



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

Aproximación sintética del alcaloide goniomitina y preparación de algunos
análogos

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. Juan Daniel Maldonado Cruz

Tutor.- Dr. Roberto Martínez
Instituto de Química

México, D.F. Noviembre 2015



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.

Agradecimientos

Al Dr. Roberto Martínez, por brindarme un lugar en su grupo de trabajo y permitirme colaborar con las investigaciones que me han hecho crecer profesional y personalmente, así como la confianza brindada para cada una de las decisiones tomadas.

A mi incomparable y tan amada UNAM, ya que en sus aulas me desarrollé plenamente, encontré el conocimiento que me ha traído hasta aquí, pero sobre todo encontré las condiciones necesarias para crecer personalmente y ser lo que ahora soy.

Al CONACyT, por la beca que me fue otorgada para realizar mis estudios de maestría (295642), ya que este tipo de apoyo nos permite a todos los estudiantes alcanzar la meta inicial.

A los técnicos e investigadores del Instituto de Química, Elizabeth Huerta y Ángeles Peña (RMN), Rocío Patiño (IR), Javier Pérez y Luis Velasco (Masas); y Ma. Teresa Ramírez (Pruebas biológicas) por todos los experimentos realizados y todo el tiempo dedicado para que este proyecto quedara completo.

Al H. jurado, Dr. Rubén Sánchez Obregón, Dr. José Alfredo Vázquez, Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez, Dr. Erick Cuevas Yáñez y Dr. Fernando León Cedeño, por sus atinadas observaciones, las cuales fueron fundamentales para que este trabajo culminara de la mejor manera.

Al Dr. Rubén Omar Torres Ochoa, por su paciencia y apoyo en la realización de este proyecto.

Al Posgrado en Ciencias Químicas y su personal administrativo que han realizado un estupendo trabajo en cada uno de los tramites solicitados.

Dedicatorias

Antes que nada a Dios y la santísima Virgen, ya que sus bendiciones han colmado mi vida de felicidad, de alegría y plenitud. Esto me ha permitido junto a mi familia conservar los valores esenciales para seguir adelante.

A mi MAMÁ , que ha sido el motor principal de todos y cada uno de mis logros. Que su apoyo incondicional, me ha enseñado que el amor no tiene límites y que no importa en donde, ni como siempre podré contar con ella.

A mi PAPÁ, que sin lugar a dudas es el gran pilar de mi inspiración, quien que me ha demostrado que cuando se quiere, se puede. Que me has enseñado a luchar o a callar cuando sea pertinente.

A mis hermanos, mi Moy y mi Abraham, por quienes daría todo, a quienes quiero ver triunfar y sobresalir mucho más que yo, recuerden: “los hermanos que no pelean, es porque no se quieren”. Junto a mis papas hemos logrado tener una hermosa familia, si Dios me hubiera dado a elegir en donde nacer, hubiera escogido la mejor familia del mundo, ya que, hubiera llegado a la familia Maldonado Cruz.

A Lizbeth Gutiérrez, quien ha compartido conmigo este trayecto, su vida y su familia. Gracias por estar en los momentos difíciles, pero te agradezco aun más, estar y formar parte de los momentos hermosos y felices.

A mi familia en general, tíos, primos y abuelos, que siempre me han alentado a dar un paso más allá.

A mis amigos Carlos Tecuanhuehue, Yoanelly González y Aarón Navas, por compartir conmigo tantos grandes momentos.

A mi querida profesora Ana Adela Sánchez, por su incondicional apoyo y amistad siempre.

Sin la intención de omitir a nadie, se que la lista sería interminable de las personas que han ayudado a alcanzar la meta. Pero no puedo olvidar y agradecer a mis compañeros y amigos del I. Q. Maricela Morales, Fátima López, Gustavo Pretelin, Omar Torres, Diego Gallegos, Jorge, Gladys, Carmen Morales, Rosa Chávez, Cristina Canché, Marta y los que en este momento no están presentes.

“Quien olvida de donde viene, no encontrará el camino para llegar más lejos”

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la UNAM, bajo la asesoría del Dr. Roberto Martínez. Los resultados del mismo fueron presentados en los siguientes eventos:

XI Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica. Chihuahua, México (26 y 27 de marzo de 2015).

Actividad académica “QUIMIUNAM 2015”. UNAM, México. (22-24 de abril de 2015).

Simposio Interno del Instituto de Química. Instituto de Química, UNAM, México (8-10 de junio de 2015).

Índice de Contenidos

Abreviaturas	i
Resumen	ii
I. Antecedentes	1
I.1 Cáncer	1
I.1.1 ¿Cómo se inicia el cáncer?	1
I.1.2 Metástasis	1
I.1.3 Tipos de cáncer	2
I.1.4 Tratamientos contra el cáncer	3
I.1.5 Tipos de medicamentos en la quimioterapia	4
I.2 Bioconjugados	5
I.2.1 H-Gemcitabina	6
I.2.2 DHA-Paclitaxel	8
I.3 Goniomitina	12
I.3.1 Síntesis de Husson	14
I.3.2 Síntesis de Waser y determinación de su actividad citotóxica	14
I.3.3 Síntesis de Bach	17
I.3.4 Síntesis de Torres-Ochoa	17
I.4 Xantatos en Química Orgánica	19
II. Hipótesis	21
III. Objetivos	22
IV. Ruta sintética	23
IV.1 Ruta sintética para obtener el núcleo estructural ABCD de la goniomitina	23
IV.2 Ruta sintética del bioconjugado para la obtención del bioconjugado tetraciclo-DHA	24
V. Discusión de resultados	25
V.1 Síntesis del xantato	25
V.2 Síntesis del éster α,β -insaturado	26
V.2.1 Alquilación del ácido de Meldrum	26
V.2.2 Obtención del éster α,β -insaturado (30)	26
V.3 Sustitución radical oxidativa del triptofol	27
V.4 Síntesis del compuesto tricíclico 38	29
V.5 Reducción del grupo nitrilo para obtener la amina 39	30
V.6 Reacción de transamidación	30
V.7 Nueva propuesta de síntesis del compuesto 42	32
V.8 Reducción del grupo carbonilo para obtener el alcohol 50	33
V.9 Reducción del grupo nitrilo para obtener el aminoalcohol 51	34
V.10 Reducción del carbonilo y nitrilo de 38 en un solo paso	35
V.11 Ruta sintética final	37
V.12 Reacción <i>one-pot</i> para obtener 41 a partir de 38	38
V.13 Desprotección del grupo -OH	41
V.14 Síntesis del bioconjugado 43	42
V.15 Evaluación de la actividad citotóxica de los compuestos 42 y 43	43
V.16 Propuesta para la síntesis total del alcaloide goniomitina	46
V.17 Síntesis de materias primas	47

V.18 Síntesis del éster α,β -insaturado	47
V.19 Reacción de Michael para preparar	48
VI. Conclusiones	50
VII. Parte experimental	51
VII.1 Consideraciones generales	51
VII.2 2-(Etoxicarbonotioiltio)malonato de dimetilo	51
VII.3 4-Ciano-2-metilenbutanoato de metilo	52
VII.3.1 3-(2,2-Dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-il)propanonitrilo	52
VII.3.2 4-Ciano-2-metilenbutanoato de metilo	53
VII.4 2-(3-(2-Hidroxietil)-1 <i>H</i> -indol-2-il)malonato de dimetilo	54
VII.4.1 Reacción libre de disolvente	54
VII.4.2 Reacción con DCE como disolvente	54
VII.5 7-(2-Cianoetil)-10-(2-((metoxicarbonil)oxi)etil)-6-oxo-9,7,8,9-tetrahidropirido[1,2- <i>a</i>]indol-9-carboxilato de metilo	56
VII.6 7-(3-Aminopropil)-10-(2-((metoxicarbonil)oxi)etil)-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirido[1,2- <i>a</i>]indol-9-carboxilato de metilo	57
VII.7 7-(2-Cianoetil)-6-hidroxi-10-(2-((metoxicarbonil)oxi)etil)-6,7,8,9-tetrahidropirido[1,2- <i>a</i>]indol-9-carboxilato de metilo	58
VII.8 7-(2-((Metoxicarbonil)oxi)etil)-1,2,3,4,4a,5,6,12a-octahidroindolo[1,2- <i>a</i>][1,8]naftiridina-6-carboxilato de metilo	59
VII.9 7-(2-Hidroxietil)-1,2,3,4,4a,5,6,12a-octahidroindol[1,2- <i>a</i>][1,8]naftiridin-6-carboxilato de metilo	60
VII.10 (4a <i>R</i> ,6 <i>R</i> ,12a <i>S</i>)-7-(2-((4 <i>Z</i> ,7 <i>Z</i> ,10 <i>Z</i> ,13 <i>Z</i> ,16 <i>Z</i> ,19 <i>Z</i>)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoiloxi)etil)-1,2,3,4,4a,5,6,12a-octahidroindolo[1,2- <i>a</i>][1,8]naftiridin-6-carboxilato de metilo	61

Abreviaturas

°C	Grados Celsius
13-HODE	Ácido 13-hidroxiocetadecadienoico
atm	Atmósfera
ccf	Cromatografía en capa fina
DHA	Ácido docosahexaenoico
DLP	Peróxido de dilaurilo
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
eq.	Equivalentes
h	Horas
IC₅₀	Concentración inhibitoria 50
min	Minutos
NOESY	Nuclear Overhauser effect spectroscopy
Py	Piridina
RMN ¹³C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹H	Resonancia magnética nuclear de protón
RNA	Ácido ribonucleico
t. a.	Temperatura ambiente
TBAF	Fluoruro de tetrabutilamonio
THF	Tetrahidrofurano
TMEDA	Tetrametiletildiamina
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
μM	Micromolar

Resumen

El presente trabajo, describe la síntesis del esqueleto tetracíclico de la goniomitina **41**, un alcaloide aislado de la raíz de la planta *Gonioma malagasy*. Utilizando una ruta sintética que consta solamente de 3 pasos de reacción, se alcanzó un rendimiento global del 12%. Esta ruta de síntesis se inició con la reacción de sustitución radical oxidativa del triptofol con el xantato **36** para generar el intermediario **37**. Posteriormente se sometió a una reacción de Michael con el éster α,β -insaturado **30**, además de ocurrir una reacción intramolecular en el medio, para la obtención del compuesto tricíclico **38**, que mediante una reacción *one-pot*, de reducción, transamidación y ciclación; permitió la obtención del tetracíclo **41**. Tras la desprotección del mismo produjo el compuesto **42**, el cual es intermediario más próximo al compuesto natural goniomitina.

Una vez obtenido el núcleo tetracíclico de la goniomitina **42**, se le determinó su actividad citotóxica en seis líneas celulares y como fue inactivo, se efectuó la síntesis del bioconjugado **43**, a través de la esterificación del DHA y el compuesto **42**, esperando que el nuevo compuesto fuese activo por la influencia del DHA.

I. Antecedentes

I.1 Cáncer

El cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. En 2012, hubo unos 14 millones de nuevos casos y 8.2 millones de muertes relacionadas con el padecimiento.¹ Los principales tipos de cáncer son los siguientes: pulmonar, hepático, gástrico, colorrectal, mamario y cáncer de esófago.¹

I.1.1 ¿Cómo se inicia el cáncer?

Las células del cuerpo crecen y posteriormente se dividen para formar otras nuevas, hasta que finalmente mueren de manera ordenada.² Sin embargo, en el cáncer este proceso ordenado se descontrola y las células cancerosas en lugar de morir, continúan creciendo y forman nuevas células anormales (Figura 1).³

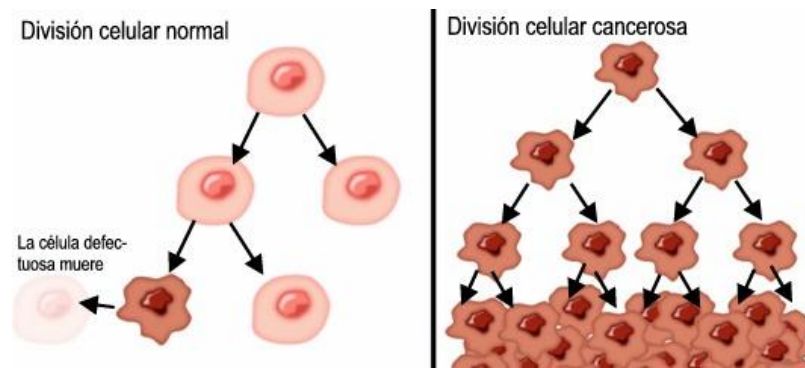


Figura 1.- División celular normal y cancerosa.

I.1.2 Metástasis

Las células cancerosas a menudo se trasladan a otras partes del cuerpo donde pueden crecer y formar nuevos tumores.³ Esto ocurre cuando las células cancerosas son transportadas por

¹ <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>

² <http://www.infocancer.org.mx/ques-el-cncer-con810i0.html>

³ <http://www.cancer.org/cancer/cancerbasics/what-is-cancer>

ultima visita 1/10/2015

ultima visita 1/10/2015

ultima visita 1/10/2015

la circulación sanguínea o linfática, hasta que quedan atrapadas en otro órgano o grupo de ganglios linfáticos "corriente abajo".⁴ (Figura 2).

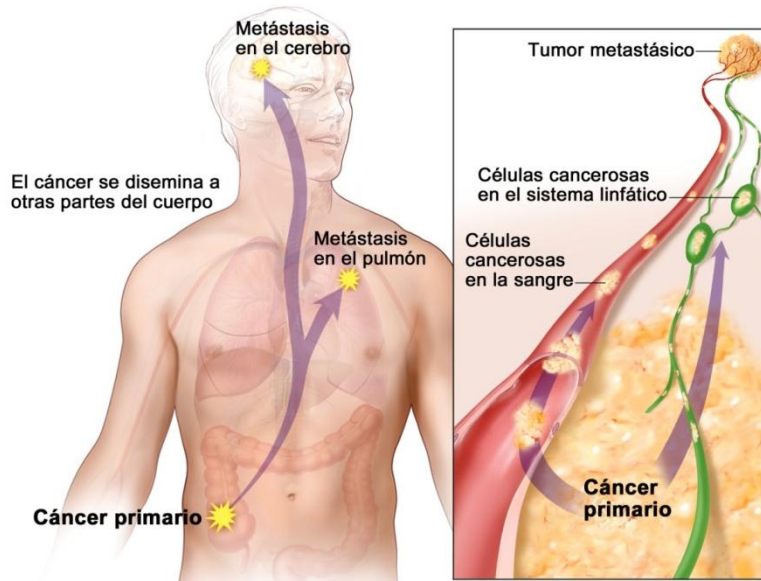


Figura 2.- Metástasis.

I.1.3 Tipos de cáncer

El tipo de cáncer se define entre otras cosas, por el tejido u órgano en el que se desarrolla.⁵ Sin embargo, también pueden describirse según el tipo de célula que los forma. Algunas categorías de cánceres que empiezan en tipos específicos de células son:

Carcinomas.- Se trata de cánceres que se originan a partir de células epiteliales.

Sarcomas.- Son cánceres que se forman a partir del llamado tejido conectivo o conjuntivo, del que derivan los músculos, los huesos, los cartílagos o el tejido graso.

Leucemias.- Son cánceres que se originan en la médula ósea, que es el tejido encargado de mantener la producción de glóbulos rojos, blancos y plaquetas.

Linfomas.- Se desarrollan a partir del tejido linfático, como el existente en ganglios y órganos linfáticos.⁵

⁴ <http://www.cancer.org/espanol/cancer/canceravanzado/guiadetallada/cancer-avanzado-causes-what-causes> ultima visita 1/10/2015

⁵ <http://www.seom.org/en/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla> ultima visita 1/10/2015

Cánceres del sistema nervioso central.- Empiezan en los tejidos del cerebro y de la médula espinal.²

I.1.4 Tratamientos contra el cáncer

Cada tipo de cáncer necesita un tratamiento específico que puede abarcar uno o más métodos.¹ Los tipos más comunes de tratamiento contra el cáncer son cirugía, radioterapia y quimioterapia.⁶

Cirugía.- La cirugía es a menudo la primera opción de tratamiento si se puede extirpar el tumor del cuerpo.⁷ También es un elemento clave en diagnosticar cáncer y determinar qué tanto se pudo haber propagado.⁸

Se conoce como cirugía invasiva a aquélla en la que un cirujano requiere hacer un corte para realizar una operación en el cuerpo. Hoy día, las operaciones que conllevan menos cortes (cirugía menos invasiva) se pueden realizar a menudo para extirpar tumores mientras se preserva lo más posible el funcionamiento normal del tejido.⁷ A veces, sólo se puede eliminar parte del tumor. Antes o después de la cirugía, se puede usar radiación, quimioterapia o ambas con la finalidad de reducir el tamaño o erradicar el tumor.⁸

Radioterapia.- La radioterapia utiliza partículas u ondas de alta energía, tales como los rayos X, rayos gamma, rayos de electrones o de protones, para eliminar o dañar las células cancerosas.⁸ La radiación puede provenir desde el exterior del cuerpo (radiación externa) o mediante materiales radiactivos colocados directamente en el tumor (radiación interna o implantes radiactivos). El tratamiento con radiación externa es similar a someterse a una radiografía. La radiación en sí no causa dolor, aunque el daño a los tejidos puede causar efectos secundarios.⁷

La radiación puede ser administrada por sí sola o junto con otros tratamientos, como cirugía o quimioterapia. De hecho, se sabe que ciertos medicamentos son radiosensibilizantes.⁸

⁶ <http://www.cancer.org/espanol/servicios/comohablar sobrecancer/fragmentado/cuando-alguien-en-su-trabajo-tiene-cancer-questions-and-answers-about-cancer-treatment> ultima visita 1/10/2015

⁷ <http://www.cancer.org/espanol/servicios/comohablar sobrecancer/fragmentado/cuando-alguien-en-su-trabajo-tiene-cancer-questions-and-answers-about-cancer-treatment> ultima visita 1/10/2015

⁸ <http://www.infocancer.org.mx/tratamiento-con454i0.html> ultima visita 1/10/2015

Quimioterapia.- El término quimioterapia se refiere al uso de medicamentos para destruir las células cancerosas. Por lo general, los medicamentos se administran a través de una vena (vía intravenosa) o se toman vía oral. Luego, los medicamentos de quimioterapia viajan a través del torrente sanguíneo del cuerpo, logrando alcanzar las células cancerosas que pueden haberse propagado del tumor a otros lugares del cuerpo.⁷

Actualmente, se utilizan más de 100 medicamentos de quimioterapia en muchas combinaciones. Un solo medicamento de quimio puede ser usado para tratar el cáncer, pero a menudo se emplean múltiples medicamentos en cierto orden o en ciertas combinaciones. Esto permite que diferentes tipos de acción operen en conjunto para destruir un mayor número de células cancerosas. Además, se puede reducir la probabilidad de que el cáncer se torne resistente a un medicamento en particular.⁸

I.1.5 Tipos de medicamentos en la quimioterapia

Los medicamentos quimioterapéuticos se pueden dividir en varios grupos basándose en factores tales como su mecanismo de acción, su estructura química y/o su relación con otros medicamentos. Como algunos medicamentos actúan en más de una forma, pueden pertenecer a más de un grupo.⁹ Ejemplos de esas divisiones son:

- *Agentes alquilantes.-* Actúan directamente sobre el ADN al incorporar grupos alquilo que dan lugar a la formación de puentes inter o intra catenarios, responsables de la alteración funcional del ADN y en último término, de la muerte celular.¹⁰
- *Antimetabolitos.-* Estos fármacos inhiben la acción de las enzimas relacionadas con la síntesis de purinas y pirimidinas, lo que resulta en la depleción celular de éstas y en la alteración de la síntesis de los ácidos nucléico.¹⁰
- *Inhibidores de la mitosis.-* Los inhibidores de la mitosis con frecuencia son alcaloides de origen vegetal y otros compuestos derivados de productos naturales. Pueden detener la mitosis o evitar que las enzimas sinteticen las proteínas necesarias para la reproducción de las células.⁹

⁹<http://www.cancer.org/espanol/servicios/tratamientosyefectossecundarios/quimioterapia/fragmentado/principios-de-la-quimioterapia-analisis-exhaustivo-de-las-tecnicas-y-su-papel-en-el-tratamiento-contra-el-cancer-types-of-chemo-drugs> ultima visita 2/10/2015

¹⁰J. García, A. García-Palomo, J. García. 2009. Quimioterapia antineoplásica. En: Principios del tratamiento oncológico. H. Cortés Funes, R. Colomer Bosch. Publicaciones Permanyer. Barcelona. 219-259.

Algunos ejemplos de moléculas empleadas en la quimioterapia se pueden observar en la Figura 3.

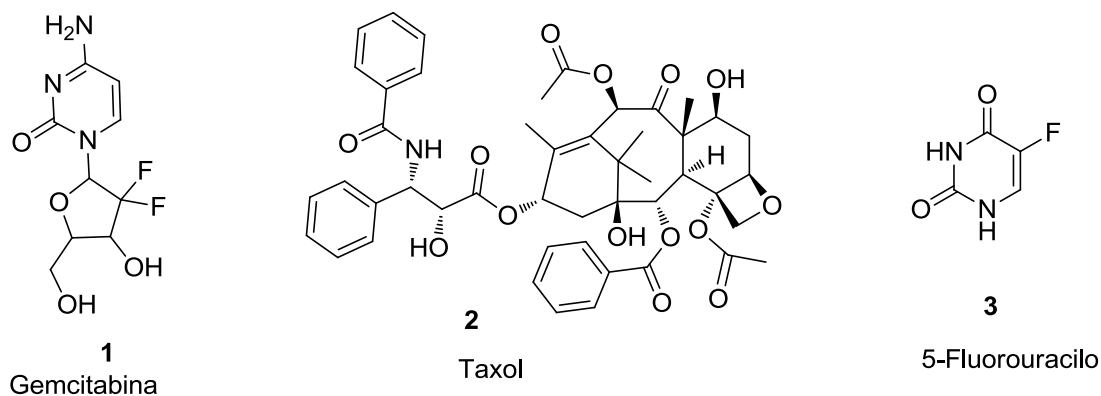


Figura 3.- Ejemplos de compuestos utilizados en la quimioterapia.

I.2 Bioconjugados

Un problema que ha enfrentado de la quimioterapia durante largo tiempo es la carencia de tratamientos específicos para cada tumor. En la actualidad, los agentes citotóxicos son muy poco específicos y producen una elevada toxicidad, la cual se deriva en efectos secundarios severos. Por lo tanto, el desarrollo de nuevos agentes y protocolos eficaces y específicos para cada tumor es una necesidad urgente. En algunas ocasiones, las células tumorales sobreexpresan ciertos receptores específicos, los cuales pueden utilizarse como dianas para administrar agentes citotóxicos.¹¹ Desde hace algunos años, varios grupos de investigación han aprovechado estas características para sintetizar una clase de compuestos a los que han llamado bioconjugados.

El termino bioconjugado es utilizado para describir la unión de 2 moléculas diferentes por sus funciones químicas o biológicas. Entre las funciones se incluyen conjugados de anticuerpos, ácidos nucleicos y sus análogos, componentes liposomales, otras moléculas biológicamente activas con otra molécula o grupos que le confieren o aumenta sus propiedades de fármaco, toxina, inhibidor, enzima, ligando, etc.¹²

¹¹ I. Ojima. *Acc. Chem. Res.* **2008**. *41*, 108-119.

¹² C. F. Meares. *Bioconjugate Chem.* **1990**. *1*, 1.

Existen diversos ejemplos de bioconjugados que han tenido éxito en las funciones específicas para las que fueron diseñados. Entre los propósitos más frecuentes destaca el encontrar compuestos que incrementen la actividad citotóxica de fármacos ya establecidos o moléculas con ciertos potenciales para su uso. A continuación se presentan dos ejemplos de bioconjugados que muestran resultados prometedores.

1.2.1 H-Gemcitabina

La Gemcitabina (**1**) es compuesto que inicialmente fue sintetizado por su poder antiviral, ya que se presentaba como un inhibidor del RNA y del DNA de los virus como el herpes simple y el virus vaccinia. Larry W. Hertel y colaboradores, realizaron en 1990 el estudio de la actividad antitumoral de dicho compuesto¹³ y observaron que es un potente inhibidor de la replicación celular. Sin embargo, tiene una efectividad limitada debido a su alta toxicidad y a su desactivación en la sangre debido a su desaminación.¹⁴ En el año 2013, Niren Murthy y colaboradores realizaron la síntesis de un bioconjugado llamado H-gemcitabina¹⁵ (**4**), la cual está conformada por una molécula de gemcitabina y un agente vinculante al DNA llamado Hoechst.

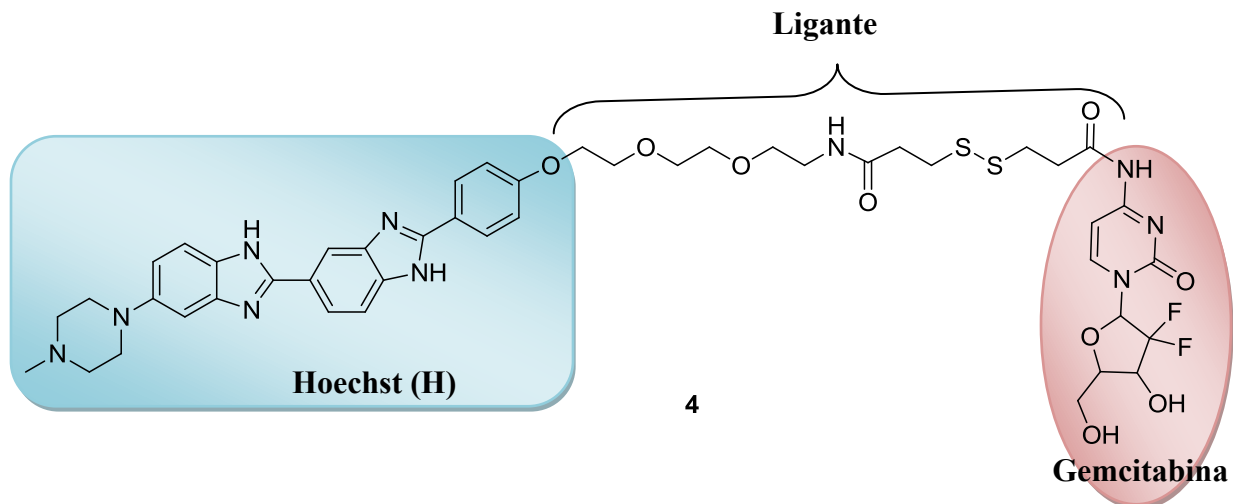


Figura 4.- Estructura química de H-gemcitabina.

¹³ L. W. Hertel, G. B. Boder, J. S. Kroin, S. M. Rinzel, G. A. Poore, G. C. Todd y G. B. Grindey. *Cancer Res.* **1990**, *50*, 4417-4422.

¹⁴ J. H. Beumer, J. L. Eiseman, R. A. Parise, E. Joseph, J. M. Covey y M. J. Egorin. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 3529-35.

¹⁵ M. Dasari, A. P. Acharya, D. Kim, S. Lee, J. Rhea, R. Molinaro y N. Murthy. *Bioconjugate Chem.* **2013**, *24*, 4-8.

La H-gemcitabina fue sintetizada para circular a través del tejido, acumularse en el tumor y después dejar en él la pirimidona **1** para que sea ésta la que realice la función citotóxica. En la Figura 5 se observan 2 gráficas: en la gráfica (a) se ilustra como el bioconjugado tiene una mayor eficiencia en el tratamiento de tumores *in vivo*, ya que los tumores tratados con H-gemcitabina tuvieron un crecimiento mínimo, mientras que los que fueron tratados con gemcitabina libre presentaron un aumento de tamaño. En la gráfica (b) se puede observar que después de 30 días de terminado el tratamiento, existe un mayor porcentaje de ratones que sobrevivieron en los que fueron tratados con H-gemcitabina, que los que tuvieron un tratamiento con gemcitabina libre.¹⁵

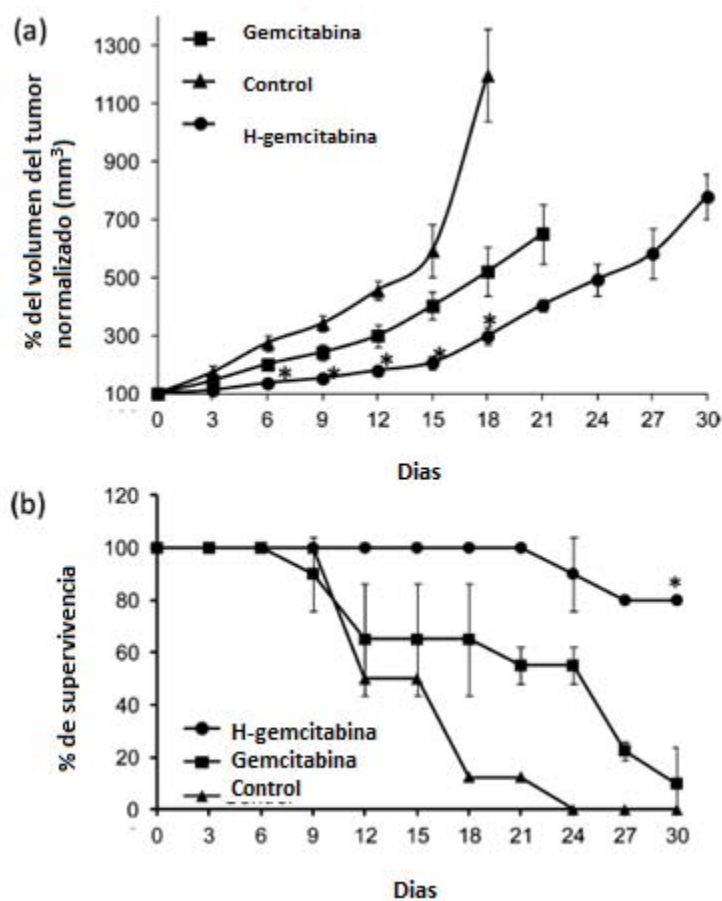


Figura 5.- Gráficas comparativas entre la gemcitabina libre y el bioconjugado H-gemcitabina.

Con lo anterior, se demuestra que la actividad antitumoral de la gemcitabina se ve beneficiada de manera positiva con la inserción de un fragmento que puede incorporarse al DNA del tumor, además de que la toxicidad se ve disminuida.

I.2.2 DHA-Paclitaxel

Los taxanos representan una importante especie de agentes anticancerígenos, de entre ellos destaca el paclitaxel (**2**) (Taxol),¹⁶ el cual fue descubierto como parte de un programa en donde se evaluó la actividad de miles de extractos, y fue en 1963 que en el extracto crudo de la raíz del árbol del tejo del Pacífico, *Taxus brevifolia* fue encontrado. Sin embargo, fue hasta el año de 1971 que McPhail y colaboradores¹⁷ lograron identificar esta molécula como el constituyente activo de los extractos y determinaron su estructura química (Figura 6).

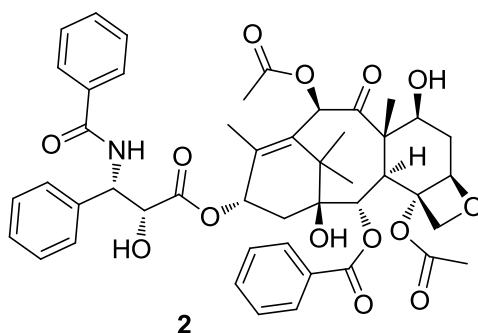


Figura 6.- Estructura química del paclitaxel.

El paclitaxel ha sido utilizado contra el cáncer de ovario, mama y pulmón, debido a que posee un mecanismo de acción en donde estabiliza microtúbulos, los cuales tienen como principal función la formación del eje mitótico durante la división celular, además de estar fuertemente ligados en muchas de las funciones de interfase incluida la forma y el transporte intracelular.¹⁷ Si bien es cierto que la actividad del paclitaxel se sigue considerando como buena, se busca sintetizar derivados y/o análogos que además de aumentar su actividad, ataquen líneas celulares que han generado algún tipo de resistencia. Esto motivó a Bradley y colaboradores a sintetizar un bioconjugado entre el paclitaxel y el ácido docosahecanoico (DHA-paclitaxel)¹⁸(Figura 7).

¹⁶ E. K. Rowinsky y R. C. Donehower. *The New Eng. J. of Medicine*. **1995**, 332, 1004-1014.

¹⁷ M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggan y A.T. McPhail. *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 2325-2327.

¹⁸ M. O. Bradley, N. L. Webb, F. H. Anthony, P. Devanesan, P. A. Witman, S. Hemamalini, M. C. Chander, S. D. Baker, L. He, S. B. Horwitz y C. S. Swindell. *Clinical Cancer Res.* **2001**, 7, 3229-3239.

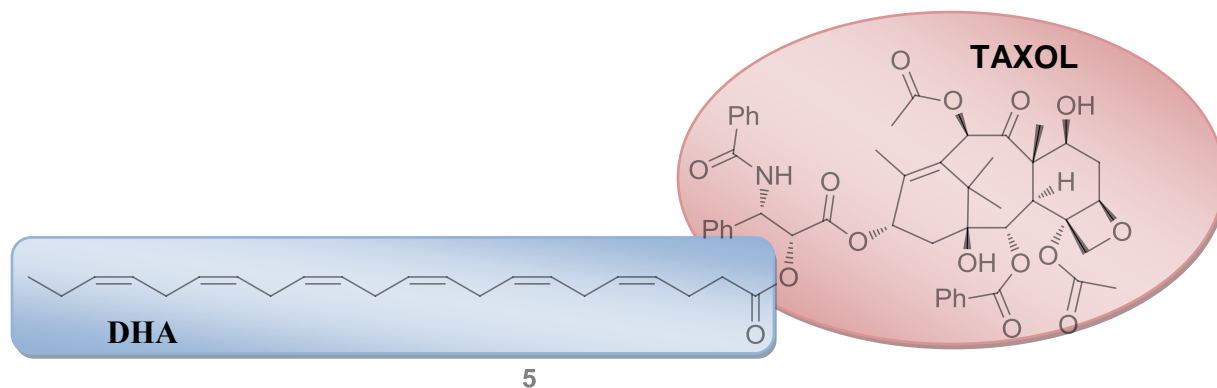


Figura 7.- Estructura química del DHA-paclitaxel.

El ácido docosahexaenoico (DHA) (6) es un lípido, y forma parte de los componentes estructurales del cerebro, de la retina y de otros tejidos nerviosos, los cuales son particularmente ricos en ácidos grasos poliinsaturados.¹⁹

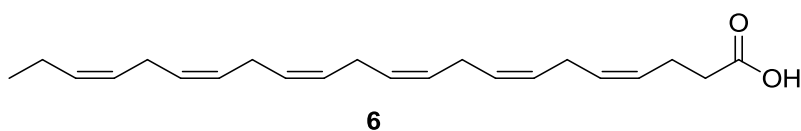


Figura 8.-Estructura química del ácido docosahexaenoico (DHA).

Algunos estudios han arrojado que el consumo de DHA promueve ciertos beneficios entre los que destacan la mejora de la agudeza visual en neonatos, mejora en funciones motoras y de aprendizaje, disminuye la hipertrigliceridemia, disminuye la presión arterial, tiene efectos antiinflamatorios, previene alergias y enfermedades autoinmunes. En contraste a lo anterior, la deficiencia en la ingesta del DHA está asociada a la hiperactividad, al déficit de atención, a la fibrosis quística, a la enfermedad del Alzheimer y al propio proceso de envejecimiento.²⁰

Uno de los beneficios a la salud que más resaltó en la ingesta del DHA, fue la observación de actividad biológica frente algunas líneas celulares cancerígenas. Jeong y colaboradores²¹ reportaron el IC₅₀ del DHA frente a algunas de estas células y obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 1.

¹⁹ M. Gil-Campos y J. D. Serra. *An. Pediatr.* **2010**, *73*, 142.e1-142.e8.

²⁰ N. D. Riediger, R. A. Othman, M. Suh y M. H. Moghadasian. *Am. Diet. Assoc.* **2009**, *109*, 669-679.

²¹ S. Jeong, K. Jing, N. Kim, S. Shin, S. Kim, K. Song, J. Y. Heo, J. H. Park, K. S. Seo, J. Han, T. Wu, G. R. Kweon, S. K. Park, J. Park y K. Lim. *BioMed Central Cancer.* **2014**, *14*, 481, 1-11.

Tabla 1.- Valores de IC₅₀ (μM) de DHA frente a diversas líneas celulares cancerígenas.

Línea celular	PA-1 (Ovario)	H1299 (Pulmón)	D54MG (Glioblastoma)	SiHa (Útero)
IC ₅₀ (μM)	15.48±3.1	26.91±3.7	27.14±4.3	23.97±3.8

Sauer y colaboradores²² determinaron el mecanismo por el cual actúa el DHA en las células cancerígenas. En un trabajo preliminar²³ dieron seguimiento al efecto que tenían los ácidos grasos n-3 en el crecimiento de un tumor trasplantado en ratas. En dicho estudio observaron una relación directa entre la velocidad con la que el tumor absorbe ácido linoleico, la formación del ácido 13-hidroxióctadecadienoico (13-HODE) y el crecimiento del tumor. Posteriormente, concluyeron que el 13-HODE es el agente mitogénico responsable del crecimiento del tumor. Finalmente, ellos proponen que cuando se encuentra presente un ácido graso n-3 en la sangre, éste es reconocido por un receptor que activa la transducción, provocando que la absorción del ácido linoleico y la liberación de 13-HODE disminuyan. Este mecanismo explicaría la dependencia entre el crecimiento del tumor y la absorción del ácido graso.

Otro mecanismo propuesto es la competencia entre los ácidos grasos n-3 y el ácido linoleico junto al ácido araquidónico por las enzimas de elongación, desaturación y metabolismo de dicho ácido. También se propuso una disminución en el tamaño del tumor debido a los cambios del potencial de oxidación por la incorporación de los ácidos grasos en la membrana lipídica del tumor.²³

Actualmente, el DHA además de ser utilizado como un suplemento alimenticio y/o un ingrediente adicionado a alimentos, es utilizado para la síntesis de bioconjugados^{18,24} y/o es utilizado como un coadyuvante en algunos fármacos para aumentar su absorción.²⁵

²² L. A. Sauer. *Cancer Res.* **2000**, *60*, 5289–5295.

²³ L. A. Sauer, R. T. Dauchy y D. E. Blask. *J. Nutr.* **1997**, *127*, 1412-1421.

²⁴ G. Calviello, F. D. Nicuolo, S. Serini, E. Piccioni, A. Boninsegna, N. Maggiano, F. O. Ranelletti y P. Palozza. *Cancer Chemother Pharmacol.* **2005**, *55*, 12–20.

²⁵ R. A. Siddiqui, K. A. Harvey, Z. Xu, E. M. Bammerlin, C. Walker y J. D. Altenburg. *BioFactors.* **2011**, *37*, 399-412.

Dichas razones fueron las que llevaron a Bradley a la síntesis del bioconjugado DHA-paclitaxel, con el cual realizó la comparación de la actividad antitumoral entre el fármaco solo y el bioconjugado en diferentes líneas celulares, y así observó que los tumores tratados con paclitaxel aumentaban de tamaño mientras transcurrían los días, mientras que aquellos que recibieron el bioconjugado había desaparecido. En la Figura 9 (a) se observa la gráfica en la que se compara la actividad antitumoral, con base en el tamaño del tumor en células cancerígenas de pulmón (M109), mientras que en la gráfica (b) se muestra el estudio en el cual se realizó la comparación del tamaño del tumor en células cancerígenas de colon (HT-29), observando en ambas un mejor resultado para el DHA-paclitaxel.¹⁸

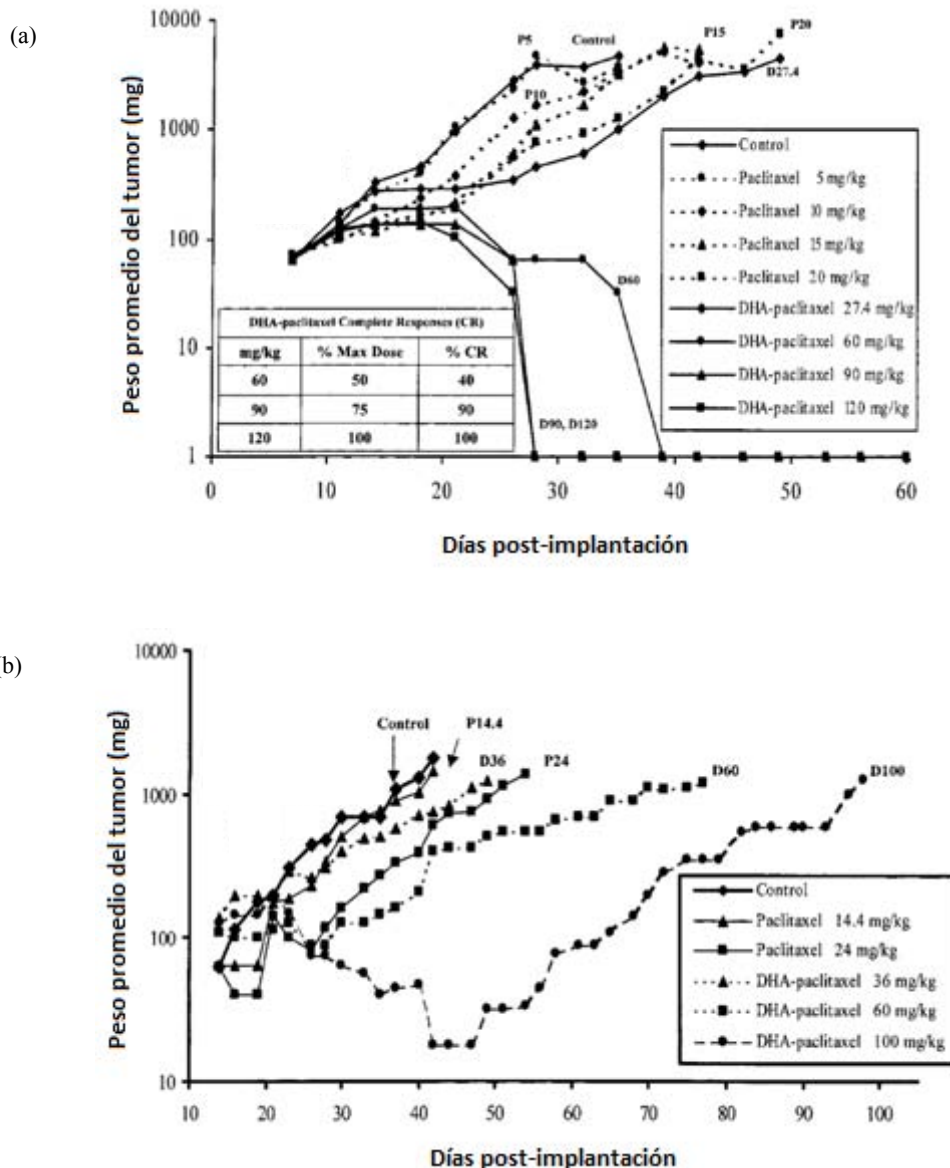


Figura 9.-Gráficas comparativas entre el paclitaxel libre y el bioconjugado DHA-paclitaxel

Una ventaja que también fue observada por Bradley¹⁸ es el tiempo que permanece el bioconjugado en el plasma del tumor, el cual es mayor al del paclitaxel libre (Figura 10).

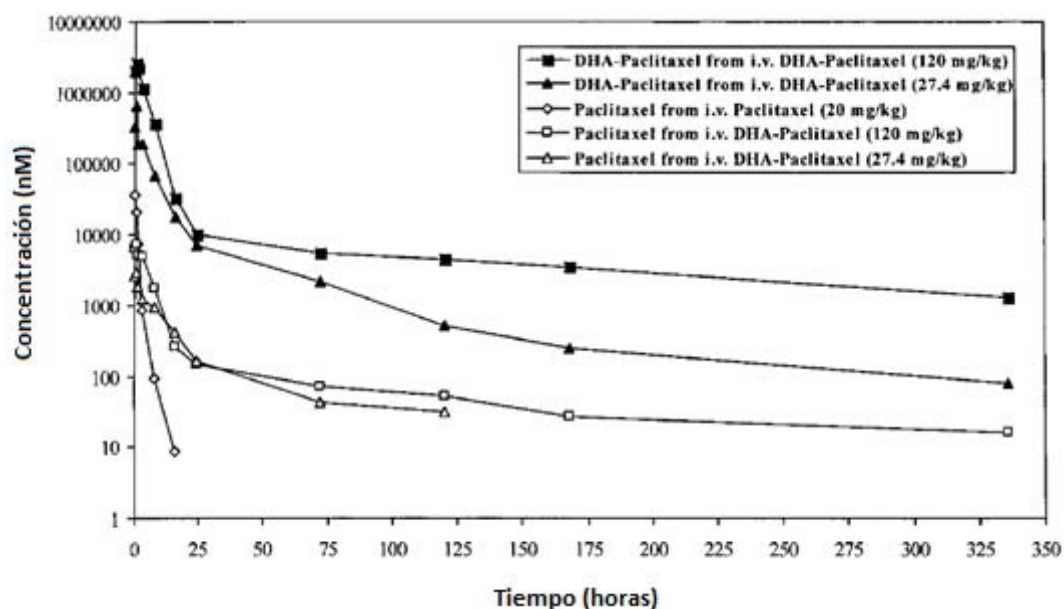


Figura 10.-Gráfica de la concentración en plasma a través del tiempo.

Este compuesto ha sido nombrado Taxoprexin y ha sido sometido a las fases clínicas 1,²⁶ 2²⁷ y 3,²⁸ lo cual demuestra que la estrategia conduce a compuestos con mayor actividad antitumoral, además de presentar un mayor tiempo de vida. Cabe resaltar que otros estudios realizados también han demostrado que la concentración máxima tolerada para el DHA-paclitaxel es considerablemente mayor que el de paclitaxel en su forma libre.¹⁸

I.3 Goniomitina

La goniomitina (7) es un compuesto natural que fue aislado por Husson y colaboradores en 1987.²⁹ Fue extraído de la raíz de la planta *Gonioma malagasy* y es el único miembro de la

²⁶ A. C. Wolff, R. C. Donehower, M. K. Carducci, M. A. Carducci, J. R. Brahmer, Y. Zabelina, M. O. Bradley, F. H. Anthony, C. S. Swindell, P. A. Witman, N. L. Webb y S. D. Baker. *Clinical Cancer Res.* **2003**, 9, 3589-3597.

²⁷ R. J. Jones, R. E. Hawkins, M. M. Eatock, D. R. Ferry, L. M. Eskens, H. Wilke, T. R. J. Evans. *Cancer Chemother Pharmacol.* **2008**, 61, 435-441.

²⁸ A. Y. Bedikian, R. C. DeConti, R. Conry, S. Agarwala, N. Papadopoulos, K. B. Kim y M. Ernstoff. *Annals of Oncology.* **2010**, 1-7.

²⁹ L. Randriambola, J. C. Quirion, C. Kan-Fan y H. P. Husson. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 2123-2126.

familia de indoles de la aspidosperma que presenta una estructura tetracíclica de tipo indolo[1,2-*a*][1,8]naftiridina, en la cual el nitrógeno del indol forma parte de otro de los ciclos (Figura 11).

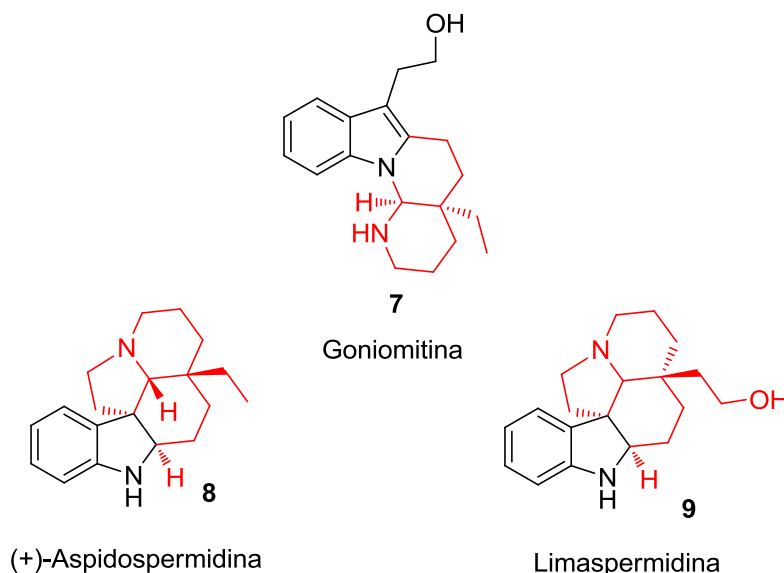


Figura 11.- Estructura de la goniomitina y dos alcaloides representativos de la familia aspidosperma.

Desde que Husson junto a su grupo de trabajo lograron determinar la estructura de la goniomitina, se han reportado 8 síntesis totales (Takano,³⁰ Pagenkopf,³¹ Waser,³² Mukay,³³ Bach,³⁴ Lewin,³⁵ Zhu³⁶ y Jia);³⁷ así como la preparación de algunos intermediarios avanzados (Husson,³⁸ Lewin,³⁹ Gürtler⁴⁰ y Torres-Ochoa).⁴¹ A continuación se presentan algunos ejemplos de las síntesis mencionadas.

³⁰ S. Takano, T. Sato, K. Inomata, y K. Ogasawara. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1991**, 7, 462–464.

³¹ C. L. Morales y B. L. Pagenkopf. *Org. Lett.* **2008**, 10, 157–159.

³² F. de Simone, J. Gertsch, y J. Waser. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 5767–5770.

³³ M. Mizutani, F. Inagaki, T. Nakanishi, C. Yanagihara, I. Tamai y C. Mukai. *Org. Lett.*, **2011**, 13, 1796–1799.

³⁴ L. Jiao, E. Herdtweck, y T. Bach. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 14563–14572.

³⁵ G. Lewin, G. Bernadat, G. Aubert, y T. Cresteil. *Tetrahedron.* **2013**, 69, 1622–1627.

³⁶ Z. Xu, Q. Wang, y J. Zhu. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, 52, 3272–3276.

³⁷ S. Zhou y Y. Jia. *Org. Lett.* **2014**, 16, 3416–3418.

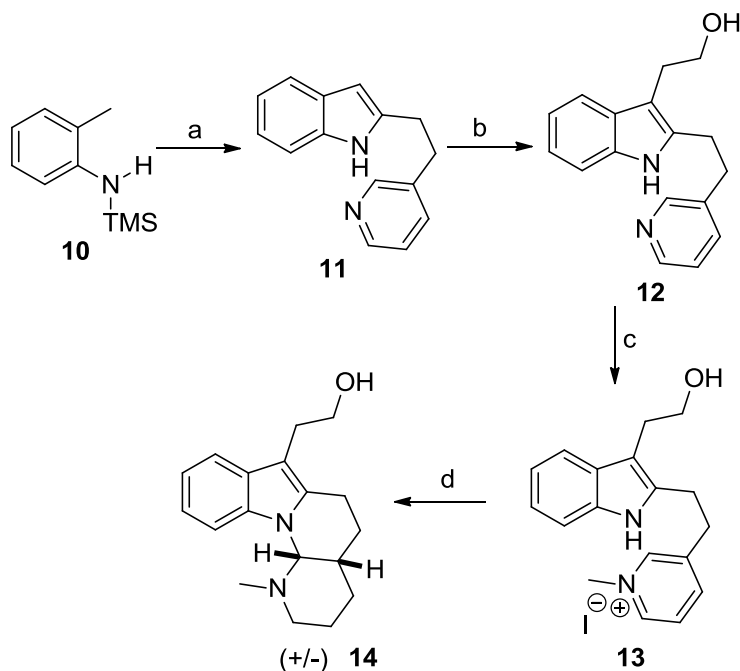
³⁸ C. Hashimioto y H. P. Husson. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 4563–4566.

³⁹ G. Lewin y C. Schaeffer. *Natural Product Lett.* **1995**, 7, 227–234

⁴⁰ C. F. Gürtler, E. Steckhan y S. Blechert. *J. Org. Chem.* **1996**, 61, 4136–4143.

I.3.1 Síntesis de Husson

El primero en realizar la síntesis del esqueleto tetracíclico del producto natural fue el mismo Husson,³⁸ quién preparó el análogo **14** partiendo de la *o*-toluidina (**10**), en una secuencia de 4 reacciones y con un rendimiento global del 18% (Esquema 1).

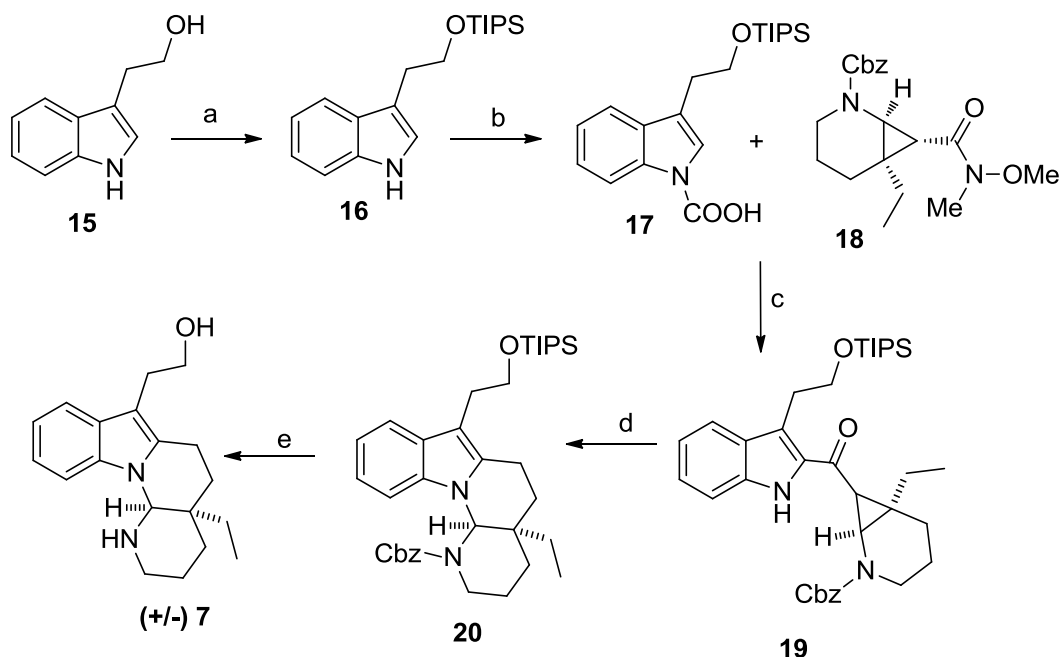


Esquema 1.- Síntesis de Husson. Reactivos y condiciones: (a) (i) *n*-BuLi (2.2 equiv), hexano (reflujo, 6 h) y (ii) 3-(3-piridil)propanoato de metilo, THF (-78 a 15 °C); (b) MeMgI (10 equiv), óxido de etileno (10 equiv), Et₂O (1 h), reflujo (2 h); (c) MeI, CH₂Cl₂ (reflujo, 2 h); (d) H₂, PtO₂, NaOMe, MeOH (3 h).

I.3.2 Síntesis de Waser y determinación de su actividad citotóxica

Waser y colaboradores³² realizaron la síntesis de la goniomitina en el año 2010, en donde obtuvieron la mezcla racémica. La ruta sintética de Waser (Esquema 2) constó de 5 pasos de reacción y comenzó con la protección del triptofol hasta obtener el indol **17** que se hizo reaccionar con el biciclo **18**, (el cual proviene de una δ -lactama). El rendimiento global fue del 34%.

⁴¹ R. O. Torres Ochoa. *Síntesis de los núcleos estructurales de los alcaloides indólicos tronocarpina y goniomitina*. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. **2014**.



Esquema 2.-Síntesis de Waser. Reactivos y condiciones: (a) TIPSCl (1.05 equiv), imidazol (2.1 equiv), DMF (t.a., 1 h); (b) (i) *n*-BuLi (1.2 equiv), Et₂O (0 °C a refluxo, 2 h), (ii) CO₂ (0 °C, 30 min), (iii) H₃O⁺ (pH 2); (c) (i) *t*-BuLi (3.0 equiv), **17** (1.5 equiv), TMEDA (2.0 equiv), THF (-78 °C, 3 h), (ii) **18** (1.0 equiv), THF (0 °C, 20 min); (d) TsOH (0.2 equiv), CH₂Cl₂ (t.a., 10 min); (e) (i) NaBH₄, MeOH (0 °C a t.a., 3 h), (ii) Ac₂O, Py (t.a., toda la noche), (iii) H₂, Pd-C (0.1 equiv), EtOH, (iv) TBAF (4.4 equiv), THF (t.a., 30 min).

A pesar de que el aislamiento y la determinación de la estructura de la goniomitina fueron descritas desde 1987, hasta antes de la síntesis de Waser no se le había realizado la determinación de alguna actividad biológica. Fue el mismo Waser quien dio a conocer los resultados de actividad citotóxica de la goniomitina, la cual mostró valores modestos de IC₅₀ en diversas líneas celulares⁴² (Tabla 2).

⁴² F. De Simone, J. Gertsch y J. Waser. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4038.

Tabla 2.- Valores de IC₅₀ originales y corregidos de la goniomitina.

Línea celular	IC ₅₀ [nM] originales	IC ₅₀ [μM] corregidos
A549 (pulmón)	205 ± 27	47.8 ± 4.3
MCF-7 (mama)	239 ± 13	52.9 ± 3.8
HCT116 (colon)	281 ± 29	-
PC-3M (próstata)	159 ± 24	32.0 ± 2.4
MDCK (riñón canino)	247 ± 10	29.3 ± 4.0
MDR-1-MDCK (riñón humano mutirresistente)	381 ± 17	73.2 ± 3.5

La determinación de la actividad citotóxica que realizó Waser lejos de reducir el interés de los investigadores, los siguió motivando a desarrollar nuevas estrategias sintéticas para la goniomitina, las cuales permitan además de acceder al alcaloide en cantidades adecuadas, además de preparar nuevos análogos del mismo con el fin de encontrar moléculas con mayor actividad. Lewin y colaboradores,³⁵ en el año 2013, realizaron una síntesis biomimética, tomando como base la propuesta de biosíntesis de Husson. Además de realizar la síntesis, Lewin determinó el porcentaje de inhibición de crecimiento de algunas líneas celulares cancerígenas. Los resultados se observan en la Tabla 3.

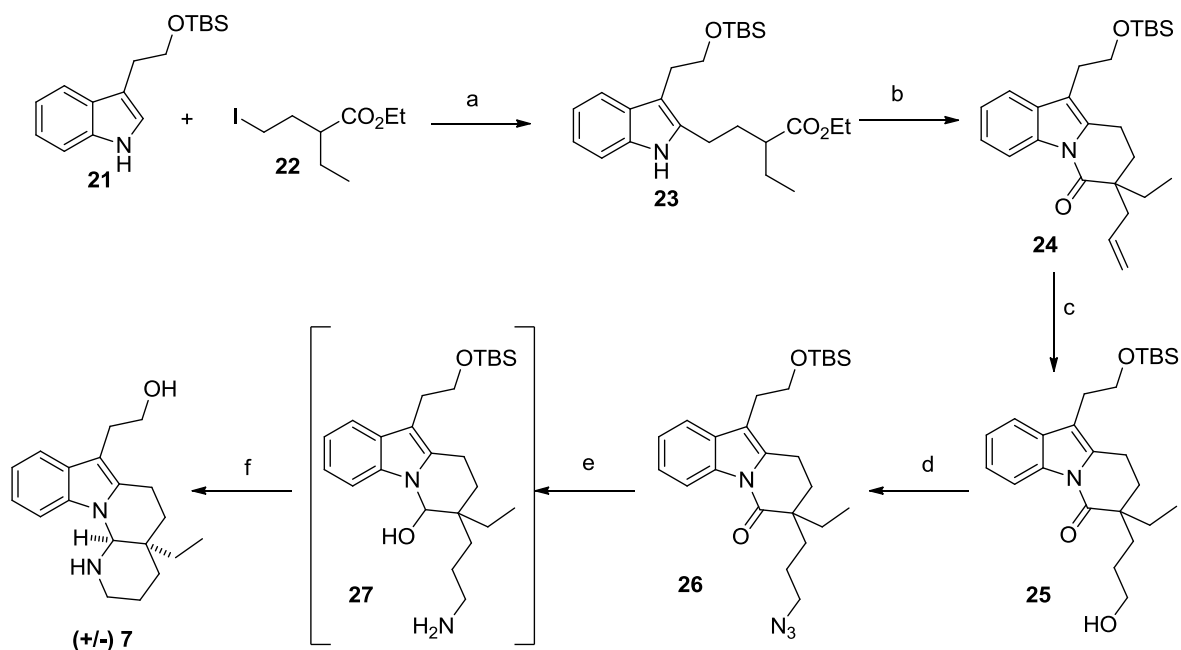
Tabla 3.- Porcentaje de inhibición de crecimiento de la (+) y de la (-) goniomitina a 10 μM.

Compuesto	KB (piel)	A549 (pulmón)	PC3 (próstata)	MCF7 (mama)	HCT116 (colon)
(-)-7	0±4	3±14	16±2	15±10	31±3
(+)-7	69±2	59±5	43±1	62±5	63±3

Con este resultado, observó que la (+)-goniomitina (no natural) presenta una mayor actividad biológica que la (-)-goniomitina (natural).

I.3.3 Síntesis de Bach

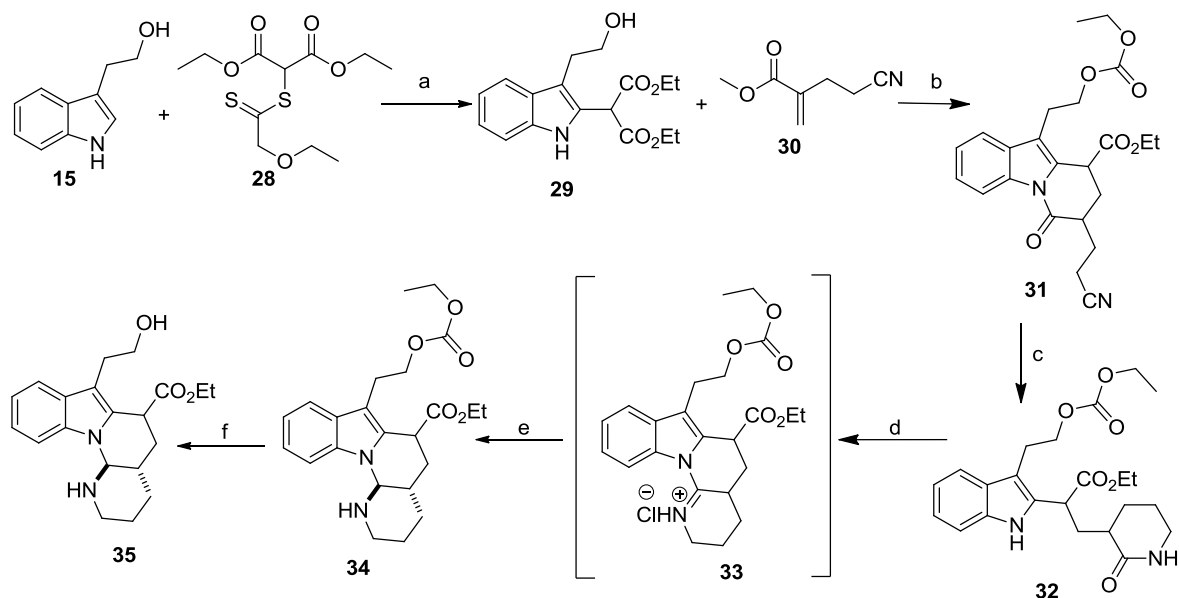
Bach dio a conocer otra ruta de síntesis para la (\pm) goniomitina, que constó de 6 etapas y un rendimiento global del 36%, siendo el paso clave de la síntesis la reacción de sustitución del triptofol en la posición 2 (Esquema 3).



Esquema 3.- Síntesis de Bach (a) norborneno (2.01 equiv), K_2CO_3 (4.01 equiv), compuesto **22** (4.01 equiv), $PdCl_2$ (0.1 equiv), DMF-DMSO (9 : 1), H_2O (0.5 mol L^{-1}), aire, $60 \text{ }^\circ\text{C}$, 26 h; (b) (i) LiHMDS (3.0 equiv), THF ($-78 \text{ }^\circ\text{C-t.a.}$), (ii) $CH_2=CHCH_2Br$ (3.0 equiv) ($-78 \text{ }^\circ\text{C}$, 40 min), t.a. (30 min)); (c) (i) 9-BBN (1.39 equiv), ($0 \text{ }^\circ\text{C}$ (15 min), t.a. (1 h)), (ii) NaOH (1 mol L^{-1}), $35\% \text{ H}_2\text{O}_2$ (0.18 mol L^{-1}), $0 \text{ }^\circ\text{C}$ (30 min); (d) PPh_3 (2.08 equiv), DPPA (2.94 equiv), DIAD (2.8 equiv), $0 \text{ }^\circ\text{C-t.a.}$ (3.5 h); (e) $LiAlH_4$ (4.01 equiv), THF ($0 \text{ }^\circ\text{C-t.a.}$, 2 h); (f) AcOH-THF- H_2O (3:1:1,v/v), 40°C (24 h).

I.3.4 Síntesis de Torres-Ochoa

Torres-Ochoa,⁴¹ realizó como parte de su tesis de doctorado la síntesis del análogo **35** de la goniomitina. Dicha síntesis es la única que utiliza en alguna de sus etapas una reacción de sustitución radicalaria oxidativa que constó de 6 pasos de reacción y un rendimiento global del 11% (Esquema 4).



Esquema 4.- Síntesis Torres Ochoa.- (a) compuesto **28** (1.3 equiv), DLP (1.8 equiv), DCE (reflujo, 4 h); (b) compuesto **30** (1.5 equiv), Na₂CO₃ (9 equiv), TEBA (1.5 equiv), MeCN (reflujo, 2.5h); (c) NiCl₂.6H₂O, NaBH₄, MeOH (0 °C); (d) POCl₃, tolueno (reflujo); (e) NaBH₄, MeOH (0 °C); (f) NaOEt, DMSO (t.a.).

Además de la realización de la síntesis, Torres-Ochoa dio a conocer los resultados referentes a la actividad citotóxica del compuesto tetracíclico **34**, en donde el grupo OH- se encuentra protegido en forma de carbonato, y el compuesto **35** en donde el OH- se encuentra libre (Tabla 4).

Tabla 4.- Porcentaje de inhibición de crecimiento del compuesto **34** y **35** a 50 µM.

Compuesto	U-251 (glía del SNC)	PC-3 (próstata)	K562 (leucemia)	HCT-15 (colon)	MCF-7 (adenocarcinoma de pulmón)	SKLU-1 (mama)
34	40.21	-	100	51.60	54.76	54.22
35	6.09	7.49	S.A	4.4	26.1	31.21

Como se puede observar, el compuesto tetracíclico **34** resultó activo frente a 4 líneas cancerígenas, ya que inhibe más del 50% de crecimiento de las células, en contraste con el compuesto **35**, en donde se tiene libre el grupo OH, y el cual no presenta actividad frente a ninguna línea celular. Por tal motivo, Torres-Ochoa determinó solamente los valores de IC₅₀ del tetracíclo **34**.

Tabla 5.- Concentración Inhibitoria 50 (IC₅₀) del compuesto **34** (μM).

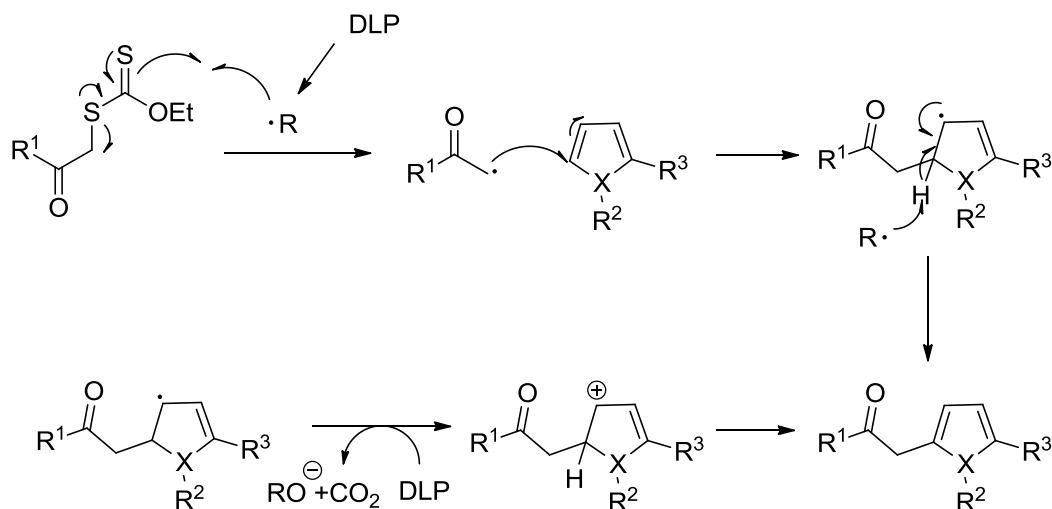
Compuesto	U-251	PC-3	K562	HCT-15	SKLU-1	MCF-7
34	NA	45.72±4.5	35.39±2.5	52.9±2.4	49.24±3.0	36.24±2.5

I.4 Xantatos en Química Orgánica

Los xantatos o ditiocarbonatos son un tipo de compuestos orgánicos conocidos desde hace un par de siglos. El primer uso en síntesis podría atribuírsele a la eliminación de Chugaev; sin embargo, el uso más reciente se debe a la reacción de Barton-McCombie para la desoxigenación de un alcohol secundario. Zard⁴³ estudió las diferentes rutas mecanísticas relacionadas a la descomposición radicalaria de un xantato, y propuso una alternativa para generar nuevos enlaces C-C. Con base en la modificación de Zard, se han planteado diversas metodologías sintéticamente útiles y simples, como lo es la alquilación radical-oxidativa desarrollada por Miranda y colaboradores,⁴⁴ con la cual es factible realizar alquilaciones en sistemas heteroaromáticos (indoles, pirroles, furanos, etc.) en la posición 2, sin necesidad de tener un sustituyente en la posición 3 o si el heteroátomo se encuentra o no protegido. Dicha técnica se muestra en el Esquema 5.

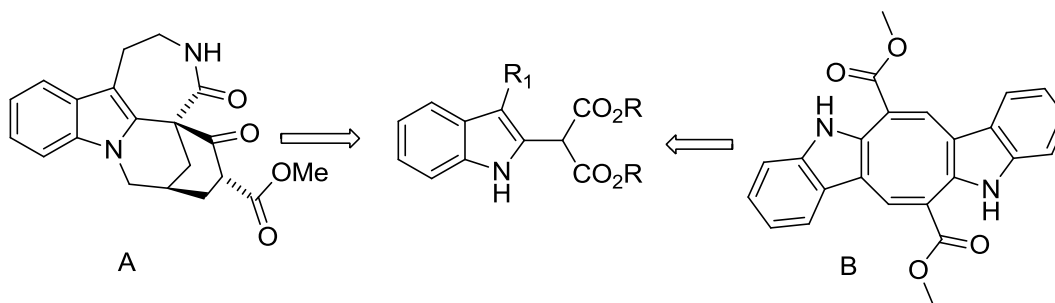
⁴³ B. Quiclet-Sire y S. Z. Zard. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6002 – 6016.

⁴⁴ Y. M. Osornio, R. Cruz-Almanza, V. Jiménez-Montaño y L. D. Miranda. *Chem. Commun.* **2003**, 2316-2317.



Esquema 5.- Reacción de sustitución radical oxidativa.

En el grupo de trabajo de Martínez se ha aprovechado esta reacción y se han preparado diversos compuestos; por ejemplo, el núcleo pentacíclico de la tronocarpina (**A**),⁴⁵ la cual es un producto natural y no existe ningún reporte de su síntesis total. Además el producto natural caulerpina (**B**),⁴⁶ el cual se sabe que presenta actividad antitumoral y antituberculosa.



Esquema 6.- Ejemplos del uso de la reacción de sustitución radical-oxidativa.

⁴⁵ R. O. Torres-Ochoa, P. E. Reyes-Gutiérrez y R. Martínez. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 48-52.

⁴⁶ C. I. Canché, R. Gómez, C. I. Espitia, R. O. Torres-Ochoa y R. Martínez. *Mar. Drugs* **2014**, *12*, 1757-1772

II. Hipótesis

Es posible realizar la síntesis del esqueleto tetracíclico **ABCD** del alcaloide goniomitina empleando una ruta sintética de pocos pasos de reacción y en la que se utilice una reacción de sustitución radical oxidativa como paso clave. Además, la preparación de su bioconjugado con DHA aumentará su actividad citotóxica frente a algunas líneas celulares cancerígenas.

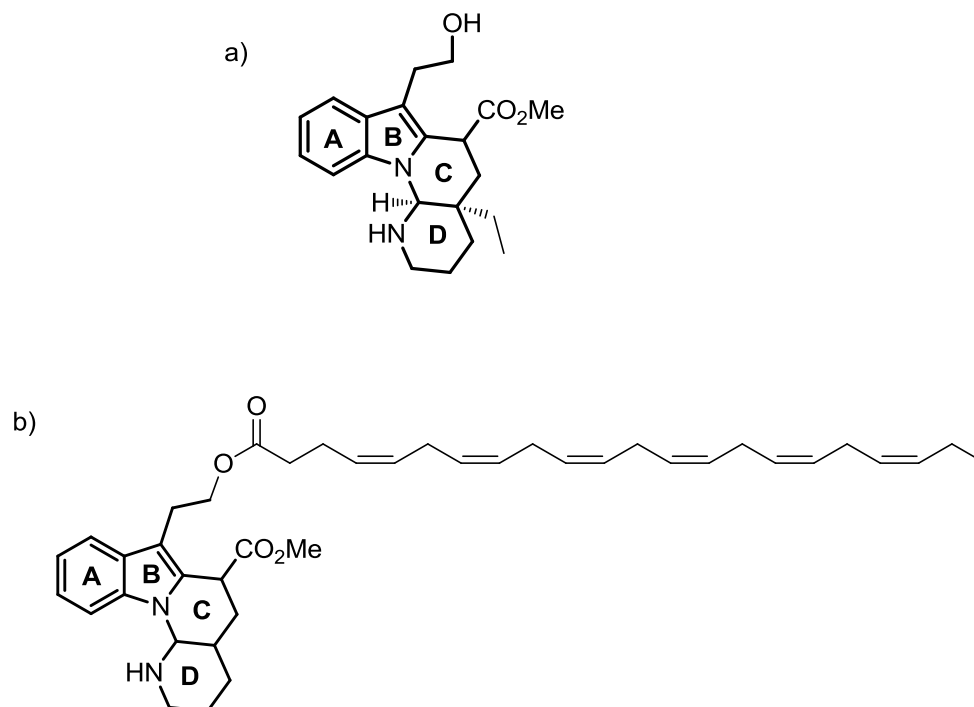


Figura 12.- a) esqueleto tetracíclico ABCD de la goniomitina;
b) bioconjugado tetracíclico-DHA.

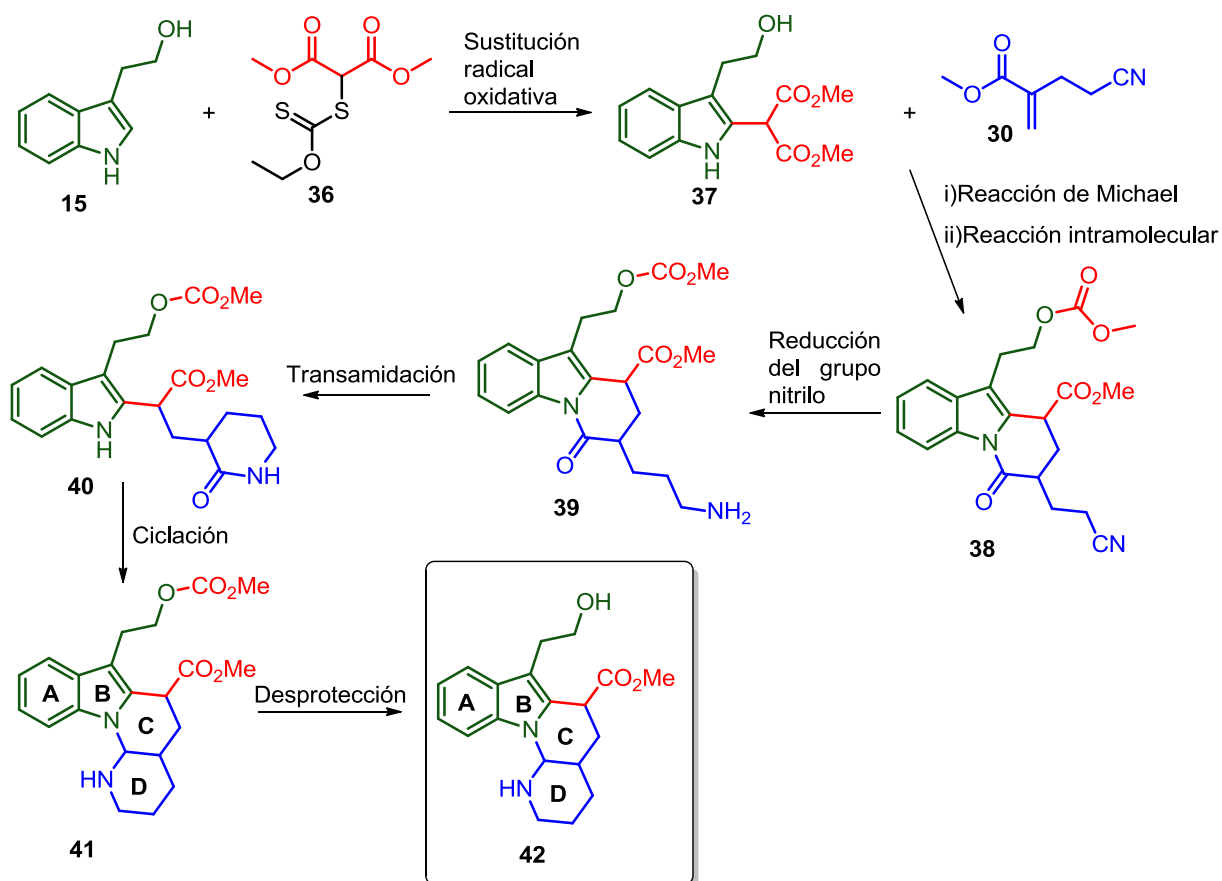
III. Objetivos

- Sintetizar el núcleo tetracíclico del alcaloide goniomitina mediante una ruta sintética que involucre pocos pasos de reacción.
- Determinar la actividad citotóxica del esqueleto tetracíclico de la goniomitina.
- Realizar la síntesis del bioconjugado entre el esqueleto tetracíclico de la goniomitina y el DHA.
- Determinar la actividad citotóxica del bioconjugado tetracíclo-DHA.

IV. Ruta sintética

IV.1 Ruta sintética para obtener el núcleo estructural ABCD de la goniomitina

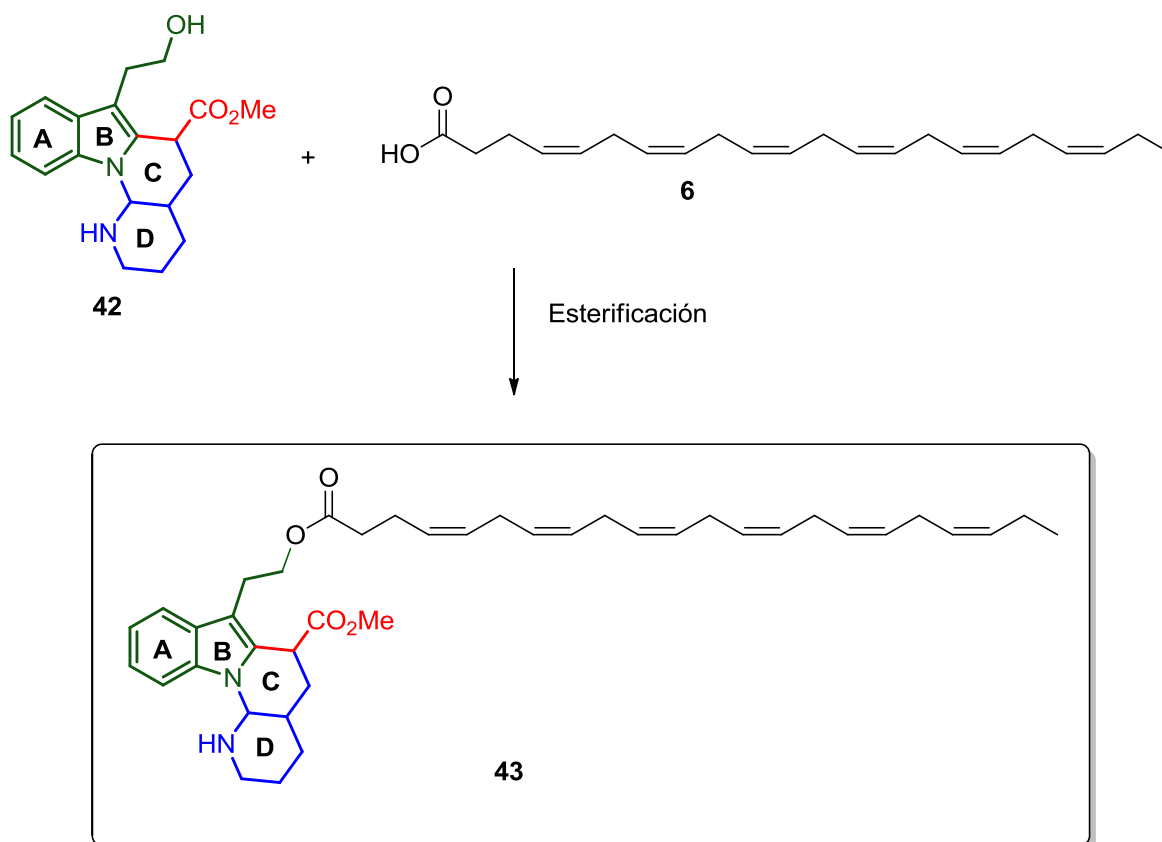
La propuesta emplearía al compuesto indólico triptofol (**15**) como materia de partida, el cual será alquilado en la posición C2, a través de una sustitución radical oxidativa, utilizando como fuente del radical el xantatato **36**. Al indol sustituido **37** se le hará reaccionar en condiciones básicas con el éster α,β -insaturado **30** a través de una reacción de Michael y una reacción intramolecular para obtener el intermediario tricíclico **38**, el cual se someterá a la reducción del grupo nitrilo presente para obtener la amina **39**. El compuesto amínico **39** se llevará a temperatura de reflujo para que ocurra una transamidación y generar el compuesto **40**, el cual se ciclará para obtener el esqueleto tetracíclico **ABCD** de la goniomitina **41**. Finalmente se realizará la desprotección del alcohol para obtener el compuesto **42**, un intermediario avanzado para obtener la goniomitina.



Esquema 7.- Ruta sintética del esqueleto tetracíclico de la goniomitina

IV.2 Ruta sintética para la obtención del bioconjugado tetraciclo-DHA

Para la síntesis del bioconjugado tetraciclo-DHA, entre el compuesto **42** y el DHA (**6**), se realizará una reacción de esterificación entre el alcohol presente en el tetraciclo y el ácido docosahexaenoico, dando como resultado el éster **43**.

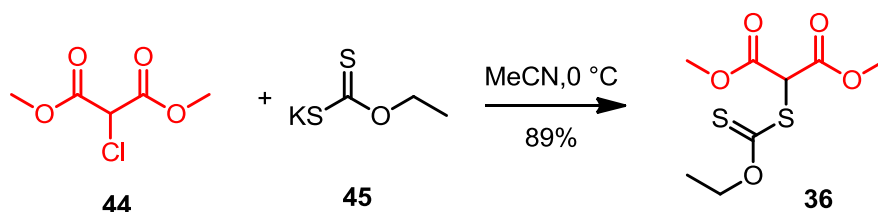


Esquema 8.- Síntesis del bioconjugado tetraciclo-DHA **43**

V. Discusión de resultados

La síntesis del esqueleto tetracíclico **ABCD** de la goniomitina, se inició con la preparación de las materias primas: el ditiocarbonato **36** y el éster α,β -insaturado **30** (Esquema 7) como se muestra a continuación.

V.1 Síntesis del xantato



Esquema 9.- Síntesis del Xantato

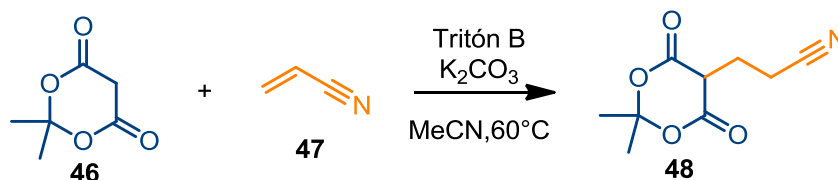
Para la síntesis del xantato **36**, se utilizó la técnica descrita por Reyes-Gutiérrez y colaboradores,⁴⁷ partiendo del cloromalonato de dimetilo (**44**), el cual se hizo reaccionar con el etilxantogenato de potasio (**45**) a través de una reacción de sustitución nucleofílica. Esta reacción se realizó en repetidas ocasiones obteniendo un rendimiento promedio del 89%. Sin embargo, es importante tomar diversas precauciones. Pomo por ejemplo, la temperatura y el tiempo de reacción deben ser monitoreados y controlados adecuadamente, ya que si se deja reaccionando un mayor tiempo del indicado, se comienza a observar un precipitado amarillo, el cual no corresponde al producto deseado. Otra observación relevante, es la eliminación del disolvente para obtener el crudo de reacción; esta debe ser a temperatura baja ya que a temperaturas muy altas los xantatos pierden estabilidad y descomponen. Finalmente, fue necesario realizar la purificación del producto mediante cromatografía en columna. El producto puro fue caracterizado por RMN de ^1H y ^{13}C .

⁴⁷P. E. Reyes-Gutiérrez, R. O. Torres-Ochoa, R. Martínez y L. D. Miranda. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1388-1396.

V.2 Síntesis del éster α,β -insaturado

La síntesis del éster se realizó en 2 pasos de reacción como se describe enseguida.

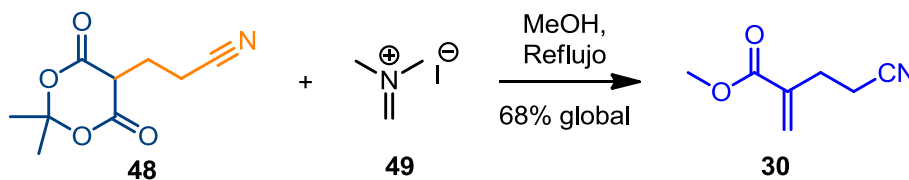
V.2.1 Alquilación del ácido de Meldrum



Esquema 10.- Sustitución del ácido de Meldrum

La alquilación del ácido de Meldrum (**46**) se realizó en medio básico, a una temperatura de 60 °C, basándose en una técnica reportada.⁴⁸ La adición del acrilonitrilo (**47**) se realizó en periodos de 1.5 h, hasta que se observó que la materia prima se había consumido. La adición se llevó a cabo de esta manera ya que **47** tiene un punto de ebullición relativamente bajo (77 °C) y a la temperatura de reacción, paulatinamente se estaría evaporando de la mezcla de reacción. Al finalizar el tiempo de la reacción, se le realizó el tratamiento correspondiente y se obtuvo un sólido blanco, el cual no fue necesario purificar y así fue utilizado en la siguiente reacción.

V.2.2 Obtención del éster α,β -insaturado (**30**)



Esquema 11.- Obtención de éster α,β -insaturado (**30**)

Para la obtención del éster **30** se hizo reaccionar el ácido de Meldrum sustituido **48** con la sal de Eschenmoser (**49**), a temperatura de reflujo.⁴⁹ Finalizado el tiempo de reacción, se le realizó el tratamiento para la obtención del crudo de reacción, el cual se purificó mediante

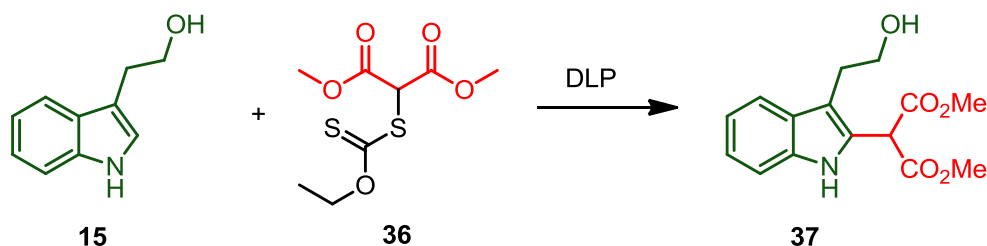
⁴⁸ M. S. Chande, R. R. Khanwelkar. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 7787-7792.

⁴⁹ B. Hin, P. Majer y T. Tsukamoto. *J. Org. Chem.*, **2002**, 67, 7365-7368.

una cromatografía en columna. Esta reacción se realizó en diferentes ocasiones y se obtuvo un rendimiento global promedio del 68%, a partir de la sustitución del ácido de Meldrum.

Una vez preparadas las materias primas, se continuó con la secuencia de reacciones, como se describe enseguida.

V.3 Sustitución radical oxidativa del triptofol



Esquema 12.- Reacción de sustitución radical oxidativa del triptofol para la obtención de **37**

Inicialmente, la reacción de sustitución radical oxidativa entre el triptofol (**15**) y el xantato **36** se llevó a cabo en condiciones libres de disolvente,⁵⁰ utilizando el peróxido de dilaurilo como agente iniciador de radicales libres y agente oxidante. Los resultados se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6.- Condiciones de reacción de la sustitución radical oxidativa libre de disolvente

Ensayo	15 (mmol)	36 (mmol[)]	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
1	1.19	2.38	80 °C	10 min	52 %
2	3.74	7.48	80 °C	10 min	20 %

Al observar los resultados obtenidos en el ensayo 1 y al compararlos con los obtenidos utilizando disolvente,⁴¹ en donde se observa un rendimiento promedio del 68%, se puede decir que el rendimiento de la reacción se ve afectado de tal manera que se pierde alrededor de un 16%. Sin embargo, se reduce el tiempo de reacción, ya que cuando se emplea disolvente el tiempo promedio para la misma es de 4 horas; mientras que al realizar la síntesis libre de disolvente se requieren solamente 10 minutos. Por tal motivo, se tomó la

⁵⁰ E. Flórez-López, L. B. Gomez-Pérez, L. D. Miranda. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6000–6002

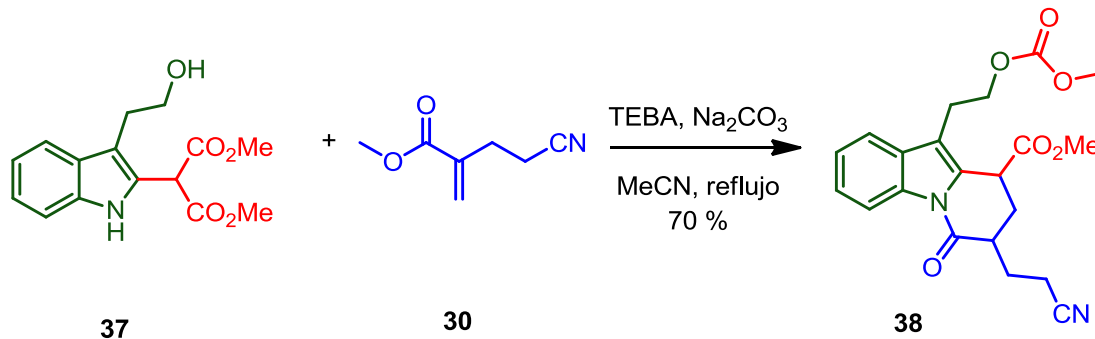
decisión de sacrificar un poco el rendimiento y ahorrar tiempo, pero al aplicar la técnica libre de disolvente a una mayor cantidad de sustrato (3.74 mmoles, segundo ensayo), el resultado no fue el esperado y se observó una disminución drástica en el rendimiento, del más del 30%. Una posible explicación para este resultado es que debido al incremento de la materia prima se requería mayor tiempo para que reaccionaran los reactivos, y además podría existir una mayor saturación en el matraz, una menor homogeneidad en la mezcla de reacción y por ende un menor contacto entre los reactivos. Otro factor puede ser la temperatura de la reacción, ya que al realizar las adiciones de DLP se produce una reacción exotérmica que rebasa los 80 °C,⁵⁰ lo que podría ocasionar la descomposición del xantato utilizado, lo que disminuiría el rendimiento obtenido, e incluso la reproducibilidad del experimento. Por tal motivo, se decidió llevar a cabo la reacción utilizando un disolvente, como habitualmente se realiza en el laboratorio.

El triptofol y el xantato **36** se disolvieron en dicloroetano y se mantuvieron en agitación magnética, burbujeando N₂ durante 30 minutos para degasificar. Las adiciones del iniciador (DLP) se realizaron cada hora, y el rendimiento promedio obtenido fue del 60%.

En este caso, la temperatura de reacción se controló por el disolvente, ya que el punto de ebullición del dicloroetano es de 83 °C. Esto disminuye el riesgo de que el xantato pueda descomponerse debido a la temperatura y que así tener una mayor probabilidad de reacción. Después del tratamiento para eliminar los restos de DLP, mediante la extracción con hexano, fue necesario purificar el producto por cromatografía en columna.

Otra cuestión importante de este experimento fue que el R_f del triptofol y el producto **37** son muy similares, lo que dificulta el seguimiento del avance de la reacción por cromatografía en capa fina; sin embargo, en la purificación por cromatografía en columna es posible separar ambos compuestos satisfactoriamente para su análisis y caracterización.

V.4 Síntesis del compuesto tricíclico 38



Esquema 13.- Síntesis del compuesto tricíclico 38

La síntesis del compuesto tricíclico **38** se realizó mediante una reacción de Michael basándose en la técnica descrita por Torres-Ochoa,⁴¹ en donde el protón α a los ésteres, en el triptofol alquilado, es abstraído por una base generando un carbanión que reacciona con el éster α,β -insaturado. Posteriormente el nitrógeno del indol reacciona con el carbonilo del éster y forma el tercer anillo del compuesto **38**. Además, en el medio básico ocurre una reacción intramolecular, en la cual migra de uno de los ésteres al hidroxilo del triptofol, formando un grupo carbonato. Esta reacción fue realizada en repetidas ocasiones y se obtuvo un rendimiento promedio del 70%. La purificación se hizo por cromatografía en columna y se logró obtener el compuesto tricíclico de forma pura para su caracterización.

Mediante el experimento NOESY, se determinó la configuración relativa del compuesto tricíclico. Se observó que no existe interacción entre el protón α al carbonilo de la amida y el protón α al éster metílico, lo que sugiere que el sustituyente α al carbonilo y el éster metílico se encuentran en posición *trans*, adoptando así la configuración como la que se muestra en la Figura 13.

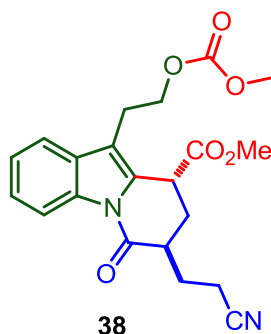
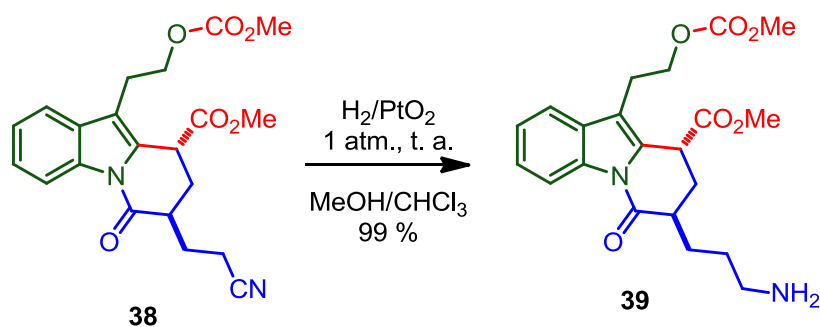


Figura 13.- Configuración relativa del compuesto tricíclico **38**

V.5 Reducción del grupo nitrilo para obtener la amina **39**

Una vez sintetizado el compuesto tricíclico **38**, se continuó con la ruta sintética establecida, por lo que el siguiente paso fue la reducción del grupo nitrilo para producir la amina **39**, siguiendo la técnica descrita por Kerr,⁵¹ como se muestra en el Esquema 14.

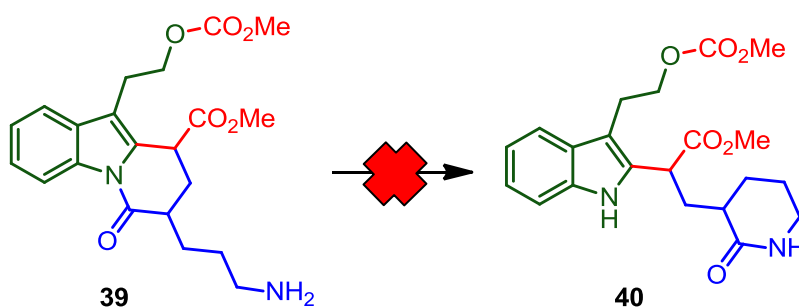


Esquema 14.- Reducción del grupo nitrilo para generar **39**

El compuesto tricíclico se disolvió en metanol y cloroformo; posteriormente, se adicionó el catalizador de Adams (óxido de platino) y enseguida fue llevada a una atmosfera de hidrógeno a una presión de 1 atm. La reacción transcurrió prácticamente en su totalidad, y solamente requirió de ser filtrada sobre celita para retirar el catalizador utilizado. Finalmente, se evaporó el disolvente a presión reducida y se obtuvo la amina deseada **39**, sin necesidad de purificar, con un rendimiento del 99%.

⁵¹ J. Magolan, C. A. Carson y M. A. Kerr. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1437-1440.

V.6 Reacción de transamidación



Esquema 15.- Reacción de transamidación para obtener **40**

La reacción de transamidación se intentó mediante dos condiciones diferentes como se muestra en la Tabla 7.

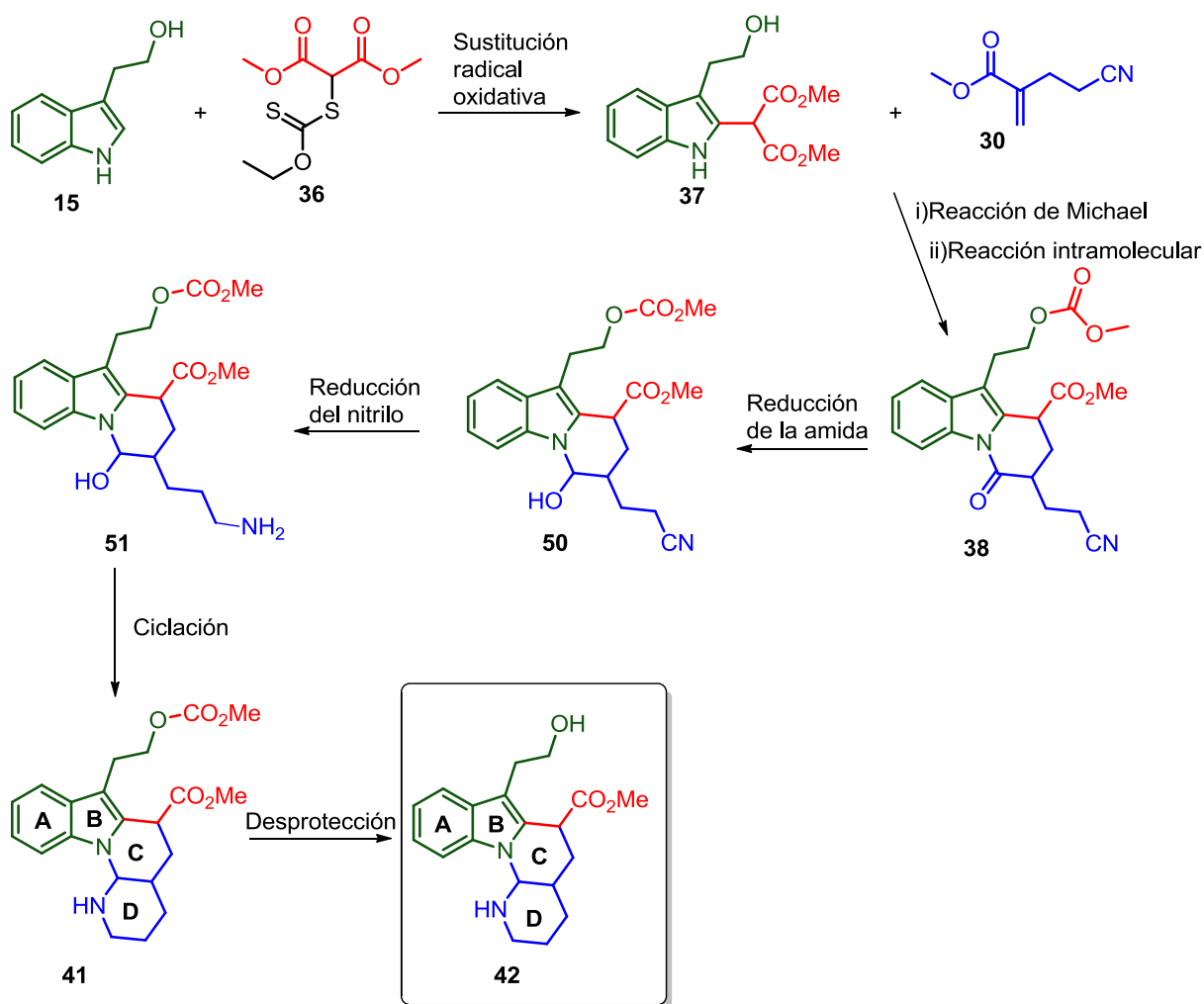
Tabla 7.- Condiciones para la reacción de transamidación

Reactivo	Disolvente	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
0.12 mmol	MeOH	t. a.	24 h	--
0.12 mmol	MeOH	Reflujo	2 h	--

De acuerdo a la técnica descrita por Takano,³⁰ inicialmente se disolvió la amina tricíclica **39** en MeOH y se mantuvo en agitación, a temperatura ambiente durante 24 horas. Sin embargo, al concluir ese tiempo y realizar una cromatografía en capa fina para confirmar que el avance de la reacción, el resultado no fue el esperado. En la cromatoplaqueta solamente se observó la presencia de la materia prima, por lo que se decidió elevar la temperatura de la disolución a la temperatura de reflujo del metanol, esperando que este incremento favoreciera la reacción. Después de 2 horas la disolución fue monitoreada por cromatografía en capa fina y nuevamente se observó que no transcurría satisfactoriamente, ya que, solamente se conservaba la materia prima sin cambio.

Este resultado inesperado repercutía de manera importante en la ruta sintética planteada inicialmente, ya que si no se obtenía la lactama **40** no se podría continuar con el siguiente paso. Por tal motivo, se tuvo que replantear la ruta sintética inicial, de tal manera que se pudiera omitir el paso con el cual se llega a **40**.

V.7 Nueva propuesta de síntesis del compuesto 42

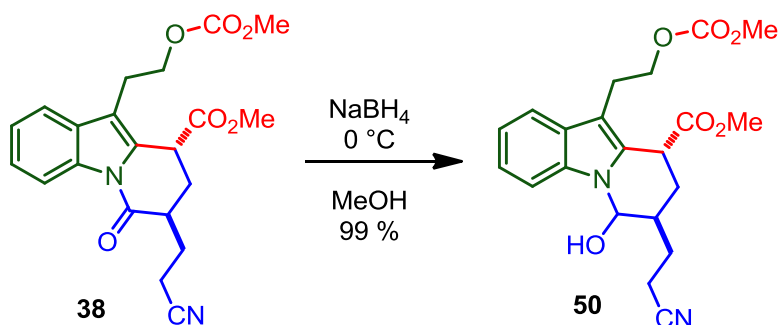


Esquema 16.- Nueva ruta sintética para obtener el compuesto 42

Descartando el paso en el cual se realizaba la transamidación, debido a los resultados obtenidos, se propuso una nueva ruta sintética, que al igual que la anterior, inicia con la reacción de sustitución radical oxidativa del triptofol con el xantato **36**, seguida de una reacción de Michael, entre el indol sustituido **37** y el éster α,β -insaturado **30**, además, de una reacción intramolecular para obtener el compuesto tricíclico **38**. Posteriormente, la reducción del grupo carbonilo de la amida para obtener el alcohol **50**, cuyo grupo nitrilo se reducirá para obtener el amino alcohol **51**, que se ciclará al tetraciclo **41**, que tras la desprotección del alcohol nos producirá el compuesto **42**.

V.8 Reducción del grupo carbonilo para obtener el alcohol 50

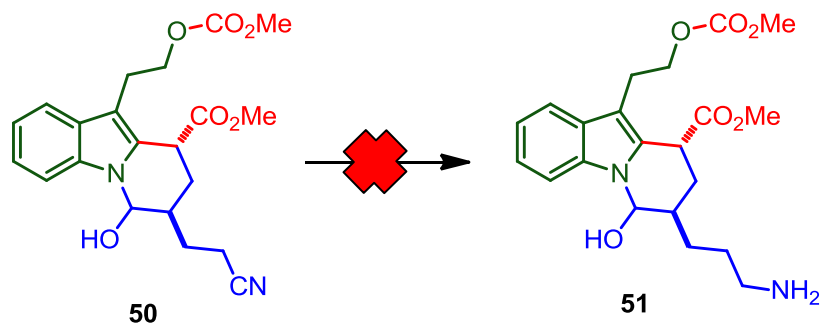
El triciclo **38** se obtuvo siguiendo la ruta sintética descrita en el Esquema 16. Enseguida, se procedió a realizar la reducción del grupo carbonilo en las condiciones que se muestran en el Esquema 17.



Esquema 17.-Reducción del grupo carbonilo para producir **50**

La reacción de reducción se realizó disolviendo el compuesto tricíclico **38**, a 0 °C, ya que ésta es exotérmica y se busca mantenerla a una temperatura baja para evitar que sea demasiado violenta y en la medida de lo posible, no obtener subproductos. Así mismo, la adición del borohidruro de sodio se realizó en cuatro porciones hasta completar la cantidad requerida. Finalizado el tiempo de reacción, se eliminó el disolvente, por evaporación a presión reducida, para después extraer el producto con acetato de etilo y lavarlo con agua. El crudo de reacción mostró sólo un compuesto, el cual correspondía al alcohol tricíclico **50**, por lo que no fue necesaria su purificación.

V.9 Reducción del grupo nitrilo para obtener el aminoalcohol 51



Esquema 18.-Reducción del grupo nitrilo

Una vez obtenido el alcohol tricíclico **50**, se intentó reducir el grupo nitrilo, para lo cual se emplearon las 2 condiciones que se muestran en la Tabla 8.⁵¹

Tabla 8.- Condiciones de la reacción de reducción del nitrilo **50**

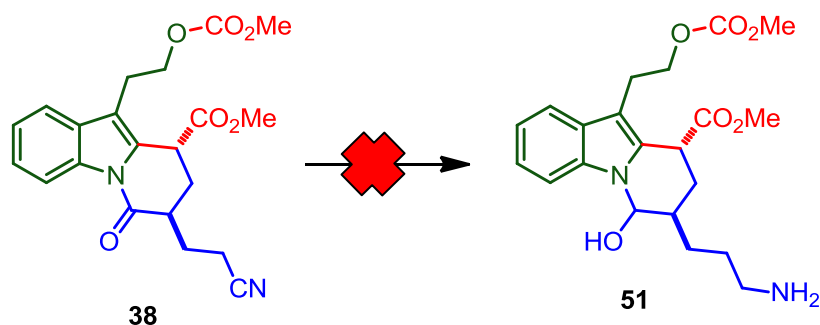
Reactivos	Disolventes	Presión	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
H ₂ /PtO ₂	MeOH/CHCl ₃	1 atm	t. a.	36 h	-
H ₂ /PtO ₂	MeOH/CHCl ₃	2 atm	t. a.	24 h	-

En el primer caso, la reacción se dejó en agitación durante toda la noche. Al transcurrir ese tiempo y después de monitorearlo por ccf, se observó que la materia prima seguía sin reaccionar, por lo que se tomó la decisión de dejarlo por 24 horas más. Finalizado el tiempo establecido, se volvió a monitorear, por ccf, para comprobar si la reacción había progresado satisfactoriamente. Sin embargo, la materia prima continuaba sin ninguna transformación. En vista de que la reacción no se había llevado a cabo, se filtró el óxido de platino sobre celita y al filtrado se le evaporó el disolvente para recuperar el alcohol tricíclico **50**.

Tomando en cuenta los resultados anteriores y considerando que la reacción había funcionado correctamente con el precursor del alcohol tricíclico **38** (Esquema 17), se decidió llevar a cabo la reacción en condiciones de presión elevada (2 atmósferas), durante 24 horas. Al término de este tiempo, no se obtuvieron los resultados deseados, ya que, al realizar una cromatografía en capa fina se observó nuevamente que la materia prima seguía

sin reaccionar. Estos resultados nos llevaron a tomar la decisión de realizar la reducción simultánea del carbonilo de la amida y la reducción del nitrilo en un solo paso de reacción.

V.10 Reducción del carbonilo y nitrilo de 38 en un solo paso.



Esquema 19.-Reducción *one-pot* del compuesto 38

Con los resultados obtenidos en la reducción del grupo carbonilo y del grupo nitrilo por separado, se planteó la posibilidad de realizar ambas reducciones en un solo paso de reacción, para lo cual se establecieron las condiciones mostradas en la Tabla 9.

Tabla 9.- Condiciones de la reacción de reducción *one-pot*

Etapa	Reactivos	Disolventes	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
1	12 eq. NaBH ₄	MeOH	0 °C	1 h	--
2	2 eq. NiCl ₂ ·6H ₂ O 12 eq. NaBH ₄	MeOH	0 °C	1 h	

La reacción comenzó con la etapa 1, en la que se realizó la reducción del grupo carbonilo de la amida con NaBH₄, realizando la adición de éste en 4 porciones de 3 equivalentes cada una. Esta etapa de la reacción se siguió por ccf, en donde se observó que a medida que desaparecía la materia prima se iba generando el alcohol correspondiente, hasta que se consume completamente. Enseguida, se adicionó el cloruro de níquel,⁵² el cual en presencia de borohidruro de sodio inmediatamente reacciona y transforma el color de la reacción de blanca a negra. A continuación se adicionan porciones similares de borohidruro que en la

⁵² S. Caddick, D. B. Judd, K. Lewis, M. T. Reich y M. R. V. Williams. *Tetrahedron*. **2003**, 59, 5417–5423.

reducción del carbonilo de la amida. Esta segunda etapa de la reacción también se monitoreó por ccf y se observó que la materia prima se consumía completamente.

Transcurrido el tiempo de reacción y habiéndose consumido toda la materia prima, así como el intermediario, se procedió a realizar el tratamiento de la reacción iniciando con la evaporación del metanol, seguido de la extracción con acetato de etilo y lavados con agua. Al realizar una ccf para verificar si era necesario purificar el crudo por cromatografía en columna, se observó que el producto de reacción, que aparentemente solamente era uno, se había descompuesto después del trabajo de la reacción.

La primera explicación al resultado anterior se basó en que la eliminación del disolvente por evaporación a presión reducida, se hizo a una temperatura demasiado alta y esto ocasionó que el producto se descompusiera. Al realizar un nuevo ensayo, el comportamiento de la mezcla de reacción durante las 2 h fue exactamente el mismo: al monitorearla por ccf se observaba solamente un producto. La evaporación a presión reducida del metanol se realizó con un ligero calentamiento, para evitar la descomposición observada, para después llevar a cabo la extracción con acetato de etilo y lavados con agua, pero al analizar por ccf se volvió a observar descomposición, lo que descartaba la explicación de que la temperatura de evaporación fuese la causante de la descomposición.

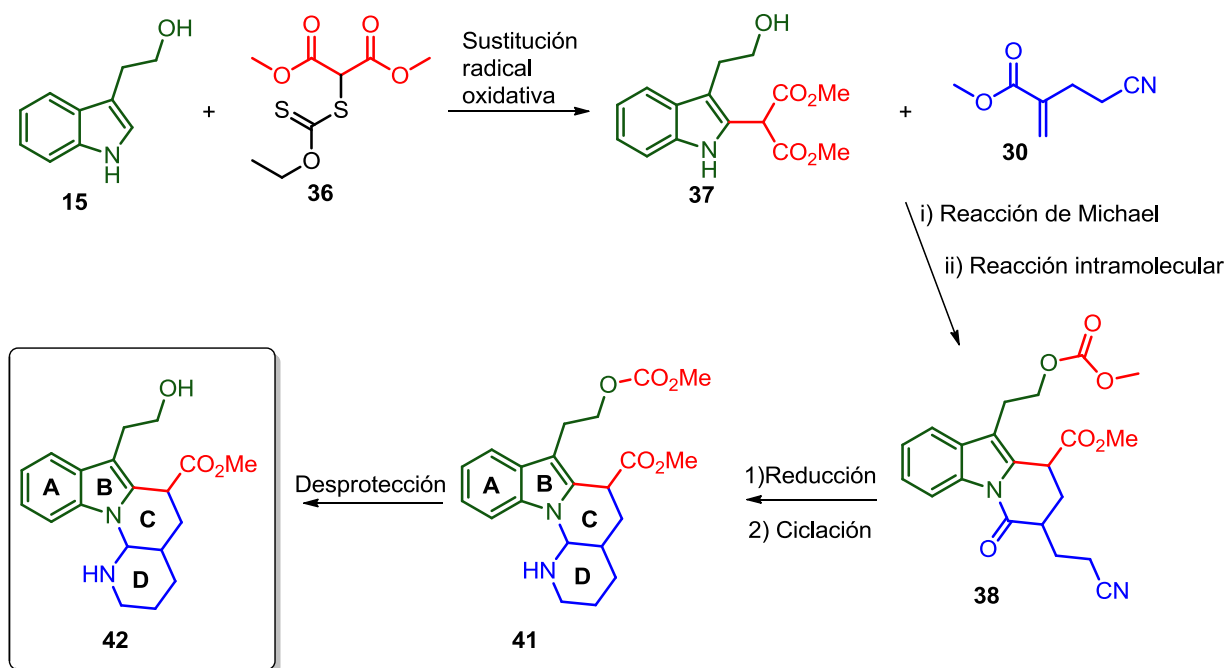
En virtud del resultado anterior, surgió la idea de que el acetato de etilo se estuviera transesterificando con el alcohol presente en el compuesto **51**,⁵³ por lo que, además de realizar la evaporación del disolvente a baja temperatura, se tomó la decisión de realizar un cambio en el disolvente para la extracción y en lugar de utilizar el acetato de etilo se utilizó diclorometano. Nuevamente, la reacción transcurrió adecuadamente, al analizar por ccf se observó que solamente se obtenía un producto. Se realizó la evaporación del disolvente a baja temperatura y se realizó la extracción con diclorometano y lavados con agua. Finalmente, se realizó una ccf para ver el resultado de los cambios, pero se observó nuevamente la descomposición del producto.

Durante el análisis por ccf, en las que se observa la descomposición del aminoalcohol **51**, se observaba un producto mayoritario, el cual fue posible aislar y caracterizar, a diferencia

⁵³ Q. Cheng, C. D. Sohl, F. K. Yoshimoto, y F. P. Guengerich. *J. Biol. Chem.* **2012**, 287, 29554 – 29567.

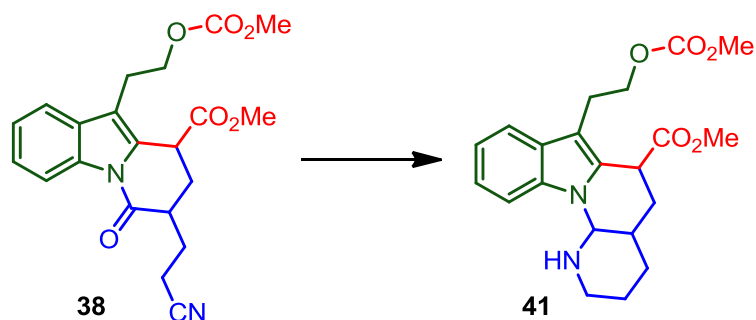
del aminolcohol **51** el cual no fue posible. El resultado de la caracterización arrojó una agradable sorpresa, ya que el compuesto aislado de los productos de descomposición era el compuesto tetracíclico **41**. Este inesperado resultado llevó nuevamente a replantear la ruta sintética para alcanzar el objetivo planteado.

V.11 Ruta sintética final



Esquema 20.-Ruta sintética final para obtener el tetracíclo **42**

Con el resultado anterior, se decidió replantear la ruta sintética, en la cual los dos primeros pasos de reacción no se modificaron. Se llevaron a cabo la sustitución radical oxidativa y la reacción de Michael, llegando al compuesto tricíclico **38**. Sin embargo, pero en esta ocasión se realizaría la reducción del carbonilo de la amida, del nitrilo y la ciclación en un solo paso de reacción, conocido comúnmente como reacción *one-pot*, para obtener el compuesto tetracíclico **41**, que tras una desprotección del alcohol nos daría el compuesto **42**.

V.12 Reacción *one-pot* para obtener 41 a partir de 38Esquema 21.-Reacción *one-pot* para obtener 41 a partir de 38Tabla 10.- Condiciones de la reacción *one-pot*

Reactivos	Disolvente	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
a)NaBH ₄	MeOH	a) 0°C	a) 1 h	28 %
b)NaBH ₄ /NiCl ₂ ·6H ₂ O		b) 0 °C	b) 1 h	
c)AcOH/H ₂ O		c) 60 °C	c) 20 h	
a)NaBH ₄	MeOH	a) 0°C	a) 1 h	31 %
b)NaBH ₄ /NiCl ₂ ·6H ₂ O		b) 0 °C	b) 1 h	
c)AcOH/H ₂ O		c) 40 °C	c) 20 h	
a)NaBH ₄	MeOH	a) 0°C	a) 1 h	27 %
b)NaBH ₄ /NiCl ₂ ·6H ₂ O		b) 0 °C	b) 1 h	
c)AcOH/H ₂ O		c) t. a.	c) 20 h	
a)NaBH ₄	MeOH	a) 0°C	a) 1 h	31 %
b)NaBH ₄ /NiCl ₂ ·6H ₂ O		b) 0 °C	b) 1 h	
c)AcOH/H ₂ O		c) t. a.	c) 72 h	
a)NaBH ₄	MeOH	a) 0°C	a) 1 h	--
b)NaBH ₄ /NiCl ₂ ·6H ₂ O		b) 0 °C	b) 1 h	
c)H ₂ O		c) 40 °C	c) 72 h	

La reacción se realizó basándose en la técnica descrita por Bach.³⁴ Se inició con la reducción del grupo carbonilo y del grupo nitrilo en las condiciones anteriormente establecidas. Posteriormente, cuando en la ccf se observó que la transformación de la materia prima **38** había concluido y en la mezcla de reacción ya estaba presente el aminoalcohol tricíclico, se adicionó una mezcla de ácido acético y agua. Enseguida, se aumentó la temperatura de reacción a 60 °C y se dejó en agitación durante 20 horas, después de lo cual la mezcla de reacción se llevo a pH \geq 12. Finalmente se realizó una extracción con diclorometano. La purificación del crudo de reacción se realizó por cromatografía en columna y se obtuvo un rendimiento del 28% del tetraciclo **41**.

Cabe mencionar que al realizar la ccf del crudo de la reacción, se observó un producto que presenta un brillo bajo luz UV, característico de algunos alquenos, por lo que se especuló que en el medio de reacción, debido a que hay ácido presente, se podría estar dando la deshidratación del alcohol para producir el alqueno tricíclico **52** (Figura 14).

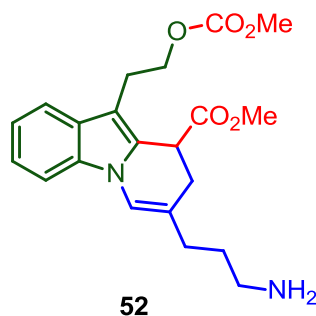


Figura 14.- Estructura del alqueno tricíclico **52**

En una primera modificación, para evitar la posible deshidratación, se redujo la temperatura de la reacción de ciclación de 60 °C a 40 °C, conservando las demás condiciones sin ningún cambio. Este ensayo dio como resultado un ligero aumento en el rendimiento de la reacción del 28% al 31%.

Ya que la disminución de la temperatura produce un ligero aumento en el rendimiento, se decidió bajarla un poco más, en un nuevo ensayo, en el cual las condiciones nuevamente fueron las mismas, excepto que la temperatura esta vez fue la ambiente. Desafortunadamente, este nuevo intento por mejorar el rendimiento no dio los resultados esperados, ya que, este fue del 27%.

El resultado anterior sugirió que era posible que a esa temperatura (t.a) se aumentara el rendimiento, pero cambiando otra variable de las condiciones de reacción. En este nuevo ensayo la variable modificada fue el tiempo, manteniendo la reacción a temperatura ambiente en agitación durante 72 horas. Finalizado el tratamiento de la reacción nuevamente se observó un ligero aumento en el rendimiento, el cual fue del 31%. A pesar de presentar el mismo rendimiento que a 40 °C, se considera que la cantidad de tiempo no es comparable con la poca ganancia que se alcanza.

Tomando en cuenta los resultados que se obtuvieron cuando se realizaron los ensayos para la obtención del aminoalcohol tricíclico, se realizó un ensayo en el cual seguido de la reducción de los grupos carbonilo de la amida y nitrilo, no se agregó la mezcla ácido acético/agua. La modificación consistió en adicionar solamente agua, con la finalidad que eso fuera suficiente para promover la ciclación y así obtener el compuesto tetracíclico **41**. Sin embargo, después de mantener la mezcla de reacción en agitación, a 40 °C y durante 72 horas, la ciclación no procedió.

Como se puede observar en todos los casos, exceptuando en el que solamente se le adiciona agua a la reacción, el rendimiento oscila entre el 27 y 31%. El bajo rendimiento se atribuye principalmente a la etapa de ciclación, puesto que en las primeras 2 etapas, en las ccf se observa una transformación completa de las materias primas. Una de las explicaciones planteadas para este bajo rendimiento, en comparación con lo reportado por Bach,³⁴ es la presencia del etilo en el aminoalcohol tricíclico que no está presente en el nuestro. Dicho etilo conferiría un mayor impedimento estérico a la cadena butilaminica para efectuar giros de sus enlaces sigma.

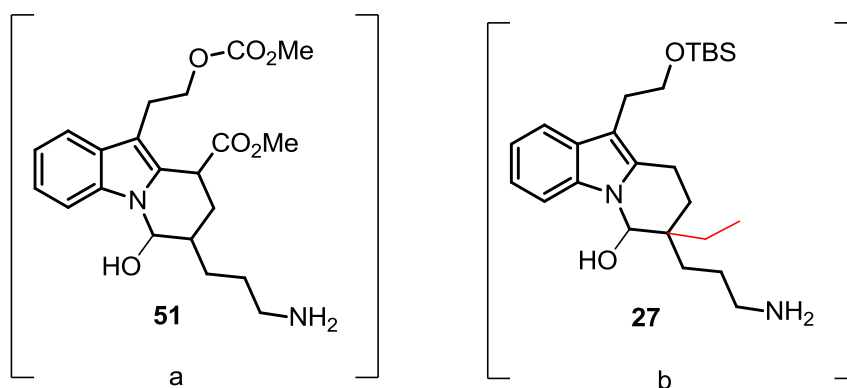


Figura 15.- a) Intermediario obtenido en el presente trabajo,
b) Intermediario obtenido por Bach

La configuración relativa que presentan los carbonos de la fusión de los anillos **C** y **D** del compuesto, está determinada por la posición en la que se encuentra la cadena butilamínica, ya que la amina efectúa el ataque nucleofílico por la misma cara en donde se encuentra la cadena (Figura 15). Dicha configuración se confirmó mediante el experimento NOESY en RMN-¹H del triciclo **41**.

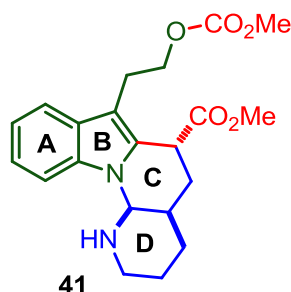
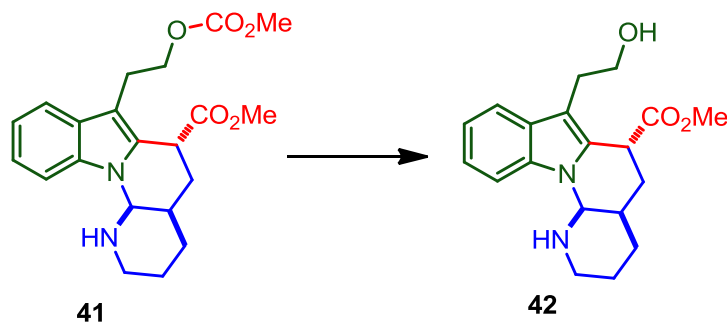


Figura 16.- Configuración relativa del compuesto tetracíclico **41**

V.13 Desprotección del grupo -OH



Esquema 22.-Desprotección del grupo -OH del compuesto **41**

La reacción de desprotección del -OH se estudio empleando 2 carbonatos⁵⁴ diferentes como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 11.- Condiciones para la desprotección del grupo -OH del éster **41**

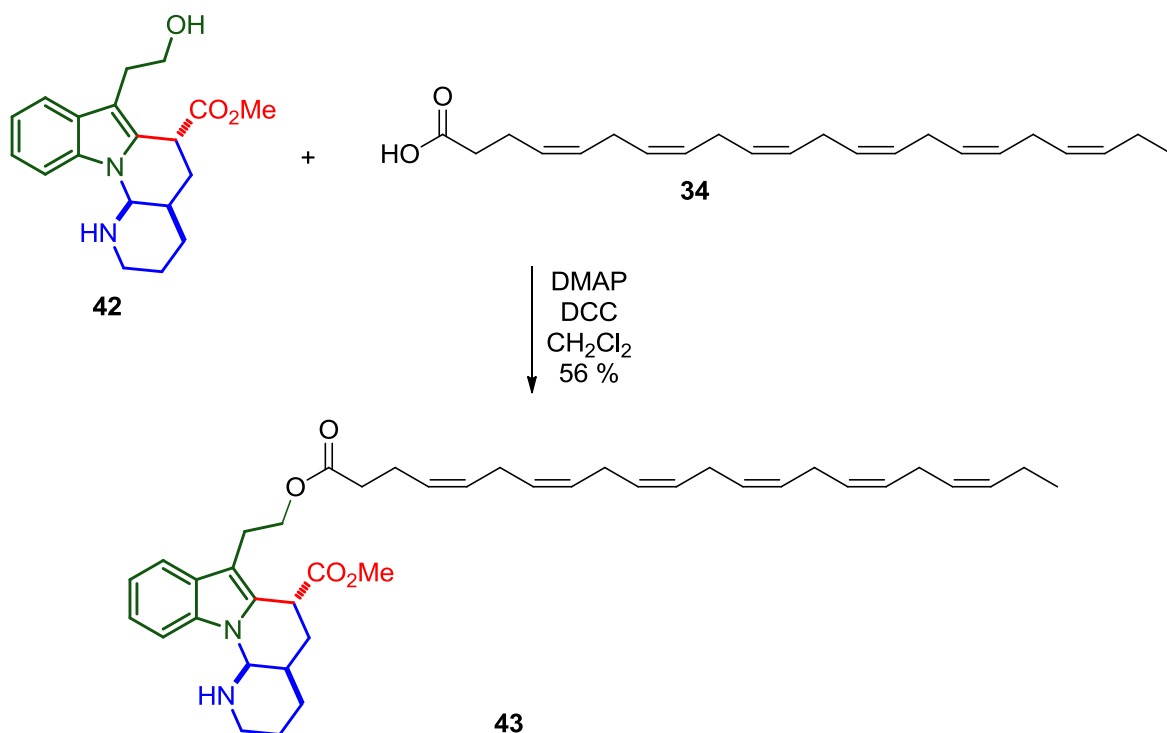
Reactivo	Disolvente	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
Na ₂ CO ₃	MeOH	0 °C	3 h	40 %
K ₂ CO ₃	MeOH	0 °C	3 h	88 %

⁵⁴ P. G. M. WU y T. W. Greene. *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*. 4th edition, Wiley, Hoboken, New Jersey, 2007, p. 279-280.

En el primer ensayo, se realizó la desprotección del alcohol con carbonato de sodio, pero la reacción no transcurrió completamente. Al finalizar el tiempo de reacción y realizar el tratamiento de la mezcla, en la ccf se observa materia prima y el alcohol tetracíclico deseado. Sin embargo, cuando permaneció un tiempo mayor a tres horas, se observó descomposición en el crudo de reacción.

Al percatarnos que el rendimiento no era lo suficientemente bueno, se decidió realizar un cambio de catión en el carbonato, de sodio por el potasio, considerando que este último posee una mayor solubilidad. Este cambio condujo un aumento considerable en el rendimiento de la reacción, por lo que se eligieron estas condiciones como las óptimas para la reacción de desprotección.

V.14 Síntesis del bioconjugado 43



Esquema 23.-Reacción de esterificación para obtener el bioconjugado 43

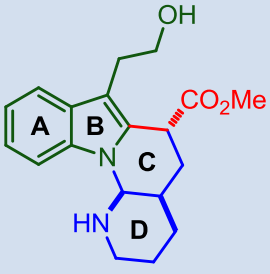
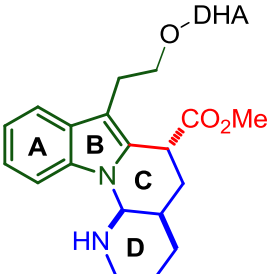
La reacción de esterificación se realizó disolviendo el tetraciclo **42** en diclorometano, utilizando DMAP como catalizador además de proporcionar un medio básico y la DCC como agente acoplante. La adición del DHA se debe realizar de la manera más rápida posible, para evitar que ocurra su oxidación. Finalizado el tiempo de reacción, se realizan diversos lavados con una disolución ácida. La purificación se realizó mediante cromatografía preparativa.

V.15 Evaluación de la actividad citotóxica de los compuestos 42 y 43

Las pruebas de actividad citotóxica se efectuaron en el Laboratorio de Pruebas Biológicas del Instituto de Química de la UNAM. Las pruebas se realizaron utilizando el método de tinción de proteínas con Sulforodamina B (SBR) que se fundamenta en el porcentaje de inhibición del crecimiento celular. Las líneas celulares evaluadas fueron las siguientes: U-251: Sistema Nervioso Central (SNC), PC-3: Carcinoma prostático humano, K562: Leucemia Mieloblástica Crónica (CML), HCT-15: Cáncer de colon, MCF-7: Cáncer de mama, SKUL: Cáncer de pulmón. La primera evaluación se realizó a una concentración de 50 μM con el objetivo de hacer una primera clasificación de los compuestos en activos o inactivos en función del porcentaje de inhibición del crecimiento celular. Se consideran activos todos aquellos compuestos que a la concentración utilizada presentan más del 50 % de inhibición del crecimiento celular. Los compuestos que presenten un porcentaje menor al especificado anteriormente se consideran inactivos.

Los resultados de las pruebas de porcentaje de inhibición se muestran en la siguiente tabla.

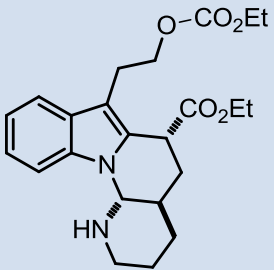
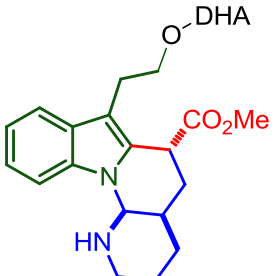
Tabla 12.- Porcentajes de inhibición de crecimiento de los compuesto **42** y **43** a una concentración de 50 μ M

Compuesto	U-251	PC-3	K562	HCT-15	SKUL-1	MCF-7
 <p>42</p>	NA	NA	NA	NA	NA	NA
 <p>43</p>	64.3 %	45.6 %	60.5 %	NA	65.1 %	21.75 %
NA= NO ACTIVO						

Los resultados muestran que el compuesto **42**, que tiene el grupo -OH desprotegido, no presenta actividad citotóxica. Este resultado es consistente con lo reportado por Torres-Ochoa,⁴¹ para el compuesto **35** que difiere de **42** en la configuración relativa de los carbonos quirales de la fusión de los anillos **C** y **D** del tetracíclo, ya que en **42** es *cis*, mientras que en el compuesto **35** es *trans*.

En contraste, el bioconjugado tetracíclo-DHA **43** fue activo en 4 líneas celulares, por lo que se determinó sus valores de concentración inhibitoria 50 (IC₅₀) en esas líneas celulares, y se realizó la comparación con los valores de IC₅₀ del compuesto **34** reportado por Torres-Ochoa,⁴¹ el cual tiene protegido el grupo -OH con un carbonato, así como con los del DHA para tener valores comparables en las mismas líneas celulares, además de descartar que la actividad del compuesto se debe al DHA y no al bioconjugado.

Tabla 13.- Valores de IC₅₀ (μM) obtenidos para los compuestos **34**, **43** y DHA en las 6 líneas celulares utilizadas

Compuesto	U-251	PC-3	K562	HCT-15	SKLU-1	MCF-7
 <p>34</p>	NA	45.72±4.5	35.39±2.5	52.9±2.4	49.24±3.0	36.24±2.5
 <p>43</p>	45.69±3.1	48.81±2.8	Pendiente	NA	39.40±0.7	NA
DHA	58.28±3.6	98.85±8.2	39.34±1.0	120.1±4	62.13±2.1	102.81±2.1
NA= NO ACTIVO						

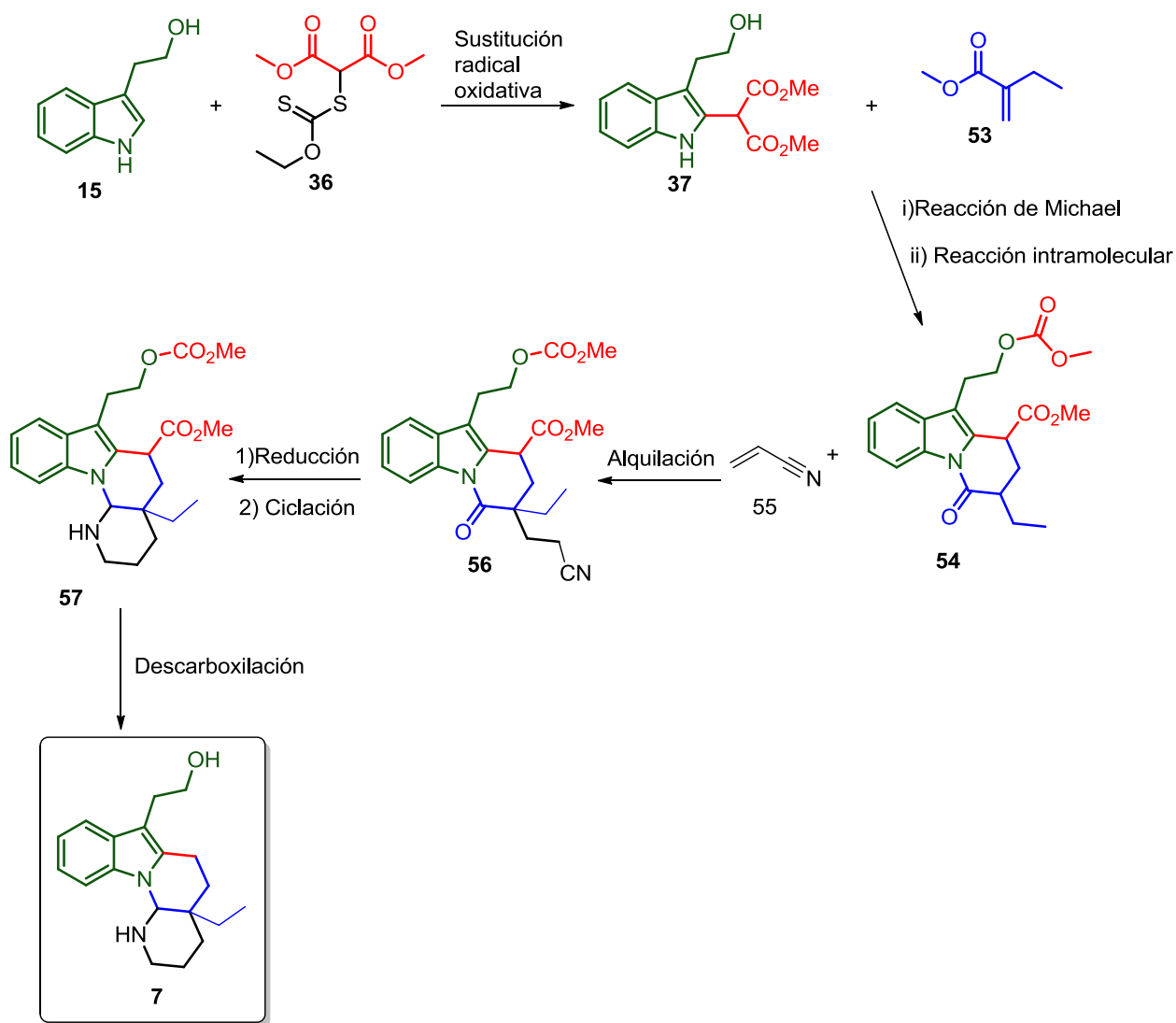
Como se puede observar en la Tabla 13, los compuestos **34** y **43** son activos, tanto en la línea celular PC-3 (próstata) como en la de pulmón (SKLU-1), con una magnitud similar en la primera línea celular, y un poco más el compuesto **43**, en la segunda línea celular. Por otra parte, el compuesto **34** no es activo en la línea celular U-251(sistema nervioso central) pero si el compuesto conjugado **43**, situación inversa tanto en la línea celular de colon (HTC-15) como en la de pulmón (MCF-7), donde el compuesto **34** es activo y el bioconjugado **43** no lo es.

Estos resultados permiten afirmar que la incorporación del DHA en el compuesto **42** hace que el producto, **43**, tenga actividad en cuatro líneas celulares de las seis evaluadas e incluso sea selectivo, con respecto a **34**, en la línea celular cancerosa U-251.

En lo que respecta a la comparación de la actividad citotóxica del DHA libre con la del conjugado **43**, los resultados indican que este último es más activo que el DHA en tres de las líneas celulares cancerosas evaluadas, aunque el DHA es más activo en las otras dos.

V.16 Propuesta para la síntesis total del alcaloide goniomitina

Los resultados obtenidos en la síntesis del esqueleto tetracíclico de la goniomitina, permiten proponer una ruta sintética análoga para la obtención del compuesto natural.



Esquema 24.-Propuesta para la síntesis total del alcaloide goniomitina **7**

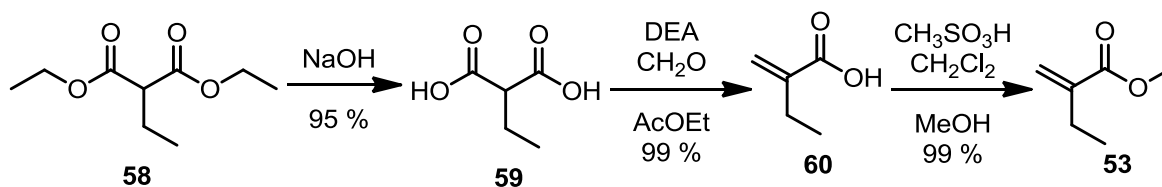
La ruta sintética propuesta para el alcaloide goniomitina comienza con la reacción de sustitución radical oxidativa entre el triptofol y el xantato **36**, seguido de una reacción de Michael con el éster α,β -insaturado **53** para la obtención del compuesto tricíclico **54**. Posteriormente, se realizará una alquilación con el acrilonitrilo para obtener el compuesto **56**. Este último será sometido a una reducción y una ciclación *one-pot*, con la hipótesis de que al tener presente el sustituyente etilo, la reacción procederá de una mejor manera, para la obtención del compuesto tetracíclico **57**, el cual después de una descarboxilación, dará como resultado el alcaloide goniomitina **7**.

V.17 Síntesis de materias primas

La preparación del xantato **36** se realizó como se describió anteriormente y se obtuvieron resultados equivalentes a los ya mencionados. Así mismo, la reacción de sustitución radical oxidativa se comportó en forma similar a la descrita anteriormente.

V.18 Síntesis del éster α,β -insaturado

El éster α,β -insaturado **53** se sintetizó en una secuencia de 3 pasos como se muestra a continuación.



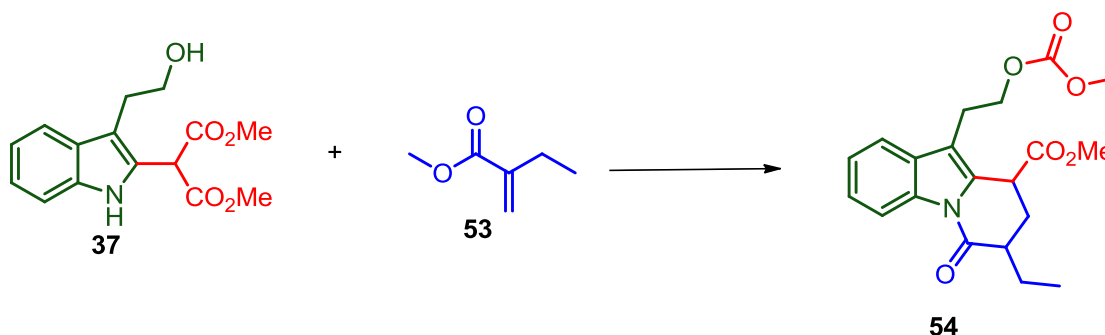
Esquema 25.-Síntesis del compuesto α,β -insaturado **53**

La secuencia se inició con la hidrólisis básica del etil malonato de dietilo, que produce un sólido blanco (**59**), con un excelente rendimiento (95%), por lo cual no se requirió purificarlo. Una vez obtenido el ácido **59**, se le hace reaccionar en medio básico con el paraformaldehído⁵⁵ para generar el ácido **60** en un 99 % de rendimiento, que tampoco

⁵⁵ Y. Kuang y F. E. Chen. *OPPI*. **2005**, *37*, 184-188.

necesitó purificación. Después, se realizó la esterificación de **60** con ácido metansulfónico⁵⁶ durante 3 días en agitación a temperatura ambiente. Dicha reacción dio un excelente rendimiento del 99 % del éster metílico **53**. Sin embargo, se debe tener precaución a la hora de retirar el disolvente orgánico de la extracción, ya que el punto de ebullición del éster no es tan alto, por lo que si la evaporación se realiza a presión reducida o el compuesto se pone a secar en la bomba generadora de vacío, se podría perder.

V.19 Reacción de Michael para preparar **54**



Esquema 26.-Reacción de Michael para preparar **54**

La reacción de Michael entre el triptofol sustituido **37** y el éster **53** se realizó utilizando dos condiciones diferentes como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 14.- Condiciones de la reacción de Michael

Ensayo	Eq. de 53	Reactivos	Disolvente	Temperatura	Tiempo	Rendimiento
1	3	TEBA Na ₂ CO ₃	MeCN	Reflujo	3 h	--
2	5	TEBA K ₂ CO ₃	MeCN	Reflujo	3 h	28 %

El primer ensayo se llevó a cabo utilizando las condiciones ya descritas anteriormente para otros reactivos. Sin embargo, la reacción se siguió por ccf y se observó la aparición de dos

⁵⁶ Takeda Pharmaceutical Company Limited. Patent: WO2009/42711 A1, **2009**.

compuestos, uno menos polar que el triptofol sustituido. La purificación de la mezcla de reacción permitió el aislamiento y caracterización del compuesto **61**. Producto proveniente de la migración de uno de los carboxilos unidos a C-2 hacia el grupo OH del triptofol, confirmando de esta manera que dicha reacción ocurre intramolecularmente.

En contraste, el otro producto aislado presentó un R_f muy similar al de la materia prima **37**, y la caracterización sugiere que el compuesto formado bajo estas condiciones es el producto de la condensación del triptofol sustituido **62**, (Figura 16 b).

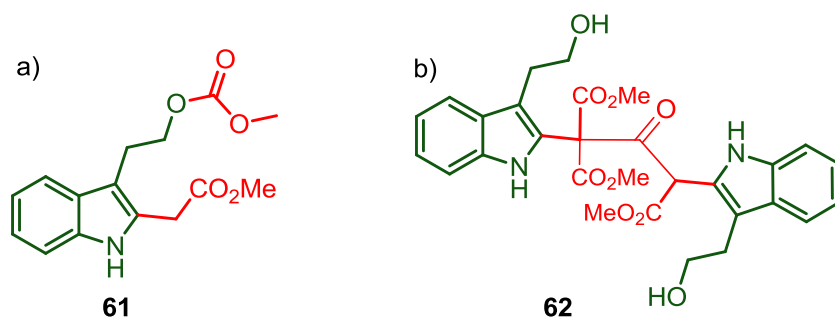


Figura 16.- Subproductos de la reacción de Michael

En el segundo ensayo, se aumentó la cantidad del éster **37** de 3 a 5 equivalentes, conservando las demás condiciones. El resultado de esta modificación se vio reflejado inmediatamente, ya que, la presencia del dímero prácticamente desapareció. Sin embargo, el rendimiento de la reacción fue bajo. Actualmente, se continúa trabajando en la optimización de este paso de reacción con la finalidad de llevar a cabo la síntesis total del producto natural.

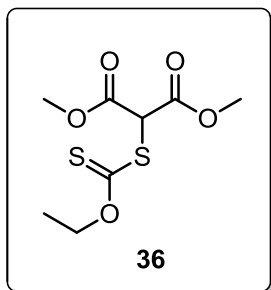
VI. Conclusiones

- Se logró la síntesis del esqueleto tetracíclico **ABCD** de la goniomitina **41** en una secuencia de sólo 3 pasos de reacción y con un rendimiento global del 12%. Los cambios realizados en la ruta sintética inicial derivaron en una reacción *one-pot*, la cual podría optimizarse si se tiene presente el etilo que está presente en el producto natural.
- Se efectuó la desprotección del compuesto **41** para obtener un compuesto más similar al producto natural natural goniomitina **42**.
- Se logró la síntesis del bioconjugado tetracíclo-DHA (**43**), a través del tetracíclico de la goniomitina **42** y el DHA, con un rendimiento global del 56%.
- Se realizaron las pruebas de citotoxicidad del compuesto **42** y se observó que no presenta actividad citotóxica frente a ninguna línea celular. Con este resultado también podemos concluir que la estereoquímica del cuarto ciclo no confiere mayor actividad, ya que no existe diferencia entre el compuesto **34** con configuración *trans* y la del compuesto **42** con configuración *cis*.
- Se realizaron las pruebas de citotoxicidad del bioconjugado **43** y del DHA libre. Los resultados demuestran que la inserción del DHA en el compuesto tetracíclico le confirió al bioconjugado actividad citotóxica frente 4 líneas celulares cancerígenas, glía del sistema nervioso central, próstata, leucemia y adenocarcinoma de pulmón.

VII. Parte experimental

VII.1 Consideraciones generales

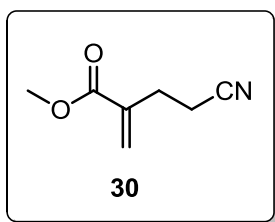
Todos espectros de resonancia magnética nuclear de protón (RMN ^1H) fueron adquiridos con los espectrómetros Eclipse 300 MHz JEOL y Unity Inova 500 MHz usando cloroformo deuterado (CDCl_3) como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna ($\delta=0$ ppm). Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono 13 (RMN ^{13}C) se adquirieron a 75 y 125 MHz en los mismos aparatos. Los espectros de infrarrojo (IR) fueron generados en el espectrómetro FTIR Tensor 27 Bruker, mientras que los de masas fueron adquiridos en el espectrómetro de masas JEOL JMS-T100LC que utiliza el análisis directo en tiempo real (DART). Las reacciones fueron monitoreadas por cromatografía en capa fina y para su visualización se utilizó luz ultravioleta o soluciones etanólicas ácidas de vainillina o *p*-anisaldehído o bien una solución acuosa básica de permanganato de potasio (KMnO_4). Las cromatografías en columna tipo flash se realizaron con sílica gel 60 (230-400 mesh ASTM) de Aldrich.



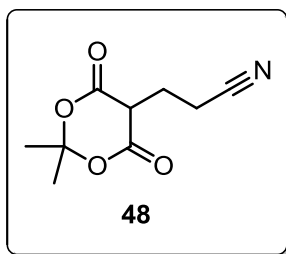
VII.2 2-(Etoxicarbonotioiltio)malonato de dimetilo (36) Se pesaron 2 g (12 mmol) de cloromalonato de dimetilo y se disolvieron en 30 mL de MeCN. Esta disolución se enfrió a $0\text{ }^\circ\text{C}$ y enseguida se adicionó 2.31 g (14.4 mmol) de etilxantogenato de potasio. La mezcla de reacción se agitó durante una hora y después de este tiempo se evaporó el disolvente. El residuo obtenido se redisolvió en agua y el producto crudo fue aislado por extracción líquido-líquido con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró

y se procedió a eliminar el disolvente por evaporación a presión reducida. El producto se purificó por cromatografía en columna, obteniendo 2.7 g (10.7 mmol, 89%) de un aceite ligeramente amarillo.

RMN ¹H.-(200 MHz, CDCl₃): δ 5.34 (s, 1H, -CH-S), 4.66 (c, J= 7.2 Hz, 2H, -OCH₂-CH₃), 3.82 (s, 6H, (CH₃O)₂), 1.43 (t, J= 7.2 Hz, 3H, CH₃-CH₂O) ppm.



VII.3 4-Ciano-2-metilenbutanoato de metilo (30).- La síntesis de este compuesto se realizó a través de 2 pasos, los cuales se describen a continuación:



VII.3.1 3-(2,2-Dimetil-4,6-dioxo-1,3-dioxan-5-il)propanonitrilo (48).- Se pesó 1 g (6.9 mmol) de ácido de Meldrum (46) y se disolvió en 10 mL de MeCN. A esta disolución se le agregaron 1.24 mL (6.9 mmol) de Tritón B y 0.958 g (6.9 mmol) de carbonato de potasio. La mezcla de reacción se dejó bajo agitación durante 20 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se calentó a 60 °C, y enseguida se adicionaron porciones de 0.419 mL (6.9 mmol) de acrilonitrilo cada 1.5 horas hasta observar por cromatografía en capa fina que toda la materia prima se había consumido. Posteriormente se eliminó el disolvente a presión reducida, el residuo se redisolvió con acetato de etilo y se extrajo el producto crudo con agua. La fase acuosa se llevó a pH 2 y se le realizaron tres extracciones con acetato de

etilo. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose un sólido blanco el cual se utilizó inmediatamente para la siguiente reacción.⁴⁸

P. f. 116-118 °C

RMN ¹H.-(300 MHz, CDCl₃): δ 3.69 (t, J= 6.0 Hz, 1H, -CH-(CO₂)₂), 2.77 (t, J= 7.2 Hz, 2H, CH₂-CN), 2.44 (dt, J= 13.6, 6.6 Hz, 2H, CH₂-CH₂-CN), 1.86 (s, 3H, CH₃-C), 1.79 (s, 3H, CH₃-C) ppm.

RMN ¹³C.-(75 MHz, CDCl₃): δ 164.2 (2) (C=O), 118.4 (C-N), 105.7 (O-C-O), 44.4 (CH-(CO₂)₂), 28.5 (2) (CH₃-C), 22.1 (CH₂-CH₂-CN), 15.0 (CH₂-CN) ppm.

VII.3.2 4-Ciano-2-metilenbutanoato de metilo (30).- Se pesaron 1.37 g (6.9 mmol) del ácido de Meldrum sustituido **48** y se disolvieron en 14 mL de metanol. Enseguida se le agregaron 1.9 g (10 mmol) de la sal de Eschenmoser y la mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo durante toda la noche. Una vez que se comprobó que se consumió la materia prima por cromatografía en capa fina, se evaporó el disolvente a presión reducida, el residuo se redisolvió con diclorometano y se lavó con una solución saturada de carbonato de sodio, una solución al 5 % de bisulfato de potasio y finalmente salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y posteriormente se concentró para obtener el crudo de reacción, el cual se purificó por cromatografía en columna, dando como resultado 0.66 g (4.8 mmol, 69%) de un líquido aceitoso ligeramente amarillo.⁴⁹

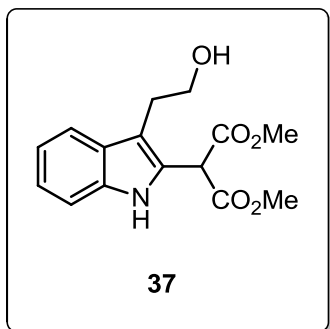
RMN ¹H.-(300 MHz, CDCl₃): δ 6.34 (s, 1H, -C=CH₂), 5.78 (d, J= 0.9 Hz, 1H, -C=CH₂), 3.79 (s, 3H, CH₃O), 2.69-2.57 (m, 4H, -CH₂-CH₂) ppm.

RMN ¹³C.-(75 MHz, CDCl₃): δ 166.4 (C=O), 136.4 (C=CH₂), 128.3 (C=CH₂), 118.8 (C-N), 52.1 (CH₃O), 28.4 (-CH₂-CH₂-CN), 16.9 (-CH₂-CN) ppm.

IR (película).-v 2953, 2248, 1720, 1442, 1206, 1149 cm^{-1} .

EM (DART).-m/z (%) 279.1 (18) [$2\text{M}^+ + 1$], 157.1 (29) [$\text{M}^+ + \text{H}_2\text{O}$], 140.1 (100) [$\text{M}^+ + 1$].

EM AR (DART).-calculada para [$\text{C}_7\text{H}_9\text{NO}_2 + \text{H}$] 140.07115; encontrada 140.07147.



VII.4 2-(3-(2-Hidroxietil)-1H-indol-2-il)malonato de dimetilo (37).- La síntesis de este compuesto se realizó mediante dos técnicas diferentes: libre de disolvente y utilizando dicloroetano como disolvente.

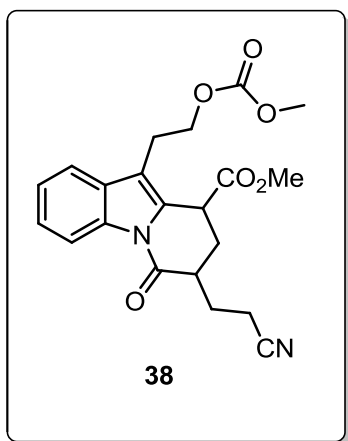
VII.4.1 Reacción libre de disolvente.- Se pesaron 0.600 g (2.4 mmol) del xantato **36** y se agregaron 0.192 g (1.2 mmol) de triptofol, la mezcla de reacción se agitó y se calentó a una temperatura de 80 °C. En seguida se realizaron 10 adiciones de 0.095 g (0.238 mmol) de DLP intervalos de un minuto entre cada una de ellas, después de la última adición la mezcla se agitó un minuto más. Transcurrido ese tiempo, se realizó una extracción con hexano y acetonitrilo. La fase de acetonitrilo (polar) se concentró en el rotavapor para obtener el crudo de la reacción, el cual se purificó mediante cromatografía en columna, se obtuvieron 0.18 g (0.6 mmol, 51.9%) de un aceite viscoso color rojizo.

VIII.4.2 Reacción con DCE como disolvente.- Se pesaron 0.492 g (3.05 mmol) de triptofol y se disolvieron en 12.2 mL de dicloroetano, enseguida se adicionó 1 g (3.97 mmol) del xantato **36**. La mezcla de reacción agitó y se degasificó con N_2 durante 30 minutos, finalizado el tiempo se calentó a reflujo, seguido de la adición de 0.584 g (1.38

mmol) de peróxido de dilaurilo, posteriormente se realizaron 3 adiciones más del peróxido en intervalos de 1 hora entre cada una de ellas. Después de la última adición, la reacción continuó en agitación y a reflujo por 1 hora más. Transcurrido el tiempo, se eliminó el dicloroetano a presión reducida y el residuo obtenido se extrajo con hexano y acetonitrilo, la fase de acetonitrilo se concentró y el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna, obteniendo 0.533g (1.8 mmol, 59.8%) de un aceite viscoso color café-rojizo.

RMN ^1H .-(300 MHz, CDCl_3): δ 8.83 (s, -NH), 7.49 (d, $J= 7.8$ Hz, 1H, CH-C-C), 7.45 (d, $J= 8.1$ Hz, 1H, CH-C-NH), 7.14 (td, $J= 8.1, 0.9$ Hz, 1H, CH-CH-C-NH), 7.04 (td, $J= 7.8, 0.9$ Hz, 1H, CH-CH-C-C), 5.03 (s, 1H, CH-(CO)_2), 3.77 (t, $J= 6$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{-OH}$), 3.71 (s, 6H, $\text{CH}_3\text{-O}$), 2.94 (t, $J= 6$ Hz, 2H, $\text{C-CH}_2\text{-CH}_2$), 1.86 (s, 1H, -OH) ppm.

RMN ^{13}C .-(75 MHz, CDCl_3): δ 168.0 (2C, C=O), 136.1 (C-NH-C), 127.4 (NH-C-CH), 126.0 (CH-C-C), 122.8 (CH-CH-C-NH), 119.7 (CH-CH-C-C), 118.8 (CH-C-C), 111.8 (C-CH_2), 111.3 (CH-C-NH), 62.5 ($\text{CH}_2\text{-OH}$), 53.3 (2C, $\text{CH}_3\text{-O}$), 48.9 (CH-(CO)_2), 27.6 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-OH}$) ppm.



VII.5 7-(2-Cianoetil)-10-(2-((metoxicarbonil)oxi)etil)-6-oxo-9,7,8,9-tetrahidropirido[1,2-a]indol-9-carboxilato de metilo (38).- Se disolvieron 0.681 g (2.34 mmol) del triptofol sustituido **37** en 26 mL de acetonitrilo, posteriormente se adicionaron 0.799 g (3.5 mmol) de cloruro de trietilbencilamonio y 2.23 g (21 mmol) de carbonato de

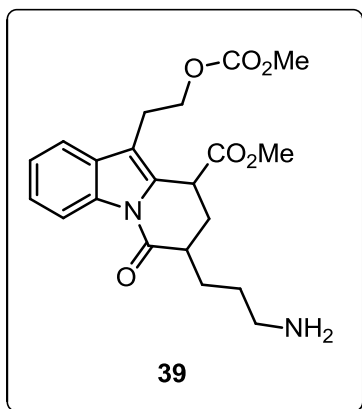
sodio, la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos; en seguida se agregaron 0.975 g (7 mmol) de **30** y la mezcla se calentó a reflujo durante 3 horas. Finalizado este tiempo, se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo obtenido se extrajo con acetato de etilo y lavados con agua; la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró. Finalmente se purificó el crudo de la reacción mediante cromatografía en columna, obteniendo 0.623 g (1.63 mmol, 69.7%) de un aceite viscoso color café-rojizo.

RMN ¹H.-(300 MHz, CDCl₃): δ 8.44 (d, J= 4.8 Hz, 1H, CH-C-N), 7.55 (d, J= 4.8 Hz, 1H, CH-C-C), 7.36 (td, J= 4.8, 0.9 Hz, 1H, CH-CH-C-N), 7.31 (td, J= 4.8, 0.9 Hz, 1H, CH-CH-C-C), 4.34 (t, J= 4.5 Hz, 2H, CH₂-CH₂-O), 4.28 (dd, J= 3.3, 1.5 Hz, 1H, C-CH-CO₂), 3.77 (s, 3H, CH-COO-CH₃), 3.76 (s, 3H, O-CO₂-CH₃), 3.23-3.17 (m, 1H, CH-CON), 3.17-3.01 (m, 2H, CH₂-C-C), 2.71 (t, J= 4.5 Hz, 2H, CH₂-CN), 2.58 (ddd, J= 8.1, 2.7, 1.2 Hz, 1H, CH-CH₂-CH), 2.44-2.37 (m, 1H, CO-CH-CH₂), 2.14 (td, J= 8.1, 3.0 Hz, 1H, CH-CH₂-CH), 2.02-1.95 (m, 1H, CO-CH-CH₂) ppm.

RMN ¹³C.-(75 MHz, CDCl₃): δ 171.0 (CH-C=O), 169.8 (N-C=O), 155.6 (O-COO), 134.8 (C-N-C), 130.5 (C-N-C), 129.6 (CH-C-C), 125.5 (CH-CH-C-N), 124.3 (CH-CH-C-C), 119.2 (CN), 118.4 (CH-C-C), 116.7 (CH-C-N), 115.4 (C-CH₂), 66.4 (CH₂-OCOO), 54.8 (OCOO-CH₃), 52.9 (COO-CH₃), 38.7 (CH-CON), 37.3 (CH-COO), 29.7 (CH-CH₂-CH), 26.7 (CH₂-CH₂-CN), 23.8 (CH₂-CH₂-OCOO), 15.5 (CH₂-CN) ppm.

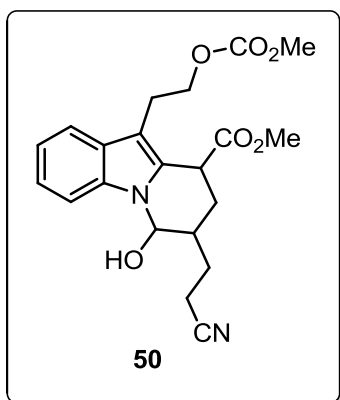
IR.-(película): ν 3017, 2957, 2926, 2854, 2247, 1742, 1675, 1465, 1443, 1386, 1269, 1215, 1172 cm⁻¹.

EM.-(DART): m/z (%) 432 (9) [M+2H₂O], 416 (43) [M+H₂O], 399 (29) [M+1], 398 (11) [M+], 339 (32), 323 (100), 322 (44).



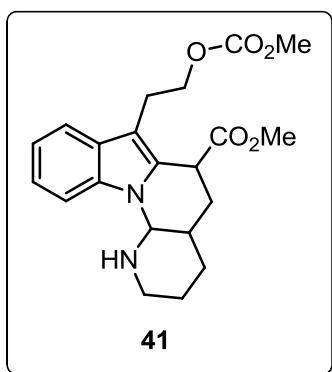
VII.6 **7-(3-Aminopropil)-10-(2-((metoxicarbonil)oxi)etil)-6-oxo-6,7,8,9-tetrahidropirido[1,2-a]indol-9-carboxilato de metilo (39).**- Se disolvieron 0.171 g (0.44 mmol) en 18 mL de metanol y 7 gotas de cloroformo, se adicionaron 0.018 g (0.44 mmol) de óxido de platino. Enseguida se llevó a hidrogenación a la presión de 1 atmósfera y se dejó en agitación durante toda la noche. Finalizado el tiempo de reacción, la mezcla se filtró sobre celita. El filtrado se concentró a presión reducida, obteniendo 0.170 g (0.44 mmol, 99%) de un aceite viscoso color café.

RMN ¹³C.-(75 MHz, CDCl₃): δ 171.5 (CH-C=O), 171.1 (N-C=O), 155.6 (O-COO), 134.7 (C-N-C), 131.0 (N-C-CH), 129.7 (CH-C-C), 125.2 (CH-CH-C-N), 124.1 (CH-CH-C-C), 118.4 (CH-C-C), 116.6 (CH-C-N), 114.9 (C-CH₂), 66.4 (CH₂-OCOO), 54.8 (OCOO-CH₃), 52.8 (COO-CH₃), 39.9 (CH₂-NH₂), 39.3 (CH-CON), 37.2 (CH-COO), 29.1 (CH-CH₂-CH), 26.9 (CH₂-CH₂-NH₂), 24.8 (CH₂-CH₂-CH₂-NH₂), 23.8 (CH₂-CH₂-OCOO) ppm.



VII.7 **7-(2-Cianoetil)-6-hidroxi-10-(2-((metoxicarbonil)oxi)etil)-6,7,8,9-tetrahidropirido[1,2-a]indol-9-carboxilato de metilo (50).**- Se pesaron 0.054g (0.14 mmol) del compuesto **38** y se disolvieron en 3 mL de metanol, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, posteriormente se le adicionaron en intervalos de 15 minutos 4 porciones de 0.016 g (0.42 mmol) de borohidruro de sodio. Al finalizar la última adición se dejó en agitación 15 minutos más, enseguida se eliminó el disolvente y se sometió a una extracción con agua y acetato de etilo. La fase orgánica se concentró a presión reducida, obteniendo 0.052g (0.13 mmol, 96%) de un solo producto por ccf.

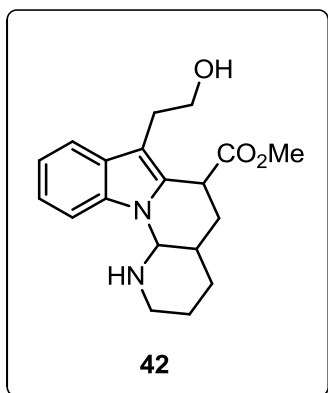
RMN ¹³C.-(75 MHz, CDCl₃): δ 173.2 (CH-C=O), 155.7 (O-COO), 136.0 (C-N-C), 135.3 (N-C-CH), 128.4 (CH-C-C), 122.2 (CH-CH-C-N), 120.8 (CH-CH-C-C), 119.1 (CN), 118.9 (CH-C-C), 111.2 (CH-C-N), 109.2 (C-CH₂), 74.9 (CH-OH), 67.0 (CH₂-OCOO), 54.7 (OCOO-CH₃), 52.6 (COO-CH₃), 37.8 (CH-COH), 35.2 (CH-COO), 28.1 (CH-CH₂-CH), 26.3 (CH₂-CH₂-CN), 23.9 (CH₂-CH₂-OCOO), 15.2 (CH₂-CN) ppm.



VII.8 **7-(2-((Metoxicarbonil)oxi)etil)-1,2,3,4,4a,5,6,12a-octahidroindolo[1,2-a][1,8]naftiridina-6-carboxilato de metilo (41).**- Se disolvieron 0.053 g (0.13 mmol) del compuesto **38** en 2 mL de metanol y 1 mL de diclorometano, la mezcla de reacción se llevó a una temperatura de 0 °C. Posteriormente se adicionaron en intervalos de 15 minutos 4 porciones de 0.016 g (0.42 mmol) de borohidruro de sodio, efectuada la última adición, la mezcla se dejó en agitación durante 15 minutos más y se comprobó que la materia prima se hubiera consumido completamente. Enseguida se añadieron a la mezcla de reacción 0.067 g

(0.28 mmol) de cloruro de níquel hexahidratado y tres porciones de 0.016 g (0.42 mmol) de borohidruro de sodio; en intervalos de 15 minutos entre cada adición. Una vez consumida la materia prima, se adicionó una mezcla de 3 mL de ácido acético y 1 mL de agua, se elevó la temperatura a 40 °C y se agitó durante 20 h. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla se dejó llegar a temperatura ambiente, y entonces el pH se llevó a ≥ 12 con hidróxido de sodio 4 M. Posteriormente, se realizó una extracción con diclorometano; la fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna, obteniéndose 0.016 g (0.04 mmol, 31.2%) de un aceite viscoso color café-rojizo.

RMN ^{13}C .-(75 MHz, CDCl_3): δ 173.3 (CH-C=O), 155.8 (O-COO), 135.2 (C-N-C), 128.9 (N-C-CH), 128.7 (CH-C-C), 121.7 (CH-CH-C-N), 120.0 (CH-CH-C-C), 118.9 (CH-C-C), 108.9 (CH-C-N), 108.1 (C-CH₂), 67.2 (HN-CH-N), 66.6 (CH₂-OCOO), 54.6 (OCOO-CH₃), 52.4 (COO-CH₃), 45.7 (CH₂-NH), 38.2 (CH-COO), 30.3 (NH-CH-CH), 29.3 (CH-CH₂-CH), 24.4 (CH₂-CH₂-O), 24.1 (CH₂-CH₂-CH₂-NH), 20.8 (NH-CH₂-CH₂-CH₂) ppm.



VII.9 7-(2-Hidroxietil)-1,2,3,4,4a,5,6,12a-octahidroindol[1,2-a][1,8]naftiridin-6-carboxilato de metilo (42).- Se disolvieron 0.060 g (0.16 mmol) del compuesto tetracíclico **41** en 5 mL de metanol, la disolución se enfrió a 0 °C y enseguida se adicionaron 0.199 g (1.4 mmol) de carbonato de potasio; la mezcla de reacción se mantuvo en agitación durante 3 horas. Finalizado este tiempo, se eliminó el disolvente en el rotavapor. El residuo se

redisolvió en agua y se extrajo con diclorometano; la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía preparativa, obteniéndose 0.045g (0.14 mmol, 88%) de un sólido ligeramente amarillo.

P. f. 168-170 °C.

RMN ¹H.-(300 MHz, CDCl₃): δ 7.54 (d, J= 4.8 Hz, 1H, CH-C-C), 7.34 (d, J= 4.8 Hz, 1H, CH-C-N), 7.26 (s, 1H, NH), 7.21-7.18 (m, 1H, CH- CH-C-C), 7.12-7.09 (m, 1H, CH-CH-C-N), 5.23 (d, J= 1.8 Hz, 1H, NH-CH-CH), 4.25 (dd, J= 3.9, 1.2 Hz, 1H, C-CH-COO), 3.88-3.78 (m, 2H, CH₂-CH₂-O), 3.67 (s, 3H, CH-COO-CH₃), 3.03-2.86 (m, 2H, C-C-CH₂), 2.81-2.76 (m, 2H, CH₂-NH), 2.73 (dd, J= 8.1, 3.9 Hz, 1H, CH-CH₂-CH), 2.58 (dt, J= 8.1, 2.1 Hz, 1H, NH-CH-CH-CH), 1.95 (dt, J= 8.1, 1.2 Hz, 1H, CH-CH₂-CH), 1.90-1.86 (m, 2H, CH-CH₂-CH₂), 1.26 (s, 2H, NH-CH₂-CH₂) ppm.

RMN ¹³C.-(75 MHz, CDCl₃): δ 173.8 (CH-C=O), 135.3 (C-N-C), 129.4 (C-N-C), 128.9 (CH-C-C), 121.8 (CH-CH-C-N), 120.1 (CH-CH-C-C), 118.9 (CH-C-C), 110.1 (C-CH₂), 109.2 (CH-C-N), 66.4 (HN-CH-N), 62.3 (CH₂-OH), 52.4 (OCO-CH₃), 45.5 (CH₂-NH), 38.4 (CH-COO), 30.1 (NH-CH-CH), 29.7 (CH-CH₂-CH), 29.1 (CH₂-CH₂-O), 27.8 (CH₂-CH₂-CH₂-NH₂), 24.5 (NH-CH₂-CH₂-CH₂) ppm.

EM.-(DART): m/z (%) 657 (18) [2M], 329 (100) [M+], 96 (40).

EM AR.-(DART): calculada para [C₁₉H₂₄N₂O₃ + H] 329.18652; encontrada 329.18624.



VII.10 (4aR,6R,12aS)-7-(2-(((4Z,7Z,10Z,13Z,16Z,19Z)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoiloxi)etil)-1,2,3,4,4a,5,6,12a-octahidroindolo[1,2-a][1,8]naftiridin-6-carboxilato de metilo (43).- Se disolvieron 0.030 g (0.09 mmol) del compuesto tetracíclico **42** en 5.5 mL de cloruro de metileno bajo atmósfera de nitrógeno. Posteriormente, se adicionaron 0.011 g (0.09 mmol) de 4-dimetilaminopiridina, 0.037 g (0.09 mmol) 1,3-diciclohexilcarbodimida y 0.025 g (0.08 mmol) de DHA. La mezcla de reacción se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 3 h. Finalizado el tiempo de reacción, se realizó una dilución con AcOEt y se lavó ácido clorhídrico al 5%, agua y salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se purificó por cromatografía preparativa, obteniéndose 0.028 g (0.04 mmol, 56%) de un aceite viscoso.

EM.- (DART): m/z (%) 640 (20) [M+1], 639 (40) [M+], 283 (15), 225 (100), 96 (30).

EM AR.- (DART): Calculada para [C₄₁H₅₄N₂O₄+H] 639.40836; encontrada 639.41618.