄H₅₂N₄O₈: C 63.33, H 8.13, N 8.69.

Encontrado: C 63.07, H 7.94, N 8.71.

***N*_α-[(*S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*N*_γ-[(*S*)-2-fenil-1-(metoxicarbonil)etil]-L-asparaginil-L-fenilalaninato de metilo (48).**

Se obtuvo con un rendimiento del 63% (254 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **30** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Asn(L-Phe-

OCH₃)-L-Phe-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (2:3 a 1:4). Sólido blanco.

P. f.: 101-105 °C.

[α]_D = -105.2 (c = 0.14, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3296, 3057, 2927, 1743, 1658, 1528, 1214, 745, 701.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.09 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.71 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, NH-L-Phe[1]); 7.58 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, NH-L-Phe[2]); 7.49-7.10 (*m*, 13 H, H-C(5'), H-C(6'), H-

C(7'), H aromáticos L-Phe[1], H aromáticos L-

Phe[2]); 6.82 (*d*, *J* = 4.6, 1 H, CONH-L-Biq²⁵³);

6.44 (*d*, *J* = 7.6, 1 H, NH-L-Asn); 6.10 (*s*, 1 H, H

olefinico); 5.49 (*dd*, *J* = 6.9, 4.8, 1 H, H-C(3'));

4.86-4.74 (*m*, 3 H, CH_α-L-Asn, CH_α-L-Phe[1],

CH_α-L-Phe[2]); 3.72 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.69 (*s*, 3

H, CO₂Me); 3.15-3.02 (*m*, 4 H, CH_β-L-Phe[1],

CH_β-L-Phe[2]); 2.87 (*dd*, *J* = -15.3, 6.8, 1 H,

CH_β-L-Asn); 2.56 (*dd*, *J* = -15.4, 6.6, 1 H, CH_β-L-Asn); 1.65-1.56 (*m*, 1 H, [Me-CH-CH₂-

CH₃] de L-Biq); 1.43-1.04 (*m*, 2 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 0.86 (*d*, *J* = 6.8, 3 H,

[Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 0.78 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, [Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 172.1, 171.8, 171.2, 170.3, 164.8, 164.5 (CONH-L-Biq,

CONH-L-Asn, CONH-L-Phe[1], CONH-L-Phe[2], CO₂Me, CO₂Me); 146.7 (C(4'));

135.7, 135.6, 135.5, 132.4, 129.5, 129.2, 129.1, 128.5, 128.4, 127.9, 127.3, 126.9, 126.8,

123.4 (10 C, C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'), C aromáticos de L-Phe[1],

aromáticos de L-Phe[2]); 118.9 (CH olefinico); 55.3 (C(3'));

53.8, 53.5 (CH_α-L-Phe[1], CH_α-L-Phe[2]); 52.2, 52.1 (CO₂Me, CO₂Me); 49.6 (CH_α-L-Asn); 41.6 ([Me-CH-CH₂-CH₃]

de L-Biq); 37.6, 37.5, 37.4 (CH_β-L-Phe[1], C_β-L-Phe[2]), CH_β-L-Asn); 24.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃]

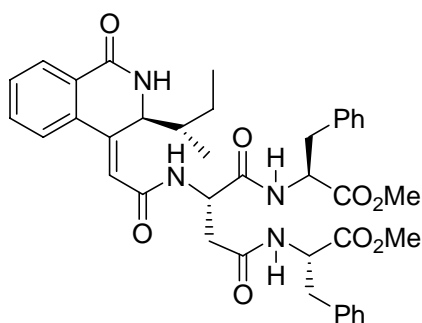
de L-Biq); 15.1 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-Biq); 11.3 ([Me-CH-CH₂-CH₃] de L-

Biq).

ES (ES⁺) m/e: 697 ([M + H]⁺), 719 ([M + Na]⁺), 1393 ([2M + H]⁺), 1415 ([2M + Na]⁺).

AE Calculado para C₃₄H₄₄N₄O₈: C 67.23, H 6.36, N 8.04.

Encontrado: C 67.25, H 6.29, N 7.81.



Síntesis de los híbridos péptido-isoquinolina 32 y 33. procedimiento general.

A una disolución de los híbridos péptido-isoquinolina 32 o 33 (1.0 mmol) en una mezcla 1:1 de THF-H₂O (3.2 mL) a temperatura ambiente se añadió una solución de LiOH (26.8 mg, 0.64 mmol) en H₂O (0.64 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche, y a continuación se acidificó con HCl 5% hasta pH = 2. Se eliminó el THF a vacío y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 × 25 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el correspondiente producto bruto, que se purificó por recristalización de AcOEt/hexano.

***N*-[(*S,Z*)-(3-Metil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-isoleucil-*L*-isoleucina (49).**

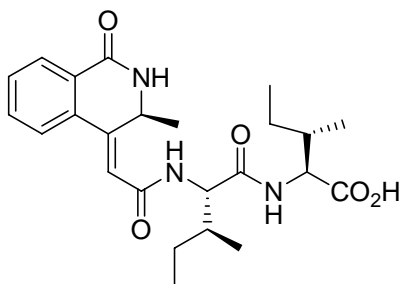
Se obtuvo con un rendimiento del 98% (139 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de 32. Sólido blanco.

P.f.: 151-154 °C.

[α]_D = - 203.3 (c = 0.15, MeOH).

IR (KBr) v: 3436, 2966, 1648, 1539, 1215.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.24-8.21 (*m*, 2 H, NH-L-Miq²⁵³, NH-L-Ile[2]); 8.07-8.03 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, NH-L-Ile[1]); 7.94 (*dd*, *J* = 7.6, 1.2, 1 H, H-C(8')); 7.7 (*d*, *J* = 7.3, 1 H, H-C(5')); 7.62 (*td*, *J* = 7.3, 1.5, 1 H, H-C(6')); 7.53 (*td*, *J* = 7.6, 1.2, 1 H, H-C(7')); 6.71 (*s*, 1 H, H olefinico); 5.65 (*m*, 1 H, H-C(3')); 4.38 (*t*, *J* = 8.0, 1 H, CH_α-L-Ile[2]); 4.12 (*dd*, *J* = 7.8, 1.7, 1 H, CH_α-L-Ile[1]); 1.83-1.75 (*m*, 2 H, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 1.49-1.41 (*m*, 2 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 1.39-1.10 (*m*, 2 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 1.16 (*d*, *J* = 6.3, 3 H, Me de L-Miq); 0.88-0.80 (*m*, 12 H, [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2], [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1]).



RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 172.8, 171.1 (CO₂H, CONH-L-Ile[2]); 164.4, 161.9 (=CH-CONH, CONH-L-Iiq); 145.0 (C(4')); 134.3 (C(4a')); 132.4 (C(6')); 129.8 (C(8a')); 127.9 (C(7')); 127.2 (C(8')); 124.4 (C(5')); 118.4 (CH olefínico); 56.4 (2 C, CH _{α} -L-Ile[1], CH _{α} -L-Ile[2]); 45.9 (C(3')); 36.9, 36.1 (CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2]); 24.7, 24.2 (CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 23.8 (Me de L-Miq); 15.5, 15.3, 11.3, 11.1 ([CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

ES (ES⁺) *m/e*: 444 ([*M* + H]⁺), 466 ([*M* + Na]⁺), 887 ([2*M* + H]⁺), 909 ([2*M* + Na]⁺).

***N*-[(*S,Z*)-(3-Isopropil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-L-isoleucil-L-isoleucina (50).**

Se obtuvo con un rendimiento del 96% (145 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **33**. Sólido blanco.

P.f.: 168-171 °C (con reblandecimiento previo).

[α]_D = -251.0 (c = 0.5, MeOH).

IR (KBr) ν : 3434, 2965, 1650, 1535, 1465, 1255, 1208.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 8.43 (*d*, *J* = 4.6, 1 H, NH-L-Iiq²⁵³); 8.25 (*d*, *J* = 8.8, 1 H, NH-L-Ile[2]); 8.03 (*d*, *J* = 7.5, 1 H, NH-L-Ile[1]); 7.91 (*dd*, *J* = 7.5, 1.2, 1 H, H-C(8'));

7.68-7.58 (*m*, 2 H, H-C(5'), H-C(6')); 7.51 (*td*, *J* =

8.4, 1.2, 1 H, H-C(7')); 6.74 (*s*, 1 H, H olefínico);

5.43 (*dd*, *J* = 6.4, 4.6, 1 H, H-C(3'));

4.39 (*t*, *J* = 8.8, 1 H, CH _{α} -L-Ile[2]);

4.12 (*dd*, *J* = 7.5, 1.6, 1 H, CH _{α} -L-Ile[1]);

1.82-1.70 (*m*, 2 H, CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2]);

1.68-1.58 (*m*, 1 H, [CH-Me₂] de L-Iiq);

1.53-1.38 (*m*, 2 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]);

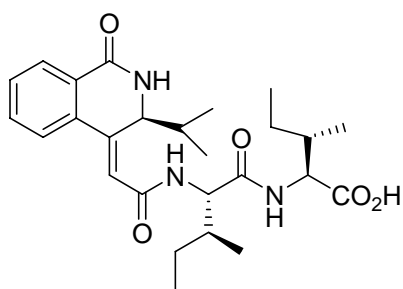
1.38-1.09 (*m*, 2 H, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]);

0.88-0.80 (*m*, 12 H, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]);

0.76 (*d*, *J* = 6.7, 3 H, [CH-Me₂] de L-Iiq);

0.76 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, [CH-Me₂] de L-Iiq).

RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 173.0, 171.0 (CO₂H, CONH-L-Ile[2]); 164.7, 162.7 (=CH-CONH, CONH-L-Iiq); 144.0 (C(4')); 136.0 (C(4a')); 132.4, 123.7 (C(5'), C(6'));



129.6 (C(8a')); 128.6 (C(7')); 127.0 (C(8')); 120.3 (CH olefínico); 56.6 (CH_α-L-Ile[1]); 56.4 (CH_α-L-Ile[2]); 54.6 (C(3')); 36.8, 36.3 (CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 35.2 ([CH-Me₂] de L-Iiq); 24.8, 24.2 (CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 19.2, 18.2 ([CH-Me₂] de L-Iiq), 15.6, 15.3, 11.4, 10.9 ([CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

ES (ES⁺) m/e: 472 ([M + H]⁺), 494 ([M + Na]⁺), 943 ([2M + H]⁺), 966 ([2M + Na + H]⁺).

AE: Calculado para C₂₆H₃₇N₃O₅: C 66.22, H 7.91, N 8.91.

Encontrado: C 66.30, H 7.90, N 8.90.

2.5.4.- SÍNTESIS DE DERIVADOS DE ÁCIDOS (1-OXOISOQUINOL-4-ILIDEN)ACÉTICOS.

2.5.4.1.- Procedimiento para la N-metilación de 24.

A una disolución de **24** (41 mg, 0.15 mmol) en THF anhidro (0.5 mL) a -78 °C bajo argón se añadió gota a gota una disolución comercial de *n*-BuLi 2M en THF (0.13 mL, 0.17 mmol). La mezcla se agitó hasta 0 °C, se añadió MeI (27 μL, 0.45 mmol), y seguidamente se agitó hasta temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se diluyó la reacción con CH₂Cl₂ (5 mL) y se extrajo con agua (3 × 10 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (3:1 a 1:1).

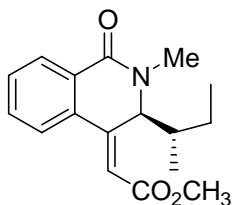
(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-2-metil-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (**51**).

Se obtuvo con un rendimiento del 28% (12 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente a partir de **24**. Aceite incoloro.

[α]_D = - 293.2. (c = 0.28, CHCl₃).

IR (KBr) ν: 3435, 1713, 1669, 1564, 1197, 1162, 774.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.09 (*m*, 1 H; H-C(8')); 7.48 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.25 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.49 (*d*, *J* = 7.6, 1 H, H-C(3')); 3.77 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.24 (*s*, 3 H, NMe); 1.61 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.45 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.15 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 0.84 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C((3'))); 0.69 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(1')).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 166.1 (CONH); 163.1 (CO₂Me); 151.2 (C(4')); 135.4 (C(4a')); 132.1, 130.5 (C(5') o C(6') o C(7')); 129.4 (C(8a')); 128.0 (C(8')); 123.5 (C(5') o C(6') o C(7')); 116.2 (C(2)); 62.8 (C(3')); 51.5 (CO₂Me); 40.8 (C(1')); 37.1 (NMe); 25.3 (C(2')); 15.1 (Me-C(1')); 11.0 (C(3')).

ES (ES⁺) *m/e*: 279 ([*M* + H]⁺), 301 ([*M* + Na]⁺), 557 ([2*M* + H]⁺), 580 ([2*M* + H + Na]⁺).

2.5.4.2.- Síntesis de ésteres del ácido 30. Procedimiento general.

A una suspensión del ácido **30** (100 mg, 0.38 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL) a 0 °C se le añadió gota a gota SOCl₂ (0.28 mL, 3.8 mmol), la mezcla se agitó hasta temperatura ambiente y a continuación se calentó a reflujo durante aproximadamente 1 h. Seguidamente se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose un aceite que se disolvió en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL), al que se añadió bajo argón el alcohol correspondiente (0.76 mmol para los monoalcoholes y 0.15 mmol para los dioles) disuelto en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo argón durante 1 hora. A continuación se diluyó la reacción con CH₂Cl₂ (50 mL) y se extrajo con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 × 50 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (4:1 a 1:1). Los rendimientos indicados a continuación se refieren al conjunto de las dos etapas (formación del cloruro de ácido y síntesis de los ésteres).

(S,S,Z)-(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de isopropilo (53).

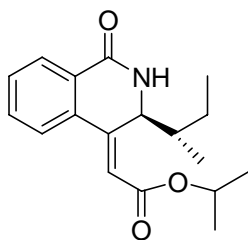
Se obtuvo con un rendimiento del 71% (81 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Aceite incoloro.

$[\alpha]_D = -341.8$ (c = 0.25, MeOH).

HPLC: Tiempo de retención: 21.27 min.

IR (KBr) v: 3429, 2968, 2876, 1708, 1672, 1372, 1181, 1107, 775.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.09 (m, 1 H; H-C(8')); 7.55 (m, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.97 (s ancho, 1 H, NH); 6.28 (s, 1 H, H-C(2)); 5.44 (dd, J = 4.5, 2.4, 1 H, H-C(3')); 5.07 (sep, J = 6.2, 1 H, CHMe₂); 1.58 (m, 1 H, H-C(1')); 1.43 (m, 1 H, H_a-C(2')); 1.28 (d, J = 6.2, 3 H, CO₂CHMe₂); 1.26 (d, J = 6.2, 3 H, CO₂CHMe₂); 1.15 (m, 1 H, H_b-C(2')); 0.86 (d, J = 6.8, 3 H, Me-C(1')); 0.78 (t, J = 7.4, 3 H, H-C(3')).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 165.0 (CONH); 164.0 (CO₂CHMe₂); 149.8 (C(4')); 135.5 (C(4a')); 132.6, 130.4 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.4 (C(8a')); 127.9 (C(8')); 123.8 (C(5') o C(6') o C(7')); 117.5 (C(2)); 67.8 (CO₂CHMe₂); 55.8 (C(3')); 41.5 (C(1')); 24.4 (C(2')); 21.9 (CO₂CHMe₂); 15.1 (Me-C(1')); 11.0 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 302 ([M + H]⁺), 324 ([M + Na]⁺), 603 ([2M + H]⁺), 625 ([2M + H + Na]⁺).

(S,S,Z)-(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de butilo (54).

Se obtuvo con un rendimiento del 69% (82 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

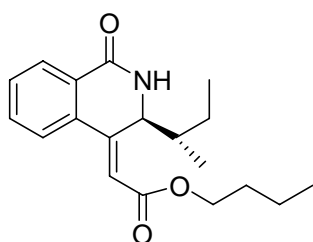
P.f.: 110-112 °C.

$[\alpha]_D = -316.6$ (c = 0.5, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 23.69 min.

IR (KBr) v: 3467, 3311, 2927, 1707, 1667, 1599, 1186, 770.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.14 (*m*, 1 H; H-C(8')); 7.59 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.48 (*s ancho*, 1 H, NH); 6.35 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.46 (*dd*, *J* = 6.8, 3.4, 1 H, H-C(3')); 4.18 (*t*, *J* = 6.7, 2 H, CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.73-1.59 (*m*, 3 H, H-C(1'), CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.50-1.42 (*m*, 3 H, H_a-C(2'), CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 1.18 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 0.96 (*t*, *J* = 7.4, 3 H, CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 0.88 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(1')); 0.82 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C(3')).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 165.6 (CONH); 164.7 (CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 150.2 (C(4')); 135.5 (C(4a')); 132.8, 130.5 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.1 (C(8a')); 126.9 (C(8')); 123.9 (C(5') o C(6') o C(7')); 117.0 (C(2)); 64.4 (CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 55.9 (C(3')); 41.5 (C(1')); 39.6 (CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 24.4 (C(2')); 19.2

(CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 15.1 (Me-C(1')); 13.7 (CO₂CH₂CH₂CH₂CH₃); 11.0 (C(3')).

ES (ES⁺) *m/e*: 316 ([*M* + H]⁺), 338 ([*M* + Na]⁺), 631 ([2*M* + H]⁺), 653 ([2*M* + Na]⁺).

AE Calculado para C₁₉H₂₅NO₃: C 72.35, H 7.99, N 4.44.

Encontrado: C 72.31, H 7.70, N 4.22.

(S,S,Z)-(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de bencilo (55).

Se obtuvo con un rendimiento del 50% (69 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Aceite transparente.

P.f.: 53-54 °C.

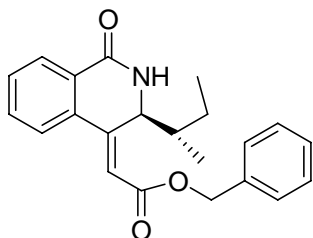
[α]_D = - 178.5 (c = 0.005, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 23.69 min.

IR (KBr) *v*: 3435, 2927, 1710, 1669, 1159, 1028, 767, 695.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.14 (*m*, 1 H; H-C(8')); 7.56 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 7.39 (*m*, 5 H, CO₂CH₂Ph); 6.86 (*d ancho*, *J* = 4.3, 1 H, NH); 6.40 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.46 (*dd*, *J* = 7.1, 4.3, 1 H, H-C(3')); 5.22 (*s*, 2 H, CO₂CH₂Ph); 1.61 (*m*, 1 H, H-

C(1''); 1.44 (*m*, 1 H, H_a-C(2'')); 1.14 (*m*, 1 H, H_b-C(2'')); 0.87 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(1'')); 0.81 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C(3'')).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 165.2 (CONH); 163.8 (CO₂CH₂Ph); 150.9 (C(4')); 135.6 (C(4a')); 135.4 (C(Ph)); 132.7, 130.6 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.6, 128.5, 128.4, 128.3, 128.1 (7 C, C(8'), C(8a'), C(Ph)); 123.9 (C(5') o C(6') o C(7')); 116.5 (C(2)); 66.3 (CO₂CH₂Ph); 55.9 (C(3')); 41.5 (C(1'')); 24.4 (C(2'')); 15.1 (Me-C(1'')); 11.1 (C(3'')).

ES (ES⁺) *m/e*: 350 ([*M* + H]⁺), 372 ([*M* + Na]⁺), 699 ([2*M* + H]⁺), 721 ([2*M* + Na]⁺).

(*S,S,S,S,Z,Z*)-Bis(3-sec-butyl-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetato de but-2-enileno (56).

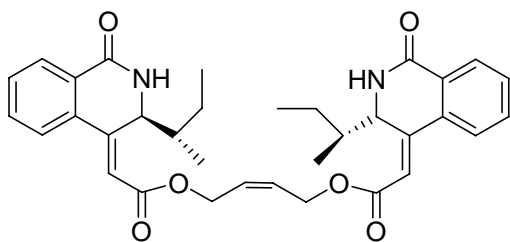
Se obtuvo con un rendimiento del 41% (35 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

P.f.: 79-81 °C.

[α]_D = - 404.2 (*c* = 0.12, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 25.43 min.

IR (KBr) *v*: 3429, 2964, 2927, 1714, 1671, 1273, 1157, 773.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.14 (*m*, 2 H; H-C(8')); 7.56 (*m*, 6 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.67 (*d ancho*, *J* = 4.6, 2 H, NH); 6.34 (*s*, 2 H, H-C(2)); 5.84 (*t*, *J* = 4.1, 2 H, CH=CH); 5.46 (*dd*, *J* = 7.1, 4.6, 2 H, H-C(3')); 4.81 (*t*, *J* = 4.1, 4 H, CO₂CH₂CH=CHCH₂CO₂); 1.59 (*m*, 2 H,

H-C(1'')); 1.44 (*m*, 2 H, H_a-C(2'')); 1.16 (*m*, 2 H, H_b-C(2'')); 0.87 (*d*, *J* = 6.8, 6 H, Me-C(1'')); 0.80 (*t*, *J* = 7.4, 6 H, H-C(3'')).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 165.1 (CONH); 163.8 (CO₂CH₂CH=CHCH₂CO₂); 151.2 (C(4')); 135.3 (C(4a')); 132.8, 130.7 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.4, 128.2, 128.1 (C(8'), C(8a'), C(CH=CH)); 123.8 (C(5') o C(6') o C(7')); 116.2 (C(2)); 59.9 (CO₂CH₂CH=CHCH₂CO₂); 55.9 (C(3')); 41.5 (C(1')); 24.5 (C(2')); 15.1 (Me-C(1')); 11.0 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 571 ([M + H]⁺), 593 ([M + Na]⁺), 1141 ([2M + H]⁺), 1163 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₃₄H₃₈N₂O₆: C 71.56, H 6.71, N 4.91.

Encontrado: C 71.29, H 6.38, N 5.05.

(S,S,S,S,Z,Z)-Bis(3-sec-butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de but-2-inileno (57).

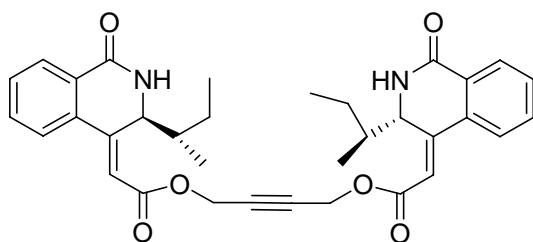
Se obtuvo con un rendimiento del 52% (44 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

P.f.: 85-87 °C.

[α]_D = - 447.2 (c = 0.14, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3434, 2963, 2927, 1718, 1669, 1378, 1273, 1152, 771.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.12 (*m*, 2 H; H-C(8')); 7.55 (*m*, 6 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.67 (*d ancho*, *J* = 4.5, 2 H, NH); 6.35 (*s*, 2 H, H-C(2)); 5.41 (*dd*, *J* = 7.3, 4.5, 2 H, H-C(3')); 4.82 (*s*, 4 H, CO₂CH₂C≡CCH₂CO₂); 1.59 (*m*, 2 H, H-C(1')); 1.42 (*m*, 2 H, H_a-C(2')); 1.15 (*m*, 2 H, H_b-C(2')); 0.85 (*d*, *J* = 6.8, 6 H, Me-C(1')); 0.77 (*t*, *J* = 7.3, 6 H, H-C(3')).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 164.5 (CONH); 163.7 (CO₂CH₂C≡CCH₂CO₂); 152.1 (C(4')); 135.1 (C(4a')); 132.8, 130.9 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.4 (C(8a')); 128.1 (C(8')); 123.9 (C(5') o C(6') o C(7')); 115.6 (C(2)); 80.8 (CO₂CH₂C≡CCH₂CO₂); 56.1 (C(3')); 52.1 (CO₂CH₂C≡CCH₂CO₂); 41.6 (C(1')); 24.4 (C(2')); 15.1 (Me-C(1')); 11.1 (C(3')).

ES (ES^+) m/e: 569 ($[M + H]^+$), 591 ($[M + Na]^+$), 1137 ($[2M + H]^+$), 1159 ($[2M + Na]^+$).

AE: Calculado para $C_{34}H_{36}N_2O_6$: C 71.81, H 6.38, N 4.93.

Encontrado: C 71.78, H 6.25, N 4.69.

(S,S,S,S,Z,Z)-Bis(3-sec-butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de p-xilileno (58).

Se obtuvo con un rendimiento del 27% (25 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

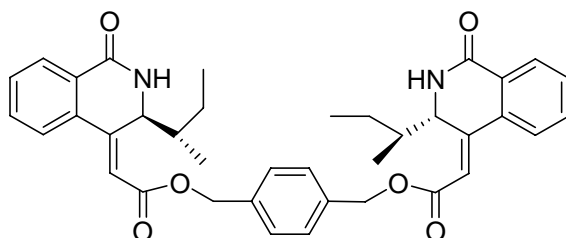
P.f.: 213-215 °C.

$[\alpha]_D = -391.2$ (c = 0.22, $CHCl_3$).

HPLC: Tiempo de retención: 19.23 min.

IR (KBr) v: 3422, 2927, 1712, 1671, 1379, 1275, 1158, 775.

RMN-¹H (300 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.14 (m, 2 H; H-C(8'')); 7.57 (m, 6 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 7.43 (s, 4 H, $CO_2CH_2PhCH_2CO_2$); 6.40 (s, 2 H, H-C(2)); 6.25 (d ancho, $J = 4.7$, 2 H, NH); 5.45 (dd, $J = 7.1, 4.7$, 2 H, H-C(3'')); 5.23 (s, 2 H, $CO_2CH_2PhCH_2CO_2$); 5.22 (s, 2 H, $CO_2CH_2PhCH_2CO_2$); 1.61 (m, 2 H, H-C(1'')); 1.44 (m, 2 H, $H_a-C(2'')$); 1.17 (m, 2 H, $H_b-C(2'')$); 0.87 (d, $J = 6.8$, 6 H, Me-C(1'')); 0.81 (t, $J = 7.3$, 6 H, H-C(3'')).



RMN-¹³C (75 MHz, $CDCl_3$) δ : 165.1 (CONH); 163.9 ($CO_2CH_2PhCH_2CO_2$); 151.3 (C(4')); 135.9 (C(Ph)); 135.3 (C(4a')); 132.7, 130.6 (C(5') o C(6') o

C(7')); 128.5 (6 C, C(8a'), C(Ph)); 128.0 (C(8'')); 123.8 (C(5') o C(6') o C(7')); 116.3 (C(2)); 65.8 ($CO_2CH_2PhCH_2CO_2$); 55.9 (C(3'')); 41.5 (C(1'')); 24.4 (C(2'')); 15.1 (Me-C(1'')); 11.0 (C(3'')).

ES (ES^+) m/e: 621 ($[M + H]^+$), 623 ($[M + Na]^+$), 1241 ($[2M + H]^+$), 1264 ($[2M + H + Na]^+$).

AE: Calculado para $C_{38}H_{40}N_2O_6$: C 73.53, H 6.50, N 4.51.

Encontrado: C 73.49, H 6.27, N 4.33.

2.5.4.3.- Síntesis de amidas del ácido 30. Procedimiento general.

A una suspensión del ácido **30** (100 mg, 0.38 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL) a 0 °C se le añadió gota a gota SOCl₂ (0.28 mL, 3.8 mmol), la mezcla se agitó hasta temperatura ambiente y a continuación se calentó a reflujo durante aproximadamente 1 h. Seguidamente se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose un aceite oscuro que se disolvió en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL), al que se añadió bajo argón la amina correspondiente [0.57 mmol de monoamina o del compuesto **62** (para preparar la amida **63**)] disuelta en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL). Seguidamente se añadió Et₃N (0.1 mL, 0.76 mmol) y se dejó agitando a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se diluyó la reacción con CH₂Cl₂ (50 mL) y se extrajo secuencialmente con una disolución acuosa de HCl 5% (3 × 50 mL) y disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 × 50 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (7:3 a 1:1). Los rendimientos indicados a continuación se refieren al conjunto de las dos etapas (formación del cloruro de ácido y síntesis de las amidas).

(S,S,Z)-N-Bencil-2-(3-sec-butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetamida (59).

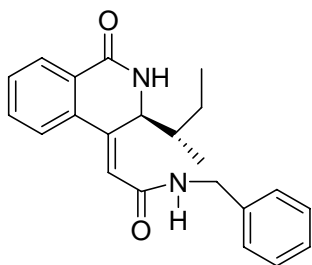
Se obtuvo con un rendimiento del 90% (119 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

P.f.: 90-94 °C.

[α]_D = - 315.1 (c = 0.25, MeOH).

IR (KBr) v: 3435, 2963, 2927, 1651, 1523, 1450.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.10 (*m*, 1 H; H-C(8')); 7.49 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 7.32 (*m*, 5 H, CONHCH₂Ph); 6.20 (*d ancho*, *J* = 4.5, 1 H, NH); 6.17 (*s*, 1 H, H-C(2)); 6.02 (*m*, 1 H, CONHCH₂Ph); 5.65 (*dd*, *J* = 7.3, 4.5, 2 H, H-C(3')); 4.53 (*m*, 2 H, CONHCH₂Ph); 1.63 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.45 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.19 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 0.89 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(1')); 0.81 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C(3')).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 164.7 (CONHCH₂Ph); 163.9 (CONH); 147.1 (C(4a')); 137.9 (C(4')); 135.9 (C(Ph)); 132.7, 129.9 (C(5') o C(6') o C(7')); 128.8, 128.4, 127.9, 127.7 (7 C, C(8'), C(8a'), C(Ph)); 123.5 (C(5') o C(6') o C(7')); 119.2 (C(2)); 55.6 (C(3')); 43.7 (CONHCH₂Ph); 41.3 (C(1')); 24.6 (C(2')); 15.2 (Me-C(1')); 11.1 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 349 ([M + H]⁺), 371 ([M + Na]⁺), 697 ([2M + H]⁺), 719 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₂H₂₄N₂O₂: C 75.83, H 6.94, N 8.04.

Encontrado: C 75.47, H 6.78, N 7.69.

(S,S,Z)-N-(3-Acetilfenil)-2-(3-sec-butyl-1-oxo-2,3-dihydro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetamida (60).

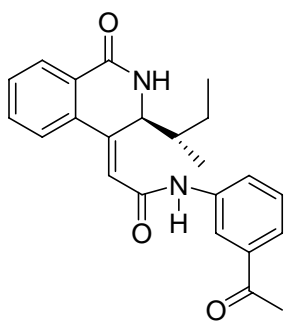
Se obtuvo con un rendimiento del 79% (112 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

P.f.: 147-151 °C.

[α]_D = - 333.5 (c = 0.26, MeOH).

HPLC: Tiempo de retención: 19.28 min.

IR (KBr) v: 3435, 3413, 2964, 2927, 1673, 1656, 1549, 1484, 1167, 688.



RMN-¹H (500 MHz, 323 K, CDCl₃) δ: 8.33 (*s ancho*, 1 H, CONHAr); 8.10 (*m*, 2 H; H-C(8'), H-C(Ar)); 7.98 (*d*, *J* = 7.3, 1 H, H-C(Ar)); 7.66 (*d*, *J* = 7.8, 1 H, H-C(Ar)); 7.46 (*m*, 4 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), H-C(Ar)); 6.51 (*s ancho*, 1 H, NH); 6.35 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.60 (*dd*, *J* = 7.3, 4.8, 1 H, H-C(3'));

2.57 (*s*, 3 H, ArCOCH₃); 1.63 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.47 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.15 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 0.90 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(1')); 0.80 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C(3')).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 198.3 (ArCOCH₃); 164.5, 163.3 (CONH); 148.2 (C(4a')); 138.8 (C(4')); 135.9, 132.8, 130.2, 128.2, 127.8 (C(Ar), C(5') o C(6') o C(7'), C(8'));

129.3 (C(8a')); 124.4, 123.9 (C(2), C(Ar)); 55.6 (C(3')); 41.3 (C(1')); 29.7 (ArCOCH₃); 24.7 (C(2')); 15.2 (Me-C(1')); 11.2 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 377 ([M + H]⁺), 399 ([M + Na]⁺), 753 ([2M + H]⁺), 775 ([2M + Na]⁺).

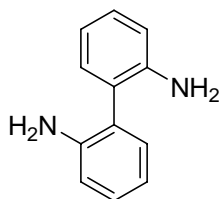
AE: Calculado para C₂₃H₂₄N₂O₃: C 73.38, H 6.43, N 7.44.

Encontrado: C 73.17, H 6.42, N 7.30.

Síntesis de la bifeníl-2,2'-diamina (**61**).²⁵⁴

Sobre una disolución de ácido difénico (10.0 g, 41.28 mmol) en H₂SO₄ (80 mL) a 0 °C, se añadió poco a poco durante 1 h NaN₃ (12.0 g, 4.47 mmol). Seguidamente la mezcla se mantuvo agitando durante 2 h hasta alcanzar temperatura ambiente y a continuación se vertió sobre hielo picado (700 mL). Se separó por filtración el precipitado formado (fenantridona), el filtrado se alcalinizó con NaOH 1M (100 mL) y se extrajo con AcOEt (3 × 100 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo la diamina **61**, pura por CCF y RMN, con un rendimiento del 53% (4.02 g).

P.f.: 82-84 °C (lit.²⁵⁴ 80-81 °C).



IR (KBr) v: 3409, 3384, 3180, 3060, 3016, 1633, 1536, 1497, 1292, 1258, 1138, 1048, 1002, 932, 753, 729.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) 7.19 (*m*, 4 H; H-C(Ar)); 6.83 (*m*, 4 H, H-C(Ar)); 3.68 (*s ancho*, 4 H, 2 NH₂).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 144.5, 131.3, 129.0, 124.9, 119.0, 115.8 (12 C, C(Ar)).

ES (ES⁺) m/e: 185 ([M + H]⁺).

AE: Calculado para C₁₂H₁₂N₂: C 78.23, H 6.57, N 15.21.

Encontrado: C 78.35, H 6.62, N 15.03.

²⁵⁴ E. M. F. J. Stephenson, *J. Chem. Soc.* **1954**, 2354-2357.

(S,S,Z)-N-(2'-Aminobifenil-2-il)-2-(3-sec-butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetamida (62).

Se obtuvo con un rendimiento del 75% (121 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

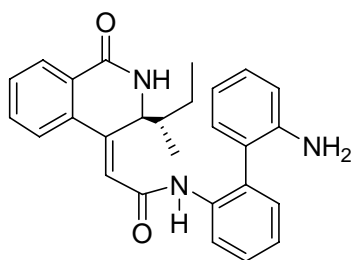
P.f.: 112-116 °C.

[α]_D = - 312.6 (c = 0.33, MeOH).

HPLC: Tiempo de retención: 21.89 min.

IR (KBr) v: 3436, 1661, 1515, 1439, 1299, 1161, 749.

RMN-¹H (300 MHz, 303 K, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ : 8.24 (*m*, 2 H, H-Bif,²⁵⁵ **M+m**); 8.08 (*m*, 1 H; H-C(8'), **M+m**); 8.00 (*s ancho*, 1 H, CONH-Bif, **M**); 7.95 (*s ancho*, 1 H, CONH-Bif, **m**); 7.54-7.39 (*m*, 8 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), H-Bif, **M+m**); 7.29-7.22 (*m*, 6 H, H-Bif, **M+m**); 7.19-7.09 (*m*, 2 H, H-Bif, **M+m**); 6.92-6.82 (*m*, 4 H, H-Bif, **M+m**); 6.38 (*s ancho*, 1 H, NH, **M**); 6.18 (*s ancho*, 1 H, NH, **m**); 6.10 (*s*, 1 H, H-C(2), **M**); 6.06 (*s*, 1 H, H-C(2), **m**); 5.59 (*m*, 1 H, H-C(3'), **M**); 5.33 (*m*, 1 H, H-C(3'), **m**); 3.97 (*s*, 2 H, ArNH₂, **M+m**); 1.59 (*m*, 1 H, H-C(1''), **M+m**); 1.41 (*m*, 1 H, H_a-C(2''), **M+m**); 1.13 (*m*, 1 H, H_b-C(2''), **M+m**); 0.85 (*d*, *J* = 4.2, 3 H, Me-C(1''), **M**); 0.83 (*d*, *J* = 4.2, 3 H, Me-C(1''), **m**); 0.77 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C(3'')).



RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.32 (*s ancho*, 1 H, CONH-Bif); 8.48 (*d ancho*, *J* = 4.6, 1 H, NH); 7.87 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.70 (*m*, 1 H, H-C(5')); 7.58 (*m*, 3 H, H-C(6'), H-C(7'), H-C(2)); 7.37 (*m*, 1 H, H-Bif); 7.25 (*m*, 2 H, H-Bif); 7.06 (*m*, 1 H, H-Bif); 6.92 (*m*, 1 H, H-Bif); 6.78 (*m*, 1 H, H-Bif); 6.64 (*m*, 1 H, H-Bif); 6.56 (*m*, 1 H, H-Bif); 5.43 (*m*, 1 H, H-C(3')); 4.63 (*s*, 2 H, ArNH₂); 1.35 (*m*, 2 H, H_a-C(2''), H-C(1'')); 1.21 (*m*, 1 H, H_b-C(2'')); 0.73 (*m*, 6 H, Me-C(1''), H-C(3'')).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 163.9, 163.8, 163.2 (CONH, **M+m**); 147.5, 147.1, 150.9, 137.8, 135.9, 132.7, 130.0, 128.8, 128.0, 127.9, 127.8 (19 C, (C(4'), C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'), C(Bif), **M+m**); 125.2, 125.1 (C(Bif), **M+m**); 123.8, 123.7 (C(5') o

²⁵⁵ El acrónimo Bif se usa para indicar el resto de bifenilo.

C(6') o C(7'), **M+m**); 122.5, 122.3 (C(Ar), **M+m**); 120.3, 120.1, 119.7, 119.4 (C(2), C(Bif), **M+m**); 115.9 (C(Bif)); 55.9, 55.6 (C(3'), **M+m**); 41.4 (C(1'')); 24.6 (C(2'')); 15.2 (*Me*-C(1')); 11.2 (C(3'')).

ES (ES^+) *m/e*: 426 ($[M + H]^+$), 851 ($[2M + H]^+$), 874 ($[2M + H + Na]^+$).

AE: Calculado para $C_{27}H_{27}N_3O_2$: C 76.21, H 6.40, N 9.87.

Encontrado: C 75.97, H 6.25, N 9.75.

(*S,S,S,S,Z,Z*)-2,2'-Bis[(3-*sec*-butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetilamino]bifenilo (63).

Se obtuvo con un rendimiento del 61% (154 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente a partir de **62**. Sólido blanco.

P.f.: 177-180 °C.

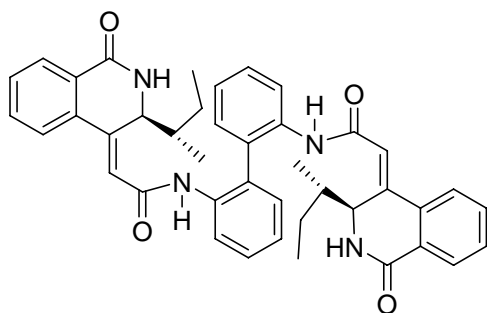
$[\alpha]_D = -395.0$ ($c = 0.25$, MeOH).

HPLC: Tiempo de retención: 23.73 min.

IR (KBr) ν : 3435, 2963, 1656, 1521, 1302, 1161, 753.

RMN-¹H (500 MHz, 303 K, $CDCl_3$, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ : 8.10 (*m*, 2 H, CONH-Bif,²⁵⁵ **M+m**); 8.06 (*m*, 1 H; H-C(8'), **M**); 8.01 (*m*, 1 H; H-C(8'), **m**); 7.52-7.16 (*m*, 14 H; H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), H-Bif, **M+m**); 6.61 (*d ancho*, 1 H, NH-L-Biq²⁵³,

M); 6.36 (*d*, $J = 4.4$, 1 H, NH-L-Biq, **m**); 6.07 (*s*, 1 H, H-C(2), **M**); 6.02 (*s*, 1 H, H-C(2), **m**); 5.55 (*m*, 1 H, H-C(3'), **M**); 5.37 (*m*, 1 H, H-C(3'), **m**); 1.61-1.52 (*m*, 1 H, H-C(1''), **M+m**); 1.38 (*m*, 1 H, H_a -C(2''), **M+m**); 1.12 (*m*, 1 H, H_b -C(2''), **M+m**); 0.86-0.71 (*m*, 12 H, *Me*-C(1''), H-C(3''), **M+m**).



RMN-¹³C (125 MHz, $CDCl_3$, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ : 163.9, 163.6, 163.5 (CONH, **M+m**); 148.8, 135.7, 135.6, 135.4, 135.2, 132.7, 130.8, 130.6, 130.3, 130.1, 129.5, 129.4, 128.5, 128.0, 127.8, 125.8, 125.6, 123.9, 123.8, 123.6, 123.5 (24 C, (C(4'), C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'),

C(Bif), **M+m**); 119.2 (C(2), **M**); 119.0 (C(2), **m**); 55.8 (C(3'), **M**); 55.5 (C(3'), **m**); 41.4, 41.3 (C(1''), **M+m**); 24.5 (C(2''), **M+m**); 15.2, 15.1 (*Me*-C(1'')); 11.2, 11.1 (C(3'')).

ES (ES^+) m/e: 667 ($[M + H]^+$), 689 ($[M + Na]^+$), 1356 ($[2M + H + Na]^+$).

AE: Calculado para $C_{42}H_{42}N_4O_4$: C 75.65, H 6.35, N 8.40.

Encontrado: C 75.42, H 6.07, N 8.21.

2.5.4.4.- Síntesis de híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolinona a partir de **62**. *Procedimiento general.*

A una suspensión del *N*-Fmoc-aminoácido correspondiente (0.31 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (2.0 mL) a 0 °C se la añadió gota a gota $SOCl_2$ (0.23 mL, 3.1 mmol), la mezcla se agitó hasta temperatura ambiente y a continuación se calentó a reflujo durante aproximadamente 1 h. Seguidamente se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose un sólido blanco que se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro (2.0 mL), al que se añadió bajo argón la amina **62** (200 mg, 0.47 mmol) disuelta en CH_2Cl_2 anhidro (2.0 mL). Seguidamente se añadió Et_3N (80 μ L, 0.62 mmol) y se dejó agitando a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se diluyó la reacción con CH_2Cl_2 (50 mL) y se extrajo secuencialmente con una disolución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (3 \times 50 mL) y disolución acuosa saturada de HCl 5% (3 \times 50 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre $MgSO_4$. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/ $AcOEt$ (3:2 a 1:1).

(S,S,S,Z)-2-[(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetilamino]-2'-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonil-L-valilamino)bifenilo (64).

Se obtuvo con un rendimiento del 73% (172 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

P.f.: 133-135 °C.

$[\alpha]_D = -188.0$ (c = 0.25, MeOH).

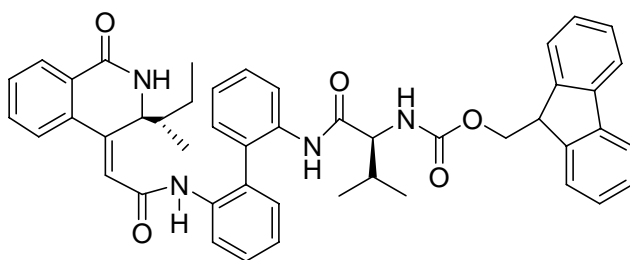
HPLC: Tiempo de retención: 26.81 min.

IR (KBr) ν : 3408, 2963, 1663, 1519, 1450, 1299, 1232, 758, 739.

RMN-¹H (300 MHz, 323 K, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ : 8.14-7.93 (*m*, 2 H, H-Ar, **M+m**); 7.75-7.70 (*m*, 1 H; H-Ar, **M+m**); 7.57-7.12 (*m*, 19 H, H-Ar, CONH-Bif²⁵⁵-CONH, **M+m**); 6.18 (*d*, $J = 4.4$, 0.5 H, NH-L-Biq²⁵³, **M**); 6.12 (*d*, $J = 4.4$, 0.5 H, NH-L-Biq, **m**); 6.03 (*s*, 0.5 H, H-C(2), **M**); 5.98 (*s*, 0.5 H, H-C(2), **m**); 5.45 (*m*, 0.5 H, H-C(3'), **M**); 5.36 (*m*, 0.5 H, H-C(3'), **m**); 5.04 (*s ancho*, 1 H, NH-Fmoc, **M+m**); 4.42-4.26 (*m*, 2 H, CH₂-Fmoc, **M+m**); 4.17-4.09 (*m*, 1 H, CH _{α} -L-Val, **M+m**); 3.87 (*m*, 0.5 H, CH-Fmoc, **M**); 3.81 (*m*, 0.5 H, CH-Fmoc, **m**); 1.96 (*m*, 1 H, CH _{β} -L-Val, **M+m**); 1.54 (*m*, 1 H, H-C(1''), **M+m**); 1.40 (*m*, 1 H, H _{a} -C(2''), **M+m**); 1.10 (*m*, 1 H, H _{b} -C(2''), **M+m**); 0.89-0.73 (*m*, 12 H, Me-C(1''), H-C(3''), Me₂ de L-Val, **M+m**).

RMN-¹H (300 MHz, 353 K, DMSO-*d*₆) δ : 8.93 (*s ancho*, 1 H, CONHBif); 8.75 (*s ancho*, 1 H, CONHBif); 8.14-6.94 (*m*, 22 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7'), H-C(8'), H-Ar); 6.43 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.34 (*m*, 1 H, H-C(3'')); 4.32-4.15 (*m*, 3 H, CH₂-Fmoc, CH-Fmoc); 3.84 (*m*,

1 H, CH _{α} -L-Val); 1.91 (*m*, 1 H, CH _{β} -L-Val); 1.38 (*m*, 2 H, H _{a} -C(2''), H-C(1'')); 1.09 (*m*, 1 H, H _{b} -C(2'')); 0.86-0.66 (*m*, 12 H, Me-C(1''), H-C(3''), Me₂ de L-Val).



RMN-¹³C (75 MHz, 323 K, CDCl₃, mezcla de conformeros

M y **m**, 1:1) δ : 170.9, 170.7, 164.1, 163.6, 156.7 (CONH, **M+m**, CONH-Bif-CONH, **M+m**, NHCO-Fmoc, **M+m**); 144.0, 143.8, 141.5, 136.1, 135.9, 135.6, 134.9, 132.9, 132.8, 130.8, 130.5, 129.6, 129.5, 129.3, 128.6, 128.1, 128.0, 127.3, 126.5, 126.2, 125.5, 125.3, 125.2, 124.9, 124.1 (30 C, C(4'), C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'), C(Bif) C(Fmoc), **M+m**); 120.3 (C(2), **M+m**); 67.5 (CH₂-Fmoc, **M+m**); 61.3 (CH-Fmoc, **M+m**); 56.1 (C(3'), **m**); 55.6 (C(3'), **M**); 47.3 (CH _{α} -L-Val, **M+m**); 41.6 (C(1''), **M+m**); 30.5 (CH _{β} -L-Val, **M+m**, C(2''), **M+m**); 19.4, 19.1, 15.4, 11.5, 11.4 (4 C, Me-C(1''), C(3''), Me₂ de L-Val, **M+m**).

ES (ES⁺) *m/e*: 747 ([*M* + H]⁺), 770 ([*M* + Na]⁺), 1515 ([2*M* + H + Na]⁺).

AE: Calculado para C₄₇H₄₆N₄O₅: C 75.58, H 6.21, N 7.50.

Encontrado: C 75.47, H 6.02, N 7.31.

(S,S,S,Z)-2-[(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetilamino]-2'-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonil-L-fenilalanilamino)bifenilo (65).

Se obtuvo con un rendimiento del 45% (109 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

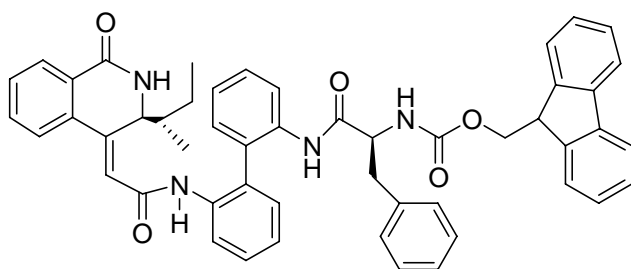
P.f.: 108-110 °C.

[α]_D = - 181.0 (c = 0.23, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 27.40 min.

IR (KBr) v: 3409, 2956, 1659, 1519, 1450, 1247, 1161, 1046, 758, 739.

RMN-¹H (300 MHz, 313 K, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1.5:1) δ: 8.14-7.99 (*m*, 2 H, H-Ar, **M+m**); 7.88-7.65 (*m*, 3 H; H-Ar, **M+m**); 7.48-7.01 (*m*, 20 H, H-Ar, **M+m**); 6.72 (*d*, *J* = 4.4, 0.6 H, NH-L-Biq²⁵³, **M**); 6.52 (*d*, *J* = 4.4, 0.4 H, NH-L-Biq, **m**); 6.05 (*s*, 0.6 H, H-C(2), **M**); 5.98 (*s*, 0.4 H, H-C(2), **m**); 5.46 (*m*, 0.4 H, H-C(3'), **m**); 5.37 (*m*, 0.4 H, H-C(3'), **M**); 5.27 (*s ancho*, 0.6 H, NH-Fmoc, **M**); 5.02 (*d ancho*, 0.4 H, NH-Fmoc, **m**); 4.38-4.06 (*m*, 4 H, CH₂-Fmoc, CH-Fmoc, CH_α-L-Phe, **M+m**); 3.21 (*m*, 1 H, CH_β-L-Phe, **M**); 2.84 (*m*, 1 H, CH_β-L-Phe, **m**); 1.61 (*m*, 1 H, H-C(1''), **M+m**); 1.41 (*m*, 1



H, H_a-C(2''), **M+m**); 1.13 (*m*, 1 H, H_b-C(2''), **M+m**); 0.80 (*d*, 2 H, *J* = 6.8, Me-C(1''), **M**); 0.80 (*d*, 0.5 H, *J* = 6.8, Me-C(1''), **m**); 0.74 (*t*, 3 H, *J* = 7.8, H-C(3''), **M+m**).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃,

mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ: δ: 170.0, 163.9, 163.7, 163.4, 156.1 (CONH, **M+m**, CONH-Bif²⁵⁵-CONH, **M+m**, NHCO-Fmoc, **M+m**); 147.7, 147.5, 147.1, 143.6, 143.5, 143.2, 141.2, 136.4, 135.9, 135.8, 135.6, 135.2, 134.8, 134.6, 132.7, 132.6, 130.5, 129.1, 128.7, 128.7, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 127.0, 126.9, 125.8, 125.7, 125.4, 125.0, 1224.9, 123.9, 123.8, 123.5 (36 C, C(4'), C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'),

C(Bif), C(Fmoc), **M+m**); 119.9 (C(2), **M+m**); 67.2 (CH₂-Fmoc, CH-Fmoc, CH_α-L-Phe, **M+m**); 55.9 (C(3'), **m**); 55.7 (C(3'), **M**); 41.4, 41.3 (C(1''), **M+m**); 37.8, 37.6 (CH_β-L-Phe, **M+m**); 24.5, 24.4, 24.3 (C(2''), **M+m**); 15.3, 15.1, 15.0, 11.2, (2 C, Me-C(1''), C(3''), **M+m**).

ES (ES⁺) m/e: 795 ([M + H]⁺), 818 ([M + Na]⁺), 1612 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₅₁H₄₆N₄O₅: C 77.06, H 5.83, N 7.05.

Encontrado: C 76.85, H 5.79, N 7.26.

(S,S,S,S,Z)-2-[(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetilamino]-2'-[(9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonil-L-ileucilamino)bifenilo (66).

Se obtuvo con un rendimiento del 58% (101 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente. Sólido blanco.

P.f.: 116-120 °C.

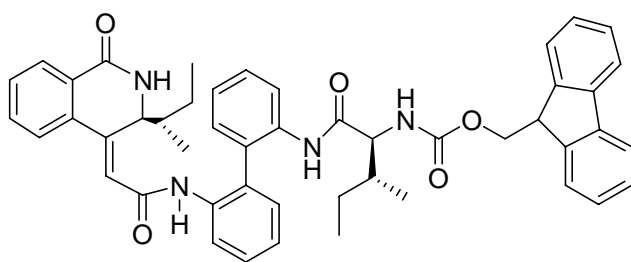
[α]_D = - 151.1 (c = 0.12, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 27.46 min.

IR (KBr) v: 3406, 3282, 2963, 2920, 1662, 1516, 1450, 1233, 757, 740.

RMN-¹H (300 MHz, 318 K, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ: 8.12-7.01 (*m*, 22 H, H-Ar, CONH-Bif²⁵⁵-CONH, **M+m**); 6.33 (*s ancho*, 0.5 H, NH-L-Biq²⁵³, **M**); 6.27 (*s ancho*, 0.5 H, NH-L-Biq, **m**);

6.05 (*s*, 0.5 H, H-C(2), **M**); 5.99 (*s*, 0.5 H, H-C(2), **m**); 5.47 (*m*, 0.5 H, H-C(3'), **M**); 5.34 (*m*, 0.5 H, H-C(3'), **m**); 5.23 (*s ancho*, 1 H, NH-Fmoc, **M+m**); 4.40-3.88 (*m*, 4 H, CH₂-Fmoc, CH-Fmoc, CH_α-L-Ile, **M+m**); 1.86 (*m*, 0.5 H, CH_β-L-Ile, **M**); 1.72 (*m*, 0.5 H, CH_β-L-Ile, **m**); 1.59 (*m*, 1 H, H-C(1''), **M+m**); 1.40 (*m*, 1 H, H_a-C(2''), CH_{2a}-L-Ile, **M+m**); 1.14 (*m*, 1 H, H_b-C(2''), CH_{2b}-L-Ile, **M+m**); 0.88-0.70 (*m*, 12 H, Me-C(1''), H-C(3''), [CH-CH₃] de L-Ile, [CH₂-CH₃] de L-Ile, **M+m**).



ES (ES⁺) m/e: 761 ([M + H]⁺), 783 ([M + Na]⁺), 1522 ([2M + H]⁺), 1545 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₄₈H₄₈N₄O₅: C 75.77, H 6.36, N 7.36.

Encontrado: C 75.65, H 6.40, N 7.27.

Procedimiento general para la desprotección de grupo *N*-Fmoc.

A una solución del correspondiente compuesto *N*-Fmoc-prottegido **64-66** (0.09 mmol) en 0.3 mL de DMF anhidra a 0 °C y bajo argón se le añadió piperidina (70 µL). A continuación la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente durante 2 h. Una vez eliminado el disolvente a vacío se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (1:1 a 1:9).

(*S,S,S,Z*)-2-[(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetilamino]-2'-(*L*-valilamino)bifenilo (**67**).

Se obtuvo con un rendimiento del 24% (12 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **64**. Sólido blanco.

P.f.: 110-113 °C.

$[\alpha]_D = -35.9$ ($c = 0.07$, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 3434, 2956, 1660, 1521, 14369, 1165, 753.

RMN-¹H (500 MHz, 313 K, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ : 9.31 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif²⁵⁵-CONH, **M**); 9.28 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif-CONH, **m**); 8.38 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif-CONH, **M**); 8.28 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif-CONH,

m); 8.09 (*m*, 1 H; H-C(8'), **M**); 8.19 (*m*, 1 H; H-

C(8'), **m**); 7.45 (*m*, 6 H, H-Ar, H-Bif, **M+m**);

7.23 (*m*, 5 H, H-Ar, H-Bif, **M+m**); 6.25 (*d*, $J =$

4.5, 0.5 H, NH-L-Biq²⁵³, **M**); 6.18 (*d*, $J = 4.5$, 0.5

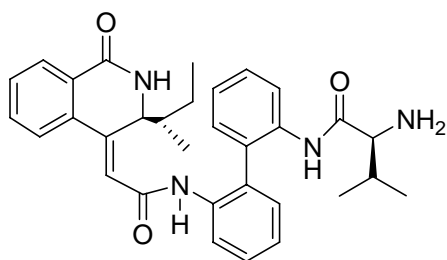
H, NH-L-Biq, **m**); 6.03 (*s*, 0.5 H, H-C(2), **M**);

5.99 (*s*, 0.5 H, H-C(2), **m**); 5.52 (*m*, 1 H, H-

C(3'), **M+m**); 3.47 (*m*, 1 H, NH₂, **M**); 3.29 (*m*, 1

H, NH₂, **m**); 3.23 (*d*, $J = 3.4$, 0.5 H, CH _{α} -L-Val, **M**); 3.15 (*d*, $J = 3.4$, 0.5 H, CH _{α} -L-Val,

m); 2.24 (*m*, 1 H, CH _{β} -L-Val, **M+m**); 1.61 (*m*, 1 H, H-C(1'), **M+m**); 1.52 (*m*, 1 H, H _{α} -



C(2''), **M+m**); 1.18 (*m*, 1 H, H_β-C(2''), **M+m**); 0.91-0.63 (*m*, 12 H, Me-C(1''), H-C(3''), Me₂ de L-Val, **M+m**).

RMN-¹³C (125 MHz, 313 K, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ: 173.5, 173.3, 163.8, 163.6, 163.5, 162.9 (CONH, **M+m**, CONH-Bif-CONH, **M+m**, NHCO- L-Val, **M+m**); 148.5, 148.2, 135.9, 135.8, 135.7, 135.5, 132.7, 130.6, 130.4, 130.3, 130.2, 129.6, 129.5, 129.1, 128.0, 127.9, 125.4, 125.0, 124.7, 123.9, 123.8, 122.9, 122.3 (18 C, C(4'), C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'), C(Bif) **M+m**); 119.7 (C(2), **M**), 119.2 (C(2), **m**); 60.4 (CH_α-L-Val, **M+m**); 55.9 (C(3'), **M**); 55.6 (C(3'), **m**); 41.5 (C(1''), **M+m**); 30.9 (CH_β-L-Val, **M+m**); 24.6 (C(2''), **M+m**); 19.6, 19.5, 16.0, 11.2 (4 C, Me-C(1''), C(3''), Me₂ de L-Val, **M+m**).

EM (ES⁺) m/e: 525 ([M + H]⁺), 547 ([M + Na]⁺), 1049 ([2M + H]⁺), 1072 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₃₂H₃₆N₄O₃: C 73.26, H 6.92, N 10.68.

Encontrado: C 73.20, H 6.78, N 11.01.

**(S,S,S,Z)-2-[(3-sec-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetilamino]-2'-
(L-fenilalanilamino)bifenilo (68).**

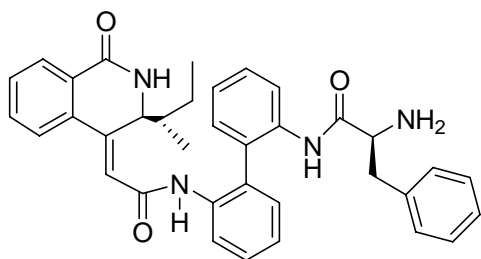
Se obtuvo con un rendimiento del 61% (32 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **65**. Sólido blanco.

P.f.: 107-110 °C.

[α]_D = - 231.0 (c = 0.06, CH₂Cl₂).

IR (KBr) ν: 3435, 1658, 1519, 1436, 1161, 753.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 2.5:1) δ: 9.36 (*s ancho*, 0.7



H, CONH-Bif²⁵⁵-CONH, **M**); 9.32 (*s ancho*, 0.3 H, CONH-Bif-CONH, **m**); 8.40-8.05 (*m*, 3 H, H-C(8'), CONH-Bif-CONH, **M+m**); 7.53-7.44 (*m*, 6 H, H-Ar, H-Bif, **M+m**); 7.43-7.13 (*m*, 5 H, H-Ar, H-Bif, **M+m**); 6.49 (*m*, 1 H, NH-L-Biq²⁵³, **M+m**); 6.07 (*s*, 0.7 H, H-C(2), **M**); 6.06 (*s*, 0.3 H, H-C(2), **m**); 5.51 (*m*,

1 H, H-C(3'), **M+m**); 3.55 (*m*, 1 H, CH_α-L-Phe, **M+m**); 3.18 (*m*, 1 H, CH_β-L-Phe, **M**);

2.49 (*m*, 1 H, CH_{β} -L-Phe, **m**); 1.59 (*m*, 1 H, H-C(1''), **M+m**); 1.50 (*m*, 1 H, H_a -C(2''), **M+m**); 1.16 (*m*, 1 H, H_b -C(2''), **M+m**); 0.90-0.70 (*m*, 6 H, Me -C(1''), H-C(3''), **M+m**).

RMN-¹³C (50 MHz, 313 K, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 2.5:1) δ : 173.4, 173.0, 163.9, 163.8, 163.5, 163.0 (CONH, **M+m**, CONH-Bif-CONH, **M+m**, NHCO- L-Phe, **M+m**); 148.5, 148.1, 137.8, 137.4, 135.6, 135.4, 135.3, 135.2, 132.7, 132.6, 130.4, 130.0, 129.9, 129.5, 129.1, 129.0, 128.9, 128.7, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 127.7, 126.8, 126.7, 125.7, 125.1, 125.0, 124.7, 123.9, 123.8, 123.3, 122.7 (24 C, C(4'), C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'), C(Bif), **M+m**); 119.8, 119.1 (C(2), **M+m**); 57.0, 56.1, 55.9, 55.4 (C(3'), **M+m**, CH_{α} -L-Phe, **M+m**); 41.4, 40.4 (CH_{β} -L-Phe, **M+m**, C(1''), **M+m**) 24.5 (C(2''), **M**); 24.3 (C(2''), **m**); 15.3, 15.1, 11.2, 11.0 (Me -C(1''), H-C(3''), **M+m**).

EM (ES⁺) *m/e*: 573 ([*M* + H]⁺), 595 ([*M* + Na]⁺), 1145 ([2*M* + H]⁺), 1167 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₃₆H₃₆N₄O₃: C 75.50, H 6.34, N 9.78.

Encontrado: C 75.21, H 6.64, N 9.36.

**(*S,S,S,S,Z*)-2-[(3-*sec*-Butil-1-oxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetilamino]-2'-
(*L*-isoleucilamino)bifenilo (**69**).**

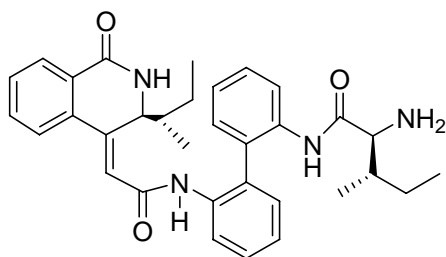
Se obtuvo con un rendimiento del 71% (34 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **66**. Sólido blanco.

P.f.: 93-96 °C.

[α]_D = - 215.6 (*c* = 0.09, MeOH).

IR (KBr) ν : 3413, 2962, 2920, 1666, 1580, 1521, 1436, 1302, 1164, 755.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ : 9.41 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif²⁵⁵-CONH, **M**); 9.38 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif-CONH, **m**); 8.32 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif-CONH, **M**); 8.22 (*s ancho*, 0.5 H, CONH-Bif-CONH, **m**); 8.13 (*m*, 0.5 H, H-C(8'), **M**); 8.03 (*m*, 0.5 H, H-C(8'), **m**); 7.46-7.35 (*m*, 6 H, H-Ar, H-Bif, **M+m**); 7.24-7.09 (*m*, 5 H, H-Ar, H-Bif, **M+m**); 6.77 (*d*, *J* = 4.4, 0.5 H, NH-L-Biq²⁵³, **M+m**); 6.70 (*d*, *J* = 4.4, 0.5 H, NH-L-Biq, **M+m**); 6.04 (*s*, 0.5 H, H-C(2), **M**); 6.02



(s, 0.5 H, H-C(2), **m**); 5.48 (*m*, 1 H, H-C(3'), **M+m**); 3.26 (*d*, $J = 3.4$, 0.5 H, CH_{α} -L-Ile, **M**); 3.17 (*d*, $J = 3.4$, 0.5 H, CH_{α} -L-Ile, **m**); 1.96 (*m*, 1 H, CH_{β} -L-Ile, **M**); 1.88 (*m*, 1 H, CH_{β} -L-Ile, **m**); 1.58 (*m*, 1 H, H-C(1''), **M+m**); 1.52 (*m*, 1 H, H_{α} -C(2''), **M+m**); 1.14 (*m*, 1 H, H_{β} -C(2''), **M+m**); 0.89-0.74 (*m*, 12 H, Me -C(1''), H-C(3''), [CH-CH₃] de L-Ile, [CH₂-CH₃] de L-Ile, **M+m**).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃, mezcla de conformeros **M** y **m**, 1:1) δ : 173.6, 173.2, 163.9, 163.8, 163.5, 162.9 (CONH, **M+m**, CONH-Bif-CONH, **M+m**, NHCO- L-Phe, **M+m**); 148.2, 148.0, 135.8, 135.7, 135.6, 135.5, 135.4, 132.6, 132.5, 130.6, 130.5, 130.4, 130.3, 130.0, 129.9, 129.5, 129.4, 129.0, 128.3, 128.2, 127.9, 127.8, 125.4, 124.9, 124.8, 124.6, 123.8, 122.8, 122.7, 122.4, 121.7 (18 C, C(4'), C(4a'), C(5'), C(6'), C(7'), C(8'), C(8a'), C(Bif), **M+m**); 119.7, 119.2 (C(2), **M+m**); 60.1 (CH_{α} -L-Ile, **M**); 59.9 (CH_{α} -L-Ile, **m**); 55.8 (C(3'), **M**); 55.4 (C(3'), **m**); 41.4 (C(2''), **M+m**); 37.9 (CH_{β} -L-Ile, **M**); 37.6 (CH_{β} -L-Ile, **m**); 24.5, 24.3, 23.6, 23.3 (C(1''), **M+m**); 16.0, 15.9, 15.2, 15.1, 11.9, 11.8, 11.2 (Me -C(1''), C(3''), [CH-CH₃] de L-Ile, [CH₂-CH₃] de L-Ile, **M+m**).

EM (ES⁺) *m/e*: 539 ([*M* + H]⁺), 561 ([*M* + Na]⁺), 1077 ([2*M* + H]⁺), 1099 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₃₃H₃₈N₄O₃: C 73.58, H 7.11, N 10.40.

Encontrado: C 73.48, H 6.99, N 10.30.

2.5.4.5.- Síntesis de ácidos (1-tioxoisoquinoliniliden)acéticos y derivados.

Síntesis de isoquinolinonas. Procedimiento general.

A una disolución de la correspondiente isoquinolinona **23-25** (1.0 mmol) en tolueno anhidro (9.0 mL) se añadió el reactivo de Lawesson ([2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3-ditiazol-2,4-difosfotano-2,4-disulfuro]) (445 mg, 1.1 mmol) y la mezcla se reflujo durante aproximadamente 1 h. A continuación la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente y se eliminó el disolvente a vacío obteniendo un producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (19:1 a 7:3).

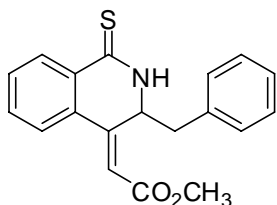
(±,Z)-(3-Bencil-1-tioxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (**70**).

Se obtuvo con un rendimiento del 68% (219 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **23**. Sólido amarillo.

P.f.: 172-173 °C.

IR (KBr) ν : 3167, 1708, 1367, 1190, 1171, 1018, 763, 703.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.69 (*dd*, $J = 7.6, 1.5$, 1 H, H-C(8')); 8.10 (*s ancho*, 1 H, NH); 7.60-7.51 (*m*, 3 H, H-Ar); 7.33-7.20 (*m*, 5 H, H-Ar); 6.39 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.76 (*m*, 1 H, H-C(3')); 3.79 (*s*, 3 H, CO₂Me); 2.99 (*dd*, $J = -12.9, 3.6$, 1 H, H_a-C(1')); 2.75 (*dd*, $J = -12.9, 10.0$, 1 H, H_b-C(1')).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 191.1 (CSNH); 165.8 (CO₂Me); 149.1 (C(4')); 136.1, 133.2, 132.7, 130.9, 130.5, 129.6, 129.2, 128.8, 127.2, 124.1 (12 C, C(Ar)); 115.4 (C(2)); 55.8 (C(3')); 51.8 (CO₂Me); 42.8 C(1')).

ES (ES⁺) m/e : 324 ([*M* + H]⁺), 346 ([*M* + Na]⁺), 669 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₉H₁₇NO₂S: C 70.56, H 5.30, N 4.33, S 9.91.

Encontrado: C 70.34, H 5.14, N 4.48, S 9.80.

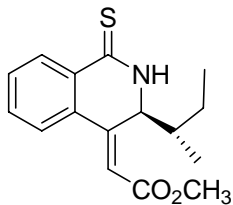
(S,S,Z)-(3-sec-Butil-1-tioxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (71).

Se obtuvo con un rendimiento del 91% (263 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **24**. Sólido amarillo.

P.f.: 50-53 °C.

[α]_D = - 754.2 ($c = 0.5$, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 3432, 3170, 2665, 1713, 1637, 1368, 1215, 1195, 1172, 1013, 772.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.91 (*s ancho*, 1 H, NH); 8.58 (*dd*, $J = 7.5, 1.7$, 1 H, H-C(8')); 7.55-7.43 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.31 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.48 (*dd*, $J = 7.8, 5.1$, 1 H, H-C(3')); 3.75 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.66 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.49 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.19 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 0.86-0.79 (*m*, 6 H, Me-C(1'), H-C((3'))).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 191.4 (CSNH); 165.8 (CO₂Me); 149.6 (C(4')); 133.1 (C(4a')); 132.3, 131.0 (C(5') o C(6') o C(7')); 130.8 (C(8a')); 130.5 (C(8')); 123.7 (C(5') o C(6') o C(7')); 117.1 (C(2)); 57.7 (C(3')); 51.7 (CO₂Me); 40.8 C(1'); 24.9 (C(2')); 14.9, 10.9 (Me-C(1'), (C(3'))).

ES (ES⁺) m/e: 290 ([M + H]⁺), 312 ([M + Na]⁺), 601 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₆H₁₉NO₂S: C 66.40, H 6.62, N 4.84, S 11.08.

Encontrado: C 66.06 H 6.82, N 4.58, S 10.91.

(S,Z)-(3-Isobutil-1-tioxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acetato de metilo (72).

Se obtuvo con un rendimiento del 92% (266 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **25**. Sólido amarillo.

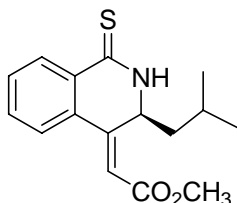
P.f.: 175-178 °C (con reblanqueamiento previo).

[α]_D = - 233.3 (c = 0.5, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 23.01 min.

IR (KBr) v: 3435, 3161, 2960, 1710, 1635, 1372, 1216, 1193, 1174, 1017, 766.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.64 (*dd*, *J* = 8.3, 1.9 1 H, H-C(8')); 8.47 (*s ancho*, 1 H, NH); 7.61-7.48 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.29 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.70 (*ddd*, *J* = 9.5, 4.1, 4.1, 1 H, H-C(3')); 3.78 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.83-1.74 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.67-1.58 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.36-1.24 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 1.04 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, Me-C(2')); 0.88 (*t*, *J* = 6.6, 3 H, H-C(3')).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 191.2 (CSNH); 165.7 (CO₂Me); 150.3 (C(4')); 133.1 (C(4a')); 132.3 (3 C, C(5') o C(6') o C(7')); 130.7 (C(8a')); 129.8 (C(8')); 124.2 (3 C, C(5') o C(6') o C(7')); 115.1 (C(2)); 52.1 (C(3')); 51.7 (CO₂Me); 44.8 (C(2')); 24.7 (C(1')); 23.5 (Me-C(2')); 21.2 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 290 ([M + H]⁺), 312 ([M + Na]⁺), 601 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₆H₁₉NO₂S: C 66.40, H 6.62, N 4.84, S 11.08.

Encontrado: C 66.56, H 6.29, N 4.82, S 11.49.

Síntesis de las isoquinolinonas 70-72. Procedimiento general.

A una disolución de las isoquinolinonas 70-72 (0.8 mmol) en una mezcla 1:1 de THF-H₂O (8 mL) a temperatura ambiente se añadió una solución de LiOH (67.1 mg, 1.6 mmol) en H₂O (1.6 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y a continuación se acidificó con HCl 5% hasta pH = 2. Se eliminó el THF a vacío y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 × 20 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por recristalización de AcOEt/hexano.

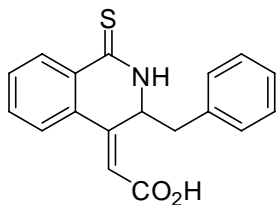
Ácido (±,Z)-(3-bencil-1-tioxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acético (73).

Se obtuvo con un rendimiento del 70% (173 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **70**. Sólido amarillo.

P.f.: 182-185 °C.

IR (KBr) ν : 3017, 3029, 2399, 1702, 1517, 1228, 1216, 1043, 736.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 10.68 (*s ancho*, 1 H, NH); 8.73 (*d*, $J = 7.1$, 1 H, H-C(8')); 7.67 (*m*, 3 H, H-Ar); 7.22 (*m*, 5 H, H-Ar); 6.45 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.67 (*m ancho*, 1 H, H-C(3')); 2.95-2.71 (*m*, 2 H, H-C(1')).



RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ : 190.6 (CSNH); 168.4 (CO₂H); 150.7 (C(4')); 135.9, 133.6, 132.4, 131.2, 130.1, 129.8, 129.2, 128.9, 128.6, 127.1, 124.3 (12 C, C(Ar)); 114.9 (C(2)); 55.7 (C(3')); 42.9 (C(2')).

ES (ES⁺) m/e : 310 ($[M + H]^+$), 332 ($[M + Na]^+$).

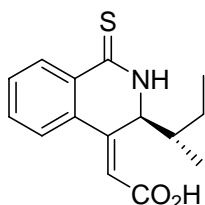
Ácido (S,S,Z)-(3-sec-butil-1-tioxo-2,3-dihidro-1H-isoquinolin-4-iliden)acético (74).

Se obtuvo con un rendimiento del 96% (211 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **71**. Sólido amarillo.

P.f.: 193-196 °C.

$[\alpha]_D = -600.5$ ($c = 0.5$, MeOH).

IR (KBr) ν : 3449, 3210, 2963, 1674, 1281, 1254, 1219, 776.



RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.77 (*s ancho*, 1 H, CO₂H); 11.03 (*d*, $J = 4.9$, 1 H, NH); 8.39 (*dd*, $J = 7.6, 1.1$, 1 H, H-C(8')); 7.72-7.53 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.39 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.33 (*dd*, $J = 8.2, 4.9$, 1 H, H-C(3')); 1.56-1.46 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.44-1.38 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.19-1.06 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 0.78 (*t*, $J = 7.5$, 3 H, H-C(3')); 0.81 (*d*, $J = 6.9$, 3 H, Me-C(1')).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 189.3 (CSNH); 166.6 (CO₂H); 147.8 (C(4')); 133.1 (C(4a')); 131.1 (2 C, C(5') o C(6') o C(7')); 130.6 (C(8a')); 130.1 (C(8')); 124.4 (C(5') o C(6') o C(7')); 118.8 (C(2)); 55.7 (C(3')); 40.9 (C(1')); 24.8 (C(2')); 14.9 (Me-C(1')); 10.9 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e : 276 ([*M* + H]⁺), 298 ([*M* + Na]⁺), 573 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₅H₁₇NO₂S: C 65.43, H 6.22, N 5.09, S 11.64.

Encontrado: C 65.67, H 6.05, N 4.79, S 11.57.

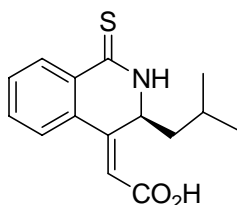
Ácido (*S,Z*)-(3-isobutil-1-tioxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acético (75).

Se obtuvo con un rendimiento del 98% (216 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **72**. Sólido amarillo.

P.f.: 187-190 °C (con reblanqueamiento previo).

$[\alpha]_D = -261.6$ ($c = 0.25$, MeOH).

IR (KBr) ν : 3436, 3205, 2959, 1688, 1668, 1619, 1416, 1215, 771.



RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 12.75 (*s ancho*, 1 H, CO₂H); 10.93 (*d*, $J = 4.8$, 1 H, NH); 8.40 (*dd*, $J = 7.6, 1.2$, 1 H, H-C(8')); 7.70 (*d*, $J = 7.6$, 1 H, H-C(5')); 7.62-7.52 (*m*, 2 H, H-C(6'), H-C(7')); 6.33 (*s*, 1 H, H-C(2)); 5.53 (*ddd*, $J = 9.6, 4.8, 4.8$, 1 H, H-C(3')); 1.66-1.59 (*m*, 1 H, H-C(2')); 1.40-1.33 (*m*, 1 H, H_a-C(1')); 1.17-1.10 (*m*, 1 H, H_b-C(1')); 0.87 (*d*, $J = 6.4$, 3 H, Me-C(2')); 0.77 (*d*, $J = 6.6$, 3 H, H-C(3')).

RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆): 188.9 (CSNH); 166.4 (CO₂H); 148.6 (C(4')); 132.9 (C(4a')); 131.3, 130.5 (C(6') o C(7')); 130.2 (C(8a')); 129.7 (C(8')); 124.6 (C(5')); 116.7 (C(2)); 50.4 (C(3')); 45.1 (C(1')); 24.2 (C(2')); 23.4 (*Me*-C(2')); 21.7 (C(3')).

ES (ES⁺) *m/e*: 276 ([*M* + H]⁺), 298 ([*M* + Na]⁺), 573 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₅H₁₇NO₂S: C 65.43, H 6.22, N 5.09, S 11.64.

Encontrado: C 65.67, H 6.05, N 4.79, S 11.57.

2.5.4.6.- Síntesis de híbridos péptido-isoquinolinationa. Procedimiento general.

A una disolución del correspondiente ácido **74** o **75** (0.58 mmol) en DMF anhidra (2 mL) se añadió secuencialmente el péptido correspondiente (como trifluoroacetato) (0.70 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (HOBT, 92 mg, 0.70 mmol), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC, 134.4 mg, 0.70 mmol), Et₃N (0.23 ml, 1.74 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 7 mg, 0.058 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Posteriormente, el disolvente orgánico se eliminó a vacío y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna para dar el híbrido péptido-tioxoisoquinolina correspondiente.

N-[(*S,S,Z*)-(3-*sec*-Butil-1-tioxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-isoleucil-*L*-isoleucinato de metilo (**76**).

Se obtuvo con un rendimiento del 86% (257 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **74** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-*L*-Ile-*L*-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:2). Sólido amarillo.

P.f.: 178-181 °C.

[α]_D = - 366.0 (c = 0.25, MeOH).

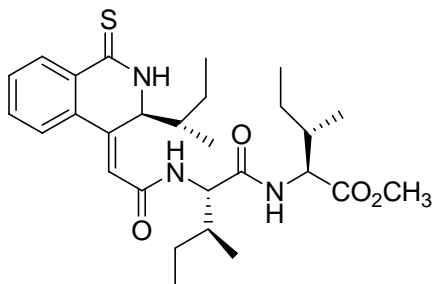
HPLC: Tiempo de retención: 23.99 min.

IR (KBr) *v*: 3435, 2964, 1739, 1631, 1525, 1212.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.96 (*d*, *J* = 4.9, 1 H, NH-*L*-Biq²⁵³); 8.38-8.28 (*m*, 3 H, NH-*L*-Ile[1], NH-*L*-Ile[2], H-C(8')); 7.65-7.48 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.72 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.61-5.56 (*m*, 1 H, H-C(3')); 4.39 (*t*, *J* = 8.1, 1 H, CH_α-*L*-

Ile[2]); 4.16 (*t*, $J = 7.1$, 1 H, CH_α-L-Ile[1]); 3.59 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.86-1.68 (*m*, 2 H, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 1.54-0.98 (*m*, 7 H, [Me-CH-Et] de L-Biq, [Me-CH-CH₂CH₃]

de L-Biq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 0.86-0.65 (*m*, 18 H, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).



RMN-¹³C (50 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 189.2 (CSNH); 171.7, 171.3 (CO₂Me, CONH-L-Ile[2]); 164.5 (=CH-CONH); 142.9 (C(4')); 132.8, 130.9,

123.8 (C(5'), C(6'), C(7')); 131.4 (C(8')); 130.6 (C(8a')); 129.4 (C(4a')); 121.5 (CH olefínico); 56.5 (CH_α-L-Ile[2]); 56.1 (CH_α-L-Ile[1]); 55.0 (C(3')); 51.5 (CO₂Me); 40.3, 36.8, 35.9 ([Me-CH-Et] de L-Biq, CH_β-L-Ile[1], CH_β-L-Ile[2]); 24.9, 24.7, 24.2 ([Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 15.3, 15.1, 14.7, 11.1, 10.8 (6 C, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

ES (ES⁺) *m/e*: 516 ([*M* + H]⁺), 583 ([*M* + Na]⁺), 1031 ([2*M* + H]⁺), 1053 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₈H₄₁N₃O₄S: C 65.21, H 8.01, N 8.15, S 6.22.

Encontrado: C 65.19, H 8.10, N 8.01, S 6.23.

***N*-[(*S,Z*)-(3-Isobutil-1-tioxo-2,3-dihidro-1*H*-isoquinolin-4-iliden)acetil]-*L*-isoleucil-*L*-isoleucinato de metilo (77).**

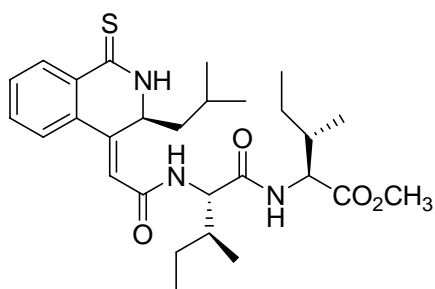
Se obtuvo con un rendimiento del 39% (116 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente por reacción entre **75** y el péptido CF₃CO₂⁻ ⁺H-L-Ile-L-Ile-OCH₃. Se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 3:2). Sólido amarillo.

P.f.: 120-122 °C.

[α]_D = - 219.1 (*c* = 0.34, MeOH).

IR (KBr) *v*: 3436, 2956, 1736, 1648, 1526, 1208.

RMN-¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 10.89 (*d*, $J = 5.1$, 1 H, NH-L-Giq²⁵³); 8.43-8.26 (*m*, 3 H, NH-L-Ile[1], NH-L-Ile[2], H-C(8')); 7.66-7.49 (*m*, 3 H, H-C(5'), H-C(6'), H-C(7')); 6.77 (*s*, 1 H, H olefínico); 5.76 (*m*, 1 H, H-C(3')); 4.39 (*t*, $J = 8.3$, 1 H, CH _{α} -L-Ile[2]); 4.16 (*t*, $J = 7.1$, 1 H, CH _{α} -L-Ile[1]); 3.59 (*s*, 3 H, CO₂Me); 1.76-1.46 (*m*, 3 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2]); 1.46-0.89 (*m*, 6 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 0.87-0.77 (*m*, 18 H, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).



RMN-¹³C (75 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 189.2 (CSNH); 171.7, 171.4 (CO₂Me, CONH-L-Ile[2]); 165.1 (=CH-CONH); 142.9 (C(4')); 132.8, 130.7, 124.1 (C(5'), C(6'), C(7')); 131.3 (C(8')); 130.6 (C(8a')); 129.4 (C(4a')); 119.7 (CH olefínico); 56.6 (CH _{α} -L-Ile[2]); 56.5 (CH _{α} -L-Ile[1]); 51.4 (C(3')); 51.5 (CO₂Me); 45.2 ([Me-CH-CH₂CH₃] de L-Giq); 35.9 (2 C, CH _{β} -L-Ile[1], CH _{β} -L-Ile[2]);

24.7, 24.2 (CH₂-L-Ile[1], CH₂-L-Ile[2]); 22.5 ([CH₂-CHMe₂] de L-Giq); 15.4, 15.1, 11.2, 10.9, 10.7 (6 C, [CH₂-CHMe₂] de L-Giq, [CH-CH₃] de L-Ile[1], [CH-CH₃] de L-Ile[2], [CH₂-CH₃] de L-Ile[1], [CH₂-CH₃] de L-Ile[2]).

ES (ES⁺) *m/e*: 516 ([*M* + H]⁺), 583 ([*M* + Na]⁺), 1031 ([2*M* + H]⁺), 1053 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₈H₄₁N₃O₄S: C 65.21, H 8.01, N 8.15, S 6.22.

Encontrado: C 65.20, H 8.12, N 7.99, S 6.20.

2.5.4.7.- Síntesis del ácido (1-cloroisoquinolin-4-il)acético y derivados. Procedimiento general.

A una suspensión del ácido **74** (100 mg, 0.36 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL) a 0 °C se le añadió gota a gota SOCl₂ (0.27 mL, 3.6 mmol), la mezcla se agitó a esta temperatura durante 5 minutos y a continuación se dejó que alcanzara temperatura ambiente. Seguidamente se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose un aceite que se disolvió en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL). A esta disolución se añadió una disolución de NaOH 1M (0.72 mL), la mezcla se agitó a esta temperatura durante 30 minutos y, a continuación, se acidificó con HCl 5% hasta pH = 2. Se separó la fase

orgánica y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 × 5 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por recristalización de AcOEt/hexano.

Ácido (S)-(3-sec-butil-1-cloroisoquinolin-4-il)acético (80).

Se obtuvo con un rendimiento del 66% (66 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **74**. Sólido amarillo.

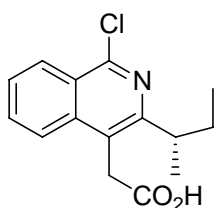
P.f.: 93-95 °C (con reblanqueamiento previo).

[α]_D = - 8.6 (c = 0.17, CHCl₃).

HPLC: Tiempo de retención: 21.57 min.

IR (KBr) v: 3435, 2963, 1708, 1617, 1317, 1212, 948, 764, 616.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.31 (*dd*, *J* = 8.3, 1.5, 1 H, H-C(8')); 7.90 (*dd*, *J* = 8.5, 1.3, 1 H, H-C(5')); 7.75 (*m*, 1 H, H-C(6')); 7.62 (*m*, 1 H, H-C(7')); 4.09 (*s*, 2 H, ArCH₂CO₂H); 3.12 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.88 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.68 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 1.27 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, Me-C(1')); 0.78 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C((3'))).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 176.2 (CO₂H); 157.6 (C(1')); 150.9 (C(3')); 137.6, 125.2 (C(4') o C(4a')); 131.1 (C(3')); 127.2 (C(7')); 127.0 (C(8')); 123.4 (C(5')); 119.7 (C(8a')); 38.6 (C(1')); 32.9 (ArCH₂CO₂H); 29.3 (C(2')); 20.4 (Me-C(1')); 12.2 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 278 ([M + H]⁺), 300 ([M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₅H₁₆ClNO₂: C 64.87, H 5.81, N 5.04.

Encontrado: C 64.67, H 5.70, N 5.13.

Síntesis de ésteres de los ácidos (1-cloroisoquinolin-4-il)acético 3-sustituídos.

Procedimiento general.

A una suspensión de los ácidos **73** o **74** (0.36 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (2.5 mL) a 0 °C se le añadió gota a gota SOCl₂ (0.27 mL, 3.6 mmol) y la mezcla se agitó hasta temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos. Seguidamente se eliminó el

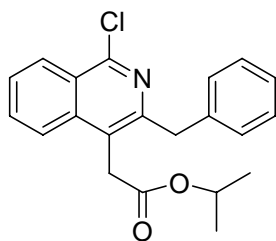
disolvente a presión reducida obteniéndose un aceite que se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro (2.5 mL). A esta disolución se añadió bajo argón el alcohol correspondiente (0.90 mmol para los monoalcoholes y 0.15 mmol para los dioles) disuelto en CH_2Cl_2 anhidro (2.5 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo argón durante 1 hora. A continuación se diluyó la reacción con CH_2Cl_2 (10 mL) y se extrajo con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 (3×20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO_4 . Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (4:1 a 1:1). Los rendimientos indicados a continuación se refieren al conjunto de las tres etapas (formación del cloruro de ácido, introducción del cloro y esterificación).

(3-Bencil-1-cloroisoquinolin-4-il)acetato de isopropilo (81).

Se obtuvo con un rendimiento del 51% (40 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de **73**. Aceite incoloro.

IR (KBr) ν : 2948, 2930, 1724, 1322, 1105, 7215.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.36 (*dd*, $J = 8.3, 0.5$, 1 H, H-C(8')); 7.95 (*d*, $J = 8.3$, 1 H, H-C(5')); 7.76 (*ddd*, $J = 8.3, 6.8, 1.5$, 1 H, H-C(6')); 7.65 (*ddd*, $J = 8.3, 6.8, 1.5$, 1 H, H-C(7')); 7.26 (*m*, 5 H, H-Ph); 4.95 (*sep*, $J = 6.3$, 1 H, CHMe_2); 4.41 (*s*, 2 H, ArCH_2Ph); 4.00 (*s*, 2 H, $\text{ArCH}_2\text{CO}_2\text{CHMe}_2$); 1.14 (*d*, $J = 6.3$, 6 H, CHMe_2).



RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 169.9 (CO_2CHMe_2); 151.7 ($\text{C}(1')$); 150.2 ($\text{C}(3')$); 138.9, 125.7 ($\text{C}(4')$ o $\text{C}(4a')$); 131.3 ($\text{C}(6')$); 128.5, 128.4 (4 C, $\text{C}(\text{Ph})$); 127.6 ($\text{C}(7')$); 126.9 ($\text{C}(8')$); 126.3 ($\text{C}(\text{Ph})$); 123.6 ($\text{C}(5')$); 122.6 ($\text{C}(8a')$); 68.8 (CO_2CHMe_2); 41.5 (ArCH_2Ph); 34.2 ($\text{ArCH}_2\text{CO}_2\text{CHMe}_2$); 21.6 (CO_2CHMe_2).

ES (ES^+) m/e : 354 ($[M + \text{H}]^+$), 376 ($[M + \text{Na}]^+$).

(S)-(3-sec-Butil-1-cloroisoquinolin-4-il)acetato de isopropilo (82).

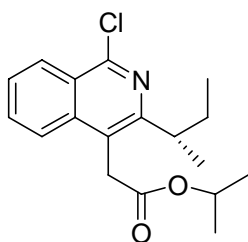
Se obtuvo con un rendimiento del 60% (69 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de 74. Aceite incoloro.

$[\alpha]_D = +30.4$ (c = 0.11, MeOH).

HPLC: Tiempo de retención: 27.97 min.

IR (KBr) v: 3072, 2931, 2873, 1731, 1571, 1374, 1319, 1259, 1175, 1106, 958, 764.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.32 (*ddd*, $J = 8.5, 1.3, 0.6$, 1 H, H-C(8')); 7.97 (*dd*, $J = 8.5, 1.3$, 1 H, H-C(5')); 7.75 (*ddd*, $J = 8.5, 6.8, 1.3$, 1 H, H-C(6')); 7.61 (*ddd*, $J = 8.5, 6.8, 1.3$, 1 H, H-C(7')); 5.01 (*sep*, $J = 6.4$, 1 H, CHMe₂); 4.05 (*s*, 2 H, ArCH₂CO₂CHMe₂); 3.19 (*m*, 1 H, H-C(1')); 1.94 (*m*, 1 H, H_a-C(2')); 1.71 (*m*, 1 H, H_b-C(2')); 1.31 (*d*, $J = 6.4$, 3 H, Me-C(1')); 1.18 (*d*, $J = 6.2$, 3 H, CO₂CHMe₂); 1.17 (*d*, $J = 6.2$, 3 H, CO₂CHMe₂); 0.83 (*t*, $J = 7.4$, 3 H, H-C(3')).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 170.3 (CO₂CHMe₂); 157.4 (C(1')); 150.6 (C(3')); 137.8, 125.2 (C(4') o C(4a')); 131.1 (C(6')); 127.1 (C(7')); 126.9 (C(8')); 123.7 (C(5')); 120.6 (C(8a')); 68.7 (CO₂CHMe₂); 38.5 (C(1')); 33.7 (ArCH₂CO₂CHMe₂); 29.3 (C(2')); 21.7 (CO₂CHMe₂); 20.5 (Me-C(1')); 12.3 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 320 ([M + H]⁺), 342 ([M + Na]⁺).

(S,S)-Bis(3-sec-Butil-1-cloroisoquinolin-4-il)acetato de p-xilileno (83).

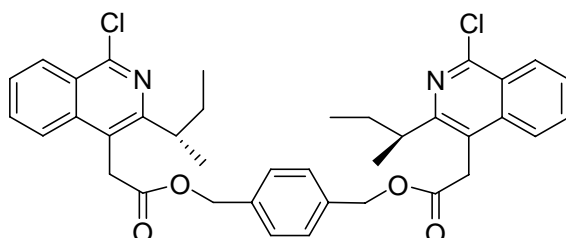
Se obtuvo con un rendimiento del 7% (6.5 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de 74. Aceite incoloro.

$[\alpha]_D = +30.0$ (c = 0.02, CH₂Cl₂).

IR (KBr) v: 2970, 2885, 1730, 15766, 1310, 1179, 1116, 964, 779.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.31 (*dd*, $J = 8.8, 1.2$, 2 H, H-C(8')); 7.97 (*d*, $J = 8.3, 2$ H, H-C(5')); 7.69 (*ddd*, $J = 8.3, 6.8, 1.2$, 2 H, H-C(6')); 7.59 (*ddd*, $J = 8.3, 6.8, 1.2$, 2 H, H-C(7')); 7.16 (*s*, 4 H, CO₂CH₂PhCH₂CO₂); 5.07 (*s*, 4 H, CO₂CH₂PhCH₂CO₂); 4.10 (*s*, 4

H, $\text{ArCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{PhCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ar}$); 3.12 (*m*, 2 H, H-C(1'')); 1.85 (*m*, 2 H, $\text{H}_a\text{-C}(2'')$); 1.66 (*m*, 2 H, $\text{H}_b\text{-C}(2'')$); 1.24 (*d*, $J = 6.6$, 6 H, $\text{Me-C}(1'')$); 0.74 (*t*, $J = 7.4$, 6 H, H-C(3'')).



RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 170.5 ($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{ArCH}_2\text{CO}_2$); 157.4 (C(1'')); 137.7, 125.2 (C(4') o C(4a')); 135.7 (C(Ph)); 131.1 (C(6'')); 128.3 (C(Ph)), 127.1 (C(7'')); 127.0 (C(8'')); 123.6 (C(5'')); 120.1 (C(8a'')); 66.5

($\text{CO}_2\text{CH}_2\text{ArCH}_2\text{CO}_2$); 38.5 (C(1'')); 33.3 ($\text{ArCH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Ar}$); 29.3, 29.7 (C(2'')); 20.4 ($\text{Me-C}(1'')$); 12.3 (C(3'')).

ES (ES^+) *m/e*: 657 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 679 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$), 1313 ($[\text{2M} + \text{H}]^+$).

Síntesis de amidas del ácido (3-sec-butil-1-cloroisoquinolin-4-il)acético. Procedimiento general.

A una suspensión del ácido **74** (100 mg, 0.36 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (2.5 mL) a 0 °C se la añadió gota a gota SOCl_2 (0.27 mL, 3.6 mmol), la mezcla se agitó hasta temperatura ambiente y a continuación se calentó a reflujo durante aproximadamente 1 h. Seguidamente se eliminó el disolvente a presión reducida obteniéndose un aceite oscuro que se disolvió en CH_2Cl_2 anhidro (2.5 mL). A esta disolución se añadió bajo argón 3'-aminoacetofenona (77.04 mg, 0.57 mmol) disuelta en CH_2Cl_2 anhidro (2.5 mL). Seguidamente se añadió Et_3N (0.1 mL, 0.72 mmol) y la mezcla se dejó agitando a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación se diluyó la reacción con CH_2Cl_2 (50 mL) y se extrajo secuencialmente con disolución acuosa de HCl 5% (3 \times 50 mL) y con disolución acuosa saturada de NaHCO_3 (3 \times 50 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO_4 . Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/ AcOEt (4:1 a 1:1). Los rendimientos indicados a continuación se refieren al conjunto de las tres etapas (formación del cloruro de ácido, introducción del cloro y síntesis de la amida).

(S)-N-(3-Acetilfenil)(3-sec-butil-1-cloroisoquinolin-4-il)acetamida (84).

Se obtuvo con un rendimiento del 35% (50 mg) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente a partir de 74. Sólido blanco.

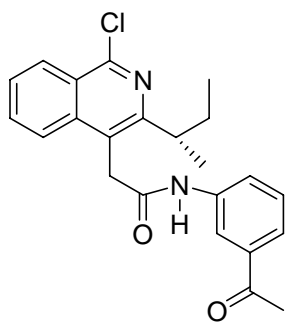
P.f.: 60-62 °C.

[α]_D = + 6.9 (c = 0.14, MeOH).

HPLC: Tiempo de retención: 23.97 min.

IR (KBr) v: 3435, 2965, 1664, 1544, 1434, 1266, 941, 753.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.39 (*d*, *J* = 8.3, 1 H, H-C(8')); 7.96 (*d*, *J* = 8.5, 1 H, H-C(5')); 7.82 (*m*, 5 H, H-C(6'), H-C(7'), H-Ar); 7.35 (*m*, 1 H, H-Ar); 7.03 (*s* ancho, 1 H, NH); 4.20 (*s*, 2 H, ArCH₂CONHAr); 3.19 (*m*, 1 H, H-C(1'')); 2.53 (*s*, 3 H, ArCOCH₃); 1.96 (*m*, 1 H, H_a-C(2'')); 1.73 (*m*, 1 H, H_b-C(2'')); 1.33 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, Me-C(1')); 0.82 (*t*, *J* = 7.3, 3 H, H-C(3')).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 197.7 (ArCOCH₃); 168.2 (CONH); 157.9 (C(1')); 148.6 (C(3')); 137.8, 125.2 (C(4') o C(4a')); 129.4 (C(Ar)); 127.4 (C(8')); 123.2 (C(5')); 119.7 (C(8a')); 132.1, 127.8, 124.6, 124.4, 119.2 (6 C, C(6'), C(7'), C(Ar)); 38.8 (C(1'')); 36.5 (ArCH₂CO₂Ar); 29.3 (C(2'')); 26.6 (ArCOCH₃); 20.8 (Me-C(1')); 12.5 (C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 395 ([M + H]⁺), 417 ([M + Na]⁺), 811 ([M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₃H₂₃ClN₂O₂: C 69.95, H 5.87, N 7.09.

Encontrado: C 70.08, H 5.87, N 7.23.

2.5.4.8.- Síntesis de ésteres del ácido (1-oxo-4-vinilisoquinolin-4-il)acético y derivados.
Síntesis de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona.

Reducción del ácido 28 al alcohol alílico 85 por el método del anhídrido mixto.

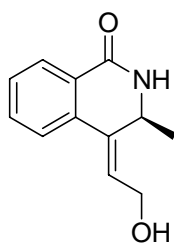
A una suspensión de 28 (1.0 g, 4.6 mmol) en THF anhidro (10 mL) a 0 °C bajo atmósfera de argón se añadió secuencialmente Et₃N (0.63 mL, 4.60 mmol) y cloroformiato de isobutilo (0.58 mL, 4.60 mmol). La mezcla se dejó agitando en estas

condiciones durante *ca.* 5 h (hasta desaparición del ácido de partida, CCF). A continuación la mezcla se vertió sobre una suspensión de NaBH₄ (349 mg, 9.20 mmol) en H₂O (2 mL) a -10 °C, y se dejó agitando durante toda la noche hasta alcanzar temperatura ambiente. Seguidamente se extrajo la reacción con AcOEt (3 × 50 mL), las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (3:7), obteniéndose un aceite incoloro (640 mg, 59%)

(S,Z)-3-Metil-4-(2-hidroxietiliden)-3,4-dihidroisoquinolin-1(2H)-ona (85).

$[\alpha]_D = -194$ (c = 1.5, CHCl₃).

RMN-¹H (300, MHz, CDCl₃) δ : 8.03 (*m*, 1 H, H-C(8'')); 7.88 (*s ancho*, 1 H, NH); 7.37 (*m*, 3 H, H-C(5''), H-C(6''), H-C(7'')); 6.06 (*dd*, *J* = 8.7, 5.1, 1 H, H-C(1'')); 4.58 (*m*, 1 H, H-C(3)); 4.39 (*dd*, *J* = -13.8, 8.7, 1 H, H_a-C(2'')); 4.10 (*dd*, *J* = -13.8, 5.1, 1 H, H_b-C(2'')); 3.00 (*s ancho*, 1 H, OH); 1.23 (*d*, *J* = 7.1, 3 H, Me-C(3)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 165.1 (CONH); 135.6 (C(4)); 134.1 (C(Ar)); 132.8, 128.3, 127.8, 127.1 (C(Ar)); 126.2 (C(8a)); 124.0 (C(1'')); 58.2 (C(2'')); 47.6 (C(3)); 23.8 (Me-C(3)).

Transposición de Claisen-Johnson del alcohol alílico 85. Procedimiento general.

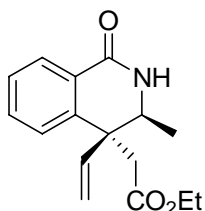
A una disolución del alcohol alílico **85** (400 mg, 1.97 mmol) en ortoacetato de trietilo (36 mL, 19.7 mmol) a 100 °C, se añadió 2 mg de hidroquinona. A continuación, se añadió ácido propiónico (0.012 mL, 0.19 mmol) y la mezcla se calentó a 160 °C durante 16 h; el etanol formado en el transcurso de la reacción se eliminó periódicamente a vacío. Una vez eliminado a vacío el disolvente, se obtuvo el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (1:1), para dar lugar a **83** como un aceite (323 mg, 60%).

(S,S)-(3-Metil-1-oxo-4-vinil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-4-il)acetato de etilo (86).

$[\alpha]_D = -198$ (c = 0.55, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3205, 3078, 2980, 1732, 1673, 1604, 1462, 1397, 1158, 1033.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.10 (*m*, 1 H, H-C(8')); 7.49 (*m*, 1 H, H-C(7')); 7.37 (*m*, 1 H, H-C(6')), 7.31 (*m*, 1 H, H-C(5')); 6.51 (*s ancho*, 1 H, NH); 6.05 (*dd*, *J* = 17.6, 10.9, 1 H, H-C(1')); 5.26 (*d*, *J* = 11.0, 1 H, H-C(2')); 4.95 (*d*, *J* = 17.6, 1 H, H-C(3')); 4.23 (*m*, 1 H, H-C(3')); 3.99 (*c*, *J* = 7.2, 2 H, CO₂CH₂CH₃); 2.95 (*dd*, *J* = -15.8, 2 H, CH₂CO₂Et); 1.28 (*d*, *J* = 6.7, 3 H, Me-C(3)); 1.11 (*t*, *J* = 7.2, 3 H, CO₂CH₂CH₃).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 170.6 (CO₂Et); 165.7 (CONH); 142.1 (C(8a')); 138.5 (C(1')); 132.5 (C(6')); 128.6 (C(5a')); 127.6 (2 C, C(5'), C(8')); 126.4 (C(7')); 117.3 (CH=CH₂); 60.7 (CO₂CH₂CH₃); 52.4 (C(3')); 47.0 (C(4')); 38.7 (CH₂CO₂Et); 16.2 (Me-C(3')); 14.2 (CO₂CH₂CH₃).

Hidrolisis del resto ester etílico del compuesto 86.

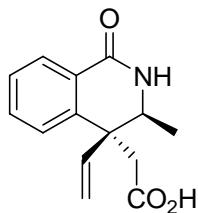
A una disolución del compuesto 86 (108 mg, 0.4 mmol) en una mezcla 1:1 de THF-H₂O (4 mL) a temperatura ambiente se añadió una solución de LiOH (33.6 mg, 0.8 mmol) en H₂O (0.8 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche y a continuación se acidificó con HCl 5% hasta pH = 2. Se eliminó el THF a vacío y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3 × 5 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por recristalización de AcOEt/hexano dando un sólido blanco (100 mg, 99%).

Ácido (*S,S*)-(3-metil-1-oxo-4-vinil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-4-il)acético (87).

[α]_D = + 48 (c = 0.15, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3428, 2925, 1701, 1638, 1606, 1466, 1225, 762.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.02 (*m*, 2 H, H-C(8'), H-C(7')); 7.50 (*m*, 1 H, H-C(6')), 7.35 (*m*, 2 H, H-C(5'), NH); 5.99 (*dd*, *J* = 17.6, 10.9, 1 H, H-C(1')); 5.34 (*d*, *J* = 10.9, 1 H, H-C(2')); 5.11 (*d*, *J* = 17.6, 1 H, H-C(3')); 4.23 (*m*, 1 H, H-C(3)); 2.95 (*dd*, *J* = -15.8, 2 H, CH₂CO₂Et); 1.23 (*d*, *J* = 6.6, 3 H, Me-C(3)).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 175.1 (CO₂H); 166.9 (CONH); 142.0 (C(8a')); 138.2 (C(1')); 132.9 (C(6')); 128.1 (C(5a')); 127.4, 127.3, 126.0 (C(5'), C(8'), (C(7'))); 117.1 (CH=CH₂); 51.6 C(3'); 46.3 (C(4)); 38.6 (CH₂CO₂Et); 16.0 (Me-C(3')).

ES (ES⁺) m/e: 246 ([M + H]⁺), 268 ([M + Na]⁺), 491 ([2M + H]⁺), 513 ([2M + Na]⁺)

AE: Calculado para C₁₄H₁₅NO₃: C 68.56, H 6.16, N 5.71.

Encontrado: C 68.40, H 6.21, N 5.49.

Procedimiento general para la síntesis de híbridos aminoácido-vinilisoquinolinona.

A una disolución del ácido **87** (63.4 mg, 0.26 mmol) en DMF anhidra (3 mL), se añadió secuencialmente el péptido correspondiente (como trifluoroacetato) (67 mg, 0.31 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (HOBT, 42 mg, 0.31 mmol), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC, 59.4 mg, 0.31 mmol), Et₃N (0.11 mL, 0.78 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 3 mg, 0.026 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Posteriormente, el disolvente orgánico se eliminó a vacío y el producto bruto se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (1:1 a 1:4), para dar el híbrido aminoácido-vinilisoquinolinona **88** (57 mg, 58 %).

N-[(*S,S*)-(3-Metil-1-oxo-4-vinil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-4-il)acetil]-*L*-isoleucinato de metilo (**88**).

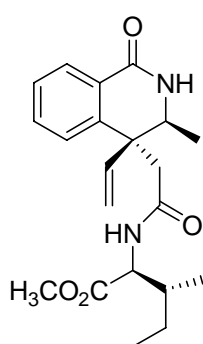
P.f.: 79-82 °C.

[α]_D = + 17 (c = 0.1, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3420, 3327, 1741, 1657, 1533, 1463, 762.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.12 (*dd*, *J* = 7.6, 1.2, 1 H, H-C(8')); 7.49 (*m*, 1 H, H-C(7')); 7.37 (*m*, 3 H, H-C(6'), H-C(5'), NH-*L*-Miq²⁵³); 6.05 (*dd*, *J* = 17.6, 10.9, 1 H, H-C(1')); 5.94 (*s ancho*, 1 H, NH-*L*-Ile); 5.35 (*d*, *J* = 10.9, 1 H, H-C(2')); 5.15 (*d*, *J* = 17.3, 1 H, H-C(3')); 4.21 (*dd*, *J* = 8.5, 4.8, 1 H, CH_α-*L*-Ile); 4.17 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.64 (*s*, 3 H, CO₂Me); 2.99 (*d*, *J* = - 15.1, 1 H, CH_{2a}-CONH); 2.78 (*d*, *J* = - 15.1, 1 H, CH_{2b}-

CONH); 1.75-1.66 (*m*, 3 H, CH_β-L-Ile, CH₂-L-Ile); 1.23(*d*, *J* = 6.6, 3 H, Me de L-Miq); 0.88 (*m*, 6 H, [CH-CH₃] de L-Ile, [CH₂-CH₃] de L-Ile).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 172.1, 169.4 (CO₂Me, CONH-L-Ile); 165.0 (CONH-L-Miq); 142.0 (C(8a)); 137.9 (C(1')); 132.7 (C(6)); 128.9 (C(5a)); 128.2, 127.5 (C(5), C(8)); 126.1 (C(7)); 117.3 (CH=CH₂); 56.4 (CH_α-L-Ile); 52.3 (C(3')); 52.1 (CO₂Me); 47.3, 41.8, ([Me-CH-Et] de L-Biq, CH_β-L-Ile); 37.5 (CH₂CO₂Et); 25.0 (2 C, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, CH₂-L-Ile); 17.0, 15.5, 11.5 ([CH-Me] de L-Miq, [Me-CH-CH₂CH₃] de L-Biq, [CH-CH₃] de L-Ile, [CH₂-CH₃] de L-Ile).

ES (ES⁺) *m/e*: 373 ([*M* + H]⁺), 395 ([*M* + Na]⁺), 745 ([2*M* + H]⁺), 767 ([2*M* + Na]⁺)

AE: Calculado para C₂₁H₂₈N₂O₄: C 67.72, H 7.58, N 7.52.

Encontrado: C 67.88, H 7.74, N 7.52.

**SÍNTESIS, ESTUDIO Y ESTUDIO BIOLÓGICO DE HÍBRIDOS PÉPTIDO
CARBOHIDRATO**

3.1.- INTRODUCCIÓN.....	221
3.2.-ESPOSICIÓN DE RESULTADOS	226
3.2.1.- Síntesis y transformaciones químicas sobre derivados de 3,6-dihidro-2 <i>H</i> -pirano	226
3.2.2.- Transformaciones químicas sobre el compuesto 91	230
3.2.2.1.- Síntesis de los benzoatos 101-108	230
3.2.2.2.- Síntesis de los híbridos aminoácido-carbohidrato 109 y 110	231
3.2.2.3.- Síntesis de los monobenzoatos 112 y 114	232
3.2.2.4.- Síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato 116	233
3.3.-ESTUDIOS DE INHIBICIÓN DE CALPAÍNA	234
3.4.- PARTE EXPERIMENTAL	241
3.4.1.- Técnicas generales utilizadas	241
3.4.2.- Síntesis de derivados de 3,6-dihidro-2 <i>H</i> -pirano	244
3.4.3.- Transformaciones químicas sobre el compuesto 91	255
3.4.3.1.- Procedimiento general para la síntesis de compuestos diacilados	255
3.4.3.2.- Procedimiento general para la síntesis de los híbridos 109 y 110	262
3.4.3.3.- Procedimiento general para la síntesis de compuestos mono-acilados y derivados	264
3.4.3.4.- - Procedimiento general para la síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato 116	267

3.1.-INTRODUCCIÓN

Los carbohidratos constituyen el grupo de compuestos más abundantes dentro del campo de los productos naturales; esta afirmación se ve reflejada en la fotosíntesis, proceso en el que se producen aproximadamente 4×10^{14} Kg de carbohidratos cada año.

Los carbohidratos son el principal aporte energético de muchas células. Además, polisacáridos como la celulosa, pectina cumplen funciones estructurales en el reino vegetal, así como, de manera análoga, la quitina forma el exoesqueleto de los invertebrados. A parte de la función estructural, también desempeñan importantes labores en numerosos procesos biológicos, entre los que destacan reconocimiento celular, fertilización, embriogénesis, desarrollo neuronal, actividad hormonal, proliferación celular así como su organización en los tejidos específicos, y sirven como receptores de la célula en infecciones bacterianas, víricas y parasitarias, y en procesos de metástasis de tumores.²⁵⁶

A la vista de los procesos en los que estas moléculas están implicadas, tienen un enorme potencial terapéutico y serán, sin duda, una importante fuente de inspiración para el desarrollo de nuevos fármacos.²⁵⁷

En relación con un proyecto de nuestro grupo de trabajo encaminado a la búsqueda de nuevos peptidomiméticos con diferentes actividades biológicas, se diseñaron estructuras en las que el fragmento no peptídico era un derivado de carbohidrato.

²⁵⁶ A. Varki, *Glycobiology* **1993**, 3, 97-130. R. A. Dwek, *Chem. Rev.* **1996**, 96, 683-720. F. Tropper, M. Bednarski, en *Bioorganic Chemistry: Carbohydrates*; S. M. Hecht, Ed.; Oxford University Press, Inc.: New York, **1999**; p 335-369. H. J. Jennings, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **1990**, C 125, 373-378. A. A Lindberg, *Vaccine 17 Suppl.* **1999**, 2, S28-S36.

²⁵⁷ R. L. Schnaar, *Adv. Pharmacol.* **1992**, 23, 35-84. J. H. Musser, *Annu. Rep. Med. Chem.* **1992**, 27, 301-309.

Los carbohidratos representan unos moldes excelentes a la hora de abordar la preparación de peptidomiméticos; debido a la elevada cantidad de centros estereogénicos que poseen, constituyen moldes tridimensionales excepcionales para construir moléculas con una enorme diversidad estructural.

Existen numerosos ejemplos en la bibliografía de peptidomiméticos en los el fragmento no peptídico está compuesto por un carbohidrato (Figura 3.1).

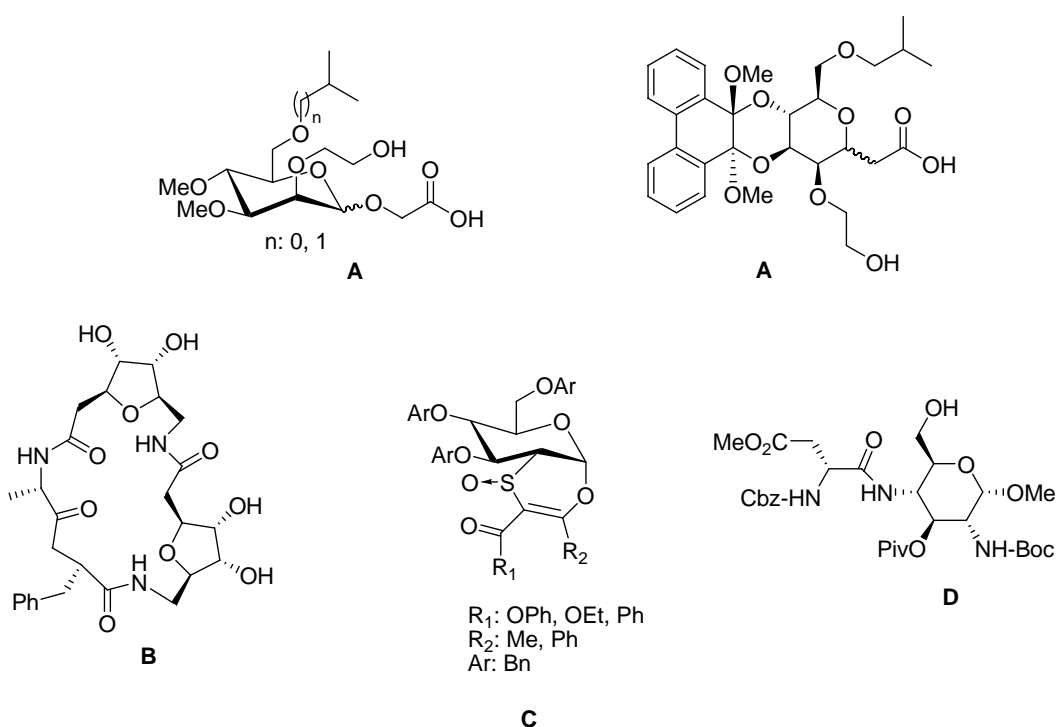


Figura 3.1. Ejemplos de peptidomiméticos en los que el fragmento no peptídico está compuesto por un carbohidrato (**A**,²⁵⁸ **B**,²⁵⁹ **C**,²⁶⁰ **D**²⁶¹).

²⁵⁸ E. Locardi, J. Boer, A. Modlinger, A. Schuster, B. Holzmann, H. Kessler, *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5752-5762.

²⁵⁹ R. M. van Well, L. Marinelli, C. Altona, K. Erkelens, G. Siegal, M. van Raaij, A. L. Llamas-Saiz, H. Kessler, E. Novellino, A. Lavecchia, J. H. van Boom, M. Overhand, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 10822-10829.

²⁶⁰ G. Capozzi, S. Giannini, S. Menichetti, C. Nativi, A. Giolitti, R. Patacchini, E. Perrotta, M. Altamura, C. A. Maggi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 2263-2266.

También se puede encontrar ejemplos de carbohidratos modificados que poseen distintas aplicaciones, pudiéndose utilizar como ligandos en catálisis asimétrica,²⁶² como fragmentos de crecimiento de dendrímeros,²⁶³ como moldes para su uso en Química Combinatoria,²⁶⁴ etc (Figura 3.2).

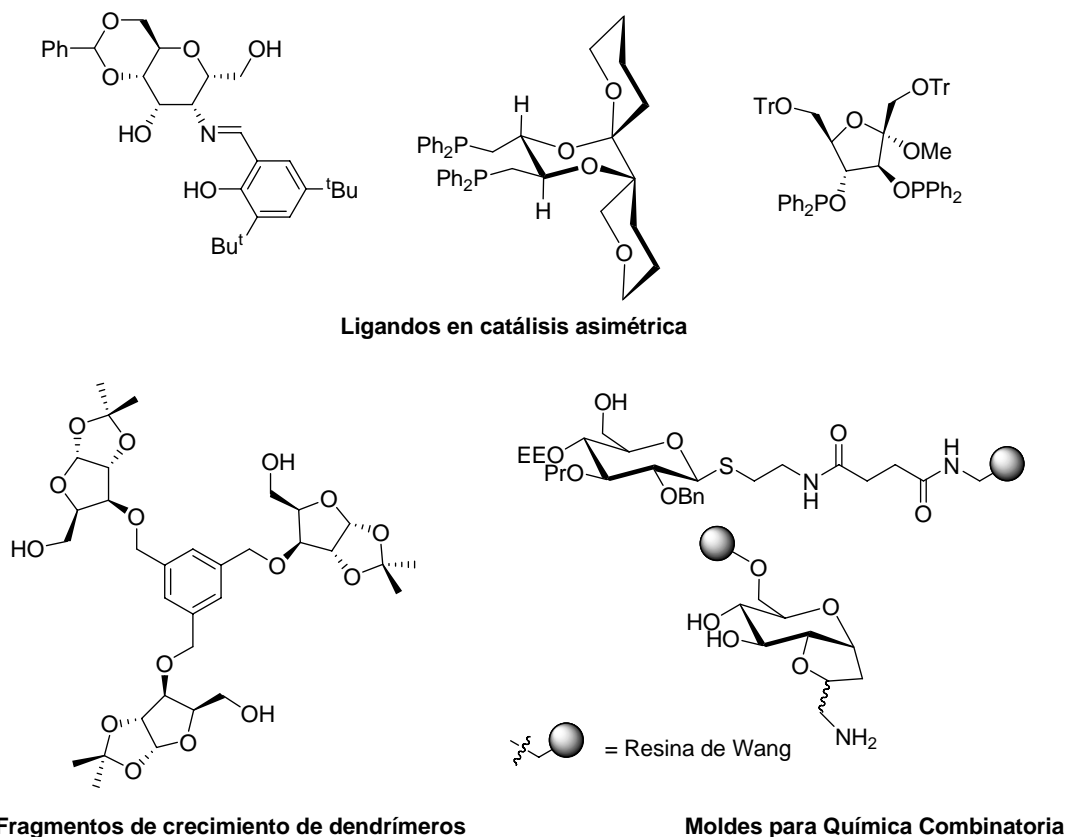


Figura 3.2. Ejemplos de los distintos usos de los carbohidratos.

²⁶¹ N. Moitessier, C. Henry, N. Aubert, Y. Chapleur, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 6191-6194.

²⁶² M. Diéguez, O. Pàimes, A. Ruiz, Y. Díaz, S. Castellón, C. Claver, *Coord. Chem. Rev.* **2004**, *248*, 2165-2192. M. E. Cucciolito, R. del Litto, G. Roviello, F. Rufo, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2005**, *236*, 176-181.

²⁶³ S. Ghorai, D. Bhattacharya, A. Bhattacharjya, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 6169-6194.

²⁶⁴ G. Cervib, F. Peri, C. Battistini, C. Gennaric, F. Nicotraa, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 3349-3367. T. Opatz, C. Kallus, T. Wunberg, H. Kunz, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 813-8626. Algunas revisiones sobre el uso de carbohidratos en Química Combinatoria: L. A. Marcaurrelle, P. H. Seeberger, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, *6*, 289-296. F. Schweizer, O. Hindsgaul, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 291-298.

Además, existe multitud de compuestos con estructura de carbohidrato, con actividades terapéuticas variadas tales como antitumorales,²⁶⁵ inhibidores de ACE,²⁶⁶ antivirales,²⁶⁷ antibióticos,²⁶⁸ etc. Algunos ejemplos de compuestos que presentan estas actividades se muestran en la *Figura 3.3*.

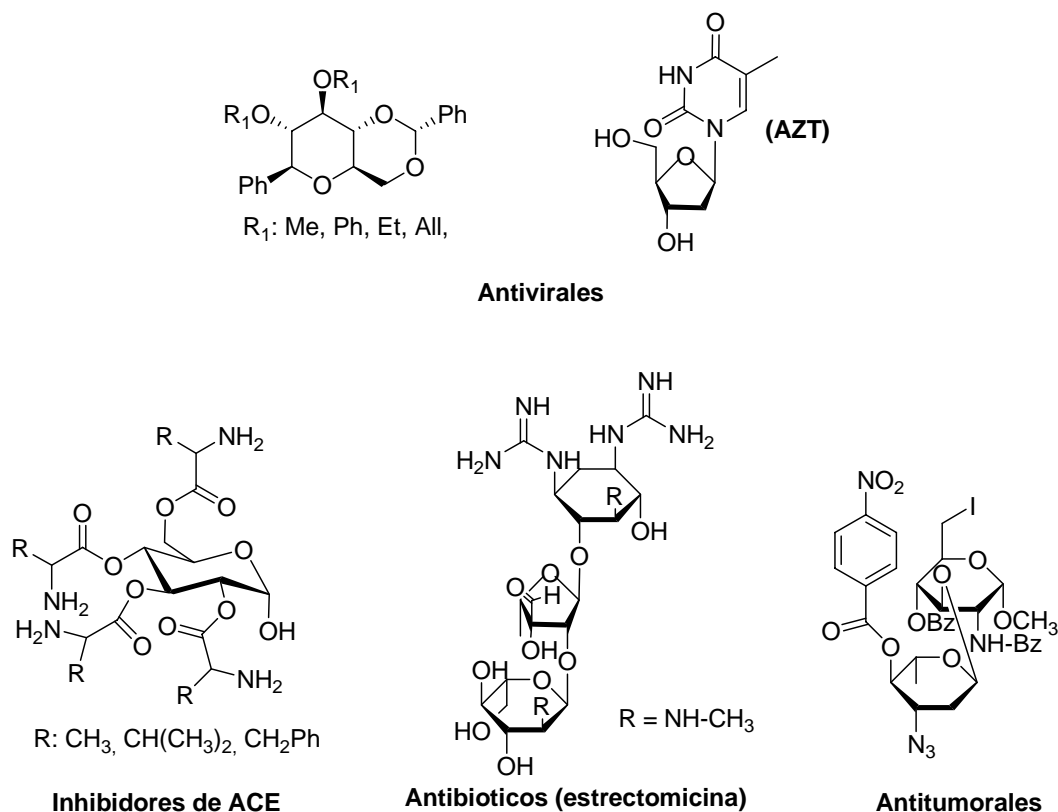


Figura 3.3. Ejemplos de carbohidratos con distintas actividades terapéuticas.

²⁶⁵ T. Gazivoda, K. Wittine, I. Lovric, D. Makuc, J. Plavec, M. Cetina, D. Mrvos-Sermek, L. Suman, M. Kralj, K. Pavelic', M. Mintasa, S. Raic'-Malicá, *Carbohydrate Res.* **2006**, *341*, 433-442. A. I. Khodair, *Carbohydrate Res.* **1998**, *306*, 567-573. B-G. Huang, M. Bobek, *Carbohydrate Res.* **1998**, *308*, 319-328.

²⁶⁶ V. Kamath, P. S. Rajini, K. Lohith, B. R. Somashekar, S. Divakar, *Inter. J. Biol. Macromol.* **2006**, *38*, 89-93.

²⁶⁷ S. van Hoof, B. Ruttens, I. Hubrecht, G. Smans, P. Blom, B. Sas, J. van Hemel, J. Vandekerckhove, J. van der Eycken, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 1495-1498. A. Bianco, M. B. F. Manna, C. Melchioni, *Carbohydrate Res.* **2001**, *332*, 23-31.

²⁶⁸ I. F. Pelyvás, M. Mfidi-Puskfís, Z. G. Tóth, Z. Varga, G. Batta, F. Sztaricskai, *Carbohydrate Res.* **1995**, *272*, C5-C9. M. L. Wolfrom, *Advan. Carbohydr. Chem.* **1948**, *3*, 337-384.

Por otra parte, nuestro grupo de trabajo tiene experiencia en el desarrollo de híbridos péptido-carbohidrato, algunos de los cuales han mostrado interesantes propiedades como inhibidores de calpaína (*Figura 3.4*).²⁶⁹

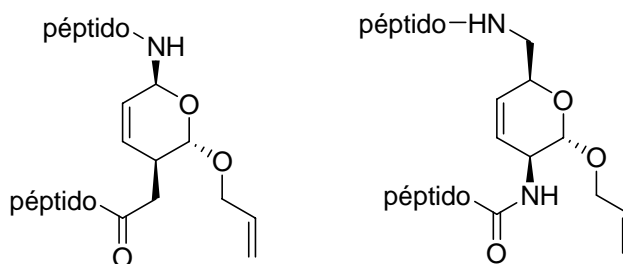


Figura 3.4. Derivados de carbohidrato utilizados en el grupo.

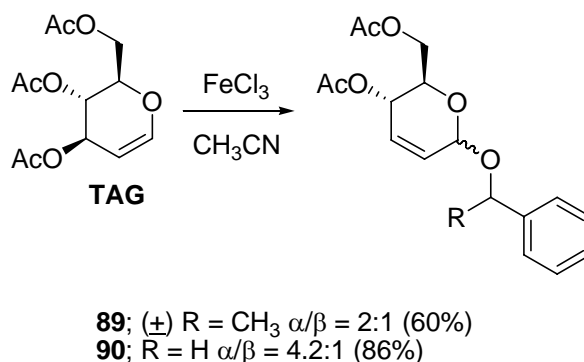
Siguiendo con esta línea, otro de los capítulos de esta *Tesis Doctoral* está encaminado a explorar la reactividad de restos de glucal similares a los mostrados en la *Figura 3.4*, con objeto de introducir funciones adecuadas que permitan el anclaje de fragmentos peptídicos u otros, generando así diversidad molecular, así como de estudiar las posibles actividades biológicas de las estructuras obtenidas.

²⁶⁹ A. Montero, E. Mann, B. Herradón, *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3063-3073. A. Montero, E. Mann, B. Herradón, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 401-405.

3.2.-EXPOSICIÓN DE RESULTADOS

3.2.1.- SÍNTESIS Y TRANSFORMACIONES QUÍMICAS SOBRE DEDERIVADOS DE 3,6-DIHIDRO-2H-PIRANO

La síntesis de los híbridos aminoácido-carbohidrato se inicia con una reacción tipo Ferrier I.²⁷⁰ Como reactivos de partida se utilizan 3,4,6-tri-*O*-triacetil-D-glucal²⁷¹ (**TAG**) y alcohol bencílico o (\pm)-feniletanol utilizando como catalizador tricloruro de hierro,²⁷² obteniendo en cada caso los correspondientes productos de sustitución con transposición con buenos rendimientos (*Esquema 3.1*).



Esquema 3.1. Síntesis de **89** y **90** a través de una reacción tipo Ferrier.

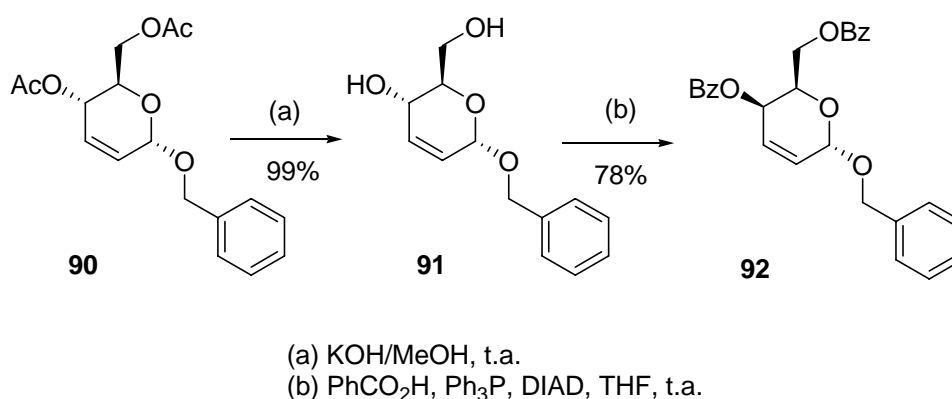
²⁷⁰ Existen dos tipos de reacción de Ferrier la I y la II: la tipo I se refiere a la transposición alílica de glucales; y la II a la transformación de hex-5-enopiranosidas a ciclohexanonas altamente funcionalizadas. R. J. Ferrier, *Topics Curr. Chem.* **2001**, 215, 153-175. R. J. Ferrier, O. A. Zubkov, *Org. React.* **2003**, 62, 569-736. S. Hotha, A. Tripathi, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 4555-4558 y referencias contenidas. Esta reacción también se puede llevar a cabo usando I₂ como catalizador, pero los resultados que se obtienen son similares (proporción de anómeros, rendimientos, etc.) y además al realizar la reacción en grandes cantidades se observó que el exceso de yodo era difícil de eliminar contaminando en algunos casos el producto final; ver: M. Koreda, T. A. Houston, B. K. Shull, E. Klemke, R. J. Tuinman, *Synlett* **1995**, 90-92.

²⁷¹ Los glucales son excelentes moldes para iniciar una síntesis diversa y orientada, ver: S. Hasyap, S. Hota, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2021-2023. S. L. Schreiber, *Science* **2000**, 287, 1964-1969. D. R. Spring, *Org. Biomol. Chem.* **2003**, 1, 3867-3870. S. Shang, D. s. Tan, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2005**, 9, 1-11. P. Arya, S. Quevillon, R. Joseph, C.-Q. Wei, Z. Gan, M. Parisien, B. Sesmilo, P. T. Reddy, Z.-X. Chem, P. Durieux, D. Laforce. L. Campeu, S. Khaden, M. Daroszewska, M. L. Barnes, *Pure. Appl. Chem.*, **2005**, 77, 163-178.

²⁷² C. Masson, J. Soto, M. Bessodes, *Synlett* **2000**, 1281-1282.

Ambos productos se obtienen como mezclas de anómeros en el carbono 6. Además en el compuesto **89**, al partir de un reactivo racémico, lo que se obtiene son diastereoisómeros de cada anómero en la siguiente proporción: α 66% SR, SS; β 33% RS, RR; por este motivo se decidió no continuar el esquema sintético con **89**.

A continuación se llevó a cabo cuantitativamente la metanolisis completa de los grupos acetoxi de **90** obteniendo el diol **91** como una mezcla de anómeros α/β en proporción 6.7:1. Dicho diol fue sometido a las condiciones de reacción de Mitsunobu²⁷³ conduciendo al dibenzoato **92** de configuración relativa *cis*- en las posiciones 2 y 3 del anillo de pirano como una mezcla de anómeros α/β en proporción 6.7:1.

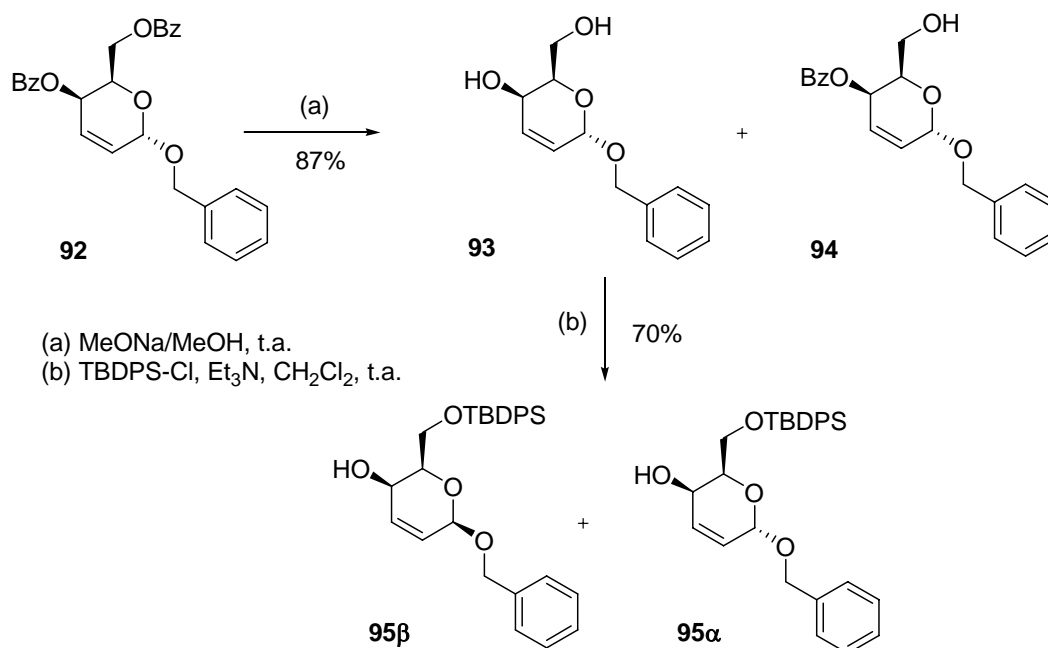


Esquema 3.2. Síntesis del dibenzoato **92**.

La hidrólisis básica de los grupos benzoato del compuesto **92** proporcionó el diol **93** junto con el producto de mono-hidrólisis del alcohol primario (**94**), obteniendo ambos compuestos como una mezcla de anómeros α/β en proporción 7.3:1. Seguidamente, se llevó a cabo la protección del alcohol primario del compuesto **93** mediante reacción con cloruro de *tert*-butildifenilsililo (TBDPS-Cl) y Et₃N en CH₂Cl₂, obteniendo una mezcla

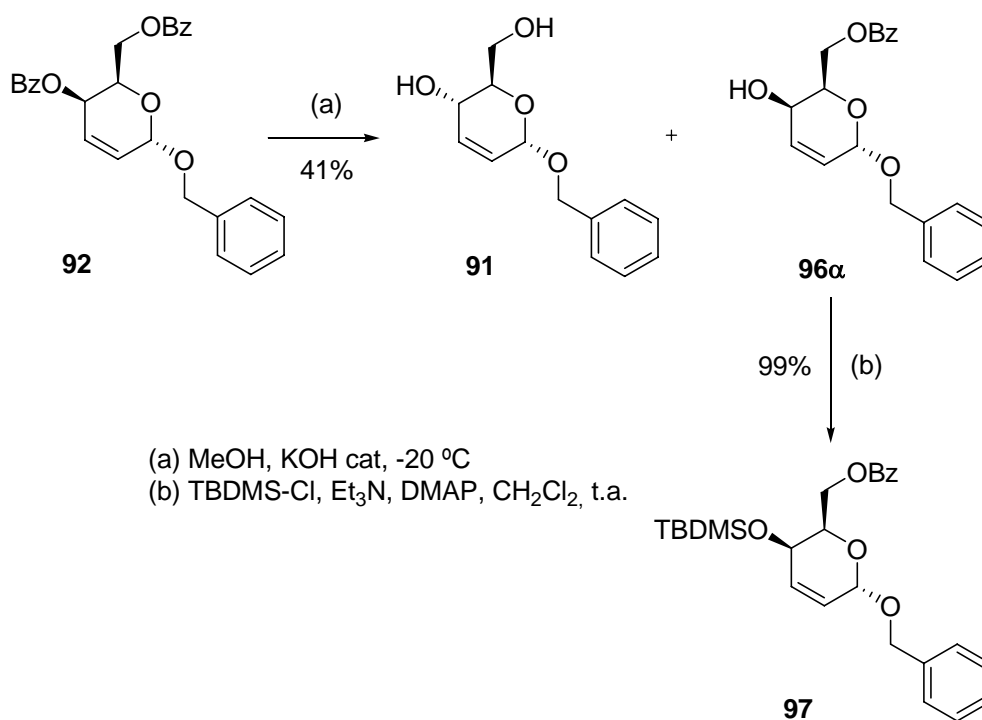
²⁷³ O. Mitsunobu, *Synthesis* **1981**, 1-28. S. Valverde, B. Herradón, R. M. Rabanal, M. Martín-Lomas, *Can. J. Chem.* **1987**, *65*, 339-342.

de anómeros **95 α** y **95 β** , la cual se pudo separar por cromatografía en columna (*Esquema 3.3*).



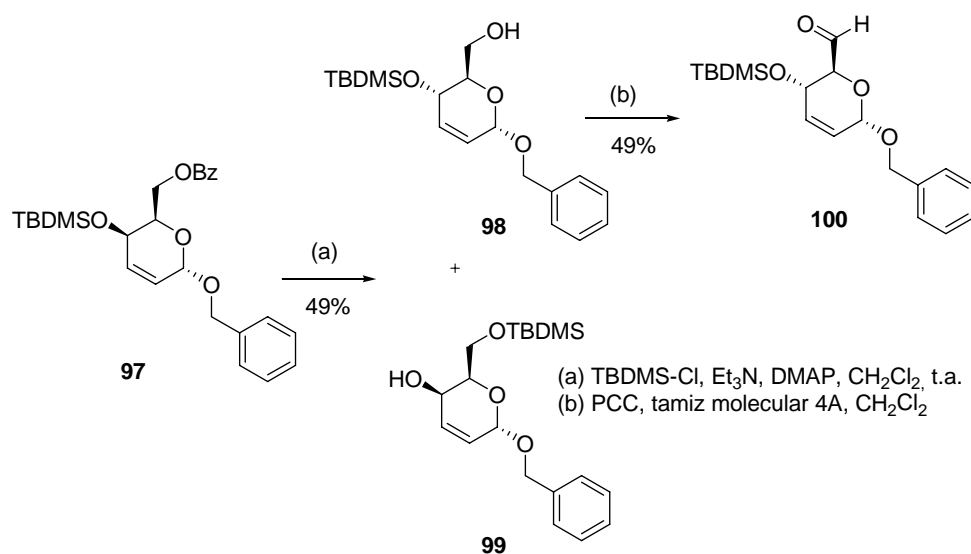
Esquema 3.3. Síntesis de los alcoholes alílicos **95 α** y **95 β** .

A continuación, se llevó a cabo la hidrólisis parcial de **92** en metanol en presencia de una cantidad catalítica de hidróxido potásico a -20 °C obteniendo una mezcla de compuestos formada por: el diol **91** como una mezcla de anómeros α/β en proporción 7.3:1, el monobenzoato **96 α** como único anómero y junto material de partida inalterado como mezcla de anómeros. El alcohol en posición 3 del compuesto **96 α** se protegió cuantitativamente en forma de derivado de TBDMS (**97**) por reacción tonel cloruro de *tert*-butildimetilsililo (TBDMS-Cl), Et₃N y DMAP en CH₂Cl₂ (*Esquema 3.4*).

Esquema 3.4. Síntesis del derivado **97**.

Seguidamente se llevó a cabo la hidrólisis del grupo benzoato del compuesto **97** por reacción en metanol con una cantidad catalítica de KOH obteniendo el producto deseado **98** como mayoritario, junto con el producto de migración²⁷⁴ del grupo TBDMS al alcohol primario (**99**). Finalmente, la oxidación de **98** con PCC-tamiz molecular 4Å condujo al aldehído **100** con rendimiento moderado (*Esquema 3.5*).

²⁷⁴ Esta reacción ya había sido realizada en el grupo con un análogo con resto OEt en lugar de OBn en la posición 6 del anillo de pirano, no detectándose trazas del producto de transposición y con rendimiento cuantitativo. Sin embargo, existen antecedentes relacionados con la transposición de grupos sililo en anillo de pirano, ver: S. García Ochoa, Tesis Doctoral, UAM, **1988**.



Esquema 3.5. Síntesis del aldehído **100**.

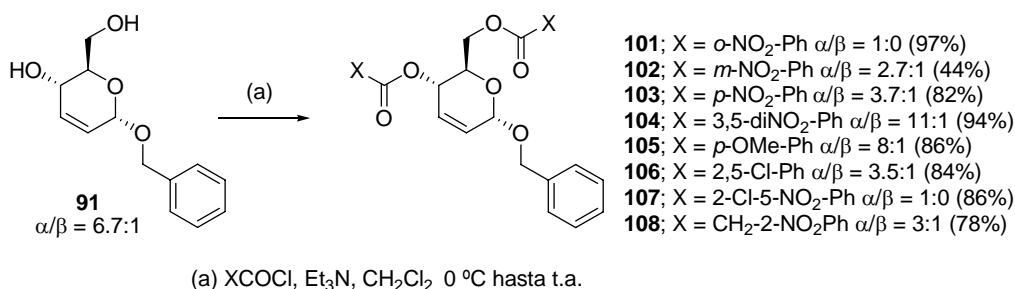
3.2.2.- TRANSFORMACIONES QUÍMICAS SOBRE EL COMPUESTO **91**

Se realizaron diversas transformaciones químicas sobre el compuesto **91** aprovechando la funcionalidad presente en su estructura.

3.2.2.1. Síntesis de los dibenzoatos **101-108**.²⁷⁵

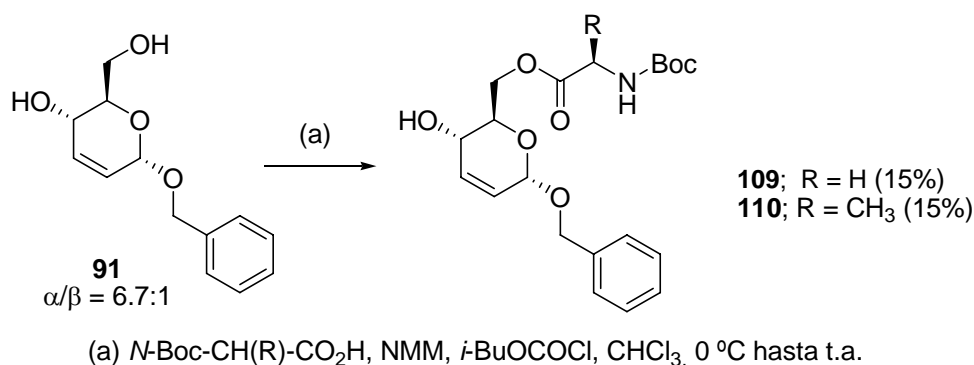
La primera transformación química realizada sobre la citada estructura consistió en la reacción con cloruros de ácido aromáticos de distinta naturaleza (dadores, aceptores de electrones, etc.) para obtener los derivados diacilados **101-108** con rendimientos de moderados a buenos (*Esquema 3.6*).

²⁷⁵ Estos compuestos actualmente están siendo ensayados frente a caspasas por el Dr. Enrique Pérez-Payá (Universidad de Valencia)

Esquema 3.6. Síntesis de los dibenzoatos **101-108**.

3.2.2.2. Síntesis de los híbridos aminoácido-carbohidrato **109** y **110**.

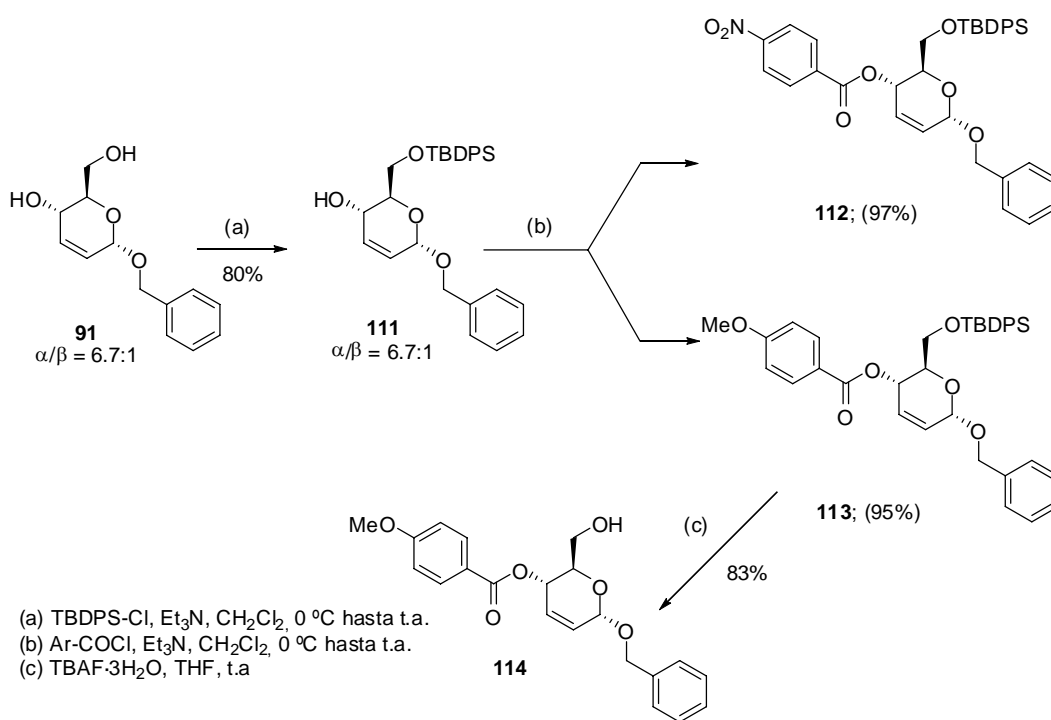
Para la síntesis de los híbridos aminoácido-carbohidrato **109** y **110** se utilizaron como aminoácidos *N*-Boc-Gly-OH y *N*-Boc-L-Ala-OH respectivamente. La reacción se llevó a cabo por medio del método del anhídrido mixto, para ello se empleó cloroformiato de isobutilo²⁷⁶ como promotor, el diol **91** como nucleófilo y *N*-metilmorfolina (NMM), obteniendo tal y como se muestra en el Esquema 3.7 los citados híbridos con bajos rendimientos. Hay que resaltar que ambos híbridos se obtuvieron como anómeros puros.

Esquema 3.7. Síntesis de los híbridos aminoácido-carbohidrato **109** y **110**.

²⁷⁶ T. Ray, en *Handbook of Reagents for Organic Synthesis. Activating Agents and Protecting Groups*, Eds.: A. J. Pearson, W. R. Roush, John Wiley and Sons; Chichester, **1999**, pp. 243-244.

3.2.2.3. Síntesis de los monobenzoatos **112** y **114**.

Para llevar a cabo la síntesis de los monobenzoatos **112** y **113**, en primer lugar se protegió selectivamente el hidroxilo primario del diol **91** por reacción con cloruro de *tert*-butildifenilsililo (TBDPS-Cl), Et₃N y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) como catalizador obteniendo el glucal mono-sililado **111** como una mezcla de anómeros α/β en proporción 6.7:1. A continuación, dicho compuesto se aciló por reacción con cloruros de ácido aromáticos de distinta naturaleza [dador (cloruro de 4-metoxibenzoilo) y aceptor de electrones (cloruro de 4-nitrobenzoilo)], obteniendo los monoacil derivados **112** y **113** deseados con excelente rendimientos independientemente de la naturaleza electrónica del cloruro de ácido y como anómeros puros. Por último, se llevó a cabo la reacción de desililación²⁷⁷ del acil derivado **113** con fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) en THF conduciendo al alcohol **114** con buenos rendimientos (*Esquema 3.8*).



Esquema 3.8. Síntesis de los monobenzoatos **112** y **114**.

²⁷⁷ E. J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 6190-6191.

3.2.2.4. Síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato 116.

Con el objetivo de comparar la actividad biológica de híbridos de crecimiento de sentidos opuestos²⁷⁸ se decidió preparar el compuesto **116**.

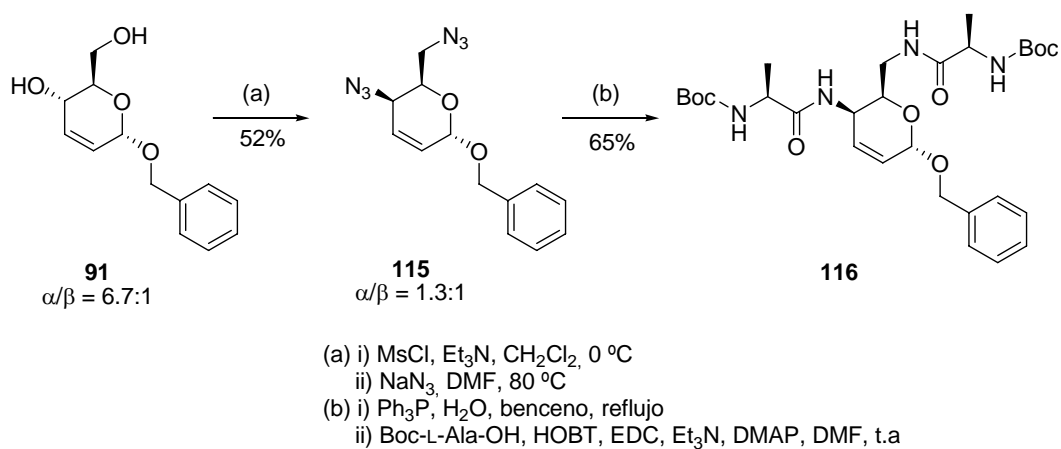
En primer lugar el diol **91** se transformó en el compuesto dimesilato (el cual no se aisló) por tratamiento con cloruro de mesilo y trietilamina, dicho intermedio se le hizo reaccionar con NaN_3 en DMF obteniendo la diazida **115** con buen rendimiento como una mezcla de anómeros α/β en proporción 1.3:1. El compuesto **115** fue sometido a las condiciones de la reacción de Staudinger,²⁷⁹ trifenilfosfina y agua en benceno como disolvente, dando lugar como producto a la correspondiente diamina. La mencionada diamina, sin purificación alguna y, por reacción con Boc-L-Ala-OH mediante la combinación de reactivos de acoplamiento: 1-hidroxibenzotriazol (HOBT),²⁸⁰ 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC),²⁸¹ Et_3N y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) condujo al híbrido aminoácido-carbohidrato **116** como único anómero (*Esquema 3.9*).

²⁷⁸ La inversión de un enlace amida en una cadena peptídica, es posiblemente una de las primeras modificaciones introducidas para la preparación de análogos peptídicos, ver: M. Goodman, M. Chorev, *Acc. Chem. Res.* **1979**, *12*, 1-7. S. Richman, M. Goodman, T. Nguyen, P. Schiller, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1985**, *25*, 648-662. M. Marraud, V. Dupont, V. Gand, S. Zerkout, A. Lecoq, G. Boussard, J. Vidal, A. Collet, A. Aubry, *Biopolymers* **1993**, *33*, 1135-1148.

²⁷⁹ H. Staudinger, J. Meyer, *Chim. Acta* **1919**, *2*, 635-646. Para revisiones sobre algunos aspectos de la reacción de Staudinger ver: Y. Gololobov, L. F. Kasukhin, *Tetrahedron* **1981**, *37*, 437-472. T. G. Gololobov, L. F. Kasukhin, *Tetrahedron* **1992**, *48*, 1353-1406.

²⁸⁰ B. Lygo en *Handbook of Reagents for Organic Synthesis. Activating Agents and Protecting Groups*; Eds., A. J. Pearson, W. R. Roush; John Wiley and Sons: Chichester **1999**, pp 220-222.

²⁸¹ R. S. Pottorf, P. Szeto en *Handbook of Reagents for Organic Synthesis. Activating Agents and Protecting Groups*; Eds., A. J. Pearson, W. R. Roush; John Wiley and Sons: Chichester **1999**, pp 186-188.



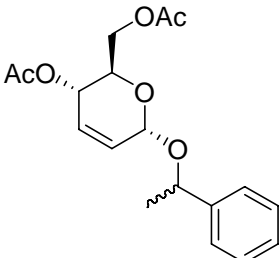
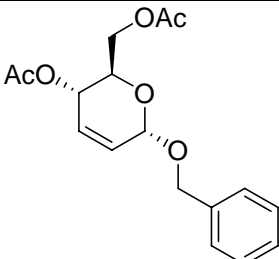
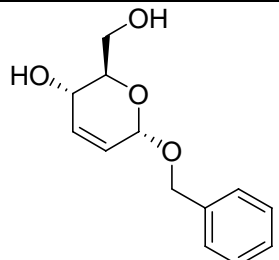
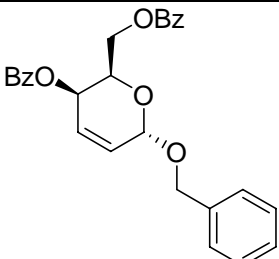
Esquema 3.9. Síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato **116**.

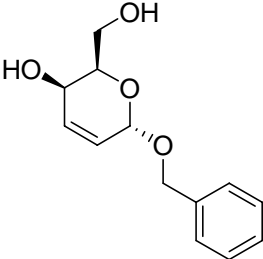
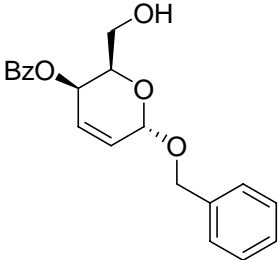
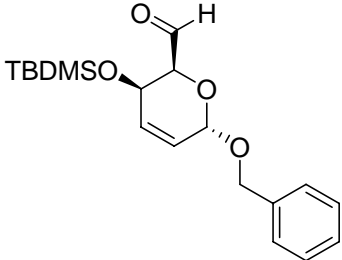
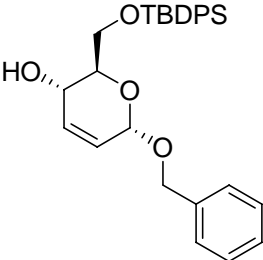
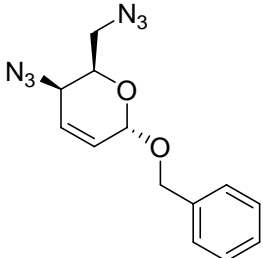
3.3.-ESTUDIOS DE INHIBICIÓN DE CALPAÍNA

El objetivo inicial de la síntesis de los diferentes híbridos aminoácido-carbohidrato descritos en este capítulo se enmarca dentro de un proyecto encaminado a la búsqueda de peptidomiméticos con diferentes actividades biológicas. Sin embargo, debido al interés del grupo desde hace algún tiempo en encontrar nuevos compuestos inhibidores de calpaína, decidimos aprovechar los compuestos preparados y evaluar su capacidad como inhibidores de dicha enzima.

A continuación, en las *Tablas 3.1 a 3.3* se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de inhibición de los compuestos expuestos en el presente capítulo frente a calpaína:

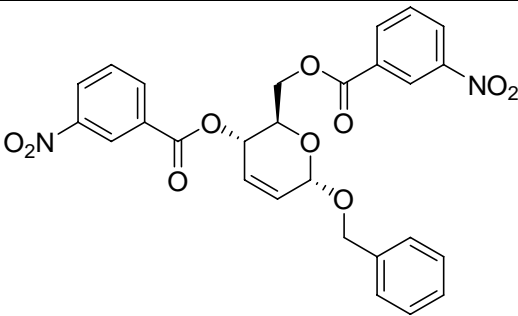
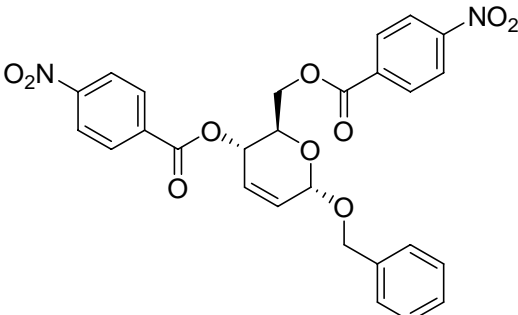
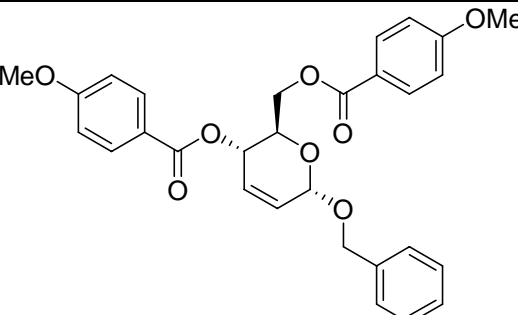
Tabla 3.1. Ensayos de inhibición de calpaína sobre compuestos sencillos.

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀
89 $\alpha/\beta = \alpha$ 66% SR, SS; β 33% RS, RR		NO	
90 $\alpha/\beta = 4.2:1$.		NO	
91 $\alpha/\beta = 6.7:1$		NO	
92 $\alpha/\beta = 6.7:1$		SI	713 nM

93 $\alpha/\beta = 7.3:1$		NO	
94 $\alpha/\beta = 7.3:1$		SI	79 nM
100		SI	80 μ M
111 $\alpha/\beta = 6.7:1$		SI	170 μ M
115 $\alpha/\beta = 1.3:1$		SI	75 nM

En la tabla anterior se muestran los datos de inhibición de calpaína por parte de compuestos sencillos sin fragmento peptídico unido (alcoholes, ésteres, etc.) en forma mezcla de anómeros y otro como único anómero (**100**), entre ellos existen inhibidores de diferentes potencias destacando los compuestos **94** y **115** con valores de inhibición de 79 y 75 nM respectivamente.

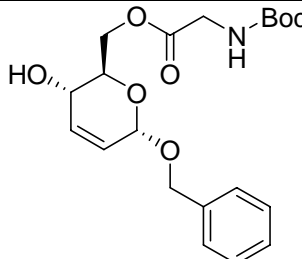
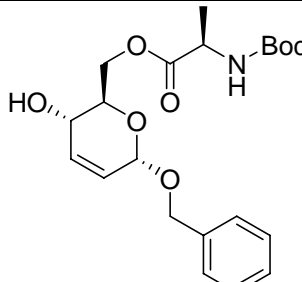
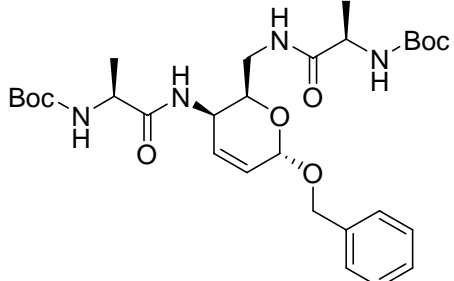
Tabla 3.2. Ensayos de inhibición de calpaína sobre compuestos acilados con cloruros de ácidos aromáticos

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀
102 $\alpha/\beta = 2.7:1$		SI	55 nM
103 $\alpha/\beta = 3.7:1$		NO	
105 $\alpha/\beta = 8.0:1$		SI	24 nM

106 $\alpha/\beta = 3.5:1$		NO	
113		SI	50 μ M
114		SI	> 200 μ M

En la *Tabla 3.2* se muestran los datos de inhibición de calpaína por parte de compuestos acilados con cloruros de ácido aromáticos, resaltando notoriamente los valores de inhibición de los compuestos **102** y **105** (55 y 24 nM respectivamente). También se observa como la sustitución del anillo aromático tanto por la naturaleza del sustituyente (dador, grupo metoxi; o aceptor, grupo nitro) como por su posición en éste (*para-* o *meta*) hacen que el compuesto sea o no activo. Otro dato a tener en cuenta es el número de ésteres que lleva el anillo de pirano; como se puede observar parece necesario que para que los compuestos sean activos deben existir dos grupos benzoato.

Tabla 3.3. Ensayos de inhibición de calpaína sobre híbridos aminoácido-carbohidrato.

Compuesto	Estructura	Inhibición	IC ₅₀
109		NO	
110		NO	
116		NO	

En la tabla anterior se muestran los datos de inhibición de calpaína por parte de los híbridos aminoácido-carbohidrato preparados en esta *Tesis Doctoral*, observando que ninguno de ellos es activo.

Como conclusión, podemos indicar que aunque el número de compuestos ensayados no es muy elevado, se han encontrado derivados sencillos con valores de actividades orden nanomolar, lo cual indica que este tipo de estructuras podrían ser tenidas en cuenta como futuros candidatos a inhibidores de referencia de calpaína. En

cuanto a los híbridos aminoácido-carbohidrato, su inactividad puede venir dada (y en base a los datos de inhibición anteriormente mostrados) por el bajo número de anillos aromáticos presente en su estructura.

3.4.-PARTE EXPERIMENTAL

Todas las reacciones con reactivos sensibles se realizaron en atmósfera inerte (argón). Todos los disolventes utilizados para dichas reacciones se secaron siguiendo la metodología habitual.²⁸² La mayoría de los reactivos utilizados se adquirieron en Aldrich o Fluka y se usaron sin purificar. Cuando se necesitó purificar algún reactivo se utilizaron los procedimientos descritos.²⁸²

3.4.1.-TÉCNICAS GENERALES UTILIZADAS

Cromatografía

Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron utilizando placas de gel de sílice (Merck, 60 F₂₅₄) de 0.2 mm de espesor. Las manchas se visualizaron con luz UV (365 nm y 254 nm) o utilizando reveladores químicos como ácido fosfomolibdico, permanganato potásico, yodo y ninhidrina.

Las cromatografías en columna se realizaron, salvo que se indique de otro modo, con gel de sílice (Merck, 230-400 mesh ASTM), utilizando la técnica de columna seca con elución a presión (Flash-chromatography).²⁸³ El eluyente empleado se encuentra indicado en cada caso.

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C fueron realizados en los siguientes equipos: Varian-UNITY-500, Varian-INOVA-400, Varian-INOVA-300, Varian-GEMINI-200. Los desplazamientos químicos se describen en partes por millón (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se indican en hertzios (Hz). Los espectros de RMN-¹H están referenciados con respecto a la señal residual de protón del disolvente deuterado utilizado en cada caso. La asignación de los distintos protones se hizo en base a experimentos de doble resonancia, así como experimentos bidimensionales tipo COSY,

²⁸² D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon Press, Oxford **1980**.

²⁸³ W. C. Still, M. Khan, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

TOCSY, NOESY, ROESY, HMQC y HMBC utilizando la secuencia de pulsos estándar para cada uno de ellos. Cuando fue posible, los protones diastereotópicos fueron designados con los subíndices a y b. Los sistemas de spines complejos (2° orden; $\Delta\nu/J < 10$) fueron analizados como tales y las constantes de acoplamiento entre los distintos protones del sistema se calcularon cuando fue posible. El subíndice α indica el protón correspondiente al centro quiral del amino ácido, el subíndice β indica los protones en el carbono vecino al centro quiral del amino ácido. Los espectros de RMN- ^{13}C , desacoplados de protón en todos los casos, están referenciados respecto al desplazamiento químico de los correspondientes disolventes deuterados. La asignación de los distintos carbonos se hizo, en algunos casos, basándose en experimentos bidimensionales tipo HMQC y HMBC. Si no se indica de otro modo, todos los espectros se registraron a temperatura ambiente.

Espectroscopia Infrarroja

Los espectros de infrarrojo (**IR**) se registraron en un espectrómetro Perkin-Elmer 657 y Perkin Elmer-Spectrum One FT-IR. Las frecuencias del espectro se indican en cm^{-1} .

Espectrometría de Masas

Los espectros de masas [**EM** (ES^+)], salvo que se indique de otro modo, se registraron por inyección directa de la muestra en un espectrómetro de masas por medio de la técnica de electrospray en modo positivo, registrándose los espectros con un espectrómetro Hewlett Packard 100 MSD, o por medio de la técnica impacto electrónico (70 eV) de baja resolución RMU-GMG de Hitachi-Perkin Elmer. Los espectros se describen en unidades de relación masa/carga (m/z) y entre paréntesis se indican las intensidades relativas de cada pico respecto al pico base, considerado como 100%.

Análisis elemental

Los análisis elementales (**AE**) fueron realizados en un equipo Carlo Erba EA 1180 (Centro de Química Orgánica Manuel Lora-Tamayo, C.S.I.C).

Puntos de fusión

Los puntos de fusión se midieron en un aparato de platina calentable tipo Kofler y en capilares con un aparato Gallenkamp.

Rotación óptica específica ($[\alpha]_D$)

La rotación óptica observada (α) se midió en un polarímetro Perkin-Elmer 241 MC ($l = 1$ dm) a temperatura ambiente, con las concentraciones ($c = \text{g}/100 \text{ mL}$) y los disolventes indicados en cada caso, calculándose la rotación óptica específica por medio de la siguiente fórmula:

$$[\alpha]_D = \alpha \times 100/l \times c$$

3.4.2.- SÍNTESIS DE DEDERIVADOS DE 3,6-DIHIDRO-2H-PIRANO

Procedimiento general para la síntesis de glucales sustituidos en posición 6. por medio de la transposición de Ferrier.

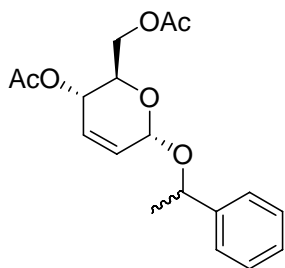
A una solución de tri-*O*-acetil-*D*-glucal (20.0 g, 73.6 mmol) y el correspondiente alcohol bencilico (81 mmol) en CH₃CN anhidro (250 mL) bajo argón, se añadió una solución 1M de FeCl₃ (1.3 g, 8 mmol) in CH₃CN (8 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. A continuación, se añadió una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (100 mL) y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 × 100 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:2).

Acetato de (2*R*,3*S*,6*RS*)-2-acetoximetil-6-(1-etoxifenil)-3,6-dihidro-2*H*-piran-3-ilo (89).

Se obtuvo con un rendimiento del 60% (2.47 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente como una mezcla de anómeros α/β en proporción α 66% SR, SS; β 33% RS, RR. Aceite incoloro.

IR (entre cristales) ν : 2975, 1744, 1452, 1371, 1237, 1030, 702.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.35 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 5.85-5.76 (*m*, 2 H, H-C(5); H-C(4)); 5.36 (*m*, 1.33 H, H-C(3), H-C(6)); 4.87 (*m*, 1.41 H, H-C(6), CH-CH₃); 4.87 (*dd*, *J* = -16.1, 6.6, 0.25 H, CH-CH₃); 4.24 (*m*, 1.42 H, H-C(1), H-C(2)); 4.81 (*dd*, *J* = -11.9, 4.2, 0.16 H, CH₂OAc); 3.38 (*m*, 0.25 H, H-C(2)); 4.61 (*dd*, *J* = -11.7, 2.2, 0.16 H, CH₂OAc); 2.109 (*s*, 0.66 H, CH₂OAc); 2.105 (*s*, 0.66 H, CH₂OAc); 2.07 (*s*, 0.33 H, CH₂OAc); 2.03 (*s*, 0.33 H, CH₂OAc); 1.96-1.46 (*m*, 3 H, OAc).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 170.74, 170.65, 170.25, 170.12 (CH₂OCOCH₃, glucal-OCOCH₃); 144.3, 142.7, 129.2, 128.9, 128.5, 128.4, 128.2, 128.1, 127.8, 127.7, 127.35,

127.31, 126.6, 126.3, 125.9, 125.3 (C(Ar), C(4), C(5)); 93.9, 91.8, 91.6 (C(6)); 77.6, 77.0, 76.4, 74.9 (CH-CH₃); 67.01, 66.7, 65.4, 65.0, 64.2, 63.5, 63.1, 62.1 (C(2), C(3), CH₂OAc); 25.1, 24.2, 22.6 (CH₂OCOCH₃); 20.9, 20.7, 20.6 (enosa-OCOCH₃).

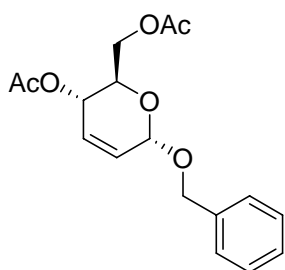
EM (ES⁺) m/e:357 ([M + Na]⁺).

Acetato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-acetoximetil-3,6-dihidro-2H-pirano (90).

Se obtuvo con un rendimiento del 86% (20.2 g) siguiendo el procedimiento general descrito anteriormente como una mezcla de anómeros α/β en proporción 4.2:1. Aceite incoloro.

[α]_D = + 74.2 (c = 0.28, CHCl₃).

IR (KBr) v: 2903, 1744, 1454, 1371, 1236, 1039, 699.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.38-7.28 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 5.88 (*m*, 2 H, H-C(5), H-C(4)); 5.36 (*m*, 1 H, H-C(3)); 5.14 (*s*, 1 H, H-C(6)); 4.81 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_a-C(1')); 4.61 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_b-C(1')); 4.31 (*m*, 3 H, CH₂OAc, H_a-C(2)); 2.10 (*s*, 3 H, CH₂OAc); 2.08 (*s*, 3 H, OAc).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 170.7, 170.2 (CH₂OCOCH₃, enosa-OCOCH₃); 137.5, 129.2, 128.4, 127.9, 127.8, 127.7, 127.5, 126.8 (C(Ar), C(4), C(5)); 93.6 (C(6)); 70.2 (C(1')); 67.0 (C(2)); 65.2 (C(3)); 62.9 (CH₂OAc); 20.9 (CH₂OCOCH₃); 21.7 (glucal-OCOCH₃).

EM (ES⁺) m/e:323 ([M + H]⁺), 343 ([M + Na]⁺), 663 ([2M + Na]⁺).

Metanolisis del diacetato 90: síntesis de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-hidroximetil-3,6-dihidro-2H-pirano-3-ol (91).

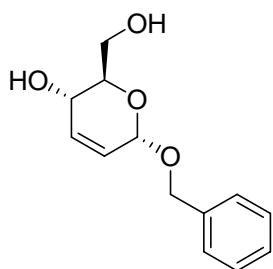
Se añadió KOH (50 mg, 0.89 mmol) a una disolución del diacetato **90** (20.0 g, 62.5 mmol) en MeOH (175 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h, a continuación una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:1 a 1:9). El diol **91** (14.7g, 99%) se obtuvo como una mezcla de anómeros α/β en proporción 6.7:1. Sólido blanco.

P.f.: 81-83 °C.

[α]_D = + 44.4 (c = 0.25, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 3401, 2898, 1092, 1057, 993.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.33-7.26 (m, 5 H, H-C(Ar)); 5.98 (ddd, $J = -10.2, 3.5, 1.6, 0.15$ H, H _{β} -C(4)); 5.91 (ddd, $J = -10.2, 2.6, 1.3, 1$ H, H _{α} -C(4)); 5.77 (ddd, $J = -10.4, 3.4, 1.8, 0.15$ H, H _{β} -C(5)); 5.74 (m, 1 H, H _{α} -C(5)); 5.20 (m, 0.15 H, H _{β} -C(6)); 5.03 (m, 1 H, H _{α} -C(6)); 4.82 (d, $J = -11.7, 0.15$ H, H _{$\beta\alpha$} -C(1')); 4.73 (d, $J = -11.7, 1$ H, H _{$\alpha\alpha$} -C(1')); 4.62 (d, $J = -11.7, 0.15$ H, H _{$\beta\beta$} -C(1')); 4.57 (d, $J = -11.7, 1$ H, H _{$\alpha\beta$} -C(1')); 4.16 (m, 1 H, H-C(3)); 3.78-3.64 (m, 3 H, CH₂OH, H-C(2)); 2.83 (d, $J = 7.5, 1$ H, 3-OH); 2.42 (t, $J = 5.7, 1$ H, CH₂OH).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 137.69 (C(Ar)); 133.58 (C(4)); 128.45, 128.05, 127.94, 127.84 (5 C, C(Ar)); 126.06 (C(5));

93.65 (C(6)); 71.55 (C(2)); 70.40 (C(1')); 64.25 (C(3)); 62.65 (CH₂OH).

EM (ES⁺) m/e: 259 ([M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₃H₁₆O₄: C 66.09, H 6.83.

Encontrado: C 66.42, H 6.73.

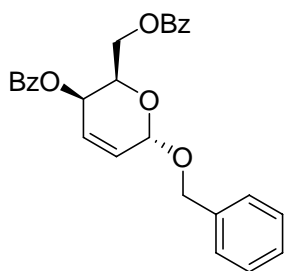
Reacción de Mitsunobu sobre el compuesto 91: síntesis del benzoato de (2R,3R,6S)-6-benciloxi-2-benzoiloximetil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (92).

A una mezcla del diol **91** (10.9 g, 46.1 mmol), Ph₃P (26.6 g, 101.5 mmol) y ácido benzoico (11.54 g, 94.5 mmol) en THF anhidro (70 mL) se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD 20.2 mL, 101.5 mmol). Seguidamente la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 7:3) obteniéndose el dibenzoato **92** con un rendimiento del 78% (16 g), como una mezcla de anómeros α/β en proporción 6.7:1. Sólido blanco.

P.f.: 58-61 °C.

$[\alpha]_D = -166$ ($c = 0.25$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 2902, 1724, 1709, 1451, 1289, 1268, 1107, 1026, 711.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3) δ : 8.05 (*m*, 3 H, H-C(Ar)); 7.59-7.27 (*m*, 12 H, H-C(Ar)); 6.31 (*ddd*, $J = -10.0, 5.4, 1.0$, 1 H, H-C(4)); 6.12 (*dd*, $J = -10.0, 2.7$, 1 H, H-C(5)); 5.37 (*dd*, $J = 5.6, 1.9$, 1 H, H-C(3)); 5.24 (*dd*, $J = 3.1, 1.0$, 1 H, H-C(6)); 4.87-4.52 (*m*, 5 H, H-C(2), CH_2OBz , H-C(1')).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl_3) δ : 166.1, 166.8 (CH_2OCOPh , glucal- OCOPh); 137.1, 133.3, 133.1 (C(Ar)); 130.8 (C(5)); 129.8, 129.7, 129.6, 129.5, 128.4, 128.3, 128.0, 127.8 (15 C, C(Ar)); 125.4 (C(4)); 92.9 (C(6)); 69.7 (C(1')); 67.4 (C(2)); 63.5 (2 C, C(3), CH_2OBz).

EM (ES^+) m/e : 467 ($[M + \text{Na}]^+$).

AE: Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{24}\text{O}_6$: C 72.96, H 5.44.

Encontrado: C 73.26, H 5.41.

Hidrólisis de los grupos benzoato del compuesto 92.

A una solución del dibenzoato **92** (10 g, 18 mol) en MeOH (200 mL) se añadió NaOMe (19.8 g, 0.36 mmol) en MeOH (20 mL). La mezcla se agitó durante 3 horas. A continuación, una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (7:3 a 1:9) obteniéndose en una primera elución el monobenzoato **94** (3.2 g, 10%), y una posterior elución de la columna con acetato de etilo puro proporcionó 18.5 g (87%) de **(2R,3R,6S)-6-benciloxi-2-hidroximetil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ol (93)** como una mezcla de anómeros α/β en proporción 7.3:1. Sólido blanco.

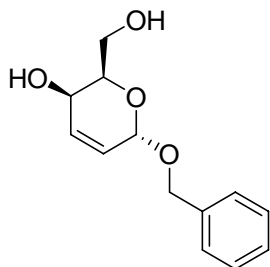
P.f.: 99-103 °C.

$[\alpha]_D = -105.4$ ($c = 0.26$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 3409, 2910, 1101, 1047, 1019, 730.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.33-7.27 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 6.13 (*ddd*, $J = -9.9, 5.5, 1.0$, 1 H, H-C(4)); 5.92 (*ddd*, $J = -9.9, 3.1, 0.6$, 1 H, $\text{H}_\alpha\text{-C}(5)$); 5.87 (*m*, 0.14 H, $\text{H}_\beta\text{-C}(5)$);

5.16 (*m*, 0.14 H, H_β-C(6)); 5.14 (*d*, *J* = 3.1, 1 H, H_α-C(6)); 4.90 (*d*, *J* = -11.8, 0.14 H, H_{βa}-C(1')); 4.77 (*d*, *J* = -11.8, 1 H, H_{αa}-C(1')); 4.67 (*d*, *J* = -11.8, 0.14 H, H_{βb}-C(1')); 4.60 (*d*, *J* = -11.8, 0.14 H, H_{αb}-C(1')); 4.08 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.92-3.79 (*m*, 3 H, CH₂OH, H-C(2)); 2.34 (*s*, 1 H, CH₂OH); 2.35 (*s*, 1 H, 3-OH).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 137.7, 129.3, 128.5, 128.4, 128.0, 127.8 (8 C, C(Ar), C(4), C(5)); 93.6 (C(6)); 70.2 (C(2)); 70.0 (C(1')); 62.8, 62.7 (C(3), CH₂OH).

EM (ES⁺) *m/e*: 259 ([*M* + Na]⁺), 495 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₁₃H₁₆O₄: C 66.09, H 6.83.

Encontrado: C 66.36, H 6.69.

Benzoato de (2R,3R,6S)-6-benciloxi-2-hidroximetil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (94).

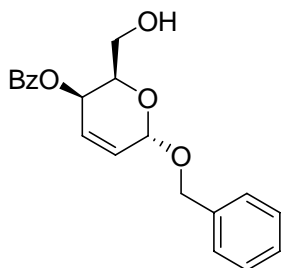
Se obtuvo como una mezcla de anómeros α/β en proporción 7.3:1. Sólido blanco.

P.f.: 110-112 °C.

[α]_D = -54.4 (c = 0.5, CHCl₃).

IR (KBr) *v*: 3436, 1725, 1282, 1022, 713.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.08 (*m*, 2 H, OBz); 7.54 (*m*, 1 H, OBz); 7.42 (*m*, 2 H, OBz); 7.31-7.26 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 6.18 (*ddd*, *J* = -10.0, 5.6, 1.0, 1 H, H-C(4)); 5.96 (*ddd*, *J* = -10.0, 3.1, 0.6, 1 H, H-C(5)); 5.15 (*d*, *J* = 2.7, 1 H, H-C(6)); 4.80 (*d*, *J* = -11.6, 1 H, H_a-C(1')); 4.67 (*dd*, *J* = -11.6, 5.00, 1 H, CH_{2a}OH); 4.56 (*d*, *J* = -11.6, 1 H, H_b-C(1')); 4.55 (*m*, 1 H, CH_{2b}OH); 4.44 (*m*, 1 H, H-C(2)); 3.91 (*m*, 1 H, H-C(3)); 2.03 (*d*, *J* = 9.9, 1 H, CH₂OH).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 166.5 (OCOPh); 137.7, 133.1, 129.9, 129.6, 129.3, 128.7, 128.4, 128.0, 127.8 (14 C, C(Ar), C(4), C(5)); 94.1 (C(6)); 69.6 (C(1')); 69.1 (CH₂OH); 61.7

(C(3)); 64.1 (C(2)).

ES (ES⁺) *m/e*: 341 ([*M* + H]⁺), 363 ([*M* + Na]⁺), 703 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₀H₂₀O₅: C 70.57, H, 5.92.

Encontrado: C 70.50, H 6.03.

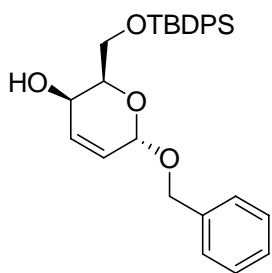
Protección del alcohol primario del compuesto **93** y separación de los anómeros.

A una solución del diol **93** (17.7 g, 75.5 mmol) a 0 °C bajo atmósfera de argón en CH₂Cl₂ anhidro (360 mL), se añadió cloruro de *tert*-butildifenilsililo (TBDPS-Cl, 17.2 mL, 82.4 mmol) y Et₃N (11.7 mL, 82.4 mmol). A continuación, la mezcla se dejó alcanzar la temperatura ambiente durante toda la noche y, una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando en primer lugar como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (19:1 a 9:1) obteniendo el anómero **95β** (2.4 g, 7%), seguidamente una posterior elución de la columna con la mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 4:1) proporciona el compuesto deseado 22.5 g (70%) **(2R,3R,6S)-6-benciloxi-2-[(*tert*-butildifenilsililo)metil]-3,6-dihidro-2H-piran-3-ol (95α)** como un aceite incoloro.

[α]_D = - 48.3 (c = 0.23, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3451, 2931, 2857, 1428, 1113, 1023, 739, 701.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.70 (*m*, 4 H, H-C(Ar)); 7.44 (*m*, 11 H, H-C(Ar)); 6.15 (*ddd*, *J* = -9.9, 5.5, 0.8, 1 H, H-C(4)); 5.91 (*ddd*, *J* = -9.9, 3.1, 0.5, 1 H, H-C(5)); 5.09 (*dd*, *J* = 3.1, 0.5, 1 H, H-C(6)); 4.75 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_a-C(1')); 4.56 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_b-C(1')); 4.17 (*td*, *J* = 6.1, 2.2, 1 H, H-C(3)); 3.89 (*m*, 3 H, H-C(2), CH₂-OTBDPS); 1.93 (*d*, *J* = 8.6, 1 H, OH); 1.06 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃).



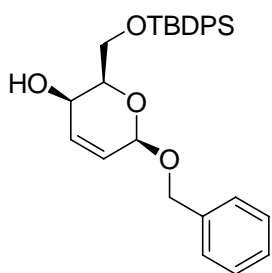
RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 137.7, 135.6, 135.6, 133.2, 133.1, 129.7, 128.5, 128.3, 128.1, 127.7 (20 C, C(Ar), C(4), C(5)); 93.2 (C(6)); 70.8 (C(3)); 69.5 (C(1')); 63.5, 61.8 (C(2), CH₂-OTBDPS); 26.8 (3 C, C(CH₃)₃); 19.2 (C(CH₃)₃).

ES (ES⁺) m/e: 497 ([M + Na]⁺).

(2*R*,3*R*,6*R*)-6-Benciloxi-2-[(*tert*-butildifenilsililoxi)metil]-3,6-dihidro-2*H*-piran-3-ol (95β). Aceite incoloro.

$[\alpha]_D = -69.8$ ($c = 0.1$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 3451, 2931, 2857, 1428, 1113, 1050, 739, 701.



RMN-¹H (500 MHz, CDCl_3) δ : 7.73 (*m*, 4 H, H-C(Ar)); 7.46-7.28 (*m*, 11 H, H-C(Ar)); 6.15 (*ddd*, $J = -10.1, 5.1, 1.5$, 1 H, H-C(4)); 5.87 (*d*, $J = -10.1$, 1 H, H-C(5)); 5.13 (*d*, $J = 1.3$, 1 H, H-C(6)); 4.86 (*d*, $J = -11.8$, 1 H, H_a-C(1')); 4.62 (*d*, $J = -11.8$, 1 H, H_b-C(1')); 4.03 (*m*, 2 H, 3-H, CH_{2a} -OTBDPS); 3.93 (*m*, 1 H, CH_{2b} -OTBDPS); 3.79 (*m*, 1 H, H-C(2)); 2.08 (*d*, $J = 9.8$, 1 H, OH); 1.09 (*s*, 9 H, C(CH_3)₃).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl_3) δ : 137.6, 134.5, 135.4, 133.2, 130.1, 128.1, 129.1, 128.0, 127.9 (20 C, C(Ar), C(4), C(5)); 98.8 (C(6)); 76.3 (C(2)); 69.3 (C(1')); 64.2 (2 C, C(3), CH_2 -OTBDPS); 26.6 (3 C, C(CH_3)₃); 19.0 (C(CH_3)₃).

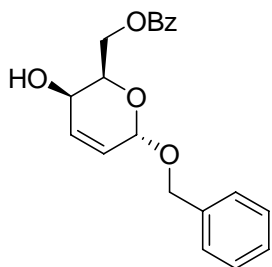
ES (ES^+) m/e : 497 ($[M + \text{Na}]^+$).

Metanolisis parcial del dibenzoato 92.

A una disolución del compuesto **92** (4.5 g, 10.14 mmol) en MeOH (50 mL) a -20°C se añadió poco a poco KOH (91 mg, 1.62 mmol). La mezcla se agitó a esta temperatura durante 1 día. A continuación, y una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna, una primera elución usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1) proporciona el material de partida inalterado (721 mg, 16%), una segunda elución usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 1:1) condujo el compuesto deseado **96α** (1.41 g, 41%), y finalmente una tercera elución con hexano/AcOEt (9:1 a 1:1) suministra el diol **91** como una mezcla de anómeros α/β en proporción 6.7:1 (910.4 mg, 38%).

Benzoato de [(2*R*,3*R*,6*S*)-6-benciloxi-3-hidroxi-3,6-dihidro-2*H*-piran-2-il-metilo] (96*a*). Aceite incoloro

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.05 (*dd*, *J* = 8.0, 1.3, 2 H, H-C(Ar)), 7.55 (*m*, 1 H, H-C(Ar)), 7.41 (*m*, 1 H, H-C(Ar)), 7.28 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.19 (*ddd*, *J* = 9.9, 5.7, 0.9, 1 H, H-C(4)), 5.95 (*dd*, *J* = 10.1, 3.1, 1 H, H-C(5)), 5.10 (*d*, *J* = 2.9, 1 H, H-C(6)), 4.79 (*d*, *J* = -11.5, 1 H, Ha-C(1')), 4.66 (*dd*, *J* = -11.5, 4.9, 1 H, CH_{2a}-OBz), 4.57-4.51 (*m*, 2 H, H_b-C(1'), CH_{2b}-OBz), 4.42 (*ddd*, *J* = 7.3, 4.9, 2.2, 1 H, H-C(2)), 3.90 (*ddd*, *J* = 9.9, 5.7, 2.2, 1 H, H-C(3)), 1.85 (*d*, *J* = 9.9, 1 H, OH).



ES (ES⁺) *m/e*: 363 ([*M* + Na]⁺).

Protección del alcohol 96*a* con TBDMS.

A una solución del compuesto **96*a*** (1.80 g, 5.27 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (40 mL) bajo atmósfera de argón, se añadió secuencialmente 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 212 mg, 1.74 mmol), Et₃N (0.95 mL, 6.85 mmol) y cloruro de *tert*-butildimetilsililo (TBDMS-Cl, 953 mg, 6.32 mmol). La reacción se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente y posteriormente 6 horas más a 30 °C. A continuación la mezcla se lavó con H₂O (3 × 20 mL) y con una solución saturada de NH₄Cl (3 × 20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (19:1 a 7:3).

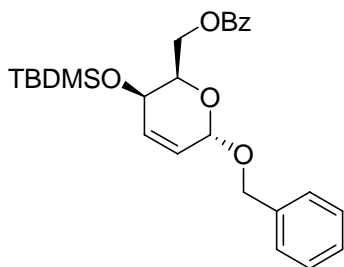
Benzoato de [(2*R*,3*R*,6*S*)-6-benciloxi-3-(*tert*-butildimetilsililo)-3,6-dihidro-2*H*-piran-2-il-metilo] (97).

Se obtuvo con un rendimiento del 99% (2.37 g) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Cera blanca.

[α]_D = -98.8 (c = 0.5, CHCl₃).

IR (entre cristales) ν : 3391, 2955, 2929, 2853, 1723, 1449, 1271, 1105, 1069, 1025, 837, 709.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 8.04 (*dd*, $J = 8.3, 1.3$, 2 H, H-C(Ar)), 7.53 (*m*, 1 H, H-C(Ar)), 7.39 (*m*, 1 H, H-C(Ar)), 7.25 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.01 (*ddd*, $J = 10.0, 5.3, 0.9$, 1 H, 4-C(4)), 5.91 (*dd*, $J = 10.0, 3.1$, 1 H, H-C(5)), 5.15 (*d*, $J = 2.9$, 1 H, H-C(6)), 4.78 (*d*, $J = -11.5$, 1 H, H_a-C(1')), 4.57-4.50 (*m*, 3 H, H_b-C(1'), CH₂-OBz), 4.40 (*m*, 1 H, H-C(2)), 3.90 (*ddd*, $J = 7.7, 5.2, 2.4$, 1 H, H-C(3)), 0.89 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃), 0.09 (*s*, 3 H, CH₃), 0.08 (*s*, 3 H, CH₃).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 166.5 (CO), 137.6, 132.9, 130.8, 129.6, 129.3, 128.0, 127.7 (14 C, C(Ar), C(4), C(5)), 92.9 (C(6)), 69.3 (2 C, C(2), C(1')), 64.7 (CH₂-OBz), 62.4 (C(3)), 25.7 (C(CH₃)₃), 18.1 (C(CH₃)₃), -3.9 (CH₃), -4.7 (CH₃).

ES (ES⁺) m/e : 347 ([*M* - OBenzilo]⁺), 477 ([*M* + Na]⁺).

Metanolisis del mono-benzoato **97**.

A una disolución del compuesto **97** (2.2 g, 4.85 mmol) en MeOH (100 mL) se añadió KOH (45.2 mg, 0.8 mmol), la mezcla se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se eliminó el disolvente a vacío obteniendo un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (19:1 a 9:1) proporcionando el producto deseado **98** en una primera elución, a continuación, una segunda elución con la mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 7:3) proporciona el compuesto **99** procedente de la migración del grupo TBDMS.

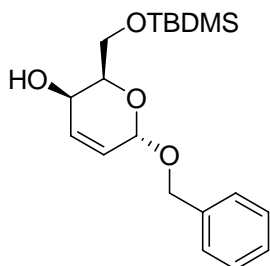
(2*R*,3*R*,6*S*)-6-Benciloxi-2-(*terc*-butildimetilsiloximetil)-3,6-dihidro-2*H*-piran-3-ol (**99**).

Se obtuvo con un rendimiento del 49% (7.8 g) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Aceite incoloro.

$[\alpha]_D = -73.3$ ($c = 1.07$, CHCl₃).

IR (entre cristales) ν : 3432, 3071, 2949, 2928, 2857, 1470, 1253, 1093, 1023, 836.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 7.32 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.15 (*dd*, *J* = 10.1, 5.4, 1 H, H-C(4)), 5.92 (*dd*, *J* = 10.1, 3.1, 1 H, H-C(5)), 5.10 (*d*, *J* = 2.9, 1 H, H-C(6)), 4.78 (*d*, *J* = -11.6, 1 H, -H_a-C(1')), 4.57 (*d*, *J* = -11.6, 1 H, H_b-C(1')), 4.11-3.74 (*m*, 4 H, H-C(2), H-C(3), CH₂-OTBDMS), 2.06 (*d*, *J* = 8.0, 1 H, OH), 0.89 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃), 0.08 (*s*, 6 H, CH₃).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 137.8, 129.7, 129.1, 128.4, 128.1, 127.8, 127.7 (8 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93.4 (C(6)), 70.6, 69.6 (C(2), C(1')), 62.8, 61.9 (CH₂-OBz, C(3)), 25.8 (C(CH₃)₃),

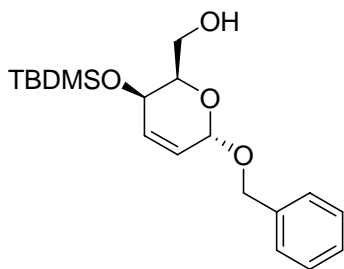
18.2 (C(CH₃)₃), -5.3 (CH₃), -5.4 (CH₃).

ES (ES⁺) *m/e*: 373 ([*M* + Na]⁺).

(2*R*,3*R*,6*S*)-[6-Benziloxi-3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-3,6-dihidro-2*H*-piran-2-il]metanol (98).

Se obtuvo con un rendimiento del 33% (561 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Aceite incoloro

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 7.32 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.02-5.87 (*m*, 1 H, H-C(4), H-C(5)), 5.17 (*d*, *J* = 2.9, 1 H, H-C(6)), 4.76 (*d*, *J* = -11.8, 1 H, H_a-C(1')), 4.59 (*d*, *J* = -11.8, 1 H, H_b-C(1')), 4.09-3.65 (*m*, 4 H, H-C(2), H-C(3), CH₂-OTBDMS), 2.14 (*d*, *J* = 7.3, 1 H, OH), 0.87 (9 H, C(CH₃)₃), 0.08 (3 H, CH₃), 0.07 (3 H, CH₃).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 137.9, 129.1, 128.4, 128.1, 127.7 (8 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93.5 (C(6)), 70.9, 69.9 (C(2), C(1')), 63.5, 63.1 (CH₂-OBz, C(3)), 25.7

(C(CH₃)₃), 18.0 (C(CH₃)₃), -4.0 (CH₃), -4.8 (CH₃).

ES (ES⁺) *m/e*: 373 ([*M* + Na]⁺).

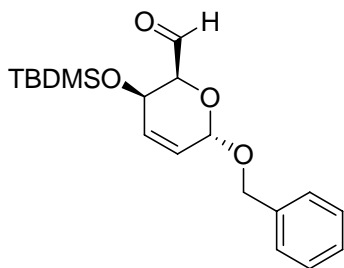
Oxidación del alcohol 98 al correspondiente aldehído (100).

Una suspensión de clorocromato de piridinio (785 mg, 3.64 mmol) y tamiz molecular 4Å (294 mg) en CH₂Cl₂ anhidro (4 mL) se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Seguidamente, dicha mezcla se vertió sobre una disolución del alcohol **98** (319 mg, 0.91 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (4 mL), la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, la mezcla se filtró sobre celita y se lavó con acetato de etilo (3 × 20 mL). Posteriormente, se eliminó el disolvente a vacío obteniendo un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (7:3) dando lugar al correspondiente aldehído puro.

(2R,3R,6S)-6-Benciloxi-3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-3,6-dihidro-2H-piran-2-carbaldehído (100).

Se obtuvo con un rendimiento del 45% (146.8 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente. Aceite incoloro

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 9.53 (*s*, 1 H, CHO), 7.24 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 5.97-5.80 (*m*, 1 H, H-C(4), H-C(5)), 5.19 (*d*, *J* = 2.4, 1 H, H-C(6)), 4.70 (*d*, *J* = -11.8, 1 H, H_a-C(1')), 4.55 (*d*, *J* = -11.8, 1 H, H_b-C(1')), 4.27 (*m*, 2 H, H-C(2), H-C(3)), 0.74 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃), -0.03 (*s*, 3 H, CH₃), -0.04 (*s*, 3 H, CH₃).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 200.7 (CHO), 174.4, 137.5, 128.4, 128.0, 127.8 (8 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93. (C(6)), 70.3 (C(2), C(1')), 62.7 (C(3)), 25.6 (C(CH₃)₃),

17.9 (C(CH₃)₃), -4.0 (CH₃), -4.9 (CH₃).

ES (ES⁺) *m/e*: 371 ([*M* + Na]⁺).

3.4.3.- TRANSFORMACIONES QUÍMICAS SOBRE EL COMPUESTO 91

3.4.3.1.- Procedimiento general para la síntesis de compuestos diacilados.

A una solución del diol **91** (150 mg, 0.64 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5.2 mL) a 0 °C, se añadió Et₃N (0.54 mL, 3.84 mmol) o piridina (0.31 mL, 3.84 mmol, en el caso del compuesto **106**) y el correspondiente cloruro de ácido (1.92 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 minutos y a continuación se dejó que alcanzara lentamente temperatura ambiente durante toda la noche. Posteriormente se eliminó el disolvente a vacío obteniéndose un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna como se indica en cada caso.

2-Nitrobenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-(2-nitrobenzoiloxi)metil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (**101**).

Se obtuvo con un rendimiento del 97% (331 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y el cloruro de 2-nitrobenzoilo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:1) obteniendo el dibenzoato como único anómero. Aceite incoloro.

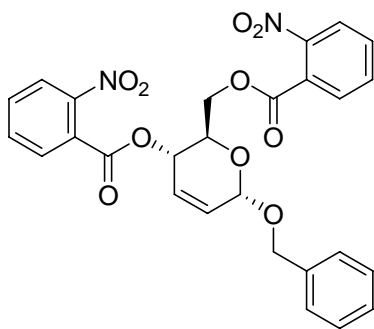
[α]_D = + 72 (c = 0.73, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 1738, 1532, 1350, 1287, 1127, 1121, 734, 699.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.98 (*m*, 1 H, H-C(Ar)), 7.81-7.60 (*m*, 7 H, H-C(Ar)), 7.32 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.12 (*d*, *J* = 10.3, 1 H, H-C(4)), 5.94 (*m*, 1 H, H-C(5)), 5.72 (*dd*, *J* = 9.7, 1.5, 1 H, H-C(3)), 5.16 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.78 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_a-C(1')), 4.64 (*m*, 1 H, CH_{2a}-OCOAr), 4.61 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_b-C(1')), 4.40 (*dd*, *J* = -12.2, 2.2, 1 H, CH_{2a}-OCOAr), 4.27 (*m*, 1 H, H-C(2)).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 165.3, 165.1 (CO₂Ar, CH₂CO₂Ar), 147.7, 137.5, 133.4, 133.2, 131.8, 131.7, 129.8, 129.7, 128.4, 128.3, 128.1, 127.9, 127.8, 127.6, 124.0, 123.9 (20 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93.7 (C(6)), 70.4 (C(1')), 66.8 (C(3)), 66.7 (C(2)), 64.5 (CH₂CO₂Ar).

ES (ES⁺) *m/e*: 557 ([*M* + Na]⁺).



3-Nitrobenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-(3-nitrobenzoiloxi)metil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (102).

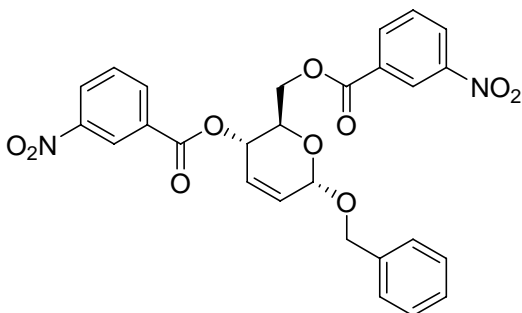
Se obtuvo con un rendimiento del 44% (150 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y el cloruro de 3-nitrobenzoilo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:2) obteniendo una mezcla de anómeros α/β en proporción 2.7:1. Sólido blanco.

P.f.: 162-166 °C.

[α]_D = + 105 (c = 0.25, CHCl₃).

IR (KBr) ν : 1716, 1535, 1428, 1347, 1292, 1104, 1044, 715.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.84 (*m*, 2 H, H-C(Ar)), 8.44-8.33 (*m*, 4 H, H-C(Ar)), 7.68.-7.58 (*m*, 2 H, H-C(Ar)), 7.35 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.02 (*m*, 2 H, H-C(4), H-C(5)), 5.77 (*m*, 1 H, H-C(3)), 5.23 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.87 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_a-C(1')), 4.68 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_b-C(1')), 4.57-4.47 (*m*, 3 H, H-C(2), CH₂CO₂Ar).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 164.2, 163.7, 148.3, 137.3, 135.5, 135.3, 129.8, 129.7, 128.6, 128.5, 127.9, 127.8, 127.6,

124.7, 124.6 (22 C, CO, C(Ar), C(4), C(5)), 93.6 (C(6)), 70.5 (C(1')), 67.1, 67.0 (C(2), C(3)), 64.5 (CH₂-OCOAr).

ES (ES⁺) *m/e*: 557 ([*M* + Na]⁺), 1091 ([2*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₇H₂₂N₂O₁₀: C 60.67, H 4.15, N 5.24.

Encontrado: C 60.45, H 4.36, N 4.98.

4-Nitrobenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-(4-nitrobenzoiloxi)metil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (103).

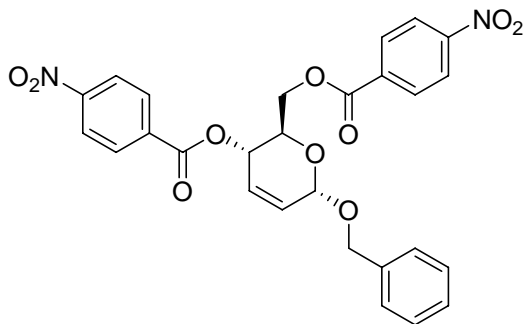
Se obtuvo con un rendimiento del 82% (280 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y el cloruro de 4-nitrobenzoilo, que se purificó

por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 7:3) obteniendo una mezcla de anómeros α/β en proporción 3.7:1. Aceite amarillo.

$[\alpha]_D = +110$ ($c = 0.25$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 1729, 1528, 1428, 1348, 1274, 1101, 1015, 718.

RMN- ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.28-8.16 (*m*, 8 H, H-C(Ar)), 7.32 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.06 (*d*, $J = -10.8$, 1 H, H-C(4)), 5.98 (*m*, 1 H, H-C(5)), 5.72 (*m*, 1 H, H-C(3)), 5.21 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.83 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, $\text{H}_a\text{-C}(1')$), 4.62 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, $\text{H}_b\text{-C}(1')$), 4.57-4.46 (*m*, 3 H, H-C(2), $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Ar}$).



RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 164.8, 164.4 (CO_2Ar , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Ar}$), 151.2, 151.0, 137.7, 135.4, 135.05, 131.8, 131.3, 131.2,

128.0, 128.9, 128.4, 128.2, 125.2, 124.0, 123.9 (20 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93.9 (C(6)), 70.8 (C(1')), 67.5 (C(3)), 67.3, 64.7 (C(2), $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Ar}$).

ES (ES^+) m/e : 557 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$).

3,5-Dinitrobenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-(3,5-dinitrobenzoyloxi)metil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (104).

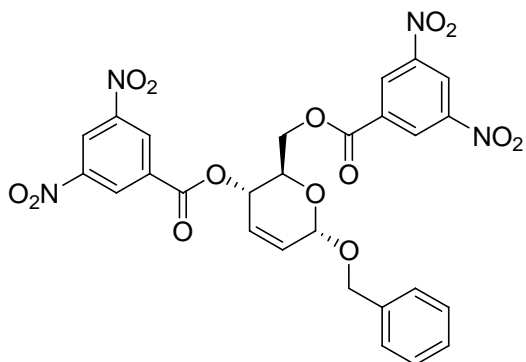
Se obtuvo con un rendimiento del 94% (375 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y el cloruro de 3,5-dinitrobenzoylo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (7:3 a 3:1) obteniendo una mezcla de anómeros α/β en proporción 11:1. Sólido blanco.

P-f.: 85-87 °C.

$[\alpha]_D = +65$ ($c = 0.25$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 1736, 1545, 1276, 1165, 1022, 720.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 9.26-9.12 (*m*, 6 H, H-C(Ar)), 7.34 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 7.35 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.03 (*m*, 2 H, H-C(4), H-C(4)), 5.77 (*d*, *J* = 9.3, 1 H, H-C(3)), 5.24 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.85 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_a-C(1')), 4.68 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_b-C(1')), 4.58 (*m*, 3 H, H-C(2), CH₂CO₂Ar).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 162.3, 162.0 (CO₂Ar, CH₂CO₂Ar), 148.7, 148.6, 137.1, 131.1, 132.8, 129.5, 129.4, 129.3,

128.5, 127.9, 127.7, 122.9, 122.8, 122.6 (20 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93.6 (C(6)), 70.6 (C(1')), 67.6, 66.9 (C(2), C(3)), 64.8 (CH₂-OCOAr).

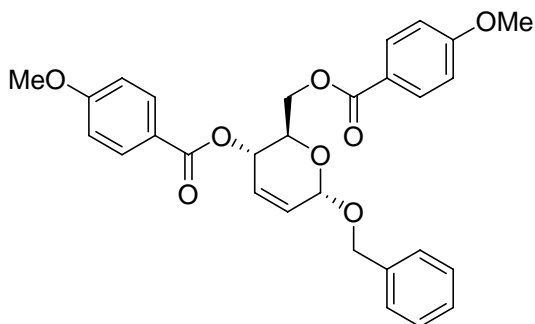
ES (ES⁺) *m/e*: 647 ([*M* + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₇H₂₀N₄O₁₀: C 51.93, H 3.23, N 8.97.

Encontrado: C 52.06, H 3.53, N 8.67.

4-Metoxibenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-(4-metoxibenzoiloxi)metil-3,6-dihidro-2H-pirano-3-ilo (105).

Se obtuvo con un rendimiento del 86% (278 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y el cloruro de 4-metoxibenzoilo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:2) obteniendo una mezcla de anómeros α/β en proporción 8:1. Aceite incoloro.



[α]_D = + 102 (c = 0.87, CHCl₃).

IR (entre cristales) *v*: 1715, 1606, 1511, 1347, 1256, 1168, 1099, 1026, 768.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.12-7.93 (*m*, 4 H, H-C(Ar)), 7.35 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.95-6.83 (*m*, 4 H, H-C(Ar)), 6.03 (*m*, 1 H, H-C(4)), 5.92 (*m*, 1 H, H-

C(5)), 5.65 (*m*, 1 H, H-C(3)), 5.18 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.86 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H_a-C(1')), 4.61 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H_b-C(1')), 4.57-4.37 (*m*, 3 H, H-C(2), CH₂CO₂Ar).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 165.9, 165.4, 163.6, 163.3, 137.4, 132.7, 131.7, 131.6, 129.6, 128.4, 127.9, 127.7, 127.7, 122.1, 121.7, 114.0, 113.6, 113.5 (22 C, CO, C(Ar), C(4), C(5)), 93.4 (C(6)), 70.1 (C(2)), 67.4 (C(1')), 65.9 (C(3)), 63.6 (CH₂CO₂Ar), 55.46, 55.29 (2 C, OMe).

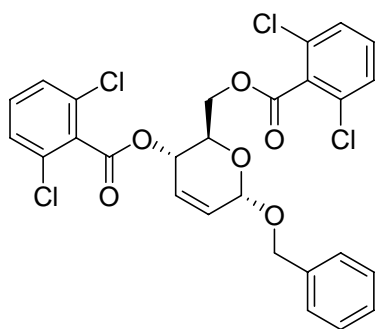
ES (ES⁺) *m/e*: 527 ([*M* + Na]⁺), 1031([2*M* + Na]⁺).

2,6-Diclorobenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-(2,6-diclorobenzoiloxi)metil-3,6-dihidro-2H-pirano-3-ilo (106).

Se obtuvo con un rendimiento del 84% (320 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre **91** y el cloruro de 2,6-diclorobenzoilo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 4:2) obteniendo una mezcla de anómeros α/β en proporción 3.5:1. Sólido blanco.

IR (KBr) *v.*: 1734, 1612, 1526, 1352, 1249, 1148, 1050, 742.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 7.18 (*m*, 11 H, H-C(Ar)), 6.12 (*m*, 1 H, H-C(4)), 5.91 (*ddd*, $J = 10.3, 2.7, 1.8$, 1 H, H-C(5)), 5.65 (*dd*, $J = 1.8, 6.8$, 1 H, H-C(3)), 5.18 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.78 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H_a-C(1')), 4.59 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H_b-C(1')), 4.55-4.40 (*m*, 3 H, H-C(2), CH₂CO₂Ar).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 145.4, 164.0, 158.3, 137.5, 132.3, 132.1, 131.9, 130.8, 131.1, 130.9, 128.4, 128.4, 128.2, 128.1, 120.1, 127.8 (22 C, CO, C(Ar), C(4), C(5)), 93.6 (C(6)), 70.4 (C(2)), 67.1 (C(1')), 66.7 (C(3)), 64.4 (CH₂-CO₂Ar).

ES (ES⁺) *m/e*: 600 ([*M* + NH₄]⁺).

2-Cloro-5-nitrobenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-(2-cloro-5-nitrobenzoiloxi)metil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (107).

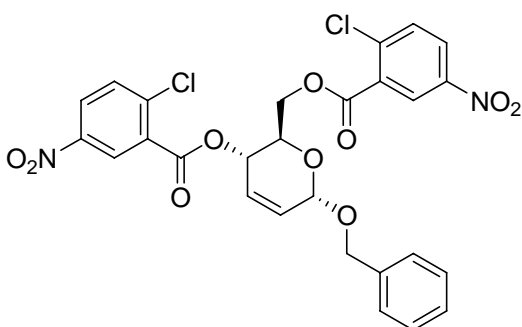
Se obtuvo con un rendimiento del 86% (332 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y el cloruro de 2-cloro-5-nitrobenzoilo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:1) obteniendo únicamente un anómero. Sólido blanco.

P-f.: 144-146 °C.

$[\alpha]_D = +75$ (c = 0.5, CHCl₃).

IR (KBr) v: 1740, 1733, 1610, 1525, 1349, 1252, 1144, 1048, 739.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 8.70 (*dd*, *J* = 18.5, 2.7, 2 H, H-C(Ar)), 8.25 (*m*, 2 H, H-C(Ar)), 7.63 (*dd*, *J* = 8.8, 6.1, 2 H, H-C(Ar)), 7.32 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 6.06-5.94 (*m*, 2 H, H-C(4), H-C(5)), 5.75 (*m*, 1 H, H-C(3)), 5.20 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.84 (*d*, *J* = -11.9, 1 H, H_a-C(1')), 4.65 (*d*, *J* = -11.9, 1 H, H_b-C(1')), 4.57-4.37 (*m*, 3 H, H-C(2), CH₂CO₂Ar).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 163.3, 163.0 (CO₂Ar, CH₂CO₂Ar), 146.1, 140.8, 137.2, 132.3, 130.6, 130.3, 128.7, 128.5, 128.2, 127.9, 127.2, 126.9, 126.6 (20 C,

C(Ar), C(4), C(5)), 93.6 (C(6)), 70.6 (C(2)), 67.4 (C(1')), 66.7 (C(3)), 64.7 (CH₂CO₂Ar).

ES (ES⁺) m/e: 626 ([M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₇H₂₀Cl₂N₂O₁₀: C 53.75, H 3.34, N 4.64.

Encontrado: C 53.69, H 3.40, N 4.91.

(2-Nitrofenil)acetato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-[2-(2-nitrofenil)acetoxi]metil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (108).

Se obtuvo con un rendimiento del 78% (281 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre **91** y el cloruro de (2-nitrofenil)acetilo, que se purificó

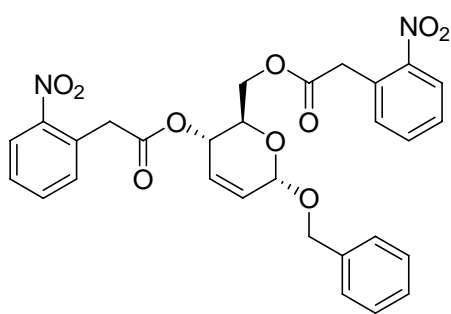
por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:1) obteniendo una mezcla de anómeros α/β en proporción 3:1. Sólido blanco.

P-f.: 105-107 °C.

$[\alpha]_D = +64$ ($c = 0.25$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 1734, 1525, 1343, 1215, 1172, 1024, 715.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.04 (*m*, 2 H, H-C(Ar)), 7.53-7.23 (*m*, 11 H, H-C(Ar)), 5.89 (*m*, 1 H, H-C(4)), 5.77 (*m*, 1 H, H-C(5)), 5.27 (*d*, $J = 9.7$, 1 H, H-C(3)), 5.14 (*m*, 1 H, H $_{\beta}$ -C(6)), 5.04 (*m*, 1 H, H $_{\alpha}$ -C(6)), 4.76 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H $_{\alpha\beta}$ -C(1')), 4.68 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H $_{\alpha\alpha}$ -C(1')), 4.49 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H $_{\beta\alpha}$ -C(1')), 4.28-3.88 (*m*, 5 H, H-C(2), $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ar}$, $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ar}$).



RMN-¹³C (100 MHz, CDCl_3) δ : 170.1, 169.7 (CO_2Ar , $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ar}$), 148.8, 148.7, 137.8, 134.0, 133.9, 133.8, 133.7, 129.5, 129.0, 128.9, 128.7, 128.3, 128.1, 127.9, 125.6, 125.5 (20 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93.9 (C(6)), 70.5 (C(2)), 67.2 (C(1')), 66.2 (C(3)), 63.7 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ar}$), 40.1 ($\text{CH}_2\text{CO}_2\text{CH}_2\text{Ar}$).

ES (ES^+) m/e : 585 ($[M + \text{Na}]^+$).

AE: Calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_{10}$: C 61.92, H 4.66, N 4.98.

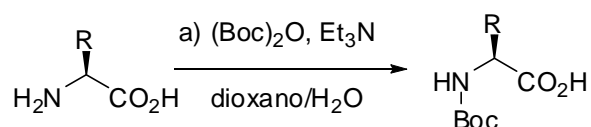
Encontrado: C 61.95, H 4.80, N 5.01.

3.4.3.2.- Procedimiento general para la síntesis de los híbridos 109 y 110.

Protección del grupo amino de los aminoácidos con Boc.

Sobre una suspensión del correspondiente aminoácido (85.4 mmol) en una mezcla dioxano/ H_2O 1/1 (100 mL) a 0 °C se añadió Et_3N (16.9 mL, 128.1 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (16.4 g, 93.9 mmol). A continuación la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente durante toda la noche. Se eliminó el dioxano a vacío, se acidificó con HCl 5% hasta $\text{pH} = 2$ y la fase acuosa se extrajo con AcOEt (3×50 mL).

Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 . Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto puro por CCF dando lugar a los *N*-Boc-aminoácidos (91-99% rendimiento).



Procedimiento general para la síntesis de los híbridos aminoácido-carbohidrato 109 y 110.

A una solución del correspondiente aminoácido *N*-Boc protegido (1.2 mmol) en CHCl_3 anhidro (13.5 mL) a 0 °C bajo atmósfera de argón, se añadió secuencialmente *N*-metilmorfolina (NMM, 0.12 mL, 1.32 mmol) y cloroformiato de isobutilo (0.17 mL, 1.32 mmol). La mezcla se dejó agitando en estas condiciones durante *ca.* 2 horas (hasta desaparición del ácido de partida, CCF). Seguidamente, se añadió gota a gota una disolución del diol **91** (142 mg, 0.60 mmol) y NMM (0.13 mL, 1.50 mmol) en CHCl_3 anhidro (9.5 mL). La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 minutos y a continuación se dejó agitando durante 5 días hasta alcanzar temperatura ambiente. Seguidamente, se extrajo secuencialmente la reacción con HCl 5% (3 × 20 mL) y con una solución saturada de NaHCO_3 (3 × 20 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 . Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/ AcOEt (3:2 a 1:1).

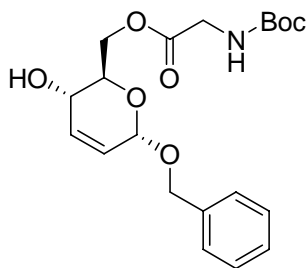
Acetato de (*R*)-(2-*terc*-butoxicarbonilamino)metil [(2*R*,3*S*,6*S*)-6-benciloxi-3-hidroxi-3,6-dihidro-2*H*-piran-2-ilo] (**109**).

Se obtuvo con un rendimiento del 15% (37 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y *N*-Boc-Gly-OH. Aceite incoloro.

$[\alpha]_{\text{D}} = +17.5$ ($c = 0.08$, CHCl_3).

IR (entre cristales) ν : 3391, 2871, 1750, 1713, 1367, 1165, 1053, 1024.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.32 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 5.93 (*m*, 1 H, H-C(4)), 5.75 (*m*, 1 H, H-C(5)), 5.06 (*m*, 2 H, H-C(6), NH), 4.75 (*d*, $J = -11.8$, 1 H, H_a-C(1')), 4.56 (*d*, $J = -11.8$, 1 H, H_b-C(1')), 4.51 (*dd*, $J = -12.0$, 4.7, 1 H, CH_{2a}-OCO), 4.22 (*dd*, $J = -12.0$, 2.3, 1 H, CH_{2b}-OCO), 4.08 (*m*, 1 H, H-C(3)), 3.93-3.83 (*m*, 3 H, 2-H, H-C(1'')), 2.61 (*s ancho*, 1 H, OH), 1.42 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃).



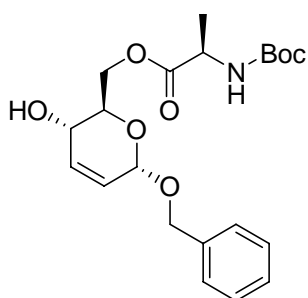
RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 170.9 (OCO), 155.6 (NHCO), 137.7, 128.4, 128.4, 128.0, 127.7, (6 C, C(Ar)), 133.2 (C(4)), 126.2 (C(5)), 93.8 (C(6)), 80.0 (C(CH₃)₃), 70.2 (C(2)), 70.1 (C(1')), 64.3 (CH₂-OCO), 63.5 (C(3)), 42.3 (C(1'')), 28.2 (3 C, C(CH₃)₃).

ES (ES⁺) m/e : 416 ([*M* + Na]⁺), 832 ([2*M* + Na]⁺).

Propanoato de (R)-(2-terc-butoxicarbonilamino)metil [(2R,3S,6S)-6-benciloxi-3-hidroxi-3,6-dihidro-2H-piran-2-ilo] (110).

Se obtuvo con un rendimiento del 15% (36.6 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el diol **91** y *N*-Boc-L-Ala-OH. Aceite incoloro.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.34 (*m*, 5 H, H-C(Ar)), 5.95 (*m*, 1 H, H-C(4)), 5.77 (*m*, 1 H, H-C(5)), 5.07 (*m*, 1 H, H-C(6)), 5.05 (*m*, 1 H, NH), 4.79 (*d*, $J = -11.8$, 1 H, H_a-C(1')), 4.59 (*d*, $J = -11.8$, 1 H, H_b-C(1')), 4.53 (*dd*, $J = -11.9$, 4.9, 1 H, CH_{2a}-OCO), 4.35 (*m*, 1 H, H-C(1'')), 4.23 (*dd*, $J = -11.9$, 2.7, 1 H, CH_{2b}-OCO), 4.06 (*m*, 1 H, H-C(3)), 3.93 (*m*, 1 H, H-C(2)), 2.50 (*s ancho*, 1 H, OH), 1.44 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃), 1.39 (*d*, 3 H, $J = 6.1$, CH₃).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 173.9 (OCO), 155.5 (NHCO), 137.7, 128.4, 128.0, 127.9, 127.7, (6 C, C(Ar)), 133.2 (C(4)), 126.3 (C(5)), 93.7 (C(6)), 80.0 (C(CH₃)₃), 70.2 (C(2)), 70.1 (C(1')), 64.4 (CH₂-OCO), 63.7 (C(3)), 49.8 (C(1'')), 28.2 (3 C, C(CH₃)₃), 18.5 (CH₃).

ES (ES⁺) m/e : 430 ([*M* + Na]⁺).

3.4.3.3.- Procedimiento general para la síntesis de compuestos monoacilados y derivados.

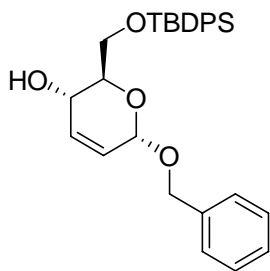
Protección del primario alcohol del diol **91**: síntesis de (2*R*,3*S*,6*S*)-6-benciloxi-2-[(*tert*-butildifenilsililoxi)metil]-3,6-dihidro-2*H*-piran-3-ol (**111**).

A una solución del compuesto **91** (1.06 g, 4.52 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (15 mL) a 0 °C bajo atmósfera de argón se añadió cloruro de *tert*-butildifenilsililo (TBDPS-Cl, 1.03 mL, 4.97 mmol), Et₃N (0.59 mL, 4.21 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 64 mg, 0.015 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 5 minutos y a continuación se dejó agitando durante toda la noche hasta alcanzar temperatura ambiente. Seguidamente, se eliminó el disolvente a vacío obteniendo un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1 a 7:3) obteniendo el producto deseado como una mezcla de anómeros α/β en proporción 6.7:1 (1.67 g, 80%). Aceite incoloro.

$[\alpha]_D = -49$. (c = 0.23, CHCl₃).

IR (entre cristales) v: 3435, 2930, 2857, 1428, 1113, 1041, 740, 701.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 7.71 (*m*, 4 H, H-C(Ar)), 7.44-7.25 (*m*, 11 H, H-C(Ar)), 5.97 (*d*, *J* = -10.6, 1 H, H-C(4)), 5.87 (*d*, *J* = -10.6, 1 H, H-C(5)), 5.02 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.71 (*d*, *J* = -11.9, 1 H, H_a-C(1')), 4.52 (*d*, *J* = -11.9, 1 H, H_b-C(1')), 4.22 (*m*, 1 H, H-C(3)), 3.82 (*m*, 3 H, H-C(2), CH₂-OTBDPS), 2.52 (*d*, *J* = 4.6, 1 H, OH), 1.06 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 137.9, 135.6, 135.6, 133.9, 129.9, 128.3, 127.9, 127.8, 127.6, 126.0 (20 C, C(Ar), C(4), C(5)), 93.3 (C-6), 76.6 (C(2)), 69.9 (C(1')), 66.5, 65.6 (C(2), CH₂-OTBDPS), 26.8 (3 C, C(CH₃)₃), 19.1 (C(CH₃)₃).

ES (ES⁺) m/e: 497 ([M + Na]⁺).

Procedimiento general para acilación del alcohol 111.

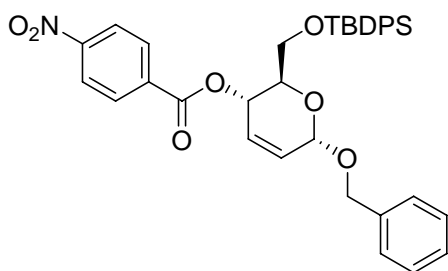
A una solución del compuesto **111** (150 mg, 0.32 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (5.2 mL) a 0 °C, se añadió Et_3N (71 μL , 0.96 mmol) y el correspondiente cloruro de ácido (0.48 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 minutos y a continuación se dejó agitando durante toda la noche hasta alcanzar temperatura ambiente. Posteriormente se eliminó el disolvente a vacío obteniendo un producto bruto que se purificó por cromatografía en columna como se indica en cada caso.

4-Nitrobenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-[(*tert*-butildifenilsililoxi)metil]-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (112).

Se obtuvo con un rendimiento del 97% (194 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el alcohol **111** y el cloruro de 4-nitrobenzoilo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:2) obteniendo el compuesto como un único anómero. Aceite amarillo.

IR (KBr) ν : 2930, 2858, 1728, 1528, 1267, 1113, 1042, 1016, 719, 701.

RMN-¹H (200 MHz, CDCl_3) δ : 8.23 (*d*, $J = 9.0$, 2 H, H-C(Ar)), 8.04 (*d*, $J = 9.0$, 2 H, H-C(Ar)), 7.64 (*m*, 4 H, H-C(Ar)), 7.33 (*m*, 10 H, H-C(Ar)), 5.97 (*m*, 2 H, 4-H, H-C(5)), 5.62 (*dd*, $J = 9.5, 1.5$, 1 H, H-C(3)), 5.19 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.86 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H_a-C(1')), 4.64 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H_b-C(1')), 4.23 (*m*, 1 H, H-C(2)), 3.80 (*m*, 2 H, CH_2 -OTBDPS), 1.01 (*s*, 9 H, C(CH_3)₃).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl_3) δ : 163.9, 150.6, 137.6, 135.6, 135.5, 133.1, 130.8, 129.6, 128.8, 128.6, 128.4, 128.1, 127.8, 127.6, 123.5 (27 C,

CO, C(Ar), C(4), C(5)), 93.3 (C(6)), 70.2 (C(2)), 69.6 (C(1')), 67.2 (C(3)), 63.4 (CH_2 -OTBDPS), 26.7 (3 C, C(CH_3)₃), 19.2 (C(CH_3)₃).

ES (ES^+) m/e : 646 ($[M + \text{Na}]^+$).

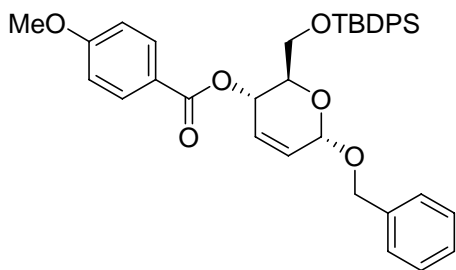
4-Metoxibenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-[(*tert*-butildifenilsililo)metil]-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (113).

Se obtuvo con un rendimiento del 95% (185 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente por reacción entre el compuesto **111** y el cloruro de 4-metoxibenzoilo, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1) obteniendo el compuesto como un único anómero. Aceite incoloro.

$[\alpha]_D = +85.3$ (c = 0.08, CHCl₃).

IR (entre cristales) ν : 2930, 2858, 1728, 1528, 1267, 1113, 1042, 1016, 719, 701.

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 7.88 (*d*, *J* = 8.9, 2 H, H-C(Ar)), 7.68 (*d*, *J* = 7.2, 2 H, H-C(Ar)), 7.68 (*d*, *J* = 7.2, 2 H, H-C(Ar)), 7.38-7.24 (*m*, 8 H, H-C(Ar)), 6.89 (*d*, *J* = 8.9, 2 H, H-C(Ar)), 6.02 (*d*, *J* = -10.1, 1 H, H-C(4)), 5.91 (*dd*, *J* = -10.1, 4.8, 1 H, H-C(5)), 5.55 (*dd*, *J* = 9.8, 1.5, 1 H, H-C(3)), 5.19 (*m*, 1 H, H-C(6)), 4.89 (*d*, *J* = -11.8, 1 H, H_a-C(1')), 4.66 (*d*, *J* = -11.8, 1 H, H_b-C(1')), 4.26 (*m*, 1 H, H-C(2)), 3.87 (*s*, 3 H, OMe), 3.85 (*m*, 2 H, CH₂-OTBDPS), 1.04 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 165.5, 163.5, 137.7, 135.6, 135.5, 133.4, 133.3, 131.8, 129.9, 129.5, 128.4, 128.2, 127.7, 127.6, 122.2, 113.6 (27 C, CO, C(Ar), C(4), C(5)), 93.3 (C(6)), 70.1 (C(2)), 70.01 (C(1')), 65.8 (C(3)), 63.5 (CH₂-OTBDPS), 55, 4 (OMe), 26.7 (3 C, C(CH₃)₃), 19.2 (C(CH₃)₃).

ES (ES⁺) *m/e*: 631 ([*M* + Na]⁺).

Desprotección del hidroxilo de 113: síntesis de 4-metoxibenzoato de (2R,3S,6S)-6-benciloxi-2-hidroximetil-3,6-dihidro-2H-piran-3-ilo (114).

A una disolución del compuesto **113** (161 mg, 0.26 mmol) en THF (4 mL) se añadió fluoruro de tetrabutilamonio trihidrato (TBAF·3H₂O, 164 mg, 0.52 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. Posteriormente, se eliminó el disolvente a vacío obteniendo un producto bruto que se purificó por cromatografía en

columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 3:2) obteniendo el producto deseado con un rendimiento del 80% (83 mg), como un único anómero. Sólido blanco.

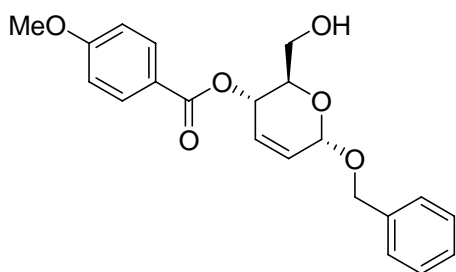
P.f.: 89-92 °C.

[α]_D = - 57.8 (c = 0.2, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3456, 1713, 1605, 1428, 1253, 1165, 1025.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.00 (*d*, *J* = 9.0, 2 H, H-C(Ar)); 7.31 (*m*, 5 H, H-C(Ar));

6.87 (*d*, *J* = 9.0 2 H, H-C(Ar); 5.98 (*dd*, *J* = -11.5, 1.2, 1 H, H-C(4)); 5.78 (*m*, 1 H, H-C(5)); 5.09 (*m*, 1 H, H-C(6)); 4.80 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_a-C(1')); 4.71 (*dd*, *J* = -12.2, 4.8, 1 H, CH_{2a}OH); 4.58 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_b-C(1')); 4.37 (*dd*, *J* = -12.2, 2.2, 1 H, CH_{2b}OH); 4.08 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.98 (*m*, 1 H, H-C(2)); 3.83 (*s*, 3 H, OMe); 2.61 (*d*, *J* = 5.8, 1 H, CH₂OH).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 166.9 (CO₂Ar); 163.5, 137.6, 131.6, 128.3, 127.9, 126.1, 121.9 (12 C, C(Ar)); 133.3 (C(4)); 127.7 (C(5)); 93.6 (C(6)); 70.7 (C(3)); 69.9 (C(1')); 55.3 (OMe); 63.9, 63.8 (C(2), CH₂OH).

ES (ES⁺) m/e: 393 ([M + Na]⁺), 763 ([2M + Na]⁺).

AE: Calculado para C₂₁H₂₂O₆: C 68.10, H 5.99.

Encontrado: C 68.11, H 6.04.

3.4.3.4.- Procedimiento general para la síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato 116.

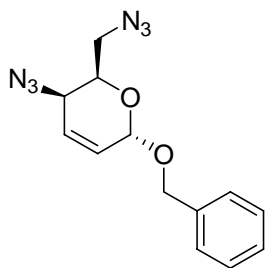
Preparación del diazido 115.

A una disolución del diol **91** (1.00 g, 4.24 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (5 mL) a 0 °C bajo atmósfera de argón, se añadió Et₃N (2.24 mL, 21.2 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (MsCl, 0.83 mL, 10.18 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 minutos y a continuación, se dejó agitando durante *ca.* 1h hasta alcanzar temperatura

ambiente. Seguidamente, se diluyó la reacción con CH_2Cl_2 (5 mL) y se extrajo con una disolución acuosa saturada de NH_4Cl (3×20 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO_4 . Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se disolvió en DMF anhidra (5 mL), se añadió NaN_3 (5.5 mg, 84.8 mmol) y la mezcla se calentó a 90°C durante 24 horas. Posteriormente, el disolvente orgánico se eliminó a vacío y el producto bruto se disolvió en AcOEt (50 mL) y se extrajo con H_2O (3×10 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 . Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (19:1 a 4:1) dando como producto **(2R,3R,6S)-3-azido-2-azidometil-6-benciloxi-3,6-dihidro-2H-pirano (115)** con un rendimiento del 52% [631 mg, el rendimiento indicados se refieren al conjunto de las dos etapas dobles (formación del dimesilado y síntesis de las azidas)], como una mezcla de anómeros α/β en proporción 1.3:1. Aceite incoloro.

$[\alpha]_{\text{D}} = +25$ ($c = 0.06$, CHCl_3).

IR (entre cristales) ν : 3435, 2100, 1294, 1111, 1024, 699.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.37-7.27 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 6.19-5.88 (*m*, 2 H, H-C(4), H-C(5)); 5.14 (*d*, $J = 2.7, 0.43$ H, H_β -C(6)); 5.07 (*m*, 0.57 H, H_α -C(6)); 4.81 (*m*, 1 H, H_α -C(1')); 4.63 (*d*, $J = -11.7$, 1 H, H_β -C(1')); 4.39-4.26 (*m*, 1 H, CH_{2a} - N_3); 3.61-3.29 (*m*, 3 H, CH_{2b} - N_3 , H-C(2), H-C(3)).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl_3) δ : 136.8, 128.6, 128.5, 128.2, 128.1, 127.1 (C(Ar)); 131.1, 120.7 (C(4), C(5)); 97.8 (C(6 $_\alpha$));

93.1 (C(6 $_\beta$)); 70.2 (C(1')); 68.8 (CH_2 - N_3); 54.2, 52.6 (C(2), C(3)).

ES (ES^+) m/e : 278 ($[\text{M} + \text{H}]^+$), 309 ($[\text{M} + \text{Na}]^+$).

Síntesis del híbrido aminoácido-carbohidrato 116 por reacción de Staudinger.

Una mezcla de la diazida **115** (100 mg, 0.35 mmol), Ph_3P (373 mg, 1.4 mmol) y H_2O (40 μL) en benceno (3.5 mL) se reflujo durante 1 hora. A continuación, el disolvente orgánico se eliminó a vacío y el producto bruto se disolvió en DMF anhidra

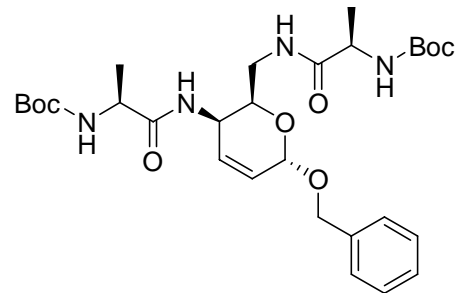
(3.5 mL), seguidamente se añadió secuencialmente Boc-L-Ala-OH (185 mg, 0.98 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (HOBT, 132 mg, 0.98 mmol), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC, 188 mg, 0.98 mmol), Et₃N (0.19 mL, 1.4 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (DMAP, 7 mg, 0.06 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente durante 1 noche. Posteriormente, el disolvente orgánico se eliminó a vacío y el producto bruto se disolvió en AcOEt (10 mL) y se extrajo con HCl 5% (3 × 5 mL), H₂O (3 × 5 mL) y con una solución saturada de NaHCO₃ (3 × 5 mL). Las fases orgánicas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano/AcOEt (1:1 a 3:7) obteniendo como producto **(1R)-terc-butil {(2R,3S,6S)-(2R)-[(metilcarbamoil)etilcarbamato]-6-benciloxi-3,6-dihidro-2H-piran-2-il}[(metilcarbamoil)etilcarbamato (116)** con un rendimiento del 65 % (132 mg), como único anómero. Sólido blanco.

P.f. 111-115 °C (con reblandecimiento previo).

$[\alpha]_D = +49.1$ (c = 0.06, CHCl₃).

IR (KBr) ν 3427, 2978, 1681, 1655, 1517, 1367, 1167, 1024.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ : 7.34 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 6.95 (*m*, 1 H, CH₂-NHCO); 6.27 (*s ancho*, 1 H, Boc-NH-L-Ala-CONH); 5.98-5.81 (*m*, 2 H, H-C(4), H-C(5)); 5.27 (*s ancho*, 2 H, Boc-NH); 5.14 (*d*, *J* = 2.6, 1 H, H-C(6)); 4.79 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_a-C(1')); 4.57 (*d*, *J* = -11.7, 1 H, H_b-C(1')); 4.29 (*m*, 1 H, H-C(3)); 4.21 (*m*, 1 H, H-C(2)); 4.12 (*m*, 2 H, H-C(1''), H-C(2'')); 3.70 (*m*, 1 H, CH_{2a}-NHCO); 3.05 (*m*, 1 H, CH_{2b}-NHCO); 1.42 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃); 1.35 (*d*, 3 H, *J* = 6.9, CH₃); 1.33 (*d*, 3 H, *J* = 7.1, CH₃).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 173.6 (NHCO) δ : 172.7 (NHCO); 155.1 (2 C, OCONH); 137.4, 128.5, 128.2, 127.8, 127.5 (8 C, C(Ar), C(4), C(5)); 93.2 (C(6)); 80.0 (C(CH₃)₃);

79.8 (C(CH₃)); 69.8 (C(1')); 67.7 (C(2)); 50.4 (2 C, C(1''), C(2'')); 42.3 (C(3)); 38.8 (CH-NHCO); 28.3 (3 C, C(CH₃)₃); 28.2 (3 C, C(CH₃)₃); 18.4 (CH₃); 18.5 (CH₃).

ES (ES⁺) m/e: 577 ([M + H]⁺), 599 ([M + Na]⁺), 1175 ([2M + Na]⁺).

AE Calculado para C₂₉H₄₄N₄O₈: C 60.40, H 7.69, N 9.72.

Encontrado: C 60.22, H 7.78, N 9.76.

SÍNTESIS DE ATORVASTATINA CÁLCICA

4.1.- INTRODUCCIÓN	273
4.1.1.- El colesterol y su problemática en nuestros días	273
4.1.2.- Fármacos anticolesterolérgicos	277
4.1.3.- Las estatinas como anticolesterolérgicos. Otras aplicaciones actuales	280
4.1.4.- Antecedentes en la síntesis de atorvastatina	283
4.1.5.- Medicamentos genéricos	295
4.2.- ESPOSICIÓN DE RESULTADOS	297
4.2.1.- Síntesis de atorvastatina	297
4.2.2.- Transformaciones químicas sobre derivados intermedios de la secuencia sintética	306
4.2.2.1.- Síntesis de la yodo lactona 125	307
4.2.2.2.- Cianación catalizada por paladio(0). Síntesis de 126 y transformaciones sobre éste	308
4.2.2.3.- Síntesis de futuros inhibidores de calpaína	309
4.3.- PARTE EXPERIMENTAL	311
4.3.1.- Técnicas generales utilizadas	311
4.3.2.- Síntesis de atorvastatina cálcica	314
4.3.3.- Transformaciones químicas sobre derivados intermedios de la secuencia sintética	322
4.3.3.1.- Hidrólisis de los grupos protectores de 120 : formación de la lactona 6-(4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)[2-(3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]-4-hidroxitetrahidropiran-2-ona (124) y derivados	322
4.3.3.2.- Cianación del pirrol 121 : síntesis de 2-{6-(4 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)[2-(4-ciano-3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]}-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il} acetato de <i>terc</i> -butilo (126) y derivados	324
4.3.3.3.- Síntesis de (<i>S</i>)-2-(3-fenil-2-fluorofenil-5-isopropilpirrol-1-il)-3-fenilpropanoato de metilo (128) y derivados	326

4.1. INTRODUCCIÓN

4.1.1. EL COLESTEROL Y SU PROBLEMÁTICA EN NUESTROS DÍAS.

El colesterol es un lípido presente en el cuerpo humano esencial para la vida, que está involucrado en la formación de las membranas plasmáticas, en la biosíntesis de los ácidos biliares, de la vitamina D y de las hormonas de las glándulas suprarrenales, de los ovarios y de los testículos, y en la síntesis otras biomoléculas esteroídicas.²⁸⁴ Sin embargo, cuando su concentración en sangre es elevada, aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares por su participación en la génesis de la placa de ateroma. El colesterol proviene principalmente de dos fuentes: el sintetizado por el organismo (endógeno) y el procedente de los alimentos, principalmente de origen animal (exógeno). El colesterol que circula por la sangre se llama colesterol total en sangre o sérico y el que proviene de la alimentación se llama colesterol de la dieta o exógeno. Aunque el colesterol de la dieta puede contribuir a cambios en los niveles séricos de esta sustancia, más de dos tercios del colesterol del organismo es sintetizado en el hígado.²⁸⁵

La hipercolesterolemia se produce por una elevación de los niveles de colesterol sérico (>200 mg/dL).²⁸⁶ Estos altos niveles de colesterol en sangre están relacionados con el fenómeno de la aterosclerosis, síndrome caracterizado por el depósito de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias de calibre mediano a grueso, a consecuencia del cual se forma la placa de ateroma. Como consecuencia aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares pudiendo producirse infarto agudo de miocardio, accidente cerebro-vascular, claudicación intermitente, etc.

²⁸⁴ Alberts, *et al.*, *Molecular Biology of the Cell*: 4ª Edición, New York: Garland Science, **2002**, p. 588. Harvey *et al.*, *Biochemistry*: 3ª Edición, Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins, **2005**, p. 222-223.

²⁸⁵ J. K. Liao, U. Laufs, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2005**, *45*, 89-118.

²⁸⁶ Dato obtenido de la American Heart Association, ver: <http://www.americanheart.org>.

En la *Figura 4.1* se observa la acumulación progresiva de colesterol en una arteria hasta el momento en el que se produce el trombo.

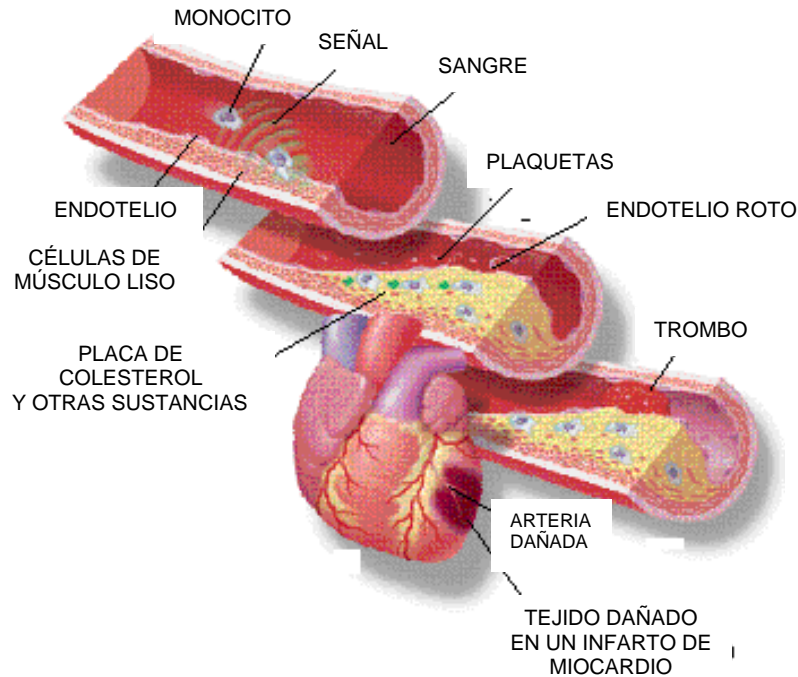


Figura 4.1. Acumulación progresiva de colesterol hasta producirse el trombo.

Según a los tipos de lipoproteínas a las que se une el colesterol, éste se clasifica en:

- el colesterol ligado a LDL ("lipoproteína de baja densidad"), conocido a nivel popular como "colesterol malo". Un alto índice de LDL en la sangre aumenta la probabilidad de padecer aterosclerosis y con ello el riesgo de enfermedades cardiovasculares. El nivel óptimo de colesterol-LDL es igual o inferior a 100 mg/dL.
- el colesterol ligado a HDL ("lipoproteína de alta densidad"), denominado a nivel popular "colesterol bueno", debido a que ayuda al organismo a prevenir los depósitos grasos en las arterias. El HDL se adhiere al colesterol LDL y lo transporta al hígado donde es utilizado para otras funciones. Los niveles altos de colesterol HDL se asocian con un menor

riesgo de ataques al corazón. El valor óptimo de colesterol HDL en sangre es igual o superior a 60 mg/dL.

Una vez conocidos los principales tipos de colesterol presentes es necesario tener en consideración los niveles de éstos y sus consecuencias; en las *Tablas 4.2*²⁸⁶ se muestran los valores en sangre de colesterol total, colesterol-HDL y colesterol-LDL de referencia.

Tablas 4.2 Valores de colesterol total, colesterol-HDL y colesterol-LDL de referencia.²⁸⁷

Niveles de colesterol total (mg/dL)	
< 200	Nivel “deseable” que expone a menor riesgo de enfermedades cardiovasculares.
200-239	Límite alto. Un nivel de colesterol de 200 mg/dL o más aumenta el riesgo.
> 240	Colesterol “alto”, que da lugar a más del doble del riesgo que presenta una persona con el nivel deseable.

Niveles de colesterol-LDL (mg/dL)	
< de 100	Óptimo
100–129	Cerca o por encima del valor óptimo
130–159	Límite alto
160–189	Alto
> 190 mg/	Muy alto

²⁸⁷ Datos del Centro Nacional de Estadísticas de Salud de los CDC publicadas por la Asociación Americana del Corazón, Heart and Stroke Statistical Update, 2004. Dallas, TX: AHA, <http://www.americanheart.org>.

Niveles de colesterol-HDL (mg/dL)	
< 40 mg/dL (hombres)	Colesterol HDL bajo; este nivel aumenta el riesgo de enfermedad cardiovascular
< 50 mg/dL (mujeres)	
> 60 mg/dL	Colesterol HDL alto (óptimo); este nivel reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular

Como ejemplo ilustrativo, en la *Figura 4.2* se muestra un mapa de los niveles de colesterol de la población estadounidense. Se calcula que 106.9 millones de adultos estadounidenses tienen niveles de colesterol sanguíneo totales de 200 miligramos por decilitro (mg/dL) o mayores, los cuales están por encima de los niveles deseados. De este número de personas, 37.7 millones tienen niveles de 240 mg/dL o mayores, lo cual se considera un alto riesgo.²⁸⁷

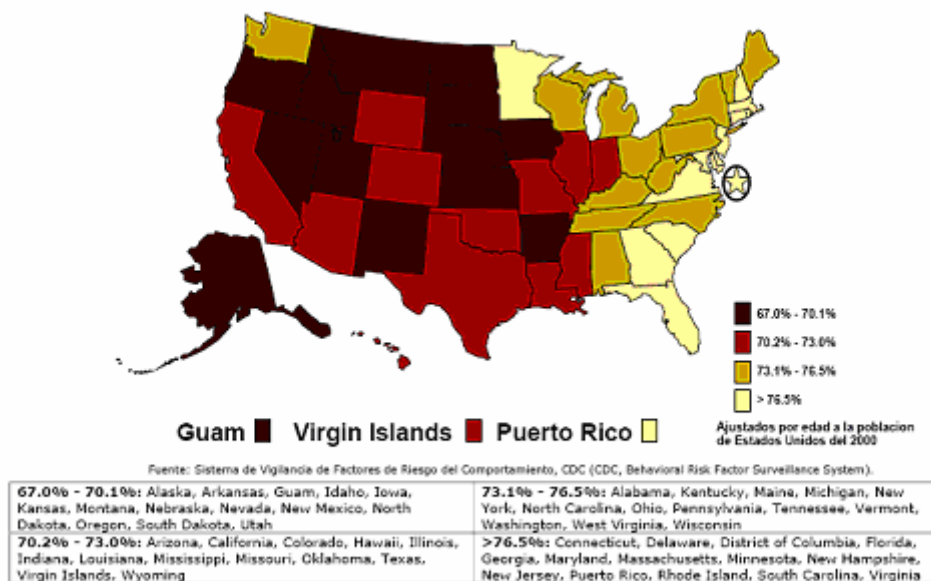


Figura 4.2 Mapa de los Estados Unidos que muestra el porcentaje de adultos de 20 años de edad en adelante que se han hecho revisar el nivel de colesterol en la sangre en los últimos 5 años (datos de 2003).

Muchas personas tienen altos índices de colesterol debido a que poseen una alteración genética, denominada hipercolesterolemia familiar.²⁸⁸ Esta mutación reduce la capacidad del hígado para retirar el colesterol de la circulación sanguínea. Sin embargo, otras personas desarrollan enfermedades cardiovasculares debido a sus estilos de vida y especialmente por la dieta. Otros factores de riesgo pueden ser diabetes, obesidad, enfermedades renales, enfermedades hepáticas o hipotiroidismo.

4.1.2.- FÁRMACOS ANTICOLESTEROLÉRGICOS.

Existen varios tipos de medicamentos que se usan para tratar los niveles altos de colesterol. Para cada individuo y situación, debe decidirse qué tipo de medicamento es el más apropiado, pudiéndose prescribir más de uno de estos fármacos a la vez, pues la combinación de éstos puede ser más efectiva.

a) **Estatinas.** Inhibidores reversibles de HMG-CoA reductasa (β -hidroxi- β -metilglutaril-coenzima A, HMGR), enzima que cataliza la síntesis de mevalonato, paso limitante en la biosíntesis del colesterol.²⁸⁹ Estos son los fármacos de referencia en el tratamiento de la hipercolesterolemia. La reducción resultante del colesterol intracelular conduce a un aumento compensatorio de la captación de colesterol por los receptores de la lipoproteína de baja densidad (LDL) y a una disminución en el colesterol plasmático. El descubrimiento de las estatinas y su utilización en sujetos con valores elevados de colesterol ha permitido importantes logros en la prevención primaria y secundaria de la enfermedad coronaria.²⁹⁰ Además de reducir el colesterol ligado a LDL (c-LDL), las estatinas tienen una serie de efectos pleiotrópicos en varios componentes de la

²⁸⁸ Se calcula que en el mundo 1 de cada 500 personas padecen hipercolesterolemia familiar, dato aportado por la Fundación Hipercolesterolemia Familiar. Algunos artículos sobre hipercolesterolemia familiar, ver: M. A. Austin, C. M. Hutter, R. L. Zimmern, S. E. Humphries, *Am. J. Epidemiol.* **2004**, *160*, 407-420. D. Marks, M. Thorogood, H. A. Neil, S. E. Humphries, *Atherosclerosis*. **2003**, *168*, 1-14.

²⁸⁹ J. L. Goldstein, M. S. Brown, *Nature* **1990**, *343*, 425-430.

²⁹⁰ J. Shepherd, S. M. Cobbe, I. Ford, C. G. Isles, A. R. Lorimer, P. W. MacFarlane *N. Engl. J. Med.* **1995**, *33*, 1301-1307. T.R. Pedersen, L. Wilhelmsen, O. Faergeman, *Lancet* **1994**, *344*, 1383-1389.

aterosclerosis, incluyendo la función endotelial, la migración celular, y la inflamación y tendencia trombótica de la placa.^{285,291} Recientemente se ha demostrado que las estatinas también estimulan la vía de señalización intracelular de la proteína kinasa Akt/PKB en la células endoteliales y en las células endoteliales progenitoras procedentes de la médula ósea, promoviendo la angiogénesis y la vasculogénesis a través de mecanismos relacionados con la activación de la Akt.²⁹² Actualmente hay seis compuestos de esta clase aprobados en Estados Unidos. Por una parte, la lovastatina (MECAVOR[®]), metabolito secundario derivado de hexahidronaftaleno aislado del hongo *Aspergillus terreus*,²⁹³ así como sus derivados semisintéticos simvastatina (ZOCOR[®]) y pravastatina (PRAVACHOL[®]) y, por otra, la fluvastatina (LESCOL[®]), la atorvastatina (LIPITOR[®]), producto líder en ventas 12.7×10^3 millones de \$ de julio 2004 a junio 2005,²⁹⁴ Figura 4.3) y la rosuvastatina (CRESTOR[®]) que son inhibidores totalmente sintéticos.



Figura 4.3 Imagen de un envase de Lipitor (10 mg).

²⁹¹ D. J. Maron, S. Fazio, M. F. Linton, *Circulation* **2000**, *101*, 207-213. K. Koh, *Cardiovasc. Res.* **2000**, *35*, 1-10. Y. Fukumoto, P. Libby, E. Rabkin, C. C. Hill, M. Enomoto Y. Hirouchi, *Circulation* **2001**, *103*, 993-999. C. Bustos, M. A. Hernández-Presa, M. Ortega, J. Tunon, L. Ortega, F. Pérez, *J. Am. Coll. Cardiol.* **1998**, *32*, 2057-2064. L. Lacoste, J. Y. Lam, J. Hung, G. Letchacovski, C. B. Solymoss, D. Waters, *Circulation* **1995**, *92*, 3172-2177. M. Aikawa, E. Rabkin, S. Sugiyama, S. J. Voglic, Y. Fukumoto, Y. Furukawa, *Circulation* **2001**, *103*, 276-283.

²⁹² La simvastatina activa la proteína kinasa Akt y promueve la angiogénesis en animales normocolesterolémicos, ver: Y. Kureishi, Z. Luo, I. Shiojima, A. Bialik, D. Fulton, D. J. Lefer, *Nat. Med.* **2000**, *6*, 1004-1010. J. Llevadot, S. Murasawa, Y. Kureishi, S. Uchida, H. Masuda, A. Kawamoto, *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 399-405. S. Dimmeler, A. Aicher, M. Vasa, C. Mildner-Rihm, K. Adler, M. Tiemann, *J. Clin. Invest.* **2001**, *108*, 391-397.

²⁹³ A. W. Alberts, J. Chen, G. Kuron, V. Hunt, J. Huff, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1980**, *77*, 3957-3961. A. W. Alberts, *Am. J. Cardiol.* **1990**, *77* (Suplemento 4), 14-21.

²⁹⁴ J. Álvarez-Builla, A. M. Cuadrado, C. Burgos, *Ann. Quím.* **2006**, *102*, 13-21.

b) **Resinas.** También conocidas como “secuestrantes” de ácidos biliares. Estos medicamentos se unen a la bilis para que ésta no pueda ser utilizada durante el proceso digestivo. El hígado responde produciendo más bilis, para lo cual necesita más colesterol, cuya concentración en sangre queda de este modo disminuída. Los compuestos que actualmente se comercializan son: colestiramina (LOCHOLEST[®], PREVALITE[®], QUESTRAN[®] y QUESTRAN-LIGHT[®]), colesevelam (WELCHOL[®]) y colestipol (COLESTID[®]).

c) **Fibratos.** Son derivados del ácido fibríco que ayudan a disminuir el colesterol disminuyendo la cantidad de triglicéridos y aumentando el nivel de colesterol ligado a HDL. Los compuestos que actualmente se comercializan son: fenofibrato (TRICOR[®]), gemfibrozilo (LOPID[®]), clorofibrato (ATROMID-S[®]), benzafibrato (BEZALIP[®]) y ciprofibrato (MODALIM[®]).

d) **Niacina** o ácido nicotínico. Cuando se administra a dosis altas, puede disminuir los niveles de triglicéridos y colesterol-LDL y aumentar el nivel de colesterol-HDL. Actualmente se comercializa como NIACOR[®], NICOLAR[®], NIASPAN[®] y SLO-NIACIN[®].

e) **Ezetimibe.** Es un derivado de la azetidinona, que ayuda a reducir el nivel de colesterol disminuyendo la cantidad de éste absorbida en el intestino; aunque se encuentra en algunos medicamentos como único componente (ZETIA[®]), se administra generalmente en combinación con una estatina: simvastatina + ezetimibe (VYTORIN[®]), atorvastatina + ezetimibe,²⁹⁵ etc.

²⁹⁵ El tratamiento de los pacientes hipercolesterolémicos con atorvastatina y ezetimibe parece lograr mayor eficacia que el empleo en monoterapia de la estatina, ver J. M. Cruz-Fernández, G. V. Bedarida, J. Adgey, A. O. Johnson-Levonas, R. Massaad, *Int. J. Clinical Practice*, **2005**, 59, 619-627. LXXIII Congreso de la Sociedad Europea de Aterosclerosis celebrado en Salzburgo (Austria), **2002**.

4.1.3.- LAS ESTATINAS COMO ANTICOLESTEROLÉRGICOS. OTRAS APLICACIONES ACTUALES.

Como ya se ha comentado en el apartado anterior actualmente existen seis estatinas comercializadas; tres de ellas (lovastatina, simvastatina y pravastatina) son derivados de productos naturales, mientras que las otras tres (fluvastatina, atorvastatina y rosuvastatina) son de origen sintético (Figura 4.4).

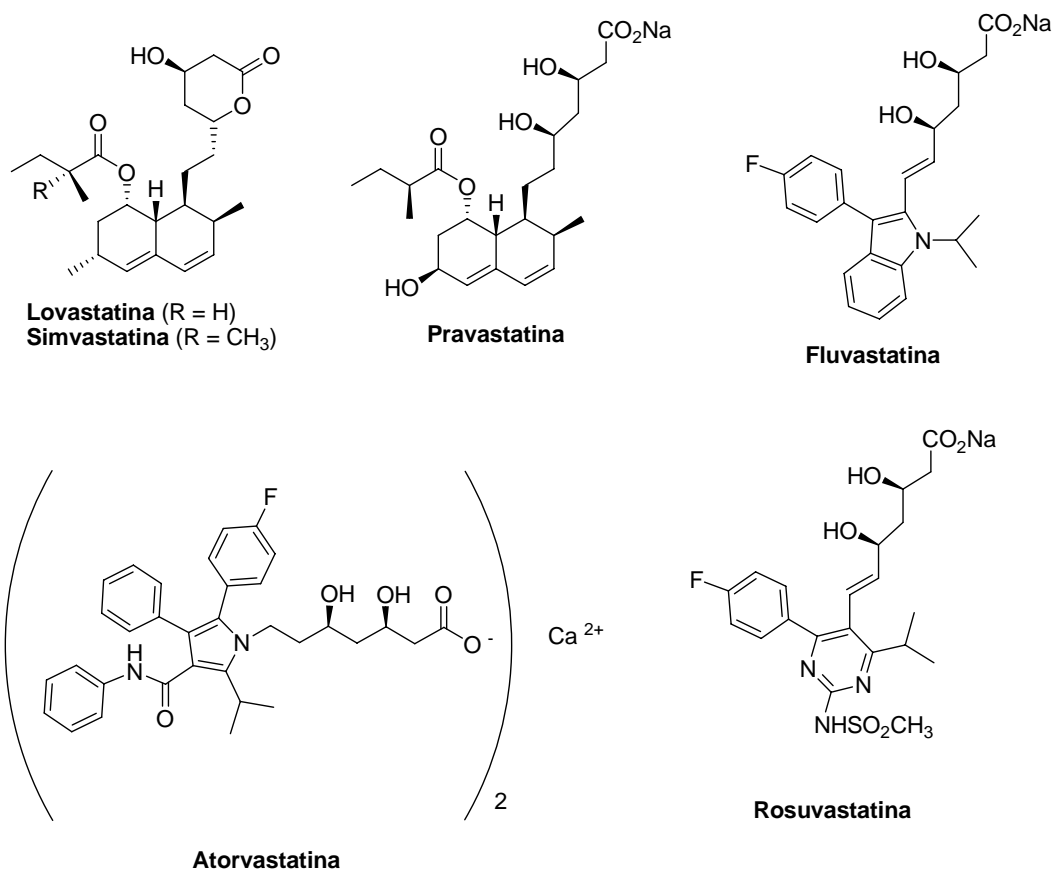


Figura 4.4 Estructura de las estatinas comercializadas.

a) Mecanismo de acción. Las estatinas reducen los niveles plasmáticos de colesterol total (60-65%) y de colesterol-LDL (25-40%). También disminuyen considerablemente los niveles de triglicéridos e incrementa los de colesterol-HDL (5-

20%).²⁹⁶ Actúan inhibiendo la síntesis hepática de colesterol al bloquear el enzima β -hidroxi- β -metilglutaril-coenzima A (HMG-CoA), implicada en la síntesis del ácido mevalónico, precursor metabólico del colesterol.²⁹⁷ Como resultado de la disminución de la síntesis de colesterol hay un incremento del número de receptores de LDL tanto a nivel hepático como extrahepático, así como del catabolismo de LDL.^{298,299} Otros procesos adicionales en los que actúa son la inhibición de la proliferación de fibroblastos,³⁰⁰ la recuperación de la función endotelial y de la síntesis de óxido nítrico³⁰¹ y en la agregación plaquetaria.³⁰²

b) Farmacología. Por vía oral, la biodisponibilidad es de aproximadamente del 12%, atribuido a que sufren aclaramiento en la mucosa gastrointestinal y/o un importante metabolismo de primer paso. Son absorbidas rápidamente, alcanzando una concentración sérica máxima de 12.7-18.1 ng/mL (dosis oral de 20 mg) al cabo de 1-2 h. Los alimentos no modifican la absorción oral. Los efectos terapéuticos máximos se obtienen a partir de las 2 semanas de iniciado el tratamiento. La lovastatina, la simvastatina y la atorvastatina son metabolizadas en el hígado por el citocromo P450 3A4,³⁰³ y esta última es transformada en derivados *o*- y *p*-hidroxilados y distintos productos de β -oxidación con actividad farmacológica comparable a la de la atorvastatina, de manera que el 70% de la actividad inhibidora de la HMG-CoA reductasa circulante se atribuye a los metabolitos

²⁹⁶ H. S. Cairns, C. Baigent, M. Landray, C. Leaper, P. Altmann, J. Armitage, A. Baxter, R. Collins, R. N. Holey, *Am J. Kidney Dis.* **2005**, *45*, 473-484.

²⁹⁷ A. Endo, Y. Tsujita, M. Kuroda, K. Tanzawa, *Eur. J. Biochem.* **1977**, *77*, 31-36. M. S. Brown, J. L. Goldstein, *Science* **1986**, *232*, 34-47.

²⁹⁸ H. N. Ginsberg, N. A. Le, R. Ramakrishnan, R. J. Desnick, *J. Clin. Invest.* **1987**, *80*, 1692-1697. S. M. Grundy, *Am. J. Cardiol* **1998**, *81* (suplemento 4A), 1B-6B.

²⁹⁹ A. D. Marais, R. P. Naoumova, J. C. Firth, C. Penny, C. K. Neuwirth, G. R. Thompson, *J. Lipid Res.* **1997**, *38*, 2071-2078. F. J. Raal, G. J. Pilcher, D. R. Illingworth, A. S. Pappu, E. A. Stein, P. Laskarzewski, Y. B. Mitchel, M. R. Melino, *Atherosclerosis* **1997**, *135*, 249-256.

³⁰⁰ Se ha comprobado que la lovastatina y la simvastatina inducen fenómenos de apoptosis (muerte celular programada) en fibroblastos. Podrían ser una estrategia razonable para el manejo de aquellas patologías caracterizadas por la proliferación incontrolada de fibroblastos, entre ellas la fibrosis pulmonar y la cirrosis, ver: Centro de Información de Medicamentos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, H. Peredo, boletines **2004**, estatinas.

³⁰¹ O. Perera, D. Pérez, J. Navarro, R. Sánchez, G. Hernández, C. Díaz, S. Lamas, *J. Clin. Invest.* **1998**, *101*, 2711-2719.

³⁰² M. Delanty, C. J. Vaughan, *Stroke* **1997**, *28*, 2315-2320.

³⁰³ Anónimo. *Med. Lett. Drugs. Ther.* **1998**, *40*, 117-122.

activos, que son eliminados mayoritariamente con las heces. La fluvastatina sufre metabolismo por el CYP2C9³⁰⁴, y la pravastatina no sufre metabolismo hepático de ningún tipo.

c) Efectos adversos.³⁰⁵ Menos del 2% de los pacientes tratados con estos medicamentos se ven obligados a suspender el tratamiento. Los efectos secundarios más frecuentemente asociados con su uso son cefalea, erupción exantemática y/o prurito, alteraciones digestivas (flatulencia, dolor abdominal, calambres abdominales, diarrea o estreñimiento, náuseas, dispepsia, etc.), incremento de los valores de transaminasas entre los 3-16 meses de tratamiento, mialgia, calambres musculares y visión borrosa. Otros efectos menos habituales son: hiperacidez gástrica, alteraciones del gusto, anorexia, ictericia colestática, vómitos, estomatitis, mareos, insomnio, ansiedad miopatía (0.5%) rabdomiolisis³⁰⁶ e incremento de los valores de creatinfosfokinasa (CPK) (pueden aumentar incluso en 10 veces), particularmente en pacientes en tratamiento simultáneo con gemfibrozilo y en pacientes con trasplante de corazón en tratamiento con ciclosporina,³⁰⁷ insuficiencia renal aguda, principalmente junto con gemfibrozilo, cataratas, reacción anafiláctica o lupus eritematoso sistémico. Estos efectos generalmente se resuelven al suspender el tratamiento.³⁰⁸ Las estatinas también pueden causar elevaciones en los niveles enzimáticos en el hígado, especialmente si se toman en dosis altas. Sin embargo, la mayoría de las personas que toman estatinas no presentan efectos secundarios.

Actualmente también se están llevando a cabo diversos estudios en los que se están encontrando nuevas aplicaciones terapéuticas de las estatinas. Así, hay evidencias que sugieren que los citados compuestos pueden ser usados para la prevención y/o

³⁰⁴ H. Lennemas, G. Fager, *Clin Pharmacokinet.* **1997**, *32*, 403-4025.

³⁰⁵ D. J. Maron, S. Fazio, F. L. MacRae, *Circulation* **2000**, *101*, 207-213.

³⁰⁶ L. R. Pierce, D. K. Wysowski, T. P. Gross, *J. Am. Med. Assoc.* **1990**, *264*, 71-75.

³⁰⁷ D. J. Norman, D. R. Illingworth, J. Muson, J. Hosenpud, *N. Engl. J. Med.* **1988**, *318*, 46-47.

³⁰⁸ Normalmente se recuperan los niveles basales de transaminasas 2 o 3 meses después de finalizar el tratamiento, ver: R. H. Bradford, C. L. Shear, A. N. Chremos, C. Dujovne, M. Downtown, F. A. Franklin, A. L. Gould, M. Hensey, J. Higgs, D. P. Hurley, A. Langendorfer, D. T. Nash, J. L. Pool, H. Schnaper, *Arch. Intern. Med.* **1991**, *151*, 43-49.

tratamiento del cáncer³⁰⁹ por sus interacciones con funciones esenciales de la célula como proliferación y diferenciación.³¹⁰ Diversos estudios han demostrado tanto *in vivo* como *in vitro* que las estatinas inhiben el crecimiento celular e inducen la apoptosis de una gran variedad de células tumorales: colon,³¹¹ próstata,³¹² melanoma,³¹³ glioma,³¹⁴ neuroblastoma,³¹⁵ leucemia,³¹⁶ etc. Por otra parte, también se ha comprobado que el tratamiento con estatinas en pacientes con daños renales³¹⁷ ralentiza la progresión que suelen presentar pacientes con arterioesclerosis. Finalmente, como consecuencia de estudios recientes, estos compuestos pueden tener así mismo aplicación como protectores contra la osteoporosis,³¹⁸ como agentes terapéuticos potenciales en procesos neuroinflamatorios,³¹⁹ como neuroprotectores,³²⁰ etc.

4.1.4.- ANTECEDENTES EN LA SÍNTESIS DE ATORVASTATINA.

Pocos años después del descubrimiento por parte de Brown y Goldstein en 1973³²¹ del receptor LDL (lipoproteína de baja densidad) se habían aislado dos metabolitos de origen fúngico, la compactina o mevastatina³²² y la mevinolina o lovastatina.³²³

³⁰⁹ K. Hindler, C. Cleeland, E. Rivera, C. D. Collard, *The Oncologist* **2006**, *11*, 306-315. K. M. Dale, C. I. Coleman, N. N. Henyan, J. Kluger, C. M. White, *J. Am. Med. Assoc.* **2006**, *295*, 74-80. J. McLaughlin, *J. Natl. Cancer. Inst.* **2006**, *98*, 4-5.

³¹⁰ P. J. Casey, *Science* **1995**, *268*, 221-225. J. L. Bos, *Cancer Res.* **1989**, *49*, 4682-4689.

³¹¹ J. N. Poynter, S. B. Gruber, P. D. Higgins, *N. Engl. J. Med.* **2005**, *352*, 2184-2192.

³¹² R. Singal, V. Kharuana, G. Caldito, C. Fort, *J. Clin. Oncol.* **2005**, *23*, 1006-1010.

³¹³ Y. G. Shellman, D. Ribble, L. Miller, *Melanoma Res.* **2005**, *15*, 83-89. M. F. Demierre, *J. Clin. Oncol.* **2003**, *21*, 158-163.

³¹⁴ M. Kyuturk, M. Erzoz, N. Alitok, *Neuroscience Lett.* **2004**, *370*, 212-217.

³¹⁵ R. Gigert, Y. Vogt, D. Becke, *Cancer Lett.* **1999**, *137*, 167-172.

³¹⁶ J. Dimitroulakos, S. Thai, G. H. Wasfy, *Leuk. Lymphoma* **2000**, *40*, 167-178.

³¹⁷ R. Agarwal, *Am. J. Cardiol.* **2005**, *97*, 748-755 y referencias contenidas.

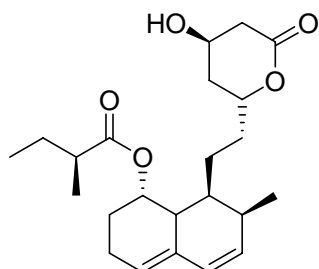
³¹⁸ Congreso Mundial de Osteoporosis, presentación oral OC18, L. Rejnmark Río de Janeiro, **2004**.

³¹⁹ F. K. Hedwich, J. P. Van den Elsen, *Current Immunol. Review* **2006**, *2*, 55-64.

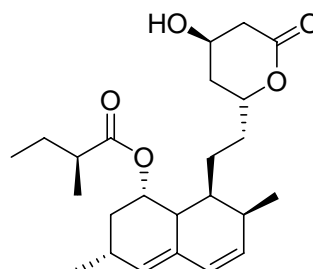
³²⁰ J. H. Jick, G. L. Zomberg, S. S. Jick, S. Seshadri, D. A. Drackman, *Obstet & Gynecol. Survey* **2001**, *56*, 217-218. A. Amaneco, K. Moskowitz, *Stroke* **2006**, *37*, 294-296.

³²¹ J. L. Goldstein, M. S. Brown, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1973**, *70*, 2804-2808.

³²² A. Endo, M. Kuroda, Y. Tsujita, *Antibiotic* **1976**, *29*, 1346-1348. A. Endo, M. Kuroda, K. Tanzawa, *FEBS Lett.* **1976**, *72*, 323-326. A. G. Brown, T. C. Smale, T. J. King, R. Hasenkamp, R.



compactina o mevastatina



mevinolina o lovastatina

Ambos compuestos eran potentes inhibidores de la biosíntesis del colesterol hasta el nivel de limitar al mínimo la actividad enzimática de la HMG-CoA reductasa por medio de un mecanismo “feedback”.³²⁴

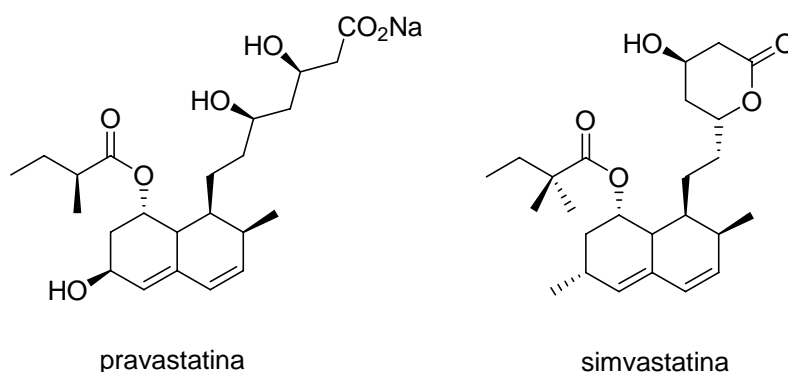
También a partir de lovastatina, por medio de transformaciones microbianas, se sintetizaron la pravastatina y el análogo semisintético simvastatina, otros dos potentes agentes antihipercolesterolérgicos.³²⁵

H. Thonson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1976**, 1165-1169. A. W. Albers, J. Chen, G. Kuron, V. Hunt, J. Huff, C. Hoffman, J. Rothrock, M. Lopez, H. Joshua, E. Harris, A. Patchett, R. Monaghan, S. Currie, E. Stapley, G. Albers-Schonberg, O. Hensens, J. Hirshfield, K. Hoogsteen, J. Liesch, J. Springer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1980**, *77*, 3957-3961.

³²³ W. F. Hofmann, A. W. Albers, P. S. Anderson, J. S. Chen, R. L. Smith, A. K. Willard, *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 849-852. M. J. T. M. Mol, D. W. Erkelens, J. A. Gevers Leuven, J. A. Schouten, *Lancet* **1986**, 936-939. N. Serizawa, K. Nakagawa, K. Hamano, Y. Tsujita, A. Terahara, H. Kuwano, *J. Antibiotics* **1983**, *36*, 5. N. Serizawa, K. Nakagawa, K. Hamano, Y. Tsujita, A. Terahara, H. Kuwano, *Drugs Future* **1987**, *12*, 437.

³²⁴ M. S. Brown, J. L. Goldstein, *Sci. Am.* **1984**, *5*, 52-67.

³²⁵ A. W. Albers, *Drugs Invest.* **1990**, *2* (suplemento 2), 9-17. A. Endo, *J. Med. Chem.* **1985**, *28*, 401-405. H. Tamachi, H. Shigematsu, Y. Hata, Y. Goto, *J. Am. Med. Assoc.* **1987**, *257*, 3088-3093. A. W. Albers, *Am. J. Cardiol.* **1988**, *62*, 10J-15J.



A partir de este momento (principio de los 90) diversos grupos pertenecientes a empresas privadas se dedicaron frenéticamente a la síntesis y evaluación de la actividad biológica de nuevos inhibidores de la HMG-CoA reductasa.

El grupo de W. Bartmann³²⁶ (Hoescht) en 1990 enfocó su investigación hacia una nueva serie de inhibidores (*Figura 4.5*) que estructuralmente eran ácidos 3,5-dihidroxi-6-hepte- o 6-hetanoicos o sus lactonas, soportando en posición 7 restos de piridina, pirimidina o pirrol.

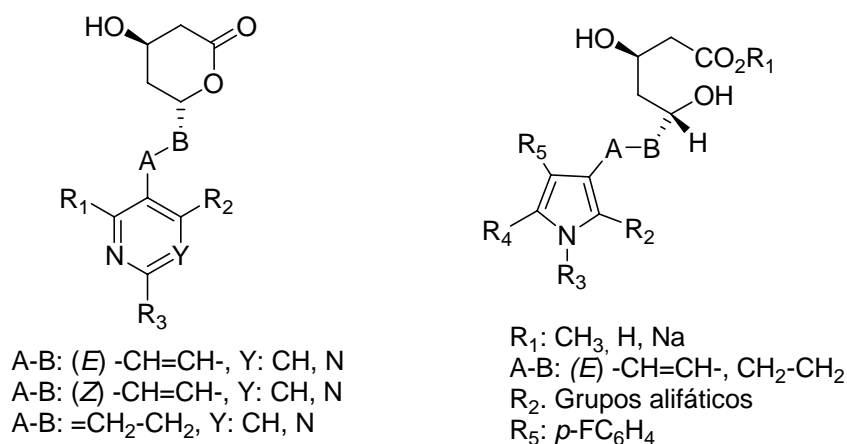


Figura 4.5. Inhibidores diseñados por W. Bartmann para Hoescht.

³²⁶ H. Jendralla, E. Baader, W. Bartmann, G. Beck, A. Bergmann, E. Granzer, B. V. Kereejarto, K. Kessler, R. Kruse, W. Schubert, G. Wess, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 61-70. G. Beck, K. Kessler, H. Jendralla, E. Baader, W. Bartmann, A. Bergmann, E. Granzer, B. V. Kereejarto, R. Kruse, W. Schubert, G. Wess, *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 52-60.

Un año después B. D. Roth y col., de la compañía Parke-Davis, ensayaron la actividad inhibitoria sobre HMG-CoA reductasa de una serie de mevalolactonas conteniendo restos de pirrol 1,2,5-trisustituídos que presentaron una actividad moderada y a partir de los cuales, por modificación química, se llegó al derivado más potente de la serie (Figura 4.6).³²⁷

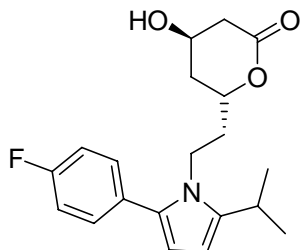


Figura 4.6. Inhibidor más potente diseñado por B. D. Roth para Parke-Davis.

En 1993 Chan y col.,³²⁸ del grupo Glaxo, sintetizaron una nueva serie de inhibidores anclando a la cadena lateral de 3,5-dihidroxi-6-heptenoato o heptanoato grupos imidazolilo sustituidos (Figura 4.7), obteniendo compuestos mucho más activos que los modelos lovastatina y pravastatina.

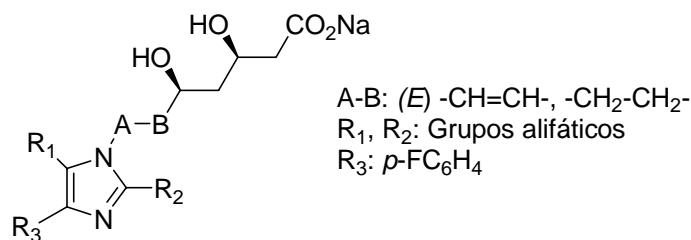


Figura 4.7. Inhibidores diseñados por C. Chan para Glaxo.

³²⁷ B. D. Roth, C. J. Blankley, A. W. Chucholowski, E. Ferguson, M. L. Hoefle, D. F. Ortwine, R. S. Newton, D. R. Sliskovic, C. D. Stratton, M. W. Wilson, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 357-366. B. D. Roth, US 4681893, Warner-Lambert, Co. **1987**.

³²⁸ C. Chan, E. J. Bailey, C. D. Hartley, D. F. Hauman, J. L. Hutson, G. A. G. Inglis, P. S. Jones, S. E. Keeling, B. E. Kirk, R. B. Lamot, M. G. Lester, J. M. Pritchard, B. C. Ross, J. J. Scicinski, S. J. Spooner, G. Smith, I. P. Steeples, N. S. Watson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3646-3657.

En el mismo año P. A. Procopiou y col.,³²⁹ continuando con el trabajo de C. Chan en la compañía Glaxo, sintetizaron los análogos pirrólicos (*Figura 4.8*) de los imidazoles mencionados, mejorando los resultados de su predecesor. A modo de ejemplo, en la *Figura 4.8* se muestra el mejor compuesto de la serie, **A**, 10 veces más potente que la lovastatina.

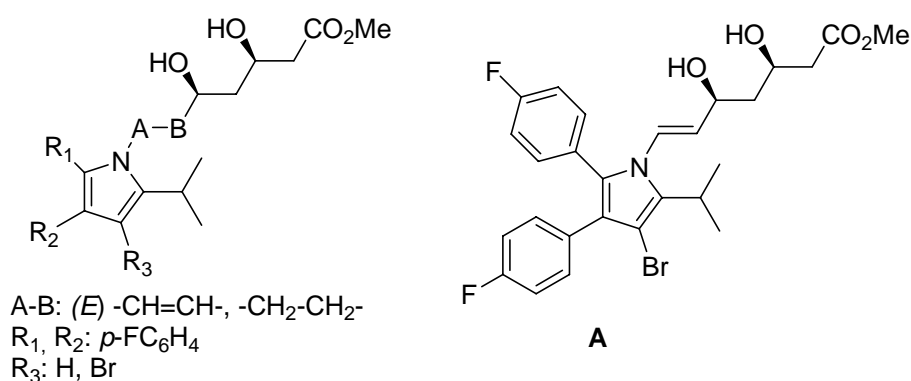


Figura 4.8. Inhibidores diseñados por P. A. Procopiou para Glaxo.

Por otra parte, B. D. Roth y col.³³⁰ (Parke-Davis), continuando con su trabajo sobre derivados del ácido mevalónico sintetizaron en 1992 el ácido **B**, la correspondiente lactona de seis eslabones **C** (*Figura 4.9*), obtenida por ciclación del grupo carboxilo terminal de **B** con el hidroxilo en posición δ , así como diversas sales del citado ácido carboxílico. Entre estas últimas se encontraba la sal cálcica (**CI-981**, atorvastatina cálcica) que en estudios posteriores mostró ser el derivado idóneo para el tratamiento de la hipercolesterolemia. Comenzó en ese momento una carrera para diseñar nuevas rutas de síntesis del compuesto **CI-981**.

³²⁹ P. A. Procopiou, C. D. Draper, J. L. Hutson, G. G. A. Inglis, B. C. Ross, N. S. Watson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3658-3662.

³³⁰ P. L. Broker, D. E. Butler, C. F. Deering, T. V. Le, A. Millar, T. N. Nanninga, B. D. Roth, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2279-2282. K. L. Baumann, D. E. Butler, C. F. Deering, K. E. Mennen, A. Millar, T. N. Nananga, C. W. Palmer, B. D. Roth, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2283-2284. B. D. Roth, *Prog. Med. Chem.* **2002**, *40*, 1-22.

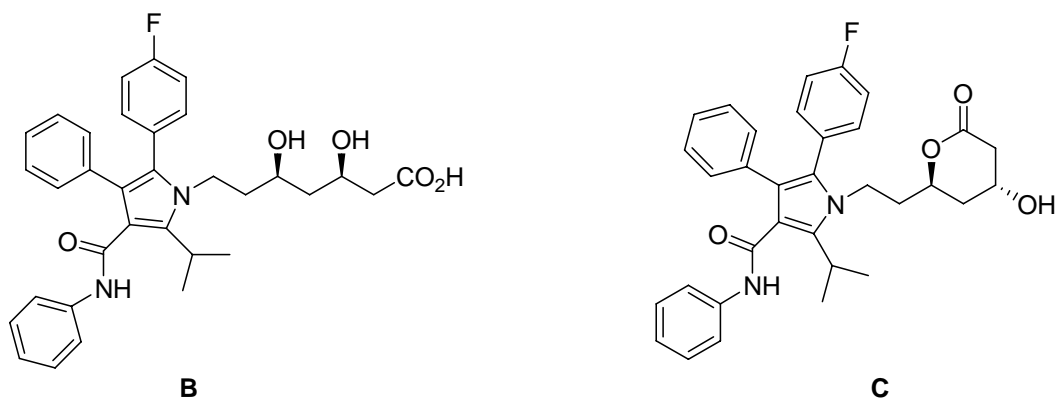


Figura 4.9. Síntesis de derivados del ácido mevalónico preparados por B.D. Roth y col.

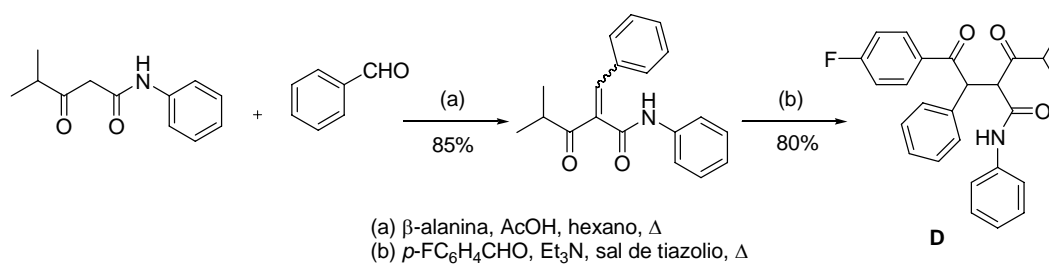
A continuación se describen brevemente las principales rutas existentes en la bibliografía para acometer su síntesis o bien la de alguno de sus dos fragmentos característicos.

En primer lugar, B. D. Roth y col.³³¹ partieron del compuesto 1,4-dicarbonílico **D** (*Esquema 4.1*), que se obtuvo con buenos rendimientos por medio de una reacción de Knoevenagel³³² a partir de isobutirilacetanilida y benzaldehído, seguida de una reacción de Stetter³³³ del producto de condensación resultante con *p*-fluorobenzaldehído.

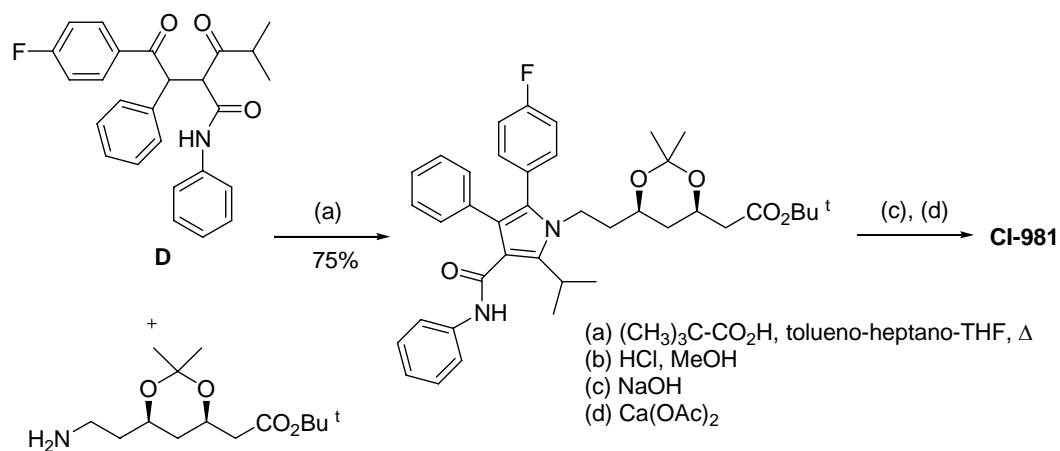
³³¹ P. L. Broker, D. E. Butler, C. F. Deering, T. V. Le, A. Millar, T. N. Nanninga, B. D. Roth, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2279-2282. K. L. Baumann, D. E. Butler, C. F. Deering, K. E. Mennen, A. Millar, T. N. Nananga, C. W. Palmer, B. D. Roth, *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 2283-2284. B. D. Roth, *Prog. Med. Chem.* **2002**, *40*, 1-22.

³³² Algunas reacciones de Knoevenagel recientes, ver: J. S. Yadav, B. S. S. Reddy, A. K. Basak, B. Visali, A. V. Narsaiah, K. Nagaiah, *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 546-551. K. Ebitani, K. Motokura, K. Mori, T. Mizugaki, K. Kaneda, *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 5440-5447

³³³ Para una revisión sobre la reacción de Stetter ver: J. Read de Alaniz, T. Rovis, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 6284-6289.

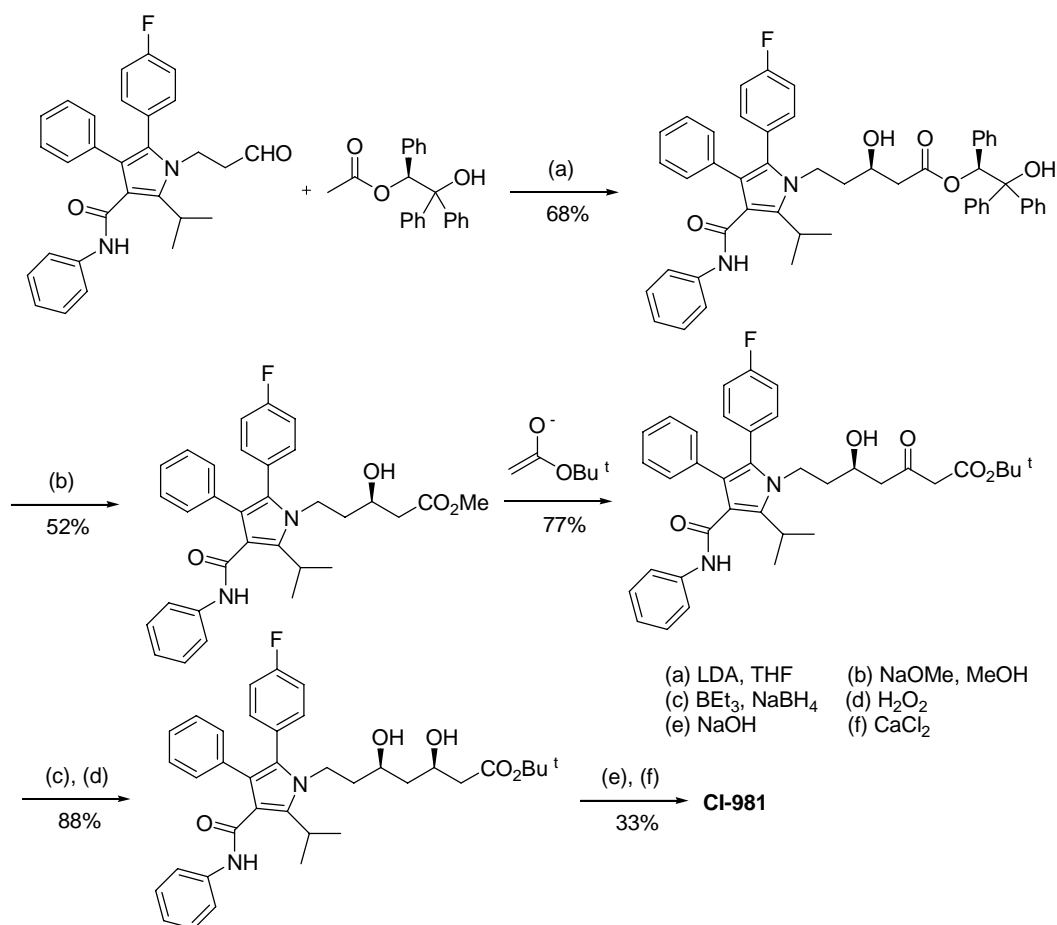
Esquema 4.1. Síntesis del compuesto 1,4-dicarbonilo **D**.

A continuación, el anillo pirrólico se creó a través de una reacción de Paal-Knorr entre el sustrato **D** anteriormente sintetizado y la correspondiente amina protegida³³⁴ (Esquema 4.2). Finalmente, la desprotección de los grupos hidroxilo y la hidrólisis del resto de éster *tert*-butílico, así como la conversión del ácido obtenido en la sal cálcica **CI-981** se llevaron a cabo mediante procedimientos convencionales.

Esquema 4.2. Síntesis de **CI-981**.

³³⁴ La síntesis de esta amina por B. D. Roth y col. está descrita en la ref. 329 y en EP 0330172, D. E. Butler, C. F. Deering, A. Millar, T. N. Nanninga, B. D. Roth, Warner-Lambert, Co. **1989**.

Esta misma estrategia sintética fue utilizada posteriormente por el grupo de P. W. K. Woo³³⁵ (Parke-Davis) y por el de B.-C. Chen³³⁶ (Bristol-Myers) para sintetizar atorvastatina marcada isotópicamente con ¹⁴C con objeto de estudiar el metabolismo del fármaco. Otra estrategia³³⁷ también desarrollada en Parke-Davis por H. T. Lee y P. W. K. Woo³³⁸ con objeto de introducir el marcador isotópico (¹⁴C) en otra posición de la molécula es la mostrada en el *Esquema 4.3*.



Esquema 4.3. Síntesis de **CI-981** diseñada por H. T. Lee y P. W. K. Woo.

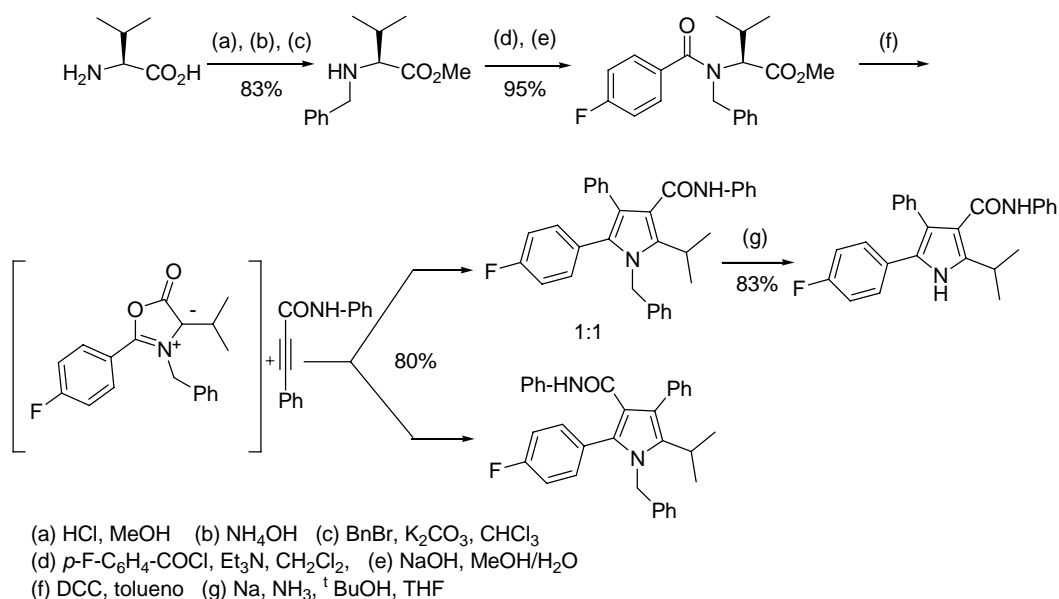
³³⁵ P. W. K. Woo, J. Hartman, Y. Huang, T. Nanninga, K. Bauman, D. E. Butler, J. R. Rubin, H. T. Lee, C. C. Huang, *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* **1999**, *42*, 121-127. P. W. K. Woo, J. Hartman, J. Hicks, R. Hayes, *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* **1999**, *42*, 135-145.

³³⁶ B.-C. Chen, J. E. Sundeen, P. Guo, M. S. Bednarz, J. J. Hangeland, S. Z. Ahmen, M. Jernal, *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* **2000**, *43*, 261-270.

³³⁷ El aldehído de partida había sido sintetizado anteriormente por los autores mediante un procedimiento similar al mostrado en el *Esquema 3.5*, ver ref. 326.

³³⁸ H. T. Lee, P. W. K. Woo, *J. Labelled Cpd. Radiopharm.* **1999**, *42*, 129-133.

Otra aproximación recientemente descrita en la bibliografía³³⁹ consiste en la cicloadición 1,3-dipolar de una munchona adecuada con *N*,3-difenilpropiolamida (Esquema 4.4) para originar el fragmento pirrólico *N*-protegido.



Esquema 4.4. Síntesis del pirrol por medio de la munchona.

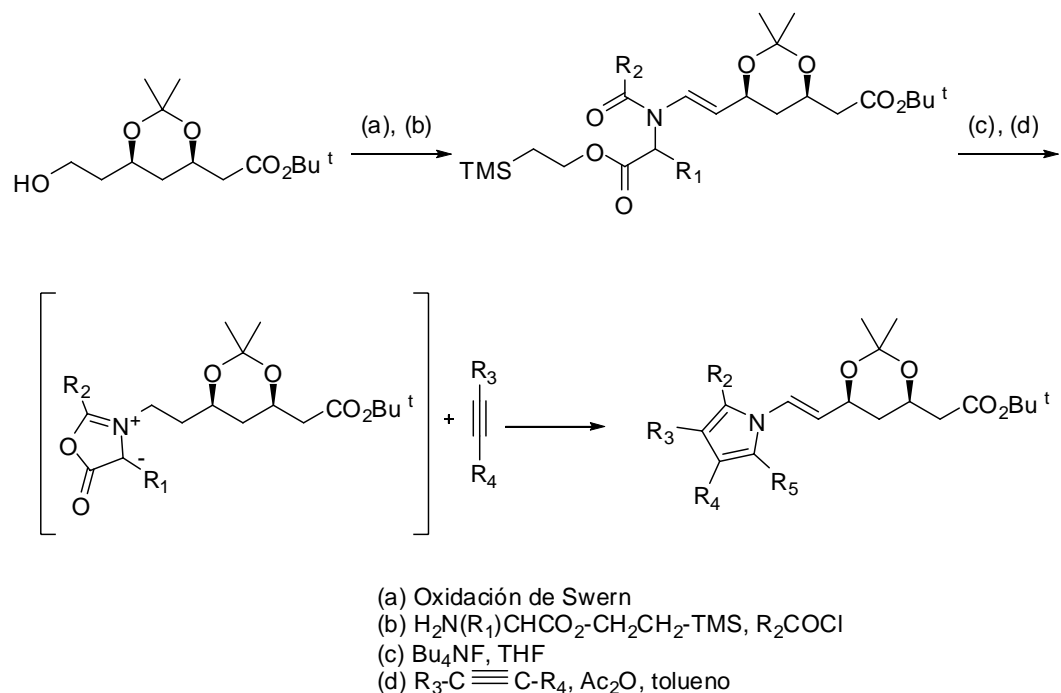
El principal inconveniente de esta ruta es la formación del regioisómero no apropiado para la síntesis de atorvastatina, por lo que la secuencia se encarece. Existe el problema adicional de tener que introducir la cadena lateral en un paso adicional, al no haber podido incorporarla en el paso (c). Se han descrito diversas rutas sintéticas^{340,341} encaminadas hacia la síntesis de la cadena característica de estos compuestos.

³³⁹ P. S. Pandey, T. S. Rao, *Bioorg. Med. Chem. Lett* **2004**, *14*, 129-131.

³⁴⁰ J. Liu, C.-C. Hsu, C.-H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2439-2441. S. Rádl, J. Stach, J. Hajicek, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 2087-2090.

³⁴¹ J. Castro, J. M. Coterón, S. García-Ochoa, F. Gómez de las Heras, A. Martín-Cuesta, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1851-1854.

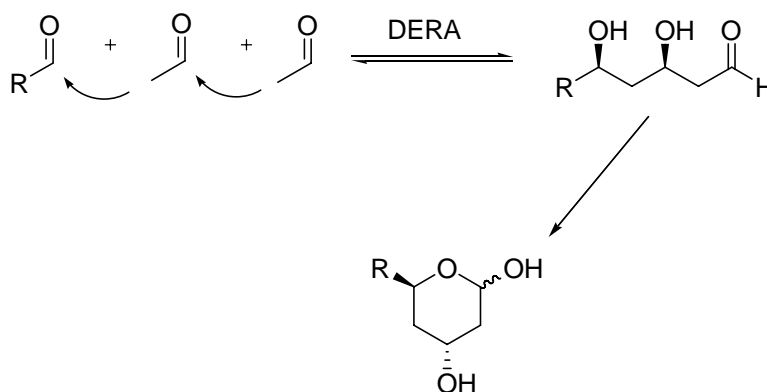
Esta misma estrategia basada en la reactividad de las munchonas ha sido utilizada (Esquema 4.5) por el grupo de S. García-Ochoa (GlaxoSmithKline) para sintetizar otros inhibidores de HMG-CoA reductasa de estructura parecida con actividad antifúngica.³⁴¹



Esquema 4.5. Síntesis del pirrol por medio de la munchona.

Otra estrategia consiste en combinar metodología sintética clásica con metodología enzimática, es decir, sintetizar intermedios avanzados por medio de enzimas tales como la DERA (2-desoxirribosa-5-fostato aldolasa), la PLE (esterasa de hígado de cerdo) o la α -quimotripsina (α -CHY), y realizar posteriormente transformaciones químicas con éstos. La estrategia enzimática se utiliza para sintetizar las cadenas laterales características de las distintas estatinas.

La estrategia utilizada con DERA consiste en una condensación aldólica secuencial que conduce como producto final a β -hidroxi- δ -lactoles diferentemente sustituidos (Esquema 4.6).³⁴²

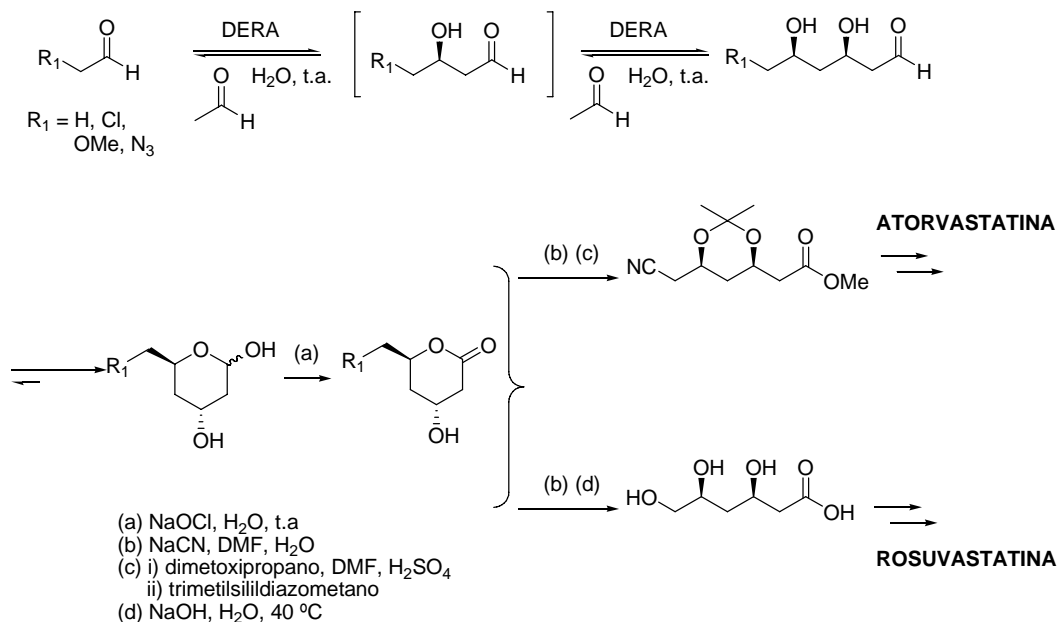


Esquema 4.6. Condensaciones aldólicas secuenciales catalizadas por DERA.

De este modo, de una manera rápida y sencilla se obtienen aldoles enantioméricamente puros, que son los precursores inmediatos de la cadena lateral de la mayoría de las estatinas (Esquema 4.7).³⁴³

³⁴² J. Liu, C.-C. Hsu, C.-H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2439-2441. Estos autores ya habían utilizado DERA para la síntesis de otros compuestos, ver: J. Liu, C.-C. Hsu, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8422-8423. J. Liu, C.-H. Wong, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2002**, *41*, 1404-1407. J. Liu, G. Desantis, C.-H. Wong, *Can. J. Chem.* **2002**, *80*, 643-645. H. J. Gijssen, C.-H. Wong, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 8422-8423.

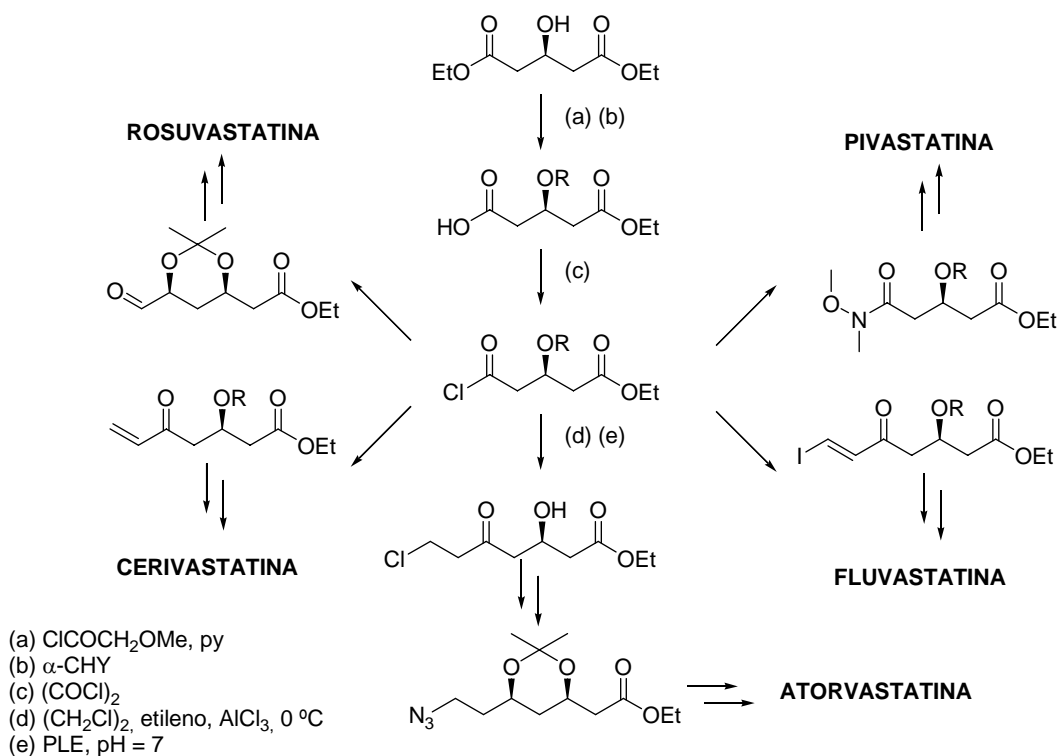
³⁴³ J. Liu, C.-C. Hsu, C.-H. Wong, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 2439-2441. W. A. Greenberg, A. Varvak, S. R. Hanson, K. Wong, H. Huang, P. Chem, M. J. Burk, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2004**, *101*, 5788-5793.



Esquema 4.7. Esquema de síntesis de la cadena lateral de las estatinas catalizadas por DERA.

También se ha utilizado la esterasa de hígado de cerdo (PLE) para hidrolizar selectivamente grupos protectores de un intermedio avanzado de la cadena lateral,³⁴⁴ que procede de una reacción de desimetrización, común para todas las cadenas laterales de las estatinas, llevada a cabo por la α -quimotripsina (α -CHY) (*Esquema 4.8*).

³⁴⁴ R. Öhrlein, G. Baisch, *Adv. Synth. Catal.* **2003**, *345*, 713-715.



Esquema 4.8. Esquema de síntesis de la cadena lateral de las estatinas catalizadas por $\alpha\text{-CHY}$ y PLE.

4.1.5.- MEDICAMENTOS GENÉRICOS.

Los medicamentos genéricos son fármacos con la misma eficacia terapéutica, seguridad y calidad que los respectivos medicamentos originales. Las principales características que debe poseer todo medicamento genérico son:

- Tener igual composición cualitativa y cuantitativa en el principio activo y la misma forma farmacéutica que el medicamento original.
- Ser igual de seguro y eficaz que el medicamento original.

- Deben de tener en su etiquetado la Denominación Oficial Española (DOE) o, en su defecto la Denominación Común Internacional (DCI), seguida del nombre o marca del titular o fabricante y las siglas “EFG”.
- Ser su precio menor al del medicamento original, viniendo éste estipulado por el organismo competente; en España se encarga de esta labor el Ministerio de Sanidad.

El auge en la venta de medicamentos genérico se debe a una promoción en el uso de estos productos (campañas televisivas, anuncios en la prensa, etc.) con objeto de incentivar su venta en las farmacias para así reducir el desmesurado gasto farmacéutico que repercute sobre el Gobierno. Para afrontar este nuevo reto, las empresas farmacéuticas cuentan con subdivisiones dentro de la compañía o convenios con empresas especializadas para la fabricación y/o comercialización de los medicamentos genéricos.

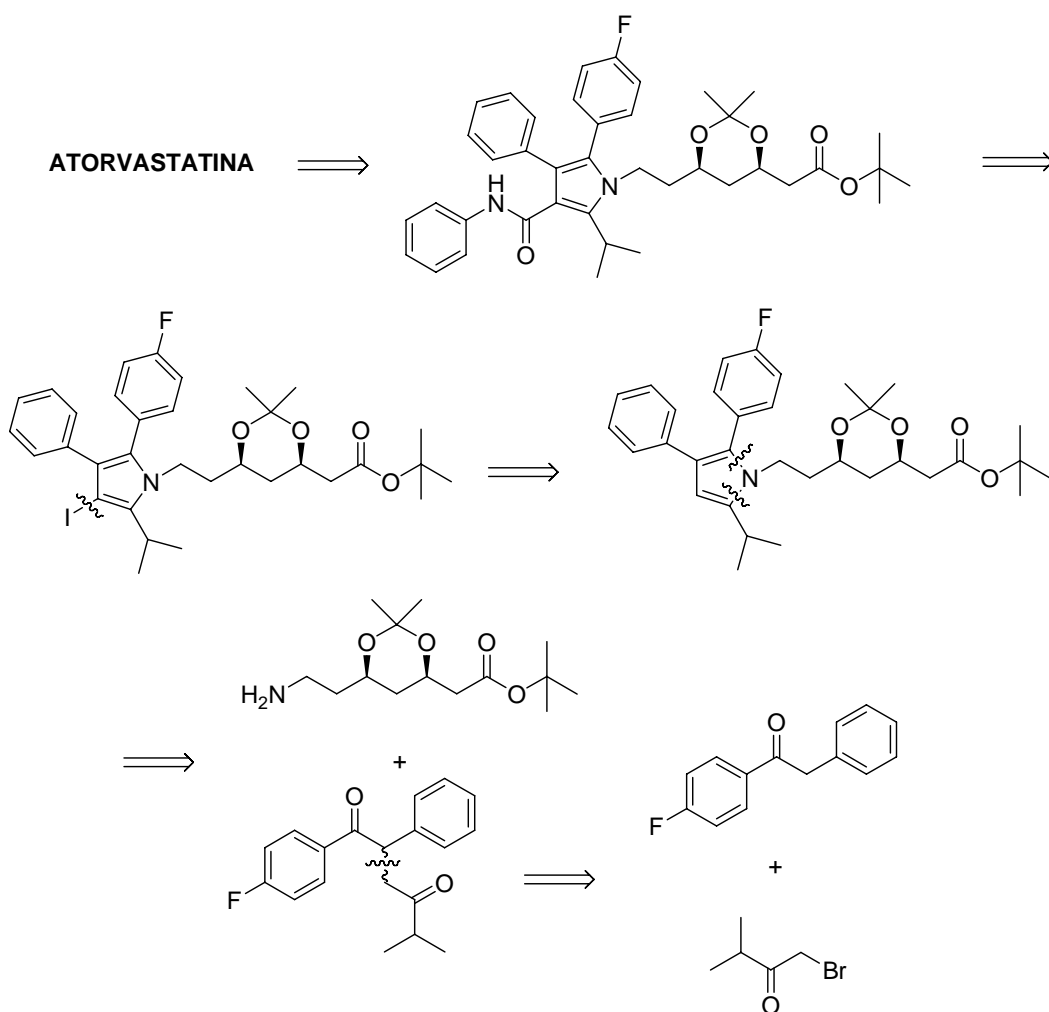
4.2.-EXPOSICIÓN DE RESULTADOS

4.2.1.- SÍNTESIS DE ATORVASTATINA

Todas las rutas industrializables para la síntesis total de productos con interés farmacéutico deben ser cortas (no más de 10 pasos de síntesis), eficientes (los rendimientos no deben de ser nunca inferiores al 50-60%), sencillas (no deben hacer falta grandes infraestructuras en la factoría, ni deben suponer reacciones en condiciones extremas), innovadoras (para que el mercado se interese por ellas y se puedan llevar a cabo a nivel industrial sin problemas legales por parte de los poseedores de las patentes en vigor), no contaminantes del medio ambiente (disolventes, reactivos y subproductos fácilmente reciclables) y, por supuesto, económicamente rentables (pudiendo ser éste, en algunos casos, el factor fundamental que decida a una compañía a iniciar los primeros pasos de la producción de un producto de interés farmacéutico).

La ruta sintética propuesta para preparar atorvastatina cumple varios de los puntos citados anteriormente; otros, no obstante, están pendientes de optimización dado que el trabajo aquí expuesto se encuentra en la primera fase del proceso de industrialización.

El esquema retrosintético (*Esquema 4.9*) planteado para la síntesis de atorvastatina consta de siete etapas: síntesis de la desoxibenzoína y de la α -bromocetona, acoplamiento de ambos compuestos, ciclación del compuesto 1,4-dicarbonílico resultante con una amina para obtener el pirrol, halogenación de éste en la única posición libre, aminocarbonilación del pirrol para introducir el grupo fenilcarbamoilo necesario en la molécula y, finalmente, dos etapas sencillas de desprotección de grupos funcionales y formación de la sal correspondiente.



Esquema 4.9. Esquema retrosintético diseñado para la obtención de la atorvastatina.

La etapa clave y principal innovación en la síntesis de atorvastatina que aquí planteamos, es la aminocarbonilación catalizada por paladio³⁴⁵ del anillo de pirrol. Este

³⁴⁵ Para revisiones sobre algunos aspectos de la reacción de carbonilación, ver: T. Morimoto, K. Kakiuchi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5580-5588. H. M. Colquhoun, D. J. Thompson, M. V. Twigg, *Carbonylation: Direct Synthesis of Carbonyl Compounds*, Plenum, New York, **1991**. M. Beller, B. Cornils, C. D. Frohning, C. W. Kohlpaintner, *J. Mol. Catal. A* **1995**, *104*, 17-85. C. D.

proceso ya se había aplicado anteriormente en la síntesis de otros productos de interés farmacológico a nivel de investigación básica como, por ejemplo, en la síntesis de coumestrol y coumestranos,³⁴⁶ en la síntesis de la (+)-8-epixantina,³⁴⁷ etc.; a nivel industrial este procedimiento se ha utilizado en la síntesis de amidas a partir de haluros,³⁴⁸ en la síntesis de ibuprofeno,³⁴⁹ en la preparación de aromas,³⁵⁰ en la síntesis de carbamatos a partir de aminas,³⁵¹ etc.

La ruta mencionada anteriormente para abordar la síntesis de atorvastatina podemos dividirla en tres partes:

- Una primera parte (*Esquema 4.10*) que comprende las etapas de formación de la desoxibenzoina (**117**) y de la α -bromocetona (**118**), así como su posterior reacción conjunta para obtener el compuesto 1,4-dicarbonílico (**119**).

Frohning, C. W. Kohlpaintner, H.-W. Bohnen en *Applied Homogeneous Catalysis with Organometallic Compounds*, Vol 1, Ed.: Wiley-VCH, Weinheim, **2002**, pp 31-194. M. Mori en *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis*, Vol 2, Ed.: Wiley-Interscience, New York, **2002**, pp 2313-2332. V. Farina, M. Erikson en *Handbook of Organopalladium Chemistry for Organic Synthesis*, Vol 2, Ed.: Wiley-Interscience, New York, **2002**, pp 2351-2376. Y. Uozumi, T. Arai, T. Watanabe, *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 5272-5274. T. Kihlberg, B. Långström, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 9201-9205. R. J. Perry, D. Wilson, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7482-7485. R. Skoda-Földes, E. Takács, J. Horváth, Z. Tuba, L. Kollár, *Green Chem.* **2003**, *5*, 643-645. A. Mori, I. Akahoshi, M. Hashimoto, T. Doi, T. Takahashi, *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 813-815. G. Battistuzzi, S. Cacchi, G. Fabrizi, F. Marinelli, L. M. Parisi, *Org. Lett.* **2002**, *4*, 1355-1358. A. Petz, G. Gálík, J. Horváth, Z. Tuba, Z. Berente, Z. Pintér, L. Collar, *Synthetic Commun.* **2001**, *31*, 335-341. W. Mägerlein, A. F. Indolese, M. Beller, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2856-2859.

³⁴⁶ T. Yao, D. Yue, R. C. Larock, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 9985-9989.

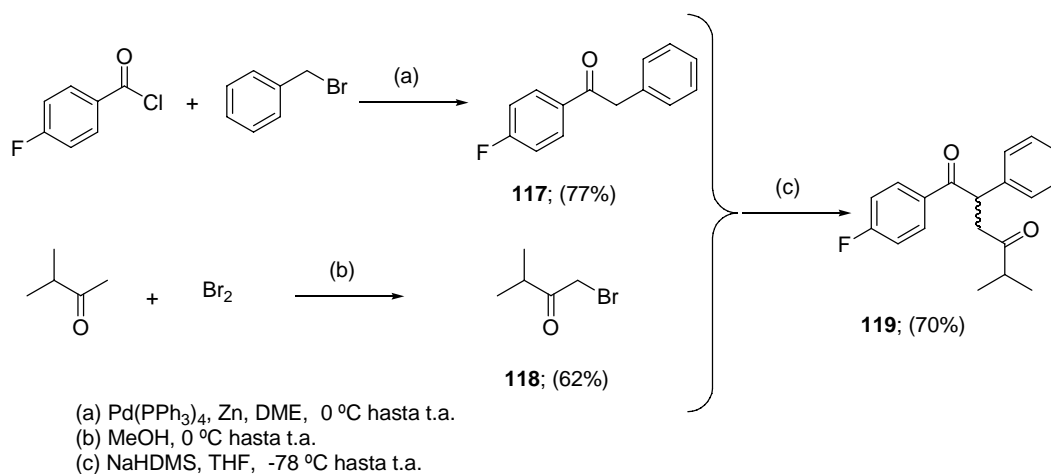
³⁴⁷ D. A. Kummer, J. B. Brennaman, S. F. Martin, *Org. Lett.* **2005**, *21*, 4621-4623.

³⁴⁸ M. Eiichiro, H. Teruyuki, T. Masako, JP 2000279935.

³⁴⁹ B. Stahly, L. R. Wen-Long, E. E. Atkinson, US 4990658, Ethyl Co. **1991**.

³⁵⁰ J. M. Cassel, S. M. Hoagland, J. M. Renga, US 5326888, Henkel Research Co. **1994**.

³⁵¹ K. A. Eickholt, US 4447640, The Dow Chemical Company, **1984**.



Esquema 4.10. Esquema de síntesis de **119**.

La síntesis de **117**³⁵² se llevó a cabo con buen rendimiento por medio del acoplamiento del cloruro de *p*-fluorobenzoilo con bromuro de bencilo catalizada por paladio(0) y zinc. Por otra parte, se bromó³⁵³ radicalariamente la 3-metil-2-butanona haciendo uso de Br₂ en presencia de MeOH para obtener de este modo **118** con rendimientos moderados. El siguiente paso de la ruta, la alquilación del enolato de **117** con **118** permite obtener **119**³⁵⁴ con buenos rendimientos.³⁵⁵

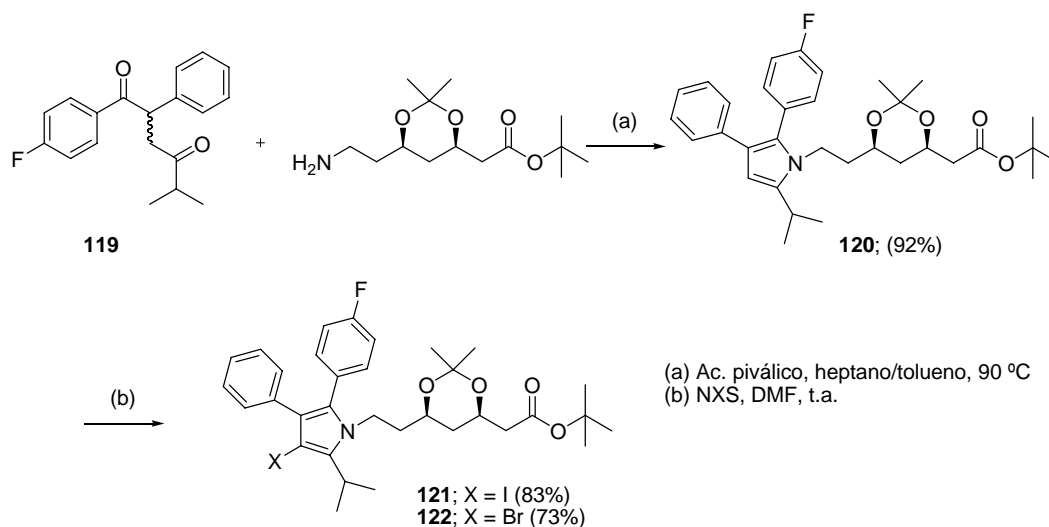
³⁵² T. Sato, K. Naruse, M. Enokiya, T. Fujisawa. *Chem. Lett.* **1981**, 1135-1138 H. Hasimoto, K. Maeda, J. Haruta, K. Wakitani, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *1*, 65-68 H. Hasimoto, K. Imarura, J. Haruta, K. Wakitani, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1511-1517.

³⁵³ J. P. Guetté, N. Spassky, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1972**, 4217-4224.

³⁵⁴ D. S. Mortensen, A. L. Rodríguez, K. E. Carlson, J. Sun, B. S. Katzenellenbogen, J. A. Katzenellenbogen, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3838-3848. B. D. Roth, C. J. Blankley, A. W. Chucholowski, E. Ferguson, M. L. Hoefle, D. F. Ortwine, R. S. Newton, D. R. Sliskovic, C. D. Stratton, M. W. Wilson, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 357-366.

³⁵⁵ Cabe reseñar que al procesar la reacción se aislaron en algunos casos cantidades considerables de **117** sin reaccionar (en varios casos la relación era 1:1 respecto al producto de reacción); el rendimiento no está corregido tomando en consideración el material de partida recuperado. La reacción con LDA en THF condujo a resultados análogos.

- La segunda parte de la ruta consta de dos etapas (*Esquema 4.11*), una primera que comprende la ciclación de Paal-Knorr³⁵⁶ de **119** con la amina necesaria ya muy elaborada, que conduce al pirrol **120**³⁵⁷ y, a continuación, una segunda en la que se halogena³⁵⁸ **120** para dar los halogenopirroles **121** o **122**.



Esquema 4.11. Esquema de síntesis de los halogenopirroles **121** y **122**.

La síntesis del pirrol **10** se llevó a cabo con buen rendimiento por medio de una reacción clásica de Paal-Knorr utilizando **119** como compuesto 1,4-dicarbonílico y 2-[(4*R*,6*R*)-6-(2-aminoetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il]acetato de *terc*-butilo como amina;

³⁵⁶ Para una revisión sobre la reacción de Paal-Knorr ver: L. Knorr, *Chem Ber.* **1884**, *17*, 1635-1642. C. Paal, *Chem. Ber.* **1885**, *18*, 367-371. V. Amarnath, D. C. Anthony, K. Amarnath, W. M. Valentine, L. A. Wetterau, D. G. Graham, *J. Org. Chem.* **1991**, *56*, 6924-6931. R. A. Jones en *Pyrrroles Part III* Ed.: Wiley, New York, **1992**. G. W. Gribble, A. R. Katritzky, C. W. Rees, E. F. Scriven en *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Vol 2, Ed.: Pergamon Press, Oxford, pp 207. A. R. Katritzky, D. L. Ostercamp, T. L. Yousaf, *Tetrahedron Lett.* **1987**, *43*, 5171-5186. Una aproximación a la síntesis de pirroles por medio de la reacción de Paal-Knorr en fase sólida ver: S. Raghavan, K. Anuradha, *Synlett*, **2003**, 711-713.

³⁵⁷ EP 0330172, D. E. Butler, C. F. Deering, A. Millar, T. N. Nanninga, B. D. Roth, Warner-Lambert, Co. **1989**.

³⁵⁸ P. A. Procopiou, C. D. Draper, J. L. Hutson, G. G. A. Inglis, B. C. Ross, N. S. Watson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3658-3662.

el proceso se llevó a cabo en presencia de ácido pivalico como catalizador y utilizando un sistema de separación azeotrópica continua del agua producida en la condensación mediante una mezcla heptano/tolueno. Seguidamente, a partir del pirrol **120**, por tratamiento con NIS y NBS en DMF, se prepararon los derivados bromado (**122**) y yodado (**121**), respectivamente, con buenos rendimientos.

Cabe reseñar que se pudieron obtener cristales de **121** adecuados para su estudio por difracción de rayos X³⁵⁹ (Figura 4.10). Los valores de los ángulos diedros entre el anillo de pirrol y el resto *p*-fluorofenilo en posición 2 (75.83°) o el resto fenilo en 3 (50.51°), hacen mínimas las interacciones estéricas desfavorables entre estos anillos, así como la de este último con el átomo de yodo en posición contigua.

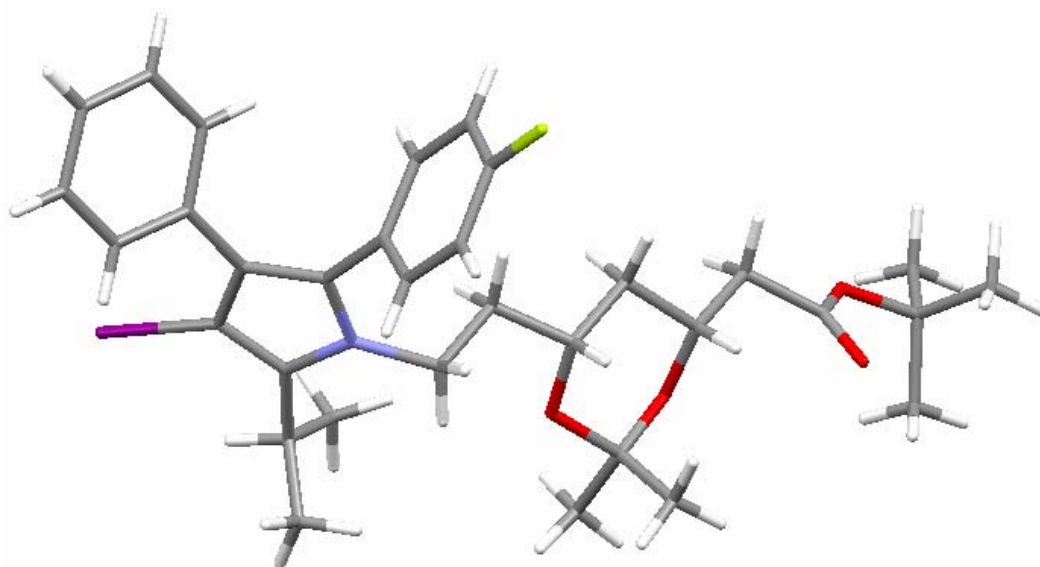
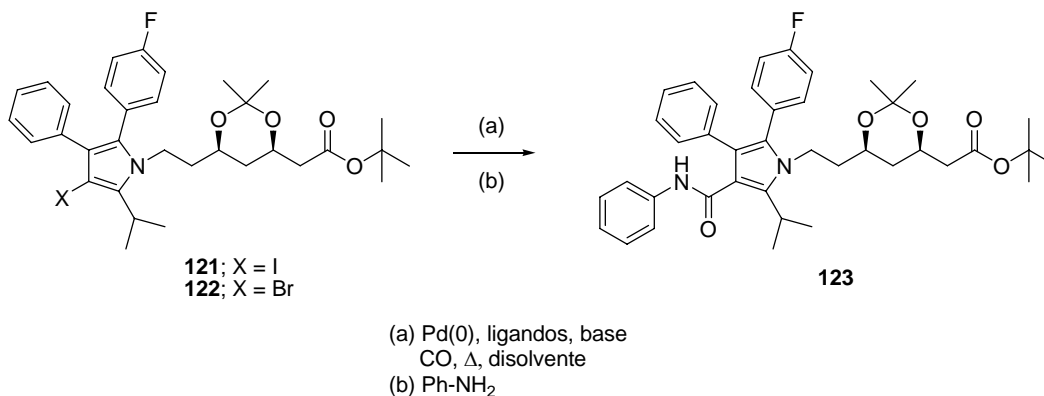


Figura 4.10. Estructura de rayos X del compuesto **121**.

- La tercera parte y reacción clave en la ruta planteada por ser la innovación respecto a los procedimientos conocidos (Esquema 4.12), consiste en una

³⁵⁹ Los datos de difracción de rayos X sobre el compuesto **121** se muestran en el anexo I.

aminocarbonilación catalizada por paladio(0) con objeto de introducir el grupo fenilcarbamoilo restante en la posición 4 del anillo de pirrol formado anteriormente.



Esquema 4.12. Aminocarbonilación catalizada por Pd(0).

Se propuso realizar la aminocarbonilación con el bromopirrol o el yodopirrol y anilina como reactivos, Pd₂(dba)₃ o Pd(PPh₃)₄ como catalizadores, dppf como ligando, DBU y Et₃N como bases y 1,4-dioxano, CH₃CN o DMF como disolventes. Tanto la temperatura como la presión de monóxido de carbono se mantuvieron constantes y a los valores máximos permitidos (50-60 °C, 5 atm) por las características técnicas del reactor utilizado.³⁶⁰

Se realizaron diversos ensayos combinando los reactivos, catalizadores, disolventes, etc. anteriormente comentados, así como variando las proporciones de éstos. A continuación en la *Tabla 4.3* se muestran detalladamente los ensayos realizados:

³⁶⁰ Los experimentos de aminocarbonilación se llevaron a cabo en el Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid del CSIC.

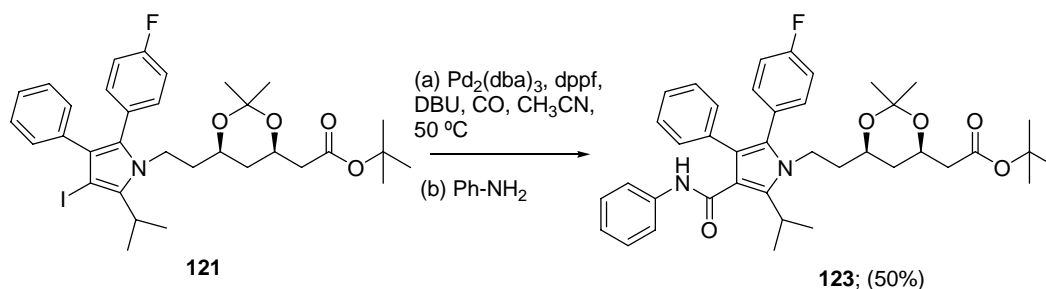
Tabla 4.3. Experimentos de aminocarbonilación.

Halógeno- pirrol ^a	Anilina eq.	Pd(0) eq.	Ligando eq.	Base eq.	Disolvente ^{b,c}	Tiempo	Rdto. ^d
122	3.0	Pd ₂ (dba) ₃ 0.03	dppf 0.06	DBU 3.0	1,4-dioxano	2 días	---
121	3.0	Pd ₂ (dba) ₃ 0.03	dppf 0.06	DBU 3.0	1,4-dioxano	2 días	31%
121	4.8	Pd ₂ (dba) ₃ 0.3	dppf 0.06	DBU 1.9	CH ₃ CN	2 días	9%
121	3.1	Pd ₂ (dba) ₃ 0.3	dppf 0.6	DBU 3.0	CH ₃ CN	5 días	50%
121	3.1	Pd ₂ (dba) ₃ 0.3	dppf 0.6	DBU 3.0	DMF	4 días	43%
121	3.1	Pd ₂ (dba) ₃ 0.06	dppf 0.12	DBU 3.0	CH ₃ CN	3 días	15%
121	3.1	Pd(PPh ₃) ₄ 0.3	---	DBU 3.0	CH ₃ CN	4 días	13%
121	3.1	Pd(PPh ₃) ₄ 0.1	---	DBU 3.0	CH ₃ CN	4 días	17%
121	3.1	Pd(PPh ₃) ₄ 0.3	dppf 0.06	DBU 3.0	1,4-dioxano	3 días	28%
121	3.1	Pd ₂ (dba) ₃ 0.3	dppf 0.6	Et ₃ N 3.0	1,4-dioxano	5 días	---

^aLa estequiometría está referida al halógenopirrol (1 eq.). ^bEl volumen de disolvente en la reacción oscilaba entre 40 y 45 mL. ^cTodos los disolventes son anhidros. ^dLos rendimientos no están corregidos tomando en consideración el producto de partida inalterado recuperado.

Se puede concluir que las mejores condiciones de reacción obtenidas son (*Esquema 4.13*): el uso del yodopirrol **121** (1eq.), 3.1 equivalentes de anilina, 10% de

$\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ y un 20% de dppf, 3.0 equivalentes de DBU y CH_3CN como disolvente a una presión de 5 atm de CO y a una temperatura de 50 °C durante 5 días.

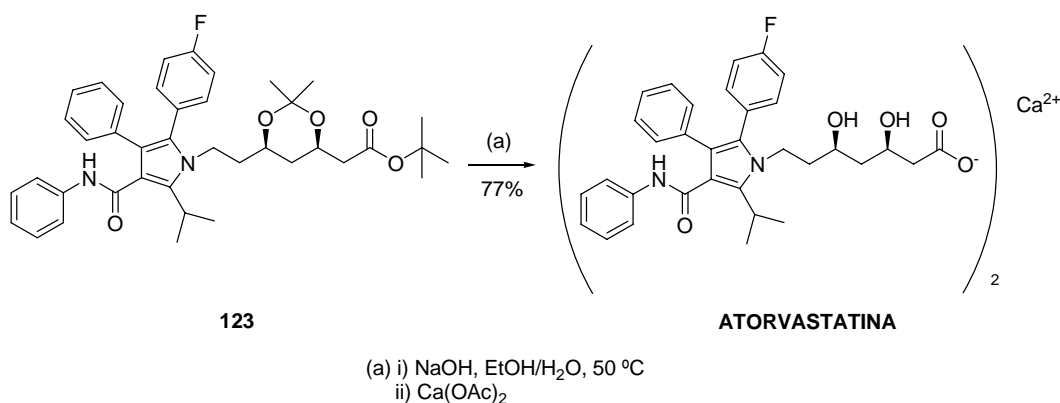


Esquema 4.13. Condiciones óptimas de aminocarbonylación.

Aunque sería necesaria más experimentación para mejorar los resultados obtenidos y para poder comprender mejor la influencia de cada variable en el proceso, de los datos que se muestran en la *Tabla 4.3* podemos resaltar una serie de puntos:

- Tan sólo se realizó un ensayo de aminocarbonylación con el bromopirrol **122** y éste no fue satisfactorio, por lo que no se realizaron más intentos.
- Del mismo modo, en el único ensayo utilizando Et_3N como base no se pudo detectar la formación del producto de reacción deseado, por lo que en las siguientes pruebas únicamente se utilizó DBU.
- La inclusión de un ligando adicional (dppf) no parece imprescindible para la efectividad de la reacción.
- En todos los casos, además de obtenerse el producto deseado, se recuperó yodopirrol de partida **121** inalterado junto con el análogo deshalogenado **120**.

• Por último y para finalizar la ruta (*Esquema 4.14*), se llevó a cabo la desprotección de los grupos hidroxilo y carboxilo, así como la posterior formación de la sal cálcica.



Esquema 4.14. Desprotecciones y síntesis de la sal cálcica.

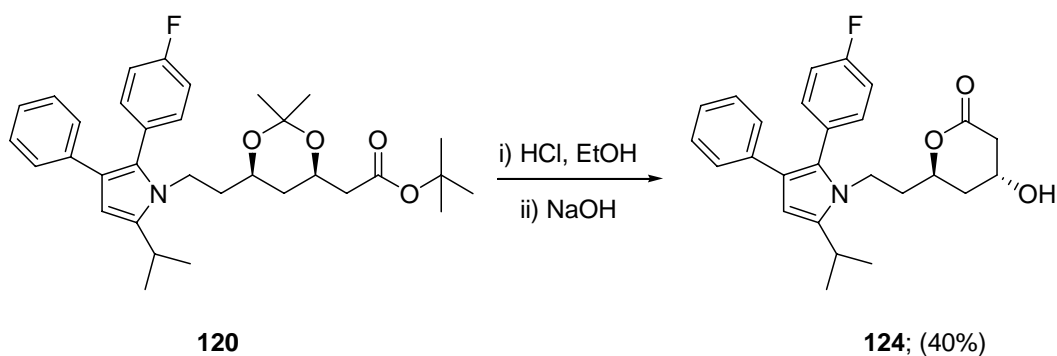
Finalmente, se llevó a cabo la hidrólisis de los grupos protectores de **123** por tratamiento con NaOH 1M en etanol/agua; este proceso condujo a la sal sódica de la atorvastatina, que fue transformada en el principio activo, la correspondiente sal cálcica, por intercambio catiónico con acetato cálcico.

4.2.2.- TRANSFORMACIONES QUÍMICAS SOBRE DERIVADOS INTERMEDIOS DE LA SECUENCIA SINTÉTICA

Se realizaron diversas transformaciones sobre productos intermedios de la secuencia anteriormente descrita, en algunos casos para poner a punto ciertas reacciones y, en otros, para explorar rutas sintéticas alternativas.

4.2.2.1.- Síntesis de la yodo lactona 125.

Una vez que se disponía del pirrol **120**, se llevó a cabo en un solo paso la eliminación de todos los grupos protectores (*Esquema 4.15*) seguida de lactonización. Así, el tratamiento de **120**, en primer lugar, con HCl 1M a 50° C en etanol y, posteriormente, con NaOH 2M, condujo como producto final a la lactona **124**³⁶¹ con un rendimiento moderado.

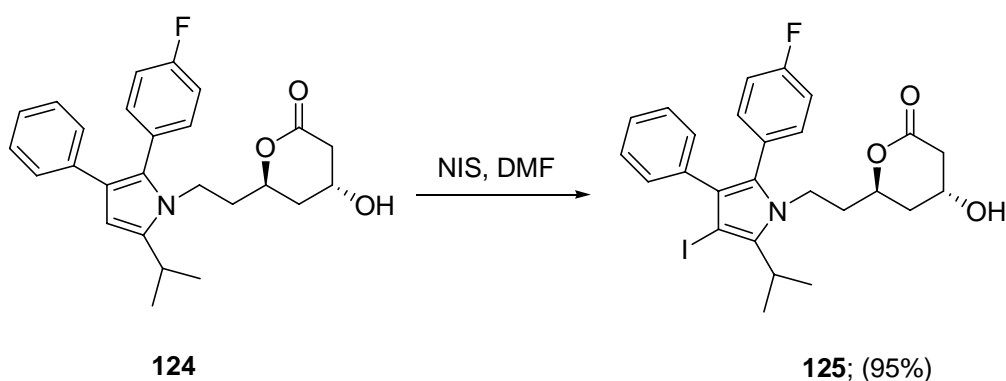


Esquema 4.15. Síntesis de la lactona **124**.

Yodación de la lactona 124.

La lactona **125** se obtuvo por yodación radicalaria³⁵⁸ del compuesto **124** (*Esquema 4.16*) con NIS en DMF a temperatura ambiente.

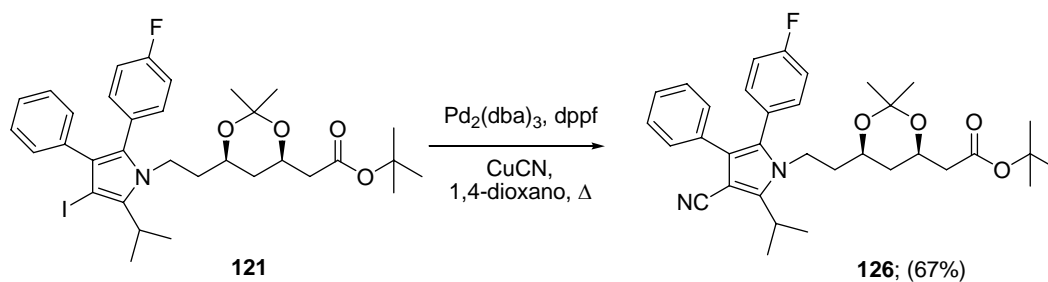
³⁶¹ B. D. Roth, C. J. Blankley, A. W. Chucholowski, E. Ferguson, M. L. Hoefle, D. F. Ortwine, R. S. Newton, D. R. Sliskovic, C. D. Stratton, M. W. Wilson, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 357-366. En esta publicación se menciona el compuesto **124**, descrito como un aceite, sin aportar sus datos espectroscópicos; en nuestro caso, se ha obtenido un sólido de p. f. 189-190 °C, cuya estructura ha sido confirmada mediante análisis y las técnicas espectroscópicas habituales.



Esquema 4.16. Yodación de la lactona **124**.

4.2.2.2.- Cianación catalizada por paladio(0). Síntesis de 126 y transformaciones sobre éste.

Para introducir el grupo ciano³⁶² se llevó a cabo una reacción catalizada por paladio(0) y dppf en presencia de CuCN y a reflujo de 1,4-dioxano. En estas condiciones,³⁶³ a partir de **121** se obtuvo el cianopirrol deseado con buenos rendimientos (*Esquema 4.17*).



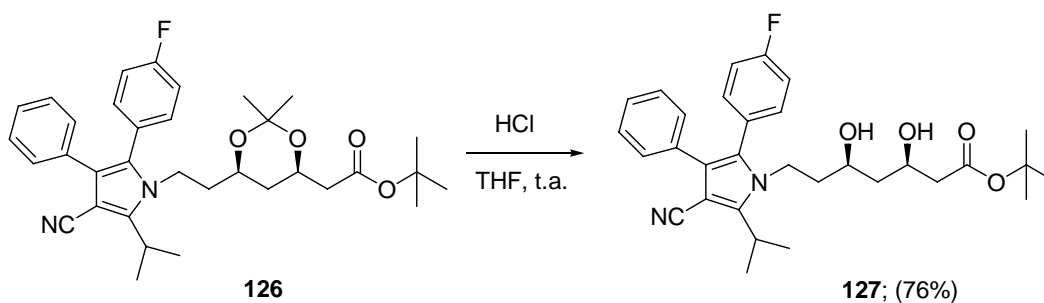
Esquema 4.17. Introducción del grupo ciano vía paladio(0).

³⁶² Para una revisión sobre la transformación de haluros de arilo y heteroarilo en ciano compuestos, ver: M. Sundermeier, A. Zapt, M. Beller, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *19*, 3513-3516. M. Hatanda, M. Seki, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 9908-9917. R. S. Jensen, A. S. Gajare, K. Toyota, M. Yoshifuji, F. Ozawa, *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 8645-8647.

³⁶³ T. Sakamoto, K. Ohsawa, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1999**, 2323-2326.

Transformaciones químicas sobre el cianopirrol 126.

Se llevó a cabo la desprotección (*Esquema 4.18*) de **126** por tratamiento con HCl 1M en THF a temperatura ambiente, obteniéndose de este modo el diol **127** con buen rendimiento.

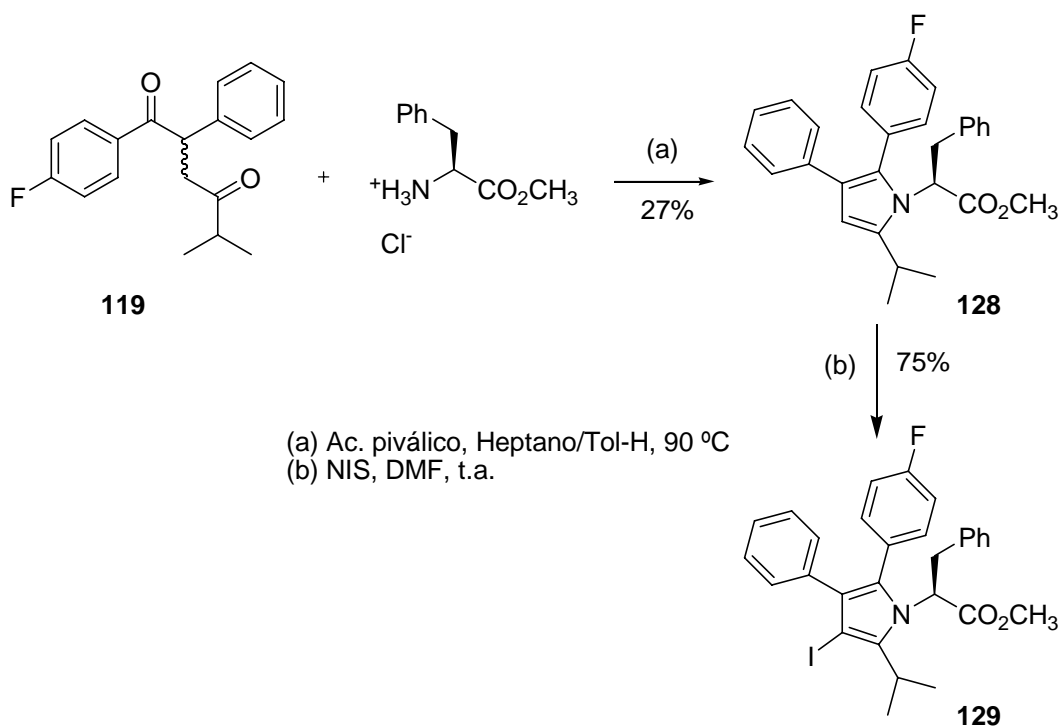


Esquema 4.18. Desprotección del diol **126**.

4.2.2.3.- Síntesis de futuros inhibidores de calpaína.

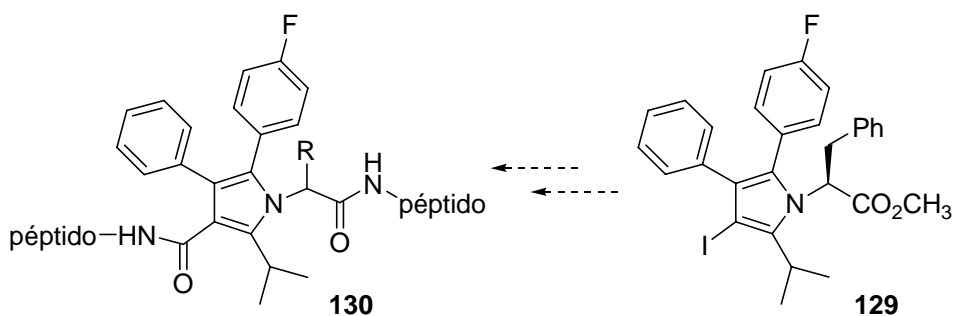
En este apartado se ha tratado de aplicar la metodología desarrollada para la preparación de la atorvastatina cálcica a la síntesis de nuevas entidades químicas con una posible capacidad de inhibición de calpaínas, uniendo de este modo los temas tratados en los capítulos anteriores de esta *Tesis Doctoral*.

De este modo, partiendo del ya mencionado intermedio **119**, se llevó a cabo la ciclación de Paal-Knorr³⁵⁶ en las condiciones anteriormente descritas utilizando como amina nucleófila el éster metílico de la L-fenilalanina (*Esquema 4.19*), obteniéndose así el pirrol **128** con rendimiento moderado. Seguidamente, tal como se ha descrito anteriormente (ver *Esquema 4.11*), se halogenó **128** en la posición 4 del anillo de pirrol por tratamiento con NIS en DMF anhidra³⁵⁸ obteniéndose con buen rendimiento el compuesto **129**.



Esquema 4.19. Esquema de síntesis de **129**.

Estos resultados abren una nueva ruta de síntesis de futuros inhibidores de calpaína, utilizando la unidad estructural de pirrol sustituido como molde sobre el cual unir diversas cadenas peptídicas (*Esquema 4.20*).



Esquema 4.20. Esquema de síntesis de futuros inhibidores de calpaína.

4.3.-PARTE EXPERIMENTAL

Todas las reacciones con reactivos sensibles se realizaron en atmósfera inerte (argón). Todos los disolventes utilizados para dichas reacciones se secaron siguiendo la metodología habitual.³⁶⁴ La mayoría de los reactivos utilizados se adquirieron en Aldrich o Fluka y se usaron sin purificar. Cuando se necesitó purificar algún reactivo se utilizaron los procedimientos descritos.³⁶⁴

4.3.1.-TÉCNICAS GENERALES UTILIZADAS

Cromatografía

Las cromatografías en capa fina (CCF) se realizaron utilizando placas de gel de sílice (Merck, 60 F₂₅₄) de 0.2 mm de espesor. Las manchas se visualizaron con luz UV (365 nm y 254 nm) o utilizando reveladores químicos como ácido fosfomolibdico, permanganato potásico, yodo y ninhidrina.

Las cromatografías en columna se realizaron, salvo que se indique de otro modo, con gel de sílice (Merck, 230-400 mesh ASTM), utilizando la técnica de columna seca con elución a presión (Flash-chromatography).³⁶⁵ El eluyente empleado se encuentra indicado en cada caso.

Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C fueron realizados en los siguientes equipos: Varian-UNITY-500, Varian-INOVA-400, Varian-INOVA-300, Varian-GEMINI-200. Los desplazamientos químicos se describen en partes por millón (δ) y las constantes de acoplamiento (J) se indican en hertzios (Hz). Los espectros de RMN-¹H están referenciados con respecto a la señal residual de protón del disolvente deuterado utilizado en cada caso. La asignación de los distintos protones se hizo en base a

³⁶⁴ D. D. Perrin, W. L. F. Armarego, D. R. Perrin, *Purification of Laboratory Chemicals*; Pergamon Press, Oxford **1980**.

³⁶⁵ W. C. Still, M. Khan, A. Mitra, *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 2923-2925.

experimentos de doble resonancia, así como experimentos bidimensionales tipo COSY, TOCSY, NOESY, ROESY, HMQC y HMBC utilizando la secuencia de pulsos estándar para cada uno de ellos. Cuando fue posible, los protones diastereotópicos fueron designados con los subíndices α y β . Los sistemas de spins complejos (2° orden; $\Delta\nu/J < 10$) fueron analizados como tales y las constantes de acoplamiento entre los distintos protones del sistema se calcularon cuando fue posible. El subíndice α indica el protón correspondiente al centro quiral del amino ácido, el subíndice β indica los protones en el carbono vecino al centro quiral del amino ácido. Los espectros de RMN- ^{13}C , desacoplados de protón en todos los casos, están referenciados respecto al desplazamiento químico de los correspondientes disolventes deuterados. La asignación de los distintos carbonos se hizo, en algunos casos, basándose en experimentos bidimensionales tipo HMQC y HMBC. Si no se indica de otro modo, todos los espectros se registraron a temperatura ambiente.

Espectroscopia Infrarroja

Los espectros de infrarrojo (**IR**) se registraron en un espectrómetro Perkin-Elmer 657 y Perkin Elmer-Spectrum One FT-IR. Las frecuencias del espectro se indican en cm^{-1} . Los espectros se trataron con el programa OMNIC E.S.P. y “Spectrum for Windows” de Perkin-Elmer.

Espectrometría de Masas

Los espectros de masas [**EM** (ES^+)], salvo que se indique de otro modo, se registraron por inyección directa de la muestra en un espectrómetro de masas por medio de la técnica de electrospray en modo positivo, registrándose los espectros con un espectrómetro Hewlett Packard 100 MSD. Los espectros se describen en unidades de relación masa/carga (m/z).

Análisis elemental

Los análisis elementales (**AE**) fueron realizados en un equipo Carlo Erba EA 1180 (Centro de Química Orgánica Manuel Lora-Tamayo, CSIC).

Puntos de fusión

Los puntos de fusión se midieron en un aparato de platina calentable tipo Kofler y en capilares con un aparato Gallenkamp.

Rotación óptica específica ($[\alpha]_D$)

La rotación óptica observada (α) se midió en un polarímetro Perkin-Elmer 241 MC ($l = 1$ dm) a temperatura ambiente, con las concentraciones ($c = \text{g}/100 \text{ mL}$) y los disolventes indicados en cada caso, calculándose la rotación óptica específica por medio de la siguiente fórmula:

$$[\alpha]_D = \alpha \times 100/l \times c$$

Rayos X

La difracción de Rayos X se realizó en un aparato Siemens Smart CCD en el Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid del CSIC (Mercedes Alonso y el Dr. Enrique Gutiérrez Puebla).

4.3.2.- SÍNTESIS DE ATORVASTATINA CÁLCICA

Síntesis de 2-fenil-1-(4-fluorofenil)etanona (117).³⁵²

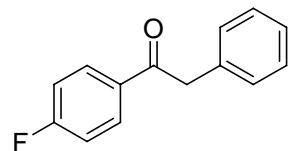
A una suspensión de Pd(PPh₃)₄ (14.4 g, 12.4 mmol) y Zn en polvo (32.6 g, 495.6 mmol) en 400 mL de dimetoxietano (DME) anhidro a 0 °C y bajo atmósfera de argón se añadió una disolución de cloruro de 4-fluorobenzóilo (33.2 mL, 300.0 mmol) en DME (400 mL). La mezcla se agitó en estas condiciones 10 minutos. Seguidamente se añadió lentamente una disolución de bromuro de bencilo (30.0 mL, 250.0 mmol) en DME (400 mL). A continuación la mezcla se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó bajo atmósfera de argón durante dos días. A continuación se separó por filtración el material insoluble y se eliminó el disolvente a presión reducida. El residuo resultante se disolvió en AcOEt (300 mL) y se lavó secuencialmente con HCl 5% (3 × 100 mL), H₂O (3 × 100 mL) y con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 × 100 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:0 a 13.3:1) para dar el compuesto **117** como sólido blanco con un rendimiento del 77% (41.2 g).

P.f.: 82-83 °C (lit.³⁶⁶ 86 °C).

IR (KBr) ν : 1688, 1599, 1239, 828, 729.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 8.04 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 7.37-7.10 (*m*, 7 H, H-C(Ar)); 4.27 (*s*, 2 H, H-C(2)).

RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 196.0 (CO); 168.3, 163.2, 134.3, 132.9, 131.4, 131.2, 129.4, 128.7, 126.9, 115.9, 115.5 (12 C, C(Ar)), 45.5 (C(2)).



EM (ES⁺): 215 ([M + H]⁺), 237 ([M + Na]⁺).

³⁵² T. Sato, K. Naruse, M. Enokiya, T. Fujisawa, *Chem. Lett.* **1981**, 1135-1138. H. Hasimoto, K. Maeda, J. Haruta, K. Wakitani, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *1*, 65-68. H. Hasimoto, K. Imarura, J. Haruta, K. Wakitani, *J. Med. Chem.* **2002**, *45*, 1511-1517.

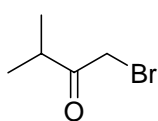
³⁶⁶ H. Meier, G. Trickes, E. Laping, U. Merkle, *Chem. Ber.* **1980**, *113*, 183-192.

AE Calculado para C₁₄H₁₁FO: C 78.49, H 5.18.

ENCONTRADO: C 78.45, H 5.04.

Síntesis de 1-bromo-3-metil-2-butanona (118).³⁵³

Se disolvió 3-metil-2-butanona (66.5 mL, 665.0 mmol) en MeOH anhidro (665 mL) a 0 °C y a continuación se añadió Br₂ (34.0 mL, 665.0 mmol). La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 horas y posteriormente 45 minutos a temperatura ambiente. A continuación la mezcla se vertió sobre 1800 mL de agua y se extrajo con Et₂O (5 × 200 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por destilación a vacío (10 mm Hg) obteniendo un aceite ligeramente amarillento lacrimógeno con un rendimiento del 62% (67.9 g).



P. e.: 50-55 °C (10 mm Hg).

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3.95 (*s*, 2 H, H-C(1)); 2.95 (*sept*, *J* = 6.8, 1 H, H-C(3)); 1.08 (*d*, *J* = 6.8, 6 H, 3-Me, H-C(4)).

Síntesis de (±)-2-fenil-1-(4-fluorofenil)-5-metilhexan-1,4-diona (119).³⁵⁴

Se disolvió 2-fenil-1-(4-fluorofenil)etanona (40.0 g, 186.9 mmol) en THF anhidro (490 mL) bajo atmósfera de argón y a continuación, se enfrió a -78 °C y se añadió lentamente NaHMDS (0.6 M en tolueno, 343.7 mL, 205.5 mmol). La mezcla se agitó bajo atmósfera de argón a -78 °C durante 4 horas. A continuación se añadió vía cánula una disolución de 1-bromo-3-metil-2-butanona (67.9 g, 411.5 mmol) en THF anhidro (490 mL). La mezcla se agitó a -78 °C bajo atmósfera de argón durante 15 minutos y posteriormente se dejó que alcanzase temperatura ambiente durante toda la noche. Se eliminó el THF, el residuo se disolvió en AcOEt (300 mL) y se lavó con H₂O (3 × 100 mL) y con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como

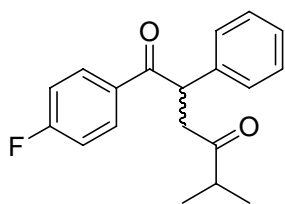
³⁵³ J. P. Guetté, N. Spassky, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1972**, 4217-4224

³⁵⁴ D. S. Mortensen, A. L. Rodríguez, K. E. Carlson, J. Sun, B. S. Katzenellenbogen, J. A. Katzenellenbogen, *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 3838.

mezcla de eluyentes hexano/CHCl₃ (100:1 a 20:1) y luego CHCl₃ puro, obteniéndose el producto deseado como un aceite incoloro con un rendimiento del 70% (38.8 g).

IR (KBr) v: 2971, 2927, 1710, 1682, 1236, 1156, 843, 701.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.97 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 7.27-7.19 (*m*, 5 H, H-C(Ar)); 7.01 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 5.04 (*dd*, *J* = 10.3, 3.8, 1 H, H-C(2)); 3.64-3.57 (*dd*, *J* = -17.9, 10.1, 1 H, H_a-C(3)); 2.75 (*dd*, *J* = -17.9, 3.8, 1 H, H_b-C(3)); 2.62 (*sept*, *J* = 6.9, 1 H, H-C(5)); 1.11 (*d*, *J* = 6.9, 3 H, Me-C(5)); 1.05 (*d*, *J* = 6.9, 3 H, H-C(6)).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 212.6 (CO-C(4)); 197.3 (CO-C(1)); 167.0, 163.6, 138.4, 131.4, 131.3, 129.1, 127.9, 127.2, 115.5, 115.3 (12 C, C(Ar)); 48.4 (C(2)); 45.1 (C(3)); 40.6 (C(5)); 18.0, 17.9 (Me-C(5), C(6)).

EM (ES⁺): 299 ([*M* + H]⁺), 321 ([*M* + Na]⁺).

Síntesis de 2-{6-(4*R*,6*R*)[2-(3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il}acetato de *terc*-butilo' (120**).³⁵⁷**

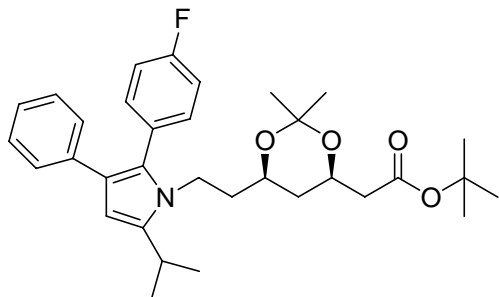
Una suspensión de (±)-2-fenil-1-(4-fluorofenil)-5-metilhexan-1,4-diona (38.0 g, 127.5 mmol), 2-[(4*R*,6*R*)-6-(2-aminoetil)-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il]acetato de *terc*-butilo (45.3 g, 165.8 mmol) y ácido pivalico (9.0 g, 88.1 mmol) en una mezcla de heptano/tolueno 9/1 se conectó a un separador azeotrópico de agua. La mezcla se calentó a reflujo bajo atmósfera de argón con agitación vigorosa durante 2 días. Posteriormente se eliminó el disolvente a vacío y el residuo resultante se disolvió en AcOEt (300 mL) y se lavó con H₂O (3 × 100 mL), con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (9:1), obteniéndose **120** como un sólido blanco con un rendimiento del 92% (63.0 g).

[α]_D = + 2.9 (c = 0.65, CHCl₃).

³⁵⁷ EP 0330172, D. E. Butler, C. F. Deering, A. Millar, T. N. Nanninga, B. D. Roth, Warner-Lambert Co., **1989**.

IR (KBr) ν : 2980, 1727, 1601, 1508, 1227, 1157, 844.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.30-7.24 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 7.16 (*m*, 7 H, H-C(Ar)); 6.18 (*s*, 1 H, H-C(4')); 4.12 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.96 (*m*, 1 H, H_a-C(7)); 3.81 (*m*, 1 H, H_b-C(7)); 3.61 (*m*, 1 H, H-C(5)); 3.00 (*sept*, *J* = 6.8, 1 H, CH-Me₂); 2.36 (*dd*, *J* = -15.1, 7.1, 1 H, H_a-C(2)); 2.21 (*dd*, *J* = -15.1, 6.1, 1 H, H_b-C(2)); 1.51 (*m*, 2 H, H-C(4)); 1.43 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃); 1.33 (*m*, 12 H, C(CH₃)₂, CH-Me₂); 0.88 (*m*, 2 H, H-C(6)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 170.1 (CO); 164.6, 159.7, 140.4, 136.4, 132.9, 132.8, 129.8, 129.7, 127.9, 127.7, 127.5, 124.7, 122.4, 115.8, 115.3 (C(Ar)); 103.4 (C(4')); 98.6 (C(C-Me₂)); 80.5 (C(C-Me₃)); 66.0 (C(5)); 65.8 (C(3)); 42.4 (C(2)); 39.6 (C(7)); 37.8 (C(4)); 35.9 (C(6)); 29.9 (C(C-Me₂)); 28.0 (C(C-Me₃)); 25.5 (C(CH-Me₂)); 23.7, 23.2 (C(CH-Me₂)); 19.6 (C(C-Me₂)).

EM (ES⁺): 536 ([*M* + H]⁺), 558 ([*M* + Na]⁺).

Halogenación del pirrol **120** por reacción con *N*-halosuccinimidas (NBS, NIS).³⁵⁸

Se disolvió **120** (53.5 g, 100 mmol) en 850 mL de DMF anhidra bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente y, a continuación, se añadió la *N*-halosuccinimida correspondiente, NBS (21.4 g, 120 mmol) o NIS (27.0 g, 120 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Seguidamente se eliminó a vacío el disolvente, el residuo se disolvió en AcOEt (300 mL), se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 × 100 mL) y con salmuera, y la fase orgánica se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna utilizando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:0 a 13.3:1) para dar el correspondiente 4-halopirrol.

³⁵⁸ P. A. Procopiou, C. D. Draper, J. L. Hutson, G. G. A. Inglis, B. C. Ross, N. S. Watson, *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 3658-3662.

2-{6-(4*R*,6*R*)[2-(3-Fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropil-4-yodopirrol-1-il)etil]-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il}acetato de *terc*-butilo (121).

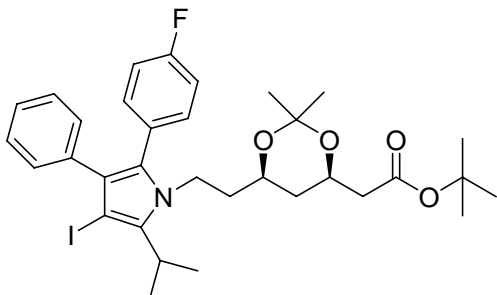
Se obtuvo con un rendimiento del 83% (54.9 g) siguiendo el procedimiento general. Sólido blanco.

P. f.: 107-111 °C.

[α]_D = + 6.0 (c = 1.0, CHCl₃).

IR (KBr) v: 2975, 2934, 1731, 1510, 1369, 1227, 1185, 950, 849.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.21-7.06 (*m*, 7 H, H-C(Ar)); 6.96 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 4.13 (*m*, 1 H, H-C(5)); 4.06 (*m*, 1 H, H_a-C(7)); 3.80 (*m*, 1 H, H_b-C(7)); 3.63 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.30 (*sept*, *J* = 7.3, 1 H, CH-Me₂); 2.34 (*dd*, *J* = -15.1, 6.8, 1 H, H_a-C(2)); 2.20 (*dd*, *J* = -15.1, 6.8, 1 H, H_b-C(2)); 1.62 (*m*, 2 H, H-C(4)); 1.48 (*d*, *J* = 7.1, 6 H, CH-Me₂); 1.41 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃); 1.32 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 1.27 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 1.02 (*m*, 2 H, H-C(6)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 170.1 (CO); 164.5, 159.6, 137.0, 135.9, 132.9, 132.8, 130.9, 129.7, 128.7, 128.6, 127.4, 126.5, 125.9, 115.4, 114.9 (16 C, C(Ar)); 98.6 (C(C-Me₂)); 80.6 (C(C-Me₃)); 66.3 (C(5)); 65.8 (C(3)); 42.4 (C(4)); 41.2 (C(7)); 38.2 (C(6)); 35.9 (C(2)); 29.9 (C(C-Me₂)); 28.0 (C(C-Me₃)); 27.2 (C(C-Me₂)); 21.4 (C(CH-Me₂)); 19.6 (C(C-Me₂)).

EM (ES⁺): 662 ([*M* + H]⁺), 684 ([*M* + Na]⁺).

AE Calculado para C₃₃H₄₁FINO₄: C 59.91, H 6.25, N 2.12.

Encontrado: C 59.58, H 6.45, N 2.30.

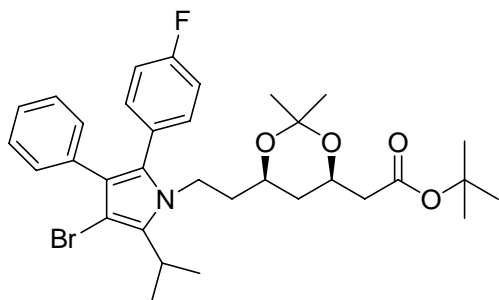
2-{6-(4*R*,6*R*)[2-(4-Bromo-3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il}acetato de *terc*-butilo (122).

Se obtuvo con un rendimiento del 72% (44.3 g) siguiendo el procedimiento general. Aceite amarillento.

$[\alpha]_D = +10.2$ ($c = 0.6$, CHCl_3).

IR (KBr) ν : 2961, 2927, 2869, 1731, 1603, 1514, 1156, 845, 699.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.19-7.08 (*m*, 7 H, H-C(Ar)); 6.95 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 4.14 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.98 (*m*, 1 H, H_a-C(7)); 3.78 (*m*, 1 H, H_b-C(7)); 3.65 (*m*, 1 H, H-C(5)); 3.21 (*sept*, $J = 7.1$, 1 H, CH-Me₂); 2.35 (*dd*, $J = -15.4, 6.8$, 1 H, H_a-C(2)); 2.20 (*dd*, $J = -15.4, 6.8$, 1 H, H_b-C(2)); 1.61 (*m*, 2 H, H-C(4)); 1.46 (*d*, $J = 7.1$, 6 H, CH-Me₂); 1.41 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃); 1.32 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 1.27 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 0.84 (*m*, 2 H, H-C(6)).



RMN-¹³C (50 MHz, CDCl_3) δ : 170.2 (CO); 164.5, 159.6, 134.3, 134.3, 133.0, 132.9, 130.5, 128.6, 127.8, 127.7, 127.5, 125.8, 122.9, 115.5, 115.0, 94.3 (16 C, C(Ar)); 98.6 (C(C-Me₂)); 80.6 (C(C-Me₃)); 66.3 (C(3)); 65.8 (C(5)); 42.4 (C(2)); 40.8 (C(7)); 38.3 (C(4)); 35.9 (C(6)); 29.9 (C(C-Me₂)); 28.0 (C(C-Me₃)); 26.2 (C(C-Me₂)); 21.1 (C(CH-Me₂)); 19.6 (C(C-Me₂)).

EM (ES^+): 614 ($[M + \text{H}]^+$), 638 ($[M + \text{Na}]^+$).

Aminocarbonilación del yodopirrol 121:^{iError! Marcador no definido.} **síntesis de 2-{6-(4*R*,6*R*)[2-(3-fenil-4-fenilcarbamoil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il}acetato de *terc*-butilo (123).**

Se disolvió **121** (200 mg, 0.30 mmol) en 40 mL de CH_3CN anhidro, seguidamente se añadió $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (8.30 mg, 0.009 mmol), dppf (10.0 mg, 0.018 mmol), anilina (86.0 μL , 0.90 mmol) y DBU (0.14 mL, 0.90 mmol). La mezcla se introdujo en un autoclave a 50 °C y 5 atm de CO durante 5 días. A continuación se concentró el

disolvente a mitad de su volumen y el material insoluble se eliminó por filtración sobre celita que se lavó posteriormente con AcOEt (30 mL); el filtrado se lavó con HCl aq. 5% (3 × 25 mL) y con salmuera, y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (19:1 a 9:1) para dar el 4-fenilcarbamoilpirrol como un aceite ligeramente amarillo que solidifica con el tiempo (89 mg, 45%).

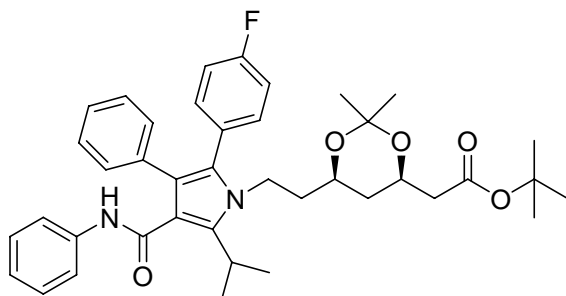
P.f.: 72-75 °C.

[α]_D = + 4.5 (c = 0.47, CHCl₃).

IR (KBr) v: 3394, 2980, 1725, 1660, 1509, 1434, 1314, 1156, 844, 755, 699.

RMN-¹H (300 M Hz, CDCl₃) δ: 7.20-6.94 (*m*, 14 H, H-C(Ar)); 6.84 (*s ancho*, 1 H, NH); 4.11 (*m*, 2 H, 3-H, H_a-C(7)); 3.83 (*m*, 1 H, H_b-C(7)); 3.67 (*m*, 1 H, H-C(5)); 3.55 (*sept*, *J*

= 7.1, 1 H, CH-Me₂); 2.36 (*dd*, *J* = -15.4, 6.1, 1 H, H_a-C(2)); 2.20 (*dd*, *J* = -15.4, 6.1, 1 H, H_b-C(2)); 1.63 (*m*, 2 H, H-C(4)); 1.50 (*d*, *J* = 7.1, 6 H, CH-Me₂); 1.41 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃); 1.28 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 1.23 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 0.86 (*m*, 2 H, H-C(6)).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 170.2

(CO); 164.8, 163.8, 160.6, 141.5, 138.3, 134.6, 133.2, 132.1, 130.4, 128.6, 128.3, 126.5, 123.5, 121.7, 119.5, 115.5, 115.2 (C(Ar)); 98.6 (C(C-Me₂)); 80.7 (C(C-Me₃)); 66.3 (C(3)); 65.8 (C(5)); 42.4 (C(2)); 40.8 (C(7)); 38.0 (C(4)); 35.9 (C(6)); 29.7 (C(C-Me₂)); 28.0 (C(C-Me₃)); 26.0 (C(CH-Me₂)); 21.7 (C(CH-Me₂)); 21.5 (C(CH-Me₂)); 19.6 (C(C-Me₂)).

EM (ES⁺): 655 ([M + H]⁺), 677 ([M + Na]⁺).

AE Calculado para C₄₀H₄₇FN₂O₅: C 73.37, H 7.23, N 4.28.

Encontrado: C 73.04, H 7.11, N 4.38.

Desprotección de 123 y formación de la sal cálcica: síntesis de atorvastatina cálcica.

A una disolución del dihidroxiéster protegido **123** (3.7 g, 5.65 mmol) en 25 mL de etanol y 10 mL de agua se añadió una disolución acuosa 2M de hidróxido de sodio (9.5 mL). La mezcla se agitó durante 30 minutos a 50 °C, se añadió agua (6 mL) y la solución resultante se lavó con tolueno (80 mL). Seguidamente se ajustó el pH de la fase acuosa a 7.8 con disolución de HCl 2M. Finalmente, la disolución resultante se calentó a 60 °C y se añadió una disolución de acetato de calcio monohidrato (0.50 g, 2.8 mmol) en 12 mL de agua. La mezcla se dejó enfriar a t.a. y tras 3 h se recogió por filtración el sólido en suspensión, obteniéndose así 5.0 g (77%) de atorvastatina cálcica amorfa.

(3R,5R)[7-(4-Fenil-3-fenilcarbamoil-5-(4-fluorofenil)-2-isopropilpirrol-1-il)-3,5-dihidroxiheptanoato cálcico (Atorvastatina cálcica).

P.f.: 240-243 °C (con reblandecimiento previo).

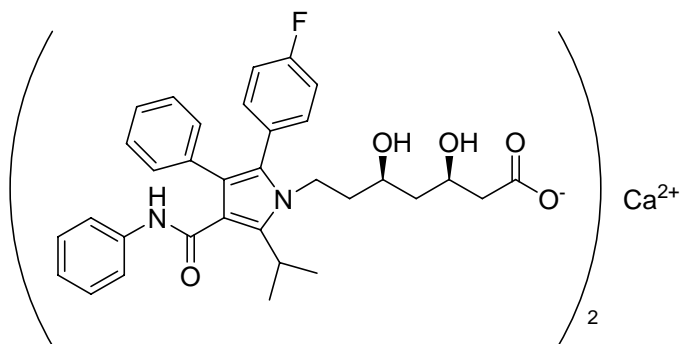
$[\alpha]_D = -2.8$ (c = 0.5, MeOH).

IR (KBr) ν : 3414, 1649, 1561, 1509, 1436, 1314, 1223, 1156, 843, 752, 699.

RMN-¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 9.78 (*s*, 2 H, NH); 7.50 (*d*, *J* = 7.6, 4 H, H-C(Ar));

7.25-7.15 (*m*, 12 H, H-C(Ar)); 7.50 (*d*, *J* = 4.0, 8 H, H-C(Ar)); 6.98 (*m*, 4 H, H-C(Ar)); 4.95 (*s ancho*, 2 H, OH); 3.97 (*m*, 2 H, H_a-C(7)); 3.77 (*m*, 4 H, H-C(3), H_b-C(7)); 3.52 (*m*, 2 H, H-C(5)); 3.22 (*sept*, *J* = 7.2, 2 H, CH-Me₂); 2.38 (*dd*, *J* = -15.2, 3.6, 2 H, H_a-C(2));

1.96 (*dd*, *J* = -15.2, 8.2, 2 H, H_b-C(2)); 1.51-1.62 (*m*, 4 H, H-C(6)); 1.40 (*m*, 2 H, H_a-C(4)); 1.37 (*s*, 6 H, CH-Me₂); 1.35 (*s*, 6 H, CH-Me₂); 1.24 (*m*, 2 H, H_b-C(4)).



RMN-¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 178.5, 166.2, 162.8, 160.4, 139.5, 136.0, 134.9, 133.4, 133.3, 129.1, 128.7, 128.4, 127.6, 127.3, 125.4, 123.0, 120.6, 119.4, 117.5, 115.5, 115.3 (48 C, CO₂, CONH, C(Ar)); 66.3 (2 C, C(3), C(5)); 44.0 (C(2)); 43.6 (C(4)); 40.9 (C(7)); 39.6 (C(6)); 25.7 (C(CH-Me₂)); 22.3 (2 C, C(CH-Me₂)).

EM (ES⁺): 559 ([*M*/2 - Ca + H]⁺), 1155 ([*M* + Na]⁺).

AE Calculado para C₆₆H₆₈CaF₂N₄O₁₀: C 68.61, H 5.93, N 4.85.

Encontrado: C 68.72, H 5.94, N 4.96.

4.3.3.- TRANSFORMACIONES QUÍMICAS SOBRE DERIVADOS INTERMEDIOS DE LA SECUENCIA SINTÉTICA

4.3.3.1.- Hidrólisis de los grupos protectores de **120**: formación de la lactona³⁶¹ **6-(4*R*,6*R*)**[2-(3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]-4-hidroxitetrahidropiran-2-ona (**124**) y derivados.

Se disolvió el dihidroxiéster **120** (880 mg, 1.64 mmol) en 13 mL de etanol anhidro y, a continuación, se añadió HCl aq. 1M (5.30 mL, 5.30 mmol). La mezcla se agitó durante 5 h a 50 °C, se añadió una disolución de NaOH aq. 2M (3.1 mL, 6.2 mmol) y se dejó agitando a 50 °C durante toda la noche. A continuación se añadió H₂O (3 mL) y hexano (21 mL) y se separaron las fases, recogiendo la fase acuosa la cual se aciduló con HCl aq. 5% hasta pH 2. La solución acuosa se extrajo con AcOEt (3 × 10 mL) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente, el producto bruto se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (1:1.5 a 1:4), obteniéndose así la lactona deseada como un sólido blanco con un rendimiento del 40% (271 mg).

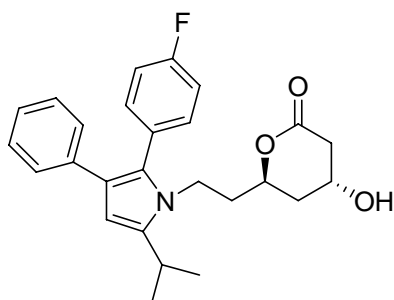
P. f.: 189-190 °C.

[α]_D = + 29.6 (c = 0.25, CHCl₃).

³⁶¹ B. D. Roth, C. J. Blankley, A. W. Chucholowski, E. Ferguson, M. L. Hoefle, D. F. Ortwine, R. S. Newton, D. R. Sliskovic, C. D. Stratton, M. W. Wilson, *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 357-366.

IR (CDCl₃) ν : 2971, 1735, 1522, 1048, 927.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.28 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 7.18-7.03 (*m*, 7 H, H-C(Ar)); 6.20 (*s*, 1 H, H-C(4')); 4.47 (*m*, 1 H, H-C(6)); 4.28 (*m*, 1 H, H-C(4)); 4.11 (*m*, 1 H, H_a-C(8)); 3.95 (*m*, 1 H, H_b-C(8)); 3.00 (*sept*, *J* = 6.8, 1 H, CH-Me₂); 2.65 (*dd*, *J* = -17.6, 4.8, 1 H, H_a-C(3)); 2.53 (*ddd*, *J* = -17.6, 3.7, 1.5, 1 H, H_b-C(3)); 2.05 (*s ancho*, 1 H, OH); 1.78-1.49 (*m*, 4 H, H-C(5), H-C(7)); 1.36 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, CH-Me₂); 1.50 (*d*, *J* = 6.8, 3 H, CH-Me₂).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 169.7 (CO); 163.8, 160.6, 140.4, 136.3, 132.9, 132.8, 129.5, 127.9, 127.6, 127.5, 124.9, 122.4, 115.9, 115.6 (15 C, C(Ar)), 103.8 (C(4')); 73.1 (C(6)); 62.4 (C(4)); 39.6 (C(8)); 38.4 (C(3)); 36.9, 35.55 (C(5), C(7)); 25.6

(C(CH-Me₂)); 23.6 (C(CH-Me₂)); 23.6 (C(CH-Me₂)).

EM (ES⁺): 422 ([*M* + H]⁺), 444 ([*M* + Na]⁺).

AE Calculado para C₂₆H₂₈FNO₃: C 74.09, H 6.70, N 3.32.

Encontrado: C 74.50, H 6.63, N 3.43.

Yodación del pirrol 124: síntesis de 6-(4R,6R)[2-(3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropil-4-yodopirrol-1-il)etil]-4-hidroxitetrahidropiran-2-ona (125).

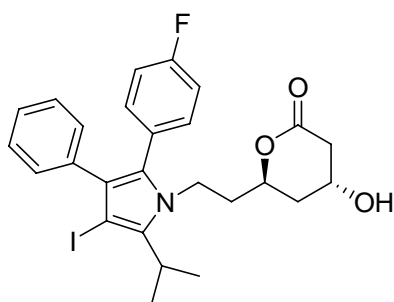
Se disolvió el pirrol **124** (211 mg, 0.5 mmol) en 42.5 mL de DMF anhidra bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente y, a continuación, se añadió *N*-yodosuccinimida (NIS) (1.4 g, 6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Seguidamente se eliminó a vacío el disolvente, el residuo se disolvió en AcOEt (15 mL), se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 × 2 mL) y con salmuera, y la fase orgánica se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente hexano/AcOEt (1:4), obteniéndose de este modo el producto deseado como un sólido blanco con un rendimiento del 95% (226 mg).

P. f.: 142-145 °C.

$[\alpha]_D = +32.0$ (c = 0.1, CHCl₃).

IR (CDCl₃) v: 3347, 2970, 1739, 1519, 1045, 927.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 7.26-7.14 (m, 7 H, H-C(Ar)); 7.03 (m, 2 H, H-C(Ar)); 4.46 (m, 1 H, H-C(6)); 4.29 (m, 1 H, H-C(4)); 4.16 (m, 1 H, H_a-C(8)); 3.98 (m, 1 H, H_b-C(8)); 3.00 (sept, J = 7.2, 1 H, CH-Me₂); 2.83 (s ancho, 1 H, OH); 2.72 (dd, J = -17.6, 4.8, 1 H, H_a-C(3)); 2.58 (ddd, J = -17.6, 3.7, 1.5, 1 H, H_b-C(3)); 1.85-1.51 (m, 4 H, H-C(5), H-C(7)); 1.48 (d, J = 7.2, 6 H, CH-Me₂).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ: 169.3 (CO); 163.8, 160.5, 137.1, 135.7, 132.88, 132.7, 130.8, 129.6, 128.5, 128.4, 127.4, 126.9, 126.1, 115.6, 115.3 (15 C, C(Ar)); 72.9 (C(6)); 62.5 (C(4)); 40.9 (C(8)); 38.5 (C(3)); 37.3, 35.6 (C(5), C(7)); 27.2 (C(CH-Me₂)); 21.5 (C(CH-Me₂)).

EM (ES⁺): 476 ([M + H]⁺), 570 ([M + Na]⁺).

AE Calculado para C₂₆H₂₇FNO₃: C 57.05, H 4.97, N 2.56.

Encontrado: C 56.80, H 5.08, N 2.74.

4.3.3.2.- Cianación del pirrol **121**:³⁶³ síntesis de 2-{6-(4*R*,6*R*)[2-(4-ciano-3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)]etil}-2,2-dimetil-1,3-dioxan-4-il}acetato de *terc*-butilo (**126**) y derivados.

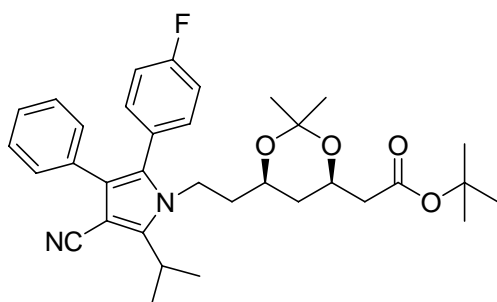
Se disolvió compuesto **121** (100 mg, 0.15 mmol) en 1.5 mL de 1,4-dioxano anhidro, seguidamente se añadió Pd₂(dba)₃ [tris(dibencilideneacetona)dipaladio(0)] (5.5 mg, 0.006 mmol), CuCN (53.7 mg, 0.60 mmol) y dppf [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] (13.3 mg, 0.024 mmol). La mezcla se calentó a reflujo bajo atmósfera de argón durante 24 h. A continuación se filtró sobre celita el material insoluble, lavando la celita con AcOEt (20 mL). Posteriormente, la fase orgánica se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 × 25 mL) y con salmuera, y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto que se purificó por

³⁶³ T. Sakamoto, K. Ohsawa, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1999**, 2323-2326.

cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (49:1 a 5.6:1, obteniéndose así el 4-cianopirrol **126** como un sólido blanco con un rendimiento del 67% (55 mg).

IR (KBr) ν : 2974, 2937, 2211, 1731, 16031, 1510, 1158, 948, 699.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃, 313 K) δ : 7.21-7.09 (*m*, 7 H, H-C(Ar)); 7.02 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 4.11 (*m*, 1 H, H-C(5)); 3.97 (*m*, 1 H, H_a-C(7)); 3.78 (*m*, 1 H, H_b-C(7)); 3.65 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.20 (*sept*, *J* = 7.1, 1 H, CH-Me₂); 2.35 (*dd*, *J* = -15.4, 6.8, 1 H, H_a-C(2)); 2.19 (*dd*, *J* = -15.1, 6.8, 1 H, H_b-C(2)); 1.58 (*m*, 2 H, H-C(4)); 1.52 (*d*, *J* = 7.1, 3 H, CH-Me₂); 1.50 (*d*, *J* = 7.1, 3 H, CH-Me₂); 1.41 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃); 1.33 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 1.27 (*s*, 3 H, C(CH₃)₂); 1.04 (*m*, 2 H, H-C(6)).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃, 313 K) δ : 170.0 (CO); 164.3, 161.0, 147.4, 133.2, 133.1, 132.8, 129.1, 128.7, 128.1, 127.6, 127.5, 126.5, 125.5, 115.9, 115.6, 89.1 (C(Ar)); 117.4 (CN); 98.7 (C(C-Me₂)); 80.6 (C(C-Me₃)); 66.1 (C(3)); 65.8 (C(5)); 42.4 (C(2)); 40.6 (C(7)); 37.9 (C(4)); 35.9 (C(6));

29.9 (C(C-Me₂)); 28.0 (C(C-Me₃)); 26.2 (C(CH-Me₂)); 22.1 (C(CH-Me₂)); 21.1 (C(CH-Me₂)); 19.6 (C(C-Me₂)).

EM (ES⁺): 561 ([*M* + H]⁺), 583 ([*M* + Na]⁺), 1143 ([2*M* + Na]⁺).

Desprotección del diol **126:³³⁶ síntesis de (3*R*,5*R*)[2-(4-ciano-3-fenil-2-(4-fluorofenil)-5-isopropilpirrol-1-il)etil]-3,5-dihidroxi}acetato de *terc*-butilo (**127**).**

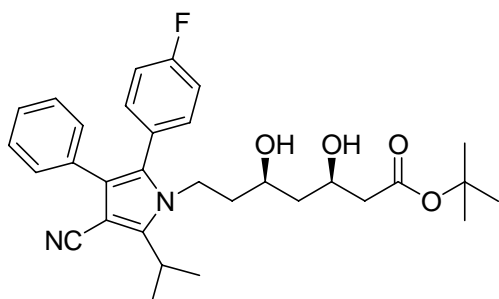
El acetónido **126** (1.68 g, 3 mmol) se disolvió en 50 mL de THF y, seguidamente, se añadió HCl 1M (20 mL, 20 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 día. Seguidamente se eliminó a vacío el disolvente, el residuo se disolvió en AcOEt (300 mL) y la solución resultante se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ (3 × 100 mL) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y, tras eliminar a

³³⁶ B-C. Chen, J. E. Sundeen, P. Guo, M. S. Bednarz, J. J. Hangeland, S. Z. Ahmen, M. Jernal J. *Labelled. Cpd. Radiopharm.* **2000**, *43*, 261-270.

vacío el disolvente, se obtuvo el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna usando como mezcla de eluyentes hexano/AcOEt (4:1 a 1:1), conduciendo al producto deseado como un sólido blanco con un rendimiento del 76% (1.2 g).

IR (KBr) ν : 3437, 2963, 2928, 2214, 1726, 1511, 1368, 1223, 1156, 1114.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.21-7.13 (*m*, 7 H, H-C(Ar)); 7.06 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 4.22-4.01 (*m*, 2 H, H-C(5), H_a-C(7)); 3.99-3.84 (*m*, 3 H, H_b-C(7), OH); 3.70 (*m*, 1 H, H-C(3)); 3.27 (*sept*, *J* = 7.0, 1 H, CH-Me₂); 2.30 (*d*, *J* = 5.7, 1 H, H-C(2)); 1.60 (*m*, 2 H, H-C(4)); 1.55 (*d*, *J* = 7.1, 3 H, CH-Me₂); 1.53 (*d*, *J* = 7.1, 3 H, CH-Me₂); 1.45 (*s*, 9 H, C(CH₃)₃); 1.20 (*m*, 1 H, H_a-C(6)); 0.98 (*m*, 1 H, H_b-C(6)).



RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 172.1 (CO); 164.2, 160.9, 147.7, 133.3, 133.1, 132.8, 129.1, 128.6, 128.1, 127.6, 127.6, 126.5, 125.5, 115.9, 115.7, 89.9 (C(Ar)); 117.5 (CN); 81.9 (C(C-Me₃)); 66.1 (2 C, C(3), C(5)); 42.1 (C(2)); 41.8 (C(7)); 41.0 (C(4)); 38.9 (C(6)); 28.0 (C(C-Me₃)); 26.5 (C(CH-Me₂)); 22.1 (C(CH-Me₂)); 21.0 (C(CH-Me₂)).

EM (ES⁺): 521 ([*M* + H]⁺), 543 ([*M* + Na]⁺), 1063 ([2*M* + Na]⁺).

4.3.3.3.- Síntesis de (S)-2-(3-fenil-2-fluorofenil-5-isopropilpirrol-1-il)-3-fenilpropanoato de metilo (128) y derivados.

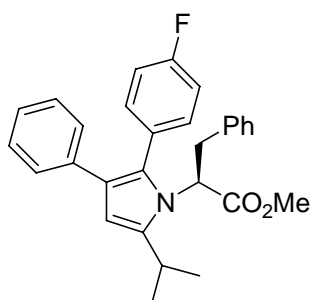
Una suspensión de (±)-2-fenil-1-(4-fluorofenil)-5-metilhexan-1,4-diona (432 mg, 1.45 mmol), L-fenilalaninato de metilo (como hidrocloreuro) (406.5 mg, 1.88 mmol) y ácido píválico (102 mg, 1.0 mmol) en una mezcla de heptano/tolueno 9/1 se conectó a un separador azeotrópico de agua. La mezcla se calentó a reflujo bajo atmósfera de argón con agitación vigorosa durante 2 días. Posteriormente se eliminó el disolvente a vacío y el residuo resultante se disolvió en AcOEt (100 mL) y se lavó con H₂O (3 × 50 mL), con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Una vez eliminado a vacío el disolvente se obtuvo el producto bruto, que se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente

primero hexano puro y luego una mezcla de hexano/AcOEt (19:1), obteniéndose de este modo el pirrol **128** como un aceite amarillo con un rendimiento del 27% (170 mg).

$[\alpha]_D = -28.5$ ($c = 1.09$, CHCl_3).

IR (CHCl_3) ν : 2967, 1738, 1601, 1508, 1230, 1235, 1156.

RMN- ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 7.16-6.92 (*m*, 12 H, H-C(Ar)); 6.66 (*m*, 2 H, H-C(Ar)); 6.30 (*s*, 1 H, H-C(4')); 4.70 (*dd*, $J = -10.7, 4.4$, 1 H, H-C(2)); 3.79 (*s*, 3 H, CO_2Me); 3.34 (*dd*, $J = -13.9, 4.1$, 1 H, $\text{H}_a\text{-C}(3)$); 3.07 (*dd*, $J = -13.9, 3.2$, 1 H, $\text{H}_b\text{-C}(3)$); 2.78 (*m*, 1 H, CH- Me_2); 1.71 (*d*, $J = 6.9$, 3 H, CH- Me_2), 1.45 (*d*, $J = 6.9$, 3 H, CH- Me_2).



RMN- ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 171.5 (C(Ar)); 163.8 (CO_2Me); 140.4, 136.9, 136.3, 130.6, 129.1, 128.7, 128.4, 127.9, 127.8, 127.2, 126.7, 126.6, 124.8, 115.3, 115.0 (C(Ar)); 105.3 (C(4')); 59.1 (C(2)); 52.7 (CO_2Me); 38.2 (C(3)); 26.5 (C(CH- Me_2)); 24.3 (2 C, C(CH- Me_2)).

EM (ES^+): 442 ($[M + \text{H}]^+$).

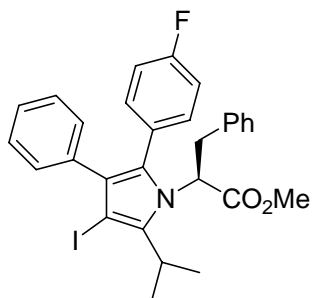
Yodación del pirrol **128**: síntesis de (S)-2-(3-fenil-2-fluorofenil-5-isopropil-4-yodopirrol-1-il)-3-fenilpropanoato de metilo (**129**).

Se disolvió compuesto **128** (153 mg, 0.34 mmol) en 3 mL de DMF anhidra bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente y, a continuación, se añadió *N*-yodosuccinimida (91.8 mg, 0.41 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Seguidamente se eliminó a vacío el disolvente, el residuo se disolvió en AcOEt (50 mL) y la solución resultante se lavó con una disolución acuosa saturada de NaHCO_3 (3×10 mL) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 y, una vez eliminado a vacío el disolvente, el producto bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna usando como eluyente hexano puro en primer lugar y, a continuación, una mezcla de hexano/AcOEt (10:1), para dar el 4-yodopirrol **129** como un sólido amarillo con un rendimiento del 75% (144 mg).

P.f.: 73-75 °C.

[α]_D = - 27.6 (c = 0.82, CHCl₃).

IR (CHCl₃) v: 3064, 3021, 2978, 2958, 1730, 1602, 1510, 1322, 1287, 1225, 1157, 1094, 884, 699.



RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 7.23-6.93 (*m*, 12 H, H-C(Ar)); 6.64 (*d*, *J* = 6.6, 2 H, H-C(Ar)); 4.69 (*dd*, *J* = 10.9, 3.6, 1 H, H-C(2)); 3.87 (*s*, 3 H, CO₂Me); 3.40 (*dd*, *J* = -13.9, 3.6, 1 H, H_a-C(3)); 3.05 (*dd*, *J* = -13.9, 2.7, 1 H, H_b-C(3)); 2.78 (*sept*, *J* = 6.9, 1 H, CH-Me₂); 1.71 (*d*, *J* = 6.9, 3 H, CH-Me₂), 1.45 (*d*, *J* = 6.9, 3 H, CH-Me₂).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ : 171.3 (C(Ar)); 163.6 (CO₂Me); 136.5, 135.7, 130.8, 130.6, 128.9, 128.7, 128.6, 128.4, 128.3, 127.6, 127.5, 127.3, 126.0, 114.8, 114.6 (C(Ar)); 76.5 (C(4')); 59.9 (C(2)); 52.9 (CO₂Me); 38.4 (C(3)); 27.6 (C(CH-Me₂)); 20.7, 20.6 (C(CH-Me₂)).

EM (ES⁺): 568 ([*M* + H]⁺).

CONCLUSIONES

5.1.- CONCLUSIONES 331

5.1.- CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en la síntesis y estudio de los diferentes híbridos descritos en esta memoria, así como la síntesis de atorvastatina cálcica, nos permiten concluir lo siguiente:

1.- Se ha llevado a cabo la síntesis y el estudio de híbridos péptido-heterociclo, empleando como molde derivados parcialmente hidrogenados de isoquinolina, con el objetivo de inducir una conformación preferente a cadenas peptídicas unidas a los mismos, destacando los siguientes puntos:

- Se ha desarrollado una ruta de síntesis para acceder a derivados con estructura de 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina quiral, donde la etapa clave consiste en una ciclación intramolecular tipo Heck. Los datos espectroscópicos y computacionales indican que en los correspondientes híbridos péptido-isoquinolina o isoquinolinona sintetizados a partir de dichos derivados presentan en disolución un equilibrio conformacional entre tres conformaciones mayoritarias caracterizadas, dos de ellas por la presencia de un enlace de hidrógeno intramolecular confiriendo una disposición plegada que imita la estructura de un giro γ (pseudoanillo de 7 eslabones) y un giro α (pseudoanillo de 13 eslabones) y, adoptando la restante una conformación mayoritaria extendida.
- También se han sintetizado híbridos aminoácido-bifenilo-isoquinolina, llevando a cabo el estudio conformacional de los derivados más sencillos (**61** y **62**). Los datos obtenidos para el compuesto **61** indican la presencia de un enlace de hidrógeno intramolecular, de distinta fortaleza dependiendo del atropisómero en cuestión, presentando cada uno de ellos un pseudoanillo de 7 eslabones (giro γ). En el caso del compuesto **62** no se detectó presencia alguna de enlaces de hidrógeno.

- Debido a la rotación impedida alrededor del eje que une los dos anillos aromáticos, ha permitido llevar a cabo un estudio, de los derivados más sencillos (**61** y **62**), de RMN dinámica mediante el cual se han extraído los valores de los parámetros termodinámicos implicados en el proceso de interconversión entre los dos diastereoisómeros presentes en equilibrio.
- Por último, se han sintetizado diversos derivados de 1-cloroisoquinolina (ácido, ésteres y amidas) e híbridos aminoácido-vinilisoquinolina, teniendo estos compuestos amplias posibilidades de convertirse en molde para la preparación de nuevos análogos peptídicos conformacionalmente restringidos.
- El estudio mediante difracción de rayos X de los ácidos carboxílicos **30** y **74** puso de manifiesto la formación de enlaces de hidrógeno intermoleculares, siendo éstos los responsables de la formación de cadenas infinitas. Por otro lado, el correspondiente estudio para el compuesto **25** nos indica que cristaliza enantioméricamente puro formando dímeros por medio de enlaces de hidrógeno intermoleculares y, que el compuesto **23** cristaliza en forma racémica.
- Se han evaluado un gran número de derivados parcialmente hidrogenados de isoquinolina, híbridos péptido-isoquinolina e isoquinolinona, derivados de 1-cloroisoquinolina, encontrando entre estos compuestos múltiples inhibidores de calpaína en el rango nanomolar. Los resultados que se presentan en esta memoria en lo referente a este tipo de compuestos, están siendo desarrollados actualmente en nuestro grupo.

2.- La preparación de productos con estructura de 3,6-dihidro-2*H*-pirano, con restos bencilo en el carbono anomérico, a partir de tri-*O*-acetil-D-glucal empleando como paso clave la transposición de Ferrier, ha mostrado ser una estrategia muy útil para acceder a este tipo de compuestos. Estos derivados presentan un alto grado de funcionalización y han sido utilizados para sintetizar nuevos sistemas sin fragmento peptídico y con estructura de híbridos aminoácido-carbohidrato. Esto nos permite concluir:

- Este tipo de compuestos han sido ensayados frente a calpaína obteniendo resultados de inhibición en el rango nanomolar, aunque únicamente para compuestos de estructura sencilla (**94**, **105** y **115**). Al igual que en el caso

anterior, los resultados que se presentan en esta memoria en lo referente a este tipo de estructuras, están siendo desarrollados actualmente en nuestro grupo.

3.- Se ha desarrollado una nueva metodología para acceder a atorvastatina a partir de intermedios avanzados sencillos, para tal fin se ha empleado la reacción de aminocarbonilación catalizada por especies de paladio(0). El presente trabajo se enmarca dentro de un proyecto financiado por la empresa *Ercros S.A., División de Farmacia*, encaminado hacia el diseño y síntesis de nuevas estrategias sintéticas para la fabricación de medicamentos genéricos.

- La ruta sintética propuesta cuenta con la posibilidad de que pueda ser llevada a cabo a nivel industrial.
- Se llevó a cabo la difracción de rayos X de un intermedio avanzado de la ruta de síntesis de atorvastatina.

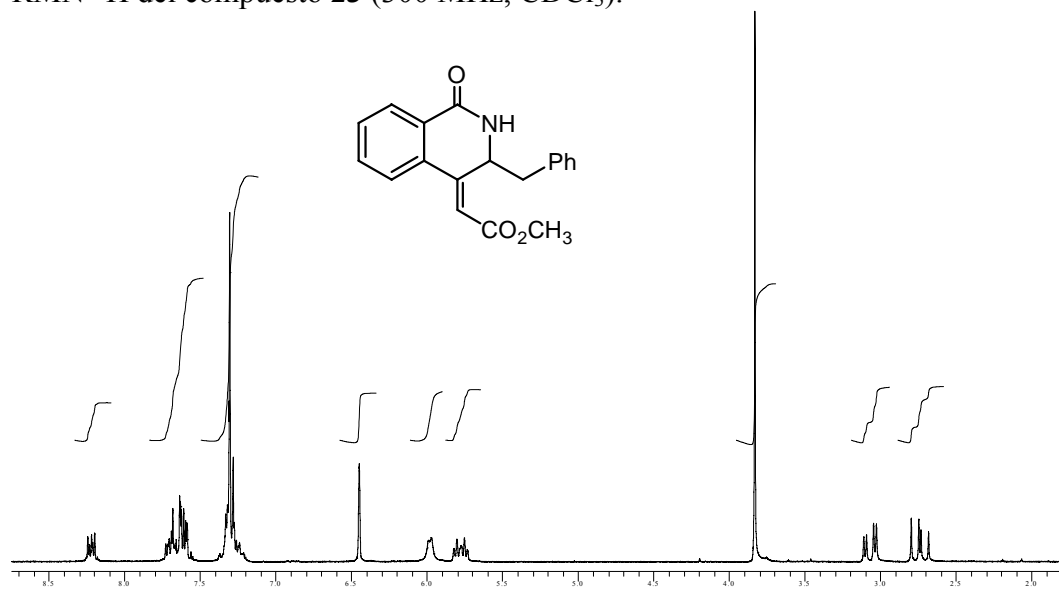
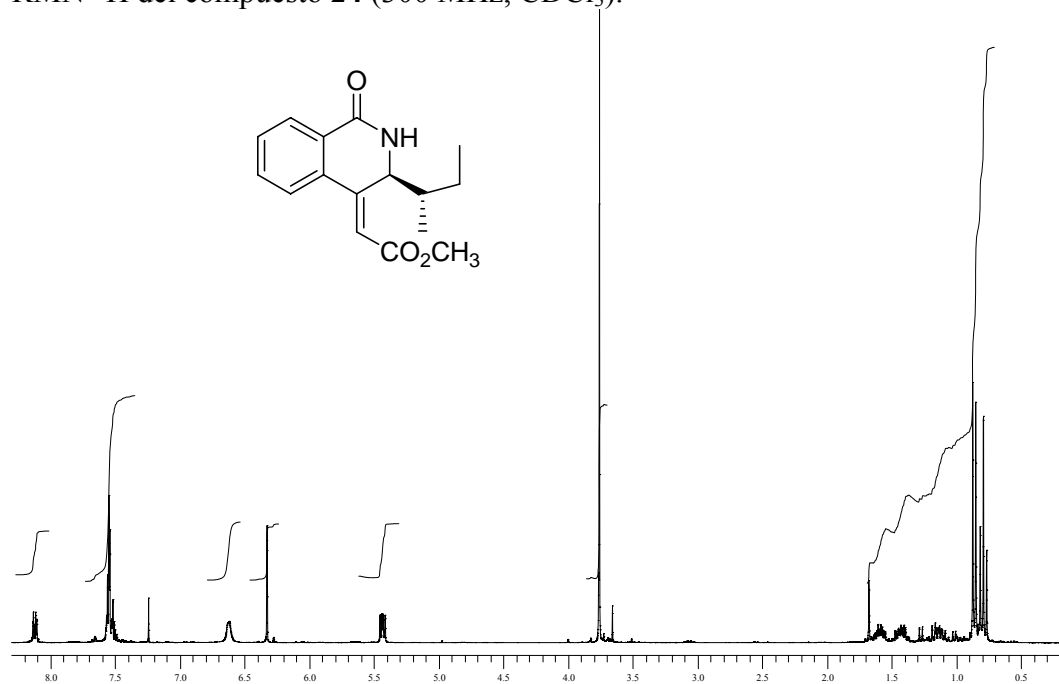
4.- La experiencia adquirida en diferentes aspectos de la química de compuestos peptídicos y análogos (tanto en su síntesis como en el estudio de sus preferencias conformacionales), así como el éxito de la obtención de atorvastatina cálcica, son posiblemente los resultados más destacables de los obtenidos durante la realización de esta *Tesis Doctoral*.

Y por último, hay que reseñar que en esta *Tesis Doctoral* se describen compuestos con estructuras de híbrido péptido-heterociclo, péptido-bifenilo-heterociclo, y aminoácido-carbohidrato los cuales no habían sido descritos previamente en la bibliografía, así como una nueva metodología para acceder a atorvastatina cálcica.

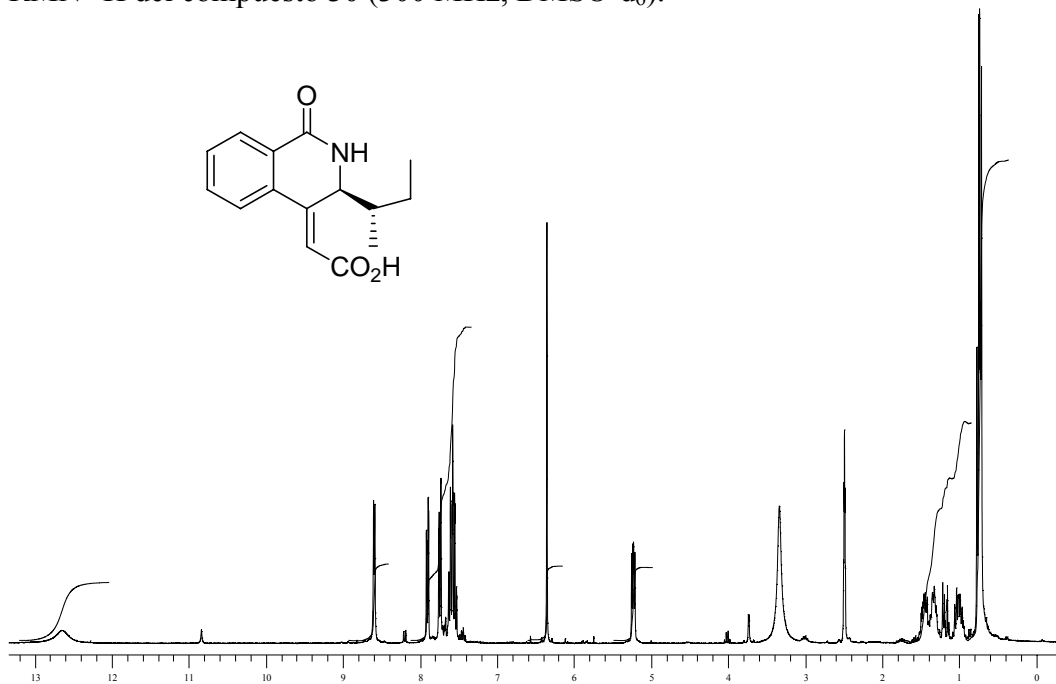
ANEXOS

ANEXO I. ESPECTROS DE RMN	335
ANEXO II. DIFRACCIÓN DE RAYOS X	357

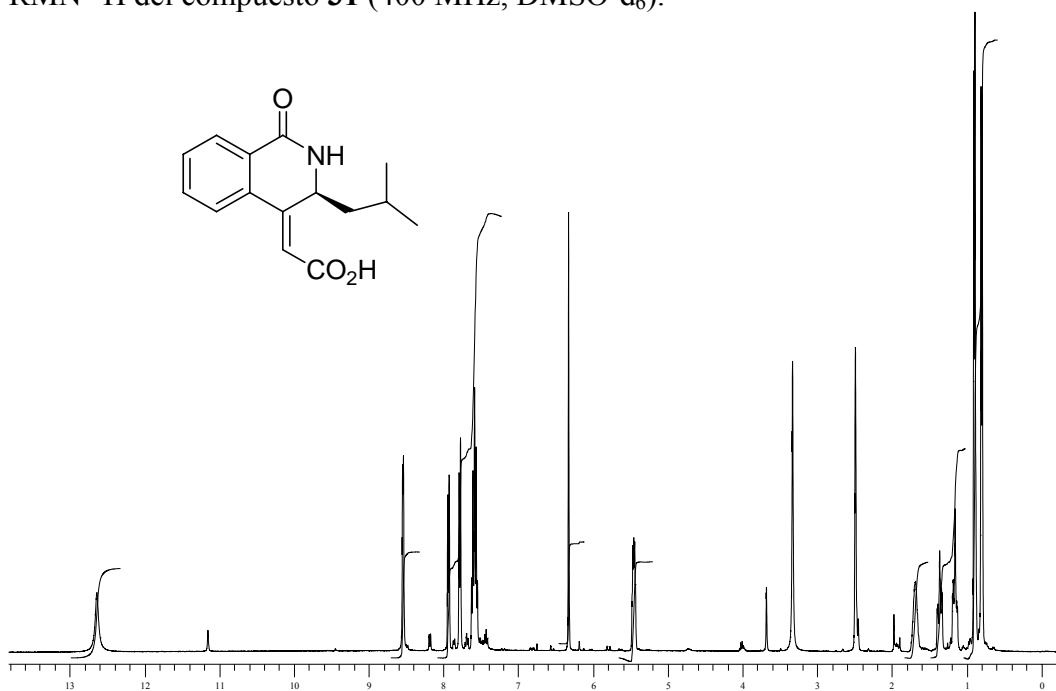
ANEXO I. ESPECTROS DE RMN

RMN-¹H del compuesto **23** (300 MHz, CDCl₃).RMN-¹H del compuesto **24** (300 MHz, CDCl₃).

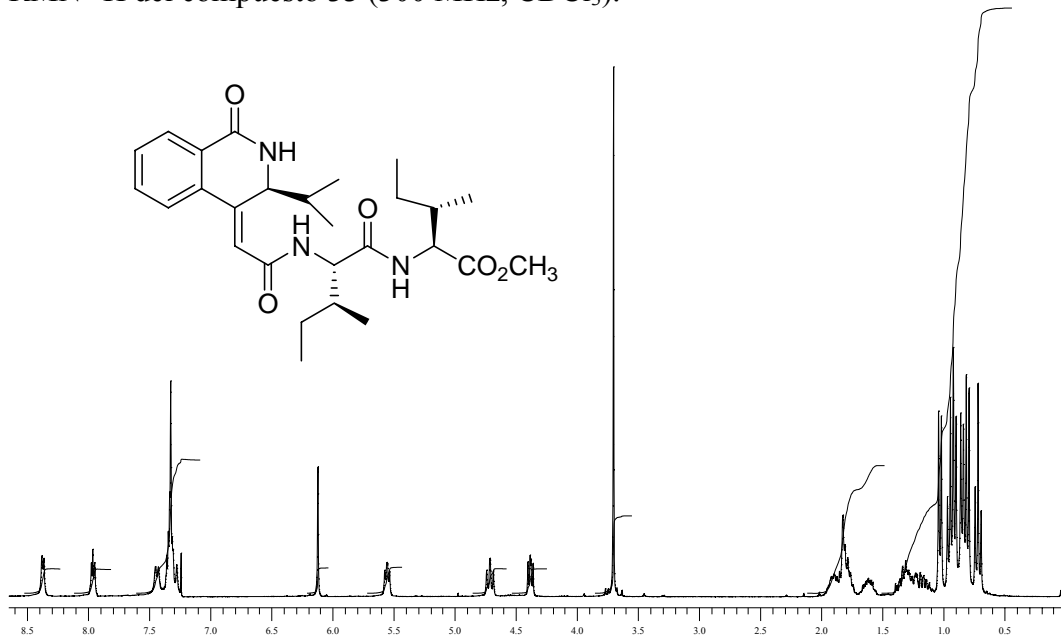
RMN-¹H del compuesto **30** (300 MHz, DMSO-d₆).



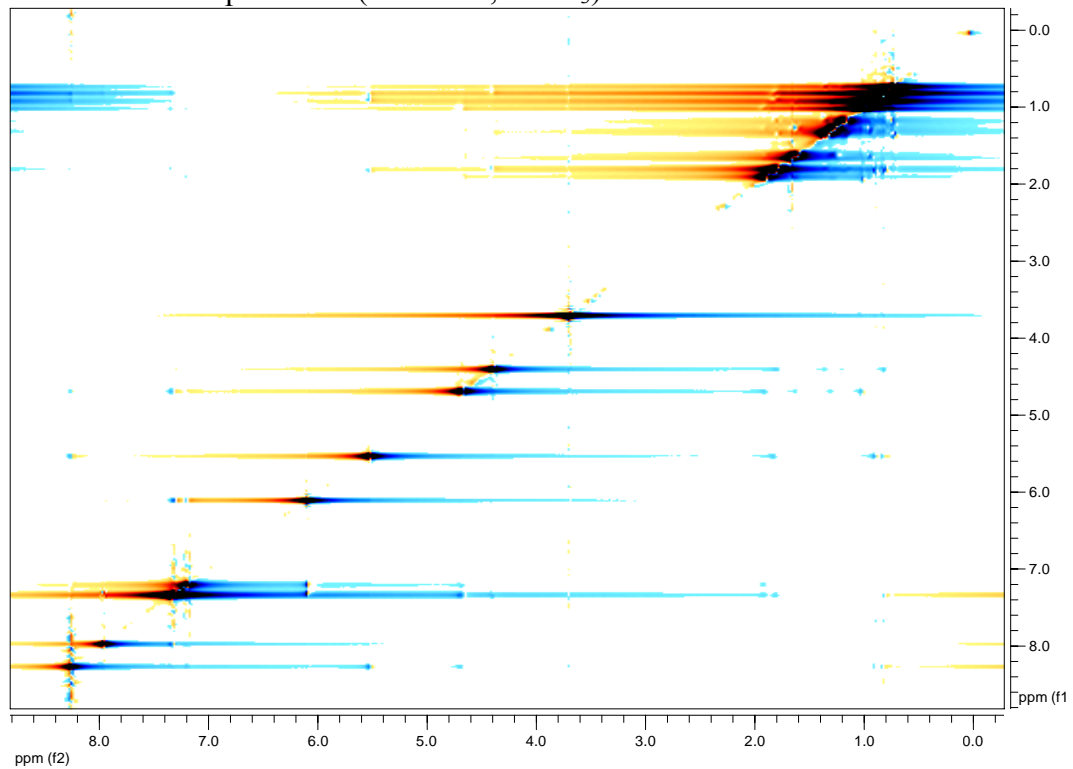
RMN-¹H del compuesto **31** (400 MHz, DMSO-d₆).



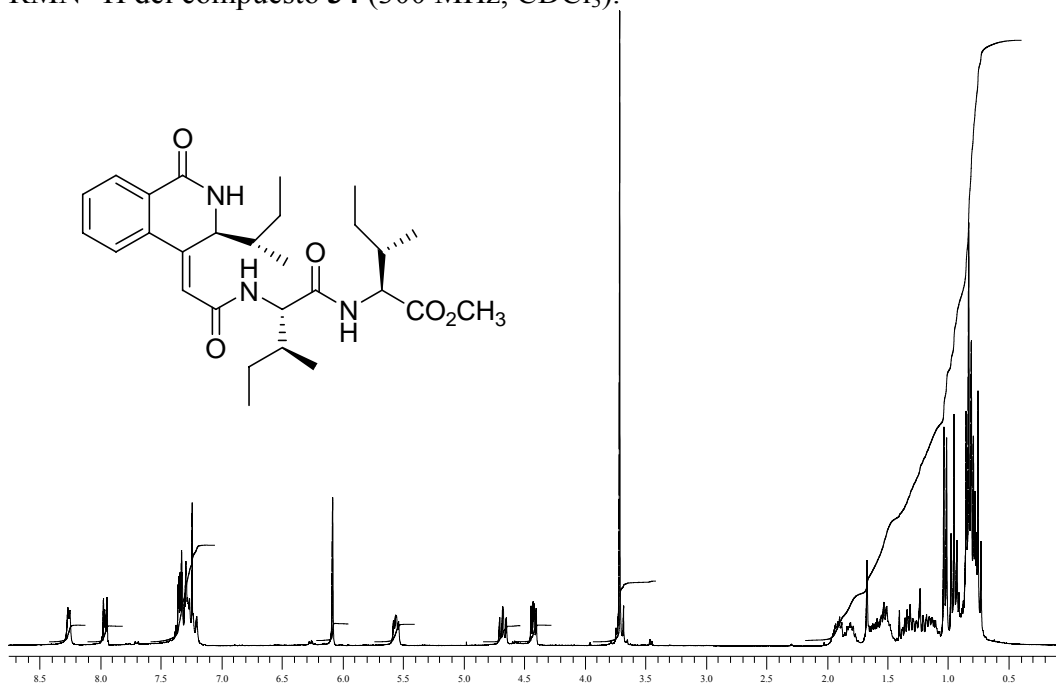
RMN-¹H del compuesto **33** (300 MHz, CDCl₃).



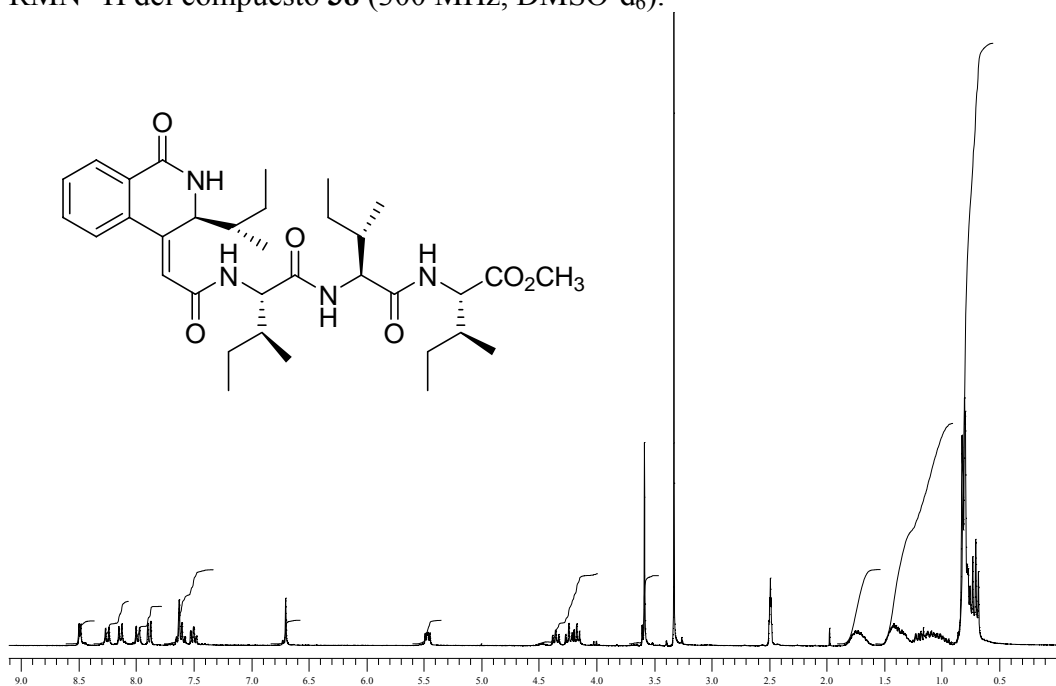
NOESY del compuesto **33** (400 MHz, CDCl₃).

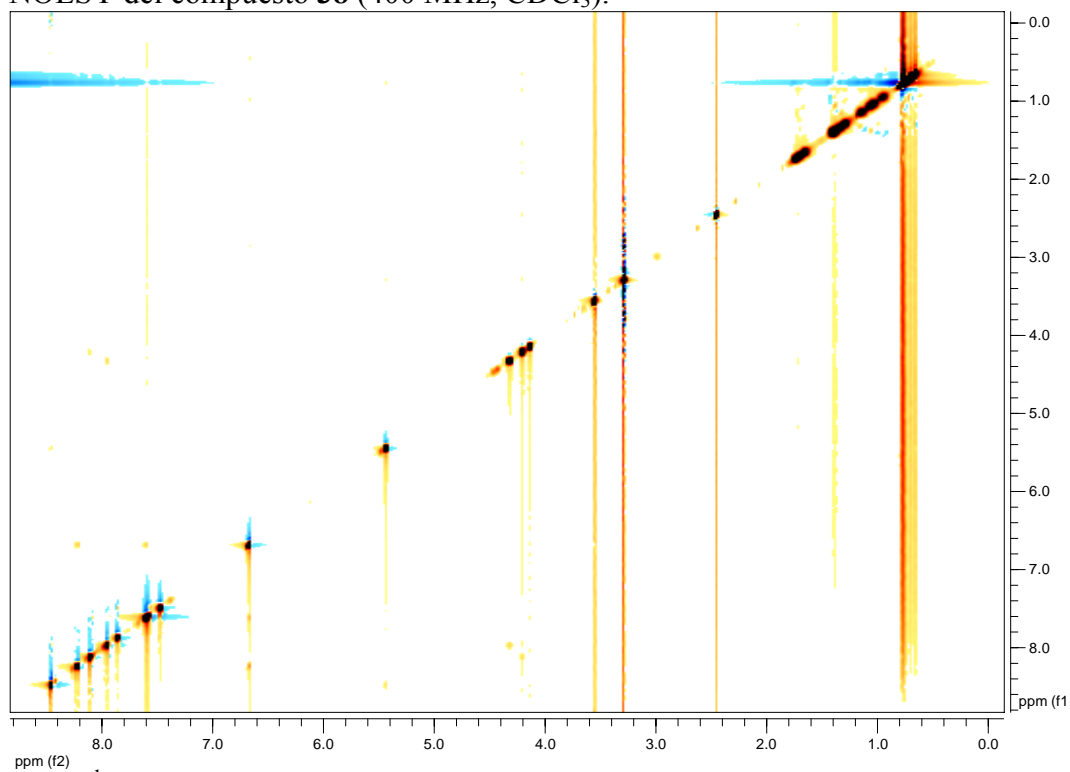
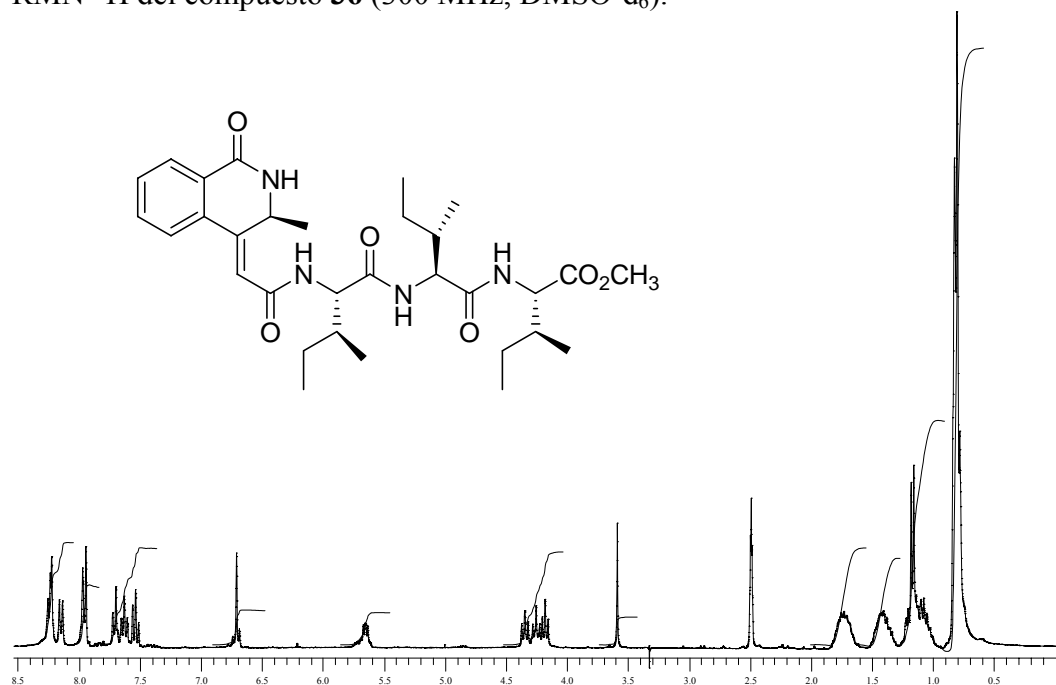


RMN-¹H del compuesto **34** (300 MHz, CDCl₃).

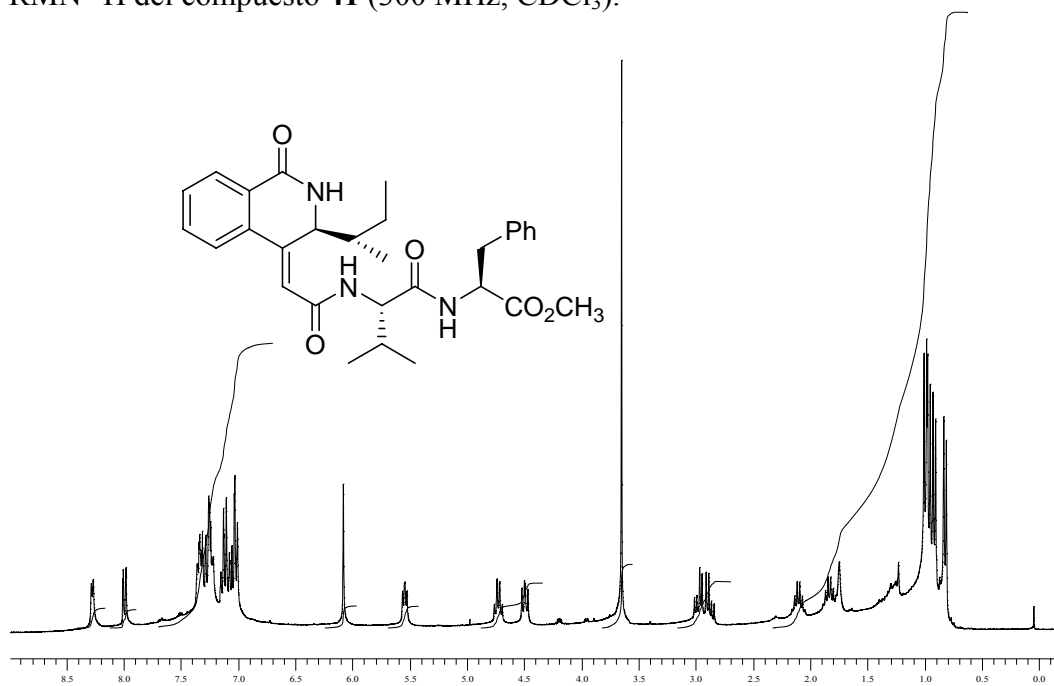


RMN-¹H del compuesto **38** (300 MHz, DMSO-d₆).

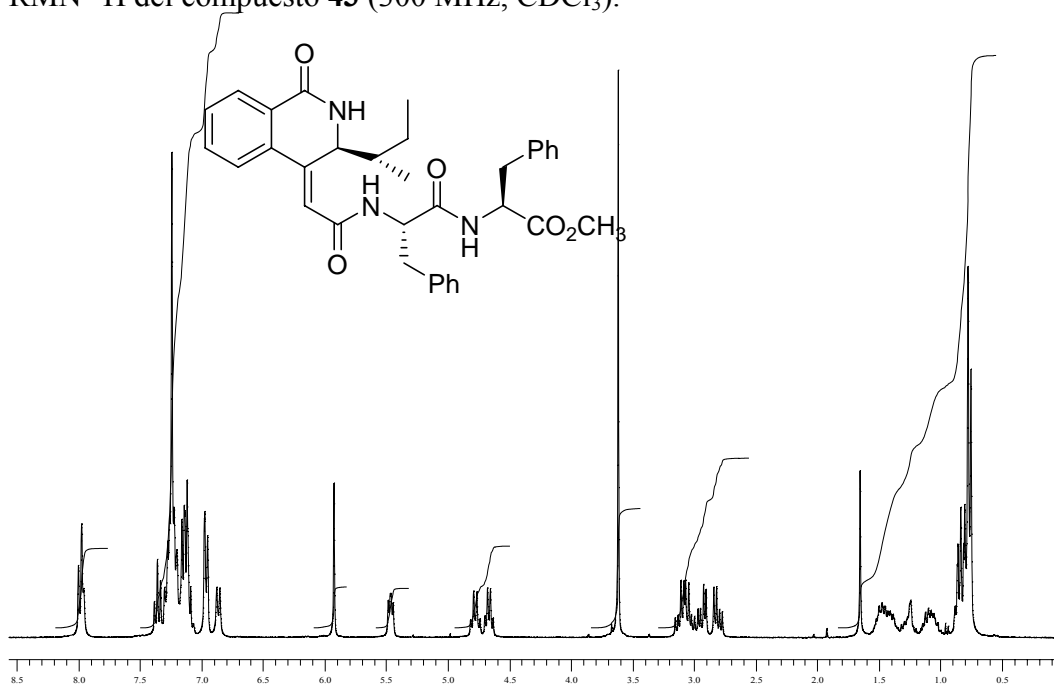


NOESY del compuesto **38** (400 MHz, CDCl₃).RMN-¹H del compuesto **36** (300 MHz, DMSO-d₆).

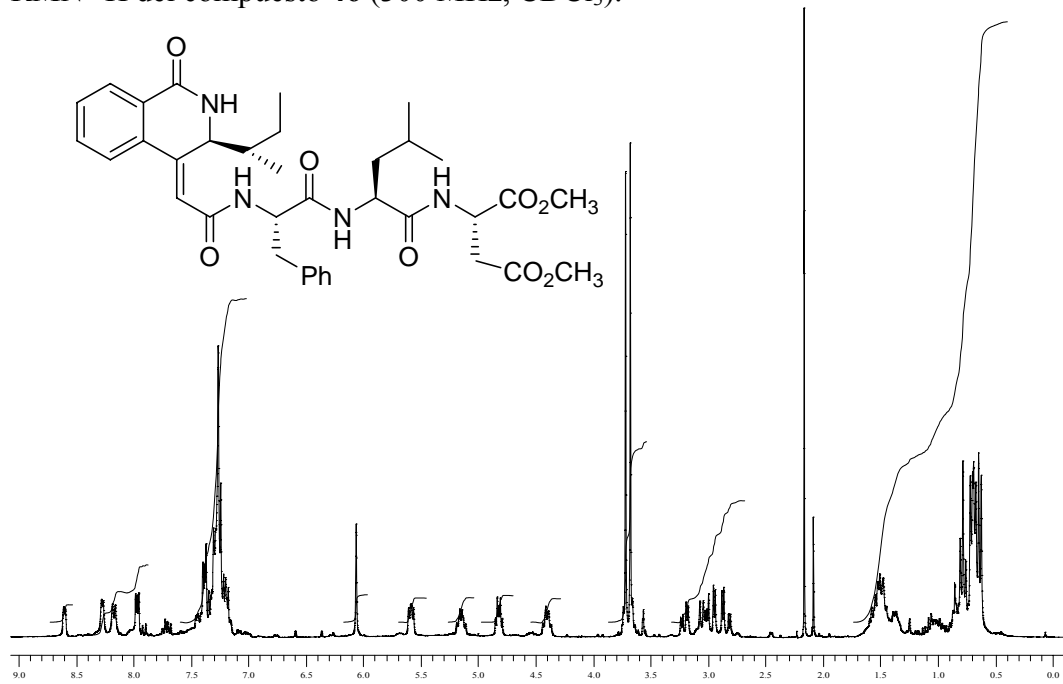
RMN-¹H del compuesto **41** (300 MHz, CDCl₃).



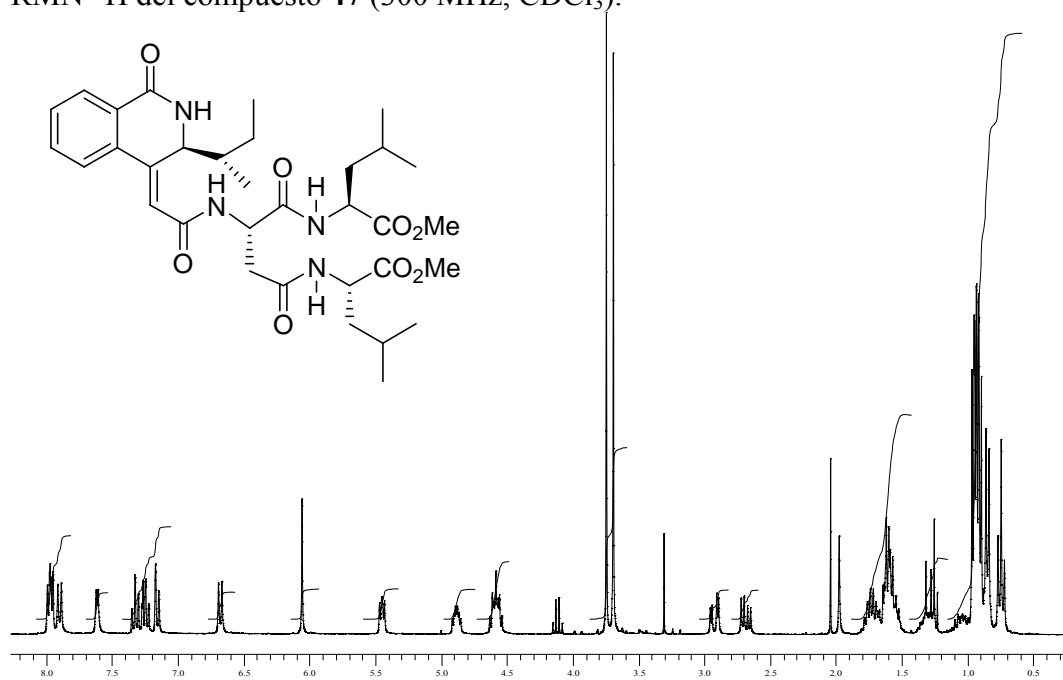
RMN-¹H del compuesto **43** (300 MHz, CDCl₃).



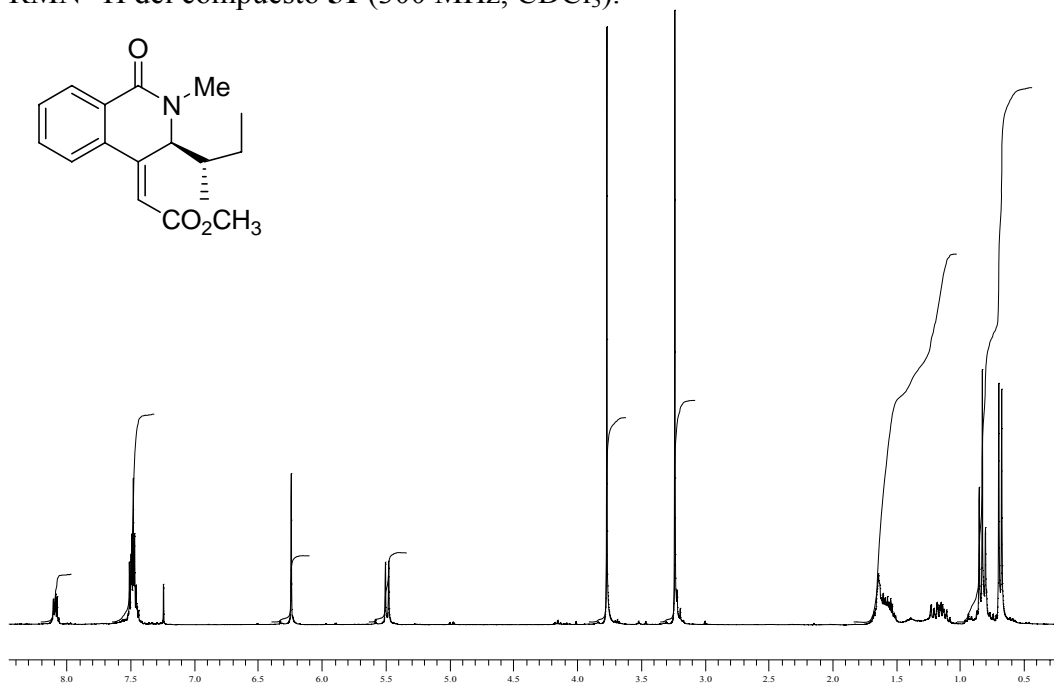
RMN-¹H del compuesto **46** (300 MHz, CDCl₃).



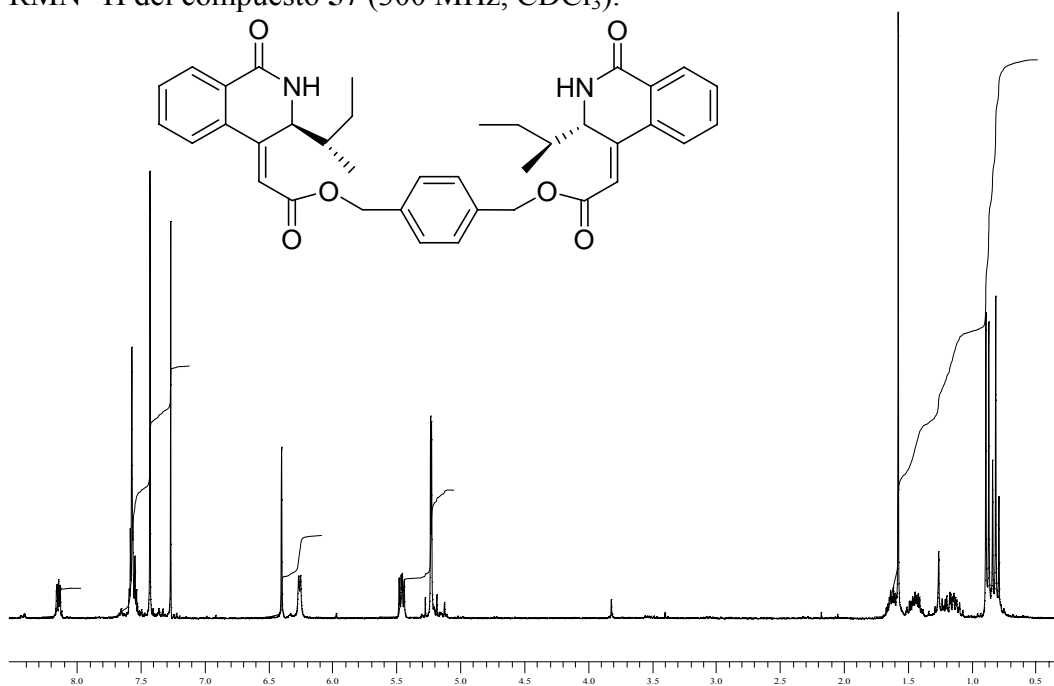
RMN-¹H del compuesto **47** (300 MHz, CDCl₃).



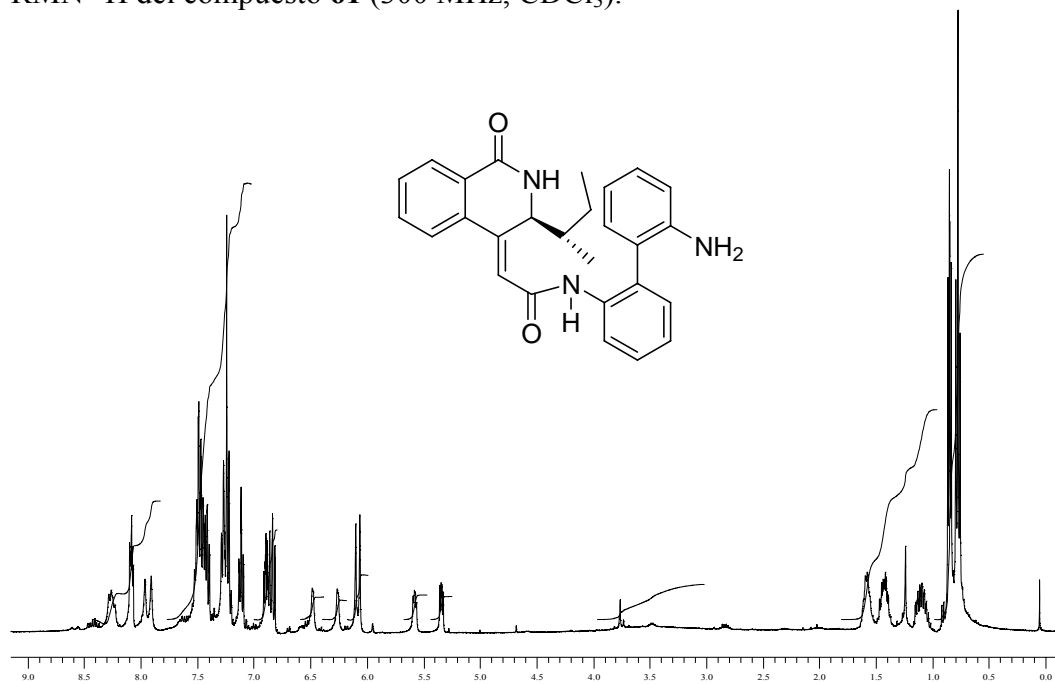
RMN-¹H del compuesto **51** (300 MHz, CDCl₃).



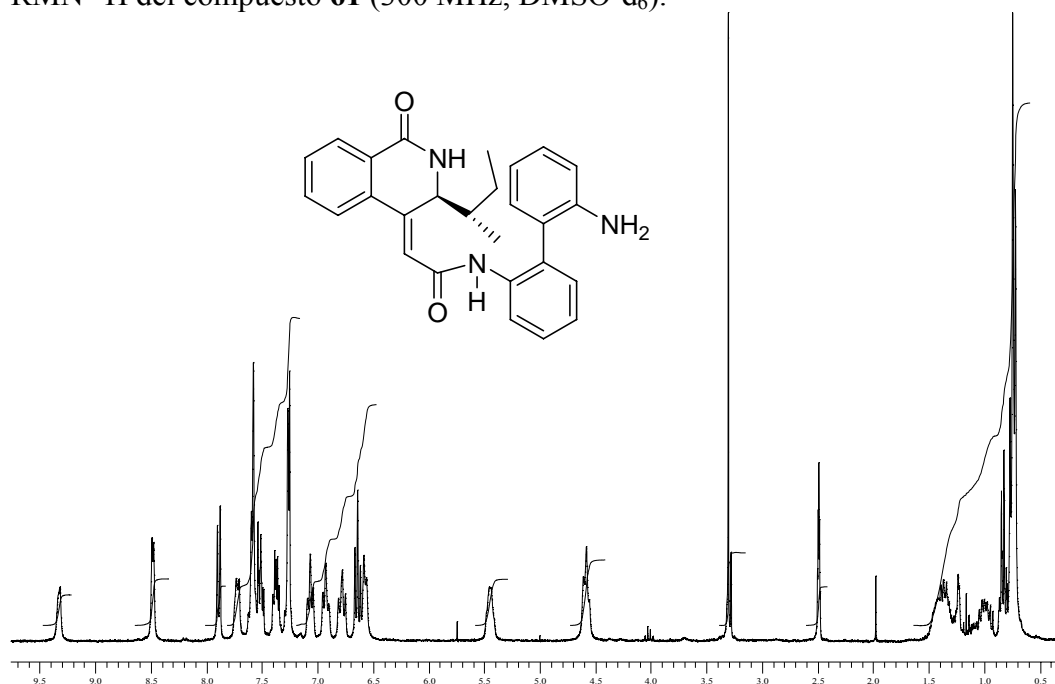
RMN-¹H del compuesto **57** (300 MHz, CDCl₃).



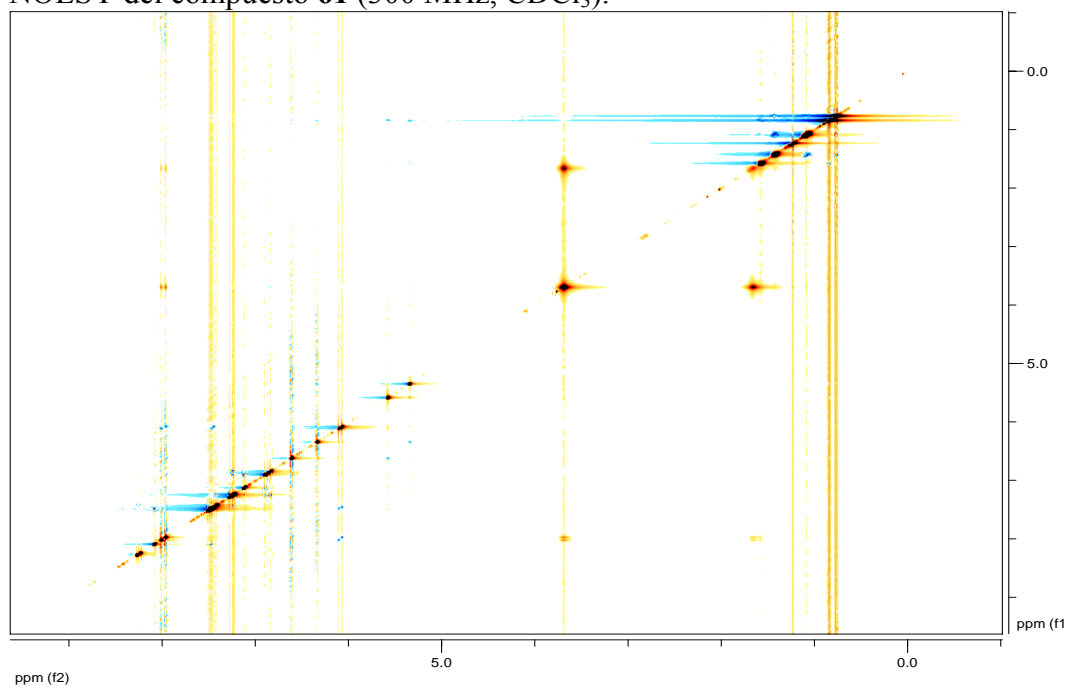
RMN-¹H del compuesto **61** (300 MHz, CDCl₃).



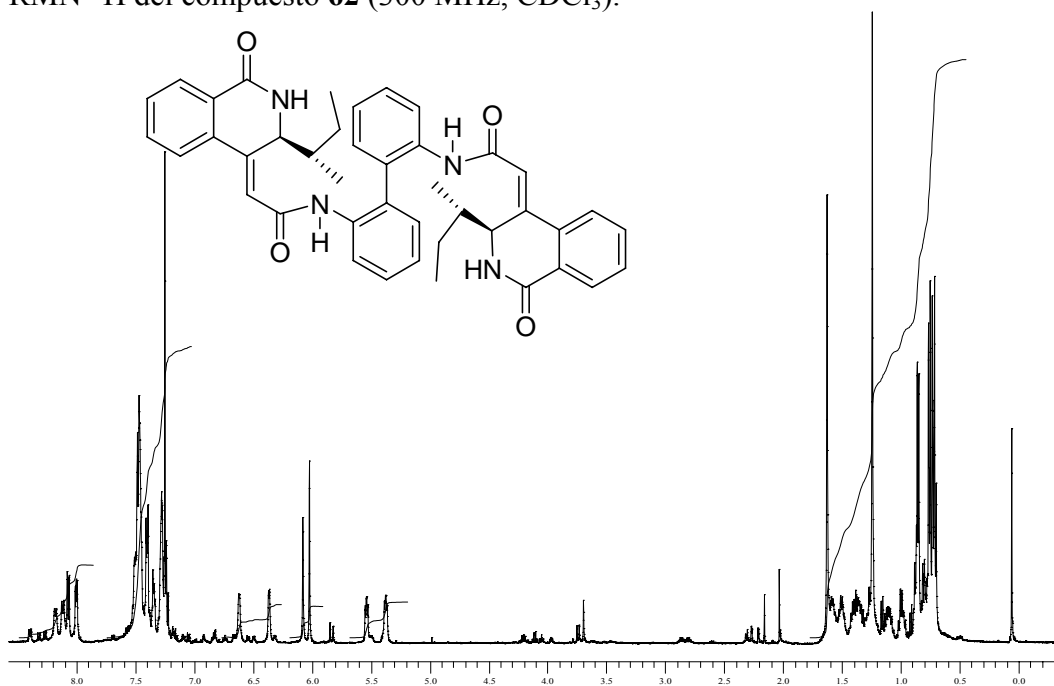
RMN-¹H del compuesto **61** (300 MHz, DMSO-d₆).



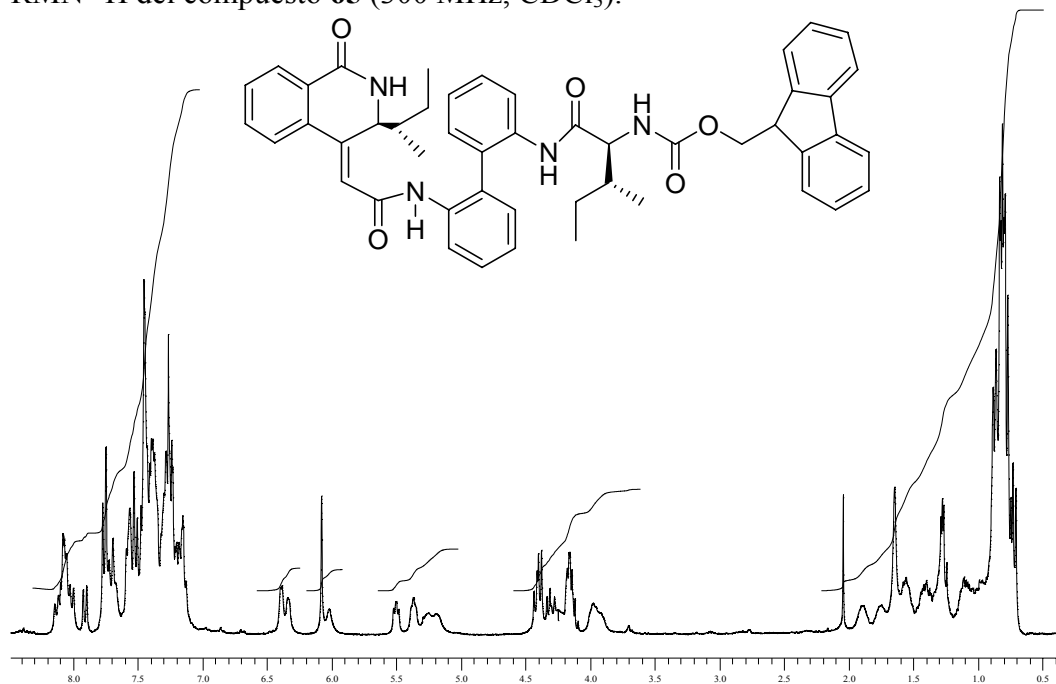
NOESY del compuesto **61** (300 MHz, CDCl₃).



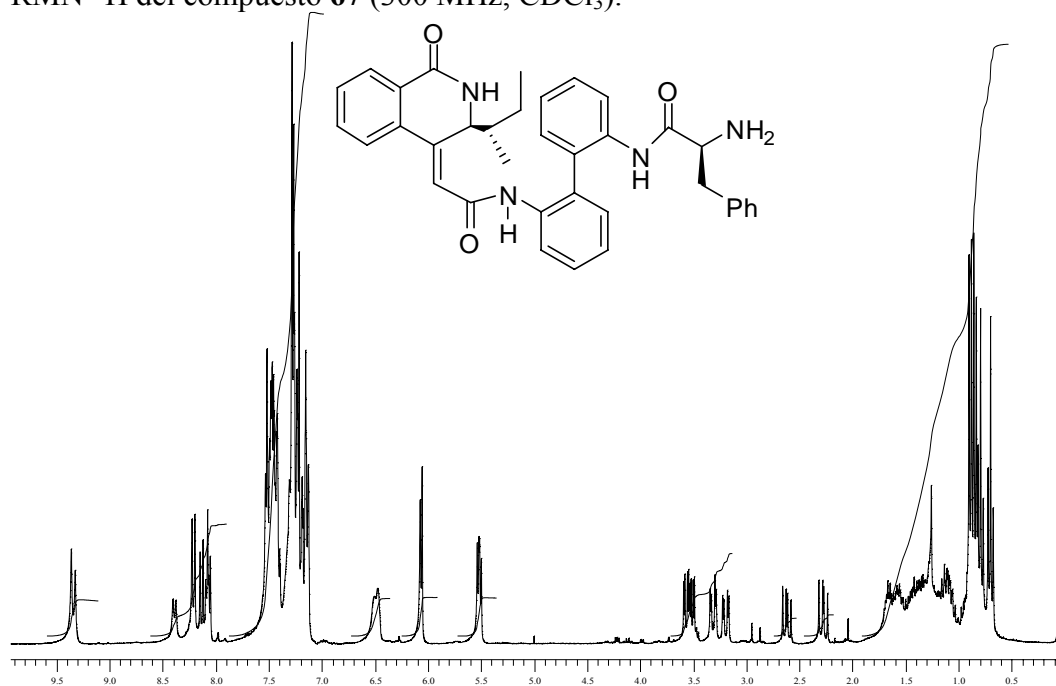
RMN-¹H del compuesto **62** (300 MHz, CDCl₃).



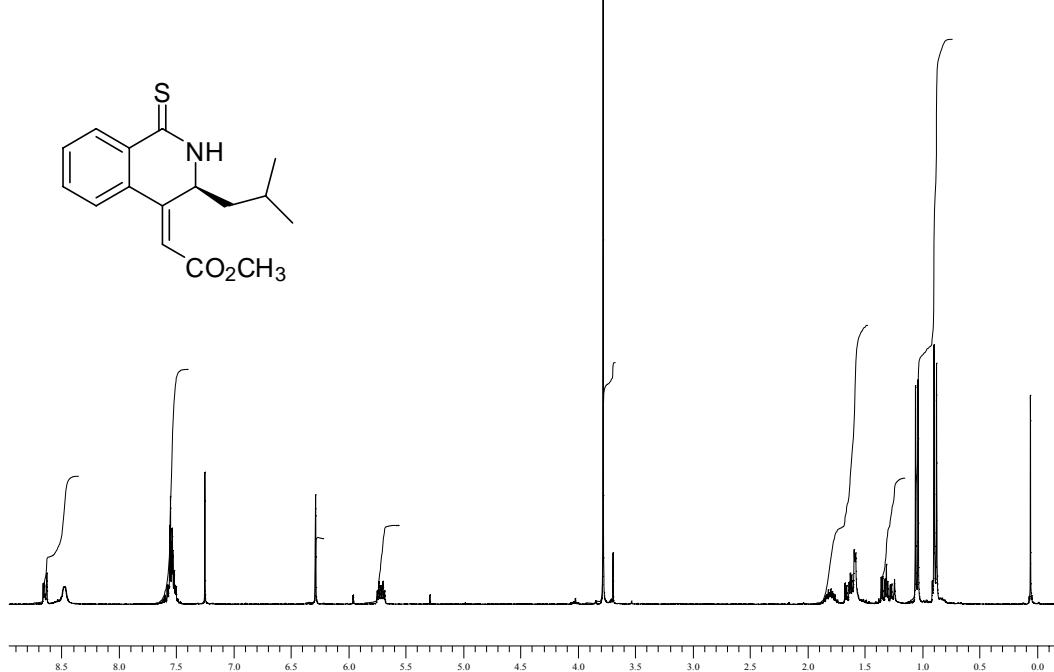
RMN-¹H del compuesto **65** (300 MHz, CDCl₃).



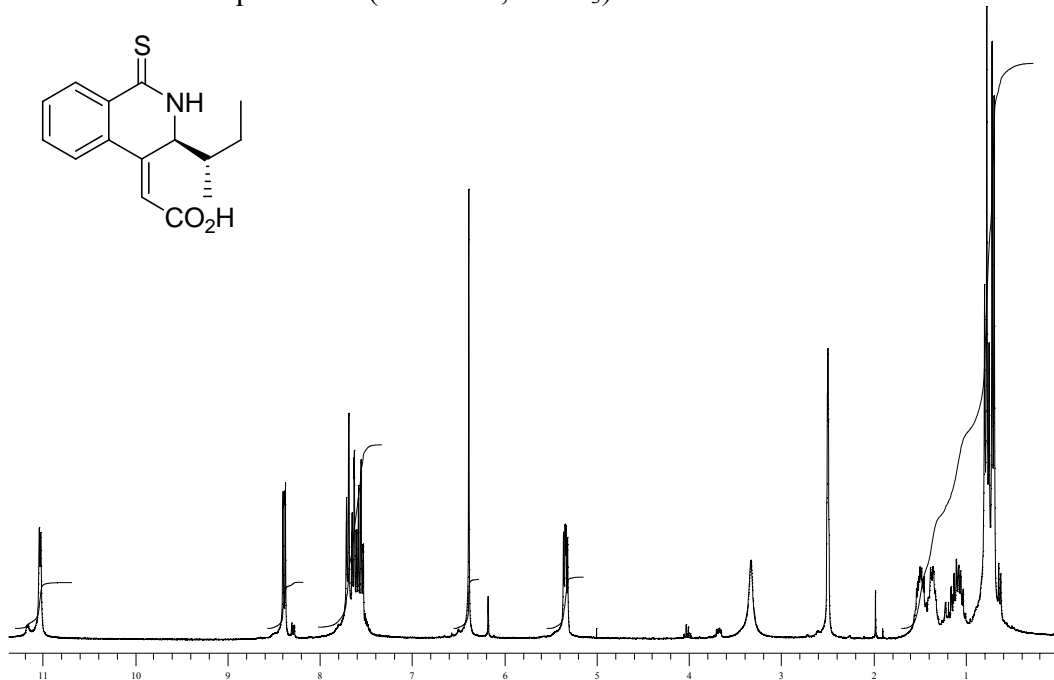
RMN-¹H del compuesto **67** (300 MHz, CDCl₃).



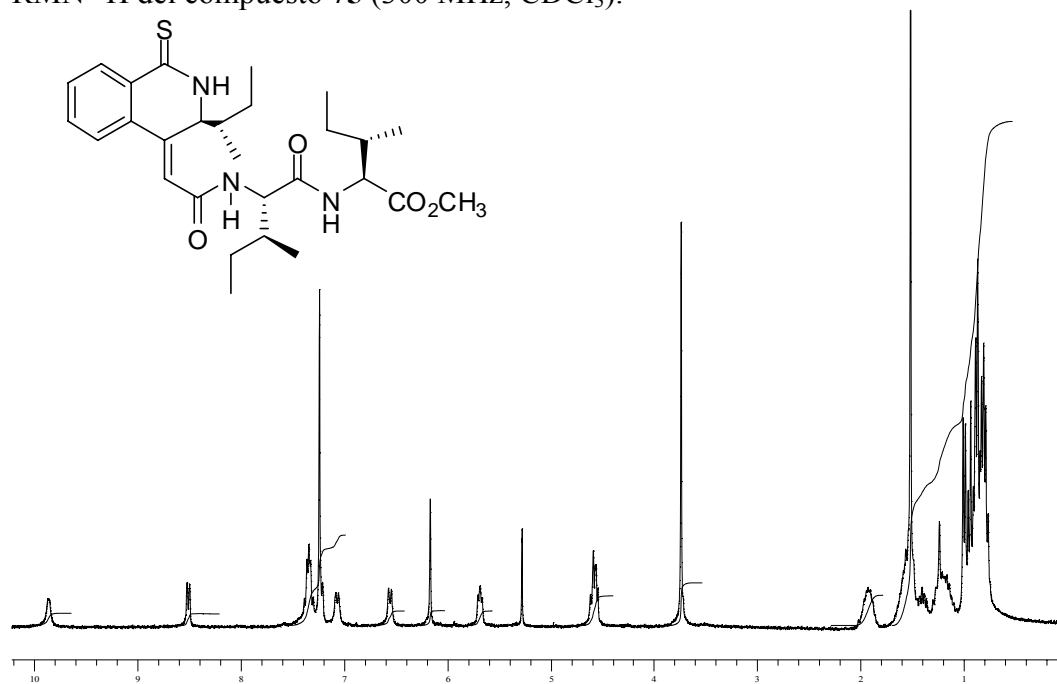
RMN-¹H del compuesto **71** (300 MHz, CDCl₃).



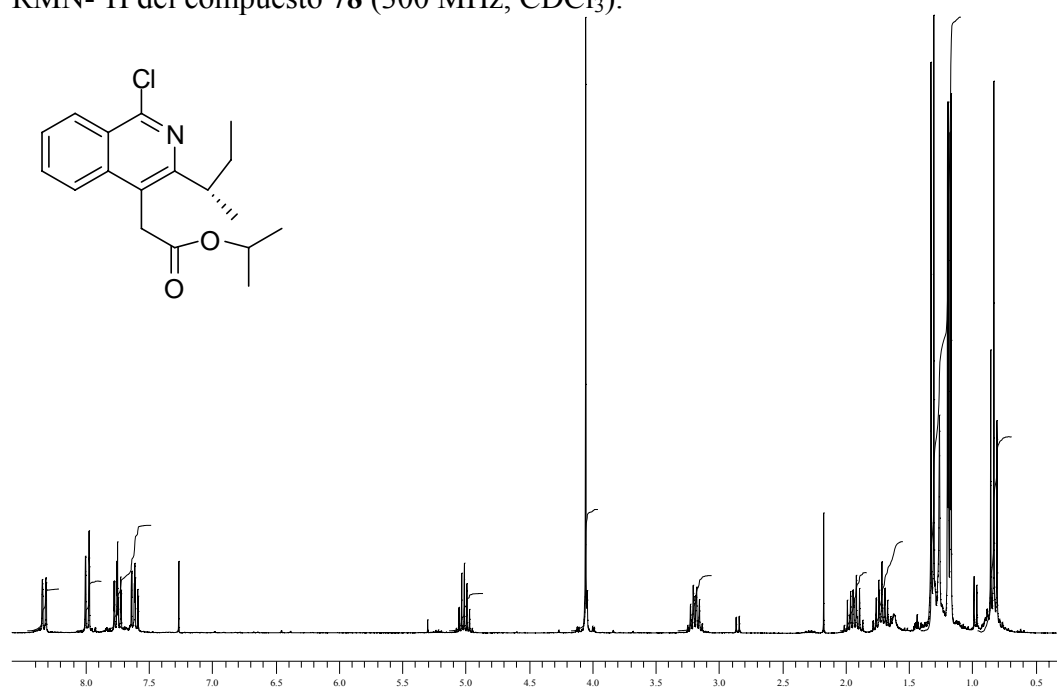
RMN-¹H del compuesto **73** (300 MHz, CDCl₃).



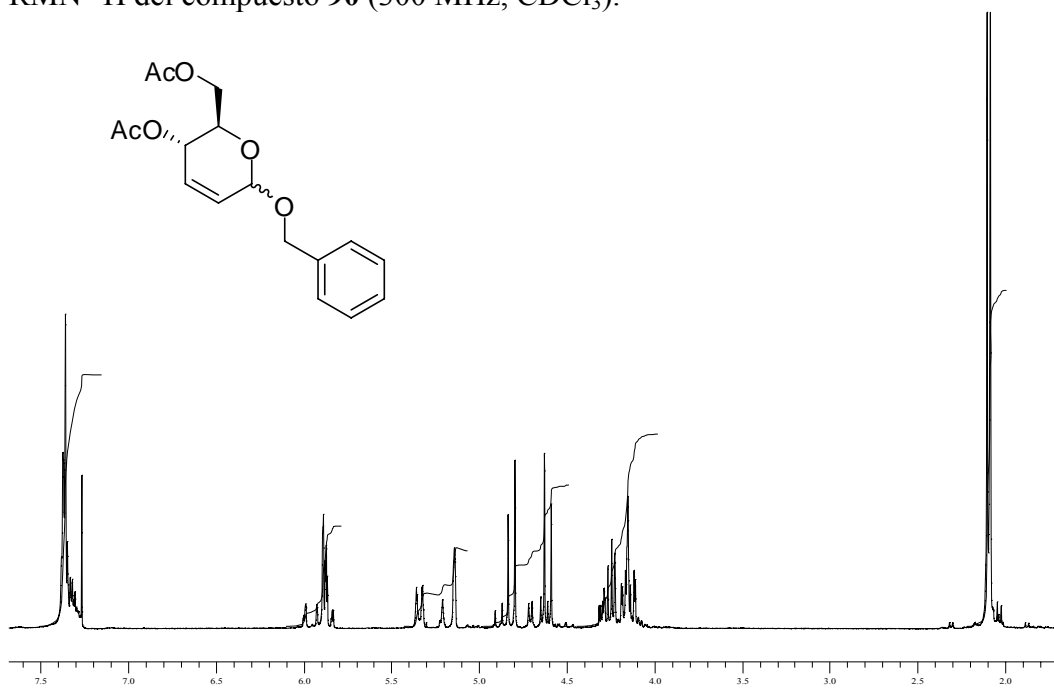
RMN-¹H del compuesto **75** (300 MHz, CDCl₃).



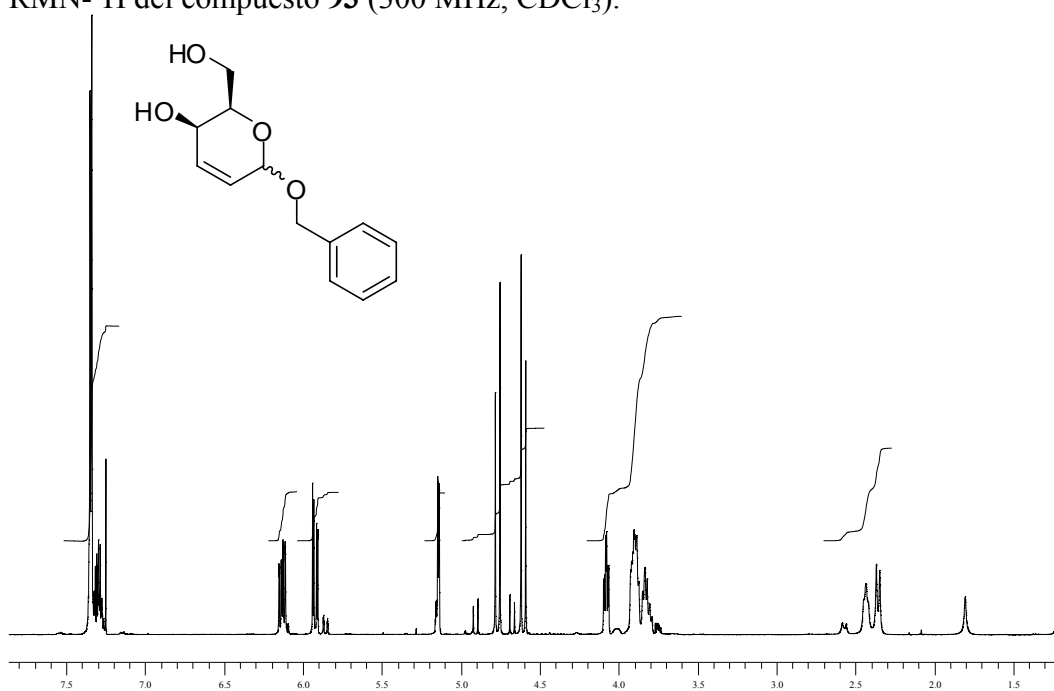
RMN-¹H del compuesto **78** (300 MHz, CDCl₃).



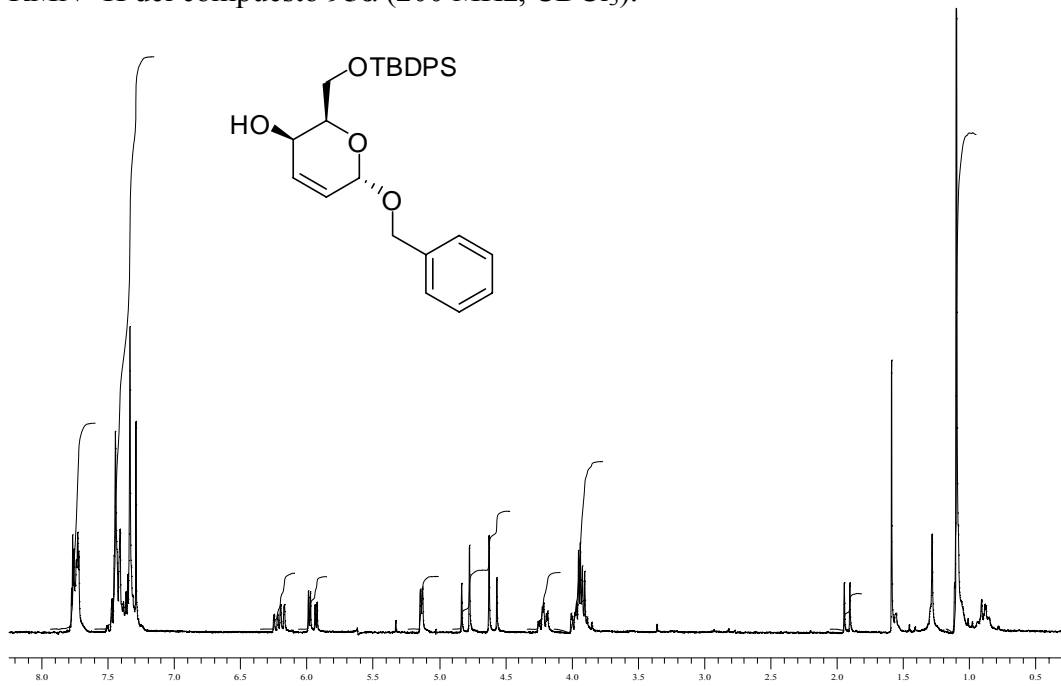
RMN-¹H del compuesto **90** (300 MHz, CDCl₃).



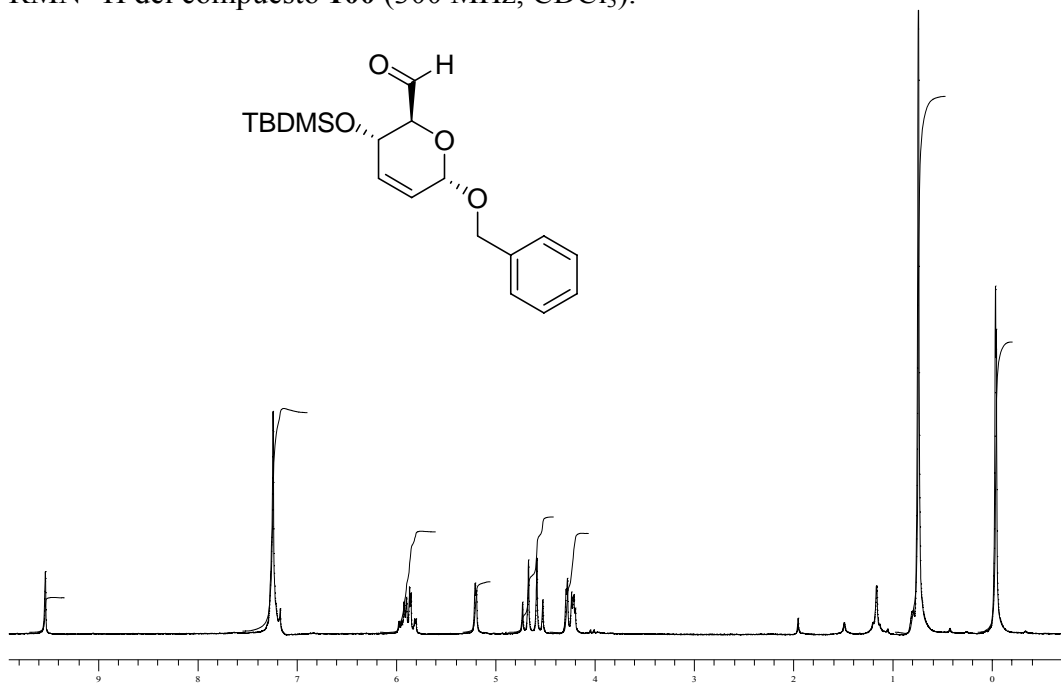
RMN-¹H del compuesto **93** (300 MHz, CDCl₃).



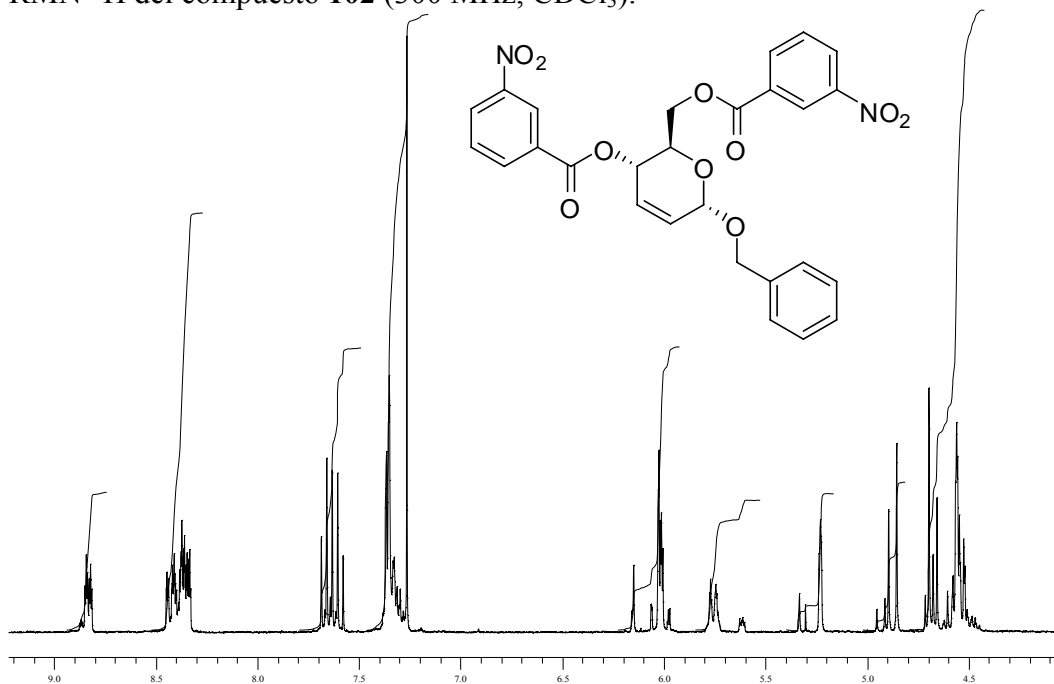
RMN-¹H del compuesto **95a** (200 MHz, CDCl₃).



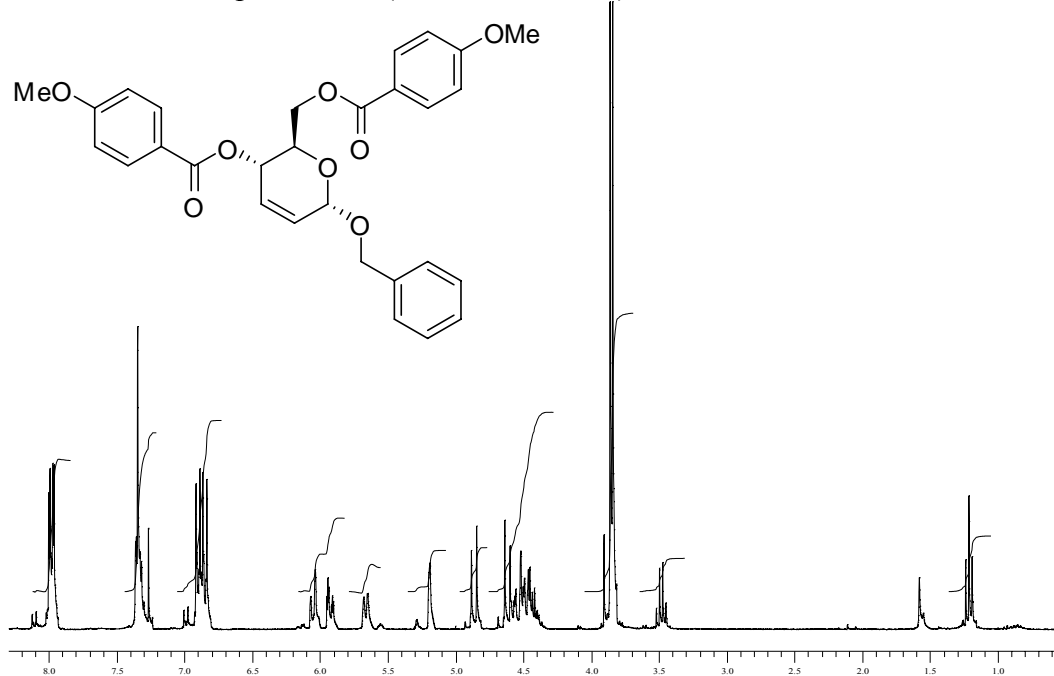
RMN-¹H del compuesto **100** (300 MHz, CDCl₃).



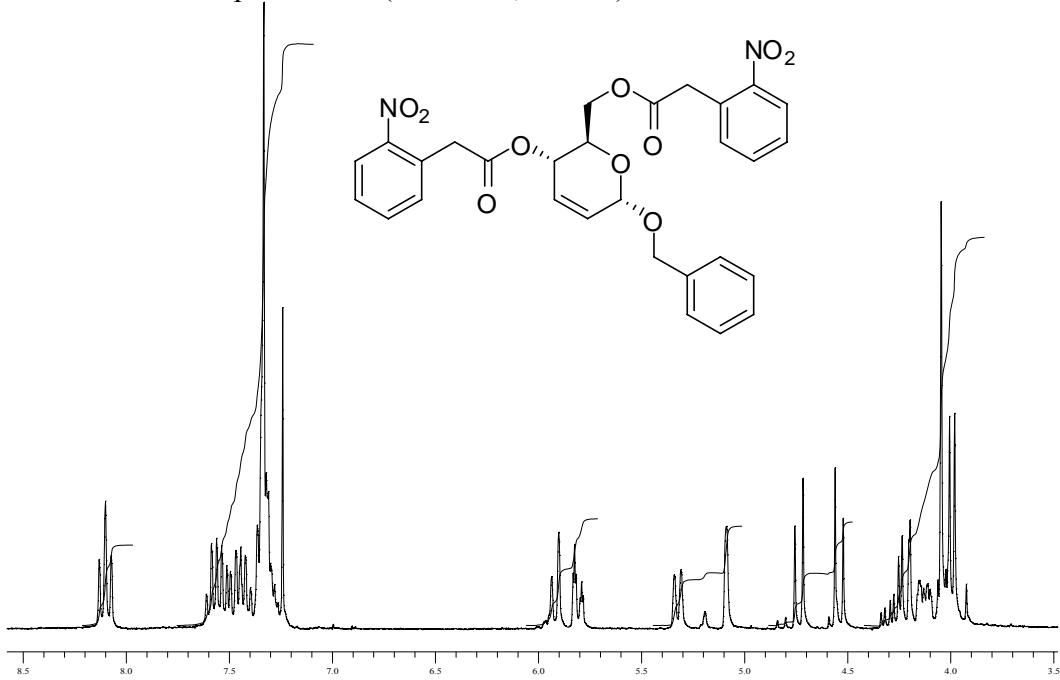
RMN-¹H del compuesto **102** (300 MHz, CDCl₃).



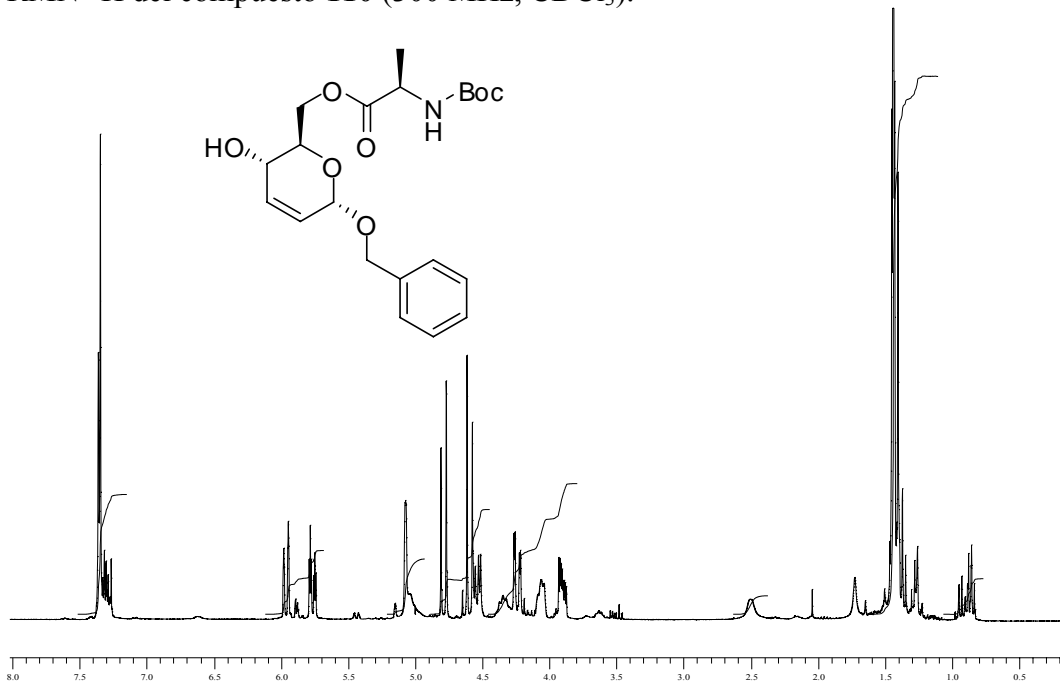
RMN-¹H del compuesto **105** (300 MHz, CDCl₃).



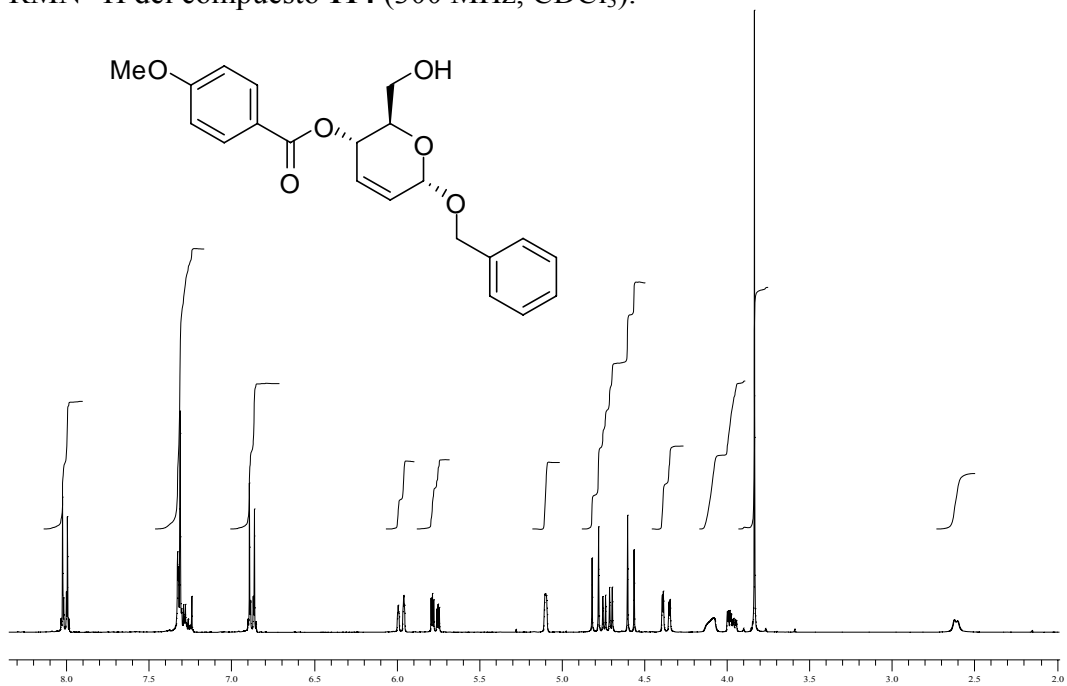
RMN-¹H del compuesto **108** (300 MHz, CDCl₃).



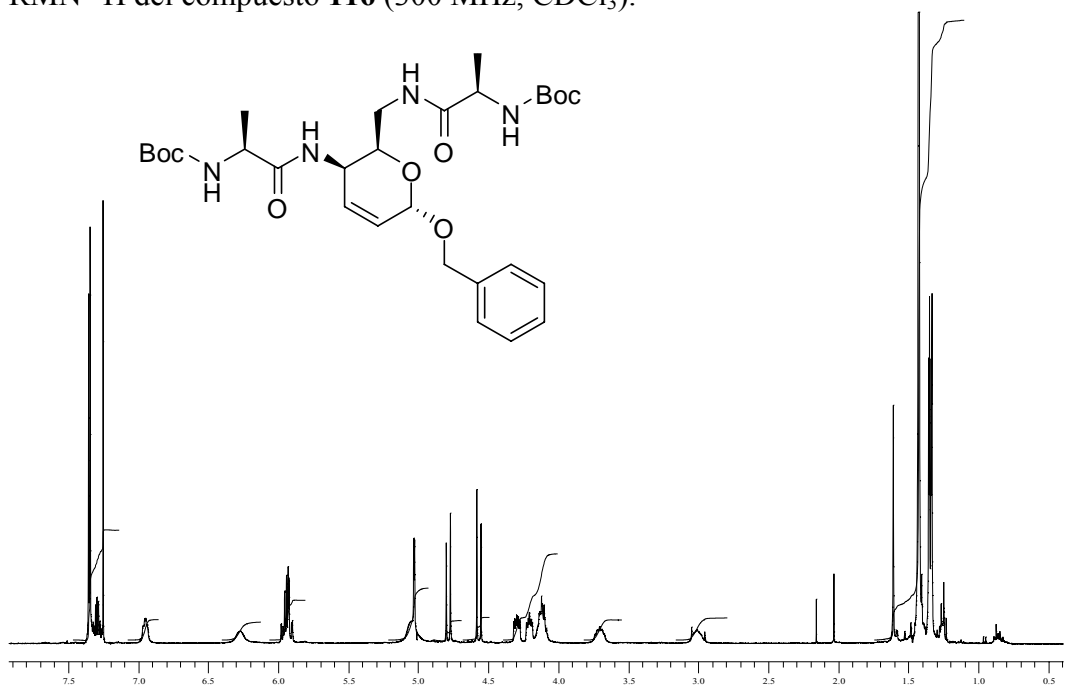
RMN-¹H del compuesto **110** (300 MHz, CDCl₃).



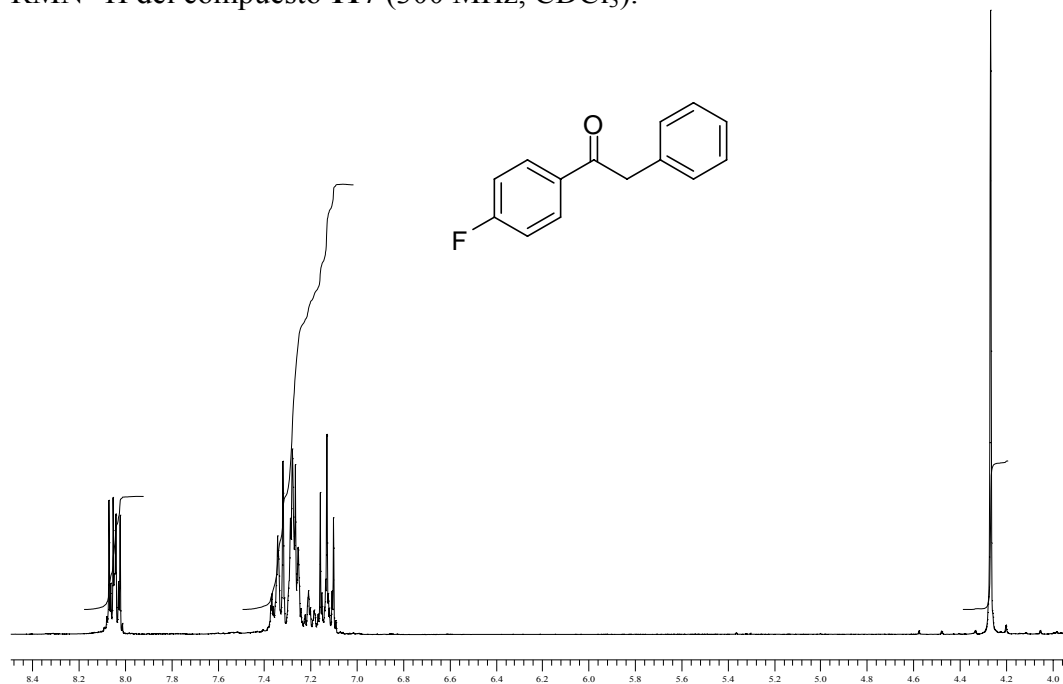
RMN-¹H del compuesto **114** (300 MHz, CDCl₃).



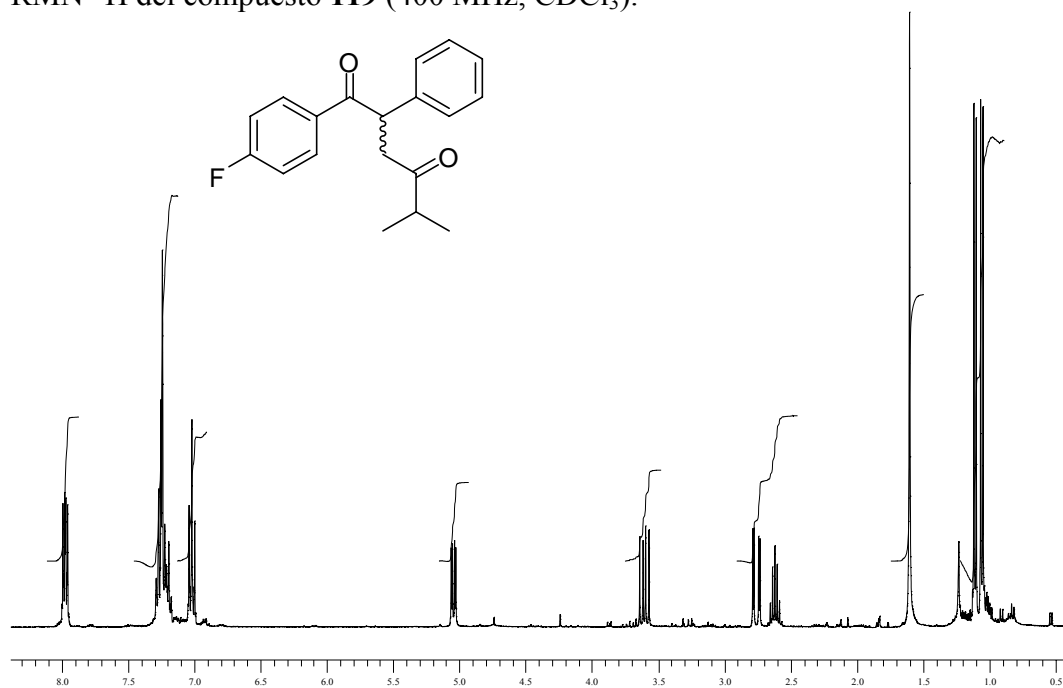
RMN-¹H del compuesto **116** (300 MHz, CDCl₃).



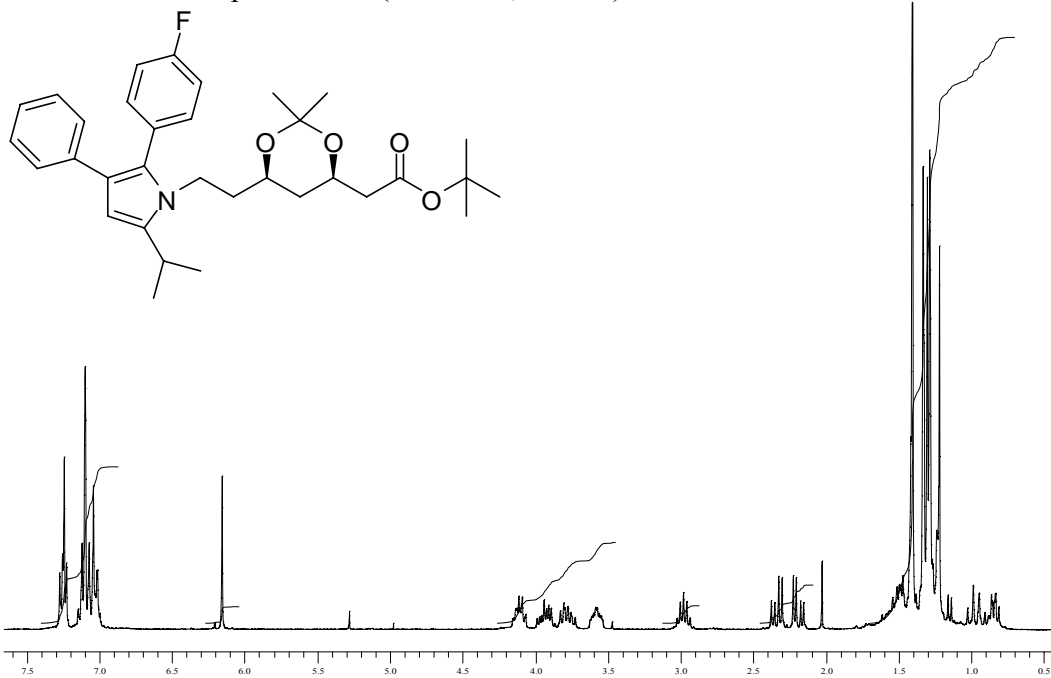
RMN-¹H del compuesto **117** (300 MHz, CDCl₃).



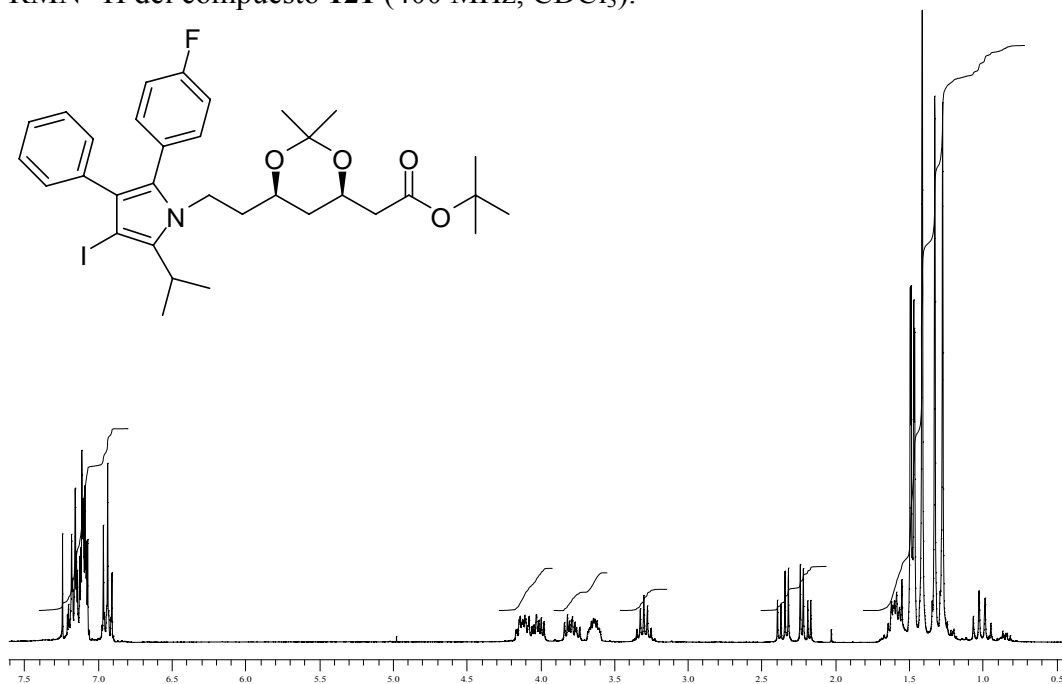
RMN-¹H del compuesto **119** (400 MHz, CDCl₃).



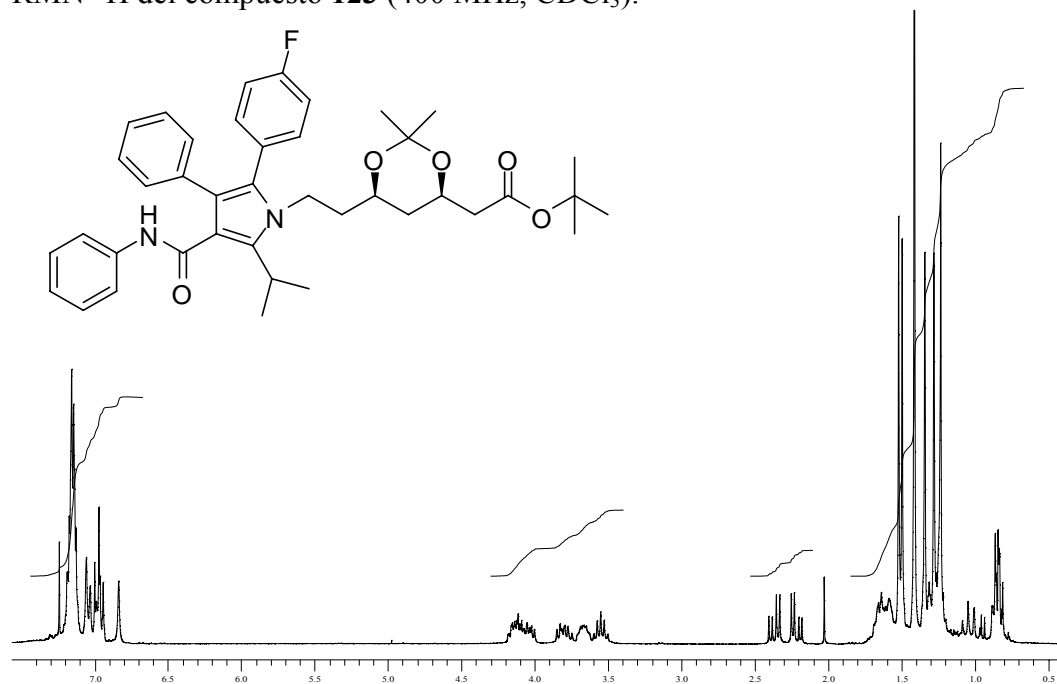
RMN-¹H del compuesto **120** (300 MHz, CDCl₃).



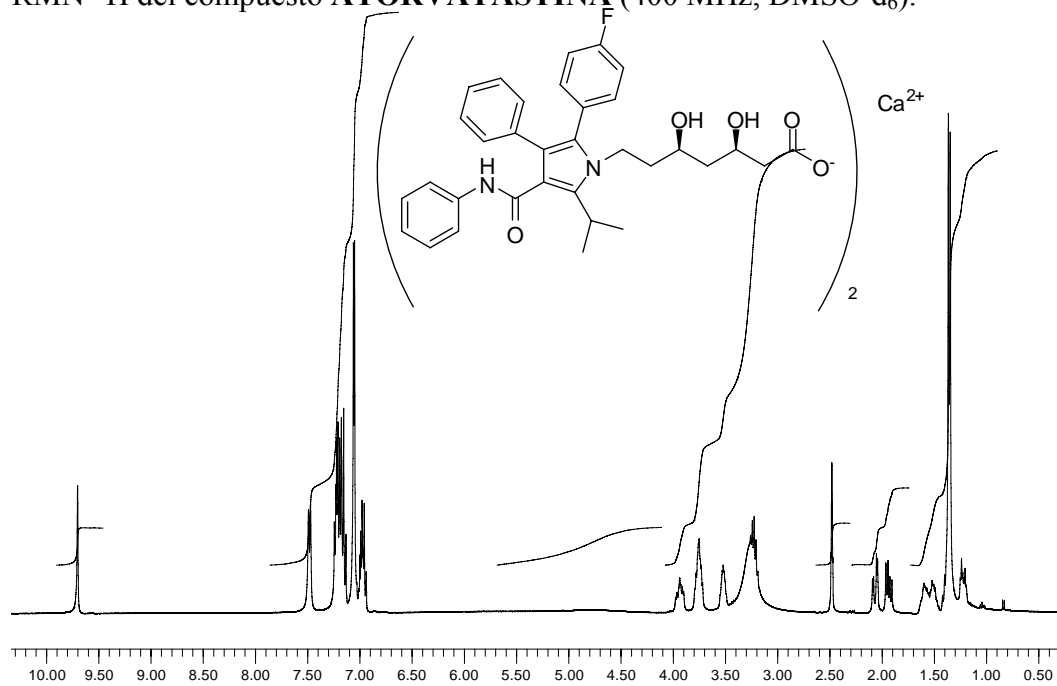
RMN-¹H del compuesto **121** (400 MHz, CDCl₃).



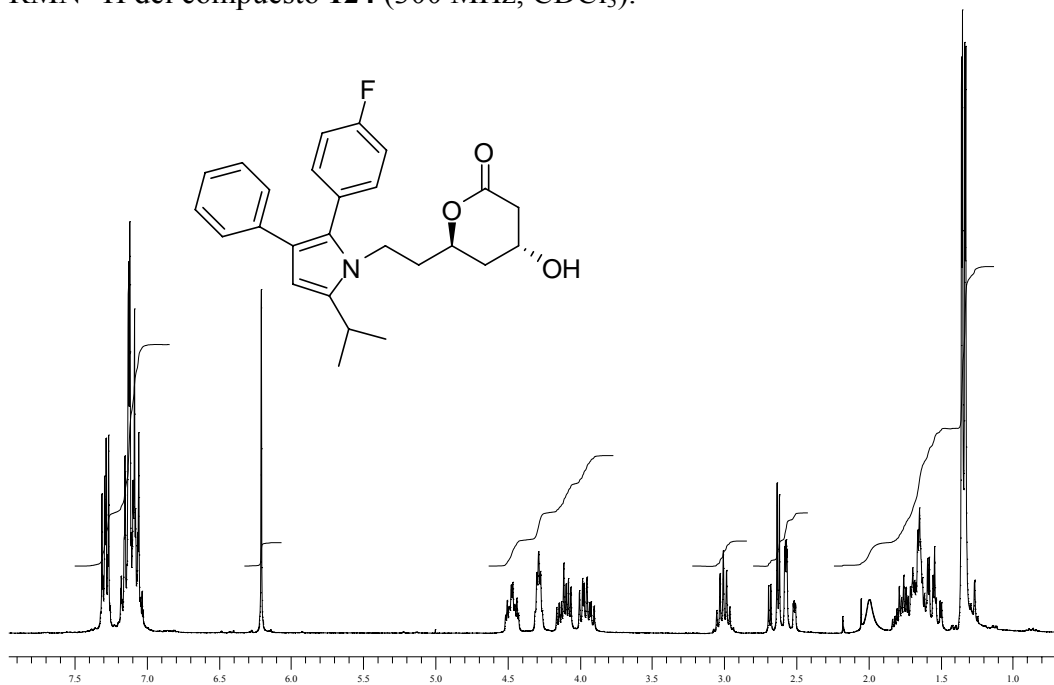
RMN-¹H del compuesto **123** (400 MHz, CDCl₃).



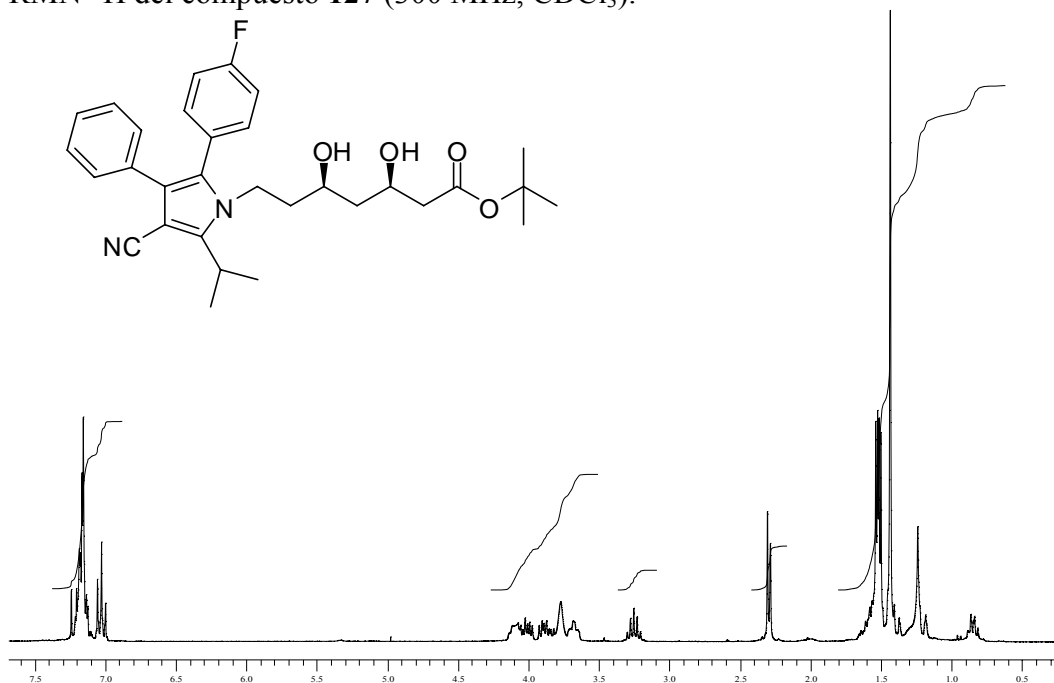
RMN-¹H del compuesto **ATORVATASTINA** (400 MHz, DMSO-d₆).



RMN- ^1H del compuesto **124** (300 MHz, CDCl_3).



RMN- ^1H del compuesto **127** (300 MHz, CDCl_3).



ANEXO II. DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Datos de difracción de rayos X para 14.

Table 1. Crystal data and structure refinement for 14.

Identification code	14
Empirical formula	C13 H18 I N O2
Formula weight	347.18
Temperature	298(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	P2(1)
Unit cell dimensions	a = 5.0224(7) Å $\alpha = 90^\circ$. b = 12.1999(16) Å $\beta = 97.705(2)^\circ$. c = 12.1385(17) Å $\gamma = 90^\circ$.
Volume	737.04(17) Å ³
Z	2
Density (calculated)	1.564 Mg/m ³
Absorption coefficient	2.164 mm ⁻¹
F(000)	344
Crystal size	0.33 x 0.18 x 0.10 mm ³
Theta range for data collection	1.69 to 25.69°.
Index ranges	-5 <= h <= 6, -8 <= k <= 14, -13 <= l <= 14
Reflections collected	3972
Independent reflections	2349 [R(int) = 0.0248]
Completeness to theta = 25.69°	99.3 %
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents
Max. and min. transmission	0.8127 and 0.5353
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	2349 / 1 / 155
Goodness-of-fit on F ²	1.198
Final R indices [I > 2sigma(I)]	R1 = 0.0352, wR2 = 0.0838

R indices (all data)	R1 = 0.0436, wR2 = 0.1009
Absolute structure parameter	0.02(4)
Extinction coefficient	0.051(4)
Largest diff. peak and hole	0.968 and -0.687 e.Å ⁻³

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{Å}^2 \times 10^3$) for **14**. U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized U^{ij} tensor.

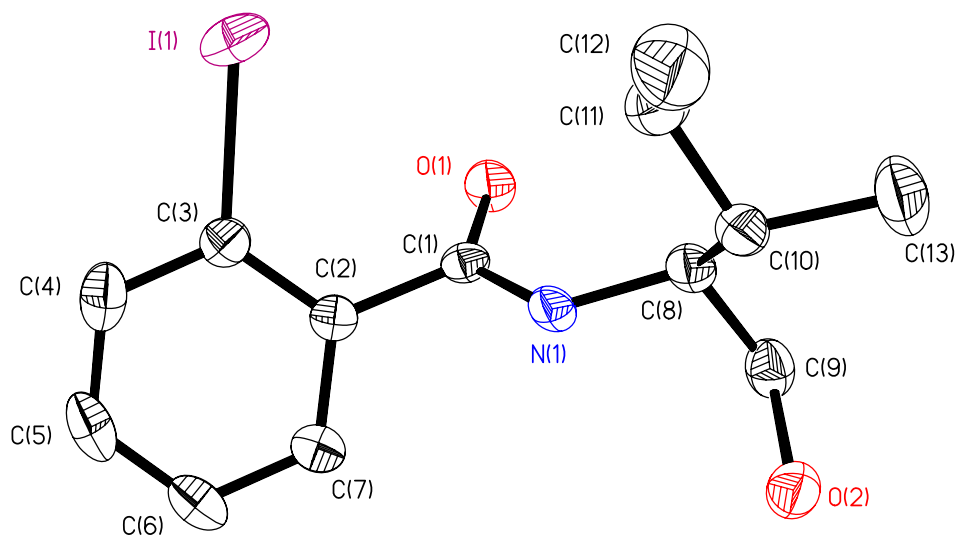
	x	y	z	U(eq)
I(1)	15631(1)	1852(1)	9673(1)	66(1)
O(1)	14247(6)	4232(4)	8338(3)	54(1)
O(2)	5741(9)	5580(4)	6639(3)	62(1)
N(1)	9737(7)	4029(4)	7971(3)	40(1)
C(1)	12034(9)	4031(5)	8648(4)	37(1)
C(2)	11831(9)	3815(4)	9852(4)	37(1)
C(3)	13273(11)	2984(5)	10443(4)	46(1)
C(4)	13088(15)	2828(7)	11561(5)	69(2)
C(5)	11416(17)	3477(8)	12082(5)	79(2)
C(6)	9945(16)	4297(8)	11517(6)	68(2)
C(7)	10132(11)	4460(5)	10402(4)	48(1)
C(8)	9480(9)	4240(6)	6768(4)	46(1)
C(9)	8480(12)	5399(6)	6515(5)	56(2)
C(10)	7796(11)	3325(6)	6151(4)	51(1)
C(11)	9161(17)	2208(6)	6366(6)	73(2)
C(12)	7390(20)	1217(10)	6061(7)	96(3)
C(13)	7260(20)	3564(9)	4892(5)	90(3)

Table 7. Hydrogen bonds for **14** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(2)-H(2A)...O(1)#1	0.82	2.00	2.817(6)	178.5
N(1)-H(1A)...O(1)#1	0.86	2.09	2.862(5)	149.4

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $x-1, y, z$



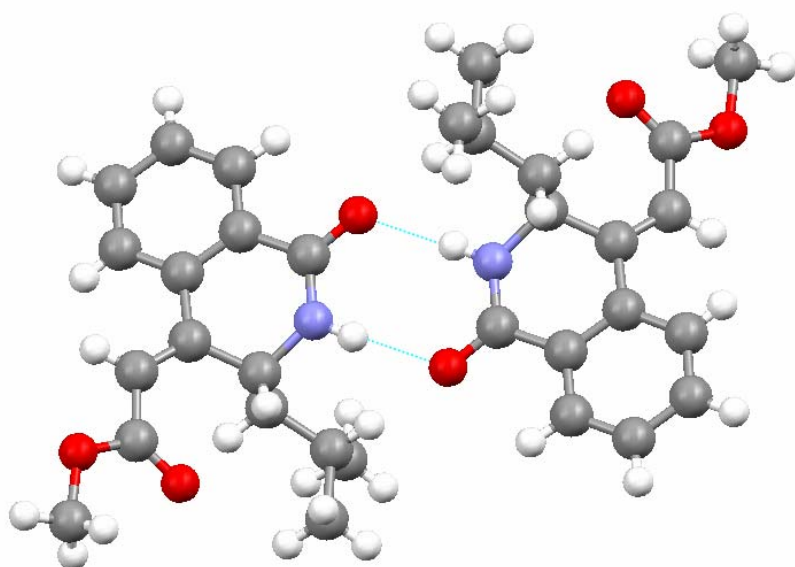
Datos de difracción de rayos X para 25.

Table 1. Crystal data and structure refinement for 25.

Identification code	25	
Empirical formula	C ₁₆ H ₁₉ N O ₃	
Formula weight	273.32	
Temperature	295(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system, space group	Triclinic, P-1	
Unit cell dimensions	a = 8.4991(10) Å	$\alpha = 80.896(2)^\circ$.
	b = 9.2569(11) Å	$\beta = 83.283(2)^\circ$
	c = 10.5914(13) Å	$\gamma = 65.929(2)^\circ$.
Volume	749.96(16) Å ³	
Z, Calculated density	2, 1.210 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.083 mm ⁻¹	
F(000)	292	
Crystal size	0.40 x 0.18 x 0.18 mm	
Theta range for data collection	1.95 to 26.37 deg.	
Limiting indices	-10 ≤ h ≤ 10, -11 ≤ k ≤ 11, -13 ≤ l ≤ 13	
Reflections collected / unique	6011 / 2944 [R(int) = 0.0371]	
Completeness to theta = 26.37	96.0 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	2944 / 0 / 257	
Goodness-of-fit on F ²	1.173	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0762, wR ₂ = 0.1265	
R indices (all data)	R ₁ = 0.1126, wR ₂ = 0.1396	
Largest diff. peak and hole	0.140 and -0.175 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{Å}^2 \times 10^3$) for **25**. U(eq) is defined as one third of the trace of the orthogonalized Uij tensor.

	x	y	z	U(eq)
O(1)	-472(2)	2105(2)	4729(2)	68(1)
O(2)	3322(3)	-2050(3)	137(2)	90(1)
O(3)	2542(3)	-552(3)	-1725(2)	77(1)
N(1)	1103(3)	264(3)	3419(2)	51(1)
C(1)	450(3)	1737(3)	3734(2)	50(1)
C(2)	851(3)	2955(3)	2827(2)	48(1)
C(3)	436(4)	4446(3)	3189(3)	61(1)
C(4)	826(4)	5587(4)	2382(3)	74(1)
C(5)	1643(4)	5236(4)	1202(3)	75(1)
C(6)	2040(4)	3775(3)	817(3)	63(1)
C(7)	1639(3)	2608(3)	1615(2)	48(1)
C(8)	2046(3)	1015(3)	1243(2)	48(1)
C(9)	2365(3)	-298(3)	2347(2)	45(1)
C(10)	2189(4)	782(3)	14(3)	57(1)
C(11)	2729(4)	-755(4)	-470(3)	61(1)
C(12)	4207(3)	-873(3)	2765(3)	54(1)
C(13)	4776(4)	-2346(4)	3757(3)	66(1)
C(14)	6296(6)	-2450(6)	4438(5)	100(1)
C(15)	5207(8)	-3856(5)	3156(5)	99(1)
C(18)	3159(7)	-2003(6)	-2321(4)	92(1)



Datos de difracción de rayos X para 23.Table 1. Crystal data and structure refinement for **23**.

Identification code	23	
Empirical formula	C ₁₉ H ₁₇ N O ₃	
Formula weight	307.34	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	P2(1)/n	
Unit cell dimensions	a = 11.1964(8) Å	α = 90°.
	b = 5.1204(4) Å	β = 92.532(2)°.
	c = 27.941(2) Å	γ = 90°.
Volume	1600.3(2) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.276 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.087 mm ⁻¹	
F(000)	648	
Crystal size	0.55 x 0.20 x 0.20 mm ³	
Theta range for data collection	1.46 to 28.28°.	
Index ranges	-10 ≤ h ≤ 14, -6 ≤ k ≤ 6, -36 ≤ l ≤ 36	
Reflections collected	10225	
Independent reflections	3928 [R(int) = 0.0677]	
Completeness to theta = 28.28°	98.9 %	
Absorption correction	Empirical	
Max. and min. transmission	0.9829 and 0.9539	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	3928 / 0 / 208	
Goodness-of-fit on F ²	0.958	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R ₁ = 0.0616, wR ₂ = 0.1371	
R indices (all data)	R ₁ = 0.1367, wR ₂ = 0.1803	
Largest diff. peak and hole	0.297 and -0.367 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **23**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

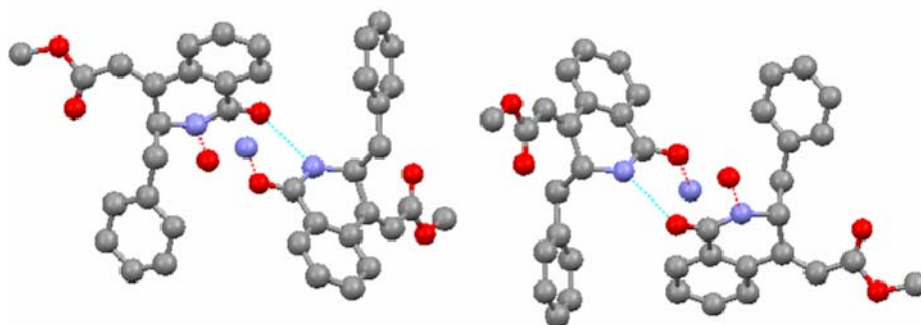
	x	y	z	$U(\text{eq})$
O(1)	3258(1)	4067(3)	2257(1)	51(1)
O(2)	4850(2)	7157(4)	4409(1)	80(1)
O(3)	6835(2)	7481(4)	4432(1)	76(1)
N(1)	3417(2)	5053(3)	3043(1)	41(1)
C(1)	5475(2)	1947(4)	3160(1)	38(1)
C(2)	6441(2)	231(4)	3209(1)	50(1)
C(3)	6674(2)	-1527(5)	2844(1)	58(1)
C(4)	5948(2)	-1600(5)	2435(1)	61(1)
C(5)	4995(2)	95(5)	2379(1)	53(1)
C(6)	4748(2)	1850(4)	2739(1)	40(1)
C(7)	3739(2)	3731(4)	2659(1)	39(1)
C(8)	3873(2)	4608(4)	3534(1)	38(1)
C(9)	5175(2)	3813(4)	3539(1)	38(1)
C(10)	6000(2)	4680(5)	3865(1)	49(1)
C(11)	5792(2)	6520(5)	4255(1)	54(1)
C(12)	6775(3)	9321(7)	4823(1)	94(1)
C(13)	3152(2)	2484(5)	3787(1)	49(1)
C(14)	1929(2)	3338(5)	3931(1)	48(1)
C(15)	912(2)	2060(7)	3762(1)	70(1)
C(16)	-199(3)	2783(9)	3916(1)	95(1)
C(17)	-315(3)	4748(8)	4234(1)	94(1)
C(18)	679(3)	6057(7)	4404(1)	93(1)
C(19)	1791(2)	5363(6)	4255(1)	74(1)

Table 7. Hydrogen bonds for **23** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(1)-H(1A)...O(1)#1	0.86	2.04	2.882(2)	167.9

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $-x+1/2, y+1/2, -z+1/2$



Datos de difracción de rayos X para 29.Table 1. Crystal data and structure refinement for **29**.

Identification code	29	
Empirical Formula	C14 H15 NO3	
Formula Weight	245.23	
Crystal System	Orthorhombic	
Space group	P212121 (No. 19)	
a, b, c [Angstrom]	5.7261(1)	
	14.3819(1)	
	15.3580(3)	
V [Ang**3]	1264.77(3)	
Z	4	
D(obs), D(calc) [g/cm**3]	0.000, 1.288	
F(000)	520	
Mu(MoKa) [/mm]	0.091	
Crystal Size [mm]	0.25 x 0.35 x 0.40	
Temperature (K)	298	
Radiation [Angstrom]	MoKa 0.71073	
Theta Min-Max [Deg]	1.9, 28.3	
Dataset	-6:7 ; -19:17 ; -20: 20	
Tot., Uniq. Data, R(int)	8788, 3112, 0.020	
Observed data [I > 2.0 sigma(I)]	2607	
Nref, Npar	3112, 195	
R, wR, S	0.0449, 0.1228, 1.03	
$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0650P)^2 + 0.1540P]$ where $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$		
Max. and Av. Shift/Error		0.00, 0.00
Min. and Max. resd. dens. [e/Ang^3]		-0.14,
0.19		

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **29**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

	x	y	z	U(eq)
01	0.7904(3)	0.52817(8)	0.85334(10)	0.0699(5)
02	0.6523(3)	0.02627(9)	0.79007(12)	0.0892(7)
03	0.5506(3)	0.13444(8)	0.69506(10)	0.0652(5)
N1	0.7162(3)	0.40706(8)	0.76401(10)	0.0527(4)
C1	1.0724(3)	0.30210(12)	0.84122(10)	0.0458(5)
C2	1.2661(3)	0.25574(14)	0.87606(11)	0.0569(6)
C3	1.4163(4)	0.30083(19)	0.93213(14)	0.0696(8)
C4	1.3778(4)	0.39180(18)	0.95547(14)	0.0707(8)
C5	1.1907(4)	0.44030(15)	0.92117(13)	0.0633(7)
C6	1.0390(3)	0.39595(12)	0.86336(11)	0.0496(5)
C7	0.8400(3)	0.44834(11)	0.82699(11)	0.0509(5)
CS	0.7673(3)	0.31729(10)	0.72330(10)	0.0467(5)
C9	0.8959(3)	0.25540(11)	0.78609(10)	0.0490(4)
*C10'	0.8676(12)	0.3171(5)	0.6305(3)	0.0800(19)
*C11'	1.0120(9)	0.2548(3)	0.5985(2)	0.0841(16)
*C12'	0.7182(19)	0.3846(7)	0.5738(7)	0.132(4)
C13	0.8565(3)	0.16432(11)	0.79687(12)	0.0517(5)
C14	0.6778(4)	0.10289(11)	0.75909(12)	0.0550(5)
*C10	0.9437(13)	0.3465(4)	0.6461(4)	0.0453(16)
*C11	1.1139(14)	0.3374(5)	0.6256(4)	0.082(3)
*C12	0.818(2)	0.4060(7)	0.5807(9)	0.077(3)

$U(\text{eq}) = 1/3$ of the trace of the orthogonalized U Tens-, Starred Atom sites have a S.O.F less than

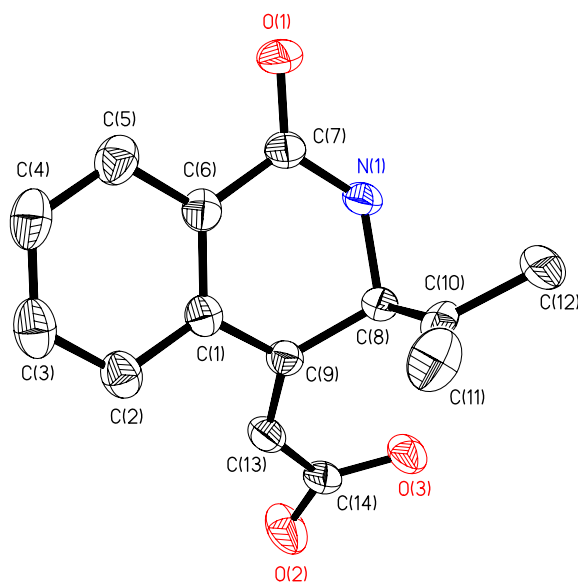
1.0

Table 7. Hydrogen bonds for **29** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N1-- H1A .. O2	0.8599	1.9953	2.843(2)	168.35 4_656 yes
O3-- H3A .. O1	0.8202	1.7754	2.589(2)	171.01 4_646 yes
C8-- HBA .. O3	0.9801	2.2447	2.940(2)	126.94 yes

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 -x+1/2,y+1/2,-z+1/2



Datos de difracción de rayos X para 30.

Table 1. Crystal data and structure refinement for 30.

Identification code	30	
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₇ N O ₃	
Formula weight	259.30	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2(1)2(1)2(1)	
Unit cell dimensions	a = 5.5785(12) Å	α = 90°.
	b = 14.446(3) Å	β = 90°.
	c = 16.711(4) Å	γ = 90°.
Volume	1346.7(5) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.279 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.089 mm ⁻¹	
F(000)	552	
Crystal size	0.50 x 0.17 x 0.15 mm ³	
Theta range for data collection	1.86 to 25.73°.	
Index ranges	-6 ≤ h ≤ 6, -11 ≤ k ≤ 17, -17 ≤ l ≤ 20	
Reflections collected	7331	
Independent reflections	2558 [R(int) = 0.0264]	
Completeness to theta = 25.73°	99.8 %	
Absorption correction	Semi-empirical	
Max. and min. transmission	0.9867 and 0.9568	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	2558 / 0 / 176	
Goodness-of-fit on F ²	1.095	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0362, wR2 = 0.0893	
R indices (all data)	R1 = 0.0511, wR2 = 0.1069	
Absolute structure parameter	-0.9(15)	
Largest diff. peak and hole	0.177 and -0.243 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **30**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

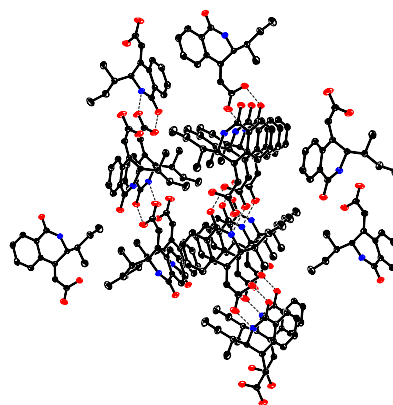
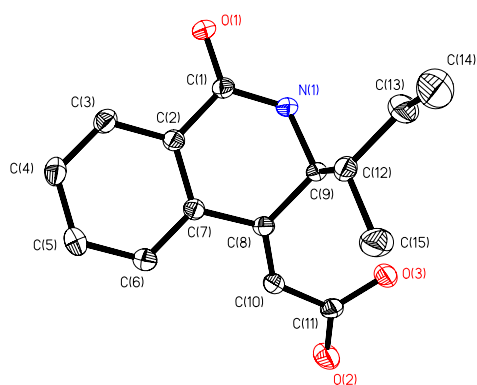
	x	y	z	U(eq)
O(1)	2746(3)	111(1)	6502(1)	44(1)
O(2)	1654(3)	5135(1)	7124(1)	64(1)
O(3)	539(3)	4025(1)	7954(1)	51(1)
N(1)	2054(3)	1337(1)	7304(1)	34(1)
C(1)	3298(4)	901(1)	6743(1)	32(1)
C(2)	5362(4)	1399(1)	6388(1)	31(1)
C(3)	6896(4)	939(1)	5869(1)	38(1)
C(4)	8789(4)	1401(2)	5524(1)	41(1)
C(5)	9172(4)	2321(1)	5699(1)	39(1)
C(6)	7655(4)	2787(1)	6214(1)	35(1)
C(7)	5705(3)	2337(1)	6560(1)	29(1)
C(8)	3968(3)	2815(1)	7083(1)	30(1)
C(9)	2782(4)	2197(1)	7695(1)	31(1)
C(10)	3546(4)	3719(1)	6975(1)	35(1)
C(11)	1825(4)	4348(1)	7365(1)	38(1)
C(12)	4465(4)	1988(1)	8411(1)	39(1)
C(13)	3197(6)	1368(2)	9015(1)	63(1)
C(14)	4777(7)	1008(2)	9681(2)	88(1)
C(15)	5361(6)	2866(2)	8805(1)	63(1)

Table 7. Hydrogen bonds for **30** [\AA and $^\circ$].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	$\angle(\text{DHA})$
O(3)-H(3A)...O(1)#1	0.97(3)	1.61(3)	2.578(2)	172(3)
N(1)-H(1A)...O(2)#2	0.86	2.04	2.865(2)	159.4

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $-x, y+1/2, -z+3/2$ #2 $-x, y-1/2, -z+3/2$



Datos de difracción de rayos X para 31.Table 1. Crystal data and structure refinement for **31**.

Identification code	31	
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₇ N O ₃	
Formula weight	259.30	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2(1)2(1)2(1)	
Unit cell dimensions	a = 5.5379(6) Å	α = 90°.
	b = 14.1182(15) Å	β = 90°.
	c = 17.3679(19) Å	γ = 90°.
Volume	1357.9(3) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.268 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.088 mm ⁻¹	
F(000)	552	
Crystal size	0.21 x 0.14 x 0.12 mm ³	
Theta range for data collection	2.75 to 25.74°.	
Index ranges	-6 ≤ h ≤ 4, -17 ≤ k ≤ 17, -20 ≤ l ≤ 20	
Reflections collected	7410	
Independent reflections	2571 [R(int) = 0.0251]	
Completeness to theta = 25.74°	99.3 %	
Absorption correction	Semi-empirical	
Max. and min. transmission	0.9895 and 0.9817	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	2571 / 0 / 176	
Goodness-of-fit on F ²	1.030	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0391, wR2 = 0.0959	
R indices (all data)	R1 = 0.0549, wR2 = 0.1046	
Absolute structure parameter	0.9(15)	
Largest diff. peak and hole	0.150 and -0.136 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **31**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

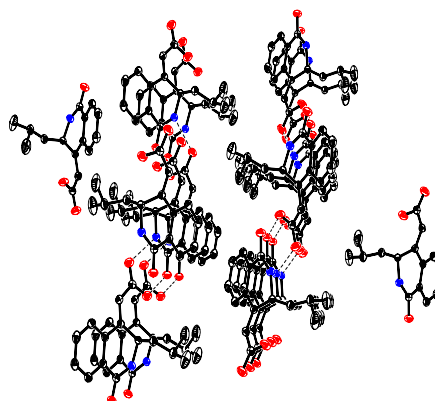
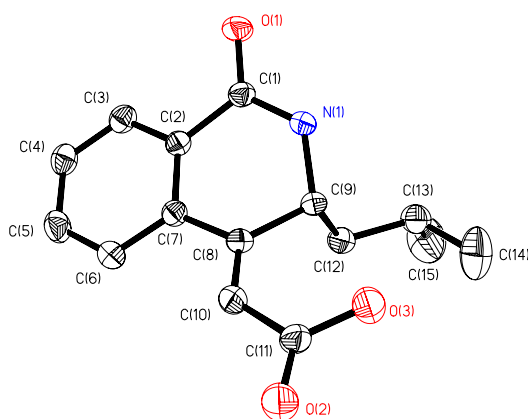
	x	y	z	U(eq)
O(1)	1596(3)	8601(1)	3119(1)	56(1)
O(2)	3759(3)	3390(1)	3196(1)	73(1)
O(3)	4857(3)	4529(1)	2397(1)	68(1)
N(1)	2556(3)	7217(1)	2553(1)	43(1)
C(1)	1238(4)	7736(1)	3025(1)	40(1)
C(2)	-678(4)	7246(1)	3465(1)	38(1)
C(3)	-2371(4)	7788(1)	3858(1)	46(1)
C(4)	-4114(4)	7365(2)	4298(1)	52(1)
C(5)	-4159(4)	6389(2)	4351(1)	56(1)
C(6)	-2507(4)	5842(2)	3961(1)	49(1)
C(7)	-728(3)	6257(1)	3510(1)	38(1)
C(8)	1115(3)	5709(1)	3079(1)	38(1)
C(9)	2126(4)	6216(1)	2381(1)	39(1)
C(10)	1701(4)	4831(1)	3283(1)	46(1)
C(11)	3523(4)	4188(1)	2955(1)	47(1)
C(12)	409(4)	6105(1)	1695(1)	49(1)
C(13)	1453(5)	6423(2)	929(1)	62(1)
C(14)	3333(7)	5734(3)	641(2)	118(1)
C(15)	-473(7)	6527(3)	332(2)	115(1)

Table 7. Hydrogen bonds for **31** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
O(3)-H(3A)...O(1)#1	1.02(3)	1.52(3)	2.526(2)	167(2)
N(1)-H(1A)...O(2)#2	0.86	2.09	2.933(2)	168.3

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $-x+1, y-1/2, -z+1/2$ #2 $-x+1, y+1/2, -z+1/2$



Datos de difracción de rayos X para 53.Table 1. Crystal data and structure refinement for **53** (TA).

Identification code	53	
Empirical formula	C ₃₆ H ₄₆ N ₂ O ₆	
Formula weight	614.76	
Temperature	298(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2(1)2(1)2(1)	
Unit cell dimensions	a = 10.9272(11) Å	$\alpha = 90^\circ$.
	b = 14.3511(15) Å	$\beta = 90^\circ$.
	c = 23.029(2) Å	$\gamma = 90^\circ$.
Volume	3611.3(6) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.131 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.076 mm ⁻¹	
F(000)	1320	
Crystal size	0.25 x 0.13 x 0.08 mm ³	
Theta range for data collection	1.67 to 27.00°.	
Index ranges	-13 ≤ h ≤ 11, -18 ≤ k ≤ 17, -27 ≤ l ≤ 29	
Reflections collected	22481	
Independent reflections	7820 [R(int) = 0.0649]	
Completeness to theta = 27.00°	99.5 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.9943 and 0.9811	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	7820 / 0 / 447	
Goodness-of-fit on F ²	0.956	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0808, wR2 = 0.2007	
R indices (all data)	R1 = 0.1893, wR2 = 0.2567	
Absolute structure parameter	1(2)	
Largest diff. peak and hole	0.668 and -0.282 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **53**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

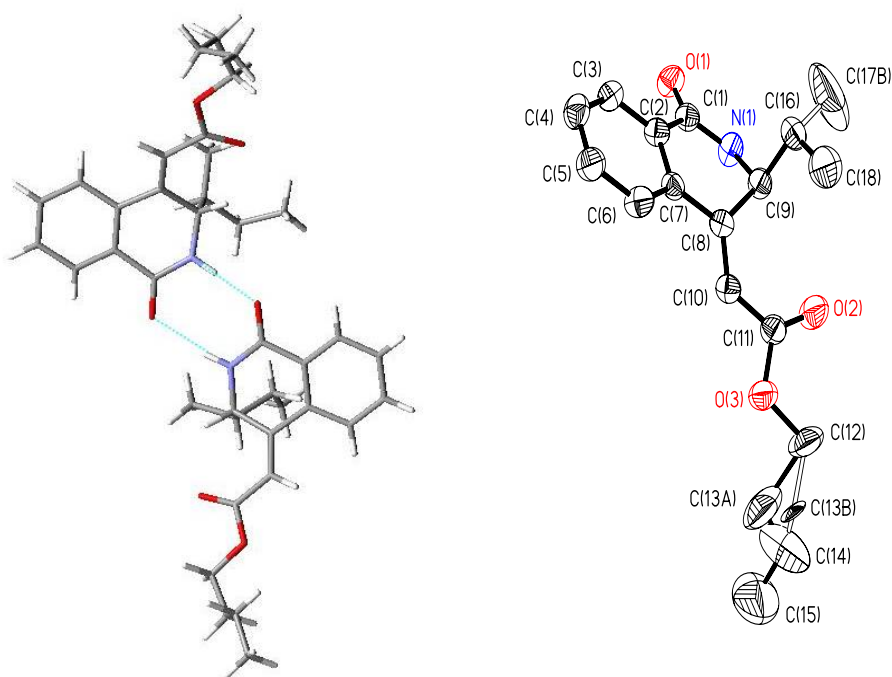
	x	y	z	$U(\text{eq})$
O(1)	8947(4)	2736(2)	8736(2)	81(1)
O(2)	6966(4)	4648(3)	6420(2)	99(1)
O(3)	8012(4)	5952(3)	6272(1)	89(1)
O(4)	8833(4)	1591(2)	7370(2)	91(1)
O(5)	10245(4)	-1165(3)	9421(2)	103(1)
O(6)	11491(4)	-2216(3)	9016(1)	92(1)
N(1)	8014(4)	3219(2)	7919(2)	73(1)
N(2)	8986(4)	780(2)	8206(2)	60(1)
C(1)	8482(5)	3363(3)	8443(2)	63(1)
C(2)	8496(5)	4348(3)	8640(2)	62(1)
C(3)	8897(5)	4553(4)	9195(2)	74(1)
C(4)	8969(5)	5475(4)	9374(2)	81(2)
C(5)	8624(6)	6185(4)	9013(2)	85(2)
C(6)	8240(5)	5988(3)	8459(2)	71(1)
C(7)	8159(4)	5074(3)	8251(2)	55(1)
C(8)	7758(4)	4834(3)	7660(2)	51(1)
C(9)	7218(5)	3876(3)	7610(2)	66(1)
C(10)	7910(4)	5425(3)	7216(2)	59(1)
C(11)	7558(5)	5271(4)	6618(2)	68(1)
C(12)	7672(9)	5927(5)	5658(3)	125(3)
C(13A)	9060(50)	6470(20)	5398(7)	202(14)
C(13B)	8150(30)	6689(14)	5319(8)	65(13)
C(14)	9090(30)	6480(20)	4920(13)	399(18)
C(15)	10187(18)	6820(15)	4659(6)	294(11)
C(16)	5913(5)	3816(4)	7845(3)	90(2)

C(17A)	4680(20)	2385(11)	7696(14)	440(20)
C(17B)	5483(11)	2781(9)	7774(8)	296(10)
C(18)	5082(6)	4515(6)	7565(3)	127(3)
C(19)	8829(4)	829(3)	7636(2)	61(1)
C(20)	8674(4)	-60(3)	7312(2)	54(1)
C(21)	8328(4)	-48(4)	6733(2)	72(1)
C(22)	8191(5)	-863(4)	6427(2)	80(2)
C(23)	8423(6)	-1681(4)	6697(2)	83(2)
C(24)	8814(5)	-1730(3)	7265(2)	76(2)
C(25)	8938(4)	-912(3)	7594(2)	55(1)
C(26)	9331(4)	-887(3)	8202(2)	55(1)
C(27)	8814(4)	-84(3)	8544(2)	59(1)
C(28)	10073(5)	-1542(3)	8404(2)	63(1)
C(29)	10577(5)	-1601(4)	8995(2)	71(1)
C(30)	12140(7)	-2299(5)	9581(2)	108(2)
C(31A)	13560(20)	-2536(17)	9397(9)	120(10)
C(32A)	13717(18)	-3330(19)	9106(9)	132(11)
C(31B)	12950(20)	-3181(18)	9478(7)	94(10)
C(32B)	13920(50)	-2900(50)	8960(20)	320(40)
C(33)	14983(10)	-3677(9)	9006(4)	171(4)
C(34)	7421(6)	-212(4)	8697(2)	82(2)
C(35)	7135(7)	-1171(5)	8942(3)	116(2)
C(36A)	6530(60)	607(14)	9500(18)	360(40)
C(36B)	7039(8)	569(5)	9109(4)	103(5)

Table 7. Hydrogen bonds for **53** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(1)-H(1A)...O(4)	0.86	1.95	2.803(5)	171.8
N(2)-H(2A)...O(1)	0.86	2.26	3.061(5)	155.4

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:



Datos de difracción de rayos X para 71 no centro simétrico

Table 1. Crystal data and structure refinement for 71 no centrosimétrico.

Identification code	71 NC	
Empirical formula	C ₃₂ H ₃₈ N ₂ O ₄ S ₂	
Formula weight	578.76	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinic	
Space group	C2/c	
Unit cell dimensions	a = 15.5655(16) Å	$\alpha = 90^\circ$.
	b = 11.0801(12) Å	$\beta = 98.159(2)^\circ$.
	c = 18.4519(19) Å	$\gamma = 90^\circ$.
Volume	3150.1(6) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.220 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.206 mm ⁻¹	
F(000)	1232	
Crystal size	0.43 x 0.22 x 0.12 mm ³	
Theta range for data collection	2.44 to 25.71°.	
Index ranges	-18 ≤ h ≤ 18, -13 ≤ k ≤ 7, -22 ≤ l ≤ 22	
Reflections collected	8455	
Independent reflections	5662 [R(int) = 0.0227]	
Completeness to theta = 25.71°	99.8 %	
Absorption correction	Semi-empirical from equivalents	
Max. and min. transmission	0.9757 and 0.9165	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	5662 / 2 / 361	
Goodness-of-fit on F ²	1.010	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0431, wR2 = 0.0919	
R indices (all data)	R1 = 0.0924, wR2 = 0.1125	
Absolute structure parameter	0.42(16)	
Largest diff. peak and hole	0.139 and -0.213 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **71 NC**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U^{ij} tensor.

	x	y	z	U(eq)
S(1)	3640(1)	9077(3)	4000(1)	77(1)
S(2)	10959(1)	5948(3)	702(1)	75(1)
O(1)	7830(3)	8548(7)	3476(3)	75(2)
O(2)	7940(3)	9898(5)	2571(3)	66(2)
O(3)	6776(3)	6455(6)	1230(3)	71(2)
O(4)	6651(3)	5149(6)	2107(3)	69(2)
N(1)	5257(3)	8503(6)	3919(3)	44(2)
N(2)	9333(4)	6510(6)	769(3)	51(2)
C(1)	4468(4)	8623(8)	3579(4)	46(2)
C(2)	4347(4)	8386(7)	2767(4)	41(2)
C(3)	3506(5)	8247(7)	2373(5)	57(2)
C(4)	3395(5)	8065(8)	1650(5)	61(2)
C(5)	4114(6)	8103(8)	1262(5)	69(3)
C(6)	4921(5)	8231(7)	1655(5)	50(2)
C(7)	5095(5)	8370(7)	2410(4)	47(2)
C(8)	5924(4)	8481(7)	2821(4)	43(2)
C(9)	6020(4)	8039(7)	3619(4)	44(2)
C(10)	6602(5)	8937(8)	2523(5)	55(2)
C(11)	7502(5)	9088(9)	2928(5)	57(2)
C(12)	6068(5)	6671(7)	3648(4)	53(2)
C(13)	6173(5)	6111(8)	4403(5)	54(2)
C(14)	6066(6)	4744(9)	4327(6)	86(3)
C(15)	7059(6)	6424(10)	4831(5)	84(3)
C(16)	8797(4)	10125(7)	2888(5)	67(2)
C(17)	10136(4)	6383(8)	1134(4)	49(2)

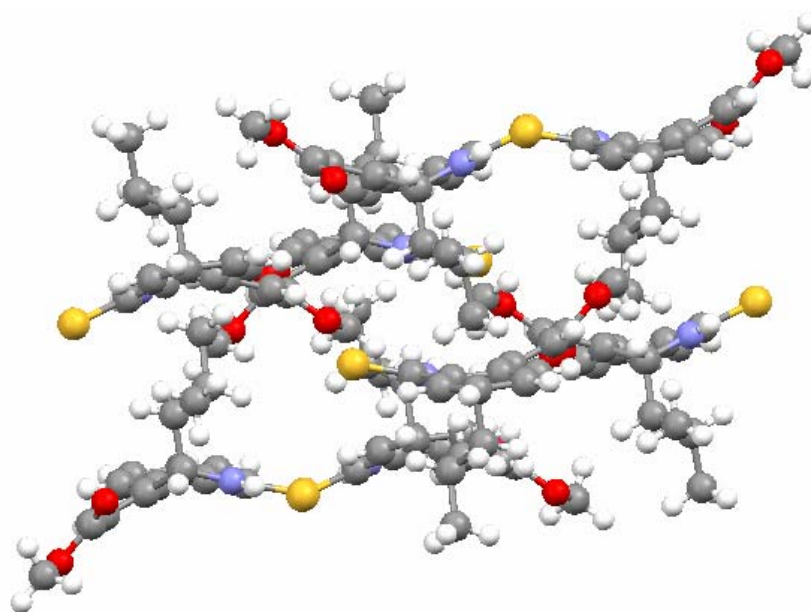
C(18)	10238(4)	6621(8)	1917(4)	48(2)
C(19)	11039(5)	6804(8)	2303(5)	61(2)
C(20)	11144(6)	6939(9)	3068(6)	78(3)
C(21)	10458(5)	6932(8)	3423(5)	64(3)
C(22)	9613(5)	6783(7)	3064(4)	58(2)
C(23)	9529(4)	6637(7)	2298(4)	41(2)
C(24)	8612(4)	6511(7)	1862(4)	42(2)
C(25)	8586(4)	6938(7)	1096(4)	41(2)
C(26)	7948(4)	6113(7)	2160(4)	44(2)
C(27)	7085(5)	5961(7)	1779(5)	48(2)
C(28)	8523(4)	8315(8)	1054(4)	47(2)
C(29)	8377(6)	8868(8)	276(5)	62(2)
C(30)	8553(7)	10213(9)	321(6)	104(4)
C(31)	7481(6)	8632(11)	-117(5)	92(3)
C(32)	5757(5)	4883(10)	1747(7)	104(3)

Table 7. Hydrogen bonds for 71 NC [\AA and $^\circ$].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	\angle (DHA)
N(1)-H(1A)...S(2)#1	0.86	2.53	3.372(6)	164.9
N(2)-H(2A)...S(1)#2	0.86	2.51	3.353(6)	166.1

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $x-1/2, -y+3/2, z+1/2$ #2 $x+1/2, -y+3/2, z-1/2$



Datos de difracción de rayos X para 71.

Table 1. Crystal data and structure refinement for 71.

Identification code	71
Empirical formula	C ₁₆ H ₁₉ N O ₂ S
Formula weight	289.38
Temperature	298(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinic
Space group	C2/c
Unit cell dimensions	a = 15.5655(16) Å α = 90°. b = 11.0801(12) Å β = 98.159(2)°. c = 18.4519(19) Å γ = 90°.
Volume	3150.1(6) Å ³
Z	8
Density (calculated)	1.220 Mg/m ³
Absorption coefficient	0.206 mm ⁻¹
F(000)	1232
Crystal size	0.43 x 0.22 x 0.12 mm ³
Theta range for data collection	2.44 to 25.71°.
Index ranges	-18 ≤ h ≤ 18, -13 ≤ k ≤ 7, -22 ≤ l ≤ 22
Reflections collected	8455
Independent reflections	3003 [R(int) = 0.0307]
Completeness to theta = 25.71°	99.8 %
Absorption correction	Semi-empirical
Max. and min. transmission	0.9757 and 0.9165
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	3003 / 0 / 181
Goodness-of-fit on F ²	1.015
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0420, wR2 = 0.0979
R indices (all data)	R1 = 0.0793, wR2 = 0.1139
Largest diff. peak and hole	0.163 and -0.244 e.Å ⁻³

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **71**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

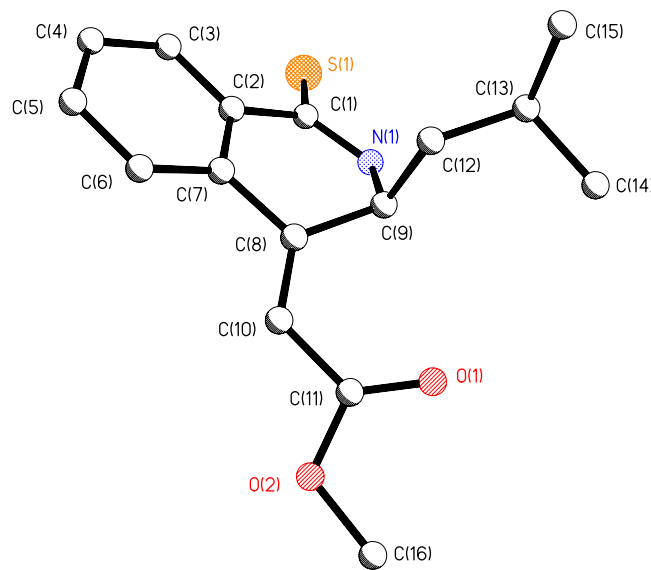
	x	y	z	U(eq)
S(1)	11160(1)	4064(1)	3351(1)	75(1)
O(1)	6973(1)	3548(2)	3878(1)	73(1)
O(2)	6857(1)	4876(1)	4768(1)	67(1)
N(1)	9538(1)	3498(2)	3425(1)	47(1)
C(1)	10334(1)	3620(2)	3778(1)	47(1)
C(2)	10445(1)	3381(2)	4575(1)	44(1)
C(3)	11269(1)	3222(2)	4966(1)	59(1)
C(4)	11378(2)	3064(2)	5709(1)	69(1)
C(5)	10673(2)	3083(2)	6079(1)	66(1)
C(6)	9848(1)	3226(2)	5704(1)	54(1)
C(7)	9720(1)	3368(2)	4946(1)	43(1)
C(8)	8845(1)	3484(2)	4519(1)	42(1)
C(9)	8785(1)	3051(2)	3738(1)	42(1)
C(10)	8173(1)	3909(2)	4817(1)	49(1)
C(11)	7292(1)	4061(2)	4425(1)	52(1)
C(12)	8728(1)	1677(2)	3704(1)	49(1)
C(13)	8601(1)	1120(2)	2937(1)	58(1)
C(14)	7711(2)	1394(3)	2526(1)	88(1)
C(15)	8738(2)	-236(2)	2996(2)	94(1)
C(16)	5981(2)	5121(2)	4437(2)	83(1)

Table 7. Hydrogen bonds for **71** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(1)-H(1A)...S(1)#1	0.86	2.52	3.3626(17)	165.6

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $-x+2, y, -z+1/2$



Datos de difracción de rayos X para 73.

Table 1. Crystal data and structure refinement for 73.

Identification code	73	
Empirical formula	C ₁₅ H ₁₇ N O ₂ S	
Formula weight	275.36	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2(1)2(1)2(1)	
Unit cell dimensions	a = 6.0434(6) Å	α = 90°.
	b = 14.1658(15) Å	β = 90°.
	c = 16.4204(17) Å	γ = 90°.
Volume	1405.7(3) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.301 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.228 mm ⁻¹	
F(000)	584	
Crystal size	0.25 x 0.10 x 0.07 mm ³	
Theta range for data collection	1.90 to 25.73°.	
Index ranges	-7 ≤ h ≤ 6, -17 ≤ k ≤ 14, -20 ≤ l ≤ 18	
Reflections collected	7790	
Independent reflections	2689 [R(int) = 0.0513]	
Completeness to theta = 25.73°	99.9 %	
Absorption correction	Semi-empirical	
Max. and min. transmission	0.9842 and 0.9453	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	2689 / 0 / 176	
Goodness-of-fit on F ²	1.050	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0814, wR2 = 0.2253	
R indices (all data)	R1 = 0.1285, wR2 = 0.2655	
Absolute structure parameter	0.0(3)	
Largest diff. peak and hole	0.647 and -0.394 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **73**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U_{ij} tensor.

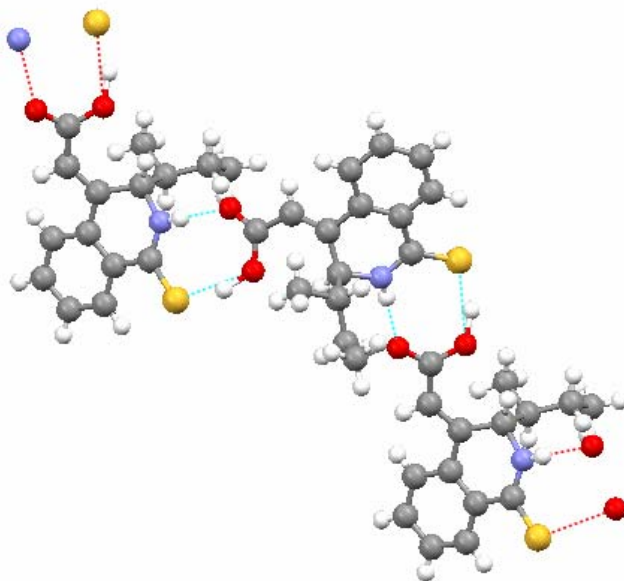
	x	y	z	U(eq)
S(1)	8570(3)	9924(1)	3935(1)	67(1)
O(1)	5996(8)	4836(3)	2587(3)	69(1)
O(2)	5502(9)	6088(3)	1794(3)	63(1)
N(1)	7636(8)	8636(3)	2842(3)	44(1)
C(1)	8974(10)	8912(4)	3426(3)	45(1)
C(2)	10810(10)	8265(4)	3634(3)	42(1)
C(3)	12533(12)	8555(5)	4149(4)	56(2)
C(4)	14170(11)	7934(5)	4371(4)	60(2)
C(5)	14143(11)	7032(6)	4110(4)	62(2)
C(6)	12439(11)	6723(5)	3583(4)	54(2)
C(7)	10782(10)	7355(4)	3349(3)	45(1)
C(8)	8955(9)	7037(4)	2814(3)	43(1)
C(9)	7922(12)	7798(4)	2340(3)	51(2)
C(10)	8364(10)	6117(4)	2807(3)	48(1)
C(11)	6529(11)	5641(4)	2388(4)	52(2)
C(12)	9660(30)	8110(6)	1552(4)	141(6)
C(13)	8200(40)	8825(9)	1083(5)	215(11)
C(14)	10460(30)	9224(13)	495(7)	204(9)
C(15)	10380(30)	7274(8)	1089(7)	155(6)

Table 7. Hydrogen bonds for **73** [\AA and $^\circ$].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	\angle (DHA)
O(2)-H(2A)...S(1)#1	1.13(13)	2.36(14)	3.195(5)	128(9)
N(1)-H(1A)...O(1)#2	0.86	2.01	2.865(7)	173.4

Symmetry transformations used to generate equivalent atoms:

#1 $-x+1, y-1/2, -z+1/2$ #2 $-x+1, y+1/2, -z+1/2$



Datos de difracción de rayos X para 121.Table 1. Crystal data and structure refinement for **121**.

Identification code	121	
Empirical formula	C ₃₃ H ₄₁ F I N O ₄	
Formula weight	661.57	
Temperature	295(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Orthorhombic	
Space group	P2(1)2(1)2(1)	
Unit cell dimensions	a = 8.6731(5) Å	$\alpha = 90^\circ$.
	b = 11.4655(6) Å	$\beta = 90^\circ$.
	c = 33.644(2) Å	$\gamma = 90^\circ$.
Volume	3345.6(3) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.313 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.997 mm ⁻¹	
F(000)	1360	
Crystal size	0.40 x 0.20 x 0.20 mm ³	
Theta range for data collection	1.21 to 28.31°.	
Index ranges	-11 ≤ h ≤ 11, -8 ≤ k ≤ 14, -15 ≤ l ≤ 44	
Reflections collected	14373	
Independent reflections	7167 [R(int) = 0.0703]	
Completeness to theta = 28.31°	91.9 %	
Absorption correction	None	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	7167 / 0 / 368	
Goodness-of-fit on F ²	0.942	
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.0551, wR2 = 0.1226	
R indices (all data)	R1 = 0.0926, wR2 = 0.1356	
Absolute structure parameter	0.02(3)	
Largest diff. peak and hole	0.864 and -0.723 e.Å ⁻³	

Table 2. Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for **121**. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U^{ij} tensor.

	x	y	z	U(eq)
I(1)	3958(1)	10694(1)	8234(1)	73(1)
F(1)	12613(5)	7732(4)	6720(1)	98(1)
O(1)	10215(4)	7015(3)	9051(1)	52(1)
O(2)	10821(5)	5248(3)	9356(1)	56(1)
O(3)	13378(6)	3216(5)	9402(2)	111(2)
O(4)	11439(5)	1959(4)	9499(1)	67(1)
N(1)	8360(5)	9136(4)	8209(1)	50(1)
C(1)	8138(5)	9213(5)	7803(1)	43(1)
C(2)	6756(6)	9759(4)	7735(2)	41(1)
C(3)	6116(6)	9988(5)	8118(1)	47(1)
C(4)	7113(6)	9620(5)	8405(2)	49(1)
C(5)	6129(6)	10119(5)	7346(2)	46(1)
C(6)	5707(6)	11296(6)	7281(2)	60(2)
C(7)	5089(8)	11628(7)	6918(2)	73(2)
C(8)	4925(7)	10814(8)	6617(2)	74(2)
C(9)	5306(6)	9687(7)	6674(2)	61(2)
C(10)	5917(6)	9342(6)	7035(1)	52(1)
C(11)	9320(5)	8809(4)	7519(1)	41(1)
C(12)	9161(7)	7776(5)	7310(2)	54(1)
C(13)	10270(8)	7402(5)	7040(2)	57(2)
C(14)	11536(7)	8081(6)	6984(2)	57(2)
C(15)	11757(7)	9117(6)	7183(2)	65(2)
C(16)	10635(6)	9461(5)	7448(2)	54(1)
C(17)	6917(10)	9706(7)	8854(2)	82(2)
C(18)	6611(11)	8596(8)	9061(2)	102(3)

C(19)	7939(11)	10569(8)	9032(2)	111(3)
C(20)	9673(6)	8517(5)	8389(2)	52(1)
C(21)	9512(6)	7199(5)	8383(2)	51(1)
C(22)	10593(6)	6590(5)	8662(1)	45(1)
C(23)	10471(7)	5279(5)	8647(2)	54(2)
C(24)	11341(7)	4735(5)	8991(2)	52(1)
C(25)	11059(9)	3433(5)	9033(2)	64(2)
C(26)	12113(8)	2880(6)	9326(2)	66(2)
C(27)	12261(8)	1214(6)	9782(2)	70(2)
C(28)	13669(12)	708(9)	9575(3)	144(4)
C(29)	11072(12)	283(7)	9877(3)	108(3)
C(30)	12603(12)	1889(8)	10152(2)	118(3)
C(31)	11033(9)	6470(5)	9371(2)	57(1)
C(32)	12685(9)	6820(6)	9383(2)	85(2)
C(33)	10129(11)	6870(6)	9737(2)	93(3)

-

Table 7. Hydrogen bonds for **121** [Å and °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
---------	--------	----------	----------	--------

