



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA



**SÍNTESIS DE ISOINDOLONAS CON POTENCIAL
ACTIVIDAD RELAJANTE SOBRE MÚSCULO LISO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ALEJANDRO EDUARDO AGUILERA CRUZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. ADELFO NATALIO REYES RAMÍREZ.

México, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Investigación realizada gracias al Programa
UNAM-DGAPA-PAPIIT **IN216312-2.**

“El mayor bien del Hombre es una mente inquieta”

“En primer lugar acabemos con Sócrates, por que ya estoy harto de este invento de que no saber nada es un signo de sabiduría”

Isaac Asimov

“Todo es interesante, si lo piensas bien encuentras cosas intrigantes en todo, siempre debe interesarte el porque”

Gregorio Cruz Rodea

“La única forma lícita de encontrar el éxito es con el estudio y el trabajo diario. Trabaja duro por lo que quieres”

Raúl Aguilera Jiménez

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Elizabeth y Alejandro por todo el cariño, comprensión, paciencia y apoyo que me han dado a lo largo de mi vida. Por enseñarme a alcanzar mis metas y trabajar por ellas, sin sus consejos y amor nada de lo que he logrado sería posible.

A mis abuelos Alejandra, Rosalía, Gregorio y Raúl por brindarme los momentos mas inolvidables y felices de mi vida, por creer en mi y por estar conmigo incondicionalmente. Por enseñarme que puedo lograr cuanto me proponga y por darme las enseñanzas que me han moldeado como persona.

A mis hermanas Adriana e Itzel por ser el motor de mi vida y llenarme de alegría cada día.

A Patricia Cruz Gallardo y todas aquellas personas que han sido determinantes en mi formación y cimentaron en mi un pensamiento crítico y me enseñaron a aprender.

Al Dr. Adelfo N. Reyes Ramírez por transmitirme su experiencia, brindarme su confianza, paciencia y apoyo así como las más valiosas lecciones de química que he tenido.

A mis amigos: Alain, Arturo, Javier, Oskar, Raúl y Yahir por apoyarme en momentos difíciles y siempre darme un momento para festejar y ser feliz.

A mis amigos: Alejandro, Arelí, Andrés, Claudia, David, Gerardo, Jacobo, José Luis, Luis Martha y Nelly por acompañarme todos estos años en la Facultad y apoyarme en la realización de este trabajo.

A Victoria por el apoyo, comprensión, paciencia y todos los maravillosos momentos a su lado.

Finalmente a todas aquellas personas que no puedo mencionar por cuestión de espacio, pero que ellos saben me han ayudado bastante, gracias por su apoyo

CONTENIDO

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	i
ÍNDICE DE COMPUESTOS.....	iv
ÍNDICE DE ESQUEMAS, FIGURAS Y TABLAS.....	vi
RESUMEN.....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	2
2.1 Isoindolonas.....	2
2.1.1 Las isoindolonas y sus actividades farmacológicas.....	2
2.2 Pirrolizidinas.....	4
2.2.1 Las pirrolizidinas y sus actividades farmacológicas.....	5
2.3 Síntesis de isoindolonas.....	6
2.3.1 Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas.....	6
2.3.2 Síntesis de isoindolonas N-sustituidas.....	8
2.3.3 Síntesis de pirrolo[2.1-<i>a</i>]isoindol-5-onas.....	10
2.3.3.1 Síntesis de pirrolo[2.1-<i>a</i>]isoindol-5-onas sustituidas mediante adición de Michael y ciclación intramolecular simultáneas.....	13
2.4 Músculo liso.....	14
2.4.1 Mecanismo general de contracción.....	15
2.4.2 Mecanismo general de relajación.....	16
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
IV. OBJETIVOS.....	19
4.1 Objetivo general.....	19
4.2 Objetivos particulares.....	19

V. HIPÓTESIS.....	20
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	21
6.1 Desarrollo sintético de los compuestos.....	21
6.1.1 Síntesis de los intermediarios.....	21
6.1.2 Síntesis de las 9b-hidroxi-1H-pirrol[2,1-a]isoindol-5-onas 8-10 y ftalimidias 22-23.....	24
6.1.3 Síntesis de las 2H-pirrol[2,1-a]isoindolonas 11-13.....	28
6.1.4 Síntesis de los ácidos 14-16.....	31
6.1.5 Síntesis de los compuestos 17-19.....	33
6.1.6 Síntesis de los ácidos 20 y 21.....	35
6.2 Caracterización.....	36
6.2.1 Consideraciones generales.....	36
6.2.2 Caracterización de las ftalimidias 22 y 23.....	37
6.2.3 Caracterización de los compuestos 11-13.....	39
6.2.4 Caracterización de los ácidos 14-16.....	42
6.2.5 Caracterización de los compuestos 17-19.....	44
VII. CONCLUSIONES.....	47
VIII. PERSPECTIVAS.....	48
IX. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	49
9.1 Consideraciones generales.....	49
9.2 Síntesis de intermediarios.....	50
9.3 Método general de adición-ciclación.....	50
9.4 Método general de deshidratación.....	53
9.5 Método general de hidrólisis.....	55

9.6 Método general de hidrogenólisis.....	56
X. BIBLIOGRAFÍA.....	60
XI. ANEXOS.....	65

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Abreviaturas y acrónimos

AMPc	3`-5`-Monofosfato cíclico de adenosina
c	Señal cuádruple
C	Átomo de carbono
Ca ²⁺	Ión calcio
CC	Cromatografía en columna
CCF	Cromatografía en capa fina
CL-M	Cadena ligera de miosina
d	Señal doble
dd	Señal doble de dobles
DAG	Diacilglicerol
EM	Espectroscopia de masas
Glu	Glutamato
GMPc	Monofosfato cíclico de guanosina
GTP	Glutación peroxidasa
H	Átomo de hidrógeno
ArH	Hidrógenos aromáticos
Hz	Hertz
IP ₃	Trifosfato de inositol
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
MLA	Músculo liso aéreo
MLCK	Cinasa de cadena ligera de miosina
MLV	Músculo liso vascular
NO	Óxido nitroso
PAs	Alcaloides pirrolizidínicos (del inglés pyrrolizidinic alkaloids)
p.f.	Punto de fusión
PKC	Proteína cinasa C
ppm	Partes por millón
q	Señal quintuple

RMN ^{13}C	Resonancia magnético nuclear de carbono
RMN ^1H	Resonancia magnético nuclear de hidrógeno
R_F	Relación de frentes
t	Señal triple
TMS	Trimetilsilano
UV	Ultravioleta

Disolventes

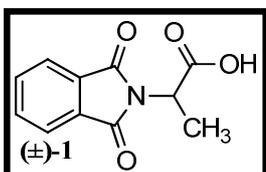
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
CDCl_3	Cloroformo deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
CH_3CN	Acetonitrilo
$\text{DMSO-}d_6$	Dimetilsulfóxido deuterado
EtOH	Etanol
MeOH	Metanol
THF	Tetrahidrofurano

Reactivos

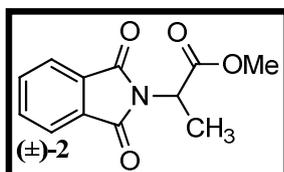
Ag_2O	Óxido de plata
$\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	Eterato de trifluoruro de boro
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ano
DDQ	2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
K_2CO_3	Carbonato de potasio
KMnO_4	Permanganato de potasio
KHMDS	Hexametildisilazida de potasio (de las siglas en inglés potassium hexamethyldisilazide)
LDA	Diisopropil amiduro de litio (de las siglas en inglés lithium diisopropylamide)

LHMDS	Hexametildisilazida de litio
LiCl	Cloruro de litio
NaH	Hidruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
Pd(OH) ₂	Hidróxido de paladio
TEA	Trietilamina

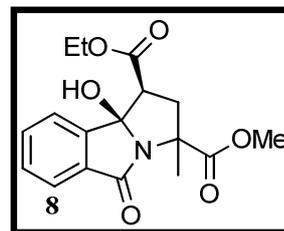
ÍNDICE DE COMPUESTOS



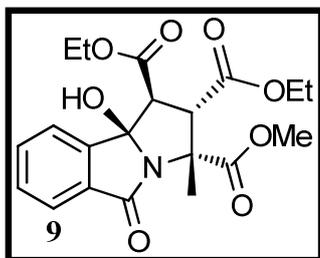
ácido (±)-2-(1,3-Dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanoico



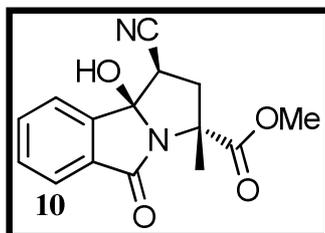
(±)-2-(1,3-Dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanato de metilo



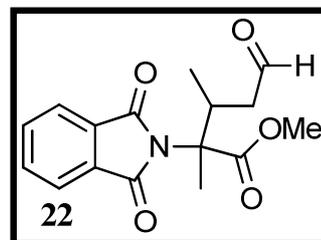
(1*S**,3*S**,9*bR**)- y
(1*S**,3*R**,9*bR**)-9*b*-Hidroxi-3-metil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo



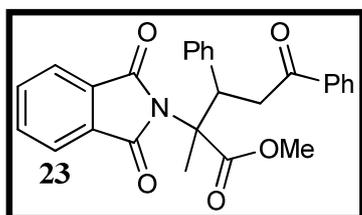
(1*S**,2*S**,3*R**,9*bR**)-9*b*-Hidroxi-3-metil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,2,3-tricarboxilato de 1,2-dietilo 3-metilo



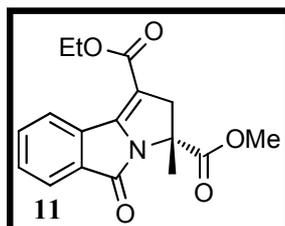
(1*R**,3*R**,9*bR**)-1-Ciano-9*b*-hidroxi-3-metil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-3-carboxilato de metilo



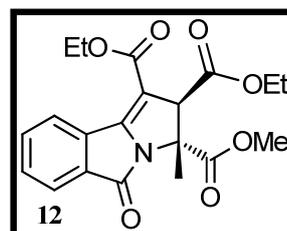
2-(1,3-Dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-2,3-dimetil-5-oxopentanoato de metilo



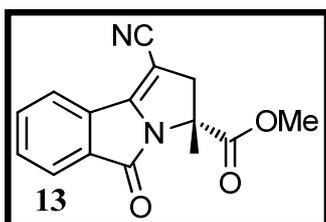
3,5-Difenil-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-metil-5-oxo-pentanoato de metilo



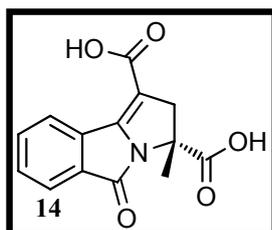
(*R,S*)-3-Metil-5-oxo-3,5-dihidro-2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo



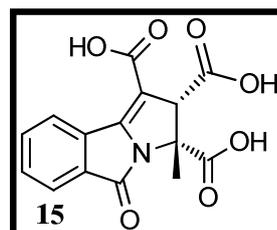
(2*S**,3*R**)-3-Metil-5-oxo-3,5-dihidro-2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,2,3-tricarboxilato de 1,2-dietilo 3-metilo



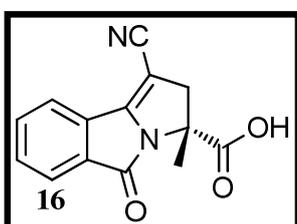
(RS)-1-Ciano-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2H-pirrolo[2,1-a]isoindol-3-carboxilato de metilo



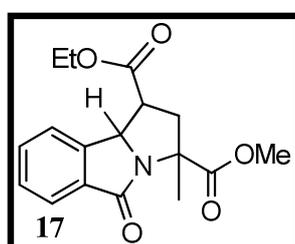
Ácido (RS)-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,3-dicarboxílico



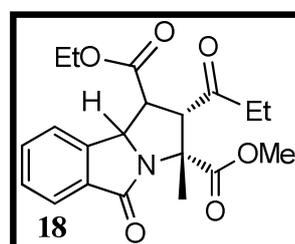
Ácido (2S*,3R*)-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,2,3-tricarboxílico



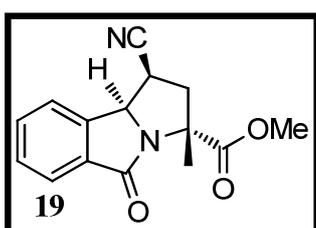
Ácido (RS)-1-Ciano-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2H-pirrolo[2,1-a]isoindol-3-carboxílico



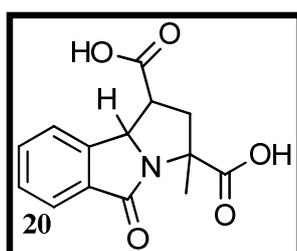
(1S*,3R*,9bR*)- y (1S*,3R*,9bS*)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo



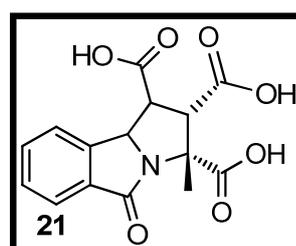
(1S*,2S*,3R*,9bR*) y (1S*,2S*,3R*,9bS*)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,2,3-tricarboxilato de 1,2-dietilo 3-metilo



(1S*,3R*,9bR*)-1-Ciano-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-3-carboxilato de metilo



Ácido (1S*,3R*,9bR*)- y (1S*,3R*,9bS*)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,3-dicarboxílico



Ácido (1S*,2R*,3R*,9b*)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,2,3-tricarboxílico

ÍNDICE DE ESQUEMAS, FIGURAS Y TABLAS

Esquemas

Esquema 1.	Metodología para la obtención de pirroloisoindolonas con diferente patrón de sustitución.	vii
Esquema 2.	Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas a partir de ftalimidas.	7
Esquema 3.	Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas a partir de oxoácidos.	7
Esquema 4.	Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas a partir de benzamidas.	8
Esquema 5.	Otros métodos de síntesis para isoindolonas 3-sustituidas.	9
Esquema 6.	Síntesis de isoindolonas <i>N</i> -sustituidas a partir de anhídrido ftálico y aminoácidos.	9
Esquema 7.	Síntesis de isoindolonas <i>N</i> -sustituidas a partir de ftalimidas.	10
Esquema 8.	Síntesis de isoindolonas <i>N</i> -sustituidas a partir de ácido 2-formilbenzoico.	10
Esquema 9.	Fotociclaciones intramoleculares de ftalimidas.	11
Esquema 10.	Ciclaciones mediadas por Samario.	12
Esquema 11.	Adición de compuestos α,β -insaturados a sililmetilftalimidas.	13
Esquema 12.	Síntesis de pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoindol-5-onas por una variante de la reacción de Reformatsky.	13
Esquema 13.	Síntesis de 9b-hidroxi-1 <i>H</i> -pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoindol-5-onas.	14
Esquema 14.	Estrategia de síntesis del (\pm)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -isoindol-2-il)-propanoato de metilo.	21
Esquema 15.	Mecanismo de reacción involucrado en la síntesis del compuesto (\pm)-1.	22
Esquema 16.	Mecanismo general de reacción propuesto para la reacción de sustitución nucleofílica al carboxilo en la síntesis de esteres de Fischer.	22
Esquema 17.	Método alternativo de esterificación.	23
Esquema 18.	Obtención del compuesto (\pm)-2 en una reacción del tipo SN_2 .	23
Esquema 19.	Síntesis de los compuestos 8-10 y 22-23.	24

Esquema 20.	Mecanismo propuesto para la síntesis de los compuestos 8-10 y 22-23 .	25
Esquema 21.	Estereoquímica de los productos obtenidos	27
Esquema 22.	Configuración del compuesto 9 según el α,β -insaturado utilizado.	28
Esquema 23.	Síntesis de los compuestos 11-13	28
Esquema 24.	La ruta 1 muestra la obtención de los compuestos 11 y 12 mientras que la ruta 2 fue la utilizada para obtener el compuesto 13 .	29
Esquema 25.	Síntesis de los ácidos 14-16 .	31
Esquema 26.	Mecanismo general de hidrólisis de un éster con catálisis básica.	31
Esquema 27.	Hidrólisis catalizada con LiCl.	32
Esquema 28.	Síntesis de los compuestos 17-19 .	33
Esquema 29.	Rutas exploradas para la síntesis del compuesto 17 .	34
Esquema 30.	Síntesis de los compuestos 20-21 .	35
Esquema 31.	Ruta alternativa para la obtención del compuesto 20 .	35

Figuras y tablas

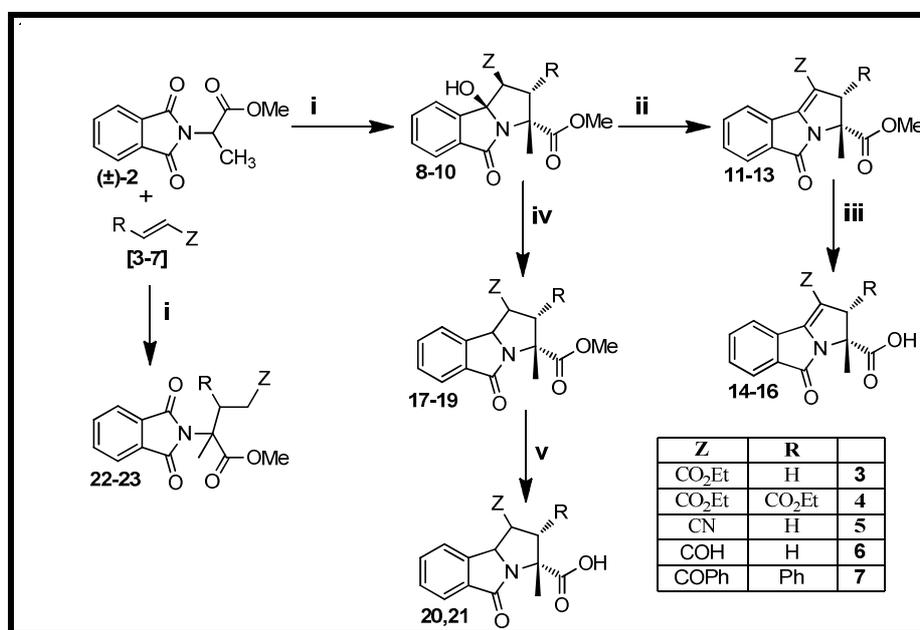
Figura 1.	Isoindolonas y compuestos relacionados.	2
Figura 2.	Isoindolonas <i>N</i> y 3-Sustituídas y sus actividades farmacológicas.	3
Figura 3.	Isoindolonas fusionadas y sus actividades farmacológicas.	4
Figura 4.	Hexahidro-1 <i>H</i> -pirrolizidina, núcleo básico de los PAs.	5
Figura 5.	Pirrolizidinas y sus actividades farmacológicas.	5
Figura 6.	Muestra en VIII los requerimientos estructurales para que un PAs sea tóxico y el metabolito generado IX, causante de la toxicidad.	6
Figura 7.	Estructura básica de las pirrolizidinas (VII), isoindolonas (XXIX) y las pirrolo[2,1- <i>a</i>]isoindol-5-onas (XXXI).	11
Figura 8.	Mecanismo general de contracción del músculo liso.	16
Figura 9.	Mecanismo general de relajación del músculo liso.	17
Figura 10.	Mecanismo de relajación del músculo liso provocada por la acción del NO.	17
Figura 11.	Estructura ORTEP del compuesto 9 .	36
Figura 12.	Espectro de RMN ^1H a 300 MHz del compuesto 23 .	37
Figura 13.	Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto 23 .	38

Figura 14.	Espectro de RMN ^1H a 300MHz del compuesto 11	39
Figura 15.	Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto 11 .	40
Figura 16.	Espectro de RMN ^1H a 300MHz del compuesto 13 .	41
Figura 17.	Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto 13 .	41
Figura 18.	Espectro de RMN ^1H a 300MHz del compuesto 14 .	42
Figura 19.	Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto 14 .	43
Figura 20.	Espectro de RMN ^1H a 300 MHz del compuesto 16 .	43
Figura 21.	Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto 16 .	44
Figura 22.	Espectro de RMN ^1H a 300MHz del compuesto 19 .	45
Figura 23.	Espectro COSY a 400 MHz del compuesto 19 .	45
Figura 24.	Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto 19 .	46
Tabla 1.	Resultados de la reacción de (\pm)- 2 con diferentes aceptores de Michael como electrófilos; LHMDs como base, THF como disolvente y $-78\text{ }^\circ\text{C}$ de temperatura.	26
Tabla 2.	Efecto de diferentes bases en la reacción del compuesto (\pm)- 2 con acrilato de etilo en THF a $-78\text{ }^\circ\text{C}$.	27
Tabla 3.	Resultados obtenidos en la síntesis de los compuestos 11-13 .	30
Tabla 4.	Resultados obtenidos en la síntesis de los compuestos 14-16 .	32
Tabla 5.	Hidrogenación catalítica a $60\text{ }^\circ\text{C}$ y 1250 psi.	34

RESUMEN

Los compuestos obtenidos en este trabajo fueron preparados mediante una secuencia de reacciones (Esquema 1) diseñada con el objetivo de obtener pirrolo[2,1-*a*]isoindolonas con diferentes grados de sustitución, donde se prepararon 9*b*-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas a partir del (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanato de metilo y compuestos α,β-insaturados. Las isoindolonas así preparadas fueron modificadas mediante la deshidratación o la hidrogenación del alcohol terciario presente. Finalmente los ésteres presentes en las moléculas fueron hidrolizados para mejorar la hidrosolubilidad de la molécula lo cual podría impactar de forma positiva en el efecto farmacológico debido a que la biodisponibilidad del compuesto puede aumentar. Esta metodología puede ser aplicada para la obtención de otros compuestos que contengan a la isoindolin-1-ona como estructura base.

La síntesis de estos compuestos se realizó con el objetivo de evaluar su actividad relajante sobre músculo liso, debido a que en evaluaciones biológicas previas realizadas por nuestro grupo de investigación se encontró que algunos compuestos con la isoindolin-1-ona como núcleo poseen esta actividad farmacológica.



Esquema 1. Metodología para la obtención de pirroloisoindolonas con diferente patrón de sustitución. Reactivos y condiciones: (i) LHMSDS/THF, -78 °C; (ii) H₂SO₄ ó BF₃·(EtO)₂; (iii) KOH/MeOH, reflujo; (iv) H₂/Pd(OH)₂, 1000 psi.; (v) KOH/MeOH, reflujo.

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente en México factores como la obesidad, el alcoholismo y el tabaquismo han provocado que enfermedades como la pulmonar obstructiva crónica y enfermedades hipertensivas, sean las principales causas de muerte y se conviertan en un problema de salud pública. Fisiológicamente, estas enfermedades involucran una contracción anormal en el músculo liso vascular o aéreo según sea el caso, por lo cual los tratamientos para estos padecimientos involucran generalmente fármacos que provoquen una relajación en el músculo liso¹.

La investigación en el desarrollo de nuevos fármacos se origina dada la necesidad de tratar enfermedades para las cuales no se ha descubierto una cura o para encontrar una alternativa terapéutica a tratamientos ya existentes. Las investigaciones para el tratamiento del tipo de afecciones mencionadas anteriormente destacan a varios grupos de compuestos químicos como relajantes del músculo liso, entre los que se encuentran principalmente: cumarinas, estilbenos, flavonoides y terpenoides². No obstante, en pruebas biológicas realizadas por nuestro grupo de investigación en aorta de rata y tráquea de cobayo, se encontraron compuestos que contienen a la isoindolin-1-ona en su estructura base que poseen una actividad relajante sobre músculo liso.

Por lo anteriormente descrito, para este trabajo se planteó como objetivo la síntesis de compuestos análogos que conserven a la isoindolin-1-ona como núcleo, con la finalidad de encontrar la relación que existe entre los patrones de sustitución de los compuestos mencionados anteriormente y su actividad como relajantes de músculo liso (relación estructura-actividad).

Para la obtención de los compuestos considerados en este estudio, se planteó una metodología en la cual diferentes 9*b*-hidroxi-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas fueron preparadas, las cuales posteriormente se modificaron estructuralmente mediante reacciones ampliamente conocidas (deshidratación, hidrogenación e hidrólisis) aprovechando la funcionalidad presente en estas moléculas.

II. ANTECEDENTES

2.1 Isoindolonas

Las isoindolonas poseen como estructura base a la isoindolin-1-ona (**I**), el cual es un heterocíclico benzofusionado constituido por una pirrolidona (anillo A) y un anillo de benceno (anillo B). Debido a su diversidad estructural, es necesario, para facilitar su estudio dividir a la familia de las isoindolonas en 3 grupos principales: isoindolonas sustituidas en el átomo de nitrógeno (*N*-sustituidas) (**II**), isoindolonas sustituidas en el átomo de carbono tres (3-sustituidas) (**III**) e isoindolonas que se encuentran fusionadas en el anillo A con otro sistema cíclico como las pirroloisoindolonas (**IV**), isoindolobenzacepinas (**V**) e isoindoloquinolina (**VI**) (Figura 1).

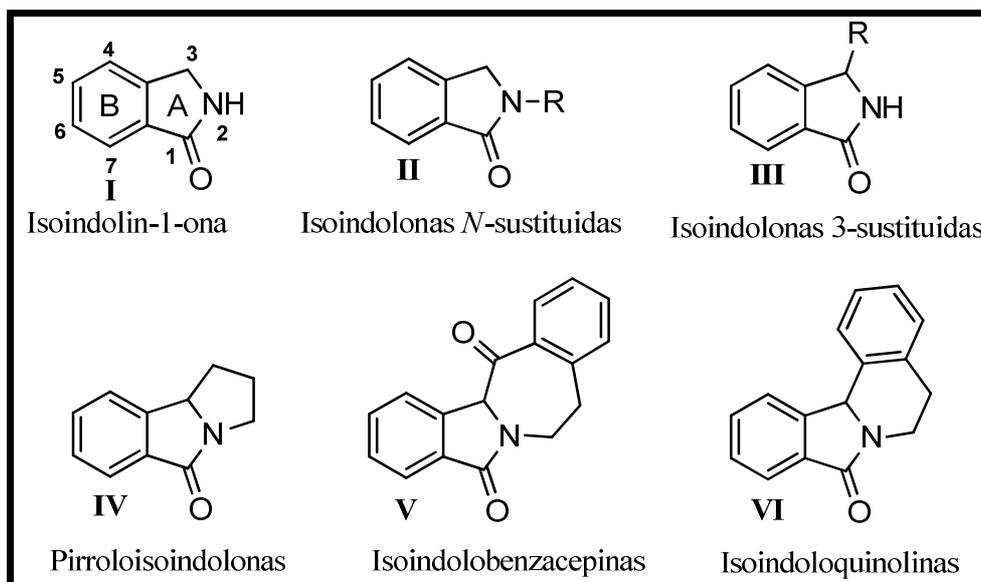


Figura 1. Isoindolonas y compuestos relacionados.

2.1.1 Las isoindolonas y sus actividades farmacológicas

Las isoindolonas han atraído el interés de algunos grupos de investigadores, debido a que se les ha encontrado una amplia gama de actividades farmacológicas, por lo que se han dado a la tarea de obtener nuevas isoindolonas con el fin de estudiar la relación existente entre la estructura y su actividad farmacológica, lo anterior ha logrado que la estructura base de la isoindolin-1-ona se convierta en un valioso farmacóforo objeto de investigaciones en farmacología y síntesis orgánica.

Las isoindolonas *N* y 3-sustituidas son las que han sido más estudiadas en este sentido y por lo tanto se conocen una gran cantidad de actividades farmacológicas atribuidas a estos compuestos, entre las que se encuentran: anestésica³, antiinflamatoria⁴, antibacterial⁵, antihipertensiva⁶, antitumoral⁷, antiviral^{8,9}, nootrópica (estimulantes de la memoria y potenciadores cognoscitivos)¹⁰, potenciadores de receptores a glutamato (Glu)¹¹ y en el tratamiento contra la atrofia muscular espinal¹² (Figura 2).

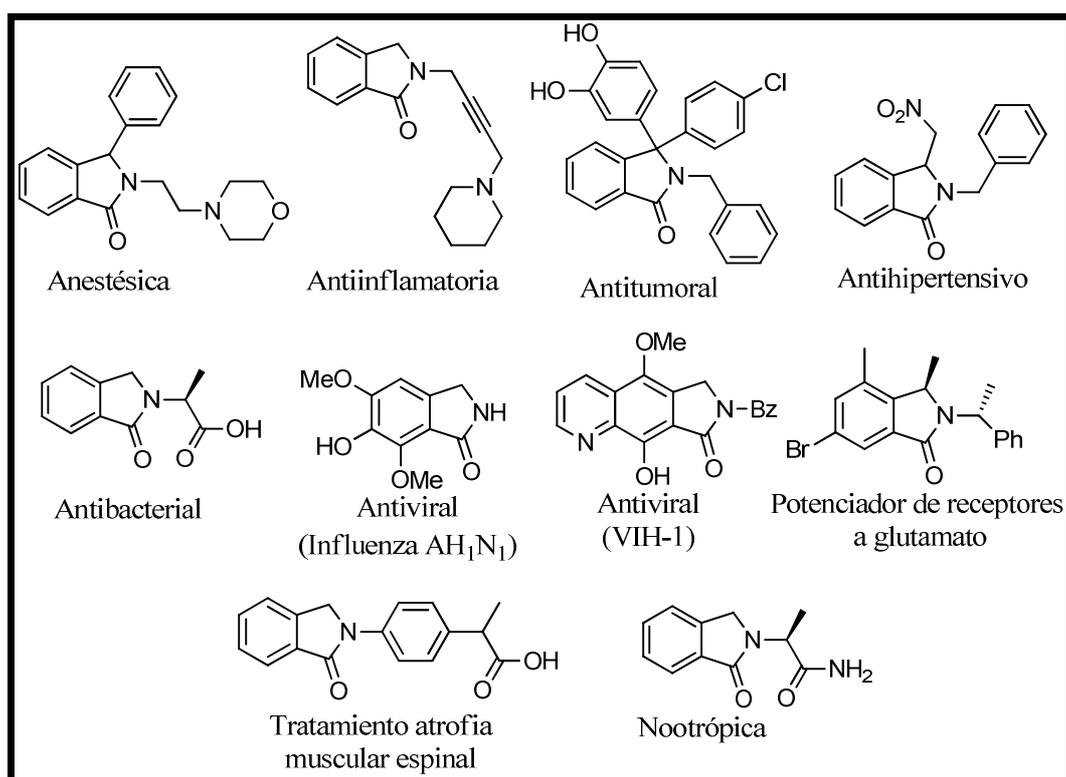


Figura 2. Isoindolonas *N* y 3-Sustituidas y sus actividades farmacológicas.

Por otro lado, entre las isoindolonas fusionadas se ha encontrado compuestos de interés farmacológico en una gran variedad de productos naturales. Por ejemplo, se han aislado de especies de plantas chilenas del género *Berberis*¹³ las berberinas: chilena, lenoxamina, nuevamina y magallanesina que han mostrado actividad como antitumorales en cáncer de colon y próstata¹⁴, además de que han sido probadas como antimalaricos¹⁵ con buenos resultados. Otro ejemplo es la estausporina, que fue aislada como un metabolito del *Saccharothrix sp*, la cual posee propiedades hipotensoras y citotóxicas¹³. De la misma forma se encuentran también isoindolonas fusionadas obtenidas por métodos sintéticos las

cuales han presentado actividades farmacológicas como: antiinflamatoria¹⁶, antitumoral^{17,18}, antiarrítmica¹⁹, moduladores de la enzima monofosfato cíclico de guanosina²⁰ (GMP_c) (Figura 3).

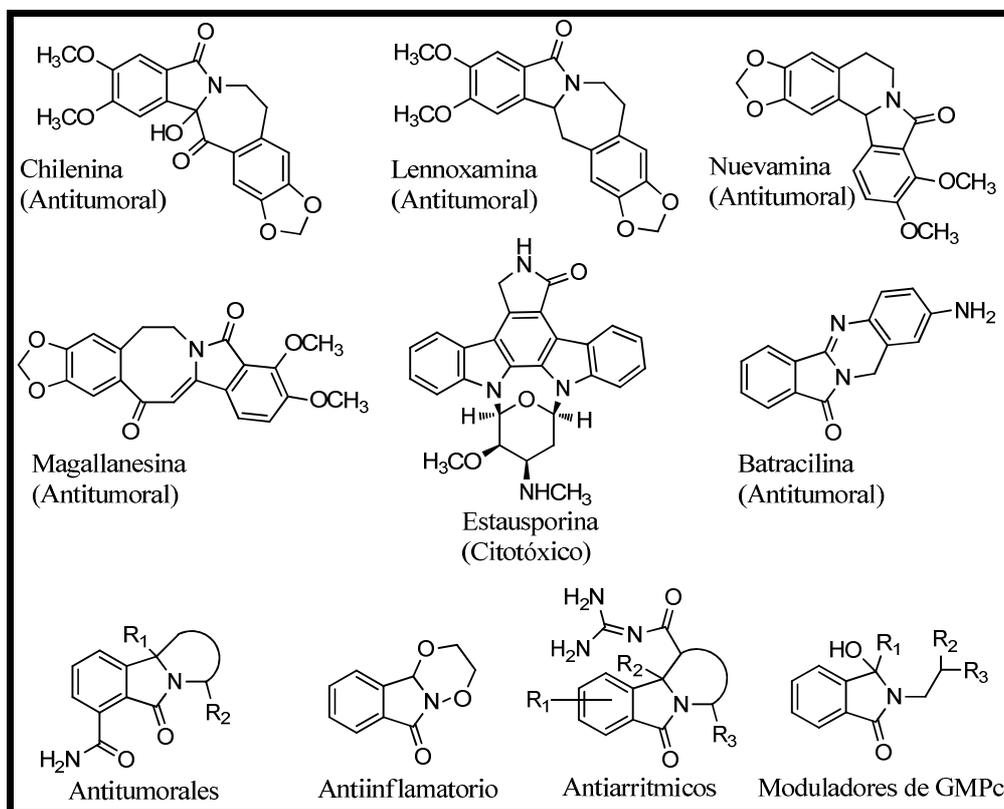


Figura 3. Isoindolonas fusionadas y sus actividades farmacológicas.

2.2 Pirrolizidinas

Los alcaloides pirrolizidínicos (PAs) están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, se les encuentra principalmente en los géneros *Boraginaceae*, *Asteraceae* y *Leguminasae*, aunque se estima que el 30% de todo el reino vegetal produce este tipo de metabolitos. Su estructura se compone por dos ciclos de 5 miembros fusionados, con un átomo de nitrógeno como cabeza de puente formando una amina terciaria (**VII**)²¹ (Figura 4).

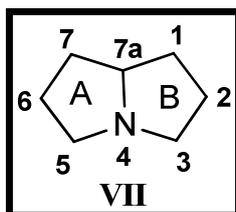


Figura 4. Hexahidro-1H-pirrolizidina, núcleo básico de los PAs.

2.2.1 Las pirrolizidinas y sus actividades farmacológicas

Del mismo modo que las isoindolonas, se han encontrado PAs responsables de actividades farmacológicas como: analgésica²², antiarrítmica²³, antimicrobiana²⁴, inhibidores de la glicosidasa²⁵ (potencialmente útiles en el tratamiento del VIH-1), y con propiedades gastroprotectoras²⁶ (Figura 5).

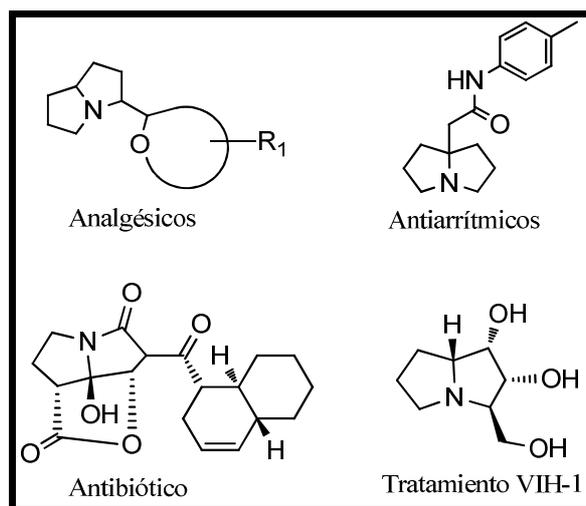


Figura 5. Pirrolizidinas y sus actividades farmacológicas.

Sin embargo, se ha demostrado que la ingesta de algunos PAs está relacionada directamente con hepatotoxicidad crónica y tumores hepáticos²⁷, además se han comprobado casos de envenenamiento masivo por el consumo de plantas y alimentos, contaminados con este tipo de alcaloides, estos casos han hecho que se reduzca drásticamente la venta de medicamentos y otros productos sobre todo de aquellos que contiene compuestos con esqueleto pirrolizidínico 1,2-insaturado²¹.

Esta toxicidad se atribuye a un proceso de activación metabólica después de su ingestión. El hígado convierte algunos PAs en un electrófilo (**IX**) altamente reactivo (Figura 6), capaz de reaccionar con macromoléculas celulares formando aductos, los cuales provocan la toxicidad crónica y la formación de neoplasias malignas en hígado y pulmones^{21,27}.

Un análisis del mecanismo de la toxicidad y del metabolismo de estos compuestos dentro del organismo ha permitido establecer algunos de los requerimientos estructurales para que estos compuestos sean tóxicos²⁵ (Figura 6), los cuales los principales son:

- Un doble enlace entre C1 y C2.
- Uno o dos átomos de oxígeno enlazados al biciclo en C1 y C7. Es común encontrar un grupo hidroxilo en C7 y un grupo hidroximetilo en C1
- Que los átomos de oxígeno se encuentren formando un éster con una molécula de ácido.

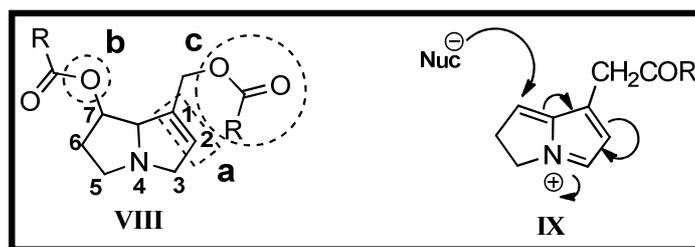


Figura 6. Muestra en VIII los requerimientos estructurales para que un PAs sea tóxico y el metabolito generado IX, causante de la toxicidad.

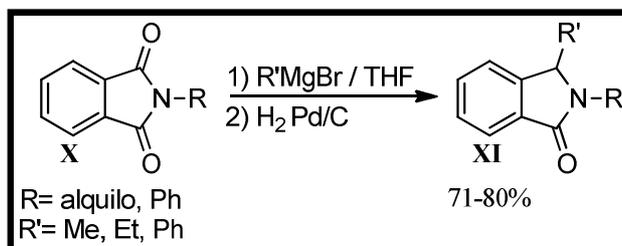
2.3 Síntesis de isoindolonas

2.3.1 Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas

Existen diferentes rutas sintéticas informadas en la literatura para la obtención de isoindolonas 3-sustituidas, algunos de los métodos donde se han obtenido los más altos rendimientos son aquellos donde se usan ftalimididas²⁸, oxoácidos²⁹ y benzamididas³⁰ como materias primas, entre otros.

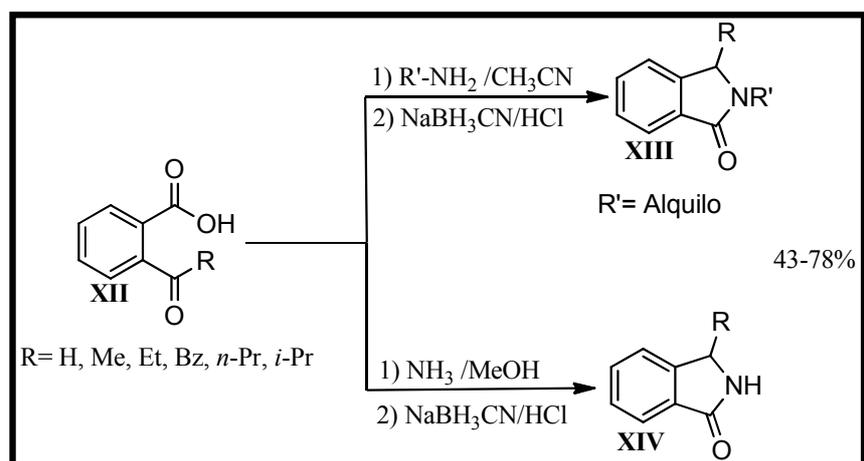
Síntesis de isoindolonas a partir de ftalimididas. Es un proceso que consta de dos etapas, la primera etapa consiste en la adición nucleofílica de un reactivo de Grignard a uno de los carbonilos de la ftalimida **X** para dar lugar a un alcohol terciario, en la segunda etapa una hidrogenación catalítica es empleada para remover el hidroxilo terciario dando lugar a la

formación de la isoindolona **XI** como producto final. Este método tiene la ventaja de que puede usarse ftalimidas sustituidas en el nitrógeno para obtener isoindolonas sustituidas tanto en el átomo de nitrógeno así como en el carbono de la posición 3 (Esquema 2).



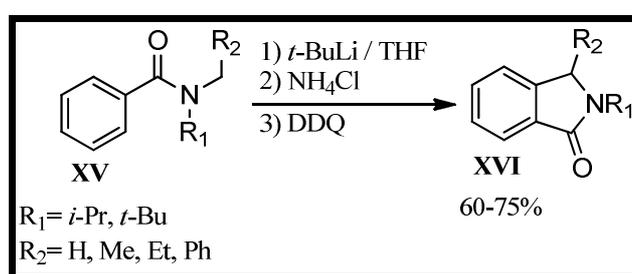
Esquema 2. Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas a partir de ftalimidas.

Síntesis de isoindolonas a partir de oxoácidos. Este método de síntesis inicia con la adición nucleofílica de una alquil-amina primaria al carbonilo de cetona presente en el oxoácido **XII**, y con la posterior eliminación de agua, una imina es formada. La imina resultante es reducida a la amina correspondiente que a su vez realiza un ataque nucleofílico sobre el carbonilo del ácido, condensándose y formando así el producto **XIII**. Una variante de este método sustituye a la alquil-amina por amoníaco, de este modo es posible obtener una isoindolona con el nitrógeno libre de sustitución **XIV** (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas a partir de oxoácidos.

Síntesis de isoindolonas a partir de benzamidas. En este método se usa una base fuerte para sustraer un protón ácido del carbono en posición alfa al carbonilo de la benzamida **XV**. El carbanión generado realiza un ataque nucleofílico sobre el anillo aromático en la posición *orto*, posición activada a la sustitución nucleofílica aromática debido al efecto sustractor que tiene la amida. El producto resultante es finalmente oxidado con 2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona (DDQ) para recuperar la aromaticidad en el anillo de 6 miembros y dar como resultado la isoindolona **XVI** (Esquema 4)

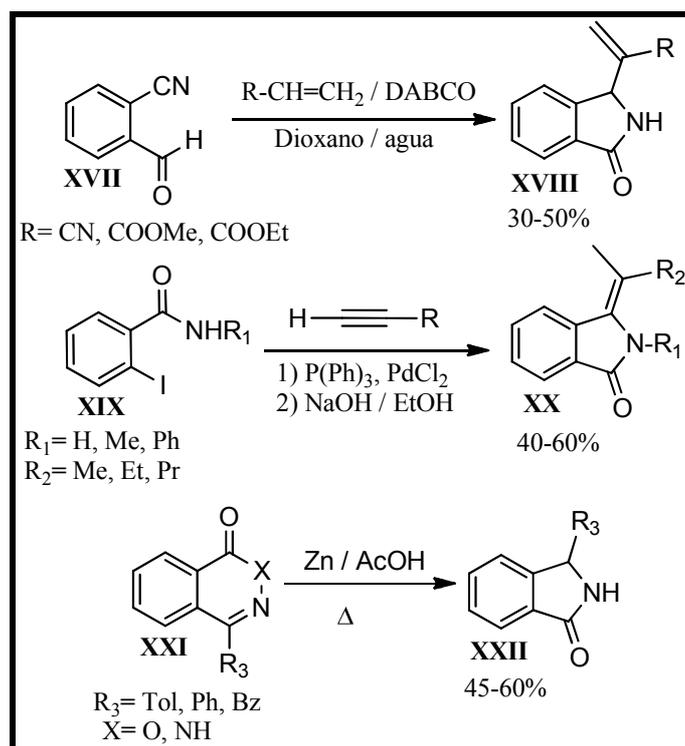


Esquema 4. Síntesis de isoindolonas 3-sustituidas a partir de benzamidas.

Existen otras rutas sintéticas para la obtención de isoindolonas 3-sustituidas. Por ejemplo, aquellas que parten de 2-formilbenzonitrilos **XVII**³¹, 2-yodobenzamidas **XIX**³² y ftalazinas **XXI**³³, ilustradas en el esquema 5. Estas alternativas de síntesis implican mecanismos de reacción más complejos comparadas con los métodos ya descritos, además de que el producto se obtiene regularmente en bajos rendimientos. Sin embargo el empleo de estos métodos, se justifica cuando se requiere obtener isoindolonas con un grado de sustitución más complejo.

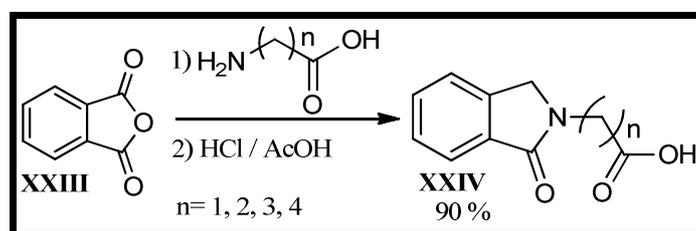
2.3.2 Síntesis de isoindolonas *N*-sustituidas

Por otro lado, para la síntesis de isoindolonas *N*-sustituidas se han desarrollado rutas más simples y de rendimientos más altos. Las materias primas reportadas para su obtención son: anhídrido ftálico³⁴, ftalimida^{35,10}, ácido 2-formilbenzoico³⁶.



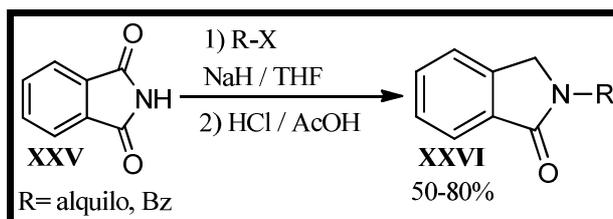
Esquema 5. Otros métodos de síntesis para isoindolonas 3-sustituidas.

Síntesis de isoindolonas a partir de anhídrido ftálico. En este método el grupo amino de un aminoácido se condensa con ambos carbonilos del anhídrido ftálico (**XXIII**), con la liberación de agua da como resultado la formación de la correspondiente ftalimida *N*-sustituida. Posteriormente bajo condiciones de Clemmensen uno de los carbonilos es reducido para obtener como producto la isoindolona correspondiente **XXIV**. Este método tiene la ventaja de emplear materias primas sencillas y generalmente proporciona buenos rendimientos (Esquema 6).



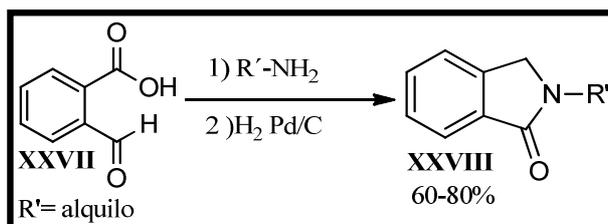
Esquema 6. Síntesis de isoindolonas *N*-sustituidas a partir de anhídrido ftálico y aminoácidos.

Síntesis de isoindolonas a partir de ftalimida. Es un proceso que involucra primero la *N*-alquilación de la ftalimida (**XXV**), mediante una reacción de sustitución nucleofílica bimolecular (S_N2) entre el intermediario reactivo, producto de la desprotonación de la ftalimida, y un halogenuro de alquilo. Posteriormente y del mismo modo que en el método anterior uno de los carbonilos es reducido bajo condiciones de Clemmensen (Esquema 7).



Esquema 7. Síntesis de isoindolonas *N*-sustituidas a partir de ftalimidias.

Síntesis de isoindolonas a partir de ácido 2-formilbenzoico. Esta metodología alterna de síntesis involucra un proceso de dos etapas. La primera etapa es la formación de una imina a través de la reacción de condensación entre el aldehído **XXVII** y una alquil-amina. La segunda etapa consiste en la reducción catalítica de la imina para obtener, como producto intermediario generalmente no aislado, una amina secundaria, la cual mediante una ciclación intramolecular con el ácido da como resultado la isoindolona *N*-sustituida (Esquema 8).



Esquema 8. Síntesis de isoindolonas *N*-sustituidas a partir de ácido 2-formilbenzoico.

2.3.3 Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas

Las pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas (**XXXI**) son sistemas heterocíclicos benzofusionados constituido por el sistema de isoindolin-1-ona (**XXIX**) fusionado en su cara *a* con un ciclo de pirrolidina (**XXX**) a través del nitrógeno y el carbono adyacente, de este modo combinan

en su estructura los ciclos de las isoindolonas y pirrolizidinas (**VII**) (Figura 7). Estas características estructurales han llamado la atención de los investigadores ya que como se ha explicado anteriormente se han encontrado interesantes actividades farmacológicas en compuestos con estos núcleos.

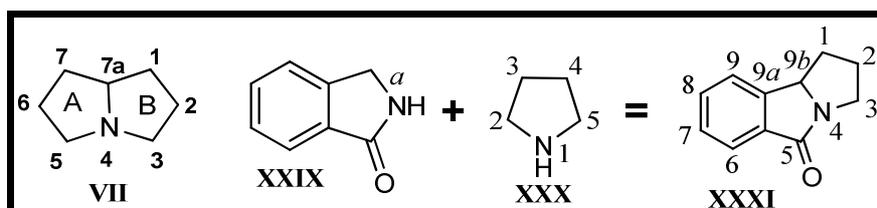
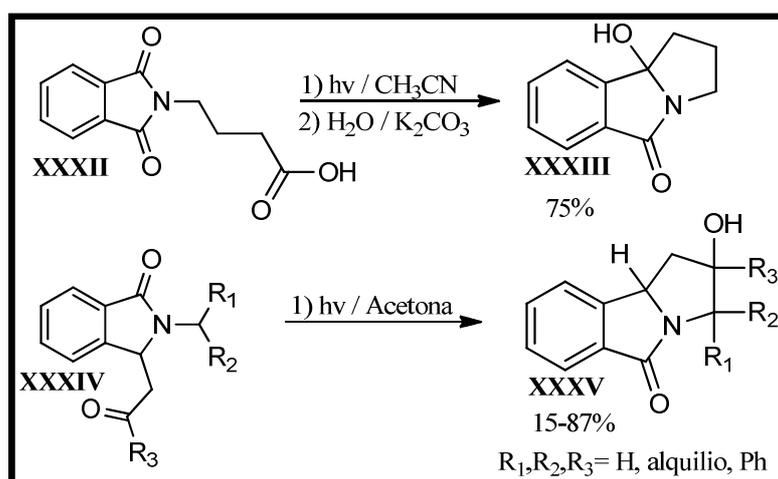


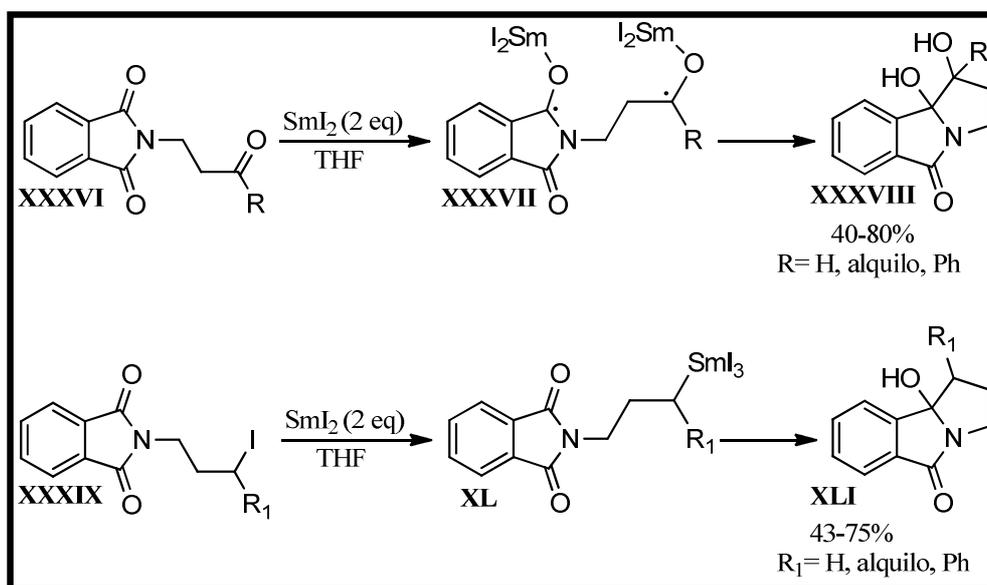
Figura 7. Estructura básica de las pirrolizidinas (**VII**), isoindolonas (**XXIX**) y las pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas (**XXXI**).

Para la obtención de las pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas se han desarrollado diferentes rutas, las más comúnmente usadas se basan en la ciclación radicalaria de ftalimidas *N*-sustituidas, las cuales han sido ampliamente estudiadas. Algunos autores han abordado rutas sintéticas alternas basadas en una ciclación intramolecular de ftalimidas, aprovechando el potencial fotoquímico para la generación de radicales (Esquema 9)^{37,38}.



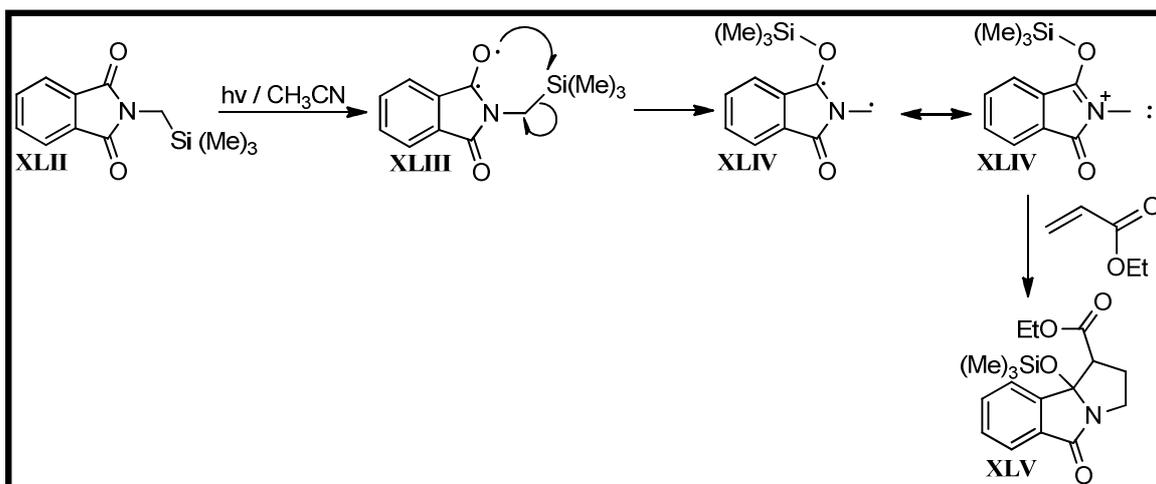
Esquema 9. Fotociclaciones intramoleculares de ftalimidas.

Otros autores fomentan la formación de radicales en la ftalimida **XXXVI** mediante el uso de diyoduro de samario, para después realizar una ciclación intramolecular³⁹. El samario también se ha empleado para mediar reacciones de Barbier⁴⁰ las cuales involucran una ciclación intramolecular entre un carbonilo y un yoduro de alquilo presentes en la molécula **XXXIX**, esta reacción se asemeja a una adición de un reactivo de Grignard a un carbonilo (Esquema 10).

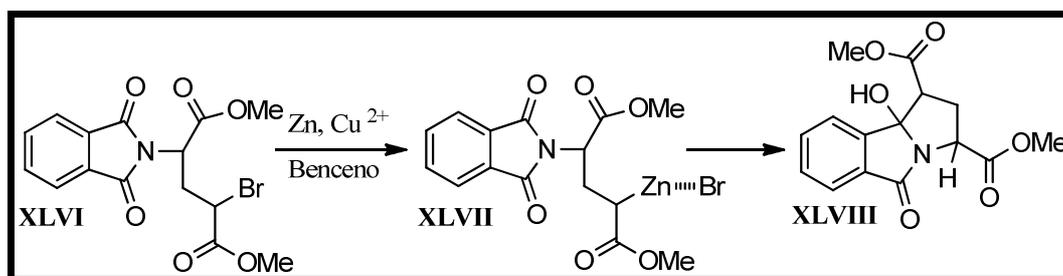


Esquema 10. Ciclaciones mediadas por Samario.

Otra ruta involucra irradiar sililmetilftalimidias **XLII** en solución para generar un radical, que se adiciona a un sistema α,β -insaturado para generar pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas sustituidas⁴¹ (Esquema 11). Otra forma para obtener compuestos con este tipo de esqueleto base es usando una variante de la reacción de Reformatsky⁴², que consiste en la ciclación mediante la adición de un reactivo de organo-zinc a un carbonilo (Esquema 12).



Esquema 11. Adición de compuestos α,β -insaturados a sililmetilftalimidias.

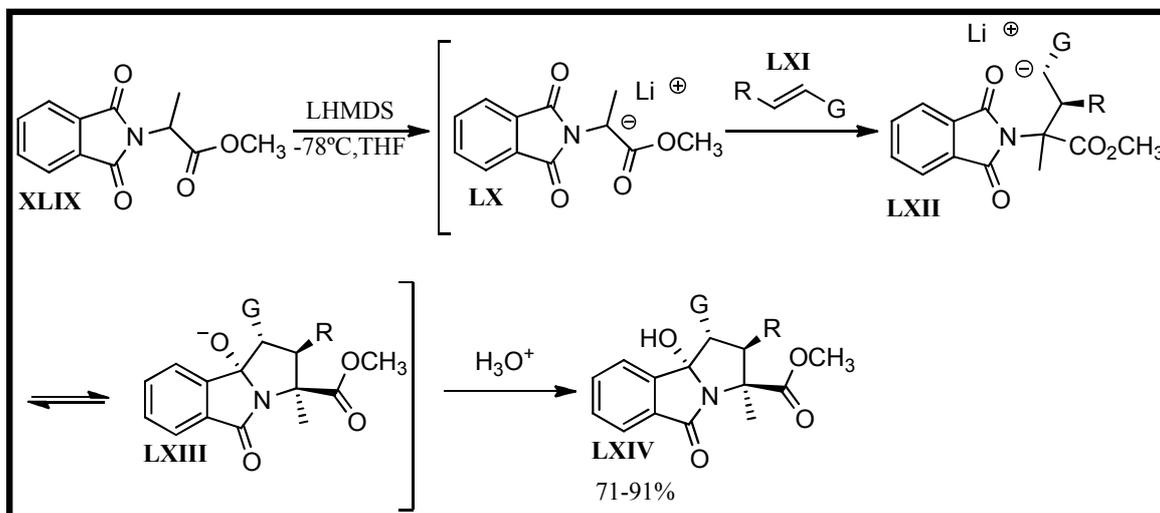


Esquema 12. Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas por una variante de la reacción de Reformatsky.

2.3.3.1 Síntesis de pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas sustituidas mediante adición de Michael y ciclación intramolecular simultáneas.

Recientemente se desarrolló una metodología para la obtención de pirrolo[2,1-*a*]isoindolonas basado en un proceso de reacciones en secuencia (Tándem³⁵). En este método se trata una mezcla racémica del éster **XLIX** con hexametildisilazida de litio (LHMDS) a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ en THF con lo que se genera el carbanión **XL**, posteriormente se añade a la mezcla de reacción un compuesto α,β -insaturado **LXI** para obtener las 9*b*-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-ona **LXIV** en altos rendimientos. La información experimental, pero sobre todo la estereoquímica observada en los productos, hasta el momento han servido para proponer un mecanismo de reacción el cual consiste en dos reacciones en

secuencia; una adición tipo Michael del carbanión **XL** a un sistema α,β -insaturado **LXI** y una ciclación intramolecular (Esquema 13).



Esquema 13. Síntesis de 9b-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas.

La metodología para obtener a las 9*b*-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas (**LXIV**) es de gran utilidad, ya que puede ser aplicado para obtener pirroloisoindolonas ampliamente funcionalizadas **LXIV** con el empleo de una gran variedad de compuestos α,β -insaturados, además de la funcionalidad presente en **LXIV**, permiten la modificación estructural de manera simple a través de reacciones sencillas. Estas cualidades permiten tener acceso a una gran variedad de isoindolonas, lo cual es una garantía que permite realizar un estudio sobre la relación de la estructura química con la actividad farmacológica, que puede concluir en el encuentro de los requisitos estructurales que un compuesto debe reunir para el diseño de un fármaco ideal.

2.4 Músculo liso

El músculo liso está constituido por células lisas con forma fusiforme (alargada) y carente de estriaciones, contenidas en las paredes de varios órganos en el cuerpo, entre los que se encuentran: vasos sanguíneos, estómago, vejiga, vías respiratorias, aorta, útero, intestinos, entre otros. Cuando el músculo liso se contrae, las células musculares se acortan para movilizar el contenido de un órgano, o disminuyen el diámetro de algún conducto para regular el flujo interno⁴³.

El mecanismo contráctil no es voluntario y es controlado por hormonas y otros mensajeros químicos, estas células desarrollan también contracciones originadas por la entrada extracelular de iones calcio (Ca^{2+}).

Por otro lado la relajación del músculo liso ocurre como resultado de remover el estímulo contráctil o por la acción directa de una sustancia que estimule la inhibición del mecanismo contráctil. En cualquier caso el proceso de relajación requiere una disminución de la concentración de Ca^{2+} intracelular o el aumento de la actividad de la fosfatasa de cadena ligera de miosina⁴⁴.

El mecanismo contracción-relajación de músculo liso mantiene la funcionalidad del tejido, una alteración en este proceso, ya sea en la relajación o en la contracción, traerá consigo alteración en la función de los órganos afectados.

2.4.1 Mecanismo general de contracción

La mayor parte de las contracciones del músculo liso se producen por un aumento en la concentración intracelular de Ca^{2+} originado por la estimulación nerviosa, la estimulación hormonal, la distensión de la fibra o por cambios en el entorno extracelular^{45,46}.

En respuesta a un estímulo específico la concentración intracelular de Ca^{2+} , el calcio activador se combina con una proteína ácida llamada calmodulina. Este complejo activa a la cinasa de cadena ligera de miosina (MLCK). La forma activa de la MLCK fosforila a la cadena ligera de miosina (CL-M), haciendo posible así la interacción de la actina con la miosina, lo que provoca la contracción de la fibra muscular. El Ca^{2+} en el citosol puede aumentar a través de la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico o por la entrada de Ca^{2+} a través de los canales iónicos localizados en la membrana.

La norepinefrina, angiotensina II y endotelina son agonistas que se unen a receptores acoplados a proteínas G estimulando la actividad de la fosfolipasa C. Esta enzima cataliza la formación de dos potentes segundos mensajeros: trifosfato de inositol (IP_3) y diacilglicerol (DG). La unión de IP_3 a receptores en el retículo sarcoplásmico resulta en la liberación de calcio al citosol. El DG junto con el Ca^{2+} activa a la proteína cinasa C (PKC), la cual fosforila proteínas específicas. Es importante señalar que existen diferentes tipos de PKC en el músculo liso y cada una de ellas tiene un rol según el tipo de tejido en el que se encuentre⁴⁷ (Figura 8).

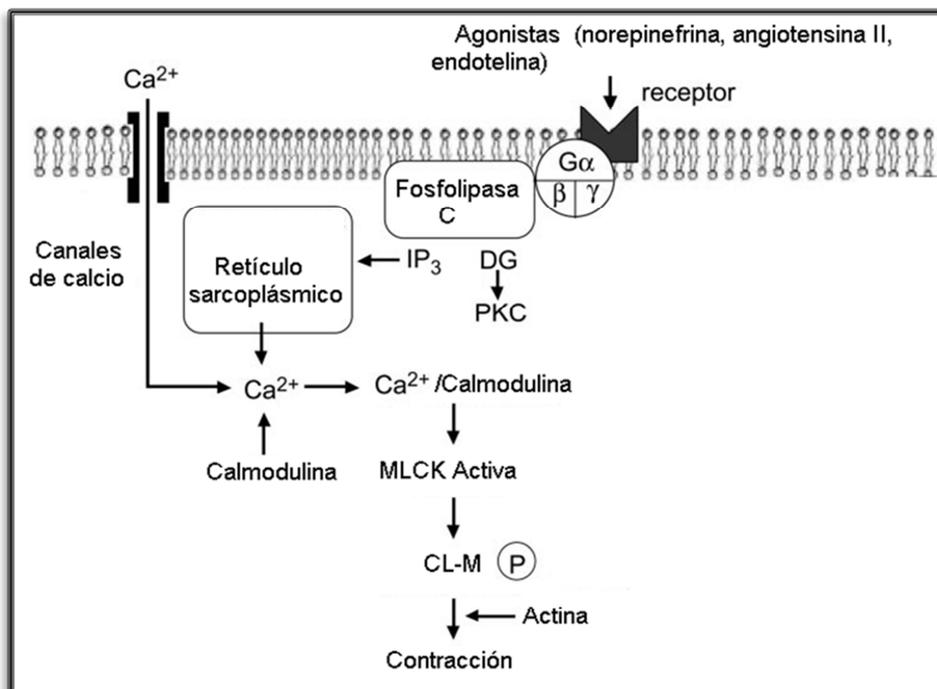


Figura 8. Mecanismo general de contracción del músculo liso.

2.4.2 Mecanismo general de relajación

La relajación del músculo liso se puede dar por varios mecanismos, uno de ellos es bloqueando los canales iónicos de Ca²⁺ impidiendo así el aumento de su concentración a nivel intracelular provocando una contracción. Otro mecanismo es promover la formación de AMPc y GMPc, mediante la estimulación de receptores adrenérgicos, o la enzima guanilciclase respectivamente, esto activa a la proteína cinasa dependiente de AMPc o GMPc, las cuales inducen la relajación de la fibra muscular debido a un decremento en la afinidad de la unión de la MLCK por el complejo calcio-calmodulina. Esto se debe a que probablemente se fosforila la MLCK, haciendo que muestre una afinidad mucho menor y haciéndola menos sensible a la activación, además de disminuir la presencia de Ca²⁺ al interior de la célula⁴³ (Figura 9).

Otro mecanismo de relajación es a través del óxido nítrico (NO). El óxido nítrico es un gas altamente estable y difusible, sintetizado mediante las enzimas óxido nítrico sintetasa, una vez generado el NO interactúa con la guanilciclase soluble, lo cual resulta en la activación de la enzima y permite la formación de GMPc a partir de GTP, que facilita la desfosforilación de las cadenas ligeras de miosina, impidiendo la interacción de esta con la actina, resultando en la relajación⁴⁸ (Figura 10).

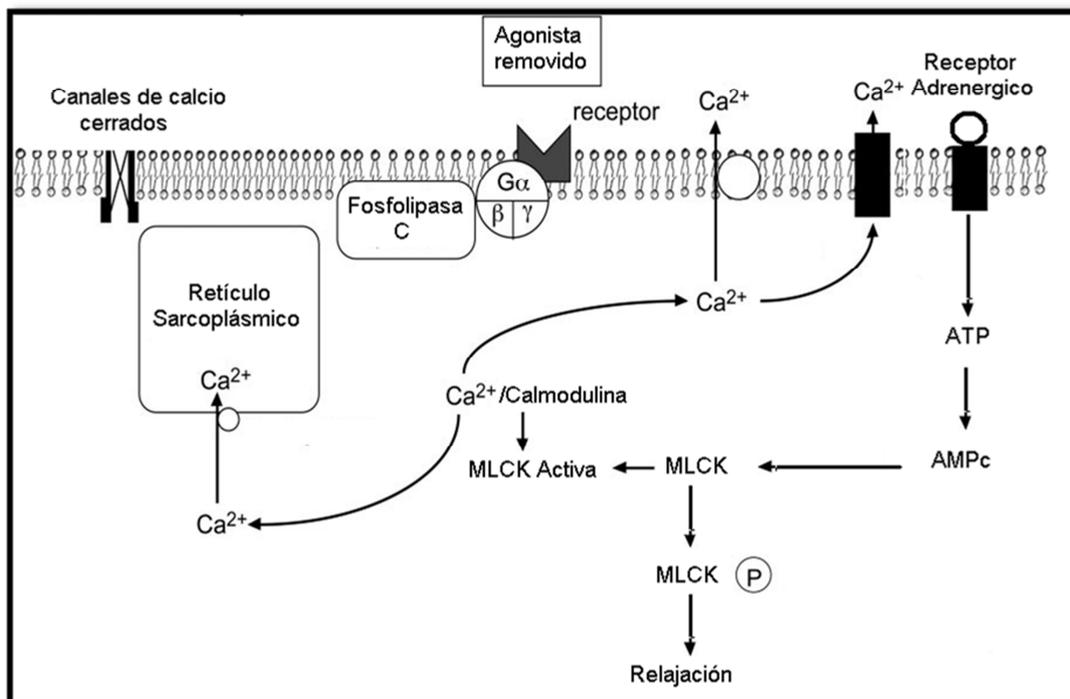


Figura 9. Mecanismo general de relajación del músculo liso.

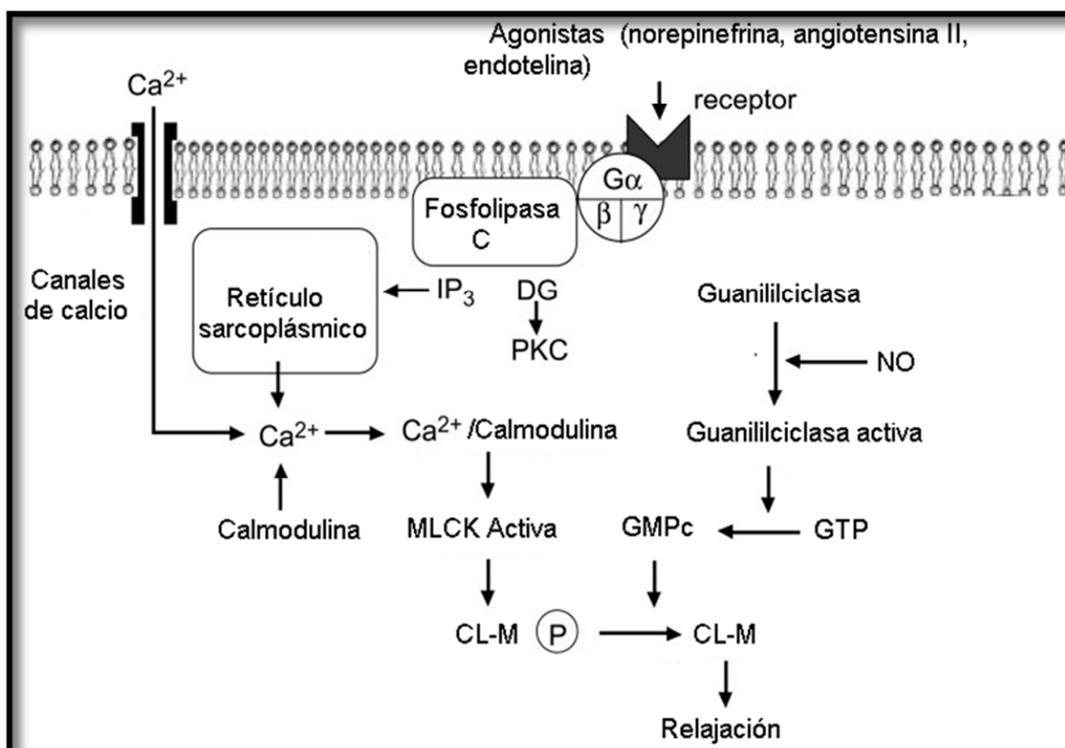


Figura 10. Mecanismo de relajación del músculo liso provocada por la acción del NO.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica y las enfermedades hipertensivas, son unas de las principales causas de muerte en la población y que día tras día han aumentado y se han convertido en un problema de salud en México^{47,48}, generalmente estas enfermedades involucran la contracción del músculo liso, dicha contracción es reversible al aplicar diversos fármacos, una de las estrategias de investigación de nuevas moléculas para tratar estas enfermedades consiste en buscar moléculas bioactivas que relajen el músculo liso y disminuyan los efectos dañinos de la contracción tanto en músculo liso de vías aéreas MLA como en músculo liso vascular MLV. Las investigaciones en este sentido destacan a varios grupos de compuestos químicos como relajantes del músculo liso, entre ellos se encuentran compuestos que poseen en su estructura el núcleo de la isoindolona.

Con base en lo anterior el presente proyecto, tiene como propósito sintetizar nuevos compuestos que posean una isoindolona como estructura base, ya que en pruebas preliminares ensayadas en tráquea de cobayo y en aorta de rata, algunas isoindolonas han mostrado una actividad biológica interesante como relajante del músculo liso. La síntesis de los compuestos se hará usando procedimientos sintéticos convencionales partiendo de sustratos comerciales disponibles que permitan la modificación estructural.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Desarrollar una metodología en pocos pasos y con reacciones de uso común que permita obtener diversas isoindolonas, las cuales serán evaluadas con el fin de estudiar la actividad farmacológica, como relajante del músculo liso.

4.2 Objetivos particulares

1. Sintetizar el compuesto (\pm)-**2** (Esquema 1).
2. Sintetizar 9b-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas a partir del compuesto (\pm)-**2** y diferentes compuestos α,β -insaturados (Esquema 1).
3. Realizar modificaciones estructurales a las 9b-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas **8-10** a partir de su deshidratación, hidrogenación e hidrólisis (Esquema 1).
4. Llevar a cabo la caracterización de los compuestos sintetizados por medio de RMN ^1H , RMN ^{13}C , y EM.

V. HIPÓTESIS

La modificación estructural de los compuestos del tipo pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-ona proporcionara información sobre los requerimientos estructurales necesarios para el desarrollo de nuevos fármacos relajantes del músculo liso.

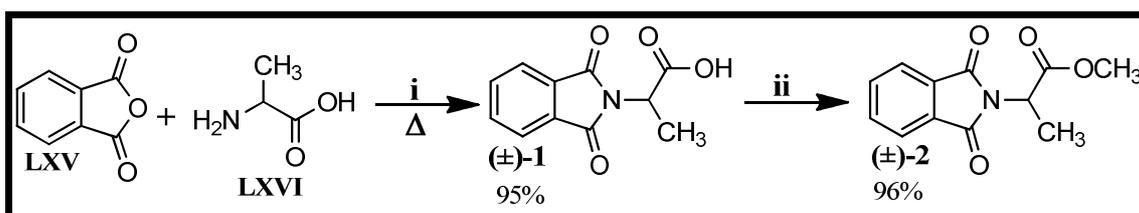
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta sección se realizará un análisis de los resultados obtenidos en la síntesis de los compuestos empleando la metodología diseñada. El análisis se dividirá en el desarrollo sintético de los compuestos y en su caracterización.

6.1 Desarrollo sintético de los compuestos

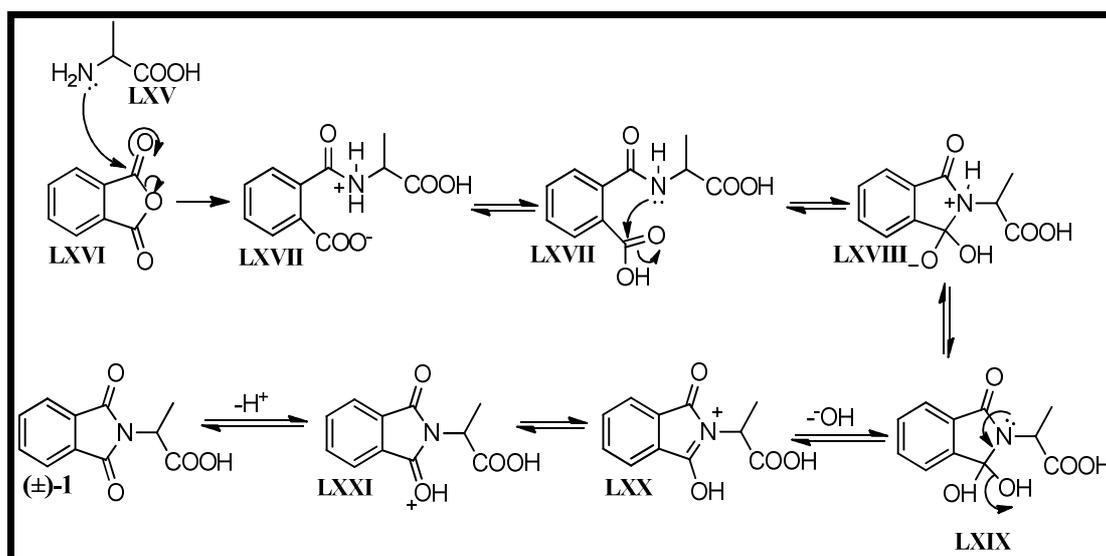
6.1.1 Síntesis de los intermediarios

En este trabajo se planteó la obtención de distintas pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas (**LXIV**), empleando una metodología que utiliza como materia prima en común al (±)-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanoato de metilo [(±)-**2**], la cual fue preparada mediante una síntesis en dos etapas a partir de anhídrido ftálico como se muestra en el esquema 14.



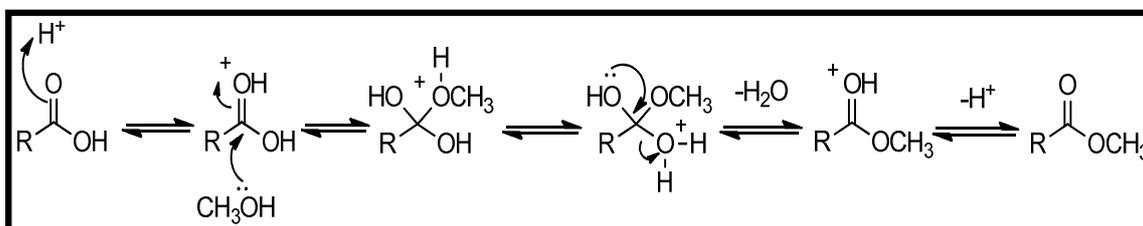
Esquema 14. Estrategia de síntesis del (±)-2-(1-oxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-propanoato de metilo. Reactivos y condiciones: (i) 130-135 °C; (ii) $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{MeOH}$ a reflujo durante 4 horas.

El compuesto (±)-**1** fue sintetizado con un rendimiento del 95%, a partir de anhídrido ftálico (**LXV**) y (±) alanina (**LXVI**) en un proceso libre de disolvente, donde ambos compuestos fueron mezclados y calentados a una temperatura por arriba de su punto de fusión (130-135 °C). En el esquema 15, se propone un mecanismo para esta reacción, en donde el grupo amino presente en **LXVI** realiza un ataque nucleofílico sobre uno de los carbonilos del anhídrido ftálico formando el intermediario **LXVII**, la etapa lenta de la reacción consiste en la condensación con la pérdida de agua entre el nitrógeno de la amida y el ácido carboxílico mediante una ciclación intramolecular dando como resultado el compuesto (±)-**1**.



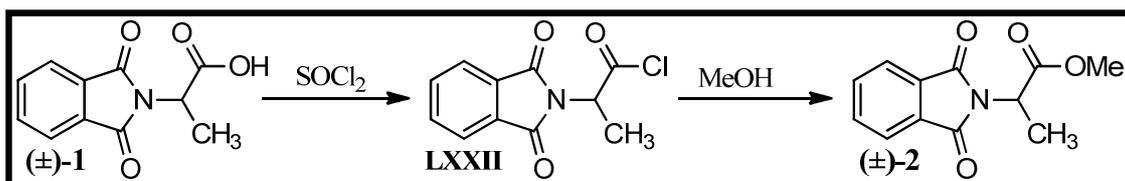
Esquema 15. Mecanismo de reacción involucrado en la síntesis del compuesto (±)-1.

Posteriormente el compuesto (±)-2 fue sintetizado con un 96% de rendimiento, empleando una síntesis de ésteres de Fischer a partir del compuesto (±)-1 en presencia de ácido sulfúrico y un exceso de metanol. Esta reacción es ampliamente utilizada para obtener ésteres a partir de un ácido carboxílico e involucra una sustitución nucleofílica sobre el grupo carboxilo en condiciones ácidas, donde el ácido tiene la función de catalizar la reacción al protonar el oxígeno del grupo carboxilo, haciéndolo susceptible para el ataque nucleofílico por parte del oxígeno presente en el metanol, eliminando agua posteriormente y dando como resultado el éster metílico correspondiente, uno de los mecanismos más aceptados es ilustrado en el esquema 16.



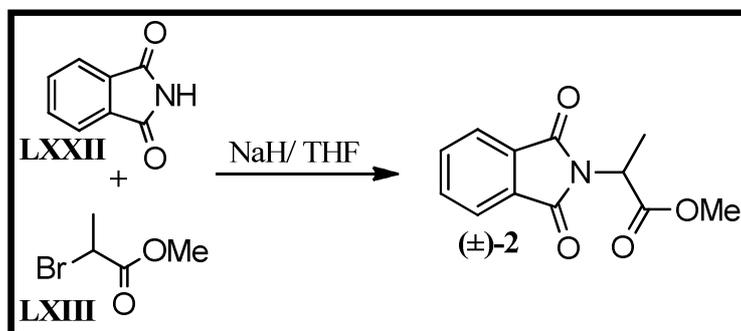
Esquema 16. Mecanismo general de reacción propuesto para la reacción de sustitución nucleofílica al carboxilo en la síntesis de ésteres de Fischer.

Una alternativa a este método para obtener ésteres a partir de ácidos carboxílicos es emplear cloruro de tionilo (SOCl_2) para formar el cloruro de ácido **LXXII**, el cual al ser tratado con metanol forma el éster metílico con rendimientos generalmente buenos (Esquema 17). No obstante el método de Fischer permite obtener rendimientos similares además de ser más económico.



Esquema 17. Método alternativo de esterificación.

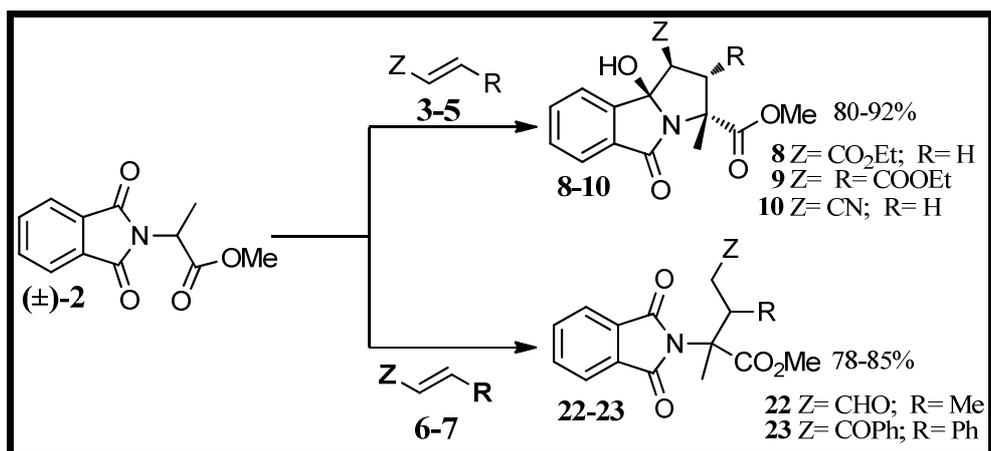
Cabe resaltar que para la obtención del compuesto (\pm) -2 existen otras alternativas viables las cuales fueron descritas en el punto 2.3.2 de este trabajo (Esquema 18). Por ejemplo la reacción entre ftalimida (**LXXII**) y bromopropionato de metilo (**LXIII**) en condiciones básicas, que involucra una sustitución nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) en la cual la imida es desprotonada por una base como DBU o NaH, para poder realizar un ataque nucleofílico, desplazando al bromo que actúa como buen grupo saliente para formar el producto (\pm) -2. Esta ruta involucra una sola etapa en la síntesis del compuesto de interés, sin embargo este método ofrece un rendimiento reportado de 74%³⁵ menor al que se obtuvo en este trabajo.



Esquema 18. Obtención del compuesto (\pm) -2 en una reacción del tipo $\text{S}_{\text{N}}2$.

6.1.2 Síntesis de las 9b-hidroxi-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-5-onas 8-10 y ftalimidias 22-23

Una vez obtenido el compuesto (\pm)-**2** se continuó con la siguiente etapa de la metodología constituida por una reacción entre dicho compuesto y los diferentes aceptores de Michael α,β -insaturados ilustrada en el esquema 19.



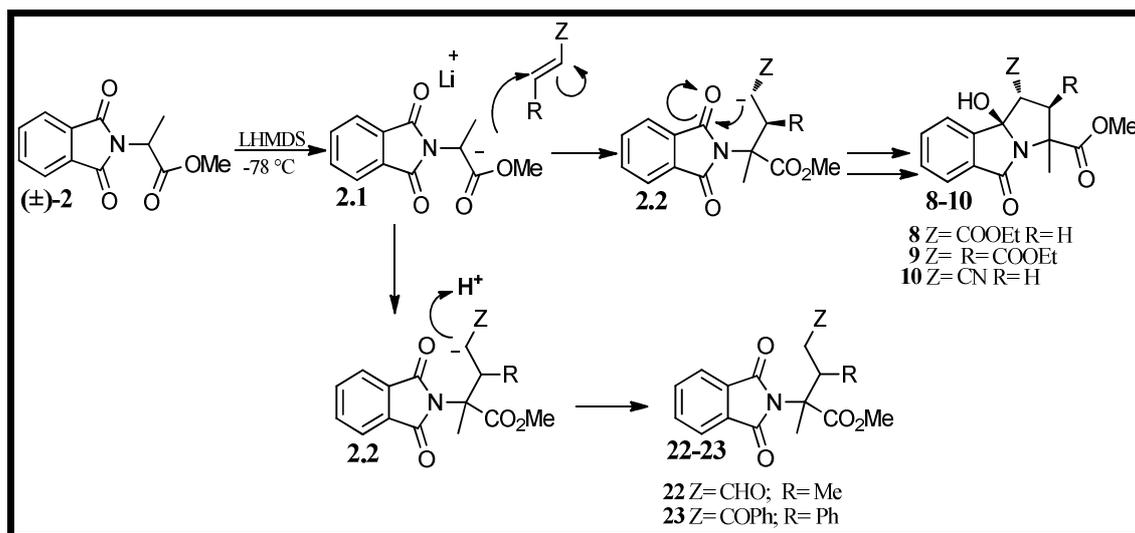
Esquema 19. Síntesis de los compuestos **8-10** y **22-23**.

Este proceso se lleva a cabo tratando el compuesto (\pm)-**2** con una base como LHMDS a una temperatura de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, con la cual se sustrae el protón más ácido de la molécula dando origen al intermediario aniónico, que sin duda debe ser estabilizado por resonancia como ion enolato con el grupo carbonilo del éster (**2.1**). El intermediario **2.1** así formado, al entrar en contacto con el correspondiente electrófilo o aceptor de Michael se origina una reacción de adición 1,4 sobre el sistema conjugado, formando el intermediario **2.2**. De esta reacción, diferentes tipos de productos fueron observados, donde la naturaleza electrónica y estérica del electrófilo, así como del sustrato, y otras variables como la temperatura y la presencia de catalizadores, entre otras, determinan la formación de uno u otro compuesto, particularmente:

a) Cuando el acrilato de etilo, fumarato de dietilo y acrilonitrilo, compuestos **3-5**, fueron empleados como electrófilos, el intermediario iónico **2.2** es formado, la carga negativa de este es poco estabilizada por resonancia con el grupo **Z**, lo cual lo convierte en un intermediario muy reactivo con fuerte carácter nucleofílico que permite la ciclación

intramolecular mediante una adición nucleofílica sobre uno de los carbonilos presentes en el fragmento de la ftalimida dando como resultado las 9b-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas **8-10**.

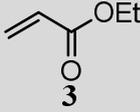
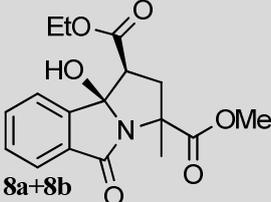
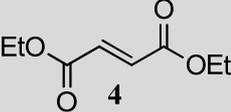
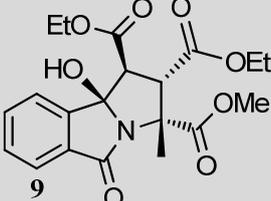
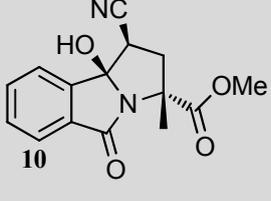
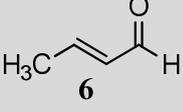
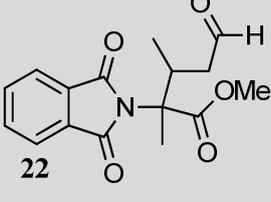
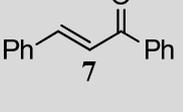
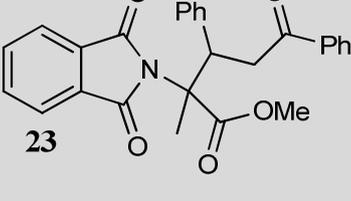
b) Mientras que con el uso de un aldehído α,β -insaturado, como el crotonaldehído (**6**) o una cetona como la chalcona **7**, la carga negativa del intermediario iónico formado **2.2**, es fuertemente estabilizado por resonancia por el grupo carbonilo presente (**Z**), con lo cual disminuye el carácter nucleofílico y de esta manera se obtiene como único compuesto el producto de una adición tipo Michael convencional, compuesto **22** y **23** respectivamente. Este comportamiento concuerda con lo informado en la literatura³⁵, que cuando utilizan metilvinilcetona, también obtienen una ftalimida³².



Esquema 20. Mecanismo propuesto para la síntesis de los compuestos **8-10** y **22-23**.

Debido a que el objetivo del presente proyecto es la obtención de pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas con diferentes patrones de sustitución las ftalimidias **22** y **23** no serán tomadas en cuenta en las reacciones posteriores. Finalmente en la tabla 1 se resumen los resultados obtenidos de esta reacción.

Tabla 1. Resultados de la reacción de (±)-**2** con diferentes aceptores de Michael como electrófilos; LHMDS como base, THF como disolvente y -78 °C de temperatura.

Compuesto α,β -insaturado	Producto	Rendimiento (%)
 <p>3</p>	 <p>8a+8b</p>	88
 <p>4</p>	 <p>9</p>	92
 <p>5</p>	 <p>10</p>	80
 <p>6</p>	 <p>22</p>	75
 <p>7</p>	 <p>23</p>	70

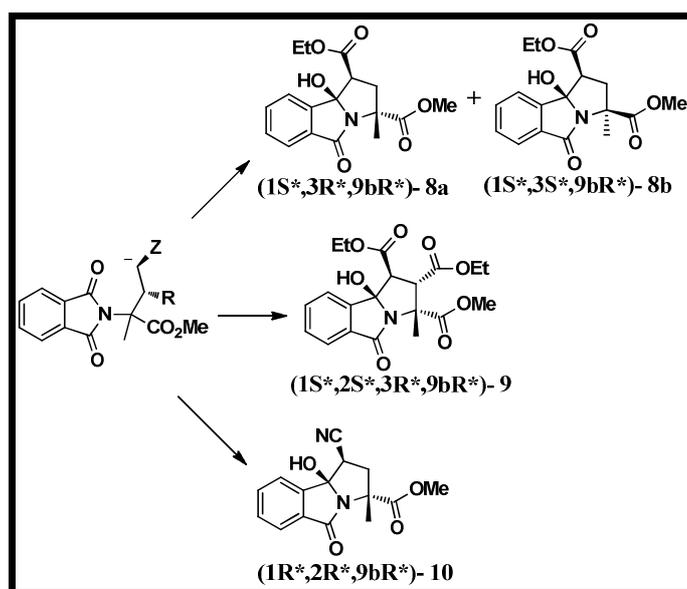
En este trabajo se evaluó también el efecto que diferentes bases como la hexametildisilazida de litio (LHMDS), hexametildisilazida de potasio (KHMDS),

diisopropilamidiuro de litio (LDA), hidruro de sodio (NaH) y óxido de plata (Ag₂O) tienen en el proceso de síntesis del compuesto **8**. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 2, de acuerdo con el tipo de base utilizada y su pKa. Se concluye que bases fuertes, voluminosas y no nucleofílicas favorecen el proceso, siendo la LHMDS la que mejores rendimientos mostró.

Tabla 2. Efecto de diferentes bases en la reacción del compuesto (\pm)-**2** con acrilato de etilo, en THF a -78 °C.

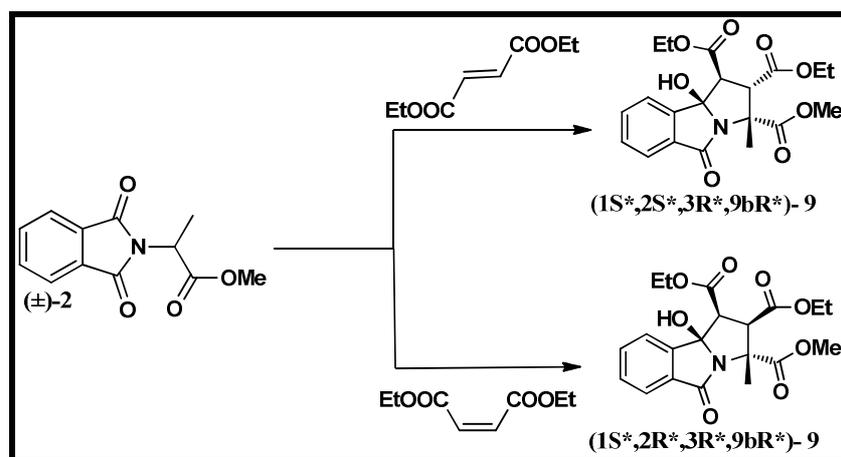
Base	Pka	Rendimiento 8 ^a y 8 ^b
LHMDS	30	88%
KHMDS	26	74%
LDA	40	80%
NaH	35	no hay reacción
Ag ₂ O	--	no hay reacción

Otro punto a discutir en esta síntesis es la estereoquímica con que se obtienen los compuestos, ya que mientras los productos **9** y **10** fueron obtenidos como un único producto, el compuesto **8** se obtuvo como una mezcla de diastereoisómeros (**8a**+**8b**) (Esquema 21), casi en la misma proporción observada por cromatografía en capa fina y en el rendimiento de producto aislado 43% y 45% respectivamente, lo cual concuerda con lo informado en la literatura³⁵.



Esquema 21. Estereoquímica de los productos obtenidos.

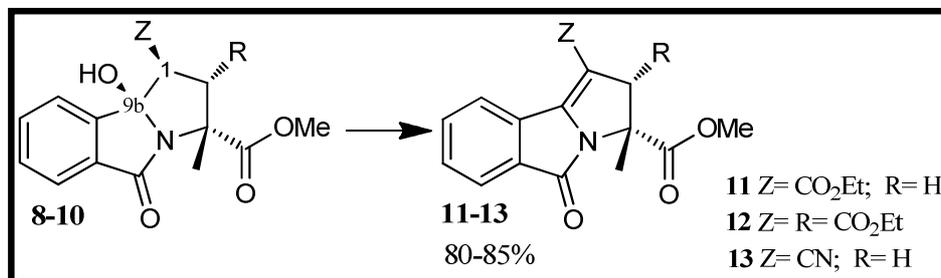
La estereoquímica del compuesto **9** en los carbonos asimétricos C1 y C2 depende de la configuración del electrófilo, lo cual ya fue observado³⁵, en donde los sustituyentes en estos carbonos, se encuentran dispuestos en posición *trans* cuando se utiliza fumarato de dietilo, y en disposición *cis* cuando se utiliza maleato de dietilo (Esquema 22). En nuestro caso particular, fue empleado como electrófilo el fumarato de dietilo y el producto obtenido presenta un p.f. 146-148 °C, el cual corresponde al estereoisómero de configuración 1*S**,2*S**,3*R**,9*bR**.



Esquema 22. Configuración del compuesto **9** según el α,β -insaturado utilizado.

6.1.3 Síntesis de las 2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindolonas **11-13**

La siguiente etapa de la metodología consiste en la formación de un doble enlace entre C9b y C1 a través de la deshidratación del alcohol terciario presente en los compuestos **8-10** (Esquema 23). De este modo fueron sintetizados los compuestos **11-13** en rendimientos del orden del 80 al 85%.

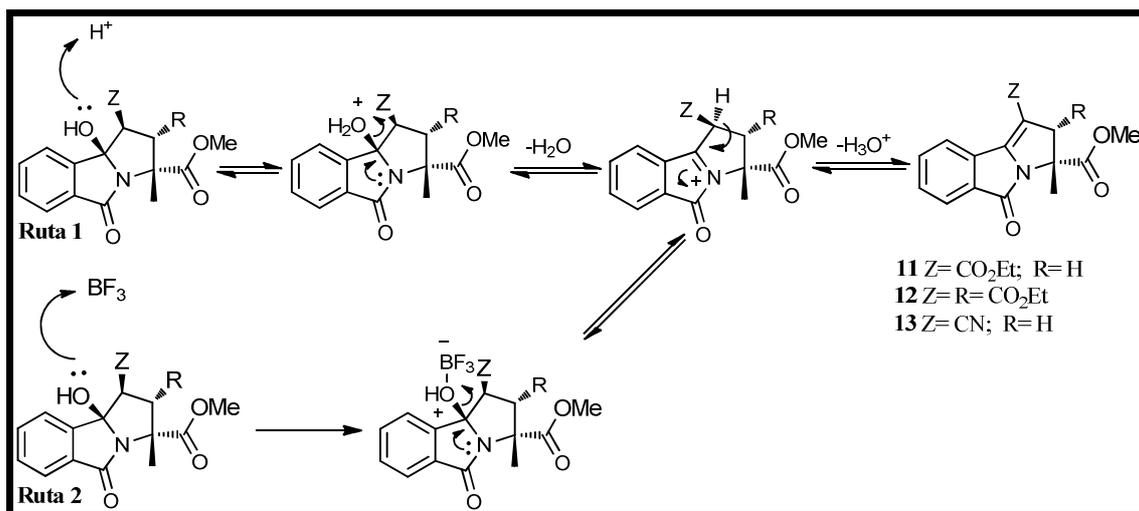


Esquema 23. Síntesis de los compuestos **11-13**.

Los compuestos **8** y **9** fueron como se esperaba fácilmente deshidratados, al ser tratados con H_2SO_4 en MeOH, para obtener los compuestos **11** y **12** en rendimientos del 80 y 85% respectivamente, sin embargo al someter el compuesto **10** al mismo tratamiento no se obtuvo el compuesto esperado, en su lugar se obtuvo una mezcla de compuestos de donde no pudo ser aislado el compuesto **13** esperado, esto se atribuye a que el grupo nitrilo presente en la molécula pudo ser convertido al éster metílico o al ácido carboxílico debido a la solvólisis del metanol catalizada por el H_2SO_4 empleados. Este proceso es ampliamente conocido y usado para la interconversión de nitrilos a ésteres o ácidos carboxílicos y en condiciones controladas a amidas. Por tal motivo para la obtención del compuesto **13** se debió usar un ácido de Lewis como el éterato de trifloruro de boro ($\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$) y un disolvente aprótico no nucleofílico como THF, obteniendo así el compuesto con un rendimiento del 85% .

En la Ruta 1 desaparecen dos centros estereogénicos presentes en las moléculas originales entre los carbonos C9b y C1. Por este motivo para la obtención del compuesto **11** se usó la mezcla de diasterómeros **8a+8b** convirtiendo así estos dos compuestos diastereoisómeros en los enantiómeros de **11**.

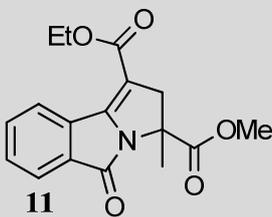
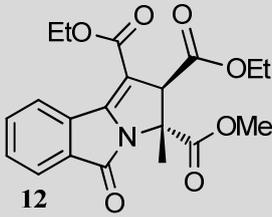
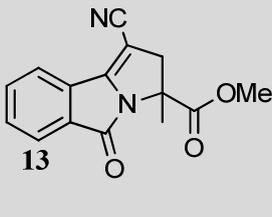
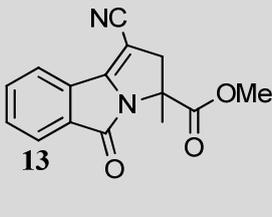
Para la reacción de deshidratación se propone un mecanismo que involucra al par de electrones libres del átomo de nitrógeno el cual desplaza al alcohol previamente protonado o conjugado con el ácido de Lewis, generando una molécula cargada en el átomo de nitrógeno y favoreciendo la eliminación del protón presente en C1, generando así el doble enlace en una reacción de eliminación (Esquema 24).



Esquema 24. La ruta 1 muestra la obtención de los compuestos **11** y **12**. La ruta 2 fue utilizada para obtener el compuesto **13**.

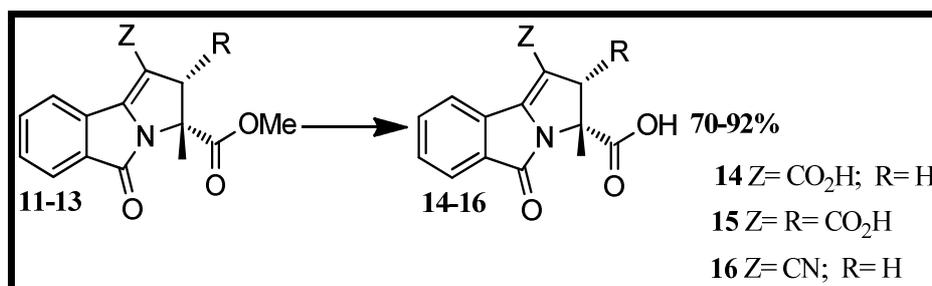
Los compuestos obtenidos empleando este proceso presentan una fluorescencia azul intenso en CCF empleando como revelador UV a 254 nm, revelan intensamente con vapores de yodo y además presentan una mancha amarillo pálido al contacto con solución alcalina de KMnO_4 provocada por la oxidación del doble enlace. Finalmente en la tabla 3 se resumen los resultados para esta reacción.

Tabla 3. Resultados obtenidos en la síntesis de los compuestos **11-13**.

Medio de reacción	Compuesto sintetizado	Rendimiento (%)
MeOH/ H_2SO_4	 <p>11</p>	80
MeOH/ H_2SO_4	 <p>12</p>	85
MeOH/ H_2SO_4	 <p>13</p>	No se logró aislar el producto del crudo de reacción
THF/ $\text{BF}_3 \cdot \text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	 <p>13</p>	85

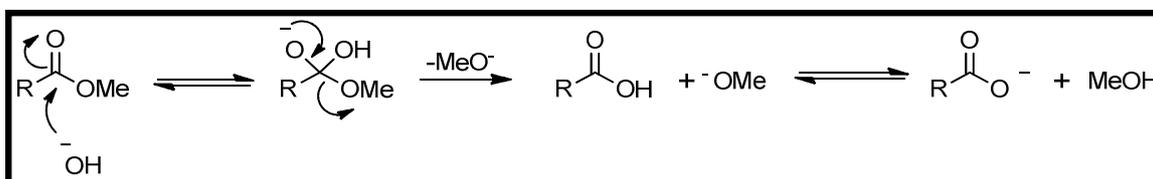
6.1.4 Síntesis de los ácidos 14-16

Los compuestos **14-16** fueron obtenidos en rendimientos que van del 70 al 92% a través de la hidrólisis en medio básico de los respectivos ésteres presentes en los compuestos **11-13**, en el esquema 25 se ilustra de modo general el proceso.



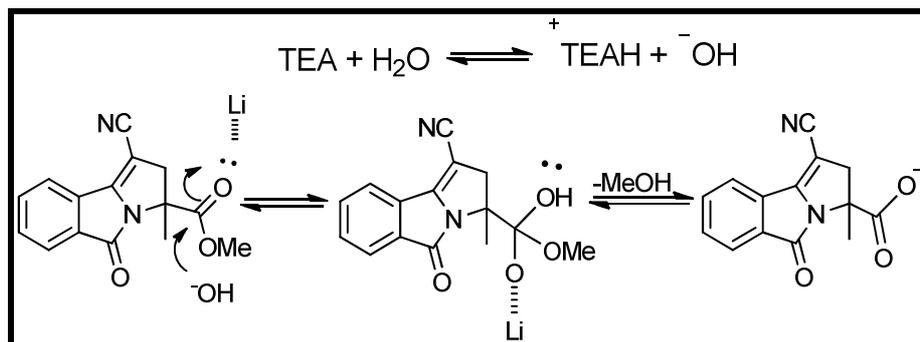
Esquema 25. Síntesis de los ácidos **14-16**.

Los compuestos **14** y **15** fueron obtenidos al tratar a **11** y **12** respectivamente con un ligero exceso de NaOH en una solución de H₂O/MeOH (10%). El mecanismo aceptado para esta reacción implica la formación de un intermediario tetraédrico en la etapa lenta y reversible de la reacción, y posteriormente en la etapa rápida y no reversible con la eliminación de metanol el producto es obtenido como la sal sódica del ácido carboxílico (Esquema 26).



Esquema 26. Mecanismo general de hidrólisis de un éster con catálisis básica.

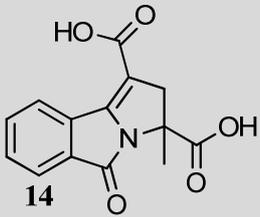
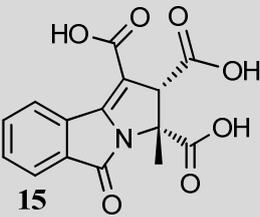
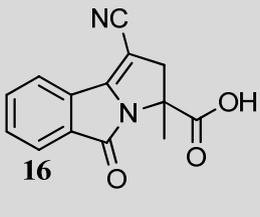
Sin embargo el compuesto **16** no pudo ser obtenido empleando las condiciones convencionales de una hidrólisis básica, debido a que el grupo nitrilo presente en la molécula se ve afectado tal y como se había previsto en la reacción de deshidratación discutida en el punto anterior. Para esta hidrólisis fue necesario condiciones más suaves utilizando TEA como base, una mezcla de H₂O/CH₃CN (2%) como disolvente y LiCl como catalizador⁵⁰, el rendimiento del compuesto **16** obtenido mediante este proceso selectivo fue del 92%. En este método se usa la baja cantidad de agua y TEA para generar iones HO⁻, mientras que el litio se coordina preferentemente con el átomo de oxígeno del carboxilo y en menor grado con el nitrógeno del nitrilo para facilitar el ataque nucleofílico del HO⁻⁴⁹ (Esquema 27).



Esquema 27. Hidrólisis catalizada con LiCl.

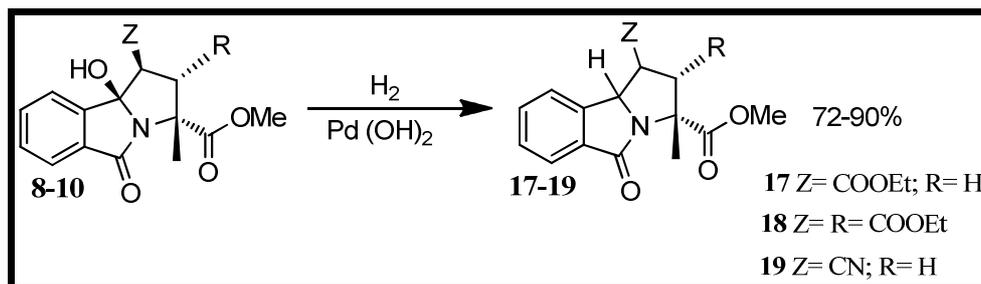
Debido a la presencia de varios grupos funcionales, como éster metílico y éster etílico en los compuestos **11** y **12**, así como el éster metílico y nitrilo en el compuesto **13**, susceptibles a las condiciones de hidrólisis, fue necesario evaluar la posibilidad de realizar la hidrólisis regioselectiva de los grupos funcionales presentes. Sin embargo, hasta el momento de las condiciones de hidrólisis ensayadas, solo se logró hidrolizar de manera selectiva al compuesto **13**, los resultados se resumen en la tabla 4.

Tabla 4. Resultados obtenidos en la síntesis de los compuestos **14-16**.

Condiciones de reacción	Compuesto sintetizado	Rendimiento (%)
H ₂ O / MeOH / NaOH reflujo 8 horas		80
H ₂ O / MeOH / NaOH reflujo 8 horas		70
H ₂ O / CH ₃ CN / TEA, LiCl t.a. 48 horas		92

6.1.5 Síntesis de los compuestos 17-19

En la siguiente etapa de la metodología se procedió a sintetizar los compuestos **17-19** mediante la hidrogenación catalítica del alcohol terciario presente en los compuestos **8-10** empleando como catalizador Pd(OH)₂ obteniendo rendimientos del 72 al 90%, esta reacción se ilustra en el esquema 28.



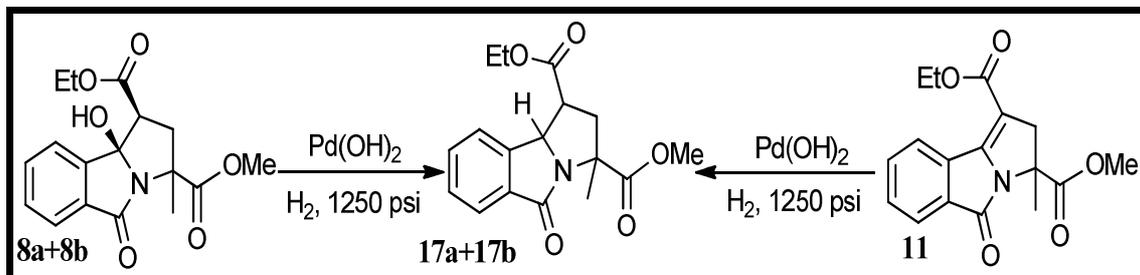
Esquema 28. Síntesis de los compuestos **17-19**.

El hidroxilo en posición C9a, corresponde a un alcohol bencílico, terciario, α al nitrógeno, además de encontrarse vecino a un hidrógeno ácido activado por el grupo Z. Por todo lo anterior se esperaba que este grupo funcional debiera de ser muy reactivo, y por lo tanto fácil de hidrogenolizar, sin embargo y a pesar de todo, fue necesario calentar a 60 °C y aumentar la presión hasta 250 psi para poder lograr obtener los productos **17-19**. Al respecto, una reactividad similar ha sido observada y reportada en la literatura en donde se han usado condiciones similares para eliminar α -aminoalcoholes de PAs y pirroloisoindolonas^{51,52}.

Los compuestos **18** y **19** fueron obtenidos como un producto único en CCF con buenos rendimientos que van del 72 al 88%, mientras que la hidrogenación de la mezcla de diastereómeros **8a+8b** dio como resultado 2 compuestos principales **17a+17b** los cuales fueron purificados por métodos cromatográficos.

Con el fin de encontrar condiciones optimas en la hidrogenólisis, el compuesto **11** fue sometido a condiciones drásticas de presión en un reactor Parr cargado con H₂ a 1250 psi y como catalizador Pd(OH)₂, durante 8 horas (Esquema 29), de la mezcla de reacción se observaron 4 compuestos, 2 de los cuales son los productos principales y coinciden con el

R_F de los compuestos **17a+17b**, ya separados se obtienen con un rendimiento de tan solo el 50%. De los resultados anteriormente descritos consideramos seguir explorando esta alternativa con el fin de encontrar las condiciones óptimas para la obtención selectiva de los correspondientes diastereoisómeros posibles en esta reacción.



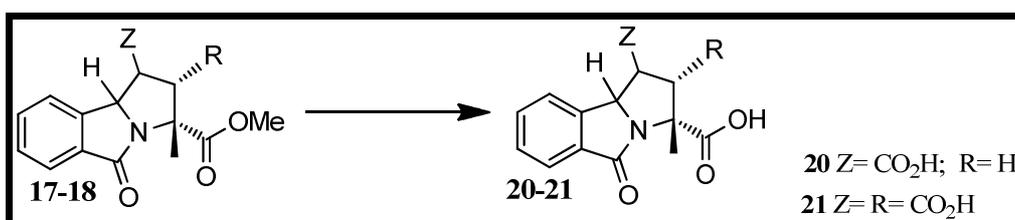
Esquema 29. Rutas exploradas para la síntesis del compuesto **17**.

Tabla 5. Hidrogenación catalítica a 60 °C y 1250 psi.

Materia prima	Compuesto obtenido	Rendimiento (%)
<p>8a+8b</p>	<p>17a+17b</p>	90
<p>9</p>	<p>18</p>	88
<p>10</p>	<p>19</p>	72

6.1.6 Síntesis de los ácidos 20 y 21.

La última etapa de la metodología comprendió en la hidrólisis de los ésteres presentes en los compuestos **17** y **18**, los cuales fueron convertidos a sus respectivos ácidos carboxílicos mediante una hidrólisis en medio básico (Esquema 30).

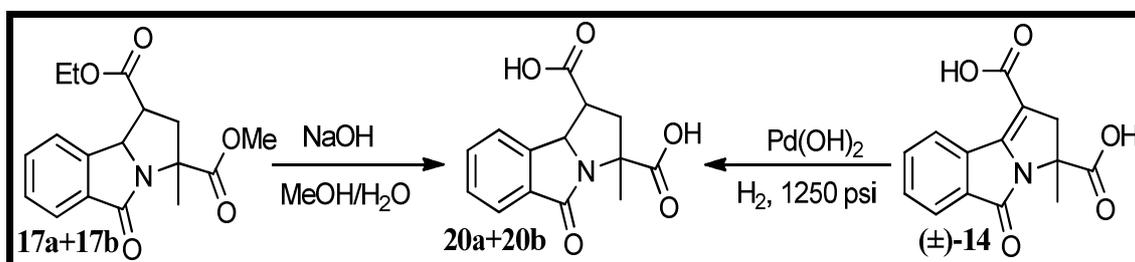


Esquema 30. Síntesis de los compuestos **20-21**.

Cuando la mezcla de diastéromeros de los compuestos **17a+17b** fue sometida a las condiciones de hidrólisis bajo temperatura de reflujo durante 8 horas dio como resultado dos compuestos principales los cuales fueron separados por cromatografía preparativa para obtener el compuesto **20a** con un rendimiento del 25% y el compuesto **20b** con un rendimiento del 36%.

Mientras que en la hidrólisis del compuesto **18** se obtuvieron 3 productos principales los cuales fueron separados por cromatografía preparativa obteniendo los compuestos **21a** (20.5%), **21b** (26%) y el compuesto **21c** con un rendimiento del 26%.

Con el fin de encontrar condiciones óptimas en la hidrogenólisis, el compuesto **14** fue sometido a condiciones drásticas de presión en un reactor Parr cargado con H₂ a 1250 psi y como catalizador Pd(OH)₂, durante 8 horas (Esquema 31), de la mezcla de reacción se observaron 4 compuestos, 2 de los cuales son los productos principales y coinciden con el R_F de los compuestos **20a** y **20b** con un rendimiento del 40%. Todos estos compuestos se encuentran aún pendientes de su caracterización.



Esquema 31. Ruta alternativa para la obtención del compuesto **20**.

6.2 Caracterización

6.2.1 Consideraciones generales

En esta sección se dará una descripción de cómo se caracterizaron los compuestos obtenidos utilizando principalmente RMN ^1H , RMN ^{13}C y EM, en algunos casos se usaron espectros en dos dimensiones.

Las pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas sintetizadas en este trabajo fueron obtenidas a través de la modificación estructural de los compuestos **8-10** obtenidos a través de una reacción tipo tándem. La estereoquímica relativa del compuesto **9** fue obtenida mediante difracción de rayos X y la información espectroscópica de RMN ^1H y ^{13}C de este compuesto ha servido como referencia para asignar la configuración relativa de los compuestos derivados y relacionados sintetizados en este trabajo. En la figura 11 se muestra la estructura ORTEP del compuesto **9** tomada de la bibliografía³⁵.

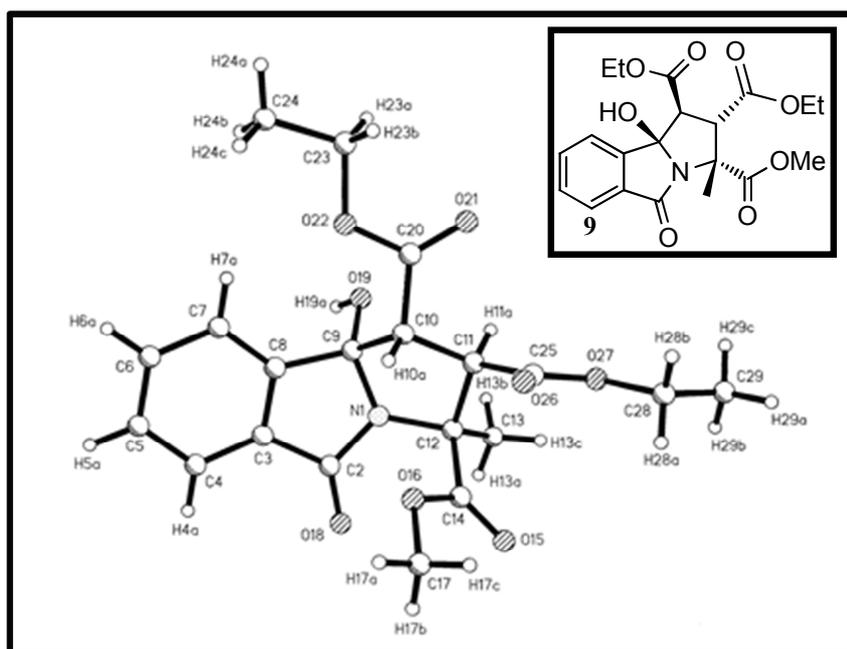


Figura 11. Estructura ORTEP del compuesto **9**.

Esta misma configuración es la que tienen los compuestos **8** y **10** y se considera que los compuestos mantienen esa configuración durante las reacciones, excepto en aquellos donde se afecte directamente al centro estereogénico, como es la formación del doble enlace entre los carbonos C9b-C1 y la hidrogenación catalítica del alcohol presente en el carbono C9b.

6.2.2 Caracterización de las ftalimidias 22 y 23

El compuesto **22**, por el momento no se cuenta con la espectroscopía completa de este compuesto, únicamente se asume que el producto corresponde al producto de adición 1,4 dado al comportamiento en CCF donde el compuesto obtenido revela intensamente cuando es tratado con 2,4-dinitrofenilhidrazina, que si bien esta no es una prueba contundente, esperamos confirmar la estructura de este compuesto en un futuro cercano.

Para el compuesto **23**, en el análisis del espectro de RMN ^1H (Figura 12), se observan dos conjuntos de señales lo cual sugiere que el producto se obtuvo como una mezcla de diastereoisómeros, no separable por cromatografía en columna. Este comportamiento se debe a que en el proceso se forman dos centros estereogénicos, y que por lo tanto es de esperarse que el producto de esta reacción no asimétrica debe dar lugar a la formación de dos pares de enantiómeros. En el espectro de RMN ^1H , empleando la integración de las señales simple en 1.6 y 1.5 ppm asignadas para el CH_3 , se determinó que los diastereoisómeros se encuentran en una proporción de 58:42.

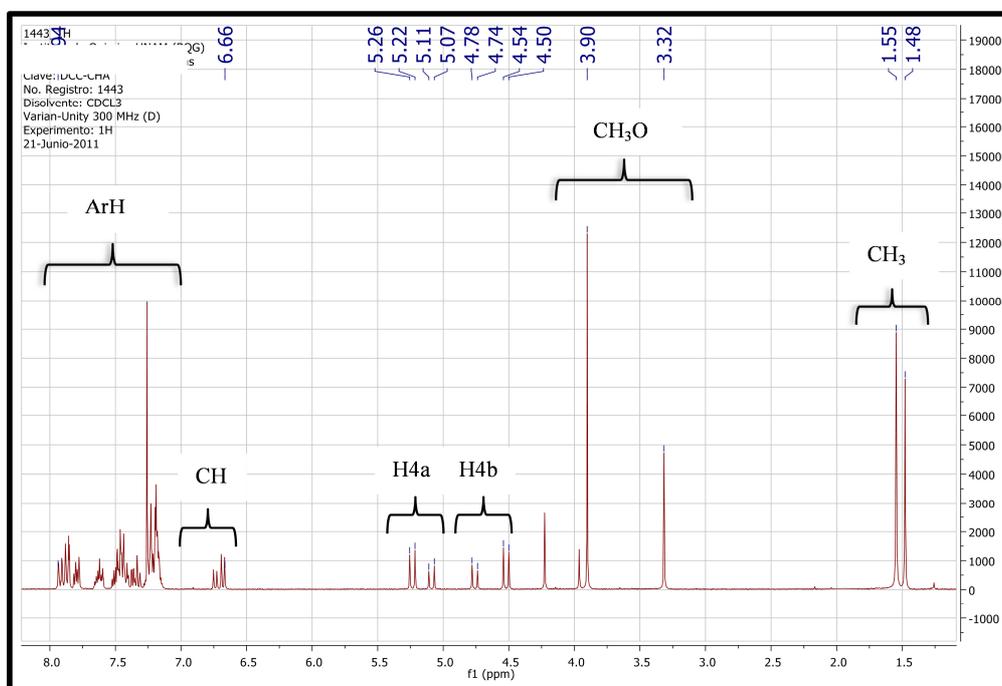
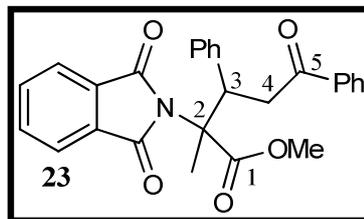


Figura 12. Espectro de RMN ^1H a 300 MHz del compuesto **23**.

Además, la interpretación del RMN ^1H nos lleva a pensar que el compuesto **23** es en realidad el producto de adición 1,4 y no se observa el producto de adición 1,2 como podría ocurrir. Lo anterior se confirma por que no aparecen señales vinílicas y si la de los hidrógenos diastereotópicos de C4 de ambos diastereoisómeros.

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 13), aún cuando no fue acumulado durante el tiempo suficiente para mostrar con claridad todas las señales, se pueden observar dos conjuntos de señales y que corresponden al número de carbonos presentes en la molécula. De igual manera, en el análisis del espectro de RMN ^{13}C , se observan las señales en 196.0 y 196.9 ppm correspondiente a los carbonilos de la cetona en C5, 174.6 ppm de los carbonilos de imida del fragmento de la ftalimida del isómero mayoritario y en 166.2 ppm para el carbonilo de éster del diastereoisómero principal. Lo anterior nos confirma que el compuesto obtenido corresponde al producto de adición 1,4 sobre el sistema α,β -insaturado correspondiente.

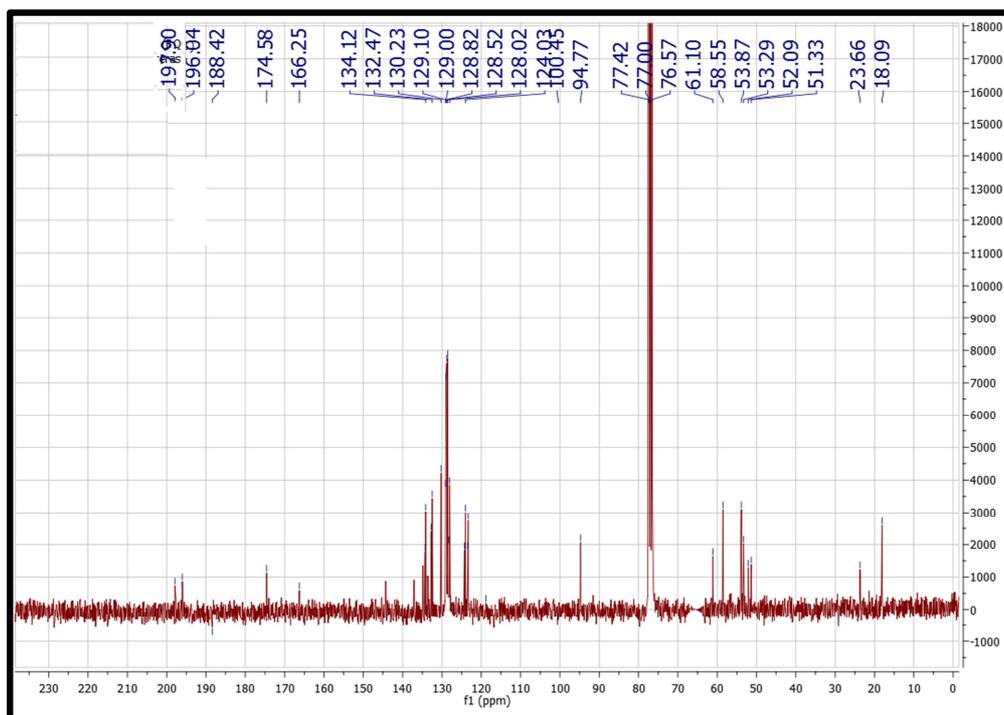
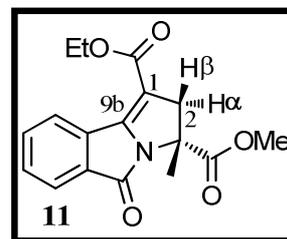


Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto **23**.

6.2.3 Caracterización de los compuestos 11-13

Debido a que el compuesto **11** es el resultado de la reacción de deshidratación del compuestos **8**, es razonable pensar que por comparación de los espectros de resonancia la caracterización del compuesto **11** resulta evidente. Así, las señales que fueron asignadas³⁵ para H α en 2.71, H β en 2.96 y H1 en 3.39 ppm en el



espectro de RMN ¹H para el compuesto **8**, mientras que en el espectro RMN ¹H obtenido del compuesto **11** (Figura 14) se puede notar la ausencia de las señales correspondientes para el hidrógeno H1, y sí la aparición de las señales en 3.2 ppm correspondiente para el H β y en 3.60 ppm para el H α , que se acoplan entre sí con una constante de acoplamiento de 18 Hz.

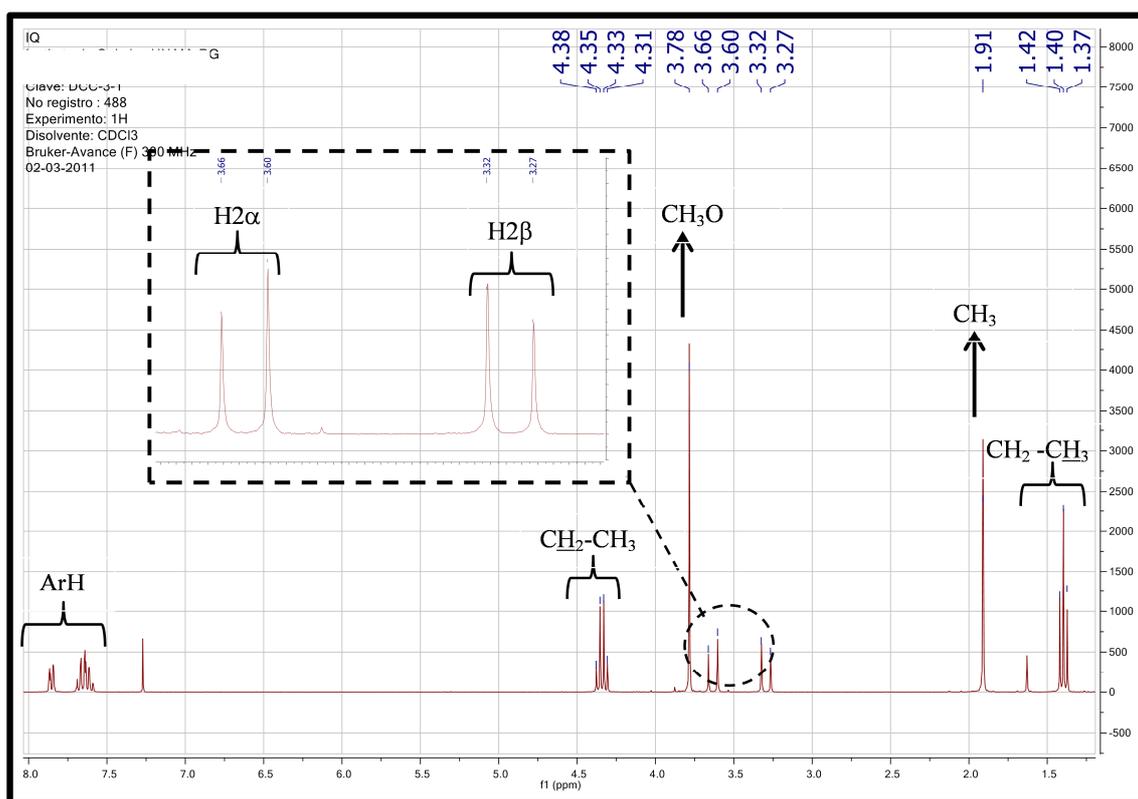


Figura 14. Espectro de RMN ¹H a 300MHz del compuesto **11**

En el espectro de RMN ¹³C (Figura 15) se pueden observar las 17 señales correspondientes al número de carbonos presentes en la molécula, de ellas una señal que corresponde a un

carbonilo de lactama 163.4 ppm, y dos de carbonilo de éster uno en 164.6 para el carbono de carbonilo de éster etílico y el segundo en 172.2 éster metílico. De la información espectroscópica de RMN ^1H y ^{13}C , se concluye que el compuesto obtenido corresponde al producto de deshidratación en medio ácido.

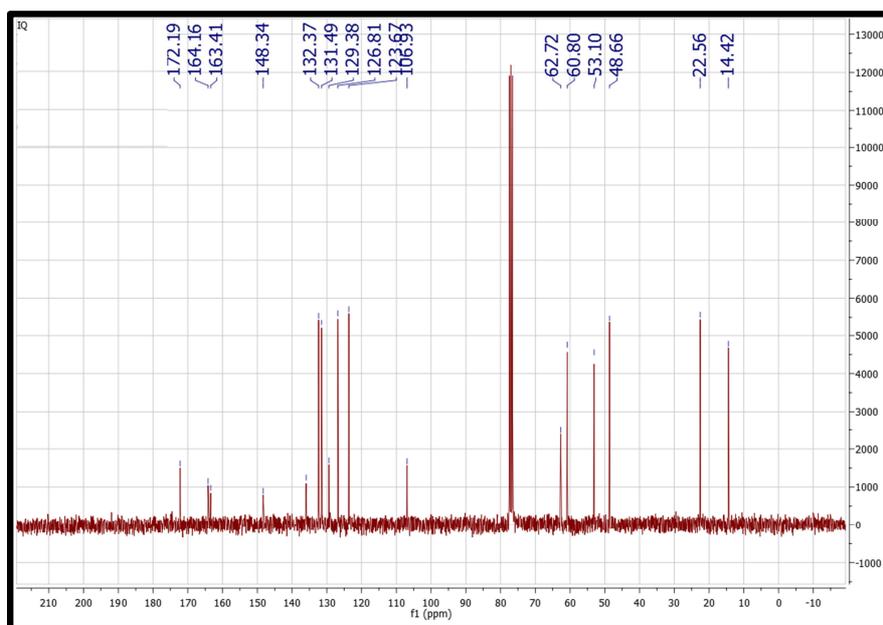
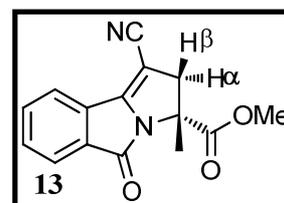


Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto **11**.

Del mismo modo en el espectro de RMN ^1H del compuesto **13** (Figura 15) podemos apreciar la presencia de estas señales dobles en 3.29 ppm para H 2β y 3.61 ppm para H 2α acopladas entre sí con una constante de 18 Hz. Además es posible observar en 1.93 ppm la señal simple correspondiente al metilo en C3 y en 3.80 ppm la señal simple correspondiente al metilo del éster en C3.



Al analizar el espectro de NMR ^{13}C (Figura 16) se encontró una correspondencia entre el número de señales con los 17 carbonos presentes en la molécula, además de la señal característica del carbono del nitrilo en 115.0 ppm. De la información reunida por ambos espectros se concluye que el compuesto obtenido corresponde con la estructura del compuesto **13**.

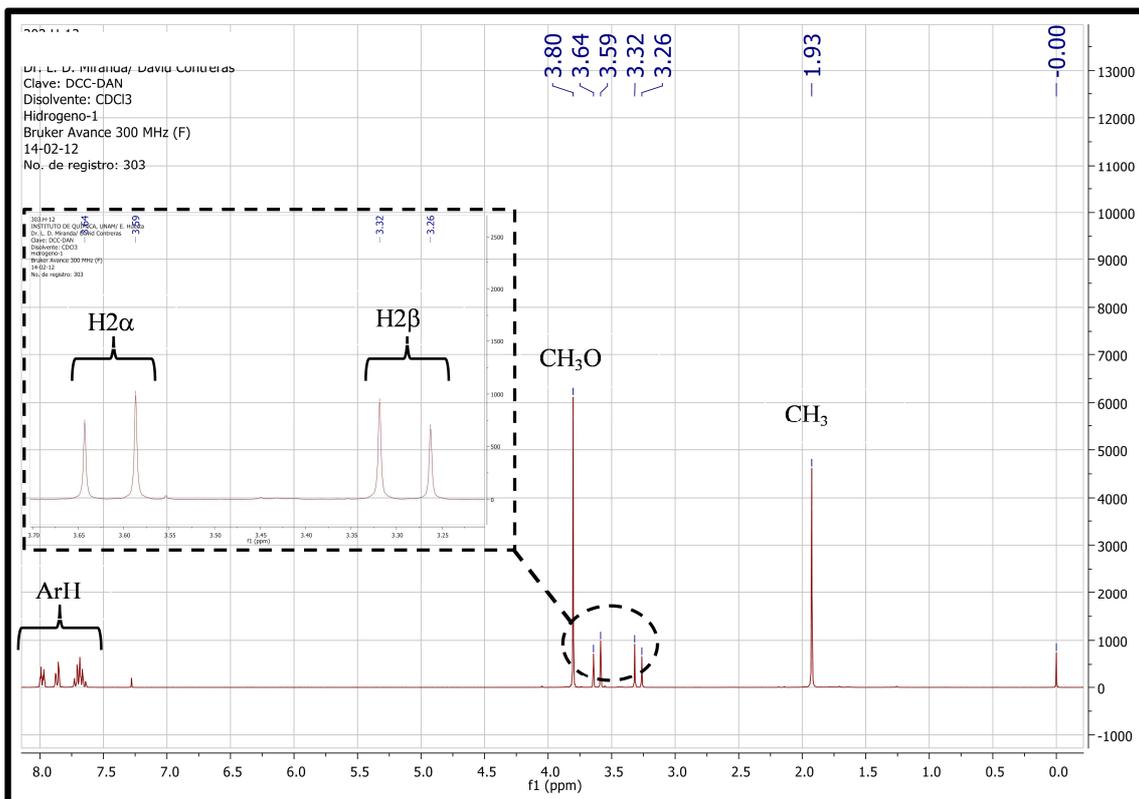


Figura 16. Espectro de RMN ¹H a 300MHz del compuesto 13

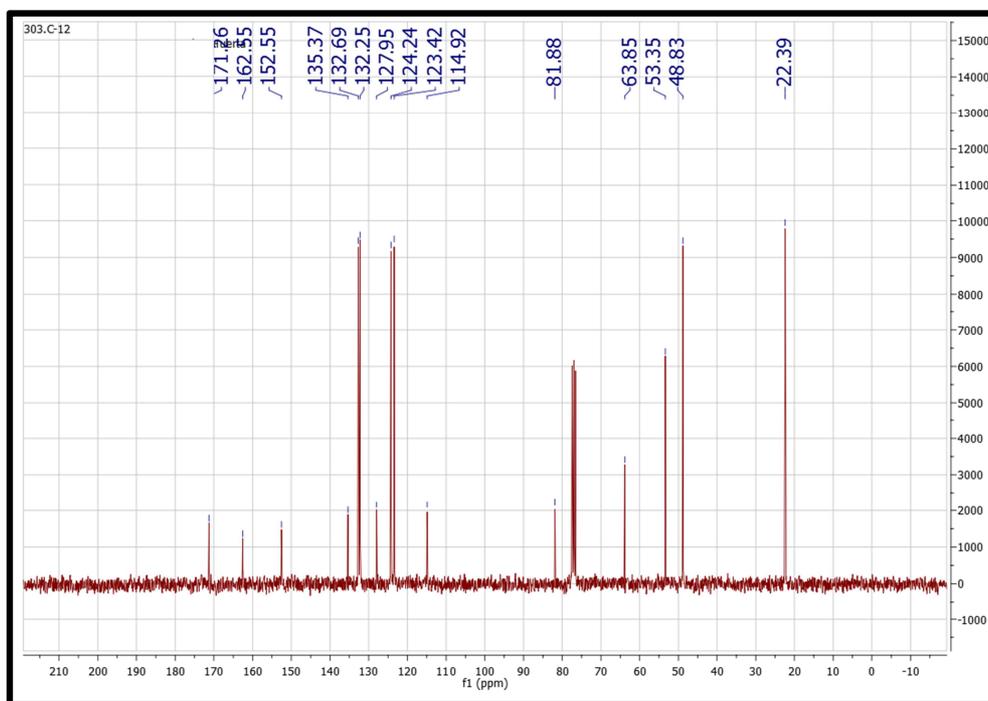
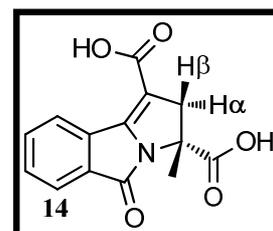


Figura 17. Espectro de RMN ¹³C a 75 MHz del compuesto 13.

6.2.4 Caracterización de los ácidos 14-16

Ya que los ácidos **14-16** fueron preparados mediante la hidrólisis de los compuestos **11-13** lo que se busca observar en el RMN ^1H es la desaparición de los átomos de hidrógeno asociados a los ésteres y que las señales dobles de los hidrógenos enlazados al C2 se conserven. También se podrá observar a campos bajos la presencia de los átomos de hidrógeno enlazados al grupo funcional del ácido.

En el espectro RMN ^1H del compuesto **14** (Figura 17) se puede observar 3.21 ppm una señal doble correspondiente a H2 β y en 3.64 la señal doble correspondiente al H2 α . Se puede también notar que las señales que correspondían a las cadenas alquílicas de los ésteres han desaparecido y solo se puede observar en 1.87 ppm la señal del metilo de C3.



En el espectro de NMR ^{13}C (Figura 18) se pueden notar la ausencia de las señales correspondientes a las cadenas alquílicas de los ésteres, y aparece el número total de señales que corresponden al número de átomos de carbono presentes en la molécula, de ellas una señal que corresponde a un carbonilo de lactama 162.7 ppm, y dos de ácido carboxílico en 165.3 y 172.9. De la información reunida con los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C se concluye que el compuesto obtenido corresponde con la estructura **14**.

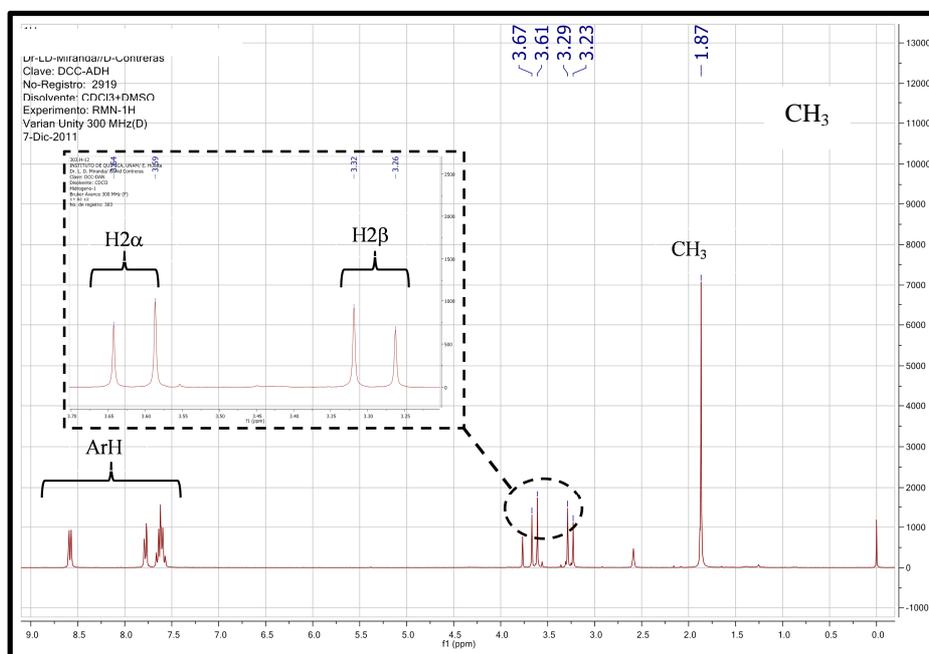


Figura 18. Espectro de RMN ^1H a 300MHz del compuesto **14**

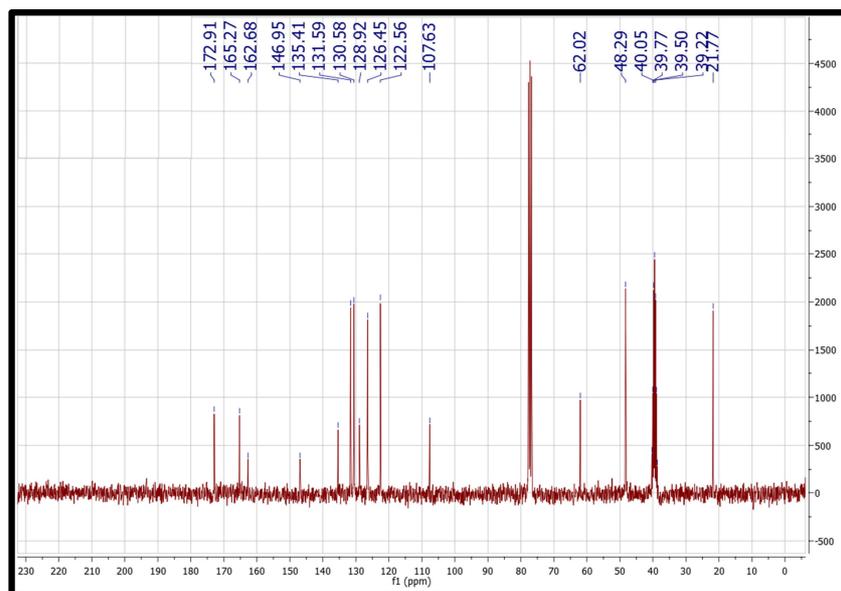


Figura 19. Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto **14**.

De igual modo en el espectro de RMN ^1H del compuesto **16** (Figura 19) es posible observar en 3.21 ppm la señal doble correspondiente a H2 β y en 3.61 ppm la señal doble correspondiente a H2 α además de que es posible observar en 8.39 ppm la señal correspondiente al átomo de hidrógeno enlazado al ácido carboxílico.

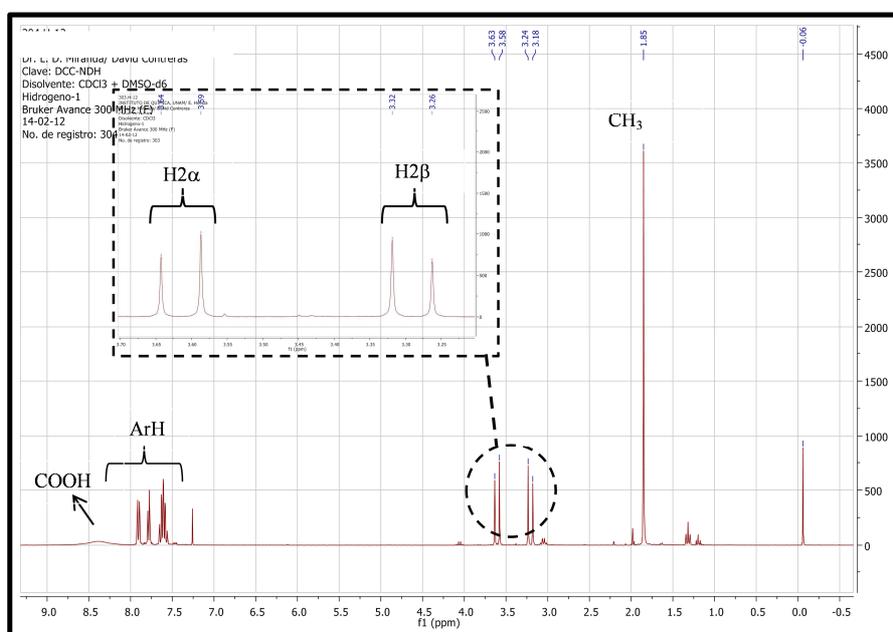
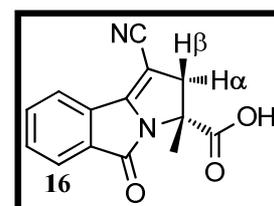


Figura 20. Espectro de RMN ^1H a 300 MHz del compuesto **16**

Además en el espectro de RMN ^{13}C (Figura 20) el número de señales corresponde con el número de átomos de carbono presentes en la molécula, de ellas la señal característica del nitrilo en 115.0 ppm, estable bajo las condiciones de hidrólisis empleadas, un carbonilo de lactama 162.0 ppm, y uno de ácido carboxílico en 172.0. Con la información obtenida de los espectros se concluye que la estructura del compuesto obtenido corresponde con el compuesto **16**.

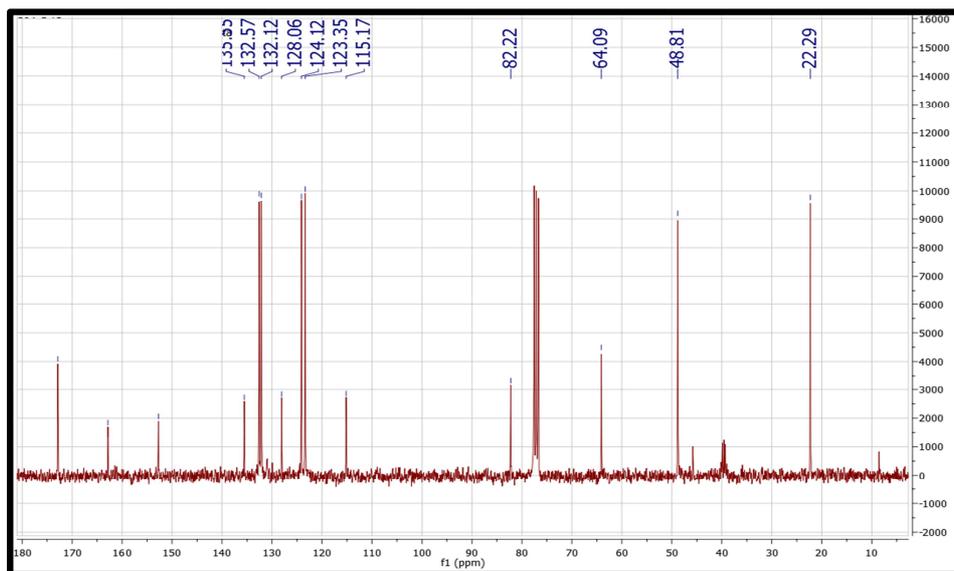
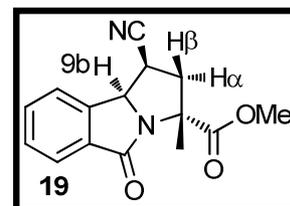


Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto **16**.

6.2.5 Caracterización de los compuestos 17-19

Ya que los compuestos **17-19** fueron sintetizados mediante la hidrogenólisis catalítica de los alcoholes presentes en los compuestos **8-10**. Las señales características de estos compuestos en el espectro de RMN ^1H son las siguientes: una señal doble asociada al átomo de hidrógeno del C9b y las señales asociadas a los átomos de hidrógenos enlazados a C1 y C2.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **19** (Figura 21) se pueden observar las siguientes señales: en 2.63 ppm una señal doble de dobles con $J_1 = 12.0$ y $J_2 = 8.0$ Hz para H2 α , en 3.03 ppm una señal doble con $J = 12.0$ Hz asignada para H2 β , en 3.65 ppm una señal triple con $J = 8.0$ Hz que corresponde con H1 y en 5.15 ppm una señal doble con $J = 8.0$ Hz para H9b. Se puede observar que las señales correspondientes a H2 β , H1 y H9b tienen la misma constante de acoplamiento ($J = 8.0$ Hz), o que indica que



los tres hidrógenos se encuentran del mismo lado de la molécula. La correlación entre esos hidrógenos se observa en el espectro COSY del compuesto **19** (Figura 22).

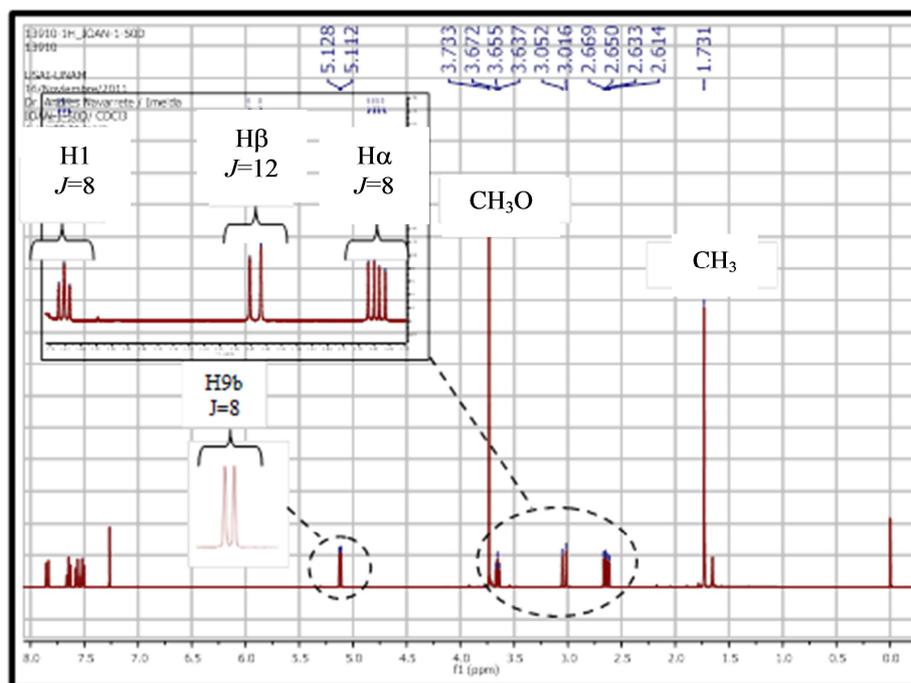


Figura 22. Espectro de RMN ^1H a 300MHz del compuesto **19**.

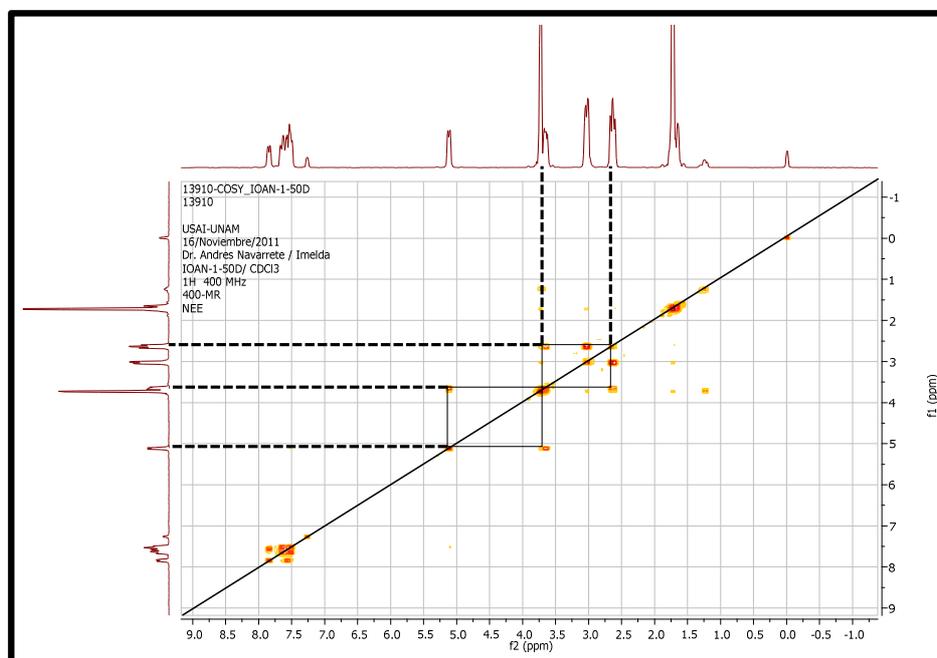


Figura 23. Espectro COSY a 400 MHz del compuesto **19**.

En el espectro de RMN ^{13}C (Figura 23) se observa el número de señales que corresponde a los 15 átomos de carbono en la molécula, de las cuales se puede notar que no se hidrogenoliza el nitrilo en 117.1, además de que se mantiene un carbonilo de lactama 167.7 ppm, y uno de éster en 171.3 éster metílico.

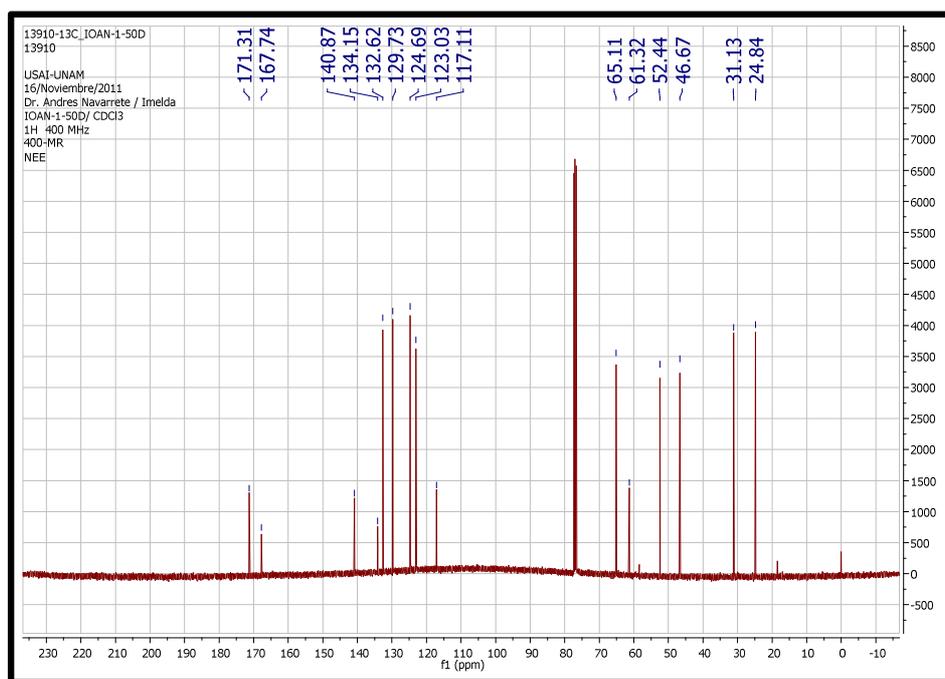


Figura 24. Espectro de RMN ^{13}C a 75 MHz del compuesto 19.

VII. CONCLUSIONES

- Se logró la síntesis del compuesto (\pm)-**2**, intermediario clave en la síntesis.
- Se sintetizaron las 9b-hidroxi-5*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas **8-10** usando diferentes compuestos α,β -insaturados, en un proceso que involucra dos reacciones en secuencia: una adición de Michael y una ciclación intramolecular.
- Se sintetizaron las ftalimidias **22-23** usando diferentes compuestos α,β -insaturados, en una reacción de adición nucleofílica.
- Se obtuvieron los compuestos análogos **8-10** con la estructura base de la pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas, los cuales fueron sometidos bajo condiciones de reacción de deshidratación, hidrogenación catalítica e hidrólisis, para obtener los correspondientes derivados **11-16** y **17-21**.
- Los compuestos **11**, **13**, **14**, **16**, **18**, **19**, **22** y **23**, fueron caracterizados mediante RMN ^1H , RMN ^{13}C y espectrometría de masas.

VIII. PERSPECTIVAS

- Caracterizar los compuestos **20 y 21**
- Optimizar los rendimientos para la obtención de los compuestos **20 y 21**.
- Evaluar los compuestos obtenidos con el fin de obtener información sobre los requerimientos estructurales necesarios para que las pirrolo[2,1-a]isoindolonas muestren actividad relajante sobre el músculo liso.
- Realizar evaluaciones sobre actividad antimicrobiana y anticancerígena, debido a la similitud que estas moléculas presentan con algunos compuestos reportados en la literatura con estas actividades farmacológicas^{5,17,18}.

IX. DESARROLLO EXPERIMENTAL

9.1 Consideraciones generales.

El curso de las reacciones presentadas en este trabajo fue seguido por cromatografía en capa fina (CCF), usando placas comerciales de gel de sílice 60 F₂₅₄ de Merck™ y como reveladores: radiaciones UV (254 nm), vapores de yodo, solución de KMnO₄, solución de sulfato cérico amoniacal y solución de ácido fosmolíbdico. Los compuestos se purificaron por cromatografía en columna empleando sílica gel 40

Los disolventes empleados en las reacciones y purificaciones fueron destilados antes de su uso. El tetrahidrofurano (THF) se secó con sodio metálico y empleando benzofenona como indicador antes de ser destilado.

El material de vidrio utilizado en las reacciones que requerían de condiciones anhidras fue secado en la estufa a 150 °C durante 12 horas previo su uso y manteniéndolo después en atmósfera de nitrógeno.

Los puntos de fusión (p.f.) fueron determinados en un aparato Melt-Temp “Electrothermal” y no están corregidos.

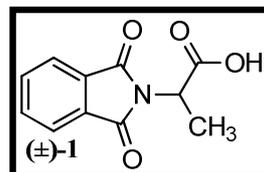
Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear RMN ¹H y de RMN ¹³C se obtuvieron en los espectrofotómetros Varian VXR-3005 y Varian Unity Plus 500. Los espectros se obtuvieron utilizando como disolvente cloroformo deuterado (CDCl₃) o dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-*d*₆) con tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (*ppm*) a partir del TMS. Para indicar la multiplicidad de las señales en RMN ¹H, se utilizan las abreviaturas: (s) simple, (d) doble, (t) triple, (c) cuádruple, (q) quíntuple, (m) múltiple. Las señales complejas se indican utilizando dos o mas de estas abreviaturas. En los casos en que no se pudo determinar la multiplicidad de una señal se reporta el intervalo de desplazamiento químico en el que aparecen. Las constantes de acoplamiento (*J*) se reportaron en Hertz (Hz).

Los espectros de masas se realizaron en un espectrómetro Hewlett-Packard modelo 5890 a 70 eV, que utiliza un cromatógrafo de gases acoplado y un modo de ionización por impacto electrónico.

9.2 Síntesis de intermediarios

Síntesis del ácido (\pm) -2-(1,3-Dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanoico $[(\pm)$ -1]

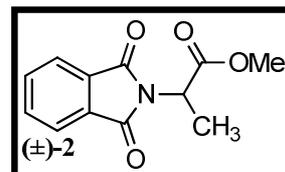
En un matraz balón de 500 mL provisto de un agitador magnético se mezclaron 189.5 mmol de anhídrido ftálico y 200 mmol de (\pm) -alanina, la mezcla de reacción se calentó a una temperatura de 130-135 °C durante 45 min. Se dejó enfriar la mezcla de reacción



dejando un residuo sólido que se cristalizó en una mezcla etanol/agua (7:3). Los cristales se separaron por filtración usando vacío y secados a 100 °C durante 3 horas, de donde se obtuvieron 37.6 g de producto (95% de rendimiento) como cristales amorfos transparentes del producto racémico $[(\pm)$ -1], p.f. 150-152 °C (lit.³⁴ p.f. 149-151 °C).

Síntesis del (\pm) -2-(1,3-Dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)propanato de metilo $[(\pm)$ -2]

En un matraz balón de 500 mL provisto de un agitador magnético se disolvieron en 200 mL de metanol destilado 169.9 mmol del compuesto (\pm) -1, a esta solución se añadieron 4 mL de H₂SO₄ conc. y se calentó a temperatura de reflujo durante 4 horas, el curso



de la reacción fue monitoreado mediante CCF (hexano/AcOEt, 8:2). Al término de la reacción se añadieron lentamente 9.9 g de K₂CO₃ y se eliminó el disolvente en el rotavapor, dando como resultado un residuo pastoso el cual fue tratado con 50 mL de agua, y el producto se extrajo de la fase acuosa con 3 porciones de 30 mL de AcOEt. Los extractos orgánicos fueron mezclados y lavados con 20 mL de salmuera, secados sobre Na₂SO₄ anhidro. Después de eliminar el disolvente, el residuo fue cristalizado en MeOH para obtener 38.1 g (96% de rendimiento) del éster metílico (\pm) -2 puro, como cristales blancos en forma de aguja, p.f. 63-65 °C (lit.¹⁰ 65-67 °C).

9.3 Método general de adición-ciclación (MG 9.3)

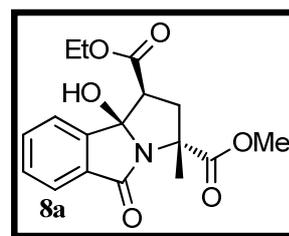
Síntesis de 2,3,5,9b-tetrahidro-9b-hidroxi-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas **[8-10]**. A una solución de 4.66 g (20 mmol) del compuesto (\pm) -2 en 60 mL de THF seco bajo atmósfera

de nitrógeno a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se adicionó gota a gota 20.5 mL (20.5 mmol) de LHMDs (1M, THF). Terminada la adición, se continuó con la agitación a la misma temperatura por 5 minutos más y posteriormente se añadió gota a gota 20 mmol del electrófilo. Se continuó con la agitación a la misma temperatura, monitoreando el curso de la reacción por cromatografía en capa fina (hexano/AcOEt, 7:3). Terminada la reacción, el matraz se retiró del baño frío y se añadieron 10 mL de una solución saturada de cloruro de amonio y 60 mL de agua y el producto fue extraído de la fase acuosa con 3 porciones de 30 mL de AcOEt. Los extractos orgánicos fueron mezclados, lavados con 20 mL de salmuera y secados sobre Na_2SO_4 anhidro. El disolvente se eliminó por destilación a presión reducida en el rotavapor y del residuo resultante el producto fue purificado por cromatografía en columna.

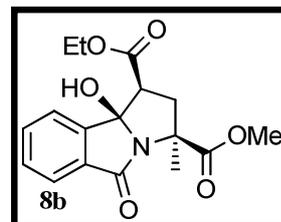
(1S*,3R*,9bR*)- y **(1S*,3S*,9bR*)-9b-Hidroxi-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo [8a y 8b]**

Conforme al procedimiento *MG 9.3*, se empleó al compuesto (\pm)-**2** como sustrato y acrilato de etilo (**3**) como electrófilo. El crudo de reacción resultó ser una mezcla de diastereoisómeros, compuestos **8a** y **8b** los cuales fueron separados por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2).

(1S*,3R*,9bR*)-8a. De la mezcla, es el producto minoritario, del cual se obtuvieron 2.8 g (43% de rendimiento) como cristales amorfos blancos, p.f. 150-153 $^{\circ}\text{C}$ (lit.³⁵ 152-153 $^{\circ}\text{C}$), R_F 0.35 (hexano/AcOEt, 1:1). Los datos espectrales fueron consistentes con lo reportado en la literatura .

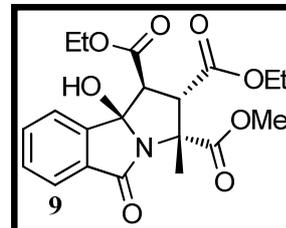


(1S*,3S*,9bR*)-8b. De la mezcla es, el producto mayoritario, del cual se obtuvieron 3.0 g (45% de rendimiento) como cristales amorfos blancos, p.f. 135-138 $^{\circ}\text{C}$ (lit.³⁵ 138-140 $^{\circ}\text{C}$), R_F 0.29 (hexano/AcOEt, 1:1). Los datos espectrales fueron consistentes con lo reportado en la literatura .



(1*S,2*S**,3*R**,9*bR**)-9b-Hidroxi-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,2,3-tricarboxilato de 1,2-dietilo 3-metilo [9]**

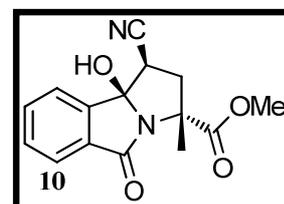
Se siguió el *MG* 9.3 utilizando el compuesto (\pm)-**2** como sustrato y fumarato de dietilo (**4**) como electrófilo. El crudo de reacción resultó ser un solo diastereoisómero, el cual fue purificado por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2) de donde se



obtuvieron 7.4 g (92% de rendimiento) del compuestos **9**, como cristales amorfos blancos, p.f. 145-148 °C (lit.³⁵ 146-147 °C), R_F 0.25 (hexano/AcOEt, 7:3). Los datos espectrales fueron consistentes con lo reportado en la literatura .

(1*R,3*R**,9*bR**)-1-Ciano-9b-hidroxi-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-3-carboxilato de metilo [10]**

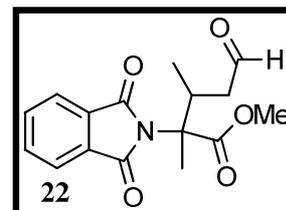
El compuesto (\pm)-**2** fue tratado con acrilonitrilo como se describe en el *MG* 9.3. Después de la separación por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 7:3), se obtuvieron 4.6 g (80% de rendimiento) del producto deseado **10**, como cristales amarillos, p.f. 208-210 °C (lit.³⁵ 210-212 °C), R_F 0.16 (hexano/AcOEt, 7:3). Los datos



espectrales fueron consistentes con lo reportado en la literatura.

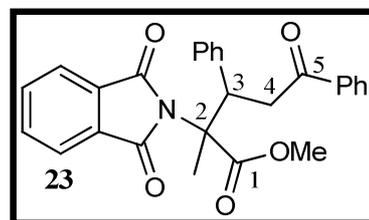
2-(1,3-Dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-2,3-dimetil-5-oxopentanoato de metilo [22]

El compuesto (\pm)-**2** fue tratado con crotonaldehido (**6**) como se describe en *MG* 9.3, después de ser purificado por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2) se obtuvieron 4.5 g (75% de rendimiento) del compuesto **22** como un aceite viscoso incoloro, R_F 0.28 (hexano/AcOEt, 7:3).



3,5-Difenil-2-(1,3-dioxo-1,3-dihidro-2*H*-isoindol-2-il)-2-metil-5-oxo-pentanoato de metilo [23]

Se siguió el *MG 9.3* utilizando como sustrato (\pm)-**2** y como electrófilo la *E*-chalcona (**7**). El crudo de reacción fue separado por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 7:3) de donde se obtuvieron 6.0 g (70% de rendimiento) del



compuesto **23** como una mezcla de diastereoisómeros no separables por cromatografía, como cristales blancos en forma de aguja, p.f. 180-184 °C, R_F 0.28 (hexano/AcOEt, 7:3).

Isómero mayoritario. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} : 1.6 (s, CH_3 , 3H), 3.9 (s, CH_3O , 3H), 4.5 (d, $J= 12$, H4, 1H), 5.2 (d, $J= 12$, H5, 1H), 6.8 (d, $J= 8.0$, CH, 1H), 7.1-7.9 (m, ArH). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ_{C} : 18.1, 51.3, 53.9, 58.5, 77.2, 123.5-144.0 (aromáticos), 166.2, 174.6, 196.0

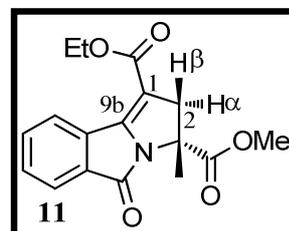
Isómero minoritario. RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} : 1.5 (s, CH_3 , 3H), 3.3 (s, CH_3O , 3H), 4.8 (d, $J= 12$, H4, 1H), 5.1 (d, $J= 12$, H5, 1H), 6.7 (d, $J= 8.0$, CH, 1H), 7.1-7.9 (m, ArH). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ_{C} : 23.7, 52.0, 53.5, 61.1, 94.7, 123.5-144.0 (aromáticos), 174.0, 197.9.

9.4 Método general de deshidratación (*MG 9.4*)

Síntesis de las 3,5-dihidro-2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas **11-13**. A una solución de 6.0 mmol de los alcoholes (**8-10**) en 30 mL de MeOH, se añadió 1.5 mL de H_2SO_4 concentrado y se colocó en agitación continua durante 5 horas a temperatura ambiente, el curso de la reacción fue monitoreado mediante CCF (hexano/AcOEt, 8:2). Terminada la reacción se añadió lentamente 2.5 g de K_2CO_3 , seguido de una solución de NaOH 0.1N hasta un pH de 7. Se eliminó el metanol en el rotavapor, y el residuo fue tratado con 30 mL de agua y extraído con 3 porciones de 30 mL de AcOEt. La fase orgánica resultante fue lavada con 20 mL de salmuera, secada sobre Na_2SO_4 , y evaporada bajo presión reducida, para dar el producto crudo.

(RS)-Metil-5-oxo-3,5-dihidro-2H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo [11]

Empleando el *MG 9.4*, la mezcla de diastereoisómeros **8a** y **8b** fue deshidratada y el crudo de reacción fue separado por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2), de donde se obtuvieron 1.5 g (80% de rendimiento) del compuesto racémico

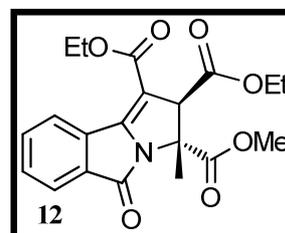


11, como cristales amorfos blancos, p.f. 132-134 °C, R_F 0.38 (hexano/AcOEt, 7:3), que revela de color azul intenso en luz UV 254 nm y de amarillo pálido al contacto con solución alcalina de $KMnO_4$.

RMN 1H (300 MHz, $CDCl_3$), δ_H : 1.4 (t, $J = 7.5$, CH_3-CH_2 , 3H), 1.9 (s, CH_3 , 3H), 3.2 (d, $J = 18$, $H_{2\beta}$, 1H), 3.6 (d, $J = 18$, $H_{2\alpha}$, 1H), 3.8 (s, CH_3O), 4.3 (c, $J = 7$, CH_2-CH_3 , 2H), 7.6-8.6 (m, ArH, 4H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, $CDCl_3$), δ_C : 14.4, 22.5, 48.6, 53.1, 60.8, 62.71, 106.9, 123.6, 126.8, 129.3, 131.5, 132.4, 135.9, 148.3, 163.4, 164.1, 172.9

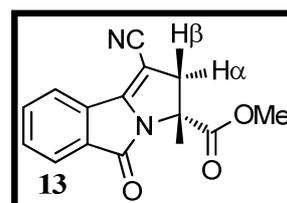
(2S*,3R*)-3-Metil-5-oxo-3,5-dihidro-2H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,2,3-tricarboxilato de 1,2-dietilo 3-metilo [12]

Empleando el *MG 9.4*, el compuesto **9** fue deshidratado y el crudo de reacción purificado por cromatografía en columna (hexano/AcOEt; 8:2), se obtuvieron 2.0 g (85% de rendimiento) del compuesto **12**, como cristales amorfos blancos, p.f. 118-120 °C, R_F 0.21 (hexano/AcOEt, 7:3), que revela de color azul intenso en luz UV 254 nm y de amarillo pálido al contacto con solución alcalina de $KMnO_4$.



(RS)-1-Ciano-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2H-pirrolo[2,1-a]isoindol-3-carboxilato de metilo [13]

Empleando el *MG 9.4*, el compuesto **10** fue deshidratado empleando eterato de trifloruro de boro ($BF_3 \cdot O(C_2H_5)_2$) en lugar de H_2SO_4 . El producto fue separado del crudo de reacción por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2), de donde se obtuvieron 1.4 g (85% de rendimiento) del compuesto racémico **13**,



como cristales en forma de aguja de color amarillo, p.f. 106-109 °C, R_F 0.43

(hexano/AcOEt, 7:3), que revela de color azul intenso en luz UV 254 nm y de amarillo pálido al contacto con solución alcalina de KMnO_4 .

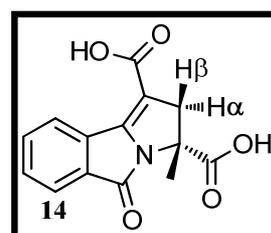
RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} : 1.9 (s, CH_3 , 3H), 3.3 (d, $J=18$, $\text{H}_2\beta$), 3.6(d, $J=18$, $\text{H}_2\alpha$), 3.8 (s, CH_3O , 3H), 7.6-8.0 (m, ArH, 4H). **RMN ^{13}C** (300 MHz, CDCl_3), δ_{C} : 22.4, 48.8, 53.3, 63.8, 81.9, 114.9, 124.2, 127.9, 132.2, 132.7, 135.4, 152.5, 162.5, 171.3.

9.5 Método general de hidrólisis (MG 9.5)

Síntesis de los ácidos 3,5-dihidro-2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-3-carboxílicos **14-16**. Una solución de 4.75 mmol de los ésteres **11** o **13** en 40 mL de una mezcla de agua en MeOH al 10%, se añadió la cantidad equivalente de NaOH. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo durante 8 horas, siguiendo el curso de la reacción por CCF ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$, 10:0.5:0.1). Terminada la reacción se eliminó el metanol bajo presión reducida y el residuo fue tratado con 20 mL de agua y 20 mL de AcOEt. La fase acuosa fue acidificada a pH 1 con una solución de H_2SO_4 al 10%, y el producto fue recuperado por extracciones sucesivas con AcOEt (5 x 30 mL). La fase orgánica resultante fue lavada con 20 mL de salmuera, secada sobre Na_2SO_4 , y evaporada bajo presión reducida. Finalmente, el crudo de reacción fue suspendido en 5 mL de una mezcla de hexano-AcOEt (1:1) fría y el producto recuperado por filtración.

Ácido (*RS*)-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxílico [**14**]

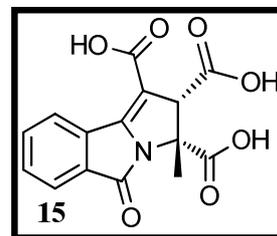
El compuesto **11** fue hidrolizado empleando el MG 9.5, del cual se obtuvieron 1.03 g (80% de rendimiento) de compuesto racémico **14**, como un sólido amorfo de color amarillo, p.f. 190 °C (desc.), R_{F} 0.22 ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$, 100:8:1), que revela de color azul intenso en luz UV 254 nm y de amarillo pálido al contacto con solución alcalina de KMnO_4 .



RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} : 1.9 (s, CH_3 , 3H), 3.2 (d, $J=15$, $\text{H}_2\beta$, 1H), 3.6 (d, $J=15$, $\text{H}_2\alpha$, 1H), 7.6-8.6 (m, ArH, 4H). **RMN ^{13}C** (100 MHz, CDCl_3), δ_{C} : 21.8, 48.3, 62.0, 107.6, 122.5, 126.4, 128.9, 130.6, 131.6, 135.4, 147, 162.7, 165.3, 172.9.

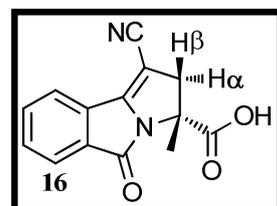
Ácido (2*S,3*R**)-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,2,3-tricarboxílico [15]**

El compuesto **12** fue hidrolizado empleando el *MG 9.5*, de donde se obtuvieron 1.05 g (70% de rendimiento) del compuesto **15**, como un sólido amorfo de color amarillo, p.f. 180 °C con descomposición, R_F 0.20 (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH, 100:8:1), que revela de color azul intenso en luz UV 254 nm y de amarillo pálido al contacto con solución alcalina de KMnO₄.



Ácido (RS)-1-Ciano-3-metil-5-oxo-3,5-dihidro-2*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-3-carboxílico [16]

A una solución de 3.0 mmol del compuesto **13** en 10 mL de acetonitrilo que contiene el 2% de agua, se añadieron 1.25 g (30 mmol) de LiCl y 1.1 mL (8.9 mmol) de trietilamina (TEA). La mezcla de reacción se colocó en agitación continua a temperatura ambiente durante 48 horas, siguiendo el curso de la reacción por CCF



(CH₂Cl₂/MeOH/AcOH, 10:0.3:0.1). Terminada la reacción se añadieron 10 mL de agua. Se separó la fase orgánica de donde se recuperó materia prima sin reaccionar, la fase acuosa se acidificó a pH 2 usando una solución 0.1 N de H₂SO₄ y el producto fue recuperado por extracciones sucesivas con AcOEt (3 x 20 mL). La fase orgánica resultante fue lavada con 20 mL de salmuera, secada sobre Na₂SO₄, y evaporada bajo presión reducida para dar 700 mg del compuesto racémico **16** (92% de rendimiento), como cristales en forma de aguja de color naranja.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H : 1.8 (s, CH₃, 3H), 3.2 (d, $J=18$, H₂ β , 1H), 3.6 (d, $J=18$, H₂ α , 1H), 7.6-7.9 (m, ArH, 4H). **RMN ¹³C** (100 MHz, CDCl₃), δ_C : 21.8, 48.3, 62.0, 107.6, 122.5, 126.4, 128.9, 130.6, 131.6, 135.4, 147, 162.7, 165.3, 172.9.

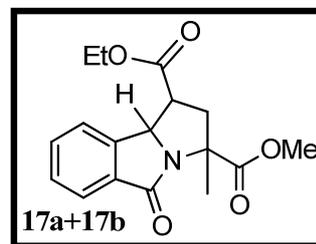
9.6 Método general de hidrogenólisis (*MG 9.6*)

Síntesis de las 2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-5-onas **17-19**. En un reactor Parr modelo 4790 HP/HT se colocaron 3 mmol de los compuestos **8-10** en 20 mL de EtOH absoluto y 100 mg de Pd(OH)₂ sobre carbono al 10%. El reactor se llenó con hidrógeno

hasta alcanzar 500 lb/in² (psi) de presión y luego despresurizado con el fin de purgarlo, el proceso se repitió en tres ocasiones, finalmente se llenó hasta la presión de 1250 psi y se calentó a 60 °C con agitación continua, dejándose reaccionar en estas condiciones durante 24 horas. El curso de la reacción fue monitoreado por CCF (hexano/AcOEt, 8:2). Terminada la reacción se filtró por gravedad, el filtrado se concentró en el rotavapor para dar el crudo de reacción.

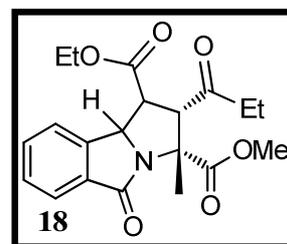
(1S*,3R*,9bR*)- y (1S*,3R*,9bS*)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,3-dicarboxilato de 1-etilo 3-metilo [17a y 17b]

Empleando el *MG* 9.6, 3 mmol de la mezcla de diastereoisómeros **8a** y **8b** fue hidrogenada, y del crudo de reacción el producto fue separado por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2), 900 mg (90% de rendimiento), como un aceite viscoso incoloro que consisten en una mezcla de dos diastereoisómeros **17a** y **17b**, R_F 0.3 y R_F 0.2.



(1S*,2S*,3R*,9bR*) y (1S*,2S*,3R*,9bS*)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9b-tetrahidro-1H-pirrolo[2,1-a]isoindol-1,2,3-tricarboxilato de 1,2-dietilo 3-metilo [18a y 18b]

Empleando el *MG* 9.7, 2.47 mmol del compuesto **9** fueron hidrogenados y el crudo de reacción separado por cromatografía en columna (hexano/AcOEt, 8:2), de donde se obtuvieron 851 mg (88.5% rendimiento) del compuesto **18**, en forma de cristales amorfos blancos, p.f. 92-95 °C, R_F 0.5 (hexano/AcOEt, 7:3). El producto corresponde a una mezcla de diastereoisómeros no separables por cromatografía, en una proporción 64:36.



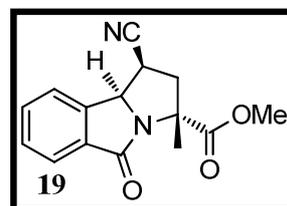
Isómero mayoritario: RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), δ_H : 1.3 (t, J = 6.0, CH₃-CH₂, 3H), 2.2 (s, CH₃, 3H), 3.7 (s, CH₃O, 3H), 3.7-3.9 (m, H1 y H2, 2H), 4.3 (c, J = 6.0, CH₃-CH₂, 2H), 5.4 (d, J = 9.0, H9b, 1H), 7.3-7.4 (m, ArH, 4H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃), δ_C : 14.1, 24.8, 48.5, 52.7, 61.8, 62.6, 68.3, 68.0, 123.6, 124.4, 129.1, 132.3, 135.1, 144.0, 168.5, 169.4, 170.3, 171.6.

Isómero minoritario: RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} : 0.9 (t, $J= 6.0$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$, 3H), 1.9 (s, CH_3 , 3H), 3.6 (s, CH_3O , 3H), 3.7-3.9 (m, H1 y H2, 2H), 4.1 (c, $J= 6.0$, $\text{CH}_3\text{-CH}_2$, 2H), 4.9 (d, $J= 9.0$, H9b, 1H), 7.3-7.4 (m, ArH, 4H). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ_{C} : 13.8, 20.9, 47.3, 52.5, 61.3, 62.2, 65.0, 66.0, 123.5, 124.1, 128.9, 131.6, 133.9, 141.4, 166.8, 169.5, 170.7, 171.6.

EM(m/z): 389 [M^+ (100)]

(1*S,3*R**,9*bR**)-1-Ciano-3-metil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-3-carboxilato de metilo [19]**

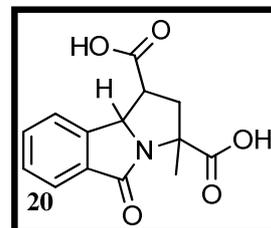
Empleando el *MG* 9.7, la hidrogenólisis de 2.47 mmol del compuesto **10**, dio lugar al compuesto **19** el cual fue purificado por cromatografía en columna (hexano/ AcOEt , 7:3), del cual se obtuvieron 480 mg (5.2% de rendimiento) como cristales cúbicos amarillos, p.f. 188-190 °C, R_{F} 0.22 (hexano- AcOEt , 7:3).



RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), δ_{H} : 1.7 (s, CH_3 , 3H), 2.6 (dd, $J_1= 12.0$ y $J_2= 8.0$, H2 β , 1H), 3.0 (d, $J= 12.0$, H2 α , 1H), 3.6 (t, $J= 8.0$, H1, 1H), 3.7 (s, CH_3O , 3H), 5.1 (d, $J= 8.0$, H9b, 2H), 7.5-7.8 (m, ArH, 4H). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3), δ_{C} : 24.8, 31.1, 46.6, 52.4, 61.3, 65.1, 117.1, 123.0, 124.7, 129.7, 132.6, 134.1, 140.9, 167.74, 171.3.

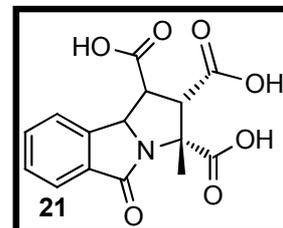
Ácido (1*S,3*R**,9*bR**)- y (1*S**,3*R**,9*bS**)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,3-dicarboxílico [20a y 20b]**

1.81 mmol de la mezcla diastereoisomérica **17a** y **17b** fue hidrolizada empleando el *MG* 9.5, el sólido obtenido fue separado por cromatografía en columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{AcOH}$, 10:0.3:0.1), para obtener así dos compuestos **20a** y **20b** con rendimientos del 25 y 36% respectivamente.



Ácido (1*S,2*R**,3*R**,9*b**)-3-metil-5-oxo-2,3,5,9*b*-tetrahidro-1*H*-pirrolo[2,1-*a*]isoindol-1,2,3-tricarboxílico [21]**

1.49 mmol de la mezcla diastereoisomérica de **18a** y **18b** fue hidrolizada empleando el *MG* 9.5, el sólido obtenido fue separado por cromatografía preparativa (CH₂Cl₂/MeOH/AcOH, 10:0.3:0.1), para obtener así tres compuestos **21a-21c** con un rendimientos del 20.5, 26 y 25.7% respectivamente.



X. BIBLIOGRAFÍA

1. Principales causas de mortalidad general (base de datos en línea). México: Secretaria de salud **2008-2010** (fecha de acceso 22 de febrero de 2012). Disponible en: www.sinais.gob.mx/estadisticaportema.html.
2. Estrada, S. E. [Tesis Doctoral] Estilbenoides Espasmolíticos de *Scaphyglottis livida* Lindley Schltr (Orchidaceae) y *Maxillaria densa* Lindley (Orchidaceae). Efecto 3,4'-dihidroxi-3',5-dimetoxibencilo sobre el sistema óxido nítrico/GMP cíclico. Facultad de Química, UNAM, México. 2000, 1-15.
3. Bud, O. Therapeutic phtalimidines for relieving cough and producing anesthesia US Patent 3 091 568, **1963**
4. Al-Qaisi J., Alhussainy M., Qinna N., Matalka E., Muhi-Eldeen A. Synthesis and pharmacological evaluation of aminoacetylenicisoindoline-1,3-dione derivates as anti-inflammatory agents. *Ar. J. Chem.* **2011**, artículo en prensa.
5. Breytencach J., Van Dyk S., Van den Heever I., Allin S., Hodgkinson C., Northfield C., Page M. Synthesis and antimicrobial activity of some isoindolin-1-ones derivates. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10* (15), 1629-32.
6. Ferland M., Demerson C and Humber L. Synthesis of derivates of isoindole and of pyrazinoisoindole. *Can. J. Chem.* **1983**, *63*, 363-365.
7. Riedinger C., Endicott J., Kemp S., Smyth W., Valeur E. Analysis of chemical shift changes reveal the binding modes of isoindolinone inhibitors of the MDM2-p53 interaction. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 16039-44.
8. Zhang G., Sun S., Zhu T., Lin Z., Gu J., Li D., Gu Q. Antiviral isoindolone derivates from endophyticfungus *Emericella* sp. Associated with *Aegicerascorniculatum*. *Pytochemistry.* **2011**, *72* (11), 1436-42.
9. Fardis M., Jin H., Jabri S., Cai R., Mish M., Tsiang M., Kim C. Effect of substitution on novel tricyclic HIV-1 integrase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16* (15), 4031-35.
10. Reyes A., Huerta L., Alfaro M., Navarrete A. Synthesis and nootropic activity of some 2,3-dihydro-1*H*-isoindolin-1-one derivates structurally related with piracetam. *Chem. Biodiversity.* **2010**, *7* (11), 2718-2726.

11. Clayton J., MA. Fupeng., Van Wagenen B., Ukkiramapandian R., Egle I., Empfield J. Isoindolone compounds and their use as metabotropic glutamate receptor potentiators. WO 020879 A1. **2006**.
12. Lunn M., Root D., Martino A., Flaherty S., Kelley B., Coovert D., *et al.* Indoprofen up-regulates brief communication the survival motor neuron protein through a cyclooxygenase-independent mechanism. *Chem. Biol.* **2004**, *11* (11), 1489-93.
13. Kundu N., Khan W. Palladium-Catalysed heteroannulation with terminal alkynes a highly and stereoselective synthesis of (Z)-3-aryl(alkyl)idene isoindolin-1-ones. *Tetrahedron*. **2000**, *56* (27), 4777-92.
14. Piko B., Keegan A., Leonars M. A concise synthesis of the aporphoedean skeleton. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 1981-82.
15. Maung, T.W. Berberine as a selective lung cancer agent U.S. Pat. Appl. 20070298132 A1, 2007.
16. Bartovic A., Netchitailo P., Daich A., Drecoix B. A facile Fused-Dioxazolin synthesis from *N*-Hydroxyphthalimide. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2117-20.
17. Martínez-Vituro C., Domínguez D. Synthesis of the antitumoral agent batracylin and related isoindolo[1,2-*b*]quinazolin-12(10*H*)-ones. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*(6), 1023-26.
18. Papeo G., Anatolievna A., Busel A., Casale E., Khvat A., Krasavin M., Orsini P. 3-Oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindolone-4-carboxamides with selective PARP-1 inhibition. WO 006803 A1. **2011**.
19. Kleemann H., Hofmeister A., Mignani S., Bigot A. *N*-((3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindol-1-yl)acetyl)guanidine derivatives as NHE-1 inhibitors for the treatment of infraction and angina pectoris. WO 101450 A1. **2003**.
20. Schindler U., Stolz R., Schönafinger K., Strobel H., Groehn V. Substituierte und ihre verwendung als GMP modulatoren in arzneimitteln. WO 42444. **1999**.
21. Roedor E. Analysis of pyrrolizidine alkaloids. *Curr. Org. Chem.* **1999**, *3* (6), 557-76.
22. Carmosin R., Carson J. Hexahidropirrolizine compounds useful as analgesics. US patent 4800207. **1989**.
23. Miyano S., Ohnojo K., Nagaokayo F. 8-(substituted-*N*-phenylcarboxamidomethyl)pyrrolizidines and use thereof as antiarrhythmics. US patent 4564624. **1986**.

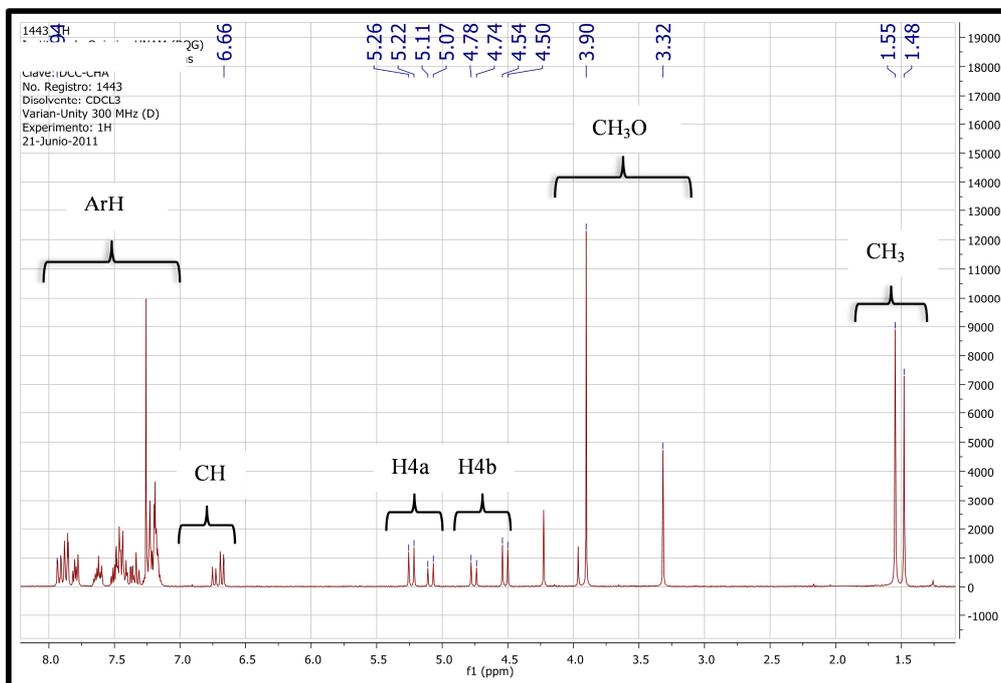
24. Agatsuma T., Akama T., Nara S., Matsumiya R., Otaki S., Ikeda S., Sayito Y. UCS1025A and B new antitumoral antibiotics from the fungus *Acremonium* species. *Org. Lett.* **2002**, 4 (25), 4387-90.
25. Gorman P., Chen T., Cross H., Naeem S., Pitard A. A new and simple method for the synthesis of highly functionalized pyrrolizidines, indolizidines and pyrroloazepines. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 6316-19.
26. Toma W., Trigo J., Bensuski P., Souza-Brito R. Preventive activity of pyrrolizidine alkaloids from *Senecio brasiliensis* (Asteraceae) on gastric and duodenal induced ulcer on mice and rats. *J. Ethnopharmacol.* **2004**, 95 (2), 345-51.
27. Prakash A., Pereira T., Reily P., Seawright A. Pyrrolizidine alkaloids in human diet. *Mutat. Res.* **1999**, 443 (1), 53-67.
28. Kapples K., Shutske G. Synthesis of 1-alkyl-2,3-dihydro-2-(4-pyridinyl)-1*H*-isoindoles as potential selective serotonin reuptake inhibitors. *J. Heterocycl. Chem.* **1997**, 34, 1335-38.
29. Anderson P., Christy C. A useful synthesis of 3-oxodihydroisoindoles. *J. Org. Chem.* **1978**, 43 (19), 3719-23.
30. Clayden J., Tchabanenko K., Yasin S., Turnbull M. Pyrrolidinone-fused cyclohexenones by regioselective dearomatization anionic cyclisation of 2-,3- or 4-methoxybenzamides. *Synlett.* **2001**, 2, 302-304.
31. Young S., Chang H., Lee K. Application of Baylis-Hillman in a new synthesis of 3-oxo-2,3-dihydro-1*H*-isoindoles. *J. Heterocycl. Chem.* **2003**, 40, 939-41.
32. Kundu N., Khan W., Mukhopadhyay R. Heteroannulation through combined palladium and Friedel-Crafts reaction strategy: Synthesis of 3-alkyldieneisoindolin-1-ones. *Tetrahedron.* **1999**, 55 (42), 12361-67
33. Stájer G. and Csende F. Advanced methods for the synthesis of 3-substituted 1*H*-isoindol-1-ones. *Curr. Org. Chem.* **2005**, 9, 1277-86.
34. Zeng Q., Liu Z., Li B., Wang F. Mild and effective *N*-phthaloylation of aminoacids. *Amino Acids.* **2004**, 27 (1), 183-186.
35. a) Reyes-Ramírez A., Regla I., Fragoso M., Vallejo L., Demare P., Jiménez-Vazquez H., *et al.* Stereoselective Tandem Michael-Intramolecular cyclization approach to functionalized pyrroloisoindolones. *Tetrahedron.* **1999**, 55 (37), 11187-11202.

- b) Vallejo Vega Laura. [Tesis Licenciatura no publicada]. Estudio de la Adición Conjugada de *N*-Ftaloilalaninato de Metilo a Diferentes Aceptores de Michael en la Síntesis de 3-Metiltalidomida. Director: Reyes Ramírez Adelfo. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, México, 1999.
36. Breytencach J., Van Dyk S., Van den Heever I., Allin S., Hodgkinson C., Northfield C., Page M. Synthesis and antimicrobial activity of some isoindolin-1-ones derivatives. *Bioorgan. Med. Chem. Lett.* **2000**, *10*(15), 1629-32.
37. Griesbeck A., Henz A., Kramer W., Lex J., Nerowski F., Oelgemoller M. Synthesis of medium- and large-ring compounds initiated by photochemical decarboxylation of $\square\square$ Phthalimidoalanoates. *Helv. Chim. Acta.* **1997**, *80*, 912-933.
38. Wu J., Zhang W., Wang C. Synthesis of benzopyrrolizidinones by Norrish-Yang cyclization of 3-(acylmethyl)-2-alkylisoindol-2-ones. *Synthesis.* **2009**, *11*, 1821-28.
39. Yoda H., Nakahama A., Koketsu T., Takabe K. A novel synthetic approach to isoindolobenzazepine alkaloid chilenina, employing SmI₂-mediated pinacolic coupling reaction. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4667-69.
40. Deok-Chan H., Chang-Soo Y., Eusun Y. Reductive cyclization of *N*-Iodoalkyl cyclic imides to nitrogen-fused polycyclic amides induced by samarium diiodide. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*(15), 2577-80.
41. Yoon U., Kim D., Lee C., Choi Y., Lee Y., Ammon H., Mariano P. Novel and efficient azomethineylide forming photoreaction of *N*-(Silylmethyl)phthalimides and related acid and alcohol derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2698-10.
42. Grishakov A., Matveeva T., Krasnov V. *Russ. J. Org. Chem.* **1998**, *34*(3), 357-359.
43. Clinton R. Smooth muscle contraction and relaxation. *Advances Physiology Education.* **2003**, *27*, 201-206.
44. Bowman W.C., and Rand M.J. Farmacología bases bioquímicas y Patológicas aplicaciones clínicas. 2^{da} Ed. Interamericana S.A. de C.V. México **1984**, 9.21-9.31.
45. Murray R.K., Daryl K.G., Mayes P.A., Harper V.W. Bioquímica ilustrada. 16 Ed. Manual Moderno S.A. de C.V. México, D.F. **2004**, 634-636.
46. Horowitz A., Constance B., Regent L., Kathleen G. Mechanism of smooth muscle contraction. *Physiological Reviews.* **2006**, *76*(4), 976-1003.

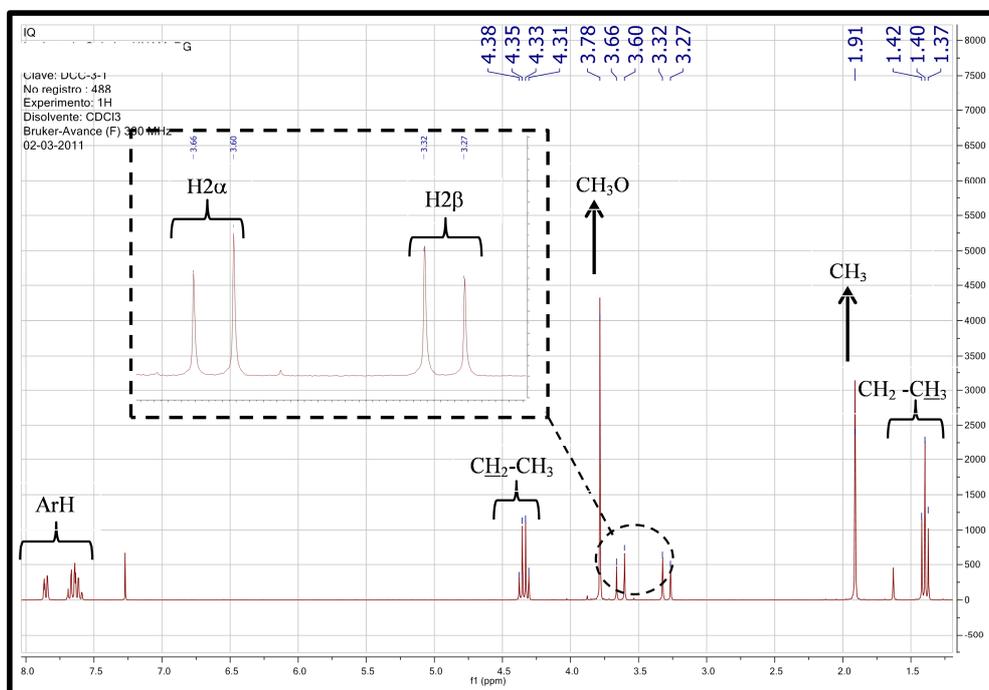
47. Fujimoto S., Takeo I. Role of nitric oxide and nitric oxide-independent relaxing factor in contraction and relaxation of rabbit blood vessels. *Eur. J. Pharmacol.* **1997**, *49*(2), 207-210.
48. Roa-Castro F., Frayre S., Roa-Castro V., Zavala J., Herrera B., Fuentes F. Estimaciones sobre la tendencia del asma en México para el periodo 2008-2012. *Anales Médicos.* **2010**, *54*(1), 16-22.
49. Editorial. Latin American anthropometrics, past and present-An overview. *Econ. Hum. Biol.* **2010**, *8*, 141-144.
50. Mattson S., Dahlstrom M., Karlsson S. A mild hydrolysis of esters mediated by lithium salts. *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2497-99
51. Bootwicha T., Panichakul D., Kuhakarn C., Prabpai S., Kongsaree P., Tuchinda P. Fluoride-catalyzed addition of PhSCF₂SiMe₃ to *N*-substituted cyclic imides followed by radical cyclization: general synthetic strategy of *gem*-difluoromethylenated 1-azabicyclic compounds. *J. Org. Chem.* **2009**, *74* (10), 3798-05.
52. Kim S., Kim I., Lai S., Cha J. Titanium-mediated cyclization of ω -vinyl imides in alkaloid synthesis: isoretronecanol, trachelanthamidine, 5-epitashiromine and tashiromine. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6771-75.
53. Zerecero P., Jimenez I., Crestani M., Arévalo A., Barrios R., García J. Catalytic hydrogenation of aromatic nitriles and dinitriles with nickel compounds. *App. Cat.* **2009**, *363*, 230-34.
54. Huang Y., Wolfgang M. On the mechanism of catalytic hydrogenation of nitriles to amines over supported metal catalysts. *App. Cat.* **1999**, *182*, 365-78.

XI. ANEXOS.

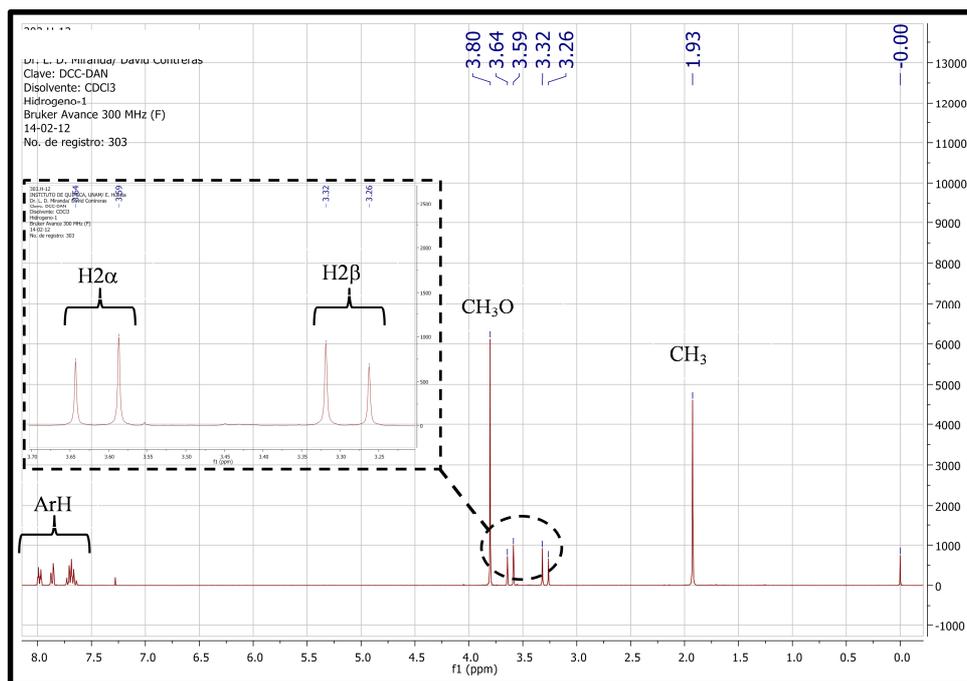
11.1 RMN ¹H



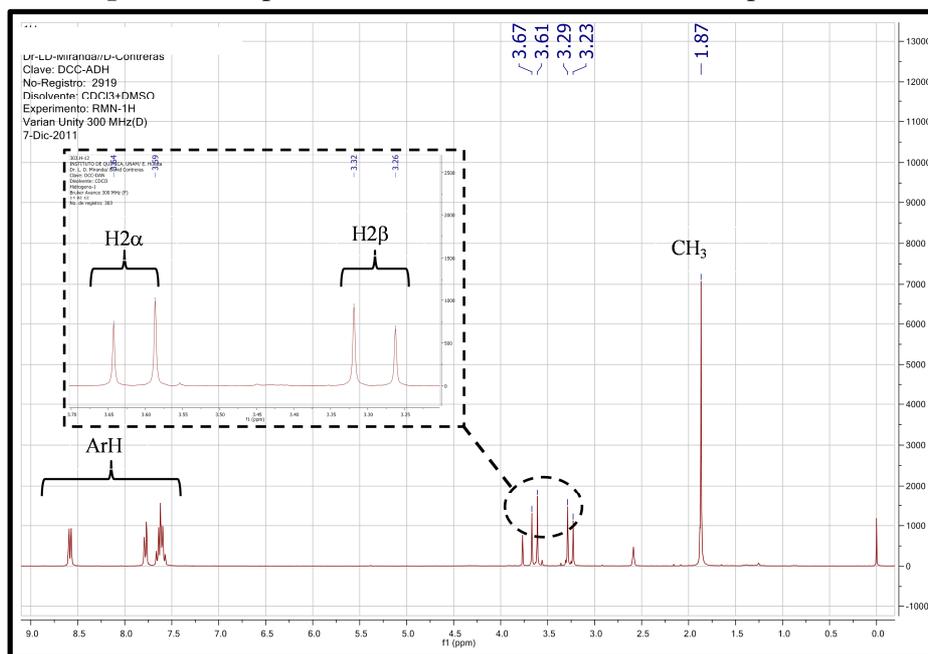
Espectro 1. Espectro de RMN ¹H a 300 MHz del compuesto **23**.



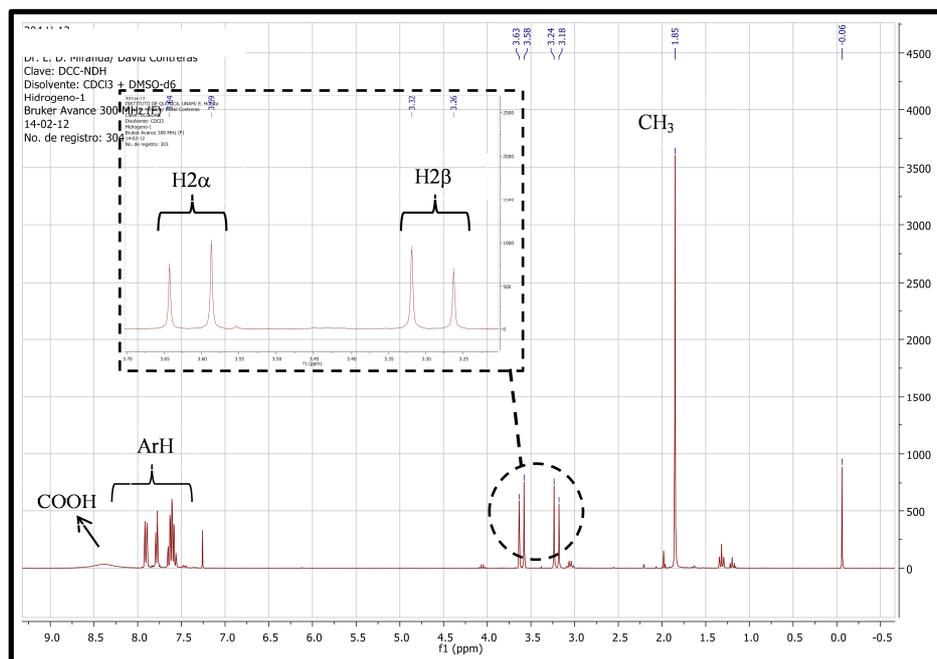
Espectro 2. Espectro de RMN ¹H a 300MHz del compuesto **11**



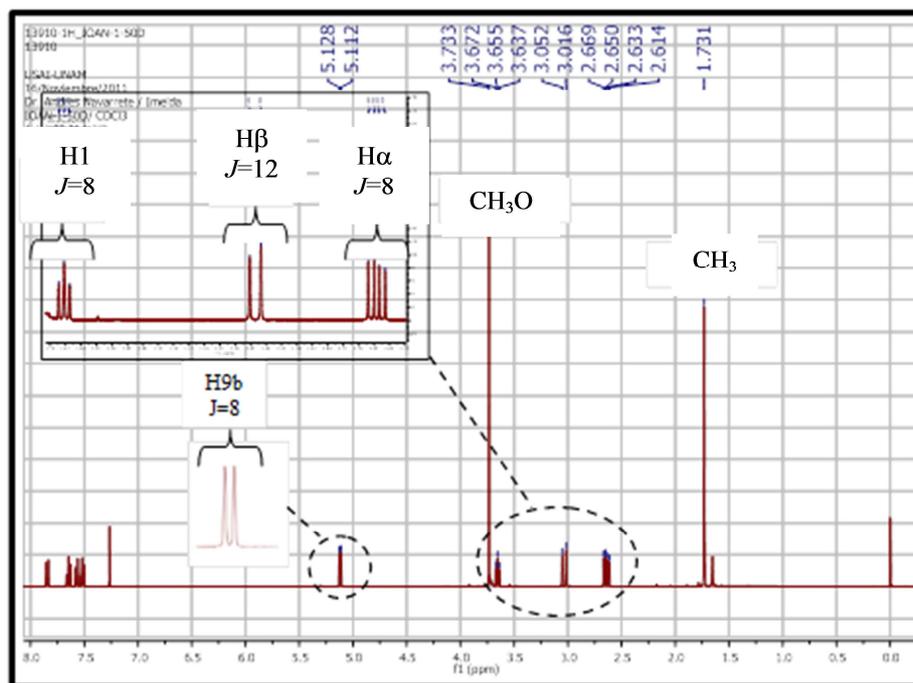
Espectro 3. Espectro de RMN ¹H a 300MHz del compuesto **13**



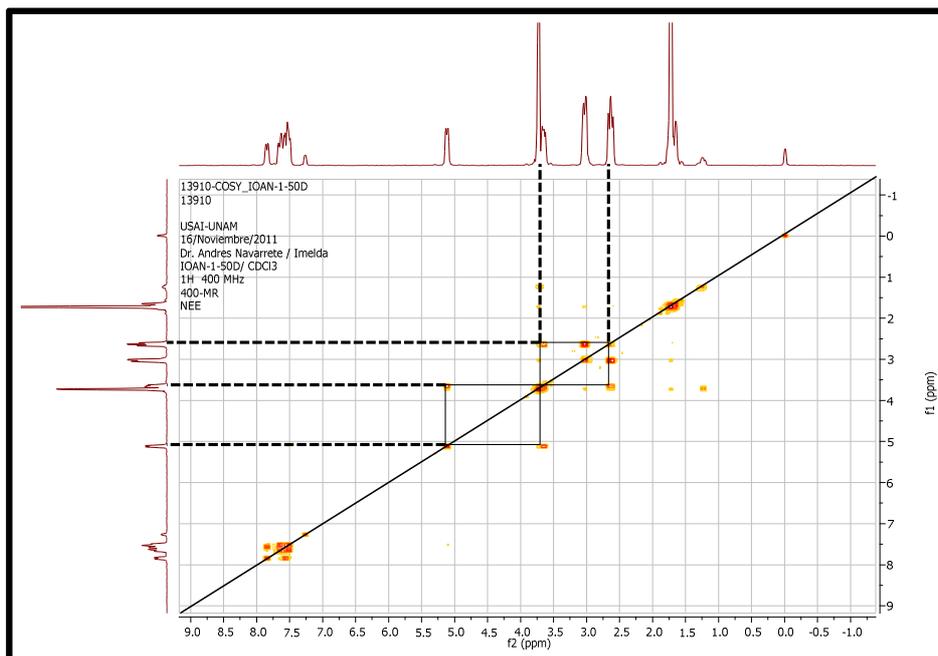
Espectro 4. Espectro de RMN ¹H a 300MHz del compuesto **14**



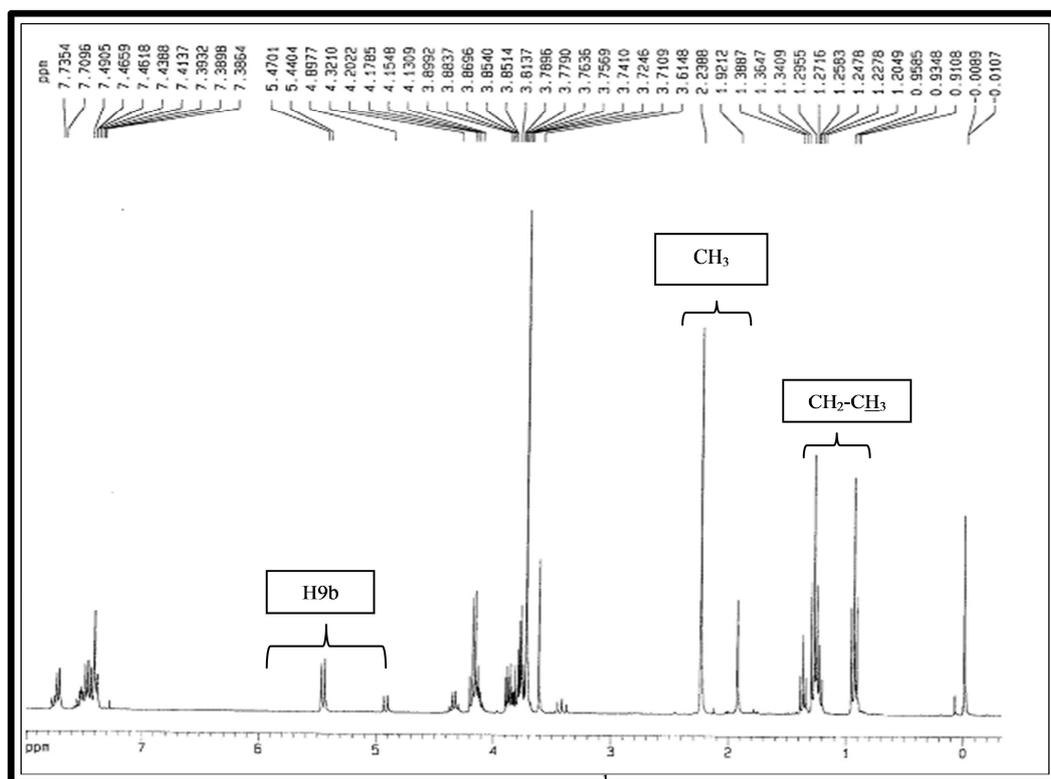
Espectro 5. Espectro de RMN ¹H a 300 MHz del compuesto **16**



Espectro 6. Espectro de RMN ¹H a 300MHz del compuesto **19**.

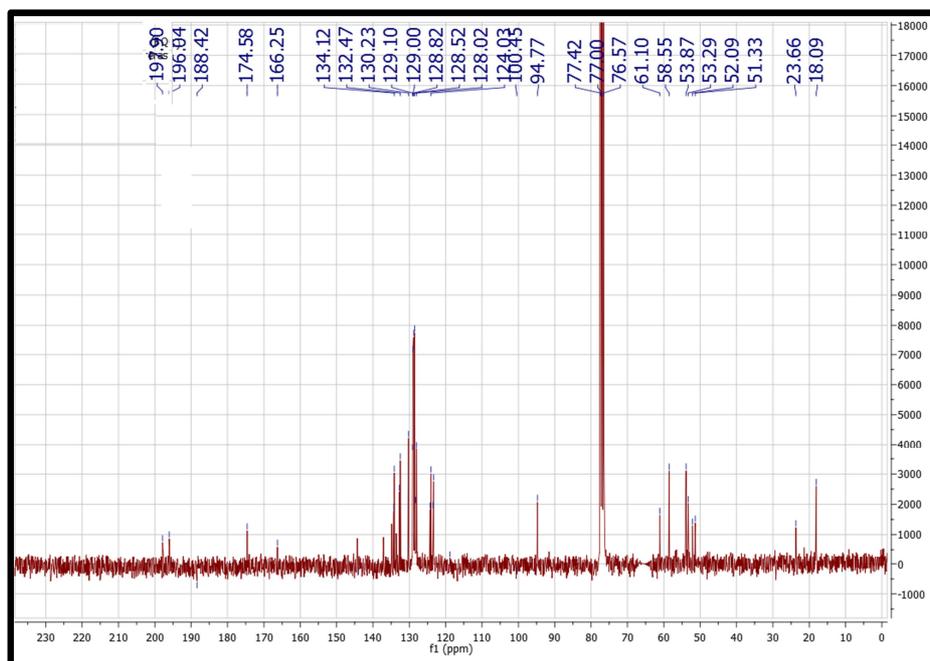


Espectro 7. Espectro COSY a 400 MHz del compuesto **19**. En el espectro de RMN ^{13}C

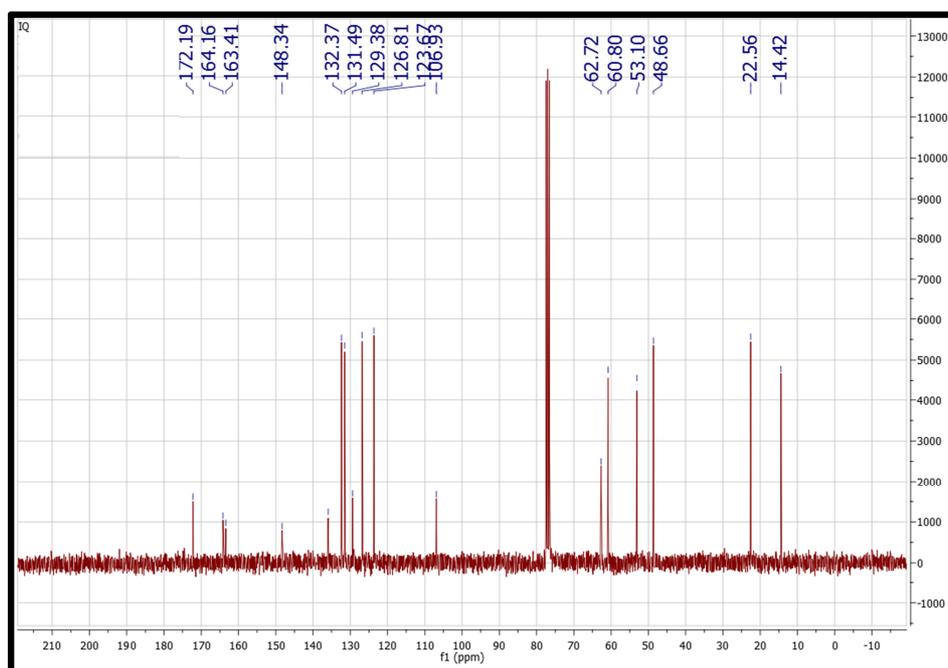


Espectro 8. Espectro de RMN ^1H a 300 MHz del compuesto **18**

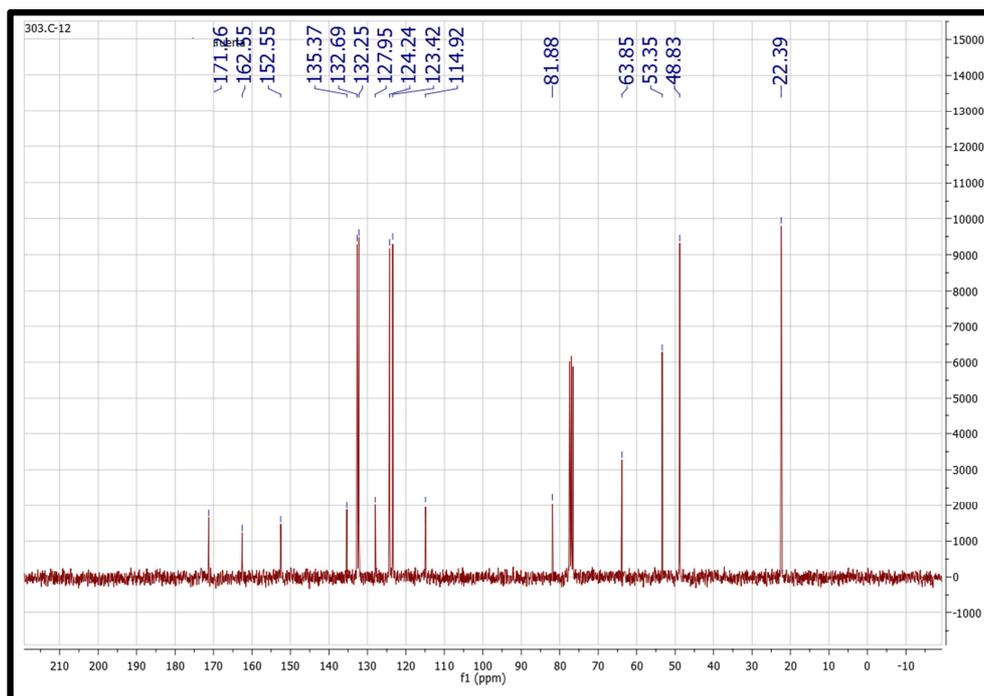
10.2 RMN ¹³ C



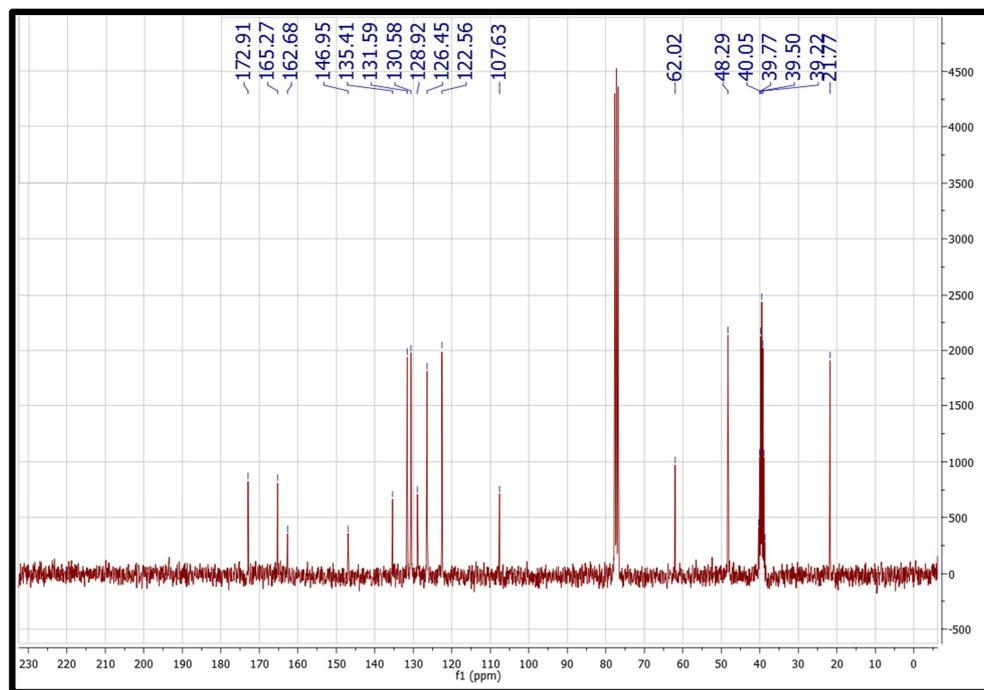
Espectro 9. Espectro de RMN ¹³ C a 300 MHz del compuesto 23.



Espectro 10. Espectro de RMN ¹³ C del compuesto 11.



Espectro 11. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 13.



Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 14.

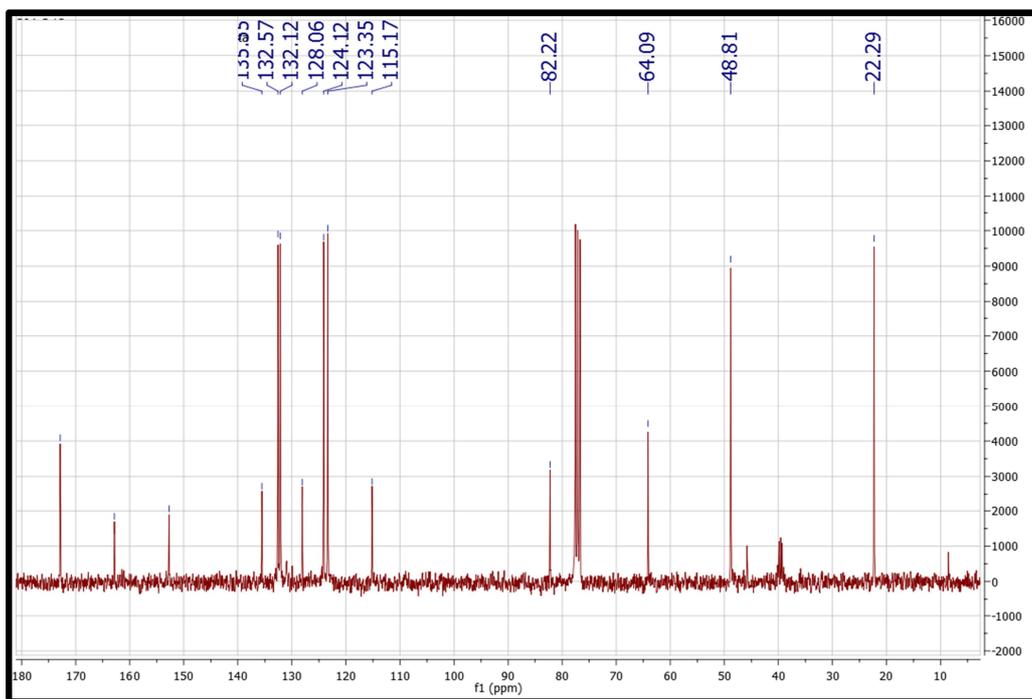
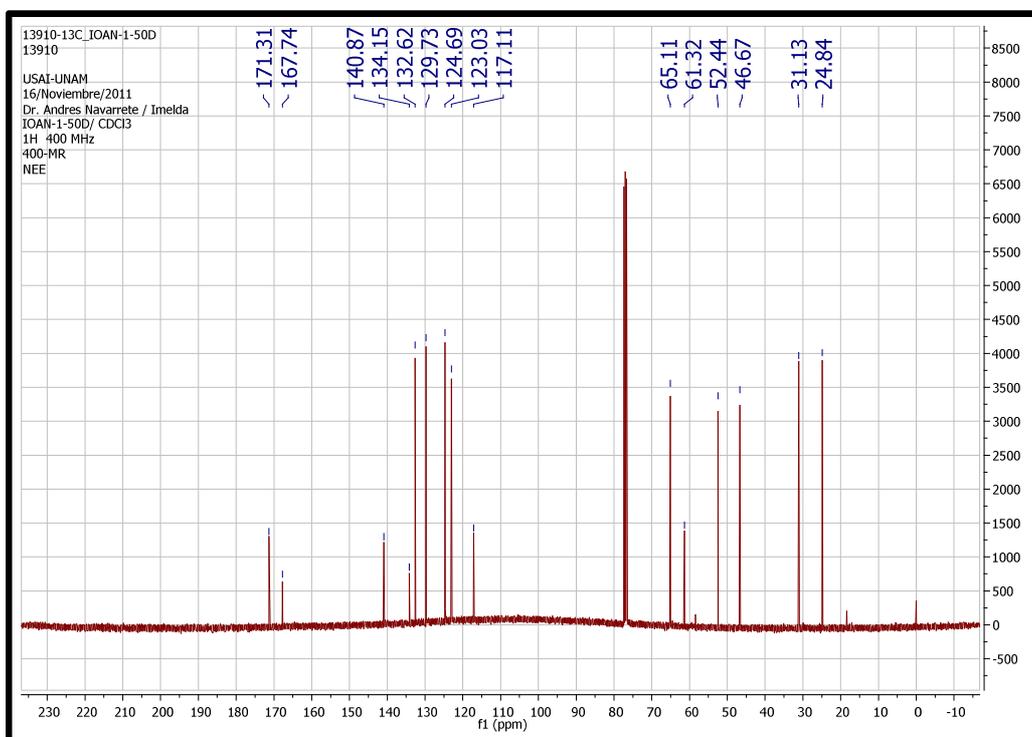
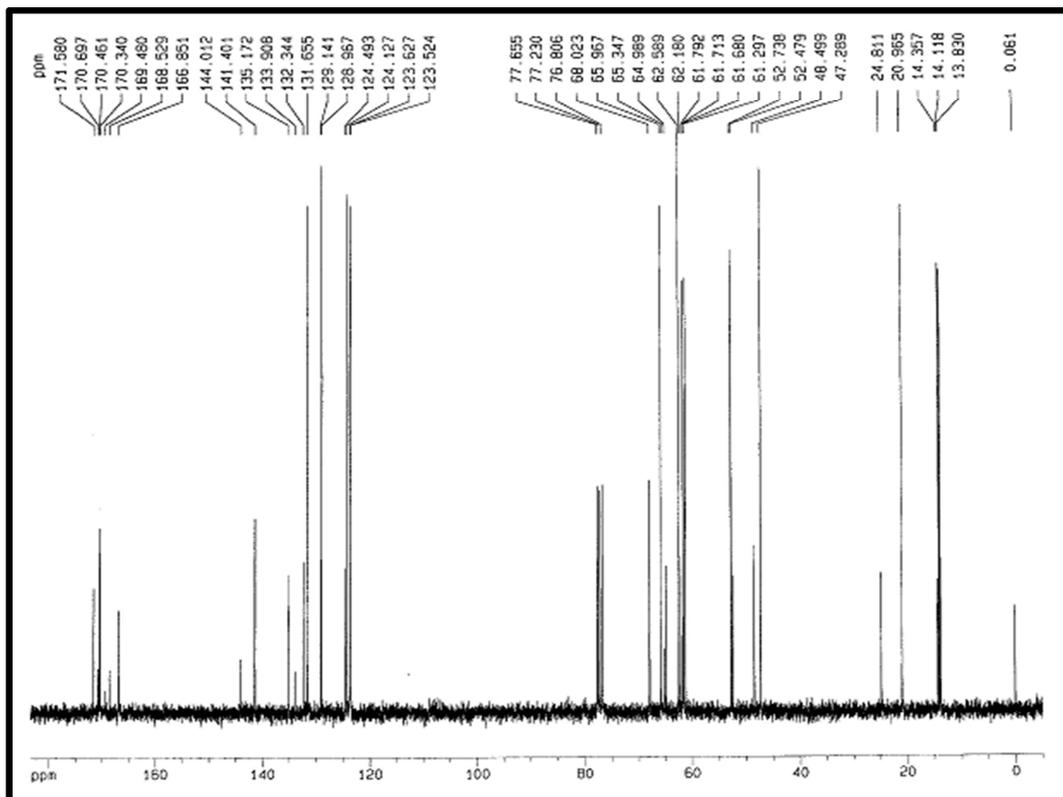


Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 16.



Espectro 14. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 19.



Espectro 15. Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **18**