



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

Síntesis del Aminoácido no proteinogénico
L-quinurenina

Tesis

Que para obtener el título de
Químico

Presenta

Ernesto Quintero Rivera



Ciudad Universitaria, CdMx

2016



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: José Manuel Méndez Stivalet

VOCAL: Profesor: Blas Flores Pérez

SECRETARIO: Profesor: José Alfredo Vázquez Martínez

1er. SUPLENTE: Profesor: Juan Gómez Dueñas

2° SUPLENTE: Profesor: Luis Demetrio Miranda Gutiérrez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA, LABORATORIO 207, FACULTAD DE QUÍMICA
UNAM**

ASESOR

Dr. José Alfredo Vázquez Martínez

SUPERVISOR TÉCNICO

Dr. Adrián Sánchez Carrillo

SUSTENTANTE

Ernesto Quintero Rivera

Abreviaturas.

(Ac) ₂ O	Anhídrido acético
9-BBN	9-Borabicyclononano
AcOEt	Acetato de Etilo
AHR	Aril hidrocarburos
ATP	Adenosíntrifosfato
Bn	Bencilo
BOC	<i>t</i> -Butoxicarbonilo
Cbz	Benciloxicarbonilo
CCF	Cromatografía en capa fina
COD	Cliclooctadieno
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
DCU	Diciclohexilurea
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
EMBR	Espectros de masas de baja resolución
Et ₃ N	Trietilamina
EtBr	Bromuro de etilo
EtOH	Etanol
HQN	4-Hidroxiquinolina
IDO	Indolamina-2,3-dioxigenasa
IE	Impacto electrónico
iNOS	Enzima oxinitro sintasa
KN	Quinurenina amarilla
MeCN	Acetonitrilo
MeOH	Metanol
NADH	Dinucleótido de nicotinamina y adenina
NADP ⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
p.e.	Punto de ebullición
p.f.	Punto de fusión
Ph	Fenilo
PLP	Piridoxal fosfato
ppm	Partes por millón
Py	Piridina
RMC	Reacción multicomponente
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono ¹³ C
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
T3P	Anhídrido propilfosfónico
TDO	Triptofan-2,3-dioxigenasa
THF	Tetrahidrofurano

Índice

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	2
2.1 Aminoácidos.....	2
2.2 Aminoácidos proteinogénicos o esenciales.....	4
2.3 Aminoácidos no proteinogénicos.....	5
2.4 Biosíntesis de los aminoácidos.....	6
2.5 Síntesis química de aminoácidos.....	8
2.5.1 Aminación reductiva.....	9
2.5.2 Reacción de Hell-Volhard-Zelinsky (HVZ).....	9
2.5.3 Síntesis de Gabriel y síntesis malónica.....	9
2.5.4 Síntesis de Strecker.....	10
2.6 Reacciones de los aminoácidos.....	11
2.6.1 Grupos protectores.....	11
2.6.2 Esterificación del grupo carboxilo.....	12
2.6.3 Acilación del grupo amino: formación de amidas.....	12
2.6.4 Formación de oxazaborolidinonas.....	13
2.7 Síntesis enantioselectiva de aminoácidos.....	14
2.8 Resolución de aminoácidos.....	14
2.9 Síntesis enantioselectiva de aminoácidos.....	15
2.10 Quinurenina.....	15
2.10.1 Síntesis de quinurenina.....	18
2.11 Reacción fotoquímica <i>aza</i> -Fries.....	22
3. Planteamiento del problema.....	24
4. Objetivos.....	25
5. Resultados y discusión.....	26
5.1 Formación de oxazaborolidinonas.....	26
5.2 Formación de amidas.....	27
5.3 Reacción fotoquímica <i>aza</i> -Fries.....	29
5.4 Grupos protectores.....	32
5.6 Síntesis de <i>homo</i> -L-quinurenina.....	38
5.7 Reacciones fotoquímicas.....	41
6. Conclusiones.....	48

7. Parte experimental.....	49
7.1 Métodos generales	49
7.2 Datos espectroscópicos y equipo.	49
7.3 Procedimientos experimentales y caracterización.....	49
7.3.1 Método general para la formación de oxazaborolidinonas.....	49
7.3.2 Método general para la formación de amidas.	50
7.3.3 Método General para la reacción de transposición <i>aza</i> -Fries.....	53

1. Introducción.

Los aminoácidos juegan un papel imprescindible en la forma de vida tal y como la conocemos. No solo son los componentes estructurales de las proteínas, también desempeñan un papel importante en las diversas rutas metabólicas de los organismos.

La quinurenina es un aminoácido no proteínogénico producto de la degradación del S-triptófano en las células endoteliales y en el hígado. Estudios recientes indican que la quinurenina está involucrada en diversos procesos biológicos y es indispensable para regular la presión sanguínea, ya que cumple con la función de inhibir la actividad de diversos vasodilatadores, como lo es el óxido nítrico.

Las enzimas involucradas en la generación de quinurenina (TDO) en el cerebro humano han demostrado la activación de receptores de aril hidrocarburos (AHR)—relacionados en procesos de embriogénesis e inflamación—las cuales producen tumores cerebrales cuando se encuentran ligados a las enzimas TDO. Hoy en día se continúan estudiando los motivos por los cuales surgen los tumores cerebrales a partir de la activación de los receptores AHR.

En otras aplicaciones, derivados de la L-quinurenina han demostrado poseer propiedades edulcorantes, siendo de 25 a 50 veces más dulces que la sacarosa. Esta propiedad hace de la molécula un potencial aditivo en la industria alimenticia. Interesantemente, derivados de D-quinurenina tienen propiedades opuestas a las de su enantiómero, ya que esta molécula resulta poseer propiedades astringentes, por lo que una limitante para el uso de la quinurenina como edulcorante, es que tendría que usarse en forma enantiopura, y no como mezcla racémica.

Desde su descubrimiento en la primera mitad del siglo XX, se tienen reportadas diversas síntesis orgánicas que permiten la obtención de quinurenina. Sin embargo, en la mayoría de estas metodologías se obtiene la quinurenina como una mezcla racémica, o bien se utilizan procedimientos tediosos para su purificación. El presente trabajo tiene como propósito desarrollar una ruta de síntesis estereoselectiva para la obtención de la L-quinurenina con rendimientos competitivos, comparados con los que se han reportado previamente, mediante el uso de materias primas comerciales y accesibles, utilizando como etapa clave una reacción fotoquímica que involucra una transposición *aza*-Fries.

2. Antecedentes.

2.1 Aminoácidos

Una de las moléculas fundamentales para los seres vivos son los aminoácidos, ya que forman parte de la estructura de los péptidos y proteínas. Como su nombre lo indica, los aminoácidos son compuestos que cuentan con dos grupos funcionales en su estructura; el primero de ellos es un *ácido carboxílico* (-CO₂H) y el segundo es un grupo *amino* (-NH₂), el cual puede estar enlazado a los carbonos α , β , γ o δ (C1, C2, C3 o C4) de la cadena que contiene el grupo carboxilo (**Figura 1**).

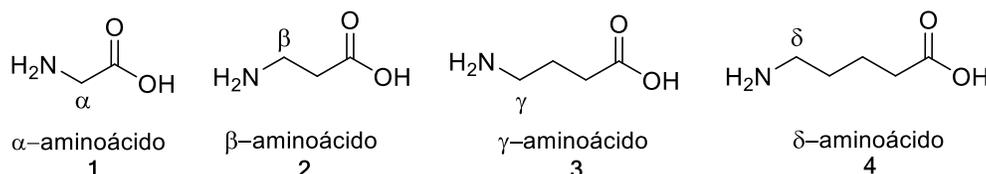


Figura 1: Clasificación de los aminoácidos.

Las proteínas, macromoléculas esenciales para los seres vivos, únicamente están conformadas por α -aminoácidos (**5, 6, Figura 1**). En la mayoría de los α -aminoácidos, a excepción del aminoácido glicina, el átomo de carbono vecino al grupo carboxilo (C- α) cuenta con cuatro sustituyentes diferentes, por lo que se denomina centro estereogénico o carbono quiral. Como consecuencia de la presencia de un centro estereogénico en los α -aminoácidos, los sustituyentes pueden tener dos arreglos espaciales distintos, dando lugar a la existencia de enantiómeros, compuestos que son imágenes especulares entre sí (**Figura 2**).

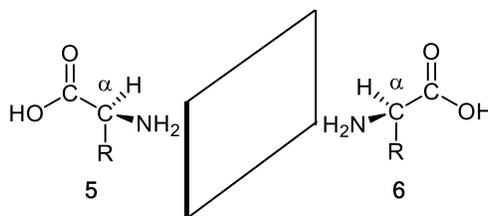


Figura 2: Estructuras enantioméricas de los α -aminoácidos.

En 1848, Louis Pasteur observó que dependiendo de la disposición espacial en la que se encuentran los átomos en torno a un centro estereogénico en un compuesto, éste puede desviar el plano de luz polarizada en un sentido determinado. Si un aminoácido en solución produce una desviación del plano de luz polarizada a la derecha, se le denomina *dextrógiro* (+); mientras que si desvía la luz polarizada hacia la izquierda, se le denomina *levógiro* (-). A la disposición espacial de los sustituyentes alrededor de un centro estereogénico se le conoce como configuración absoluta, y a los compuestos que contienen centros estereogénicos se les conoce como compuestos quirales.

Existen dos nomenclaturas para denotar la estereoquímica de una molécula de aminoácido quiral; la propuesta por Emil Fischer y la propuesta por Cahn, Ingold y Prelog (**Figura 3**). La configuración absoluta es asignada siguiendo las reglas de prioridad propuestas por Cahn Ingold y Prelog. Existe una correlación entre las nomenclaturas L y S y entre D y R. Únicamente los aminoácidos con configuración L o S forman parte de las proteínas, mientras que sus enantiómeros D o R no se encuentran presentes en las proteínas, aunque aparecen distribuidas en la materia viva, como en la pared celular de algunos organismos y en metabolitos aislados de organismos marinos.¹

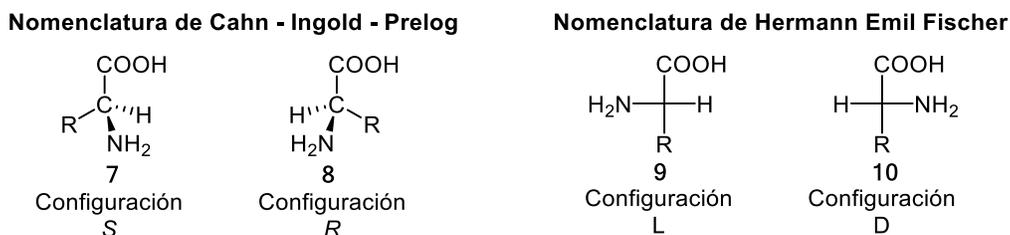
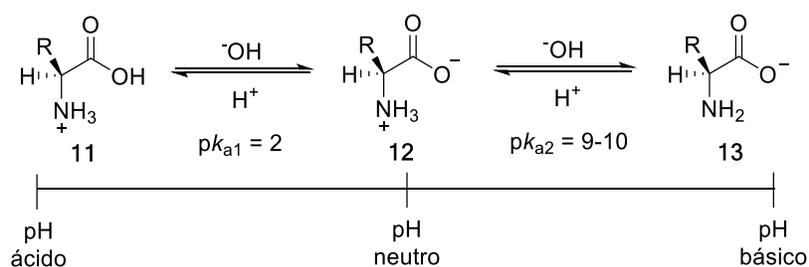


Figura 3: Descriptores estereoquímicos para los α -aminoácidos.

Debido a la presencia de un grupo amino y un grupo carboxilo dentro de la misma molécula, los aminoácidos presentan propiedades ácido-base. Estos compuestos tienen la particularidad de existir como iones dipolo (también llamados Zwitterión) cuando están en solución.

El estado de ionización de un aminoácido varía con el pH (**Figura 4**).² A pH ácido el grupo amino se encuentra protonado ($-NH_3^+$) (**11, Esquema 1**) y el ácido carboxílico no está disociado. A medida que el pH alcanza un intervalo de neutralidad, el aminoácido se encuentra como zwitterion (**12, Esquema 1**). Ese intervalo de pH es conocido como *punto isoeléctrico* (pI) y es característico para cada aminoácido. Cuando el pH se incrementa a valores cercanos a 9, el ácido carboxílico se disocia ($-COO^-$, **13, Esquema 1**).



Esquema 1: Equilibrio ácido – base en un α -aminoácido.

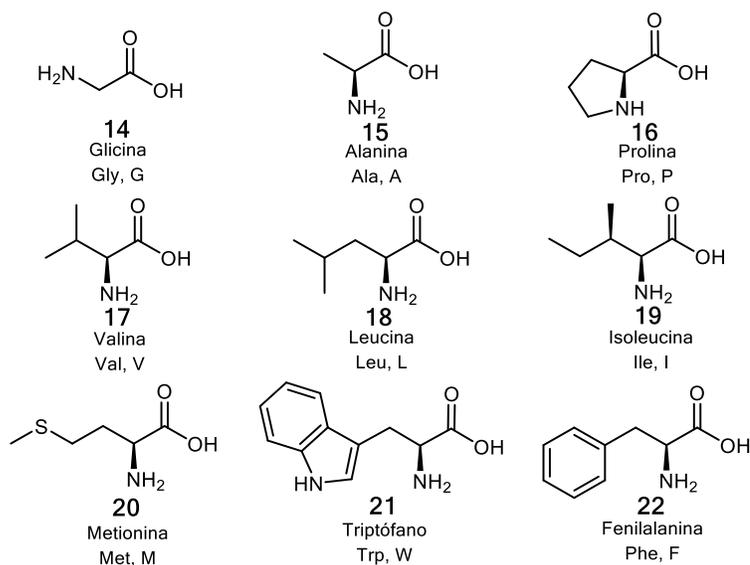
¹ Peña, A. *Bioquímica*, 6ª Ed. Limusa. México. 1998. 65-80 p.

² Wade, L. G. *Química Orgánica*, 5ª Ed. Pearson Prentice Hall. España. 2010. 1114-1158 p.

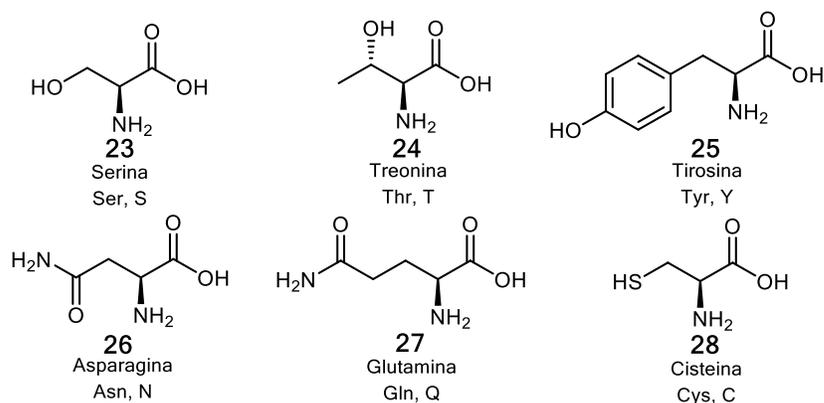
2.2 Aminoácidos proteínogénicos o esenciales.

Existen 23 α -aminoácidos denominados *aminoácidos proteínogénicos*, que se incorporan a la estructura de todas las proteínas durante la etapa conocida como traslación. Los aminoácidos proteínogénicos se diferencian en la estructura de su cadena lateral que está enlazada a los átomos de carbono α (usualmente la cadena lateral se denota por la letra R). Aunque existen muchas formas de clasificar a los aminoácidos proteínogénicos, se pueden dividir en 4 grandes grupos,³ tomando como referencia las propiedades químicas de la cadena lateral:

1. Aminoácidos hidrofóbicos.



2. Aminoácidos polares.

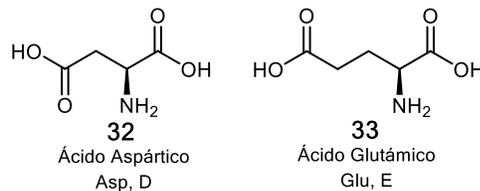


³ Stryer, L.; Berg, J. M.; Tymoczko, J. L. *Bioquímica con aplicaciones clínicas*. 7ª Ed. Reverté. España. 2012. 705-791 p.

3. *Aminoácidos cargados positivamente con grupos R que a pH fisiológico tienen carga positiva.*



4. *Aminoácidos cargados negativamente con grupos R que a pH fisiológicos tienen carga negativa.*



Durante la síntesis de proteínas, los aminoácidos proteínogénicos se unen entre sí a través de un enlace amida, conocido como *enlace peptídico* (**Figura 4**), generando de esta manera biopolímeros llamados péptidos, los cuales dependiendo de su tamaño pueden clasificarse como proteínas.

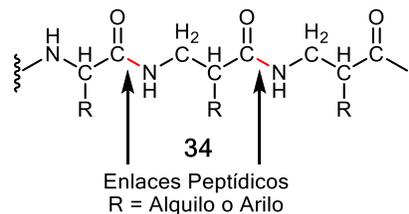


Figura 4: Estructura general de un péptido.

2.3 Aminoácidos no proteínogénicos.

Existen una serie de aminoácidos considerados no esenciales que pueden formar parte de un péptido o proteína. Estas moléculas son generalmente derivados de algún otro aminoácido, es decir, se incorporan a una cadena peptídica como aminoácidos proteínogénicos y posteriormente se modifican químicamente para generar aminoácidos no proteínogénicos. La mayoría de los aminoácidos modificados se han aislado de productos naturales, tejidos, fluidos fisiológicos y microorganismos como hongos y bacterias. Muchos aminoácidos no proteínogénicos son productos finales o intermediarios de rutas metabólicas (también conocidos como *metabolitos*).⁴

⁴ Peña, A. *Bioquímica*, 6ª Ed. Limusa. México. 1998. 303-328 p.

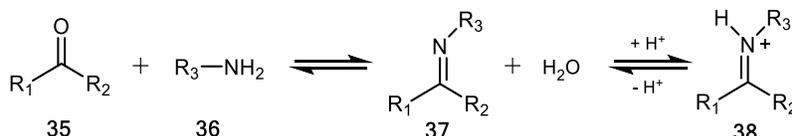
2.4 Biosíntesis de los aminoácidos.

La biosíntesis de los aminoácidos está íntimamente relacionada con la nutrición, porque muchos organismos superiores han perdido la capacidad para sintetizar algunos aminoácidos y por tanto, deben obtener de sus dietas las cantidades adecuadas de estos aminoácidos esenciales. Sin embargo, existen organismos como las plantas y microorganismos autótrofos que poseen enzimas que se encargan de la generación de aminoácidos esenciales.

Por otro lado, el nitrógeno es un componente esencial para la generación de aminoácidos. La atmósfera terrestre presenta un alto contenido de nitrógeno; desafortunadamente, un alto porcentaje se encuentra en forma de nitrógeno molecular o dinitrógeno (N_2), una molécula sumamente inerte. Esto hace de la disposición de nitrógeno, para la formación de aminoácidos, un problema para los entes biológicos. Ciertos microorganismos han resuelto este impedimento al ser capaces de reducir la molécula de nitrógeno $N\equiv N$ a dos moléculas de amoníaco (NH_3) en un proceso conocido como *fijación del nitrógeno*.

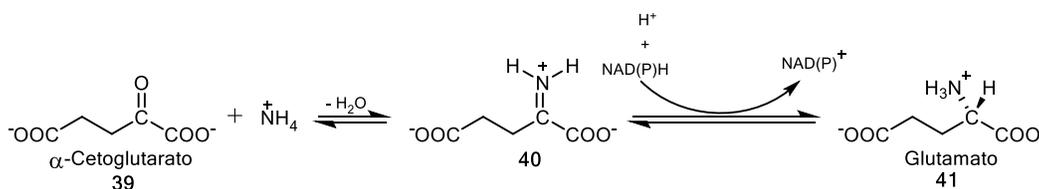
La fuente de nitrógeno para todos los aminoácidos es la molécula de amoníaco (NH_3), mientras que los compuestos carbonados proceden de la vía glicolítica de las pentosas fosfato o del ciclo del ácido cítrico.

El ion amonio se incorpora a los aminoácidos por medio de la glutamina y glutamato. Este último se sintetiza a partir de $-NH_4^+$ y α -cetoglutarato (un intermediario del ciclo del ácido cítrico), mediante la actividad de la *glutamato deshidrogenasa*. La reacción tiene lugar en dos etapas. En la primera parte se forma una base de Schiff **37** entre el aminoácido **36** y el α -cetoglutarato **35**, generando un intermediario que aparece en muchas de las etapas de biosíntesis y degradación de aminoácidos (**Esquema 2**).



Esquema 2: Formación general de una base de Schiff.

En la segunda etapa, la base de Schiff protonada se reduce mediante la transferencia de un ion hidruro procedente del NADPH y se forma glutamato (**41**, **Esquema 3**).

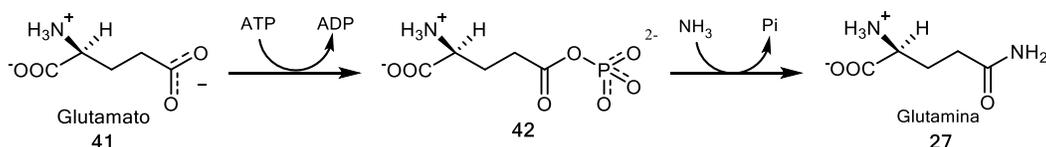


Esquema 3: Ruta bioquímica para la síntesis de *Glutamato*.

La reacción anterior es fundamental, ya que determina la estereoquímica del átomo de carbono- α presente en el glutamato (configuración absoluta S). La estereoquímica del

carbono también puede quedar determinada mediante reacciones de *transaminación* en las que participa el piridoxal fosfato (PLP).

Un segundo ion amonio se incorpora al glutamato para formar glutamina (**27**), reacción que es catalizada por la enzima *glutamina sintetasa*. Esta aminación está dirigida por la hidrólisis del ATP, este último interviene fosforilando la cadena lateral del glutamato (**42**), formando un intermediario acilfosfato, el cual forma glutamina (**27**, **Esquema 4**) al estar en presencia de amoníaco.



Esquema 4: Ruta bioquímica para la síntesis de *Glutamina*.

La biosíntesis de los aminoácidos comienza con la obtención de nitrógeno, ya sea por parte del glutamato o por parte de la glutamina. Existe una variedad de rutas bioquímicas que explican la generación de aminoácidos (**Figura 5**).⁵ Sin embargo, todas cuentan con la característica de adquirir su esqueleto carbonado de intermediarios de la glucólisis, de la vía de las pentosas fosfato o del ciclo del ácido cítrico. Las familias biosintéticas generan aminoácidos a partir de precursores adecuados, los cuales aparecen en color azul en la **Figura 5**. Los aminoácidos que dan lugar a otros aminoácidos aparecen en color rojo y los aminoácidos esenciales están en color morado.

⁵ Stryer, L.; Berg, J. M.; Tymoczko, J. L. *Bioquímica con aplicaciones clínicas*. 7^a Ed. Reverté. España. 2012. 710-711 p.

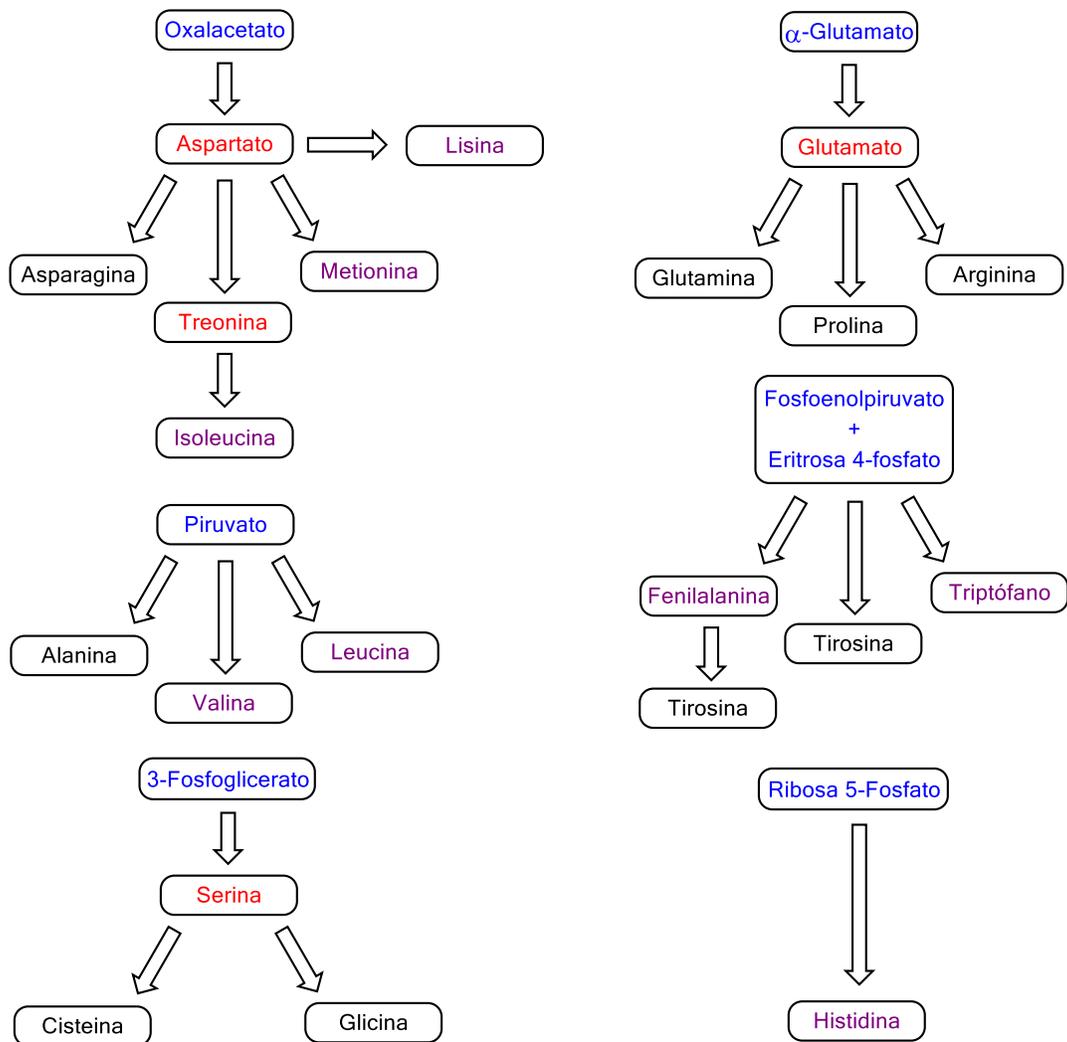


Figura 5: Familias biosintéticas de aminoácidos en bacterias y plantas.

El cuerpo humano puede sintetizar aproximadamente la mitad de los aminoácidos que forman las proteínas; los demás aminoácidos esenciales los adquiere de la degradación de los alimentos durante la nutrición.

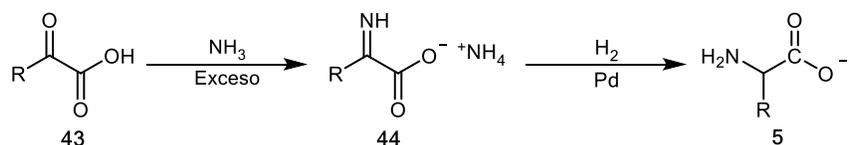
2.5 Síntesis química de aminoácidos.

Los aminoácidos esenciales son de gran importancia en síntesis orgánica ya que pueden ser utilizados como bloques de construcción en la síntesis de moléculas estructuralmente más complejas como péptidos o aminoácidos no proteinogénicos que posean actividad biológica.

Los aminoácidos esenciales se pueden obtener mediante la hidrólisis de las proteínas y separando las mezclas de aminoácidos. Sin embargo, la síntesis química resulta ser un método más eficiente para obtenerlos en mayor cantidad y con un mayor grado de pureza.

2.5.1 Aminación reductiva.

Esta transformación es una de las metodologías más eficientes para la síntesis de aminoácidos y aminas en general. Se parte de un α -cetoácido **43**, el cual al tratarse con amoníaco genera una imina **44**, que al ser reducida con hidrógeno en presencia de un catalizador (e.g. paladio) conduce al α -aminoácido (**Esquema 5**).² Bajo estas condiciones el ácido carboxílico no se ve afectado.

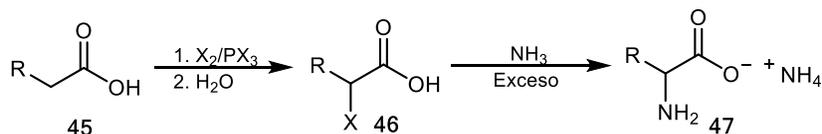


Esquema 5: Aminación reductiva de α -cetoácidos.

La síntesis se realiza en un solo paso, dando como producto principal un α -aminoácido racémico. Esta reacción emula la manera en que se biosintetizan los aminoácidos, proceso conocido como ruta *biomimética* (imitación de procesos biológicos).

2.5.2 Reacción de Hell-Volhard-Zelinsky (HVZ).

Desarrollada por el científico alemán Carl Magnus Von Hell y tiempo después modificada por Jacob Volhard y Nikolay Zelinsky. Esta reacción parte de un ácido carboxílico **45** en presencia de un halógeno (a excepción de F_2) y PX_3 como catalizador (donde X puede ser Cl, Br o I), en cantidades por debajo de un equivalente (**Esquema 6**).² La principal desventaja de esta reacción son las condiciones drásticas en las que se deben de realizar. El producto de reacción de HVZ es el compuesto α -halogenado **46**, el cual se convierte en un α -aminoácido racémico por aminación directa usando un exceso de amoníaco. Esta metodología produce buenos resultados; sin embargo, en cadenas alquílicas largas puede darse la polihalogenación.



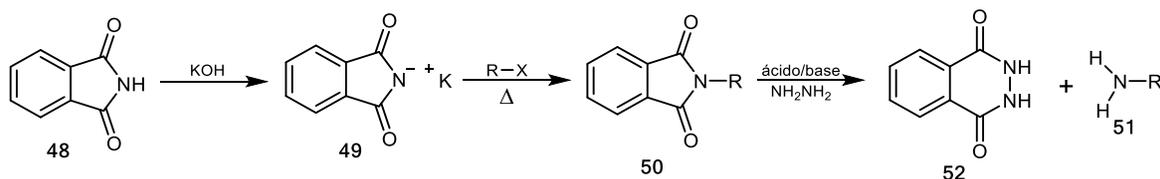
Esquema 6: Reacción de Hell-Volhard-Zelinsky (HVZ).

2.5.3 Síntesis de Gabriel y síntesis malónica.

Propuesta en el año de 1884, y generalizada en el año de 1887 por el químico alemán Sigmund Gabriel, para la preparación de aminas primarias en dos pasos (**Esquema 7**).⁶ La reacción general parte de ftalamida (**48**), la cual es tratada con una base, usualmente

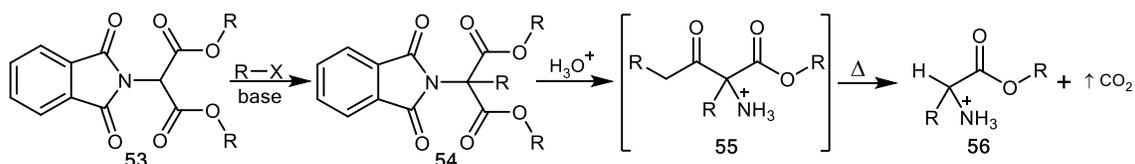
⁶Kurti, L.; Czako, B. *Strategic applications of named reactions in organic synthesis*. 1^{er} Ed. Elsevier. USA. 2005. 182-183 p.

KOH, dando lugar la ftalamida de potasio (**49**). Este último compuesto, en presencia de un haluro de alquilo, genera la correspondiente *N*-alquilftalamida **50**. La reacción puede llevarse a cabo en un rango de temperatura que va de los 120 a los 240 °C (únicamente cuando no se usa disolvente) y condiciones menos severas con altos rendimientos si se utilizan disolventes como dimetilsulfóxido (DMSO), clorobenceno, acetonitrilo o etilenglicol. El tratamiento de la *N*-alquilftalamida con ácidos fuertes (H₂SO₄, HBr o HI) e hidrazina, proporciona una amina primaria (**51**) y como subproducto la ftalinhidrazina (**52**).



Esquema 7: Esquema general de la Síntesis de Gabriel.

Una de las metodologías más utilizadas para la obtención de aminoácidos, resulta de la combinación de la síntesis de Gabriel y la síntesis malónica (**Esquema 8**).² El reactivo de partida para esta síntesis es un éster del *N*-ftalimidomalónico **53**, previamente formado por la reacción de ftalamida y un α -halo ácido, y donde ambos ácidos se encuentran esterificados para proteger la funcionalidad del carboxilo. El éster *N*-ftalimidomalónico **54** se alquila en presencia de una base y un haluro de alquilo (R-X). Posteriormente, el éster *N*-ftalimidomalónico se hidroliza bajo condiciones ácidas, generando el ácido aminomalónico alquilado (**55**), que al ser calentado se descarboxila dando lugar a un α -aminoácido racémico (**56**).



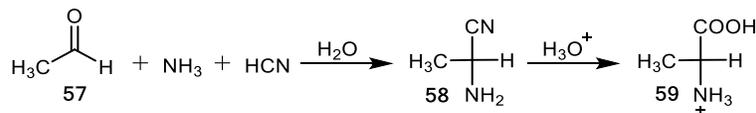
Esquema 8: Esquema general de síntesis de Gabriel y síntesis malónica para la formación de un α -aminoácido.

2.5.4 Síntesis de Strecker.

En el año de 1850, el científico alemán Adolph Strecker añadió el aldehído **57** a una solución acuosa de amoníaco y HCN (**Esquema 9**).² El producto obtenido fue el α -amino propionitrilo **58**, el cual al ser hidrolizado proporcionó la alanina racémica (**59**). Este descubrimiento constituyó la primera preparación de un α -aminoácido en un laboratorio y es además un ejemplo de una reacción multicomponente (RMC).

Mediante la síntesis de Strecker se puede obtener una gran variedad de aminoácidos a partir de los aldehídos apropiados. Este método cuenta con la ventaja de ser una reacción en un solo paso (procedimiento one pot). Desafortunadamente, el HCN es un compuesto

altamente tóxico, por lo que se pueden usar como alternativas soluciones acuosas del ion cianuro en presencia de un ácido prótico (KCN o NaCN + H₃O⁺).



Esquema 9: Esquema general para la Síntesis de Strecker de α -aminoácidos.

2.6 Reacciones de los aminoácidos.

Los α -aminoácidos experimentan muchas de las reacciones características tanto de ácidos carboxílicos como de aminas; sin embargo, las condiciones para hacer reaccionar cualquiera de estos dos grupos funcionales deben de ser muy específicas con la finalidad de que reaccione uno de los grupos de manera selectiva, esto se consigue utilizando grupos protectores que inhiben la reactividad ya sea de la amina o del ácido carboxílico.

2.6.1 Grupos protectores.

La implementación de grupos protectores es una estrategia sintética que tiene como objetivo inhibir la reactividad de un grupo funcional en específico, sin importar que se tengan presentes dos o más grupos funcionales en una misma molécula (como es el caso de los α -aminoácidos), los cuales puedan experimentar reacciones colaterales.

De manera general, la incorporación de grupos protectores sigue la siguiente secuencia:

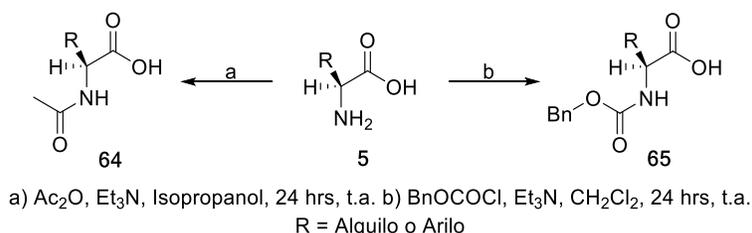
1. Inhibir la reactividad los grupos funcionales deseados.
2. Efectuar la reacción sobre el grupo funcional libre.
3. Remover los grupos protectores.

Las reacciones de protección se caracterizan por ser quimioselectivas. Las características que deben de tener los grupos protectores son las siguientes:

1. Se deben acoplar al sistema polifuncional de manera quimioselectiva.
2. Deben ser estables a las condiciones de reacción a las que se va a someter el grupo funcional libre.
3. Se deben eliminar de manera quimioselectiva. A los grupos protectores que cumplen con esta característica, se les conoce como grupos protectores ortogonales.

Existe una amplia gama de grupos protectores que pueden ser utilizados bajo diferentes condiciones de reacción. Generalmente el grupo ácido de un α -aminoácido se protege mediante reacciones de esterificación, mientras que el grupo amino se protege mediante la formación de amidas o de carbamatos. Adicionalmente, existen algunos procedimientos que permiten introducir grupos protectores que inhiben la reactividad tanto del grupo

Es común proteger el grupo amino con un grupo acilo (como en **64**), con la finalidad de evitar reacciones nucleofílicas no deseadas. Los grupos protectores más utilizados para proteger aminas son los carbamatos (**65**) y los grupos acilo (**64**) **Esquema 12**. La desprotección de las amidas **64** o de los carbamatos **65** varía de acuerdo al grupo protector presente en la molécula.



Esquema 12: Protección del grupo α -amino.

2.6.4 Formación de oxazaborolidinonas.

Los α -aminoácidos esenciales son moléculas bifuncionales y algunos cuentan con un tercer grupo funcional. Particularmente para aminoácidos con un grupo funcional reactivo en su cadena lateral, como el ácido aspártico o el ácido glutámico, se prefiere llevar a cabo reacciones de protección que inhiban la reactividad del grupo carboxilo y el grupo α -amino, dejando a disposición los grupos reactivos de la cadena lateral.

Para alcanzar este objetivo, se ha reportado la formación de complejos de cobre. Sin embargo, para la desprotección de los α -aminoácidos se requieren condiciones drásticas como el uso de H_2S ,⁸ lo que hace que la metodología sea poco atractiva.

Una alternativa para llevar a cabo una transformación similar, consiste en el uso de compuestos de boro, que dan lugar a la formación de oxazaborolidinonas **67** (**Esquema 13**). En trabajos recientes se ha reportado el uso de 9-borabicyclo(3.3.1)nonano (**66**) como grupo protector,⁹ el cual es fácilmente removible bajo condiciones ácidas.

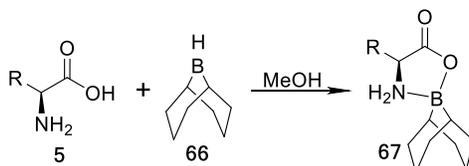


Figura 13: Esquema general para la formación de oxazaborolidinonas.

⁸ Bodanszky, M.; Bodanszky, A. *The Practice of Peptide Synthesis*. 2^a Ed. Springer-Verlag. Berlín. **1994**. 151-177 p.

⁹ Sánchez, A.; Calderón, E; Vázquez A. *Synthesis*, **2013**, *45*, 1364-1372.

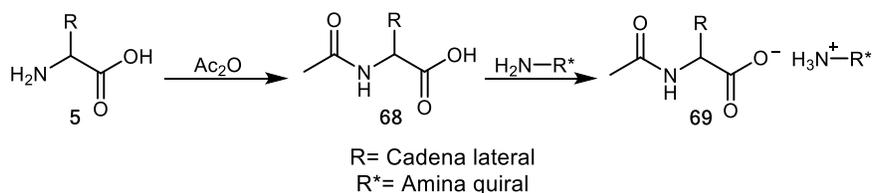
2.7 Síntesis enantioselectiva de aminoácidos.

Las rutas sintéticas para la obtención de α -aminoácidos descritas en la literatura, parten de precursores aquirales, produciendo una mezcla racémica (una mezcla equimolar de enantiómeros *R* y *S*). Esto representa una problemática si se busca sintetizar péptidos con actividad biológica que tengan solamente aminoácidos con configuración absoluta *S*.

En la práctica, se emplean dos métodos para obtener aminoácidos enantioméricamente puros. El primero consiste en separar la mezcla racémica, proceso que se conoce como *resolución*, mientras que el segundo de ellos consiste en realizar una síntesis *estereoselectiva* (enantioselectiva) para obtener predominantemente el enantiómero deseado.

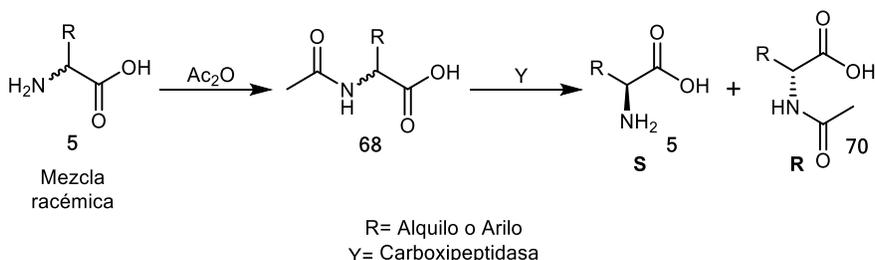
2.8 Resolución de aminoácidos.

La resolución de un aminoácido se puede hacer acilando al grupo amino, para posteriormente formar una sal entre el ácido libre y una amina quirale. Debido a que se forman dos sales diastereoméricas **69** (**Esquema 14**) con propiedades fisicoquímicas diferentes, éstas se pueden separar por cristalización para luego regenerar el aminoácido libre mediante una reacción de hidrólisis.



Esquema 14: Resolución de aminoácidos utilizando una amina quirale.

Por otro lado, es posible usar un método enzimático de resolución. Se ha reportado el uso de varias enzimas que catalizan reacciones de manera selectiva, es decir sólo actúan sobre uno de los enantiómeros dejando al otro intacto (**Esquema 15**). De esta manera, se puede resolver una mezcla racémica de un α -aminoácido (**5**) formando un derivado *N*-acetilado. Posteriormente, se efectúa la hidrólisis enzimática de solamente uno de los dos enantiómeros, lo cual permite la separación del aminoácido que no reaccionó.



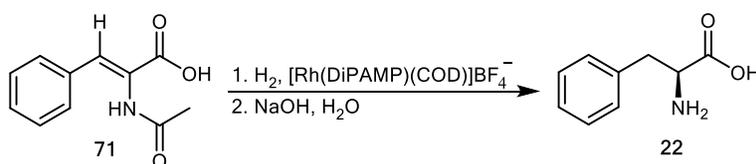
Esquema 15: Uso de enzimas para la resolución de aminoácidos.

La resolución de una mezcla racémica tiene como desventaja que el rendimiento máximo de un aminoácido puro es del 50%, ya que el otro 50% corresponde al enantiómero no deseado.

2.9 Síntesis enantioselectiva de aminoácidos.

Una de las alternativas para evitar el proceso tedioso de la resolución de una mezcla racémica, radica en la síntesis estereoselectiva que permita obtener únicamente el enantiómero deseado. Si bien existen varias opciones para alcanzar este objetivo, una de las alternativas más utilizadas consiste en emplear un catalizador quiral para llevar a cabo reacciones de hidrogenación estereoselectivas de aminoácidos α , β -insaturados.

Un ejemplo de reacción enantioselectiva es el reportado por William Knowles, quien descubrió que los α -aminoácidos pueden prepararse estereoselectivamente mediante la hidrogenación del ácido Z-enamido **71**, (**Esquema 16**) con un catalizador de rodio quiral generando S-fenilalanina (**22**).



Esquema 16: Síntesis enantioselectiva de S-fenilalanina.

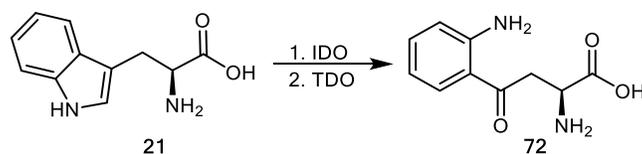
Uno de los catalizadores más efectivos para la síntesis enantioselectiva de los α -aminoácidos, es el complejo de coordinación de rodio (**I**) con ciclooctadieno (COD) y una difosfina quiral.¹⁰

2.10 Quinurenina.

La quinurenina (**72**) es el principal metabolito resultante de la transformación del aminoácido S-triptófano (**21**). Su producción reside principalmente en las células endoteliales, hígado y sistema nervioso. Los principales efectos de la quinurenina son antiinflamatorios en el sistema circulatorio y antitumorales en el sistema nervioso.

El aminoácido S-triptófano es metabolizado a quinurenina (**Esquema 17**), mediante la enzima triptofan-2,3-dioxigenasa (TDO), presente en el hígado, y la enzima indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), secretada por las células endoteliales.

¹⁰ McMurry, J. *Química Orgánica*. 6^a Ed. Thomson. México. 2004. 1045-1071 p.



Esquema 17: Síntesis enzimática de quinurenina a partir de S-triptófano.

Estudios recientes han revelado que las células endoteliales¹¹ sintetizan compuestos con propiedades vasodilatadoras como óxido nítrico (generado por la degradación de S-arginina proceso catalizado por la enzima óxido nítrico sintasa iNOS), prostaciclina, peróxido de hidrógeno, monóxido de carbono y ácido epoxy eicosatrienoico.

Estos vasodilatadores tienen un papel indispensable en el sistema circulatorio, ya que son responsables de incrementar la presión sanguínea. La sustancia encargada de contrarrestar los efectos de los vasodilatadores es la enzima IDO, la cual propicia la formación de quinurenina, relajando los vasos sanguíneos y disminuyendo la presión arterial, llevando al sistema a un punto de homeóstasis.¹² Desafortunadamente, hoy en día se desconocen las rutas metabólicas que promueven un equilibrio en la producción de iNOS e IDO.

A nivel cerebral, se ha encontrado que la activación de receptores de aril hidrocarburos (AHR), involucrados en procesos de embriogénesis e inflamación, producen tumores cerebrales cuando se encuentran ligados a la enzima TDO. La unión del ligante AHR y TDO, suprime la formación de quinurenina en el cerebro, propiciando el crecimiento de tumores cerebrales o células glioma malignas, padecimientos de los cuales se tiene pocas probabilidades de sobrevivir.¹³

Hoy en día, continúan siendo desconocidas las condiciones bajo las cuales se suscitan las conexiones entre AHR y TDO. No obstante, se sabe que la unión de estos dos compuestos se encuentra presente en la mayoría de los padecimientos de cáncer en el cerebro.¹²

En los últimos años, se ha reportado la presencia de quinurenina, glucósido 3-hidroxiquinurenina y ácido glucósido 4-(2-amino-3-hidroxifenil)-4-oxobutanoico en los ojos humanos. Estas moléculas son de bajo peso molecular y tienen la capacidad de absorber luz UV entre 300 a 400 nm.

¹¹ Las células endoteliales forman un recubrimiento en las paredes del sistema circulatorio y se encargan principalmente de:

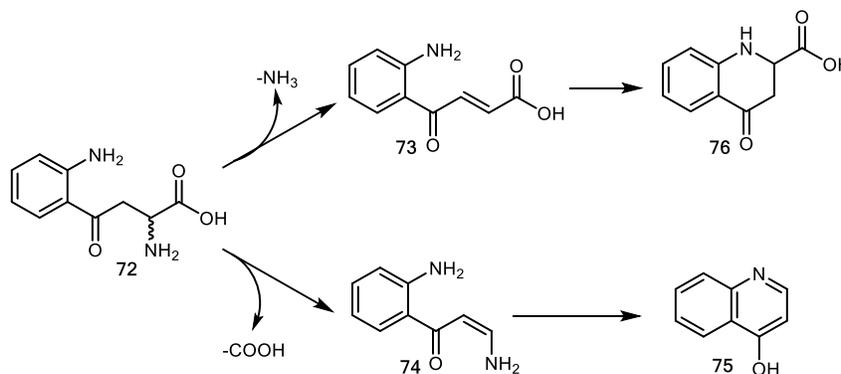
- Formar una capa lisa que facilita el flujo de la sangre, previniendo la adición a los vasos sanguíneos.
- Regula el transporte de nutrientes en el plasma.
- Regulan el proceso de angiogénesis.
- Contribuyen a la respuesta del sistema inmune.
- Producen sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, que regulan la presión sanguínea.

¹² Wang, Y.; Liu, H.; McKenzie, G.; Witting, P. K.; Stasch, J. P.; Hahn, M.; Wu, B. J.; Ball, H. J.; Thomas, S.P.; Kapoor, V.; Jugold, M. *Nature Medicine*. **2010**, *16*, 279–285.

¹³ Opitz, C. A.; Litznerberger, U. M.; Sahm, F. *Nature*. **2011**, *478*, 197-203.

Este tipo de compuestos proporcionan un filtro ante la luz ultravioleta en la retina humana, y también están involucrados en el mejoramiento de la agudeza visual. Estudios recientes proponen que estas moléculas pueden estar involucradas en el desarrollo de cataratas.

Se ha logrado observar que la quinurenina (**72**) es relativamente inerte ante la radiación ultravioleta. Sin embargo, la quinurenina puede foto-reducirse en presencia de otros compuestos como proteínas y antioxidantes (como la NADH) con la intervención de oxígeno dando lugar a dos posibles heterociclos (**Esquema 18**):¹⁴ la 4-hidroxiquinolina (**76**, HQN) y la denominada quinurenina amarilla (**77**, KN amarilla).¹⁵



Esquema 18: Derivados de L-quinurenina identificados en la retina humana.

Tanto la KN amarilla como la HQN, se encuentran asociadas al desarrollo de cataratas, es por ello que se busca detener la degradación de la quinurenina en la retina humana, impidiendo su ciclación para evitar la formación de las moléculas **75** y **76**.

Por otro lado, derivados de la L-quinurenina (**77**, **78**, **Figura 6**)¹⁶ han demostrado ser de 25 a 50 veces más dulces que la sacarosa, haciendo de este compuesto un buen candidato para ser usado como agente edulcorante. Sin embargo, derivados de D-quinurenina resultan tener propiedades astringentes.

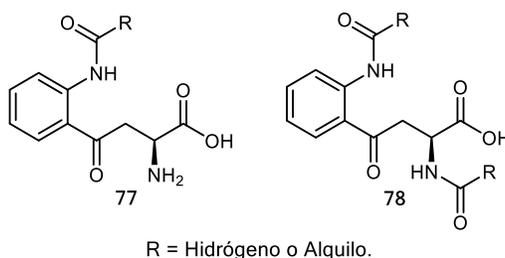


Figura 6: Derivados de L-quinurenina con actividad edulcorante.

¹⁴ Tsentlovich, Y. P.; Snytnikova, O. A.; Forbes, M. D. E.; Chernyak, E. I.; Morozov, S. V. *Exp. Eye Res.*, **2006**, *83*, 1439–1445.

¹⁵ Tokuyama, T.; Senoh, S.; Sakan, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 1017-1021.

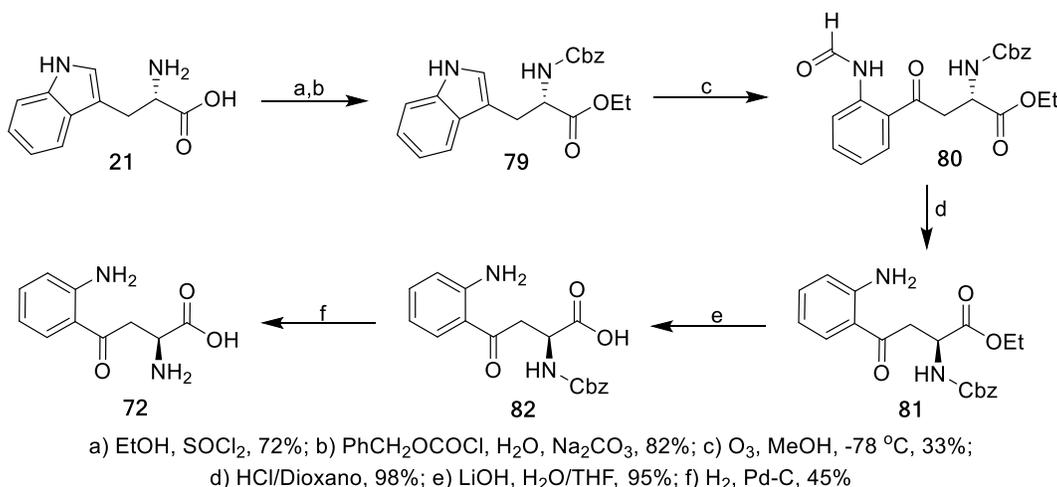
¹⁶ Finley, J. W.; Creek, W. *Kinurenine Derivatives as Sweetening*. USA. Pat. US3702255, **1972**.

2.10.1 Síntesis de quinurenina.

Debido a sus propiedades bioquímicas, y a su potencial aplicación en la industria alimenticia, se han reportado diversas rutas sintéticas para la L-quinurenina. Sin embargo, la mayor parte de ellas tienen como problemática producir mezclas racémicas.

Síntesis de quinurenina por ozonólisis.

La metodología desarrollada por Ockenden y Schofiel¹⁷ en el año de 1949 fue la primera en ser reportada (**Esquema 19**). La síntesis emula la generación de quinurenina a partir del S-triptófano (**21**). Inicialmente, el grupo carboxilo del S-triptófano es protegido como su éster metílico y el grupo amino como un carbamato (**79**). El paso determinante de esta ruta sintética es la apertura del anillo de pirrol mediante su oxidación con ozono (con la desventaja de generar como subproductos peróxidos). Posteriormente, se remueve el grupo *N*-formilo presente en **80** mediante una digestión ácida y el derivado de ácido se libera mediante la hidrólisis del éster etílico. Por último, se desprotege la α -amina, con una hidrogenación. El rendimiento global de la síntesis es del 8%.



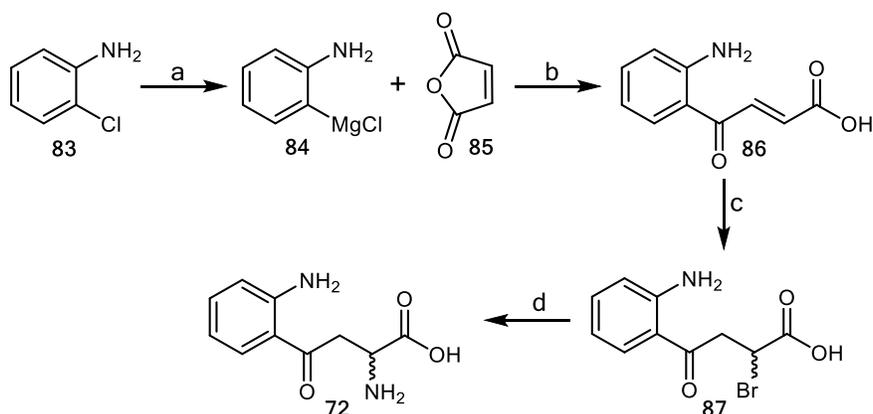
Esquema 19: Obtención de quinurenina a través de reacción de ozonólisis de S-triptófano.

Síntesis de quinurenina utilizando reactivos de Grignard.

Esta metodología reportada en el año de 1972 (**Esquema 20**)¹⁵ parte de la *orto*-cloroanilina (**83**), la cual en presencia de magnesio y bromo-etano forma el intermediario **84**. Este intermediario promueve la apertura del anhídrido maleico (**85**), dando lugar a la

¹⁷ Ockenden, D. W.; Schofiel, K. *Annalen*, **1949**, 612-618.

formación de la molécula **86**. La ligadura doble presente en la estructura **86** es halogenada empleando una disolución al 4% de HBr para producir el compuesto **87**. Por último, el halógeno en el C- α es sustituido por un grupo amino al agregar altas concentraciones de NH₄OH. Esta síntesis procede con altos rendimientos; sin embargo, la obtención de una mezcla racémica impone limitaciones a la metodología.



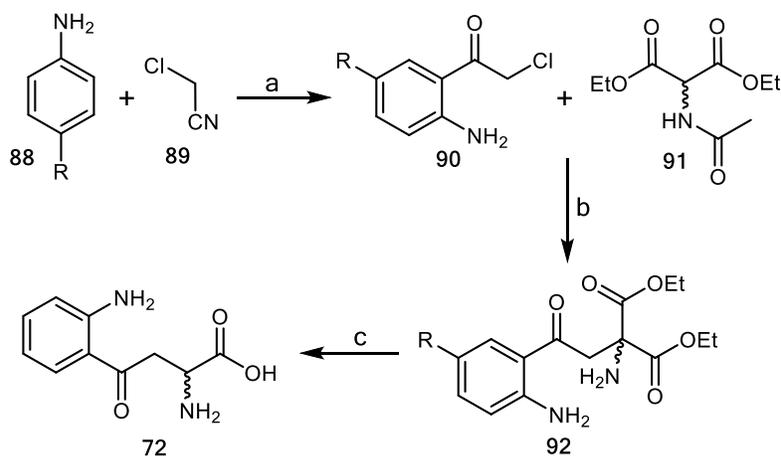
a) EtBr, Mg, THF; b) THF, 70°C, 30 min; c) Solución 4% HBr; d) NH₄OH.
Rendimiento Global 49%

Esquema 20: Obtención de quinurenina a través de reactivo de Grignard.

Síntesis de quinurenina a partir de anilina.

Patentada en el año de 1998 por el equipo de trabajo de Robert Schwarcz¹⁸ (**Esquema 21**), esta metodología genera la molécula de quinurenina partiendo de anilina substituida en la posición *para* (**88**). La anilina *para*-substituida se hace reaccionar con cloro acetonitrilo (**89**), induciendo la *orto* substitución del grupo carboxilo para formar **90**. El compuesto **90** se acopla con el carbono α del dietil acetamidomalonato (**91**) para formar el compuesto **92**. Por último, una digestión ácida da como resultado la mezcla racémica de la molécula de quinurenina (**72**).

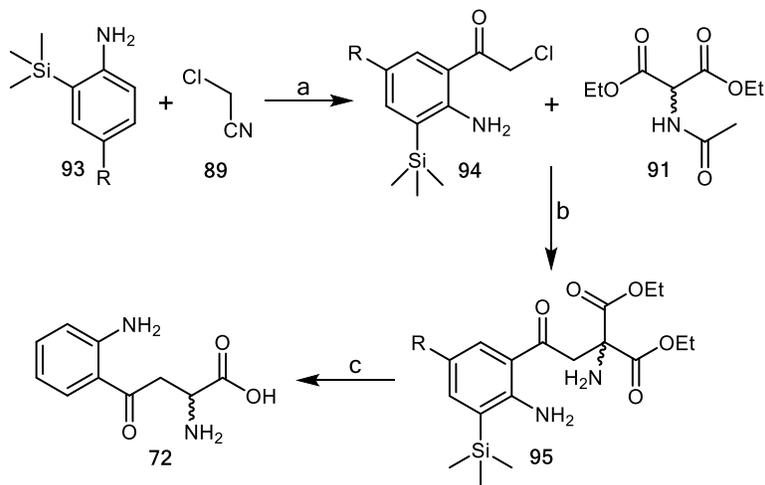
¹⁸ Schwarcz, R.; Varasi, M.; Torre, D. *Substituted kynurenines and process for their preparation*. USA. Pat. US5786508, 1998.



a) $\text{BCl}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, AlCl_3 , Benceno, 20 hrs; b) EtOH, 40°C , 4 hrs; c) HCl, 80°C , 7 hrs;
 R = Halógeno, Alquilo, o Fenilo.

Esquema 21: Obtención de quinurenina a través de anilina *para* sustituida utilizando acetamidomalonato de etilo.

La desventaja más evidente en esta metodología es la doble sustitución en la posición *orto* de la anilina (**88**). Una variante sintética (**Esquema 22**),¹⁶ igualmente propuesta por el equipo de Robert Schwarcz, parte de la anilina sustituida en la posición *orto* con trimetilsilano **93**. Posteriormente sigue la misma metodología planteada en el **Esquema 21**, con el único beneficio de evitar la disustitución de las posiciones *orto*.

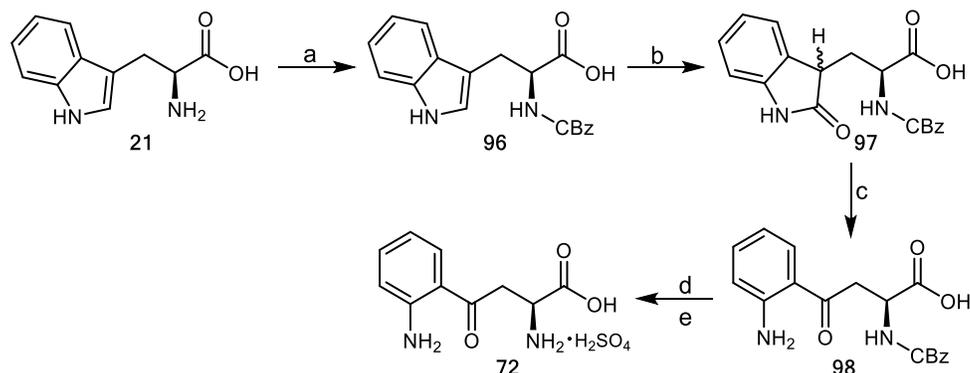


a) $\text{BCl}_3/\text{CH}_2\text{Cl}_2$, AlCl_3 , Benceno, 20 hrs; b) EtOH, 40°C , 4 hrs; c) HCl, 80°C , 7 hrs;
 R = Halógeno, Alquilo, o Fenilo.

Esquema 22: Esquema para la obtención de quinurenina, a través de anilina *orto-para* sustituida.

Síntesis estereoselectivas.

Uno de los métodos de síntesis estereoselectivo para obtener la L-quinurenina fue reportado en el 2012 por Kleijin y colaboradores (**Esquema 23**).¹⁹ Este equipo de trabajo partió del S-triptófano (**21**) protegiendo su grupo amino mediante la formación de un carbamato (**96**). Posteriormente, el compuesto fue oxidado mediante una mezcla de DMSO/HCl (**97**). La apertura del heterociclo (**98**) se realizó usando aire con buenos rendimientos, y sin reacciones que conlleven a la epimerización del carbono estereogénico. El compuesto se purificó fácilmente por cromatografía en columna y por último se desprotegió el grupo amida mediante una hidrogenación.



a) CbzCl, 1 M NaOH, H₂O, 99%; b) DMSO, HCl, AcOH, 62%; c) Aire, 1 M NaOH, H₂O, 52%; d) H₂, 10% Pd/C, 1,4-dioxano/ac. HCl; e) H₂SO₄, Recristalización en EtOH a H₂O, 65%.

Esquema 23: Obtención de quinurenina reportada por Kleijin y colaboradores.

Reacción de transaminación de la quinurenina.

La mayoría de las rutas sintéticas para la obtención de quinurenina, previamente mencionadas presentan la desventaja de obtener la mezcla racémica. Como alternativa, se han reportado una serie de metodologías para la resolución de la mezcla racémica de la quinurenina.

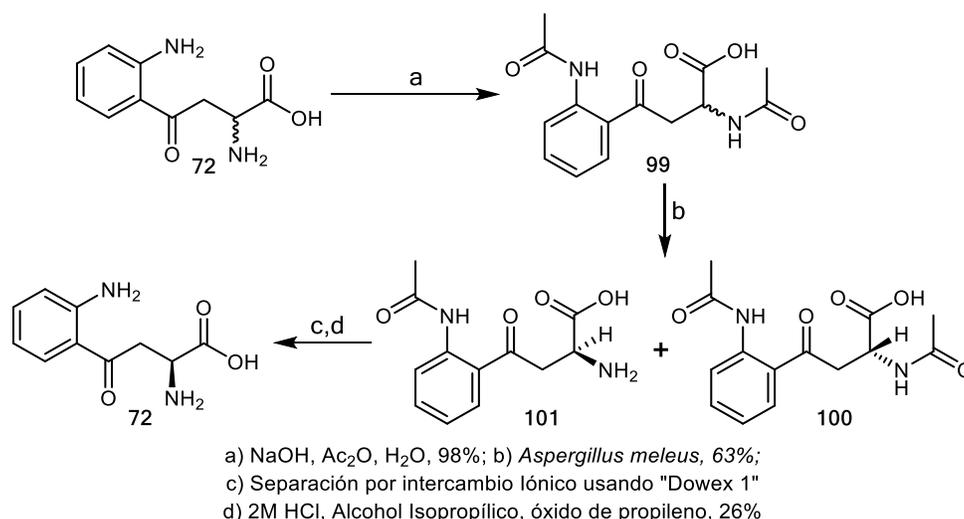
En el año de 1998, el equipo de trabajo de Fiona C. Ross²⁰ reportó la resolución del aminoácido usando *Aspergillus meleus* (**Esquema 24**). En la metodología reportada, la quinurenina se obtiene mediante el proceso de ozonólisis (**Esquema 19**). El rendimiento global de dicha reacción fue de 8%, donde 98% de la quinurenina obtenida se encuentra como mezcla racémica.

Para la resolución de la quinurenina, se parte de la estructura **72**, donde ambos grupos amino son acetilados (**99**). Posteriormente, el compuesto **99** en presencia de *Aspergillus meleus* experimenta la desprotección selectiva del enantiómero S, quedando el enantiómero R acetilado, permitiendo la separación de los enantiómeros. La purificación

¹⁹ Kleijin, L. H. J.; Müskens, F. M.; Oppedijk, S. F. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 6430-3432.

²⁰ Ross, F. C.; Botting, N. P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *6*, 875-878.

mediante una columna (resina) Dowex hizo posible la obtención de ambos isómeros y la posterior desprotección de los grupos aminos.



Esquema 24: Resolución de quinurenina, mediante el uso del hongo *Aspergillus meleus*.

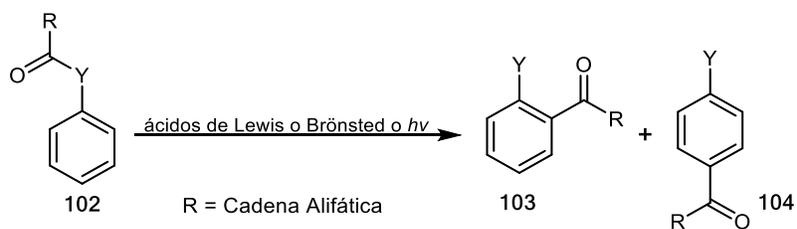
Debido a que 50% de la mezcla racémica queda sin desproteger, el rendimiento global reportado por Ross fue de 4% para la L-quinurenina (72).

2.11 Reacción fotoquímica *aza-Fries*.

A principios del siglo XX el científico alemán Karl Theophil Fries y sus colaboradores, observaron por primera vez que ésteres acéticos derivados del fenol (**102**) en presencia de tricloruro de aluminio reaccionaban dando lugar a la sustitución de la cadena alquílica en posición *orto* y *para* (**103** y **104**, **Esquema 25**).²¹ A pesar de que se habían reportado estos comportamientos en el siglo XIX, Karl T. Fries, fue el primero en observar esta transformación con ácidos de Lewis o de Brönsted. Por esta razón, a esta transformación se le conoce de manera general como *Transposición* o *Reordenamiento de Fries*.

Los reordenamientos de Fries requieren cantidades catalíticas de un ácido de Lewis a temperaturas elevadas que van en un rango de 80 a 180 °C y proceden con buenos rendimientos. Adicionalmente, se puede utilizar irradiación con luz UV en sustitución del ácido de Lewis.

²¹ Kurti, L.; Czako, B. *Strategic applications of named reactions in organic synthesis*. 1^{er} Ed. Elsevier, USA, 2005, 180-181 p.



Esquema 25: Reordenamiento de Fries (Y = O) y *aza*-Fries (Y = NH).

Una variante de la transposición de Fries es la transposición *aza-Fries*. En este tipo de reacciones la molécula de partida es un derivado de anilina (**102**), donde el nitrógeno se encuentra enlazado a un grupo carbonilo. El comportamiento de estos sustratos es semejante a los reportados para los ésteres, por lo que bajo condiciones semejantes ocurre el reacomodo en posiciones *orto* (**103**) y/o *para* (**104**).

3. Planteamiento del problema.

Debido al papel relevante de la quinurenina en diversos procesos biológicos y a su potencial aplicación como edulcorante en la industria alimenticia, es importante disponer de métodos de síntesis sencillos y eficientes que permitan obtener este compuesto, así como algunos análogos estructurales que se requieren para ampliar los estudios sobre las diversas aplicaciones de la quinurenina.

A pesar de que hoy en día se han reportado una serie de metodologías sintéticas para obtener la molécula de quinurenina, la mayoría de ellas tienen la desventaja de producir la mezcla racémica. Por otro lado, las metodologías que parten de *S*-triptófano requieren de procedimientos tediosos para la purificación del producto en forma enantioméricamente pura.

En el presente estudio, se propone una metodología para la síntesis de la *L*-quinurenina (**72**) de manera estereoselectiva (**Figura 7**), bajo condiciones que no alteren la configuración absoluta en el carbono estereogénico. Por otra parte, también se propone la extensión de la metodología anterior para la obtención de la *homo-L*-quinurenina (**105**).

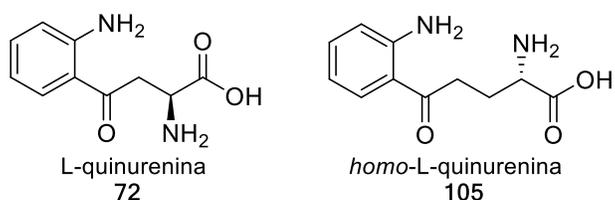


Figura 7: Estructura de la *L*-quinurenina y *homo-L*-quinurenina.

La estrategia para la obtención de **72** y **103** de manera enantioselectiva, reside en partir de los aminoácidos ácido *S*-aspártico (**32**) y ácido *S*-glutámico (**33**, **Figura 8**), empleando oxazaborolidinonas para la protección simultánea del grupo α -amino y carboxilo con 9-BBN-H (**66**), dejando a disposición el segundo ácido carboxílico.

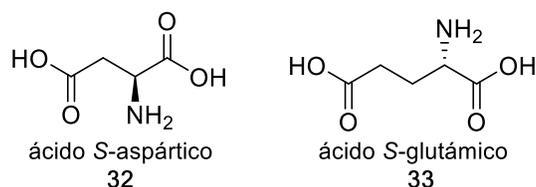


Figura 8: Estructuras de los ácidos *S*-aspártico y *S*-glutámico.

Se pretende formar la amida correspondiente de los aminoácidos **32** y **33**, con anilina (**109**), para posteriormente irradiarlos con luz ultravioleta, induciendo de esta manera el reordenamiento *aza*-Fries.

4. Objetivos

Objetivo General:

Desarrollar una metodología de síntesis simple y eficiente que permita obtener de manera enantioselectiva el amino ácido L-quinurenina y *homo*-L-quinurenina.

Objetivos Particulares:

- Utilizar oxazaborolidinonas como grupo protector transiente para el aminoácido S-aspártico.
- Explorar la síntesis de amidas a partir de la reacción selectiva entre anilina y los aminoácidos S-aspártico y S-glutámico.
- Formar L-quinurenina y *homo*-L-quinurenina, mediante la reacción aza-Fries fotoquímica.

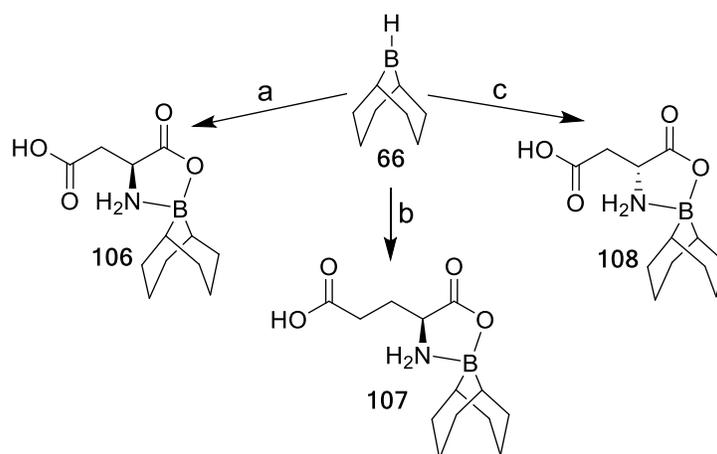
5. Resultados y discusión.

5.1 Formación de oxazaborolidinonas.

La primera parte sintética consistió en la obtención de las oxazaborolidinonas derivadas de los ácidos *S*-aspártico (**106**), *R*-aspártico (**108**) y *S*-glutámico (**107**, **Esquema 26**).²² El grupo protector 9-BBN (**66**) puede formar un enlace covalente entre el boro y el oxígeno y un enlace coordinado entre el nitrógeno y boro, a temperatura ambiente y prolongados tiempos de reacción de hasta 36 horas. Una manera de disminuir estos tiempos de reacción consiste en aumentar la temperatura al sistema.

Cada una de las moléculas de aminoácido protegidas como oxazaborolidinona fueron purificadas mediante cristalización, puesto que el grupo protector 9-BBN (**66**) es sensible a las características ácidas de la silica gel y puede llegar a hidrolizarse, por lo que se trató de evitar la purificación por cromatografía en columna flash.

Mediante esta metodología, se logra la formación de oxazaborolidinonas con rendimientos alrededor del 80%.



- a) *S*-Asp, MeOH, 36 hrs, 70°C, 88%; b) *S*-Glu, MeOH, 36 hrs, 70°C, 80%;
c) *R*-Asp, MeOH, 36 hrs, 70°C, 82%;

Esquema 26: Formación de oxazaborolidinonas para los aminoácidos *S/R*-aspártico y *S*-glutámico.

²² Sánchez, A.; Calderón, E; Vázquez A. *Synthesis*.**2013**, *45*, 1364-1372.

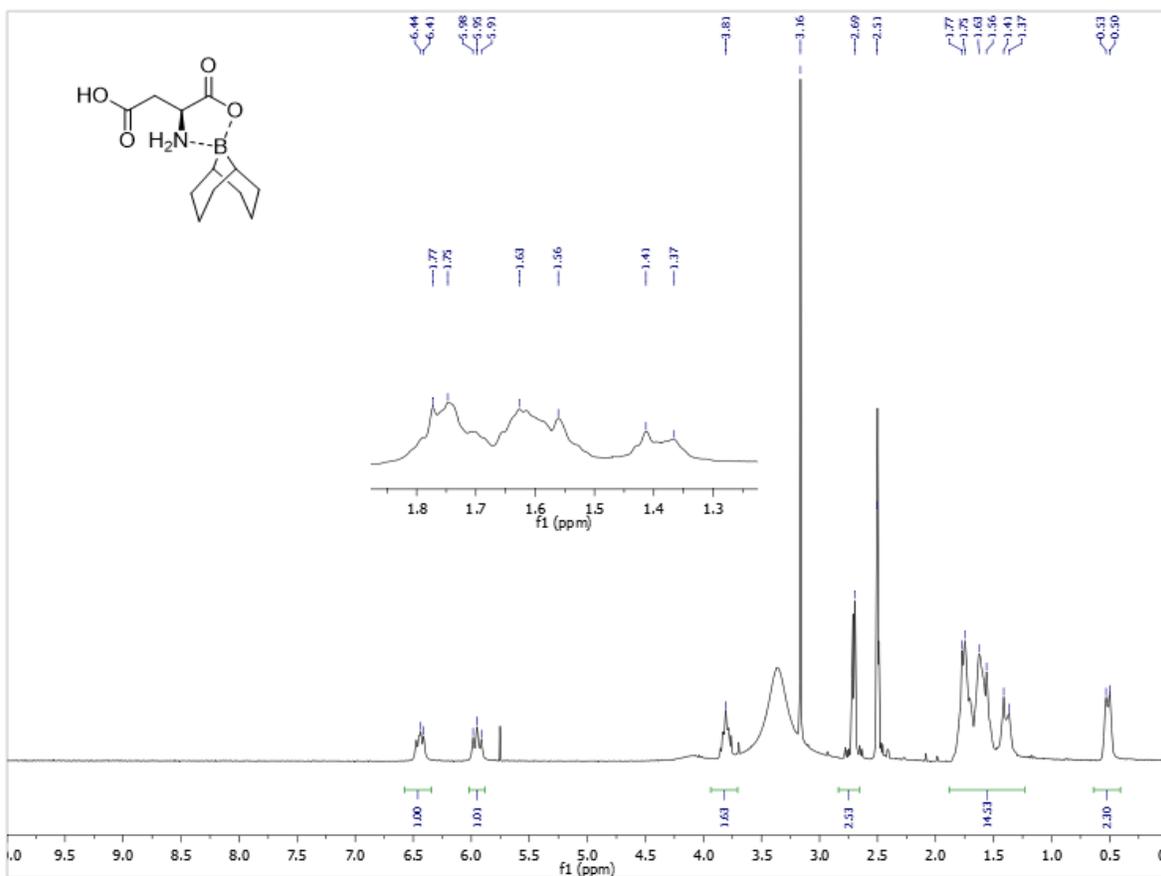


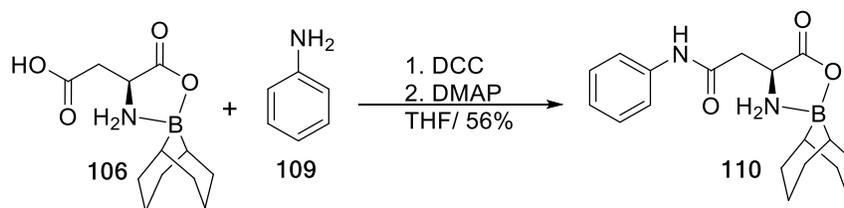
Figura 9: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **106**.

El espectro de RMN-¹H para el compuesto **106** (**Figura 9**), muestra las señales características del grupo protector 9-BBN (**66**) en un intervalo de 1.3 a 1.7 ppm con un valor de integración próximo a 14, el equivalente a los protones presentes en el heterociclo. Las señales correspondientes a los protones del carbono β del aminoácido se presentan como un triplete en 2.7 ppm, mientras que señal correspondiente al protón del carbono α aparece como un multiplete en 3.8 ppm. Las señales correspondientes a los hidrógenos enlazados al nitrógeno, se identifican como una señal triple que se encuentra dobleteada en 5.9 y 6.4 ppm.

5.2 Formación de amidas.

Una vez que se llevó a cabo la preparación de la oxazaborolidinona **106**, se realizó una reacción para formar una amida entre anilina y **106** a través una síntesis de *Steglich*. La molécula **106** reaccionó con DCC, que promueve la formación de un intermediario susceptible a reaccionar con DMAP. Este último realiza un ataque nucleofílico al ácido previamente activado dando lugar a un derivado de ácido electrofílico muy reactivo, por lo que la anilina (**109**) puede desplazar al DMAP generando el compuesto **110** (**Esquema 27**).

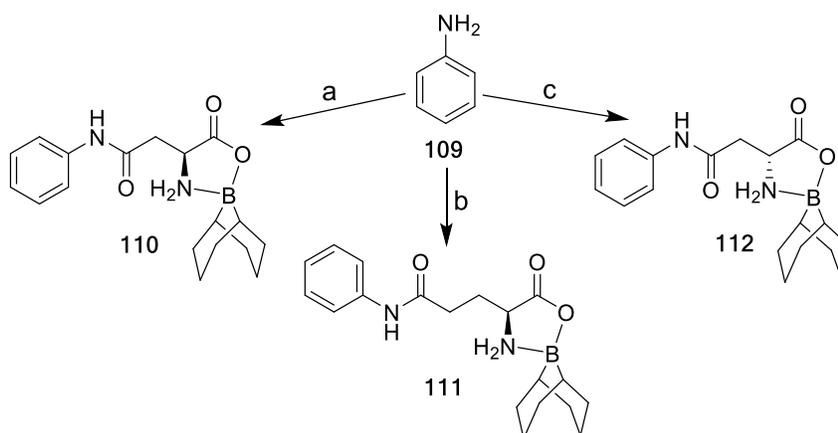
La metodología planteada en el **Esquema 27** generó rendimientos del 56%, debido a que como subproducto de la reacción se forma DCU, el cual es un contaminante difícil de eliminar y por tanto impedía la obtención de la amida **110** de forma pura.



Esquema 27: Formación del enlace amida mediante reacción de *Steglich*.

La alternativa fue partir del compuesto **106** y llevar a cabo el acoplamiento con anilina (**109**) en presencia de piridina y T3P.²³ En esta reacción, la piridina remueve el protón del grupo ácido y como resultado el par electrónico del oxígeno se enlaza con uno de los fósforos de la molécula de T3P, activando el grupo ácido, generando de esta forma un intermediario más reactivo. Un segundo ataque nucleofílico, por parte de la anilina al carbonilo activado con T3P, da como resultado la formación del compuesto **110** en buenos rendimientos y como subproductos fosfatos, los cuales son removidos mediante extracción con agua.

La metodología se implementó con los ácidos *R*-aspártico y *S*-glutámico (**Esquema 28**), generando sus correspondientes amidas (**110**, **111** y **112**). Cada una de las moléculas fue purificada mediante una extracción AcOEt:H₂O y posteriormente mediante una cromatografía en columna flash.



- a) *S*-Asp-BBN, T3P, Py, THF, 8 hrs, t.a. 90%; b) *S*-Glu-BBN, T3P, Py, THF, 8 hrs, t.a. 91%;
c) *R*-Asp-BBN, T3P, Py, THF, 8 hrs, t.a. 82%;

Esquema 28: Esquema general para la formación de las amidas de *S/R*-aspártico y *S*-glutámico.

²³ Dunetz, J.; Xiang, Y; Baldwin, A.; Ringling, *J. Org. Lett.* **2011**, *19*, 5048-5051.

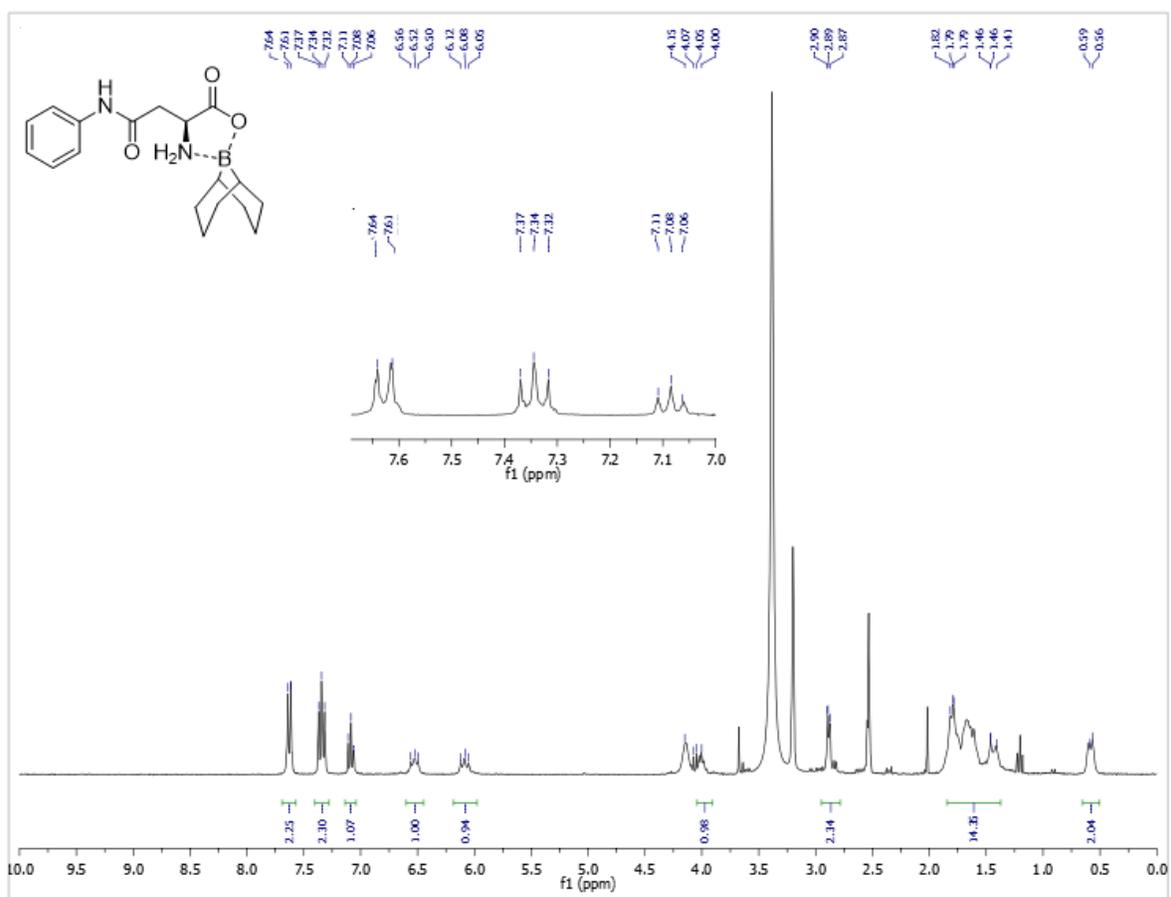


Figura 10: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **110**.

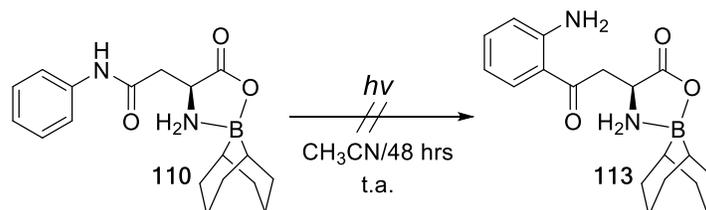
En el espectro de RMN-¹H que corresponde la molécula **110** (Figura 10) se observa una señal doble en 7.6 ppm, característica de dos protones aromáticos ubicados en las posiciones *orto*, un triplete a 7.3 ppm indica la presencia de dos protones en posición *meta* y una señal triple a 7.0 ppm indica la presencia de un protón en posición *para*. La señal correspondiente para el protón enlazado al nitrógeno en el enlace amida se encuentra ubicada en 4.1 ppm, mientras que las señales correspondientes al grupo protector 9-BBN y los protones enlazados al carbono β permanecen en la misma región observada en la Figura 9.

5.3 Reacción fotoquímica *aza*-Fries.

Se realizaron las primeras reacciones de transposición *aza*-Fries siguiendo las condiciones previamente reportadas por Ferreni & Ponticelli.²⁴ El compuesto **110**, disuelto en MeCN, fue irradiado durante 48 horas continuas con una lámpara de UV (254 nm). Al término de la reacción se realizó una cromatografía, la cual demostró la presencia de un compuesto mayoritario de características polares (el producto mayoritario permaneció en

²⁴ Ferreni, S.; Ponticelli, F; Taddei, M. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 9217-9220.

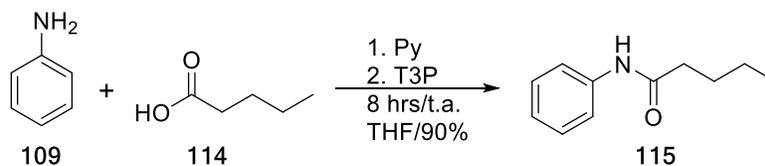
punto de aplicación una vez eluida la cromatoplaça), lo que podría indicar la posible remoción del grupo 9-BBN (**66**).



Esquema 29: Reacción fotoquímica en derivados de ácido valérico.

En un estudio de RMN-¹H realizado al producto mayoritario de la reacción fotoquímica (**Esquema 29**) no fue posible encontrar las señales que indicarán la presencia de la molécula **113** y, tampoco fue posible elucidar una estructura clara debido a la presencia de muchas señales. Sospechando que la oxazaborolidinona o su producto de transposición se descomponían con la radiación UV, y con el objetivo de establecer condiciones de reacción, se decidió comprobar la transposición fotoquímica *aza*-Fries en moléculas más sencillas, específicamente en derivados del ácido valérico (**115**, **Esquema 30**).

Para ello, se sintetizó una molécula con las características adecuadas para llevar a cabo la transposición fotoquímica. Se hizo reaccionar ácido valérico (**114**) y anilina (**109**) bajo las mismas condiciones establecidas para los derivados de ácido *S*-aspártico (**110**) y *S*-glutámico (**111**).



Esquema 30: Acilación de anilina con ácido valérico.

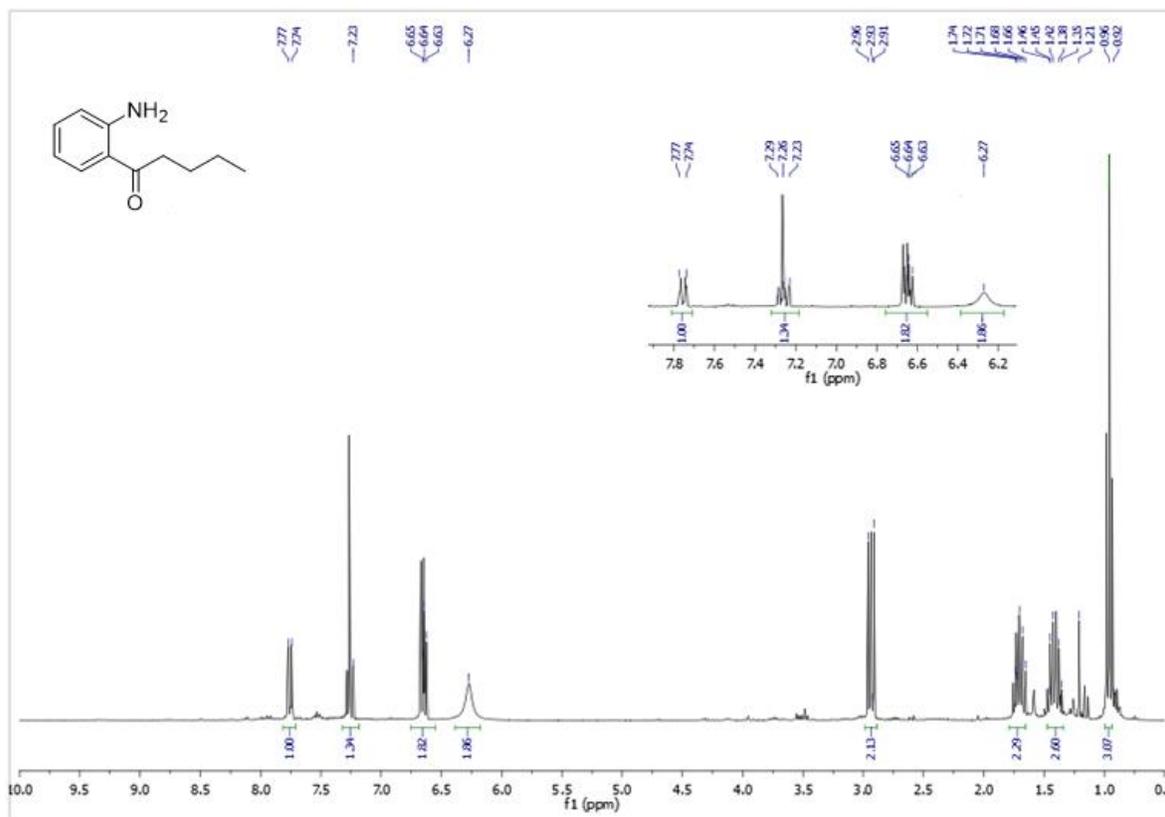


Figura 12: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **116**.

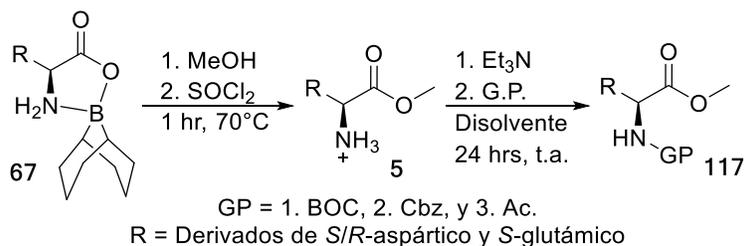
El estudio de RMN-¹H realizado a la molécula **116** (**Figura 12**) demostró la señal correspondiente a los protones en el carbono δ a 0.92 ppm, los multipletes ubicados a 1.3, 1.6 y 2.9 ppm corresponden a los carbonos γ , β , y α respectivamente, mientras que a campo bajo se encuentran las señales correspondientes al anillo aromático, dos multipletes en 6.64 que corresponden a los protones en las posiciones 6 y 5 mientras que el multipletes en 7.23 ppm corresponde al hidrógeno en posición 4, la señal en 7.77 ppm corresponde a los protones en las posición 3. La presencia de un singulete en 6.27 ppm corresponde al hidrógeno del grupo amina. El resultado de integrar la señal en 6.27 ppm, demuestra la presencia de una amina primaria, confirmando la transposición.

Al ser positiva la transposición fotoquímica *aza-Fries* con moléculas más sencillas, se optó por cambiar el grupo protector 9-BBN (**66**) por otros grupos protectores, esperando que resistieran la radiación UV.

5.4 Grupos protectores.

Para la remoción del grupo 9-BBN (**66**), los compuestos **110**, **111** y **111** fueron tratados con una solución de SOCl₂/MeOH (**Esquema 32**), la cual genera HCl, que promueve la desprotección del 9-BBN además de la esterificación del grupo ácido. De esta manera se obtienen de manera general el compuesto **5** esta molécula no fue purificada. Para el cambio de grupos protectores, fue necesario neutralizar el HCl con Et₃N y así liberar el

grupo NH₂ en C- α . Posteriormente, este intermediario se le intento proteger con tres distintos grupos protectores.²⁵



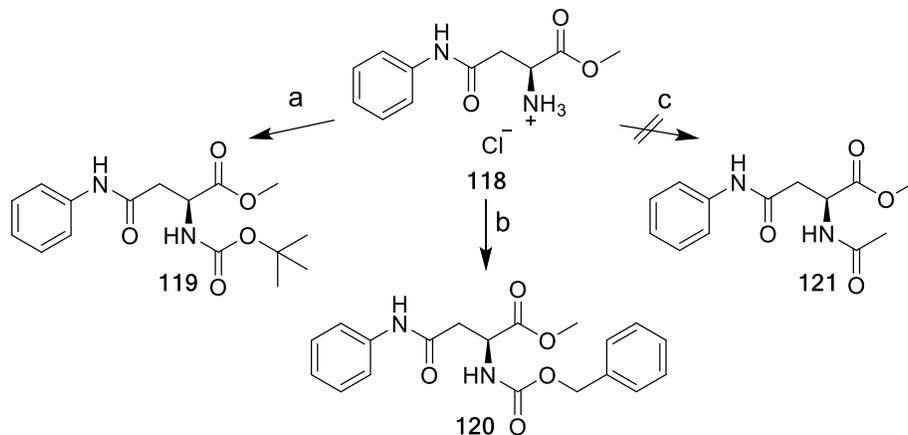
Condiciones de reacción.

1. (BOC)₂O, Et₃N, Isopropanol, 24 hrs, t.a.
2. BnOCOCI, Et₃N, CH₂Cl₂, 24 hrs, t.a.
3. Ac₂O, Et₃N, Isopropanol, 24 hrs, t.a.

Esquema 32: Reacción general de protección en los derivados de los ácidos *S/R*-aspártico y *S*-glutámico.

- BOC

El grupo amino (presente en las moléculas **118**, **122** y **125**), puede formar un carbamato al reaccionar con (BOC)₂O. Estudios de RMN-¹H revelaron la exitosa formación del carbamato para la molécula **119**. La formación de su enantiómero (**123**) como la del carbamato **127** no se logró usando las mismas condiciones de reacción.



- a) (BOC)₂O, Et₃N, Isopropanol, 24 hrs, t.a, 83%; b) BnOCOCI, Et₃N, CH₂Cl₂, 24 hrs, t.a 74%;
c) Ac₂O, Et₃N, Isopropanol, 24 hrs, t.a.

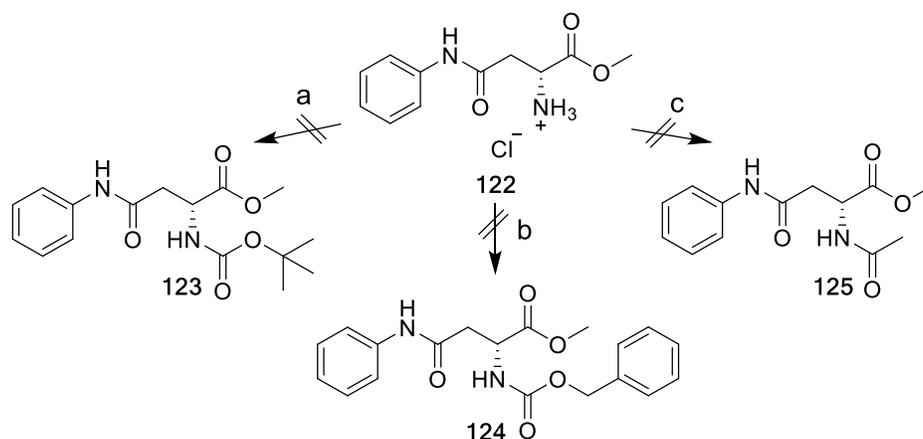
Esquema 33: Protecciones realizadas en derivados de ácido *S*-aspártico.

- Cbz

El grupo amino forma un carbamato cuando se hace reaccionar con BnOCOCI. Los resultados fueron semejantes a los obtenidos con el compuesto (BOC)₂O. Únicamente se obtuvo un resultado positivo para la molécula **120**; mientras que para su enantiómero (**124**) y los derivados de ácido *S*-glutámico (**128**) los resultados fueron negativos. Lo

²⁵ Nota: Después de la reacción de esterificación implementando SOCl₂/MeOH, los productos no fueron purificados, en el mismo matraz se realizaron las protecciones correspondientes.

observado en CCF demostró que el compuesto **128** no se protegió, mientras que para los derivados del ácido *S*-glutámico, se observó la formación de un posible subproducto (**130**).

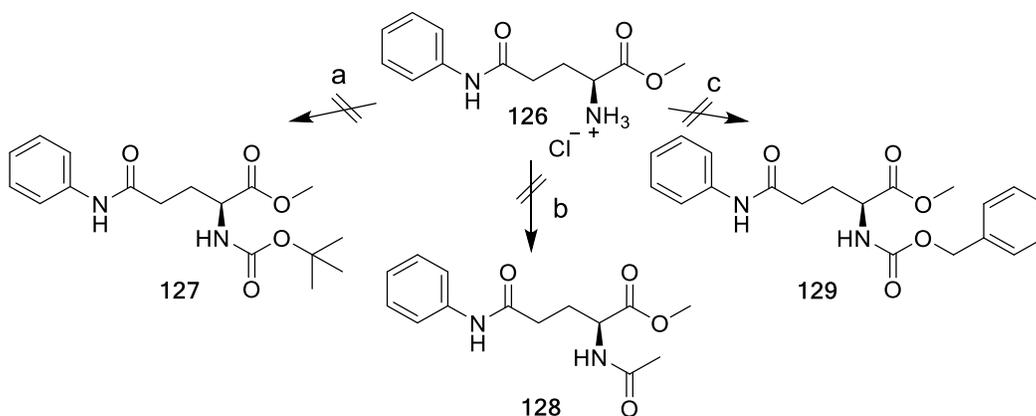


a) $(\text{BOC})_2\text{O}$, Et_3N , Isopropanol, 24 hrs, t.a, 83%; b) BnOCOCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , 24 hrs, t.a 74%;
c) Ac_2O , Et_3N , Isopropanol, 24 hrs, t.a.

Esquema 34: Protecciones realizadas en derivados de ácido *R*-aspártico.

- Ac.

El grupo amino forma una acetamida como grupo protector al reaccionar con $(\text{Ac})_2\text{O}$. A pesar de que se realizó la misma metodología para lograr la acetilación del grupo amino, los resultados fueron negativos para cada una de las moléculas, esto es lo que se comprobó gracias a lo observado en CCF, mostrando solo la presencia de materia prima.



a) $(\text{BOC})_2\text{O}$, Et_3N , Isopropanol, 24 hrs, t.a; b) BnOCOCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , 24 hrs, t.a;
c) Ac_2O , Et_3N , Isopropanol, 24 hrs, t.a.

Esquema 35: Protecciones realizadas en derivados de ácido *S*-glutámico.

No se logró determinar la razón por la cual los derivados del aminoácido *R*-aspártico, dieron resultados negativos para la protección del grupo amino con los tres distintos grupos protectores (Cbz, Ac. y BOC), por lo que se optó por suspender la síntesis de la molécula *D*-quinurenina.

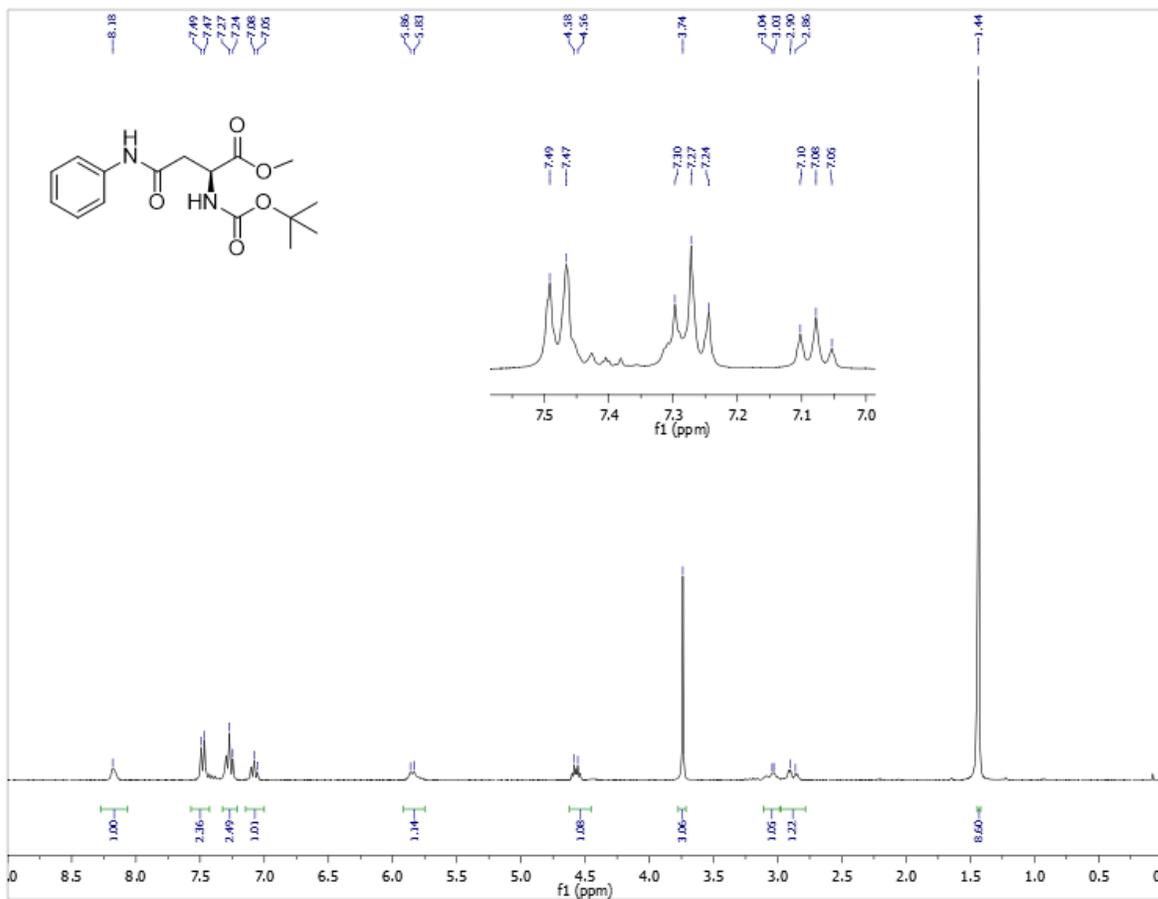


Figura 13: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **119**.

El estudio de RMN-¹H realizado a la molécula **119** (**Figura 13**) demostró la desaparición de las señales del grupo protector 9-BBN (**66**) y la aparición de la señal del grupo protector BOC que se observa en forma de un singlete en 1.4 ppm, corresponde al grupo *terc*-butilo, mientras que un segundo singlete encontrado en 3.7 ppm demuestra la presencia del éster metílico y una señal dobleteada en 3.0 ppm muestra los protones enlazados al carbono β. Las señales características de los protones aromáticos a campo bajo no se ven alteradas respecto al material de partida.

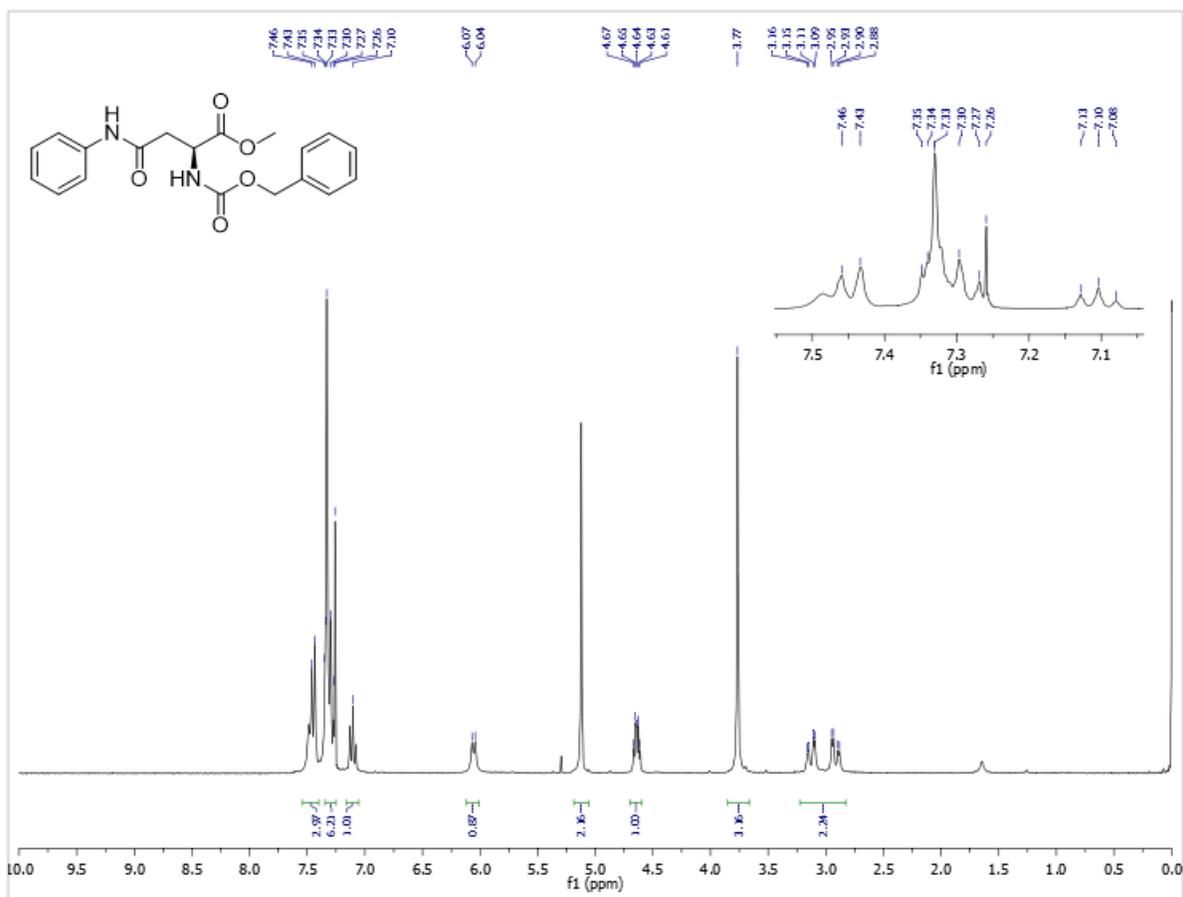


Figura 14: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **120**.

Para la molécula **120** (Figura 14), el estudio de RMN-¹H demuestra la desaparición de 9-BBN (**66**) y como resultado de la protección del grupo amino con BnOCOCI, además de un singlete en 3.7 ppm, característico de un éster metílico, se observa una señal doble en 7.4 ppm, correspondiente a los protones *meta* y un triplete a 7.1 ppm, correspondiente al protón en posición *para* de la anilina. En un intervalo de 7.2 a 7.3 ppm se observa el solapamiento de las señales de los protones en posición *orto* de la anilina y los protones presentes en el anillo aromático del grupo protector Cbz. El singlete ubicado en 5.1 ppm indica la presencia de los protones bencílicos.

Los intentos por proteger el grupo amino en los derivados del aminoácido ácido S-glutámico (**127**, **128** y **129**) fueron negativos (Esquema 35). El seguimiento del curso de la reacción por CCF demostró la formación de dos compuestos mayoritarios, el primero de ellos contaba con propiedades no polares, además de ser el único compuesto que eluyó, mientras que el segundo contaba con características polares y no eluyó en la cromatoplaca.

El compuesto con características polares fue purificado mediante cromatografía en columna y el espectro de RMN-¹H muestra la presencia de anilina protegida con BOC (Figura 15).

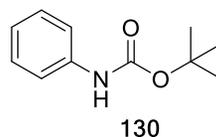


Figura 15: Subproducto de la protección de los derivados de ácido S-glutámico.

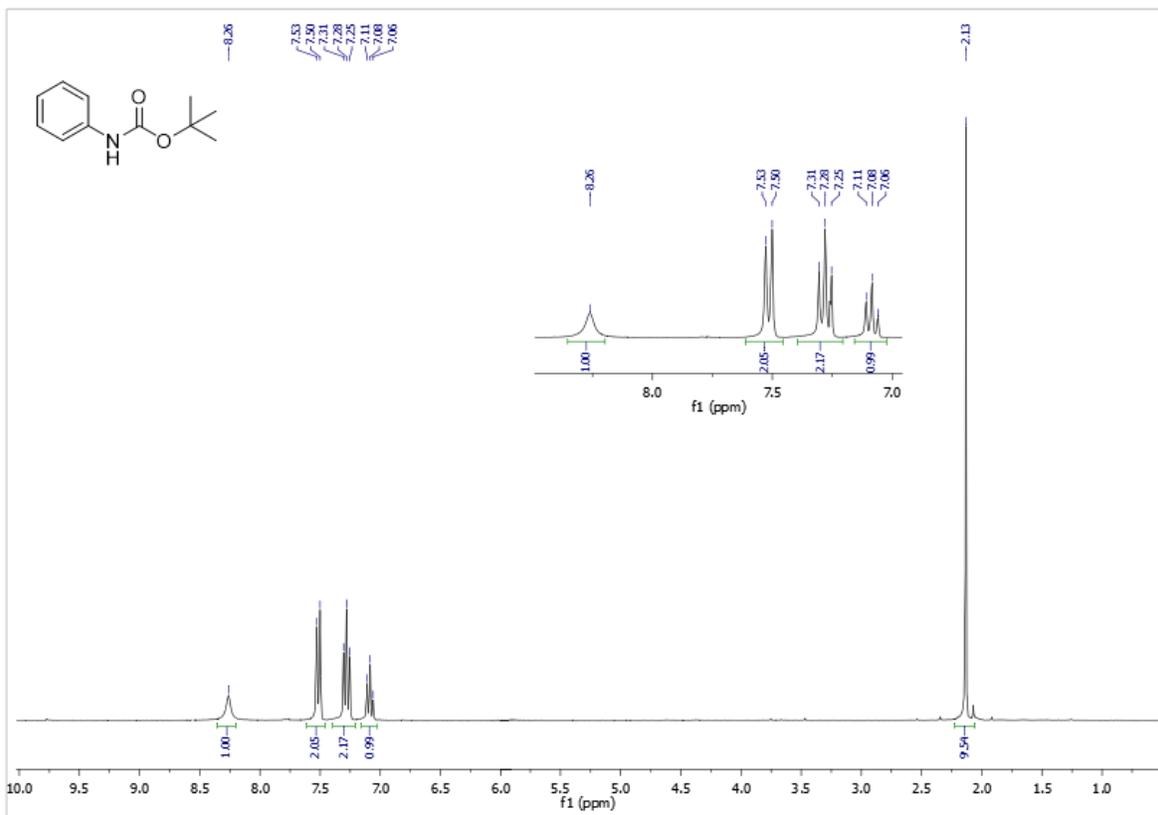
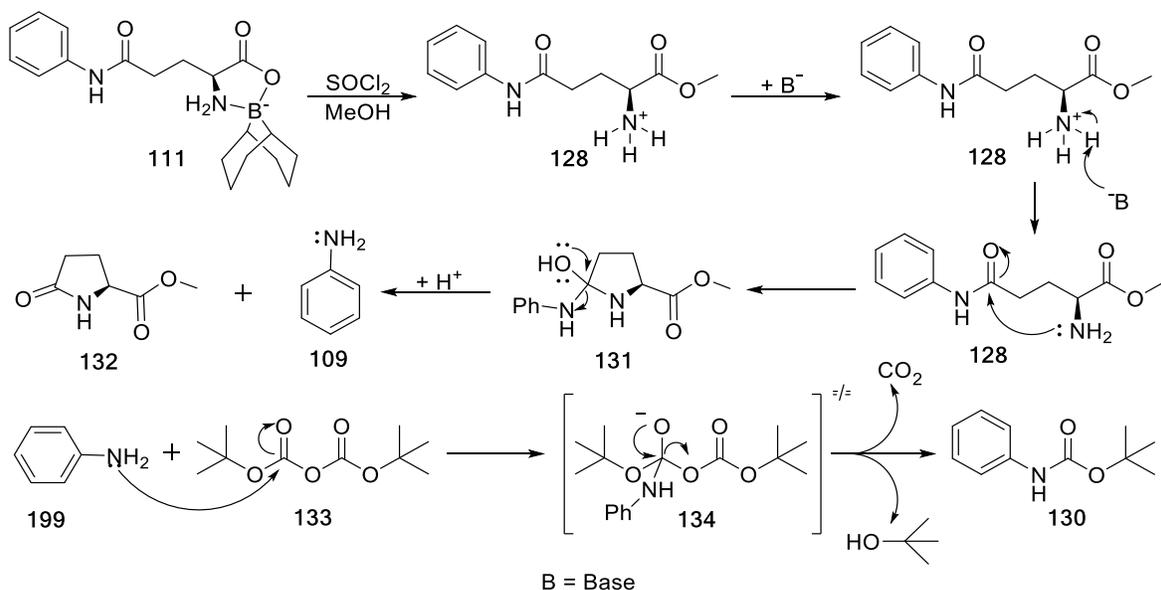


Figura 16: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **130**.

El estudio de RMN-¹H realizado a la molécula **130** (**Figura 14**) demostró la señal característica del grupo *terc*-butilo, en 2.1 ppm, una señal tripe en 7.08 ppm corresponde al protón sustituido en posición *para*, mientras que la señal tripe en 7.28 ppm corresponde a los protones sustituidos en las posiciones *meta*, la señal doble en 7.50 ppm corresponde a los protones en posición *orto*, por último el singulete en 8.26 ppm denota la presencia del protón de la amida.

Una posible explicación a los fallidos intentos por proteger el grupo amino de los derivados de ácido S-glutámico es que ocurrió una reacción intramolecular dando lugar a la formación de una lactama (**Esquema 36**). Las condiciones a las cuales se remueve el grupo protector 9-BBN propician la esterificación del grupo ácido y a su vez la amina se mantiene protonada. Al intervenir una base sobre la molécula **120**, el grupo amino recupera el par de electrones, los cuales son propensos a realizar un ataque nucleofílico intramolecular al grupo carbonilo del grupo amida, propiciando la formación de una lactama y como subproducto anilina (**109**). Esta última reacciona con la molécula de (BOC)₂O (**133**), generando como subproducto la anilina protegida (**130**).

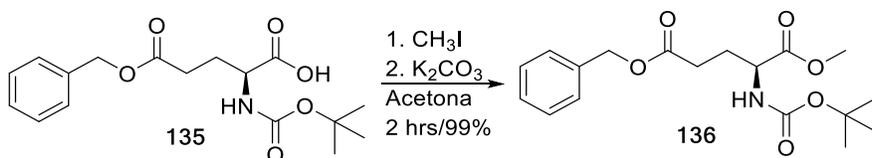


Esquema 36: Formación de lactama en los derivados de ácido *S*-glutámico.

5.6 Síntesis de *homo*-L-quinurenina.

La alternativa para obtener la *homo*-L-quinurenina (**105**) fue partir de un reactivo comercial (**135**), que cuenta con la amina protegida con BOC, y uno de los grupos ácidos protegidos por un bencillo.

El primer procedimiento para obtener la *homo*-L-quinurenina (**105**) consistió en esterificar el ácido carboxílico libre (**135**) mediante la intervención de una base (K_2CO_3), para formar un anión carboxilato. Posteriormente, uno de los pares electrónicos del oxígeno realiza una sustitución nucleofílica bimolecular sobre el compuesto CH_3I , dando como resultado la formación de un éster metílico (**Esquema 37**). La esterificación mediante esta metodología dio buenos rendimientos con la ventaja de no tener la necesidad de purificar el producto **136**.



Esquema 37: Reacción de esterificación.

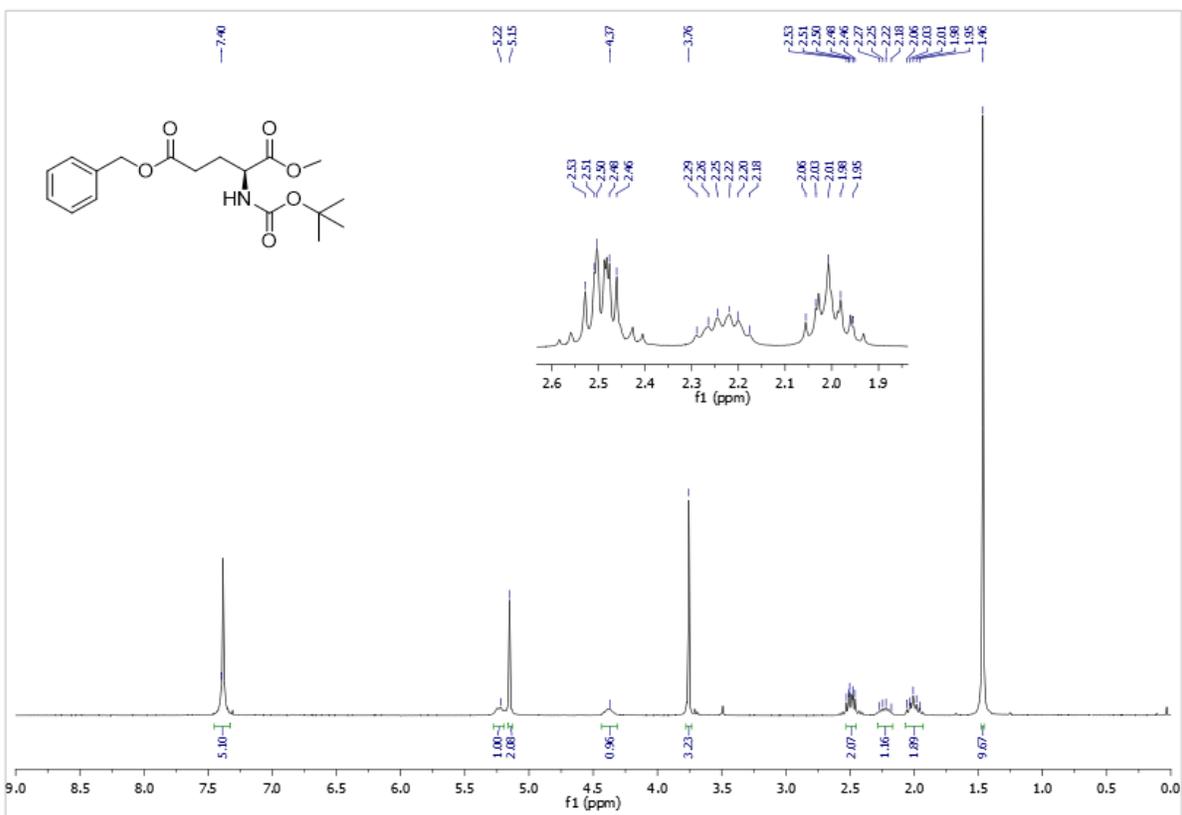
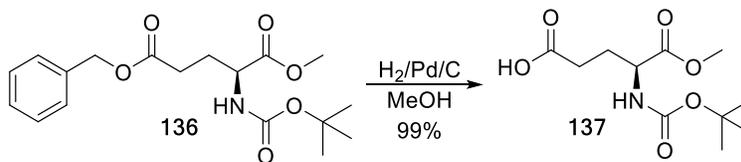


Figura 17: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **136**.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio de RMN-¹H, se pudo constatar la obtención del producto **136** (**Figura 17**). En 1.4 ppm se puede observar un singulete característico del grupo *terc*-butilo y en 3.7 ppm la señal del éster metílico. El singulete en 7.4 ppm indica la presencia de un fenilo mono-sustituido. El último de los singuletes está ubicado en 5.1 ppm y corresponde a los protones enlazados al carbono bencílico. La señal correspondiente al protón del carbono α se encuentra en 4.37 ppm, mientras que las señales de los protones en el carbono β , se presentan como dos multipletes entre 2.50 y 2.22 ppm. Por último, el multiplete en 2.0 ppm corresponde a los hidrógenos enlazados al carbono γ .

La reacción posterior consistió en regenerar el grupo ácido, desprotegiendo el grupo bencilo mediante la acción conjunta de hidrógeno y paladio soportado en carbono (**137**, **Esquema 38**). Los rendimientos resultaron ser buenos, el producto resultante presentó características semejantes a las de un aceite y no requirió de purificación.



Esquema 38: Reacción de desprotección del grupo bencilo.

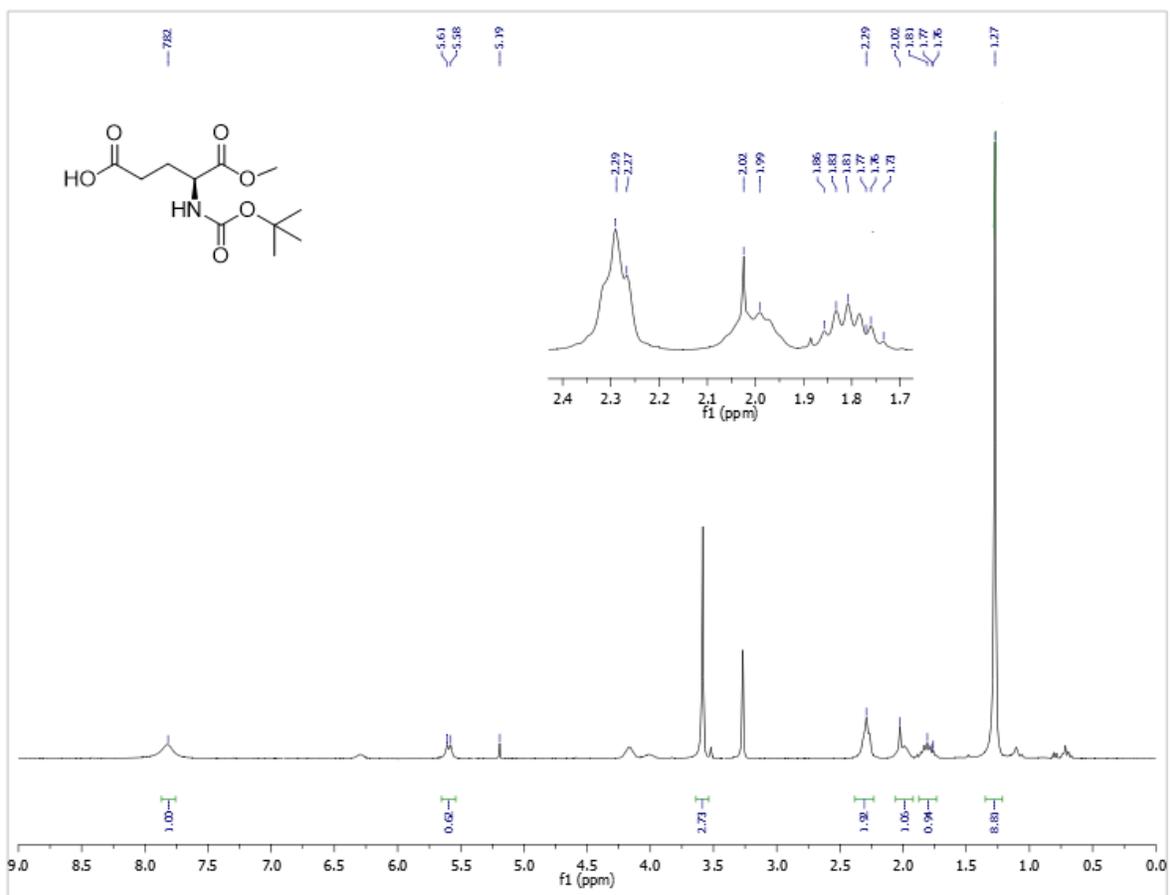
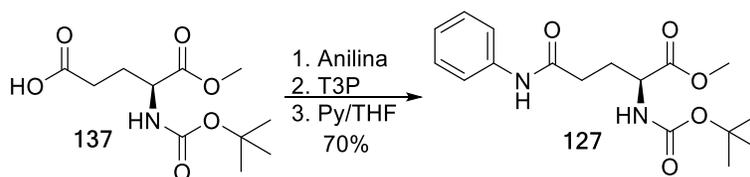


Figura 18: Espectro de RMN- ^1H para el compuesto **137**.

Se realizó un estudio de RMN- ^1H a la molécula **137** (**Figura 18**), la cual presenta un singlete a 1.2 ppm característica del grupo *terc*-butilo. El segundo singlete ubicado en 3.6 ppm es característico del éster metílico. El hidrógeno del ácido libre se presenta como singlete en 7.8 ppm. Las señales de los hidrógenos enlazados a los carbonos β y γ , se ubican a campo alto en un intervalo de 1.7 a 2.0 ppm, mientras que el protón enlazado al carbono α se encuentra en 2.2 ppm. Un singlete en 5.6 ppm corrobora la presencia de un protón enlazado al nitrógeno.

Para la formación de la amida **127**, se realizó el mismo procedimiento desarrollado para la obtención de amidas derivadas del ácido *S*-aspártico (**110**). El reactivo utilizado para la activación del ácido carboxílico fue T3P dando buenos rendimientos de la molécula **127** (**Esquema 33**). A pesar de que los rendimientos fueron menores en comparación con los reportados para los derivados de ácido *S*-aspártico (**110**), estos son aceptables.



Esquema 39: Formación del enlace amida entre anilina y **137**.

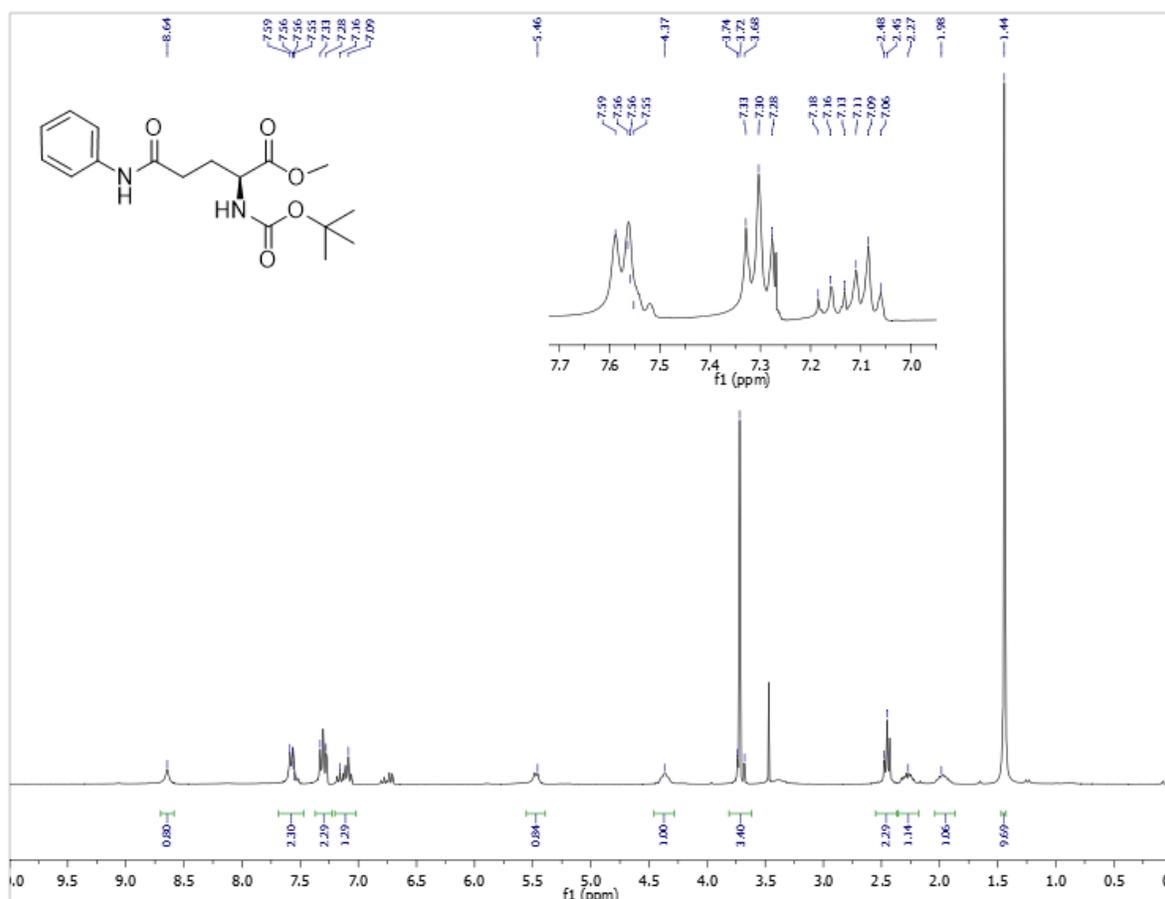


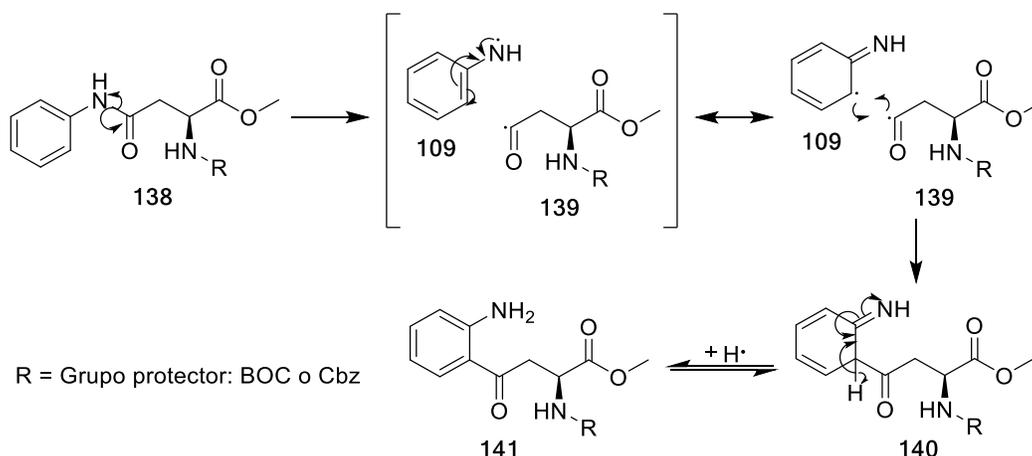
Figura 19: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **127**.

El estudio de RMN-¹H comprueba la existencia de la molécula **127** (**Figura 19**); se observan las mismas señales presentes en la molécula **137** (**Figura 18**), más la presencia de tres señales características de un grupo aromático mono-sustituido. Estas señales son: un doblete en 7.5 ppm y dos triplete en 7.3 ppm y 7.1 ppm (la razón por la cual el triplete a 7.1 ppm no está definida, se debe a la superposición de la señal del hidrógeno enlazado al nitrógeno del grupo carbamato).

5.7 Reacciones fotoquímicas.

La reacción para la obtención de la molécula L-quinurenina y *homo*-L-quinurenina consistió en la irradiación de los compuestos **119**, **120** y **127** (**Esquema 41**).

La radiación UV cuenta con la energía necesaria para romper de manera homolítica el enlace amida (**Esquema 40**), promoviendo la formación de radicales, el nitrógeno y el carbonilo son capaces de sustentar el electrón resultante de la ruptura homolítica. El electrón presente en el nitrógeno de la anilina se deslocaliza en el grupo aromático. Sin embargo, el radical tenderá a reaccionar en las posiciones *orto* y *para*.



Esquema 40: Mecanismo de reacción probable para la transposición *aza*-Fries fotoquímica.

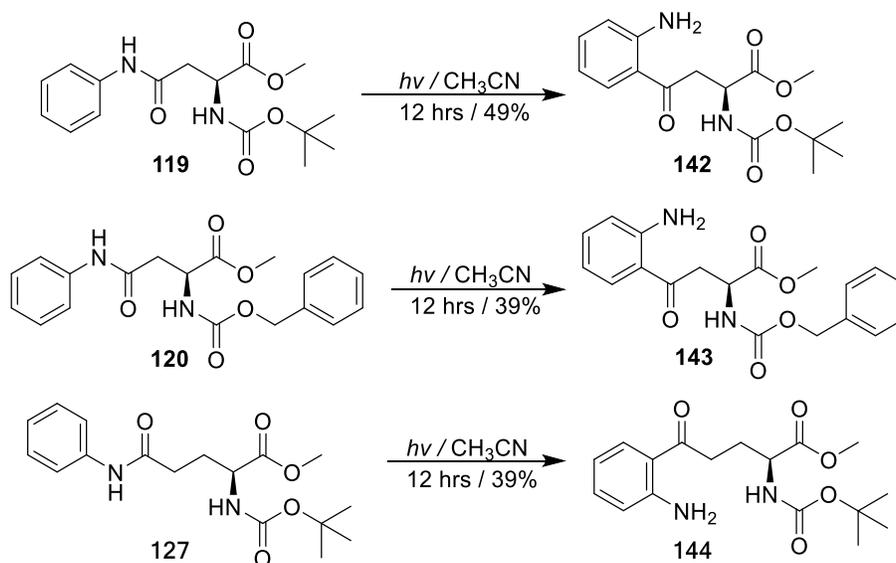
El radical acilo reacciona de manera intermolecular con el anillo aromático formando un enlace sencillo, preferentemente en la posición *orto* y la posición *para* en menor proporción.

Los primeros experimentos de transposición *aza*-Fries se realizaron mediante radiación UV continua, a temperatura ambiente y atmósfera de nitrógeno por 48 horas. Bajo estas condiciones de reacción se lograron obtener los productos de transposición de los sustratos; sin embargo, se pudo apreciar la notable degradación de las moléculas debido al exceso en el tiempo de irradiación.

Una serie de reacciones monitoreadas por CCF revelaron que las moléculas eran estables en tiempo menores o iguales a 12 horas. Las condiciones a las cuales se realizaron las transposiciones *aza*-Fries consistieron en un tiempo de reacción igual a 12 horas bajo atmósfera de nitrógeno y a temperatura ambiente (**Esquema 41**).

Debido a las características del equipo de cuarzo "Ace Glass Incorporated", equipo en que se realizaron las transposiciones *aza*-Fries, fue difícil modificar el sistema para elevar los rendimientos y se obtuvo alrededor de un 39% de los compuestos transpuestos provenientes de las moléculas **120** y **127**.

Una de las pocas modificaciones que mejores resultados dio, fue la adaptación de una barra magnética para promover la agitación de la solución durante el tiempo de reacción. Esta modificación elevó los rendimientos hasta llegar a un aproximado de 50%.



Esquema 41: Reacción de transposición *aza*-Fries.

La purificación de los productos resultantes de la transposición *aza*-Fries se realizó mediante una cromatografía en columna.

Se optó por reportar los compuestos **142**, **143** y **144**, de manera protegida, debido a que son más fáciles de manipular y monitorear por cromatoplaca.

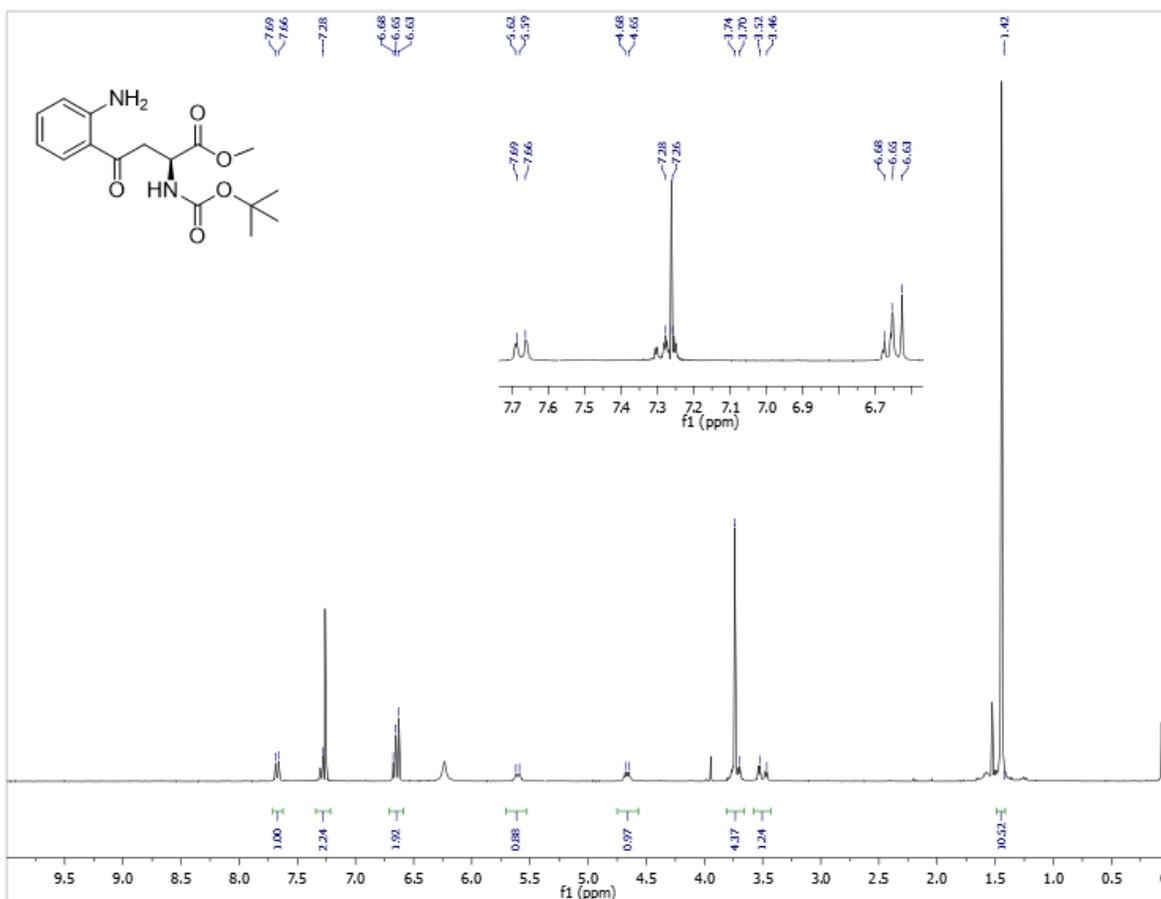


Figura 20: Espectro de RMN- ^1H para el compuesto **142**.

El espectro de RMN- ^1H en la molécula **142** (Figura 20) demuestran la exitosa transposición de la cadena alifática. Las señales que permanecen constantes pertenecen a los hidrógenos de los grupos: *tert*-butilo en 1.4 ppm, éster metílico en 3.7 ppm. En 7.6 ppm se observa una señal doble que corresponde al protón enlazado en la posición 2 en el anillo aromático. El triplete presente en 7.2 ppm corresponde a los hidrógenos en las posiciones 3 y 4 en el anillo aromático. Por último, la presencia de una segunda señal doble en 6.6 ppm denota la presencia de un protón enlazado a la posición 5; sin embargo, esta señal doble no se ve del todo definida. El cambio de una señal triple a una señal doble en la región de los aromáticos, asevera la transposición de la cadena alifática.

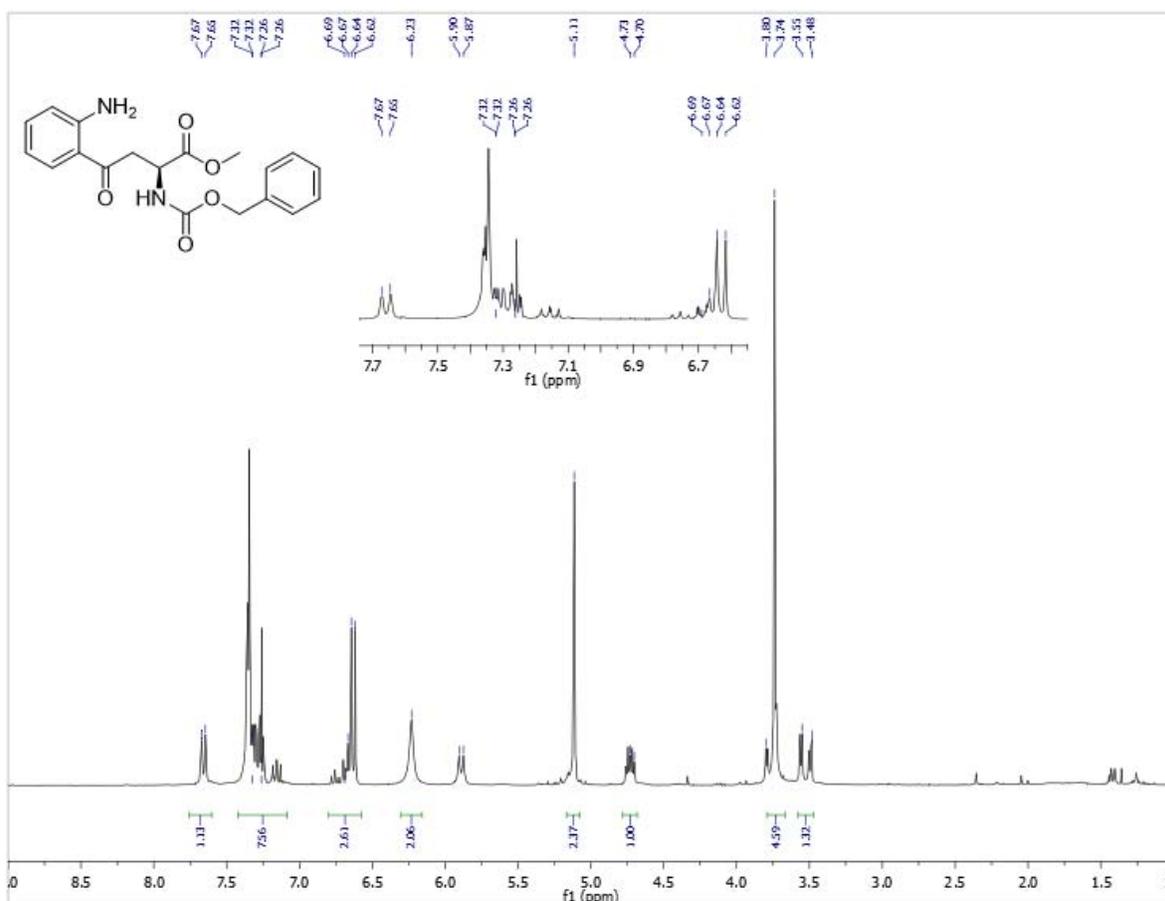


Figura 21: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **143**.

El espectro de RMN-¹H de la molécula **143** (**Figura 21**) presenta dos singuletes: el primero de ellos se encuentra en 3.7 ppm, que denota al éster metílico, el segundo singulete se encuentra en 5.1 ppm y se trata de los protones presentes en el carbono bencílico. Las señales más importantes para corroborar la efectiva transposición son: la señal más intensa localizada en 7.3 ppm, que corresponde al multiplete del grupo aromático (proveniente del grupo protector Cbz), la señal doble localizada en 7.6 ppm, que demuestra la presencia de un protón en la posición 2; las señales de los protones 3 y 4 en el anillo aromático ubicadas en 7.2 y 7.3 ppm. Esta señal en principio se observa como un triplete, sin embargo, no se observa dicho patrón debido a la superposición que tiene la señal del grupo fenilo proveniente del grupo protector, y por último una señal doble a 6.6 ppm, característica de un protón en la posición 4 del anillo aromático disustituido.

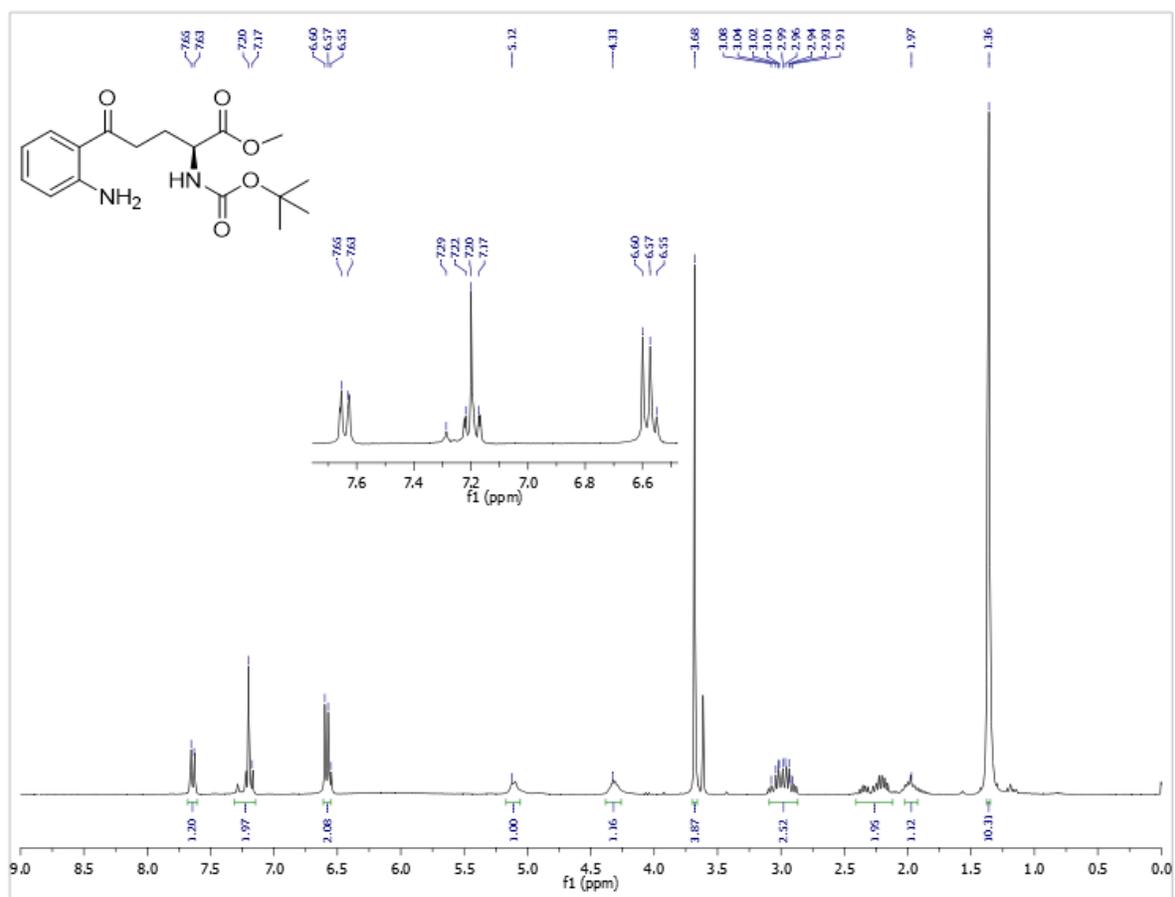
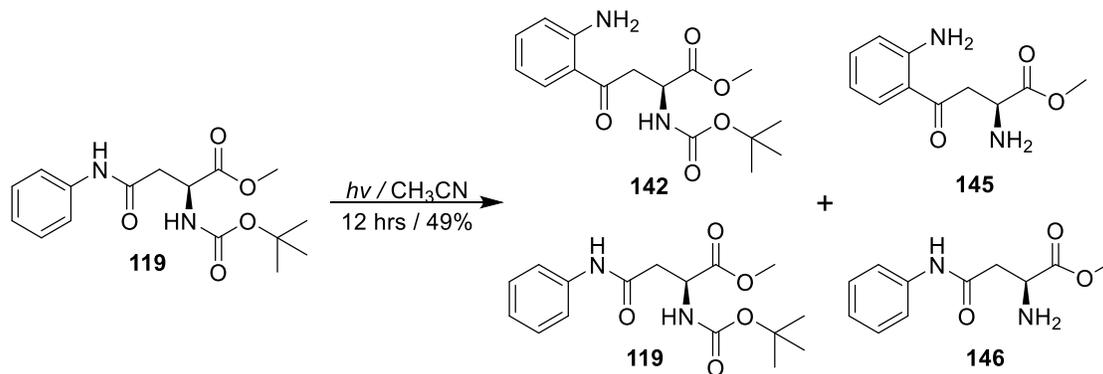


Figura 22: Espectro de RMN-¹H para el compuesto **144**.

El estudio de RMN-¹H realizado a la molécula **144** (**Figura 22**) es muy semejante al obtenido en el espectro de protón realizado a la molécula **142**. La señal de mayor intensidad corresponde al grupo *terc*-butilo, justo en 1.4 ppm; el singulete en 3.6 ppm indica la presencia de un éster metílico. A diferencia de la molécula **142**, el espectro de RMN-¹H presenta más señales desdobladas en un rango de 2.0 a 3.0 ppm. Estas señales corresponden a los protones enlazados a los carbonos β y γ . Las señales que denotan la exitosa transposición de la molécula se encuentran en la zona de campo bajo. Un doblete en 7.6 ppm indica la presencia de un protón en la posición 5 del anillo aromático, un segundo doblete en 6.5 ppm igualmente indica la presencia de un hidrógeno en la posición 2 del anillo, mientras que un triplete en 7.2 ppm, demuestra la presencia de dos protones en las posición 3 y 4 del anillo aromático.

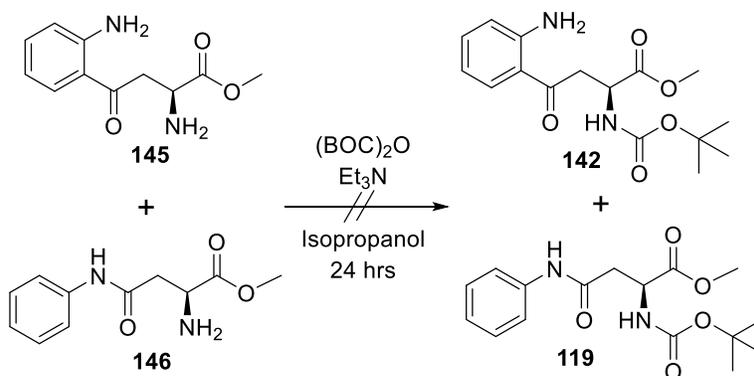
Los rendimientos obtenidos en la transposición *aza*-Fries son competitivos con los reportados en la literatura química; sin embargo, se pudo observar en CCF la obtención de tres productos como resultado del proceso de irradiación (**Esquema 42**). El primero de ellos es la molécula de L-quinurenina deseada **142**, la cual era fácil de observar en cromatoplacas al ser un compuesto que eluye en un sistema 1:1 hexano/AcOEt. El segundo producto mayoritario fue materia prima sin reaccionar (**119**), y un tercer

compuesto que no eluye en el sistema 1:1. Esto podría indicar la posible desprotección del grupo carbamato dando como resultado los compuestos **145** y **146**.



Esquema 42: Posibles productos en la reacción aza-Fries.

Una manera de intentar elevar el rendimiento fue tratando de aislar el posible producto desprotegido (**145**, **146**) y hacerlo reaccionar con más $(\text{BOC})_2\text{O}$ (**133**, **Esquema 43**). Esta reacción podría comprobar la posible desprotección del grupo amino y la presencia de más compuesto **142**.



Esquema 43: Intentos por proteger los posibles intermediarios **145** y **146**.

Los intentos por proteger el tercer compuesto mayoritario resultante de las radiaciones fueron negativos. Es posible que la L-quinurenina formada continúe reaccionando hasta formar HQN (**76**) o quinurenina amarilla (**77**, **Esquema 18**); sin embargo, esto aún no ha sido comprobado.

6. Conclusiones.

Se desarrolló una metodología de síntesis enantioselectiva sencilla para la obtención de la molécula L-quinurenina con rendimientos competitivos, comparados con los reportados en la literatura.

Usando como modelo una amida derivada de la anilina, se determinaron las condiciones experimentales adecuadas para realizar la reacción fotoquímica *aza*-Fries, que posteriormente se utilizaron para la obtención de L-quinurenina.

Como una extensión de la metodología desarrollada, se logró la obtención de *homo*-L-quinurenina, partiendo de derivados de ácido L-glutámico.

Por razones desconocidas hasta el momento, cuando se usaron los correspondientes enantiómeros, ácido *R*-aspártico y ácido *R*-glutámico, no se obtuvieron la D-quinurenina y *homo*-D-quinurenina respectivamente.

Todos los intermediarios y productos finales fueron caracterizados de manera satisfactoria usando una combinación de métodos espectroscópicos (RMN, IR) y espectrométricos (EM).

7. Parte experimental

7.1 Métodos generales

Los reactivos y disolventes anhidros (piridina y CH_3CN), fueron destilados sobre CaH_2 , el THF se destiló en presencia de sodio y benzofenona. Los experimentos sensibles a la humedad, se realizaron en material previamente secado en la estufa, sellados con un tapón de hule septum, bajo una atmósfera de nitrógeno. El calentamiento para cada una de las reacciones se realizó mediante un baño de aceite.

Las cromatografías en capa fina, se realizaron en placas de vidrio (5 x 1 cm), recubiertas (0.25 mm) con gel sílice SIL G 50 UV₂₅₄. Los compuestos fueron visualizados mediante una lámpara de luz UV con longitudes de onda iguales a 254 nm y 356 nm. Las purificaciones en cromatografía en columna flash se llevaron a cabo usando gel de sílice (230-400 mallas) de la marca Macherey Nagel. Las mezclas de disolvente preparadas para cada experimento, se encuentran reportadas en porcentaje v/v.

7.2 Datos espectroscópicos y equipo.

Los espectros de masas de baja resolución (EMBR) fueron obtenidos en un espectrómetro JEOL SMX-102a. La ionización por impacto electrónico (IE), se llevó a cabo a 70 eV, la ionización química a 50 eV en amoniaco con gas reactivo y bombardeo atómico rápido (FAB) en modo de ion positivo en una matriz de alcohol nitrobenílico. Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron en un espectrómetro marca Perkin Elmer modelo 1605 utilizando KBr y solo se reportan las bandas diagnóstico. Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) se midieron en un equipo, Varian Unity Inova 300 en soluciones con disolventes deuterados a 300 MHz para ^1H y 75 MHz para ^{13}C , utilizando TMS como referencia interna. El desplazamiento químico (δ) y las constantes de acopleamiento (J) fueron determinadas, asumiendo un comportamiento de primer orden. La multiplicidad de las señales es indicada como: s (simple), d (doble), t (triple), c (cuarteto), q (quinteto) y m (múltiple). Las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hz. Las señales en RMN^1H fueron asignadas con base en el desplazamiento químico, multiplicidad y consistencia con una serie de estructuras similares. Las señales de RMN^{13}C fueron asignadas con base en el desplazamiento químico, multiplicidad y consistencia con una serie de estructura similares.

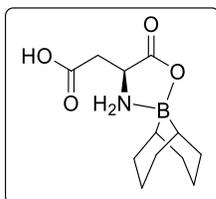
7.3 Procedimientos experimentales y caracterización.

7.3.1 Método general para la formación de oxazaborolidinonas.

En un matraz bola de dos bocas, se suspendió el aminoácido ácido *S*-aspártico (1 g, 7.5 mmol, 1.0 Eq.), en 50 mL de CH_3OH . Se dejó en agitación durante 30 min a una

temperatura de 70 °C, bajo atmósfera de nitrógeno y se adicionó gota a gota una solución 0.5 M de 9-BBN-H (6.7 mL, 2.7 mmol). Se continuó con calentamiento durante 38 horas. Se enfrió la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se evaporó el disolvente al vacío. Se adicionó THF caliente al residuo, se filtró y se concentró el producto al vacío. El producto se cristalizó (CH₂Cl₂/Hexano) obteniendo la oxazaborolidinona como cristales blancos.

(S)-4-(Carboximetil)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxaborolidin-5-ona.



A partir de 1.0 g de ácido S-aspártico (7.5 mmol, 1.0 Eq.). Se obtuvieron 1.67 g del producto **106** (88%) como cristales blancos, p.f. 190-195 °C.

IR-FT ATR ν_{\max} : 3346, 3221, 2920, 2847, 1717, 1681, 1203, 1115 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ : 0.52 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 1.39-1.78 (m, 13H), 2.72 (d, *J* = 6 Hz, 2H), 3.79 (s, 1H), 5.98 (t, *J* = 12 Hz, 1H), 6.45 (t, *J* = 12 Hz, 1H).

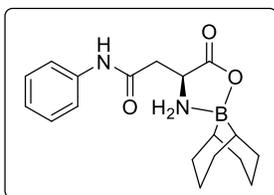
RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ : 23.9, 24.3, 25.2, 30.7, 30.9, 31.1, 31.2, 34.2, 51.1, 67.0, 171.6, 172.8.

EMBR (FAB), *m/z*: 254 [M+1]⁺, 162, 102, 88, 55.

7.3.2 Método general para la formación de amidas.

En un matraz bola bajo atmósfera de nitrógeno, se disolvió el correspondiente aminoácido (3.9 mmol, 1.0 Eq.) en THF anhidro (20 mL). A una temperatura de 0 °C se adicionó T3P (5.7 mmol, 3.0 Eq.), anilina (2.0 Eq.) y gota a gota piridina anhidra (7.8 mmol 2.0 Eq.). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 8 horas a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente a vacío y el residuo se lavó con una mezcla de agua/AcOEt. Se evaporó el AcOEt al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en columna con gel sílice (1:1 Hexano/AcOEt).

(S)-4-(N-carboxifenilamida)-2,2-borabicyclo[3.3.1]nonano-1,3,2-oxaborolidin-5-ona.



A partir de 2.86 g la oxazaborolidinona **106** (11.27 mmol, 1.0 Eq.) se obtuvieron 3.3 g del producto **110** (90%) como cristales de color marrón, p.f. 184-186 °C.

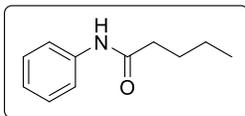
IR-FT ATR ν_{\max} : 3275, 2919, 2842, 1702, 1659, 1598, 1532, 1298, 1198 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ : 0.57-0.60 (d, *J* = 9, Hz, 2H), 1.61-1.82 (m, 14H), 2.87-2.90 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 6.05-6.09 (dd, *J* = 12 Hz, 1H), 6.49-6.56 (dd, *J* = 9 Hz, 1H), 7.06-7.11 (t, *J* = 6 Hz, 1H), 7.31-7.37 (t, *J* = 9 Hz, 2H), 7.61-7.64 (t, *J* = 9 Hz, 2H), 10.1 (s, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ : 20.2, 22.7, 23.3, 25.6, 30.3, 34.77, 51.0, 68.8, 118.9, 123.1, 128.5, 138.7, 168.0, 172.9.

EMBR (FAB), *m/z*: 329 [M+1]⁺, 209, 191, 166, 127, 94, 85.

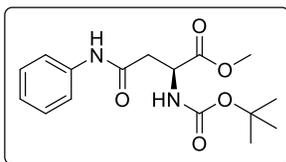
N-fenilpentamida.



A partir de 5 mL de ácido valérico (**114**, 54.76 mmol, 1.0 Eq.) se obtuvieron 8.72 g del producto **115** (90%) como cristales de color beige, p.f. 50-53 °C.

RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.93 -0.97(t, *J* = 12 Hz, 3H), 1.38 -1.45 (m, *J* = 6 Hz, 2H), 1.67 -1.75 (m, *J* = 3 Hz, 2H), 2.34 -2.39 (t, *J* = 3 Hz, 2H), 7.08 -7.13 (t, *J* = 3 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.28 -7.35 (t, *J* = 3 Hz, 2H), 7.53 -7.51 (d, *J* = 6 Hz, 2H).

(S)-N²-[(*tert*-butoxicarbonilamino)-N⁴-fenil]-4-oxobutanoato de metilo.



En un matraz bola conteniendo una solución de la oxazaborolidinona **110** (0.54 g, 1.67 mmol, 1.0 Eq.) y MeOH (10 mL), Se adicionó gota a gota 1 mL de SOCl₂ (1 Eq.) a 0 °C. La mezcla de reacción permaneció con calentamiento por una hora, se evaporó el disolvente al vacío. Se adicionó AcOEt al residuo y se dejó en agitación durante 12 hrs. Se separó el sólido formado y se disolvió en 15 mL de alcohol isopropílico, seguido de la adición de (Boc)₂O (0.65 g, 2.94 mmol 1.2 Eq) y se adicionó gota a gota Et₃N (0.68 mL, 4.91 mmol 1.0 Eq.). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. El residuo se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice (Hexano/AcOEt 1:2), obteniéndose 0.45 g (83%) de la amida **119** como un aceite café.

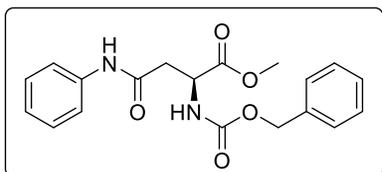
IR-FT ATR ν_{\max} : 3298, 1742, 1751, 1698, 1673, 1540, 1293, 1160 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ: 1.44 (s, 9H), 2.85-2.91 (dd, *J* = 3 Hz, 2H); 3.03-3.08 (dd, *J* = 6 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H); 4.57-4.60 (m, 1H), 5.85 (d, *J* = 9 Hz 1H), 7.05-7.10 (t, *J* = 9 Hz 1H), 7.24-7.30 (t, *J* = 9 Hz, 2H), 7.47-7.50 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 8.18 (s, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD) δ: 28.0, 50.0, 51.8, 78.3, 104.3, 118.9, 123.0, 128.5, 138.8, 155.0, 167.7, 172.1.

EMBR (FAB), *m/z*: 323 [M+1]⁺, 267, 223.

(S)-4-N²-[(Benciloxycarbonil)-N⁴-fenil]-4-oxobutanoato de metilo.



En un matraz redondo conteniendo una solución de la oxazaborolidinona **109** (1.0 g, 0.30 mmol, 1.0 Eq.) MeOH (10 mL), se adicionó gota a gota 1 mL de SOCl₂ (1.0 mL, 13.22 mmol, 43.1 Eq.) a 0 °C. La mezcla resultante se calentó a reflujo por una hora, se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó el disolvente a vacío. Se adicionó AcOEt al residuo y se dejó en agitación durante 12 hrs. Se separó el sólido y se disolvió en 15 mL de CH₂Cl₂, se agregó bencilcloroformato (52 mg, 0.30 mmol, 1.5 Eq), y gota a gota se adicionó Et₃N (0.54 mL, 3.92 mmol, 1.2 Eq.). La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente, se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía en

columna con gel sílice (1:2 Hexano/AcOEt), obteniéndose 0.80 g (74%) de la amida **120** como un aceite café.

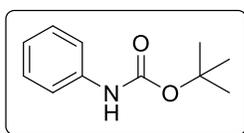
IR-FT ATR ν_{\max} : 3304, 1744, 1712, 1652, 1533, 1286, 1214 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.88-2.95 (dd, $J = 6$ Hz, 1H); 3.09-3.16 (dd, $J = 6$ Hz, 1H), 3.77 (s, 3H); 4.61-4.67 (m, 1H), 5.12 (s, 2H), 6.05 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.10 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 7.27-7.35 (m, 7H), 7.48 (t, $J = 9$ Hz, 3H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 39.9, 51.0, 53.0, 67.2, 120.1, 124.7, 127.9, 128.3, 129.0, 129.4, 136.2, 137.6, 156.5, 168.3, 171.9.

EMBR (FAB), m/z : 357 $[\text{M}+1]^+$, 313.

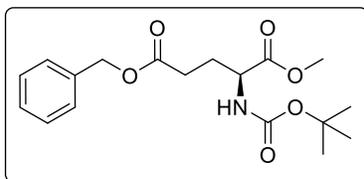
Terc-butilfenilcarbamato



En un matraz bola conteniendo una solución del compuesto **111** (1.0 g, 4.2 mmol, 1.0 Eq.), se adicionaron 0.6 ml de Et_3N (4.2 mmol, 1.0 Eq.) y se dejó en agitación obteniendo como subproducto el compuesto **130** como un sólido de color marrón. p.f. 130-132 $^\circ\text{C}$.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 2.13 (s, 9H), 7.06-7.11 (t, $J = 3$ Hz, 1H), 7.25-7.31 (t, 2H), 7.50-7.53 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 8.26 (s, 1H).

(S)-5-Bencil-(tert-butoxicarbonilamino)-5-oxopentanoato de metilo.



En un matraz bola conteniendo el aminoácido **135** (1.0 g, 2.96 mmol, 1.0 Eq.), y K_2CO_3 (0.51 g, 3.70 mmol, 1.5 Eq.), se adicionaron 20 mL de acetona anhidra bajo atmósfera de nitrógeno. Se adicionó CH_3I (4.93 mL, 79.3 mmol, 26.7 Eq.), y se calentó a reflujo por 2 horas. Se evaporó el disolvente al vacío, y el residuo se lavó con una solución de

ácido cítrico al 10% y una solución saturada de NaCl . El residuo se purificó por cromatografía en columna con gel de sílice y una mezcla 7:3 Hexano:AcOEt, resultando 1.03 g de la molécula **136** como un aceite café (99%).

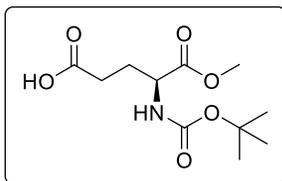
IR-FT ATR ν_{\max} : 3374, 2977, 1734, 1711, 1499, 1366, 1156 cm^{-1} .

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ : 1.33 (s, 9H), 1.80-1.92 (m, 1H), 2.04-2.15 (m, 1H), 2.33-2.39 (m, 2H), 3.60 (s, 3H), 4.23-4.25 (m, 1H), 5.01 (s, 2H), 5.27-5.30 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 7.34 (m, 5H).

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ : 27.9, 28.5, 30.5, 52.6, 53.0, 66.7, 80.2, 128.4, 128.5, 128.8, 135.9, 155.5, 172.7, 172.9.

EMBR (FAB), m/z : 351 $[\text{M}+1]^+$,

Ácido 5-metoxi-(S)-4-(*tert*-butoxicarbonilamino) pentanoico.



En un matraz redondo, se disolvió del ácido **136** (1.0 g, 2.8 mmol, 1.0 Eq.), en CH₃OH (20 mL), se adicionó Pd/C (0.01 g, 10% w/w), se extrajo el oxígeno mediante vacío. Se dejó bajo una atmósfera de H₂ (globo) en agitación a temperatura ambiente durante 18 horas. Se removió el filtrado sobre celita y el filtro se lavó con AcOEt. El disolvente del filtrado se evaporó al vacío, el residuo

fue purificado por una cromatografía en columna con una mezcla 1:1 Hexano:AcOEt, obteniendo 0.73 g de la molécula **137** un aceite translucido (99%) gracias a una cromatografía en columna.

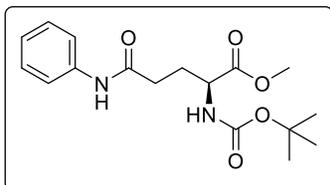
IR-FT ATR v_{\max} : 3373, 2955, 1737, 1712, 1514, 1159 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OH) δ : 1.27 (s, 9H), 1.78-1.83 (m, 1H), 1.99-2.02 (m, 1H), 2.27-2.29 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.58 (s, 3H), 4.15-4.17 (m, 1H), 5.58-5.60 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.82 (s, 1H).

RMN ¹³C (300 MHz, CDCl₃) δ : 27.7, 28.3, 30.1, 51.8, 52.9, 80.0, 155.4, 172.7, 173.2.

EMBR (FAB), m/z : 262 [M+1]⁺,

(S)-N²-[(*tert*-Butoxicarbonilamino)-N⁵-fenil]-5-oxapentanoato de metilo.



A partir de 0.73 g el carbamato **137** (2.82 mmol, 1.0 Eq.) se obtuvieron 0.67 g del producto **127** (70%) como un aceite color amarillo.

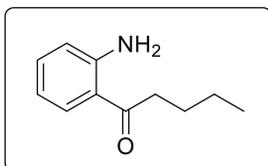
IR-FT ATR v_{\max} : 3381, 2919, 1737, 1449, 1409, 1296 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ : 1.44 (s, 9H), 1.90-2.00 (m, 1H), 2.21-2.32 (m, 1H), 2.43-2.48 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 3.72 (s, 3H), 3.35-4.41 (m, 1H), 5.46-5.48 (d, $J = 6$ Hz, 1H), 7.06-7.11 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 7.28-7.33 (t, $J = 6$ Hz, 2H), 7.56-7.59 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 8.64 (bs, 1H).

7.3.3 Método General para la reacción de transposición *aza*-Fries.

Se colocó la correspondiente amida (**115**, 0.28 mmol, 1.0 Eq. **119**, 0.31 mmol 1.0 Eq. **120**, 0.29 mmol 1.0 Eq. y **127**, 0.28 mmol 1.0 Eq.) en un reactor de cuarzo marca "Ace Glass Incorporated" (Cat. 7825-30), bajo atmósfera de nitrógeno. Se adicionó CH₃CN seco, la solución se irradió durante 12 horas con una lámpara UV (254 nm). Se evaporó el disolvente a vacío y el residuo se purificó en columna (1:1 Hexano/AcOEt).

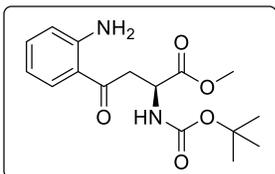
1-2(Aminofenil)penta-1-ona.



A partir de 50 mg del compuesto **115** (0.28 mmol, 1.0 Eq.) se obtuvieron 20 mg del producto **116** (40%) como un aceite de color amarillo.

RMN ¹H: (300 MHz, CDCl₃) δ: 0.92-0.96 (t, *J* = 6 Hz, 3 H), 1.21-1.46 (m, *J* = 3 Hz, 2H), 1.66-1.74 (m, *J* = 3 Hz, 2H), 2.91-2.96 (t, *J* = 3 Hz, 2H), 6.27 (s, 1H), 6.63-6.65 (t, 2H), 7.23-2.29 (m, 1H), 7.74-7.77 (d, *J* = 12 Hz, 1H).

(S)-4-(2-Aminofenil)-2-(tert-butoxicarbonilamino)-4-oxobutanoato de metilo.



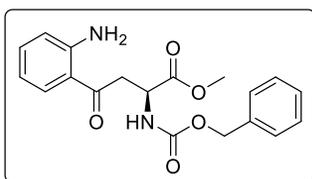
A partir de 0.99 g de la amida **119** (2.94 mmol, 1.0 Eq.), se obtuvieron 0.48 g del producto **142** (49%) como un aceite de color café.

IR-FT ATR v_{\max} : 3357, 2979, 1703, 1594, 1435, 1365, 1160 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 1.44 (s, 9H), 3.46-3.54 (dd, *J* = 6 Hz, 2H); 3.68-3.77 (dd, *J* = 6 Hz, 1H), 3.70 (s, 3H); 4.64-4.69 (m, 1H), 5.60 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 6.24 (s, 2H), 6.63-6.68 (t, *J* = 6 Hz, 2H), 7.25-7.31 (t, *J* = 3 Hz, 2H), 7.31 (d, *J* = 9 Hz, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz, DMSO-d₆) δ: 50.3, 52.9, 67.3, 116.2, 117.6, 128.3, 128.4, 128.8, 131.2, 135.2, 150.8, 171.8, 173.7.

(S)-4-(2-Aminofenil)-2-[(benciloxicarbonilamino)]-4-oxobutanoato de metilo.



A partir de 100 mg de la amida **120** (0.28 mmol, 1.0 Eq.), se obtuvieron 0.39 mg del producto **143** (39%) como un aceite de color café.

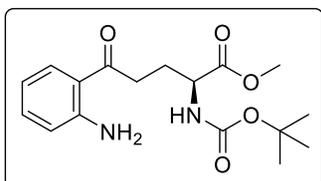
IR-FT ATR v_{\max} : 3456, 3347, 1705, 1640, 1584, 1499, 1451, 1268 cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 3.48-3.56 (dd, *J* = 3 Hz, 1H), 3.73-3.80 (dd, *J* = 3 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 5.88 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 6.23 (s, 2H), 6.62-6.66 (t, *J* = 6 Hz, 2 H), 7.26-7.28 (t, *J* = 6 Hz, 1H), 7.31-7.36 (m, 5H), 7.65-7.67 (t, *J* = 6 Hz, 1H).

RMN ¹³C (300 MHz, CD₃OD) δ: 27.8, 28.4, 30.2, 34.1, 52.7, 52.9, 80.4, 120.0, 124.3, 129.1, 130.25, 138.3, 155.7, 156.6, 172.8, 177.4.

EMBR (EI), *m/z*: 356 [M]⁺, 305, 238, 194.

(S)-5-(2-Aminofenil)-2-[(tert-butoxicarbonilamino)]-5-oxopentanoato de metilo.



A partir de 0.98 g del carbamato **127** (2.91 mmol, 1.0 Eq.), se obtuvieron 0.40 g del producto transpuesto **144** (39%) como un aceite de color café.

IR-FT ATR v_{\max} : 3331, 2978, 1687, 1600, 1521, 1158, cm⁻¹.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ: 1.36 (s, 9H), 1.89-2.02 (m, 1H), 2.16-2.27 (m, 1H), 2.86-3.09 (m, 2H), 3.68 (s, 3H), 2.31-4.33 (m, 1H), 5.09-5.12 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 6.54-6.59 (t, *J* = 9 Hz, 2H), 7.16-7.21 (t, *J* = 3 Hz, 1H), 7.62-7.65 (t, *J* = 9 Hz, 1H).