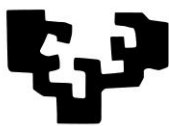


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

Departamento de Química Orgánica I
Facultad de Farmacia

**Reacciones de cicloadición [4+2] inter- e
intramolecular para la síntesis de quinolinas
fosforadas y naftiridinas como inhibidores enzimáticos**

Endika Martín Encinas

2018

AGRADECIMIENTOS

“Hacer grandes cosas es difícil, pero liderar grandes cosas lo es aún más” - Friedrich Nietzsche

Al profesor Francisco Palacios y a la doctora Concepción Alonso por su disponibilidad, paciencia y por darme la oportunidad de formarme bajo su dirección. A la doctora Gloria Rubiales por su apoyo incondicional y por sus sabios consejos. Gracias a los tres por hacerme el camino más fácil y por enseñarme todos los valores que un científico debe conocer. Gracias por hacerme crecer como químico y como persona.

“La unidad es la variedad, y la variedad en la unidad es la ley suprema del universo” – Isaac Newton

A mis dos *hermanas mayores* de laboratorio: la doctora María Fuertes, por su ayuda en todo momento, por sus ánimos y por las largas charlas, haciéndolo, entre risas, que cada día cuente; la doctora Carme Masdeu, por esa positividad que te caracteriza, por adoptarnos a todos como *tus niños* y por manifestarme todos los días que puedo contar contigo. Gracias a las dos por estar en lo bueno y en lo malo.

A los doctores, Jesús de los Santos, Javier Vicario, Edorta Martínez de Marigorta, Ana Ochoa de Retana, Begoña Lecea, Mirari Ayerbe y a la técnico Pilar Pérez. Gracias a todos, por esos *pequeños favores* que día a día os he pedido y que siempre me habéis concedido. Gracias por los consejos, por las charlas y por vuestra disposición a ayudarme siempre con una sonrisa.

A mis colegas de laboratorio: Victor Carramiñana (*pequeño aziridino*), empezamos la carrera juntos y ahora, terminaremos juntos el mismo camino que empezamos hace 8 años, gracias; Xabier del Corte (*pequeña lactamita*) por esos desayunos en el PerretxiCo y por ayudarme en TODO lo que he necesitado en este viaje; Aitor Maestro (*Gram Heavy*), por las largas discusiones sobre química en nuestro camino a casa y por haberme enseñado que si trabajas en lo que te gusta, jamás volverás a trabajar. Asier Selas, compañero de línea, gracias por estar siempre dispuesto a echarme una mano. A los doctores, Zohair Sbai, Maria González y Ander Vélez del Burgo, por acogerme de tan buena forma cuando llegue aquí y por ayudarme en mis primeros pasos en el laboratorio.

“El verdadero viaje de descubrimiento no es buscar nuevas tierras, sino mirarlas con nuevos ojos” –
Voltaire

Departamento de Ciencias Biomédicas (Universidad de León)

Gracias al Profesor Rafael Balaña por darme la oportunidad de trabajar y aprender más sobre ensayos biológicos en su departamento. Gracias a la profesora Rosa Reguera y a la doctora Yolanda Pérez por su paciencia y sus enseñanzas. Gracias a Ana Tejería, por ayudarme hasta el último minuto, por acogerme incondicionalmente y por enseñarme León de una forma tan original.

Instituto Universitario CINQUIMA (Universidad de Valladolid)

Gracias al Profesor Pablo Espinet por darme darme la oportunidad de ampliar mis conocimientos en Química Inorgánica. Gracias al doctor, Jesus Maria Martinez de Ilarduya por enseñarme y asesorarme en todo momento en el laboratorio y por ser tan buen anfitrión en todos sentidos. Gracias también, a mis AMIGOS de laboratorio, Jaime, Estefanía, Olmo, María Pérez, Verónica, Beatriz y María Barcenilla por su gran acogida, por enseñarme Valladolid, por no dejarme solo en ningún momento y por ayudarme en todo lo que he necesitado.

“Odola ez degu elkarbanatzen baina guraso berdinen kumeak gea ordea” – Akelarre de Zugarramurdi

A mis amigos, mi *kuadrila*, juntos desde hace más de 18 años. Por todos los momentos que hemos pasado juntos y por todo el apoyo que he recibido de vosotros en esta aventura que ha sido la Tesis Doctoral. Gracias por la comprensión de los últimos días y por las visitas inesperadas para levantarme el ánimo. Gracias simplemente por compartir todo conmigo.

“La familia es un complemento nuestro, complemento mayor que nosotros, anterior a nosotros y que nos sobrevivirá con lo mejor de nosotros” – Alphonse Marie Louis de Lamartine

A los más importantes, mis padres. Gracias por dar TODO siempre por mí, aun teniendo que dejar de lado vuestros propios intereses, siempre habéis facilitado mi camino en todos los aspectos de mi vida, gracias. A mi hermana, mi abuela y el resto de familia. Gracias por poner cada uno una parte de vosotros, un pequeño detalle, para que pueda seguir adelante en todo lo que me proponga.

Abreviaturas, acrónimos y símbolos

Introducción

1. El cáncer y las topoisomerasas

1.1. La topoisomerasa IB como diana en la terapia contra el cáncer

1.2. La camptotecina y sus derivados

1.3. No derivadas de camptotecina

2. Reacción de Povarov

3. Objetivos

Capítulo I: Síntesis de derivados de quinolinas fosforadas

I – 1. Introducción y objetivos

I – 2. Síntesis de 1,2,3,4-tetrahydroquinolinas fosforadas

I – 3. Síntesis de quinolinas fosforadas

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

II – 1. Introducción

II – 2. Objetivos

II – 3. Síntesis de derivados [1,5]naftiridinas fusionadas

II – 3.1. Preparación de aldehídos

II – 3.2. Síntesis de aldiminas derivadas de 3-aminopiridina

II – 3.3. Síntesis de tetrahydro[1,5]naftiridinas fusionadas mediante la reacción de Povarov

II – 3.4. Deshidrogenación de las nuevas tetrahydro[1,5]naftiridinas fusionadas

II – 3.5. Síntesis de [1,5]naftiridinas fusionadas mediante la reacción de Povarov

II – 4. Síntesis de derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas

II – 4.1. Síntesis de aldiminas derivadas de 2-aminopiridina

II – 4.2. Síntesis de tetrahydro[1,8]naftiridinas fusionadas

II – 4.3. Deshidrogenación de las nuevas tetrahydro[1,8]naftiridinas fusionadas

II – 4.4. Síntesis de [1,8]naftiridinas fusionadas mediante la reacción de Povarov

II – 5. Síntesis de pirido[1,2a]pirimidinas fusionadas

Capítulo III: Evaluación de la actividad biológica de los nuevos compuestos sintetizados

III – 1. Evaluación de la actividad de inhibición de la topoisomerasa I humana de los nuevos derivados sintetizados

III – 1.1. Introducción

III – 1.2. Estudio de inhibición de la actividad enzimática de la topoisomerasa I de los derivados de quinolina 5, 10, 11

III – 1.3. Estudio de la actividad de inhibición de la topoisomerasa I de los nuevos derivados de [1,5]naftiridina

III – 1.4. Estudio de la actividad de inhibición de la topoisomerasa I de los nuevos derivados de [1,8]naftiridina y pirido[1,2a]pirimidina

III – 2. Estudios de actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados en diferentes líneas celulares humanas

III – 2.1. Estudios de citotoxicidad de los derivados fosforados 5, 9 y 10

III – 2.2. Estudios de citotoxicidad de las [1,5]naftiridinas fusionadas

III – 2.3. Estudios de citotoxicidad de las [1,8]naftiridinas fusionadas y pirido[1,2a]pirimidinas

III – 3. Estudio de inhibición de la actividad enzimática de la topoisomerasa I de leishmania

III – 3.1. Introducción

III – 3.1.1. Tratamientos más destacables de la leishmania

III – 3.1.2. La topoisomerasa I como diana contra la leishmaniasis

III – 3.1.2.1. Derivados de la camptotecina

III – 3.1.2.2. No derivados de la camptotecina

III – (ADENDA)- 3.2. Evaluación de la actividad antileishmanicida de los derivados 5, 9 y 10

Capítulo IV: Conclusiones

IV – 1. Conclusiones

Capítulo V: Parte experimental

V – 1. Técnicas analíticas generales

V – 1.1. Técnicas analíticas

V – 1.2. Cromatografía

V – 1.3. Disolventes y reactivos

V – 2. Parte experimental: Síntesis de los compuestos

V – 2.1. Parte experimental: Capítulo I

V – 2.2. Parte experimental: Capítulo II

V- 3. Parte experimental: Ensayos biológicos

V – 3.1. Enzima y materiales

V – 3.2. Ensayos de relajación

V – 3.3. Materiales y reactivos en ensayos de citotoxicidad

V – 3.4. Ensayos de citotoxicidad

V – 3.5. Resultados de inhibición y citotoxicidad

Abreviaturas, acrónimos y símbolos

- **ác.** → Ácido.
- **AcOEt** → Acetato de etilo.
- **AcO** → Acetato.
- **AcOH** → Ácido acético.
- **A.L.** → Ácido de Lewis.
- **Aq.** → Acuoso.
- **Ar** → Arilo.
- **ARG** → Arginina.
- **ARN** → Ácido ribonucleico.
- **ATCC** → American Type Culture Collection.
- **CAN** → Nitrato amónico de cerio.
- **C_{arom}** → Carbono aromático.
- **Conv.** → Conversión.
- **d** → Doblete.
- **dd** → Doble doblete.
- **ddd** → Doble doble doblete.
- **dddd** → Doble doble doble doblete.
- **DDQ** → 2,3-Dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona.
- **DME** → Dimetil éter.
- **DMSO** → Dimetil sulfóxido.
- **DNAsas** → Desoxirribonucleasas.

Abreviaturas, acrónimos y símbolos

- **dq** → Doble cuadruplete.
- **dt** → Doble triplete.
- **E** → Enzima.
- **Ed.** → Editores.
- **EDTA** → Ácido etilendiaminotetraacético.
- **EMEM** → Medio *Eagle* mínimo esencial.
- **Et** → Etilo.
- **eq.** → Equivalentes.
- **FDA** → Agencia de Alimentos y Medicamentos (*Food and Drug Administration*).
- **g.** → Gramos.
- **G0** → Fase de descanso.
- **G1** → Interfase.
- **G2** → Segunda fase de descanso.
- **h** → Horas.
- **H_{arom}** → Protón aromático.
- **HMBC** → Correlación heteronuclear a larga distancia (*Heteronuclear Multiple Bond Correlation*).
- **HMQC** → Correlación heteronuclear a un enlace (*Heteronuclear multiple quantum correlation*).
- **HRMS** → Espectrometría de masas de alta resolución (*High Resolution Mass Spectrometry*).
- **Hz** → Hercios.
- **IC₅₀** → Concentración del inhibidor necesaria para reducir *in vitro* el crecimiento celular en un 50%.

Abreviaturas, acrónimos y símbolos

- **IE** → Impacto electrónico.
- **IR** → Espectro de infrarrojo.
- **J** → Constante de acoplamiento.
- **Kcal** → Kilocaloria.
- **L** → Litros.
- **L** → Isoforma lineal del ADN.
- **LC** → Cromatografía de líquidos.
- **m** → Multiplete.
- **M** → Molar.
- **M⁺** → Ión molecular.
- **mbar** → Milibar.
- **Me** → Metilo.
- **MHz** → Megahercios.
- **min.** → Minutos.
- **mL** → Mililitros.
- **mM** → Milimolar.
- **mmol** → Milimol.
- **MS** → Espectro de masas.
- **m/z** → Relación masa/carga.
- **nm** → Nanómetros.
- **nM** → Nanomolar.
- **NOESY** → Nuclear Overhauser effect spectroscopy.

Abreviaturas, acrónimos y símbolos

- **ORTEP** → Oak ridge thermal ellipsoid plot.
- **Ox.** → Oxidación.
- **PBS** → Phosphate buffered saline.
- **Pf.** → Punto de fusión.
- **Ph** → Fenilo.
- **pH** → Indicador de acidez de una sustancia (*Pondus Hydrogenium*).
- **ppm** → Partes por millón.
- **Psi** → Libra por pulgada cuadrada.
- **q** → Cuadruplete.
- **Q-TOF** → Espectrómetro de masas de cuadrupolo con analizador de tiempo de vuelo (*Cuadrupole Time Of Flight*).
- **refl.** → Reflujo.
- **Rdto.** → Rendimiento.
- **RMN** → Resonancia magnética nuclear.
- **r.p.m.** → Revoluciones por minuto.
- **RPMI** → Medio de cultivo Roswell Park Memorial Institute.
- **s** → Singlete.
- **sa** → Singlete ancho.
- **SC** → Isoforma superenrollada del ADN.
- **SIDA** → Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.
- **t** → Triplete.
- **t** → Tiempo.

Abreviaturas, acrónimos y símbolos

- **T** → Temperatura.
- **t.a.** → Temperatura ambiente.
- **Tf** → Triflato.
- **TGF** → Factor de crecimiento transformante.
- **THF** → Tetrahidrofurano.
- **TiPBS** → 6-O-2,4,6-Triisopropilbencenosulfonil.
- **TMS** → Trimetilsilil.
- **Ts** → Grupo tosilo.
- **TYR** → Tirosina.
- **UV** → Ultravioleta.
- **V** → Voltios.
- **Å** → Amstrong.
- **μl** → Microlitro.
- **μM** → Micromolar.
- **δ** → Desplazamiento químico.

Introducción

1. El cáncer y las topoisomerasas

Cáncer es la palabra que define un grupo de enfermedades relacionadas que tienen en común un comportamiento celular anómalo con una reproducción celular descontrolada y continua que se extiende hacia los demás tejidos del cuerpo. De forma natural, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células que el cuerpo necesite reponer, ya que cuando una célula está dañada o cumple su ciclo celular, muere y otra célula ocupa su lugar. El cáncer puede empezar en cualquier parte del cuerpo, y comienza cuando una célula envejecida o dañada sobrevive en vez de morir y nuevas células crecen, innecesariamente, a su alrededor. Estas células extra pueden dividirse de forma continua pudiendo formar aglomeraciones llamadas tumores (figura 1).

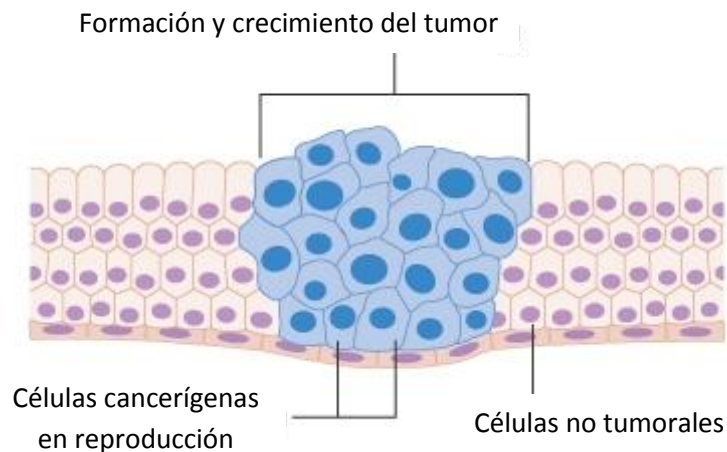


Figura 1. Formación de un tumor.

La carcinogénesis es la conversión de células, que poseen un control del mecanismo de retroalimentación homeostática, en células totalmente autónomas y capaces de crecer e invadir incontroladamente otras zonas del organismo. El proceso por el cual una célula sana pasa a convertirse en una célula maligna requiere de una serie de daños en el genoma llamados mutaciones. Estos daños pueden ser resultado de procesos endógenos, como errores en la replicación del ADN, inestabilidad química intrínseca presente en algunas bases del ADN o ataques de radicales libres, algunos de los cuales son generados en nuestro propio metabolismo. Además, la

estructura del ADN también puede verse dañada por interacciones con agentes exógenos como por ejemplo, radiaciones ionizantes, radiación ultravioleta o agentes cancerígenos de naturaleza química. Con el paso de los años y debido a la evolución, las células han desarrollado la capacidad de reparar algunos de estos daños por sí mismas, a pesar de ello hay errores y cambios permanentes en el genoma, las mutaciones, que por diversas razones no pueden resolver.¹ El estudio y caracterización de estos daños celulares podrían liderar el hallazgo de las causas del cáncer en humanos.

El cuerpo humano de un adulto está formado por aproximadamente 3.72^{13} células, las cuales se reproducen y se autoregulan dependiendo de su naturaleza y su genoma.² Un claro ejemplo de este control celular podría ser el de las células de la capa epitelial de los intestinos las cuales son remplazadas cada 10 días. Este riguroso control sobre la multiplicidad celular es logrado mediante una red de mecanismos moleculares los cuales gobiernan la proliferación de células y la muerte de éstas por apoptosis.

El ciclo celular³ o el ciclo de división celular, es una serie de sucesos que tienen lugar en las células eucariotas, mediante los cuales la célula crece y se divide. En este tipo de células, las que tienen núcleo, el ciclo celular puede ser organizado en distintas fases (figura 2):

¹ J. S. Bertram, *Mol. Aspects Med.*, **2000**, *21*, 167-223.

² E. Bianconi, A. Piovesan, F. Facchin, A. Beraudi, R. Casadei, F. Frabetti, L. Vitale, M. C. Pelleri, S. Tassani, F. Piva, *Ann. Hum. Biol.*, **2013**, *40*, 463-471.

³ G. M. Cooper. *The Cell: A molecular Approach*. 2ª ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, **2000**.

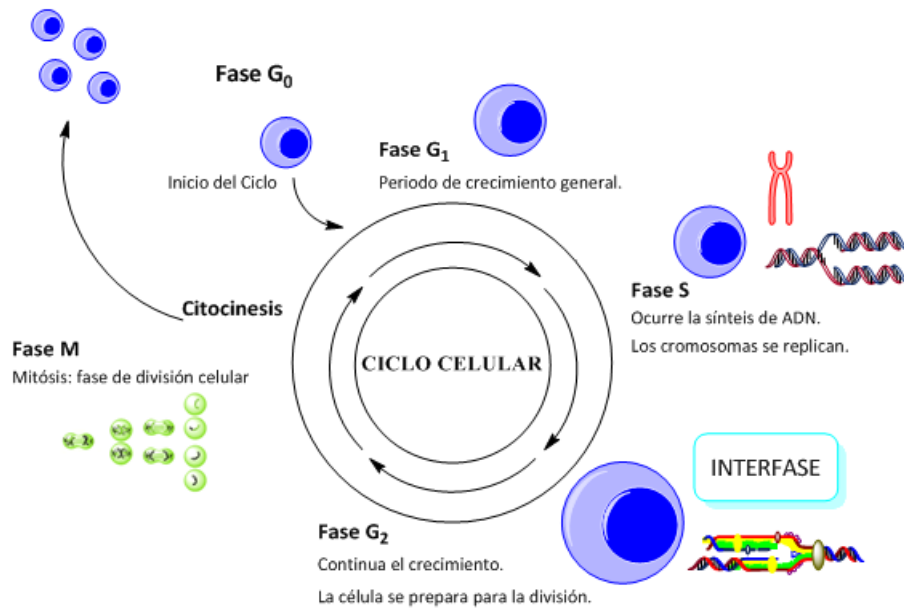


Figura 2. Ciclo celular.

Fase G₁: es la primera fase del ciclo celular en la que se produce un crecimiento de la célula junto a la síntesis de nuevas proteínas y del ARN.

Fase S: en esta segunda fase del ciclo se produce la replicación o la síntesis del ADN. Con la duplicación del ADN, el núcleo contiene el doble de proteínas nucleares y de cromosomas que al principio.

Fase G₂: es la tercera fase de crecimiento del ciclo celular en la que continúa la síntesis de proteínas y ARN. Termina cuando la cromatina empieza a condensarse al inicio de la mitosis.

Fase M: Llamada fase de mitosis y citocinesis, es la división celular en la que una célula progenitora se divide en dos células hijas idénticas. Es la etapa más corta y varía según el tipo de célula. Una vez finalizada, las células que, temporalmente, están sin dividirse se encuentran en la llamada **Fase G₀**.

En células sanas, la división celular sólo tiene lugar cuando reciben ciertas señales químicas, que son interpretadas en el núcleo, para más tarde ser reproducidas como información genética y dar lugar a la replicación celular. Además, las señales que reciben las células también describen cuando tienen que parar de hacerlo para prevenir una división descontrolada. Por el contrario, las células tumorales no responden a los estímulos químicos ya que no poseen la información y el control necesarios para su correcta división.

Los puntos de control del ciclo celular⁴ son caminos de regulación existentes en la propia célula que controlan el orden y el tiempo en el transcurso del ciclo celular y comprueban de forma rigurosa etapas críticas como la replicación del ADN o la segregación de los cromosomas. Además, los puntos de control dañados dan como resultado una inestabilidad genómica que se traduce en la transformación de una célula sana en una cancerígena. Estudios recientes han probado la relación entre las señales de los puntos de control y el daño en el ADN que poseen las células tumorales.

El ADN dañado puede ser causado por agentes químicos o físicos externos, de los cuales muchos son reconocidos hoy en día como cancerígenos medioambientales. La reacción química más frecuente que causa daño en el ADN puede caracterizarse como un ataque electrófilo a un residuo nucleófilo.⁵ El residuo más vulnerable a este tipo de ataques es la guanina y es conocido que los cambios producidos por este ataque interfieren en el proceso de reconocimiento de bases a la hora de replicar el ADN.

Los agentes físicos externos causantes de daños irreparables en la estructura del ADN más estudiados y conocidos son las radiaciones, entre ellas, las radiaciones ionizantes y la radiación ultravioleta. Por un lado, las radiaciones ionizantes pueden causar un daño directo e irreparable en el ADN ya que poseen la habilidad de romper las hebras del ADN, además, también pueden causar daño de forma indirecta, ya que este tipo de radiaciones puede ionizar las moléculas de agua dejando al ADN en un ambiente con radicales libres.⁶ Por otro lado, la radiación ultravioleta no posee

⁴ S. J. Elledge, *Science*, **1996**, *274*, 1664-1672.

⁵ J. A. Miller, E. C. Miller, *Mutat. Res.*, **1975**, *33*, 25-26.

⁶ J. Hall, S. Angele, *Mol. Med.Today*, **1999**, *5*, 157-164.

la energía necesaria para formar iones pero si para ser absorbida por las bases nitrogenadas que componen el ADN e implicarlas en reacciones químicas radicalarias. Por ejemplo, la reacción que ocurre entre dos timidinas adyacentes en la hebra de ADN da como resultado un dímero causando un daño irreparable en el ADN.⁷

Desde que surgió la vida, el genoma ha estado expuesto constantemente a agentes químicos y físicos dañinos tanto exógenos como endógenos. Debido a esto, las células han desarrollado mecanismos de autoreparación del ADN.⁸ Esta respuesta a un ADN dañado es esencial para mantener la integridad del genoma,⁹ ya que sin reparación alguna, estaríamos ante un proceso con total libertad de error dando lugar a un ADN dañado y, éste a todo tipo de mutaciones.

La naturaleza helicoidal y complementaria de las hebras del ADN representa una elegante solución a la complicada tarea de alojamiento genético de tal forma que permita accesibilidad a procesos críticos, como por ejemplo, la replicación y la transcripción. Este modelo de estructura fue descubierto por Rosalind Franklin (ilustración 1),¹⁰ cuyos experimentos con rayos X demostraron que el ADN se componía de dos hebras en forma helicoidal. Más tarde, Watson y Crick¹¹ complementaron esta teoría, gracias a esta información, dando lugar así al modelo estructural del ADN tal y como hoy lo conocemos (figura 3).

⁷ R. Doll, R. Peto, *J. Natl. Cancer Inst.*, **1981**, *66*, 1191-1308.

⁸ J. W. Harper, D. J. Elledge, *Mol. Cell*, **2007**, *28*, 739-745.

⁹ E. C. Friedberg, A. Aguilera, M. Gellert, P. C. Hanawalt, J. B. Hays, A. R. Lehmann, T. Lindahl, T. Lowndes, A. Sarasin, R. D. Wood, *DNA Repair*, **2006**, *5*, 986-996.

¹⁰ A. Sayre, *Rosalind Franklin and ADN*, **1975**, Nueva York.

¹¹ J. D. Watson, F. H. C. Crick, *Nature*, **1953**, *171*, 964-967.



Ilustración 1. Rosalind Franklin, James Watson y Francis Crick.

Por lo tanto, el modelo se basa en dos hebras de ADN alineadas antiparalelamente una con la otra. De forma complementaria, los nucleótidos que forman cada hebra de ADN interactúan mediante puentes de hidrógeno estabilizando la molécula (figura 3). Cada hebra de ADN rodea de forma helicoidal a la otra, surgiendo espacios que podrían clasificarse según su tamaño en dos grupos: por un lado el *surco mayor*, la parte más amplia y profunda del espacio interhelicoidal (22Å de amplitud); y por otro lado, el espacio más superficial y estrecho que se denomina *surco menor* (12Å de amplitud).

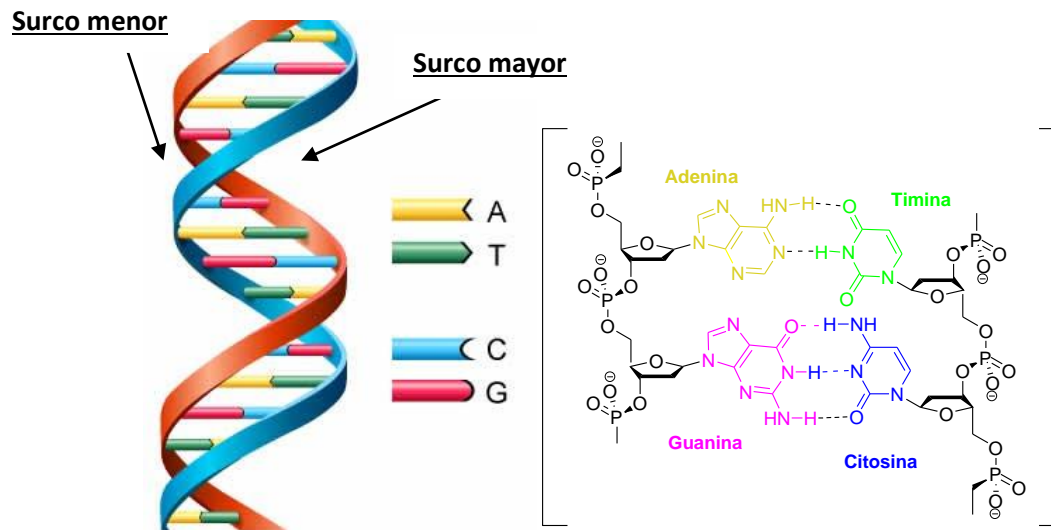


Figura 3. Fragmentos de la estructura de doble hélice del ADN.

Sin embargo, debido a su gran tamaño, el ADN de las células eucariotas se encuentra totalmente empaquetado en los cromosomas, por lo que acceder a la información que contiene la doble hélice presenta un problema topológico significativo.¹² Más concretamente, la tensión superhelicoidal y otras consecuencias topológicas que resultan de la separación de las dos hebras que componen el ADN en procesos como la replicación, transcripción y recombinación tienen que ser resueltas para que estos procesos puedan llevarse a cabo.¹³ Las topoisomerasas son las enzimas encargadas de resolver estas tensiones.

Las ADN topoisomerasas son enzimas que están estrechamente relacionadas con la estructura helicoidal del ADN¹⁴ debido a que se encargan de relajar la tensión torsional generada durante la replicación, transcripción, recombinación, reparación y condensación cromosómica y por lo tanto, son de vital importancia para cualquier célula que experimente división. El nombre de estas enzimas proviene de la acción de romper (-asa) el ADN en diferentes isómeros con diferente topología llamados topoisómeros. Las topoisomerasas han sido halladas en los tres dominios celulares de la vida (*archaea*, *eukarya* y *bacteria*), así como en virus que infectan a eucariotas y/o bacterias.

El descubrimiento de diferentes tipos de ADN topoisomerasas ha traído consigo una profunda comprensión de su importancia en las células. Hay dos clases de topoisomerasas, las de tipo I y las de tipo II. Las enzimas de tipo I escinden una única hebra de la hélice de ADN y no requieren de ATP para catalizar los complejos reordenamientos topológicos del ADN de los cuales son responsables, mientras que, las del tipo II, escinden ambas hebras¹⁵ y necesitan ATP para realizar su función.

Una de las topoisomerasas más estudiadas es la topoisomerasa I, la cual ha sido subdividida en dos grupos, tipo IA y tipo IB. La subfamilia de tipo IA se une covalentemente al extremo terminal 5' del ADN escindido, mientras que la subfamilia IB se une covalentemente al extremo 3' del ADN escindido durante el ciclo catalítico.

¹² J. B. Leppard, J. J. Champoux, *Chromosoma*, **2005**, *114*, 75-85.

¹³ J. J. Champoux, *Annu. Rev. Biochem.*, **2001**, *70*, 369-413.

¹⁴ J. C. Wang, *Biol. Chem.*, **1991**, *266*, 6659-6662.

¹⁵ J. C. Wang, *Annu. Rev. Biochem.*, **1996**, *65*, 635-692.

Introducción

Dentro de las topoisomerasas I en eucariotas, tenemos la topoisomerasa humana I. Esta enzima está compuesta por 765 aminoácidos (aa). Basándonos en estudios de proteólisis y estudios cristalográficos su estructura puede dividirse en cuatro dominios.

En la figura 4 se observa la estructura tridimensional de la topoisomerasa I humana unida covalentemente a la molécula de ADN y como se organiza en diferentes dominios llamados: dominio N-terminal (aa 1-214), dominio nuclear (aa 215-635), un *linker* (aa 636-712) y un dominio C-terminal (aa 713-765).

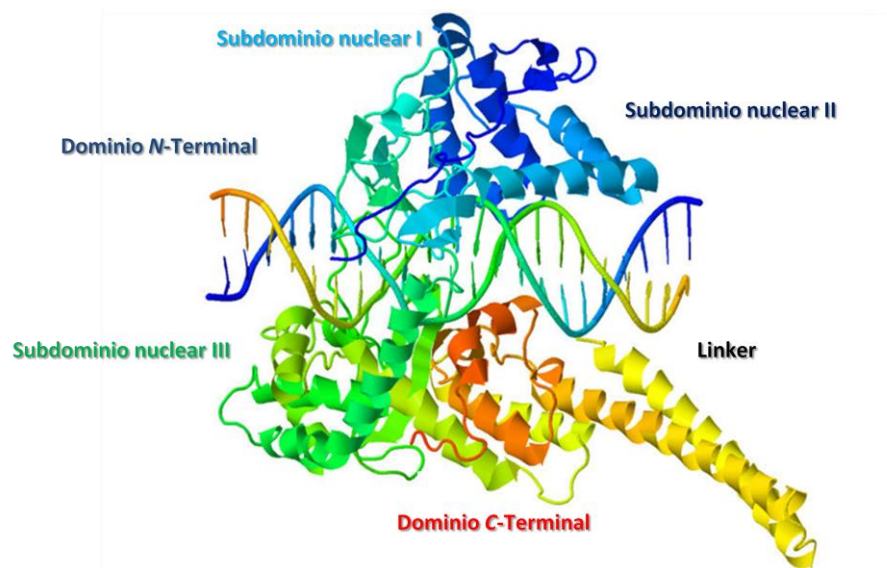


Figura 4. Complejo de una molécula de ADN y la topoisomerasa humana I (PDB 1A36).

El mecanismo enzimático de la topoisomerasa humana I (TopI) comienza con la unión de la enzima al ADN. A continuación, la enzima escinde una de las hebras del ADN y la hebra sin romper gira de una manera controlada a través del espacio que deja la enzima (figura 5) de forma que se reduce la tensión producida en la cadena de ADN al separarse las hebras. La reacción se completa con la religación de la hebra escindida.

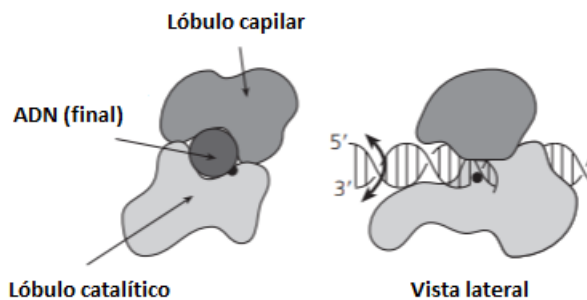


Figura 5. Mecanismo catalítico de la topoisomerasa I humana.

En la reacción de topoisomerización, una vez uno de los brazos de la enzima rodea a la molécula de ADN, cuatro de los amino ácidos activos residuales (Arg488, Lys532, Arg590 y His632) actúan para posicionar al grupo fosfato frente al ataque nucleófilo. A continuación, el centro activo de tirosina (Tyr723) da comienzo al ciclo catalítico mediante un ataque nucleófilo al grupo 3'-fosfato para formar el complejo enzimático TopI-ADN (ver figura 6).

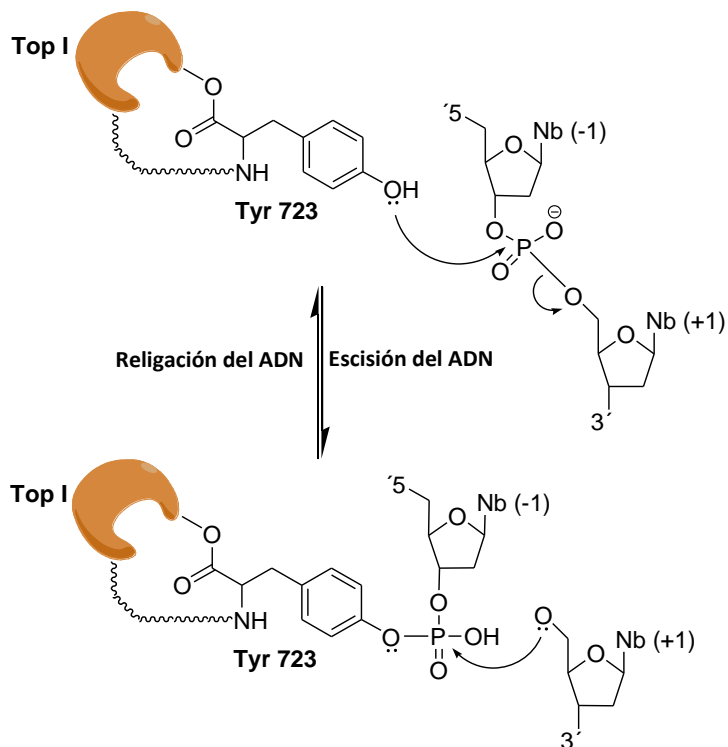


Figura 6. Formación del complejo TopI-ADN.

Introducción

En resumen, el papel de la topoisomerasa I es esencial y crucial en el proceso de replicación del ADN y en consecuencia en la proliferación celular. Además, se ha observado que la topoisomerasa I está sobreexpresada en las células tumorales. En consecuencia, se puede considerar la topoisomerasa I una diana atractiva a la hora de evitar el crecimiento de células tumorales evitando así la replicación del ADN en este tipo de células. Por esto, es extremadamente importante desarrollar nuevos fármacos con el objetivo de inhibir la actuación de estas enzimas.

1.1. La topoisomerasa IB como diana en la terapia contra el cáncer.

Las topoisomerasas IB pueden ser inhibidas por diferentes compuestos en varias etapas del proceso enzimático: inhibiendo la escisión del ADN, estabilizando el complejo covalente, o inhibiendo el proceso de religación.¹⁶ Los inhibidores de la TopI se denominan inhibidores cuando impiden la reacción de escisión y *venenos* cuando impiden el proceso de religación.¹⁷ Entre los *venenos* se incluyen fármacos aprobados por la FDA (*Food and Drug Administration*) para uso clínico, como por ejemplo, el compuesto natural camptotecina (CPT) **1**, cuyo nombre sistemático es (S)-4-etil-4-hidroxi-1*H*-pirano[3',4',6,7]indolizino[1,2-*b*]quinolina-3,14-(4*H*,12*H*)-diona¹⁸ (figura 7), y dos de sus derivados hidrosolubles: el topotecan (TPT) **2** y el irinotecan **3**. Estos derivados de camptotecina se unen reversiblemente al complejo covalente TopI-ADN, ralentizando la religación de la hebra escindida y por consiguiente induciendo la muerte celular.

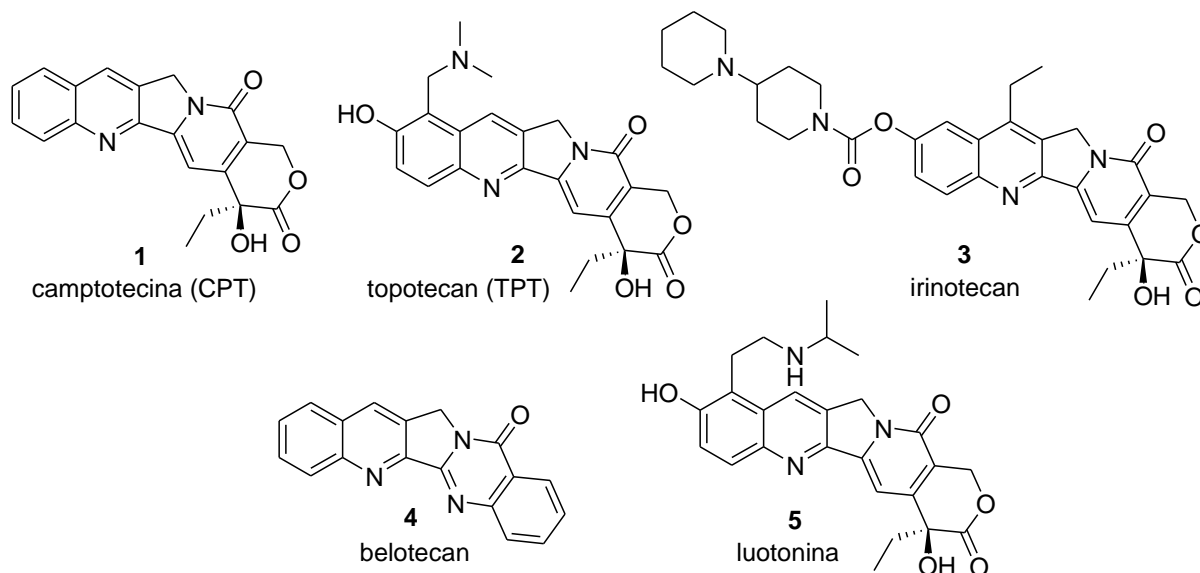


Figura 7. Camptotecina (CPT) y derivados y belotecan.

¹⁶ Y, Pommier, *ACS Chem. Biol.*, **2013**, *8*, 82-95.

¹⁷ Y, Pommier, *Chem. Rev.*, **2009**, *109*, 2894-2902.

¹⁸ Nombre sistemático recomendado por la IUPAC

De forma similar a los derivados de la CPT **1**, otros compuestos heterocíclicos como el belotecan **4** (CKDA-602, figura 7) son usados en el tratamiento contra el cáncer de ovario, pulmón y colon.¹⁹ Los estudios preliminares han revelado que este compuesto actúa como un potente inhibidor de la TopI.

Un mecanismo parecido al de la camptotecina ha sido observado para la luotonina **5** (figura 7), un alcaloide extraído de una planta china llamada *Peganum nigellastrum*. La luotonina **5** es citotóxica para líneas celulares de leucemia.²⁰

A pesar de que la CPT **1** fue aislada hace cinco décadas,²¹ los fármacos basados en esta molécula siguen siendo muy atractivos para muchos investigadores y, debido esto, siguen surgiendo más análogos de camptotecina que parecen poseer un futuro prometedor como agentes quimioterapéuticos. El descubrimiento de los derivados de camptotecina como agentes terapéuticos que actúan sobre la TopI, ha abierto una nueva área de desarrollo de drogas anticancerígenas. El tremendo esfuerzo en este campo, incluida la síntesis total o la semi-síntesis de varios derivados de camptotecina, ha sido crucial para preparar nuevos fármacos anticancerígenos.

¹⁹ S. K. Ahn, N. S. Choi, B. S. Jeong, K. K. Kim, D. J. Journ, J. K. Kim, *J. Heterocycl. Chem.*, **2000**, *37*, 1141-1144.

²⁰ A. Cagir, S. H. Jones, R. Gao, B. M. Eisenhauer, S. M. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 13628-13629.

²¹ M. E. Wall, M. C. Wani, C. E. Cook, K. H. Palmer, A. T. McPhail, G. A. Slim, *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 3888-3890.

1.2. La camptotecina y sus derivados

En los años 60, Wall, Wani y colaboradores descubrieron y aislaron por primera vez un alcaloide al que llamaron camptotecina debido al árbol chino *Camptotheca acuminata* del cual provenía.²² Dos décadas más tarde se demostró que era capaz de inhibir la TopI y durante mucho tiempo la camptotecina **1** (CPT) ha sido el mejor inhibidor de TopI conocido.²³

Este compuesto atrajo gran interés como potente agente quimioterapéutico para el cáncer debido a su impresionante actividad contra la leucemia y varios tumores sólidos en estudios experimentales.²³ A la hora de describir el mecanismo de acción de la CPT **1** existen algunas evidencias experimentales que demuestran que la CPT envenena selectivamente la topoisomerasa I:

- el isómero natural CPT es activo frente a la TopI.²⁴
- una levadura genéticamente modificada sin TopI es inmune a la CPT.²⁵
- las células seleccionadas para resistir a la CPT muestran una mutación puntual en el gen TopI.²⁶
- las plantas productoras de CPT presentan una mutación en la TopI (N722S) que inmuniza a las enzimas contra la CPT que ellas mismas producen.²⁷

La CPT se une reversiblemente al complejo TopI-ADN y su citotoxicidad se debe a que el complejo TopI-ADN es bloqueado, inhibiendo así la religación de la hebra escindida y transformando a la enzima en algo potencialmente venenoso para la célula. De esta forma, durante la fase S del ciclo celular, una ruptura transitoria de una de las hebras de ADN, se convierte en una ruptura irreversible de la doble hélice produciendo la muerte de la célula.^{28,29}

²² W. Monroe E., M. C. Wani, C. E. Cook, K. H. Palmer, A. T. McPhail, G. A. Sim, *J. Amer. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 3888-3890.

²³ Y. H. Hsiang, R. Hertzberg, S. Hecht, L.F. Liu, *J. Biol. Chem.*, **1985**, *260*, 14873-14878.

²⁴ C. Jaxel, K. W. Kohn, M. C. Wani, M. E. Wall, Y. Pommier, *Cancer Res.*, **1989**, *49*, 1465-1469.

²⁵ W. K. Eng, L. Faucette, R. K. Johnson, R. Sternglanz, *Mol. Pharmacol.*, **1988**, *34*, 755-760.

²⁶ Y. Pommier, P. Pourquier, Y. Urasaki, J. Wu, G. S. Laco, *Drug Resistance Updates*, **1999**, *2*, 307-318.

²⁷ S. Sirikantaramas, M. Yamazaki, K. Saito, *Natl. Acad. Sci.*, **2008**, *105*, 6782-6786.

²⁸ L. F. Liu, S. D. Desai, T. K. Li, Y. Mao, M. Sun, S. P. Sim, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **2000**, *922*, 1-10.

²⁹ Y. H. Hsiang, L. F. Lihou, *Cancer Res.*, **1989**, *49*, 5077-5082.

Hay que añadir, que la CPT no se une al ADN ni a la topoisomerasa I por sí misma, requiere de la presencia de ambas moléculas unidas en un complejo covalente (figura 8)³⁰ formando un complejo ternario,³¹ hecho confirmado al determinar las estructuras del complejo TopI-ADN y el topotecan, así como la del complejo ternario con la CTP por rayos X.³² Además, el complejo ternario formado, es estabilizado mediante interacción π - π^* con las bases nitrogenadas del ADN debido a la estructura plana que posee la camptotecina.

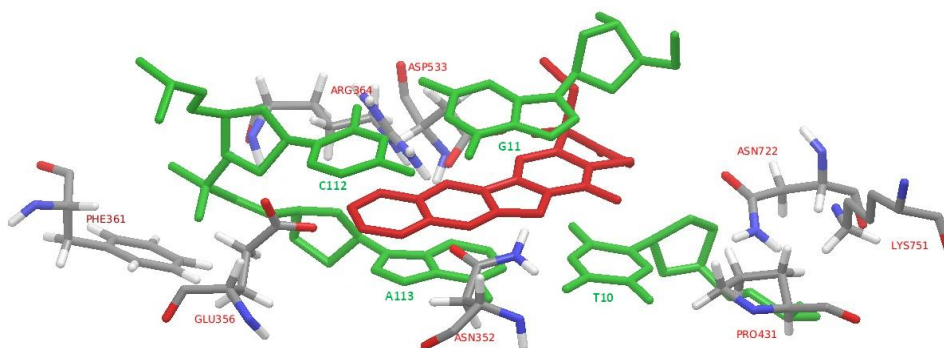


Figura 8. Vista parcial de la estructura cristalina del complejo TopI-ADN-CPT (PDB 1T81). Aminoácidos situados alrededor del centro catalítico en el complejo covalente, CPT (en rojo) y pares de bases del ADN (en verde).

Los derivados de camptotecina son los únicos inhibidores de TopI aprobados clínicamente. Sin embargo, a pesar de su actividad frente a cánceres como el de pulmón, el de colon o el de ovario,³³ estos compuestos poseen ciertas limitaciones:³⁴

A. los derivados de la CPT son químicamente inestables a pH fisiológico debido a que el anillo de lactona que poseen se transforma en un carboxilato inactivo (figura 9).

³⁰ C. Jaxel, G. Capranico, D. Kerrigan, K. W. Kohn, Y. Pommier, *J. Biol. Chem.*, **1991**, 266, 20418-20423.

³¹ J. E. Kerrigan, D. S. Pilch, *Biochemistry*, **2001**, 40, 9792-9798.

³² B. L. Staker, M. D. Feese, M. Cushman, Y. Pommier, D. Zembower, L. Stewart, A. B. Burgin, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **2002**, 99, 15387-15394.

³³ B. A. Teicher, *Biochem. Pharmacol.*, **2008**, 75, 1262-1271.

³⁴ Y. Pommier, *Nat. Rev. Cancer*, **2006**, 6, 789-802.

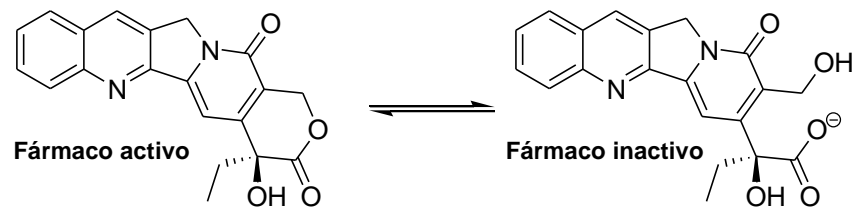


Figura 9. Hidrólisis del anillo de lactona presente en la CPT.

- B. el complejo ternario (TopI-ADN-CPT) se rompe tras unos minutos debido a la inestabilidad del fármaco.
- C. los efectos secundarios de la CPT y sus derivados, tales como, la diarrea y la neutropenia son potencialmente graves y limita la utilización de éstos como medicamento.

El descubrimiento de que la diana biológica de la CPT es la topoisomerasa I ha provocado un renovado interés por estos compuestos³⁵ y ha dado lugar a la síntesis de análogos hidrosolubles para superar las limitaciones de la CPT previamente mencionadas.³⁶

En el siguiente apartado se describirán los derivados de camptotecina más relevantes, así como otros fármacos no análogos que muestran actividad biológica frente a TopI.

³⁵ *Comptothecins in Cancer Therapy*. Ed. Val R. Adams, Thomas G. Burke. Humana Press, Totowa, NJ **2005**.

³⁶ a) M. L. Rothenberg, *Ann. Oncol.*, **1997**, *8*, 837-855. b) Y. Pommier, P. Pourquier, Y. Fan, D. Strumberg, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1998**, *1400*, 83-105.

Han sido descritos numerosos métodos sintéticos de la CPT empleando un amplio rango de enfoques.³⁷ En 1971, Stork y Schultz³⁸ publicaron la primera síntesis de la forma racémica de la camptotecina. Más tarde, Tagawa y colaboradores³⁹ en 1989, publicaron la obtención de la (*S*)-CPT **1**. Además, tras el descubrimiento de la primera metodología asimétrica, diferentes autores han descrito metodologías similares con el mismo objetivo, por ejemplo, Curran,⁴⁰ Comins y Nolan,⁴¹ Blagg y Bogee⁴² y Chavan.⁴³

Sin embargo, no solo se han estudiado metodologías sintéticas para la preparación de la CPT **1**, sino que también se han desarrollado rutas sintéticas para la obtención de análogos de la camptotecina debido a sus importantes propiedades biológicas. Con la intención de evitar las limitaciones que presenta la CPT **1** anteriormente mencionadas, se han diseñado algunos derivados modificando los diferentes anillos de ésta (figura 10).

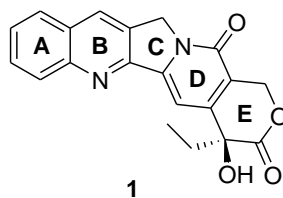


Figura 10. Estructura de la CPT y sus diferentes anillos.

³⁷ a) E. Wenkert, K. G. Dave, R. G. Lewis, P. W. Sprage, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, *89*, 6741-6745. b) M. Shamma, L. Novak, *Tetrahedron*, **1969**, *25*, 2275-2279. c) J. A. Kepler, M. C. Wani, J. N. McNaull, M. E. Wall, S. G. Levine, *J. Org. Chem.*, **1969**, *34*, 3853-3858.

³⁸ G. Stork, A. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, *93*, 4074-4075.

³⁹ A. Elejima, H. Sugirimori, H. Tagawa, *Tetrahedron Lett.*, **1989**, *30*, 2639-2640.

⁴⁰ H. Josien, S. B. Jo, D. Bom, D. P. Curran, *Chem. Eur. J.*, **1998**, *4*, 67-83.

⁴¹ D.L. Comins, J. M. Nolan, *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 4255-4257.

⁴² B. S. J. Blagg, D. L. Boger, *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 6343-6349.

⁴³ S. P. Chavan, R. Sivappa, *Tetrahedron*, **2004**, *45*, 3113-3115.

En la bibliografía podemos encontrar diferentes derivados de CPT **1** basados en la funcionalización de los anillos A y B del alcaloide, por ejemplo, los más destacables podrían ser el topotecan **2**⁴⁴ y el irinotecan **3**⁴⁵ (figura 7), usados hoy en día en el tratamiento contra el cáncer. También, Zhu y colaboradores prepararon derivados 7-trifluorometilados **6** (figura 11) y algunos de ellos presentaron una elevada actividad antitumoral *in vitro* que superaba la que posee el topotecan **2**.⁴⁶

Otro ejemplo fue descrito por Duan y colaboradores, que sintetizaron 10-arylcamptotecinas **7** mediante el uso de la reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki, mostrando en alguno de los casos, altas citotoxicidades en estudios preliminares *in vitro*.⁴⁷

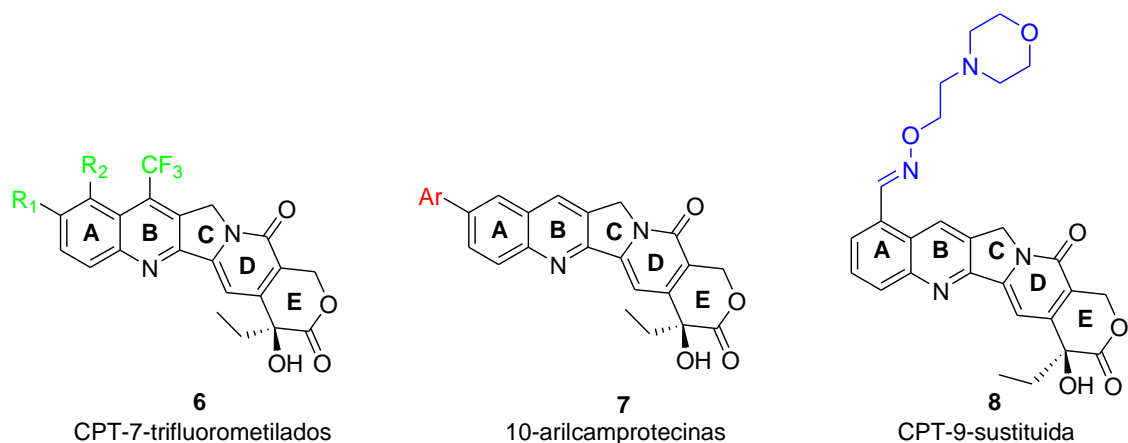


Figura 11. Derivados de CPT con modificaciones en los anillos A y B.

⁴⁴ W. D. Kingsbury, J. C. Boehm, D. R. Jakas, K. G. Holden, S. M. Hecht, G. Gallagher, M. J. Caracfa, F. L. McCabe, L. F. Faucette, R. K. Johnson, R. P. Hertzberg, *J. Med. Chem.*, **1991**, *34*, 98-107.

⁴⁵ S. Sawada, S. Okajima, R. Aiyama, K. I. Nokata, T. Furata, T. Yokokura, E. Sugimo, K. Yamaguchi, T. Miyasaka, *Chem. Pharm. Bull.*, **1991**, *39*, 1446-1454.

⁴⁶ L. Zhu, Z. Miao, C. Sheng, W. Guo, J. Yao, W. Liu, X. Che, W. Wang, P. Cheng, W. Zhang, *Eur. J. Med. Chem.*, **2010**, *45*, 2726-2732.

⁴⁷ Y. Jiao, H. C. Liu, M. Y. Geng, W. H. Duan, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2011**, *21*, 2071-2074.

Por último, también han sido sintetizados derivados de camptotecina con sustituciones lipofílicas en la posición 9, incluyendo los compuestos **8** con una función oxima unidos al esqueleto de la CPT (figura 11). Estos compuestos **8** presumen de poseer una potente actividad biológica *in vitro* e *in vivo* comparable o superior al TPT **2**.⁴⁸

Como se ha mencionado anteriormente, una de las limitaciones más importantes de la CPT es la inestabilidad del grupo lactona a pH fisiológico, dando lugar a la apertura de este grupo y privando a la CPT de su actividad. Hoy en día, han sido utilizadas diferentes estrategias para evitar esta limitación.

Así por ejemplo, un aumento en un carbono del anillo E por inserción de un grupo metileno entre el carbono 20 y el grupo carbonilo evitaría la apertura de este.^{49,50} Este tipo de compuestos se llaman homocamptotecinas (hCTPs) y el primero que logró llegar hasta estudios clínicos por sus prometedoras propiedades fue el diflomotecan **9** (figura 12). Este derivado muestra una mayor estabilidad, ya que el anillo E se abre de forma más lenta a su forma carboxilada. Debido a esto, posee una mayor actividad biológica y se presenta como un veneno más potente que la CPT **1**.

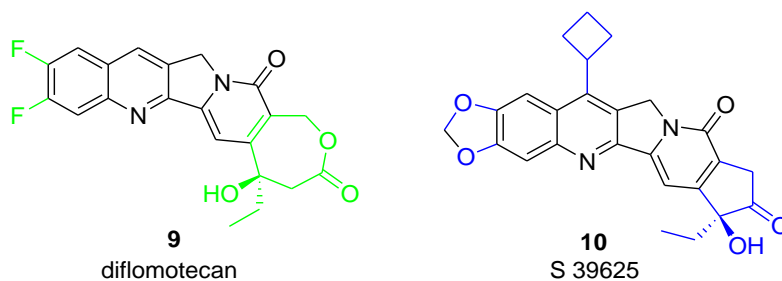


Figura 12. Estructuras de derivados de CPT con modificaciones en el anillo E.

⁴⁸ M. De Cesare, G. L. Beretta, S. Tinelli, V. Benedetti, G. Pratesi, S. Penco, S. Dallavalle, L. Merlini, C. Pisano, P. Carminati, F. Zunino, *Biochem. Pharmacol.*, **2007**, 73, 656-664.

⁴⁹ O. Lavergne, L. Lesuer-Ginot, F. Pla Rodas, P. G. Kasprzyk, J. Pommier, D. Demarquay, D. C. H. Bigg, *J. Med. Chem.*, **1998**, 41, 5410-5419.

⁵⁰ R. S. Tangirala, S. Antony, K. Agama, Y. Pommier, B. D. Anderson, R. Bevins, D. P. Curran, *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, 6202-6212.

Otra modificación en el anillo de lactona consiste en transformarlo en un anillo de 5 miembros. Esto se logró con la síntesis del S 39625 **10** (figura 12). El notable potencial de esta nueva clase de fármacos contra la TopI, puede deberse a los fuertes enlaces que este compuesto forma con el complejo de TopI-ADN.⁵¹

Aparte de las modificaciones en el tamaño del anillo E, también han sido estudiadas modificaciones basadas en sustituciones en este mismo anillo con el objetivo de mejorar la actividad biológica de la molécula. Existen estudios basados únicamente en profármacos que contienen un grupo ester en el carbono 20 y se utiliza como una nueva forma de administración.

Por ejemplo, Deshmukh y colaboradores,⁵² sintetizaron una serie de ester α -amino ácidos que actuaban de forma similar a la CPT. Un ejemplo reseñable de este trabajo es el afeletecan **11**, un profármaco en fase clínica (figura 13).

De la misma manera, los derivados de la CPT con grupos sulfonilamidina en la posición 20 han sido estudiados como inhibidores de TopI. Estos derivados muestran una potente actividad antitumoral con un perfil fármaco-resistente diferente a la CPT **1**. El compuesto **12** mostrado en la figura 13 fue evaluado en ratones lo que muestra su gran potencial como fármaco, observándose que no posee ningún efecto secundario a dosis bajas.⁵³

⁵¹ K. Tagaki, T. S. Dexheimer, C. Redon, O. Sordet, K. Agama, G. Lavielle, A. Pierre, S. Bates, Y. Pommier, *Mol. Cancer Ther.*, **2007**, *6*, 3229-3989.

⁵² M. Deshmukh, P. Chao, H. L. Kutscher, D. Gao, P. J. Sinko, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 1038-1047.

⁵³ M. J. Wang, Y. Q. Liu, L. C. Chang, C. Y. Wang, Y. L. Zhao, X. B. Zhao, K. D. Qian, X. Nan, L. Yang, X. M. Yang, H. Y. Hung, J. S. Yang, D. H. Kuo, M. Goto, S. L. Morris-Natschke, S. L. Pan, C. M. Teng, S. C. Kuo, T. S. Wu, Y. C. Wu, K. H. Lee, *J. Med. Chem.*, **2014**, *57*, 6008-6018.

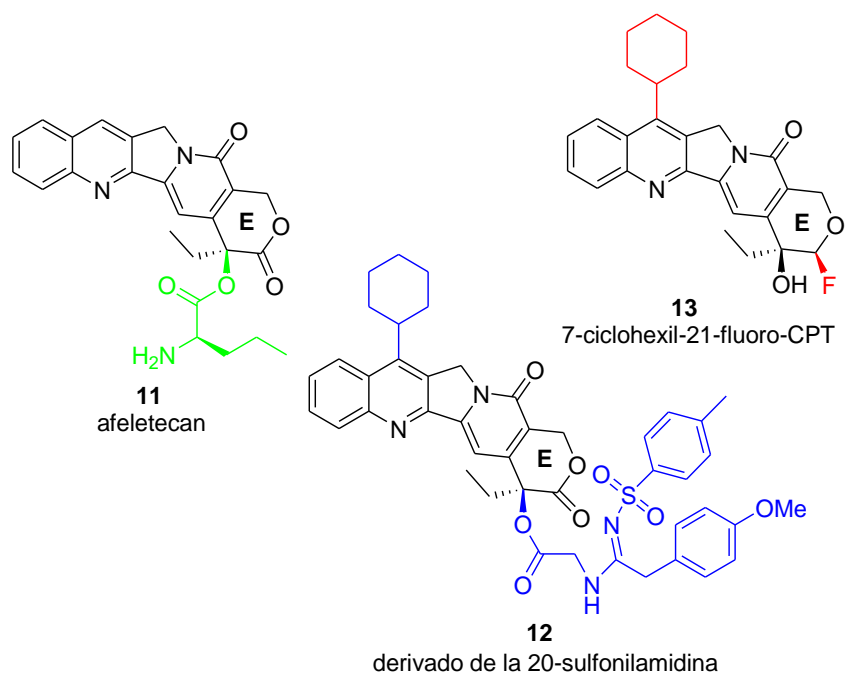


Figura 13. Diferentes modificaciones en el anillo E para la CPT.

Recientemente y debido al importante papel que juega el flúor en el diseño de nuevos fármacos,⁵⁴ han sido diseñadas y sintetizadas nuevas series de (20S,21S)-21-fluorocamptotecinas. Análogos que mostraron una potente actividad antitumoral *in vitro* y una fuerte capacidad de inhibición de la TopI. Además, en todos los casos se observó una mayor estabilidad ante la hidrólisis.⁵⁵ Entre todos ellos, destaca el 7-ciclohexil-21-fluoro-camptotecina **13** (figura 13), fue el que mejores resultados mostró.

Además de la camptotecina y sus derivados, otros compuestos no derivados de la camptotecina presentan actividad biológica contra la topoisomerasa I. Los inhibidores de TopI que no provienen de la camptotecina suelen poseer mayor estabilidad, diferentes actividades terapéuticas y espectro antitumoral. A continuación, se describirán algunos de los más relevantes.

⁵⁴ C. Alonso, E. Martínez de Marigorta, G. Rubiales, F. Palacios, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 1847-1935.

⁵⁵ Z. Y. Miao, L. J. Zhu, G. Q. Dong, C. L. Zhuang, Y. L. Wu, S. Z. Wang, Z. Z. Guo, Y. Liu, S. C. Wu, S. P. Zhu, K. Fang, J. Z. Yao, J. Li, C. Q. Sheng, W. N. Zhang, *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 7902-7910.

1.3. No derivados de camptotecina

Entre los compuestos heterocíclicos aislados de fuentes naturales destaca un derivado de benzofenantridina, la nitidina **14** (figura 14), un fuerte inhibidor de la topoisomerasa I aislado de la planta china *Zanthoxylum nitidum* y de la *Toddalia asiática* encontrada en Kenia.⁵⁶

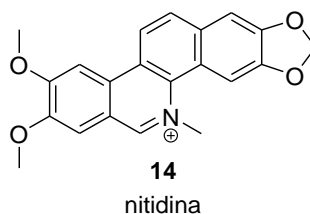


Figura 14. Derivados de la benzofenantridina.

Otro alcaloide natural es la taspina **15** (figura 15) que se encuentra en la corteza del árbol sudamericano *Crotonlechleri* y ha sido usado en la medicina tradicional desde hace siglos por diversas propiedades. Este producto natural ha mostrado inducción de apoptosis en células de carcinoma de colon.⁵⁷ La taspina induce un perfil de expresión genética similar al de la CPT **1**, por lo que se piensa que poseen un mecanismo citotóxico parecido. El liriodenin **16** (figura 15), un alcaloide oxoaporfínico, aislado de una hierba china llamada *Nitidium*, ha mostrado también ser citotóxico para la TopI cuando forma un quelato con oro (III).⁵⁸

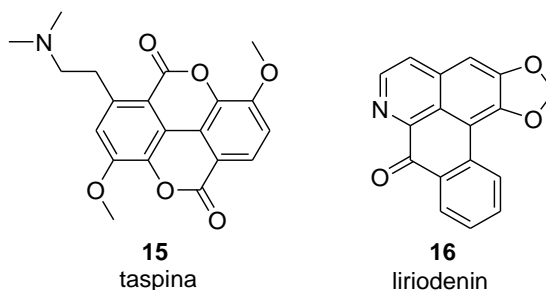


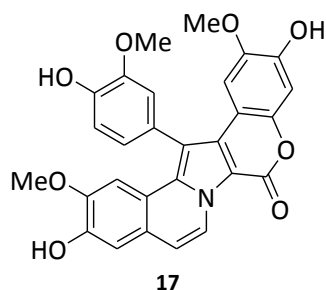
Figura 15. Alcaloides naturales con actividad biológica.

⁵⁶ H. R. Arthur, W. H. Hui, Y. L. Ng, *J. Chem. Soc.*, **1959**, 4007-4009.

⁵⁷ S. Castelli, P. Kathar, O. VAssallo, M. Falconi, S. Linder, A. Desideri, *Anti-cancer Agents Med. Chem.*, **2013**, *13*, 356-363.

⁵⁸ Z. F. Chen, Y. C. Liu, Y. Peng, X. Hong, H. H. Wang, M. M. Zhang, H. Liang, *Biol. Inorg. Chem.*, **2012**, *17*, 247-261.

Las lamellarinas, una familia de alcaloides originalmente aislados de invertebrados marinos,⁵⁹ presentan actividades antitumorales. Estos compuestos inducen la muerte por apoptosis de las células mediante mecanismos de multi-ataque, incluyendo la inhibición de la TopI,⁶⁰ la interacción con el ADN y efectos directos con las mitocondrias. La lamellarina D **17** (figura 16) es uno de los derivados más activos de esta familia que contiene grupos hidroxilos y metoxilos que interactúan con importantes residuos del centro activo de la enzima y cuya síntesis total ha sido recientemente descrita.⁶¹



lamellarina D

Figura 16. Alcaloide inhibidor para la Top I.

En los últimos años se han desarrollado diferentes rutas sintéticas para la obtención de heterociclos condensados debido a que están presentes en el esqueleto de muchos compuestos con actividad biológica.⁶² Algunos de estos heterociclos de origen sintético también pueden actuar como inhibidores de topoisomerasa I.

Por ejemplo, una amplia gama de derivados de indeno (figura 17) han sido diseñados y optimizados para desarrollar su uso terapéutico.⁶³ Estos compuestos, son químicamente más

⁵⁹ J. Raymond, D. Andersen, J. Faulkner, C. H. He, G. D. Van Duyne, *J. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 5492-5495.

⁶⁰ M. Facompre, C. Tardy, C. Bal-Mahieu, P. Colson, C. Perez, I. Manzanares, C. Cuevas, C. L. Bailly, *Cancer Res.*, **2003**, *63*, 7392-7399.

⁶¹ D. M. Lade, A. B. Pawar, P. S. Mainkar, S. Chandrasekhar, *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*, 4998-5004.

⁶² G. G. Ladani, M. P. Patel, *New J. Chem.*, **2015**, *39*, 9848-9857.

⁶³ a) S. Anthony, M. Jayaraman, G. Laco, G. Kohlhagen, K. W. Kohn, M. Cushman, Y. Pommier, *Cancer Res.*, **2003**, *63*, 7428-7435. b) S. Antony, G. Kohlhagen, K. Agama, M. Jayaraman, S. Cao, F. A. Durrani, Y. M. Rustum, M. Cushman, Y. Pommier, *Mol. Pharmacol.*, **2005**, *67*, 523-530. c) S. Antony, K. K. Agama, Z. H. Miao, M. Hollingshead, S. L. Holbeck, M. H. Wright, L.

estables que la CPT a pH fisiológico y se unen al complejo TopI-ADN de forma diferente. Además, algunos de estos compuestos presentan igual o mejor actividad antiproliferativa que los derivados de camptotecina en algunas líneas celulares y son más selectivas inhibiendo únicamente a la topoisomerasa. Su forma de inhibición es común en muchos inhibidores no derivados de la camptotecina, como por ejemplo, los indenobenzopiranos **18** y las indenoisoquinolonas **19**.⁶⁴

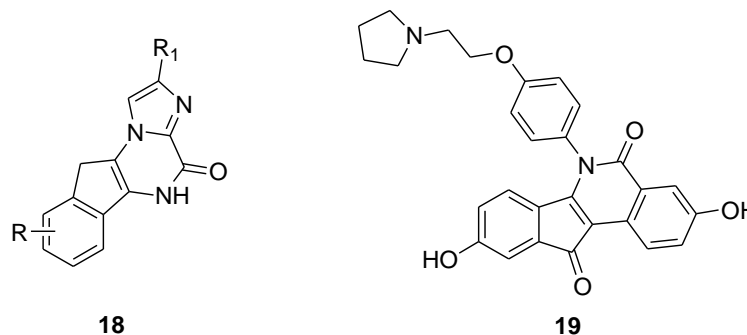


Figura 17. Estructuras de indenobenzopiranos y indenoisoquinolonas.

Derivados con un grupo carbonilo en el anillo de las indenoisoquinolinas actúan tanto como inhibidores de TopI, como agentes citotóxicos. Una de las indenoisoquinolonas más prometedoras, el NSC314622 **20** (figura 18), presentó citotoxicidades similares a la CPT.⁶⁵ Se han realizado diferentes sustituciones en las indenoisoquinolonas para lograr estabilizar el complejo Top I-ADN. Algunos ejemplos **20-23** están representados en la figura 18.

Varticovski, M. Nagarajan, A. Mrrell, M. Cushman, Y. Pommier, *Mol. Pharmacol.*, **2006**, *70*, 1109-1120. d) M. Nagarajan, A. Morrel, A. Ioanoviviu, S. Antony, G. Kohlhagen, K. Agama, M. Hollinshead, Y. Pommier, M. Cushman, *J. Med. Chem.*, **2006**, *49*, 6283-6289. e) S. aNtony, K. K. Agama, Z. H. Miao, K. Takagi, M. H. Wright, A. I. Robles, L. Varticovski, M. Nagarajan, A. Morrell, M. Cushman, Y. Pommier, *Cancer Res.*, **2007**, *67*, 10397-10405.

⁶⁴ J. Aloup, J. Bouquerel, D. Damour, J. Hardy, P. Jimonet, Patrick, M. Marco, N. P. Serge, *PCT Int. Appl.*, **1997**, WO 9725328 A1 19970717.

⁶⁵ Y. Song, Z. Zhao, T. S. Dexheimer, E. S. Scher, Y. Pommier, M. Cushman, *J. Med. Chem.*, **2010**, *5*, 1979-1989.

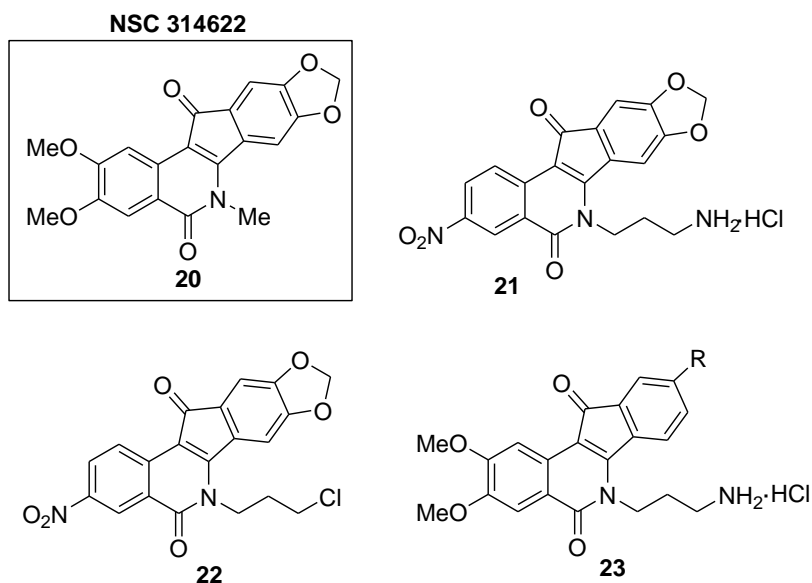


Figura 18. Derivados de la indenoisoquinolinona.

Los compuestos heterocíclicos que poseen un esqueleto de flavonoides, han mostrado actividad de inhibición de la topoisomerasa I. Por ejemplo, la quercetina **24**,⁶⁶ luteolina **25**,⁶⁷ miricetina **26**,⁶⁸ y flavonoides relacionados **27** (figura 19) son conocidos como inhibidores de proliferación en líneas celulares, además, aumentan la citotoxicidad de otros antitumorales como el cis-platino **28**.⁶⁹

⁶⁶ M. Yoshida, M. Yamamoto, T. Nikaido, *Cancer Res.*, **1992**, *52*, 6676-6681.

⁶⁷ A. R. Chowdhury, S. Sharma, S. Mandal, A. Goswami, S. Mukhopadhyay, H. K. Majumder, *Biochem. J.*, **2002**, *366*, 653-661.

⁶⁸ M. Lopez-Lazaro, C. Martin-Cordero, M. V. Toro, M. J. Ayuso, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2002**, *17*, 25-29.

⁶⁹ G. Scambia, F. O. Ranelletti, P. Benedetti Panici, G. Bonanno, R. DeVincenzo, M. Piantelli, S. Mancusoo, *Anti-cancer drugs*, **1990**, *1*, 45-48.

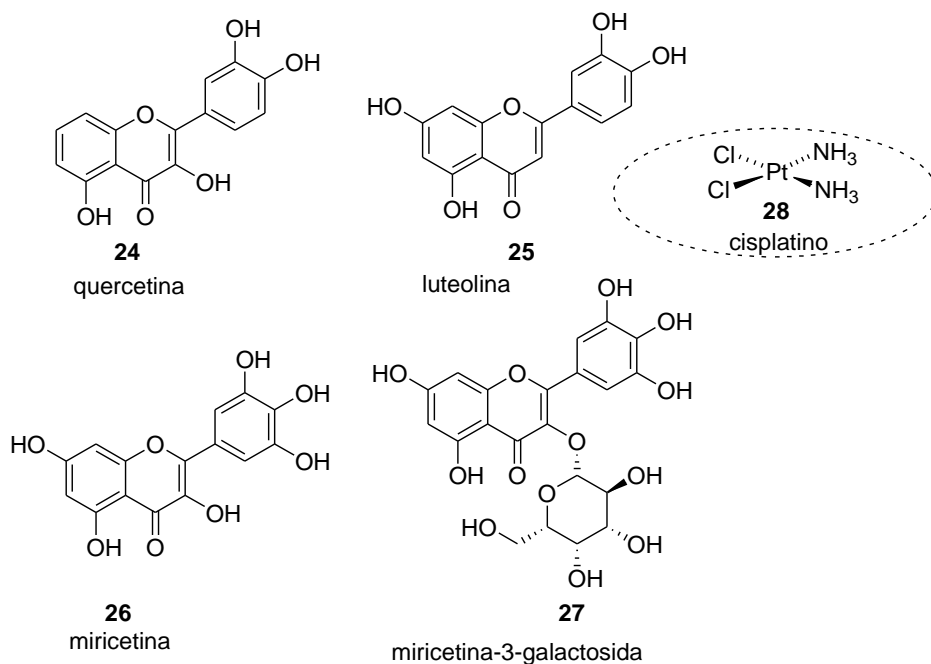


Figura 19. Derivados de flavonoides como inhibidores de Top I.

En 2010, Cushman y colaboradores diseñaron derivados de dibenzonaftiridinas que presentaron una elevada actividad biológica.⁷⁰ Entre ellos, la 11-cloro-8,9-dimetoxy-5-(3-morfolinopropil)dibenzo[*c,h*]-[1,6]-naftiridin-6(5H)-ona **29** (figura 20) obtuvo los mejores resultados como agente antiproliferativo en diferentes líneas celulares y como inhibidor de la TopI. Años más tarde, Menendez y colaboradores describieron la síntesis de derivados de quinolina **30** que obtuvieron buenos resultados como inhibidores de la TopI (figura 20).⁷¹

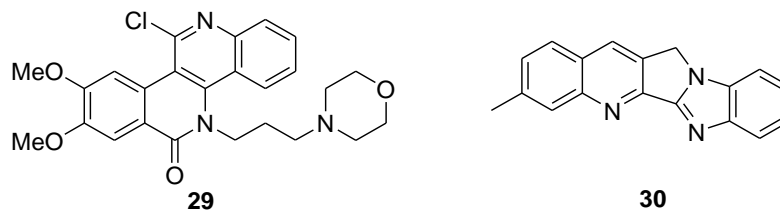


Figura 20. Derivados de dibenzonaftiridina y quinolina con actividad inhibitoria.

⁷⁰ E. Kiselev, T. S. Dexheimer, Y. Pommier, M. Cushman, *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 8716-8726.

⁷¹ A. I. Almansour, N. Arumugam, K. Suresh Kumar S. M. Mahalingam, S. B. Sau, G. Bianchini, J. C. Menendez, M. Altaf, H. A. Ghabbour, *Eur. J. Med. Chem.*, **2017**, *138*, 932-941.

Las cromenonaftiridinas, son compuestos con diferentes propiedades biológicas que combinan dos estructuras altamente bioactivas: las naftiridinas y los cromenos. En 2016, Patel y colaboradores⁷² obtuvieron derivados de cromeno[1,8]naftiridinas **31** que presentaban una alta actividad inhibitoria frente a la topoisomerasa I (figura 21).

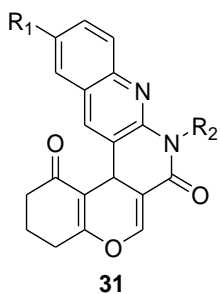


Figura 21. Estructura de derivados cromeno[1,8]naftiridinas.

Con estos antecedentes, nos propusimos como objetivo la síntesis de otros compuestos heterocíclicos como quinolinas y naftiridinas ya que, debido a su estructura plana, podrían presentar actividad biológica como inhibidores de topoisomerasa I. Además, teniendo en cuenta la experiencia de nuestro grupo en la preparación de compuestos heterocíclicos nitrogenados mediante la reacción de Povarov, podría utilizarse esta metodología como herramienta sintética debido a su carácter útil y versátil.

⁷² J. D. Gohil, H. B. Patel and M. P. Patel, *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 74726–74733.

2. Reacción de Povarov

La característica común entre los compuestos biológicamente activos de los que hemos hablado anteriormente es la presencia de heterociclos nitrogenados en su estructura. En este punto hemos de destacar que una amplia gama de heterociclos nitrogenados presentan múltiples aplicaciones en bioquímica, farmacología y ciencias de los materiales,⁷³ presentando muchos de ellos un papel primordial en la mayoría de los procesos biológicos. Por este motivo, son muchas las estrategias descritas para la formación de heterociclos nitrogenados y entre ellas una de las más adecuadas es la reacción de hetero Diels-Alder (HDA).

La reacción hetero-Diels-Alder (HDA) es una de las herramientas más usadas en la síntesis de heterociclos nitrogenados de seis miembros⁷⁴ y es una reacción versátil, desde el punto de vista de economía atómica, para la construcción de enlaces carbono-carbono y carbono-nitrógeno⁷⁵ necesarios para generar moléculas complejas y con aplicaciones farmacológicas e industriales.⁷⁶

En particular, cuando el azadieno se obtiene mediante condensación de aminas aromáticas y aldehídos nos encontramos con una reacción hetero Diels-Alder “especial” como es la reacción de Povarov. En la reacción de Povarov (esquema 1), descrita originalmente en 1963,⁷⁷ arilaldiminas **34** obtenidas a partir de la condensación entre anilina **32** y aldehídos aromáticos **33**, presentan un fragmento 2-azadiénico (señalado en verde en el esquema 1) y reaccionan con olefinas ricas en electrones **35**, en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador, dando como resultado 1,2,3,4-tetrahidroquinolinas trisustituidas **36**. Esta estrategia representa una herramienta muy potente para la preparación de derivados de tetrahidroquinolinas mediante generación de tres estero-centros en

⁷³ a) S. L. Schreiber, *Science*, **2000**, *287*, 1964-1969; b) N. F. Abdel-Ghaffar, *Nat. Sci.*, **2011**, *9*, 190-201; c) H.T. Pham, I. Chataigner, J.-L. Renaud, *Curr. Org. Chem.*, **2012**, *16*, 1754-1775; d) C.-H. Tseng, Y.-L. Chen, C.-L. Yang, C.-M. Cheng, C.-H. Han, C.-C. Tzeng, *Bioorg. Med. Chem.*, **2012**, *20*, 4397-4404; e) W. Luniewski, J. Wietrzyk, J. Godlewska, M. Switalska, M. Piskozub, W. Peczyńska-Czoch, L. Kaczmarek, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 6103-6107.

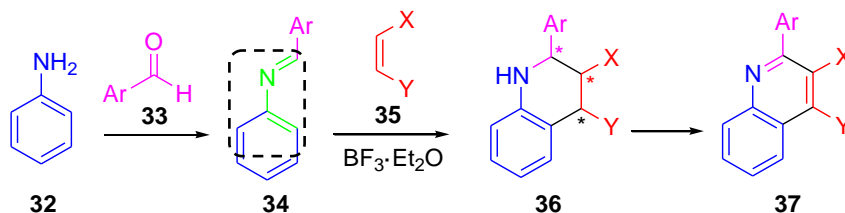
⁷⁴ a) K. C. Nicolau, S. A. Snyder, T. Montagnon, G. Vassilikogiannakis, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 1668-1698. b) F. Fringuelli, A. Taticchi, *The Diels-Alder Reaction: Selected Practical Methods*, **2002**, UK. c) D. H. Ess, G. O. Jones, K. N. Houk, *Adv. Synth. Catal.*, **2006**, *348*, 2337-2361.

⁷⁵ K. M. Shea, *Name Reactions for Carbocyclic Ring Formations*, **2010**, NY, 275-308.

⁷⁶ J. A. Funel, S. Abele, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2013**, *52*, 3822-3863.

⁷⁷ L. S. Povarov, B. M. Mikhailov, *Izv. Akad. Nauk SSR*, **1963**, 953-956.

un solo paso y con una regioselectividad excelente. Además, la posterior oxidación de los compuestos **36** permite acceder a las correspondientes quinolinas **37**.



Esquema 1. Reacción de Povarov clásica.

En general, la densidad electrónica del dienófilo y del dieno suelen ser opuestas dando lugar a un mecanismo concertado de reacción. Sin embargo, utilizando sustratos con una adecuada sustitución, también podría hablarse de un mecanismo por pasos a través de un intermedio zwitterionico lo suficientemente estable.^{78, 79}

Aunque podamos encontrar dienos activados electrónicamente por sus sustituyentes electroattractores, algunos compuestos como los azadienos y las *N*-ariliminas necesitan ser activados mediante un catalizador externo para poder participar en la reacción Diels-Alder.

Tras el trabajo de Povarov, Joh y Hagihara⁸⁰ ratificaron la capacidad del octacarbonilo de dicobalto como catalizador en la preparación de derivados de quinolina. Más tarde, Kobayashi⁸¹ describió esta misma reacción usando triflatos de lantánido (III) dando lugar a una efectiva catálisis de la reacción de Povarov de tres componentes entre anilinas, aldehídos y alquenos. En este sentido los ácidos de Lewis son utilizados frecuentemente en la reacción de Povarov. El catalizador original y más popularmente conocido para esta reacción es el trifluoruro de boro, sin embargo, otros ácidos de

⁷⁸ L. R. Domingo, J. A. Sáez, *Org. Biomol. Chem.*, **2009**, *7*, 3576-3583.

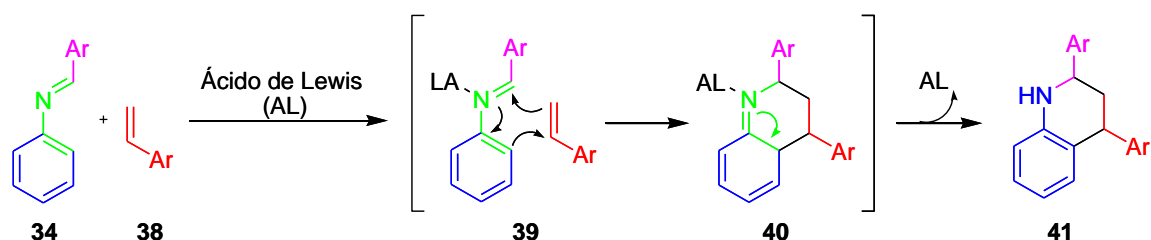
⁷⁹ F. Palacios, C. Alonso, A. Arrieta, F. P. Cossio, J. M. Ezpeleta, M. Fuertes, G. Rubiales, *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, *11*, 2091-2099.

⁸⁰ T. Joh, N. Hagihara, *Tetrahedron Lett.*, **1967**, *42*, 4199-4200.

⁸¹ S. Kobayashi, H. Ishitani, S. Nagayama, *Synthesis*, **1995**, 1195-1202.

Lewis han sido probados con éxito en este tipo de reacciones como por ejemplo, cloruros de metales lantánidos,⁸² triflatos,⁷⁵ CAN,⁸³ y sales de indio o bismuto.⁸⁴

La catálisis mediante ácidos de Lewis (AL) en la reacción de Povarov se basa en la activación del carbono imínico del dienófilo.⁸⁵ Tal y como se observa en la esquema 2, el ácido de Lewis se coordina con el par electrónico del nitrógeno del compuesto **34** dando lugar a una disminución de la densidad electrónica en el carbono imínico. En consecuencia, tras este cambio de polaridad se produce un ataque nucleófilo al compuesto **39** del dienófilo **38** formando así el ciclo de seis miembros **40** que tras una tautomerización da lugar a la tetrahydroquinolina **41**.



Esquema 2. Mecanismo de la reacción de Povarov clásica.

Tras la reacción de Povarov, fueron muchas las variantes que se utilizaron para poder obtener diferentes heterociclos utilizando esta reacción de cicloadición.⁸⁶ Un ejemplo reciente, podría ser el de nuestro grupo de investigación, el cual ha desarrollado una metodología sintética para la síntesis de derivados de naftiridinas **45** tras hacer reaccionar aldminas **42**, procedentes de la condensación entre aldehídos aromáticos y 3-aminopiridina, y diferentes dienófilos **43** en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador.⁷⁹ Los derivados de naftiridina fueron obtenidos con buenos rendimientos de forma regio y diastereoselectiva (esquema 3), además, los estudios computacionales realizados indican que la reacción se basa en un proceso concertado y regioselectivo.

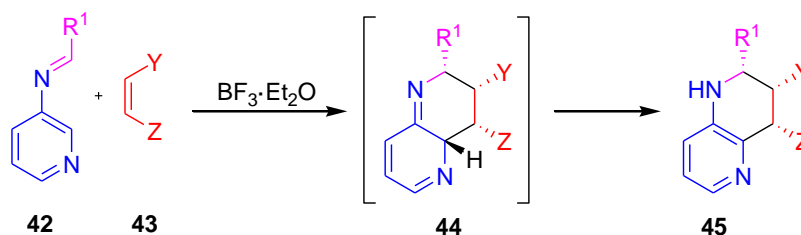
⁸² Y. Ma, C. Quian, M. Xie, J. Sun, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 6462-6467.

⁸³ V. Sridharan, C. Avendaño, J. C. Menéndez, *Synthesis*, **2008**, *7*, 1039-1044.

⁸⁴ a) J. L. Rogers, J. J. Ernat, H. Yung, R. S. Mohan, *Catal. Commun.*, **2009**, *10*, 625-626. b) G. Baby, P. T. Perumal, *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3225-3228.

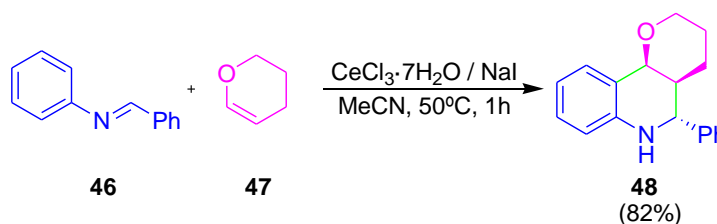
⁸⁵ D. Bello, R. Ramón, R. Lavilla, *Curr. Org. Chem.*, **2010**, *14*, 332-356.

⁸⁶ V. V. Kouznetsov, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 2721-2750.



Esquema 3. Síntesis de derivados de naftiridinas.

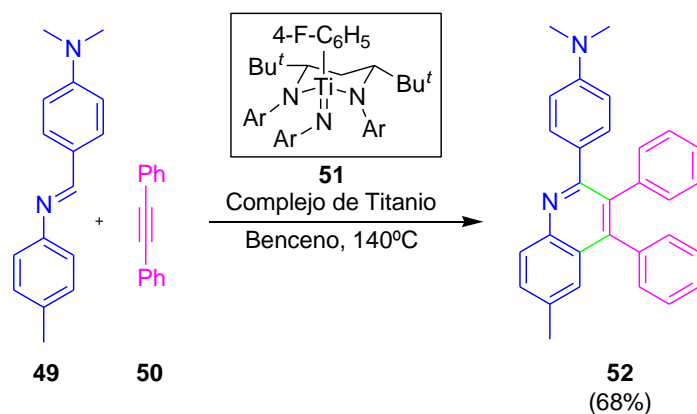
Como hemos mencionado anteriormente, la reacción de Povarov es una metodología versátil y es por esto por lo que la naturaleza del dienófilo puede variar según el aducto que queramos conseguir. Si bien hasta ahora se han mencionado ejemplos en los que se utilizaban alquenos como dienófilos, cabe añadir que también existen metodologías en las que se adicionan enoletes. Por ejemplo, Cimarelli y colaboradores⁸⁷ han desarrollado una metodología usando 3,4-dihidro-2H-pirano **47** como dienófilo en presencia de sales de cerio y NaI para dar lugar a derivados de piranoquinolinas **48** con excelentes rendimientos y en periodos cortos de tiempo (esquema 4).



Esquema 4. Metodología descrita por Cimarelli y colaboradores para la síntesis de piranoquinolinas.

⁸⁷ C. Cimarelli, S. Bordi, P. Piermattei, M. Pellei, F. Del Bello, E. Marcantoni, *Synthesis*, **2017**, 49, 5387-5395.

Si bien la utilización de dobles enlaces como dienófilos dan lugar a tetrahydroquinolinas, el uso de acetilenos ha sido también estudiado como herramienta para la obtención de quinolinas. Estas metodologías son interesantes ya que se obtienen directamente derivados de quinolinas. Un ejemplo podría ser el descrito por el grupo de Mindiola⁸⁸ utilizando iminas **49** y acetileno **50** en presencia de un complejo de titanio **51** obteniendo la quinolina **52** (esquema 5).

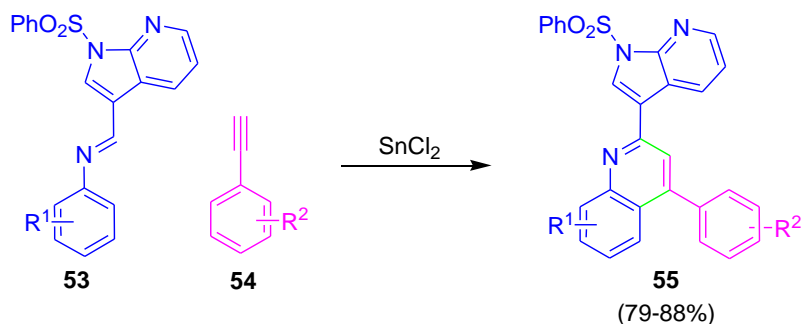


Esquema 5. Síntesis propuesta por Mindiola.

Muthusubramanian y colaboradores⁸⁹ describieron una metodología sintética eficiente para la obtención de quinolinas derivadas de azaindoles sustituidos **55** mediante la reacción de Povarov empleando acetilenos **54** e iminas derivadas del azaindol **53**, usando SnCl_2 como ácido de Lewis catalítico y obteniendo buenos rendimientos y diastereoselectividades (esquema 6).

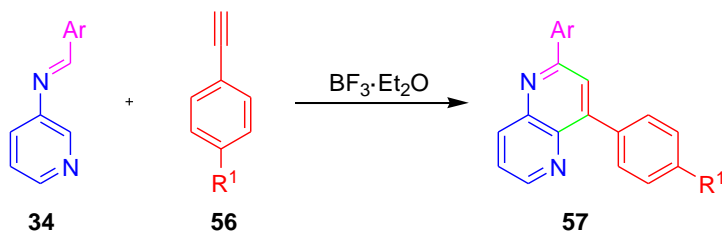
⁸⁸ F. Basuli, H. Aneetha, J. C. Huffman, D. J. Mindiola, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, 127, 17992-17993.

⁸⁹ R. Suresh, S. Muthusubramaniam, R. Senthilkumaran, G. Manicka, *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 1468-1476.



Esquema 6. Metodología sintética para la obtención de azaindoloquinolinas **55**.

Nuestro grupo⁹⁰ también describió una metodología sintética para la síntesis de derivados de naftiridina basada en la reacción de Povarov, en donde, aldiminas **34**, derivadas de aldehídos aromáticos y 3-aminopiridina, reaccionan con acetilenos **56** en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador. Como resultado, se obtuvieron derivados de naftiridinas **57** con buenos rendimientos (esquema 7).



Esquema 7. Metodología descrita por nuestro grupo para la síntesis de naftiridinas.

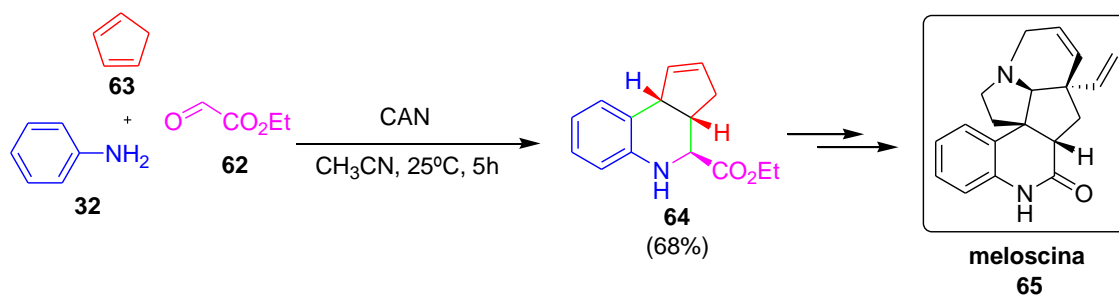
Todas estas metodologías sintéticas descritas hasta ahora precisan de la síntesis previa de la imina correspondiente. De hecho, debido a la inestabilidad que presentan algunos de estos compuestos, este requisito supone en algunos casos un inconveniente desde el punto de vista práctico y sintético. La solución a este problema podría estar en la reacción de Povarov de tres componentes en los que no se necesita la síntesis previa del dieno sino que, como veremos a continuación, tanto los componentes de la imina como el dienófilo reaccionan simultáneamente en un proceso multicomponente.

⁹⁰ C. Alonso, M. González, F. Palacios, G. Rubiales, *J. Org. Chem.*, **2017**, *82*, 6379-6387.

En química orgánica, hablamos de reacción multicomponente cuando tres o más reactivos reaccionan para dar lugar a un único producto, es decir, las reacciones multicomponentes combinan de una manera secuencial más de dos reactivos dando lugar, selectivamente, a un producto que retenga la mayor cantidad de átomos de los productos de partida.⁹¹

Las reacciones multicomponentes son conocidas desde 1850, cuando Strecker utilizó una reacción multicomponente en la síntesis de α -amino cianuros. Además, la capacidad de este tipo de reacciones⁹² ha sido ampliamente aplicada en los últimos años en el campo de la química médica debido a sus ventajas frente a reacciones clásicas o lineales. Las reacciones multicomponentes presentan un bajo coste así como un menor tiempo de reacción, además de poseer aspectos beneficiosos para el medio ambiente debido a la menor utilización de disolvente. Desde el punto de vista químico, las reacciones multicomponentes son herramientas versátiles que presentan diversidad.

Un ejemplo basado en esta metodología multicomponente ha sido descrita por Chandrasekhar y colaboradores, los cuales usaron la reacción de Povarov multicomponente como paso clave en la síntesis total de la meloscina **61**, en donde, anilina **32**, glioxalato de etilo **58**, y ciclopentadieno **59**, se hacen reaccionar en presencia de CAN dando lugar a la tetrahydroquinolina **60** (esquema 8).⁹³



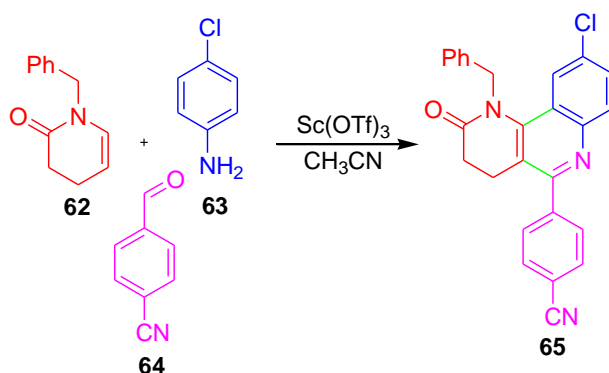
Esquema 8. Reacción de Povarov multicomponente.

⁹¹ T. Arganes-Tzitzikas, A. Doemling, *Org. Chem. Front.*, **2014**, *1*, 834-837.

⁹² J. J. Sahn, B. A. Granger, S. F. Martin, *Org. Biomol. Chem.*, **2014**, *12*, 7659-7672

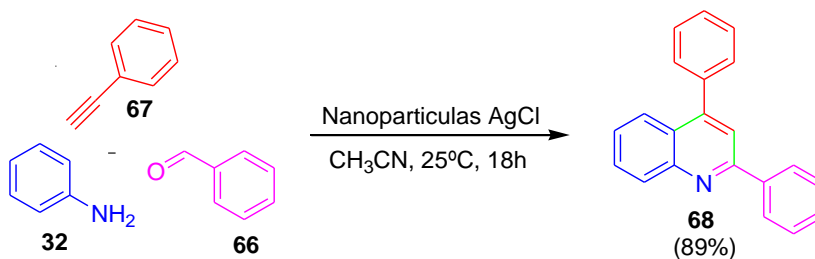
⁹³ N. Goli, S. Kallepu, P. S. Mainkar, J.K. Lakshmi, R. Chegondi, S.i Chandrasekhar, *J. Org. Chem.*, **2018**, *83*, 2244-2249.

Lavilla y colaboradores,⁹⁴ desarrollaron una metodología también basada en la reacción de Povarov multicomponente en la que se hicieron reaccionar enamida **62**, 4-cloroanilina **63** y 4-cianobenzaldehído **64** en presencia de $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ como catalizador. Como resultado, obtuvieron derivados de tetrahidroquinolinas **65** con buenos rendimientos (esquema 9).



Esquema 9. Metodología descrita por Lavilla y colaboradores.

Recientes investigaciones llevadas a cabo por el grupo de Hana⁹⁵ permiten obtener, mediante una reacción de Povarov en su forma multicomponente, las quinolinas **68** de una forma efectiva basada en la catálisis de nanopartículas de plata (esquema 10).



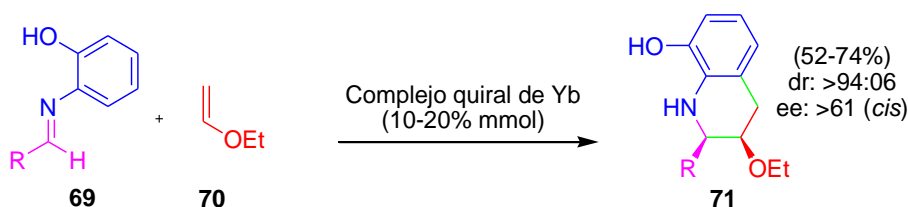
Esquema 10. Uso de nanopartículas de plata como catalizador en la síntesis de quinolinas.

Además, ya que la estereoquímica juega un papel crucial en la bioactividad de una molécula, la necesidad de obtener moléculas ópticamente puras es un objetivo principal en química orgánica preparativa. La reacción de Povarov ha sido también descrita en su vertiente asimétrica. La primera reacción de Povarov asimétrica fue publicada por Ishitani y Kobayashi en 1996 y en ella se describía,

⁹⁴ O. Di Pietro, E. Vicente-García, M. C. Taylor, D. Berenguer, E. Viayna, A. Lanzoni, I. Sola, H. Sayago, C. Riera, R. Fisa, M. V. Clos, B. Pérez, J. M. Kelly, R. Lavilla, D. Muños-Torrero, *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, *105*, 120-137.

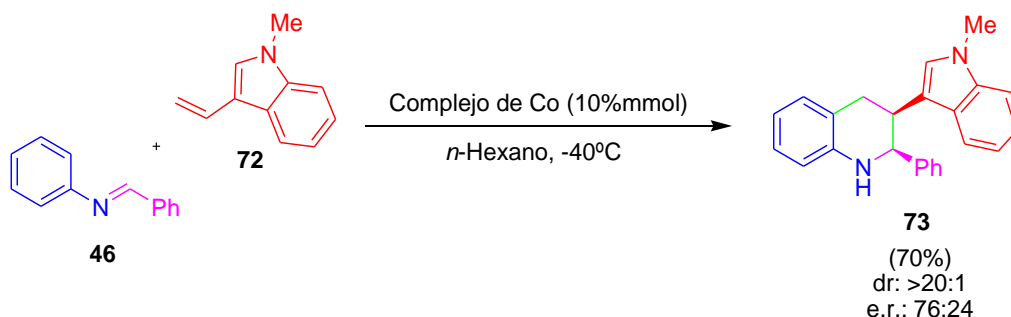
⁹⁵ K. Sapkotaa, S. S. Hana, *New J. Chem.*, **2017**, *41*, 5395-5402.

entre otros, la cicloadición de éteres vinílicos **70** a iminas aromáticas **69** en presencia de un complejo quiral de Yterbio,⁹⁶ obteniendo derivados de quinolinas **71** de forma diastereo- y enantiocontrolada (esquema 11).



Esquema 11. Reacción de Povarov enantioselectiva.

Otro ejemplo de reacción de Povarov asimétrica es la descrita por el grupo de Gong⁹⁷ basándose en el uso de complejos de cobalto quirales para catalizar la condensación entre la imina **46** y el derivado de indol **72** dando lugar a las tetrahydroquinolinas **73** con un alto stereocontrol de la reacción (esquema 12).



Esquema 12. Metodología sintética diseñada por Gong.

Feng y colaboradores describieron una reacción de Povarov asimétrica y multicomponente verdaderamente eficiente (esquema 13) usando o-hidroxianilinas **74**, complejos de escandio quirales como catalizadores⁹⁸ y ciclopentadieno **63** como dienófilo.⁹⁹ Los mismos autores extendieron esta misma metodología para alquilestirenos un año más tarde.¹⁰⁰

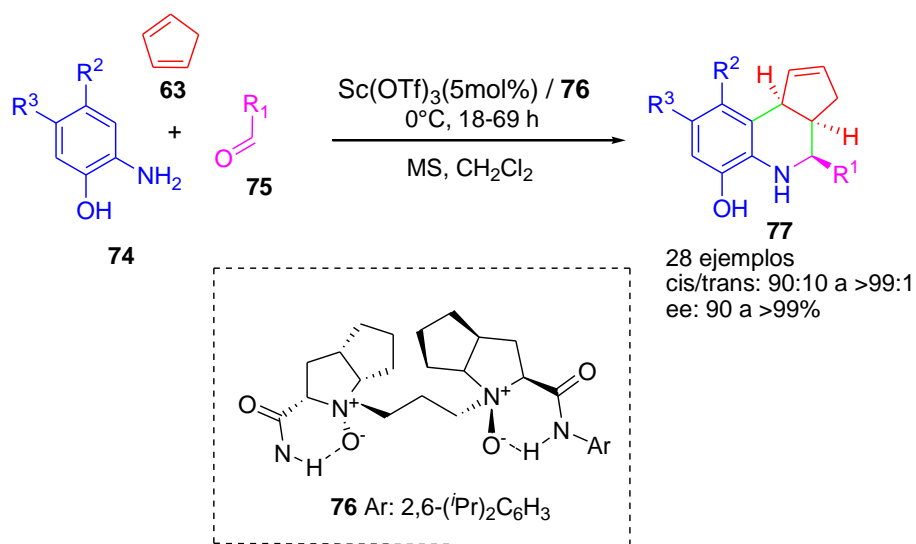
⁹⁶ H. Ishitani, S. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 7357-7360.

⁹⁷ J. Yu, H. Jiang, Y. Zhou, S. Luo, L. Gong, *Angew. Chem. Ed.*, **2015**, *54*, 11209-11213.

⁹⁸ O. Jiménez, G. de la Rosa, R. Lavilla, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2005**, *44*, 6521-6525.

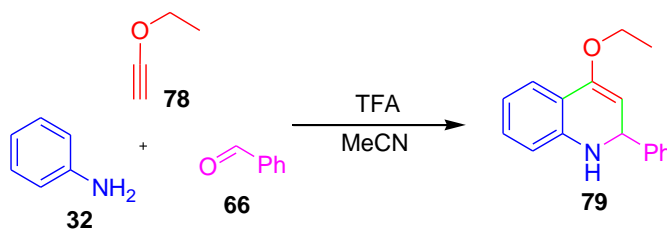
⁹⁹ M. Xie, X. Liu, Y. Zhu, B. Gao, L. Lin, X. Liu, X. Feng, *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2010**, *49*, 3799-3802.

¹⁰⁰ M. Xie, X. Liu, Y. Zhu, X. Zhao, Y. Xiao, L. Lin, X. Feng, *Chem. Eur. J.*, **2011**, *17*, 13800-13805.



Esquema 13. Reacción de Povarov multicomponente y asimétrica usando catalizadores metálicos.

Como hemos mencionado anteriormente, los ácidos de Lewis no son los únicos reactivos que pueden catalizar la reacción de Povarov ya que se han desarrollado metodologías usando ácidos de Brønsted como catalizador. Baudelle y colaboradores¹⁰¹ obtuvieron el cicloadducto **79** mediante la reacción de la imina proveniente de la anilina **32** y el aldehído **66**, con el alquino **78** en presencia ácido trifluoroacético como catalizador (esquema 14).



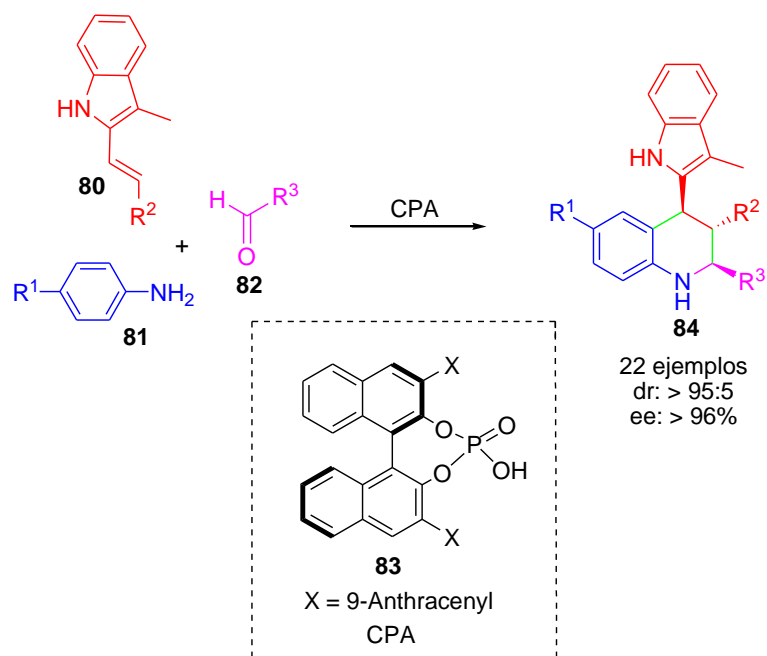
Esquema 14. Síntesis desarrollada por Baudelle y colaboradores.

Un trabajo reciente publicado por el grupo de Feng describe la primera aplicación para los 3-metil-2-vinilindoles **80** en reacciones de Povarov asimétricas multicomponentes usando aldehídos **82** y anilinas **81** en presencia de un ácido fosfórico quiral **83** como catalizador (esquema 15).¹⁰² Tanto la aldimina formada como el dienófilo **80** serían activados simultáneamente por el ácido **83** vía

¹⁰¹ R. Baudelle, P. Melnyk, B. Déprez, A. Tartar, *Tetrahedron*, **1998**, *54*, 4125-4140.

¹⁰² D. Wei, J. Xiao-Li, T. Ji-Yu, S. Feng, *J. Org. Chem.*, **2016**, *81*, 185-196.

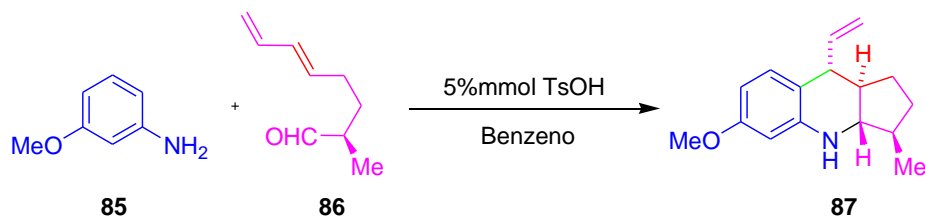
interacción mediante enlace de hidrógeno favoreciendo así la formación de la tetrahydroquinolina **84** de forma enantioselectiva. Esta estrategia facilita un acceso rápido a derivados de tetrahydroquinolinas quirales **84** con tres centros estereogénicos contiguos y excelentes diastereo- y enantioselectividades.



Esquema 15. Síntesis de quinolinas catalizada por un ácido fosfórico quiral de forma multicomponente.

La reacción de Povarov puede tener lugar también intramolecularmente cuando un dieno y un dienófilo están presentes en la misma estructura obteniéndose como resultado compuestos policíclicos. Kouznetsov revisó los avances de esta reacción de Povarov centrandó su estudio principalmente en la vertiente intramolecular.⁸⁶ Este tipo de reacción se ha convertido en una herramienta útil y versátil para la síntesis de productos biológicamente activos y se basa, principalmente, en un cierre electrocíclico de una imina con un grupo insaturado en su esqueleto.

En 2003, Magomedov describió la síntesis de ciclopenta[*b*]quinolinas **87**, mediante la reacción de Povarov intramolecular entre la *meta*-anisidina **85** y un aldehído dienílico **86** (esquema 16).¹⁰³



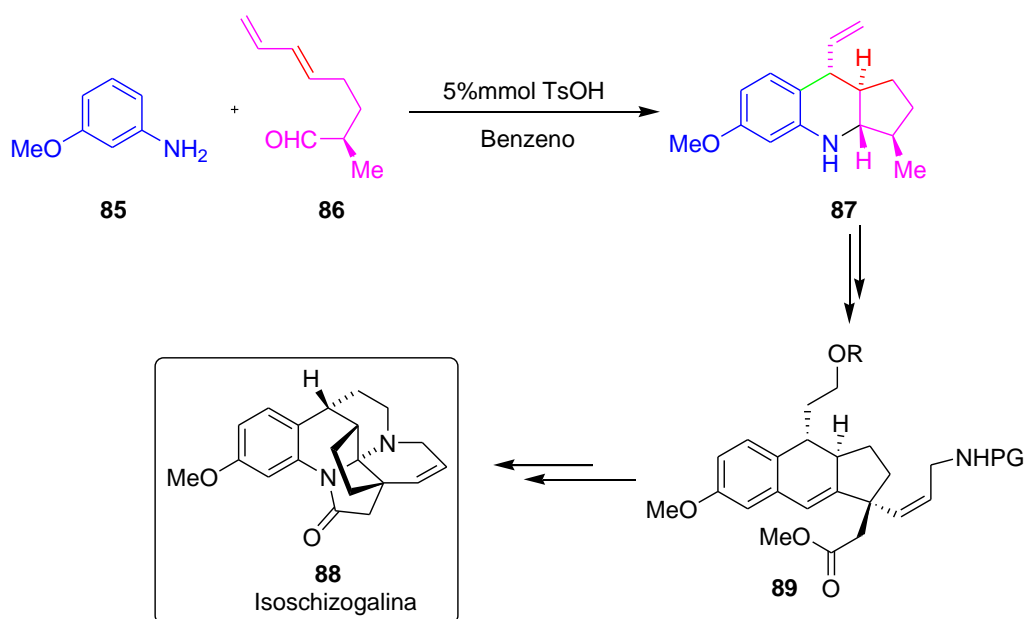
Esquema 16. Reacción de Povarov intramolecular.

Junto a la metodología de Magodedov descrita anteriormente, recientemente, Zhang y colaboradores han desarrollado la síntesis de indolizin[1,2-*b*]quinolin-9(11H)onas **89** usando la reacción de Povarov intramolecular para luego oxidar los productos obtenidos mediante fotocatalisis¹⁰⁴ (esquema 17). En este caso, la reacción Povarov intramolecular se ha utilizado como paso clave para la síntesis de productos bioactivos, como el alcaloide alcaloide isochizogalina **88** (esquema 17). Esta quinolina fue aislada de las hojas de la *Schizogygia coffaeoides*, una planta usada tradicionalmente en Kenia para el tratamiento de enfermedades cutáneas.¹⁰⁵

¹⁰³ N. A. Magomedov, *Org. Lett.*, **2003**, 5, 2509-2512.

¹⁰⁴ W. Dong, Y. Yuan, B. Hu, Z. Gao, H. Gao, X. Xie, Z. Zhang, *Org. Lett.*, **2018**, 20, 80-83.

¹⁰⁵ D. Duvelleroy, C. Perrio, O. Parisel, M. C. Lasne, *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, 3794-3804.



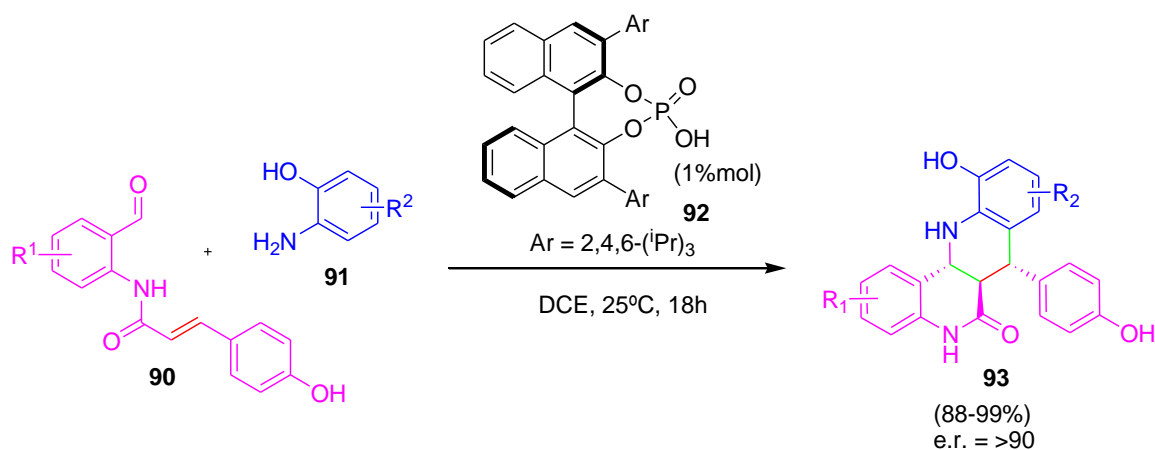
Esquema 17. Síntesis de derivados de la isoschizogalina.

El inconveniente del uso de los metales como catalizadores para el desarrollo de fármacos a suministrar en seres vivos y el auge de la “química sostenible” han impulsado el desarrollo de estrategias de organocatálisis en este tipo de reacciones.

Seidel y colaboradores han descrito la síntesis de derivados de quinolinas usando ácidos carboxílicos derivados de tiourea como catalizadores, obteniendo sustratos con excelente diastereo- y enantioselectividad.¹⁰⁶ Posteriormente, Masson y colaboradores describieron una reacción de Povarov intramolecular catalizada por diferentes ácidos fosfóricos quirales **92** para dar lugar a derivados de tetrahidrodibenzonafitridinonas **93** con excelente enantio y diastereoselectividad¹⁰⁷ (esquema 18).

¹⁰⁶ C. Ming, C. Lin, D. Seidel, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 1-6.

¹⁰⁷ L. Jarrige, F. Blanchard, G. Masson, *Angew. Chem. Int.*, **2017**, 56, 10573-10576.



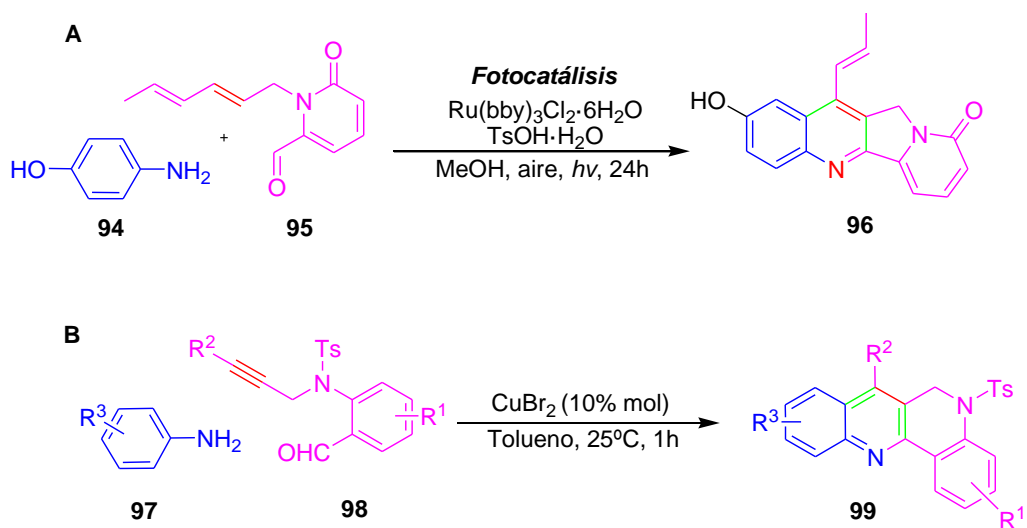
Esquema 18. Síntesis asimétrica descrita por Masson y colaboradores.

Como se ha explicado hasta ahora, la reacción de Povarov intramolecular ha dado lugar a tetrahydroquinolinas y tetrahidronaftiridinas que a su vez pueden ser precursores de sus análogos aromatzados (quinolinas y naftiridinas) mediante su deshidrogenación con diversos oxidantes.

Con el fin de evitar este paso, se han estudiado reacciones permiten obtener de una forma directa y sencilla quinolinas y naftiridinas sin necesidad de oxidar sus correspondientes compuestos hidrogenados (esquema 19). Recientemente, Zhang¹⁰⁴ y colaboradores han diseñado la síntesis de derivados de quinolina **96** mediante la reacción de Povarov intramolecular usando aldehídos **95** con un doble enlace en sus estructura y anilina **94** en presencia de un catalizador de rutenio *via* fotocatalisis (esquema 19A).¹⁰⁸ Por otro lado, el grupo de Menéndez ha obtenido derivados de naftiridinas **99** mediante la reacción intramolecular usando 2-(*N*-propargilamino)benzaldehídos **98** y arilaminas **97** en presencia de CuBr₂ (esquema 19B).¹⁰⁹

¹⁰⁸ W. Dong, Y. Yuan, X. Gao, H. Gao, X. Xie, Z. Zhang, *Org. Lett.*, **2018**, *20*, 80-83.

¹⁰⁹ I. Muthukrishnan, P. Vinoth, T. Vivekanand, S. Nagarajan, C. U. Maheswari, J. C. Menéndez, V. Sridharan, *J. Org. Chem.*, **2018**, *83*, 0000



Esquema 19. Reacción de Povarov intramolecular por medio de fotocatalisis; A) Obtención de derivados de quinolinas, Zhang. B) Obtención de derivados de naftiridinas Menéndez.

3. Objetivos

Con estos antecedentes, los objetivos de esta tesis consistirán en el desarrollo de una estrategia sintética basada en la reacción Povarov (hetero-Diels-Alder) entre *N*-ariliminas y dienófilos ricos en electrones para la preparación de heterociclos fusionados de seis miembros. Consideramos que esta estrategia podría ser adecuada para la preparación de una amplia gama de compuestos capaces de inhibir la Topoisomerasa I y que puedan presentar utilidad en química médica.

En particular, los objetivos principales para este trabajo son:

- Estudio de la reacción de Povarov intermolecular para la preparación de quinolinas fosforadas.
- Estudio de la reacción de Povarov intramolecular para la preparación de naftiridinas fusionadas.
- Estudio de la actividad biológica de los nuevos compuestos preparados.

Capítulo I

Síntesis de derivados de quinolinas fosforadas

I - 1. Introducción y objetivos

Fósforo y Química Orgánica

“Phosphorus” fue el nombre que dio Hening Brand a la sustancia que obtuvo al destilar la orina en 1669. Más tarde, en 1688, este elemento fue detectado en el reino vegetal por Albino y cien años después, entre 1769 y 1770, se reconoció el fósforo como un oligoelemento esencial en los huesos de los vertebrados por Gahn y Scheele.¹¹⁰

Los mayores depósitos de fósforo en el mundo se encuentran originariamente en las rocas de granito dispersas por todo el planeta,¹¹¹ en donde lo podemos encontrar en sus cuatro formas alotrópicas principales: el fósforo blanco,¹¹² la forma más común del fósforo y la más peligrosa debido a su gran toxicidad; el fósforo rojo,¹¹³ este se obtiene tras calentar el anterior a 400°C; el fósforo negro, es la forma más cristalina del fósforo y posee cuatro formas sub-alotrópicas;¹¹⁴ y por último, el fósforo líquido que se obtiene mediante la fusión de los tres anteriores a altas temperaturas.¹¹⁵

Entre las aplicaciones más destacables de los derivados de fósforo podríamos remarcar su uso como aditivos de detergente, aditivos alimentarios, metalúrgicos o petroleros, insecticidas¹¹⁶ y antifúngicos.¹¹⁷ Sin embargo, y como se describe a continuación, una de las aplicaciones más relevantes es la presencia de los grupos fosforados en moléculas bioactivas, así como en numerosos fármacos.

¹¹⁰ J. W. Mellor, *Comprehensive Treatise on Inorganic and Theoretical Chemistry*, **1947**, *8*, 729-736.

¹¹¹ F. W. Clarke, H. S. Washington, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **1922**, *8*, 108-112.

¹¹² J. Cremer, H. Kribbe, F. Rodis, *Knapsack-Griesheim* **1963**.

¹¹³ W. L. Roth, T. W. Dewit, A. J. Smith, *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**, *69*, 2881-2885.

¹¹⁴ P. W. Bridgman, *J. Am. Chem. Soc.*, **1914**, *36*, 1344-1363.

¹¹⁵ T. D. Farr, *Chem. Eng. Rep.*, **1950**, *8*, 2-17.

¹¹⁶ M. Tomizawa, J. E. Casida, *J. Agr. Food Chem.*, **2011**, *54*, 2883-2886.

¹¹⁷ K. Soni, M. K. Samota, P. Jhaharia, G. Seth, *Phosphorus Sulfur Silicon Relat.*, **2008**, *183*, 2845-2853.

Podríamos afirmar, que el compuesto organofosforado de mayor importancia biológica es el adenosintrifosfato (ATP). La llamada “moneda biológica” (figura 22), está presente en la mayoría de reacciones implicadas en el metabolismo y la fotosíntesis, ya que la hidrólisis de uno de sus grupos fosfato libera gran cantidad de energía dando lugar a su derivado pirofosfato llamado adenosindifosfato (ADP).¹¹⁸

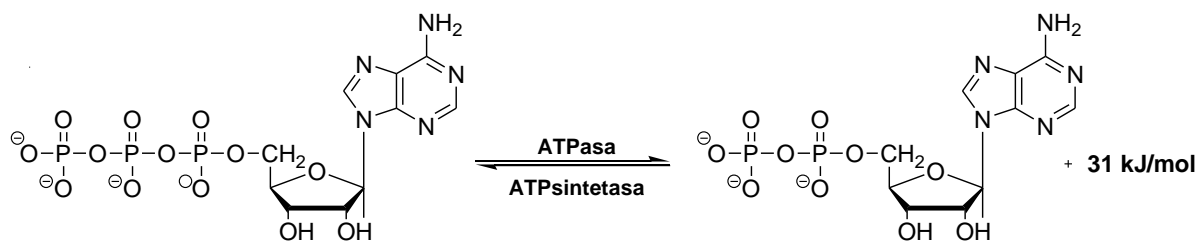


Figura 22. ATP, la llamada “moneda biológica”.

Como se ha mencionado anteriormente, el fósforo puede modificar las propiedades biológicas de una molécula. Hoy en día, son muchos los fármacos que presentan un grupo fosforado en su estructura, por ejemplo, la ciclofosfamida¹¹⁹ (figura 23), una pequeña molécula basada en un fosfaciclo, presenta actividades biológicas importantes como actividad antineoplásica y actividad inmunosupresora. Otro ejemplo podría ser el del fosfato disódico de betametasona¹²⁰ (figura 23), un derivado corticosteroide usado principalmente como antiinflamatorio pero que presenta actividades biológicas tales como actividad antifúngica y antiséptica. O también el fosfato de clindamicina¹²¹ (figura 23), un potente antibiótico, que está siendo estudiado como agente contra la toxoplasmosis y en tratamientos contra el acné.

¹¹⁸ A. S. Oliveira, A. M. Baptista, C. M. Soares, *Structure, function and bioinformatics*, **2011**, 79, 1977-1990.

¹¹⁹ S. Orecchioni, G. Talarico, V. Labanca, A. Calleri, P. Mancuso, F. Bertolini, *Brit. J. Cancer*, **2018**, 118, 1329-1336.

¹²⁰ Y. Zhang, X. Wu, H. Li, N. Du, S. Song, W. Hou, *Colloids and Surfaces, Physicochem. Eng. Aspects*, **2017**, 529, 824-831.

¹²¹ M. K. Watson, M. G. Papich, S. K. Chinnadurai, *J. Vet. Pharm. Therap.*, **2017**, 40, 682-686.

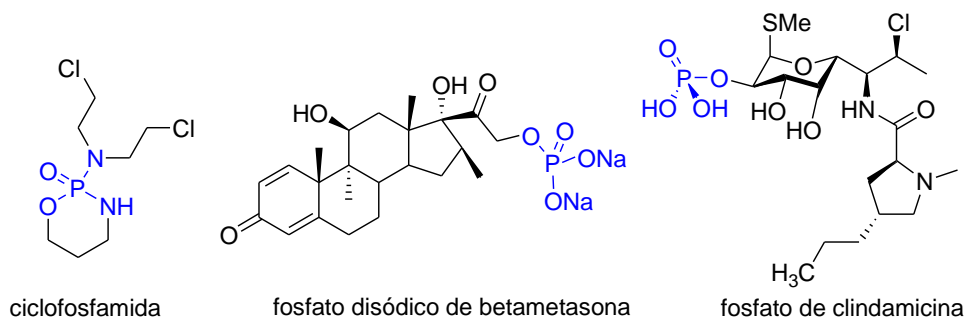
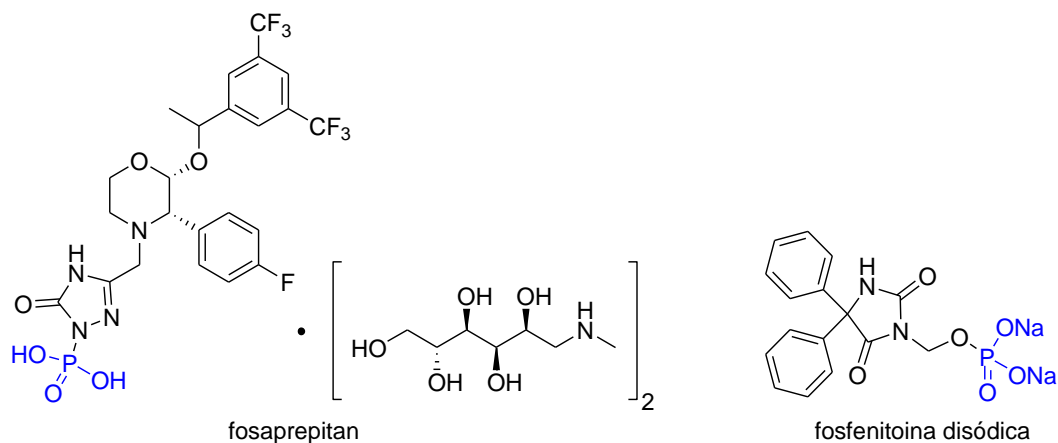


Figura 23. Fármacos con grupos fosforados en su estructura.

En los últimos años diferentes estudios han permitido la preparación de fármacos fosforados con diferentes propiedades (figura 24). Algunos de los ejemplos más representativos son, la sal derivada del fosaprepitan,¹²² un antiemético cada vez más usado en pacientes sometidos a quimioterapia y la fosfenitoina disódica, un agente con actividad anticonvulsiva.¹²³



Capítulo I: Síntesis de derivados de quinolinas fosforadas

Por último, cabe destacar que el fósforo, no solo está presente en algunos fármacos como grupo activo, sino que puede encontrarse como contraión en forma de sal mejorando así la solubilidad del fármaco y posibilitando su administración. En este grupo, podemos encontrar diferentes medicamentos¹²⁴ (figura 25) tales como carvediol, un betabloqueante comúnmente usado en personas con riesgo de padecer infarto, sitagliptin, un inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, codeína, un potente analgésico y oseltamivir, un agente antiviral.

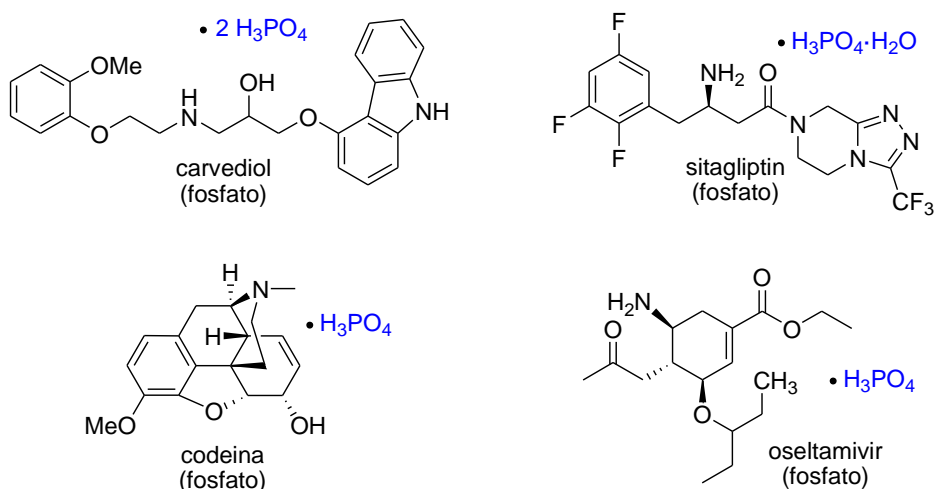


Figura 25. Fármacos en forma de sal fosforada.

¹²⁴ a) <http://www.fda.gov>. b) <http://www.aemps.gob.es>.

Heterociclos nitrogenados: Las Quinolinas

Como ya se ha mencionado en la introducción de esta Tesis Doctoral, los heterociclos nitrogenados son compuestos presentes en el esqueleto de una amplia gama de moléculas bioactivas así como sustratos de una gran variedad de procesos sintéticos. Entre los compuestos policíclicos nitrogenados destaca la quinolina (figura 26), uno de los componentes extraídos del alquitrán mineral que fue descubierto por Runge en 1834.¹²⁵ El anillo de quinolina está presente en muchos compuestos con actividad biológica.

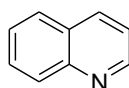


Figura 26. Estructura de la quinolina.

Debido a la gran capacidad de funcionalización de este esqueleto heterocíclico se han obtenido una multitud de compuestos de gran valor en los campos de la medicina o la industria química. Por ejemplo, el primero y el agente antimalárico más conocido, la quinina (figura 27), así como sus derivados halogenados, la cloroquina y la mefloquina¹²⁶ contienen un anillo de quinolina en su esqueleto. La cloroquina¹²⁷ es un agente antimalárico usado comúnmente en profilaxis,¹²⁸ en cambio la mefloquina, es un medicamento que se utiliza tanto en el tratamiento como en la prevención del paludismo¹²⁹ y que está incluido en la lista de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

¹²⁵ R. G. Kränzlein, *Angew. Chem.*, **1935**, *48*, 1-3.

¹²⁶ J. Achan, A. O. Talisuna, A. Erhart, A. Yeka, J. K. Tibenderana, F. N. Baliraine, P. J. Rosenthal, *Malar J.*, **2011**, *10*, 144.

¹²⁷ L. Li, Y. Jin, B. Wang, z. Yang, M. Liu, H. Guo, J. Zhang, Y. Lu *Che. Bio. Drug Des.*, **2017**, 1-12.

¹²⁸ M. Quiliano, A. Pabon, E. Moles, L. Bonilla-Ramirez, I. Fabing, K. Y. Fong, D. A. Nieto-Aco, D. W. Wright, J. C. Pizarro, A. Vettorazzi, *Eur. J. Med. Chem.*, **2018**, *152*, 489-514.

¹²⁹ M. Ni, J.G. He, H. Y. Zhou, X. J. Lu, Y. L. Hu, L. Mao, F. Wang, J. G. Chen, Z. L. Hu, *Neuropharm.*, **2018**, *137*, 256-267.

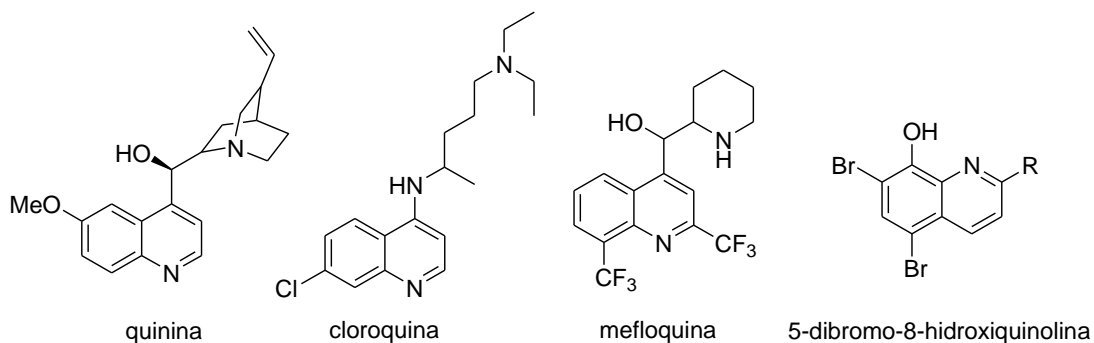


Figura 27. Derivados de quinolina.

Otros derivados presentan actividad antimicrobacteriana, como la que poseen algunos derivados halogenados de quinolinas, como los derivados de la 5-dibromo-8-hidroxiquinolina (figura 27),¹³⁰ que han mostrado una alta actividad frente a bacterias resistentes a antibióticos.

De hecho, la versatilidad de la quinolina ha hecho que reciba el nombre de “privilege scaffold” (esqueleto privilegiado) en química médica, concedido por Evans en 1988 quien la definió como una estructura de carácter simple que se encuentra en diversos compuestos terapéuticos con diferentes receptores afines.¹³¹

Un derivado de la quinolina, la 1,2,3,4-tetrahydroquinolina también está presente en la estructura de compuestos con actividad biológica importante. Por ejemplo, la virantmicina (figura 28), aislado de *Streptomyces nitrosporeus*, es un metabolito antiviral,¹³² la pumiliotoxina C, una de las toxinas que se encuentran en la piel de las ranas venenosas de los géneros *Dendrobates*, *Epipedobates*, *Minyobates* y *Phullobates*,¹³³ y por último, la oxamniquina, un fármaco antihelmíntico indicado para el tratamiento de la infestación por *Schistosoma mansoni*¹³⁴ (figura 28).

¹³⁰ R. W. Huigens, A. Basak, Y. Abouelhassan, *PCT Int. Appl.*, **2017**, Patente: WO-2017053696.

¹³¹ B. E. Evans, K. E. Rittle, M. G. Bock, R. M. DiPrado, R. M. Freidinger, W. L. Whitter, C. F. Lunder, D. F. Veber, P. S. Anderson, R. S. L. Chang, R. S. Chang, *J. Chem.*, **1988**, *31*, 2235-2246.

¹³² C. M. Pearce, K. M. Sanders, *J. Chem. Soc.*, **1990**, *1*, 409-411.

¹³³ M. Gaertner, J. Qu, G. Helmchen, *J. Org.Chem.*, **2012**, *77*, 1186-1190.

¹³⁴ A. Swargiary, A. K. Verma, *Brit. Biomed. Bull.*, **2015**, *3*, 20-33.

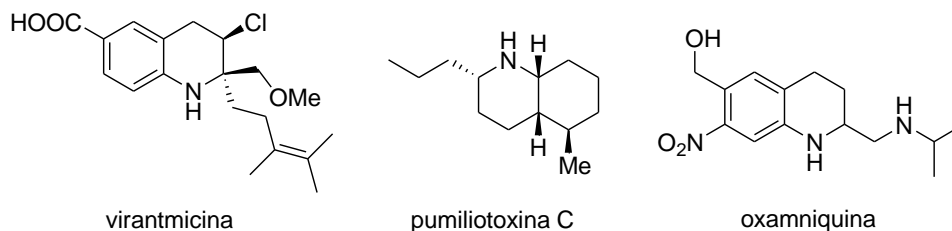


Figura 28. Derivados de la tetrahidroquinolina.

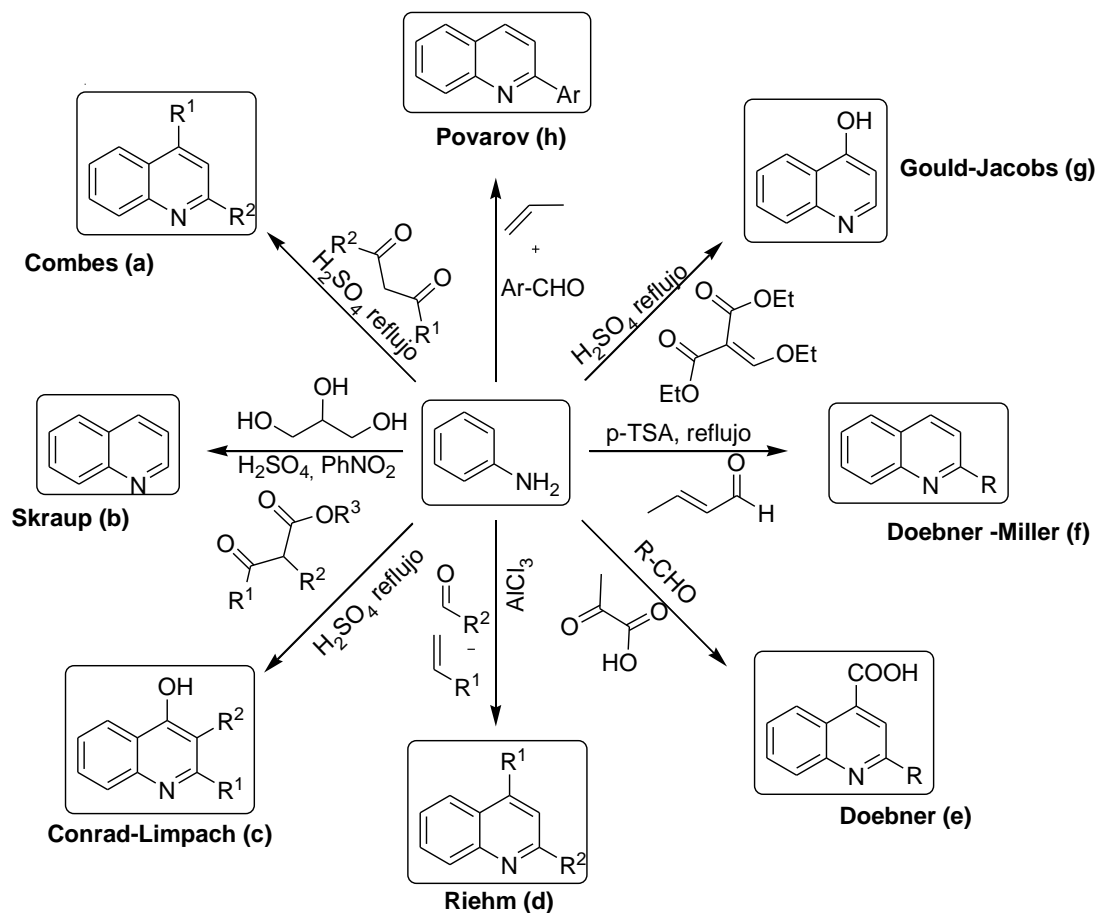
A pesar de que durante mucho tiempo se han desarrollado diversos métodos de preparación de derivados de quinolina,^{135,136} hoy en día han surgido nuevas metodologías sintéticas para la síntesis de este tipo de compuestos.

Entre las diferentes metodologías descritas para la preparación de quinolinas (esquema 20) destacan aquellas en las que se utiliza la anilina como uno de los productos de partida.¹³⁷ Entre otros, la reacción de Combes (a), basada en una reacción con un compuesto 1,3 dicarbonílico catalizada por ácido sulfúrico, la reacción de Skraup (b), en la que se utiliza glicerol, la reacción de Conrad-Limpach (c), mediante el uso de β -cetoesteres, la reacción de Riehm (d), mediante el uso de compuestos carbonílicos en presencia de AlCl_3 , la reacción de Doebner (e), utilizando ácido pirúvico y un aldehído, la reacción de Doebner-Miller (f), basada en el uso de aldehídos α , β -insaturados, la reacción de Gould-Jacobs (g) una variante de la reacción de Combes utilizando catálisis ácida, y por último, la reacción de Povarov (h), basada en la adición de dienófilos a iminas y posterior aromatización.

¹³⁵ A. R. Katritzky, S. Rachwal, B. Rachwal, *Tetrahedron* **1996**, *52*, 15031-15070.

¹³⁶ a) V. V. Kouznetsov, L. Y. Vargas Mendez, C. M. Meléndez Gómez *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 141- 161; b) V. V. Kouznetsov, A. Palma, C. E. Wert, A. Varlamov *J. Heterocycl. Chem.* **1998**, *35*, 1314-1318.

¹³⁷ J. B. Bharate, R. A. Vishwakarma, S. B. Bharate, *RSC Adv.*, **2015**, *5*, 42020–42053.



Esquema 20. Metodologías sintéticas para la obtención de quinolinas.

Además, como hemos mencionado anteriormente, las quinolinas fosforadas pueden ser compuestos interesantes desde un punto de vista biológico ya que, los sustituyentes fosforados afectan en gran medida a la reactividad de los heterociclos y regulan importantes funciones biológicas.¹³⁸ Por tanto, una forma de aumentar la actividad biológica de un compuesto con esqueleto quinolínico podría consistir en la incorporación de grupos fosforados a la estructura.^{139, 140}

¹³⁸ P. Kafarski, B. Lecjzak, *Phosphorus, Sulfur, Silicon Relat. Elem.*, **1991**, 63, 193-215.

¹³⁹ F. Palacios, C. Alonso, J. M. de los Santos, *Chem. Rev.*, **2005**, 105, 899-931.

¹⁴⁰ S. Van der Jeught, C. V. Stevens, *Chem. Rev.*, **2009**, 109, 2672-2702.

Algunos derivados de quinolina con un grupo fosfanóxido en la posición 3 del heterociclo han sido descritos por nuestro grupo.¹⁴¹

En el campo de la química organometálica, las 8-fosfinoquinolinas (esquema 21) se han usado en la formación de ligandos para hidrogenaciones catalíticas¹⁴² y también para la formación de complejos de oro¹⁴³, cobre¹⁴⁴, paladio¹⁴⁵, iridio¹⁴⁶ y níquel¹⁴⁷, en la hidrogenación de cetonas¹⁴⁸ y/o nitrilos¹⁴⁹, en polimerización de olefinas¹⁵⁰ y en reacciones de acoplamiento cruzado para la formación de enlaces carbono-carbono.¹⁵¹ Estos sustratos combinan la influencia favorable que genera el átomo de fósforo en la estabilidad del complejo catalítico y el papel del nitrógeno en cuanto a actividad catalítica.

Algunas metodologías descritas para la síntesis de las 8-fosfinoquinolinas proporcionan rendimientos extremadamente bajos (26-36%) como por ejemplo la fosforilación de la 8-bromoquinolina (X = Br) o la 8-bromo-2-metilquinolina (X = Br, R = Me), la fosfinación con BuLi/CIPPh₂¹⁵² o la fosfinación de quinolinil triflatos (X = OTf) con PPh₃ en presencia de Pd/C o Pd/Al₂O₃ como catalizador¹⁵³ (esquema 21). Además, el único ejemplo descrito hasta ahora para la síntesis de derivados de 8-fosfinotetrahydroquinolinas con rendimientos moderados ha sido la *orto*-litiación de tetrahydroquinolinas (esquema 21) mediante la metalación-fosfinación en presencia de fenil difenilfosfinito.

¹⁴¹ a) F. Palacios, D. Aparicio, J. Garcia, **1998**, *54*, 1647-1656; b) F. Palacios, A. M. Ochoa de Retana, J. Oyarzabal, *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 5947-5964; c) F. Palacios, D. Aparicio, J. Vicario, *Eur. J. Org. Chem.*, **2002**, 4131-4136.

¹⁴² T. Pullmann, B. Engendahl, Z. Zhang, M. Hoelscher, A. Zanotti-Gerosa, A. Dyke, G. Francio, W. Leitner, *Chem. Eur. J.*, **2010**, *16*, 7517-7526.

¹⁴³ L. Huang, F. Rominger, M. Rudolph, A. S. K. Hashmi, *Chem. Commun.*, **2016**, *52*, 6435-6438.

¹⁴⁴ B. Shrestha, S. Thapa, S. K. Gurung, Ryan A. S. Pike, R. Giri, *J. Org. Chem.*, **2016**, *81*, 787-802.

¹⁴⁵ L. Canovese, F. Visentin, T. Scattolin, C. Santo, V. Bertolasi, *Dalton Trans.*, **2015**, *44*, 15049-15058.

¹⁴⁶ B. Aranda, P. Aguirre, S. A. Moya, M. Bonneau, J. A. G. Williams, L. Toupet, M. Escadeillas, H. Le Bozec, V. Guerchais, *Polyhedron*, **2015**, *86*, 120-124.

¹⁴⁷ A. Hashimoto, H. Yamaguchi, T. Suzuki, K. Kashiwabara, M. Kojima, H. D. Takagi, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2010**, 39-47.

¹⁴⁸ Y. Y. Li, S. L. Yu, W. Y. Shen, J. X. Gao, *Acc. Chem. Res.*, **2015**, *48*, 2587-2598.

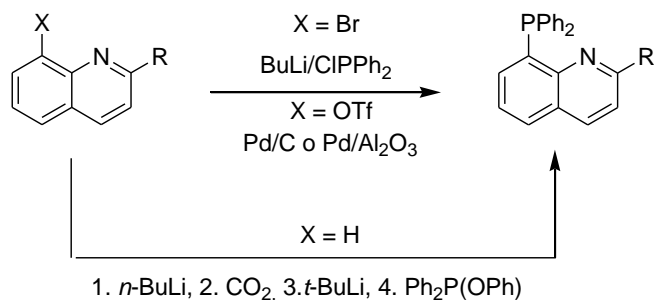
¹⁴⁹ A. Mukherjee, D. Srimani, S. Chakraborty, Y. Ben-David, D. Milstein, *J. Chem. Soc.*, **2015**, *137*, 8888-8891.

¹⁵⁰ H. Mu, L. Pan, D. Song, Y. Li, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 12091-12137.

¹⁵¹ A. H. Cherney, N. T. Kadunce, S. E. Reisman, *Chem. Rev.*, **2015**, *115*, 9587-9652.

¹⁵² L. Canovese, F. Visentin, G. Chessa, P. Uguagliati, S. Santo, A. Dolmella, *Organometallics*, **2005**, *24*, 3297-3308.

¹⁵³ Y. Wang, C. W. Lai, F. Y. Kwong, W. Jia, K. S. Chan, *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 9433-9439.

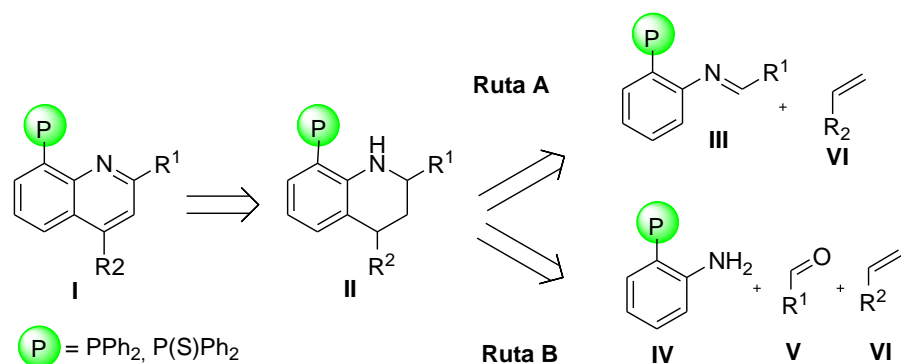


Esquema 21. Síntesis de 8-fosfinoquinolinas.

Teniendo esto en cuenta, el desarrollo de métodos selectivos para acceder a moléculas de gran importancia y preparar heterociclos con un grupo fosforado como sustituyente en esqueletos de quinolina o tetrahydroquinolina, representa un objetivo atractivo debido al gran interés de estas moléculas en los campos de la química médica y sintética.

En vista de estos antecedentes y con la experiencia previa de nuestro grupo de investigación en la síntesis de heterociclos nitrogenados, se tratará de desarrollar un método fácil y versátil para sintetizar quinolinas fosforadas **I** y tetrahydroquinolinas fosforadas **II** (esquema 22). Para ello, utilizaremos la reacción de Povarov^{74,75} mediante la reacción [4+2] de iminas derivadas de aldehídos aromáticos **III** (ruta A) o sus precursores **IV** y **V** (reacción multicomponente, ruta B)¹⁵⁴ con estirenos **VI**, en presencia de ácidos de Lewis para formar tetrahydroquinolinas **II**. La posterior aromatización de los compuestos **II** puede conllevar a los derivados aromáticos **I**.

¹⁵⁴ a) E. Vicente-García, R. Ramon, R. Lavilla, *Synthesis*, **2011**, 2237-2246; b) M. C. Elliott, D. H. Jones, *Multicomponent Reactions with [4+2] Cycloadditions as the key step, in Multicomponent Reactions*; T. J. J. Müller (Ed.) Science of Synthesis. Vol 1 y 2. Thieme: Stuttgart, **2014**, 243-286; c) H. Du, K. Ding, *Diels-Alder and Hetero Diels-Alder Reactions in Multicomponent Reactions*; T. J. J. Müller (Ed.) Science of Synthesis. Vol 1 y 2. Thieme: Stuttgart, **2014**, 1131-1162; d) L. G. Voskressensky, A. A. Festa, *[4+2] Cycloaddition in Multicomponent Reactions*; T. J. J. Müller (ed.) Science of Synthesis. Vol 1 y 2: Thieme: Stuttgart, **2014**.



Esquema 22. Retrosíntesis propuesta como objetivo del trabajo a estudiar.

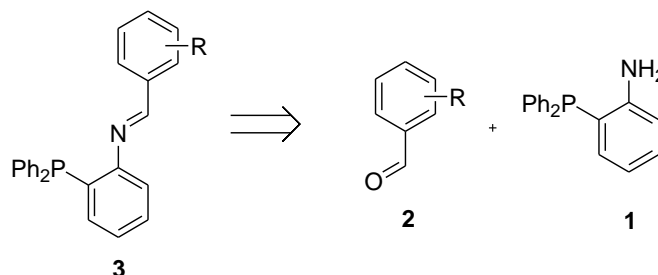
Además, se estudiará también la capacidad de inhibición de la Top1 de los compuestos sintetizados así como su citotoxicidad frente a distintas líneas celulares. En concreto, los objetivos de este primer capítulo son los siguientes:

- Estudio de la reactividad de las iminas derivadas de anilinas fosforadas en reacciones de cicloadición [4+2] con estirenos para la síntesis de tetrahydroquinolinas fosforadas **II**.
- Estudio de la oxidación de los derivados de tetrahydroquinolinas fosforadas para obtener las correspondientes quinolinas fosforadas **I**.

I - 2. Síntesis de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinas fosforadas*

En primer lugar se procedió a la preparación de 8-difenilfosfinoquinolinas **II** ($P = PPh_2$) siguiendo la ruta A del esquema 22, es decir, utilizando la reacción de Povarov de aldiminas aromáticas con sustituyentes difenilfosfino **III** y los correspondientes estirenos **VI**.

Para la preparación de las aldiminas aromáticas hemos de partir de difenilfosfinoanilinas **1** y los correspondientes aldehídos aromáticos **2** (esquema 23). Sin embargo, el compuesto **1** no es comercial, por lo tanto tuvimos que prepararlo a partir de la *o*-cloroanilina utilizando el procedimiento descrito previamente en la bibliografía.¹⁵⁵

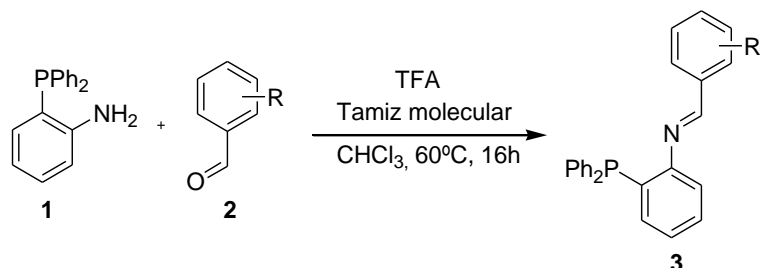


Esquema 23. Síntesis de las iminas fosforadas.

Una vez obtenida la difenilfosfino anilina **1** se procedió a la preparación de las correspondientes iminas mediante su condensación con aldehídos aromáticos **2** en cloroformo y en presencia de tamiz molecular de 4Å (esquema 24). En todos los casos fue requerida la presencia catalítica de ácido trifluoroacético.

¹⁵⁵ a) M. K. Cooper, J. M. Downes, P. A. Duckworth *Inorg. Synth.* **1989**, 25, 129-133; b) S. Li, W. Miao, T. Tang, D. Ciu, X. Chen, X. Jing, *J. Organomet. Chem.* **2007**, 692, 4943-4952.

***NOTA: A partir de esta sección se comenzará con la numeración de los compuestos presentados para facilitar la lectura.**



Esquema 24. Síntesis de iminas fosforadas 3.

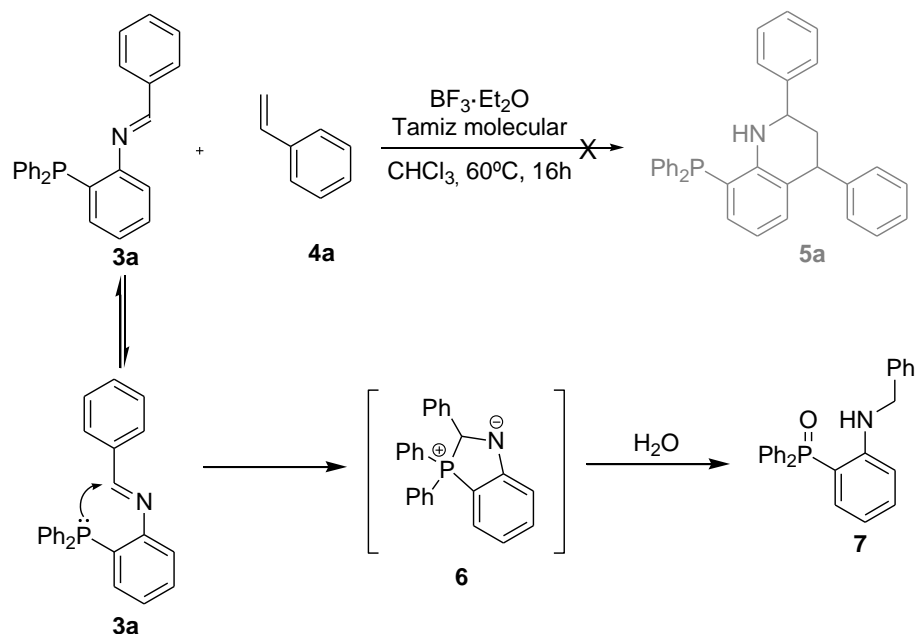
Tabla 1. Aldiminas 3 preparadas.

Entrada	Compuesto	R	Conv. (%)
1	3a	H	99
2	3b	4-F	99
3	3c	4-CF ₃	99
4	3d	4-OMe	99
5	3e	4-NO ₂	99
6	3f	2,4-F	99
7	3g	3,4-F	99
8	3h	C ₆ H ₄	99

La formación de todas las aldiminas fue puesta de manifiesto por RMN de protón y fósforo, sin embargo, estos productos no son estables y, por lo tanto, no pudieron ser aislados ni por destilación ni por cromatografía en columna debido a su inestabilidad y, por ello, fueron utilizados *in situ* en posteriores reacciones (tabla 1). También debido a su inestabilidad no pudieron ser caracterizadas por RMN aunque se observó su formación por TLC.

A continuación, se comenzó con el estudio la reacción de Povarov y la *N*-(2-difenilfosfino)aldimina **3a**, derivada del benzaldehído, y estireno **4a** en presencia de 2 equivalentes de BF₃·Et₂O en cloroformo a reflujo. Sin embargo, tras la desaparición de los productos de partida (12h), no se observó la formación de la tetrahydroquinolina **5a** esperada y en su lugar, se aisló el óxido de 2-(bencilaminofenil)difenilfosfina **7** (esquema 25).

La formación del compuesto **7** podría justificarse mediante una adición intramolecular del fósforo al enlace imínico de **3a** dando lugar a una sal de fosfonio cíclica **6** (esquema 25). Finalmente, la presencia de agua en las condiciones de aislamiento, daría lugar al óxido de 2-(bencilaminofenil)difenilfosfina **7**.



Esquema 25. Ciclación intramolecular de la aldimina **3a**.

Con el objeto de confirmar esta propuesta mecanística, el proceso de la reacción fue monitorizado mediante ^{31}P -RMN. Así, a las 0.5 horas de reacción (figura 29a), se puede observar una única señal correspondiente a la aldimina **3a** a $\delta = -13.0$ ppm. Transcurridas 2 horas de reacción (figura 29b), la señal correspondiente a la aldimina **3a** comienza a disminuir y a su vez aparece una nueva señal a $\delta = 40.0$ ppm que podría ser asignada al intermedio **6**. Tras 8 horas de reacción (figura 29c), se puede observar como la aldimina **3a** se ha consumido por completo y a su vez conviven dos señales a $\delta = 39.0$ y 37.2 ppm. Por último, a las 16 horas de reacción (figura 29d), y debido al agua proveniente de la imina que no ha sido eliminada de la reacción, la señal de **6** desaparece por completo observándose una única señal a $\delta = 37.2$ ppm que corresponde al compuesto **7**, que no evoluciona con el paso del tiempo, indicando que la reacción ha finalizado.

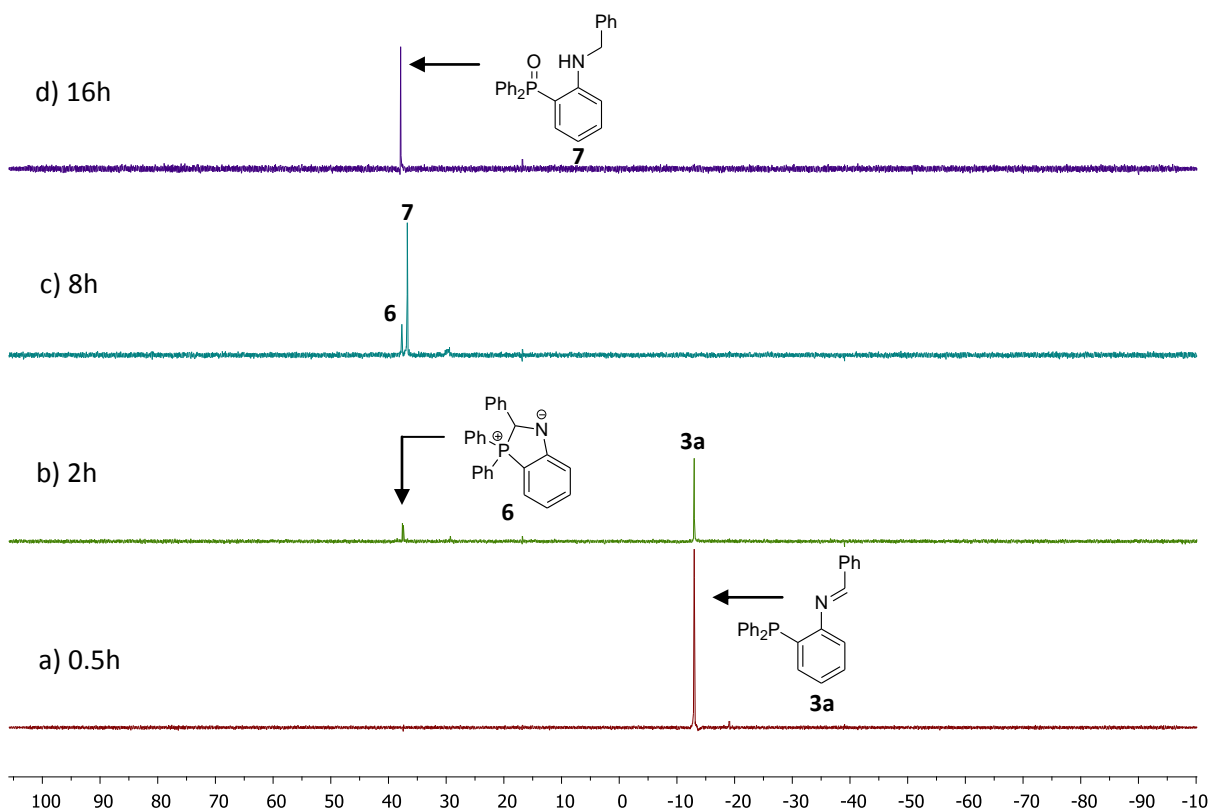


Figura 29. Monitorización por ^{31}P -RMN de la reacción de ciclación intramolecular de la aldimina **3a**.

Tras la purificación y el aislamiento del producto de reacción, la estructura del compuesto **7** fue determinada por espectroscopía de RMN 1D y 2D. Así, el espectro de ^1H -RMN del compuesto **7** presenta un doblete a $\delta = 4.33$ ppm con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{H,H}} = 5.7$ Hz que corresponde a los protones del grupo metileno (figura 30) y una señal en ^{13}C -RMN y dept indica la presencia de un grupo CH_2 . Además, en el espectro de ^{31}P -RMN aparece una señal a $\delta = 37.2$ ppm.

Una reacción similar ha sido previamente descrita cuando fosfinoanilinas son tratadas con piridin-2-carboxaldehídos en presencia de ácidos de Brønsted.¹⁵⁶

¹⁵⁶ S. Doherty, J. G. Knight, T. H. Scanlan, M. R. J. Elsegood, W. Clegg, *J. Organomet. Chem.*, **2002**, 650, 231-248.

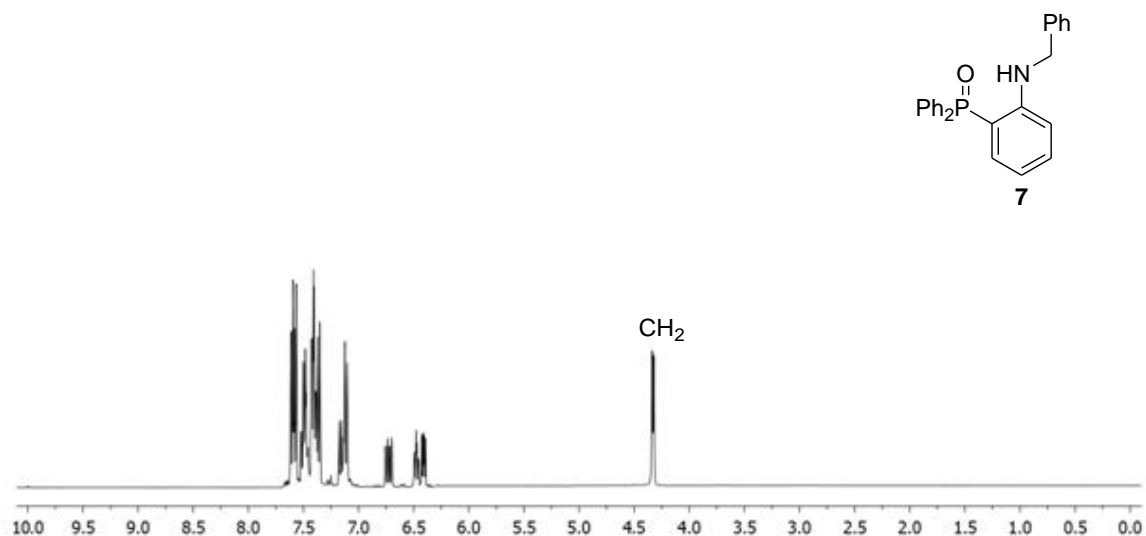
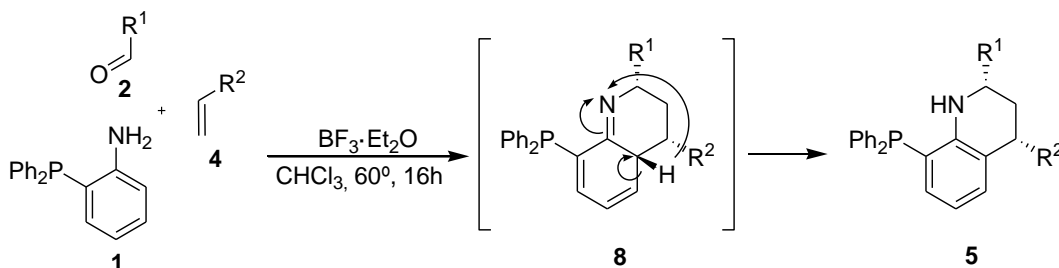


Figura 30. Espectro de ¹H-RMN del compuesto 7.

Estas limitaciones complican y restringen considerablemente la simplicidad de preparación de derivados de fosfinoquinolinas, por lo que pensamos que una reacción multicomponente (esquema 22, ruta B) podría permitir simplificar el problema, ya que los tres componentes (amina **1**, aldehído **2a** y estireno **4a**) están presentes en la mezcla de reacción desde el principio, y por tanto una vez formada la imina **3a**, esta reaccionará inmediatamente con el estireno **4a** y evitando que ocurra la ciclación intramolecular que da lugar al óxido de 2-(bencilaminofenil)difenilfosfina **7**.

Comenzamos estudiando la reacción multicomponente entre la 2-(difenilfosfinoanilina) **1**, aldehídos **2** y estireno **4** en presencia de 2 equivalentes de BF₃·Et₂O en cloroformo a reflujo durante 24h y con tamiz molecular en el medio de reacción. De esta forma, se obtuvieron las correspondientes 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil fosfinas **5** (esquema 26) con buenos rendimientos (tabla 2).



Esquema 26. Reacción de Povarov Multicomponente.

Tabla 2. Fosfino-1,2,3,4-tetrahidroquinolinas obtenidas.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Rdto. (%)
1	5a	Ph	Ph	69
2	5b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	Ph	65
3	5c	4-F-C ₆ H ₄	Ph	50 ^a
4	5d	4-MeO-C ₆ H ₄	Ph	50 ^a
5	5e	3,4-F ₂ -C ₆ H ₃	Ph	50 ^a
9	5f	Ph	4-F-C ₆ H ₄	69
10	5g	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	56
11	5h	4-F-C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	71
12	5i	Ph	4-Me C ₆ H ₄	56
13	5j	4-F-C ₆ H ₄	4-Me C ₆ H ₄	61
14	5k	4-MeO-C ₆ H ₄	4-Me C ₆ H ₄	71

^a Se observó una conversión de la imina basado en ³¹P-RMN, producto inestable.

Las estructuras de los compuestos **5** fueron asignadas mediante experimentos de espectroscopia de RMN 1D y 2D. Por ejemplo, en la figura 31 se muestra el espectro de ¹H-RMN del compuesto **5a** (R¹ = R² = Ph) en donde se puede apreciar a campo alto del espectro dos señales correspondientes a los protones del CH₂. Estos protones son diastereotópicos debido a que se encuentran próximos a dos carbonos asimétricos dando lugar a dos señales diferentes para cada protón. Por un lado, a δ = 1.86 ppm se puede observar un cuadruplete, formalmente un doble doblete, que corresponde a uno de los protones del carbono metilénico con unas constantes de acoplamiento de ²J_{HH} = 13 Hz, ³J_{HHc} = 13 Hz y ³J_{HH} = 13 Hz. Por otro lado, el otro protón del CH₂ aparece como un multiplete a δ = 1.97-2.04 ppm. En cuanto al resto de protones alifáticos, el protón 4-H muestra una señal en forma de doble doblete a δ = 3.63 ppm con unas constantes de acoplamiento de ³J_{HH} = 13 Hz y ³J_{HH} = 3.5 Hz, mientras que el protón 2-H a δ = 4.17 ppm muestra otro doble doblete con unas constantes de acoplamiento de ³J_{HH} = 13 Hz y ³J_{HH} = 4.1 Hz. Además, a δ = 3.90-3.92 ppm se observa un multiplete

correspondiente al grupo amino del compuesto (NH) que desaparece al tratar la muestra con agua deuterada.

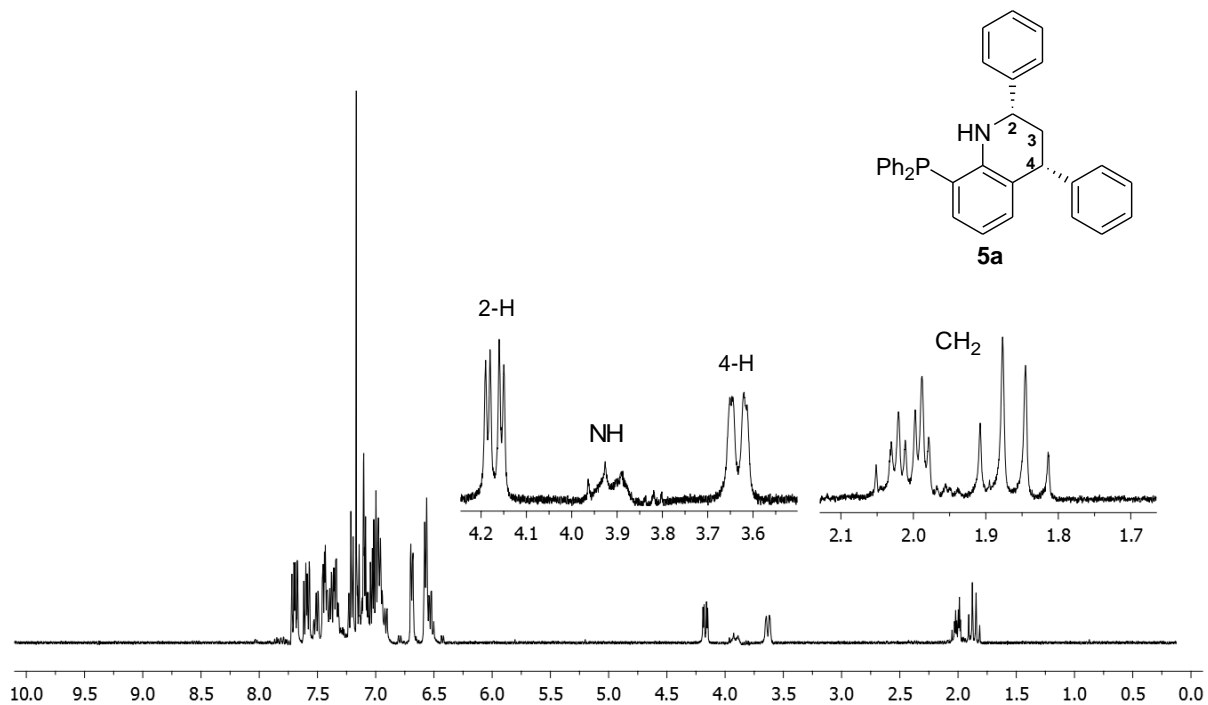


Figura 31. Espectros de $^1\text{H-RMN}$ del compuesto **5a**.

En la figura 32 se muestra el espectro de $^{13}\text{C-RMN}$ del compuesto **5a** y una sección de un experimento dept. A campo alto del espectro se pueden observar las señales correspondientes a los carbonos alifáticos. La señal a $\delta = 45.4$ ppm corresponde al carbono C-4, mientras que a $\delta = 61.9$ ppm aparece la señal correspondiente al carbono C-2. Mediante experimentos dept, se asignó la señal a $\delta = 61.3$ ppm al CH_2 de la molécula. Además, dos de las señales características de estos compuestos son, por un lado un doblete a $\delta = 120.0$ ppm con una constante de acoplamiento de $^1J_{\text{CP}} = 106.0$ Hz que corresponde al C-8 y por otro lado, otra señal en forma de doblete a $\delta = 118.0$ ppm con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{CP}} = 13.0$ Hz que corresponde al carbono C-6.

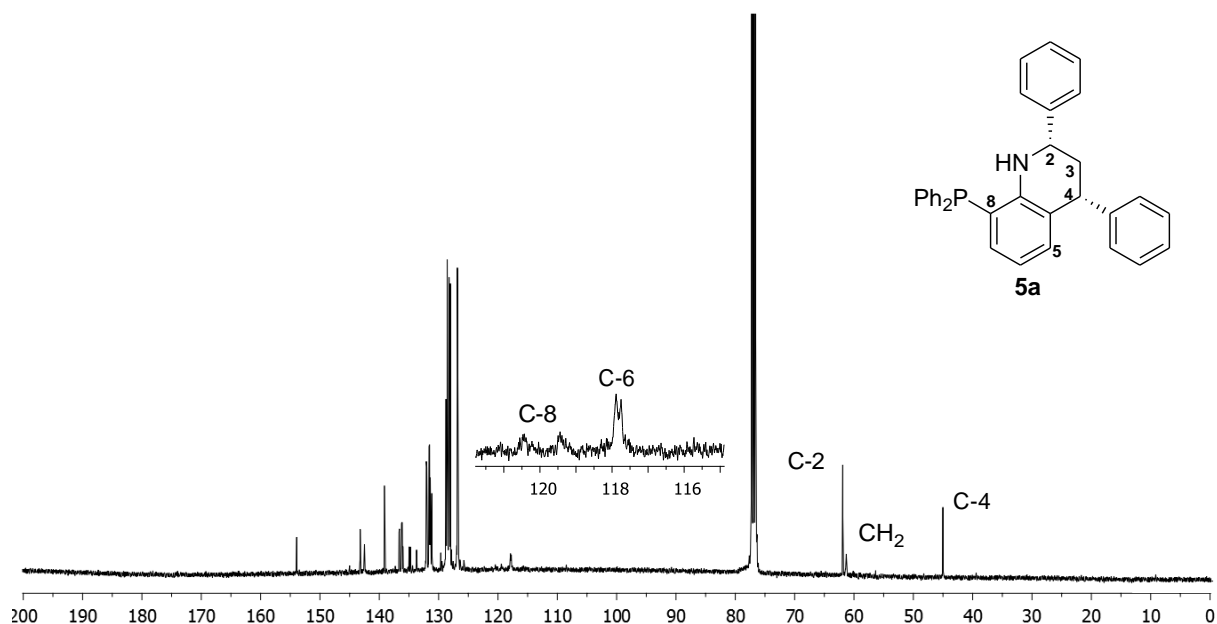


Figura 32. Espectro de RMN de carbono y dept del compuesto 5a.

Además, los espectros HMQC (correlación H-C a 1 enlace) realizados (figura 33), confirman las identidades de los carbonos anteriormente asignados. El estudio de HMQC del compuesto **5a** mostró, entre otras señales, entrecruzamientos entre el protón 4-H y el carbono C-4 y, entre el protón 2-H y el carbono C-2. Además, se confirma el carbono metilénico asignado por los experimentos dept, ya que, como se puede observar, los protones del CH₂ muestran entrecruzamientos con el carbono C-3.

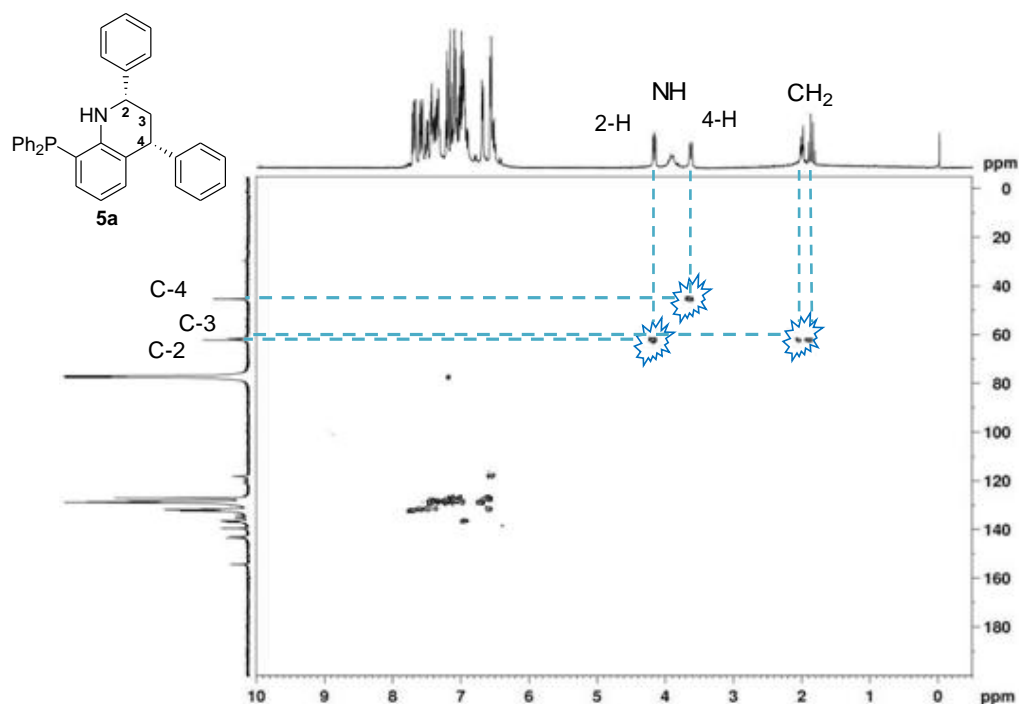


Figura 33. Espectro de RMN 2D del compuesto 5a.

La información aportada por el espectro del NOESY-1D realizado (figura 34), sugiere una configuración relativa de los protones de las posiciones 2 y 4 *cis*, ya que la saturación selectiva del protón 4-H presenta efecto NOESY positivo sobre el protón 2-H (4.4%). Estos datos de configuración coinciden con los resultados obtenidos previamente por el grupo para otros derivados de 1,2,3,4-tetrahidroquinolina.⁷⁹

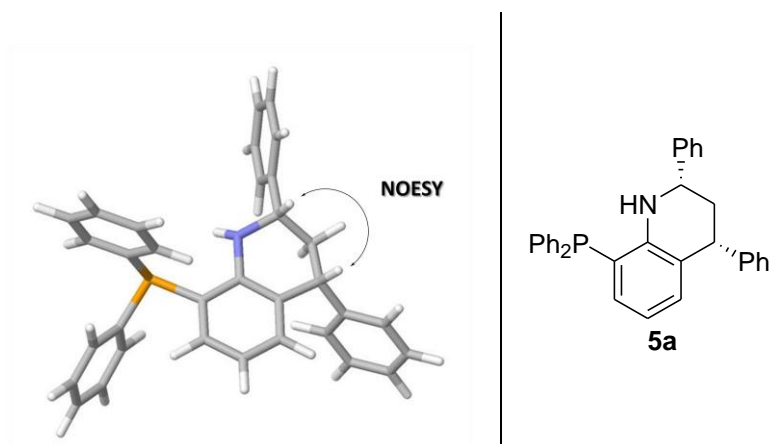


Figura 34 NOESY-1D del compuesto 5a.

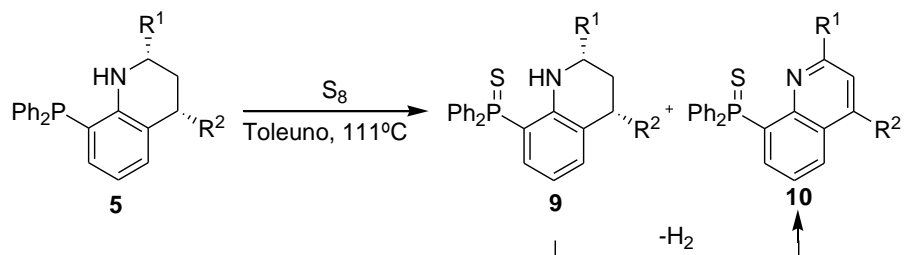
Posteriormente, se estudió la reacción con diferentes aldehídos aromáticos y estirenos. Las fosfino-1,2,3,4-tetrahidroquinolinas **5** se obtuvieron con buenos rendimientos (Tabla 1; Entradas 1-2 y 9-14). Sin embargo, algunos de estos compuestos fueron inestables durante la purificación y no pudieron ser aislados (Tabla 2; Entradas 3-5), por lo que fueron utilizados “*in situ*” en posteriores reacciones.

La formación de fosfino-1,2,3,4-tetrahidroquinolinas **5** (esquema 26) podría ser explicada mediante una reacción de cicloadición [4+2] regio- y estereoselectiva entre las aldiminas, la cual se genera por la condensación de la 2-(difenilfosfinoanilina) **1** y el aldehído **2**, y estireno **4** seguido de una tautomerización prototrópica del aducto *endo* **8**.

Esta estrategia representa el primer ejemplo para la preparación de 8-fosfino-1,2,3,4-tetrahidroquinolinas sustituidas **5**. Cabe destacar que se obtienen derivados de quinolinas fosforadas **5** que contienen tanto, grupos electro-dadores como electro-atractores, incluyendo sustituyentes fluorados en el anillo aromático. Además, cuando se utilizan estirenos con anillos aromáticos sustituidos (tabla 2, entradas 9-14) se obtienen fosfino-1,2,3,4-tetrahidroquinolinas **5** más estables y con mejores rendimientos que en el caso del no sustituido (tabla 2, entradas 3-5).

Debido a que los compuestos **5c**, **5d** y **5e** (Tabla 2, entradas 3-5), que fueron obtenidos a partir de estireno **4a** ($R^2 = \text{Ph}$), se descomponen con facilidad, con el fin de incrementar la estabilidad de estos derivados se trató de transformar los derivados **5** con fósforo (III) en derivados con fósforo (V) mediante su oxidación usando H_2O_2 a temperatura ambiente durante 72h o ácido iodobenzoico/fluoruro de tetra-*n*-butil amonio (IBX/TBAF) en acetonitrilo a temperatura ambiente durante 24h. Sin embargo, estas reacciones no dieron los fosfanóxidos esperados, observándose en su lugar productos de descomposición.

Otro modo de incrementar el estado de oxidación del fósforo (III) consiste en la transformación del grupo fosfina a sulfuro de fosfina. Para ello los crudos de reacción de los compuestos **5a-e** se disolvieron en cloroformo, se añadió azufre molecular (S_8) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3h (esquema 27). De esta forma se obtuvieron los correspondientes sulfuros de difeniltetrahidroquinolinilfosfinas **9** (tabla 3).



Esquema 27. Síntesis de derivados de sulfuro de quinolinas.

Tabla 3. Sulfuro de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil fosfinas obtenidas

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Rdto. (%)
1	9a/10a	Ph	Ph	76/9
2	9b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	Ph	61
3	9i/10i	Ph	4-F-C ₆ H ₄	44/22
4	9l	Ph	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	56
5	9m/10m	4-F-C ₆ H ₄	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	48/33

La reacción con azufre molecular S₈ fue monitorizada por espectroscopia de ³¹P-RMN. Por ejemplo, la señal del grupo fosfina del compuesto **5a** (R¹ = R² = Ph) a δ = 29.72 ppm (figura 35A) desaparece y se observa una nueva señal a δ = 40.28 ppm, correspondiente al grupo sulfuro de fosfina del derivado **9a** (figura 35B). En este caso, además, en el crudo de reacción se observa una señal adicional de menor intensidad a δ = 44.16 ppm (figura 14B) que se correspondería con la estructura de quinolina **10a** (Tabla 3, entrada 1). La formación del compuesto minoritario **10a** podría estar justificada por la deshidrogenación del compuesto **9a** bajo las condiciones de reacción generando así el anillo de quinolina.

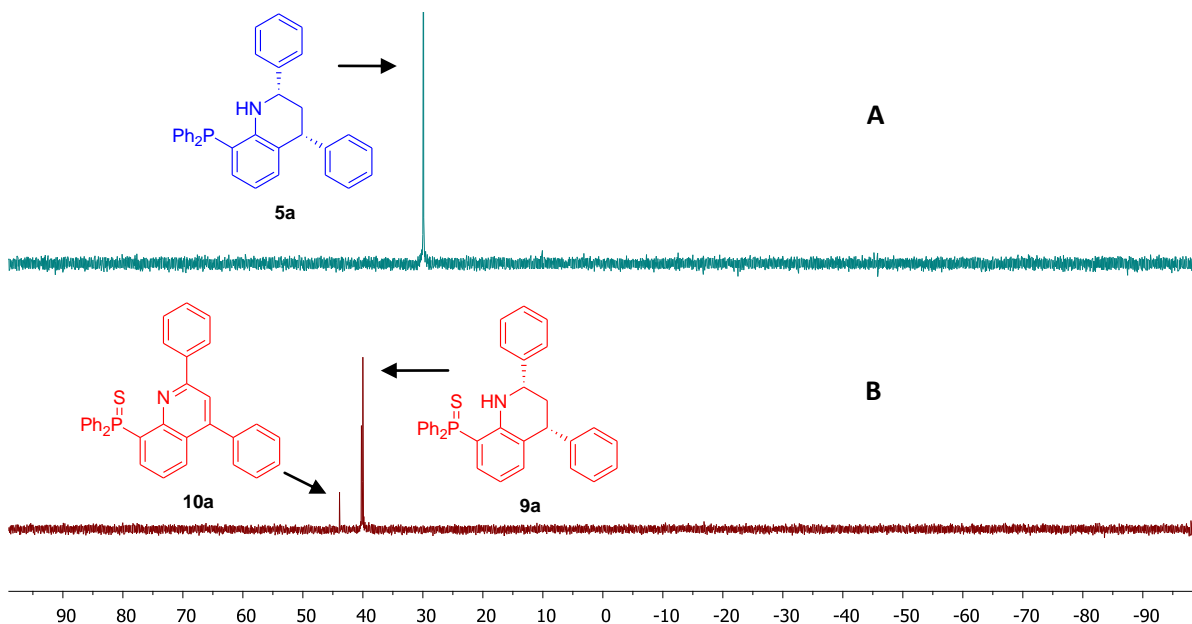
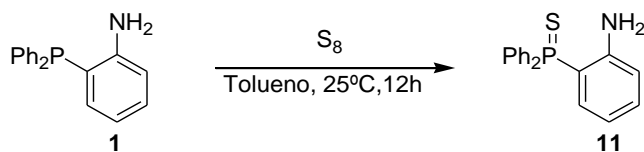


Figura 35. Espectros de ^{31}P -RMN del crudo de reacción de los compuestos **5a**, **9a** y **10a**.

La extensión de este método a otros derivados de 1,2,3,4-tetrahydroquinolinil osfina **5** dio lugar a la formación de los correspondientes sulfuros de difeniltetrahydroquinolinilfosfinas **9** (Tabla 3, entradas 2-5) y sulfuros de difenilquinolinilfosfinas **10** (Tabla 3, entradas 3 y 5).

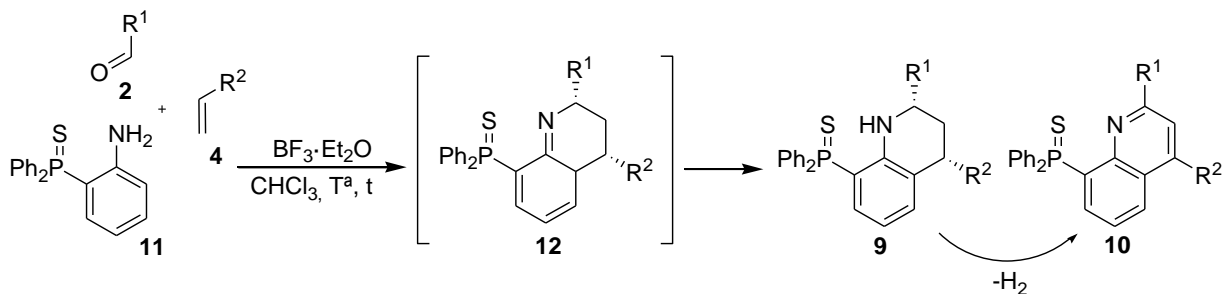
A la vista de estos resultados, se optó por estudiar la obtención de las sulfuro de 1,2,3,4-tetrahydroquinolinilfosfina **9** directamente a partir de la anilina con el grupo sulfuro. Para ello, previamente se preparó el sulfuro de anililfosfina **11** mediante una reacción con azufre molecular S_8 en tolueno durante 12h, a partir de la anilina **1** (esquema 28).



Esquema 28. Síntesis del sulfuro de anilina **11**.

Una vez obtenido el sulfuro de anililfosfina **11** y siguiendo una estrategia multicomponente, se hizo reaccionar el compuesto **11** con diferentes aldehídos aromáticos **2** y estirenos **4** en cloroformo y en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ a reflujo durante 24h (esquema 29). De esta manera, se obtuvieron los

correspondientes aductos *endo*- **9** (tabla 4). Como en el caso anterior, la formación de estos compuestos **9** podría ser explicada por medio de una reacción de cicloadición [4+2] regio- y estereoselectiva.



Esquema 29. Reacción de Povarov multicomponente para la síntesis de derivados de sulfuros de quinolinilfosfina.

Tabla 4. Sulfuros de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinildifenilfosfina.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Rdto. (%)
1	9a/10a	Ph	Ph	76/12
2	9b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	Ph	77
3	9c	4-F-C ₆ H ₄	Ph	87
4	9d	2,4-F ₂ -C ₆ H ₃	Ph	69
5	9e	3,4-F ₂ -C ₆ H ₃	Ph	65
6	9f	4-MeO-C ₆ H ₄	Ph	90
7	9g	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	Ph	95
8	9h	2-Naftil	Ph	75
9	9i/10i	Ph	4-F-C ₆ H ₄	40/36
10	9j/10j	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	59/21
11	9k	4-F-C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	78
12	9l	Ph	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	67
13	9m/10m	4-F-C ₆ H ₄	4-CH ₃ .C ₆ H ₄	56/30

Así mismo, en algunos casos como ocurre con la oxidación de las 1,2,3,4-tetrahidroquinolinilfosfinas **5** a sulfuro de fosfinas **10**, también tiene lugar un proceso de deshidrogenación en la reacción multicomponente con la obtención de sulfuros difenilquinolinilfosfina **10** (Tabla 4, entradas 1, 9, 10 y 13).

Los espectros de RMN de los compuestos obtenidos a partir del sulfuro de anilina **11** fueron idénticos a los aductos obtenidos a partir de la reacción de los aductos **5** con azufre molecular (esquema 28). En las figuras 36 y 37 se muestran los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN del compuesto **9c** respectivamente.

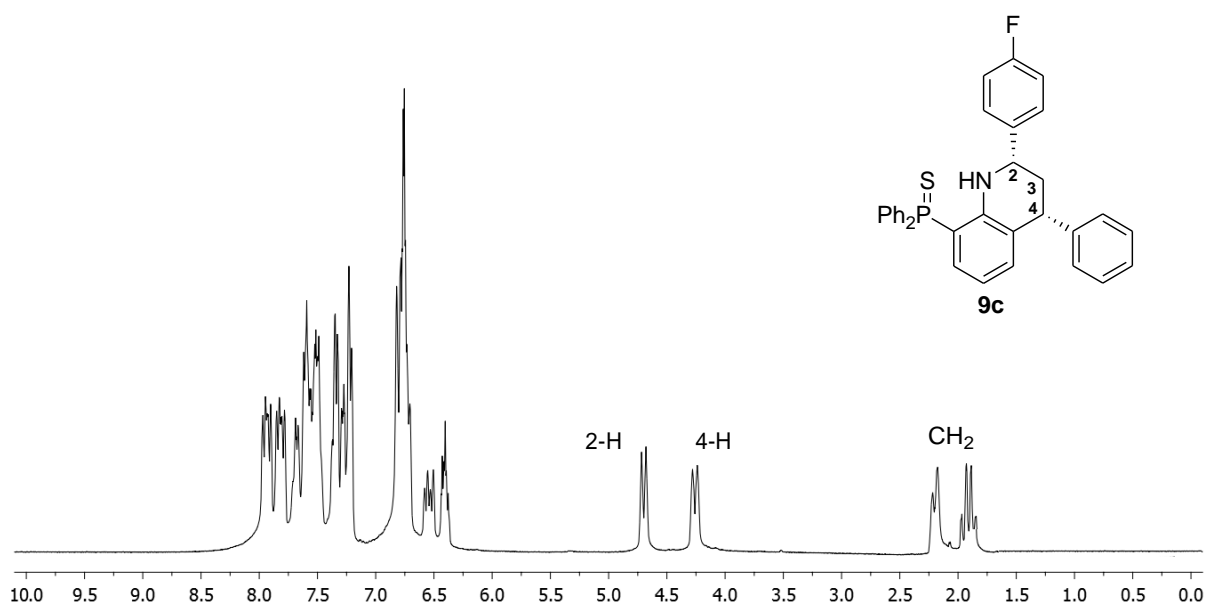


Figura 36. Espectro de ^1H -RMN del compuesto **9c**.

En el espectro de protón del compuesto **9c** se puede observar un cuadruplete, formalmente un doble doble doblete, a $\delta = 1.93$ ppm con constantes de acoplamiento de $^2J_{\text{HH}} = 13.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.0$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 13.0$ Hz, correspondiente a uno de los protones metilénicos, mientras que el otro protón de este grupo aparece en forma de multiplete a $\delta = 2.16$ - 2.27 ppm. A $\delta = 4.28$ se observa un doble doblete correspondiente al protón de la posición 4 que presenta unas constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 13.0$ Hz con uno de los protones metilénicos y $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz con el otro protón metilénico. Por último, a $\delta = 4.72$ ppm se observa un doble doblete correspondiente al hidrógeno de la posición 2 con unas constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 13.0$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 2.5$ Hz con cada uno de los protones metilénicos.

Por otro lado, el espectro de carbono (figura 37) del compuesto **9c** muestra a campo bajo del espectro tres señales correspondientes a los carbonos alifáticos. Mediante experimentos dept se determinó que la señal a $\delta = 41.5$ ppm corresponde al carbono del grupo metileno de la molécula, cabe señalar, que si comparamos los espectros de resonancia con sus análogos **5**, podemos observar que esta señal del grupo CH_2 se desplaza a ppm más bajos. Por otro lado, las señales a $\delta = 44.9$ y 56.3 ppm corresponden a los carbonos C-4 y C-2 respectivamente. A $\delta = 111.7$ ppm se puede observar una señal característica presente en todos los compuestos en forma de doblete que corresponde al carbono C-8 y que posee una constante de acoplamiento de $^1J_{\text{CP}} = 87.0$ Hz. Además, se puede observar a $\delta = 162.2$ ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $^1J_{\text{CF}} = 240.0$ Hz correspondiente al carbono unido a un átomo de fluor del anillo aromático.

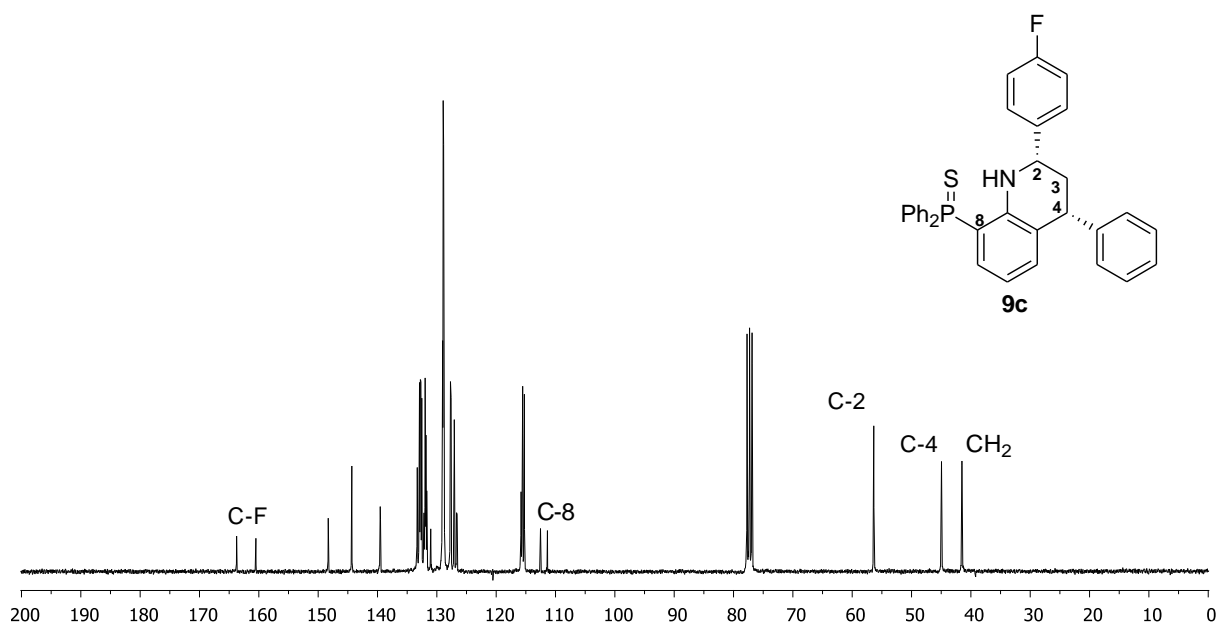


Figura 37. Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **9c**.

Capítulo I: Síntesis de derivados de quinolinas fosforadas

Por último, la configuración relativa de los aductos, se confirmó inequívocamente mediante rayos X del compuesto **9j** (figura 38). Se puede observar que la reacción transcurre de forma regio- y estereoselectiva dando lugar a los correspondientes aductos *endo* con una configuración *cis* de los protones que se encuentran en las posiciones 2 y 4 de la tetrahydroquinolina. Este método representa pues, el primer ejemplo para la preparación de 1,2,3,4-tetrahydroquinolinas sustituidas con un grupo sulfuro de fosfina.

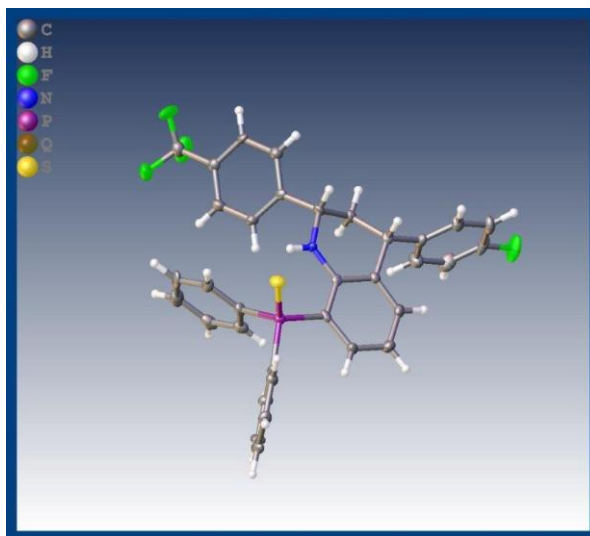
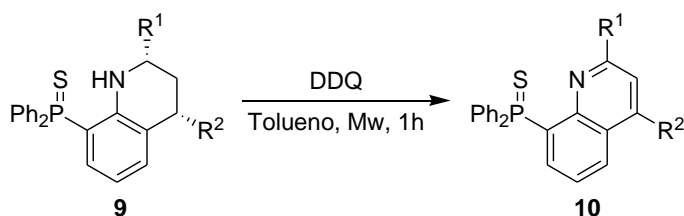


Figura 38. Vista ORTEP del compuesto 9j.

I - 3. Síntesis de quinolinas fosforadas

A la vista de los resultados anteriores y de observar una deshidrogenación de los compuestos **9** dando lugar las quinolinas **10** como producto minoritario, nos propusimos estudiar la reacción de deshidrogenación de las correspondientes tetrahydroquinolinas **9**.

Para ello, las tetrahydroquinolinas **9** fueron tratadas con 1.2 equivalentes de 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ)¹⁵⁷ en tolueno y bajo irradiación con microondas, durante 1h a 40°C (esquema 30). De esta manera, los correspondientes sulfuros de difenilquinolinilfosfina **10** fueron obtenidos con buenos rendimientos (tabla 5).



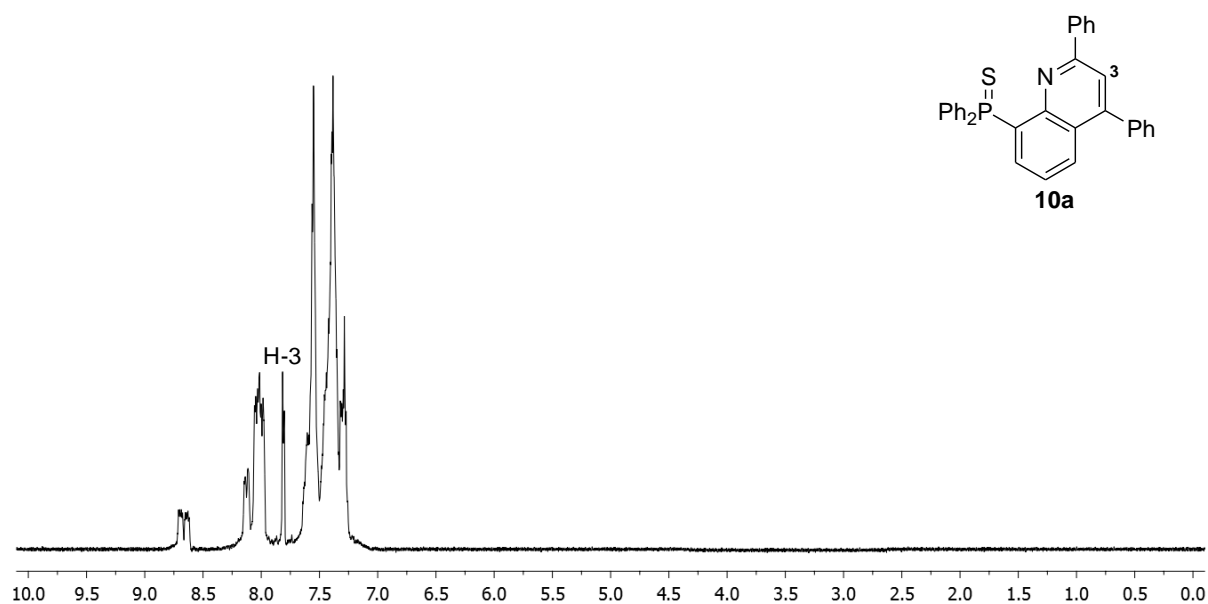
Esquema 30. Síntesis de quinolinas **10**.

Tabla 5. Quinolinas **10** obtenidas mediante el tratamiento de los compuestos **9** con DDQ.

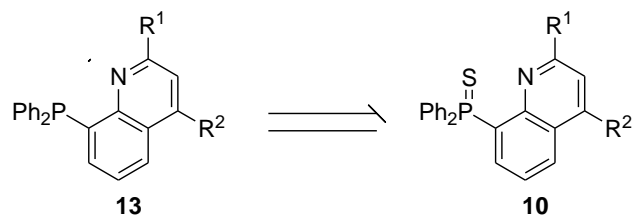
Entrada	Producto	R ₁	R ₂	Rdto. (%)
1	10a	Ph	Ph	89
2	10b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	Ph	61
3	10c	4-F-C ₆ H ₄	Ph	99
4	10h	2-Naftil	Ph	61
5	10i	Ph	4-F-C ₆ H ₄	66
6	10j	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	99
7	10k	4-F-C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	99
8	10m	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	59

¹⁵⁷ Z. Yujing; Z. Meimeij; Y. Mingyue; W. Xiangshan, *Chin. J. Chem.*, **2013**, 31, 337-242.

Por ejemplo, la formación del compuesto **10a** (R = Ph) fue determinada por ^{31}P -RMN en donde la señal correspondiente a la tetrahydroquinolina **9a** a $\delta = 40.28$ ppm desaparece y en su lugar, se observa una nueva señal a $\delta = 44.40$ ppm que corresponde a la quinolina **10a**. En el espectro de ^1H -RMN (figura 39) del compuesto **10a** se puede apreciar como las señales de los protones alifáticos desaparecen observándose únicamente señales correspondientes a protones aromáticos. Además, a se puede observar una señal característica de los compuestos **10** se presenta en forma de singlete a campo bajo del espectro que corresponde al hidrogeno de la posición 3 de la molécula, por ejemplo en el compuesto **10a** esta señal se encuentra a $\delta = 7.79$ ppm.

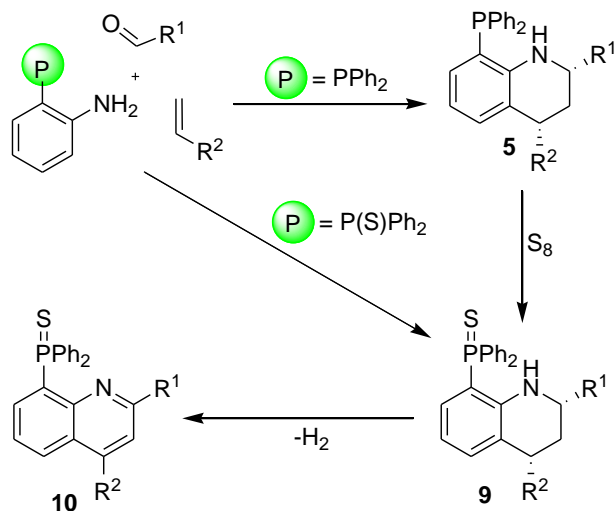


Finalmente, se estudió la reducción de los sulfuros de quinolinas **10** con el fin de obtener las quinolinilfosfinas **12** (esquema 31). Para ello se estudiaron diferentes métodos como un tratamiento con 1 equivalente de HSiCl_3 en tolueno, un tratamiento con 1.2 equivalentes de Si_2Cl_6 en benceno a reflujo o sellando a reflujo de tolueno en presencia de H_2SO_4 . Desafortunadamente, no se observó ningún tipo de conversión de los productos de partida. Cuando el proceso fue realizado con 1 equivalente de LiAlH_4 en tetrahidrofurano (THF) únicamente se detectaron productos de descomposición observados mediante ^{31}P -RMN del crudo de reacción.



Esquema 31. Retrosíntesis propuesta para la obtención de los derivados de quinolina 13.

En resumen, en este capítulo se describe la preparación de difeniltetrahydroquinolin-8-ilfosfinas mediante una reacción de cicloadición [4+2] de aldiminas aromáticas con un grupo difenilfosfina y diferentes estirenos utilizando una reacción multicomponente. La reacción transcurre *via* estado de transición *endo* con regio y diastereoselectividad. La reacción de estos compuestos con S₈ molecular conduce a los correspondientes sulfuros de difeniltetrahydroquinolin-8-ilfosfinas con buenos rendimientos y la deshidrogenación de estos últimos da lugar a las correspondientes quinolinas (esquema 32).



Esquema 32. Resumen de la síntesis y compuestos obtenidos del capítulo I.

Así mismo, la cicloadición [4+2] de aldiminas aromáticas con un grupo sulfuro de difenilfosfina con diferentes estirenos mediante una reacción multicomponente da lugar a los correspondientes sulfuros de difeniltetrahydroquinolin-8-ilfosfinas con buenos rendimientos (esquema 32).

La actividad biológica (inhibición de la TopI y actividad antiproliferativa) de los compuestos preparados en este capítulo será discutida en el capítulo III.

Capítulo II

Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

II - 1. Introducción

Como veremos a continuación, las naftiridinas son moléculas con gran interés sintético y biológico. Estos ciclos dinitrogenados presentan seis isómeros estructurales representados en la figura 40.

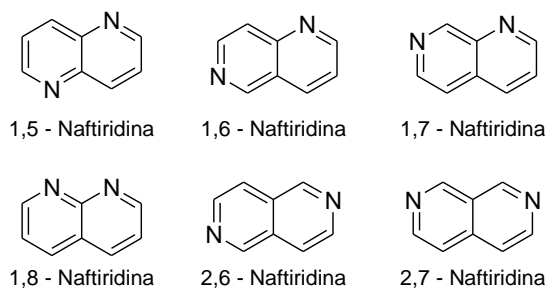
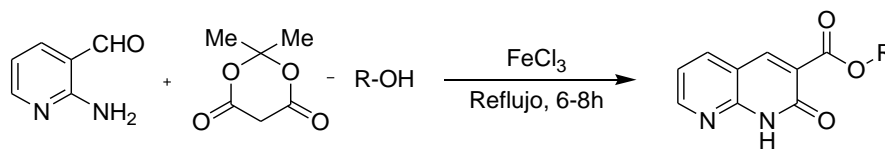


Figura 40. Estructuras isoméricas de la naftiridina

Si bien las quinolinas han sido ampliamente estudiadas en las últimas décadas, las naftiridinas no han sido tan exploradas. Sin embargo, recientes estudios han demostrado la actividad biológica de moléculas que presentan naftiridinas en su estructura. Por ejemplo, Sakram y colaboradores¹⁵⁸ han evaluado la actividad biológica de derivados de [1,8]naftiridinas sintetizados mediante una reacción multicomponente de 2-aminocotinaldehído, ácido de Meldrum y diferentes alcoholes utilizando una catálisis metálica con FeCl_3 (esquema 33).



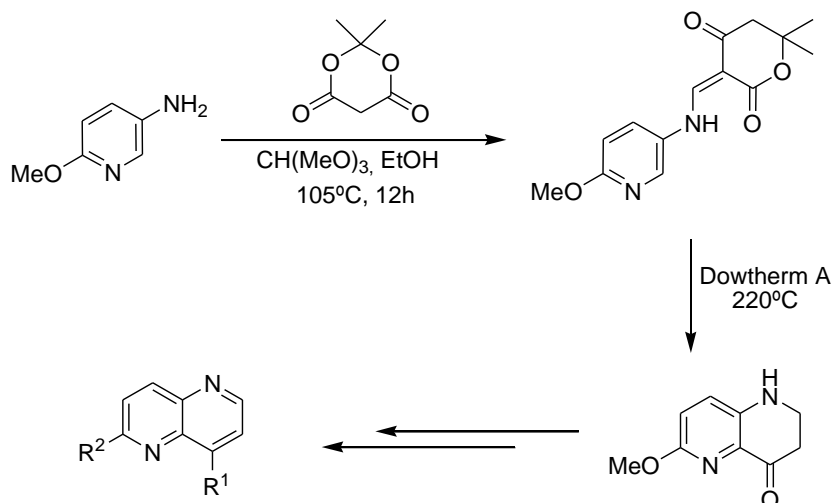
Esquema 33. Metodología usada por Sakram para la síntesis de derivados de naftiridina.

¹⁵⁸ B. Sakram, P. Madhu, B. Sonyanaik, S. Rambabu, D. Ravi, A. Kurumanna, *Russ. J. Gen. Chem.*, **2018**, *88*, 1224-1227.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

Estos compuestos presentaron una elevada actividad antibacteriana frente a bacterias *Streptococcus pyogenes* y *Escherichia coli*. Además, también presentaron actividad antifúngica frente a hongos como el *Saccharomyces cerevisiae* y el *Aspergillus terreus*.

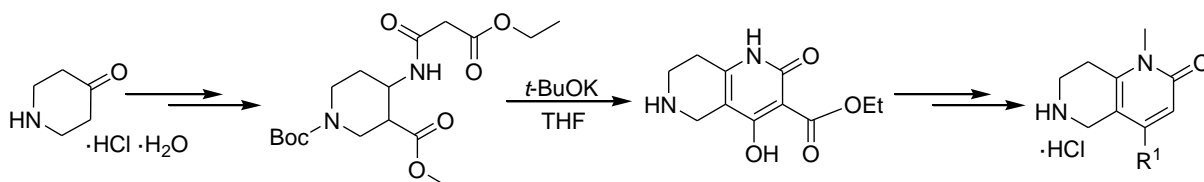
Otro ejemplo de derivados de [1,5]naftiridinas con actividad biológica es la síntesis de [1,5]naftiridinas descrita por el grupo de Chibale.¹⁵⁹ En este caso se obtienen este tipo de compuestos a partir de la 6-metoxipiridin-3-amina (esquema 34). Tras evaluar su actividad biológica, se observó una alta actividad como inhibidores de la fosfatidilinositol-4-kinasa, enzima que se encuentra en el parásito *Plasmodium falciparum*, por lo que podrían considerarse como antimaláricos.



Esquema 34. Metodología sintética descrita por Chibale y colaboradores.

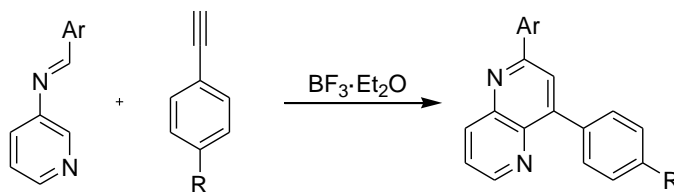
¹⁵⁹ N. Kandepedu, D. G. Cabrera, S. Eedubilli, D. Taylor, C. Brunschwig, L. Gibhard, M. Njoroge, N. Lawrence, T. Paquet, C. J. Eyermann, T. Spangenberg, G. S. Basarab, L. J. Steet, K. Chibale, *J. Med. Chem.*, **2018**, *61*, 5692-5703.

Las 1,2,3,4-tetrahidronaftiridinas, han mostrado actividad biológica frente a células tumorales. Recientes estudios realizados por el grupo de Ding han demostrado la capacidad de sales derivadas de tetrahidro[1,6]naftiridinas de inhibir eficazmente el crecimiento de células de cáncer de hígado y de leucemia. Estos compuestos fueron obtenidos partiendo de un hidrocloreto de piperidona monohidratado que tras diferentes modificaciones, condujo a un intermedio con un grupo metileno activo que en presencia de *t*-BuOK y la consecuente ciclación intramolecular, permitió la formación del esqueleto de tetrahidro[1,6]naftiridinas. Posteriores transformaciones condujeron a los compuestos deseados (esquema 35).¹⁶⁰



Esquema 35. Metodología sintética del grupo de Ding.

Recientemente, nuestro grupo de investigación ha publicado una metodología basada en la reacción de Povarov para la síntesis de [1,5]naftiridinas usando $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador (esquema 36).⁹⁰ Además, estos compuestos han sido evaluados como agentes antileishmaniacos, mostrando, algunos de ellos, actividad de inhibición frente a la enzima LTopI.¹⁶¹



Esquema 36. Metodología descrita por el grupo de Palacios.

¹⁶⁰ G. Xu, Y. Gao, B. Sun, L. Peng, L. Mao, Y. Jiang, Q. Ding, *J. Heterocycl. Chem.*, **2018**, *55*, 2151-2156.

¹⁶¹ A. Tejeria, Y. Perez-Pertejo, R. M. Reguera, R. Balana-Fouce, C. Alonso, M. Gonzalez, Maria, G. Rubiales, F. Palacios, *Eur. J. Med. Chem.*, **2018**, *152*, 137-147.

Además, las naftiridinas pueden encontrarse fusionadas con otras estructuras cíclicas como carbociclos, estructuras que se encuentran presentes en moléculas bioactivas tan importantes como la aaptamina¹⁶² (figura 41), aislada por Efros a partir de esponjas marinas del género *Aaptos*.¹⁶³

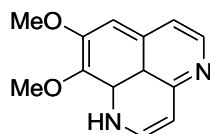


Figura 41. Estructura de la aaptamina.

Así como la aaptamina es un bloqueante de los adrenoreceptores α ,¹⁶⁴ algunos derivados de naftiridinas fusionadas con carbociclos (figura 42) presentan diferentes actividades biológicas tales como, actividad antiviral, antimicrobiana y antineoplásica.¹⁶⁵

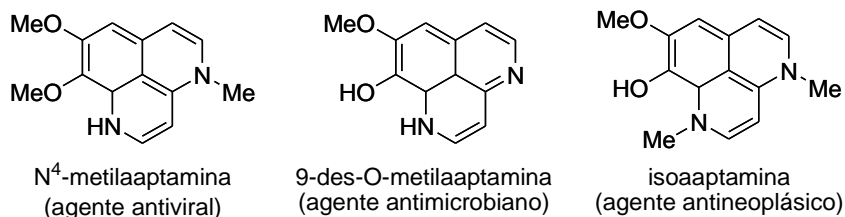


Figura 42. Estructuras y actividad biológica de derivados de la aaptamina.

Nuestro grupo de investigación ha estudiado en los últimos años la síntesis y la actividad biológica de diferentes derivados de naftiridinas fusionadas con carbociclos. La metodología sintética empleada para la preparación de estos derivados se basa en la reacción de Povarov entre iminas aromáticas e indeno, dando como resultado derivados de [1,5]naftiridinas (figura 43).⁷⁹ Los compuestos obtenidos fueron evaluados biológicamente resultando ser buenos inhibidores de TopI.¹⁶⁶ Incluso, se observó que uno de los derivados puede actuar como nanosensor presentando inhibición en el proceso enzimático de la TopI para determinar su mecanismo de acción.^{166b} Además,

¹⁶² L. S. Efros, L. A. Ezhova, E. R. Zakhs, V. M. Treiger, *Chem. Heterocycl. Compd.*, **1972**, *8*, 180-182.

¹⁶³ H. Nakamura, J. Kobayashi, Y. Ohizumi, Y. Hirata, *Tetrahedron. Lett.*, **1982**, *23*, 5555-5558.

¹⁶⁴ L. Aoki, D. Kong, H. Suna, Y. Sowa, T. Sakai, A. Setiawan, M. Kobayashi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **2006**, *342*, 101-106.

¹⁶⁵ N.K. Utkina, V. A. Denisenko, M. A. Pushilin, *Tetrahedron Lett.*, **2009**, *50*, 2580-2582.

¹⁶⁶ a) C. Alonso, M. Fuertes, M. González, G. Rubiales, A. Rodríguez-Gascón, G. Rubiales, F. Palacios, *Curr. Topics Med. Chem.*, **2014**, *14*, 2722-2728; b) M. B. Andersen, C. Tesaro, M. Gonzalez, E. Kristoffersen, C. Alonso, G. Rubiales, A. Coletta, R. Froehlich, M. Stougaard, Y. Ho, F. Palacios, B. R. Knudsen, *Nanoscale*, **2017**, *9*, 1886-1895.

muchos de los compuestos presentaron actividad antiproliferativa frente a diferentes líneas celulares tales como células de cáncer de colon, ovario, pulmón y mama,¹⁶⁷ y actividad antileismaniásica.¹⁶⁸

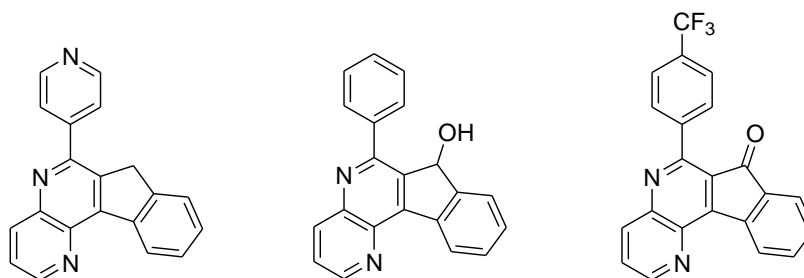


Figura 43. Algunos de los derivados de naftiridinas diseñados por el grupo de Palacios.

Además de naftiridinas fusionadas con carbociclos, también han sido descritas moléculas con actividad biológica que poseen una estructura de naftiridina fusionada con otros heterociclos, como por ejemplo, los cromenos.

Los cromenos y sus derivados están presentes en muchos de los fármacos que se utilizan hoy en día, así como en una gran cantidad de moléculas activas. Uno de los ejemplos más representativos de este tipo de estructura es la cumarina (figura 44).

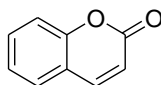


Figura 44. Estructura de la cumarina.

La cumarina y sus análogos se encuentran en una gran cantidad de plantas aunque en una elevada concentración en la especie llamada *Dipteryx odorata*.¹⁶⁹ Las cumarinas son de especial interés debido a su amplio espectro de actividades farmacológicas y biológicas como por ejemplo, actividad anticoagulante, antitumoral, antifúngica, antiviral, antibacteriana y antiinflamatoria.¹⁷⁰

¹⁶⁷ C. Alonso, M. Fuertes, M. González, G. Rubiales, C. Tesaro, B. R. Knudsen, F. Palacios, *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, *115*, 179-190.

¹⁶⁸ A. Tejería, Y. Pérez-Pertejo, R. M. Reguera, R. Balaña-Fouce, C. Alonso, M. Fuertes, M. González, G. Rubiales, F. Palacios, *Eur. J. Med. Chem.*, **2016**, *124*, 740-749.

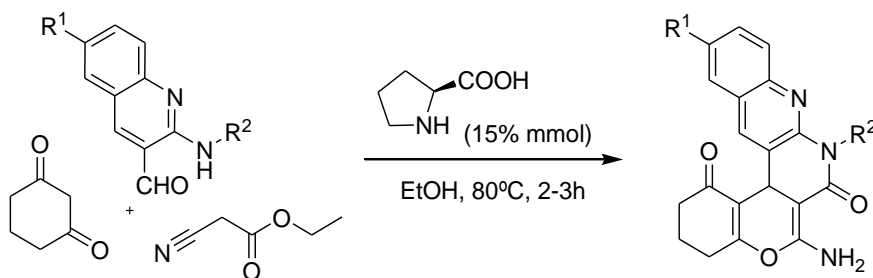
¹⁶⁹ J. R. S. Hoult, M. Payá, *Gen. Pharmacol.*, **1996**, *27*, 713-722.

¹⁷⁰ F. Borgues, F. Roleira, N. Milhazes, L. Santana, E. Uriarte, *Curr. Med. Chem.*, **2005**, *12*, 887-916.

Además, las cumarinas representan el núcleo de la estructura de algunos fármacos beneficiosos para nuestra salud.¹⁷¹

Como hemos visto, tanto las naftiridinas como los cromenos son estructuras que poseen actividad biológica y que constituyen el núcleo principal de diferentes fármacos y moléculas antiproliferativas. Además, existen moléculas que presentan estas dos estructuras fusionadas en su esqueleto y que han demostrado poseer actividad biológica frente a diferentes dianas farmacológicas.

Por ejemplo, Patel y colaboradores¹⁷² han sintetizado una amplia gama de derivados de cromenonaftiridinas utilizando como sustratos, ciclohexanodiona, etilcianoacetato y diferentes aminoquinolinil-3-carbaldehídos en una reacción multicomponente catalizada con *L*-prolina (esquema 37). Los compuestos obtenidos fueron evaluados como antimicrobiales y mostraron elevadas citotoxicidades frente a bacterias *Gram* positivas como la *S. Aureus* y *B. Subtilis* y frente a las *Gram* negativas *E. Coli* y *P. Aeruginosa*. Además, también mostraron actividad antifúngica frente a los hongos *A. fumigatus* y *C. albicans*.



Esquema 37. Síntesis de naftiridinas fusionadas con cromeno propuesta por el grupo de Patel.

Así mismo, Wu y colaboradores describieron en 2013 la síntesis de derivados de cromenonaftiridinas (figura 45) a partir de una reacción de tres componentes entre benzaldehído, cetonas aromáticas y malononitrilo.¹⁷³ Estos derivados poseen una elevada fluorescencia y en un futuro podrían ser utilizadas en el campo de la medicina como agentes de seguimiento en estudios de diagnóstico.

¹⁷¹ a) H. C. Huang, C. R. Lee, Y. I. Weng, M. Lee, Y. T. Lee, *Eur. J. Pharmacol.*, **1992**, *218*, 123-128; b) R. O'Kennedy, R. D. Thornes, *Coumarins: Biology, Applications and Mode of Action*; Wiley: New York, NY, USA, **1997**.

¹⁷² J. D. Gohil, H. B. Patel, M. P. Patel, *RSC Adv.*, **2016**, *6*, 74726-74733.

¹⁷³ H. Wang, J. Shi, C. Wang, X. Xiang, L. Zhao, Y. Wan, H. Wu, *Mol. Biomol. Spectr.*, **2013**, *103*, 62-67.

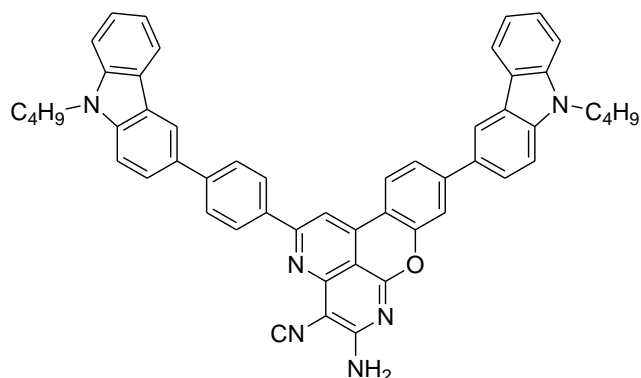
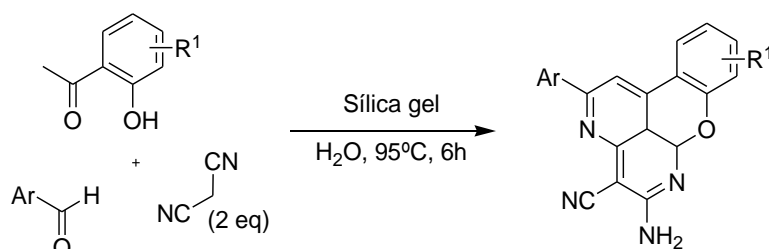


Figura 45. Una de las moléculas con actividad fluorescente sintetizadas por el grupo de Wu.

Este mismo grupo, desarrolló una metodología basada en una reacción heterogénea usando agua y sílica gel como fase sólida partiendo de hidroxifenonas, aldehídos aromáticos y dos equivalentes de malonitrilo, de esta manera, obtuvieron como resultado derivados de naftiridinas fusionadas con cromeno (esquema 38).¹⁷⁴

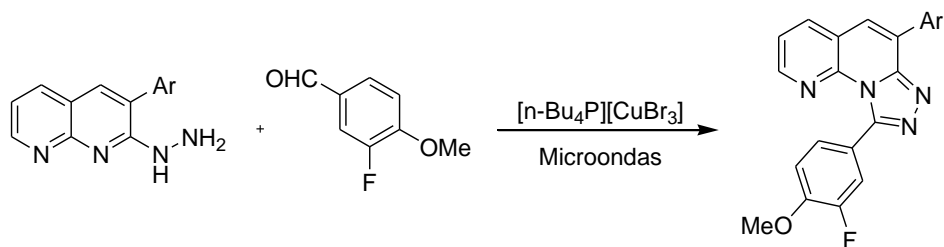


Esquema 38. Metodología desarrollada por Wu y colaboradores.

Además de naftiridinas fusionadas con cromenos, existen naftiridinas fusionadas con heterociclos nitrogenados. Por ejemplo, Sakram y colaboradores han descrito una metodología para la síntesis de naftiridinas fusionadas con anillos de triazol, basada en una reacción catalítica entre diferentes [1,5]naftiridinhidracinas y 3-fluoro-4-metoxibenzaldehído bajo irradiación microondas (esquema 39).¹⁷⁵ Esta metodología ha dado lugar a una colección de derivados de naftiridina con actividad antimicrobiana frente a bacterias como el *S. Aureus*, el *B. Subtilis*, la *E. Coli* y la *K. Pneumoniae*.

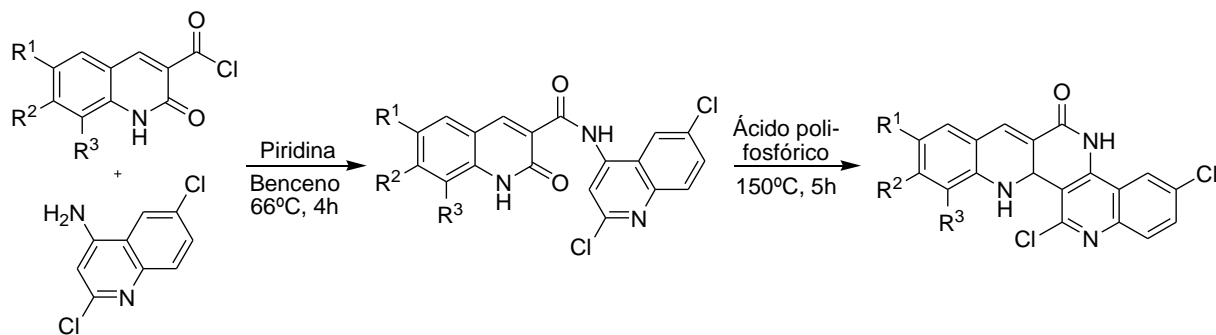
¹⁷⁴ H. Wu, W. Lin, Y. Wan, H. Xin, D. Shi, Y. Shi, R. Yuan, R. Bo, W. Yin, *J. Comb. Chem.*, **2010**, *12*, 31-34.

¹⁷⁵ B. Sakram, K. Ashok, S. Rambabu, D. Ravi, A. Kurumanna, N. K. Abbas, *J. Heterocyclic Chem.*, **2018**, DOI 10.1002/jhet.



Esquema 39. Metodología descrita por el grupo de Sakram para la síntesis de derivados de naftiridina fusionadas.

Otro ejemplo, podría ser la contribución de Rajendran y colaboradores, en la que se describe la síntesis de una amplia gama de derivados de quinolinonaftiridinas utilizando una reacción de ciclación intramolecular como paso clave de la síntesis (esquema 40).¹⁷⁶



Esquema 40. Síntesis propuesta por el grupo de Rajendran.

En resumen, los derivados de naftiridinas fusionados con carbociclos y heterociclos han demostrado ser compuestos con propiedades biológicas muy interesantes. Teniendo en cuenta los pocos ejemplos descritos en la bibliografía para su preparación, el desarrollo de nuevas estrategias para la obtención de este tipo de compuestos sería interesante desde un punto de vista sintético y biológico.

¹⁷⁶ A. K. M. S. Kumar, S. P. Rajendran, S. M. Roopan, *Chem. Heterocycl. Compd.*, **2015**, *51*, 346-349.

II - 2. Objetivos

Teniendo en cuenta todo lo anterior y aprovechando el excelente resultado obtenido por nuestro grupo en la preparación de naftiridinas mediante la reacción de Povarov, pensamos aplicar una metodología similar para la preparación de naftiridinas condensadas con cromenos, cromenonas, quinolinas y quinolinonas.

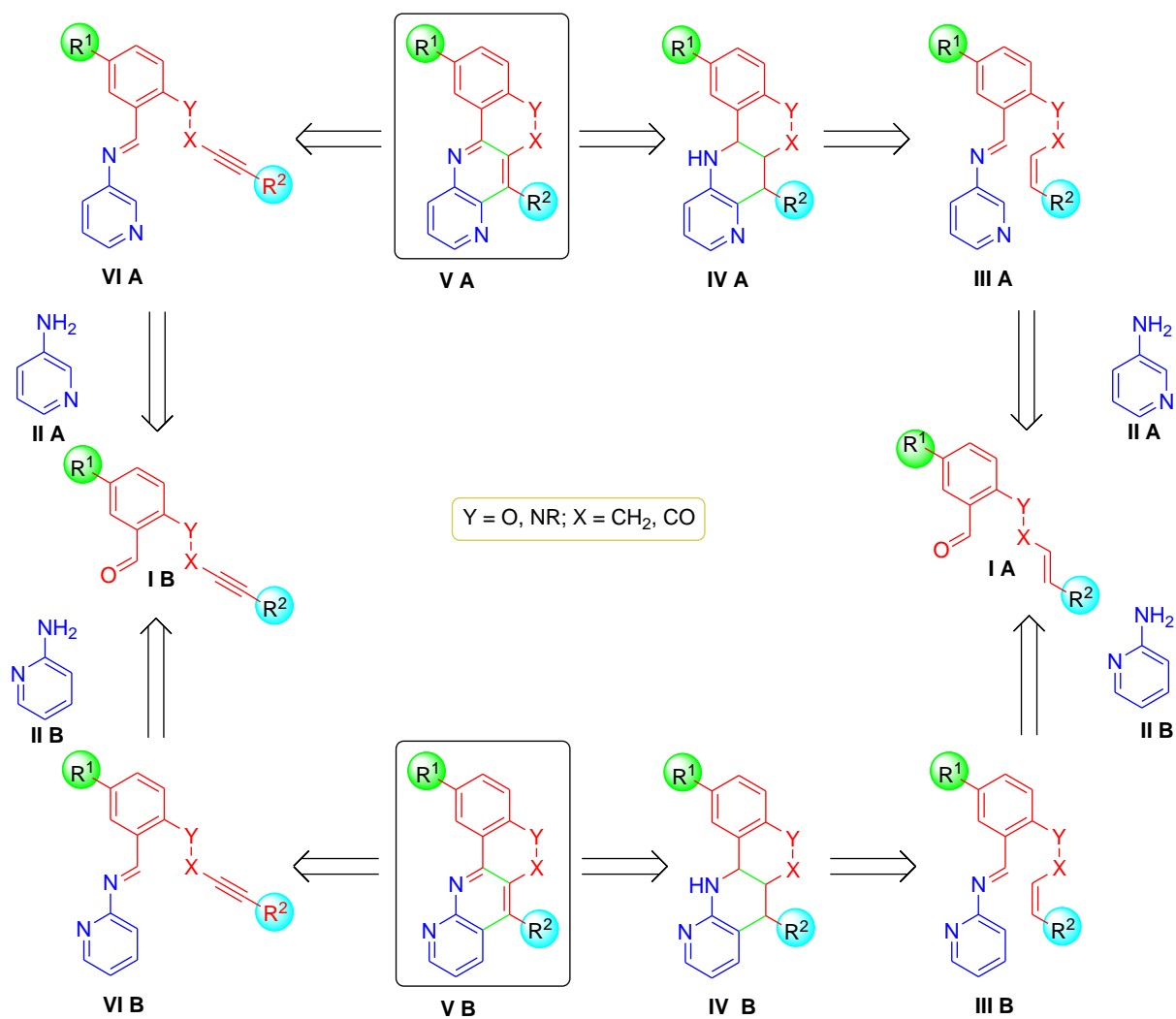
En este caso, utilizaremos una reacción intramolecular por lo que será necesaria la preparación de iminas derivadas de aldehídos con sustituyentes insaturados, que presentan en su estructura tanto el dieno como el dienófilo, con el fin de llevar a cabo la posterior ciclación intramolecular de dichos compuestos.

Así, la reacción de aldehídos funcionalizados **I-A** que posean dobles enlaces en su estructura, con 3-aminopiridina **II-A** y 2-aminopiridina **II-B** nos permitirá el acceso a las iminas **III-A** y **III-B** correspondientes, cuya consiguiente reacción de cicloadición, puede dar lugar a las tetrahidro[1,5]naftiridinas fusionadas **IV-A** o tetrahidro[1,8]naftiridinas fusionadas **IV-B**, respectivamente (esquema 41). La posterior deshidrogenación de estos compuestos permitirá la formación de los compuestos **V-A** y **V-B**. Por otra parte, la reacción de aldehídos con triple enlace **IA** con 3-aminopiridina **II-A** y 2-aminopiridina **II-B** permitirá la preparación de las correspondientes iminas **IV-A** y **VI-B** cuya ciclación intramolecular puede dar lugar directamente a las naftiridinas **V-A** y **V-B**.

En resumen, los objetivos principales de este capítulo serán:

1. El estudio de la síntesis y reactividad de iminas derivadas de 3-aminopiridina y aldehídos con un grupo dienófilo en su estructura en reacciones de cicloadición [4+2] intramolecular para la obtención de [1,5]naftiridinas fusionadas.
2. El estudio de la síntesis y reactividad de iminas derivadas de 2-aminopiridina y aldehídos con un grupo dienófilo en su estructura en reacciones de cicloadición [4+2] intramolecular para la obtención de [1,8]naftiridinas fusionadas.

3. El estudio de la deshidrogenación de los derivados de tetrahidronaftiridinas, previamente preparados, para obtener los derivados de naftiridinas correspondientes.



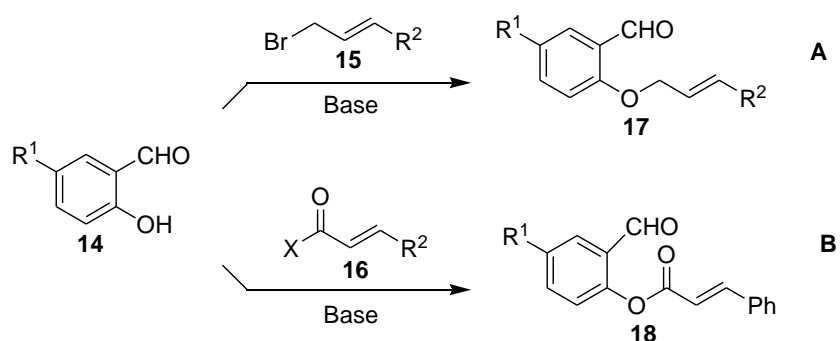
Esquema 41. Retrosíntesis de los derivados de naftiridinas propuestos como objetivo principal.

II - 3. Síntesis de derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas

II - 3.1. Preparación de aldehídos

La preparación de las iminas necesarias para llevar a cabo la reacción de cicloadición intramolecular (esquema 41) implica a su vez la preparación de los correspondientes aldehídos ya que no son comerciales, por lo que, en primer lugar se llevó a cabo la síntesis de los aldehídos derivados del benzaldehído con sustituyentes alílicos y propargílicos (esquema 42).

Primero se procedió a la síntesis de aliloxialdehídos **17**, para ello, se utilizaron derivados de salicilaldehído **14** como sustrato de partida y se hicieron reaccionar con el bromuro de alilo **15** en THF y en presencia de K_2CO_3 a temperatura ambiente (esquema 42A).¹⁷⁷ De esta manera, una vez consumidos los productos de partida y tras la correspondiente purificación del crudo de reacción, se obtuvieron los aldehídos **17** (Tabla 6, entradas 1-5).



Esquema 42. Diferentes rutas sintéticas para la síntesis de aldehídos funcionalizados derivados del salicilaldehído **14**.

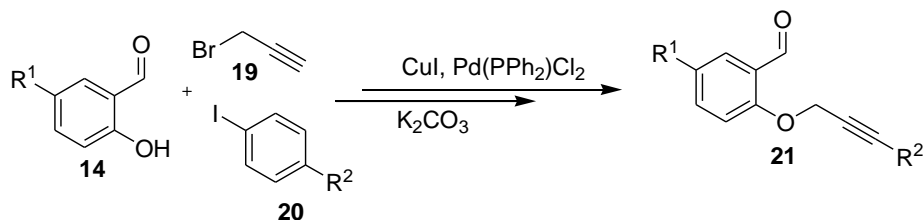
¹⁷⁷ N. S. Radulovic, M. Z. Mladenovic, P.D. Blagojevic, Z. Z. Stojanovic -Radic, T. Ilic-Tomic, L. Senerovic, J. Nikodinovic-Runic, *Food Chem. Toxicol.*, **2013**, 62, 554-565.

Para la síntesis de los acriloxialdehídos **18** se utilizaron dos metodologías diferentes (esquema 42B). Por un lado, se utilizó la misma metodología que en la síntesis de los aldehídos **17**, es decir, el correspondiente derivado de salicilaldehído **14** se hizo reaccionar con el cloruro de acilo **16a** (X = Cl) en THF y en presencia de K₂CO₃, dando lugar a los aldehídos deseados **18**.

Por otro lado, se obtuvieron los mismos productos **18** utilizando el ácido cinámico **16b** (X = OH) y haciéndolo reaccionar con el correspondiente derivado de salicilaldehído **14** en CH₂Cl₂ y en presencia de 1-etil-3-(dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP).¹⁷⁸

Ambas metodologías dieron lugar a los aldehídos **18a** (R¹ = H) y **18b** (R¹ = F) deseados. Sin embargo, la utilización del cloruro de cinamailo **16a** dio rendimientos notablemente más bajos. Debido a esto, la segunda metodología generando *in situ* el cloruro de cinamailo fue la utilizada en la síntesis de la mayoría de aldehídos, obteniéndose los correspondientes aldehídos **18** con excelentes rendimientos (Tabla 6, entradas 6 y 7).

Por último, se procedió a la síntesis de los aldehídos propargílicos **21**. En este caso la metodología utilizada para preparar aldehídos con enlace doble dio peores resultados, por lo que se utilizó una reacción *one-pot* en la que el derivado de salicilaldehído correspondiente **14** se hizo reaccionar con el bromuro propargílico **19** en presencia K₂CO₃ para luego hacerlo reaccionar con el ioduro **20** correspondiente utilizando una reacción de acoplamiento en presencia de un complejo paladio como catalizador (esquema 43). Así, se obtuvieron los correspondientes aldehídos **21** con buenos rendimientos (Tabla 6, entradas 8-10).



Esquema 43. Metodologías usadas para la síntesis de los compuestos **21**.

¹⁷⁸ A. A. Kudale et al, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 7196-7206.

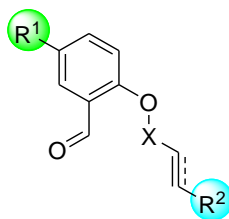
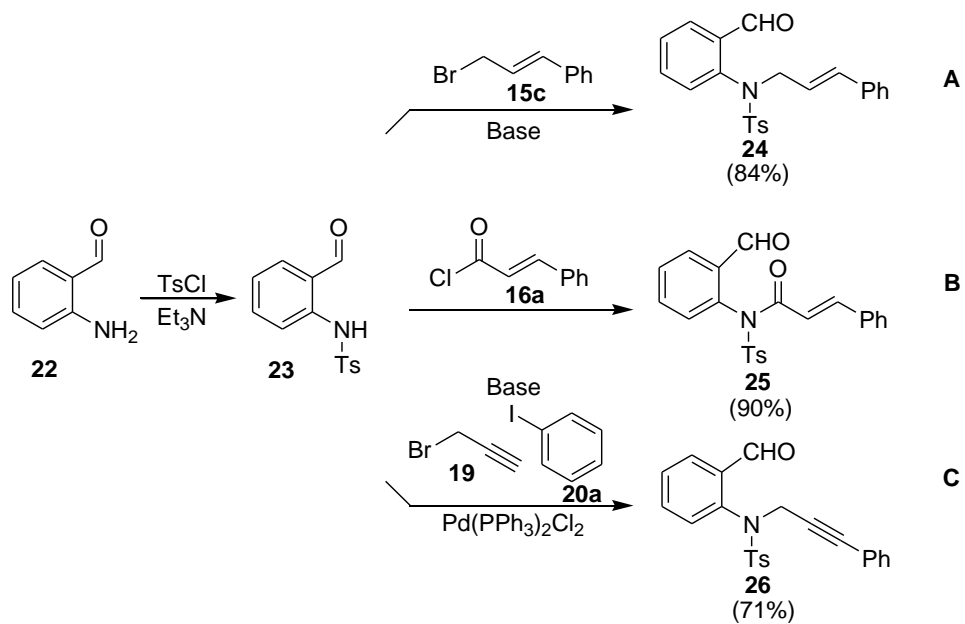


Tabla 6. Resumen de los aldehídos **17**, **18** y **21** sintetizados a partir del salicilaldehído.

Entrada	Compuesto	X	R ¹	R ²	Enlace	Rdto. (%)
1	17a	CH ₂	H	H	C=C	45
2	17b	CH ₂	H	CH ₃	C=C	53
3	17c	CH ₂	H	Ph	C=C	56
4	17d	CH ₂	F	Ph	C=C	75
5	17e	CH ₂	CH ₃	Ph	C=C	80
6	18a	CO	H	Ph	C=C	78
7	18b	CO	F	Ph	C=C	63
8	21a	CH ₂	H	Ph	C≡C	66
9	21b	CH ₂	F	Ph	C≡C	77
10	21c	CH ₂	H	4-OMe-C ₆ H ₄	C≡C	52

Así mismo, llevamos a cabo la preparación de aldehídos derivados del 2-aminobenzaldehído **22** (esquema 44). En primer lugar, se procedió a la protección del grupo amino del 2-aminobenzaldehído con cloruro de tosilo en presencia de trietilamina, dando lugar al 2-(tosilamino)benzaldehído **23**. Este compuesto se hizo reaccionar con 3-bromopropenilbenceno **15c** y cloruro de cinamailo **16a** en presencia de K₂CO₃ obteniendo así los aldehídos **24** y **25** respectivamente (esquema 44; Rutas A y B). Por otro lado, para preparar los aldehídos con triple enlace **26**, se optó por utilizar la misma metodología usada anteriormente en la síntesis de los aldehídos **21** (esquema 44; Ruta C), es decir, una reacción de acoplamiento usando un complejo de paladio como catalizador. Así, se obtuvieron los aldehídos **24**, **25** y **26** con buenos rendimientos (esquema 44)

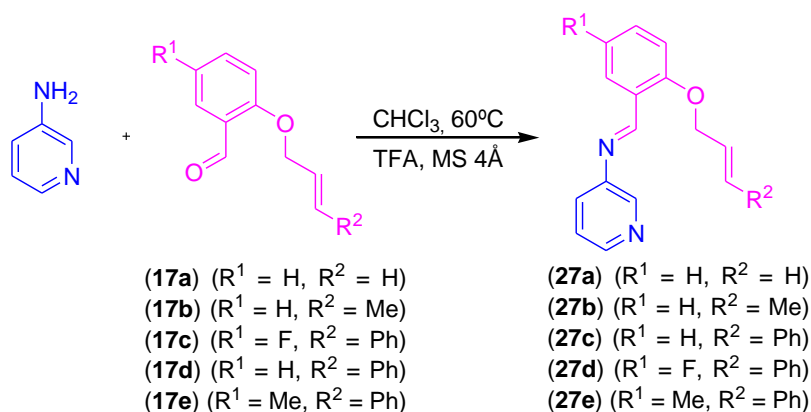


Esquema 44. Diferentes rutas sintéticas para la síntesis de aldehídos de partida derivados del aldehído 22.

II - 3.2. Síntesis de aldminas derivadas de 3-aminopiridina

Una vez preparados los aldehídos con sustituyentes alílicos y propargílicos se hicieron reaccionar con 3-aminopiridina para obtener las correspondientes aldminas. Todas las reacciones tuvieron lugar en cloroformo a reflujo, en presencia de tamiz molecular y utilizando ácido trifluoroacético como catalizador.

En primer lugar, se procedió a la preparación de las aldminas **27** con sustituyentes *O*-alílicos a partir de los aldehídos **17** y bajo las condiciones de reacción mencionadas (esquema 45). Todas las aldminas **27** se obtuvieron de forma cuantitativa (tabla 7, entradas 1-5). Sin embargo, fueron inestables por lo que no se pudieron aislar, ni por cromatografía ni por destilación y por ello fueron utilizadas *in situ* en posteriores reacciones. Aun así, pudieron ser caracterizadas mediante $^1\text{H-RMN}$.



Esquema 45. Síntesis de aldminas **27** derivadas de la 3-aminopiridina.

Por ejemplo en la figura 46 está recogido el espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la aldmina **27e** en el que se puede observar la señal más característica de estos compuestos, un singlete a $\delta = 8.89$ ppm que corresponde al protón del carbono imínico (H^c). Además, a campo alto del espectro se puede observar un singlete a $\delta = 2.28$ ppm que corresponde al sustituyente metilo de la molécula. Por otro lado, a $\delta = 4.70$ ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz correspondiente al grupo metileno. A $\delta = 6.34$ ppm se observa un doblete que presenta dos constantes de acoplamiento, una de $^3J_{\text{HH}} = 16.0$ Hz correspondiente al acoplamiento con el protón H^b que corresponde al hidrógeno H^a del grupo alqueno olefínico y otra de $^3J_{\text{HH}} = 0.8$ Hz para el

acoplamiento con los protones del CH₂. A $\delta = 6.65$ ppm se puede apreciar un doblete que presenta una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 16.0$ Hz con el protón H^a y que corresponde al protón H^b.

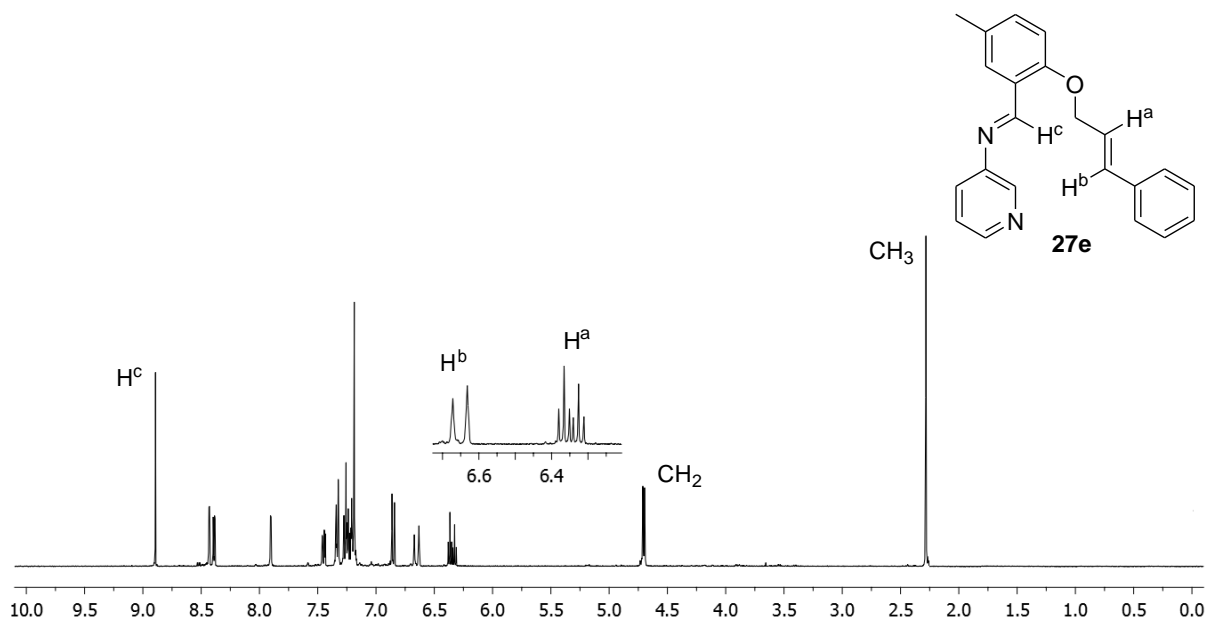


Figura 46. Espectro de ¹H-RMN del compuesto 27e.

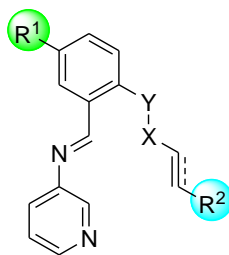
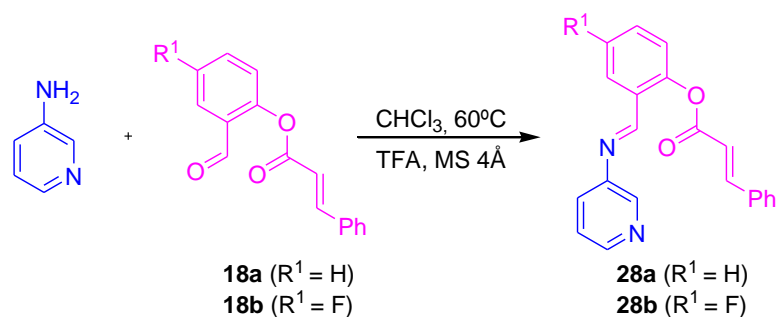


Tabla 7. Resumen de la síntesis de aldiminas derivadas de la 3-aminopiridina.

Entrada	Producto	Y	X	R ¹	R ²	Enlace	Tiempo (h)
1	27a	O	CH ₂	H	H	C=C	10
2	27b	O	CH ₂	H	Me	C=C	10
3	27c	O	CH ₂	H	Ph	C=C	12
4	27d	O	CH ₂	F	Ph	C=C	12
5	27e	O	CH ₂	Me	Ph	C=C	12
6	28a	O	CO	H	Ph	C=C	16
7	28b	O	CO	F	Ph	C=C	16
8	29a	O	CH ₂	H	Ph	C≡C	10
9	29b	O	CH ₂	F	Ph	C≡C	10
10	29c	O	CH ₂	H	4-OMe-C ₆ H ₄	C≡C	10
11	30	N-Ts	CH ₂	H	Ph	C=C	16
12	31	N-Ts	CO	H	Ph	C=C	24
13	32	N-Ts	CH ₂	H	Ph	C≡C	16

Una vez preparadas las aldiminas **27** derivadas de aliloxialdehídos, se procedió a la síntesis de las acriloxialdiminas **28** (esquema 46). Para ello, se hizo reaccionar la 3-aminopiridina con los correspondientes acriloxialdehídos **18** en CHCl₃ a reflujo, en presencia de tamiz molecular y utilizando ácido trifluoroacético como catalizador. De esta forma, las aldiminas **28** se obtuvieron de forma cuantitativa, sin embargo, fueron inestables por lo que no se pudieron aislar, ni por cromatografía ni por destilación y por ello fueron utilizadas *in situ* en posteriores reacciones (Tabla 7, entradas 6-7).



Esquema 46. Síntesis de acriloxaldiminas **28** derivadas de la 3-aminopiridina.

Las aldiminas **28** pudieron ser caracterizadas mediante ^1H -RMN. En la figura 47 se muestra el espectro de ^1H -RMN de la aldimina **28a**, en dónde se puede observar el singlete característico del protón del carbono imínico (H^c) a $\delta = 8.53$ ppm. Por otro lado, se observa a $\delta = 6.60$ ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz con el protón H^a que corresponde con el protón H^b . A su vez, a $\delta = 7.84$ ppm se puede apreciar un doblete que posee una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}^a} = 14.0$ Hz que corresponde con el protón H^a .

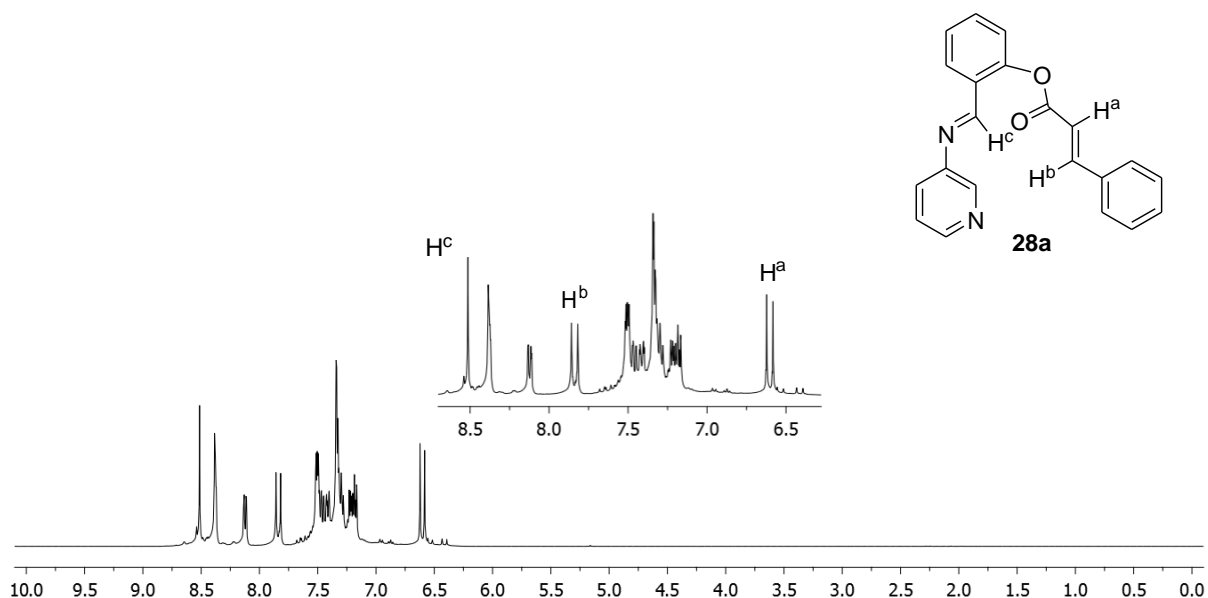
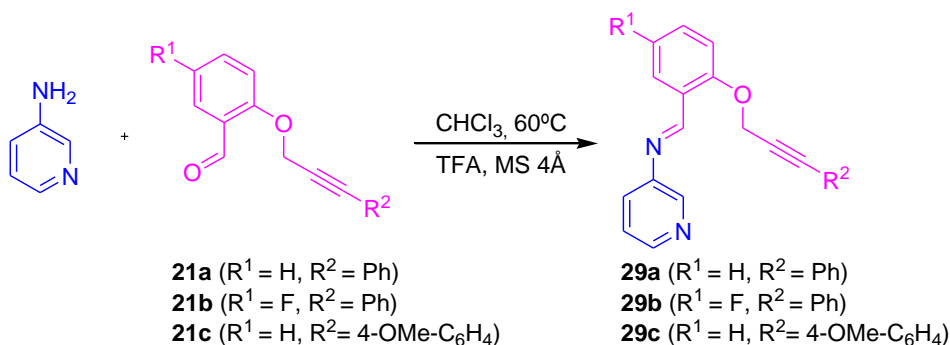


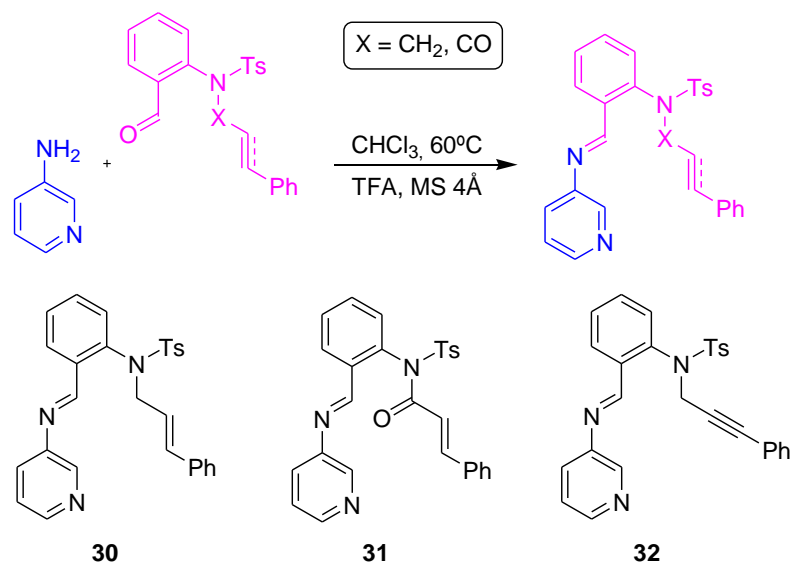
Figura 47. Espectro de ^1H -RMN del compuesto **28a**.

A continuación, usando la misma metodología, se prepararon las aldiminas oxipropargílicas usando, propargiloxi aldehídos **21** y 3-aminopiridina (esquema 47). Todas las aldiminas **29** se obtuvieron de una forma cuantitativa (Tabla 7, entradas 8-10). Sin embargo, al igual que las anteriores, fueron inestables por lo que no se pudieron aislar, ni por cromatografía ni por destilación y por ello fueron utilizadas *in situ* en posteriores reacciones.



Esquema 47. Síntesis de propargiloxialdiminas **29** derivadas de la 3-aminopiridina.

Finalmente, se prepararon las aldiminas **30-32** con dobles y triples enlaces (esquema 48). Para ello se hicieron reaccionar los aldehídos derivados del 2-aminobenzaldehído **24**, **25** y **26** con 3-aminopiridina en CHCl_3 a reflujo y en presencia de tamiz molecular y ácido trifluoroacético como catalizador. Así, se obtuvieron las aldiminas **30**, **31** y **32** de forma cuantitativa (Tabla 7, entradas 11-13). Debido a su inestabilidad, los productos de reacción no pudieron ser purificados ni por cromatografía ni por destilación y por ello fueron utilizados *in situ* en posteriores reacciones, sin embargo, pudieron ser caracterizadas mediante $^1\text{H-RMN}$.



Esquema 48. Síntesis de aldiminas **30**, **31** y **32**.

A modo de ejemplo, en la figura 48 se muestra el espectro de ¹H-RMN de la aldimina **30** en el que se puede observar el singlete característico de estos compuestos a δ = 8.74 ppm que corresponde con el protón del carbono imínico (H^c). Por otro lado, a δ = 6.26 ppm se puede observar el doblete que presenta un acoplamiento con el protón H_a de ³J_{HH} = 16.0 Hz correspondiente al protón H^b. Por último, a δ = 6.00 ppm se observa un doble triplete que corresponde al protón H^a que presenta las siguientes constantes de acoplamiento: ³J_{HH} = 16.0 Hz con el protón H^b, ³J_{HH} = 8.0 Hz con el otro protón del grupo metileno y ³J_{HH} = 6.0 Hz con uno de los protones del CH₂. A δ = 4.00 y 4.58 ppm se pueden observar dos dobles dobletes correspondientes a los protones del CH₂ de la molécula. El primero, presenta dos constantes de acoplamiento de ³J_{HH} = 14.0 Hz y ²J_{HH} = 8.0 Hz, mientras que el segundo muestra otras dos constantes de acoplamiento de ³J_{HH} = 14.0 Hz y ²J_{HH} = 6.0 Hz.

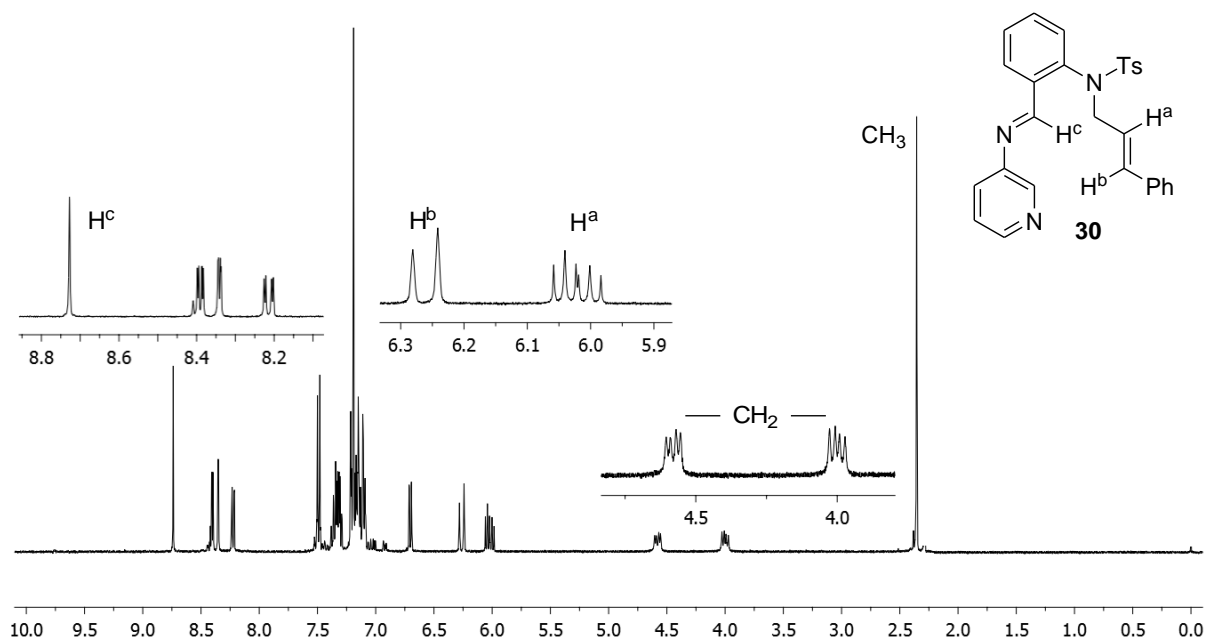
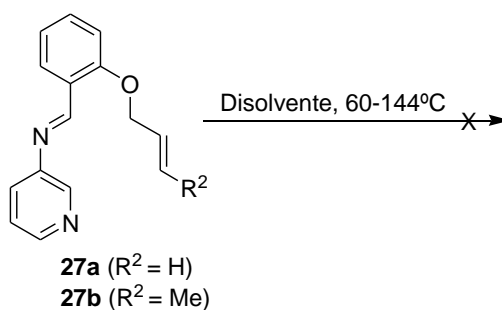


Figura 48. Espectro de RMN de protón del compuesto 30.

En resumen, se han obtenido de forma cuantitativa aldiminas con diferentes grupos aliloxi (Tabla 7, entradas 1-5), acriloxi (Tabla 7, entradas 6-7), propargiloxi (Tabla 7, entradas 8-10), alilamino (Tabla 7, entrada 11), acrilamido (Tabla 7, entrada 12) y propargilamido (Tabla 7, entrada 13).

II - 3.3. Síntesis de tetrahidro[1,5]naftiridinas fusionadas mediante la reacción de Povarov

Una vez preparadas las aldminas derivadas de 3-aminopiridina y aldehídos con dobles o triples enlaces en su estructura, se procedió a estudiar su reactividad en la reacción de cicloadición [4+2] intramolecular. Así pues, comenzamos estudiando la reacción térmicamente de las iminas **27a** ($R^2 = H$) y **27b** ($R^2 = Me$). Sin embargo, no se observó reacción ni en cloroformo ni en xileno a reflujo (esquema 49).



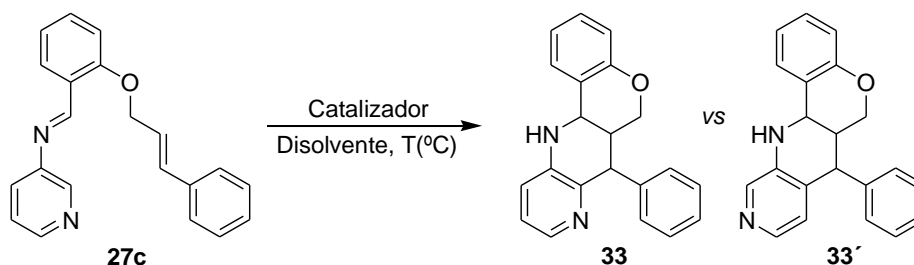
Esquema 49. Estudio de reacción térmicamente de las aldminas

Como hemos comentado anteriormente, la utilización de catalizadores en reacciones de cicloadición ha sido ampliamente estudiada. Los catalizadores usados pueden ser de diferente índole, tanto ácidos de Lewis, como ácidos de Brønsted. Debido a la experiencia previa del grupo, decidimos estudiar diferentes catalizadores de ambas naturalezas para obtener las condiciones adecuadas para llevar a cabo la reacción de ciclación de las iminas **27a** ($R^2 = H$) y **27b** ($R^2 = Me$). Sin embargo, ni el uso de ácidos de Brønsted (TFA), ni el de ácidos de Lewis ($BF_3 \cdot Et_2O$) en $CHCl_3$ a reflujo dio lugar a la formación de los aductos de cicloadición [4+2] deseados.

A continuación se procedió al estudio de la reacción de ciclación de las iminas **27c**, **27d** y **27e** con sustituyente fenilo en el doble enlace ($R^2 = Ph$). Una vez más, comenzamos estudiando la reacción térmicamente, sin embargo no se observó formación del aducto ni en cloroformo ni en xileno a reflujo. Por tanto, seguidamente se estudió la reacción de la imina **27c** con diferentes catalizadores en $CHCl_3$ a $60^\circ C$.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

Tal y como se indica en la tabla 8, los ácidos de Lewis tales como el AlCl_3 y el FeCl_3 (entradas 3 y 6) no catalizaron la reacción de cicloadición intramolecular, sin embargo, cuando usamos InCl_3 y ZnCl_2 (entradas 4 y 5) si se observó la formación de los aductos de Povarov deseados aunque con el segundo se obtuvieron, además, productos de descomposición. El $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (entradas 9) dio lugar a una conversión completa de la imina, pero se detectaron diferentes subproductos de reacción no identificados. Sin embargo, en el caso de los ácidos de Brønsted, como ácido trifluoroacético y ácido fosfórico (entradas 7 y 8), dieron conversiones excelentes, siendo el primero con el que se obtuvo la mejor conversión. En definitiva, las mejores condiciones de reacción se obtuvieron utilizando el ácido trifluoroacético como catalizador, en cloroformo y a 60°C , observándose un conversión del 99% de los productos de partida y la formación de un único aducto (Tabla 8, entrada 7). Cabe destacar que, *a priori*, la reacción de cicloadición podría dar lugar dos posibles regioisómeros **33** y **33'** (esquema 50).



Esquema 50. Estudio de catalizadores de la reacción de ciclación.

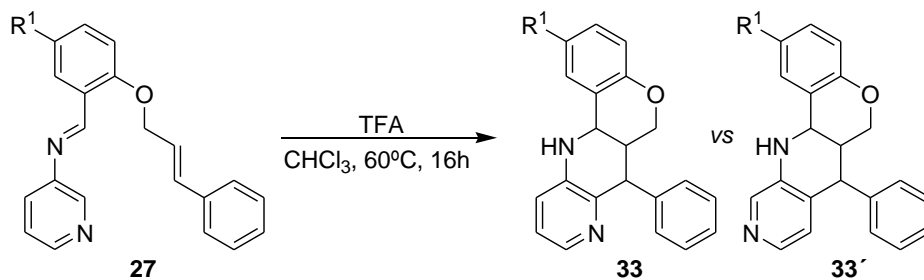
Tabla 8. Estudio de la reacción de ciclación de la imina 27c.

Entrada	Disolvente	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Catalizador	Conv. (%) ^a
1	CHCl_3	25	--	0
2	Xileno	144	--	0
3	CHCl_3	60	AlCl_3	0
4	CHCl_3	60	InCl_3	72
5	CHCl_3	60	ZnCl_2	60 ^b
6	CHCl_3	60	FeCl_3	0
7	CHCl_3	60	Ac. Trifluoroacético	99
8	CHCl_3	60	Ac. Fosfórico	90
9	CHCl_3	60	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	99 ^b

^a Observado por RMN. ^b Se observan productos de descomposición o no deseados.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

Una vez optimizadas las condiciones de reacción (esquema 51), se estudió la cicloadición de las iminas **27c** ($R^1 = H$), **27d** ($R^1 = F$) y **27e** ($R^1 = Me$). En todos los casos, se observó la conversión total de los productos de partida a las 16 horas de reacción. Los productos de reacción **33** fueron purificados mediante cromatografía en columna de gel de sílice, aislados con buenos rendimientos y caracterizados (tabla 9).



Esquema 51. Síntesis de derivados 33.

Tabla 9. Síntesis de derivados 33 a partir de aldiminas 27c-e.

Entrada	Compuesto	R^1	Rdto. (%)
1	33a	H	56
2	33b	F	78
3	33c	CH_3	64

En el RMN de protón del compuesto **33a** (figura 49) se puede observar a $\delta = 2.45$ ppm la señal correspondiente al protón de la posición 6a que aparece como un multiplete (doble doble doble) con unas constantes de acoplamiento de: $^3J_{HH} = 11.7$ Hz, $^3J_{HH} = 11.2$ Hz, $^3J_{HH} = 10.4$ Hz y $^3J_{HH} = 3.5$ Hz. Además, a $\delta = 3.84$ ppm se observa un triplete (doble doblete) que corresponde con uno de los protones de la posición 6 de la molécula (H_B) y que presenta dos constante de acoplamiento de $^2J_{HH} = 11.2$ Hz y de $^3J_{HH} = 11.0$ Hz. A $\delta = 3.88$ ppm aparece una señal en forma de doblete que posee una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 11.7$ Hz que corresponde al protón 7-H. A $\delta = 4.40$ ppm se observa un doble doblete con constantes de acoplamiento de $^2J_{HH} = 11.0$ Hz y $^3J_{HH} = 3.5$ Hz que corresponde a otro de los protones metilénicos (H_A). Además, en ese rango del espectro, se puede observar un singlete a $\delta = 4.41$ ppm que corresponde al protón del grupo amino de la molécula y que desaparece tras tratar la muestra con agua deuterada. El protón de la posición 12a aparece a a $\delta = 4.42$ ppm como doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 10.4$ Hz. Por último, a $\delta = 7.89$

ppm se observa un doble doblete con unas constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 4.5 \text{ Hz}$ y $^4J_{\text{HH}} = 1.5 \text{ Hz}$ que corresponden al protón de la piridina de la posición 9, este resultado, parece indicar que el regioisómero obtenido sería el que se representa en la estructura **33**, de cromeno condensado con una [1,5]naftiridina, y no con una [1,8]naftiridina (estructura **33'**) ya que solo se observa una única señal.

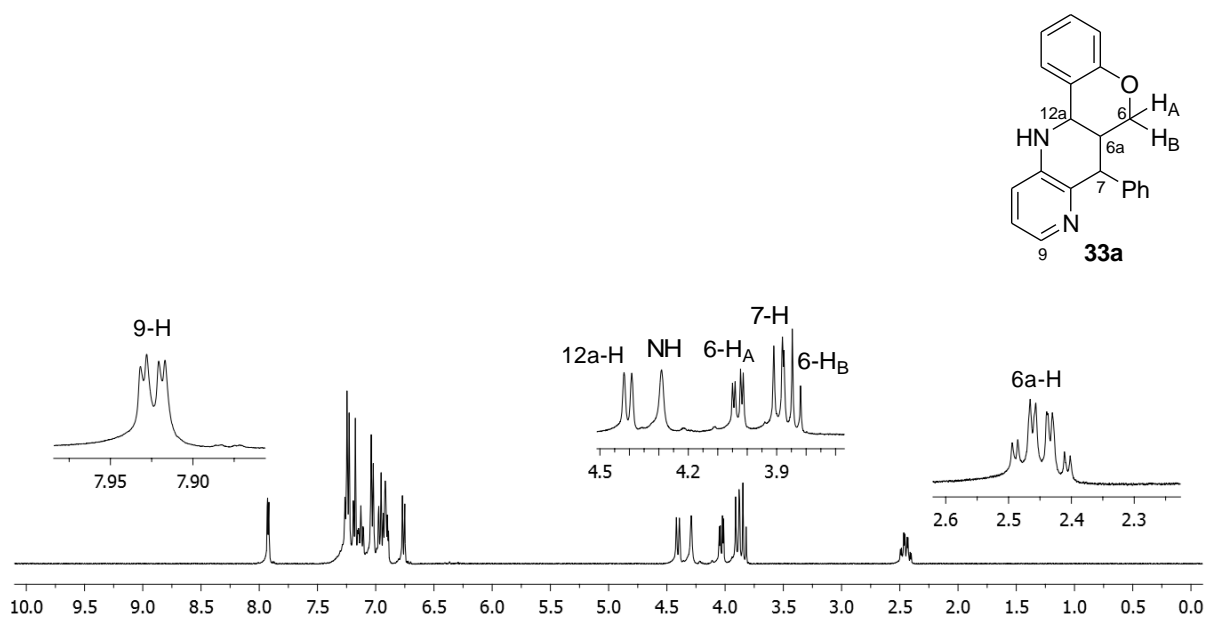


Figura 49. Espectro de RMN de protón del compuesto **33a**.

En el ^{13}C -RMN del compuesto **33a** (figura 50), se pueden observar las señales correspondientes a los carbonos alifáticos en la zona baja del espectro a $\delta = 42.0$, 49.8 y 51.8 ppm las señales correspondientes a los carbonos C-12a, C-7 y C-6a, además, se determinó mediante un experimento dept que la señal a $\delta = 67.5$ ppm corresponde al CH_2 del anillo de cromeno.

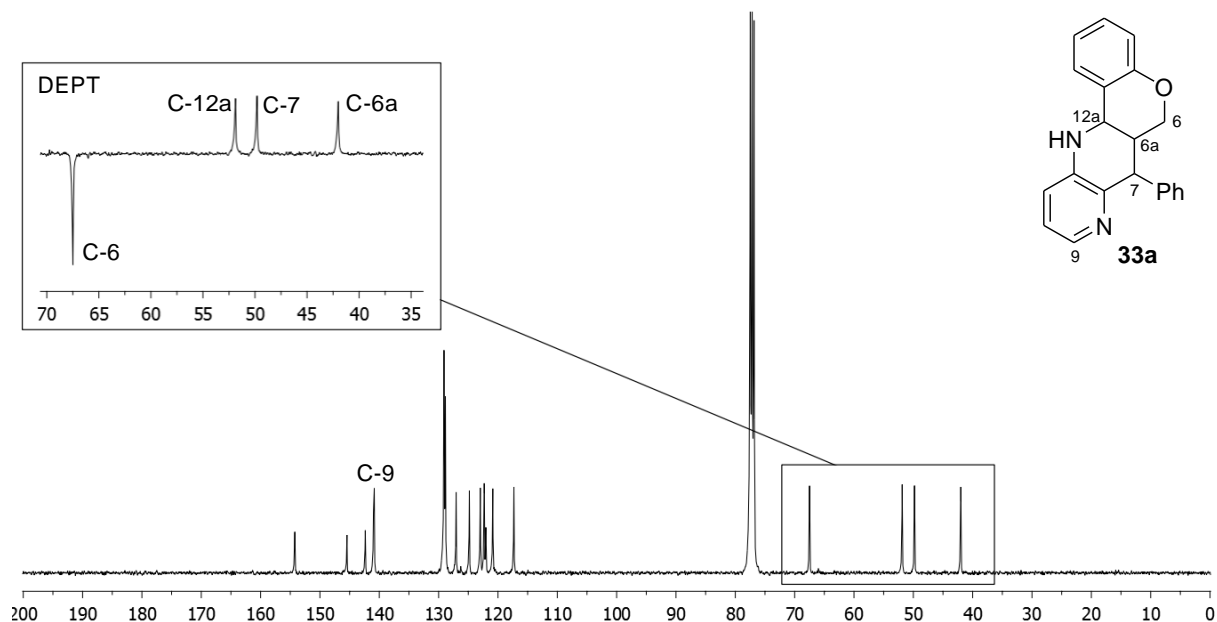


Figura 50. Espectro de RMN de carbono del compuesto **33a**.

En la figura 51 se muestra un experimento HMQC del compuesto **33a** en donde se pueden observar señales de entrecruzamientos entre el hidrógeno 6a-H y el carbono C-6a, entre el hidrógeno 7-H y el carbono C-7 y entre el hidrógeno 12a-H y el carbono C-12a. En el caso del carbono C-6 se observan dos entrecruzamientos debido a que los protones metilénicos son diastereotópicos. Por último, a campo bajo del espectro, se pueden observar un único entrecruzamiento entre el carbono C-9 ($\delta = 140.2$ ppm) y el protón 9-H ($\delta = 7.89$ ppm) correspondientes al anillo de piridina.

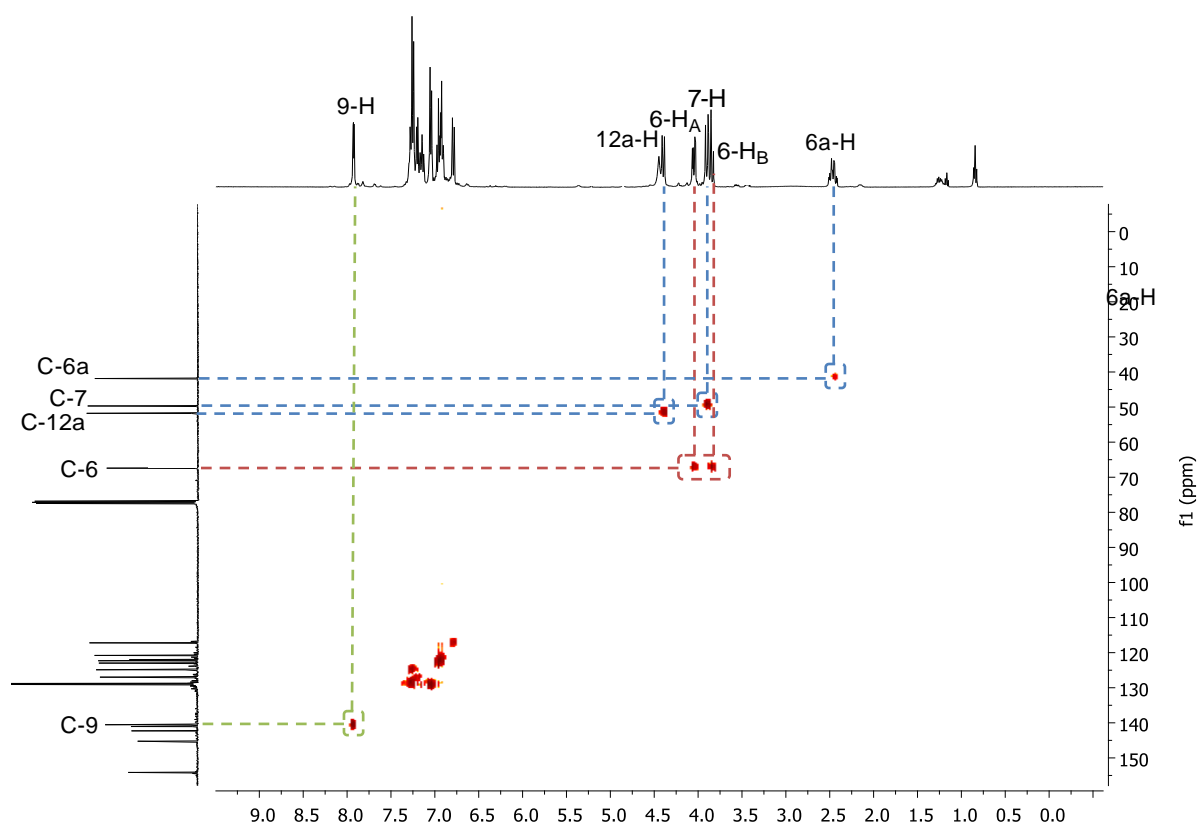


Figura 51. HMBC del compuesto **33a**.

Mediante experimentos NOESY-1D se determinó la estereoquímica relativa de los hidrógenos del compuesto **33a** (figura 52). Por un lado, la saturación selectiva de la señal correspondiente al protón H_A del grupo metilénico presenta un efecto NOESY positivo con los protones 6a-H (2.8%) y 6- H_B (7.4%). Por otro lado, la saturación de los protones 6- H_B y 7-H, presentan un efecto NOESY positivo con los protones 6- H_A (6.2%) y 12a-H (2.5%) respectivamente.

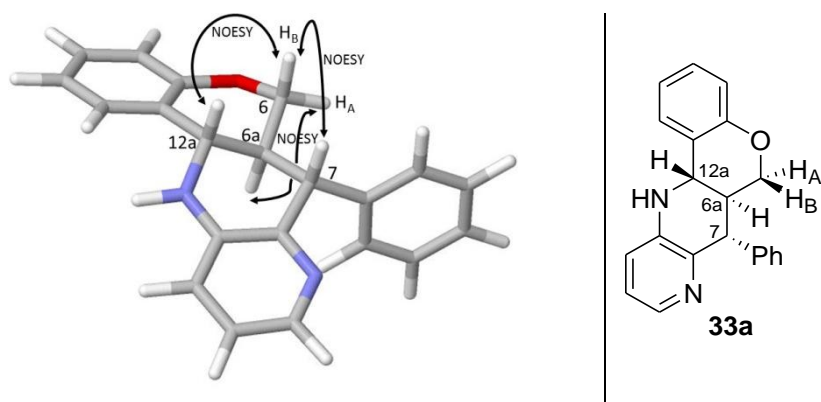


Figura 52. Experimento NOESY-1D del compuesto 33a.

Además, la estructura del compuesto **33a** se ratificó por análisis de rayos X (figura 53). Por tanto, los análisis de RMN, juntos con el análisis de rayos X, permitieron determinar los hidrógenos de las posiciones 12^a y 7 estaban en configuración relativa *cis* y estos en configuración relativa *trans* con el protón de la posición 6^a.

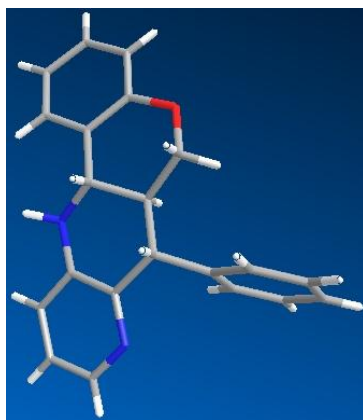
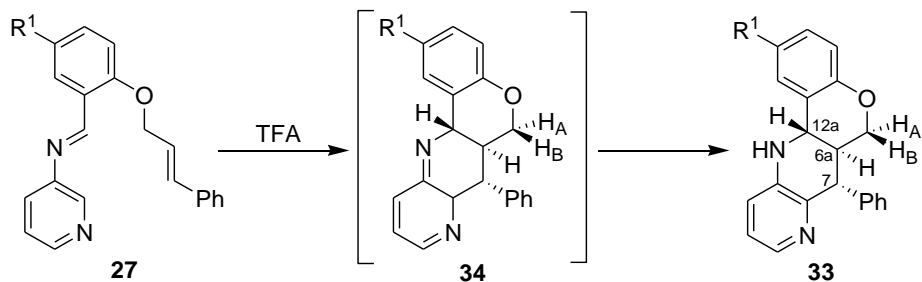


Figura 53. Vista ORTEP del compuesto 33a.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

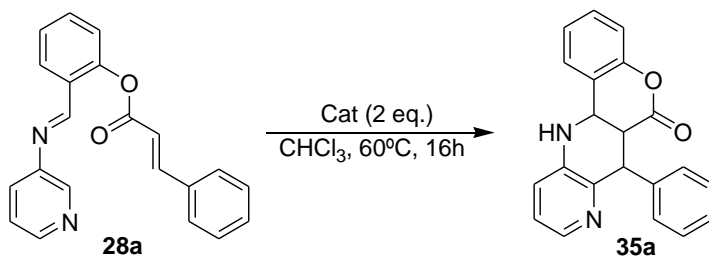
La formación de los compuestos **33** podría ser justificada por una cicloadición [4+2] intramolecular de las iminas **27** catalizada por el ácido trifluoroacético (esquema 51), en donde en una primera etapa se formaría el aducto de Povarov **34** que tras una tautomerización prototrópica daría lugar a los correspondientes aductos *endo* **33** de forma regio- y estereoselectiva.



Esquema 51. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de los aductos **33**.

A continuación, con el objetivo de ampliar la diversidad en los aductos a obtener en la reacción de Povarov, se estudió la ciclación de las aldiminas **28**. Para ello, se procedió al estudio de la reacción de cicloadición con diferentes catalizadores.

Para el estudio se hizo reaccionar la aldimina **28a** en cloroformo a reflujo y en presencia de diferentes catalizadores, hasta que se observó el consumo del producto de partida (esquema 52). Tal y como se expresa en la tabla 10, los catalizadores que se utilizaron fueron de diferente naturaleza (ácidos de Lewis y ácidos de Brønsted). El AlCl_3 , ZnCl_2 y $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (Tabla 10, entradas 1, 3 y 4) fueron los únicos catalizadores que permitieron la reacción, siendo el $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ el que proporcionó una conversión completa de la imina **28a**.



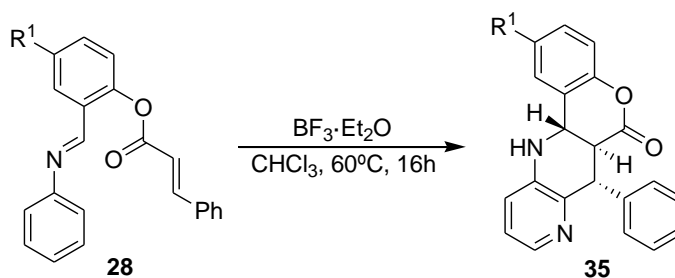
Esquema 52. Estudio de catalizadores para la obtención de [1,5]naftiridina **35a**.

Tabla 10. Estudio de la reacción de cicloadición de la imina **28a**.

Entrada	Catalizador	Conv. (%) ^a
1	AlCl ₃	10
2	SnCl ₄	0
3	ZnCl ₂	5
4	BF₃·Et₂O	95
5	Ac. Trifluoroacético	0
6	Ac. Fosfórico	0
7	Ac. Paratoluensulfónico	0

^aObservado por RMN.

Una vez determinadas las condiciones de catálisis, se estudió la reacción de ciclación de las aldiminas **28a** y **28b** en CHCl₃ a reflujo (esquema 53). Tras el consumo completo del producto de partida se observaron en ambos casos la formación de los correspondientes aductos **35a** y **35b** con excelentes rendimientos (Tabla 11).



Esquema 53. Síntesis de naftiridinas **35**.

Tabla 11. Resultados de la obtención de naftiridinas **35**.

Entrada	Compuesto	R	t (h)	Rdto. (%)
1	35a	H	24	95
2	35b	F	20	90

Una vez más, los productos de reacción fueron aislados y caracterizados por RMN. En el espectro ¹H-RMN del compuesto **35b** (figura 54), se puede observar a δ = 3.25 ppm un doble doblete que presenta dos constantes de acoplamiento, una de ³J_{HH} = 13.0 Hz y otra de ³J_{HH} = 10.0 Hz, correspondiente al hidrógeno de la posición 6a. El protón de la amina se observa como una señal en forma de singlete a δ = 4.38 ppm que desaparece tras tratar la muestra con agua deuterada. Además, δ = 4.56 ppm se aprecia un doblete con una constante de acoplamiento de ³J_{HH} = 13.0 Hz

que correspondiente al protón de la posición 7 y a $\delta = 4.87$ ppm se observa otro doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 10.0$ Hz correspondiente al protón de la posición 12a. Finalmente, a $\delta = 8.10$ ppm se observa un doblete con unas constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 4.5$ Hz y $^5J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz que corresponde al hidrógeno de la posición 9 de la molécula, este hecho permitiría afirmar que la reacción es regio-selectiva dando lugar únicamente a derivados de [1,5]naftiridina.

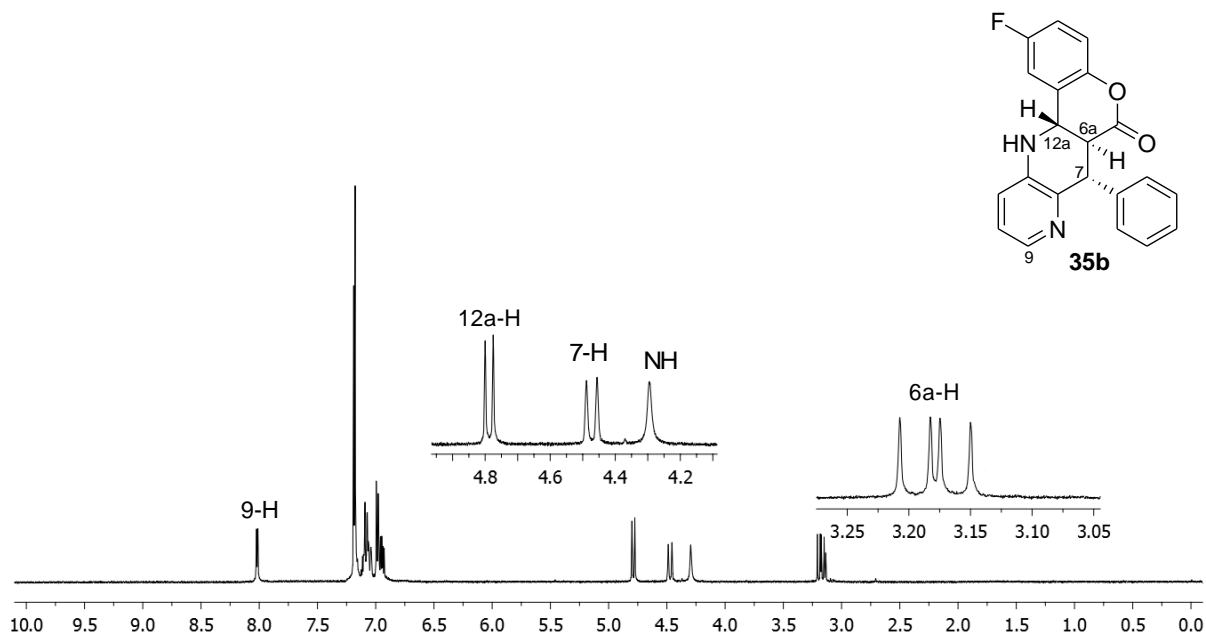


Figura 54. Espectro de RMN de protón del compuesto **35b**.

En cuanto al espectro de ¹³C-RMN del compuesto **35b** (figura 55), son destacables las señales a campo bajo del espectro. Por ejemplo, a $\delta = 167.7$ ppm se observa la señal correspondiente al grupo carboxilo (C-6). Además, a $\delta = 159.4$ ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $^1J_{\text{CF}} = 242.0$ Hz que corresponde al átomo de carbono unido a un átomo de flúor (C-2). Por último en la zona de los alifáticos se observa las señales correspondientes a los carbonos de la posiciones 12a, 6a y 7 a $\delta = 49.5$, 49.0 y 46.1 ppm respectivamente.

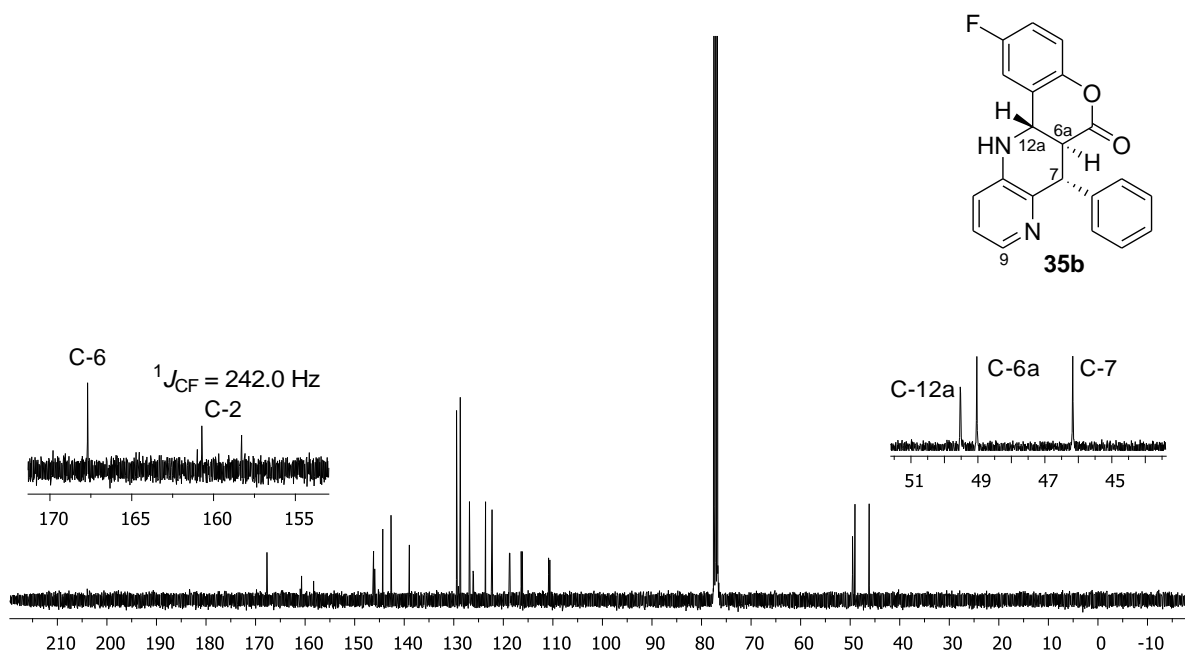


Figura 55. Espectro de RMN de carbono del compuesto **35b**.

En los experimentos NOESY-1D del compuesto **35b** (figura 56) podemos observar que la saturación selectiva de la señal correspondiente al protón de la posición 7 (7-H) presenta un efecto NOESY positivo con los protones 12a-H (1.26%) y 6a-H (1.1%). Por tanto, en este caso también podríamos decir que la reacción de cicloadición proporciona los correspondientes aductos *endo* de forma regio- y estereoselectiva.

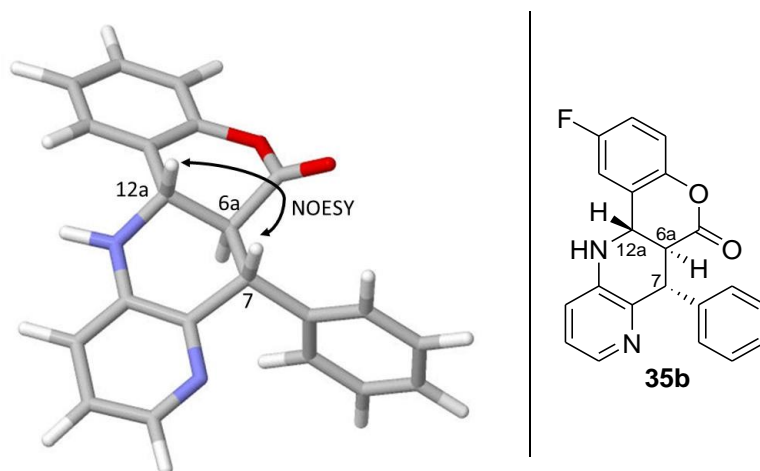
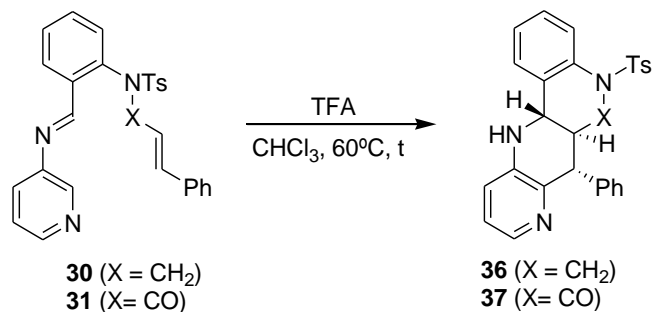


Figura 56. Experimento NOESY-1D del compuesto **35b**.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

Seguidamente y con el objetivo de ampliar la diversidad de los aductos a sintetizar, nos propusimos estudiar la reacción de Povarov intramolecular utilizando las aldiminas **30**, **31** (esquema 54) en CHCl_3 a reflujo y con TFA como catalizador. Los aductos **36** y **37** fueron aislados con buenos rendimientos y caracterizados (Tabla 12).



Esquema 54. Síntesis de naftiridinas **36** y **37**.

Tabla 12. Síntesis de naftiridinas fusionadas con quinolinas.

Entrada	Compuesto	X	t (h)	Rdto. (%)
1	36	CH_2	16	88
2	37	CO	8	95

En la figura 57 se muestra el espectro de protón del compuesto **36**. A $\delta = 1.90$ ppm se observa un multiplete (doble doble doble doblete) correspondiente al protón de la posición 6a de la molécula con las siguientes constantes de acoplamiento: $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.5$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 4.5$ Hz. Seguidamente, a $\delta = 2.34$ ppm, se aprecia un singlete correspondiente al CH_3 del grupo tosilo. A campo más bajo, se observa: un doble doblete a $\delta = 3.36$ ppm con constantes de acoplamiento de $^2J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz correspondiente al protón 6-H_B, un doblete a $\delta = 3.85$ ppm con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz correspondiente al protón 7-H, otro doblete a $\delta = 3.99$ ppm con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 10.5$ Hz correspondiente al protón 12a-H y un doblete a $\delta = 4.07$ ppm con constantes de acoplamiento de $^2J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 4.5$ Hz correspondiente al protón 6-H_A. Además, a $\delta = 4.22$ ppm se observa un singlete ancho que corresponde al protón de la amina y que desaparece tras tratar la muestra con agua deuterada.

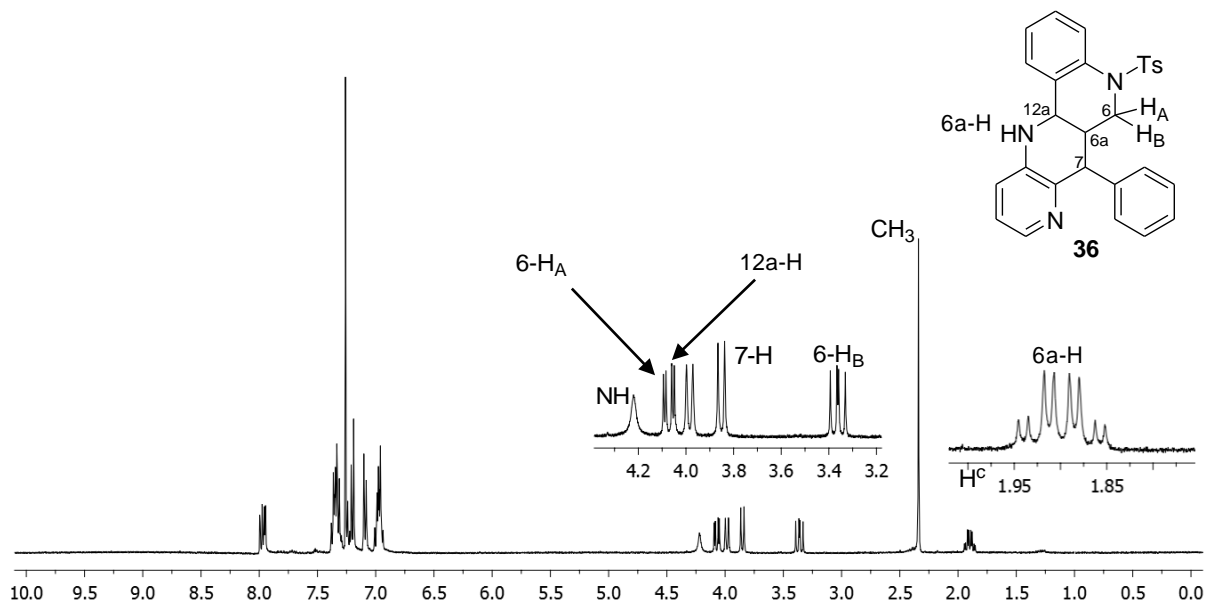


Figura 57. Espectro de RMN del compuesto **36**.

En la figura 58 se representa el espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **36**. Tal y como se puede observar, la señal correspondiente al grupo CH_3 aparece a $\delta = 21.7$ ppm, por otro lado, a $\delta = 41.4$, 51.5 y 53.3 ppm se observan las señales correspondientes a los carbonos C-6a, C-7 y C-12a respectivamente. Finalmente mediante experimentos dept, se determinó que la señal a $\delta = 48.6$ ppm corresponde al CH_2 de la molécula.

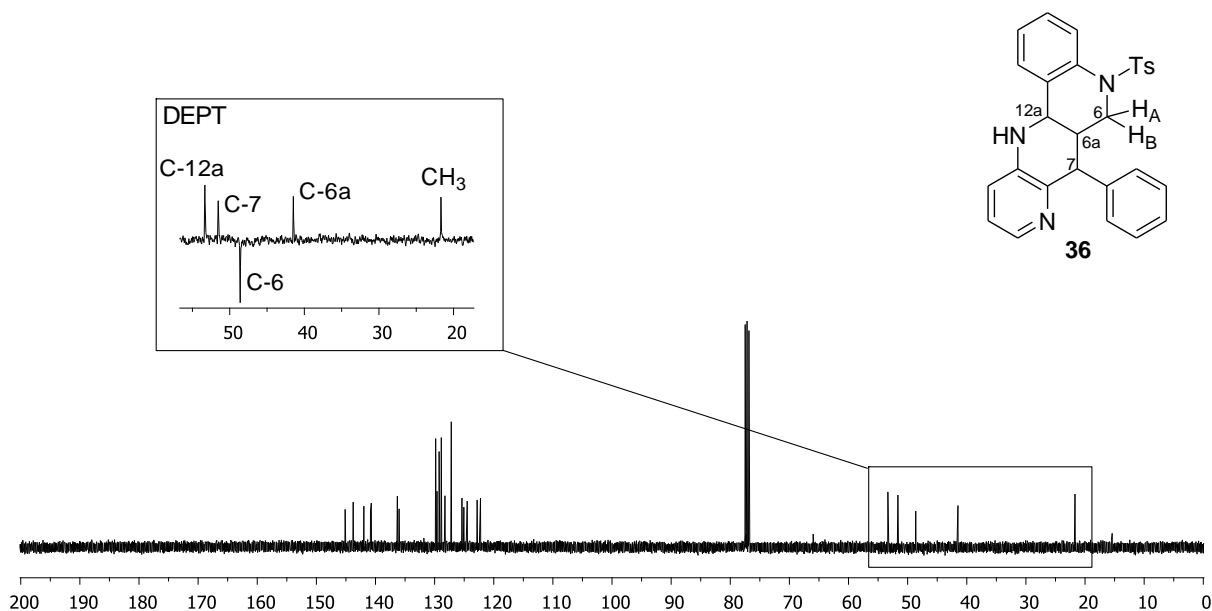


Figura 58. Espectro de RMN de carbono del compuesto **36**.

Como se ha mencionado en el espectro de ^1H -RMN los hidrógenos diasterotópicos de la posición 6 aparecen muy distanciados en el espectro. Mediante este experimento de correlación hidrógeno-carbono a un enlace (figura 59) se ha podido confirmar que los dos protones muestran entrecruzamientos con el carbono metilénico ($\delta = 48.6$ ppm) verificando así la estructura del compuesto y las asignaciones realizadas anteriormente.

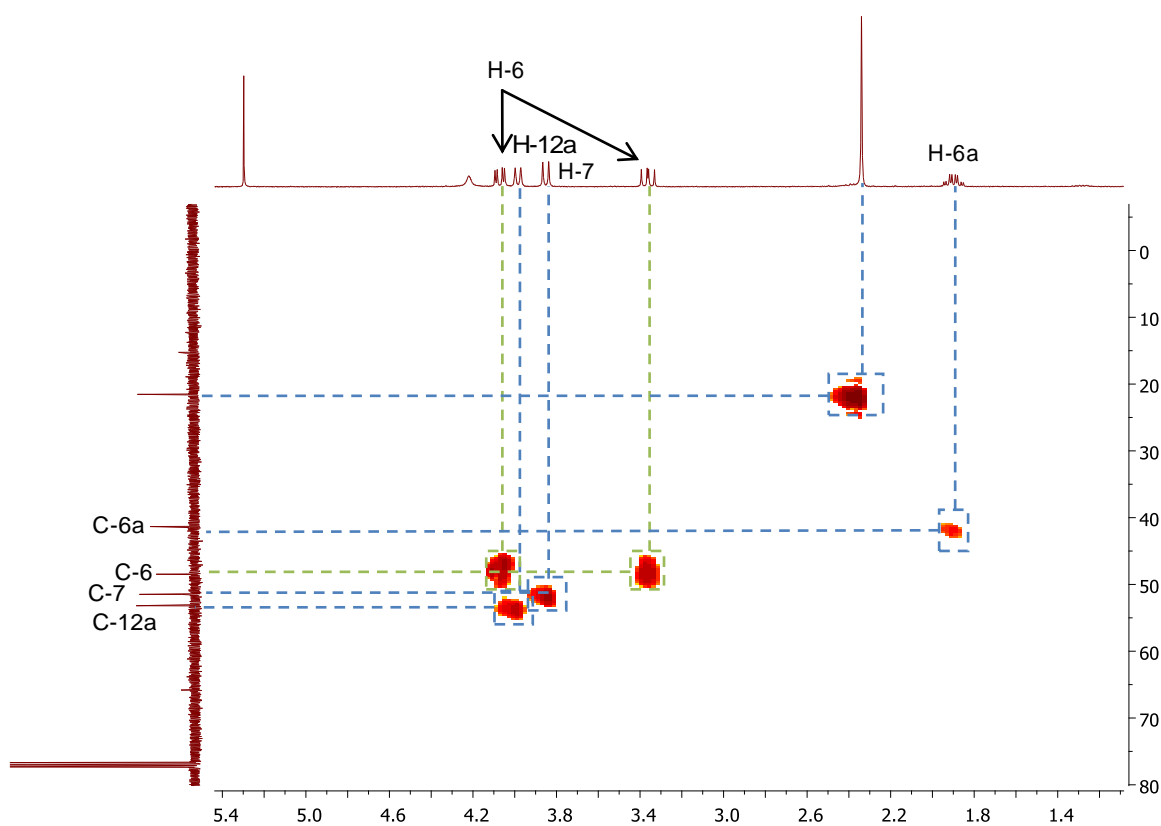


Figura 59. Vista parcial del experimento HMQC del compuesto **36**.

Mediante experimentos NOESY-1D se determinó la estereoquímica relativa de los hidrógenos del compuesto **36** (figura 60). Por un lado, la saturación selectiva de la señal correspondiente al protón 6-H_A del grupo metilénico presenta un efecto NOESY positivo con el protón 6-H_B (13.9%). Por otro lado, la saturación de los protones 6a-H y 7-H, presentan un efecto NOESY positivo con los protones 6-H_A (2.3%) y 6-H_B (3.1%) respectivamente. Por último, el protón 6-H_B también presenta un efecto NOESY positivo con el protón 12a-H (13.9%). En vista de estos resultados, podríamos afirmar que la reacción de cicloadición proporciona los correspondientes aductos *endo* **36** de forma regio- y estereoselectiva.

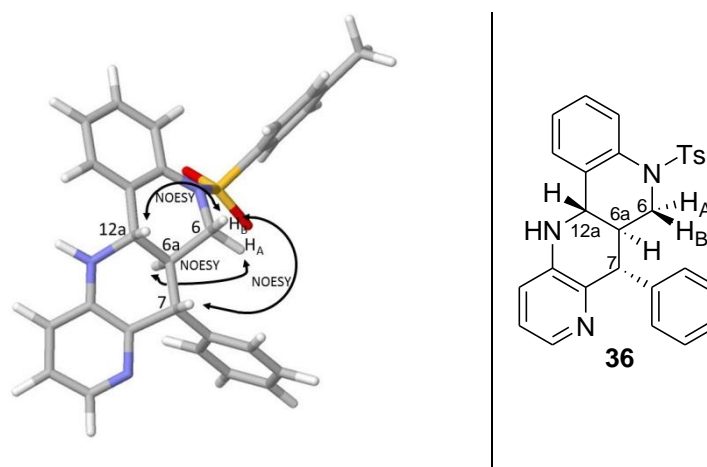
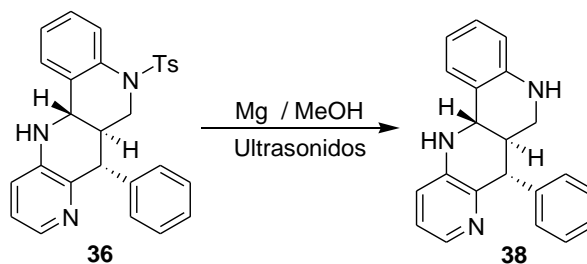


Figura 60. Experimento NOESY-1D del compuesto 36.

En el caso del aducto **36** se planteó la posibilidad de eliminar el grupo tosilo de la amina. Para ello se estudiaron varios métodos de desprotección, pero ni la hidrólisis en medio ácido con H_2SO_4 , como con TBAF dio resultado. Sin embargo, la reacción del aducto **36** con Mg en MeOH ¹⁷⁹ utilizando ultrasonidos dio lugar al aducto **38** con un rendimiento casi cuantitativo (esquema 55). La misma metodología fue utilizada para el derivado **37** pero no se observó el producto de reacción esperado.



Esquema 55. Metodología para la desprotección del aducto 36.

El aducto **38** fue aislado y caracterizado por RMN. En la figura 61 se muestra su espectro de ^1H -RMN en donde se observa un multiplete a $\delta = 2.30$ ppm correspondiente al protón de la posición 6a. A $\delta = 3.01$ ppm, se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz

¹⁷⁹ N. K. Upender, K. R. Vijaya, S. Anamika, *Tetrahedron Lett.*, **2005**, 46, 479-482.

correspondiente a uno de los protones de la posición 6 (H_A) mientras que el otro (H_B), aparece a $\delta = 3.03$ ppm en forma de singlete. Los hidrógenos de los grupos amino se pueden observar a $\delta = 3.82$ y 4.33 ppm en forma de singletes anchos que desaparecen tras tratar la muestra con agua deuterada. A $\delta = 3.86$ ppm se puede observar un doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 12.0$ Hz correspondiente al hidrógeno 7-H y a $\delta = 4.37$ ppm otro doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 10.5$ Hz que corresponde al hidrógeno 12a-H. Por último a $\delta = 7.86$ ppm aparece una señal en forma de doblete de doblete con unas constantes de acoplamiento de $^3J_{HH} = 4.5$ Hz y $^4J_{HH} = 1.5$ Hz correspondiente al hidrógeno de la posición 9 de la molécula.

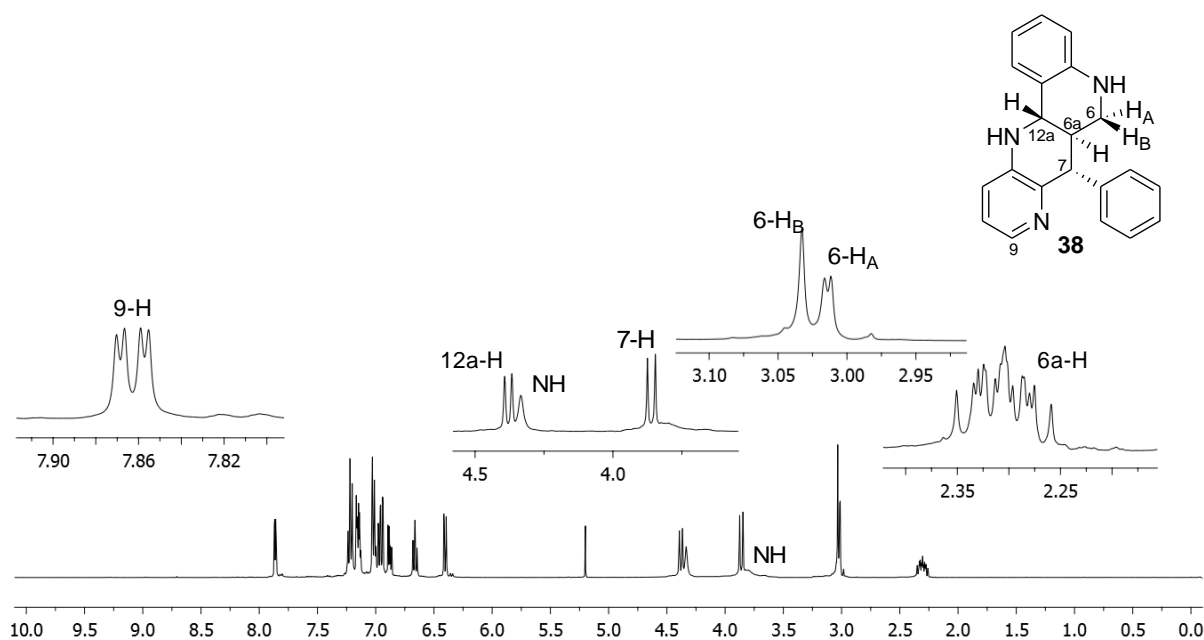


Figura 61. Espectro de resonancia de protón del compuesto **38**.

En la figura 62 se muestra el espectro de RMN de carbono del compuesto **38** en donde se pueden observar las señales de los carbonos alifáticos a $\delta = 41.9$, 51.5 y 52.9 ppm que corresponden a los carbonos C-7, C-6a y C-12a, respectivamente. Además, se determinó por experimentos dept que la señal a $\delta = 44.0$ ppm corresponde al carbono CH_2 .

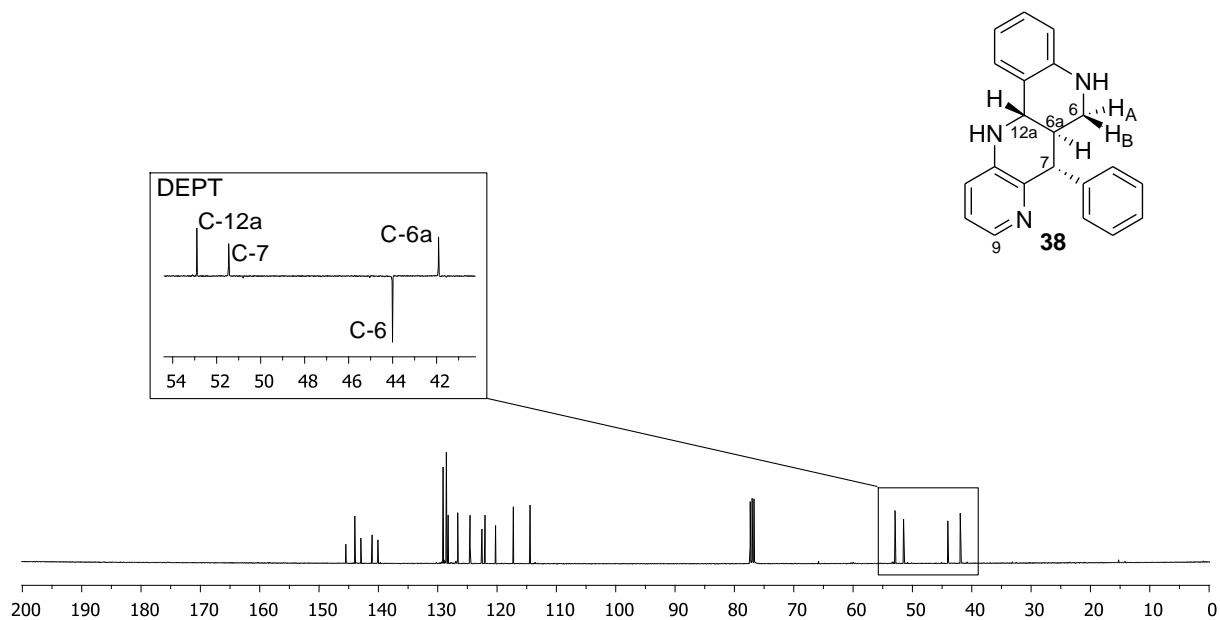
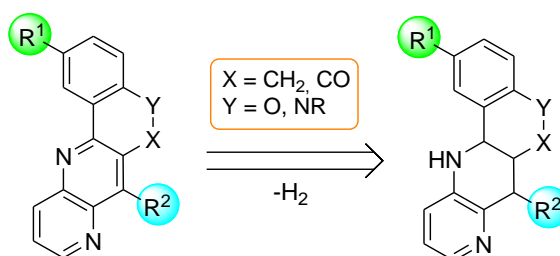


Figura 62. Espectro de resonancia de carbono del compuesto 38.

II - 3.4. Deshidrogenación de las nuevas tetrahidro[1,5]naftiridinas fusionadas

Como se ha mencionado anteriormente, en este proyecto se pretende desarrollar una metodología para la preparación de compuestos con una estructura *quasi* plana debido a la importancia de esta característica presente en muchas de las moléculas que presentan actividad biológica. En el caso de los inhibidores de topoisomerasa I, la planaridad es una característica muy importante ya que las interacciones π - π^* entre el compuesto activo, la enzima y los pares de bases del ADN pueden estabilizar el complejo covalente que ambos forman.

Para este propósito se estudió la deshidrogenación de las tetrahidro[1,5]naftiridinas sintetizadas (esquema 56). Esta metodología podría proporcionar una nueva ruta sintética para la obtención de naftiridinas fusionadas.



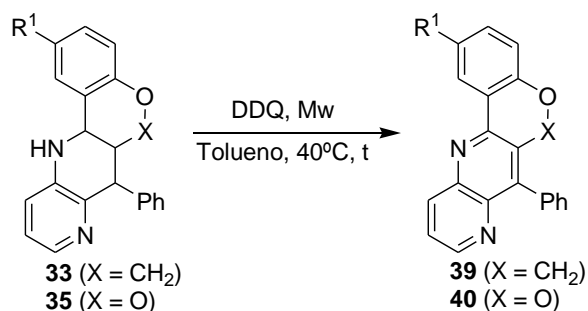
Esquema 56. Retrosíntesis de derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas.

Estudios anteriores del grupo¹⁶⁷ han demostrado la eficacia del 4,5-dicloro-3,6-dioxo-1,4-ciclohexadien-1,2-dicarbonitrilo (DDQ) en la deshidrogenación de tetrahidronaftiridina. Es conocido el uso de quinonas como especiesceptoras de electrones en oxidación de dihidropiridinas.¹⁸⁰ Además, estos mismos estudios han demostrado que el uso de microondas en estas metodologías sintéticas mejora los tiempos de reacción.

¹⁸⁰ M. F. Gordeev, D. V. Patel, E. M. Gordon, *J. Org. Chem.*, **1996**, *61*, 924-928.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

En primer lugar, se procedió a la deshidrogenación de los derivados de naftiridinas **33** y **35**. Las reacciones de oxidación se llevaron a cabo en tolueno a 40°C bajo radiación microondas y en presencia de 1.1 equivalentes de DDQ (esquema 57). Una vez verificado el total consumo del producto de partida, se aislaron y caracterizaron los aductos deshidrogenados **39** y **40**. Tal y como se puede observar en la tabla 13, se obtuvieron los derivados deshidrogenados de una forma casi cuantitativa y con tiempos de reacción cortos.



Esquema 57. Reacción de deshidrogenación con DDQ.

Tabla 13. Datos del estudio de la reacción de deshidrogenación.

Entrada	Compuesto	X	R ¹	t (h)	Rdto. (%)
1	39a	CH ₂	H	1	99
2	39b	CH ₂	F	1	99
3	39c	CH ₂	Me	1	99
4	40a	CO	H	2	99
5	40b	CO	F	2	99

Los aductos **39** y **40** fueron aislados y caracterizados por RMN. Por ejemplo, en el espectro de ¹H-RMN del aducto **40a** (figura 63) se pueden observar tres señales en forma de doble doblete a $\delta = 8.52$, 8.83 y 9.02 ppm correspondientes a los protones de las posiciones 10, 11 y 9 de la molécula respectivamente. Además, si comparamos el espectro con los de sus análogos hidrogenados **35** (ver figura 54), se observa la desaparición de los protones alifáticos correspondientes al anillo de tetrahidro[1,5]naftiridina.

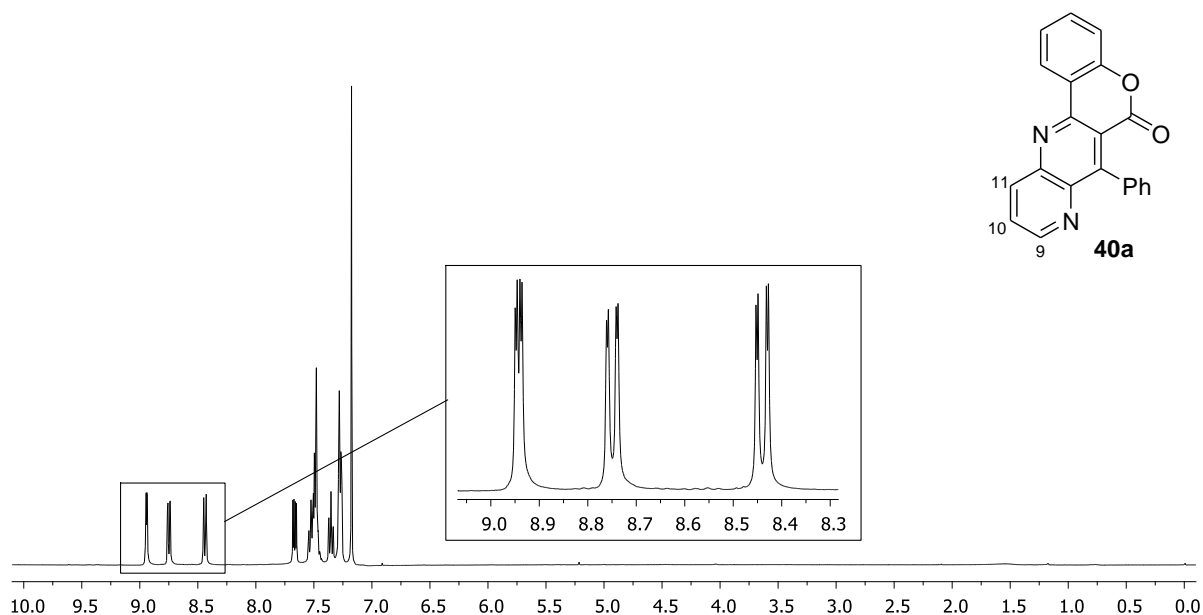
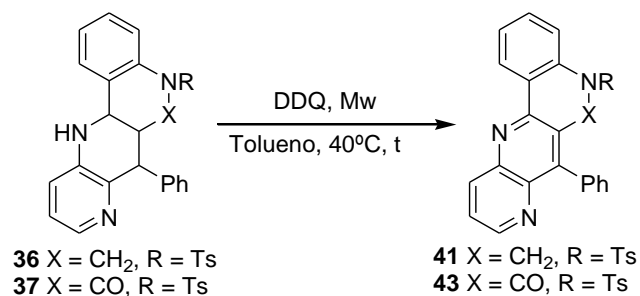


Figura 63. Espectro de RMN de protón del compuesto 40a.

A continuación se estudió la reacción de deshidrogenación de los derivados de naftiridinas fusionadas con quinolina **36** y **37** (esquema 58). Para ello, se utilizaron las mismas condiciones de reacción utilizadas en el apartado anterior Tal y como se expresa en la tabla 14, los aductos **41** y **43** (tabla 14, entradas 1 y 3) fueron obtenidos de forma casi cuantitativa y en tiempos de reacción cortos. Sin embargo, en la reacción de deshidrogenación del aducto **38** ($X = \text{CH}_2$, $R = \text{H}$) no se observó la formación del correspondiente aducto **42** (tabla 14, entrada 2) y en su lugar se obtuvieron productos de descomposición no identificados.



Esquema 58. Deshidrogenación con DDQ.

Tabla 14. Datos del estudio de la reacción de oxidación.

Entrada	Compuesto	X	R	t (h)	Rdto. (%)
1	41	CH ₂	Ts	1	99
2	42	CH ₂	H	2	0
3	43	CO	Ts	2	99

Los aductos **41** y **43** fueron aislados y caracterizados por RMN. Por ejemplo, en la figura 64 se muestra el espectro de ¹H-RMN del compuesto **41** en el que se pueden observar dos señales en forma de singlete a δ = 1.91 y 4.93 Hz que corresponden a los protones del CH₃ y CH₂ de la molécula respectivamente. Además, en la zona alta del espectro se pueden observar en forma de doble doblete los protones de las posiciones 9, 10 y 11 del anillo de naftiridina.

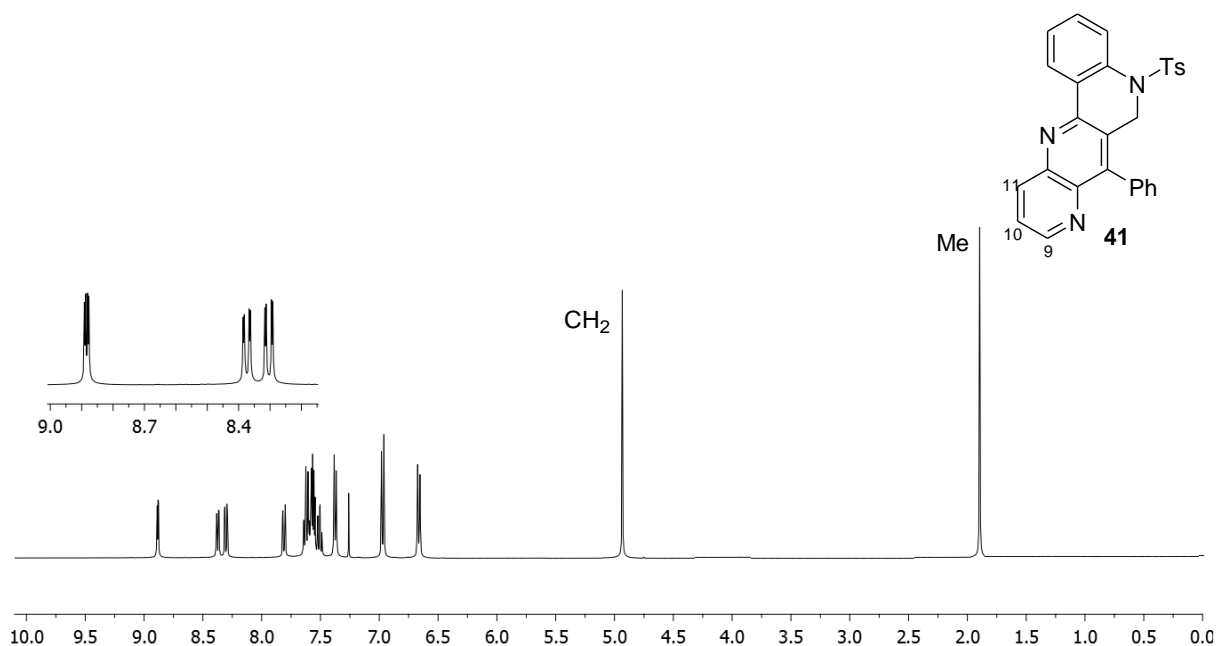


Figura 64. Espectro de resonancia de carbono del compuesto 41.

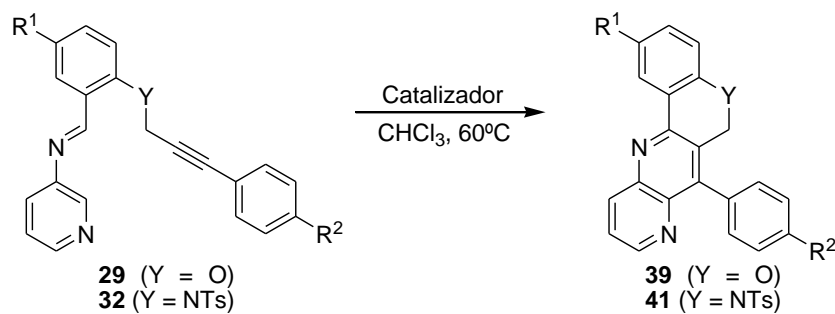
II – 3.5. Síntesis de [1,5]naftiridinas fusionadas mediante la reacción de Povarov

A continuación, se estudió la reacción de Povarov intramolecular de las propargilaldiminas para obtener las correspondientes [1,5]naftiridinas. Esta metodología podría suponer una nueva *via* para la obtención de [1,5]naftiridinas en un solo paso y sin la necesidad de obtener previamente los derivados hidrogenados.

Con la metodología planteada, se procedió al estudio de la reacción de ciclación de las propargilaldiminas **29** y **41** (esquema 59). La reacción se realizó a escala de 1 mmol, en CHCl₃ a reflujo y, debido a los resultados anteriores, se estudiaron dos catalizadores, por un lado, el ácido

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

trifluoroacético, y por otro lado, el $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. Tras el consumo total del producto de partida, los aductos **39** y **41** fueron aislados con excelentes rendimientos y caracterizados por RMN (Tabla 15). Cabe señalar que, tanto los tiempos de reacción, como los rendimientos fueron mejores en el caso de la utilización del $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador.



Esquema 59. Síntesis de [1,5]naftiridinas.

Tabla 15. Síntesis de derivados de naftiridina **39** y **41**.

Entrada	Compuesto	Catalizador	Y	R ¹	R ²	t (h)	Rdto. (%)
1	39a	TFA	O	H	H	8	54
2	39b	TFA	O	F	H	8	49
3	39d	TFA	O	H	MeO	7	36
4	39a	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	O	H	H	5	89
5	39b	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	O	F	H	5	91
6	39d	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	O	H	MeO	5	88
7	41	$\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$	NT s	H	H	5	83

Todos los espectros de RMN de los compuestos **39** y **41** obtenidos mediante la reacción de Povarov intramolecular, fueron idénticos a los obtenidos por la deshidrogenación con DDQ (apartado II-3.4.). Es decir, mediante reacción de Povarov con aldiminas funcionalizadas con triple enlace se obtienen únicamente derivados de [1,5]naftiridinas de forma regioselectiva.

Por ejemplo, en el ¹H-RMN del compuesto **39b** (figura 65) se observa un singlete a $\delta = 5.22$ ppm correspondiente al CH_2 del anillo de cromeno, además, si comparamos el espectro con el de su análogo **33b** se puede apreciar la ausencia de las señales correspondientes al anillo de tetrahydro[1,5]naftiridina. Por último, a campo bajo del espectro se pueden observar tres señales en

forma de doble doblete a $\delta = 8.20, 8.47$ y 8.92 ppm que corresponden a los protones de las posiciones 10, 11 y 9 de la molécula respectivamente.

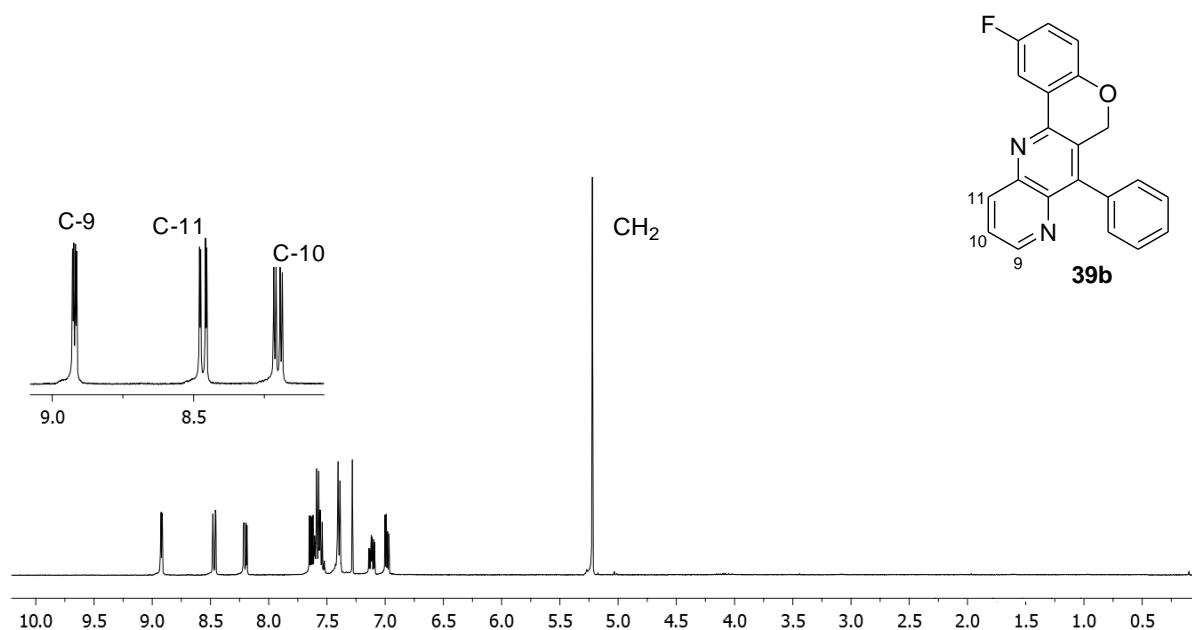


Figura 65. Espectro de RMN de protón del compuesto 39b.

En resumen, en este apartado se han obtenido diferentes [1,5]naftiridinas condensadas con cromeno, cromenonas, quinolinas y quinolinonas con diferentes sustituyentes en ambos anillos (figura 66). En la mayoría de casos, los rendimientos fueron notablemente altos. Además, se diseñaron dos rutas sintéticas para la obtención de naftiridinas deshidrogenadas obteniéndose en ambas los productos deseados.

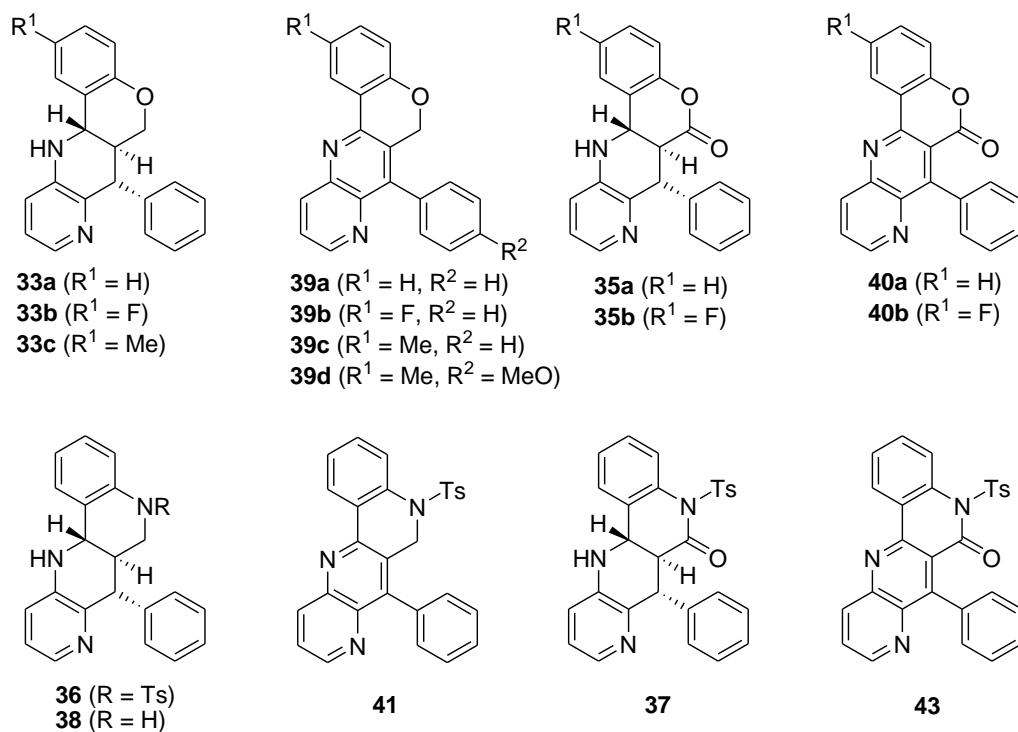


Figura 66. Derivados de [1,5]naftiridinas sintetizados.

II - 4. Síntesis de derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas

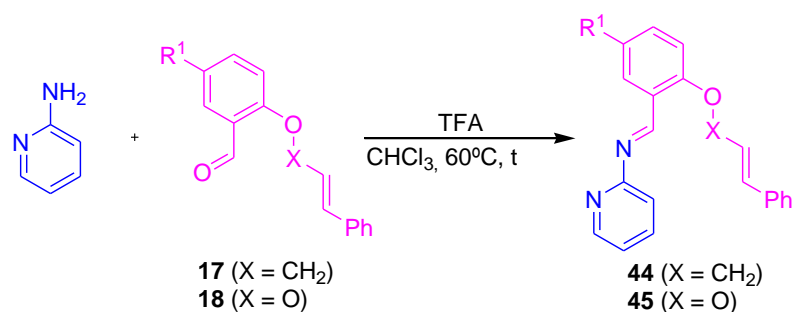
Con el objetivo de extender la metodología ilustrada en el apartado 3.3 y tal y como se muestra en el esquema 41 (pag 102), una estrategia similar se aplicó a los derivados de 2-aminopiridina.

III - 4.1. Síntesis de aldminas derivadas de 2-aminopiridina

Del mismo modo que en el apartado anterior, los diferentes aldehídos con sustituyentes funcionalizados se harán reaccionar con 1 equivalente de 2-aminopiridina para obtener las

correspondientes aldiminas. Las reacciones tuvieron lugar en cloroformo a reflujo y en presencia de ácido trifluoroacético y tamiz molecular.

En primer lugar, se procedió a la preparación de las aldiminas **44** y **45** ($R^2 = \text{Ph}$) a partir de los aldehídos **17** y **18** (esquema 60). Todas las aldiminas **44** y **45** se obtuvieron de una forma cuantitativa y en un tiempo de 12-24h (Tabla 16). Sin embargo, fueron inestables por lo que no se pudieron purificar, ni por cromatografía ni por destilación y por ello fueron utilizadas *in situ* en posteriores reacciones. Aun así, pudieron ser caracterizadas mediante $^1\text{H-RMN}$.



Esquema 60. Síntesis de aldiminas **44** y **45** derivadas de la 2-aminopiridina.

Tabla 16. Síntesis de aldiminas **44** y **45**.

Entrada	Compuesto	X	R ¹	t (h)	Conv. (%) ^a
1	44a	CH ₂	H	16	99
2	44b	CH ₂	F	16	99
3	44c	CH ₂	Me	16	99
4	45a	CO	H	24	99
5	45b	CO	F	24	99

^a Conversión determinada por RMN.

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la aldimina **44c** (figura 67) se puede observar la señal más característica de estos compuestos, un singlete a $\delta = 9.57$ ppm que corresponde al protón del carbono imínico (H^c). Además, se pueden observar dos señales a $\delta = 2.24$ y 4.78 ppm, la primera, en forma de singlete, corresponde al sustituyente metilo y la segunda corresponde al CH_2 de la cadena alílica que se presenta en forma de doble doblete con constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz y $^2J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz. Además, se pueden observar los protones del doble enlace, en donde el protón H^a

aparece como un doble doblete a $\delta = 6.44$ ppm con constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 16.0$ Hz con el protón H^{b} y de $^3J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz con uno de los protones del grupo CH_2 . Por otro lado, el protón H^{b} aparece como un doblete a $\delta = 6.73$ ppm con un acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 16.0$ Hz.

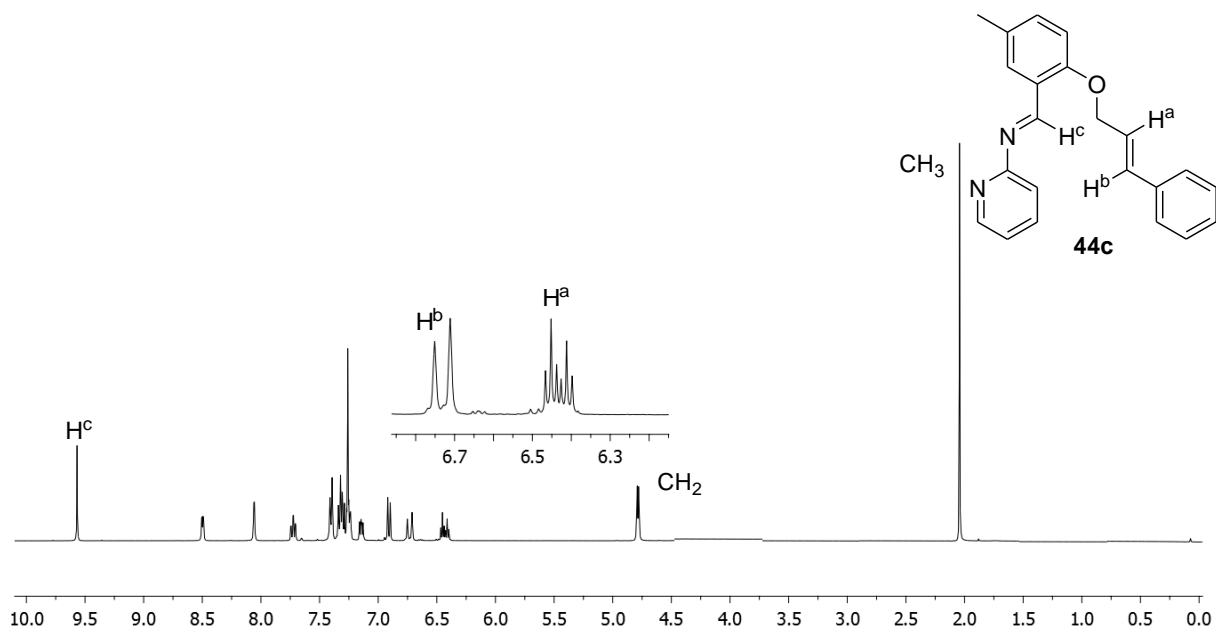
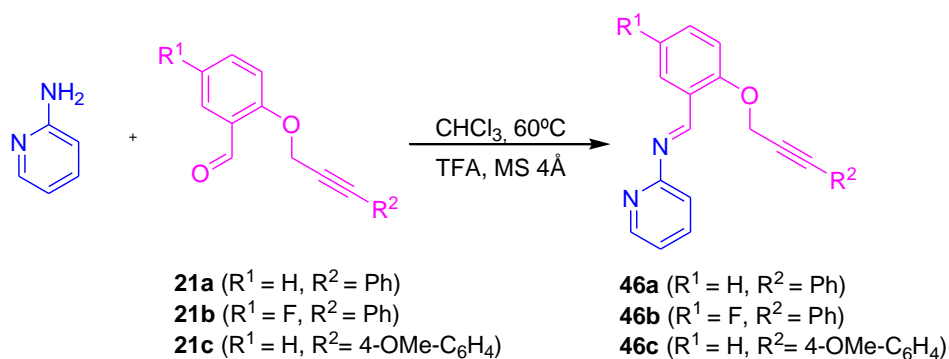


Figura 67. Espectro de ^1H -RMN del compuesto **44c**.

De la misma manera, se prepararon las iminas con triple enlace **46** usando, bajo las mismas condiciones de reacción, propargiloxi aldehídos **21** y 2-aminopiridina. Todas las aldiminas **46** se obtuvieron de una forma cuantitativa y en un tiempo de 12h, sin embargo, al igual que las anteriores, fueron inestables por lo que no se pudieron purificar, ni por cromatografía ni por destilación y por ello fueron utilizados *in situ* en posteriores reacciones (esquema 61).



Esquema 61. Síntesis de aldiminas **46** derivadas de la 2-aminopiridina.

Las aldiminas **46** fueron caracterizadas por RMN, por ejemplo, en la figura 68 se observa el espectro de carbono y de un experimento dept de la aldimina **46b**. Se puede observar una señal a $\delta = 58.1$ ppm que corresponde al carbono del CH_2 de la molécula. A campo más bajo del espectro se pueden apreciar dos señales en a $\delta = 83.4$ y 88.0 ppm correspondientes a los carbonos que forman el triple enlace. Además, a $\delta = 161.5$ ppm se observa la señal correspondiente al carbono imínico de la molécula.

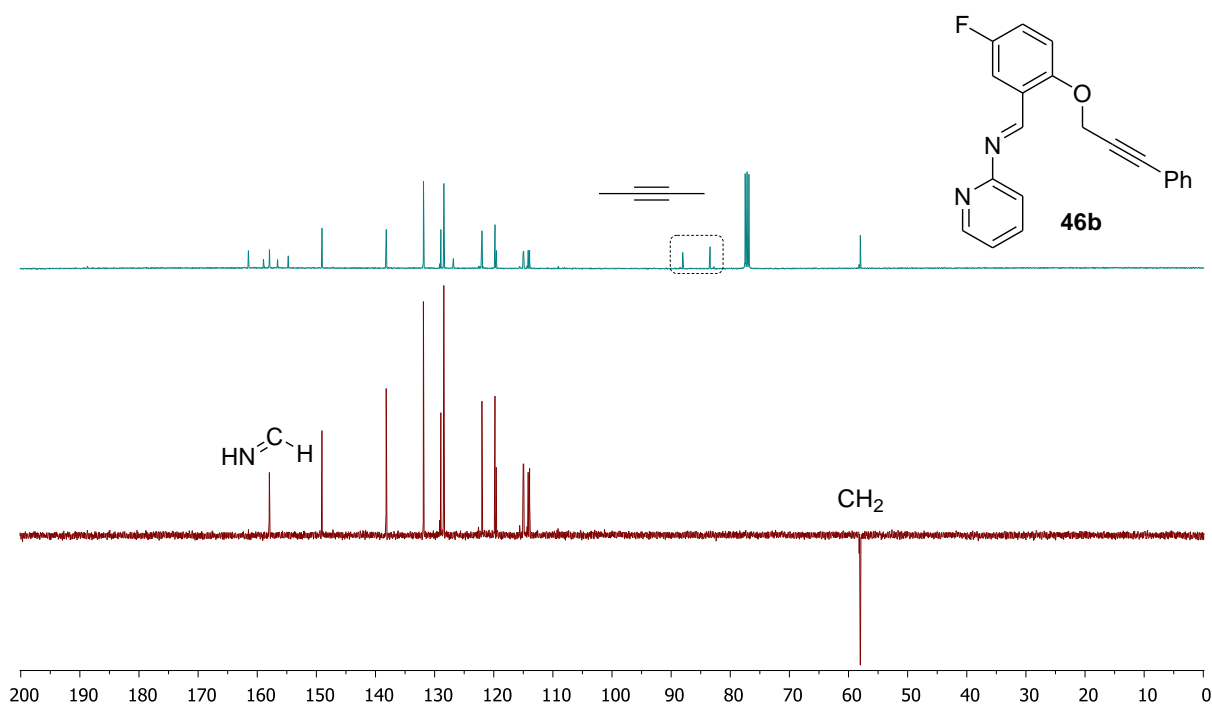
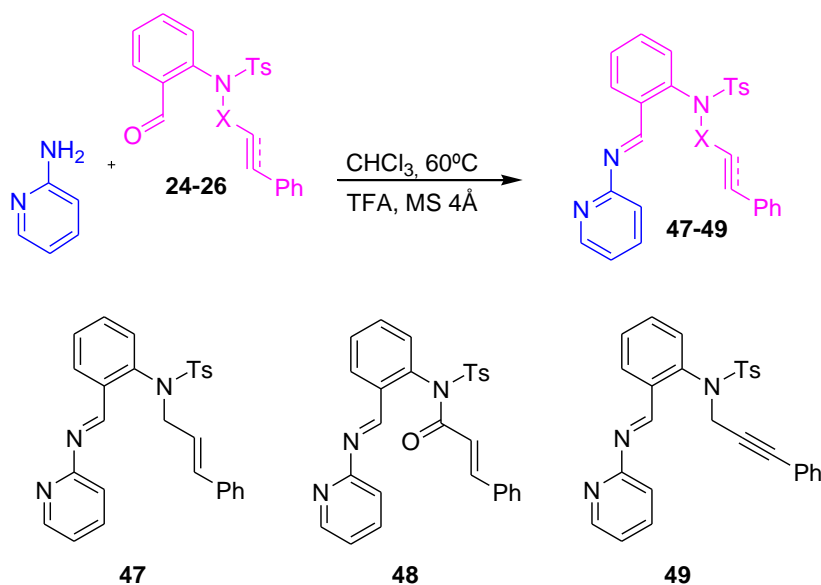


Figura 68. Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **46b**.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

Una vez sintetizadas las aldiminas derivadas del salicilaldehído, se prepararon las aldiminas derivadas del 2-aminobenzaldehído (Tabla 17). Para ello se hicieron reaccionar los aldehídos **24-26** con 2-aminopiridina en CHCl_3 a reflujo en presencia de unas gotas de ácido trifluoroacético y tamiz molecular (esquema 62). Una vez consumidos los productos de partida, se obtuvieron las aldiminas **47**, **48** y **49** de forma casi cuantitativa. Debido a su inestabilidad, los productos de reacción no pudieron ser purificados ni por cromatografía ni por destilación y por ello fueron utilizados *in situ* en posteriores reacciones.



Esquema 62. Síntesis de aldiminas 47-49.

Tabla 17. Síntesis de aldiminas derivadas de 2-aminobenzaldehído.

Entrada	Compuesto	X	Enlace	t (h)	Conv. (%)
1	47	CH_2	C=C	12	99
2	48	CO	C=C	16	99
3	49	CH_2	C≡C	12	99

Al parecer, estas aldiminas poseen una mayor inestabilidad que sus análogas derivadas de la 3-aminopiridina, debido a esto, no pudieron ser caracterizadas por RMN y se verificó su formación por TLC.

Capítulo II: Síntesis de derivados de naftiridinas fusionadas con otros heterociclos

En resumen, se han obtenido de forma cuantitativa aldiminas con diferentes grupos aliloxi (X = CH₂, Y = O; Tabla 18, entradas 1-3), acriloxi (X = CO, Y = O; Tabla 18, entradas 4-5), propargiloxi (X = CH₂, Y = O; Tabla 18, entradas 6-8), alilamino (X = CH₂, Y = NTs; Tabla 18, entrada 9), acrilamido (X = CO Y = NTs; Tabla 18, entrada 10), propargilamido (X = CH₂ Y = NTs; Tabla 18, entrada 11).

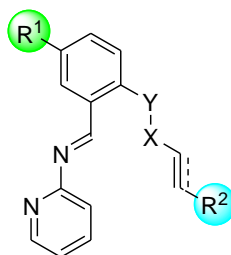


Tabla 18. Resumen de la síntesis de aldiminas derivadas de la 2-aminopiridina.

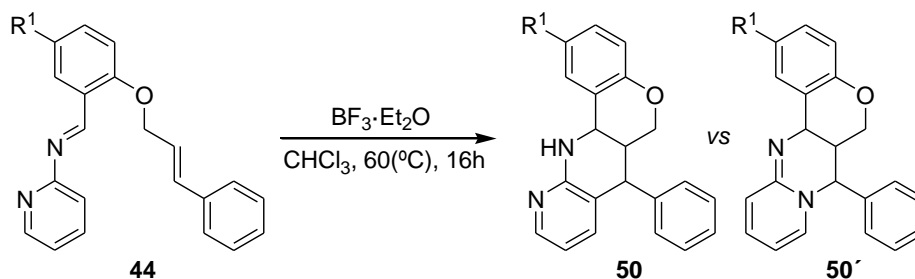
Entrada	Producto	Y	X	R ¹	R ²	Enlace	Tiempo (h)
1	44a	O	CH ₂	H	Ph	C=C	16
2	44b	O	CH ₂	F	Ph	C=C	16
3	44c	O	CH ₂	Me	Ph	C=C	16
4	45a	O	CO	H	Ph	C=C	24
5	45b	O	CO	F	Ph	C=C	24
6	46a	O	CH ₂	H	Ph	C≡C	12
7	46b	O	CH ₂	F	Ph	C≡C	12
8	46d	O	CH ₂	H	4-MeO-C ₆ H ₄	C≡C	12
9	47	NTs	CH ₂	H	Ph	C=C	12
10	48	NTs	CO	H	Ph	C=C	16
11	49	NTs	CH ₂	H	Ph	C≡C	12

II – 4.2. Síntesis de tetrahidro[1,8]naftiridinas fusionadas

Al igual que en el apartado anterior, una vez preparadas las aldminas se procedió a estudiar su reactividad en la reacción de cicloadición [4+2] intramolecular.

En primer lugar, se procedió al estudio de la reacción de ciclación de las iminas **44** y comenzamos estudiando la reacción térmicamente, sin embargo no se observó formación del aducto ni en cloroformo ni en xileno a reflujo.

En vista de los resultados con ácido de Lewis, se estudió la ciclación de las iminas **44a** ($R^1 = H$), **44b** ($R^1 = F$) y **44c** ($R^1 = Me$) en $CHCl_3$ a reflujo y en presencia de $BF_3 \cdot Et_2O$. Las reacciones fueron monitorizadas por 1H -RMN y, en todos los casos, se observó la total conversión de los productos de partida a las 16 horas de reacción. De esta forma, se obtuvieron los aductos **50** correspondientes (esquema 63, Tabla 19), si bien inicialmente los regioisómeros **50'** no podrían desecharse.



Esquema 63. Síntesis de [1,8] naftiridinas **50**.

Tabla 19. Síntesis de derivados de naftiridina **50**.

Entrada	Compuesto	R^1	Rdto. (%)
1	50a	H	61
2	50b	F	59
3	50c	CH_3	65

En la figura 69 se muestra un espectro de RMN de protón del compuesto **50a** en donde se puede observar a $\delta = 2.48$ ppm un multiplete (doble doble doble doblete) con las siguientes constantes de acoplamiento: $^3J_{HH} = 12.0$ Hz, $^3J_{HH} = 11.0$ Hz, $^3J_{HH} = 10.2$ Hz, y $^3J_{HH} = 3.5$ Hz correspondiente al protón de la posición 6a. Seguidamente, se observa un doblete a $\delta = 3.81$ ppm con una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 12.0$ Hz que corresponde al protón de la posición 7, un triplete a $\delta = 3.87$ ppm

con dos constantes de acoplamiento de $^2J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz correspondiente a uno de los protones metilénicos, un doble doblete a $\delta = 4.03$ ppm con dos constantes de acoplamiento de $^2J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz correspondiente al otro protón metilénico y por último, un doblete a $\delta = 4.65$ ppm con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 10.2$ Hz que corresponde al protón de la posición 12a. Además, a $\delta = 7.98$ ppm se puede apreciar un doble doblete con unas constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 4.5$ Hz y $^5J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz que corresponde al protón de la posición 10 de la molécula.

En un principio, y debido a la regioquímica de la reacción, la ciclación [4+2] de las aldiminas **44** podría dar lugar a tanto a los aductos **50** como a los aductos **50'** (esquema 63). Además, la síntesis de los derivados **50'** podría resultar interesante, debido a que, hasta ahora, no se han descrito heterociclos de este tipo. No obstante, la obtención de este tipo de aductos fue desechada mediante el análisis de los espectros de RMN. Esta última señal a $\delta = 7.98$ ppm, nos da la información necesaria para desechar la posibilidad de obtener el aducto **50'** ya que, un único hidrógeno con este desplazamiento correspondería al de un protón en la posición α del nitrógeno del anillo de piridina.

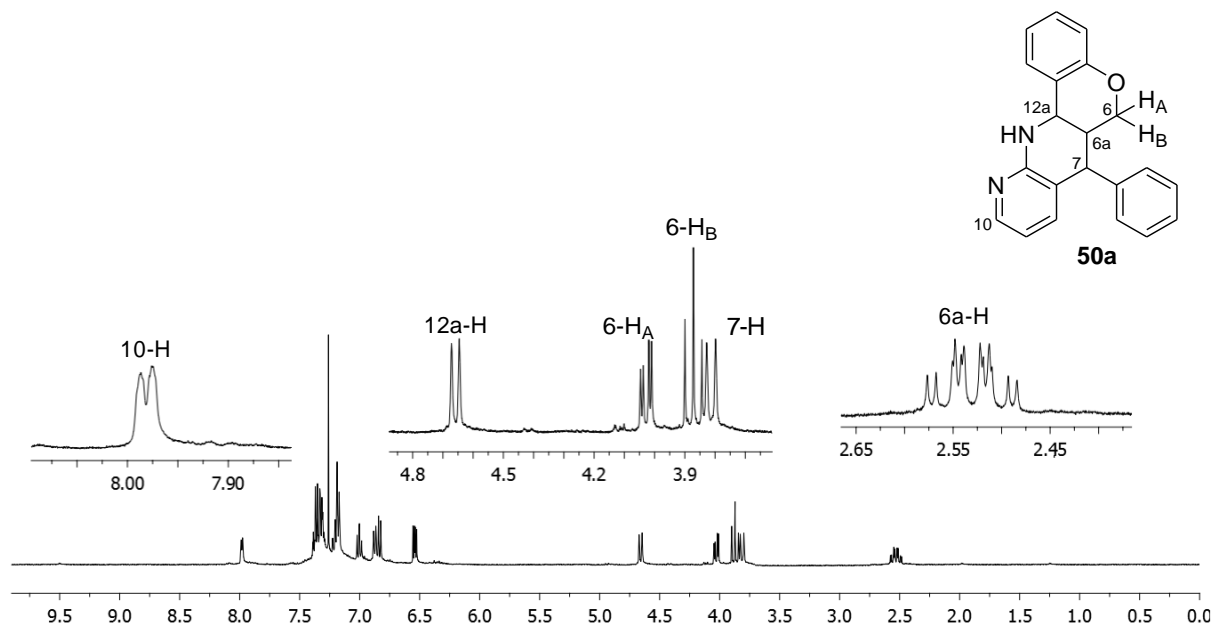


Figura 69. Espectro de RMN de protón del compuesto **50a**.

En el ^{13}C -RMN del compuesto **50b** (figura 70), se pueden observar las señales correspondientes a los carbonos alifáticos en la zona baja del espectro, entre ellas, se observan a $\delta = 40.3, 46.6$ y 51.9 ppm las señales correspondientes a los carbonos C-6a, C-7 y C-12a, además, se determinó mediante un experimento DEPT que la señal a $\delta = 67.5$ ppm corresponde al CH_2 (C-6) del anillo de cromeno. Cabe añadir, tras el estudio del experimento dept, se contaron 12 señales correspondientes a CH aromáticos, y este resultado parece confirmar que el regioisómero obtenido sería el que se representa con la estructura de [1,8]naftiridina **50** (esquema 63).

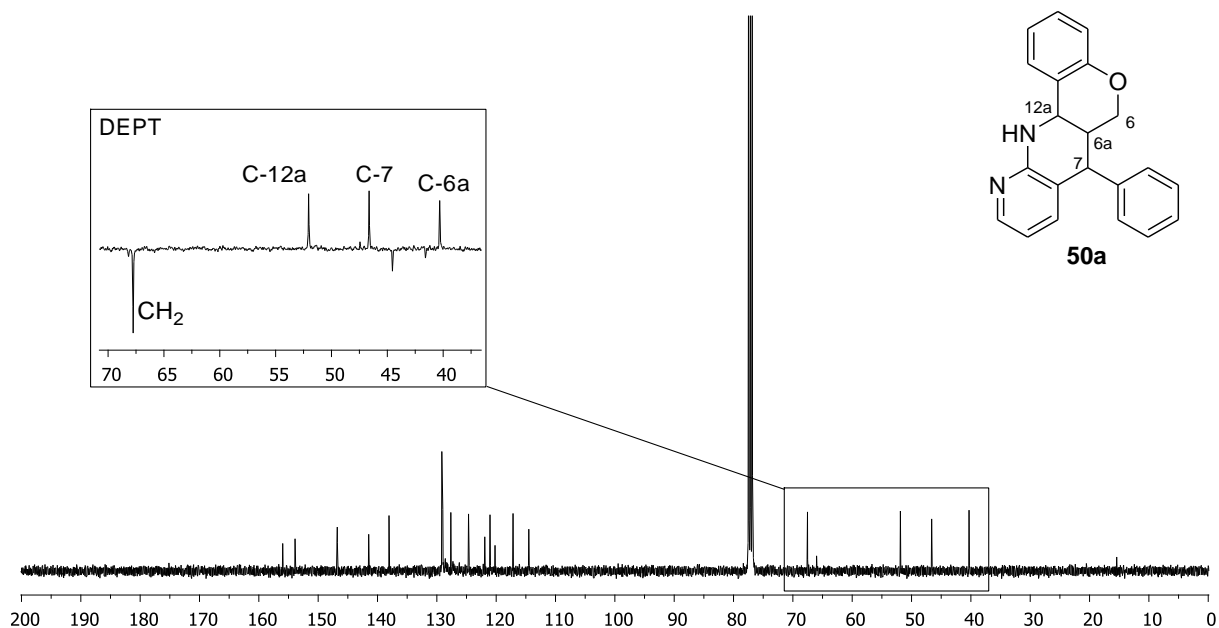


Figura 70. Espectro de RMN de carbono del compuesto **50a**.

En la figura 71 se muestra un experimento HMQC del compuesto **50a** en donde se pueden observar entrecruzamientos entre las siguientes señales 6a-H y C-6a, 7-H y C-7 y 12a-H y C-12. Por último las señales de los protones diastereotópicos de la posición 6 muestran entrecruzamientos con el carbono C-6. Este análisis verifica las señales anteriormente asignadas así como la estructura determinada de los aductos **50**.

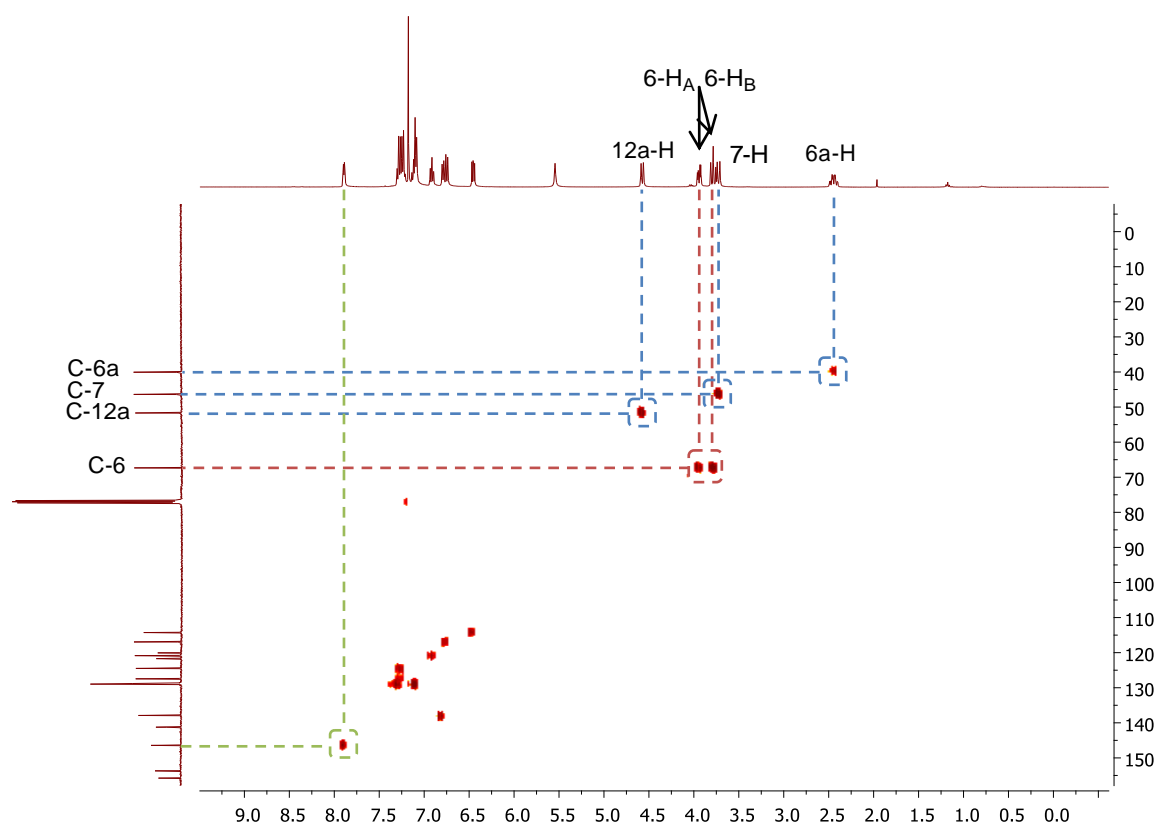


Figura 71. HMBC del compuesto **50a**.

Mediante los experimentos NOESY-1D (figura 72) del compuesto **50a** estudiamos la posición relativa de los protones de los carbonos alifáticos. Por un lado, la saturación selectiva de la señal correspondiente al protón H-6a presenta un efecto NOESY positivo (1.8%) con el protón H_A del grupo metilénico. Por otro lado, la saturación del protón H-12a presenta un efecto NOESY positivo con los protones H-7 (2.2%) y H_B (2.5%). Es decir, los hidrógenos de las posiciones 12a y 7 se encuentran en configuración relativa *cis* y estos en posición relativa *trans* con el protón de la posición 6a.

Por tanto, teniendo en cuenta estos resultados, la formación de estos compuestos **50** podría ser justificada mediante cicloadición [4+2] intramolecular de aldiminas **44** en presencia de BF₃·Et₂O, generando los correspondientes cicloaductos *endo* **50** de forma regio- y estereoselectiva.

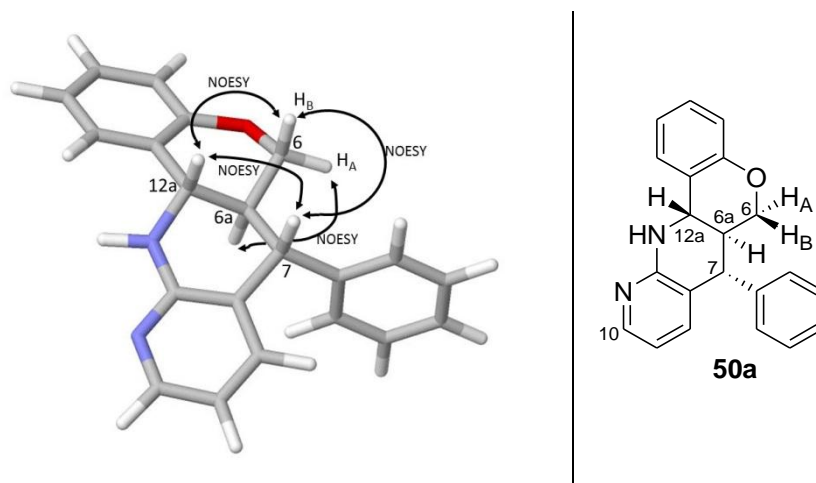
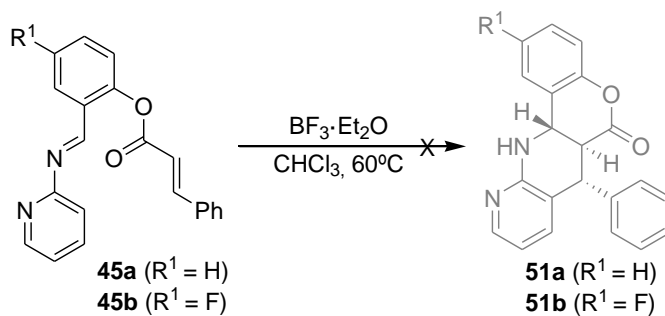


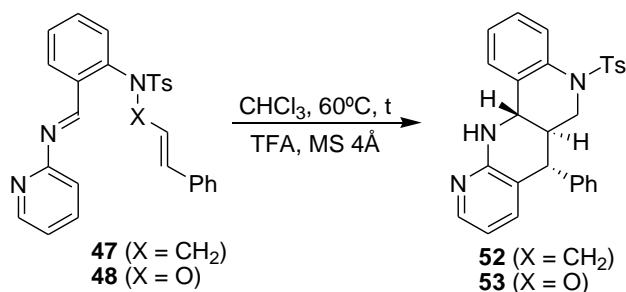
Figura 72. NOESY-1D del compuesto 50a.

A continuación, se estudió la ciclación de las aldíminas **45**. La reacción se llevó a cabo bajo las condiciones anteriores, es decir, en CHCl_3 a reflujo, con 2 equivalentes de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ y a escala de 1 mmol. Tras el consumo completo del producto de partida no se aislaron en ninguno de los casos los aductos **51a** y **51b** ya que fueron inestables aunque se observó su formación por RMN de protón (esquema 64). Sin embargo, el producto fue utilizado *in situ* en posterior tratamiento de deshidrogenación (apartado II-4.3).



Esquema 64. Síntesis de naftiridinas 51.

Seguidamente y con el objetivo de seguir ampliando la diversidad de los aductos a sintetizar, nos propusimos estudiar la reacción de Povarov intramolecular utilizando las aldíminas **40** y **41**. Una vez más, las reacciones se realizaron en CHCl_3 a reflujo y en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador (esquema 65). Los aductos **51** y **53** fueron aislados con buenos rendimientos y caracterizados por RMN (Tabla 20).



Esquema 65. Síntesis de derivados de [1,8]naftiridinas.

Tabla 20. Síntesis de naftiridinas fusionadas con quinolinas.

Entrada	Compuesto	X	t (h)	Rdto. (%)
1	52	CH ₂	12	80
2	53	CO	24	75

En la figura 73 se muestra el espectro de ¹H-RMN del compuesto **52** en el que a δ = 1.90 ppm se observa un multiplete (doble doble doble doblete) correspondiente al protón de la posición 6a que presenta unas constantes de acoplamiento de: ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 10.5 Hz, y ³J_{HH} = 5.0 Hz. Seguidamente, se observa un doble doblete a δ = 3.26 ppm que posee dos constantes de acoplamiento de ²J_{HH} = 13.0 Hz y ³J_{HH} = 11.0 Hz y que corresponde a uno de los protones del CH₂. Además, a δ = 3.60 ppm se observa un doblete que presenta una constante de acoplamiento de ³J_{HH} = 11.0 Hz que corresponde al protón 7-H y a δ = 3.80 ppm se observa una señal como doble doblete que presenta unas constantes de acoplamiento de ³J_{HH} = 13.0 Hz y otra de ²J_{HH} = 5.0 Hz que corresponde al otro protón metilénico 6. Además, a δ = 3.88 ppm se observa una señal del protón 12a-H como doblete que presenta una constante de acoplamiento de ³J_{HH} = 10.5 Hz. A campo más alto, δ = 4.45 ppm, se puede apreciar un singlete que corresponde al protón de la amina que desaparece tras tratar la muestra con agua deuterada.

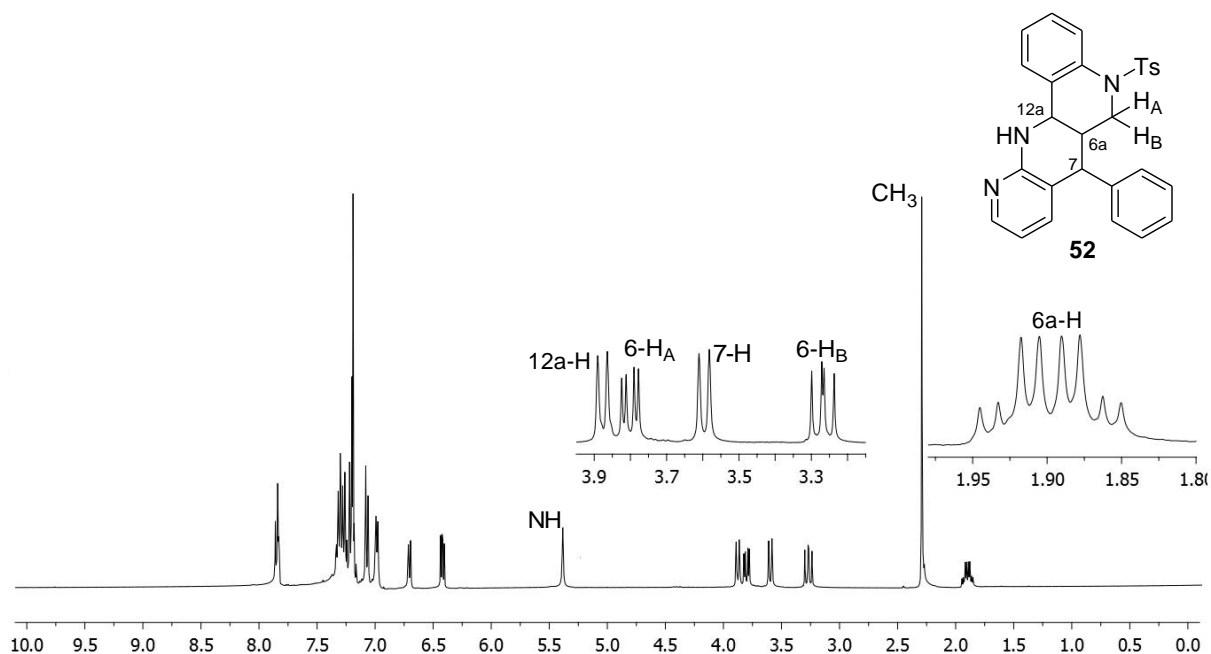


Figura 73. Espectro de RMN de protón del compuesto 52.

En cuanto al espectro de ¹³C-RMN del compuesto 52 (figura 74), se pueden observar 5 señales en la zona baja del espectro que corresponden a los protones alifáticos. La señal a $\delta = 21.7$ ppm corresponde a CH₃ del grupo tosilo, mientras que las señales a $\delta = 40.8$, 48.7 y 52.8 ppm corresponden a las señales de los carbonos C-6a, C-7 y C-12a respectivamente. Por último, se determinó mediante experimentos dept que la señal a $\delta = 48.9$ ppm es la del CH₂ del anillo de quinolina.

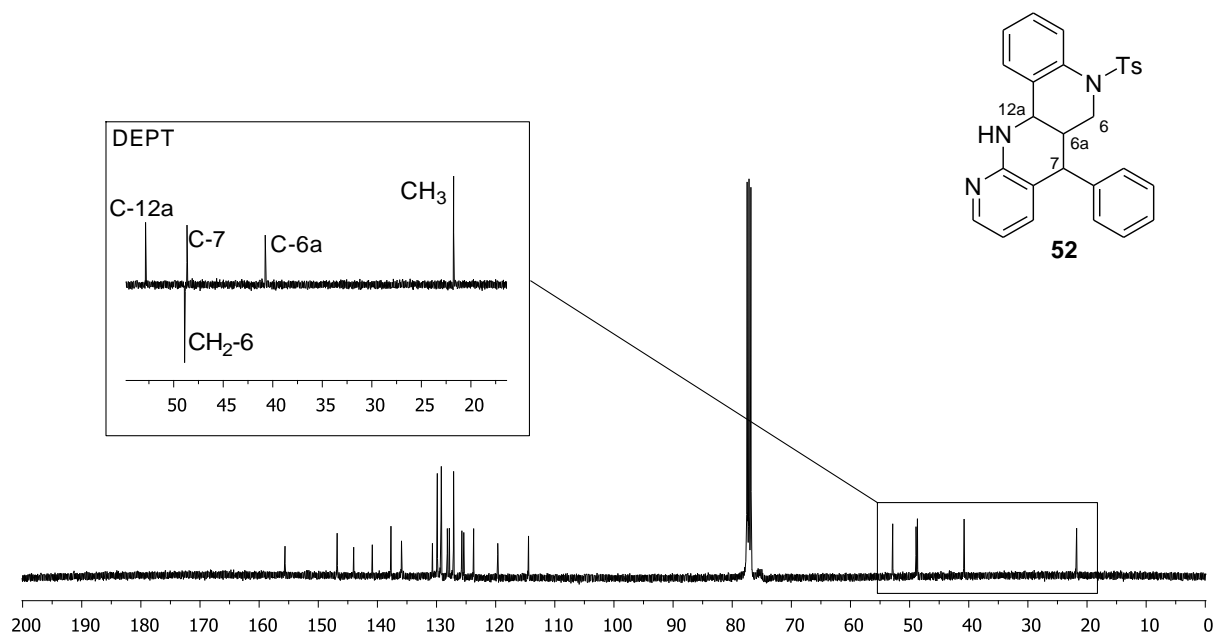


Figura 74. Espectro de RMN de carbono del compuesto **52**.

En los experimentos de NOESY-1D del compuesto **52** (figura 75) se puede observar que tras la saturación selectiva de la señal correspondiente al protón 12a-H presenta un efecto NOESY positivo con el protón 7-H (2.9%) y con el protón 6-H_B (4.8%). Por otro lado, la saturación del protón 7-H, además de volver a indicar un efecto NOESY con el protón H-12a (2.7%), se observan efecto NOESY positivo con 6-H_B (3.2%).

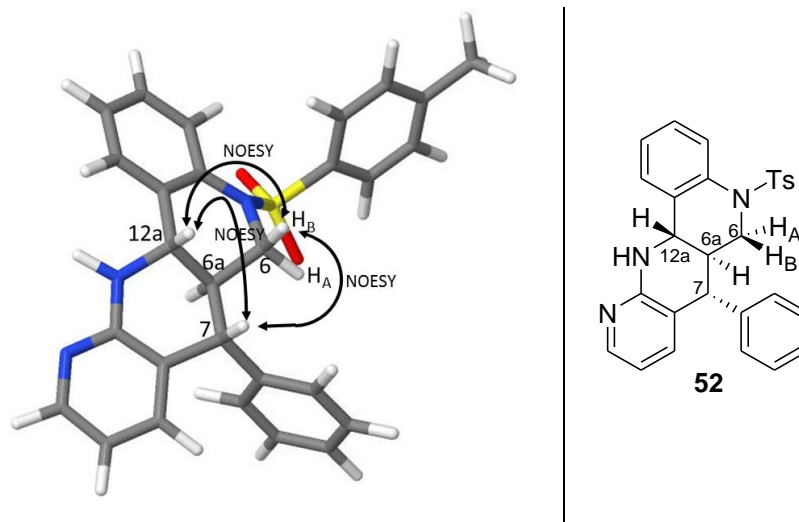
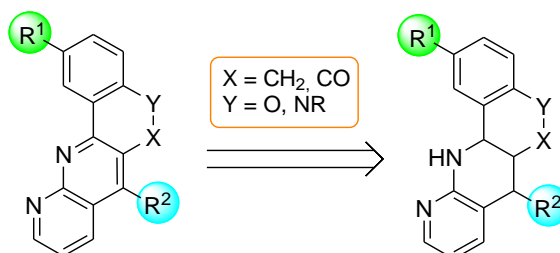


Figura 75. NOESY-1D del compuesto 52.

Al igual que con su análogo **36**, se estudió la posibilidad de eliminar el grupo tosilo del aducto **52**. Se estudió la desprotección del grupo tosilo mediante la hidrólisis en medio ácido con H_2SO_4 , se hizo reaccionar al aducto con TBAF y también con Mg en MeOH en ultrasonidos. Sin embargo, en ninguno de los casos se obtuvo el producto deseado. Las mismas metodologías fueron utilizadas para el derivado **53** pero no se observó la formación de los productos de desprotección del grupo amino.

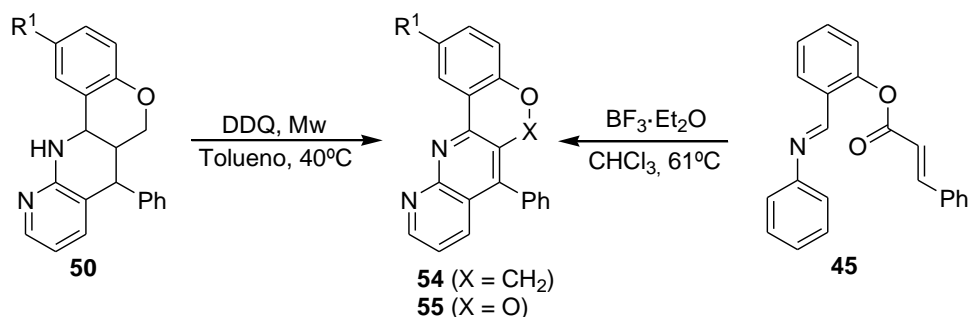
II – 4.3. Deshidrogenación de las nuevas tetrahydro[1,8]naftiridinas fusionadas

Del mismo modo que con los derivados de tetrahydro[1,5]naftiridinas, se estudió la deshidrogenación de las tetrahydro[1,8]naftiridas sintetizadas (esquema 66). Esta metodología podría proporcionar una nueva ruta sintética para la obtención de [1,8]naftiridinas fusionadas.



Esquema 65. Retrosíntesis de derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas.

En primer lugar, se procedió a la deshidrogenación de los derivados de naftiridinas **50** ($X = \text{CH}_2$) y el crudo del aducto **51** ($X = \text{O}$). Las reacciones de oxidación se llevaron a cabo en tolueno a 40°C bajo radiación microondas y en presencia de DDQ (esquema 67). Una vez confirmado el consumo total del producto de partida, se aislaron y caracterizaron los aductos deshidrogenados **54** ($X = \text{CH}_2$) y **55** ($X = \text{O}$). Cabe señalar que el aducto **55** se obtuvo en una reacción *one-pot*, a partir de la imina **45**, debido a la inestabilidad del compuesto **51** (ver esquema 64). Tal y como se puede observar en la tabla 21, se obtuvieron los derivados deshidrogenados de una forma cuantitativa y con tiempo de reacción cortos.



Esquema 67. Reacción de deshidrogenación con DDQ.

Tabla 21. Datos del estudio de la reacción de deshidrogenación.

Entrada	Compuesto	X	R ¹	t (h)	Rdto. (%)
1	54a	CH ₂	H	1	99
2	54b	CH ₂	F	1	99
3	54c	CH ₂	Me	1	99
4	55^a	CO	H	2	72

^a Obtenido mediante reacción *one-pot*.

En la figura 76 se muestra el espectro de ¹H-RMN del aducto **54b** donde a campo bajo se puede observar 3 doble dobletes correspondientes a los protones del anillo de piridina. Además, si compramos el espectro con los de su análogo **50b**, se observa la desaparición de los protones alifáticos correspondientes al anillo de naftiridina.

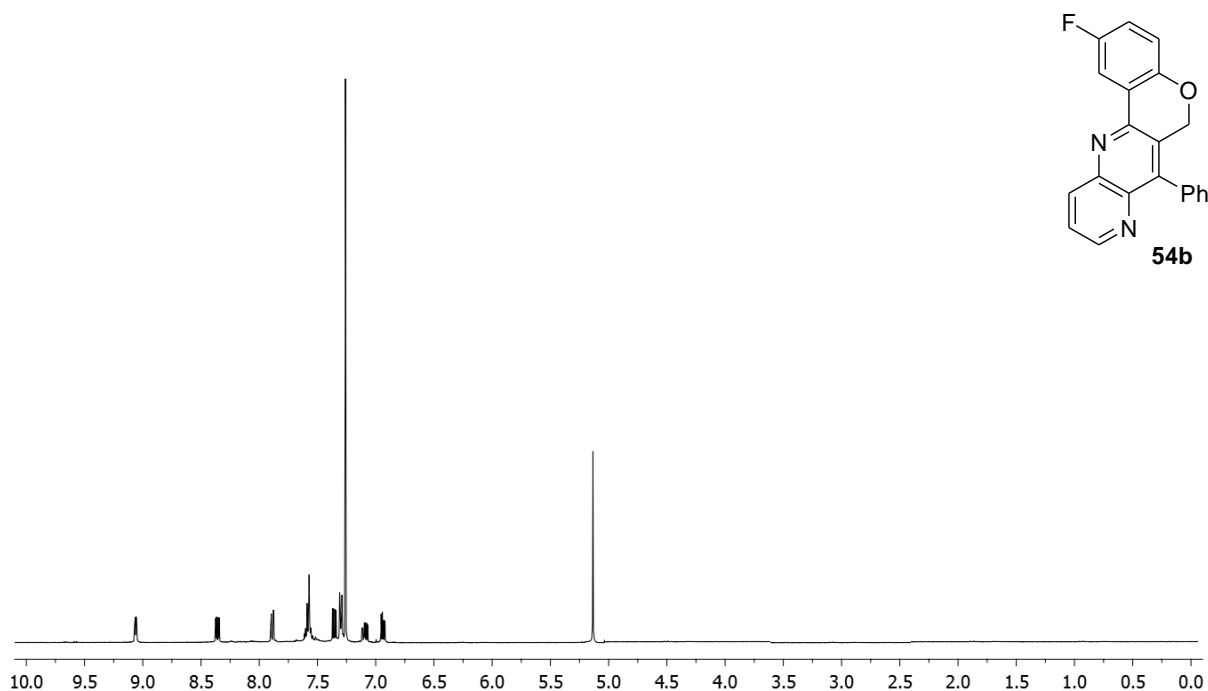
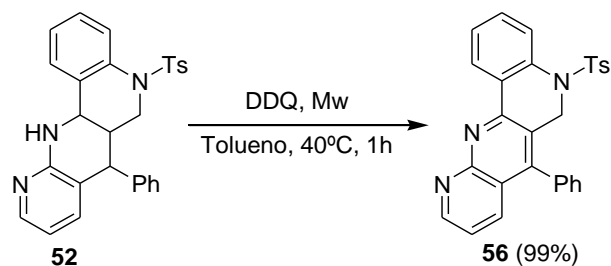


Figura 76. Espectro de RMN de protón del compuesto **54b**.

A continuación se estudió la reacción de deshidrogenación del derivado de naftiridina fusionada con quinolina **52**. Para ello, se utilizaron las mismas condiciones de reacción utilizadas en el apartado anterior. Tal y como se expresa en el esquema 68, el aducto **56** fue obtenido de forma casi cuantitativamente.



Esquema 68. Deshidrogenación con DDQ.

El aducto **56** fue aislado y caracterizado por RMN. En la figura 77 se muestra un espectro de ^1H -RMN del compuesto **56** en el que se pueden observar dos señales en forma de singlete a $\delta = 2.26$ y 4.74 ppm que corresponden a los protones del CH_3 y CH_2 de la molécula respectivamente. Si comparamos el espectro con el de su análogo deshidrogenado **52** (figura 73), se puede observar la desaparición de las señales del anillo de tetrahidronaftiridina verificando así la deshidrogenación.

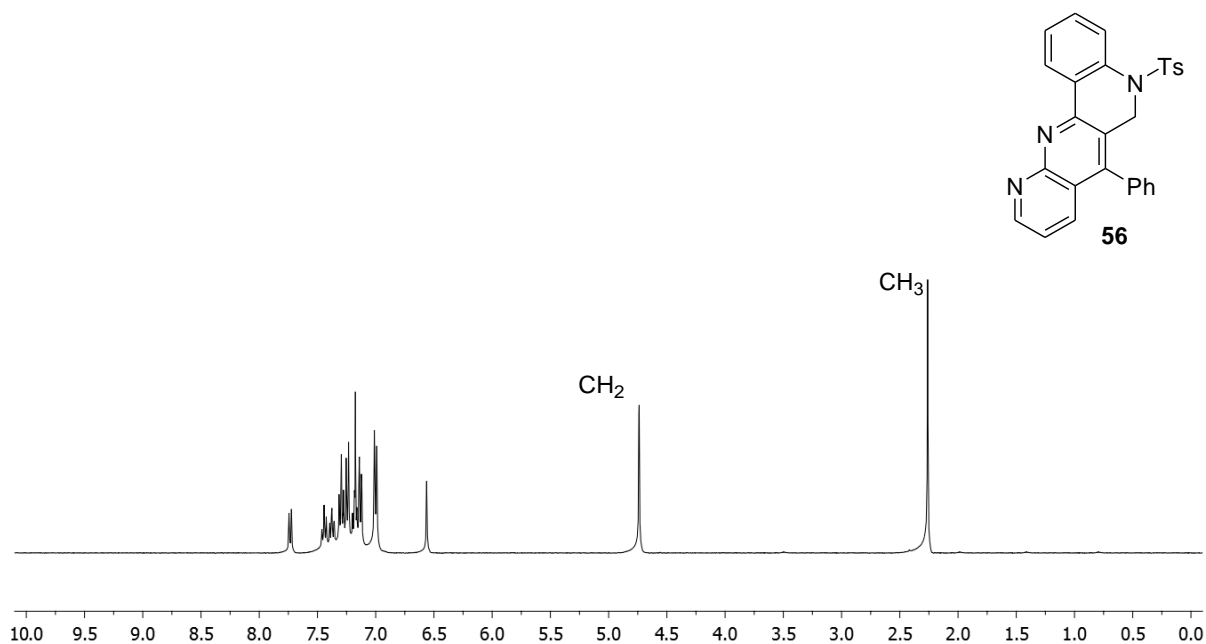
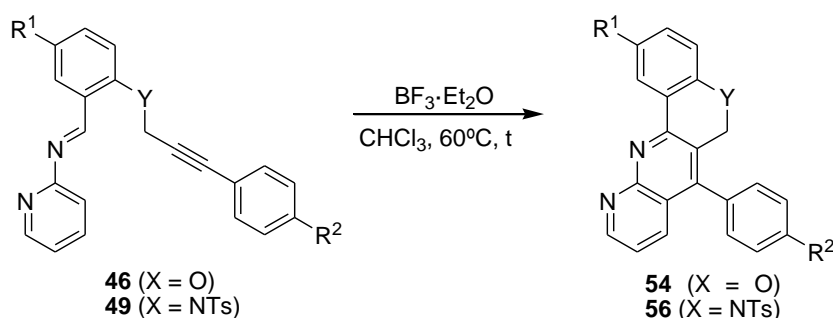


Figura 77. Espectro de resonancia de carbono del compuesto **56**.

II – 4.4. Síntesis de [1,8]naftiridinas fusionadas mediante la reacción de Povarov

Con la metodología planteada, se procedió al estudio de la reacción de cicloadición de las propargilaldiminas **46** y **49**. La reacción se realizó en CHCl_3 a reflujo y, a la vista de los resultados anteriores, se utilizó $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador (esquema 69). Tras el consumo total del producto de partida, los aductos **54** y **56** fueron aislados con excelentes rendimientos y caracterizados por RMN (tabla 22).



Esquema 69. Síntesis de [1,8]naftiridinas mediante la reacción de Povarov.

Tabla 22. Síntesis de derivados de [1,8]naftiridinas.

Entrada	Compuesto	Y	R ¹	R ²	t (h)	Rdto. (%)
1	54a	O	H	H	12	70
2	54b	O	F	H	12	63
3	54d	O	H	MeO	12	85
4	56	NTs	H	H	8	87

Si comparamos los espectros de los compuestos **54** y **56** con los de los mismos aductos obtenidos mediante la deshidrogenación con DDQ se puede apreciar como ambas metodologías dan lugar a compuestos con RMN idénticos. Esto podría indicar que la regioquímica de la reacción de cicloadición [4+2] con aldiminas propargílicas es regioselectiva ya que únicamente obtenemos un isómero que coincide con los aductos de deshidrogenación, que a su vez provienen de aductos con una regioquímica estudiada.

En resumen, se han obtenido diferentes derivados de [1,8]naftiridinas condensados con cromeno, cromenonas, quinolinas y quinolinonas con diferentes sustituyentes en ambos anillos (figura 78). En la mayoría de casos, los rendimientos fueron notablemente altos. Además, se diseñaron dos rutas sintéticas para la obtención de naftiridinas deshidrogenadas obteniéndose con ambas los productos deseados.

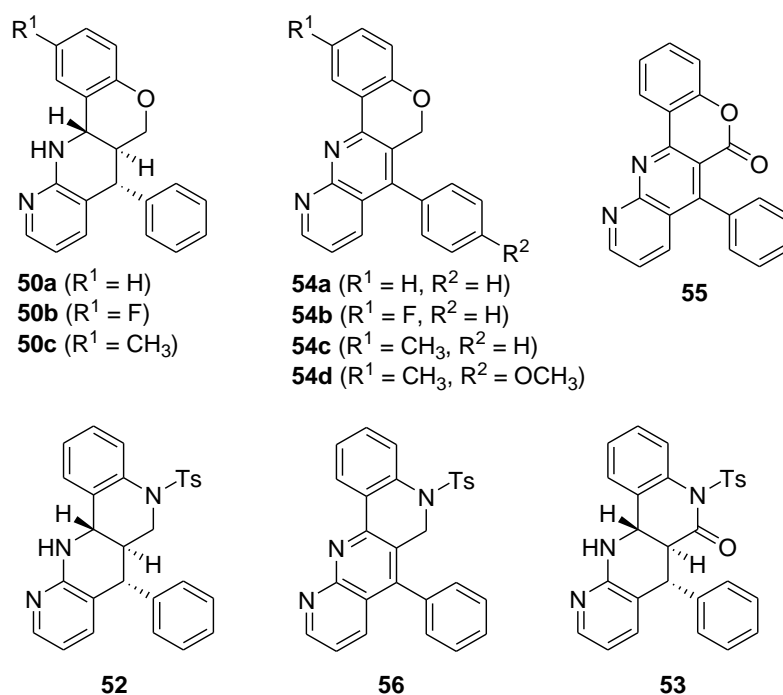


Figura 78. Derivados de [1,8]naftiridinas sintetizados.

II - 5. Síntesis de pirido[1,2a]pirimidinas fusionadas

Teniendo en cuenta el resultado obtenido en la reacción de Povarov de aldiminas derivadas de 2-aminopiridina **34** con ácidos de Lewis como el $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, a continuación, nos propusimos estudiar el mismo proceso usando ácidos de Brønsted. Para ello hicimos reaccionar las aldiminas **34** en CHCl_3 a reflujo y con 2 equivalentes de ácido trifluoroacético. Sin embargo, tras la determinación estructural de los compuestos obtenidos por resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas pudimos observar que en lugar de obtener los aductos **40** se obtenían los compuestos **57** (esquema 70, Tabla 23).

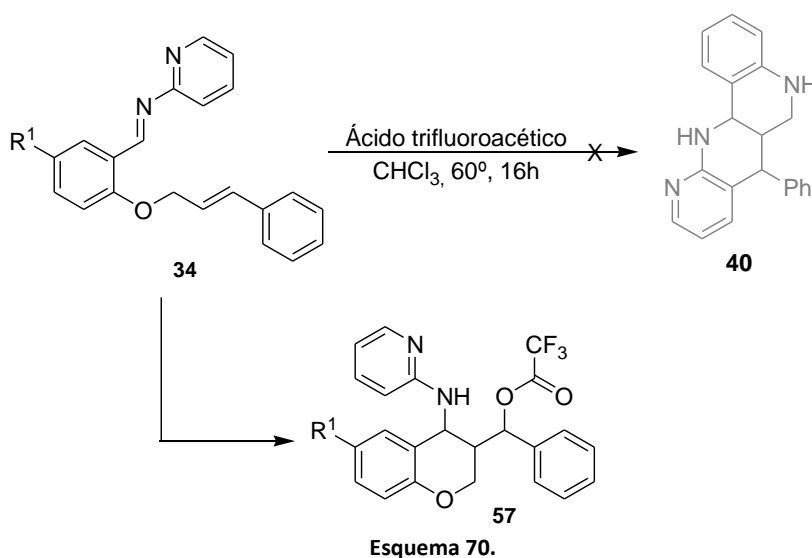


Tabla 23. Productos aislados de la reacción de ciclación de las aldiminas **34**.

Entrada	Producto	R ¹	Rdto. (%)
1	57a	H	76
2	57b	F	85
3	57c	Me	80

Por ejemplo, la estructura del compuesto **57a** ($R^1 = H$) obtenido se determinó mediante estudios de RMN de protón, flúor y carbono así como de experimentos HMQC, HBMC y NOESY-1D. En la figura 79 se muestra el espectro de 1H -RMN y en este caso a $\delta = 2.74$ ppm se observa un multiplete (doble doble doblete) con constantes de acoplamiento $^3J_{HH} = 12.0$ Hz, $^3J_{HH} = 11.0$ Hz, $^3J_{HH} = 10.0$ Hz y $^3J_{HH} = 3.5$ Hz correspondiente al protón H-3. Seguidamente, se observa un doble doblete a $\delta = 3.76$ ppm con constantes de acoplamiento de $^2J_{HH} = 11.0$ Hz y $^3J_{HH} = 3.5$ Hz que corresponde a uno de los protones metilénicos de la posición 2 y un doble doblete a $\delta = 3.94$ ppm con constantes de acoplamiento de $^3J_{HH} = 11.0$ Hz y $^2J_{HH} = 11.0$ Hz correspondiente al otro protón metilénico de la posición 2. Además, se observan dos dobletes, uno a $\delta = 4.92$ ppm correspondiente al hidrógeno del CH unido al carbono de la posición 3 del anillo de cromeno que presenta una constante de acoplamiento de $^3J_{HH} = 10.0$ Hz y otro a $\delta = 5.45$ ppm con una constante de acoplamiento de $^2J_{HH} = 12.0$ Hz correspondiente al protón de la posición 4.

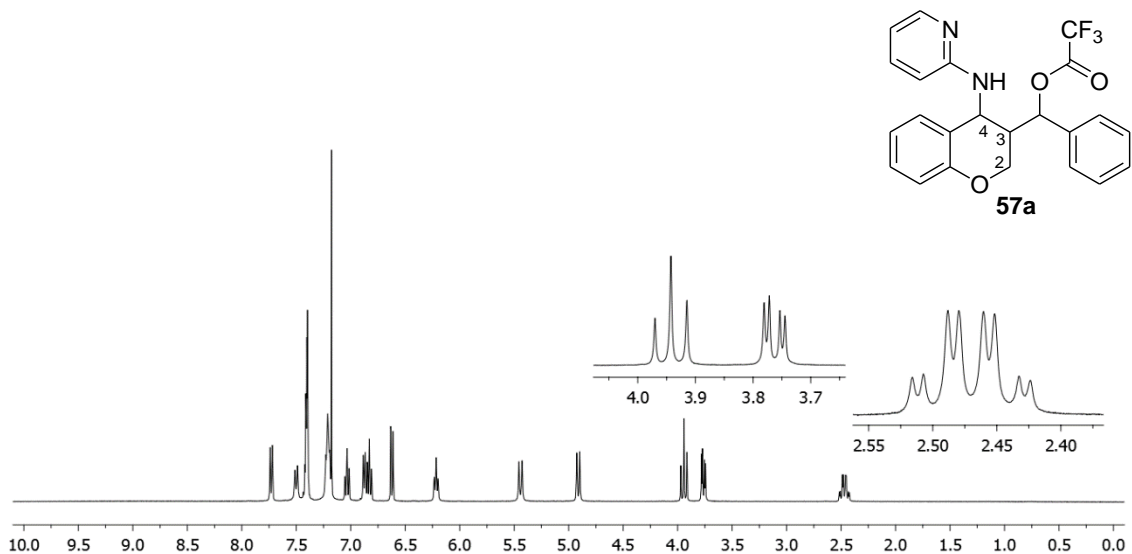


Figura 79. Espectro de 1H RMN del compuesto **57a**.

Además, en el espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **57a** (figura 80) entre las señales más destacables tendríamos las que aparecen a campo alto correspondientes a tres grupos CH sp^3 a $\delta = 39.0$, 50.2 y 66.12 ppm, el grupo metileno de la posición 2 del anillo de cromeno a $\delta = 65.5$ ppm, confirmado también por experimentos dept, un cuadruplete a $\delta = 119.8$ ppm que presenta una

constante de acoplamiento de $^1J_{FC} = 242.0$ Hz que corresponde al carbono del grupo CF_3 presente en la estructura **47a**, y una señal a $\delta = 161.8$ ppm correspondiente al carbono carboxílico que aparece como cuadruplete con una constante de acoplamiento $^2J_{FC} = 33.0$ Hz.

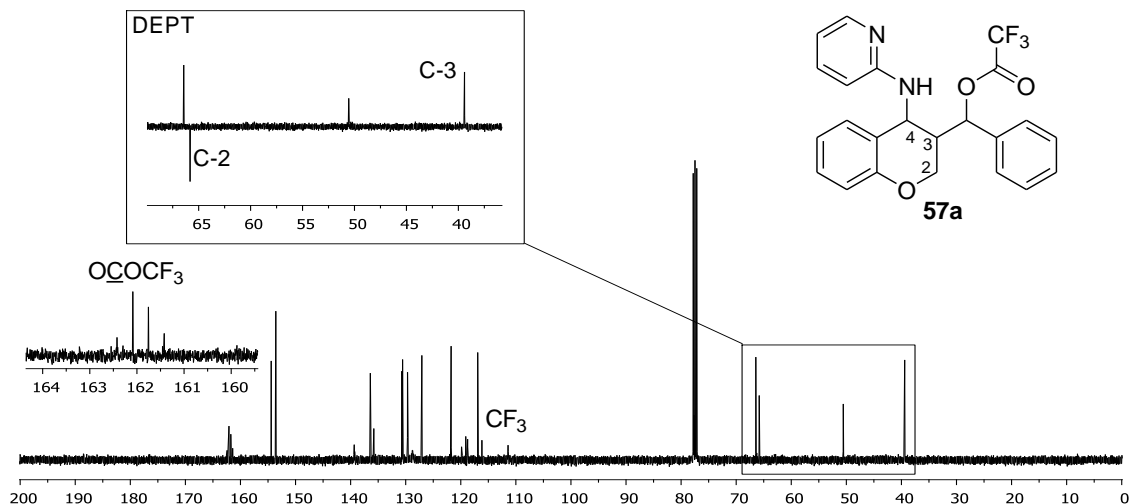
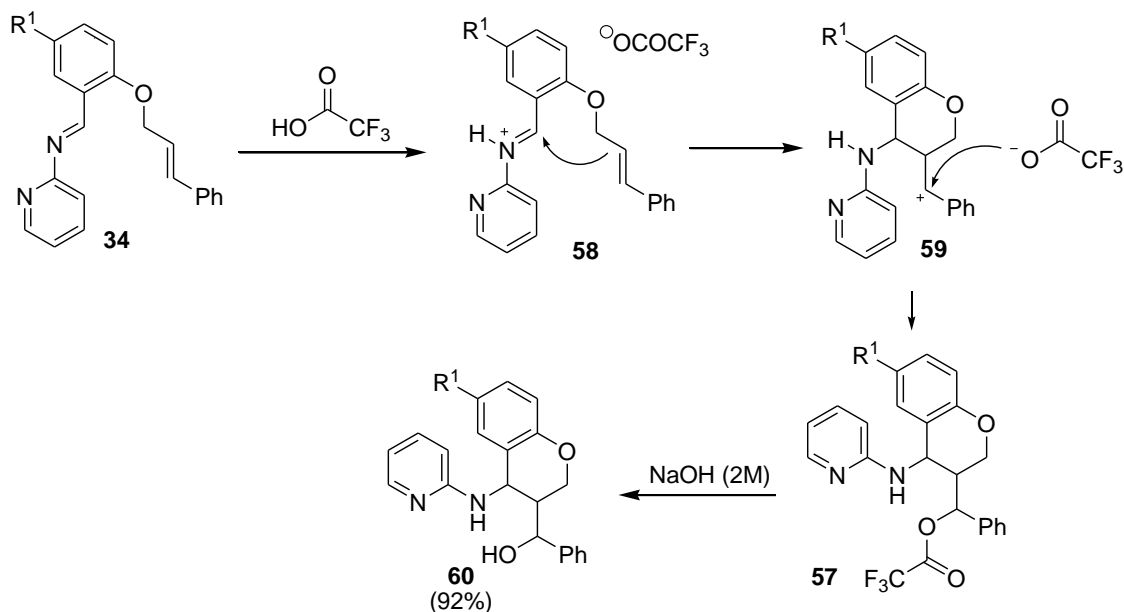


Figura 80. Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **57a**.

La formación de los compuestos **57** podría justificarse mediante protonación inicial del nitrógeno imínico del compuesto **34** producida por el ácido de Brønsted, seguida de un ataque nucleófilo del doble enlace olefínico al carbono imínico (esquema 71). El ataque posterior del anión trifluoroacetato, generado en el medio de reacción, al catión **59** daría lugar a un único diastereoisómero **57**, ya que por 1H RMN solo se observaron señales correspondientes a un único compuesto.



Esquema 71. Mecanismo de reacción propuesto para la formación de los compuestos **57** y **60**.

A continuación, se estudió la hidrólisis del compuesto **57a** ($\text{R}^1 = \text{H}$) mediante tratamiento a reflujo con una disolución de NaOH 2M , obteniéndose el compuesto **60** correspondiente (esquema 71). La estructura de este compuesto fue determinada por espectroscopía de resonancia magnética nuclear y espectrometría de masas. En este caso, en el espectro de protón (figura 81) podemos observar que no varían demasiado las señales con respecto a las observadas para el compuesto **57a**. Sí se observa una señal a $\delta = 4.56$ ppm correspondiente al grupo OH que desaparece al tratar la muestra con agua deuterada.

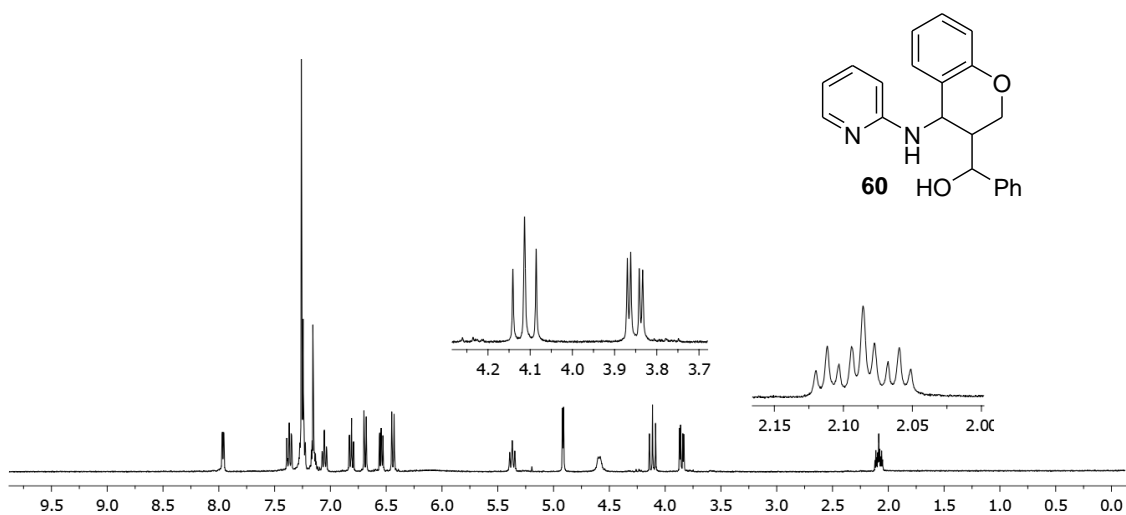


Figura 81. Espectro de ¹H RMN del compuesto 60.

Y respecto al espectro de carbono (figura 82) lo más destacable sería la desaparición de las señales correspondientes al grupo carboxilato y al grupo CF₃.

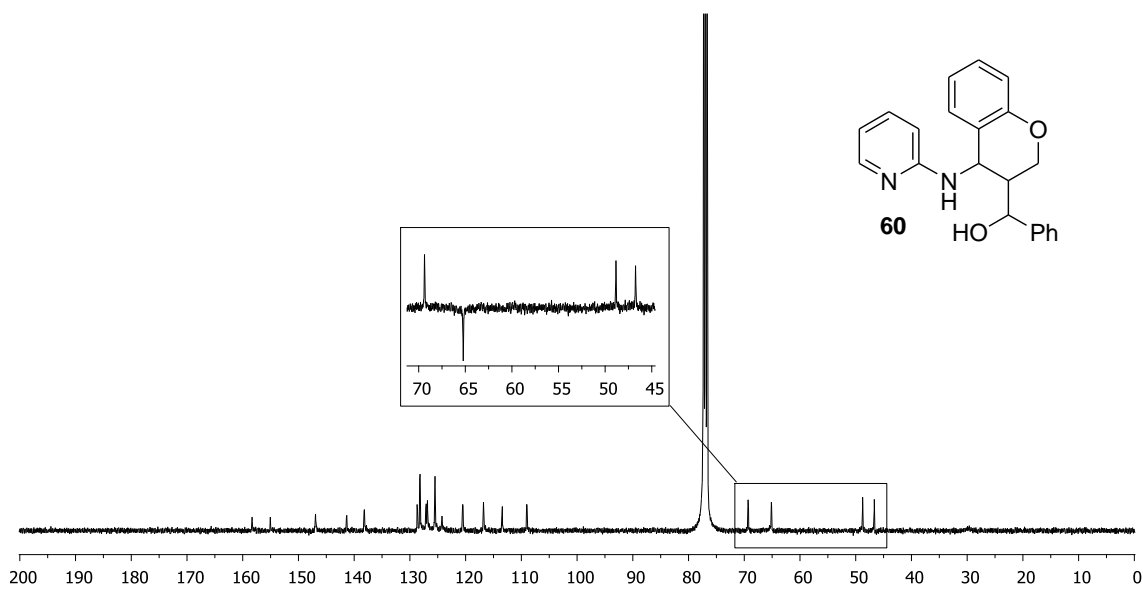


Figura 82. Espectro de ¹³C RMN del compuesto 60.

Además, en este caso, la cristalización del compuesto **60** y el análisis de rayos X (figura 83) nos permitió confirmar inequívocamente la estructura del único diastereoisómero obtenido.

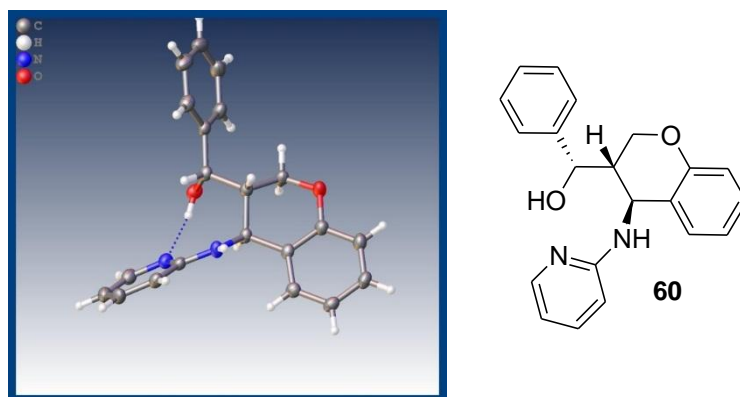


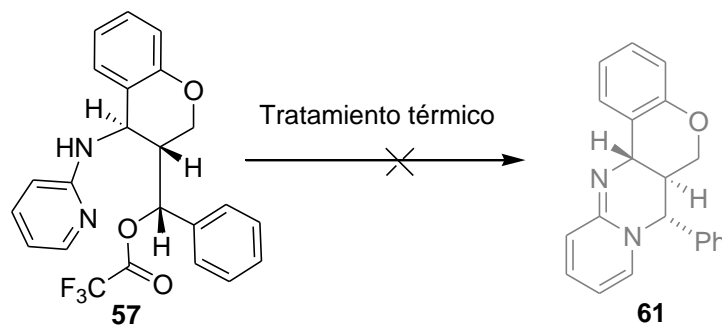
Figura 83. Vista ORTEP del compuesto **60**.

Con los compuestos **57** en la mano y teniendo en cuenta, además, la nucleofilia del átomo de nitrógeno del anillo de 2-piridina presente en el compuesto **57**, nos planteamos estudiar su ciclación intramolecular. En este sentido, en trabajos previos se ha observado que el nitrógeno nucleofílico del anillo de 2-piridina es capaz de desplazar un grupo OH convertido previamente en un buen grupo saliente.¹⁸¹ Por ello, en primer lugar, procedimos al tratamiento térmico de los compuestos **57**. Sin embargo, ni el calentamiento a reflujo de cloroformo o xileno, ni en tubo sellado dio lugar al correspondiente derivado cíclico cromeno[4,3-d]pirido[1,2a]pirimidina* **61** recuperándose en todos los casos el producto de partida.

¹⁸¹ M. A. Zajac *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 6899–6901.

***NOTA:**

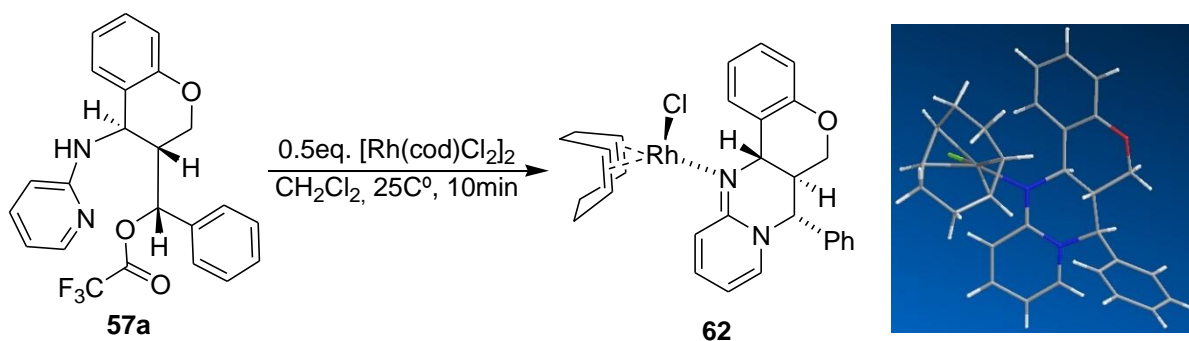
Este compuesto **61** coincidiría con el compuesto **50'** (esquema **63**, página **143**) que corresponde con el regioisómero no obtenido y que podría generarse por ciclación de los compuestos **44**.



Esquema 72. Tratamiento térmico para la síntesis de pirimidinas 54.

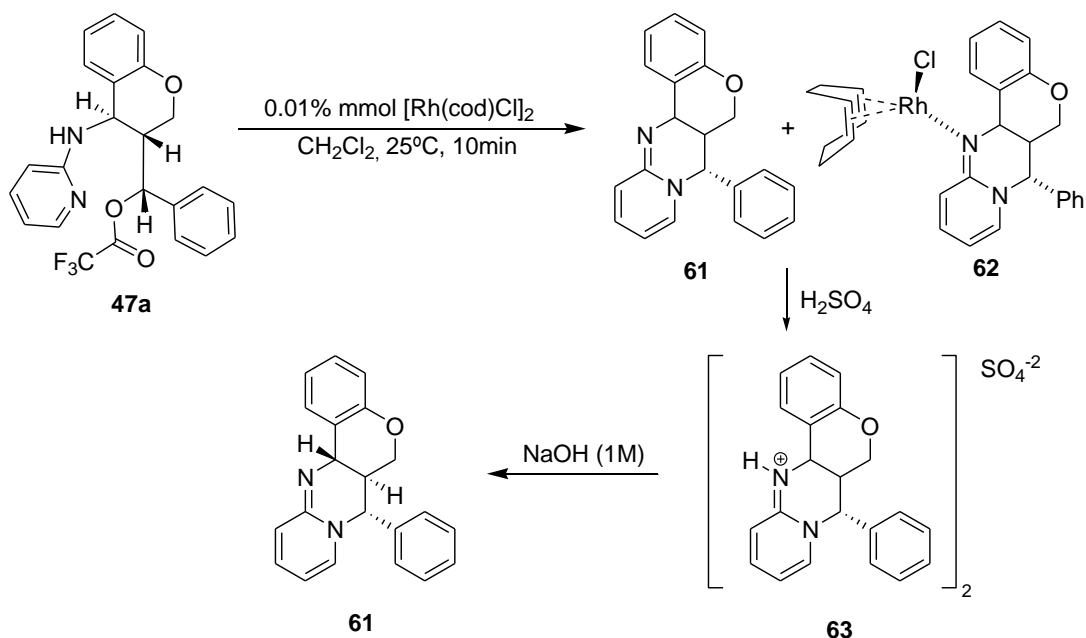
Es sabido que algunos complejos metálicos, entre ellos los de rodio, han sido utilizados previamente para la activación de sistemas pi con el fin de favorecer ciclaciones intramoleculares.¹⁸² En nuestro caso, teniendo en cuenta que, en los compuestos **57**, por un lado hay un nitrógeno nucleófilo en el anillo de 2-piridina y por otro un buen grupo saliente (OCOCF_3) en la posición 3 del anillo de cromeno, la utilización de complejos de rodio podría favorecer la ciclación intramolecular. En este sentido, en primer lugar, se trató el compuesto **57a** con una cantidad estequiométrica de un dímero de cloruro de rodio y ciclooctadieno, $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$, (esquema 72). El tratamiento posterior del crudo de reacción proporcionó, de forma cuantitativa, el derivado **62**. La estructura del compuesto **62** obtenido fue determinada directamente por rayos X, ya que los experimentos de resonancia magnética nuclear no eran concluyentes, y pudo confirmarse que se obtenía el producto **62** correspondiente a una ciclación intramolecular en forma de complejo de rodio con el nitrógeno no piridínico coordinado al metal (esquema 73).

¹⁸² a) X. Shen, S. L. Buchwald *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 564–567; b) Z. Liu, J. F. Hartwig, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, 1570-1571.



Esquema 73. Síntesis del complejo **62** y su vista ORTEP.

El hecho de que obtuviéramos el complejo de rodio **62** de forma cuantitativa, nos hizo pensar que la reacción pudiera proceder en condiciones catalíticas. De esta forma, se trató el compuesto **57a** con un 0.01% mmol del dímero de rodio $[\text{Rh}(\text{cod})\text{Cl}]_2$. Y pudimos confirmar nuestra hipótesis cuando se aisló mayoritariamente el derivado **61**, aunque mezclado inseparablemente con una pequeña cantidad del complejo de rodio **62** (esquema 74).



Esquema 74. Síntesis de la pirimidina **61**.

En primer lugar, se procedió a la separación de la mezcla por cristalización o por técnicas cromatográficas pero en todos los intentos se obtuvieron productos de descomposición. Posteriormente, el tratamiento de la mezcla inseparable de compuestos **61** y **62** con ácido sulfúrico permitió la obtención del correspondiente sulfato **63**, cuyo posterior tratamiento básico con una disolución de NaOH (1M) permitió el aislamiento con un rendimiento cuantitativo de compuesto **61** libre de metal (esquema 74).

La estructura del compuesto **61** fue determinada por espectroscopia de resonancia magnética nuclear y por espectrometría de masas. Así, en la figura 84 se muestra el espectro de ^1H -RMN del compuesto **61** en el que se puede observar un multiplete a $\delta = 2.20$ ppm correspondiente al hidrógeno de la posición 6a. El grupo metilénico de la molécula de la posición 6 a $\delta = 3.88$ ppm presenta un doblete con una constante de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 10.5$ Hz. Además, a $\delta = 4.48$ y 4.70 ppm se pueden observar dos señales en forma de doblete que contienen respectivamente constantes de acoplamiento de $^3J_{\text{HH}} = 10.5$ Hz y $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz y que corresponden a los protones H-7 y H-12a, respectivamente.

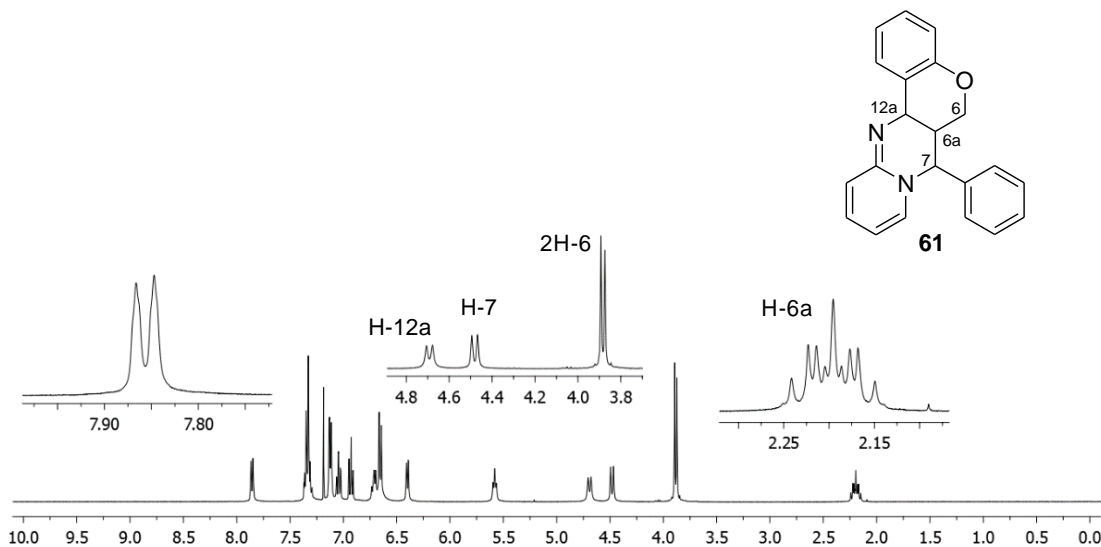


Figura 84. Espectro de ^1H RMN del compuesto **61**.

En el espectro de RMN de carbono del compuesto **61** (figura 85) se pueden observar a campo alto del espectro las señales de los carbonos alifáticos, a $\delta = 39.3, 53.0$ y 65.1 ppm las señales que corresponden a los carbonos C-6a, C-7 y C-12a respectivamente. Por otro lado, mediante experimentos dept se determinó que la señal a $\delta = 66.9$ ppm corresponde al grupo CH₂ de la posición 6 de la molécula (C-6).

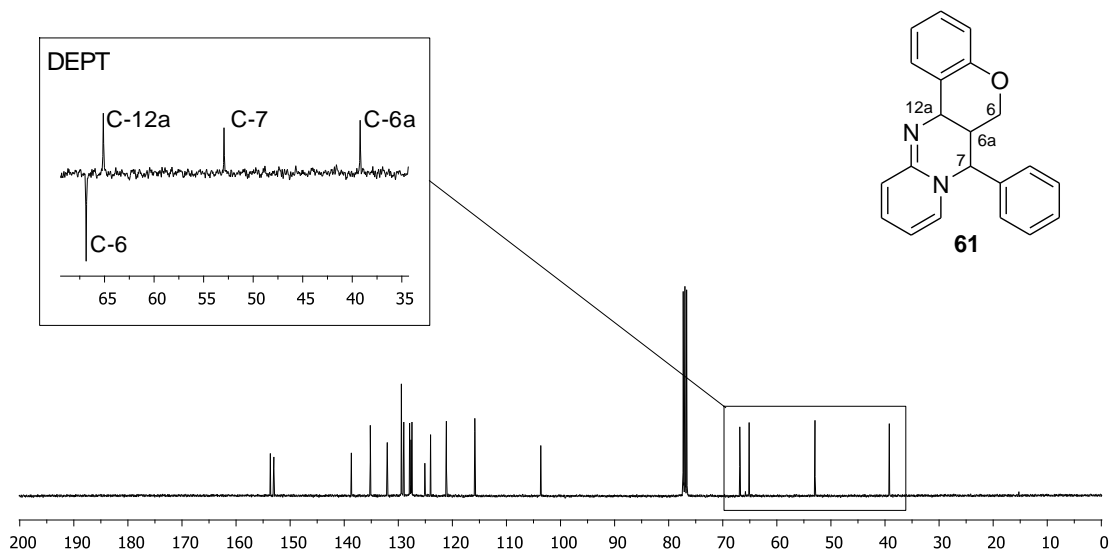
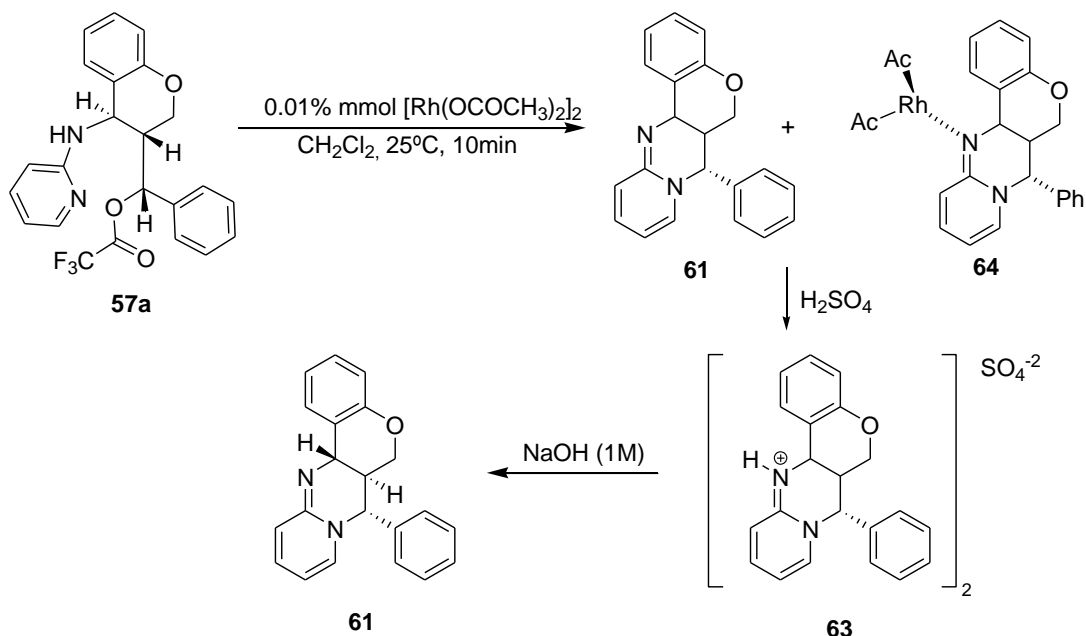


Figura 85. Espectro de ¹³C RMN del compuesto **62**.

Con el fin de generalizar la metodología de preparación de los aductos **61** se estudió la ciclación intramolecular de los derivados **57** utilizando para ello un dímero de acetato de rodio, [Rh(OCOCH₃)₂]₂ (esquema 75). Se trató el compuesto **57a** con un 0.01% mmol del dímero de rodio obteniéndose mayoritariamente el compuesto **61** mezclado con una pequeña cantidad del correspondiente complejo de rodio **64**. El posterior tratamiento con ácido sulfúrico seguido del tratamiento básico proporcionó igualmente el aducto **61** correspondiente con buenos rendimientos (esquema 75).



Esquema 75. Síntesis de pirimidina **61**.

La formación del aducto **61** a partir de los compuestos **57** podría explicarse mediante ataque nucleófilo del nitrógeno piridínico al carbono unido a la posición 3 del anillo de cromeno del compuesto **57** todo ello activado en presencia de rodio, ya que la reacción sin metal mediante tratamiento térmico no tiene lugar. Además, hay que destacar que el proceso procede en condiciones catalíticas donde el rodio tras efectuar su papel activador queda libre en esa pequeña cantidad ($0.01\% \text{ mmol}$) y estando libre se une al nitrógeno amínico del compuesto **61** formado dando de este modo una mezcla inseparable de compuestos **61** y **64**.

En resumen, se ha estudiado la reacción de Povarov intramolecular de aldiminas **34** derivadas 2-aminopiridina funcionalizadas con dobles enlaces en presencia de ácidos de Brønsted. De este modo, se han obtenido los productos **57** de forma diastereoselectiva mediante protonación inicial del nitrógeno imínico del compuesto **34** producida por el ácido de Brønsted, seguida de un ataque nucleófilo del doble enlace olefínico al carbono imínico y de otro del anión trifluoroacetato, presente en el medio de reacción.

Estos compuestos **57** han resultado ser excelentes precursores para la obtención de pirido[1,2a]pirimidinas mediante ciclación intramolecular catalizada por rodio. La obtención del producto **61** resulta muy interesante debido a que la síntesis de este tipo de compuestos no se ha descrito hasta ahora. Además, cabe destacar, que hasta la fecha no existe en bibliografía la utilización de complejos de rodio para la activación de este tipo de ataque nucleófilo del nitrógeno de 2-piridinas.

Finalmente, la actividad biológica, de citotoxicidad y de inhibición de topoisomerasa I, del compuesto **61** obtenido ha sido estudiada y será presentada en el próximo capítulo.

Capítulo III

Evaluación de la actividad biológica de los nuevos compuestos sintetizados

III – 1. Evaluación de la actividad de inhibición de la topoisomerasa I humana de los nuevos derivados sintetizados

III – 1.1. Introducción

Las ADN topoisomerasas son enzimas implicadas en la replicación, transcripción y recombinación del ADN en las células. Así, la topoisomerasa I cumple su tarea rompiendo una hebra de la doble hélice de ADN para liberar la tensión que se produce en estos procesos.

Además de su papel biológico, la topoisomerasa I humana (hTopI) también es una de las dianas celulares de una familia de compuestos anticancerosos llamadas camptotecinas (CPT). Recordaremos que la CPT (figura 86) estabiliza el complejo covalente TopI-DNA y de este modo inhibe la etapa de religación en el mecanismo catalítico de la TopI.

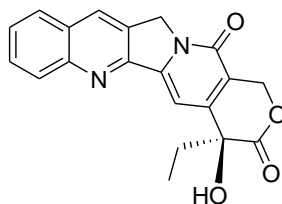


Figura 86. Estructura de la CPT.

El ADN superenrollado tiene una movilidad electroforética diferente que la del ADN que está completamente relajado.¹⁸³ El plásmido de ADN aislado de la bacteria *E. coli* está superenrollado y puede usarse para ensayar la actividad de la TopI. Esta enzima es capaz de relajar el ADN superenrollado y debido a esto, es posible evaluar su actividad.

Con el fin de evaluar el comportamiento de los derivados sintetizados en esta Tesis Doctoral como inhibidores de la TopI, se estudió la inhibición de la TopI a diferentes tiempos (15s, 1min y 3min para el DMSO y 15s, 45s, 1 min y 3 min para la CPT y los derivados sintetizados). El análisis de los datos experimentales se efectuará por electroforesis en gel de agarosa. Se ha elegido la CPT como control positivo para todos los experimentos, lo que significa que la capacidad de inhibición y el efecto citotóxico de los derivados a evaluar siempre se compararán con los datos de la CPT.

¹⁸³ S. E. Porter, J. J. Champoux, *Nucleic Acids Res.*, **1989**, *17*, 8521-8532.

En la figura 87 se muestra el resultado de un experimento de relajación con ADN. Las bandas superiores del gel corresponden al ADN relajado, en la parte media del gel podemos observar diferentes bandas que representan moléculas del plásmido de ADN con diferente movilidad debido a su diferente tamaño llamados topoisómeros, mientras que las bandas inferiores corresponden al ADN superenrollado (no relajado).

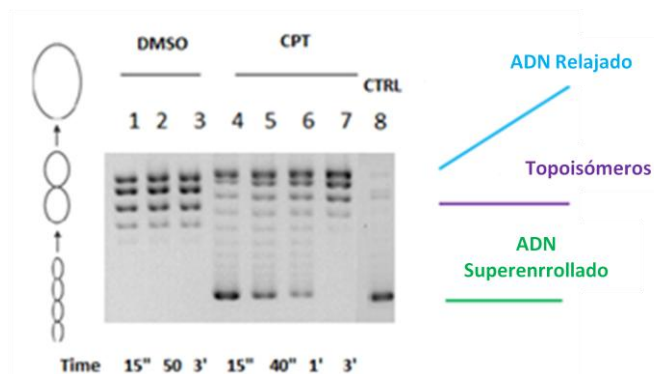


Figura 87. Experimento de relajación con DMSO y CPT.

Al realizar la relajación con DMSO, disolvente empleado en los ensayos, como no es inhibidor de TopI (figura 87, líneas 1-3), no vemos las bandas inferiores correspondientes al ADN superenrollado, lo que significa que la topoisomerasa I está actuando en estas condiciones experimentales. Sin embargo, cuando se utiliza CPT (figura 87, líneas 4-7), el inhibidor de referencia, se observan las bandas correspondientes al ADN superenrollado porque la CPT inhibe la actividad de la TopI. La línea 8 corresponde al ADN superenrollado (pUC18).

Como se ha descrito en capítulos anteriores, se sintetizaron diferentes familias de derivados heterocíclicos que se evaluarán como posibles inhibidores de hTopI. Por un lado, se estudiará la familia de derivados de quinolinas fosforadas **5**, **9** y **10** (figura 88). Por otro lado, evaluaremos las familias de derivados de naftiridina que se dividen en derivados de [1,5]naftiridinas **33-43** (figura 88) y derivados de [1,8]naftiridinas **50-61**.

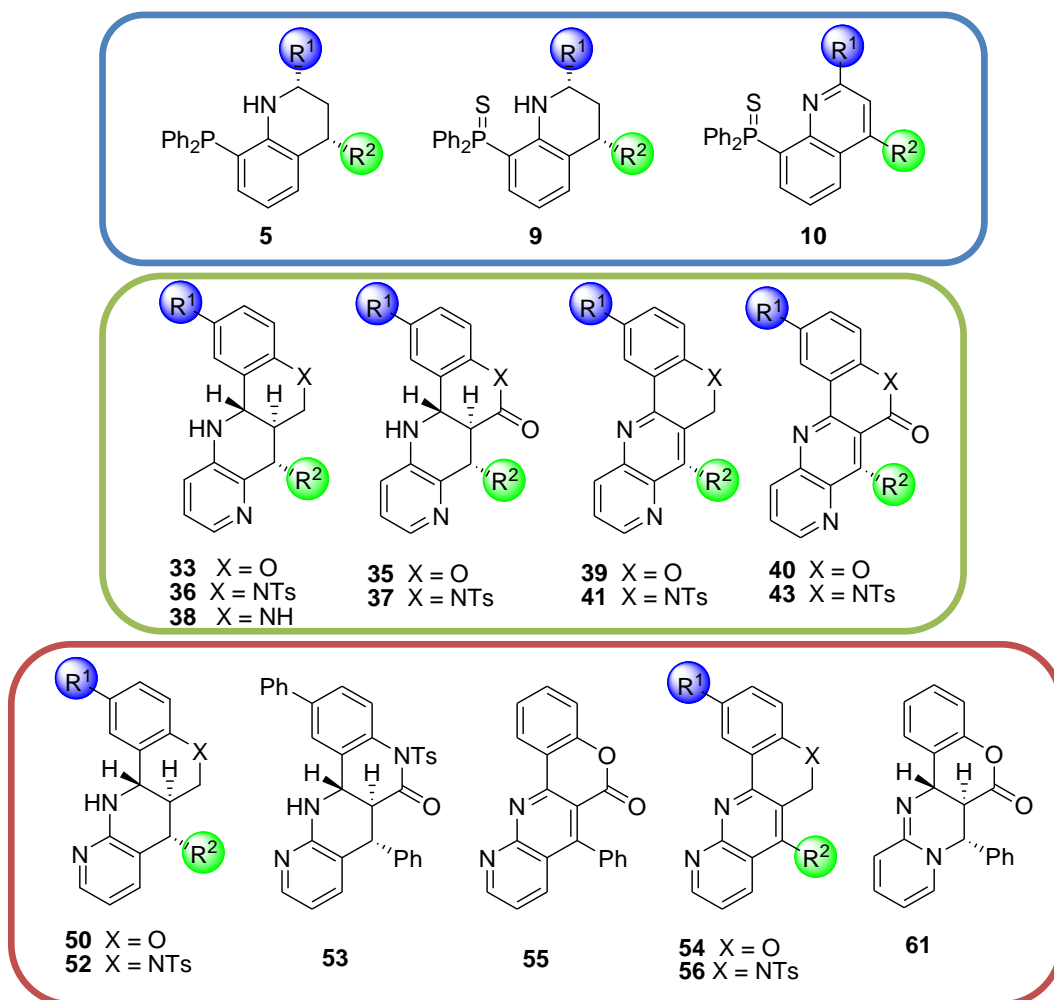
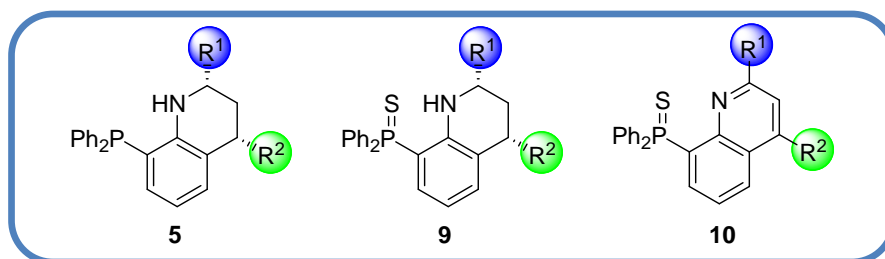


Figura 88. Diferentes familias de los compuestos a evaluar.

III – 1.2. Estudio de inhibición de la actividad enzimática de la topoisomerasa I de los derivados de quinolina 5, 9, 10



En primer lugar, se llevaron a cabo los experimentos con los derivados de tetrahydroquinolinilfosfina **5** sintetizados para comprobar si estos derivados se comportan como inhibidores de TopI. La actividad de los compuestos se evaluó realizando experimentos de relajación con los compuestos a 37 °C en los tiempos seleccionados (0,25, 0,7, 1 y 3 min). Tal y como se puede ver en la figura 89, el compuesto **5i** (líneas 8-11, tabla 24, entrada 7) inhibe a todos los tiempos de reacción, y aunque a 3 minutos el efecto de inhibición disminuye sigue siendo superior al observado por la CPT. Estos resultados indican que **5i** inhibe la actividad de la topoisomerasa I en el proceso de relajación más que la camptotecina a todos los tiempos de reacción. La actividad de inhibición se expresó semicuantitativamente de forma que: \emptyset , no actividad; +, menos actividad que la CPT; ++, actividad similar a la CPT; +++, actividad superior a la CPT.

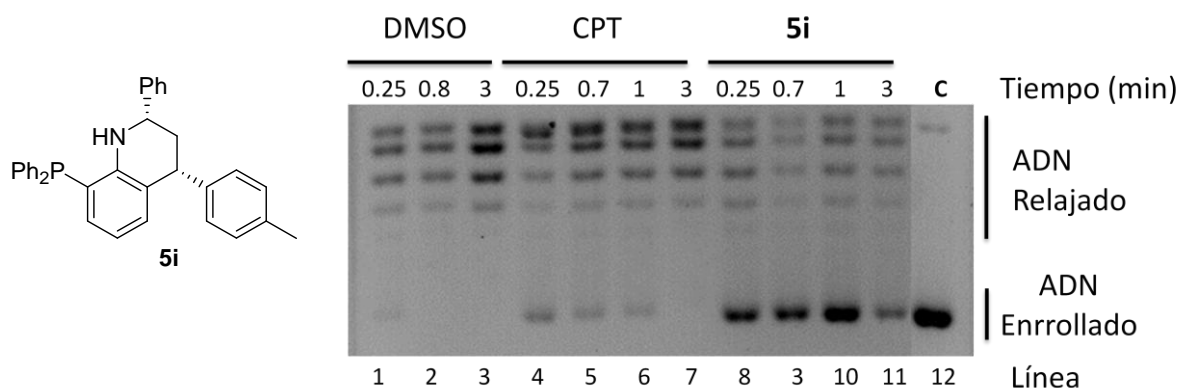


Figura 89. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto 5i.

Tal y como se puede ver en la tabla 24, todos los compuestos **5** presentan una actividad mayor que la CPT a tiempos de 15s, 45s y 1min y, aunque los compuestos **5b** y **5k** que presentan una actividad similar a este inhibidor, todos los compuestos presentan mayor actividad que la CPT a los 3 minutos de reacción.

Tabla 24. Resultados de inhibición de los aductos 5.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Inhibición			
				15s	45s	1min	3min
1	CPT	-	-	++	++	++	⊖
2	5a	Ph	Ph	+++	+++	+++	+++
3	5b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	Ph	++	++	++	++
4	5f	Ph	4-F-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
5	5g	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
6	5h	4-F-C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
7	5i	Ph	4-Me-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
8	5j	4-F-C ₆ H ₄	4-Me-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
9	5k	4-MeO-C ₆ H ₄	4-Me-C ₆ H ₄	++	++	++	++

Del mismo modo, se evaluaron los derivados de sulfuro de tetrahydroquinolilinfosfina **9** y sulfuro de quinolilinfosfina **10**. Primero se evaluó la actividad de inhibición de los compuestos **9**. Por ejemplo, en la figura 90 se muestra el efecto inhibitor del compuesto **9a** (líneas 8-11, tabla 24, entrada 2). Tal y como se puede observar, el compuesto **9a** inhibe a todos los tiempos de reacción, además, al contrario que su análogo **5i** (figura 90) el efecto de inhibición permanece a los 3 minutos de reacción.

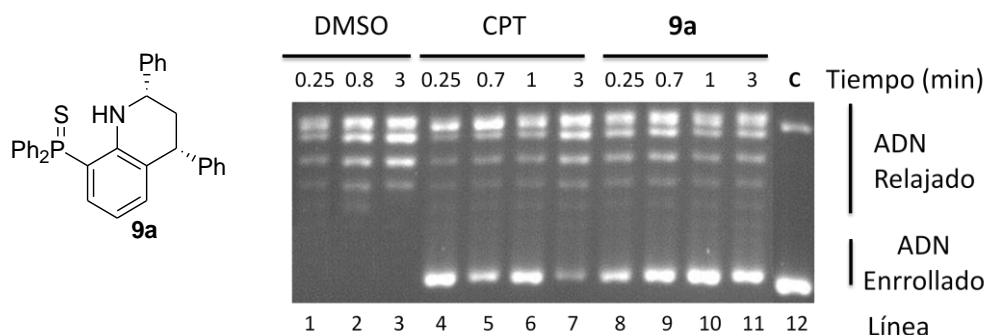


Figura 90. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto **9a**.

Tal y como se puede ver en la tabla 25, a tiempos de 15s, 45s y 1min todos los compuestos, excepto **9b**, presentan mayor o igual actividad que la CPT, además, la mayoría de los compuestos **9** presentan una actividad mayor que la CPT a los 3 minutos, exceptuando los compuestos **9b**, **9d** y **9g** que no presentan actividad. La actividad de inhibición de los compuestos **9l** y **9m** no pudo ser estudiada debido a que eran insolubles en DMSO.

Tabla 25. Resultados de inhibición de los aductos 9.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Inhibición			
				15s	45s	1min	3min
1	CPT	-	-	++	++	++	⊖
2	9a	Ph	Ph	+++	+++	+++	+++
3	9b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	Ph	⊖	⊖	⊖	⊖
4	9c	4-F-C ₆ H ₄	Ph	+	+	+	+
5	9d	2,4-F-C ₆ H ₃	Ph	++	++	++	⊖
6	9e	3,4-F-C ₆ H ₃	Ph	++	++	++	++
7	9f	4-MeO-C ₆ H ₄	Ph	++	++	++	++
8	9g	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	Ph	+++	+++	+++	⊖
9	9h	2-Naftil	Ph	+++	+++	+++	+++
10	9i	Ph	4-F-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
11	9j	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
12	9k	4-F-C ₆ H ₄	4-F-C ₆ H ₄	+++	+++	+++	+++
13	9l	Ph	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	ND	ND	ND	ND
14	9m	4-F-C ₆ H ₄	4-CH ₃ -C ₆ H ₄	ND	ND	ND	ND

ND: No determinado debido a la insolubilidad del compuesto.

A continuación, se evaluó la actividad de inhibición de los derivados de sulfuro de quinolinilfosfina **10**. En la figura 91 se muestra el efecto inhibitor del compuesto **10d** (líneas 8-11, tabla 26, entrada 4). Tal y como se puede observar, en compuesto **10d** inhibe a todos los tiempos de reacción, además, al igual que su análogo **9a** (figura 90) el efecto de inhibición permanece constante a los 3 minutos de reacción.

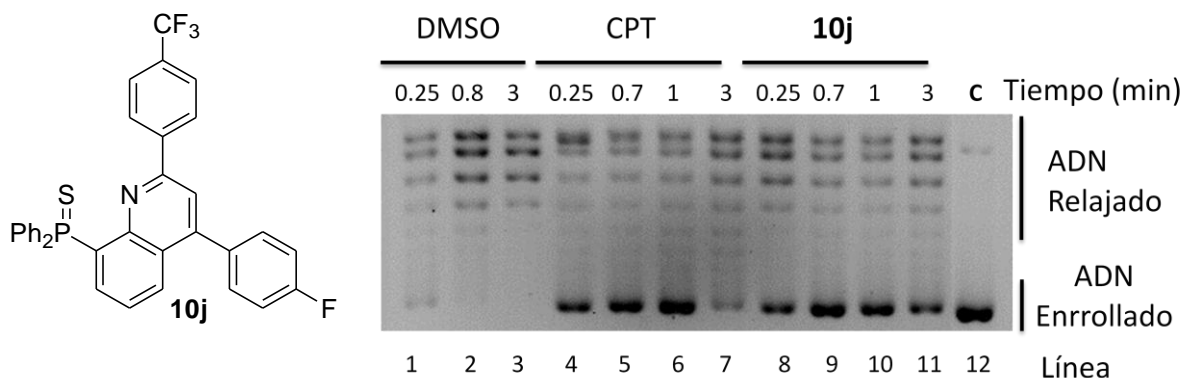


Figura 91. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto 10j.

En la tabla 26 se recogen los datos de inhibición de los aductos pertenecientes a la familia **10**. Tal y como se puede observar, la mayoría de los compuestos **10** presentan actividad como inhibidores de TopI. Entre los mejores resultados destacan los compuestos **10b** y **10j**, ambos contienen un sustituyente fluorado ($R^1 = 4\text{-CF}_3\text{-C}_6\text{H}_4$) y presentaron una mayor actividad que la CPT en todos los tiempos de reacción. Por otro lado, los compuestos **10c**, **10h** y **10k** no presentaron actividad de inhibición significativa a ninguno de los tiempos de reacción evaluados. El compuesto **10a** presentó una actividad similar a la CPT. La capacidad de inhibición de los compuestos **10e** y **10m** no pudo ser estudiada debido a su insolubilidad en DMSO.

Tabla 25. Resultados de inhibición de los aductos **10**.

Entrada	Producto	R^1	R^2	Inhibición			
				15s	45s	1min	3min
1	CPT	-	-	++	++	++	⊖
2	10a	Ph	Ph	+++	+++	++	⊖
3	10b	4- $\text{CF}_3\text{-C}_6\text{H}_4$	Ph	+++	+++	+++	+++
4	10c	4- $\text{F-C}_6\text{H}_4$	Ph	+	⊖	⊖	⊖
5	10h	2,3- C_2H_2	Ph	+	+	+	+
6	10i	Ph	4- $\text{F-C}_6\text{H}_4$	ND	ND	ND	ND
7	10j	4- $\text{CF}_3\text{-C}_6\text{H}_4$	4- $\text{F-C}_6\text{H}_4$	+++	+++	+++	+++
8	10k	4- $\text{F-C}_6\text{H}_4$	4- $\text{F-C}_6\text{H}_4$	+	+	+	+
9	10m	4- $\text{F-C}_6\text{H}_4$	4- $\text{CH}_3\text{-C}_6\text{H}_4$	ND	ND	ND	ND

ND: No determinado debido a la insolubilidad del compuesto.

En resumen, los derivados de tetrahydroquinolinilfosfina **5** presentan muy buenos valores de inhibición superiores a la CPT. Además, la inhibición se mantiene en tiempos más largos (3 min) mientras que la CPT pierde su actividad a este tiempo. En cuanto los derivados de sulfuro de tetrahydroquinolinilfosfina **9** los compuestos **9a** y **9g-9k** presentan valores de inhibición superiores que la CPT a todos los tiempos de reacción, incluyendo a tiempos más largos (3 min). Sin embargo, los compuestos **9d-f** presentan valores similares al inhibidor de referencia y el compuesto **9b** no muestra actividad de inhibición. Por último, los derivados de sulfuro de quinolinilfosfina **10** únicamente mostraron una actividad mayor que la CPT los compuestos con sustituyentes fluorados (CF_3) **10b** y **10d**. Hay que destacar que tanto el sulfuro de tetrahydroquinolinilfosfina **9j** ($\text{R}^1 = 4\text{-CF}_3\text{-C}_6\text{H}_5$), como el sulfuro de quinolinilfosfina **10d** con los mismos sustituyentes, presentan un efecto inhibidor mayor al de la CPT incluso a 3 minutos. Sin embargo, los compuestos **10c**, **10f** y **10g** mostraron un cierto grado actividad aunque en ninguno de los casos fueron iguales o superiores a la de la CPT.

III – 1.3. Estudio de la actividad de inhibición de la topoisomerasa I de los nuevos derivados de [1,5]naftiridina

Del mismo modo, se evaluó la inhibición de los derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas **33-43** (figura 92). Los experimentos de relajación se realizaron a 37 °C con los compuestos y a los tiempos seleccionados (0,25, 1 y 3 min). Se incluyó una muestra con el plásmido como control negativo (C).

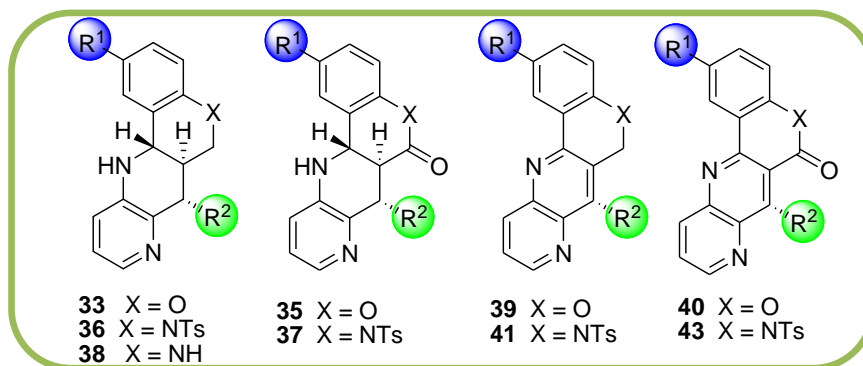


Figura 92. Familia de derivados de [1,5]naftiridinas.

Así, se evaluó la actividad biológica de los derivados de cromenotetrahydro[1,5]naftiridinas **33** y **35** (X = O). Por ejemplo, en la figura 93, se muestra el efecto inhibitor del compuesto **33c** (líneas 7-9, tabla 27, entrada 7). Tal y como se observa, el compuesto **33c** inhibe la TopI a tiempos de reacción cortos (0.25 y 1 min), sin embargo, al igual que la CPT, a los 3 minutos de reacción deja de comportarse como un inhibidor y la TopI actúa sobre el ADN. Estos resultados parecen indicar que el derivado **33c** inhibe la actividad de la topoisomerasa I de forma similar a la de la CPT.

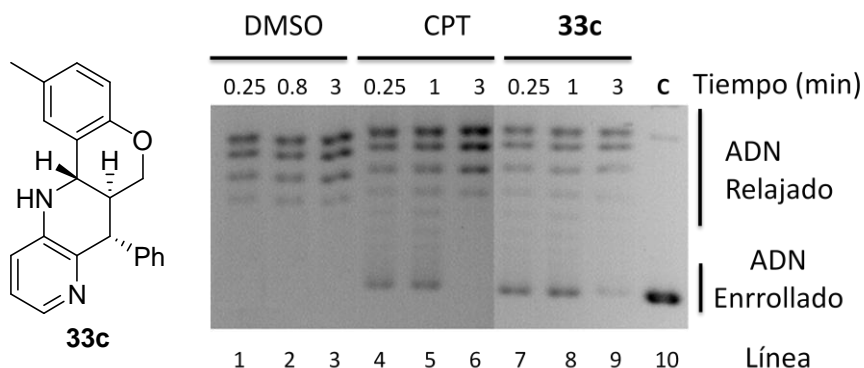


Figura 93. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto 33c.

En la tabla 27 se recogen los resultados de inhibición para los compuestos **33** y **35**. Por un lado, los compuestos **33a** y **33b** (tabla 27, entradas 2 y 3) no muestran inhibición a ninguno de los tiempos de reacción, sin embargo, tal y como se ha comentado anteriormente, el compuesto **33c** (tabla 27, entrada 4) inhibe a tiempos de reacción cortos (15s y 1min), mientras que a tiempos de reacción más largos (3 min) el efecto de inhibición disminuye. Por otro lado, el compuesto **35a** (tabla 27, entrada 5) no presenta inhibición a los tiempos de reacción seleccionados (15s, 1min y 3min), mientras que el compuesto **35b** (tabla 27, entrada 6), presenta una leve inhibición a todos los tiempos de reacción, superando a la camptotecina a tiempos más largos de reacción (3min). En resumen, el único compuesto que presenta inhibición es el compuesto **33c**, mostrando una inhibición similar a la CPT.

Tabla 27. Resultados de inhibición de los aductos **33** y **35**.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Inhibición		
				15s	1min	3min
1	CPT	-	-	++	++	⊖
2	33a	H	Ph	⊖	⊖	⊖
3	33b	F	Ph	⊖	⊖	⊖
4	33c	Me	Ph	++	++	⊖
5	35a	H	Ph	⊖	⊖	⊖
6	35b	F	Ph	+	+	⊖

A continuación se evaluó la capacidad de inhibición de los derivados de cromeno[1,5]naftiridinas **39** y **40**. Por ejemplo, en la figura 94 se muestra el efecto de inhibición y del compuesto **39c** (líneas 7-9, tabla 28, entrada 4). Tal y como se puede observar, el compuesto **39c** presenta una leve inhibición a los tres tiempos de reacción (15s, 1min y 3min). La inhibición se mantiene constante en todos los tiempos, sin embargo, comparándolo con la CPT (líneas 4-6) el efecto de inhibición es menor.

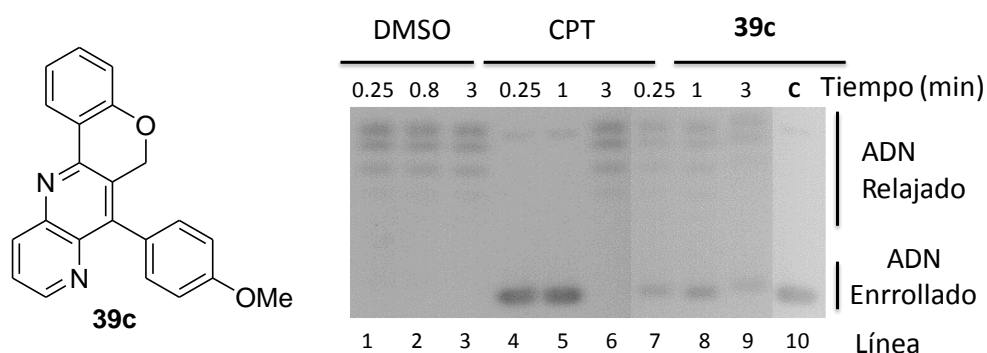


Figura 94. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto 39c.

En la tabla 28 se recogen los datos de inhibición para los compuestos **39** y **40**. Por un lado, los compuestos **39a** y **39c** (tabla 28, entradas 2 y 4) son los únicos compuestos que presentan actividad de inhibición. El primero muestra una leve inhibición a 15s, pero a tiempos más largos (1min y 3min) no muestra inhibición. Por el contrario, el segundo muestra una leve inhibición a todos los tiempos de reacción y los compuestos **39b** y **39d** no muestran actividad de inhibición a ningún tiempo de reacción. Por otro lado, los compuestos **40a** y **40b** (tabla 28, entradas 6 y 7) muestran igual inhibición que la CPT a tiempos cortos de reacción (15s), sin embargo, su carácter inhibitor desaparece a tiempos de reacción más largos (1 y 3min). Cabe destacar que los compuestos **40** presentan mayor grado de inhibición a 15s que sus análogos hidrogenados **35**, esto puede ser debido a la planaridad que estos compuestos.

Tabla 28. Resultados de inhibición de los aductos 39 y 40.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Inhibición		
				15s	1min	3min
1	CPT	-	-	++	++	⊖
2	39a	H	Ph	+	⊖	⊖
3	39b	F	Ph	⊖	⊖	⊖
4	39c	Me	Ph	⊖	⊖	⊖
5	39d	H	Ph	++	⊖	⊖
6	40a	H	4-MeO-C ₆ H ₄	+	+	+
7	40b	F	Ph	++	⊖	⊖

Por último, se evaluó la capacidad de inhibición de los compuestos derivados de [1,5]naftiridina fusionadas con quinolina **36-38**, **41** y **43**. En la figura 95 se muestra la inhibición del compuesto **36** (líneas 7-9, tabla 29, entrada 2). Tal y como se puede observar, el compuesto **36** presenta un grado de inhibición superior a la CPT a todos los tiempos de reacción seleccionados (15s, 1min y 3min). Estos resultados indican que el compuesto **36** inhibe la actividad de la topoisomerasa I con una efectividad superior a la de la CPT.

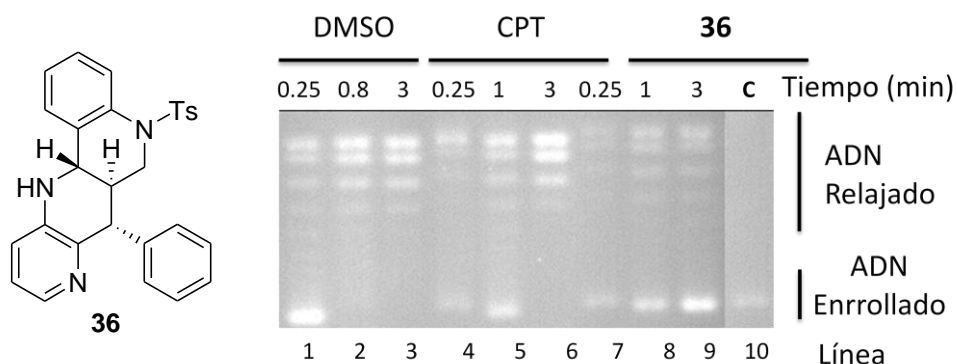


Figura 95. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto **36**.

En la tabla 29 se recogen los datos de inhibición para los compuestos **36-38**, **41** y **43**. Tal y como se muestra, todos los compuestos presentan buena inhibición a todos los tiempos de reacción estudiados (15s, 1min y 3min). En todos casos, todos los compuestos presentan mayor inhibición que la CPT (tabla 29, entrada 1).

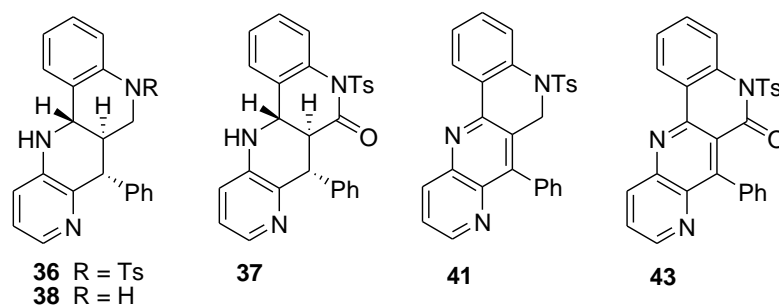


Tabla 29. Resultados de inhibición de los derivados de naftiridina fusionados con quinolina.

Entrada	Producto	Inhibición		
		15s	1min	3min
1	CPT	++	++	⊖
2	36	+++	+++	+++
3	37	+++	+++	+++
4	38	+++	+++	+++
5	41	+++	++	++
6	43	+++	+++	+++

En resumen, ninguno de los derivados de cromeno[1,5]naftiridinas **33**, **35**, **39** y **40** (X = O) muestra un efecto de inhibición superior a la CPT. No obstante, los derivados de tetrahidro[1,5]naftiridina **39c** y [1,5]naftiridina **35b** condensados con cromeno, muestran una inhibición superior a la CPT a tiempos largos de reacción (3min). Por otro lado, los derivados de quinolino[1,5]naftiridinas **36**, **37**, **38**, **41** y **43** (X = NR) muestran una actividad superior que el inhibidor de referencia a todos los tiempos de reacción. Estos estudios indican que la inhibición de la topoisomerasa varía según el heterociclo que se encuentre fusionado con la naftiridina, siendo la quinolina (X = N) el heterociclo fusionado a naftiridina que muestra un incremento de la actividad de inhibición como consecuencia de la sustitución de un átomo de oxígeno por uno de nitrógeno.

III – 1.4. Estudio de la actividad de inhibición de la topoisomerasa I de los nuevos derivados de [1,8]naftiridina y pirido[1,2a]pirimidina

A continuación se evaluó la actividad de inhibición de los derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas **50-61** (figura 96). Los experimentos de relajación se realizaron a 37 °C sin ninguna preincubación del ADN o la TopI con los compuestos y a los tiempos seleccionados (0.25, 1 y 3 min). Además, se incluyó una muestra con el plásmido como control negativo (C).

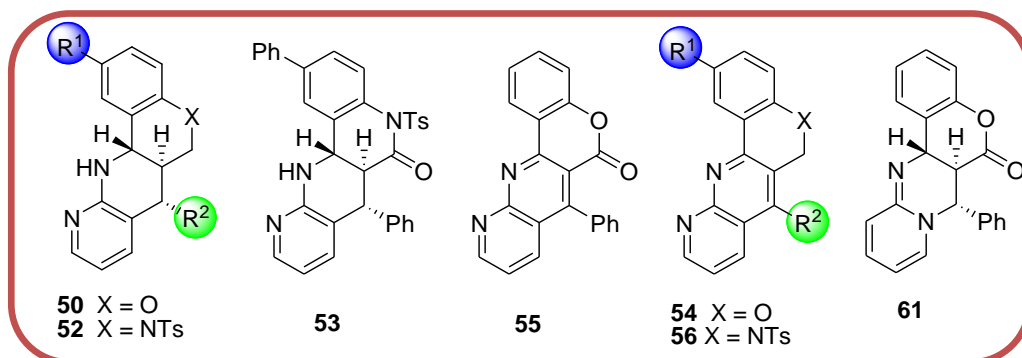


Figura 96. Familia de derivados de [1,8]naftiridinas y pirido[1,2a]pirimidina.

En primer lugar se evaluó la actividad biológica de los derivados de cromeno-tetrahidro[1,8]naftiridinas **50**. En la figura 97 se muestra la inhibición del compuesto **50b** (líneas 7-10, tabla 30, entrada 3). Tal y como se puede observar, el compuesto **50b** inhibe a tiempos de reacción cortos (15s). Sin embargo, su actividad va disminuyendo a tiempos más largos (1 y 3min).

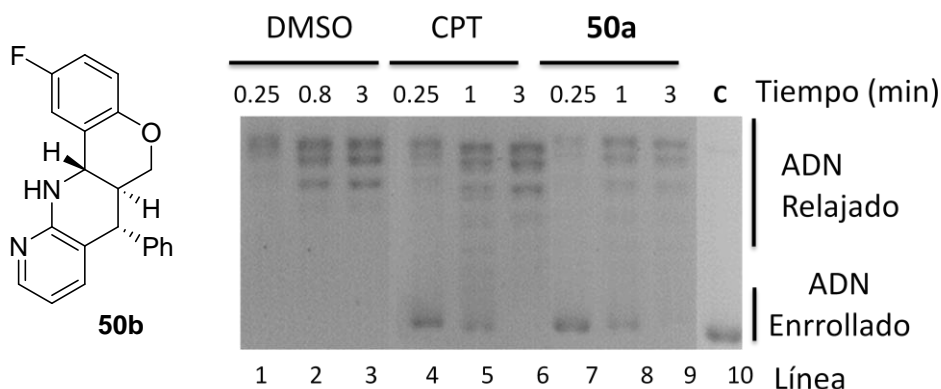


Figura 97. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto **50b**.

En la tabla 30 se muestran los resultados de inhibición para los compuestos **50**. El compuesto **50a** (tabla 30, entrada 2) no muestra actividad de inhibición en ninguno de los tiempos seleccionados, sin embargo, el compuesto **50b** (tabla 30, entrada 3), muestra una actividad igual a la CPT a 15s de reacción pero su actividad disminuye con el paso del tiempo. Por último, el compuesto **50c** (tabla 30, entrada 4) muestra actividad similar a la CPT a 15 segundos y menor que esta a 1 minuto, pero se mantiene a los 3 minutos de reacción.

Tabla 30. Resultados de inhibición de los aductos 45.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Inhibición		
				15s	1min	3min
1	CPT	-	-	++	++	⊖
2	50a	H	Ph	⊖	⊖	⊖
3	50b	F	Ph	+	+	⊖
4	50c	Me	Ph	++	+	+

A continuación, se evaluaron los derivados de cromeno[1,8]naftiridinas **54** y **55**. Por ejemplo, en la figura 97 se muestra la inhibición del compuesto **54a** (líneas 7-10, tabla 31, entrada 2). Tal y como se puede observar, el compuesto **54a** inhibe a todos los tiempos de reacción, sin embargo, a tiempos de reacción más largos (1 y 3 min) su actividad de inhibición decrece. Estos resultados indican que el compuesto **54** inhibe la actividad de la topoisomerasa I pero no llega a igualar la efectividad de la CPT como inhibidor.

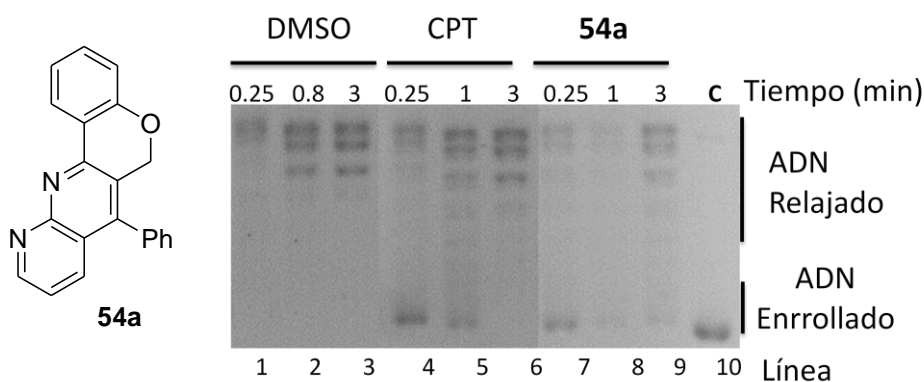


Figura 97. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto 54a.

En la tabla 31 se recogen los estudios de inhibición realizados para los compuestos **54** y **55**. Todos los compuestos, exceptuando el compuesto **54c** (tabla 31, entrada 5), igualan a la CPT en tiempos de reacciones cortos (15s). Además, los compuestos **54b** y **54d** (tabla 31, entradas 3 y 4) continúan inhibiendo con la misma intensidad a tiempos más largos (1min). No obstante, los compuestos **54a** y **54d** son los únicos compuestos entre los estudiados que presentan una actividad superior a la CPT a tiempo de reacción de 3 minutos. En el compuesto **55** (entrada 6), la inhibición permanece constante a tiempos de reacción de 15s y 1 minutos. Sin embargo, no se observa inhibición a los 3 minutos de reacción.

Tabla 31. Resultados de inhibición de los aductos **54** y **55**.

Entrada	Producto	R ¹	R ²	Inhibición		
				15s	1min	3min
1	CPT	-	-	++	++	⊖
2	54a	H	Ph	++	+	+
3	54b	F	Ph	++	++	⊖
4	54c	Me	Ph	+	⊖	⊖
5	54d	H	4-OMe-C ₆ H ₄	++	++	+
6	55	H	Ph	++	++	⊖

Por último, se evaluó la capacidad de inhibición de los compuestos derivados de naftiridinas fusionadas con quinolina **52**, **53** y **56** y pirido[1,2a]pirimidina **61**. En la figura 98 se muestra la inhibición del compuesto **52** (líneas 7-10, tabla 32, entrada 2). Tal y como se puede observar, el compuesto **52** presenta un alto grado de inhibición a todos los tiempos de reacción seleccionados 15s, 1min y 3min). Estos resultados indican que el compuesto **52** inhibe la actividad de la topoisomerasa I con una efectividad superior a la de la CPT.

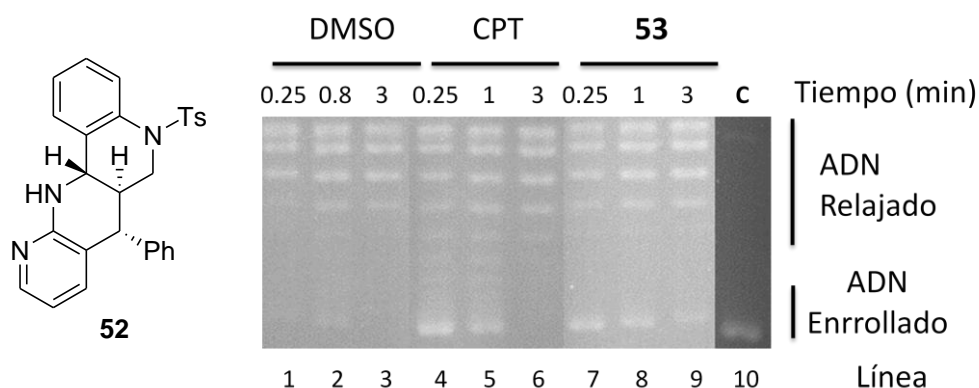


Figura 98. Estudio de inhibición de la TopI del compuesto 52.

En la tabla 32 se muestran los resultados de inhibición para los compuestos 52, 53, 53 y 61. Todos los compuestos presentan una inhibición superior a la CPT en todos los tiempos de reacción estudiados (15s, 1 y 3min). Además, si comparamos con sus análogos derivados de naftiridinas fusionadas con cromenos y cromenonas, podemos observar que la inhibición aumenta en todos casos.

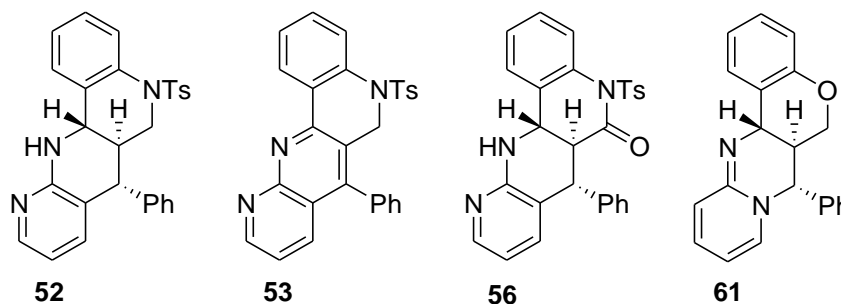


Tabla 32. Resultados de inhibición de los derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas con quinolina y pirido[1,2a]pirimidina.

Entrada	Producto	Inhibición		
		15s	1min	3min
1	CPT	++	++	⊖
2	52	+++	+++	+++
3	53	+++	+++	+++
4	56	+++	+++	+++
5	61	+++	+++	+++

En resumen, los derivados de cromeno[1,8]naftiridinas muestran, en la mayoría de casos, una inhibición similar a la CPT a tiempos de reacción cortos (15s y 1min), sin embargo, la mayoría de compuestos, al igual que la CPT, no presentan actividad a tiempos largos de reacción (3min). No obstante, los derivados **50c**, **54a** y **54c** presentan un pequeño grado de actividad a tiempo de reacción de 3 minutos mejorando así, el efecto de la CPT como inhibidor. Por otro lado, los derivados de quinolino[1,8]naftiridinas **52**, **53** y **56** y el derivado de pirimidina **61** mostraron una actividad elevada de inhibición constante a todos los tiempos de reacción. Estos resultados, reflejan la importancia del heterociclo fusionado con la naftiridina, ya que al igual que con los derivados de [1,8]naftiridinas, los derivados con una estructura como la quinolina aumentan la actividad de inhibición considerablemente. Además, si comparamos los resultados para los derivados de cromeno[1,5]naftiridinas con los de los derivados de cromeno[1,8]naftiridinas podemos observar un incremento de la actividad en la segunda familia. Estos datos sugieren que la posición del nitrógeno del anillo de la naftiridina podría desempeñar un papel importante a la hora de inhibir la TopI ya que se observa un incremento de la actividad en los derivados de [1,5]naftiridina.

III – 2. Estudios de actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados en diferentes líneas celulares humanas

La actividad antiproliferativa de los nuevos derivados preparados se estudió en diferentes líneas de cáncer humano: A549 (células humanas de epitelio alveolar basal), SKOV3 (células humanas de carcinoma de ovario), HEK293 (células embrionarias de riñón humana) y BT20 (células humanas de cáncer de mama). Además, también se determinó su actividad antiproliferativa frente una línea no cancerígena de células sanas como la MRC5 (fibroblastos derivados de tejido pulmonar). Para evaluar la inhibición del crecimiento y las actividades inhibitoras de la proliferación celular de todos los compuestos sintetizados se usó el kit CCK-8. Este kit permite ensayos de colorimetría con una alta sensibilidad para la determinación de la viabilidad celular en ensayos de proliferación celular y citotoxicidad. Este kit consiste en una sal de tetrazolio soluble en agua que se reduce mediante la actividad de la enzima deshidrogenasa que se encuentra presente en todas las células vivas, dando lugar a una sal llamada formazan de color amarillo que es soluble en los medios de cultivo tisular (figura 99). Así, la cantidad del colorante formazan, generado por las actividades de las deshidrogenasas en las células, es directamente proporcional al número de células vivas.

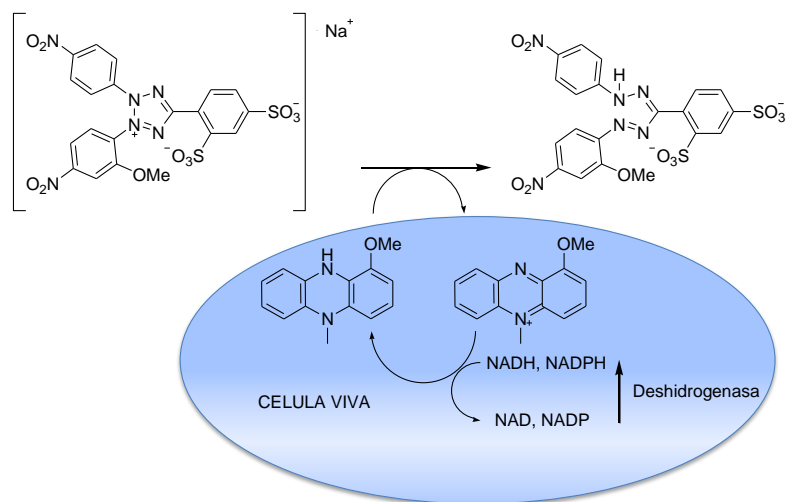


Figura 99. Mecanismo de viabilidad celular con CCK-8.

III – 2.1. Estudios de citotoxicidad de los derivados fosforados 5, 9 y 10

Comenzamos con el estudio de la citotoxicidad de los derivados de quinolinas fosforadas 5, 9 y 10. En primer lugar, se realizaron los ensayos con quinolinilfosfinas 5. Los resultados de citotoxicidad en las líneas de cáncer humano: A549, SKOV3, HEK293 y BT20 de los compuestos 5 se recogen en la tabla 33.

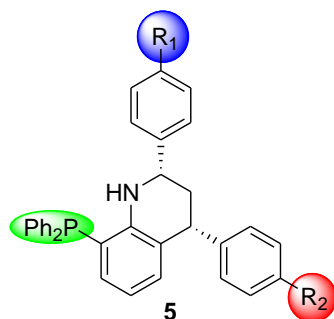


Tabla 33. Estudio de citotoxicidad de los derivados de quinolinas fosforadas 5.

Entrada	Compuesto	R ¹	R ²	Citotoxicidad IC ₅₀ (μM)			
				Pulmón A549	Ovario SKOV3	Riñón HEK293	Mama BT20
1	CPT	-	-	(1.0±0.06)·10 ⁻³	(5.5±0.01)·10 ⁻³	(1.0±0.06)·10 ⁻³	0.07±0.04
2	5a	H	H	0.6 ± 2.1	>50	>50	>50
3	5b	4-CF ₃	H	16.17 ± 4.9	>50	>50	>50
4	5f	H	F	0.57 ± 3.2	>50	>50	>50
5	5g	4-CF ₃	F	0.35 ± 0.06	>50	>50	>50
6	5h	F	F	0.08 ± 0.01	>50	>50	>50
7	5i	H	Me	0.11 ± 0.01	>50	>50	>50
8	5j	F	Me	0.25 ± 0.12	>50	>50	>50
9	5k	4-OMe	Me	2.48 ± 0.96	>50	>50	>50

De acuerdo con los datos presentados en la tabla 33, podemos llegar a la conclusión de que el mejor resultado corresponde a la línea celular de cáncer de pulmón (A549), siendo el derivado **5h** ($R^1 = F$, $R^2 = F$, tabla 33, entrada 6), que contiene dos átomos de flúor en su estructura, el mejor de ellos con un valor de IC_{50} de 80 ± 10 nM. El resto de los derivados **5**, exceptuando los compuestos **5b** y **5e**, revelaron una citotoxicidad menor de $1 \mu\text{M}$ en la misma línea celular de cáncer de pulmón (A549). Sin embargo, los valores de IC_{50} frente al resto de líneas celulares, es decir, cáncer de ovario (SKOV3), cáncer de riñón (HEK293) y cáncer de mama (BT20), fueron en todos los casos superiores a $50 \mu\text{M}$. En vista de estos resultados, se puede afirmar que los compuestos pertenecientes a la familia **5**, son selectivos como citotóxicos de las células de cáncer de pulmón A549.

A continuación, se procedió a evaluar la actividad biológica del resto de derivados de quinolina. En la tabla 34 se recogen los resultados de citotoxicidad de los sulfuros de difeniltetrahydroquinolinil fosfinas **9** y sulfuros de difenilquinolinil fosfina **10**. Se puede observar que los valores de citotoxicidad muestran, una vez más, actividad antiproliferativa únicamente en la línea de cáncer de pulmón (A549) al igual que sus análogos **5** anteriormente mostrados. En este caso, los compuestos **9g** y **10c** son los que presentan actividades más altas siendo su IC_{50} de 80 ± 30 nM y de 30 ± 20 nM respectivamente. Otros derivados tales como los derivados **9b**, **9d**, **9j** y **9k** muestran actividades del orden del $0.22\text{-}0.33 \mu\text{M}$. Los resultados en el resto de líneas celulares, es decir, cáncer de ovario (SKOV3), cáncer de riñón (HEK293) y cáncer de mama (BT20), fueron en todos los casos superiores a $50 \mu\text{M}$. En vista de estos resultados, se puede afirmar que los compuestos **9** y **10** son, al igual que los compuestos **5**, selectivos frente a las células de cáncer de pulmón A549.

Capítulo III: Estudio de inhibición de la actividad enzimática de la topoisomerasa I de leishmania

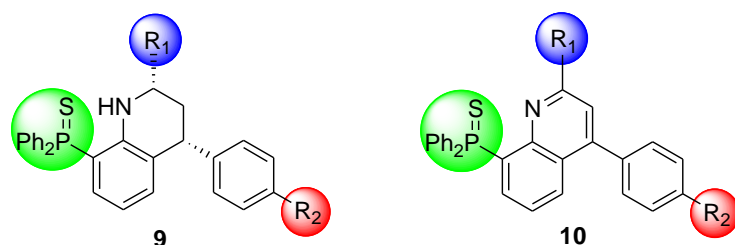


Tabla 34. Estudio de citotoxicidad de los derivados de quinolinas fosforadas 9 y 10.

Entrada	Compuesto	R ¹	R ²	Citotoxicidad IC ₅₀ (μM)			
				Pulmón A549	Ovario SKOV3	Riñón HEK293	Mama BT20
1	CPT	-	-	(1.0±0.06)·10 ⁻³	(5.5±0.01)·10 ⁻³	(1.0±0.06)·10 ⁻³	0.07±0.04
2	9a	Ph	H	0.16 ± 0.01	>50	>50	>50
3	9b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	H	>50	>50	>50	>50
4	9c	4-F-C ₆ H ₄	H	0.22 ± 0.01	>50	>50	>50
5	9d	2,4-F ₂ -C ₆ H ₃	H	>50	>50	>50	>50
6	9e	3,4-F ₂ -C ₆ H ₃	H	0.27 ± 0.05	>50	>50	>50
7	9f	4-MeO-C ₆ H ₄	H	>50	>50	>50	>50
8	9g	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	H	0.33 ± 0.09	>50	>50	>50
9	9h	2-Naftil	H	0.08 ± 0.03	>50	>50	>50
10	9i	Ph	F	>50	>50	>50	>50
11	9j	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	F	3.81 ± 0.54	>50	>50	>50
12	9k	4-F-C ₆ H ₄	F	0.52 ± 0.23	>50	>50	>50
13	9l	Ph	Me	0.27 ± 0.05	>50	>50	>50
14	9m	4-F-C ₆ H ₄	Me	>50	>50	>50	>50
15	9n	4-NO ₂ -C ₆ H ₄	Me	ND	>50	>50	>50
16	10a	Ph	H	0.22 ± 0.09	>50	>50	>50
17	10b	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	H	>50	>50	>50	>50
18	10c	4-F-C ₆ H ₄	H	0.03 ± 0.02	>50	>50	>50
19	10h	2-Naftil	H	ND	>50	>50	>50
20	10j	4-CF ₃ -C ₆ H ₄	F	ND	>50	>50	>50
21	10m	4-F-C ₆ H ₄	F	ND	>50	>50	>50

En vista de esta sensibilidad hacia la línea celular de cáncer de pulmón (A549), exploramos el efecto citotóxico de algunos de los derivados sintetizados en células sanas de fibroblastos pulmonares (MRC5).

En todos los casos, los IC_{50} fueron superiores a 50 μ M por lo que ningún compuesto presentó citotoxicidad relevante frente a este tipo de línea celular (ilustración 2). Por ejemplo, el derivado **10c**, que mata claramente a las células de cáncer de pulmón (A549, tabla 13, entrada 17) presenta la citotoxicidad más alta de toda la familia y además, parece no presentar citotoxicidad frente a las células sanas del pulmón (MRC5).

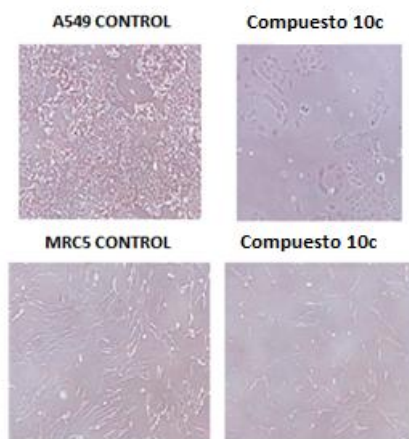


Ilustración 2. Fotografía de células correspondientes a la línea celular A549 y MRC-5.

III – 2.2. Estudios de citotoxicidad de las [1,5]naftiridinas fusionadas en diferentes líneas celulares

Del mismo modo, los derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas se estudiaron para determinar su actividad antiproliferativa frente a diferentes líneas celulares de cáncer humano: A549, SKOV3, y también se determinó su actividad antiproliferativa contra la línea no cancerígena MRC5.

En la tabla 35 se recogen los datos de citotoxicidad para los compuestos pertenecientes a los derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas con cromeno **33**, **35**, **39** y **40**. Se puede observar que los valores de citotoxicidad muestran un amplio espectro de actividad antiproliferativa en las líneas celulares de cáncer probadas en cultivo. De acuerdo con los datos presentados en la tabla 14, podríamos llegar a la conclusión de que los compuestos evaluados presentan el mejor resultado citotóxico en la línea celular de cáncer de pulmón (A549), siendo el derivado **33a** (entrada 2) el que presenta mayor actividad con un IC_{50} de $1.03 \pm 0.30 \mu\text{M}$. Por otro lado, la mayoría de los compuestos no presentaron actividad frente a la línea celular de ovario (SKOV3), únicamente los compuestos **33a** y **33c** (tabla 35, entradas 2 y 4) mostraron algo de citotoxicidad siendo de nuevo, el compuesto **33a** (tabla 35, entradas 2) el que presenta la mayor actividad con un IC_{50} de $1.75 \pm 0.20 \mu\text{M}$. Finalmente, y al igual que con las familias anteriores, los compuestos estudiados no presentaron toxicidad frente a la línea celular sana MRC5, siendo en todos los casos el IC_{50} superior a $50 \mu\text{M}$.

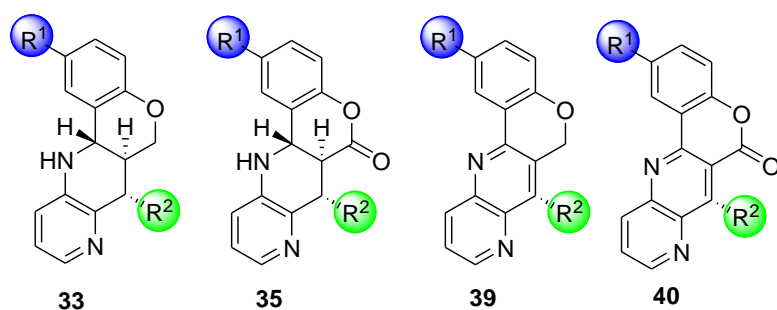


Tabla 35. Estudio de citotoxicidad de los derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas con cromeno.

Entrada	Compuesto	R ¹	R ²	Citotoxicidad IC ₅₀ (μM)		
				Pulmón (A549)	Ovario (SK-VO3)	Sanas (MRC5)
1	CPT	-	-	(1.0±0.06)·10 ⁻³	(5.5±0.01)·10 ⁻³	-
2	33a	H	Ph	1.03±0.30	1.75±0.20	>50
3	33b	F	Ph	11.30±1.23	>50	>50
4	33c	Me	Ph	7.25±0.27	12.69±0.80	>50
5	35a	H	Ph	25.42±1.37	>50	>50
6	35a	F	Ph	>50	>50	>50
7	39a	H	Ph	>50	>50	>50
8	39b	F	Ph	>50	>50	>50
9	39c	Me	Ph	>50	>50	>50
10	39d	H	4-MeO-C ₆ H ₄	17.89±2.00	>50	>50
11	40a	H	Ph	9.03±1.47	>50	>50
12	40b	F	Ph	>50	>50	>50

Del mismo modo, se estudió la citotoxicidad de las [1,5]naftiridinas fusionadas con quinolinas **36-43**. En la tabla 36 se muestran los resultados obtenidos para la líneas celulares probadas en cultivo. Como se puede observar, los derivados evaluados presentan la mejor citotoxicidad en la línea celular de cáncer de ovario (SK-OV3), siendo el derivado **41** (tabla 36, entrada 5) el que presenta mayor actividad con un IC₅₀ = 8.65 ± 1.47 μM. Además, los compuestos **36** y **43** (tabla 36, entradas 2 y 6) también presentaron citotoxicidades frente a esta misma línea celular con un IC₅₀ = 18.08 ± 1.39 y IC₅₀ = 11.03 ± 1.47 μM respectivamente. Respecto a la línea celular de cáncer de pulmón (A549), los únicos compuestos que muestran una actividad antiproliferativa significativa son los compuestos **36** y **41** (tabla 36, entradas 2 y 5) con un IC₅₀ = 7.25±0.81 y 7.34±00.17 μM respectivamente. Por último, una vez más los compuestos estudiados no presentaron citotoxicidad frente a la línea no cancerígena MRC5, siendo en todos los casos el IC₅₀ superior a 50 μM.

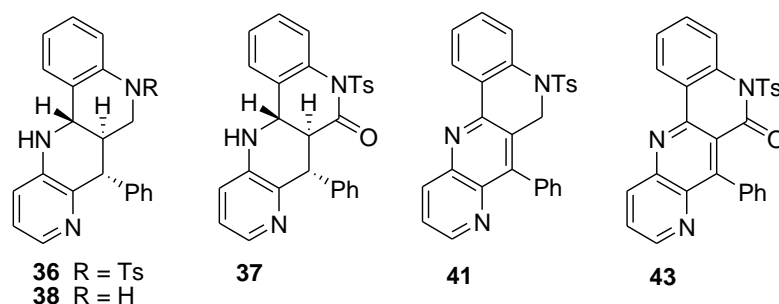


Tabla 36. Estudio de citotoxicidad de los derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas con quinolina.

Entrada	Compuesto	Citotoxicidad IC ₅₀ (μM)		
		Pulmón (A549)	Ovario (SK-VO3)	Sanas (MRC5)
1	CPT	(1.0±0.06)·10 ⁻³	(5.5±0.01)·10 ⁻³	-
2	36	7.25±0.81	18.08±1.39	>50
3	37	>50	>50	>50
4	38	>50	>50	>50
5	41	7.34±0.17	8.65±0.57	>50
6	43	>50	11.03±1.47	>50

En resumen, los derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas presentan un amplio espectro de actividad antiproliferativa en las diferentes líneas celulares de cáncer. En cuanto a la línea celular de cáncer de pulmón (A549) el mejor resultado se obtuvo con el derivado de cromeno[1,5]naftiridina **33** (tabla 35, entrada 2) con un prometedor IC₅₀ = 1.03 ± 0.30 μM. Respecto a la línea celular de cáncer de ovario (SK-OV3), solamente los compuestos **33a**, **33c**, **36** y **41** obtuvieron resultados significantes en términos antiproliferativos. Por último, ninguno de los compuestos evaluados presentó actividad frente a la línea celular no cancerígena (MRC5). En vista de estos resultados, podemos indicar que los derivados de [1,5]naftiridinas fusionadas, presentan en la mayoría de casos, actividad antiproliferativa siendo, en su mayoría, selectivas para la línea celular de pulmón.

III – 2.3. Estudios de citotoxicidad en diferentes líneas celulares de las [1,8]naftiridinas fusionadas

Del mismo modo que con su familia análoga, los derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas fueron evaluados como agentes antiproliferativos en las mismas líneas de cáncer humano: A549, SKOV3, y también se determinó su actividad antiproliferativa contra la línea no cancerígena MRC5.

En la tabla 37 se recogen los resultados de citotoxicidad para las [1,8]naftiridinas fusionadas con cromeno **50**, **54**, y **55**, en donde se puede observar que, una vez más, los compuestos evaluados presentan el mejor resultado citotóxico en la línea celular de cáncer de pulmón (A549), siendo el derivado **55** (tabla 37, entrada 12) el que presenta mayor actividad con un IC_{50} de $1.23 \pm 0.21 \mu\text{M}$. Además, el compuesto **50a** presenta también un valor interesante de citotoxicidad con un IC_{50} de $11.66 \pm 0.84 \mu\text{M}$. Por otro lado, ninguno de los compuestos presentó actividad frente a la línea celular de ovario (SKOV3). Además, los compuestos estudiados no presentaron citotoxicidad frente a la línea no cancerígena MRC5, siendo en todos los casos el IC_{50} superior a $50 \mu\text{M}$.

En vista de estos resultados, podemos indicar que, de entre de los aductos evaluados, algunos de ellos, **50a**, **54b** y **55** mostraron citotoxicidad frente a la línea celular de cáncer de pulmón (A549), siendo el compuesto **55** el más activo. La actividad antiproliferativa mostrada es selectiva, ya que no se observó ninguna actividad frente a las otras dos líneas estudiadas (SK-OV3 y MRC5), siendo reseñable la poca actividad que presentan en la línea celular sana.

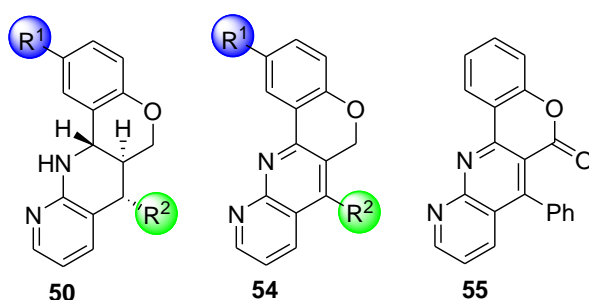


Tabla 37. Estudio de citotoxicidad de los derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas con cromeno.

Entrada	Compuesto	R ¹	R ²	Citotoxicidad IC ₅₀ (μM)		
				Pulmón (A549)	Ovario (SK-VO3)	Sanas (MRC5)
1	CPT	-	-	(1.0±0.06)·10 ⁻³	(5.5±0.01)·10 ⁻³	-
2	50a	H	H	11.66±0.84	>50	>50
3	50b	F	H	>50	>50	>50
4	50c	Me	H	>50	>50	>50
5	54a	H	H	>50	>50	>50
8	54b	F	H	31.21±3.51	>50	>50
9	54c	H	4-MeO	>50	>50	>50
10	54d	Me	H	>50	>50	>50
11	55	H	H	1.23±0.21	>50	>50

Del mismo modo, se estudió la citotoxicidad de las [1,8]naftiridinas fusionadas con quinolinas **52**, **53**, **56** y el derivado de pirimidina **61**. En la tabla 38 se muestran los resultados obtenidos para la líneas celulares probadas en cultivo. Como se puede observar, los derivados evaluados presentan la mejor citotoxicidad en la línea celular de cáncer de pulmón (A549), siendo el derivado **61** (tabla 38, entrada 5) el que presenta mayor actividad con un IC₅₀ = 3.18 ± 0.38 μM. Además, los compuestos **52** y **56** (tabla 38, entradas 2 y 4) también presentaron citotoxicidades frente a esta misma línea celular con un IC₅₀ = 6.30 ± 1.29 y IC₅₀ = 17.93 ± 0.73 μM, respectivamente. Respecto a la línea celular de cáncer de ovario (SK-OV3), el único compuesto que muestra una actividad antiproliferativa es el compuesto **61** con un IC₅₀ = 11.23 ± 1.53 μM. Al igual que con las familias anteriores, los compuestos estudiados no presentaron actividad antiproliferativa frente a la línea no cancerígena MRC5, siendo en todos los casos el IC₅₀ superior a 50 μM.

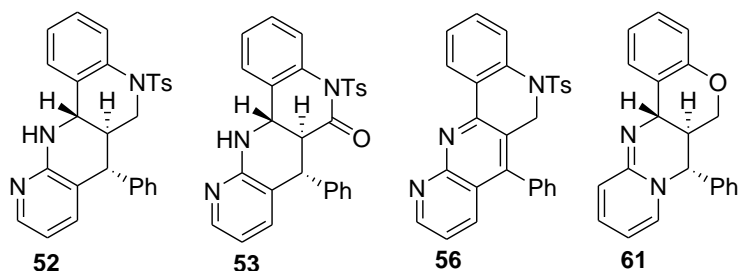


Tabla 38. Estudio de citotoxicidad de los derivados de [1,8]naftiridinas fusionadas con quinolina.

Entrada	Compuesto	Citotoxicidad IC ₅₀ (μM)		
		Pulmón (A549)	Ovario (SK-VO3)	Sanas (MRC5)
1	CPT	(1.0±0.06)·10 ⁻³	(5.5±0.01)·10 ⁻³	-
2	52	6.30±1.29	>50	>50
3	53	>50	>50	>50
4	56	17.93±0.73	>50	>50
5	61	3.18±0.38	11.23±1.53	>50

En conclusión, algunos de los compuestos sintetizados muestran un efecto citotóxico prometedor hacia las líneas celulares cancerosas probadas (A549 y SKOV3), especialmente en la línea celular de cáncer de pulmón (A549). Además, ninguno de los compuestos sintetizados mostró actividad antiproliferativa en células sanas de pulmón (MRC5) mostrando así un alto grado de selectividad frente a células cancerosas.

En este sentido, se podrían realizar análisis adicionales en términos de viabilidad y estabilidad en el torrente sanguíneo. Además, podría realizarse un estudio más profundo en las modificaciones estructurales de las moléculas para mejorar su efecto citotóxico. Este trabajo es un punto de partida, por lo que el siguiente paso podría ser estudiar la farmacocinética.

Finalmente, cabe destacar que la actividad de inhibición de los compuestos estudiados respecto a la TopI no es proporcional, en la mayoría de los casos, a la actividad que presentan como agentes antiproliferativos. Esto podría ser debido a que, tanto los derivados de quinolina fosforadas, como los derivados de naftiridinas fusionadas, podrían actuar sobre otras dianas

III – 3. Estudio de inhibición de la actividad enzimática de la topoisomerasa I de leishmania**III – 3.1. Introducción**

La actividad de la Topoisomerasa I se ha asociado con diversos retrovirus, incluidos el virus del sarcoma de Rous,¹⁸⁴ el virus de la anemia infecciosa equina, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)¹⁸⁵ y la leishmania.¹⁸⁶

La leishmaniasis es una enfermedad compleja causada por 17 especies diferentes de parásitos protozoarios pertenecientes al género *leishmania* la cual es transmitida por la picadura de la hembra de la mosca de la arena *plebotomina*. Esta enfermedad tiene una distribución mundial con importantes focos de infección en América Central y del Sur, Europa del Sur, África del Norte y Oriental, Medio Oriente y el subcontinente Indio.¹⁸⁷

Existen dos formas clínicas principales de la enfermedad, por un lado la leishmaniasis visceral (LV) y por otro la leishmaniasis cutánea (LC). Además de estas dos formas, existen otras manifestaciones cutáneas que incluyen la leishmaniasis mucocutánea (LMC), la leishmaniasis cutánea difusa (LCD), la leishmaniasis por recidiva (LR) y la leishmaniasis dérmica post-kala-azar (LPKD).

Entre las diferentes leishmaniasis, la forma más grave de esta enfermedad es la leishmaniasis visceral (LV), causada por las *leishmania donovani* y la *leishmania infantum* ya que si no se trata, es mortal en casi todos los casos.¹⁸⁸ Los pacientes con LV son propensos a sufrir infecciones bacterianas, como neumonía, tuberculosis e infecciones gastrointestinales. Además, el riesgo de desarrollar LV es aproximadamente 100-2000 veces mayor en pacientes infectados por VIH en comparación con las personas que no tienen VIH.¹⁸⁹

¹⁸⁴ R. Weiss, N. Teich, H. Varmus, J. Coffin, *Molecular Biology of Tumor Viruses: RNA Tumor Viruses*, 2ª ed. New York: Cold Spring Harbor, **1985**.

¹⁸⁵ E. Priel, S. D. Showalter, M. Roberts, S. Oroszlan, S. Segar, M. Aboud, D.G. Blair, *EMBO J.* **1990**, *12*, 4167-4172.

¹⁸⁶ A. K. Chakraborty, *Ind. J. Biochem. Biophys.*, **1993**, *30*, 257-263.

¹⁸⁷ L.Goupil, J. Mckerrow, *Chem. Rev.*, **2014**, *114*, 11131-11137.

¹⁸⁸ S. A. Ejazi, N. Ali, *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, **2013**, *11*, 79-98.

¹⁸⁹ E. Rosenthal, P. Marty, I. Poizot-Martin, J. Reynes, F. Pralong, A. Lafeuillade, D. Jaubert, O. Boulat, J. Dereure, F. Gambarelli, J. A. Gastaut, P. Dujardin, P. Dellamonica, J. P. Cassuto, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **1995**, *89*, 159-162.

El parásito de la *leishmania infantum* es una célula eucariota unicelular que tiene un núcleo y otros orgánulos celulares que incluyen un cinetoplasto y un flagelo. Los parásitos de leishmania tienen dos formas morfológicas, denominadas promastigote y amastigote (figura 100), que se encuentran en los huéspedes de las moscas de la arena y en los mamíferos respectivamente.¹⁹⁰

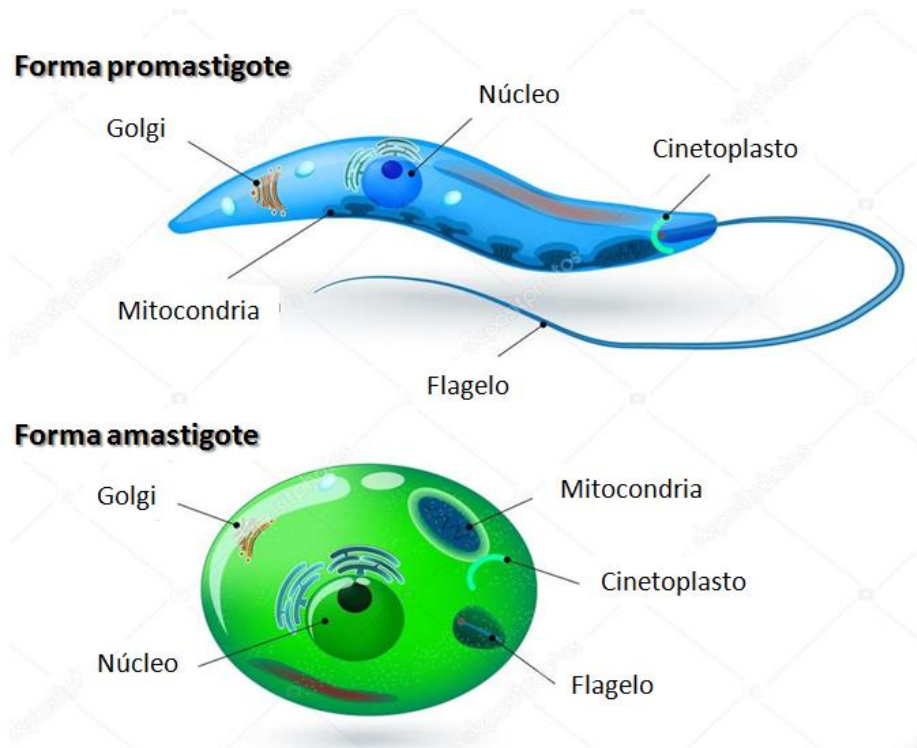


Figura 100. Diferentes formas morfológicas de los parásitos de la leishmania.

El promastigote se forma en el tracto alimentario de la mosca de la arena. Es una forma extracelular y móvil gracias a un flagelo largo que se proyecta externamente en el extremo anterior de la célula. El núcleo se encuentra en el centro, y frente a él se encuentran el cinetoplasto y el cuerpo basal (figura 100).

¹⁹⁰ a) Guerrero, F. Baquero, J. Villarrubia, L. Escribano, C. Bellas, F. Perez-Corral, J. Alvar, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **1998**, *58*, 436-443. b) P. A. Bates, M. A. Rogers, *Curr. Mol. Med.*, **2004**, *4*, 601-609.

La forma de amastigote se encuentra en el fagocito mononuclear y en los sistemas circulatorios de los mamíferos. Es una forma intracelular y no móvil debido a que el flagelo está incrustado en el extremo anterior sin proyectarse. Tiene forma ovalada y mide 3-6 μm de largo y 1-3 μm de ancho. Los amastigotes son, en gran parte, especies intracelulares que viven principalmente en el sistema fagolisosómico de sus células huéspedes predominantes, los macrófagos.

Los macrófagos (células del sistema inmune) envuelven (fagocitan) fácilmente a los amastigotes creando un complejo tipo fagosoma-lisosoma. Este mecanismo de defensa microbiana es letal para la mayoría de los organismos extraños, ya que una exposición al pH ácido de 4.5 a 5.5 y el ataque de las enzimas lisosómicas del macrófago son capaces de eliminar la mayoría de microbios que entran en nuestro organismo. Sin embargo, la leishmania puede sobrevivir a este mecanismo y, de hecho, crecer en este entorno.¹⁹¹ Los parásitos crecen y se dividen dentro del fagolisosoma, de modo que un solo macrófago puede contener decenas de amastigotes en su interior. No se conoce un mecanismo de escape específico, pero se supone que en la mayoría de los casos la célula huésped simplemente se rompe cuando no puede acomodar más parásitos para que estos sean absorbidos por otros macrófagos (figura 101).

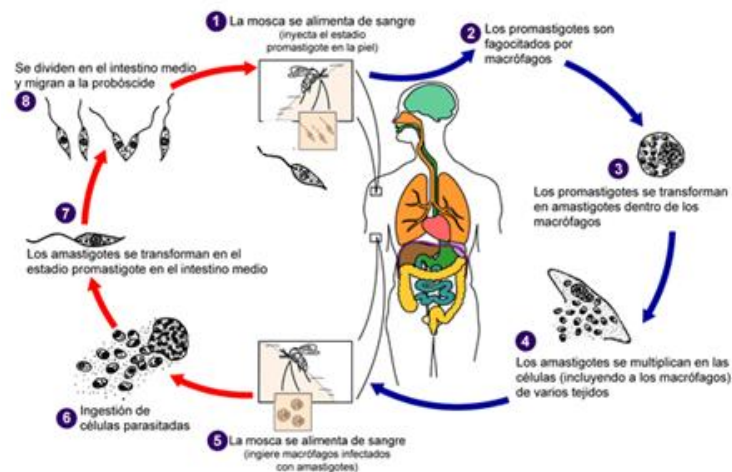


Figura 101. Ciclo vital del parásito de la leishmania.

¹⁹¹ D. Zilberstein, M. Shapira, *Annu. Rev. Microbiol.*, 1994, 48, 449-470.

III – 3.1.1. Tratamientos más destacables contra la leishmania

Entre los fármacos que actualmente se usan para el tratamiento de la LV podemos encontrar los derivados del antimonio. Los antimoniales pentavalentes, como el antimoniato de sodio y el antimoniato de meglumina, se encuentran entre los medicamentos más usados para la leishmaniasis visceral (LV) y cutánea (LC), ya que tienen una gran eficacia y pocos efectos secundarios cuando se administran *via* parenteral.¹⁹²

Otros fármacos como la anfotericina B (figura 102) es un antibiótico aislado del *streptomyces nodosus* en 1955, el cual presenta actividad antifúngica.¹⁹³ El primer tratamiento efectivo con anfotericina B en pacientes con LV fue en 1963. Este medicamento generalmente se clasificó como tratamiento de segunda línea de la LV, ya que cuando disminuyó la eficacia de los fármacos antimoniales.

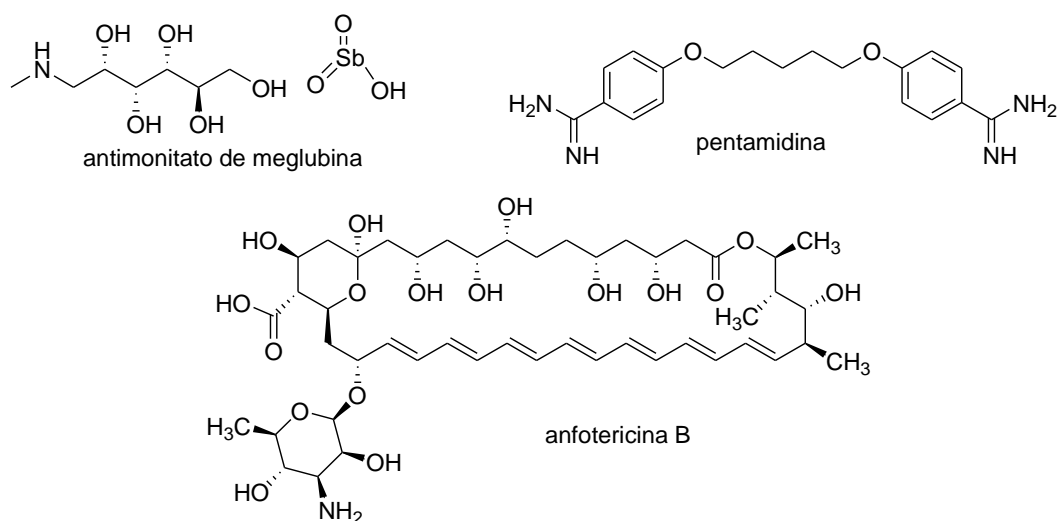


Figura 102. Estructuras de los diferentes fármacos usados contra la leishmaniasis.

¹⁹²a) C. P. Thakur, M. Kumar, P. Kumar, B. N. Mishra, A. K. Pandey, *Br. Med. J.*, **1998**, 296, 1557-1561; b) S. D. Lawn, M. Armstrong, D. Chilton, C. J. Whitty, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **2006**, 100, 264-269.

¹⁹³ W. Gold, H. A. Stout, J. F. Pagano, R. Donovick, *Antibiot. Annu.*, **1955-56**, 3, 579-585.

La pentamidina (figura 102), fue uno de los primeros tratamientos contra la LV.¹⁹⁴ Sin embargo mostró efectos secundarios graves que redujeron su uso en los tratamientos. Cabe añadir que, hoy en día, la anfotericina B y la pentamidina (figura 102), aunque se usan clínicamente, a menudo son de eficacia limitada y muy tóxicas por lo que se evita su uso.¹⁹⁵

Por último, la miltefosina (hexadecilfosfocolina, figura 103), se describió por primera vez como un agente anticanceroso. Sin embargo, más tarde se demostró que tiene actividad antileishmanicida.¹⁹⁶ En 2002 fue aprobado como el primer tratamiento oral para LV ya que los efectos adversos más comunes no son tan agresivos comparados con los de los otros fármacos comúnmente utilizados.

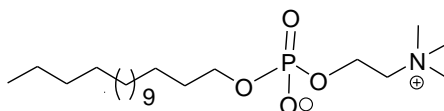


Figura 103. Estructura de la miltefosina.

¹⁹⁴ A. N. Hazarika, *Ind. Med. Gaz.*, **1949**, *84*, 140-145.

¹⁹⁵ M. M. Iwu, J. E. Jackson, B. G. Schuster, *Parasitol., Today* **1994**, *10*, 65-68.

¹⁹⁶ S. L. Croft, D. Snowdon, V. Yardley, *Antimicrob. Chemother.*, **1996**, *38*, 1041-1047.

III – 3.1.2. La topoisomerasa I como diana contra la leishmaniasis

Los parásitos que provocan la leishmania muestran diversidad genética en su ciclo vital, y las topoisomerasas del ADN juegan un papel clave en los procesos celulares que afectan a la topología y a la organización del ADN intracelular. Como ya se hemos visto, las topoisomerasas son dianas atractivas debido a su diversidad estructural y a su función indispensable en biología celular. Por lo tanto, la comprensión de la biología de las topoisomerasas y de los componentes y pasos involucrados en este complejo proceso, son de crucial importancia para el diseño de nuevos fármacos basados en la lucha contra las enfermedades parasitarias protozoarias.

Desde las bacterias hasta los humanos y los virus, las topoisomerasas I están codificadas por un solo gen que contiene, en un único péptido, los dominios catalíticos y de unión al ADN altamente conservados. Sin embargo, en los parásitos cinetoplástidos, la topoisomerasa I está codificada por dos genes, que se asocian entre sí para formar una enzima hetero-dimérica de topoisomerasa I dentro del parásito. Recientemente, las topoisomerasas han sido evaluadas como dianas terapéuticas para un grupo de agentes que tienen un amplio espectro de actividad antiparasitaria.¹⁹⁷ Debido a la aparición de resistencia a los medicamentos en leishmania, sigue siendo deseable una terapia farmacológica para las infecciones por leishmania, por lo que hoy en día aún existe la necesidad de desarrollar agentes terapéuticos que combatan esta resistencia. Si bien las topoisomerasas se encuentran en todos los organismos vivos, los estudios han demostrado que las topoisomerasas cinetoplásticas tienen algunas características que las diferencian de las demás.¹⁹⁸

¹⁹⁷ A. Das, A. Dasgupta, T. Sengupta, H. K. Majumder, *Trends in Parasitol.*, **2004**, *20*, 381-387.

¹⁹⁸ a) B.B. Das, N. Sen, S. B. Dasgupta, A. Ganguly, R. Das, H. K. Majumder, *Indian J. Med. Res.*, **2006**, *123*, 221-232. (b) V. Jean-Moreno, R. Rojas, D. Goyeneche, G. H. Coombs, *J. Exp. Parasitol.*, **2006**, *112*, 21-30.

III – 3.1.2.1. Derivados de camptotecina

Teniendo esto en cuenta, y basados en el éxito de la CPT mostrado en la inhibición de TopI, la CPT y análogos se evaluaron como posibles agentes con actividad antileishmanicida. De esta forma, la CPT, el indotecan, el topotecan, el gimatecan, el irinotecan y el SN-38 (figura 104) se evaluaron frente al *leishmania infantum*. El gimatecan y la CPT fueron los más potentes en promastigotes de *leishmania infantum*. Majumder y colaboradores¹⁹⁹ demostraron que la CPT y el gimatecan induce la muerte celular programada tanto en los amastigotes como en los promastigotes de parásito *leishmania donovani*. La eficacia inhibidora de los derivados de CPT en la topoisomerasa IB de *leishmania infantum* demostró que todos los compuestos afectaban a la actividad de la topoisomerasa I. Sin embargo, el gimatecan mostró ser más potente que la CPT.²⁰⁰ Por último, el indotecan también ha mostrado actividad de inhibición frente a la topoisomerasa de la *leishmania infantum* superando los valores de la CPT.²⁰¹

¹⁹⁹ N. Sean, B. B. Das, A. Ganguly, T. Mukherjee, S. Bandyopadhyay, H. K. Majumder, *J. Biol. Chem.*, **2004**, *279*, 52366-52375.

²⁰⁰ C. F. Prada, R. Álvarez-Velilla, R. Balaña-Fouce, C. Prieto, E. Calvo-Álvarez, J. M. Escudero-Martínez, J. M. Requena, C. Ordóñez, A. Desideri, Y. Pérez-Pertejo, R. M. Reguera, *Biochem. Pharmacol.*, **2013**, *10*, 1433-1440.

²⁰¹ R. Balana-Fouce, C. F. Prada, J. M. Requena, M. Cushman, Y. Pommier, R. Alvarez-Velilla, J. M. Escudero-Martinez, E. Calvo-Alvarez, Y. Perez-Pertejo, R. M. Reguera, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2012**, *56*, 5264-5270.

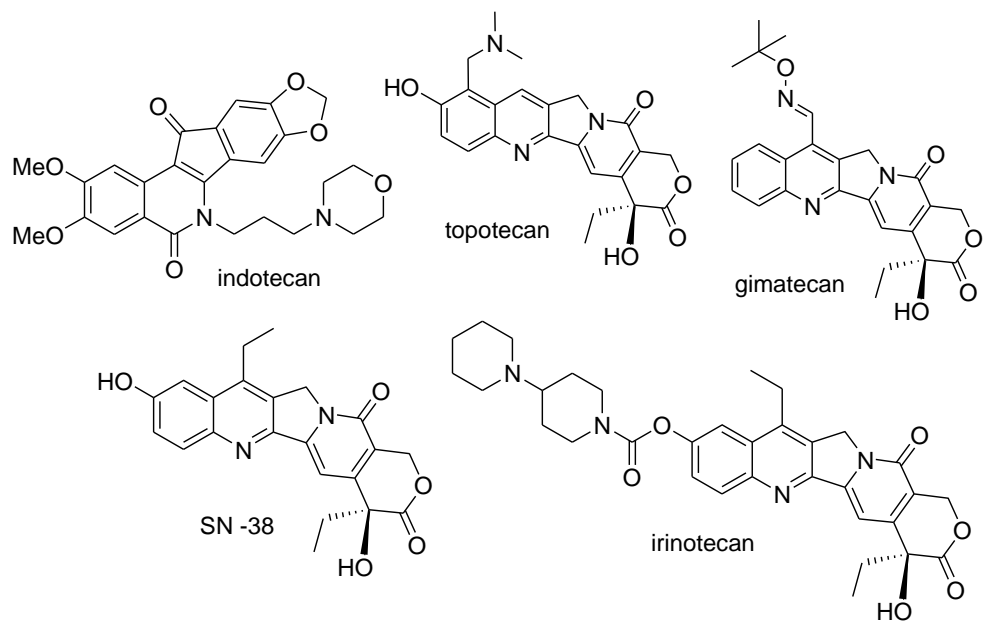


Figura 104. Estructuras de los diferentes fármacos derivados de la CPT.

III – 3.1.2.2. No derivados de camptotecina

Como ya se ha mencionado en la introducción, existen otros inhibidores de TopI que no derivan de CPT. Como por ejemplo, derivados heterocíclicos como la mitonafida (figura 105) que inhibe tanto a la topoisomerasa nuclear y como a la mitocondrial de la leishmania inhibiendo preferentemente la enzima mitocondrial antes que la nuclear.²⁰²

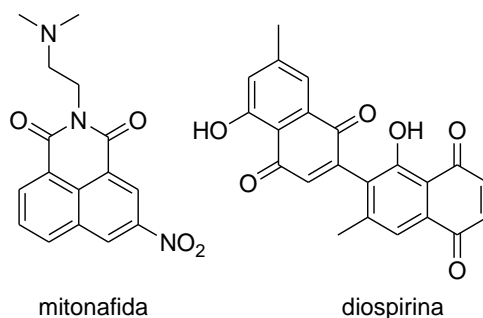


Figura 108. Estructuras de la mitonafida y diospirina.

Cabe añadir, que se ha demostrado que derivados de la quinona tales como la diospirina (figura 105), una bisnaftoquinona aislada del *diospyros montana*, son potentes inhibidores de la topoisomerasa I de la leishmania. Estos derivados, poseen un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento de promastigotes de *leishmania donovani*.²⁰³ Este compuesto inhibe la actividad catalítica de la TopI del parásito. Además, en las reacciones de relajación, la preincubación de la topoisomerasa I con diospirina antes de la adición de ADN aumenta esta inhibición. Los resultados sugieren que este compuesto de bis-naftoquinona ejerce su efecto inhibitorio uniéndose a la enzima y estabilizando el complejo LTopI-ADN.

²⁰² K. M. Slunt, J. M. Grace, T. L. Macdonal, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1996**, *40*, 706-709.

²⁰³ S. Ray, B. Hazra, B. Mitra, A. Das, H. K. Majumder, *Mol. Pharmacol.*, **1998**, *54*, 994-999.

Además, se ha sugerido que la TopI de *leishmania donovani* puede ser una diana prometedor para la familia de fármacos flavonoides. Por ejemplo, la quercetina y la luteolina (figura 106), tienen un potente efecto contra la leishmaniasis. Los flavonoides inhiben el crecimiento de promastigotes y amastigotes de la *leishmania donovani*.²⁰⁴

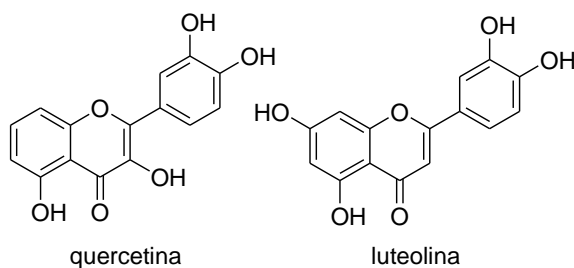


Figura 106. Estructuras de la quercetina y la luteolina.

Recientemente, en colaboración con el grupo del Prof. Balaña (Universidad de León), se ha estudiado la actividad de inhibición de derivados de indeno[1,5]naftiridinas sintetizados por nuestro grupo (figura 107).¹⁶⁸ El estudio demostró que los derivados de naftiridinas sintetizados mostraron una alta actividad de inhibición de la LTopI.

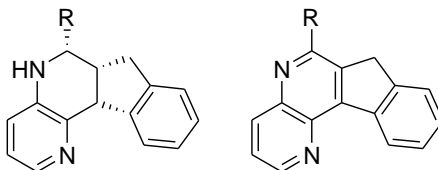


Figura 107. Indeno[1,5]naftiridinas sintetizadas por nuestro grupo.

²⁰⁴ A. Mishra, J. Vinayagam, S. Saha, S. Chowdhury, S. Roychowdhury, P. Jaishankar, H. K. Majumder, *Mol. Med.*, **2000**, *6*, 527-541.

III – 3. Evaluación de la actividad antileishmaniasica de los derivados 5, 9 y 10

Como se ha mencionado anteriormente, la LTopI es una de las posibles dianas contra la leishmaniasis. Por lo tanto, en vista de los resultados obtenidos contra la topoisomerasa I humana, decidimos evaluar la actividad antileishmaniasica de los derivados fosforados preparados.

Los experimentos relacionados con la inhibición y el efecto citotóxico contra TopI de la *leishmania infantum* se realizaron por el grupo del profesor Rafael Balaña en el Departamento de Ciencias Biomédicas de la Universidad de León.

El efecto de los compuestos sobre una subunidad de topoisomerasa del tipo I de la *leishmania infantum* (LTopIIs) se examinó mediante ensayos de relajación de ADN de plásmido pSK. Los compuestos a evaluar se usaron en una concentración de 100 μM y los productos de reacción se resolvieron en un gel de agarosa y posteriormente se visualizaron mediante tinción con bromuro de etidio.

En las figuras 27, 28 y 29 se muestra los resultados (geles) de los compuestos **5j**, **9e** y **10f**. El ensayo de relajación usando la tetrahydroquinolina fosforada **5j** (figura 108), muestra una inhibición clara de la actividad de LTopIB hasta 16 minutos (líneas 3-6) por lo que el efecto inhibitor del compuesto **5j** es, aparentemente, más fuerte que el efecto de la CPT. El control (C, línea 1) es la mezcla de reacción más 10% de DMSO.

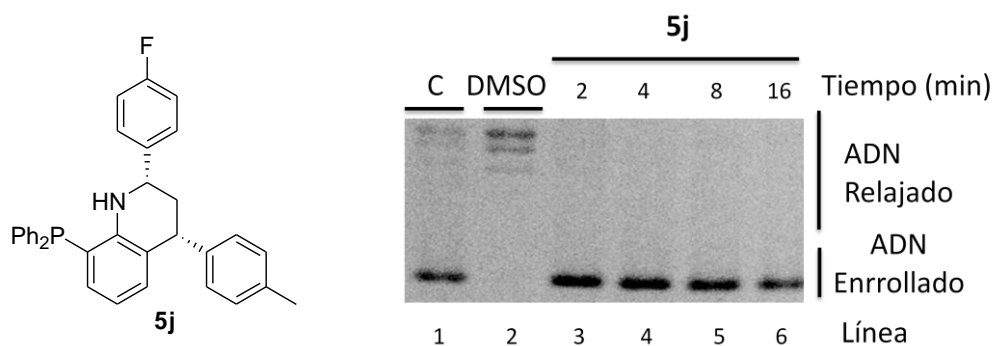


Figura 108. Ensayo de inhibición del compuesto **5j**.

En la figura 109 se muestra el ensayo de relajación usando la tetrahydroquinolina fosforada **9f**. El resultado muestra una inhibición clara de la actividad de LTopIB hasta 4 minutos (líneas 3 y 4), sin embargo, el efecto inhibitor del compuesto **9f** cesa a los 8 y 16 minutos (comparar las líneas 3 y 4 con las líneas 5 y 6).

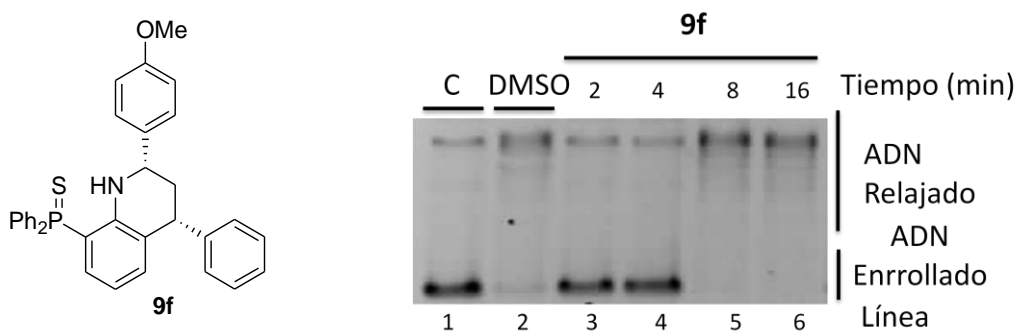


Figura 109. Ensayo de inhibición del compuesto **9f**.

A continuación, se realizó el ensayo de relajación usando la tetrahydroquinolina fosforada **10k** (figura 110). El resultado no muestra ninguna inhibición de la actividad de LTopIB en ningún caso (líneas 3-6).

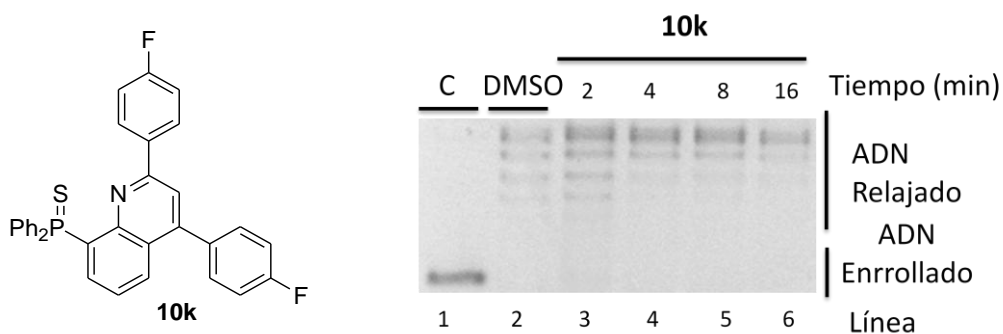


Figura 110. Ensayo de inhibición del compuesto **10k**.

En la tabla 39 se recogen los datos de inhibición para los derivados **5**, **9** y **10**. Tal y como se puede observar, los únicos compuestos que obtuvieron una alta inhibición de la LTopIB fueron las 1,2,3,4-tetrahidroquinolinilfosfinas **5** (tabla 39, entradas 1-3). Cuando la LTopIB se incubó con los compuestos a evaluar a diferentes concentraciones durante un período de 5 min, se obtuvieron curvas de dosis / respuesta que nos permitieron calcular los valores de IC_{50} . Estos valores oscilaron entre 23.6 y 54.21 μ M, siendo el compuesto **5k** el más activo con un $IC_{50} = 23.64 \pm 0.86 \mu$ M. Cabe añadir, que el compuesto que mejor resultado muestran presentan un grupo metoxi ($R^2 = \text{MeO}$) en su estructura.

En cuanto a los sulfuros de quinolina, los compuestos **9f** y **10j** ($IC_{50} = 93.73 \pm 3.47 \mu$ M y $IC_{50} = 34.28 \pm 0.91 \mu$ M en LTopIB, respectivamente, tabla 39, entradas 5 y 7), mostraron actividad de inhibición frente a la LTopIB a tiempos cortos de reacción, pero a 8 minutos y 16 minutos se pudo observar que la TopI era capaz de reaccionar en presencia de nuestros compuestos y relajar el ADN. En este caso, los sustituyentes fluorados no parecen incrementar la capacidad de inhibición de los compuestos.

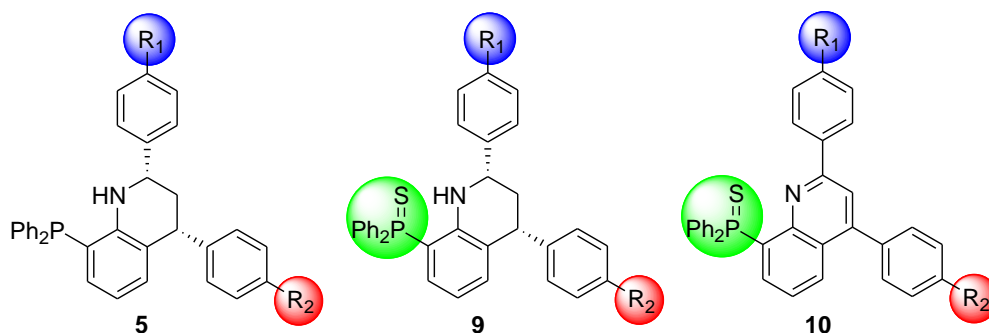


Tabla 39. Resultados de inhibición de los derivados de quinolinas fosforadas.

Entrada	Compuesto	R ¹	R ²	Tiempo (min)				Inhibición LTopIB IC ₅₀ (μM)
				2	4	8	16	
1	CPT	-	-					
2	5f	H	F	+++	+++	+++	+++	54.21 ± 2.39
3	5j	F	Me	+++	+++	+++	+++	47.85 ± 0.38
4	5k	OMe	Me	+++	+++	+++	+++	23.64 ± 0.86
5	9f	OMe	H	+++	+++	-	-	93.73 ± 3.47
6	9g	NO ₂	H	-	-	-	-	NI
7	10j	CF ₃	F	+++	++	-	-	34.28 ± 0.91
8	10k	F	F	-	-	-	-	NI

A continuación se realizaron los experimentos de citotoxicidad frente a promastigotes, amastigotes y esplenocitos. Como se ha mencionado anteriormente, los parásitos de leishmania tienen dos formas morfológicas, denominadas promastigote y amastigote (figura 103), que se encuentran en los huéspedes de las moscas de la arena y en los mamíferos respectivamente. Por otro lado, los esplenocitos son células producidas en el bazo no infectado de los animales de experimentación. El bazo produce un número de células blancas en la sangre, llamadas macrófagos, que juegan un papel importante en la función inmune. En nuestro caso, se utilizaran esplenocitos provenientes del bazo de ratón.

En general, se puede indicar que en todos los tetrahydroquinolinilfosfinas **5** y sulfuros de tetrahydroquinolinilfosfinas **9** se observa una mayor citotoxicidad en amastigotes que en promastigotes. Esta selectividad no es observada en los sulfuros de quinolinilfosfinas **10**. Especialmente en el compuesto **5f** (tabla 40, entrada 1) el cual contiene un átomo de flúor ($R^1 = F$) en la posición 4 del anillo aromático superior se observa una alta actividad antileishmanicida tanto en la forma amastigote ($EC_{50} = 1.75 \mu M$) como en la forma de promastigote ($EC_{50} = 3.14 \mu M$). De forma similar ocurre con los derivados **5j** (tabla 40, entrada 2) y **5k** (tabla 40, entrada 3). Sin embargo, en ambos casos el efecto antiproliferativo sobre los promastigotes es mucho menor ($EC_{50} = 20.91 \mu M$ para la entrada 2, y $EC_{50} = 27.72 \mu M$ para la entrada 3). Por otro lado, los compuestos derivados de sulfuro de 1,2,3,4-tetrahydroquinolinil fosfinas **9f** y **9g** (tabla 40, entradas 4 y 5), mostraron una alta actividad frente los amastigotes ($EC_{50} = 0.61 \mu M$ y $EC_{50} = 2.73 \mu M$ respectivamente), sin embargo, mostraron índices de citotoxicidad más altos frente a los promastigotes ($EC_{50} = 10.66 \mu M$ y $EC_{50} = 36.68 \mu M$ respectivamente). Análogamente, **9f** es el compuesto con un índice de selectividad ($IS = 56.87$) más alto.

Por otro lado, para los experimentos de citotoxicidad, es importante tener en cuenta que los compuestos deben matar al parásito sin dañar la célula huésped. Este comportamiento es evaluado mediante "índices de selectividad (IS), es decir, el cociente de la concentración de esplenocitos no infectados entre la concentración necesaria para inhibir el crecimiento de amastigotes. En cuanto a los resultados de los valores de citotoxicidad en la *leishmania infantum* de los derivados de quinolina **5**, **9** y **10** (tabla 40), se puede deducir que los índices de selectividad (IS) son, en algunos casos altos, lo que significa que los compuestos no matan a los macrófagos y por lo tanto son interesantes en términos de actividad antileishmanicida. Por ejemplo, los compuestos **5f** y **9f** (tabla 40, entradas 1 y 4) poseen índices de selectividad de 51.78 y 56.87 siendo los compuestos que muestran la mayor selectividad, es decir, son los compuestos que mas matan al parásito sin dañar la célula huésped. Los compuestos **10** no mostraron valores citotóxicos elevados para esplenocitos, siendo todos ellos superiores a $50 \mu M$. Sin embargo, dado que el efecto en amastigote no se pudo medir con precisión más allá de $10 \mu M$, no se determinó el índice de selectividad para estos compuestos.

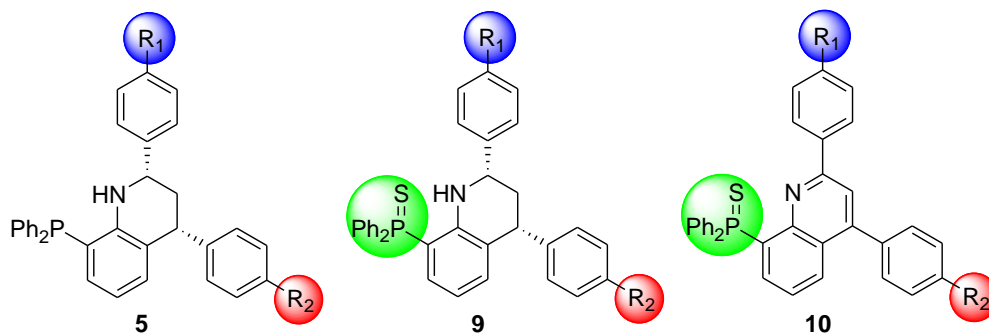


Tabla 40. Resultados de citotoxicidad de los derivados de quinolinas fosforadas.

Entrada	Compuesto	R ¹	R ²	EC ₅₀ (μM) <i>L. infantum</i>		EC ₅₀ (μM) esplenocitos	IS
				promastigotes	amastigotes		
1	5f	H	F	3.14 ± 0.04	1.75 ± 0.51	90.62 ± 8.11	51.78
2	5j	F	Me	20.91 ± 7.00	1.79 ± 1.33	46.97 ± 5.25	26.24
3	5k	MeO	Me	27.72 ± 2.36	5.96 ± 0.91	>50	>8.6
4	9f	MeO	H	10.66 ± 0.53	0.61 ± 0.18	34.69 ± 1.54	56.87
5	9g	NO ₂	H	36.38 ± 1.89	2.73 ± 0.57	57.03 ± 2.39	20.89
6	10j	CF ₃	F	8.83 ± 1.20	>10	89.71 ± 3.21	ND
7	10k	F	F	11.02 ± 3.49	>10	92.06 ± 0.98	ND
8	AMB	-	-	0.77 ± 90.15	0.32 ± 0.05	>20	62.5

EC: Concentración necesaria para matar al 50% de la población celular a testar.

Capítulo IV

Conclusiones

IV – 1. Conclusiones

La reacción de cicloadición [4+2] (reacción de Povarov) multicomponente de aldiminas derivadas de anilinas fosforadas y aldehídos aromáticos con estirenos en presencia de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ como catalizador, dio lugar, a través de un proceso *via endo*, a las 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfinas y sulfuros de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfinas de forma regio- y diastereoselectiva y con unos buenos rendimientos. Los sulfuros de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfina fueron obtenidos también mediante el tratamiento de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfinas con azufre molecular.

Con el objetivo de incrementar la diversidad de los policíclicos, los sulfuros de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfina se hicieron reaccionar con DDQ dando lugar a los respectivos sulfuros de quinolinil-8-fosfina.

La actividad biológica de los derivados de quinolina fosforadas sintetizados fue evaluada mediante estudios de inhibición de la topoisomerasa I y estudios *in vitro* de citotoxicidad frente a diferentes líneas celulares cancerígenas (A549, SKOV3, HEK3 y BT20) y una línea celular no cancerosa (MRC5).

Las 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfinas, en la mayoría de los casos, mostraron una elevada actividad de inhibición a todos los tiempos de reacción superando así al inhibidor de referencia (CPT). Por otro lado, los derivados de sulfuros de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfina y sulfuros de quinolinil-8-fosfina mostraron menor actividad de inhibición que los derivados de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfinas. Sin embargo, hay que destacar que, aunque algunos de los derivados mostraron buena actividad de inhibición hasta los 3 minutos de reacción superando así los valores de la CPT, ya que como se ha mencionado, la CPT debido a su inestabilidad deja de inhibir a los 3 minutos de reacción.

En cuanto a la citotoxicidad de los derivados de quinolinas fosforadas, la línea celular de cáncer de pulmón (A549) fue en la que se observó más actividad antiproliferativa. Los compuestos **5h** ($R^1 = \text{F}$, $R^2 = \text{F}$), **9e** ($R^1 = 3\text{-}4\text{-F}_2$, $R^2 = \text{H}$) y **9k** ($R^1 = \text{F}$, $R^2 = \text{F}$) fueron los derivados que mejores resultados mostraron, en el rango de nanomolar, frente a la línea celular de cáncer de pulmón (A549), siendo $\text{IC}_{50} = 80 \pm 10 \text{ nM}$, $\text{IC}_{50} = 80 \pm 30 \text{ nM}$ y $\text{IC}_{50} = 30 \pm 20 \text{ nM}$, respectivamente.

Además, se evaluaron los derivados de quinolinas fosforadas como agentes antileishmaniásicos y todas las 1,2,3,4-tetrahidroquinolinil-8-fosfinas evaluadas mostraron una elevada actividad como inhibidores de topoisomerasa I de *Leishmania*. Por otro lado, la mayoría de compuestos mostraron actividad citotóxica frente al parásito *L. Infantum*, siendo el compuesto **5f** ($R^1 = H$, $R^2 = F$), el que mejores resultados mostró. En cuanto a los índices de selectividad ($IS = [EC_{50} \text{ esplenocitos}] / EC_{50} \text{ esplenocitos}$), se observó que en el caso de los derivados de 1,2,3,4-tetrahidroquinolinas fosforadas la selectividad era elevada.

Por otro lado, la reacción [4+2] (reacción de Povarov) intramolecular de aldminas derivadas de aminopiridina y aldehídos aromáticos que presentan dobles enlaces en su estructura, dieron lugar, en presencia de ácido trifluoroacético o $BF_3 \cdot Et_2O$ como catalizador, a derivados de 6,6a,7,12a-tetrahidro[1,5]naftiridinas y 6,6a,7,12a -tetrahidro[1,8]naftiridinas fusionadas con otros heterociclos (cromenos, cromenonas, quinolinas y quinolinonas).

La reacción de deshidrogenación con DDQ de las 6,6a,7,12a -tetrahidronaftiridinas fusionadas, dio lugar de forma casi cuantitativa a los derivados de naftiridinas fusionadas correspondientes. Además, estos compuestos se pudieron obtener directamente deshidrogenados cuando se estudió la reacción [4+2] (reacción de Povarov) intramolecular de aldminas derivadas de aminopiridina y aldehídos aromáticos que presentan triples enlaces en su estructura.

La estudio de ácido trifluoroacético como catalizador en la reacción de Povarov con iminas derivadas de 2-aminopiridinas dio lugar a la obtención de aminoalcoholes obtenidos por ataque nucleófilo intramolecular de la olefina al carbono imínico. El posterior estudio de la reacción de ciclación de estos aductos mediante catálisis metálica con rodio permitió la obtención de una nueva familia de compuestos, las pirido[1,2a]pirimidinas condensadas.

La actividad biológica de todos los derivados de [1,5]naftiridinas, [1,8]naftiridinas y pirido[1,2a]pirimidina sintetizados fue evaluada mediante estudios de inhibición de la topoisomerasa I y estudios *in vitro* de citotoxicidad frente a diferentes líneas celulares cancerígenas (A549 y SKOV3) y una línea celular no cancerosa (MRC5).

Por un lado, los derivados de naftiridinas fusionadas con cromenos y cromenonas no mostraron una alta actividad como inhibidores de la Top I. Por otro lado, derivados de naftiridinas fusionadas con quinolinas y quinolinonas, y la pirido[1,2a]pirimidina mostraron elevada inhibición en todos los casos, incluso a tiempos largos de reacción superando así la capacidad de la CPT.

En la mayoría de los casos, las naftiridinas estudiadas no mostraron una alta actividad antiproliferativa frente a las diferentes líneas celulares, siendo la línea de cáncer de pulmón (A549) donde se observó la mayor selectividad. Los mejores resultados se obtuvieron con los compuestos **33a**, **55** y **61** en la línea celular de pulmón (A549) con unos valores citotóxicos de $IC_{50} = 1.03 \pm 0.30 \mu\text{M}$, $IC_{50} = 1.23 \pm 0.21 \mu\text{M}$ y $IC_{50} = 3.18 \pm 0.38 \mu\text{M}$, respectivamente.

Capítulo V

Parte experimental

V – 1. Técnicas analíticas generales

V – 1.1. Técnicas analíticas

RMN: Los espectros de resonancia magnética nuclear de ^1H (300, 400 MHz), ^{13}C (75, 100 MHz) y ^{31}P RMN (120, 160 MHz) se realizaron bien en un espectrómetro Varian Unity Plus (300 MHz) o en un espectrómetro Bruker Avance 400 (400 MHz), mientras que los experimentos NOESY, HMQC y HMBC se realizaron en un espectrómetro Bruker Avance 400 (400 MHz). La temperatura de realización de los experimentos fue de 30 °C si no se especifica lo contrario. Los disolventes empleados fueron cloroformo deuterado (CDCl_3), dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6), metanol deuterado (CD_3OD) y agua deuterada (D_2O). Los valores de los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm) respecto al tetrametilsilano (TMS, $\delta = 0.00$ ppm) como patrón interno para los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN. Se utilizaron capilares con una disolución acuosa al 85% de ácido fosfórico (H_3PO_4) para calibrar los espectros de ^{31}P RMN ($\delta_{\text{P}} = 0.00$ ppm). Las constantes de acoplamiento se expresan en Hz y la multiplicidad de las señales se representa como s (singlete), sa (singlete ancho), d (doblete), dd (doble doblete), ddd (doble doblete de dobletes), dt (doblete de tripletes), t (triplete), q (cuadruplete) y m (multiplete).

MS: Los espectros de masas (MS) de baja resolución obtenidos por impacto electrónico (EI) se realizaron en un espectrómetro Hewlett Packard 5973 (Mass Selective Detector) a 50–70 V utilizando una columna TRB-1 (100% metilpolisiloxano, 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm). Los espectros de masas obtenidos por ionización química (APCI) se realizaron en un espectrómetro de masas Hewlett Packard 1100 MSD utilizando un voltaje en el fragmentador que osciló entre los 40 y los 120 V. Los datos que se proporcionan están expresados en unidades de masa/carga (m/z) y los valores entre paréntesis corresponden a las intensidades relativas al pico base (100%).

HMRS: Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) se realizaron, en algunos casos, en un espectrómetro Finnigan modelo MAT95S de sector magnético para la medida de masas exactas. La introducción de muestra fue realizada, según los casos, por sonda de inserción directa DIP a la fuente de iones o bien a través de un cromatógrafo de gases modelo HP6890. La ionización se llevó a cabo mediante EI. En otros casos la medida de la masa exacta se realizó en un espectrómetro Micromass

AutoSpec. La introducción de la muestra fue a través de columna y la ionización tuvo lugar también mediante EI. Sin embargo, en la mayoría de las ocasiones la medida de la masa exacta se realizó en un espectrómetro LC/Q-TOF (ESI) a 70 eV con fuente de ionización electrospray Agilent Jet Stream.

P.F: Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de puntos de fusión digital electrotérmico BÜCHI MPB-450 empleando tubos capilares abiertos. Los valores vienen dados en grados Celsius y no están corregidos.

V – 1.2. Cromatografía

El seguimiento de algunas reacciones y de las eluciones mediante columnas cromatográficas se llevó a cabo por cromatografía en capa fina (TLC) utilizando gel de sílice soportado sobre placas de aluminio (Alugram, SIL G/UV254) o alúmina neutra (Alugram, ALOX N/UV254). La visualización se llevó a cabo mediante luz ultravioleta empleando una lámpara de UV VL-6C ($\lambda = 254$ nm) y/o revelado tras contacto con una disolución de KMnO_4 (3.0 g)/ K_2CO_3 (20.0 g)/disolución acuosa de NaOH al 5% (5 ml) en agua (300 ml). La purificación de los compuestos se realizó mediante cromatografía flash en columna empleando gel de sílice como fase estacionaria (Merck, Kieselgel 100, 70–230 mesh de partícula con 60 Å). Como fase móvil se emplearon mezclas de disolventes en las proporciones adecuadas que se especifican en cada caso.

V – 1.3. Disolventes y reactivos

Los disolventes empleados como eluyentes en cromatografía y para la recristalización de compuestos fueron comerciales de alta pureza, mientras que aquéllos empleados en el tratamiento de las reacciones fueron de calidad industrial de menor riqueza. Los disolventes anhidros utilizados en las reacciones fueron secados sobre tamiz molecular de 70 Å, secado previamente utilizando un microondas doméstico. También se dispuso de un purificador de disolventes Innovate Technology PS-400-5-MD para tolueno, tetrahidrofurano. Los disolventes de grado HPLC, fueron utilizados sin tratamiento previo. Los reactivos químicos se adquirieron de diferentes casas comerciales (Sigma-Aldrich, Merck, Fluka, Acros, etc.), se almacenaron siguiendo las pautas del proveedor y no fueron purificados previamente, a no ser que se especifique lo contrario.

Las destilaciones se llevaron a cabo en sistemas de destilación ordinarios a presión atmosférica o reducida con trompa de agua (10–15 mmHg) o mediante el uso de bombas de vacío (0.5 mmHg). Las microdestilaciones se efectuaron en un microdestilador de bolas Kügelrohr Büchi B-585. La eliminación de los disolventes de reacción, o aquéllos provenientes de columnas cromatográficas o extracciones, se llevó a cabo a presión reducida en rotavapores Heidolph Laborata 4001 y Buchi R-3000.

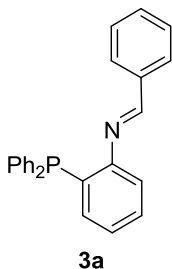
Todas las reacciones fueron llevadas a cabo bajo atmósfera inerte de nitrógeno seco. El nitrógeno necesario fue conducido desde un generador, y se secó previamente haciéndolo pasar a través de una columna de CaCl_2 y SiO_2 blue 2–5 mm. Todo el material de vidrio empleado fue secado previamente antes de su uso en estufa o bien fue flameado a vacío y enfriado en atmósfera inerte. La transferencia de los disolventes se realizó mediante jeringa o vía cánula.

Los reactivos empleados fueron comerciales (Sigma-Aldrich, Merck, Acros, Fluka, FluoroChem y Lancaster) y no fueron purificados previamente. El hidruro sódico se lavó tres veces con THF seco, para eliminar las trazas de aceite mineral, antes de su utilización.

V – 2. Parte experimental: Síntesis de compuestos

V – 2. 1. Parte experimental Capítulo I

5.2.1. N-benciliden-2-(difenilfosfino)anilina (3a)

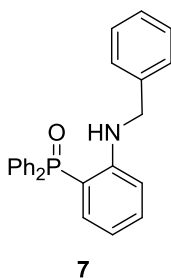


A una disolución de 2-(difenilfosfino)anilina preparada mediante el procedimiento descrito en la bibliografía²⁰⁵ (2.773 g, 10 mmol) en CHCl₃ (30 ml), se adicionó benzaldehído (1.016 ml, 10 mmol), ácido trifluoroacético (3 gotas) y tamiz molecular (4 Å). La mezcla fue agitada a reflujo durante 16 h. El compuesto **3a** es inestable y no se pudo purificar ni por destilación ni por cromatografía, por lo que fue usado sin purificación previa para las siguientes reacciones.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ= 6.61-7.44 (m, 17H, H_{arom}), 7.62-7.71 (m, 2H, H_{arom}), 8.16 (d, 1H, H_{imina}) ppm.

³¹P NMR (120 MHz, CDCl₃) δ: - 13.21 ppm.

5.2.2. Óxido de 2-(bencilaminofenil)difenilfosfina (7)



A una disolución de 2-(difenilfosfino)anilina (10mmol, 2.773g) en CHCl₃ (25 mL), se añadió benzaldehído (1.016 mL, 10 mmol) y BF₃·Et₂O (2.461 mL, 20 mmol). La mezcla se agitó a reflujo durante 12 h. El crudo de reacción fue lavado con NaOH (disolución acuosa 2 M, 50 mL) y H₂O (50 mL) y se hizo una extracción con CH₂Cl₂ (2 x 25 mL). Los extractos fueron secados con MgSO₄ anhidro y la evaporación del disolvente condujo a un aceite que fue purificado por cromatografía flash en columna (eluyentes: Hexano/AcOEt 80:20) para dar el compuesto **7** (3.105 g, 81%) como un sólido blanco.

Punto de fusión: 209-210-°C (hexano/AcOEt).

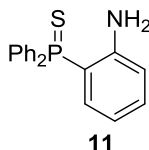
²⁰⁵ M. K. Cooper, J. M. Downes, P. A. Duckworth, *Inor. Synth.*, **1989**, 25, 129.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 4.39 (s, 1H, NH), 4.43 (d ²J_{HH} = 5.7 Hz, 2H, CH₂), 6.39-8.24 (m, 19 H, H_{arom}) ppm.

¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃): δ=46.7 (CH₂), 111.8 (d, ²J_{CP} = 8.7 Hz, HC_{arom}), 112.5 (d, ¹J_{CP} = 107.7 Hz, C_{arom}), 115.9 (d, ³J_{CP} = 13.2 Hz, HC_{arom}), 120.6 HC_{arom}, 125.6-134.0 (m, 16 HC_{arom} and 2 C_{arom}), 143.7 (HC_{arom}), 152.7 (d, ²J_{CP} = 4.4 Hz, C_{arom}).

³¹P NMR (120 MHz, CDCl₃) δ: 37.3 ppm.

5.2.3. Sulfuro de (2-aminofenil)difenilfosfina (**11**)



A una disolución de 2-(difenilfosfino)anilina (2.773 g, 10 mmol) en tolueno (30 mL) se añadió azufre molecular S₈ (0.28 mmol, 0.0072 g). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 h. La eliminación de disolvente a presión reducida dio lugar a un sólido amarillo que fue purificado mediante cromatografía en sílica gel (eluyentes: Hexano/AcOEt 80:20) para obtener 2.81 g, 9.1 mmol (91%) del producto **11** como un sólido blanco.

Punto de fusión: -182-183 °C (hexano/AcOEt)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.94 (s, 2H, NH₂), 6.48-7.89 (m, 14 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 112.7 (d, ¹J_{CP} = 87.7 Hz, C_{arom}), 117.5 (d, ³J_{CP} = 12.3 Hz, HC_{arom}), 117.8 (d, ³J_{CP} = 7.9 Hz, HC_{arom}), 128.7-133.5 (m, 12 HC_{arom} and 2 C_{arom}), 151.03 (d, ²J_{CP} = 4.9 Hz, C_{arom}) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 40.7 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₃H₂₈NP [M]⁺ 383.1439, encontrado 383.1453.

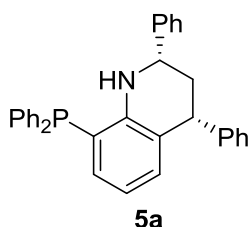
Síntesis de (1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il) difenilfosfinas (5)

Procedimiento General

Una mezcla de 2-(difenilfosfino)anilina (10 mmol, 2.773 g), aldehído recién destilado (10 mmol), estireno (10 mmol) y $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (3.691 mL, 30 mmol) en CHCl_3 (25 mL) y en presencia de tamiz molecular (4 Å) fue agitada a reflujo hasta que se observó mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN y ^{31}P -RMN el consumo completo de los productos de partida. La mezcla de reacción se disolvió en diclorometano (20 mL), se lavó con una solución acuosa de NaOH 2 M (20 mL) y con agua (20 mL), se extrajo con diclorometano (20 mL) y se secó con MgSO_4 . El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 90:10) para obtener los compuestos **5**.

(2,4-Difenil-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina (**5a**)

Se siguió el procedimiento general, utilizando benzaldehído **2a** (10 mmol, 1.016 mL) y estireno (20 mmol, 2.291 mL) durante 48 h y observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por ^1H -RMN y ^{31}P -RMN. Se obtuvieron 3.240 g (69%) del compuesto **5a** como un sólido blanco.



Punto de fusión: 110-111°C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.86 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 13$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 13$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 13$ Hz, 1H, CH_2), 1.97-2.04 (m, 1H, CH_2), 3.63 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 13$ Hz, 1H, CH), 3.90-3.92 (m, 1H, NH), 4.17 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.1$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 13$ Hz, 1H, CH), 6.49-7.53 (m, 23 H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 45.4 (CH), 61.3 (CH_2), 61.9 (CH), 117.4 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.1$ Hz, HC_{arom}), 120.4 (d, $^1J_{\text{CP}} = 106$ Hz, C_{arom}), 126.3-128.4 (m, 14 HC_{arom}), 130.8-131.7 (m, 8 HC_{arom}), 134.9 (d, $^3J_{\text{CP}} = 20$ Hz, C_{arom}), 136.4 C_{arom} , 139.1 C_{arom} , 143.2 ($^1J_{\text{CP}} = 72$ Hz, 2 C_{arom}), 153.9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 3.4$ Hz, C_{arom}).

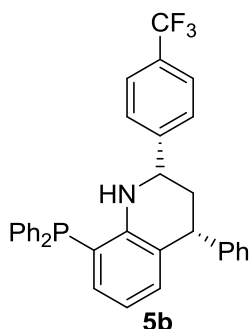
^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 31.03 ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{NP}$ $[\text{M}]^+$ 469.1959, encontrado 469.1954.

(4-Fenil-2-(4-trifluorometilfenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina (5b)

Se siguió el procedimiento general, utilizando 4-trifluorometilbenzaldehído **2b** (10 mmol, 1.365mL) y estireno (20 mmol, 2.291mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los productos de

partida por análisis del crudo de reacción por $^1\text{H-RMN}$ y $^{31}\text{P-RMN}$. Se obtuvieron 3.494 g (65%) del compuesto **5b** como un sólido blanco.



Punto de fusión: 114-115°C (hexano/AcOEt).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.72 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, CH_2), 2.12-2.17 (m, 1H, CH_2), 4.15 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, HC), 4.31-4.32 (m, 1H, NH) 4.69 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, HC),

7.02-7.69 (m, 22 H, H_{arom}) ppm.

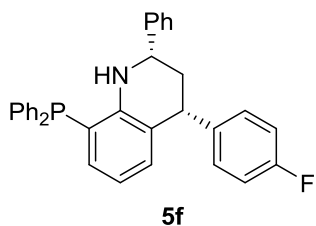
$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 45.2 (CH), 61.6 (CH_2), 62.7 (CH), 119.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 15.1$ Hz, HC_{arom}), 120.4 (d, $^1J_{\text{CP}} = 106$ Hz, C_{arom}), 124.3 (q, $^1J_{\text{CF}} = 270$ Hz, CF_3), 125.3-137.2 (m, 22 HC_{arom} and 4 C_{arom}), 143.2 ($^3J_{\text{CP}} = 22.4$ Hz, C_{arom}), 146.8 (C_{arom}), 153.3 (C_{arom}) ppm.

$^{31}\text{P-RMN}$ (120 MHz, CDCl_3): δ = 31.03 ppm.

$^{19}\text{F-RMN}$ (282 MHz, CDCl_3): δ = -62.8 a -62.9 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{NP}$ $[\text{M}]^+$ 537.1833; encontrado 537.1828.

(2-Fenil-4-(4-fluorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina (5f)



Se siguió el procedimiento general, utilizando benzaldehído **2d** (10 mmol, 1.016mL) y 1-fluor-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.292 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por ^1H -RMN y ^{31}P -RMN. Se obtuvieron 3.312 g (69%) del compuesto **5f** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 115-117°C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.81-2.12 (m, 2H, CH_2), 3.73 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.5$ Hz, 1H, HC), 4.04-4.12 (m, 1H, NH) 4.25 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.5$ Hz, 1H, HC), 6.48-7.87. (m, 22 H, H_{arom}) ppm.

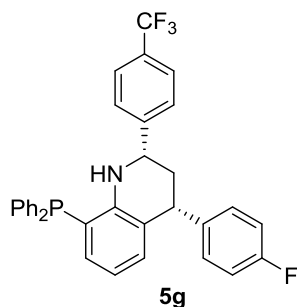
^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 44.3 (CH), 61.3 (CH_2), 61.9 (CH), 115.5 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.4$ Hz, 2 HC_{arom}), 118.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.8$ Hz, HC_{arom}), 120.0-142.4 (m, 19 HC_{arom} , and 6 C_{arom}), 153,9 (d, $^2J_{\text{CP}} = 3.4$ Hz, C_{arom}), 161.6 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245.5$ Hz, FC_{arom}) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 30.6 ppm.

^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3): δ = -116.1, ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{FNP}$ $[\text{M}]^+$ 487.1865, encontrado 487,1859.

(4-(4-Fluorofenil)-2-(4-trifluorometilfenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina (5g).



Se siguió el procedimiento general utilizando 4-trifluorobenzaldehído **2b** (10 mmol, 1.365 mL) y 1-fluor-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.292 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por $^1\text{H-RMN}$ y $^{31}\text{P-RMN}$. Se obtuvieron 3.111 g (56%) del compuesto **5g** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 245-246°C (hexano/AcOEt).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.87 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, CH_2), 2.12-2.20 (m, 1H, CH_2), 3.74 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, HC), 4-12-4.20 (m, 1H, NH) 4.29 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, HC), 6.71-7.82. (m, 21 H, H_{arom}) ppm.

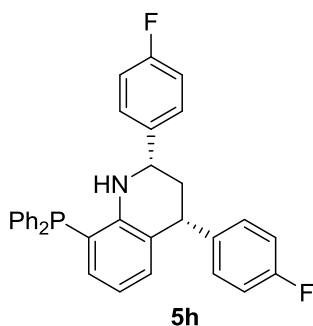
$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 44.3 (CH), 61.3 (CH_2), 62.4 (CH), 115.7 (d, $^2J_{\text{CF}} = 21.3$ Hz, 2 HC_{arom}), 119.2-138.4 (m, 21 HC_{arom} , CF_3 and 3 C_{arom}), 143.0 (2 C_{arom}), 146.5 (C_{arom}), 153.4 (C_{arom}), 162.3 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245.6$ Hz, FC_{arom}) ppm ;

$^{31}\text{P-RMN}$ (120 MHz, CDCl_3): δ = 30.9 ppm.

$^{19}\text{F-RMN}$ (282 MHz, CDCl_3): δ = -115.8, -62.8 ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{F}_4\text{NP}$ $[\text{M}]^+$ 555.1739; encontrado 555.1743.

2,4-Bis-(4-fluorofenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (5h)



Se siguió el procedimiento general utilizando 4-fluorobenzaldehído **2d** (10 mmol, 1.072 mL) y 1-fluor-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.385 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por $^1\text{H-RMN}$ y $^{31}\text{P-RMN}$. Se obtuvieron 3.586 g (71%) del compuesto **5h** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 118-119°C (hexano/AcOEt).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.87 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, 1H, CH_2), 2.00-2.10 (m, 1H, CH_2), 3.69 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, 1H, HC), 3.97-4.03 (m, 1H, NH) 4.20 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, HC), 6.48-7.09. (m, 13 H, H), 7.41-7.84 (m, 8 H, H) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 44.4 (CH), 60.8 (CH_2) 61.5 (HC), 115.0-115.8 (m, 4 HC), 118.7 (d, $^3J_{\text{CP}} = 12.0$ Hz, HC), 120.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 98$ Hz, C), 128,4-138.8 (m, 16 HC and 5C_{arom}), 153.6 (d, $^2J_{\text{CP}} = 3.2$ Hz, C), 162.2 (d, $^1J_{\text{CF}} = 244.9$ Hz, FC), 162.7 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245.2$ Hz, FC) ppm.

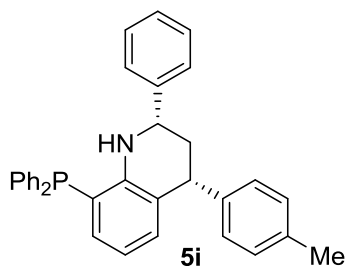
$^{31}\text{P-RMN}$ (120 MHz, CDCl_3): δ = 30.6 ppm.

$^{19}\text{F-RMN}$ (282 MHz, CDCl_3): δ = -116.1 a -116.0 (m), -116.0 a -115.9 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{NP}$ $[\text{M}]^+$ 505.1771; encontrado 505.1743.

(2-Fenil-4-(4-metilfenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina

(5i)



Se siguió el procedimiento general, a partir del benzaldehído **2a** (10 mmol, 1.016 mL) y 1-metil-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.640 mL) durante 48 h observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por $^1\text{H-RMN}$ y $^{31}\text{P-RMN}$. Se obtuvieron

3.285 g (68%) del compuesto **5i** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 129-131°C (hexano/AcOEt).

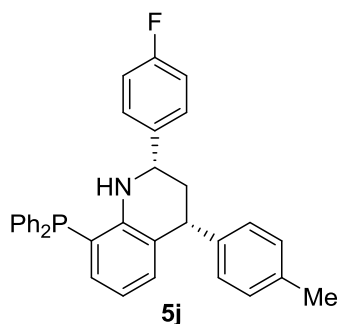
$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.92-2.43 (m, 5 H, CH_2 and CH_3), 3.74 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.3$ Hz, 1 H, HC), 3.95-4.15 (m, 1 H, NH) 4.31 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.3$ Hz, 1 H, HC) 6.60-7.86 (m, 22 H, H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 21.4 (CH_3), 44.9 (CH), 61.6 (CH_2), 62.3 (CH), 118.2 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.8$ Hz, HC_{arom}), 120.7 (d, $^1J_{\text{CP}} = 106.3$ Hz, C_{arom}), 126.3-137.7 (m, 20 HC_{arom} and 3 C_{arom}), 139.5 HC_{arom} , 140.5 C_{arom} , 142.9 (2 C_{arom}), 154.3 (d, $^2J_{\text{CP}} = 3.4$ Hz, C_{arom}) ppm.

$^{31}\text{P-RMN}$ (120 MHz, CDCl_3): δ = 30.7 ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{NP}$ $[\text{M}]^+$ 483.2116; encontrado 483.2124.

(2-(4-fluorofenil)-4-(4-metilfenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina 5j



Se siguió el procedimiento general utilizando 4-(fluorobenzaldehído **2d** (10 mmol, 1.072 mL) y 1-metil-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.640 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por $^1\text{H-RMN}$ y $^{31}\text{P-RMN}$. Se obtuvieron 3.558 g (71%) del compuesto **5j** como un

sólido blanco.

Punto de fusión: 126-127°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.85-2.42 (m, 5 H, CH₂ and CH₃), 3.69 (dd, ³J_{HH} = 3.5 Hz, ³J_{HH} = 12.5 Hz, 1 H, HC), 4.01-4.07 (m, 1 H, NH) 4.22 (dd, ³J_{HH} = 4.2 Hz, ³J_{HH} = 12.5 Hz, 1 H, HC) 6.59-7.87 (m, 21 H, H_{arom}) ppm.

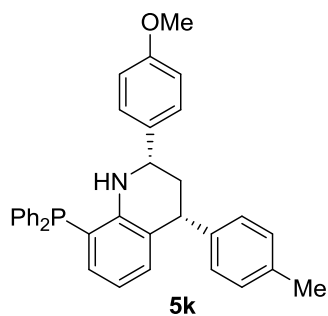
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 21.3 (CH₃), 44.9 (CH), 61.0 (CH₂), 61.7(CH), 115.4 (d, ²J_{CF} = 21.1 Hz, 2 HC_{arom}), 118.6 (d, ³J_{CP} = 13.6 Hz, HC_{arom}), 120.6 (d, ¹J_{CP} = 102.7 Hz, C_{arom}), 127.8-142.8 (m, 18 HC_{arom} and 5 C_{arom}), 153.8 (d, ²J_{CP} = 3.4 Hz, C_{arom}), 162.3 (d, ¹J_{CF} = 244.8 Hz, FC_{arom}) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 30.6 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -116.8 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₄H₂₉FNP [M]⁺ 501.2022; encontrado 501.2024.

(4-(4-metilfenil)-2-(4-metoxifenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina (5k)



Se siguió el procedimiento general utilizando 4-metoxibenzaldehído **2c** (10 mmol, 1.219 mL) y 1-metil-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.640 mL). durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por ¹H-RMN y ³¹P-RMN. Se obtuvieron 3.698 g (72%) del compuesto **5k** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 102-103°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.92-2.52 (m, 5 H, CH₂ and CH₃), 3.82 (s, 3 H, OCH₃), 3.94-4.14 (m, 2 H, NH, CH) 4.27-4.39 (m, 1 H, CH) 6.53-7.99 (m, 21 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 21.4 (CH₃), 45.0 (CH), 55.5 (OCH₃), 61.1 (CH₂), 61.5 (CH), 114.0 (2 HC_{arom}), 118.0 (d, ³J_{CP} = 13.5 Hz, HC_{arom}), 120.4 (d, ¹J_{CP} = 103 Hz, C_{arom}), 126.6-143.2 (m, 18 HC_{arom} and 6 C_{arom}), 154.3 (d, ³J_{CP} = 3.4 Hz, C_{arom}), 158.6 (C_{arom}) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 30.3 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₅H₃₂NOP [M]⁺ 513.2222; encontrado 513.2231.

Síntesis de sulfuros de (1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9)

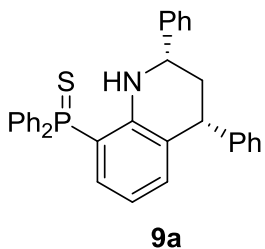
Procedimiento General A

A una disolución de la correspondiente (1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina **5** (1 mmol) en CHCl_3 (20 mL) se añadió azufre molecular (S_8 , 0.0072 g). La mezcla de reacción fue agitada y calentada a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^{31}P -RMN y ^1H -RMN, el completo consumo de los reactivos. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

Procedimiento General B

Una disolución de N-benciliden-2-(difenilfosfino)anilina **1** (10 mmol, 3.094g), aldehído recién destilado (10 mmol), estireno **4** (20 mmol) y de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (30 mmol, 3.691mL) en CHCl_3 (25mL) y en presencia de tamiz molecular (4Å) fue agitada a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^{31}P -RMN y ^1H -RMN, el completo consumo de los reactivos. La mezcla de reacción se disolvió en CH_2Cl_2 (20mL), se lavó con una solución acuosa de NaOH 2M (20mL) y con agua (20mL), se extrajo con CH_2Cl_2 (2x20mL) y se secó con MgSO_4 . El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener el producto deseado.

Sulfuro de (2,4-difenil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9a)



Se siguió el procedimiento general A utilizando (2,4-difenil-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina **5a** (1 mmol, 0.469 g) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción por ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvo una mezcla de compuestos: **9a** (0.401g 76 %) y del compuesto

aromatizado **10a** (0.044 g, 9%) como sólidos blancos.

Siguiendo el procedimiento general B, se utilizó benzaldehído (10 mmol, 1.016 mL) y estireno (20 mmol, 2.291 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción por ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 3.805 g (76%) del compuesto **9a** y 0.051 g (12%) del compuesto aromatizado **10a** como sólidos blancos.

(Ver datos del compuesto **10a** más adelante)

Punto de fusión: 102-103°C (hexano/AcOEt).

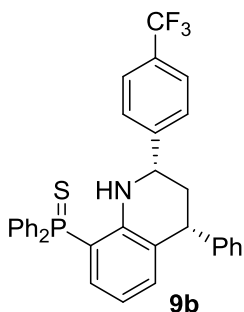
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.95-2.23 (m, 3H, NH, CH_2), 4.27 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1 H, CH), 4.74 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.6$ Hz, 1H, CH), 6.34-8.04 (m, 23 H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 41.4 (CH_2), 45.1 (CH), 57.04 (CH), 111.6 (d, $^1J_{\text{CP}} = 88.2$ Hz, C_{arom}), 115.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.2$ Hz, HC_{arom}), 120.6 (C_{arom}), 126.0-132.9 (m, 22 HC_{arom} and 2 C_{arom}), 143.9 (C_{arom}), 144.5 (C_{arom}), 148.4 (d, $^2J_{\text{CP}} = 5.6$ Hz, C_{arom}) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 40.3 ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{28}\text{NPS}$ [M] $^+$ 501.1680; encontrado 501.1671.

Sulfuro de (4-fenil-2-(4-trifluorometilfenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (**9b**)



Se siguió el procedimiento general A usando la fosfina **5b** (1 mmol, 0.538 g) durante 48 h, observándose el 99% de conversión del producto de partida por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 0.347 g (61%) del compuesto **9b** como un sólido blanco.

Cuando se usó el procedimiento general B se utilizaron 4-trifluorobenzaldehído (10 mmol, 1.365 mL) y estireno (20 mmol, 2.291 mL) durante 48 h,

observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 4.368 g (77%) del compuesto **9b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 141-142°C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.51-2.53 (m, 2H, CH_2), 2.91-3.08 (m, 1H, NH), 4.44-4.62 (m, 1H, CH), 4.86-4.98 (m, 1H, CH), 6.53-7.96 (m, 22 H, H_{arom}) ppm.

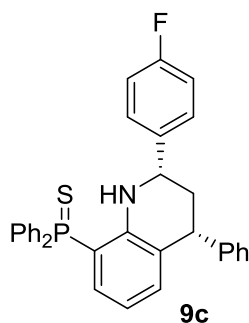
^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 40.7 (CH_2), 45.9 (CH), 55.9 (CH), 114.1 (d, $^1J_{\text{CP}} = 87.1$ Hz, C_{arom}), 117.5 (d, $^3J_{\text{CP}} = 13.5$ Hz, HC_{arom}), 121.7-134.2 (m, CF_3 , 21 HC_{arom} and 3 C_{arom}), 142.7-147.6 (m, 4 C_{arom}) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 40.1 ppm.

^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3): δ = -62.6 ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{NPS}$ $[\text{M}]^+$ 569.1554; encontrado 569.1563.

Sulfuro de (4-fenil-2-(4-fluorofenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (**9c**)



Se siguió el procedimiento general B utilizando 4-fluorobenzaldehído (10 mmol, 1.072 mL) y estireno (20 mmol, 2.291 mL) durante 48 h observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de partida por ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 4.516 g (87%) del compuesto **9c** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 173-175°C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): 1.9 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.5$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 11.5$ Hz, 1 H, CH_2), 2.16-2.21 (m, 1 H, CH_2), 4.25 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.7$, 1 H, HC), 4.70 (d, $^3J_{\text{HH}} = 11.5$ Hz, 1 H, HC), 6.38 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 2.9$ Hz, 1H), 6.38 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 2.9$ Hz, 1H), 6.62-7.19 (m, NH and 12 H), 7.44-7.78 (m, 10 H) ppm.

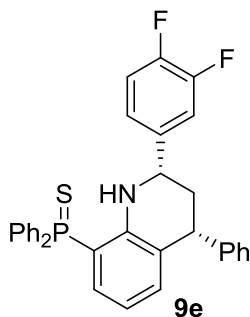
¹³C-RMN {H} (75 MHz, CDCl₃): δ = 41.4 (CH₂), 44.8 (CH), 56.2 (CH), 111.8 (d, ¹J_{CP} = 88.1 Hz, C), 115.3 (d, ³J_{CF} = 21.3 Hz, 2HC), 115.6 (d, ³J_{CP} = 13.5 Hz, HC), 123.9-133.2 (m, 19 HCand 3C), 139.4 (d, ⁴J_{CF} = 2.9 Hz, C), 144.2 (C), 148.1 (d, ²J_{CP} = 5.8 Hz, C), 161.9 (d, ¹J_{CF} = 245.0 Hz, C) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃):δ = 40.2 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃):δ = -116.0 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₃H₂₇FNPS [M]⁺ 519.1586; encontrado 519.1583.

Sulfuro de (4-fenil-2-(3,4-fluorofenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9e)



Se siguió el procedimiento general B utilizando 3,4-fluorobenzaldehído (10 mmol, 1.109 mL) y estireno (20 mmol, 2.291 mL) durante 48 h observándose el 99% de conversión de los productos de partida por análisis del crudo de reacción mediante ³¹P-RMN y ¹H-RMN. Se obtuvieron 3.491 g (65%) del compuesto **9e** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 156-158°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.75 (ddd, ²J_{HH} = 12.6 Hz, ³J_{HH} = 12.3 Hz, ³J_{HH} = 11.4 Hz, 1 H, CH₂), 2.02-2.08 (m, 1 H, CH₂), 4.11 (dd, ³J_{HH} = 12.3 Hz, ³J_{HH} = 4.5 Hz, 1 H, HC), 4.53 (dd, ³J_{HH} = 11.3 Hz, ³J_{HH} = 2.8 Hz, 1 H, HC), 6.27-7.84. (m, 22 H, NH and H) ppm.

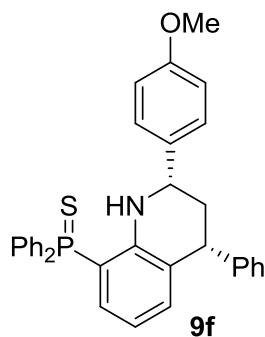
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃):δ = 41.2 (CH₂), 44.6 (CH), 55.9 (CH), 112.3 (d, ¹J_{CP} = 87.8 Hz, C), 114.7 (d, ²J_{CF} = 17.9 Hz, HC), 115.9 (d, ³J_{CP} = 13.4 Hz, HC), 117.0 (d, ²J_{CF} = 17.0 Hz, HC), 121.9 (dd, ³J_{CF} = 6.5 Hz, ²J_{CF} = 3.5 Hz, HC), 125.3-133.2 (m, 17 HCand 2C), 140.8 (dd, ³J_{CF} = 5.9 Hz, ⁴J_{CF} = 3.6 Hz, C), 143.9 (C), 145.9 (C), 147.8 (d, ²J_{CP} = 5.7 Hz, C), 149.6 (dd, ¹J_{CF} = 247.0 Hz, ²J_{CF} = 12.8 Hz, C) 150.2 (dd, ¹J_{CF} = 248.0 Hz, ²J_{CF} = 12.7 Hz, C) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃):δ = 40.21 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -140.5 a -140.3 (m), -137.8 a -137.6 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₃H₂₆F₂NPS [M]⁺ 537.1492; encontrado 537.1495.

Sulfuro de (4-fenil-2-(4-metoxifenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9f)



Se siguió el procedimiento general A partiendo de la fosfina **5d** (1 mmol, 0.499 g) durante 48 h, observándose el 99% de conversión del producto de partida por análisis del crudo de reacción mediante ³¹P-RMN y ¹H-RMN. Se obtuvieron 0.478 g (90%) del compuesto **9f** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 81-82°C (hexano/AcOEt).

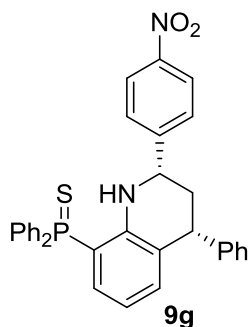
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.81 (ddd, ³J_{HH} = 12.7 Hz, ³J_{HH} = 12.7 Hz, ²J_{HH} = 12.7 Hz, 1 H, CH₂), 2.-17-2.21 (m, 1 H, CH₂), 3.77 (s, 3 H, OCH₃), 4.26 (dd, ³J_{HH} = 4.4 Hz, ³J_{HH} = 12.7 Hz, 1 H, CH), 4.66 (dd, ³J_{HH} = 3.2 Hz, ³J_{HH} = 12.7 Hz, 1 H, CH), 6.30-6.81 (m, 6 H, H_{arom}) 6.14-7.97 (m, 16 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 41.3 (CH₂), 44.9 (CH), 55.3 (OCH₃), 56.3 (CH), 111.5 (d, ¹J_{CP} = 88.2 Hz, C_{arom}), 113.8 (2 HC_{arom}), 115.2 (d, ³J_{CP} = 13.5 Hz, HC_{arom}), 126.4-133.9 (m, 19 HC_{arom} and 2 C_{arom}), 135.7 (C_{arom}), 144.4 (C_{arom}), 148.4 (d, ²J_{CP} = 3.5 Hz, C_{arom}), 158.8 (C_{arom}) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 40.2 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₄H₃₀NOPS [M]⁺ 531.1786; encontrado 531.1792.

Sulfuro de (4-fenil-2-(4-nitrofenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9g)



Siguiendo el procedimiento general B se utilizó 4-nitrobenzaldehído **n** (10 mmol, 1.511 mL) y estireno (20 mmol, 2.291 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 5.190 g (95%) del compuesto **9g** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 129-131°C (hexano/AcOEt).

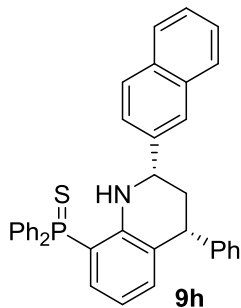
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.79-2.47 (m, 3H, NH and CH_2), 4.19-4.36 (m, 1H, CH), 4.74-4.89 (m, 1H, CH), 6.57-8.25 (m, 22 H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 41.4 (CH_2), 44.7 (CH), 56.4 (CH), 112.6 (d, $^1J_{\text{CP}}$ = 84.8 Hz, C_{arom}), 116.4 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 13.5 Hz, HC_{arom}), 123.9 (2 HC_{arom}), 125.9-133.5 (m, 19 HC_{arom} and 3 C_{arom}), 143.8 (C_{arom}), 146.0 (C_{arom}), 148.4 (d, $^2J_{\text{CP}}$ = 3.5 Hz, C_{arom}), 151.6 (C_{arom}) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 40.2 ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_2\text{PS}$ [M] $^+$ 546.1531; encontrado 546.1563.

Sulfuro de (4-fenil-2-(2-naftil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9h)



Siguiendo el procedimiento general B se utilizó 2-naftaldehído (10 mmol, 1.561 g) y estireno (20 mmol, 2.291 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 4.133 g (75%) del compuesto **9h** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 92-94 °C (hexano/AcOEt).

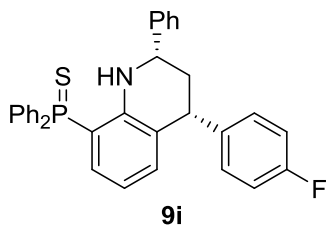
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 1.63 (bs, NH) 1.95 (ddd, ²J_{HH} = 12.7 Hz, ³J_{HH} = 12.5 Hz, ³J_{HH} = 11.5 Hz, 1 H, CH₂), 2.19-2.26 (m, 1 H, CH₂), 4.24 (dd, ³J_{HH} = 4.6 Hz, ³J_{HH} = 12.5 Hz, 1 H, HC), 4.79 (dd, ³J_{HH} = 3.3 Hz, ³J_{HH} = 11.5 Hz, 1 H, HC), 6.32 (ddd, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 7.5 Hz, ⁴J_{HP} = 3.6 Hz, 1H), 6.41-6.48 (m 1H), 6.65 (d, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 1H), 6.87 (dd, ³J_{HH} = 7.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz), 6.93 (s 1H), 7.10-7.89 (m, 20 H) ppm.

¹³C-RMN(75 MHz, CDCl₃): δ = 41.2 (CH₂), 45.1 (CH), 57.0 (CH), 111.6 (d, ¹J_{CP} = 87.9 Hz, C), 115.6 (d, ³J_{CP} = 13.5 Hz, HC), 124.5-133.5 (m, 24 HCand 6 C), 141.0 144.4 (C), 148.4 (d, ²J_{CP} = 5.7 Hz, C), ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 40.4 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₇H₃₀NPS [M]⁺ 551.1837; encontrado 551.1834.

Sulfuro de (2-fenil-4-(4-fluorofenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9i)



Se siguió el procedimiento general Apartiendo de la fosfina **5i** (1 mmol, 0.487 g) durante 48 h, observándose el 99% de conversión del producto de partida por análisis del crudo de reacción mediante ³¹P-RMN y ¹H-RMN. Se obtuvo una mezcla de los compuestos **9i** (0.226 g, 44%) y del compuesto aromatizado **10i** (0.116 g, 22%) como sólidos blancos.

Cuando se siguió el procedimiento general B se utilizó benzaldehído (10 mmol, 1.016 mL) y 1-fluor-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.292 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción mediante ³¹P-RMN y ¹H-RMN. Se obtuvo una mezcla del compuesto **9i** (2.078 g, 40%) y del compuesto aromatizado **10i** (1.857 g, 36%) como sólidos blancos.

(Ver datos para el compuesto **10i** más adelante)

Punto de fusión: 102-103°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.74-2.36 (m, 3H, NH and CH₂), 4.10-4.26 (m, 1H, CH), 4.58-4.68 (m, 1H, CH), 6.57-8.25 (m, 22 H, H_{arom}) ppm.

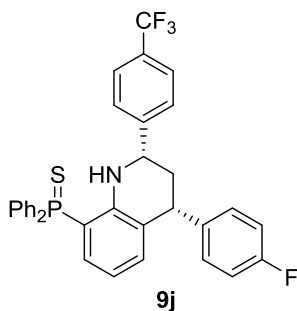
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 41.5 (CH₂), 44.0 (CH), 56.6 (CH), 111.8 (d, ¹J_{CP} = 86.2 Hz, C_{arom}), 114.7-115.5 (m, 3 HC_{arom}), 125.7-133.4 (m, 19 HC_{arom} and 2 C_{arom}), 143.4 (C_{arom}), 146.4 (C_{arom}), 148.1 (d, ²J_{CP} = 3.4 Hz, C_{arom}), 161.5 (d, ¹J_{CF} = 245.8 Hz, FC_{arom}) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 40.2 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): -116.9 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₃H₂₇FNPS [M]⁺ 519.1586; encontrado 519.1583.

Sulfuro de (4-(4-fluorofenil)-2-(4-trifluorofenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina (9j)



Cuando se siguió el procedimiento general B se utilizó 4-fluorobenzaldehído **2d** (10 mmol, 1.072 mL) y 1-fluor-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.292 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción mediante ³¹P-RMN y ¹H-RMN. Se obtuvo una mezcla del compuesto **9j** (3.462 g, 59%) y del compuesto aromatizado **10j** (1.857 g, 21%) como sólidos blancos.

Punto de fusión: 97-98°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.74-2.42 (m, 3H, NH and CH₂), 4.21-4.37 (m, 1H, CH), 4.69-4.83 (m, 1H, CH), 6.13-8.05 (m, 21H, H_{arom}) ppm.

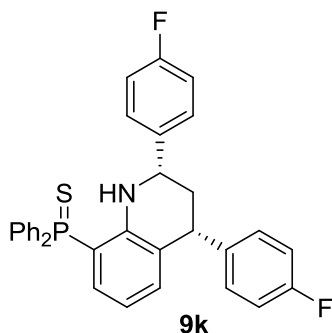
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 41.3 (CH₂), 44.1 (CH), 56.5 (CH), 112.5 (d, ¹J_{CP} = 87.6 Hz, C_{arom}), 115-116.1 (m, 3 HC_{arom}), 122.5-133.2 (m, CF₃, 18 HC_{arom} and 4 C_{arom}), 139.8 (C_{arom}), 141.8 (q, ²J_{CF} = 38.1 Hz, C_{arom}), 146.3 (C_{arom}), 148.1 (d, ²J_{CP} = 3.5 Hz, C_{arom}), 161.9 (d, ¹J_{CF} = 245.2 Hz, FC_{arom}) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 40.2 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -62.8 ppm (CF₃), -116.2 ppm (CF).

HRMS (EI): calculado para C₃₄H₂₆F₄NPS [M]⁺ 587.1460; encontrado 587.14587.

Sulfuro de (2,4-bis(4-fluorofenil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-8-il)difenilfosfina (9k)



Se siguió el procedimiento general B utilizando 3-fluorobenzaldehído (10 mmol, 1.072 g) y 1-fluor-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.292 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 4.189 g (78%) del compuesto **9k** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 114-115°C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (400 MHz, CDCl_3): δ = 1.90 (ddd, $^2J_{\text{HH}} = 12.9$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, 1 H, CH_2), 2.14-2.21 (m, 1 H, CH_2), 4.21 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 12.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, 1 H, CH), 4.69 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 11.4$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.3$ Hz, 1 H, CH), 6.37 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, $^4J_{\text{HP}} = 2.9$ Hz, 1H), 6.61-7.19 (m, NH and 10 H), 7.45-7.78 (m, 10 H) ppm.

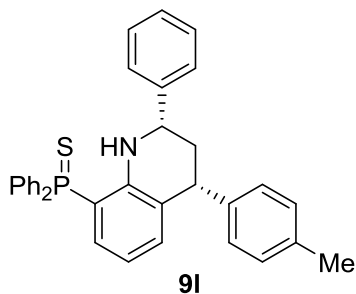
^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 41.5 (CH_2), 44.1 (HC) 56.2 (HC), 111.9 (d, $^1J_{\text{CP}} = 105.5$ Hz, C), 114.9-115.7 (m, 5 HC), 126.2-133.0 (m, 16 HC and 3 C_{arom}), 139.2 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.1$ Hz, C), 139.9 (d, $^4J_{\text{CF}} = 3.2$ Hz, C), 148.1 (d, $^2J_{\text{CP}} = 4.5$ Hz, C), 161.8 (d, $^1J_{\text{CF}} = 249.6$ Hz, FC), 162.0 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245.4$ Hz, FC) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 40.2 ppm.

^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3): δ = -116.5 to -116.4 (m), -115.9 to -115.8 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{F}_2\text{NPS}$ $[\text{M}]^+$ 537.1492; encontrado 537.1496.

Sulfuro de(2-fenil-4-(4-metilfenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina(9I)



Se siguió el procedimiento general A partiendo de la fosfina **5I** (1 mmol, 0.483 g) durante 48 h, observándose el 99% de conversión del producto de partida por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 0.288 g (56%) del compuesto **9I** como un sólido blanco.

Cuando se siguió el procedimiento general B se utilizó benzaldehído (10 mmol, 1.016 mL) y 1-metil-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.640 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvo el compuesto **9I** (3.446 g, 67%) como sólido blanco.

Punto de fusión: 135-136°C (hexano/AcOEt).

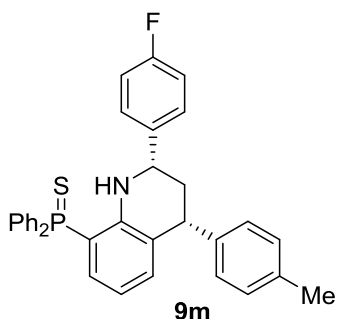
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.68-2.60 (m, 6H, CH_3 , CH_2 , NH), 4.12-4.36 (m, 1 H, CH), 4.62-4.76 (m, 1 H, CH), 6.12-8.08 (m, 21H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 21.1 (CH_3), 41.3 (CH_2), 44.5 (CH), 57.0 (CH), 112.5 (d, $^2J_{\text{CP}}$ = 8.0 Hz, HC_{arom}), 112.6 (d, $^1J_{\text{CP}}$ = 88.9 Hz, C_{arom}), 116.2 (d, $^3J_{\text{CP}}$ = 12.0 Hz, HC_{arom}), 125.9-133.7 (m, 20 HC_{arom} and 2 C_{arom}), 138.7 (C_{arom}), 139.5 (C_{arom}), 141.2 (C_{arom}), 143.6 (C_{arom}), 148.4 (C_{arom}), 150.1 (d, $^2J_{\text{CP}}$ = 5.7 Hz, C_{arom}) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 40.5 ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{30}\text{NPS}[\text{M}]^+$ 515.1837, encontrado 515.1841.

Sulfuro de(2-(4-fluorofenil)-4-(4-metilfenil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-8-il)difenilfosfina (9m)



Se siguió el procedimiento general A partiendo de la fosfina **5m** (1 mmol, 0.501 g) durante 48 h, observándose el 99% de conversión del reactivo por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron 0.256 g (48%) del compuesto **9m** y 0.175 g (33%) del compuesto aromatizado **10m** como sólidos blancos.

Cuando se siguió el procedimiento general B se utilizó 4-fluorobenzaldehído (10 mmol, 1.072 mL) y 1-metil-4-vinilbenceno (20 mmol, 2.640 mL) durante 48 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción mediante ^{31}P -RMN y ^1H -RMN. Se obtuvieron los compuestos **9m** (2.987 g, 56%) y el compuesto aromatizado **10m** (1.590 g, 30%) como sólidos blancos.

(Ver datos para el compuesto **10m** más adelante)

Punto de fusión: 112-114°C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.22-2.39 (m, 6H, CH_3 , CH_2 , NH), 4.16-4.27 (m, 1 H, CH), 4.79-4.89 (m, 1 H, CH), 6.36-8.09 (m, 21H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 21.3 (CH_3), 41.3 (CH_2), 44.7 (CH), 56.5 (CH), 111.8 (d, $^1J_{\text{CP}} = 87.3$ Hz, C_{arom}), 114.7-115.5 (m, 3 HC_{arom}), 126.5-133.7 (m, 18 HC_{arom} and 3 C_{arom}), 136.6 (C_{arom}), 139.5 (C_{arom}), 141.2 (C_{arom}), 148.2 (d, $^2J_{\text{CP}} = 3.4$ Hz, C_{arom}), 162.1 (d, $^1J_{\text{CF}} = 245.7$ Hz, FC_{arom}) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, CDCl_3): δ = 40.3 ppm.

^{19}F RMN (282 MHz, CDCl_3): δ = -112.2 ppm.

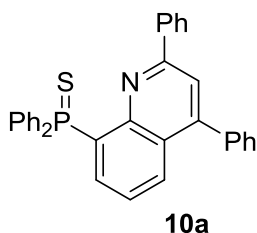
HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{34}\text{H}_{29}\text{FNPS}$ [$\text{M}]^+$ 533.1742; encontrado 533.1745.

Síntesis de sulfuros de (quinolin-8-il)difenilfosfina (10)

Procedimiento general

A una disolución de la correspondiente tetrahydroquinolina **9** (1 mmol) en tolueno (20 mL) se añadió DDQ (0.3269 g, 1.2 mmol). La mezcla fue irradiada con microondas a 150W a 40°C durante 1 h. En todos los casos se observó el 99% de conversión del producto de partida por análisis del crudo de reacción por ³¹P-RMN. El sólido formado se filtró sobre celita y el disolvente fue evaporado a vacío. La posterior purificación mediante columna cromatográfica en sílicagel (acetato de etilo / hexano 1:20) dió lugar a los compuestos **10**.

Sulfuro de (2,4-difenilquinolin-8-il)difenilfosfina (10a)



Se siguió el procedimiento general usando una disolución de la tetrahydroquinolina **9a** (0.502 g). Se obtuvieron 0.445 g (89%) del compuesto **10a** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 104-105°C (hexano/AcOEt).

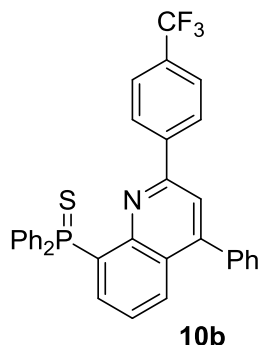
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.24-8.25 (m, 22 H, H_{arom}), 8.58-8.72 (m, 2 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 119.6 (HC_{arom}), 126.1 (d, ³J_{CP} = 14.4 Hz, HC_{arom}), 126.4 (d, ³J_{CP} = 6.6 Hz, C_{arom}), 127.9-132.6 (m, 21 HC_{arom} and 2 C_{arom}), 134.5 (d, ¹J_{CP} = 90 Hz, C_{arom}), 138.3 (C_{arom}), 138.6 (C_{arom}), 138.9 (d, ²J_{CP} = 11.5 Hz, HC_{arom}), 147.7 (d, ²J_{CP} = 4.5 Hz, C_{arom}), 149.9 (C_{arom}), 155.7 (C_{arom}) ppm.

³¹P-RMN (120MHz, CDCl₃): δ = 44.4 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₃H₂₄NPS [M]⁺ 497.1377; encontrado 497.1381.

Sulfuro de (4-fenil-2-(4-trifluorometilfenil)-quinolin-8-il)difenilfosfina (10b)



Se siguió el procedimiento general usando una disolución de la tetrahydroquinolina **9b** (0.596 g, 1 mmol). Se obtuvieron 0.345 g (61%) del compuesto **10b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 123-124°C (hexano/AcOEt).

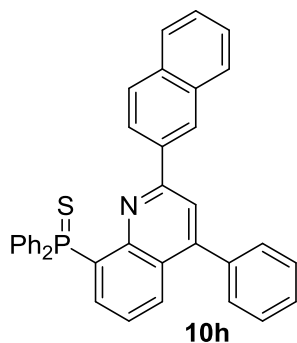
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.12-8.52 (m, 23, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 119.5 (HC_{arom}), 124.2 (q, ¹J_{CF} = 233.1 Hz, F₃C), 125.7-133.7 (m, 21 HC_{arom} and 3 C_{arom}), 134.7 (d, ¹J_{CP} = 87.1 Hz, C_{arom}), 137.9 (C_{arom}), 138.7 (d, ²J_{CP} = 11.2 Hz, HC_{arom}), 142.0 (d, ²J_{CP} = 5.1 Hz, C_{arom}), 147.8 (C_{arom}), 150.4 (C_{arom}), 154.1 (C_{arom}) ppm; **³¹P NMR** (120 MHz, CDCl₃) δ: 43.9 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -62.9 (CF₃).

HRMS (EI): calculado para C₃₃H₂₃F₃NPS [M]⁺ 565.1241; encontrado 565.1238.

Sulfuro de (4-fenil-2-(2-naftil)quinolin-8-il)difenilfosfina (10h)



Se siguió el procedimiento general usando una disolución de la tetrahydroquinolina **n** (0.551 g, 1 mmol). Se obtuvieron 0.541 g (99%) del compuesto **10h** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 98-99°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 7.34-7.63 (m, 15 H), 7.73 (d, ³J_{HH} = 7.6 Hz, 1 H), 7.76-7.84 (m, 2 H), 7.95 (s, 1 H), 8.01-8.08 (m, 6 H), 8.12-

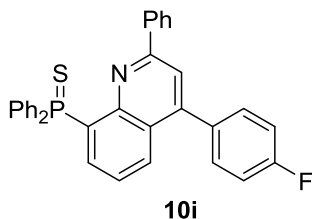
8.15 (m, 1 H), 8.68 (ddd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ³J_{HH} = 7.3 Hz, ⁴J_{HP} = 1.3 Hz, 1H), 1 H), ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 119.68 (HC), 125.2-140.0 (m, 6 C and 25 HC), 138.2 (C), 139.0 (d, ³J_{CP} = 11.4 Hz, C), 147.7 (d, ²J_{CP} = 4.2 Hz C), 149.8 (C), 155.5 (C) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 29.7 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₇H₂₆NPS [M]⁺ 547.1524; encontrado 547.1519.

Sulfuro de (2-fenil-4-(4-fluorofenil)quinolin-8-il)difenilfosfina (10i)



Se siguió el procedimiento general usando una disolución de la tetrahydroquinolina **n** (0.519 g, 1 mmol). Se obtuvieron 0.385 g (66%) del compuesto **10i** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 112-114°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 6.72-8.24 (m, 22 H, H_{arom}), 8.52-8.74 (m, 1 H, H_{arom}), ppm.

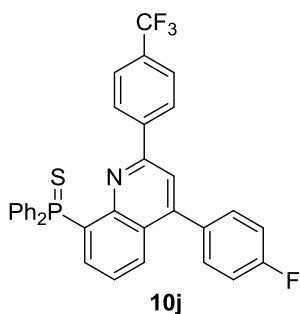
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 116.1 (d, ²J_{CF} = 21.4 Hz, 2 HC), 119.6 (HC), 122.3-133.8 (m, 19 HC, 4 C), 134.5 (d, ¹J_{CP} = 90.1 Hz, C), 138.7 (d, ²J_{CP} = 11 Hz, HC), 141.6 (C), 145.7 (C), 146.6 (C), 148.8 (C), 154.8 (C), 163.2 (d, ¹J_{CF} = 246.5 Hz, FC) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 44.6 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -113.1 ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₃H₂₃FNPS [M]⁺ 515.1273; encontrado 515.1292.

Sulfuro de (4-(4-fluorofenil)-2-(4-trifluorofenil)quinolin8-il)difenilfosfina (10j)



Se siguió el procedimiento general usando una disolución de la tetrahydroquinolina **9j** (0.587g, 1 mmol). Se obtuvieron 0.584 g (99%) del compuesto **10j** como un sólido blanco verdoso.

Punto de fusión: 101-102°C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.67-8.54 (bm, 22 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 116.1 (d, ²J_{CF} = 21.4 Hz, 2 HC_{arom}), 119.5 (HC_{arom}), 122.5-132.8 (m, 16 HC_{arom}, 3 C_{arom} and CF₃), 133.9 (C_{arom}), 134.2 (d, ¹J_{CP} = 89.9 Hz, C_{arom}), 139.2 (d, ²J_{CP} = 10.7 Hz, HC_{arom}), 141.8 (C_{arom}), 144.9 (C_{arom}), 146.6 (C_{arom}), 148.8 (C_{arom}), 153.7 (C_{arom}), 163.2 (d, ¹J_{CF} = 246.5 Hz, FC_{arom}) ppm.

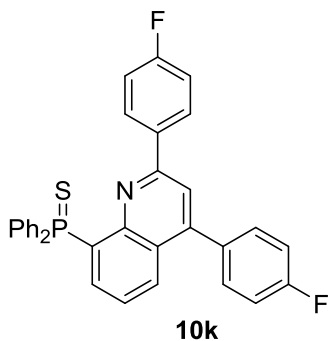
³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 44.1 ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -63.1 (CF₃), -112.6 (CF) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₃₄H₂₂F₄NPS [M]⁺ 583.1479; encontrado 583.1481.

Sulfuro de (2,4-bis(4-fluorofenil)quinolin-8-il)difenilfosfina (10k)

Se siguió el procedimiento general usando una disolución de la tetrahydroquinolina **9k** (0.537 g). Se obtuvieron 0.527 g (99%) del compuesto **10k** como un sólido blanco.



Punto de fusión: 115-116°C (hexano/AcOEt).

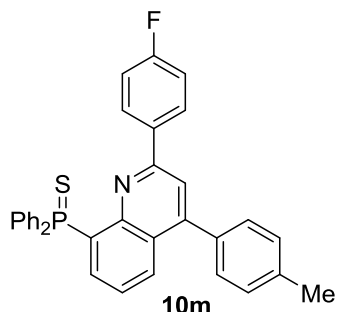
¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): δ = 6.843-6.89 (m, 3 H), 7.14-7.50 (m, 13 H), 7.63 (s, 1 H), 7.80-7.99 (m, 4 H), 8.38 (ddd, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ³J_{HH} = 7.2 Hz, ⁴J_{HP} = 1.4 Hz, 1H) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 115.6 (d, ²J_{CF} = 21.6 Hz, 2 HC), 115.9 (d, ²J_{CF} = 21.6 Hz, 2 HC), 119.0 (HC), 126.0-134.8 (m, 5 C and 16 HC), 138.5 (d, ³J_{CP} = 11.2 Hz, HC), 147.6 (d, ²J_{CP} = 4.3 Hz, C), 148.8 (2 C), 154.5 (C), 163.2 (d, ¹J_{CF} = 249.0 Hz, C-F), 164.0 (d, ¹J_{CF} = 250.0 Hz, C-F) ppm.

³¹P-RMN (120 MHz, CDCl₃): δ = 28.8 ppm.

HRMS (EI): calculado para $C_{33}H_{22}F_2NPS$ $[M]^+$ 533.1179; encontrado 533.1183.

Sulfuro de 2-(4-fluorofenil)-4-(4-metilfenil)quinolin 8-il)difenilfosfina (10m)



Se siguió el procedimiento general usando una disolución de la tetrahydroquinolina **9m** (0.587 g, 1 mmol). Se obtuvieron 0.344 g (59%) del compuesto **10m** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 112-114°C (hexano/AcOEt).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 6.67-8.34 (m, 21 H, H_{arom}), 8.39-8.54 (m, 1 H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 21.6 (CH_3) 115.6 (d, $^2J_{CF}$ = 22.6 Hz, 2 HC), 120.0 (HC), 125.7-134.1 (m, 18 HC, 4 C), 134.5 (d, $^1J_{CP}$ = 90 Hz, C), 138.6 (d, $^2J_{CP}$ = 11 Hz, HC), 139.1 (C), 146.7 (d, $^2J_{CP}$ = 4.9 Hz, C), 147.8 (C), 150.1 (C), 154.6 (C), 164.7 (d, $^1J_{CF}$ = 245.8 Hz, FC) ppm.

^{31}P -RMN (120 MHz, $CDCl_3$): δ = 44.1 ppm.

^{19}F -RMN (282 MHz, $CDCl_3$): δ = -112.3 ppm.

HRMS (EI): calculado para $C_{34}H_{25}FNPS$ $[M]^+$ 529.1429; encontrado 529.1443.

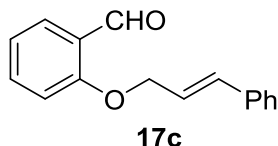
V – 2.2. Parte experimental: Capítulo II

Síntesis de productos de partida

Síntesis de aliloxialdehidos (17)

Procedimiento General: A una disolución del correspondiente derivado de salicilaldehído (10 mmol) en THF (20 mL) se añadieron K_2CO_3 seco (20 mmol, 2.76 g) y el haluro de alilo correspondiente (12 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 60°C durante 24 h. Pasado este tiempo la disolución se filtró sobre celita y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna *flash* (eluyente Hexano : AcOEt 95:05) y se obtuvieron los compuestos **17**.

2-(Cinamiloxi)benzaldehido (17c).



Se siguió el procedimiento general utilizando 2-hidroxibenzaldehido (1.220 g, 10 mmol) y (*E*)-(3-bromoprop-1-en-1-il)benceno (2.365 g, 12 mmol). Se obtuvieron 1.334 g (56%) del compuesto **17c** como un sólido blanco.

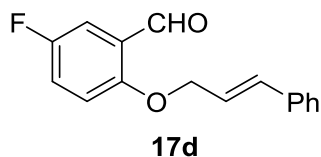
Punto de fusión: 62-63 °C (hexano/AcOEt).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 4.74 (dd, $^2J_{HH}$ = 5.8 Hz, $^3J_{HH}$ = 1.5 Hz, 2H, CH_2), 6.35 (dt, $^3J_{HH}$ = 15.5 Hz, $^3J_{HH}$ = 5.8 Hz, 1H, =CH), 6.69 (d, $^3J_{HH}$ = 15.5 Hz, 1H, =CH), 6.94-7.81 (m, 9H, $H_{arom.}$), 10.50 (d, $^4J_{HH}$ = 0.7 Hz, 1H, CHO) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, $CDCl_3$): δ = 69.1 (CH_2), 112.9 (CH), 120.9 (CH), 123.4 (CH), 125.1 (C), 126.6 (2 CH), 1281 (CH), 128.5 (CH), 128.7 (2 CH), 133.5 (CH), 136.0 (C), 160.9 (C), 189.9 (CHO.) ppm.

HRMS (EI): calculado para $C_{16}H_{14}O_2$ $[M]^+$ 238.0998, encontrado 238.0992 .

2-(Cinamiloxy)-5-fluorobenzaldehido (**17d**).



Se siguió el procedimiento general usando 5-fluoro-2-hidroxibenzaldehido (1.400 g, 10 mmol) y (*E*)-(3-bromoprop-1-en-1-il)benceno (2.365 g, 12 mmol). Se obtuvieron 1.922 g (75%) del compuesto **17d** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 81-82 °C (hexano/AcOEt).

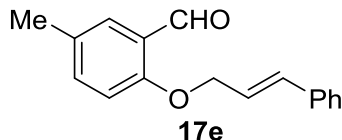
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ= 4.70 (dd, ²J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 1.5 Hz, 2H, CH₂), 6.30 (dt, ³J_{HH} = 16.3 Hz, ³J_{HH} = 5.7 Hz, 1H, =CH), 6.65 (d, ³J_{HH} = 16.3 Hz, 1H, =CH.), 6.89-7.44 (m, 8H, H_{arom.}), 10.43 (d, ⁴J_{HH} = 3.1 Hz, 1H, CHO) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ= 69.0 (CH₂), 114.2 (d, ²J_{CF} = 22.4 Hz, CH), 114.8 (CH), 122.5 (d, ²J_{CF} = 23.0 Hz, CH), 123.2 (CH), 126.0 (C.), 126.7 (2 CH), 128.4 (CH), 128.8 (2 CH), 134.0 (CH), 136.1 (C), 157.1 (d, ¹J_{CF} = 241.9 Hz, CF), 157.4 (C), 188.9 (CHO) ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -122.5 a -122.6 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₁₆H₁₃FO₂ [M]⁺ 256.0900, encontrado 256.0905 .

2-(cinamiloxy)-5-metilbenzaldehido (**17e**).



Se siguió el procedimiento general usando 5-metil-2-hidroxibenzaldehido (10 mmol, 1.361 g) y (*E*)-(3-bromoprop-1-en-1-il)benceno (12 mmol, 2.365 g). Se obtuvieron 2.050 g (80%) del compuesto **17e** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 67-68 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ= 2.22 (s, 3H, CH₃), 4.68 (dd, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ²J_{HH} = 1.4 Hz, 2H, CH₂), 6.33 (dt, ³J_{HH} = 15.9 Hz, ³J_{HH} = 5.8, 1H, =CH), 6.67 (d, ³J_{HH} = 15.9 Hz, 1H, =CH), 6.85 (d, ³J_{HH} = 8.6 Hz, 1H, H_{arom.}), 7.17-7.35 (m, 6H, H_{arom.}), 7.58 (s, 1H, H_{arom.}), 10.46 (s, 1H, CHO) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ= 20.3 (CH₃), 69.3 (CH₂), 113.1 (CH), 123.7 (CH), 124.9 (C), 126.7 (2 CH), 128.1 (CH), 128.5 (CH), 128.7 (2 CH), 130.4 (C), 133.4 (CH), 136.2 (C), 136.6 (CH), 159.2 (C), 189.9 (CHO) ppm.

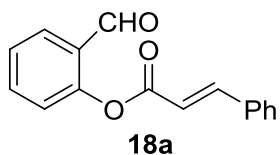
HRMS (EI): calculado para C₁₇H₁₆O₂ [M]⁺ 252.1150, encontrado 252.1159 .

Síntesis de acriloxialdehdos (**18**).

Procedimiento General A: A una disolución del correspondiente derivado de salicilaldehído (10 mmol) en THF (20 mL) se añadieron K₂CO₃ seco (20 mmol, 2.76g) y el haluro de acilo correspondiente (12 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 60°C durante 24 h. Pasado este tiempo la disolución se filtró sobre celita y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna *flash* (eluyente Hexano : AcOEt, 95:05) y se obtuvieron los compuestos **18**.

Procedimiento General B: A una disolución del correspondiente derivado de salicilaldehído (10 mmol) en CH₂Cl₂ (20 mL) se añadieron EDC (2.87 g, 15 mmol), DMAP (0.122 g, 1 mmol) y el correspondiente ácido carboxílico (12 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El crudo de reacción se lavó con agua (2 x 10 mL), disolución al 10% de KHSO₄ (2 x 10mL) y disolución saturada de NaHCO₃ (3 x 10mL), se extrajo con CH₂Cl₂ y el disolvente fue eliminado a presión reducida. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna *flash* (eluyente Hexano : AcOEt 95:05) y se obtuvieron los compuestos **18**.

Cinamato de 2-formilfenilo (**18a**)



Se siguió el procedimiento general A, utilizando 2-hidroxibenzaldehído (1.220 g, 10 mmol) y cloruro de cinamoilo (1.999 g, 12 mmol). Se obtuvieron 1.968 g (78%) del compuesto **18a** como un sólido blanco.

Cuando se siguió el procedimiento general B se usaron 2-hidroxibenzaldehído (1.220 g, 10 mmol) y ácido cinámico (1.777 g, 12 mmol). Se obtuvieron 2.270 g (90%) del compuesto **18a** como un sólido blanco.

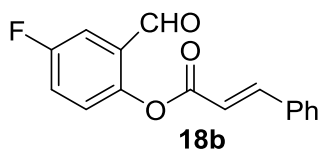
Punto de fusión: 71-72 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.47 (d, ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1H, =CH), 7.97-7.28 (m, 9H, H_{arom}), 7.84 (d ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1H, =CH), 10.21 (s, 1H, CHO) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 116.3 (CH), 123.6 (CH), 126.5 (CH), 128.2 (C), 128.6 (2 CH), 128.7 (CH), 129.1 (2 CH), 131.2 (2 CH), 135.4 (CH), 152.3 (C), 162.5 (C), 165.2 (COO), 188.7 (CHO) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₁₆H₁₂O₃ [M]⁺ 252.0786, encontrado 252.0791 .

Cinamato de 4-fluor-2-formilfenilo (**18b**).



Se siguió el procedimiento general A, utilizando 5-fluoro-2-hidroxibenzaldehído (1.401 g, 10 mmol) y cloruro de cinamoilo (1.999 g, 12 mmol). Se obtuvieron 1.702 g (63%) del compuesto **18b** como un sólido blanco.

Cuando se siguió el procedimiento general B se usaron 5-fluoro-2-hidroxibenzaldehído (1.401 g, 10 mmol) y ácido cinámico (1.777 g, 12 mmol). Se obtuvieron 2.324 g (86%) del compuesto **18b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 98-99 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.60 (d, ³J_{HH} = 15.9 Hz, 1H, =CH), 7.17-7.37 (m, 5H, H_{arom.}), 7.50-7.52 (m, 3H, H_{arom.}), 7.84 (d, ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1H, =CH), 10.07 (d, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, 1H, CHO) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 115.3 (d, ²J_{CF} = 24.1 Hz, CH), 115.9 (CH), 122.4 (d, ²J_{CF} = 23.3 Hz, CH), 125.3 (d, ³J_{CF} = 7.7 Hz, CH), 128.1 (C), 128.6 (2 CH), 129.2 (2 CH), 133.9 (C), 148.3 (CH), 148.5 (C), 160.3 (d, ¹J_{CF} = 246.9 Hz, CF), 165.2 (COO), 187.3 (CHO) ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -115.0 a -114.9(m) ppm.

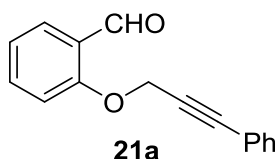
HRMS (EI): calculado para C₁₆H₁₁FO₃ [M]⁺ 270.0692, encontrado 270.0691.

Síntesis de aldehídos oxipropargílicos (21)

Procedimiento general

A una disolución del correspondiente derivado de salicilaldehído (10 mmol) en THF (20mL) se añadió K₂CO₃ seco (2.760 g, 20 mmol) 3-bromoprop-1-ino (1.300 g, 11 mmol). Tras 16 h de reacción, se extrajo con CH₂Cl₂ (20 mL) y la disolución se lavó con agua (2 x 10mL). El disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo de reacción se disolvió en CHCl₃ (15mL) y se añadieron Et₃N (10 mmol, 1.391 mL), ICu (0.004 g, 0.02 mmol), el yoduro de fenilo correspondiente (10 mmol) y Pd(PPh₂)Cl₂ (0.004 g, 0.01 mmol). La disolución se agitó a temperatura ambiente 12 h y la mezcla resultante se filtra sobre celita. El disolvente se eliminó a presión reducida dando lugar a un aceite amarillo que se purificó mediante columna cromatográfica *flash* (eluyente Hexano: AcOEt, 98:02).

2-(3-Fenilprop-2-iniloxi)benzaldehído (21a).



Se siguió el procedimiento general utilizando 2-hidroxibenzaldehído (1.220 g, 10 mmol) y iodobenceno (11 mmol, 1.22 mL). Se obtuvieron 1.558 g (66%) del compuesto **21a** como un sólido blanco.

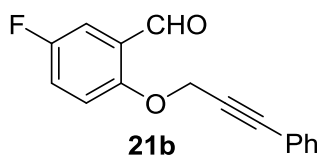
Punto de fusión: 88-89 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.05 (s, 2H, CH₂), 7.09 (t, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.20-7.44 (m, 6H, H_{arom}), 7.58 (ddd, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.9 Hz, 1H H_{arom}), 7.88 (dd, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, 1H, H_{arom}), 10.54 (s, 1H, CHO).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 57.4 (CH₂), 83.1 (≡C), 88.2 (≡C), 113.5 (CH), 121.7 (CH), 122.0 (C), 125.7 (C), 128.5 (2 CH), 128.7 (CH), 129.1 (CH), 131.9 (2 CH), 135.9 (CH), 160.2 (C), 189.8 (CHO) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₁₆H₁₂O₂ [M]⁺ 236.0837, encontrado 236.0831 .

2-(3-Fenilprop-2-iniloxi)-5-fluorobenzaldehído (21b)



Se siguió el procedimiento general utilizando 5-fluoro-2-hidroxibenzaldehído (1.401 g, 10 mmol) y iodobenceno (11 mmol, 1.22 mL). Se obtuvieron 1.948 g (77%) del compuesto **21b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 86-87 °C (hexano/AcOEt).

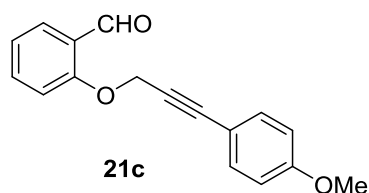
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.95 (s, 2H, CH₂), 7.09-7.35 (m, 7H, H_{arom}), 7.46 (dd, ³J_{HH} = 8.1 Hz, ⁴J_{HH} = 3.3 Hz, 1H, H_{arom}), 10.40 (s, 1H, CHO).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 58.2 (CH₂), 82.8 (≡C), 88.5 (≡C), 114.2 (d, ²J_{CF} = 21.7 Hz, CH), 115.7 (d, ³J_{CF} = 9 Hz, CH), 121.8 (C), 122.4 (d, ²J_{CF} = 24.6 Hz, CH), 126.7 (d, ⁴J_{CF} = 6.3 Hz, C), 128.5 (2 CH), 129.2 (CH), 131.9 (2 CH), 156.4 (d, ⁴J_{CF} = 3.2 Hz, C), 157.6 (d, ¹J_{CF} = 243.0 Hz, CF), 188.7 (d, CHO) ppm

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -121.6 a -121.5(m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₁₆H₁₁FO₂ [M]⁺ 254.0743, encontrado 254.0751.

2-(3-(4-Metoxifenil)prop-2-iniloxi)benzaldehído (21c)



Se siguió el procedimiento general utilizando 2-hidroxibenzaldehído (1.220 g, 10 mmol) y 4-iodoanisol (2.57 g, 11 mmol). Se obtuvieron 1.385 g (52%) del compuesto **21c** como un sólido blanco.

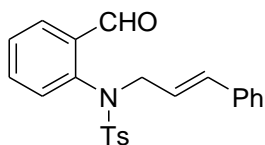
Punto de fusión: 86-87 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.80 (s, 3H, CH₃), 5.04 (s, 2H, CH₂), 6.83 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.08 (t, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.21 (d, ³J_{HH} = 8.6 Hz, 1H, CH), 7.37 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.56-7.61 (m, 1H, CH_{arom}), 7.87 (d, ³J_{HH} = 7.8 Hz, 1H, H_{arom}), 10.53 (s, 1H, CHO) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 55.4 (CH₃), 57.6 (CH₂), 81.7 (≡C), 88.2 (≡C), 113.6 (CH), 114.0 (C), 114.1 (2 CH), 121.6 (CH), 125.6 (C), 128.6 (CH), 133.4 (2 CH), 135.8 (CH), 160.2 (C), 160.3 (C), 189.7 (CHO) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₁₇H₁₄O₃ [M]⁺ 266.0943, encontrado 266.0947 .

5.3.1.4. 2-(*N*-cinamil-*N*-(2-formilfenil)-4-metilbencenosulfonamida (**24**))



A una disolución de 2-hidroxibenzaldehído (1.220 g, 10 mmol) en CH_2Cl_2 (60 mL) se añadieron Et_3N (11 mmol, 1.40 mL) cloruro de tosilo (11 mmol, 2.097 g). La disolución se agitó 3 h a temperatura ambiente, se lavó con una disolución 0.5 M de HCl (1 x 20 mL) y la fase orgánica se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 10 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo de reacción se disolvió en THF (20 mL) y se añadieron K_2CO_3 seco (2.76 g, 20 mmol) y (*E*)-(3-bromoprop-1-en-1-il)benceno (12 mmol, 2.365 g). La mezcla se agitó a reflujo durante 16h. Transcurrido este tiempo el disolvente fue eliminado a presión reducida dando lugar a un aceite amarillo. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna *flash* (eluyente Hexano: AcOEt 95:05). Se obtuvieron 3.367 g (84%) del compuesto **24** como un sólido blanco.

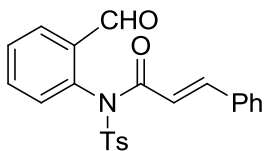
Punto de fusión: 110-111 °C (hexano/AcOEt).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.45 (s, 1H, CH_3), 4.07 (sa, 1H, CH_2), 2.70 (sa, 1H, CH_2), 6.09 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 16$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 6.6$ Hz, 1H, =CH), 6.34 (d, $^3J_{\text{HH}} = 16$ Hz, 1H, =CH), 6.79 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.2$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.18-7.31 (m, 7H, H_{arom}), 7.41-7.53 (m, 4H, H_{arom}), 7.97 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 10.43 (s, 1H, CHO) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): δ = 21.7 (CH_3), 54.3 (CH_2), 122.6 (CH), 126.6 (2 CH), 127.4 (C), 128.1 (2 CH), 128.3 (2 CH), 128.6 (CH), 128.7 (2 CH), 128.8 (CH), 129.8 (2 CH), 134.2 (CH), 134.7 (C), 135.5 (CH), 135.9(C), 141.5(C), 144.3 (C), 190.1 (CHO) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{21}\text{NO}_3\text{S}$ $[\text{M}]^+$ 391.1242, encontrado 391.1239 .

5.3.1.5. *N*-(2-formilfenil)-*N*-tosilcinamamida (**25**)



A una disolución de 2-hidroxibenzaldehído (1.220 g, 10 mmol) en CH_2Cl_2 (60 mL) se añadieron Et_3N (11 mmol, 1.40 mL) cloruro de tosilo (11 mmol, 2.097 g) de cloruro de tosilo. La disolución se agitó 3 h a temperatura ambiente, se lavó con una disolución 0.5 M de HCl (1 x 20 mL) y la fase orgánica se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 10 mL). El disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo de reacción se disolvió en THF (20 mL) y se añadieron K_2CO_3 seco (2.76 g, 20 mmol) y cloruro de cinamoilo (1.999 g, 12 mmol). La mezcla se agitó a reflujo durante 16h. Pasado este tiempo la disolución se filtró sobre celita y el disolvente se eliminó a presión reducida dando lugar a un aceite amarillo. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna *flash* (eluyente Hexano: AcOEt, 95:05). Se obtuvieron 3.771 g (90%) del compuesto **25** como un sólido blanco.

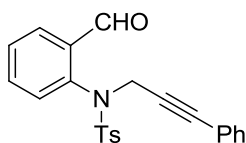
Punto de fusión: 146-147 °C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.45 (s, 1H, CH_3), 6.04 (d, $^3J_{\text{HH}} = 16$ Hz, 1H, =CH), 7.21-7.33 (m, 6H, H_{arom}), 7.37 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2 H, H_{arom}), 7.67-7.76 (m, 3H, 2 H_{arom} y =CH), 7.94 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, 2H, H_{arom}), 8.12 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.4$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2$ Hz, 1 H, H_{arom}), 10.14 (s, 1 H, CHO) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 21.9 (CH_3), 117.1 (CH), 128.5 (2 CH), 129.0 (2 CH), 129.7 (2 CH), 129.7 (2 CH), 130.0 (CH), 130.8 (CH), 131.1(CH), 131.7 (CH), 133.9 (C), 135.1(CH), 135.2 (2 C), 137.8 (C), 145.7 (C), 147.2 (CH), 165.3 (NCO), 188.8 (CHO) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{NO}_4\text{S}$ $[\text{M}]^+$ 405.1035, encontrado 405.1094 .

2-(*N*-(3-fenilprop-2-inil)-*N*-tosilamino)benzaldehido (**26**)



A una disolución de 2-hidroxibenzaldehido (1.220 g, 10 mmol) en CH₂Cl₂ (60 mL) se añadieron Et₃N (11 mmol, 1.40 mL) cloruro de tosilo (11 mmol, 2.097 g). La disolución se agitó 3 h a temperatura ambiente, se lavó con una disolución 0.5 M de HCl (1 x 20 mL) y la fase orgánica se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 10 mL). El disolvente se eliminó a presión dando lugar a un aceite amarillo. El crudo de reacción se disolvió en CHCl₃ (20 mL) y añadió K₂CO₃ seco (2.76 g 20 mmol) y 3-bromoprop-1-ino (1.30 g, 11 mmol). Tras 16h de reacción, la disolución se extrajo con CH₂Cl₂. (30 mL), se lavó con agua (2 x 10mL) y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo de reacción se disolvió CHCl₃ (15mL) y se añadieron Et₃N (10 mmol, 1.391 mL), ICu (0.004 g, 0.02 mmol), el yoduro de fenilo correspondiente (10 mmol) y Pd(PPh₂)Cl₂ (0.004 g, 0.01 mmol). La disolución se agitó a temperatura ambiente 12h y la mezcla resultante se filtró sobre celita. La eliminación del disolvente a presión reducida dió lugar a un aceite amarillo que se purificó por cromatografía en columna *flash* (eluyente Hexano: AcOEt, 98:02) para dar 2.061 g (71%) del compuesto **26** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 113-114 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.32 (s, 3H, CH₃), 4.61 (s, 2H, CH₂), 6.95-7.20 (m, 8H, H_{arom}), 7.40-7.43 (m, 2 H, H_{arom}), 7.49 (d, ³J_{HH} = 8.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.92-7.95 (m, 1 H, H_{arom}), 10.36 (s, 1H, CHO) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 21.72 (CH₃), 42.9 (CH₂), 82.4 (≡C), 86.6 (≡C), 121.9 (C), 128.3 (2 CH), 128.4 (2 CH), 128.7 (CH), 128.8 (CH), 128.9 (CH), 129.8 (2 CH), 131.6 (2 CH), 134.4 (CH), 135.1 (C), 136.1 (C), 141.5 (C), 144.5 (C), 190.3(CHO) ppm

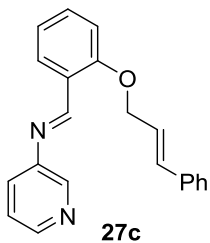
HRMS (EI): calculado para C₂₃H₁₉NO₃S [M]⁺ 389.1086, encontrado 3891068 .

Síntesis de iminas

Síntesis de iminas derivadas de 3-aminopiridina (27-32).

Procedimiento general: A una disolución de 3-aminopiridina (0.094 g, 1 mmol,) en CHCl₃ (10 mL), y en presencia de tamiz molecular 4Å, se añadió el aldehído correspondiente (1 mmol) y 2-3 gotas de ácido trifluoracético. La mezcla se agitó a reflujo hasta que se observó mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ¹H-RMN el consumo completo de los reactivos. El crudo de reacción se utilizó sin purificación previa, en las siguientes reacciones debido a la inestabilidad de las iminas, sin embargo, fueron caracterizadas mediante ¹H-RMN y en algunos casos de ¹³C-RMN.

N-(2-(Cinamiloxi)benciliden)piridin-3-amina (27c).



Se siguió el procedimiento general utilizando 2-(cinamiloxi)benzaldehído **17c** (0.238 g, 1 mmol,) durante 16 h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.71 (dd, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ²J_{HH} = 1.4 Hz, 2 H, CH₂), 6.34 (dt, ³J_{HH} = 15.8 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, =CH), 6.65 (d, ³J_{HH} = 15.8 Hz, 1H, =CH), 6.92-7.01 (m, 2 H, H_{arom}), 7.17-7.46 (m, 8H, H_{arom}), 8.11 (dd, ³J_{HH} = 7.9 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, H_{arom}), 8.38 (dd, ³J_{HH} = 4.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, 1H, H_{arom}), 8.43 (d, ⁴J_{HH} = 2 Hz, 1H, CH_{arom}), 8.90 (s, 1H, HCN) ppm.

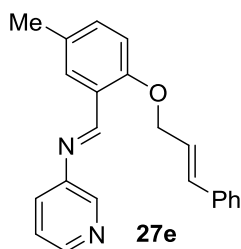
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 112.6 (CH), 121.2 (CH), 123.7 (CH), 123.8 (CH), 124.6 (C), 16.7 (2 CH), 127.8 (CH), 128.0 (C), 128.2 (CH), 128.7 (2 CH), 133.4 (CH), 133.7 (CH), 136.2 (C), 142.9 (CH), 146.9 (CH), 148.6 (C), 158.3 (C), 158.9 (C=N) ppm.

***N*-(2-(Cinamiloxi)-5-fluorobenciliden)piridin-3-amina (27d).**

Se siguió el procedimiento general utilizando 2-(cinamiloxi)-5-fluorobenzaldehído **17d** (0.256 g, 1 mmol) durante 16 h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.67 (d, Hz, ³J_{HH} = 5.5 Hz, 2 H, CH₂), 6.30 (dt, ³J_{HH} = 15.8 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1H, =CH), 6.63 (d, ³J_{HH} = 15.8 Hz, 1H, =CH), 6.85-7.46 (m, 9 H, H_{arom}), 7.78 (dd, ³J_{HH} = 8.9 Hz, ⁴J_{HH} = 3.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.37 (d, ³J_{HH} = 5.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.41 (d, ⁴J_{HH} = 2.4 Hz, 1 H, H_{arom}) 8.83 (s, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz,

HCN) ppm.

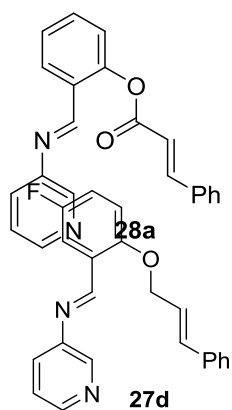


***N*-(2-(Cinamiloxi)-5-metilbenciliden)piridin-3-amina (27e).**

Se siguió el procedimiento general utilizando 2-(cinamiloxi)-5-metilbenzaldehído **17e** (0.252 g, 1 mmol) durante 12h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.28 (s, 3 H, CH₃), 4.70 (dd, Hz, ²J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 1.6 Hz, 2 H, CH₂), 6.35 (dt, ³J_{HH} = 16.0 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, 1 H, =CH), 6.65 (d, ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1 H, =CH), 6.85 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.17-7.46 (m, 8 H, CH_{arom}), 7.90 (d, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.39 (dd, ³J_{HH} = 4.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.43 (d, ⁴J_{HH} = 2.1 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.89 (s, 1H, HCN) ppm.

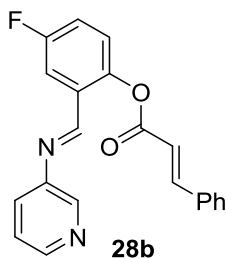
Cinamato de 2-((3-piridinilimino)metil)fenilo (28a).



Se siguió el procedimiento general utilizando cinamato de 2-formilfenilo **18a** (0.252 g, 1 mmol) durante 16 h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.60 (d, Hz, ³J_{HH} = 15.8 Hz, 1 H, =CH), 7.16-7.52 (m, 10 H, H_{arom}), 7.84 (d, ³J_{HH} = 15.8 Hz, 1 H, =CH), 8.12 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.8 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.37-8.39 (m, 1 H, H_{arom}), 8.51 (s, 1H, HCN) ppm.

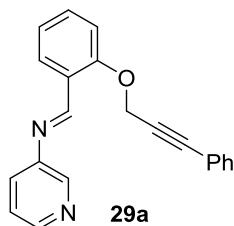
Cinamato de 4-fluor-2-((3-piridinilimino)metil)fenilo (**28b**).



Se siguió el procedimiento general partiendo de cinamato de 4-fluor-2-formilfenilo **18b** (0.270 g, 1 mmol,) durante 16 h.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 6.58 (d, $^3J_{\text{HH}}$ = 16.0 Hz, 1H, =CH), 7.12-7.51 (m, 9H, H_{arom}), 7.82-7.88 (m, 2 H, =CH y H_{arom}), 8.37-8.48 (m, 3H, 2 H_{arom} y HCN) ppm.

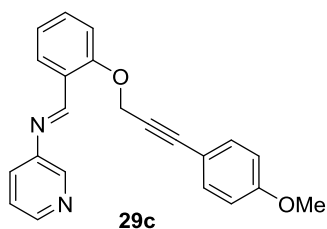
N-(2-(3-fenilprop-2-iniloxi)enciliden)piridin-3-amina (**29a**).



Se siguió el procedimiento general partiendo de 2-(3-fenilprop-2-iniloxi)benzaldehído **21a** (0.236 g, 1mmol,) durante 10 h

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 5.03 (s, 2H, CH_2), 7.10-7.54 (m, 10 H, H_{arom}), 8.19 (dd, $^3J_{\text{HH}}$ = 8.0 Hz, $^4J_{\text{HH}}$ = 2.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.47 (dd, $^3J_{\text{HH}}$ = 4.7 Hz, $^4J_{\text{HH}}$ = 1.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.50 (d, $^3J_{\text{HH}}$ = 2.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.98 (s, 1H, HCN) ppm.

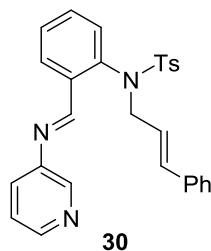
N-(2-(3-(4-metoxifenil)prop-2-iniloxi)enciliden)piridin-3-amina (**29c**).



Se siguió el procedimiento general partiendo de 2-(3-(4-metoxifenil)prop-2-iniloxi)benzaldehído **21c** (0.266 g, 1 mmol,) durante 10 h.

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 3.72 (s, 3 H, OCH_3), 4.97 (d, $^3J_{\text{HH}}$ = 8.0 Hz, 2H, CH_2), 6.76 (dd, $^3J_{\text{HH}}$ = 9.0 Hz, $^3J_{\text{HH}}$ = 5 Hz, 2 H, H_{arom}), 6.99-7.31 (m, 7 H, H_{arom}), 7.66 (dd, $^3J_{\text{HH}}$ = 9 Hz, $^4J_{\text{HH}}$ = 2 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.19 (dd, $^3J_{\text{HH}}$ = 7.5 Hz, $^4J_{\text{HH}}$ = 2 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.43 (dd, $^3J_{\text{HH}}$ = 4.9 Hz, $^4J_{\text{HH}}$ = 1.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 9.49 (s, 1H, HCN) ppm.

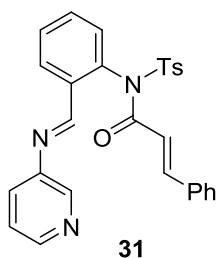
***N*-Cinamil-4-metil-*N*-(2-((piridin-3-ilimino)metil)fenil)benzenosulfonamida (30).**



Se siguió el procedimiento general a partir de 2-(*N*-cinamil-*N*-(2-formilfenil)-4-metilbenzenosulfonamida (0.391 g, 1 mmol) durante 16h

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.36 (s, 3H, CH₃), 4.00 (dd, ²J_{HH} = 14 Hz, ³J_{HH} = 9 Hz, 1 H, CH₂), 4.58 (dd, ²J_{HH} = 14 Hz, ³J_{HH} = 6.5 Hz, 1 H, CH₂), 6.02 (ddd, ³J_{HH} = 15.6 Hz, ³J_{HH} = 9 Hz, ³J_{HH} = 6.5 Hz, 1 H, =CH), 6.26 (d, ³J_{HH} = 15.6 Hz, 1H, =CH), 6.70 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 1.5 Hz, 1 H, H_{arom}) 7.09-7.36 (m, 11 H, H_{arom}.), 7.49 (d, ³J_{HH} = 8.4 Hz, 2 H, H_{arom}), 8.23 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ⁴J_{HH} = 2.3 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.35 (d, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.40 (dd, ⁴J_{HH} = 4.8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.74 (s, 1H,HCN).

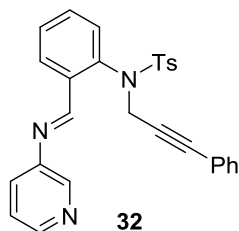
***N*-(2-((Piridin-3-ilimino)metil)fenil)-*N*-tosilcinamamida (31).**



Se siguió el procedimiento general a partir de *N*-(2-formilfenil)-*N*-tosilcinamamida (0.405 g, 1 mmol) durante 24 h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): 2.29 (s, 3 H, CH₃), 5.96 (d, ³J_{HH} = 15.5 Hz, 1 H, =CH), 7.12-7.29 (m, 8 H, H_{arom}), 7.55-7.65 (m, 3 H, =CH y 2H_{arom}), 7.88 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 2 H, H_{arom}), 8.32-8.38 (m, 3 H, H_{arom}), 8.46 (s, 1H, HCN) ppm.

4-Methyl-N-(3-fenilprop-2-inil)-N-(2-((piridin-3-ilimino)metil)fenil)bencenosulfonamida (32).



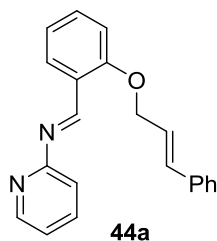
Se siguió el procedimiento general a partir de 2-(N-(3-fenilprop-2-inil)-N-tosilamino)benzaldehido (0.389 g, 1 mmol) durante 16 h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.39 (s, 3H, CH₃), 4.62 (d, ²J_{HH} = 17.0 Hz, 1 H, CH₂), 4.77 (d, ²J_{HH} = 17.0 Hz, 1 H, CH₂), 7.01 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1 H, H_{arom.}), 7.12 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, 1 H, H_{arom.}) 7.20-7.30 (m, 6 H, H_{arom.}), 7.41-7.45 (m, 2 H, H_{arom.}), 7.50 (t, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 H, H_{arom.}), 7.62 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1 H, H_{arom.}), 8.37 (dd, ³J_{HH} = 8 Hz, ⁴J_{HH} = 1.3 Hz, 1 H, H_{arom.}), 8.44-8.46 (m, 2 H, H_{arom.}), 8.89 (s, 1H, HCN) ppm.

Síntesis de iminas derivadas de la 2-aminopiridina (44-49).

Procedimiento general: A una disolución de 2-aminopiridina (0.094 g, 1 mmol,) en CHCl_3 (10 mL), y en presencia de tamiz molecular 4Å, se añadió el aldehído correspondiente (1 mmol) y 2-3 gotas de ácido trifluoroacético. La mezcla se agitó a reflujo hasta que se observó mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN el consumo completo de los reactivos. El crudo de reacción se utilizó sin purificación previa, en las siguientes reacciones debido a la inestabilidad de las iminas, sin embargo, fueron caracterizadas mediante ^1H -RMN y en algunos casos de ^{13}C -RMN.

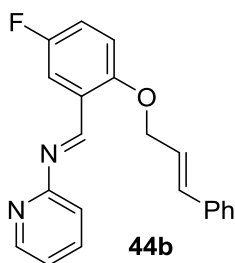
N-(2-(Cinamiloxi)benziliden)piridin-2-amina (44a).



Se siguió el procedimiento general utilizando 2-(cinamiloxi)benzaldehído **17c** (0.238 g, 1 mmol,) durante 16 h.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.82 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 5.5$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 1.4$ Hz, 2 H, CH_2), 6.45 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 15.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.3$ Hz, 1 H, =CH), 6.75 (d, $^3J_{\text{HH}} = 15.8$ Hz, 1H, =CH), 7.28-7.43 (m, 10 H, H_{arom}), 7.73 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1 H, H_{arom}), 8.25 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.3$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1 H, H_{arom}), 8.50 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, 1 H, H_{arom}), 9.60 (s, 1H, HCN) ppm.

N-(2-(Cinamiloxi)-5-fluorbenziliden)piridin-2-amina (44b).

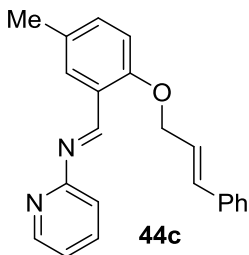


Se siguió el procedimiento general utilizando 2-(cinamiloxi)-5-fluorobenzaldehído **17d** (0.256 g, 1 mmol) durante 16 h.

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.69 (d, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, 1 H, CH_2), 6.33 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 16.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.6$ Hz, 1 H, =CH), 6.66 (d, $^3J_{\text{HH}} = 16.0$ Hz, 1H, =CH), 7.03-7.34 (m, 9 H, H_{arom}), 7.66 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.9$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.88 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.9$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 3.0$ Hz, 1 H, H_{arom}), 8.42 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.8$ Hz, 1 H, H_{arom}), 9.48 (s, 1H, HCN) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 70.0 (CH₂), 114.0 (d, ²J_{CF} = 24.5 Hz, CH), 119.8 (d, ²J_{CF} = 20.3 Hz, CH), 121.9 (CH), 124.0 (CH), 126.7 (2 CH), 128.2 (CH), 128.4 (C), 128.8 (2 CH), 133.5 (CH), 136.3 (C), 138.2 (CH), 149.1 (CH), 155.7 (C), 157.3 (d, ¹J_{CF} = 234 Hz, CF), 158.0 (C=N), 161.6 (C), ppm.

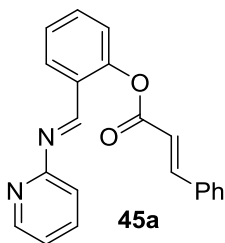
N-(2-(cinamiloxi)-5-metilbenzilideno)piridin-2-amina (44c)



Se siguió el procedimiento general utilizando 2-(cinamiloxi)-5-metil benzaldehído **17e** (0.252 g, 1 mmol) durante 16h.

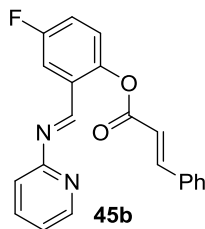
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.28 (s, 3 H, CH₃), 4.71 (dd, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ²J_{HH} = 1.3 Hz, 2 H, CH₂), 6.36 (dt, ³J_{HH} = 15.7 Hz, ³J_{HH} = 6.0 Hz, ³J_{HH} = 5.8 Hz, 1 H, =CH), 6.66 (d, ³J_{HH} = 15.7 Hz, 1 H, =CH), 6.83 (d, ³J_{HH} = 8.4 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.05-7.34 (m, 8 H, H_{arom}), 7.65 (dt, ³J_{HH} = 7.8 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.98 (d, ⁴J_{HH} = 3.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.42 (dd, ³J_{HH} = 5.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, H_{arom}), 9.49 (s, 1 H, HCN) ppm.

Cinamato de 2-((2-piridinilimino)metil)fenilo (45a).



Se siguió el procedimiento general utilizando cinamato de 2-formilfenilo (0.252 g, 1 mmol) durante 24 h

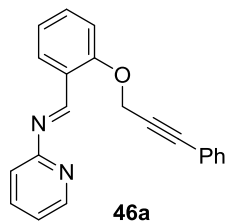
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.52 (d, ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1H, =CH), 6.74 (t, ³J_{HH} = 15.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.14-7.84 (m, 5 H, H_{arom}), 7.93 (d, ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1 H, =CH), 8.23 (d, ³J_{HH} = 4.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.28 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.46-8.50 (m, 3 H, H_{arom}), 9.30 (s, 1 H, H_{arom}), 9.44 (s, 1 H, HCN) ppm.



Cinamato de 4-fluor-2-((piridin-2-ilimino)metil)fenilo (45b).

Se siguió el procedimiento general partiendo de cinamato de 4-fluor-2-formilfenilo (0.270 g, 1 mmol,) durante 24 h.

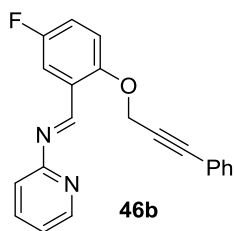
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.70 (d, ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1 H, =CH), 6.95-7.83 (m, 8 H, H_{arom}), 7.93 (d, ³J_{HH} = 16.0 Hz, 1 H, =CH), 7.99. (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.46 (dd, ³J_{HH} = 5.0 Hz ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.52 (d, ³J_{HH} = 5.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 9.26 (d, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 9.38 (s, 1H, HCN) ppm.



N-(2-(3-fenilprop-2-iniloxi)benciliden)piridin-2-amina (46a).

Se siguió el procedimiento general partiendo de 2-(3-fenilprop-2-iniloxi)benzaldehído (0.236 g, 1mmol,) durante 12 h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.03 (s, 2 H, CH₂), 7.08-7.51 (m, 8 H, H_{arom.}), 7.73 (dd, ³J_{HH} = 7.5 Hz, ⁴J_{HH} = 2.0 Hz, 1 H, H_{arom.}), 8.27 (dd, ³J_{HH} = 7.6 Hz, ⁴J_{HH} = 1.8 Hz, 1 H, H_{arom.}), 8.50 (d, ³J_{HH} = 5.2 Hz, 1 H, H_{arom.}), 9.58 (s, 1 H, HCN) ppm.



N-(2-(3-fenilprop-2-iniloxi)-5-fluorbenciliden)piridin-2-amina (46b).

Se siguió el procedimiento general partiendo de 2-(3-fenilprop-2-iniloxi)-5-fluorbenzaldehído (0.254 g, 1 mmol) durante 12 h.

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.01 (s, 2 H, CH₂), 6.98-7.45 (m, 8 H, H_{arom}), 7.12-7.41 (m, 9 H, H_{arom}), 7.73 (dd, ³J_{HH} = 7.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.9 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.98 (dd, ³J_{HH} = 9.0 Hz, ⁴J_{HH} = 2.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.50 (d, ³J_{HH} = 5.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 9.55 (s, 1H, HCN).

Se siguió el procedimiento general a partir de 2-(*N*-(3-fenilprop-2-inil)-*N*-tosilamino)benzaldehido (0.389 g, 1 mmol) durante 12 h.

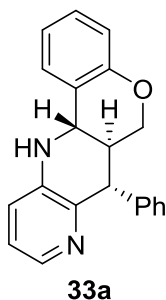
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.32 (s, 3 H, CH₃), 4.62-4.84 (m, 2 H, CH₂), 7.06-7.74 (m, 11 H, H_{arom.}), 8.40 (dd, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.5 Hz, 1 H, H_{arom.}), 8.45 (dd, ³J_{HH} = 5.0 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, H_{arom.}), 9.32 (s, 1 H, HCN) ppm.

Síntesis de Tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridinas (**33**) y Tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridin-6-onas (**35**).

Procedimiento general A: A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió ácido triluoroacético (2 mmol, 0.153 mL) y la mezcla se agitó a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo de la imina. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

Procedimiento general B: A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$ (2 mmol, 0.123 mL) y la mezcla de reacción fue agitada y calentada a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo de los reactivos. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

7-fenil-6a,7,12,12a-tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina (**33a**).



Se siguió el procedimiento general A, a partir de la imina **27c** (1 mmol,) durante 16 h. Se obtuvieron 0.175 g (56%) del compuesto **33a** como un sólido blanco.

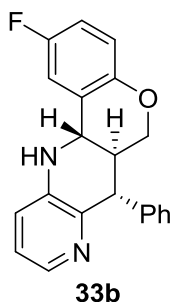
Punto de fusión: 164-165 °C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.56 (dddd, $^3J_{\text{HH}} = 12.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1 H, CH), 3.93 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^2J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, 1 H, CH_2), 3.98 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, 1 H, CH), 4.12 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.7$ Hz, 1 H, CH_2), 4.40 (s, 1 H, NH), 4.51 (d, $^3J_{\text{HH}} = 10.0$ Hz, 1 H, CH), 6.87 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.5$ Hz, 1 H, H_{arom}), 6.98-7.41 (m, 10 H, H_{arom}), 8.03 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.5$ Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 41.9 (CH), 49.7 (CH), 51.7 (CH), 67.4 (CH₂), 117.2 (CH), 120.7 (CH), 121.9 (C), 122.2 (CH), 122.8 (CH), 124.7 (CH), 126.9 (CH), 128.7 (2 CH), 128.9 (3 CH), 140.7 (CH), 140.8 (C), 142.2 (C), 145.3 (C), 154.1 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₈N₂O [M]⁺ 314.1419, encontrado 314.1418 .

7-fenil-2-fluoro-6a,7,12,12a-tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina (33b).



Se siguió el procedimiento general A, a partir de la imina **27d** (1 mmol) durante 16 h. Se obtuvieron 0.258 g (78%) del compuesto **33b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 198-199 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.50 (dddd, ³J_{HH} = 11.7 Hz, ³J_{HH} = 11.2 Hz, ³J_{HH} = 10.7 Hz, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1 H, CH), 3.91 (dd, ³J_{HH} = 11.2 Hz, ²J_{HH} = 11.2 Hz, 1 H, CH₂), 3.97 (d, ³J_{HH} = 11.7 Hz, 1 H, CH), 4.10 (dd, ²J_{HH} = 11.2 Hz, ³J_{HH} = 3.7 Hz, 1 H, CH₂), 4.21 (s, 1H, NH), 4.46 (d, ³J_{HH} = 10.7 Hz, 1 H, CH), 6.78 (dd, ³J_{HH} = 8.6 Hz, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 6.88-6.94 (m, 1 H, H_{arom}), 6.98-7.13 (m, 4 H, H_{arom}), 7.23-7.36 (m, 3 H, H_{arom}), 8.02 (dd, ³J_{HH} = 4.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.6 Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

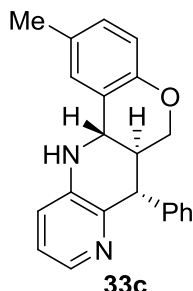
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 41.8 (CH), 49.7 (CH), 51.9 (CH), 67.6 (CH₂), 111.3 (d, ²J_{C-F} = 24.0 Hz, CH), 115.8 (d, ²J_{C-F} = 24.0 Hz, CH), 118.3 (d, ³J_{C-F} = 8.0 Hz, CH), 122.4 (CH), 123.0 (d, ³J_{C-F} = 6.0 Hz, C), 123.3 (CH), 127.1 (CH), 128.9 (2 CH), 129.1 (2 CH), 140.7 (C), 141.2 (CH), 142.2 (C), 145.5 (C), 150.3 (C), 157.2 (d, ¹J_{C-F} = 239.4 Hz, CF) ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -123.3 a -123.4 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₇FN₂O [M]⁺ 332.1325, encontrado 332.1314.

7-fenil-6a,7,12,12a-tetrahidro-2-metil-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina (33c).

Se siguió el procedimiento general A, a partir a partir de la imina **27e** (1 mmol) durante 16 h. Se obtuvieron 0.208 g (64%) del compuesto **33c** como un sólido blanco.



Punto de fusión: 139-140 °C (hexano/AcOEt).

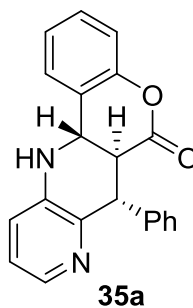
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.34 (s, 3H, CH₃) 2.51 (dddd, ³J_{HH} = 11.7 Hz, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 10.2 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, CH), 3.89 (t, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ²J_{HH} = 11.0 Hz, 1 H, CH₂), 3.97 (d, ³J_{HH} = 11.7 Hz, 1 H, CH), 4.09 (dd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1H, CH₂), 4.37 (s, 1H, NH), 4.45 (d, ³J_{HH} = 10.2 Hz, 1H, CH), 6.88 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.11-7.27 (m, 6 H, H_{arom}), 7.66-7.49 (m, 3 H, H_{arom}), 8.15 (dd, ³J_{HH} = 4.5 Hz, ³J_{HH} = 1.5 Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 20.6 (CH₃), 42.0 (CH), 49.6 (CH), 51.7 (CH), 67.2 (CH₂), 116.9 (CH), 121.4 (C), 122.1 (CH), 122.7 (CH), 124.9 (CH), 126.8 (CH), 128.6 (2 CH), 128.9 (2 CH), 129.4 (CH), 129.9 (C), 140.6 (CH), 140.8 (C), 142.2 (C), 145.4 (C), 151.8 (C), ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₂H₂₀N₂O [M]⁺ 328.1576, encontrado 328.1577 .

7-fenil-6a,7,12,12a-tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridin-6-ona (35a).

Se siguió el procedimiento general B, a partir de la imina **28a** (1 mmol) durante 24h. Se obtuvieron 0.311 g (95%) del compuesto **35a** como un sólido blanco.



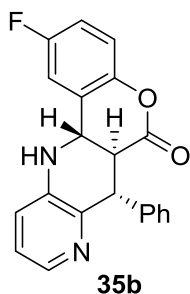
Punto de fusión: 225-226 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.29 (dd, ³J_{HH} = 13.0 Hz, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1 H, CH), 4.46 (s, 1 H, NH), 4.58 (d, ³J_{HH} = 13.0 Hz, 1 H, CH), 4.88 (d, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1 H, CH), 6.92-7.47 (m, 16 H, H_{arom}), 8.06 (dd, ³J_{HH} = 4.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.2 Hz, 1H, H_{arom}), ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 46.2 (CH), 49.5 (CH), 49.7 (CH), 117.4 (CH), 122.2 (CH), 123.4 (CH), 124.1 (C), 124.8 (CH), 126.8 (CH), 128.0 (CH), 128.6 (2 CH), 129.4 (2 CH), 129.7 (CH), 139.2 (C), 142.3 (CH), 144.4 (C), 146.2 (C), 150.0 (C), 168.0 (COO) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₆N₂O₂ [M]⁺ 328.1212, 328.1217.

7-Fenil-2-fluor-6a,7,12,12a-tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridin-6-ona (35b).



Se siguió el procedimiento general B, a partir de la imina **28b** (1 mmol) durante 20h. Se obtuvieron 0.311 g (90%) del compuesto **35b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 291-292 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.26 (dd, ³J_{HH} = 13.0 Hz, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1H, CH), 4.38 (s, 1H, NH), 5.56 (d, ³J_{HH} = 13.0 Hz, 1H, CH), 4.87 (d, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1H, CH), 7.00-7.27 (m, 10 H, H_{arom}), 8.10 (dd, ³J_{HH} = 4.5 Hz, ³J_{HH} = 1.4 Hz, 1H, H_{arom}), ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 46.2 (CH), 49.0 (CH), 49.5 (CH), 110.7 (d, ²J_{CF} = 25.6 Hz, CH), 116.3 (d, ²J_{CF} = 23.0 Hz, CH), 118.7 (d, ³J_{CF} = 8.5 Hz, CH), 122.3 (CH), 123.6 (CH), 126.1 (C), 126.8 (CH), 128.7 (2 CH, C_{arom.}), 129.4 (2 CH), 139.0 (C), 142.7 (CH), 144.3 (C), 145.9 (C), 146.2 (C), 159.5 (d, ¹J_{CF} = 247.0 Hz, CF), 167.7 (COO) ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): δ = -117.2 a -117.3 (m) ppm.

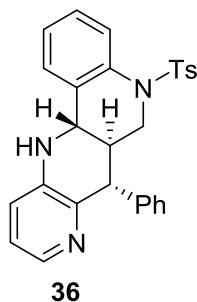
HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₅FN₂O₂ [M]⁺ 346.1118, encontrado 346.1222.

5.3.4. Síntesis de 5,6,6a,7,12,12a-hexahidroquinolino[4,3-b][1,5]naftiridinas (36, 37 y 38).

Procedimiento general A: A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió ácido triluoroacético (2 mmol, 0.153 mL) y la mezcla se agitó a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo de la imina. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados

Procedimiento general B: A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$ (2 mmol, 0.123 mL) y la mezcla de reacción fue agitada y calentada a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo de los reactivos. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

7-Fenil-5-tosil-5,6,6a,7,12,12a-hexahidroquinolino[4,3-b][1,5]naftiridina (36).



Se siguió el procedimiento general A, a partir de la imina **30** (1 mmol) durante 16h. Se obtuvieron 0.284 g (88%) del compuesto **36** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 190-191 °C (hexano/AcOEt).

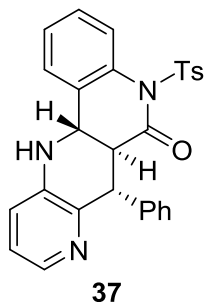
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1.90 (dddd, $^3J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.7$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, 1 H, CH), 2.34 (s, 3 H, CH_3), 3.36 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.3$ Hz, 1H, CH_2), 3.85 (d, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, 1H, CH), 3.98 (d, $^3J_{\text{HH}} = 10.7$ Hz, 1H, CH), 4.07 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, 1H, CH_2), 4.22 (s, 1H, NH), 6.93-7.02 (m, 5 H, H_{arom}), 7.09 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, 2 H, CH), 7.24-7.26 (m, 2 H, CH), 7.26-7.39 (m, 5 H, H_{arom}), 7.95 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.98 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.6$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 2.0$ Hz, 1H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 21.5 (CH_3), 41.3 (CH), 48.5 (CH_2), 51.5 (CH), 53.1 (CH), 122.1 (CH), 122.6 (CH), 124.3 (CH), 124.9 (CH), 125.2 (CH), 127.0 (2 CH), 127.0 (CH), 128.1 (CH), 128.7 (2 CH), 129.1 (2

CH), 129.4 (C), 129.7 (2 CH), 134.9 (C), 136.1 (C), 140.5 (C), 140,7 (CH), 141.8 (C), 143.6 (C), 145.0 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para $C_{28}H_{25}N_3O_2S$ $[M]^+$ 467.1667, encontrado 467.1666.

7-Fenil-5-tosil-5,6,6a,7,12,12a-hexahidroquinolino[4,3-b][1,5]naftiridin-6-ona (**37**).



Se siguió el procedimiento general B, a partir de la imina **31** (1 mmol) durante 8 h. Se obtuvieron 0.456 g (95%) del compuesto **37** como un sólido blanco.

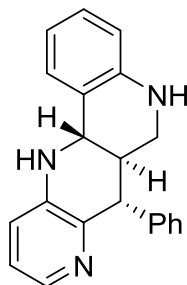
Punto de fusión: 270-271 °C (hexano/AcOEt).

1H -RMN (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 2.40 (s, 3 H, CH_3), 3.06 (dd, $^3J_{HH} = 12.5$ Hz, $^3J_{HH} = 10.0$ Hz, 1 H, CH), 4.32 (d, $^3J_{HH} = 10.0$ Hz, 1 H, CH), 4.35 (d, $^3J_{HH} = 12.5$ Hz, 1 H, CH), 6.71 (s, 1 H, NH), 6.97-7.08 (m, 4H, H_{arom}), 7.12-7.16 (m, 2 H, H_{arom}), 7.30 (dd, $^3J_{HH} = 8.0$ Hz, $^3J_{HH} = 1.2$ Hz, 1H, CH), 7.43-7.47 (m, 4H, CH), 7.59-7.71 (m, 1H, CH_{arom}), 7.74 (dd, $^3J_{HH} = 4.2$ Hz, $^3J_{HH} = 1.3$ Hz, 1H, CH_{arom}), 7.79-7.81 (m, 1H, CH), 7.88 (d, $^3J_{HH} = 8.4$ Hz, 1H, CH_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, $CDCl_3$): 21.15 (CH_3), 45.4 (CH), 48.7 (CH), 51.7 (CH), 121.9 (CH), 122.2 (CH), 123.6 (CH), 123.9 (CH), 125.7 (CH), 126.4 (2 CH), 127.3 (CH), 127.8 (2 CH), 128.0 (2 CH), 129.1 (2 CH), 129.8 (2 CH), 132.0 (C), 132.8 (C), 136.1 (C), 139.4 (CH), 140,0 (C), 144.6 (C), 145.1 (C), 145.3 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para $C_{28}H_{33}N_3O_3S$ $[M]^+$ 467.1667, encontrado 481.1461.

7-Fenil-5-tosil-5,6,6a,7,12,12a-hexahidroquinolino[4,3-b][1,5]naftiridina (**38**).



38

A una disolución del compuesto **36** (0.467 g, 1 mmo,) en MeOH (15 mL) se añadió Mg (0.121 g, 2 mmol) y se agito en ultrasonidos durante 12 h observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción por 1H -RMN. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el crudo de reacción se trató con HCl (12 M) hasta pH = 2.0 y posteriormente con una

disolución saturada de NaHCO₃ hasta pH = 7.0. La mezcla de reacción se extrajo con CH₂Cl₂ y el disolvente se eliminó a presión reducida, obteniendo un aceite amarillo que se purificó en columna de sílica gel (eluyentes EtOAc: Hexano 1:2) Se obtuvieron 0.463 g (99%) del compuesto **38** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 201-202 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.27-2.35 (m, 1 H, CH), 3.01 (d, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, CH₂), 3.02 (s, 1H, CH₂), 3.83 (s, 1H, NH), 3.86 (d, ³J_{HH} = 12.0 Hz, 1H, CH), 4.33 (s, 1H, NH), 4.38 (d, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1H, CH), 6.40 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 1.0 Hz, 1H, H_{arom}), 6.66 (dt, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 1.0 Hz, 1H, H_{arom}), 6.86-7.04 (m, 5H, H_{arom}), 7.12-7.25 (m, 4H, H_{arom}), 7.87 (dd, ³J_{HH} = 4.6 Hz, ³J_{HH} = 1.5 Hz, 1H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 41.9 (CH), 44.0 (CH₂), 51.5 (CH), 52.9 (CH), 114.4 (CH_{arom.}), 117.2 (CH_{arom.}), 120.2 (C), 122.0 (CH), 122.5 (CH), 124.5 (CH), 126.6 (CH), 128.2 (CH), 128.5 (2 CH), 129.0 (2 CH), 140.0 (C), 141.0 (CH), 142.9 (C), 143.9 (C), 145.7 (C) ppm.

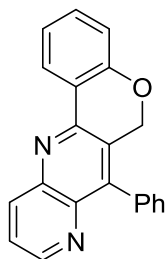
HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₉N₃ [M]⁺ 467.1667, encontrado 467.1615.

Síntesis de derivados de [1,5]naftiridinas (39), (40), (41) y (43).

Procedimiento general A: A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$ (2 mmol, 0.123 mL) y la mezcla de reacción fue agitada y calentada a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo de los reactivos. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

Procedimiento general B: A una disolución de la tetrahidro[1,5]naftiridina correspondiente (1 mmol), en tolueno (15 mL), se añadió DDQ (0.249 g, 1.1 mmol). La mezcla de reacción fue agitada y calentada a 40°C en microondas hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo del reactivo. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyente: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

7-Fenil-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina (39a).



39a

Se siguió el procedimiento general A, a partir de la imina **29a** (1 mmol) durante 5 h. Se obtuvieron 0.275 g (89%) del compuesto **39a** como un sólido blanco.

Cuando se siguió el procedimiento general B, se utilizó la tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina **33a** (0.314 g, 1 mmol) durante 1 h. Se obtuvieron 0.310 g (99%) del compuesto **39a** como un sólido blanco.

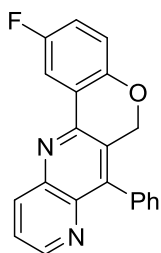
Punto de fusión: $209\text{-}210^\circ\text{C}$ (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 5.22 (s, 2 H, CH_2), 7.01 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.17-7.22 (m, 1 H, H_{arom}), 7.31-7.43 (m, 7 H, H_{arom}), 8.45 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.7$ Hz, 1 H, H_{arom}), 8.50 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.6$ Hz, 1 H, H_{arom}), 8.88 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.2$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.8$ Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 66.9 (CH₂), 117.3 (CH), 122.6 (CH), 123.2 (C), 124.1 (CH), 126.0 (CH), 126.5 (C), 128.4 (2 CH), 128.8 (CH), 129.7 (2 CH), 132.3 (CH), 134.1 (C), 137.2 (CH), 142.2 (C), 143.7 (C), 144.6 (C), 149.6 (C), 150.4 (CH), 157.4 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₄N₂O [M]⁺ 310.1106, encontrado 310.1111.

2-Fluor-7-fenil-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina (39b).



39b

Se siguió el procedimiento general A a partir de la imina **29b** (1 mmol) durante durante 5 h. Se obtuvieron 0.298 g (91%) del compuesto **39b** como un sólido blanco.

Cuando se siguió el procedimiento general B, se utilizó la tetrahydro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina **33b** (0.332 g, 1 mmol) durante 1h. Se obtuvieron 0.298 g (99%) del compuesto **39b** como un sólido blanco.

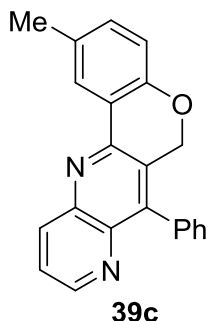
Punto de fusión: 236-237 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.20 (s, 2 H, CH₂), 6.96 (dd, ³J_{HH} = 8.8 Hz, ⁴J_{HH} = 3.4 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.09 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.37-7.39 (m, 2 H, H_{arom}), 7.52-7.63 (m, 4 H, H_{arom}), 8.18 (dd, ³J_{HH} = 9.2 Hz, ⁴J_{HH} = 3.1 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.45 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.90 (dd, ³J_{HH} = 4.1 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 67.0 (CH₂), 111.7 (d, ²J_{CF} = 24.2 Hz, CH), 118.7 (d, ³J_{CF} = 7.6 Hz, CH), 119.2 (d, ²J_{CF} = 24.0 Hz, CH), 124.2 (CH), 126.2 (C), 128.4 (2 CH), 128.7 (CH), 129.7 (2 CH), 134.0 (C), 137.4 (CH), 142.4 (C), 143.8 (C), 144.9 (C), 150.8 (C), 153.5 (CH), 157.3 (C), 158.4 (d, ¹J_{CF} = 241.3 Hz, CF) ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): -124 a -123.9 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₃FN₂O [M]⁺ 328.1012, encontrado 328.1014.



2-Metil-7-fenil-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina (39c).

Se siguió el procedimiento general B utilizando la tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina **33c** (1 mmol, 0.328 g) durante 1 h. Se obtuvieron 0.324 g (99%) del compuesto **39d** como un sólido blanco.

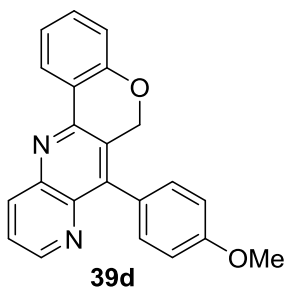
Punto de fusión: 160-161 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.44 (s, 3 H, CH₃), 5.18 (s, 2 H, CH₂), 6.91 (d, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.21 (ddd, ³J_{HH} = 8.4, Hz, ⁴J_{HH} = 2.3 Hz, ⁴J_{HH} = 0.8 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.36-7.40 (m, 2 H, CH), 7.49-7.62 (m, 4 H, H_{arom}), 8.30 (d, ⁴J_{HH} = 1.9 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.45 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.88 (dd, ³J_{HH} = 4.0 Hz, ³J_{HH} = 1.6 Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 21.0 (CH₃), 63.9 (CH₂), 117.2 (CH), 122.8 (C), 124.2 (CH), 125.9 (CH), 126.8 (C), 128.5 (2 CH), 128.7 (CH), 129.9 (2 CH), 132.2 (C), 133.3 (CH), 134.2 (C), 137.2 (CH), 142.4 (C), 143.8 (C), 144.7 (C), 150.0 (C), 150.4 (CH), 155.5 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₂H₁₆N₂O [M]⁺ 324.1263, encontrado 324.1268.

7-(4-Metoxifenil)-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridina (39d).



Se siguió el procedimiento general A a partir de la imina **29d** (1 mmol) durante 5 h. Se obtuvieron 0.299 g (88%) del compuesto **39c** como un sólido blanco.

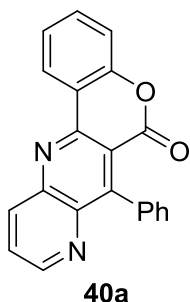
Punto de fusión: 219-220 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.82 (s, 3 H, CH₃), 5.18 (s, 2 H, CH₂), 6.93 (d, ³J_{HH} = 9.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.00 (d, ³J_{HH} = 8.6 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.06-7.19 (m, 1 H, H_{arom}), 7.28 (d, ³J_{HH} = 8.6 Hz, 2 H, H_{arom}), 7.28-7.35 (m, 2 H, H_{arom}), 7.50 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.35 (dd,

$^3J_{\text{HH}} = 8.7 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 1.5 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 8.41 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.7 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 8.81 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 4.0 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 1.6 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 55.3$ (CH_3), 66.8 (CH_2), 113.8 (2 CH), 117.2 (CH), 122.6 (CH), 123.2 (C), 124.0 (CH), 125.8 (CH), 126.4 (C), 131.2 (2 CH), 132.2 (CH), 137.2 (CH), 142.4 (C), 143.7 (C), 144.3 (C), 149.6 (C), 150.2 (CH), 157.3 (C), 159.7 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$ 340.1212, encontrado 340.1208.



7-fenil-6H-cromeno[4,3-*b*][1,5]naftiridin-6-ona (40a)

Se siguió el procedimiento general B, a partir de la tetrahidro-6H-cromeno[4,3-*b*][1,5]naftiridin-6-ona **35a** durante 2 h. Se obtuvieron 0.324 g (99%) del compuesto **40a** como un sólido blanco.

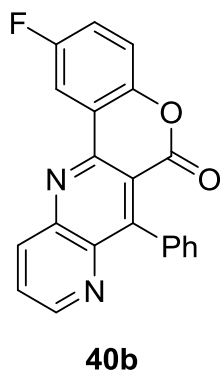
Punto de fusión: 302-306 °C (hexano/AcOEt).

$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7.19$ (s, 2 H, H_{arom}), 7.28 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.0 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 7.37 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.4 \text{ Hz}$, 1 H, CH_{arom}), 7.45-7.57 (m, 3 H, H_{arom}), 7.68 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.5 \text{ Hz}$, $^3J_{\text{HH}} = 4.0 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 8.46 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.7 \text{ Hz}$, $^4J_{\text{HH}} = 1.5 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 8.77 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.6 \text{ Hz}$, $^4J_{\text{HH}} = 1.5 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}), 8.96 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 3.8 \text{ Hz}$, $^4J_{\text{HH}} = 1.5 \text{ Hz}$, 1 H, H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 116.1$ (C), 117.2 (CH), 119.5 (C), 124.8 (CH), 125.9 (CH), 126.7 (CH), 128.0 (2 CH), 128.5 (CH), 128.5 (2 CH), 132.9 (CH), 136.0 (C), 137.2 (CH), 142.3 (C), 147.0 (C), 150.9 (C), 152.1 (CH), 152.9 (C), 156.2 (C), 159.1 (COO) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$ 324.0899, encontrado 324.0899.

2-Fluoro-7-fenil-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridin-6-ona (40b).



Se siguió el procedimiento general B, a partir de la tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,5]naftiridin-6-ona **35b** (1 mmol, 0.346 g) durante 2 h. Se obtuvieron 0.342 g (99%) del compuesto **40b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 275-276 °C (hexano/AcOEt).

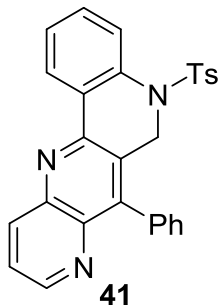
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 7.26-7.29 (m, 6H, H_{arom}), 7.49-7.51 (m, 3 H, H_{arom}), 7.71 (dd, ³J_{HH} = 8.7 Hz, ⁴J_{HH} = 1.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.43-8.48 (m, 2 H, H_{arom}), 8.98 (dd, ³J_{HH} = 3.9 Hz, ³J_{HH} = 1.8 Hz, 1H, CH_{arom}.) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ =

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): -117.43 a -117.36 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₁FN₂O₂ [M]⁺ 342.0805, encontrado 342.0809.

7-Fenil-5-tosil-5,6-dihidroquinolino[4,3-b][1,5]naftiridina (41).



Se siguió el procedimiento general A a partir de la imina **30**, (1 mmol) preparada *in situ*, durante 5 h. Se obtuvieron 0.384 g (83%) del compuesto **41** como un sólido blanco.

Se siguió el procedimiento general B, a partir de la 7-fenil-5-tosil-5,6,6a,7,12,12a-hexahidroquinolino[4,3-b][1,5]naftiridina **36** (1 mmol, 0.467 g) durante 1 h, observándose el 99% de conversión de los reactivos por análisis del crudo de reacción por ¹H-RMN. Se obtuvieron 0.463 g (99%) del compuesto **41** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 193-194 °C (hexano/AcOEt).

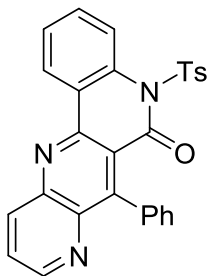
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 1.82 (s, 3 H, CH₃), 4.86 (s, 2 H, CH₂), 6.59 (d, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 6.97 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.29-7.31 (m, 2 H, H_{arom}), 7.48-7.55 (m, 6 H, H_{arom}), 7.55 (dd, ³J_{HH} = 8.0 Hz, ³J_{HH} = 1.2 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.22 (dd, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ³J_{HH} = 1.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.27 (dd, ³J_{HH} = 7.7 Hz, ³J_{HH} = 1.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.82 (dd, ³J_{HH} = 4.0 Hz, ³J_{HH} = 1.7 Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 21.1 (CH₃), 48.0 (CH₂), 123.9 (CH), 126.1 (C), 126.3 (CH), 126.9 (2 CH), 127.8 (2 CH), 128.2 (2 CH), 128.6 (2 CH), 129.0 (CH), 130.1 (2 CH), 130.7 (C), 131.0 (CH), 133.5 (C), 134.3 (C), 136.8 (CH), 138.2 (C), 141.4 (C), 143.0 (C), 143.2 (C), 143.5 (C), 145.1 (C), 150.1 (C), 150.6 (CH) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₈H₂₁N₃O₂S [M]⁺ 463.1354, encontrado 463.1363.

7-Fenil-5-tosilquinolino[4,3-b][1,5]naftiridin-6(5H)-ona (**43**).

Se siguió el procedimiento general B, a partir de la 7-Fenil-5-tosil-5,6,6a,7,12,12a-hexahidroquinolino[4,3-b][1,5]naftiridin-6-ona **37** (1 mmol, 0.481 g) durante 2 h. Se obtuvieron 0.478 g (99%) del compuesto **43** como un sólido blanco.



43

Punto de fusión: > 300 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.38 (s, 3 H, CH₃), 3.03 (dd, ³J_{HH} = 12.7 Hz, ³J_{HH} = 9.3 Hz, 1 H, CH), 4.30 (d, ³J_{HH} = 9.3 Hz, 1 H, CH), 4.33 (d, ³J_{HH} = 12.7 Hz, 1 H, CH), 6.69 (s, 1 H, NH), 6.95-7.06 (m, 6 H, H_{arom}), 7.28 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.42-7.46 (m, 4H, H_{arom}) ppm.

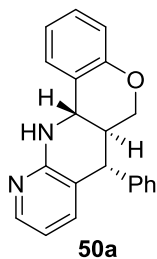
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ =

HRMS (EI): calculado para C₂₈H₁₉N₃O₃S [M]⁺ 477.1147, encontrado 477.1138.

Síntesis de derivados de Tetrahydro[1,8]naftiridinas (50) (52) y (53).

Procedimiento general. A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada y no aislada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$ (2 mmol, 0.123 mL) y la mezcla de reacción fue agitada y calentada a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo de los reactivos. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

7-Fenil-6a,7,12,2a-tetrahydro-6H-cromeno[4,3-b][1,8]naftiridina (50a).



Se siguió el procedimiento general a partir de la imina **44a** (1 mmol) durante 16 h.

Se obtuvieron 0.191 g (61%) del compuesto **50** como un sólido blanco.

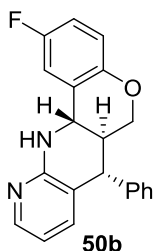
Punto de fusión: 105-106 °C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.53 (dddd, $^3J_{\text{HH}} = 11.8$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.2$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, 1H, CH), 3.81 (d, $^2J_{\text{HH}} = 11.8$ Hz, 1 H, CH_2), 3.87 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, 1 H, CH_2), 4.03 (dd, $^2J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.8$ Hz, 1 H, CH_2), 4.66 (d, $^3J_{\text{HH}} = 10.2$ Hz, 1 H, CH), 5.54 (s, 1 H, NH), 6.54 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, 1 H, H_{arom}), 6.83 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.3$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.00 (dt, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 1.1$ Hz, 1 H, H_{arom}), 7.15-7.23 (m, 1 H, H_{arom}), 7.29-7.41 (m, 7 H, H_{arom}), 7.98 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.6$ Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 40.3 (CH), 46.6 (CH), 51.8 (CH), 67.5 (CH_2), 114.5 (CH), 117.1 (CH), 122.2 (C), 121.0 (CH), 121.9 (C), 124.6 (CH), 127.6 (CH), 129.0 (CH), 129.1 (CH), 129.1 (4 CH), 138.0 (CH), 141.4 (C), 146.7 (CH), 153.9 (C), 155.9 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}]^+$ 314.1419, encontrado 314.1413.

2-Fluor-7-fenil-6a,7,12,12a-tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,8]naftiridina (50b).



Se siguió el procedimiento general a partir de la imina **44b** (1 mmol) durante 16 h. Se obtuvieron 0.195 g (59%) del compuesto **50b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 79-80 °C (hexano/AcOEt).

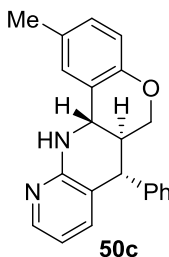
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.46-2.56 (m, 1 H, CH), 3.83 (q, ³J_{HH} = 11.0 Hz, 2 H, CH₂, CH), 4.01 (dd, ²J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 3.6 Hz, 1 H, CH₂), 4.62 (d, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1 H, CH), 5.38 (s, 1H, NH), 6.56 (dd, ³J_{HH} = 7.0 Hz, ³J_{HH} = 5.2 Hz, 1 H, H_{arom}), 6.77 (dd, ³J_{HH} = 9.4 Hz, ³J_{HH} = 4.3 Hz, 1H, H_{arom}), 6.88 (d, ³J_{HH} = 7.8 Hz, 1H, H_{arom}), 7.02 (dd, ³J_{HH} = 9.4 Hz, ³J_{HH} = 2.5 Hz, 1H, H_{arom}), 7.18 (d, ³J_{HH} = 7.2 Hz, 1H, H_{arom}), 7.28-7.440 (m, 6H, H_{arom}), 7.99 (dd, ³J_{HH} = 4.7 Hz, 1H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 40.0 (CH), 44.2 (CH), 51.7 (CH), 67.4 (CH₂), 106.9 (CH), 111.1 (d, ²J_{C-F} = 25.0 Hz, CH), 113.1 (CH), 114.6 (CH), 115.6 (d, ²J_{C-F} = 25.0 Hz, CH), 118.0 (d, ³J_{C-F} = 8.0 Hz, CH), 120.0 (CH), 122.7 (d, ³J_{C-F} = 7.5 Hz, CH), 126.3 (CH), 127.5 (CH), 128.5 (CH), 128.9 (CH), 129.0 (CH), 137.9 (CH), 141.1 (CH), 146.8 (CH), 148.1 (C), 149.7 (C), 155.6 (C), 240.0 (d, ¹J_{C-F} = 240.0 Hz, CF) ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): -120.9 a -121.0 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₇FN₂O [M]⁺ 332.1325, encontrado 332.1317.

7-Fenil-2-metil-6a,7,12,12a-tetrahidro-6H-cromeno[4,3-b][1,8]naftiridina (50c).



Se siguió el procedimiento general a partir de la imina **44c** (1 mmol, durante 16h.

Se obtuvieron 0.213 g (65%) del compuesto **50c** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 115-117 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.33 (s, 3H, CH₃), 2.42 (m, 1 H, CH), 3.72 (d, ³J_{HH} = 12.0 Hz, 1 H, CH), 3.76 (dd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ²J_{HH} = 11.0 Hz, 1 H, CH₂), 3.92 (dd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, 1H, CH₂), 4.54 (d, ³J_{HH} = 10.2 Hz, 1 H, CH), 5.49 (s, 1H, NH), 6.45 (dd, ³J_{HH} = 7.5

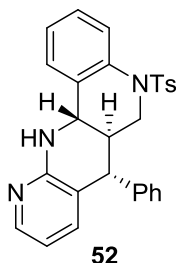
Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.9$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.65 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.79 (d, $^3J_{\text{HH}} = 6.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.92 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.6$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.05 (s, 1H, H_{arom}), 7.09 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.8$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.21-7.30 (m, 4H, H_{arom}), 7.90 (d, $^3J_{\text{HH}} = 4.6$ Hz, H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 20.8$ (CH_3), 40.4 (CH), 46.6 (CH), 51.9 (CH), 67.4 (CH_2), 114.4 (CH), 116.8 (CH), 120.2 (C), 121.5 (C), 125.1 (CH), 127.6 (CH), 129.1 (4 CH), 129.5 (CH), 130.2 (C), 138.0 (CH), 141.4 (C), 146.8 (C), 151.6 (C), 156.0 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}]^+$ 328.1576, encontrado 228.1587.

7-Fenil-5-tosil-5,6,6a,7,12,12a-hexahidroquinolino[4,3-b][1,8]naftiridina (**52**).

Se siguió el procedimiento general a partir de la imina **47** durante 12 h. Se obtuvieron 0.373 g (80%) del compuesto **52** como un sólido blanco.



Punto de fusión: 111-112 °C (hexano/AcOEt).

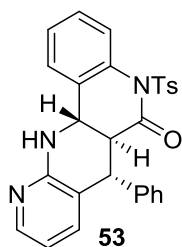
$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 1.90$ (dddd, $^3J_{\text{HH}} = 13.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 12.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.2$ Hz, 1 H, CH), 2.29 (s, 3 H, CH_3), 3.27 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 13.0$ Hz, 1 H, CH), 3.60 (d, $^3J_{\text{HH}} = 12.0$ Hz 1 H, CH), 3.80 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 14.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 5.2$ Hz, 1H,

CH_2), 3.88 (d, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz 1 H, CH), 5.38 (s, 1 H, NH), 6.42 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz, $^4J_{\text{HH}} = 5.0$ Hz, 1 H, H_{arom}), 6.70 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz 1 H, H_{arom}), 6.99 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz 1 H, H_{arom}), 7.07 (d, $^3J_{\text{HH}} = 8.0$ Hz 1 H, H_{arom}), 7.17-7.35 (m, 10 H, H_{arom}), 7.82-7.86 (m, 2 H, H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 21.6$ (CH_3), 40.6 (CH), 48.5 (CH), 48.7 (CH_2), 52.7 (CH), 121.8 (CH), 114.3 (CH), 119.5 (C), 123.5 (CH), 125.2 (CH), 125.5 (CH), 127.0 (C), 127.7 (CH), 128.0 (CH), 129.0 (4 CH), 129.7 (2 CH), 130.5 (C), 135.7 (C), 137.5 (CH), 140.7 (C), 143.8 (C), 146.6 (CH), 155.5 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$ $[\text{M}]^+$ 467.1667, encontrado 467.1670.

7-Fenil-5-tosil-6a,7,12,12a-tetrahidrobenzo[h]pirido[2,3-b][1,6]naftiridin-6(5H)-one (53).



Se siguió el procedimiento general a partir de la imina **48** durante 24 h. Se obtuvieron 0.360 g (75%) del compuesto **n** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 250-251 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ =

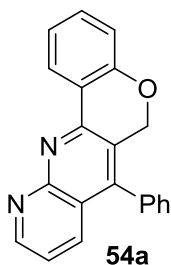
HRMS (EI): calculado para C₂₈H₂₃N₃O₃S [M]⁺ 481.1460, encontrado 463.1356.

Síntesis de los derivados de [1,8]naftiridina 54-56.

Procedimiento general A: A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió $\text{BF}_3 \cdot \text{EtO}_2$ (2 mmol, 0.123 mL) y la mezcla de reacción fue agitada y calentada a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo de los reactivos. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

Procedimiento general B: A una disolución del derivado de tetrahydro[1,8]naftiridina correspondiente (1 mmol), en tolueno (15 mL), se añadió DDQ (0.249 g, 1.1 mmol). La mezcla de reacción fue agitada y calentada a 40°C en microondas hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el completo consumo del reactivo. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyente: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados.

7-Fenil-6H-cromeno[4,3-b][1,8]naftiridina (54a).



Se siguió el procedimiento general A a partir de la imina **46a** durante 12 h. Se obtuvieron 0.217 g (70%) del compuesto **54a** como un sólido blanco.

Cuando se siguió el procedimiento general B, a partir de la tetrahydro[1,8]naftiridina **50a** (1 mmol, 0.313 g) durante 16h, se obtuvieron 0.308 g (99%) del compuesto **54a** como un sólido blanco.

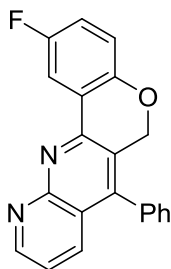
Punto de fusión: $151\text{-}152^\circ\text{C}$ (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): $\delta =$

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): $\delta =$

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ $[\text{M}]^+$ 310.1106, encontrado 310.1117.

2-fluoro-7-fenil-6H-cromeno[4,3-b][1,8]naftiridina (54b).



54b

Se siguió el procedimiento general A a partir de la imina **46b** durante 12h. Se obtuvieron 0.206 g (63%) del compuesto **n** como un sólido blanco.

Cuando se siguió el procedimiento general B, a partir de la tetrahidro[1,8]naftiridina **50b** (1 mmol, 0.325 g) durante 16h, se obtuvieron 0.328 g (99%) del compuesto **54b** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 238-239 °C (hexano/AcOEt).

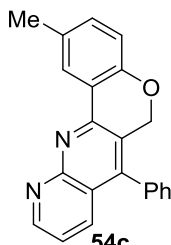
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 5.07 (s, 2H, CH₂), 6.87 (dd, ³J_{HH} = 9.0 Hz, ³J_{HH} = 4.6 Hz, 1H, H_{arom}), 7.00-7.05 (m, 1H, H_{arom}), 7.21-7.25 (m, 2 H, H_{arom}), 7.29 (dd, ³J_{HH} = 8.4 Hz, ⁴J_{HH} = 4.7 Hz, 1 H, H_{arom}), 7.48-7.55 (m, 3H, H_{arom}), 7.82 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ³J_{HH} = 2.0 Hz, 1H, H_{arom}), 8.29 (dd, ³J_{HH} = 9.0 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, 1H, H_{arom}), 8.99 (dd, ³J_{HH} = 4.1 Hz, ³J_{HH} = 1.9 Hz, 1H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 66.54 (CH₂), 112.4 (d, ²J_{CF} = 25.0 Hz, CH), 118.4 (d, ³J_{CF} = 8.0 Hz, CH), 119.6 (d, ²J_{CF} = 25.0 Hz, CH), 120.5 (CH), 121.8 (CH), 122.1 (C), 123.7 (C), 124.8 (d, ³J_{CF} = 8.0 Hz, C), 129.1 (2 CH), 129.1 (C), 133.5 (C), 135.5 (CH), 145.3 (C), 151.2 (C), 153.4 (CH), 153.5 (C), 155.7 (C), 158.2 (d, ¹J_{CF} = 240.0 Hz, CF), ppm.

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃): -120.4 a -121.0 (m) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₃FN₂O [M]⁺ 328.1576, encontrado 328.1006.

7-Fenil 2-metil-6H-cromeno[4,3-b][1,8]naftiridina (54c).



54c

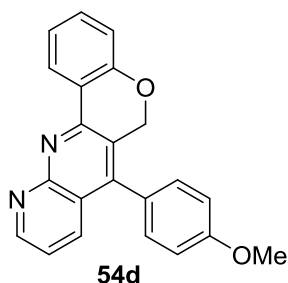
Se siguió el procedimiento general B, a partir de la tetrahidro[1,8]naftiridina **50c** (1 mmol, 0.321 g) durante 16h. Se obtuvieron 0.324 g (99%) del compuesto **54c** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 214-215 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.41 (s, 3 H, CH₃), 5.12 (s, 2 H, CH₂), 6.88 (d, ³J_{HH} = 8.4 Hz, 1 H, CH), 7.20-7.55 (m, 7 H, H_{arom}), 7.87 (dd, ³J_{HH} = 8.5 Hz, ⁴J_{HH} = 2.6 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.53 (s, 1H, H_{arom}), 9.07 (d, ⁴J_{HH} = 3.5 Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 20.8 (CH₃), 66.6 (CH₂), 116.9 (CH), 121.6(CH), 122.12 (C), 122.8 (C), 124.3 (C), 126.9 (CH), 129.1 (2 CH), 129.4 (2 CH), 132.1 (CH), 133.7 (CH), 133.9 (C), 135.6 (CH), 144.8 (C), 152.2 (C), 153.3 (CH), 155.5 (C), 156.0 (C) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₂H₁₆N₂O [M]⁺ 3248.1263, encontrado 3248.1259.



7-(4-metoxifenil)-6H-cromeno[4,3-*b*][1,8]naftiridina (54d)

Se siguió el procedimiento general A a partir de la imina **46d** durante 12h.

Se obtuvieron 0.289 g (85%) del compuesto **54d** como un sólido blanco.

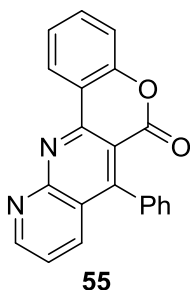
Punto de fusión: 164-165 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 3.84 (s, 3 H, OCH₃), 4.87 (s, 2H, CH₂), 6.47 (d, ³J_{HH} = 9.8 Hz, 1H, H_{arom}), 6.69-7.19 (m, 8 H, H_{arom}), 7.43 (t, ³J_{HH} = 8.5 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.07 (s, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 55.3 (OCH₃), 66.3 (CH₂), 107.2 (CH), 112.8 (CH), 113.7 (2 CH), 119.0 (CH), 120.7 (CH), 123.8 (C), 125.2 (CH), 125.9 (C), 128.7 (CH), 129.7 (2 CH), 130.6 (C), 138.0 (CH), 146.8 (2 C), 152.6 (C), 158.3 (C), 159.3 (C), ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₂H₁₆N₂O₂ [M]⁺ 340.1212, encontrado 340.1214.

7-fenil-cromeno[4,3-b][1,8]naftiridin-6-ona (55)



Se siguió el procedimiento general B, a partir de la tetrahydro[1,8]naftiridina **51a** (1 mmol, no aislada), durante 2 h. Se obtuvieron 0.320 g (99%) del compuesto **55** como un sólido blanco.

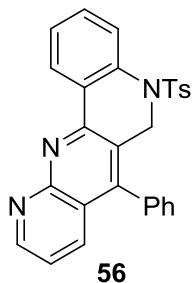
Punto de fusión: 183-184 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 6.75 (d, ³J_{HH} = 15.9 Hz, 1H, H_{arom}), 7.30-7.61 (m, 8 H, H_{arom}), 7.96 (d, ³J_{HH} = 15.9 Hz, 1 H, H_{arom}), 8.05-8.09 (m, 1 H, H_{arom}), 8.34 (s, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 120.3 (C), 121.4 (C), 123. (C), 128.3 (4 CH), 128.9 (4 CH), 130.4 (4 CH), 134.6 (C), 138.6 (C), 143.6 (C), 144.9 (C), 154.5 (C), 165.9 (COO) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₂N₂O₂ [M]⁺ 324.0899, encontrado 324.0887.

5, 6-dihidro-7-fenil-5-tosilquinolino[4,3-b][1,8]naftiridina (56)



Se siguió el procedimiento general A a partir de la imina **49** (1 mmol) durante 8 h. Se obtuvieron 0.402 g (87%) del compuesto **56** como un sólido blanco.

Se siguió el procedimiento general B, a partir de la tetrahydro[1,8]naftiridina **52** (1 mmol, 0.466 g) durante 1 h. Se obtuvieron 0.462 g (99%) del compuesto **56** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 145-146 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.28 (s, 3H, CH₂), 4.76 (s, 2H, CH), 6.58 (s, 1H, CH_{arom.}), 7.02 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz 1H, CH_{arom.}), 7.12-7.49 (m, 12H, CH), 7.75 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, CH_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ =

HRMS (EI): calculado para C₂₈H₂₁N₃O₂S [M]⁺ 463.1354, encontrado 463.1356.

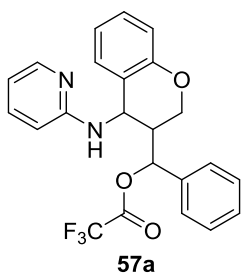
Síntesis de cromeno[4,3-d]pirido[1,2-a]pirimidinas

5.3.8.1 Síntesis de derivados de (fenilcroman-3-il)metil-2,2,2-trifluoroacetatos (57)

Procedimiento General

A una disolución de la correspondiente imina previamente preparada (1 mmol) en CHCl_3 (10 mL) se añadió ácido trifluoroacético (2 mmol, 0.153 mL) y la mezcla se agitó a a reflujo hasta que se observó, mediante cromatografía en capa fina y espectroscopía de ^1H -RMN, el consumo completo de la imina. El disolvente se eliminó a presión reducida y el aceite obtenido fue purificado por cromatografía en sílica gel (eluyentes: hexano/AcOEt 2:1) para obtener los productos deseados **57**.

Fenil(4-(piridin-2-ilamino)croman-3-il)metil-2,2,2-trifluoroacetato (**57a**)



Se siguió el procedimiento general, a partir de la aldimina (1 mmol).

Se obtuvieron 0.325 g (76%) del compuesto **57a** como un sólido blanco.

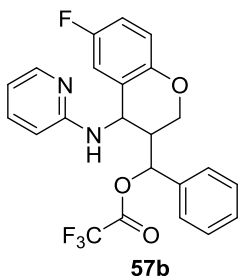
Punto de fusión: 185-186 °C (hexano/AcOEt).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 2.57 (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 12.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 10.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, 1H, CH) 3.86 (dd, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 4.0$ Hz, 1H, CH_2), 4.03 (t, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz 1H, CH_2), 4.98 (d, $^3J_{\text{HH}} = 10.0$ Hz, 1H, CH), 5.51 (d, $^3J_{\text{HH}} = 12.0$ Hz, 1H, CH), 6.25 (t, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.55 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.78-7.52 (m, 10H, NH y H_{arom}), 7.58 (d, $^3J_{\text{HH}} = 9.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 1.0$ Hz, 1H, H_{arom}), 7.82 (d, $^3J_{\text{HH}} = 7.5$ Hz, 1H, H_{arom}) ppm.

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3): δ = 38.9 (CH), 50.10 (CH), 65.4 (CH_2), 66.0 (CH), 111.0 (CH_{arom}), 117.0 (q, $^1J_{\text{CF}} = 293.1$ Hz, CF_3), 118.3 (CH_{arom}), 116.6 (CH_{arom}), 118.4 (C_{arom}), 118.8 (CH_{arom}), 119.5 (C_{arom}), 121.4 (CH_{arom}), 126.7 (CH_{arom}), 129.3 (CH_{arom}), 130.2 (2CH_{arom}), 130.4 (CH_{arom}), 135.5 (C_{arom}), 136.1 (CH_{arom}), 139.0 (C_{arom}), 153.1 (C_{arom}), 154.0 (C_{arom}), 161.5 (q, $^1J_{\text{CF}} = 33.3$ Hz, COO) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ [M] $^+$ 428.1348, encontrado 428.1318.

Fenil(6-fluoro-4-(piridin-2-ilamino)croman-3-il)metil-2,2,2-trifluoroacetate (57b)



Se siguió el procedimiento general, a partir de la aldimina (1 mmol).

Se obtuvieron 0.379 g (85%) del compuesto **57b** como un sólido blanco.

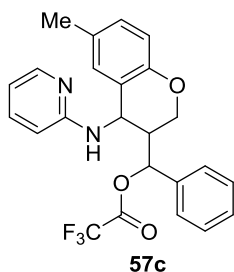
Punto de fusión: 169-170 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.53 (ddd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1 H, CH) 3.89 (dd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1 H, CH₂), 3.98 (t, ³J_{HH} = 11.0 Hz, 1 H, CH₂), 5.00 (d, ³J_{HH} = 11.0 Hz 1 H, CH), 5.44 (d, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1 H, CH), 6.25 (sa, 1 H, H_{arom}), 6.66 (dd, ³J_{HH} = 9.0 Hz, ³J_{HH} = 5.0 Hz, 1 H, H_{arom}), 6.81-7.52 (m, 10 H, NH y H_{arom}), 7.55 (ddd, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 3.0 Hz, ³J_{HH} = 1.0 Hz, 1 H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): 38.7 (CH), 50.5 (CH), 65.6 (CH₂), 65.9 (CH), 118.1 (d, ³J_{CF} = 8.5 Hz, CH), 113.1 (CH), 113.4 (CH), 115.7 (CH), 115.9 (CH), 116.1 (CH), 117.5 (CH), 118.0 (q, ¹J_{CF} = 235.0 Hz, CF₃), 128.3 (C), 130.1 (CH), 135.7 (CH), 138.0 (C), 149.2 (C), 153.9 (C), 156.9 (d, ¹J_{CF} = 238.0 Hz, CF), 161.7 (q, ¹J_{CF} = 33.0 Hz, COO) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₃H₁₈F₄N₂O₃ [M]⁺ 446.1254, encontrado 446.1260.

Fenil(6-metil-4-(piridin-2-ilamino)croman-3-il)metil-2,2,2-trifluoroacetate (57c)



Se siguió el procedimiento general, a partir de la aldimina (1 mmol). Se obtuvieron 0.353 g (80%) del compuesto **57c** como un sólido blanco.

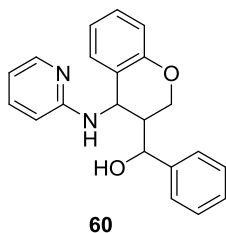
Punto de fusión: 175-176 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.22 (2, 3H, CH₃), 2.55 (ddd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 10.0 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1H, CH) 3.72 (dd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 4.0 Hz, 1H, CH₂), 3.94 (t, ³J_{HH} = 11.0 Hz 1H, CH₂), 5.09 (d, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1H, CH), 5.58 (d, ³J_{HH} = 11.0 Hz, 1H, CH), 6.39 (t, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1H, H_{arom}), 6.62 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H_{arom}), 6.95 (d, ³J_{HH} = 8.0 Hz, 1H, H_{arom}), 7.08 (d, ³J_{HH} = 7.0 Hz, 1H, H_{arom}), 7.25 (sa, 1H, NH), 7.28-7.61 (m, 7H, H_{arom}), 7.91 (d, ³J_{HH} = 12.0 Hz, 1H, H_{arom}) ppm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 20.4 (CH₃), 39.20 (CH), 49.9 (CH), 65.1 (CH₂), 66.6 (CH), 112.2 (CH_{arom}), 116.3 (CH_{arom}), 117.5 (CH_{arom}), 117.6 (CH_{arom}), 118.0 (q, ¹J_{CF} = 235.0 Hz, CF₃), 126.8 (CH_{arom}), 126.8-140.2 (CH_{arom} y C_{arom}), 150.9 (C_{arom}), 154.4 (C_{arom}), 161.8 (q, ¹J_{CF} = 31.0 Hz, COO) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₄H₂₁F₃N₂O₃ [M]⁺ 442.1504, encontrado 442.1574.

5.3.9 Síntesis de fenil(4-(piridin-2-ilamino)croman-3-il)metanol (60).



A una disolución del compuesto **57a** en CHCl_3 se añadió ácido sulfúrico concentrado (2 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante 6 h. A continuación, se añadió una disolución de NaHCO_3 saturado hasta pH neutro.

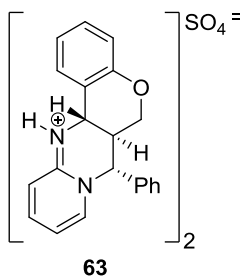
$^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 2.09$ (ddd, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 9.5$ Hz, $^3J_{\text{HH}} = 3.5$ Hz, 1H, CH), 3.81-3.91 (m, 2H, CH_2), 4.59 (s, 1H, OH), 4.41 (d, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, 1H, CH), 4.56 (d, $^3J_{\text{HH}} = 11.0$ Hz, 1H, CH), 5.50 (t, $^3J_{\text{HH}} = 9.5$ Hz, 1H, H_{arom}), 6.34-7.98 (m, 13H, NH y H_{arom}) ppm.

$^{13}\text{C-RMN}$ (75 MHz, CDCl_3): $\delta = 39.4$ (CH), 53.1 (CH), 65.2 (CH), 67.0 (CH_2), 103.1-148.1 (m, CH_{arom} y C_{arom}), 153.0 (C_{arom}), 154.0 (C_{arom}), 158.5 (C_{arom}), 161.1 (C_{arom}) ppm.

HRMS (EI): calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}]^+$ 332.1525, encontrado 332.1530.

Punto de fusión: 175-176 °C (hexano/AcOEt).

Síntesis de sulfato de 7-fenil-6a,13a-dihidro-6H,7H-cromeno[4,3-d]pirido[1,2-a]pirimidin-13-io (63)



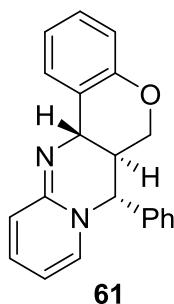
A una disolución de **57a** (1mmol, 0.428 g) en CH₂Cl₂ se añadió acetato de sodio (0.01mmol, 0.004 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente. Se añadió H₂SO₄ (0.1 mL) y se filtro el precipitado. Se obtuvieron 0.823 g (99%) del compuesto **63** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 171-173 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.93 (ddd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, 1H, CH), 3.65 (dd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 3.5 Hz, 1H, CH₂), 4.13 (t, ³J_{HH} = 11.0 Hz, 1H, CH₂), 5.08 (d, ³J_{HH} = 11.0 Hz, 1H, CH), 5.59 (d, ³J_{HH} = 11.0 Hz, 1H, CH), 6.81-7.92 (m, 13H, H_{arom}), 9.75 (s, 1H, NH) pm.

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 37.7 (CH), 48.7 (CH), 64.9 (CH₂), 65.9 (CH), 113.4 (CH_{arom}), 115.8 (CH_{arom}), 117.0 (CH_{arom}), 119.1 (CH_{arom}), 121.0 (CH_{arom}), 126.2 (CH_{arom}), 129.8 (CH_{arom}), 130.0 (CH_{arom}), 130.3 (CH_{arom}), 135.3 (CH_{arom}), 137.6 (C_{arom}), 141.7 (CH_{arom}), 153.3 (C_{arom}), 155.5 (C_{arom}) ppm.

Síntesis de 7-fenil-6a,13a-dihidro-6H,7H-cromeno[4,3-d]pirido[1,2-a]pirimidina (61)



Una disolución de **63** (0.5 mmol, 0.411 g) en CH₂Cl₂ (10 mL) se trató con una disolución de NaOH (2M, 10 mL), se extrajo con CH₂Cl₂ (10 mL) y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo de reacción se trituró en éter etílico. Se obtuvieron 0.314 g (99%) del compuesto **61** como un sólido blanco.

Punto de fusión: 200-201 °C (hexano/AcOEt).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 2.23 (ddd, ³J_{HH} = 11.0 Hz, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1H, CH), 3.91-4.00 (m, 2H, CH₂), 4.51 (d, ³J_{HH} = 10.0 Hz, 1H, CH), 4.68 (d, ³J_{HH} = 11.0 Hz, 1H, CH), 5.59 (dd, ³J_{HH} = 7.0 Hz, ³J_{HH} = 1.6 Hz, 1H, H_{arom}), 6.44-7.89 (m, 12H, H_{arom}) ppm

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃): δ = 39.2 (CH), 52.9 (CH), 65.1 (CH), 66.8 (CH₂), 103.6 (CH_{arom}), 115.8 (CH_{arom}), 121.1 (CH_{arom}), 124.0 (CH_{arom}), 125.1 (C_{arom}), 127.5 (CH_{arom}), 127.6 (CH_{arom}), 127.9 (CH_{arom}), 129.0 (CH_{arom}), 129.3 (2CH_{arom}), 132.0 (C_{arom}), 135.2 (CH_{arom}), 138.7 (C_{arom}), 153.0 (C_{arom}), 153.6 (C_{arom}) ppm.

HRMS (EI): calculado para C₂₁H₁₈N₂O [M]⁺ 314.1419, encontrado 314.1479.

V – 3. Parte experimental: Ensayos biológicos

V – 3.1. Enzima y materiales

La topoisomerasa I humana fue suministrada por la Profesora Birgitta Knudsen (Departamento de Biología Molecular y Genética, Aarhus). El DMSO y la camptotecina (CPT) se adquirieron de Sigma-Aldrich. Para los ensayos se preparó una disolución 10 mM de CPT en DMSO que se almacenó a -20°C.

V – 3.2. Ensayos de relajación

Las reacciones de relajación se llevaron a cabo en volúmenes totales de 80 µl en presencia de Tris-HCl 10 mM (pH 7,5), EDTA 1 mM, MgCl₂ 5 mM, CaCl₂ 5 mM y NaCl 50 mM. En todos los ensayos se agregaron diferentes concentraciones de los diferentes compuestos a estudiar disueltos en DMSO (concentración final de 2.5% (v/v)). La pureza de los compuestos fue en todos los casos superior a 95%. Se comprobó que el DMSO, a la concentración utilizada, no tenía ningún efecto inhibitorio de la topoisomerasa I.

Se incubaron un total de 800 fmol de pUC18 con 32 fmol de TopI purificada a 37 °C durante los intervalos de tiempo indicados. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de SDS (docedil sulfato sódico) al 1%. Las muestras se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 1%. El ADN fue visualizado tiñendo el gel con 0,5 µg/ml de GelRedTM y se visualizó usando el transiluminador UV.

V – 3.3. Materiales y reactivos en ensayos de citotoxicidad

Se utilizaron diversas líneas celulares y se cultivaron en diferentes medios.

Las células A549 se cultivaron en el medio F-12K complementado con FBS al 10% (ATCC).

Las células BT20, HEK3 y MRC5 se crecieron en el medio esencial mínimo de Eagle (EMEM) suplementado con FBS al 10% (ATCC).

Las células SKOV3 se cultivaron en el Medio modificado con 5a de McCoy suplementado con FBS al 10% (ATCC).

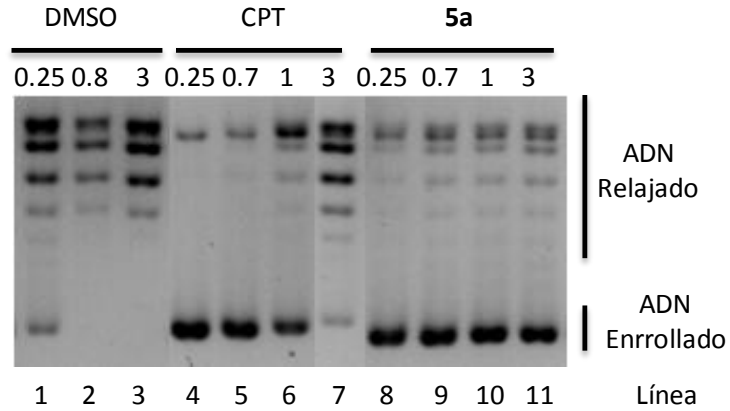
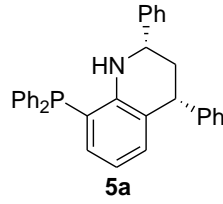
Todas las líneas celulares se mantuvieron en una incubadora que mantiene una temperatura y humedad optimas y constantes (5% de CO₂/95% de humedad a 37°C). Las células se colocaron en un frasco de cultivo de Teknovas y se recogieron mediante un tratamiento con tripsina (tripsina-EDTA (0,25%), rojo fenol) de Gibco, seguido de un lavado consecutivo con PBS. Todas las células se almacenaron a -80 °C hasta su uso.

V – 3.4. Ensayos de citotoxicidad

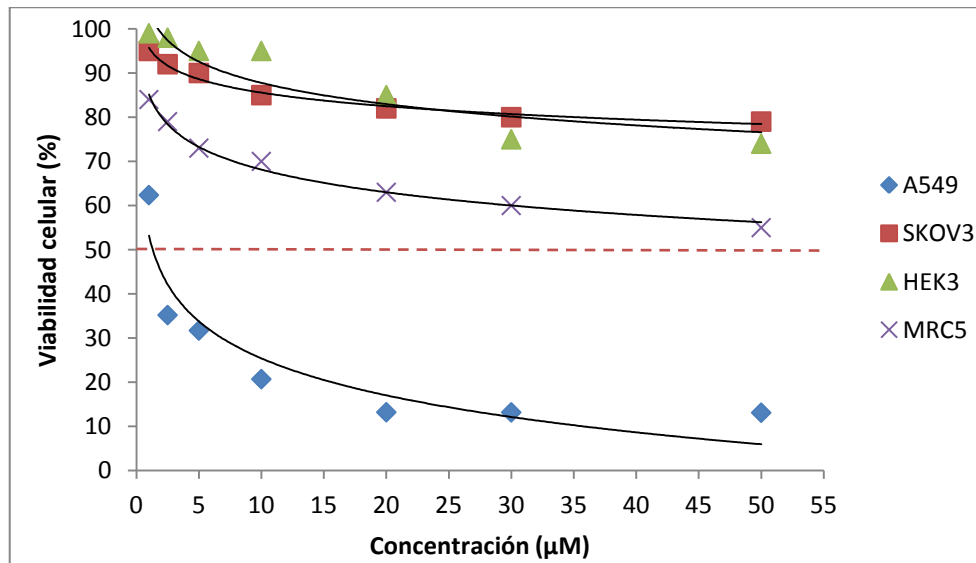
El efecto citotóxico de los compuestos se determinó mediante un ensayo colorimétrico con CCK-8. Las células A549, HEK3, BT20 y SKOV3 se cultivaron hasta 80% de confluencia, se trataron con tripsina y se sembraron en placas de 96 pocillos a una concentración de 2.5 x 10³ (células A549), 3,5 x 10³ (células BT20 y HEK3) y 3,0 x 10³ (células SKOV3) en 100 µl del medio de crecimiento correspondiente para cada línea celular. Después de 24 h, se agregaron los compuestos en los pocillos correspondientes a diferentes concentraciones (50, 30, 20, 10, 5, 2.5 y 1 µM de concentración final). Tras 48 horas de incubación, se agregaron 10 µl del reactivo CCK-8 a cada pocillo y se continuó la incubación durante 2 horas adicionales. La absorbancia de cada pocillo se analizó a 450 nm utilizando un lector de microplacas y los resultados se analizaron mediante confección de las correspondientes gráficas donde se indican los valores de porcentaje de células vivas a cada concentración evaluada. A partir del gráfico se calculó la concentración que produce el 50% de la inhibición del crecimiento celular (IC₅₀) siendo expresadas en µM.

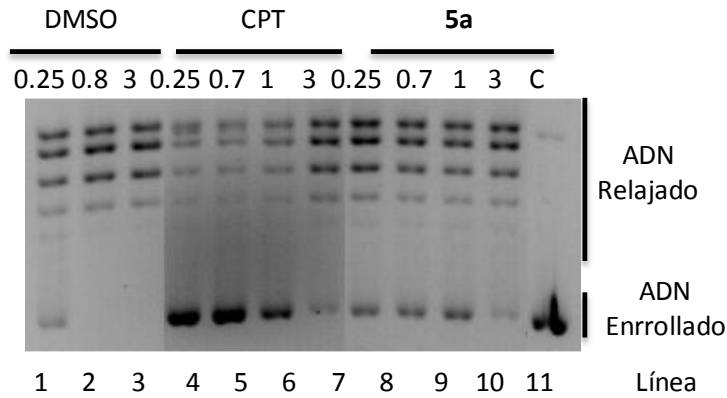
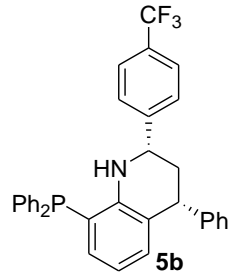
V – 5. Resultados de inhibición y citotoxicidad

A continuación se muestran los geles de electroforesis en agarosa realizados para evaluar la inhibición de la actividad enzimática de la topoisomerasa I de los derivados correspondientes. Además, se incluye el gráfico que muestra los valores de 50% de la inhibición del crecimiento celular (IC₅₀) en las diferentes líneas celulares de cáncer y líneas celulares sanas.

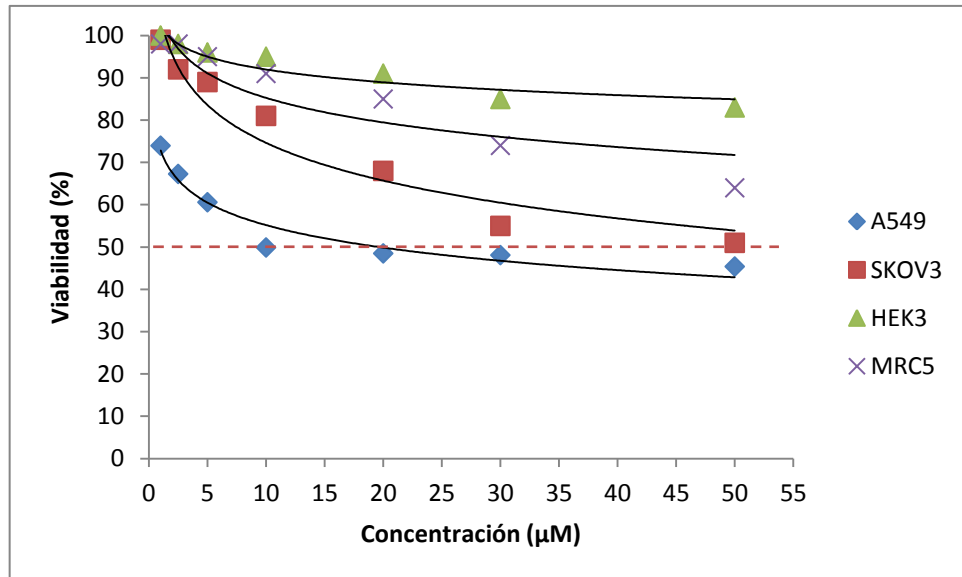


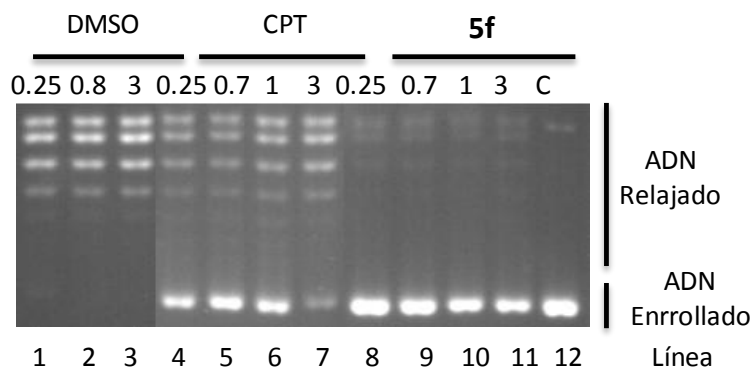
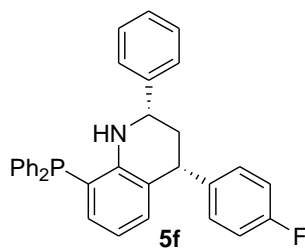
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
+++ / +++ / +++ / +++	0.6 ± 2.1	>50	>50	>50



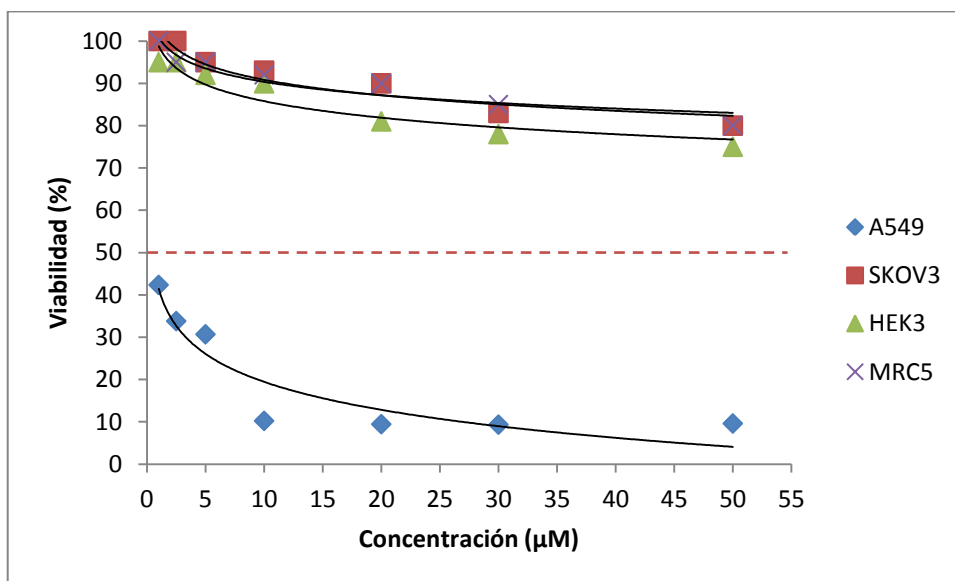


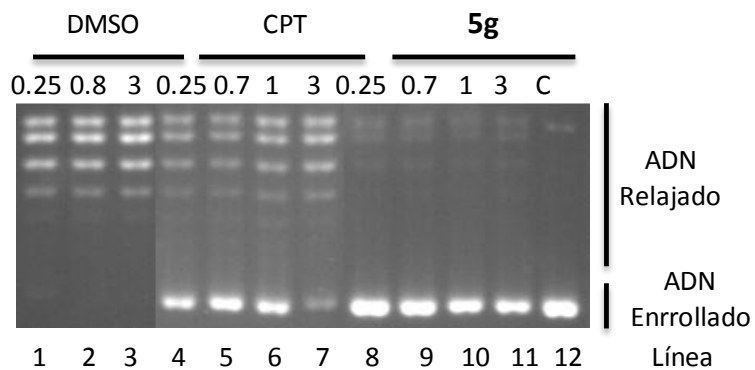
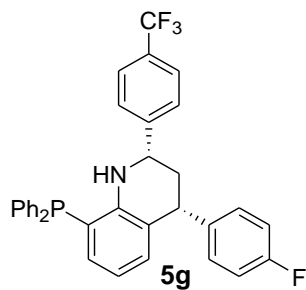
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
++/++/++/++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
61/61/61/59	16.17 \pm 4.9	>50	>50	>50



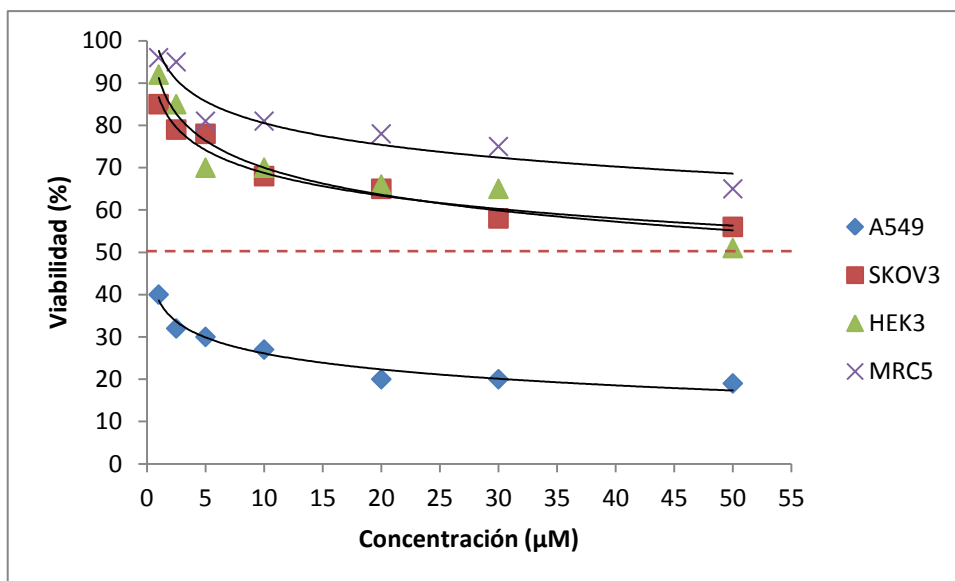


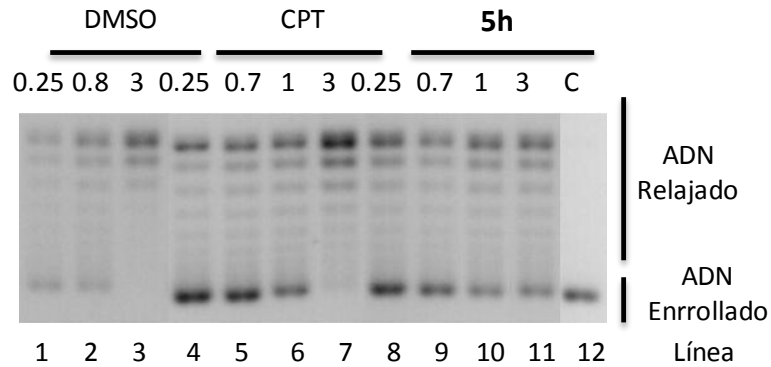
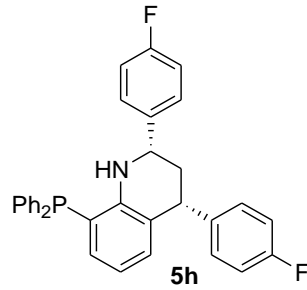
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
78/75/75/75	0.57 \pm 3.2	>50	>50	>50



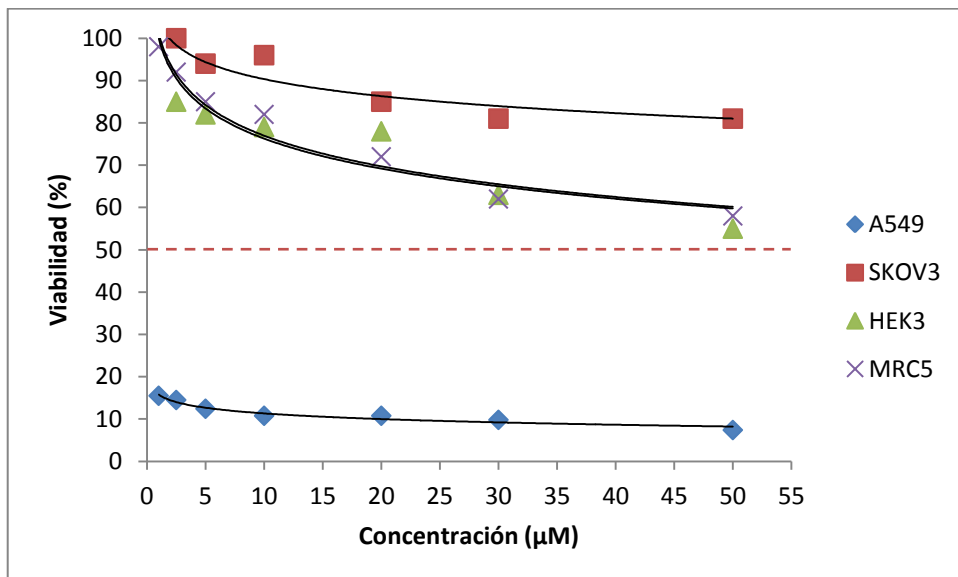


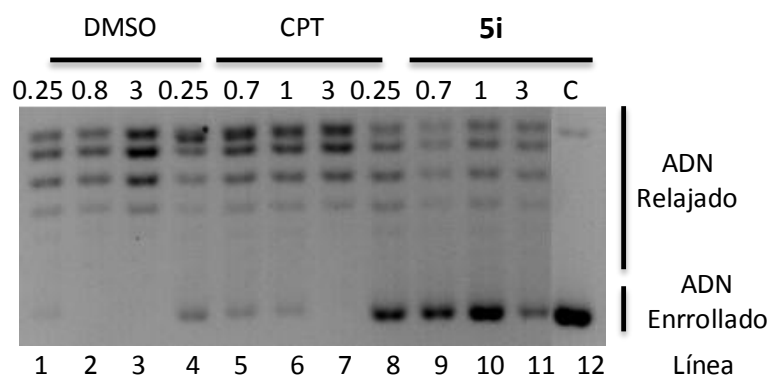
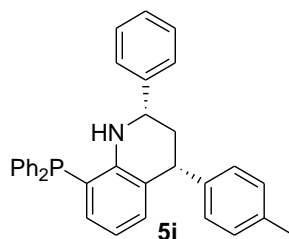
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
85/85/85/82	0.35 \pm 0.06	>50	>50	>50



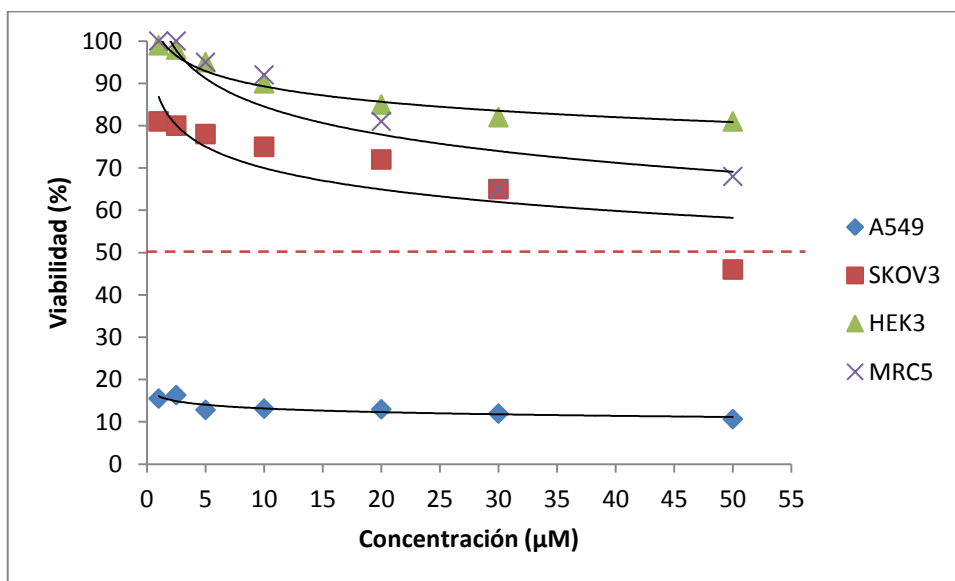


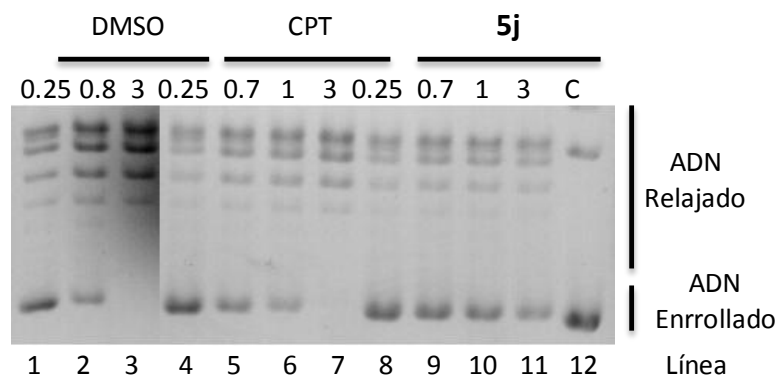
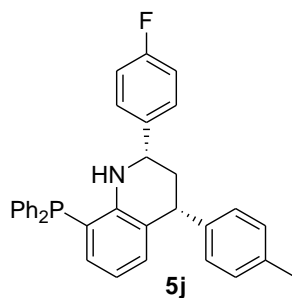
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
85/79/75/75	0.08 ± 0.01	>50	>50	>50



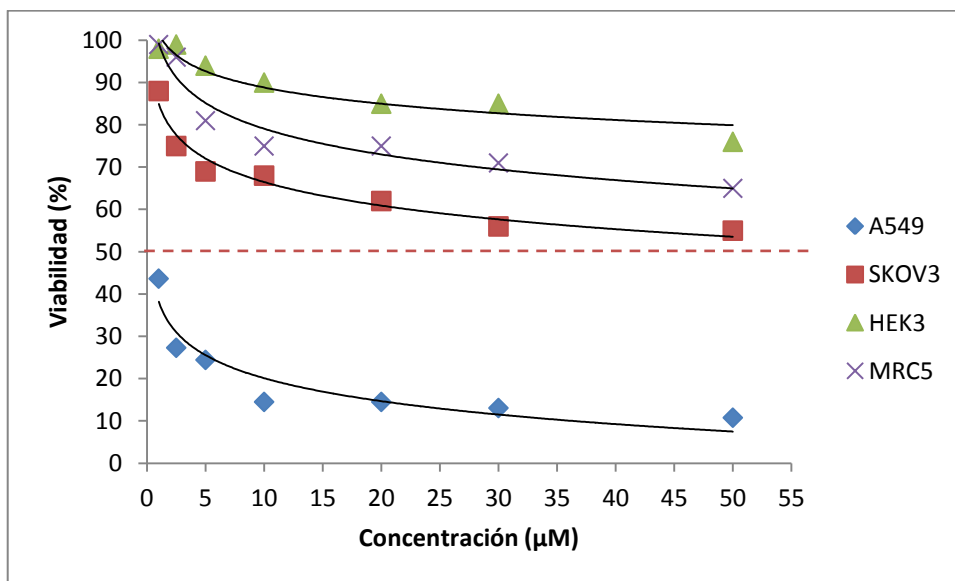


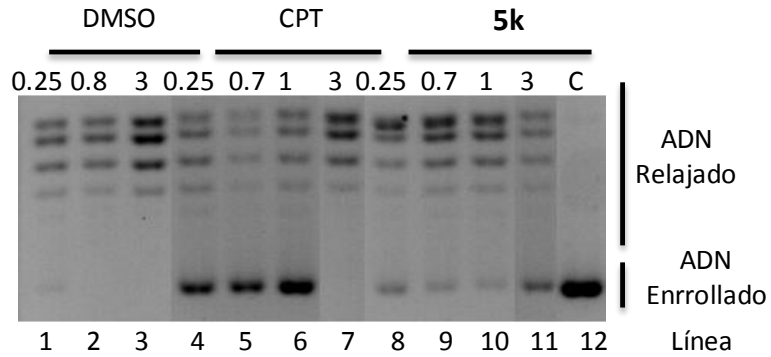
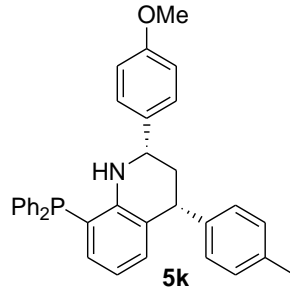
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
80/79/79/76	0.11 ± 0.01	>50	>50	>50



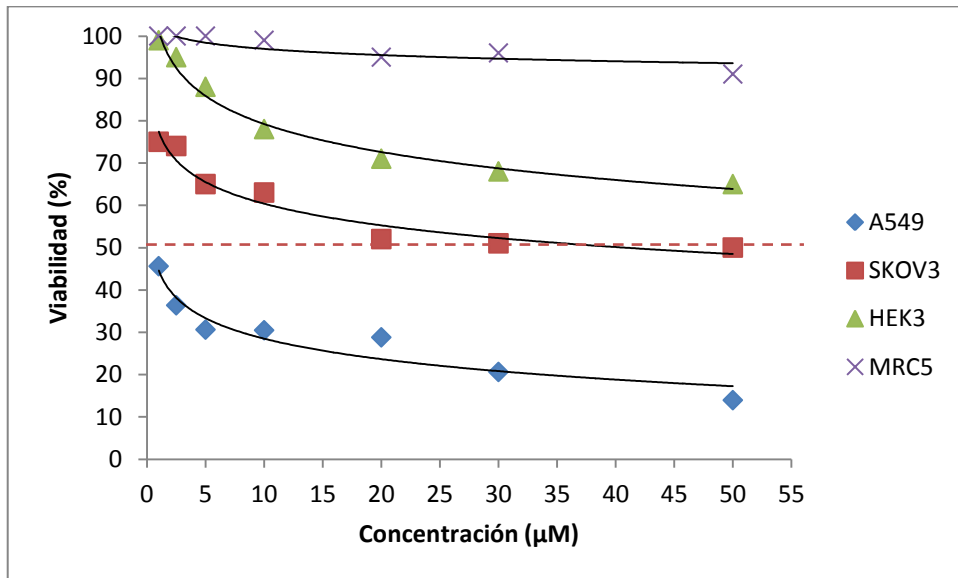


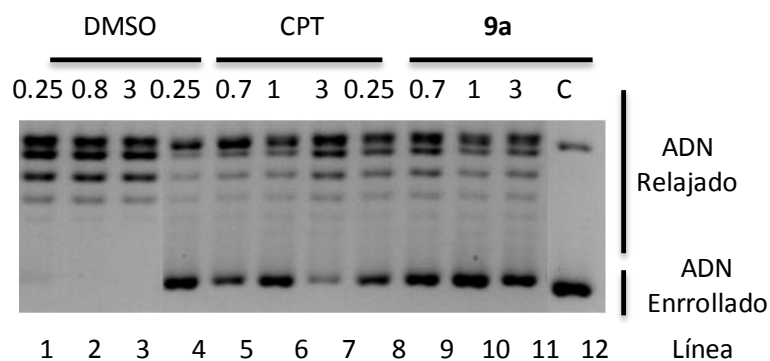
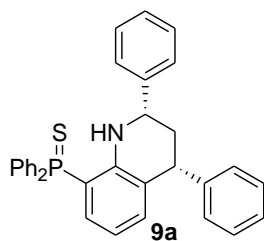
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
96/92/92/92	0.25 ± 0.12	>50	>50	>50



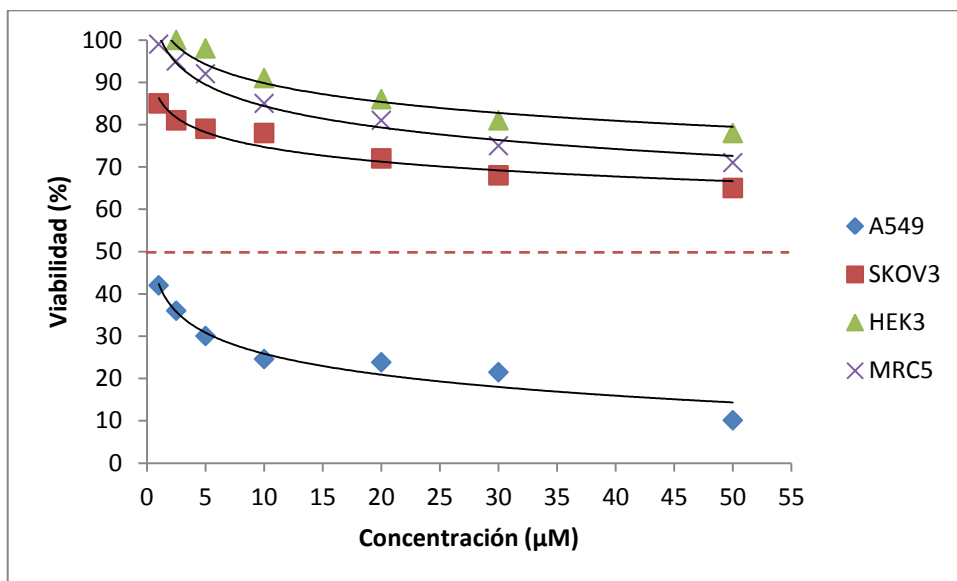


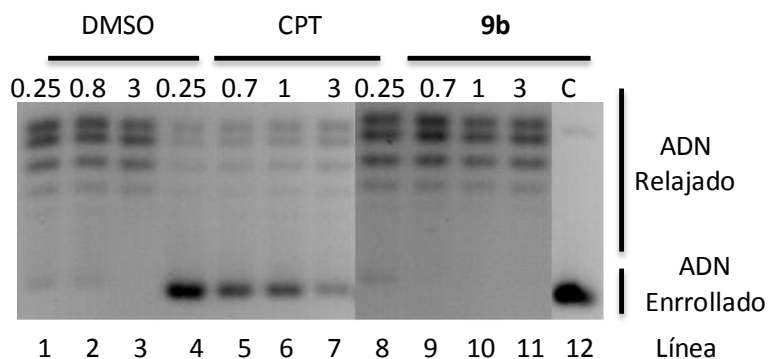
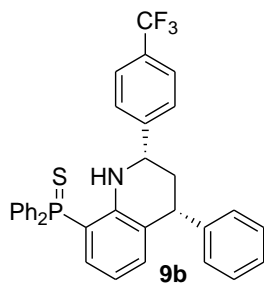
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
++/++/++/++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
52/52/52/52	2.48 ± 0.96	>50	>50	>50



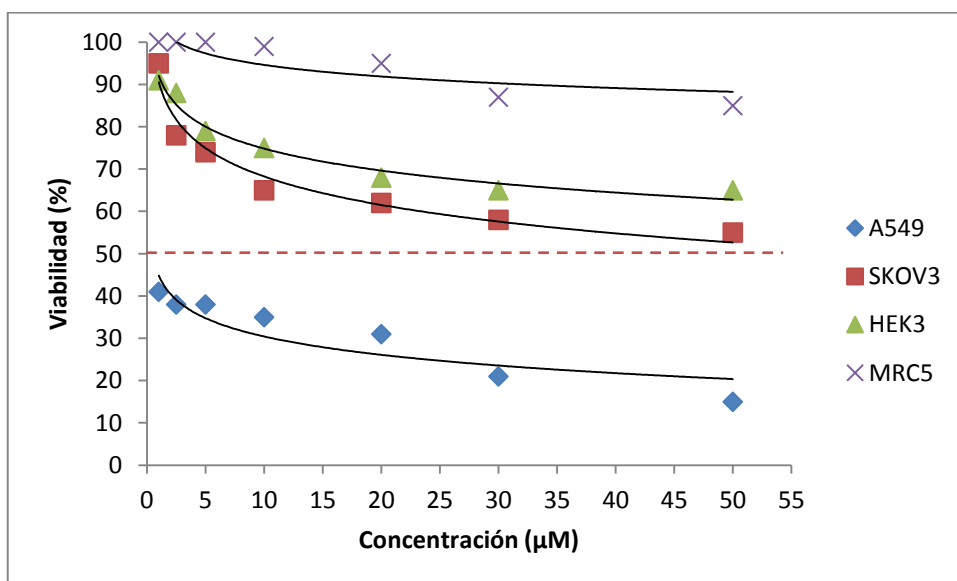


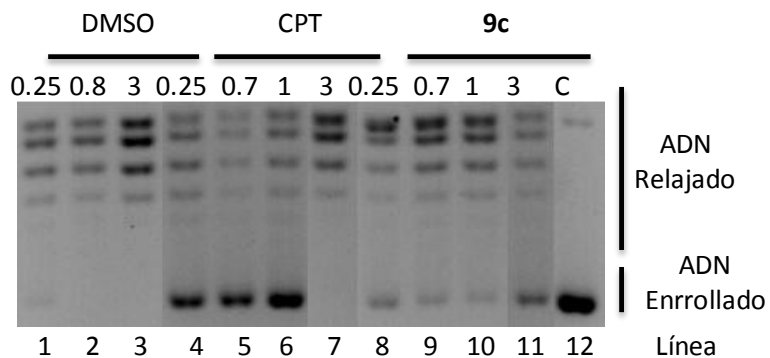
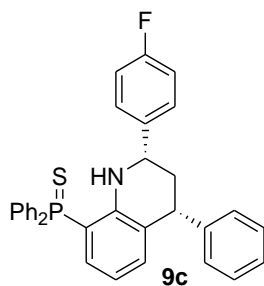
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
81/81/81/76	0.16 ± 0.01	>50	>50	>50



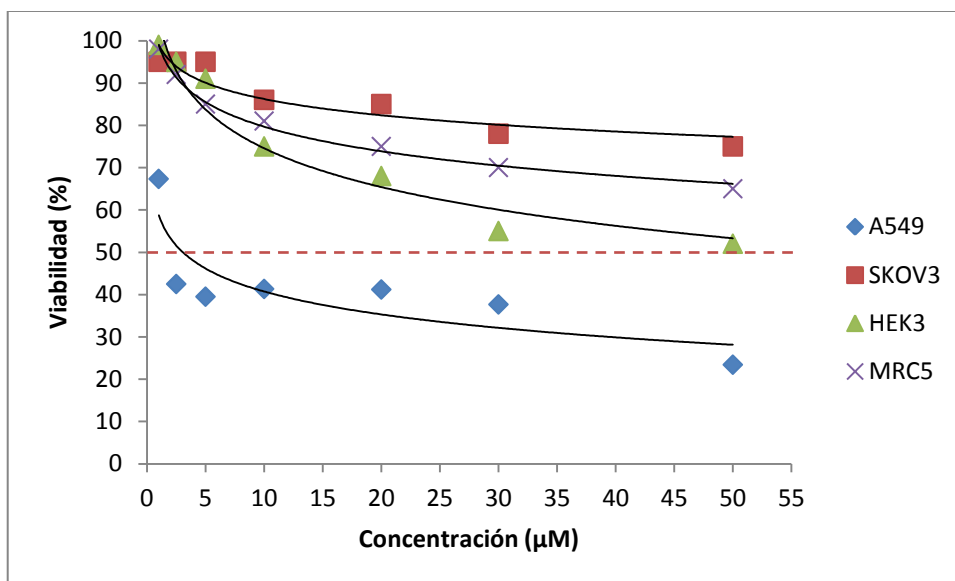


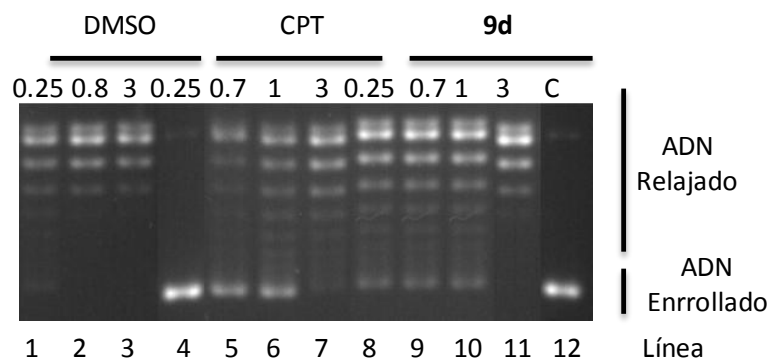
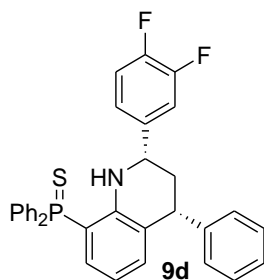
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
-/-/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
20/17/17/17	0.22 ± 0.01	>50	>50	>50



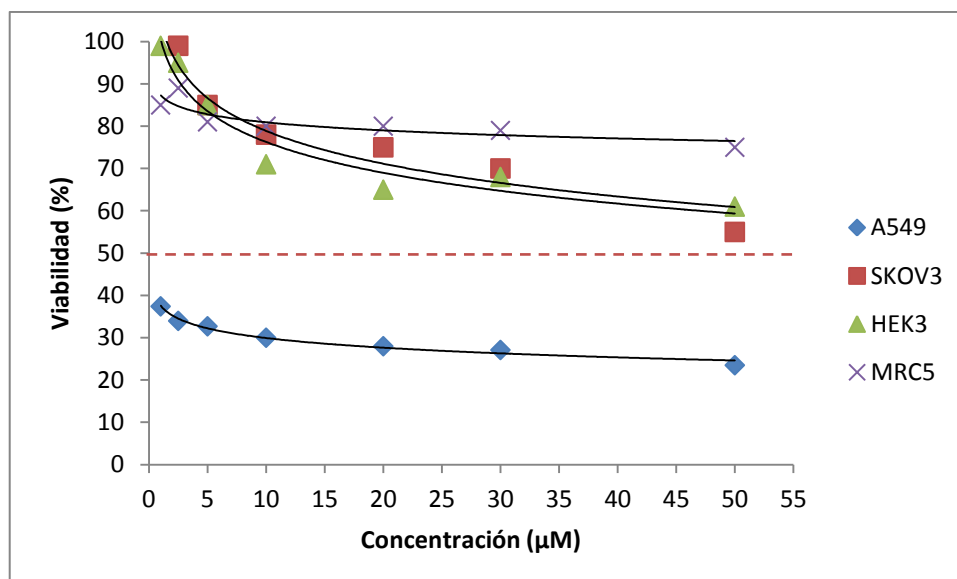


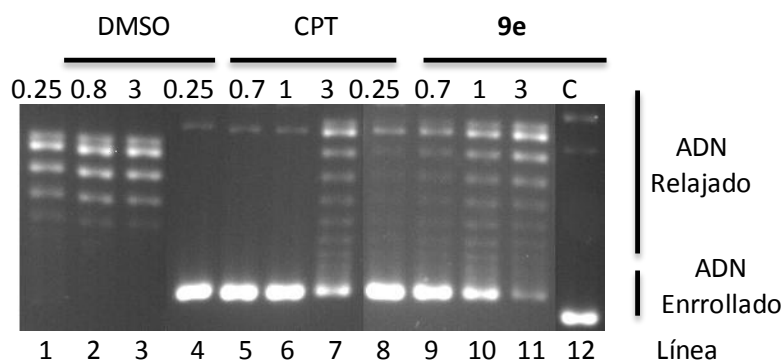
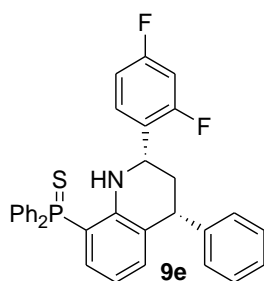
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+/+/+/+	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
41/39/37/39	0.27 ± 0.05	>50	>50	>50



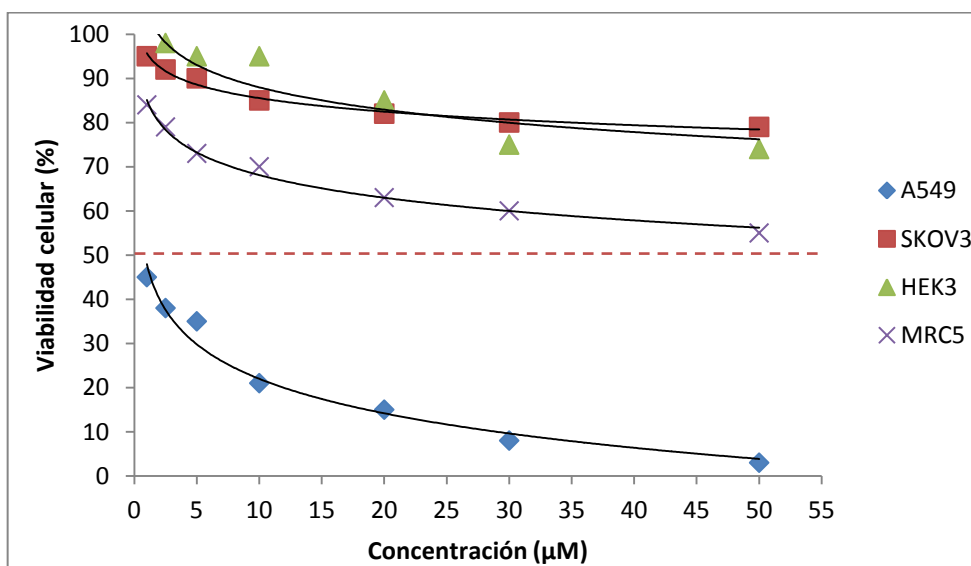


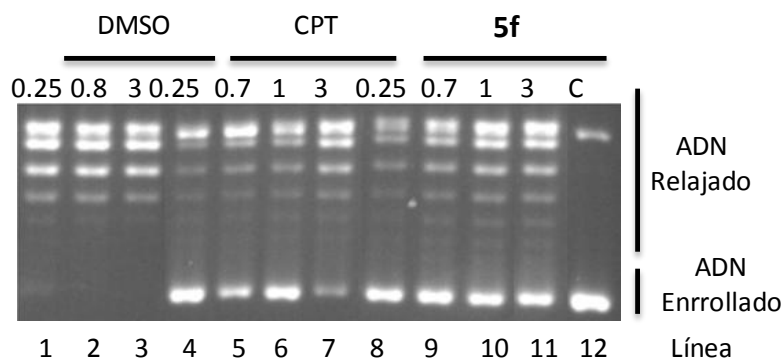
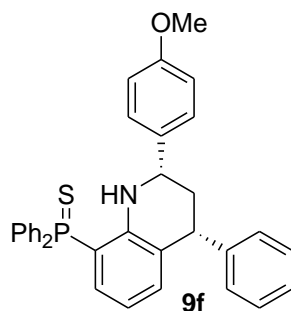
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
++/++/++/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
57/50/49/21	0.33 ± 0.09	>50	>50	>50



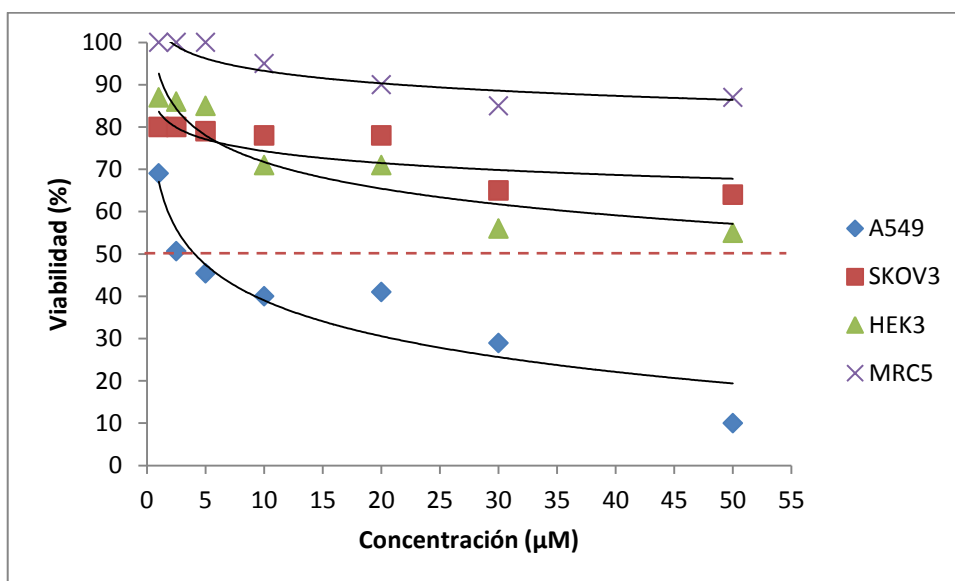


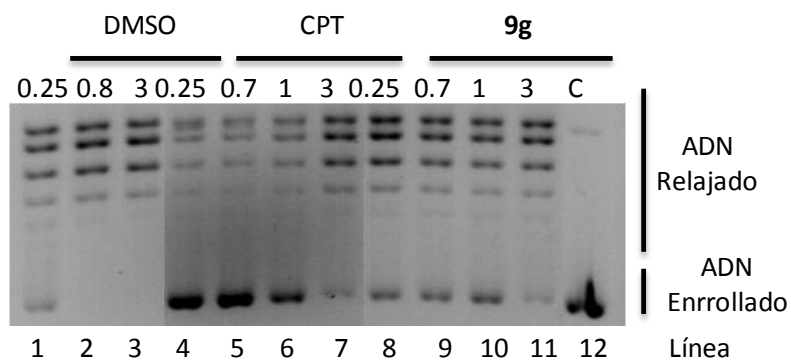
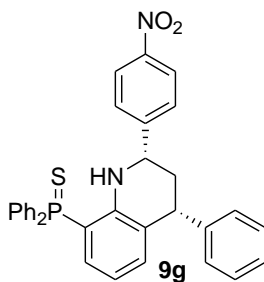
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++/+++/+++/++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
89/88/76/69	0.08 ± 0.03	>50	>50	>50



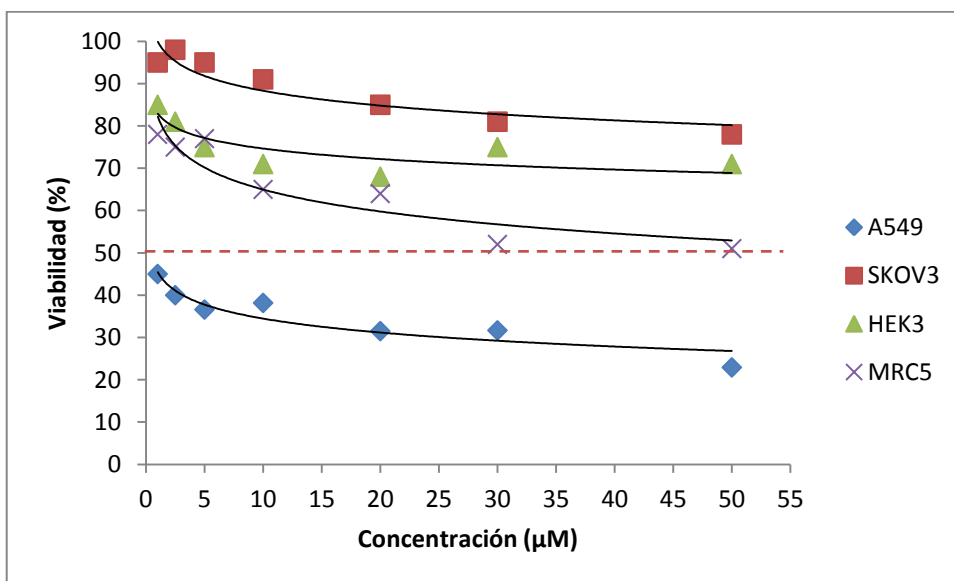


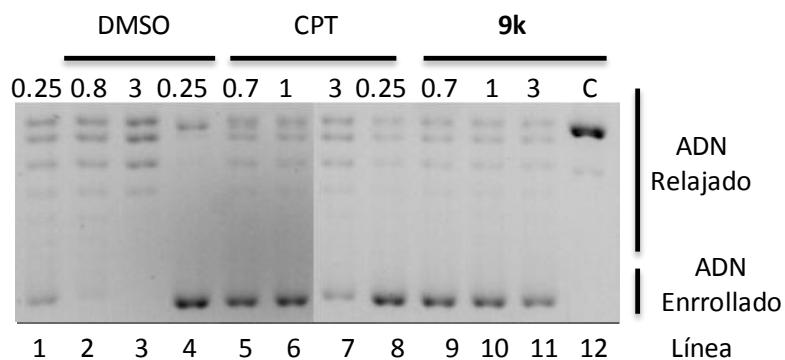
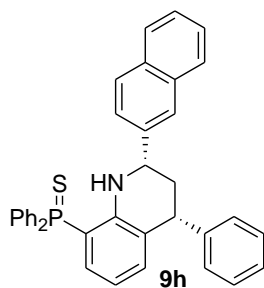
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
78/78/76/76	3.81 ± 0.54	>50	>50	>50



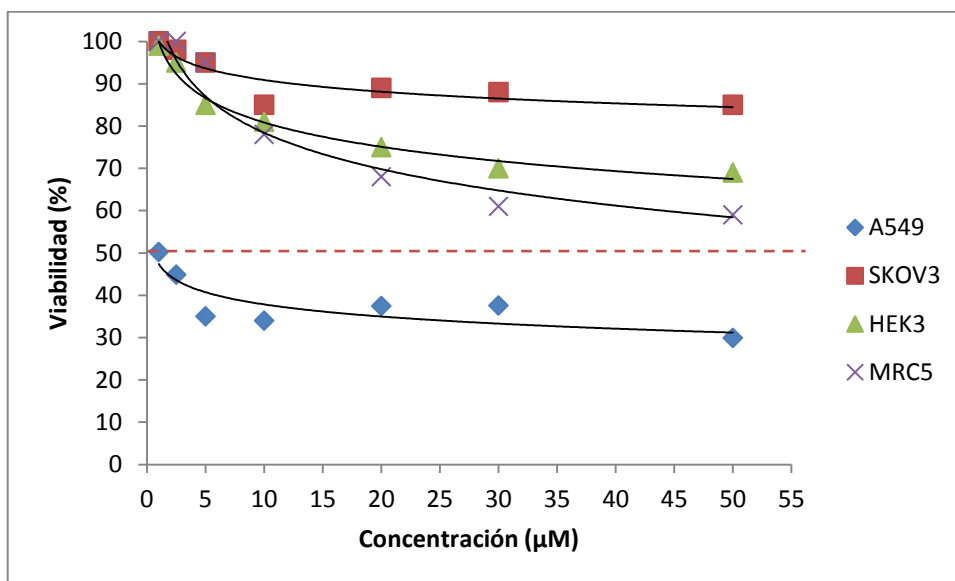


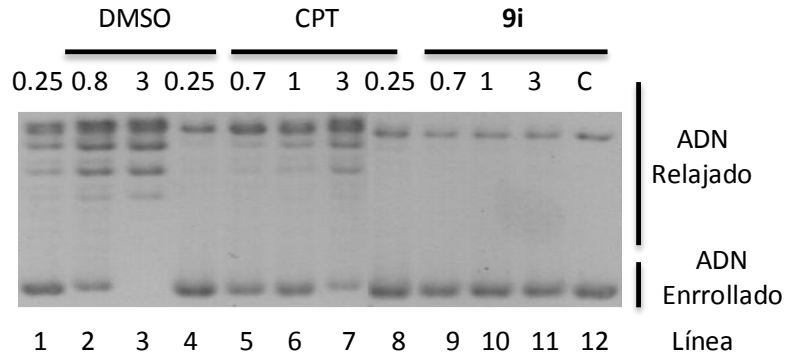
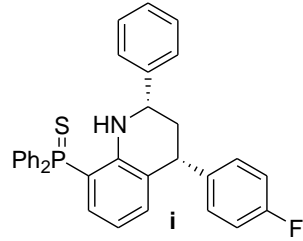
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
+ / + / + / -				
32/30/30/14	0.52 \pm 0.23	>50	>50	>50



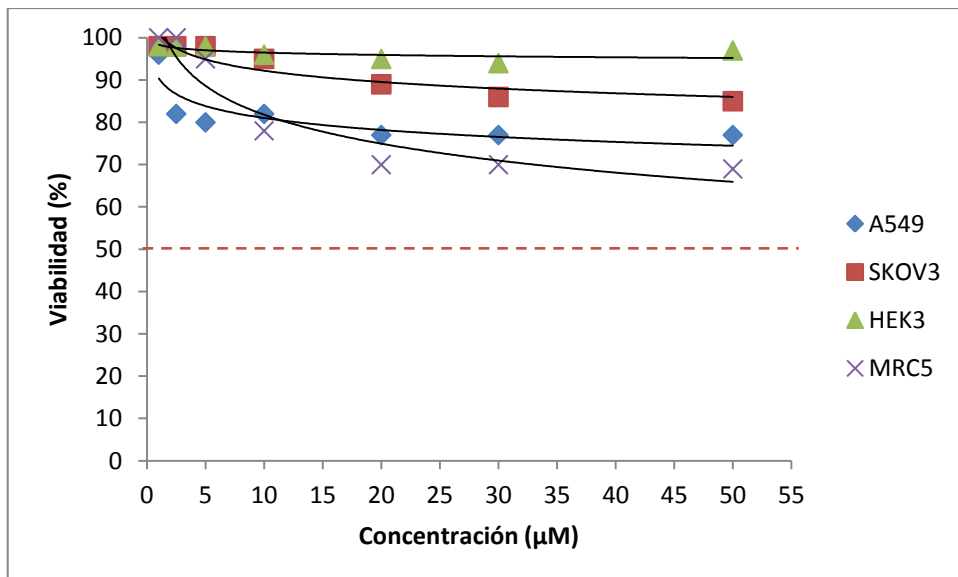


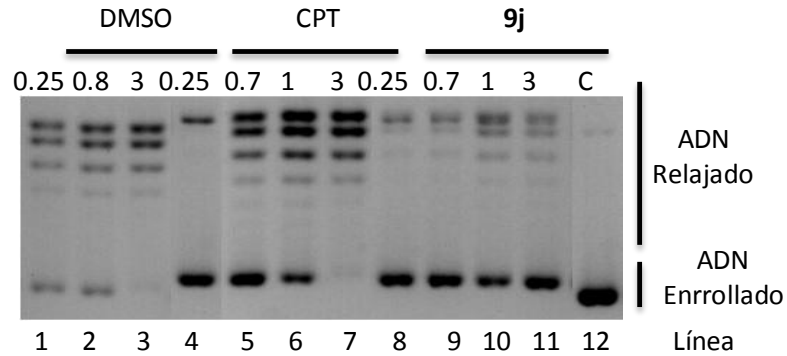
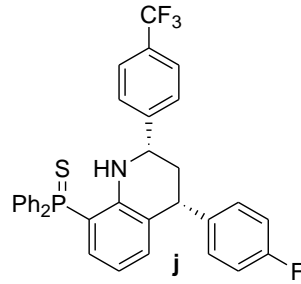
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
76/76/76/76	0.27 ± 0.05	>50	>50	>50



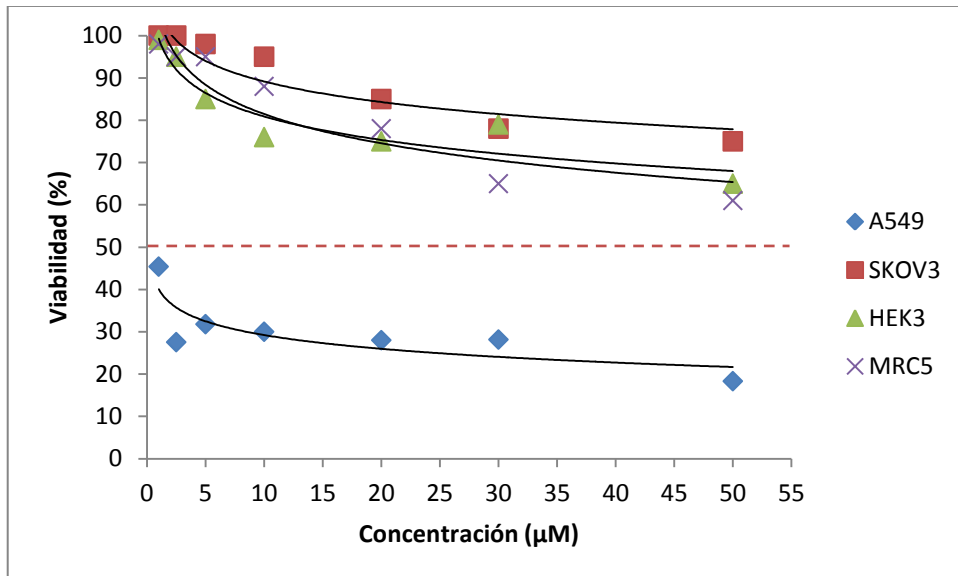


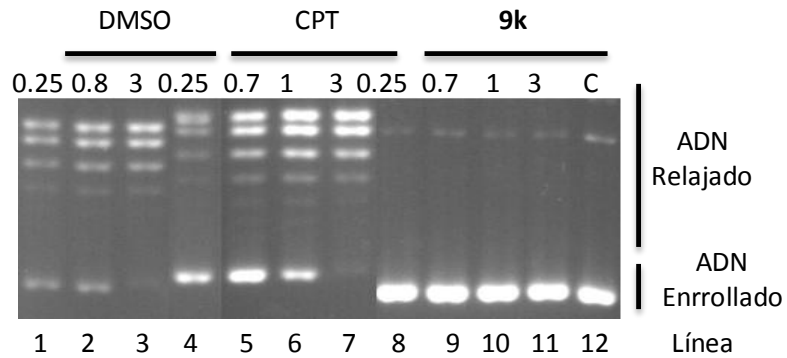
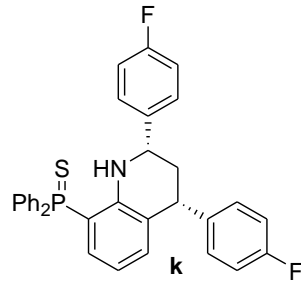
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
82/80/80/80	>50	>50	>50	>50



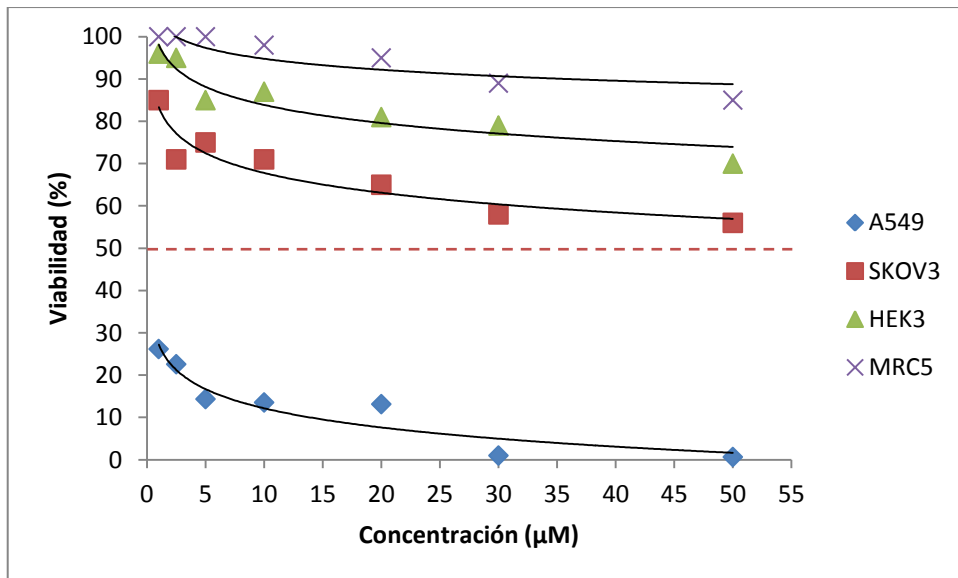


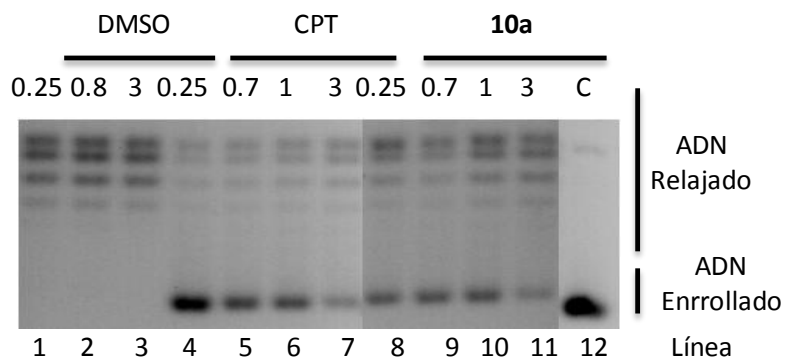
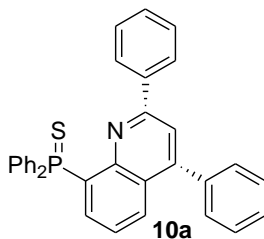
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
88/88/85/82	0.22±0.09	>50	>50	>50



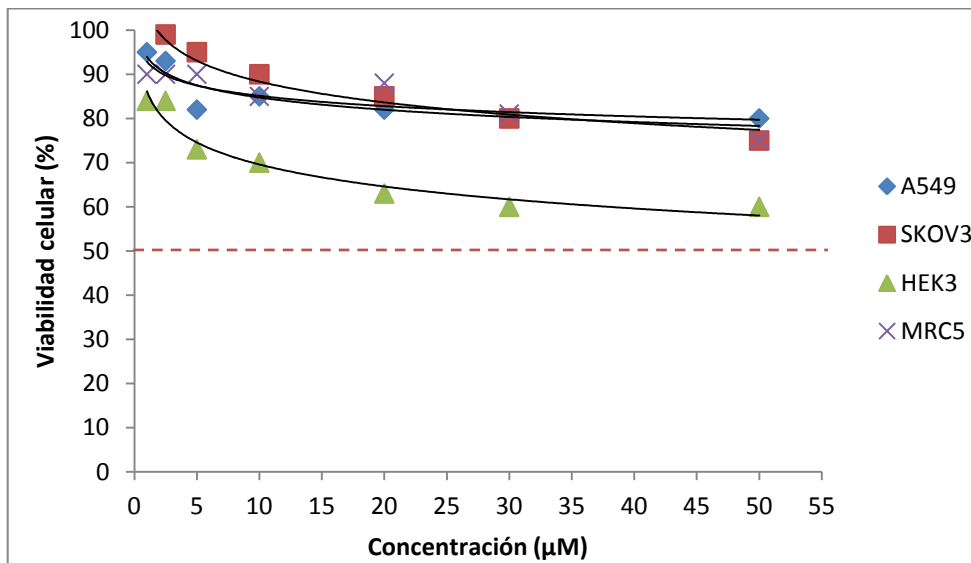


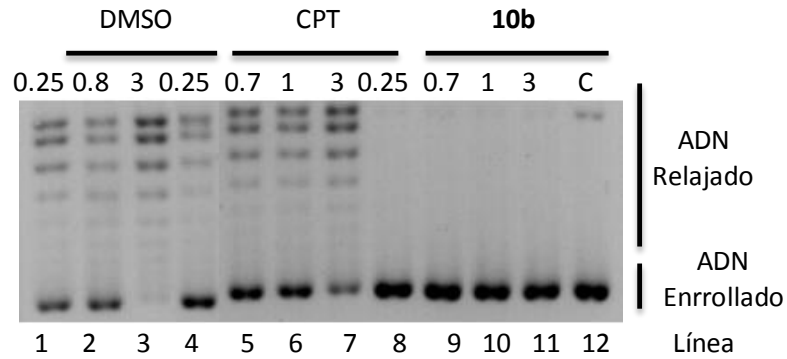
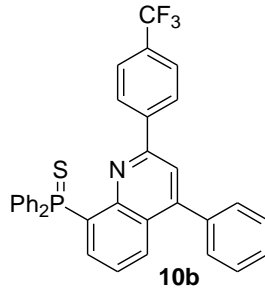
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
85/84/84/75	0.03 ± 0.02	>50	>50	>50



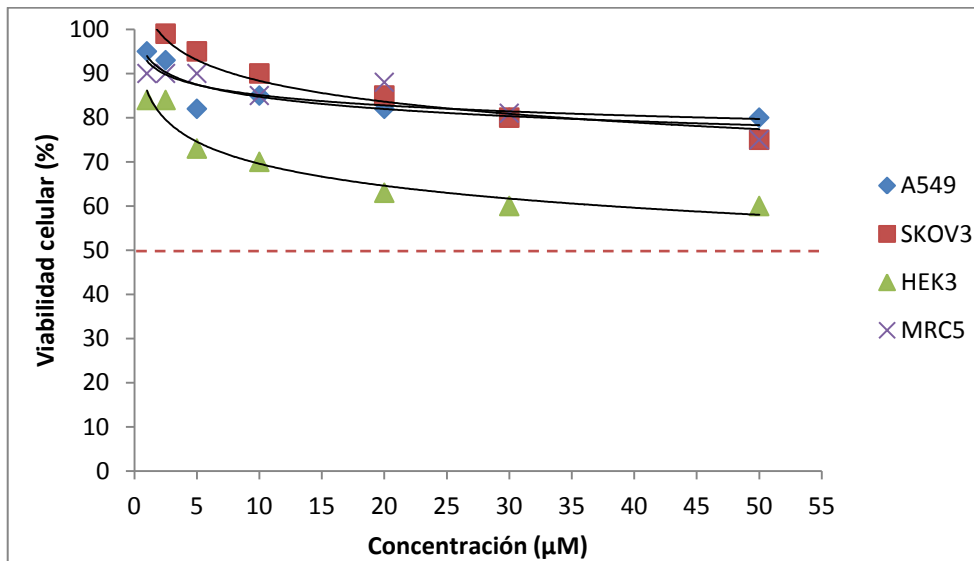


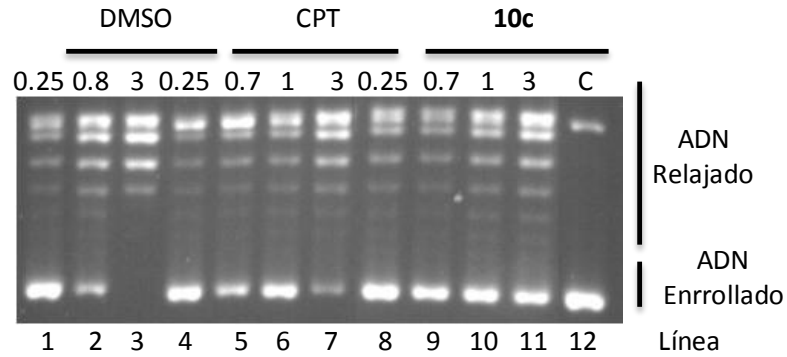
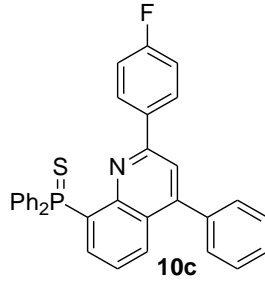
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / ++ / -	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
75/75/52/24	>50	>50	>50	>50



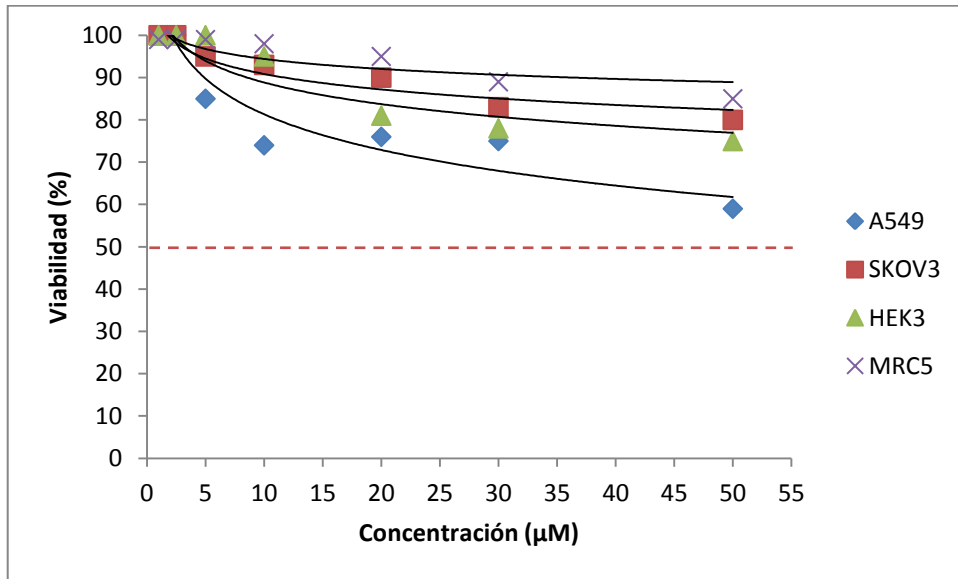


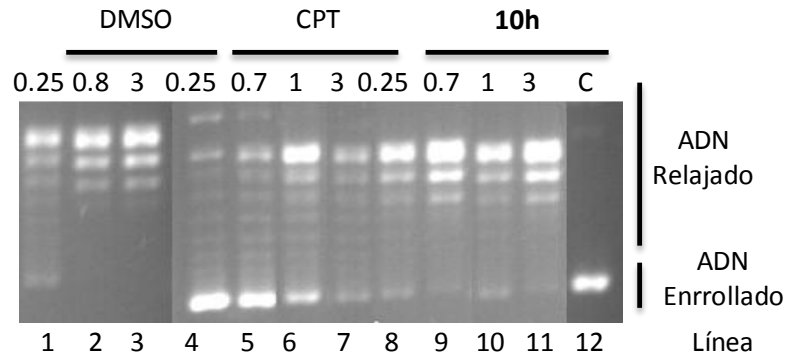
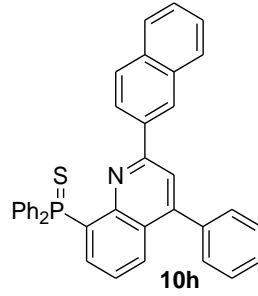
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
81/81/81/81	>50	>50	>50	>50



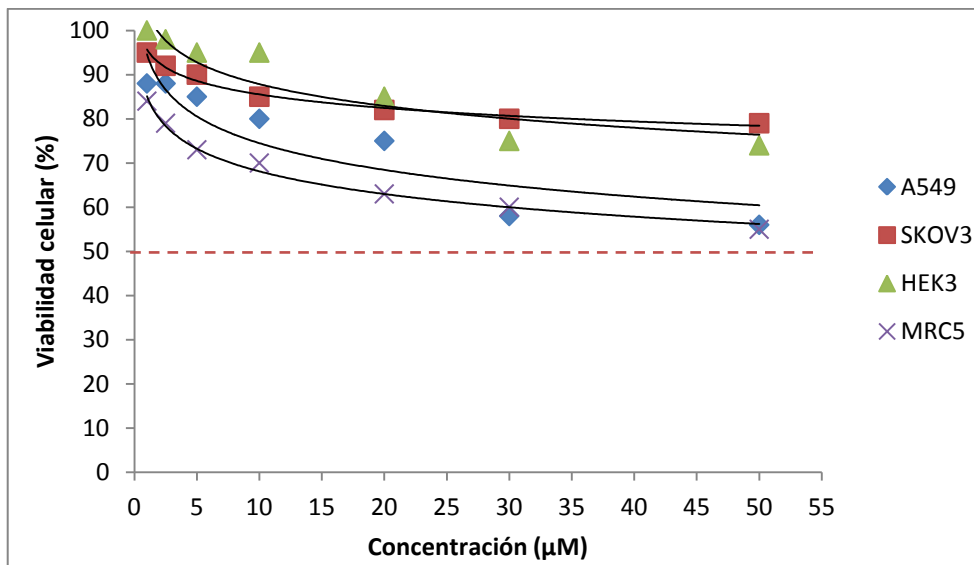


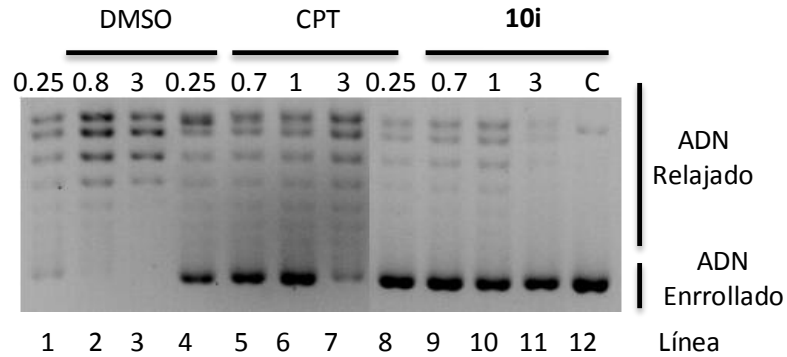
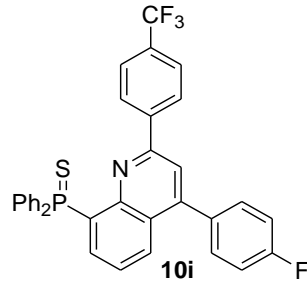
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
95/95/93/92	>50	>50	>50	>50



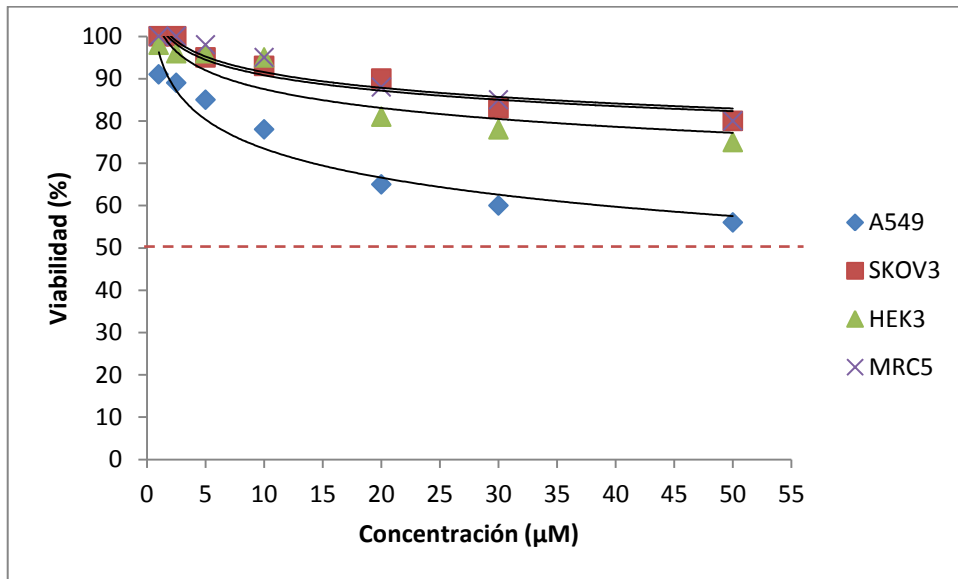


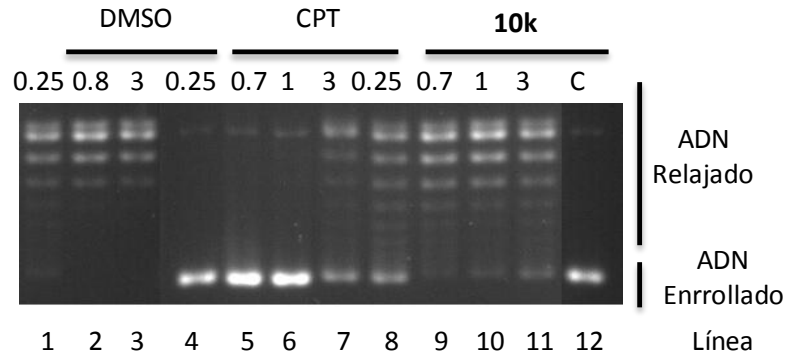
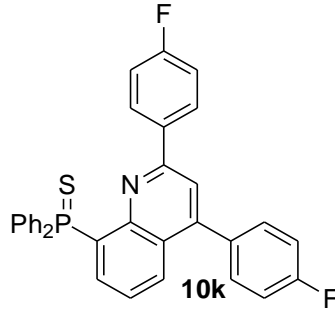
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+/+/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
27/25/26/8	>50	>50	>50	>50



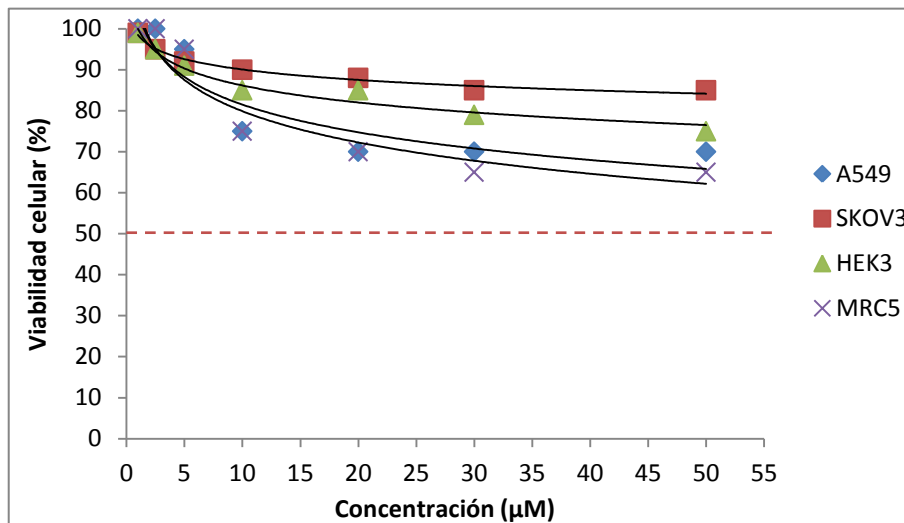


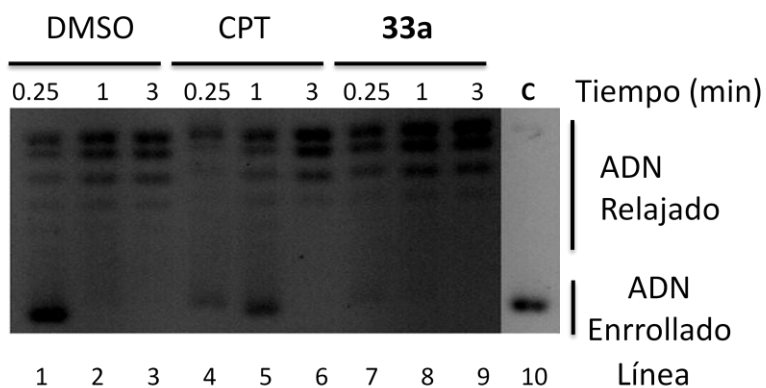
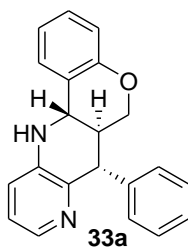
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+++ / +++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
95/89/89/88	>50	>50	>50	>50



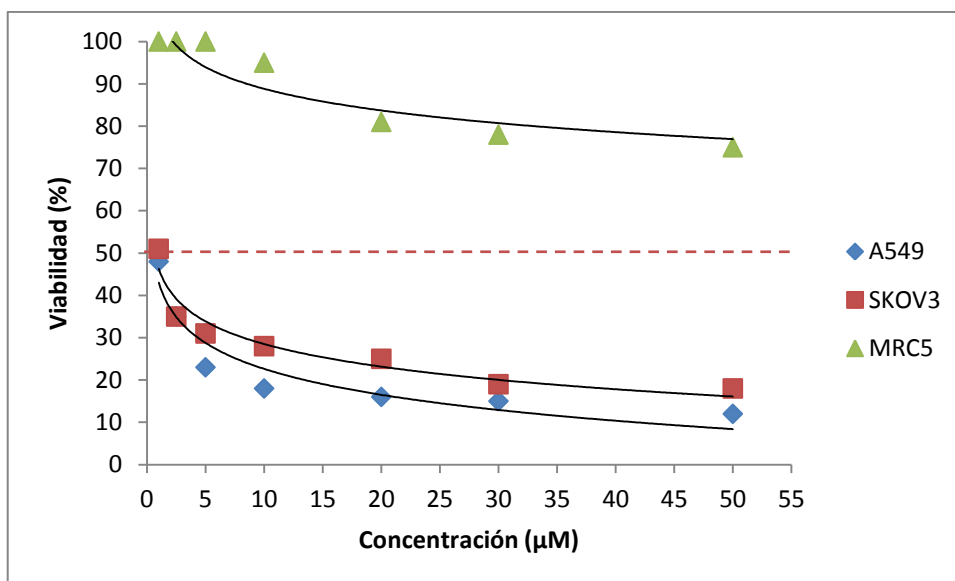


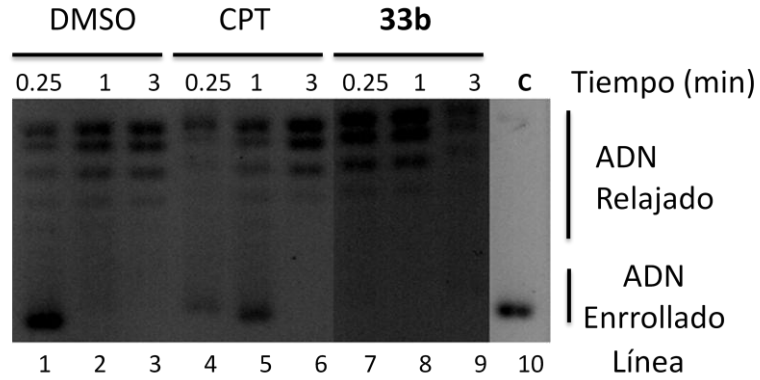
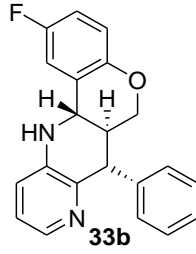
Inhibición (%) 0.25/0.7/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)			
	Cáncer			Sanas
+/+/+/+	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Riñón (HEK3)	Pulmón (MRC5)
30/29/29/29	>50	>50	>50	>50



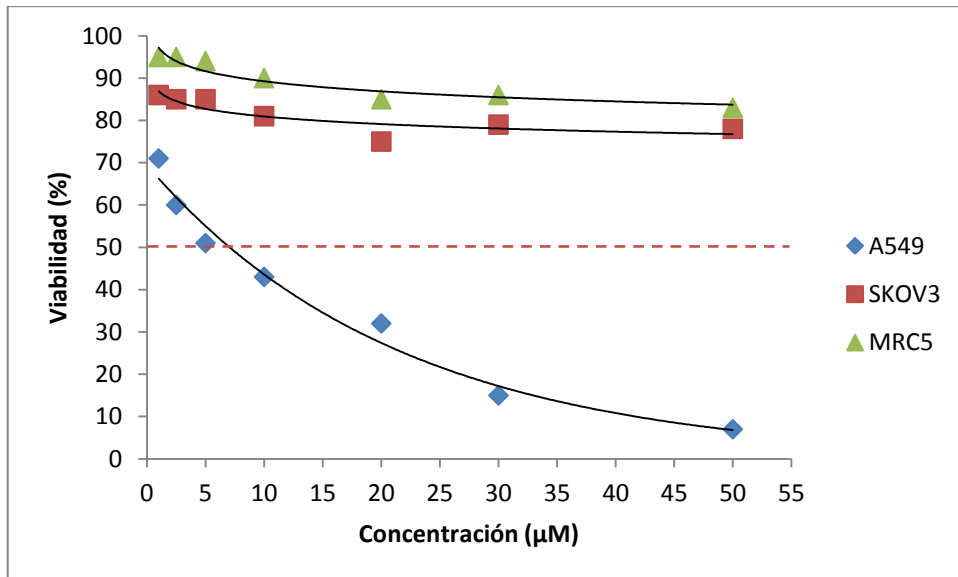


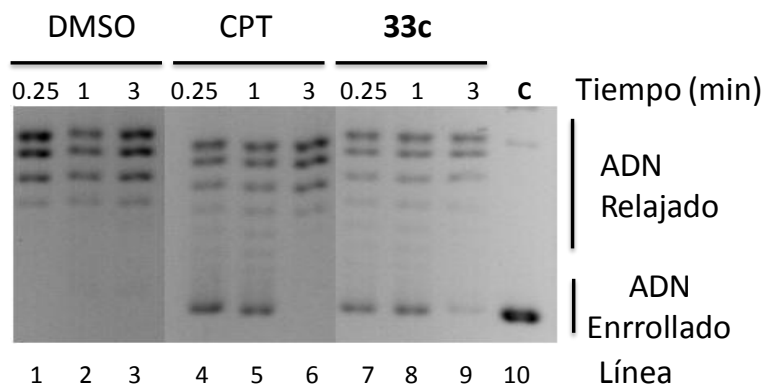
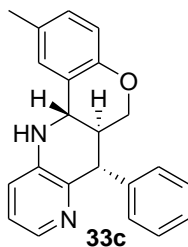
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
-/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
5/4/1	1.03 ± 0.30	1.75 ± 0.20	>50



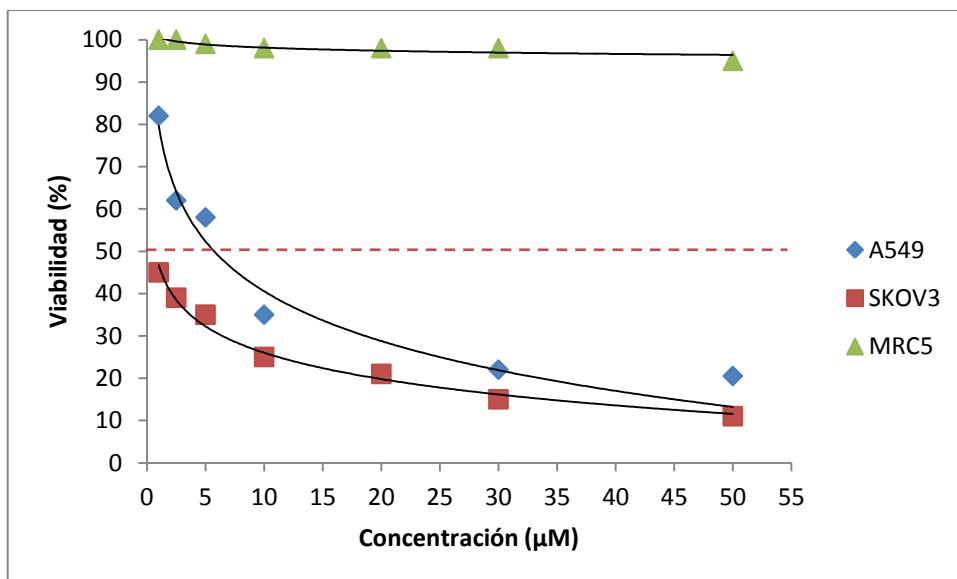


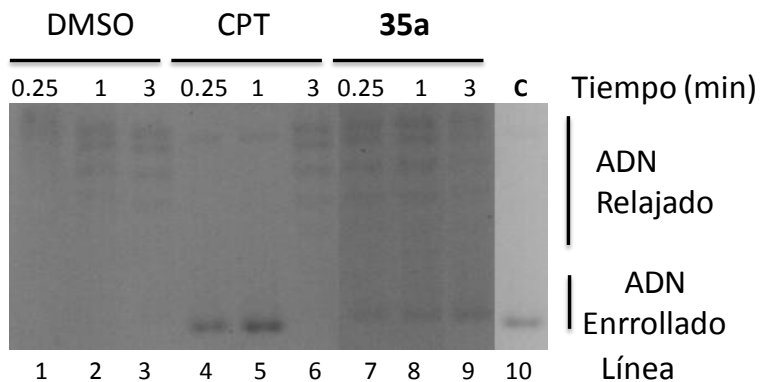
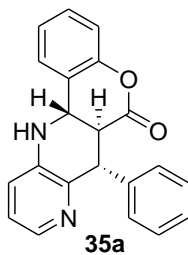
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
-/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
2/1/1	11.30 ± 1.23	>50	>50



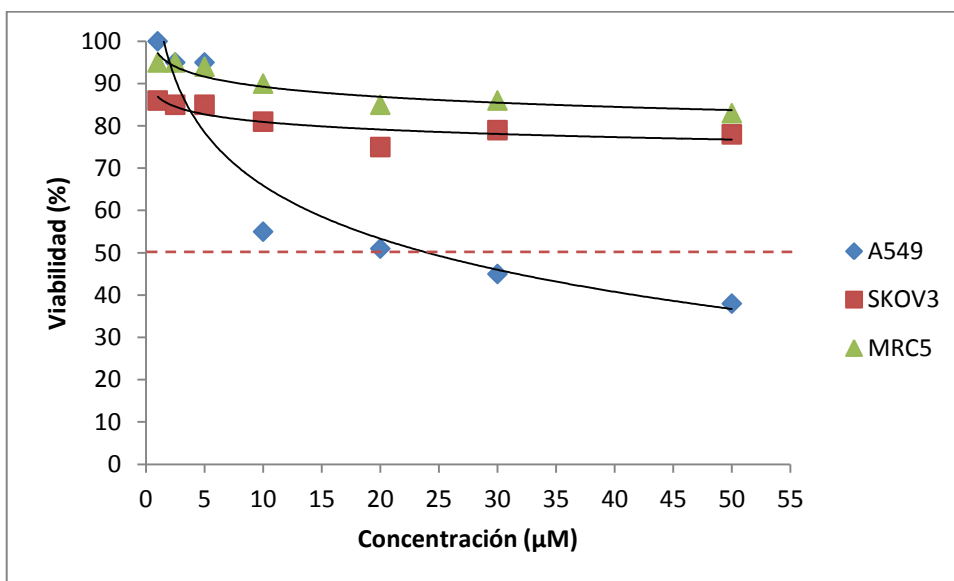


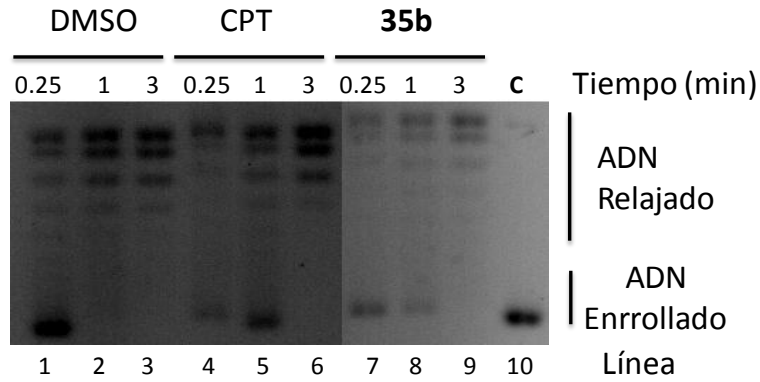
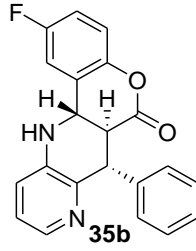
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/++/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
70/69/19	7.25 ± 0.27	12.69 ± 0.80	>50



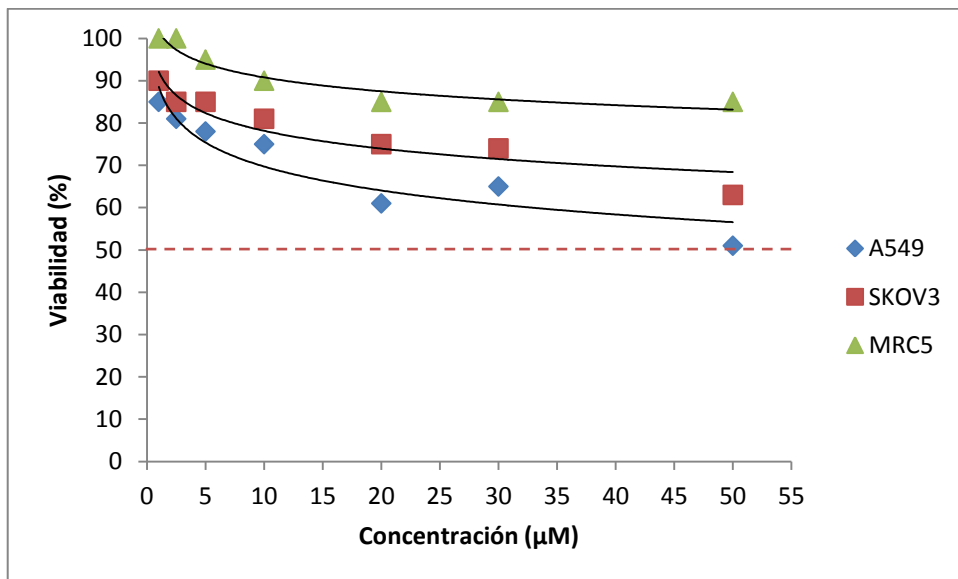


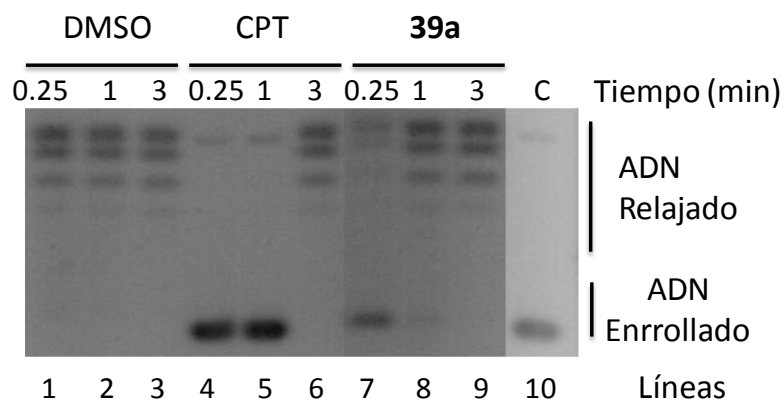
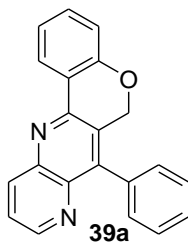
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
-/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
5/7/5	25.42±0.27	>50	>50



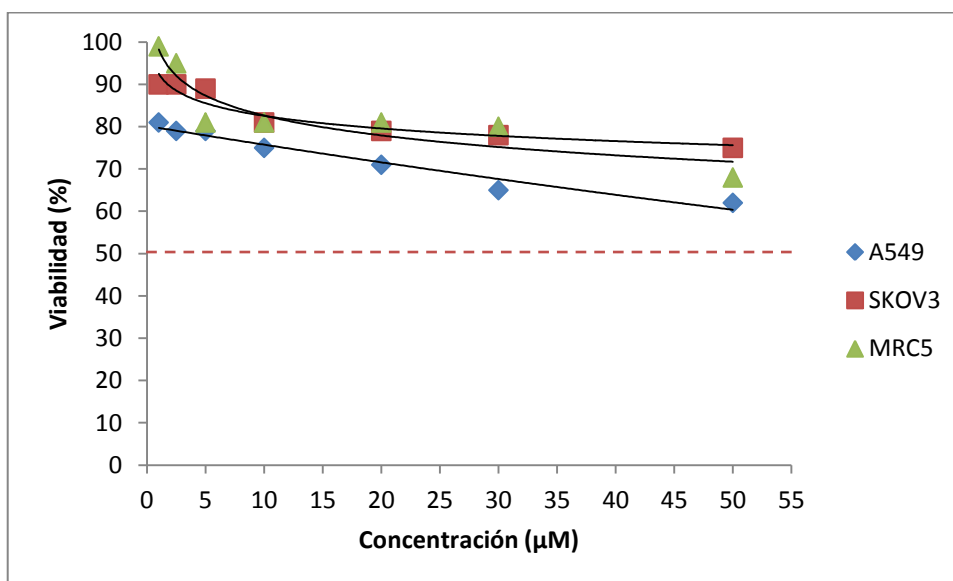


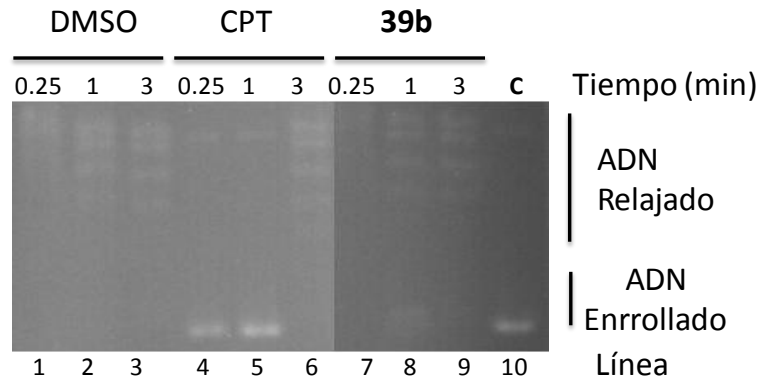
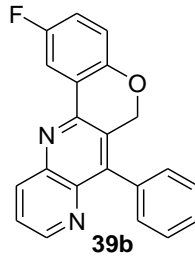
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
30/25/2	>50	>50	>50



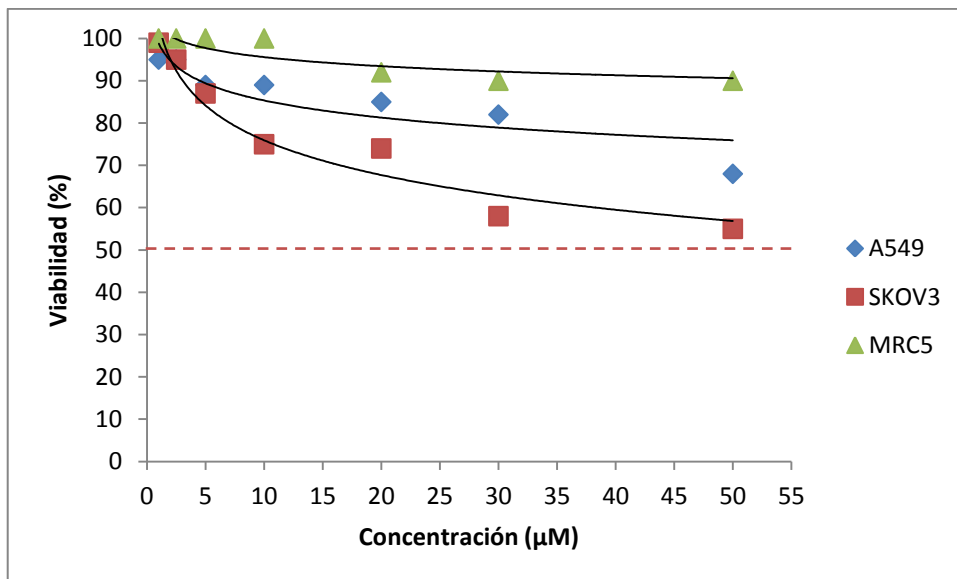


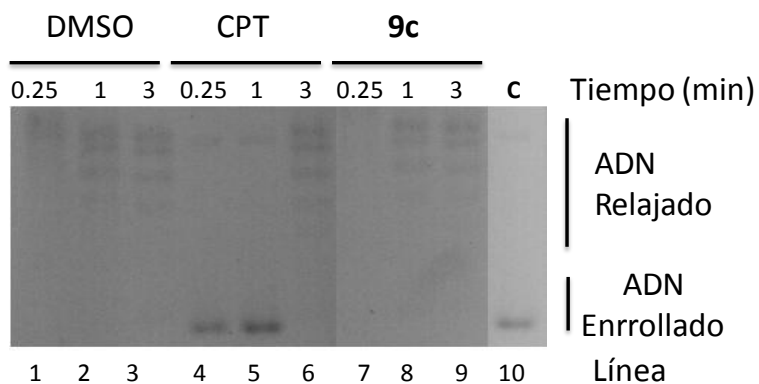
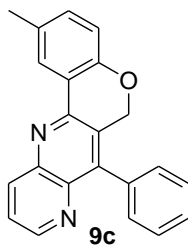
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
30/14/2	>50	>50	>50



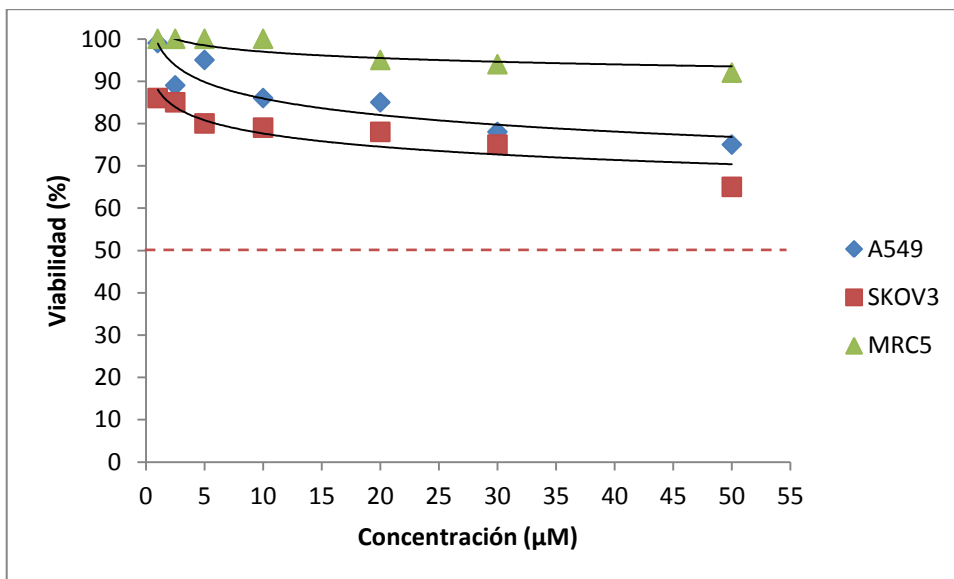


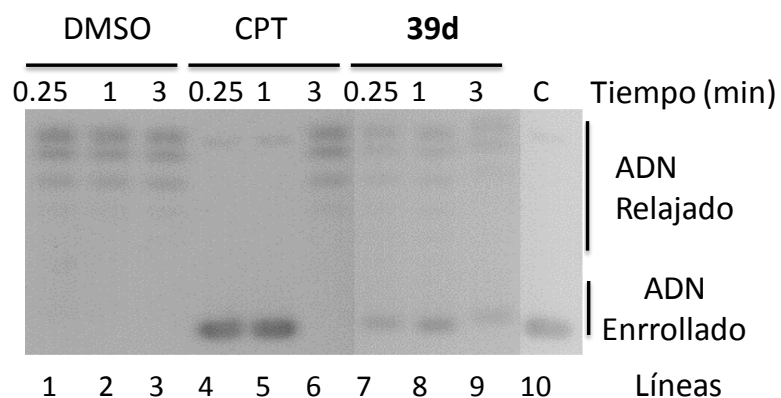
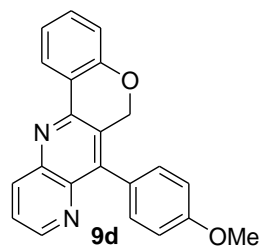
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
-/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
0/0/0	>50	>50	>50



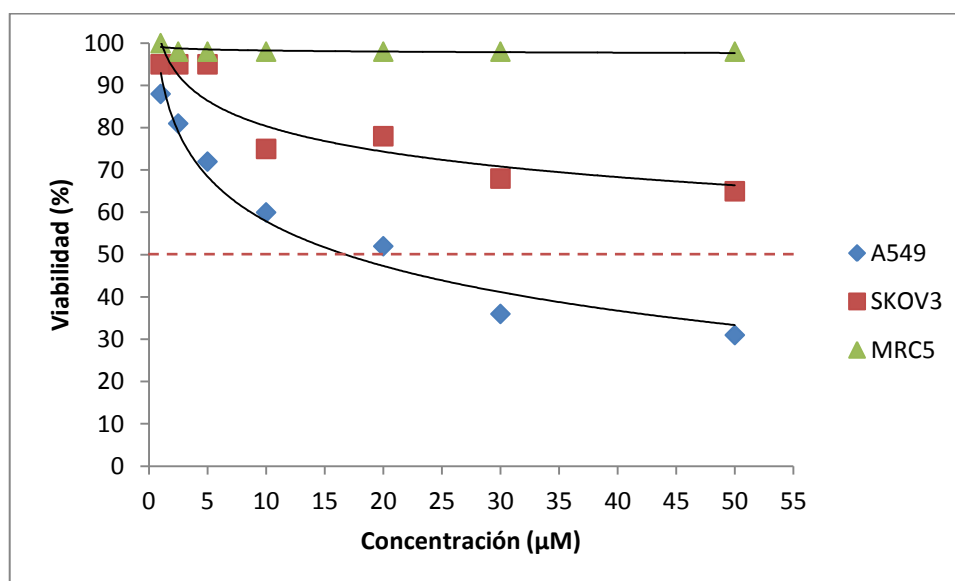


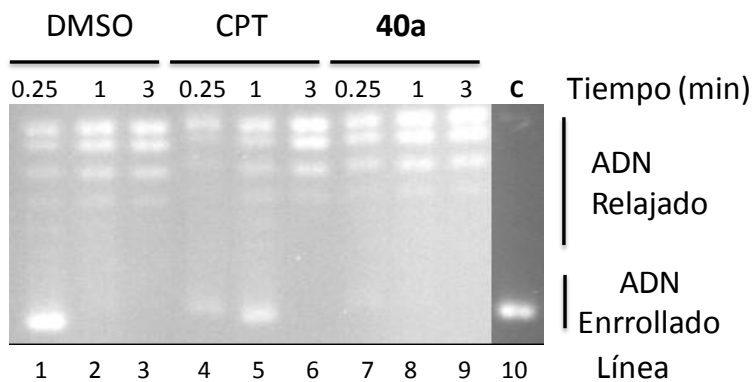
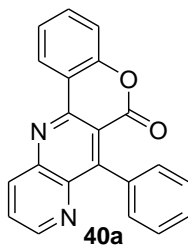
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
-/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
0/0/0	>50	>50	>50



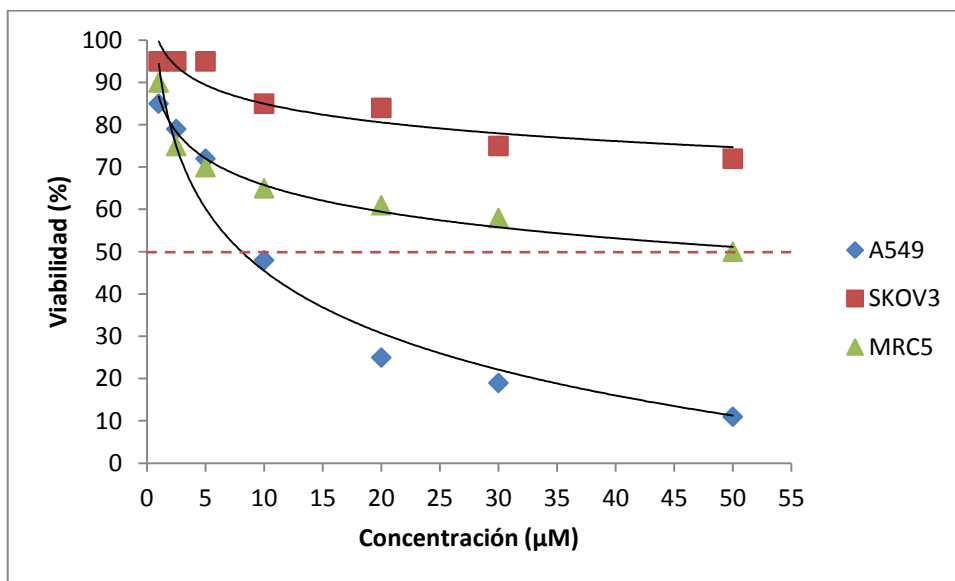


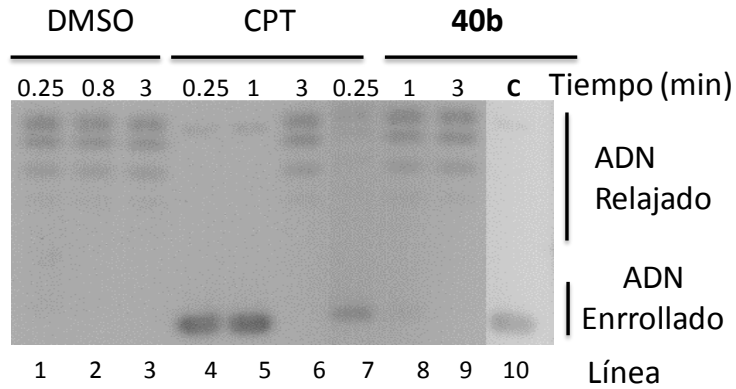
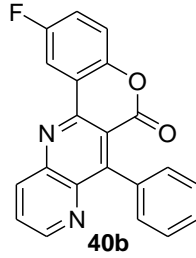
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+/+/+	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
29/30/29	17.89 ± 2.00	>50	>50



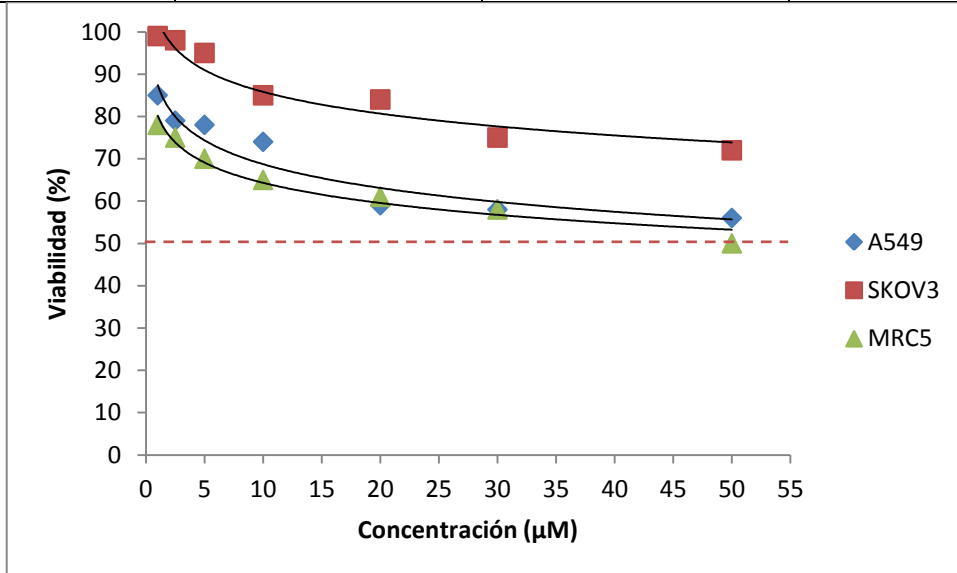


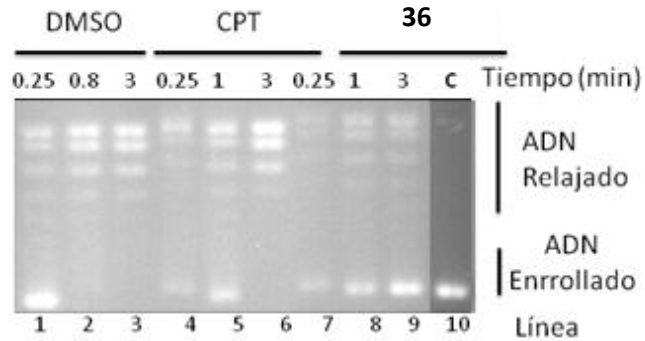
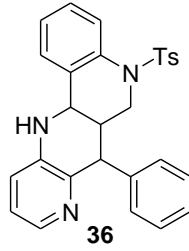
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
25/-/-	9.03±1.47	>50	>50



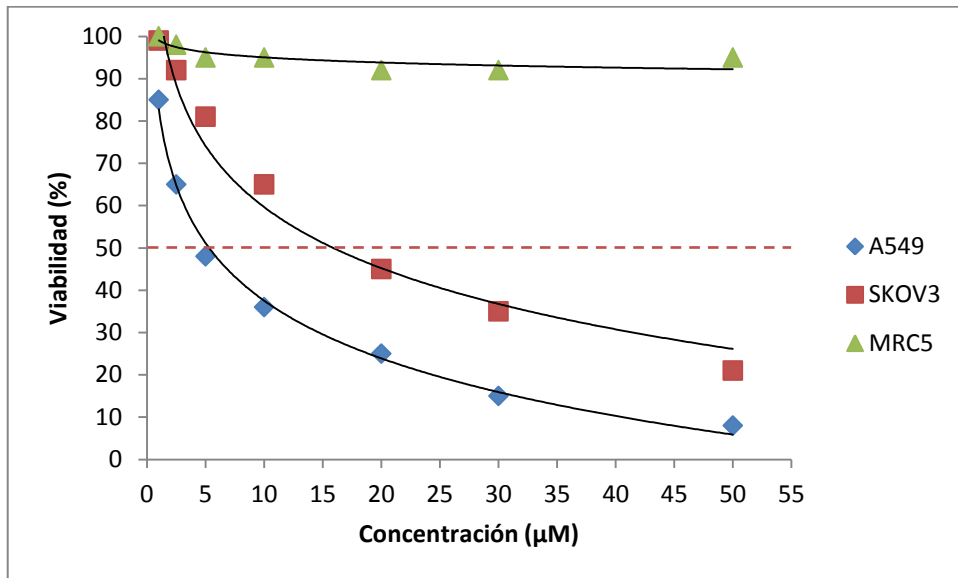


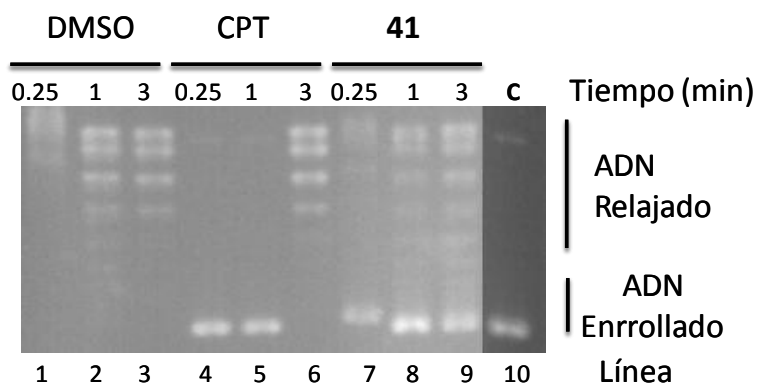
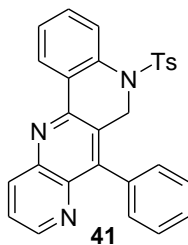
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
26/0/0	>50	>50	>50



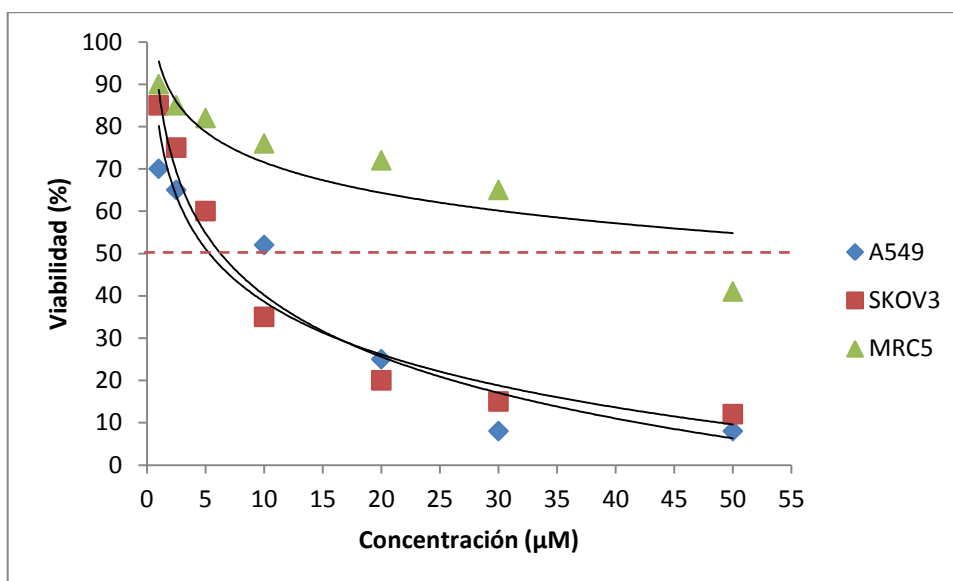


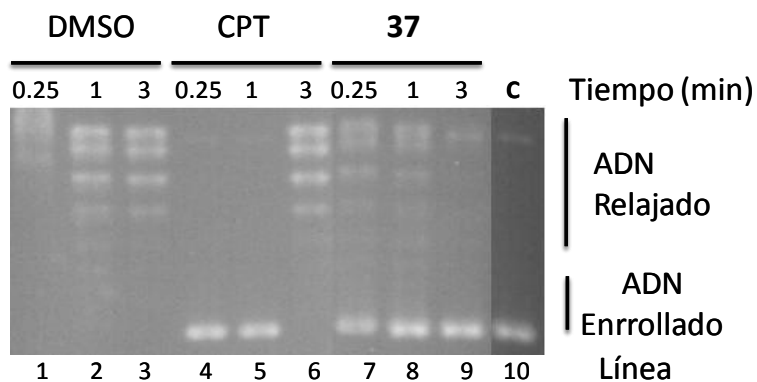
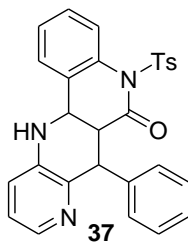
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
80/80/80	7.25 ± 0.81	18.08 ± 1.39	>50



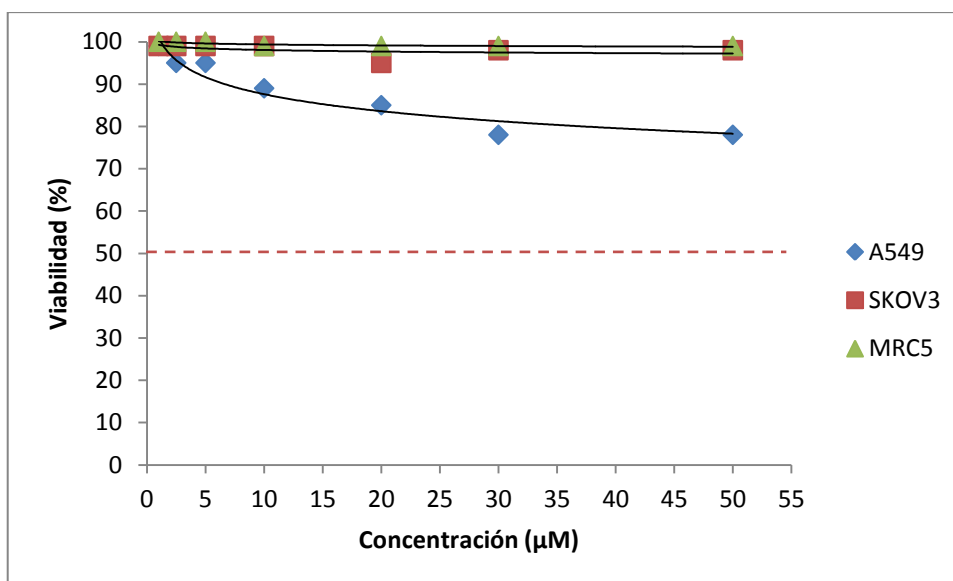


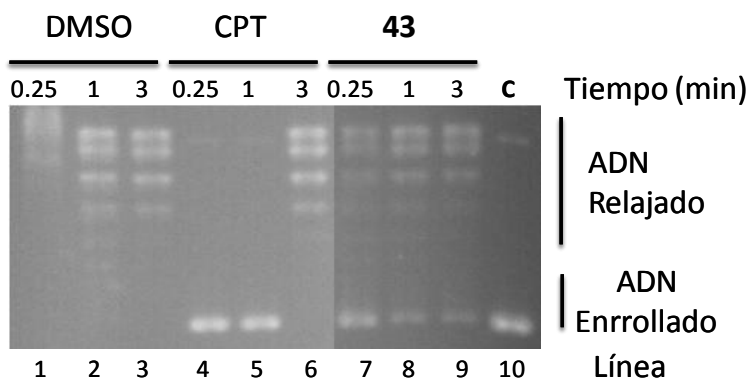
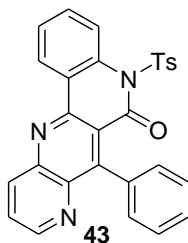
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++/+/+	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
91/86/80	7.34 ± 0.17	8.65 ± 0.57	>50



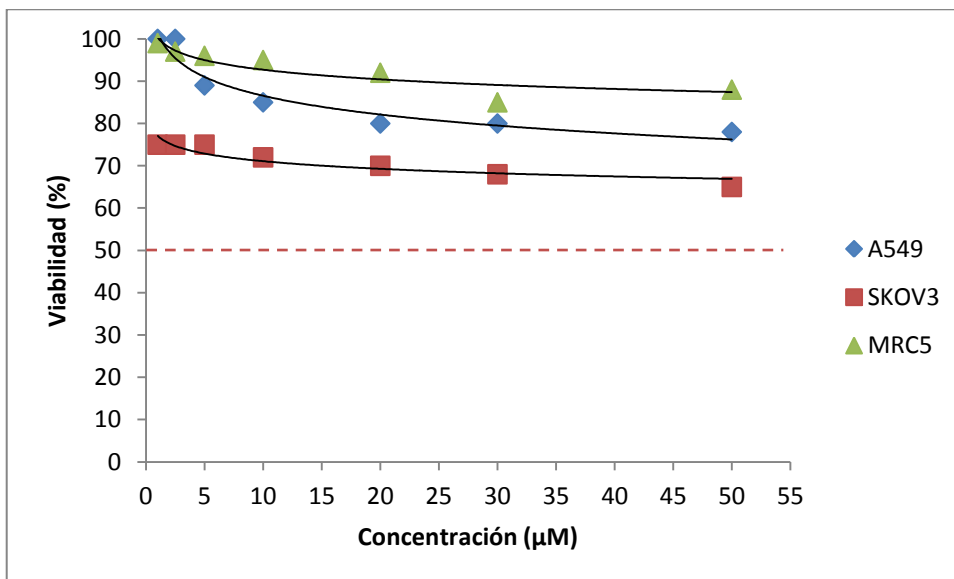


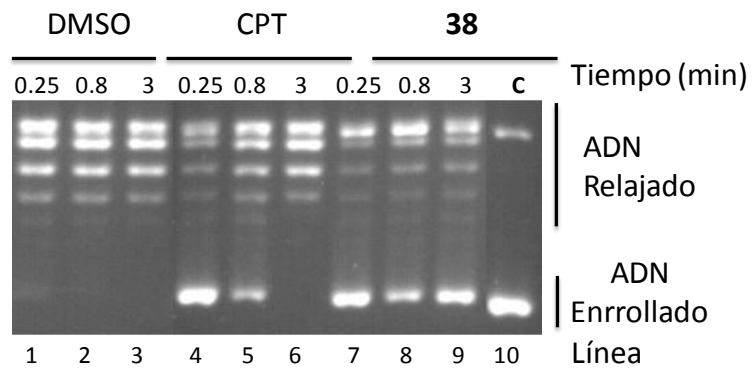
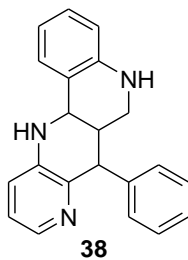
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
90/89/89	>50	>50	>50



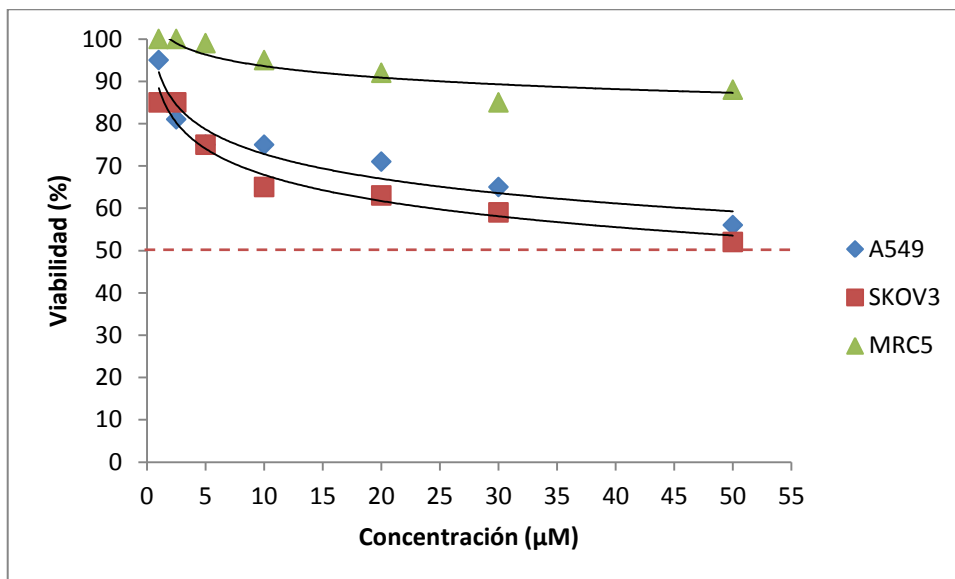


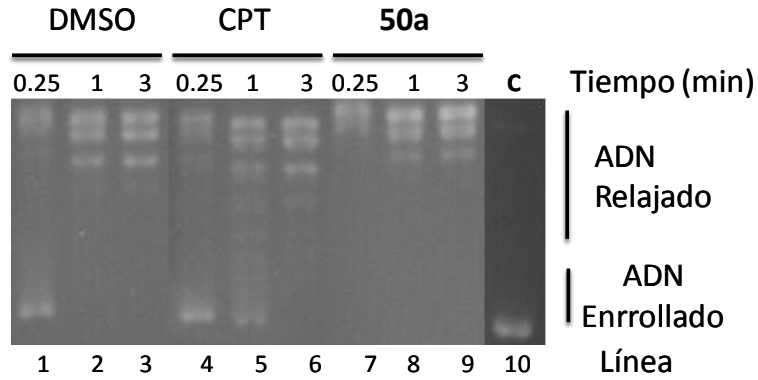
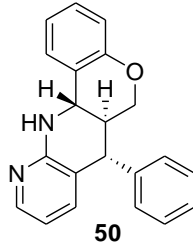
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
89/79/79	>50	>50	>50



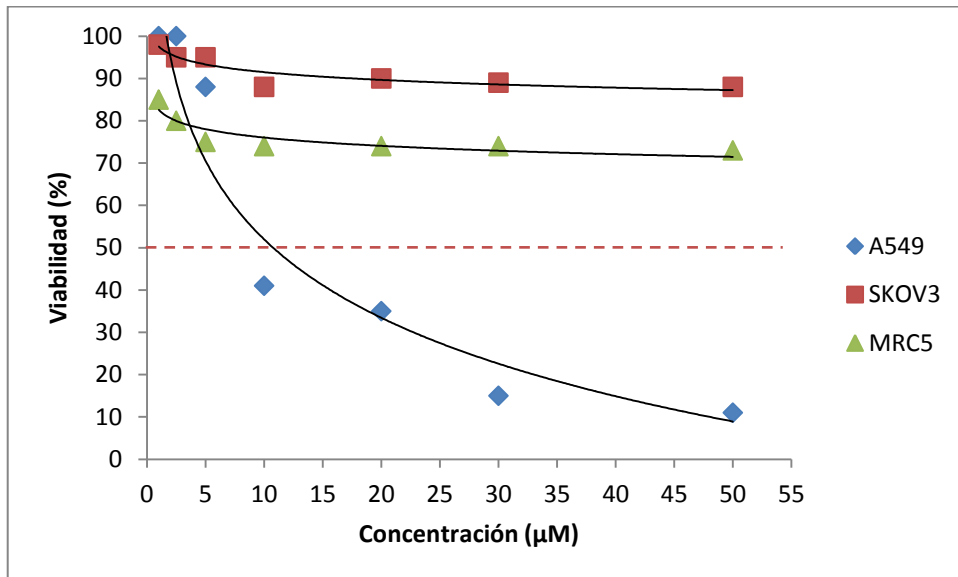


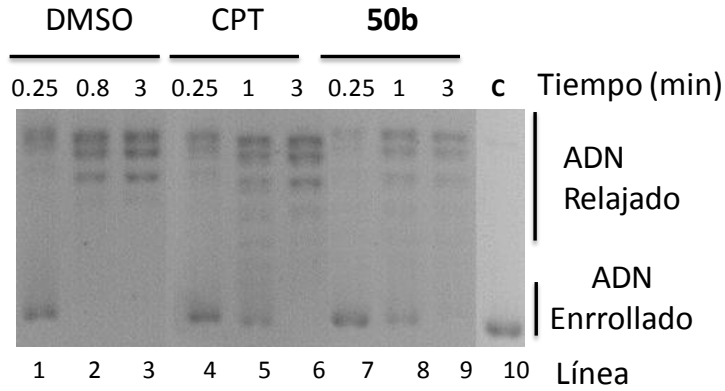
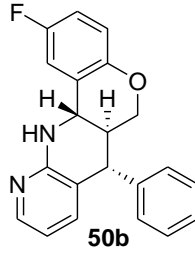
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
95/95/92	>50	>50	>50



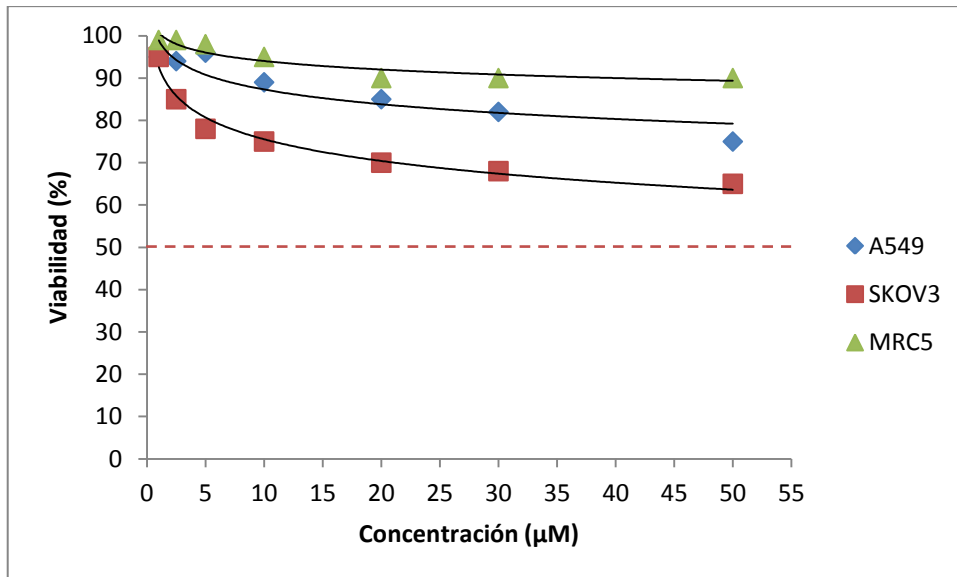


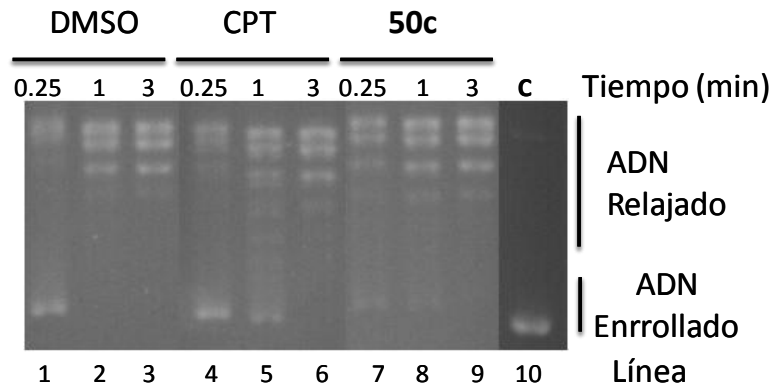
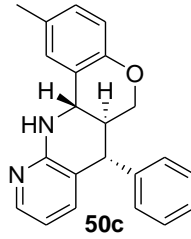
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
-/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
0/0/0	11.66 ± 0.84	>50	>50



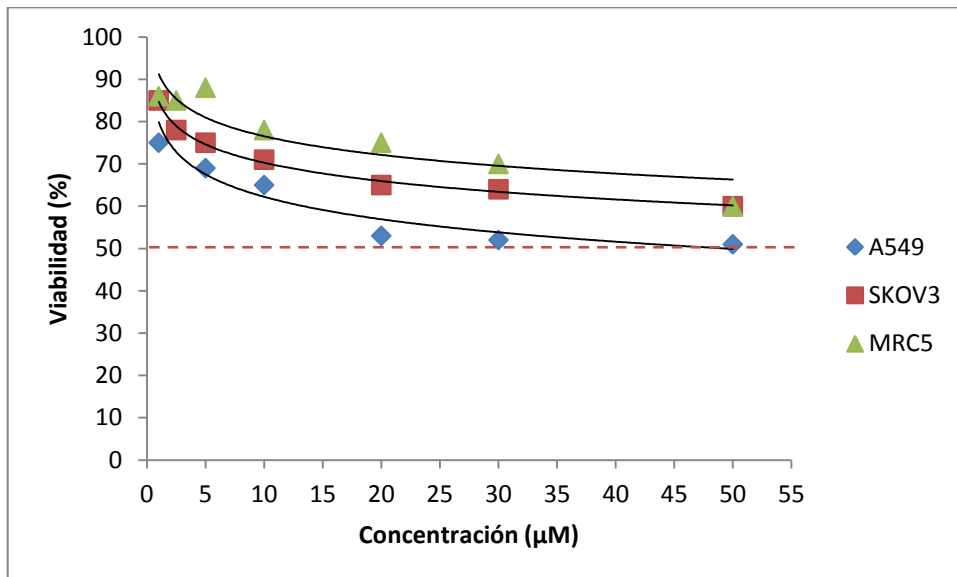


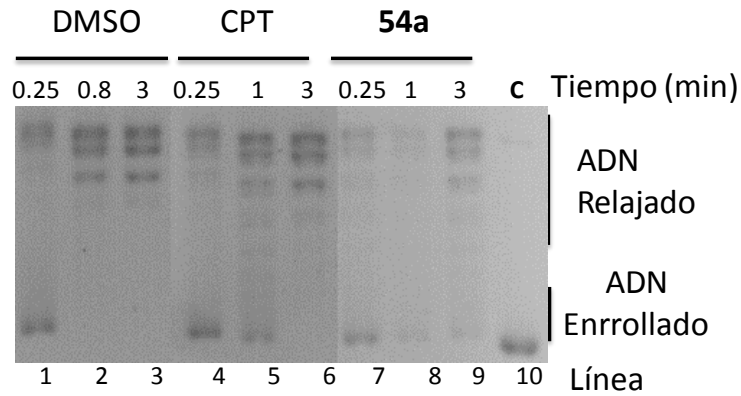
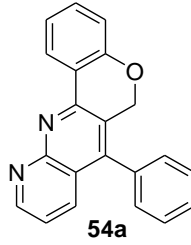
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+ / +/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
24/15/0	>50	>50	>50



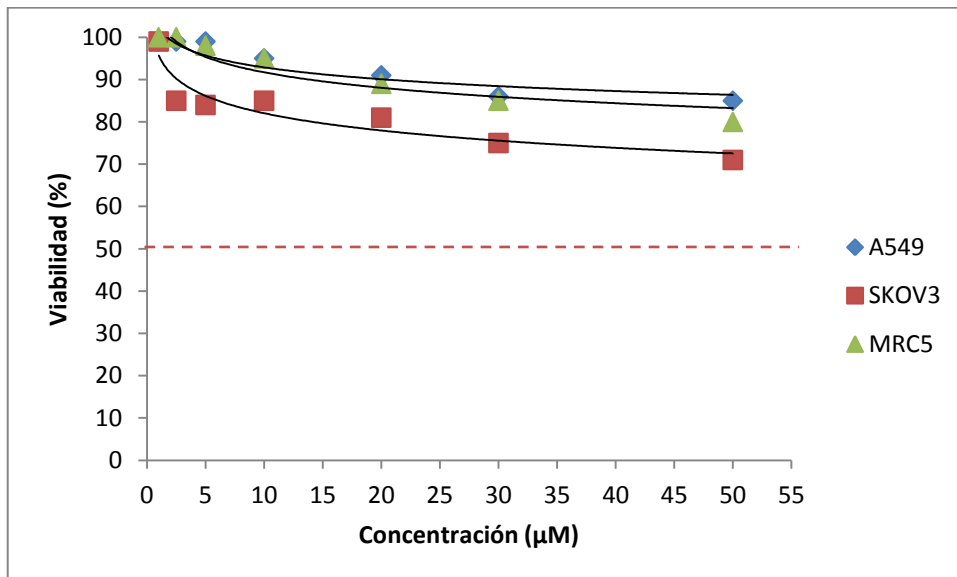


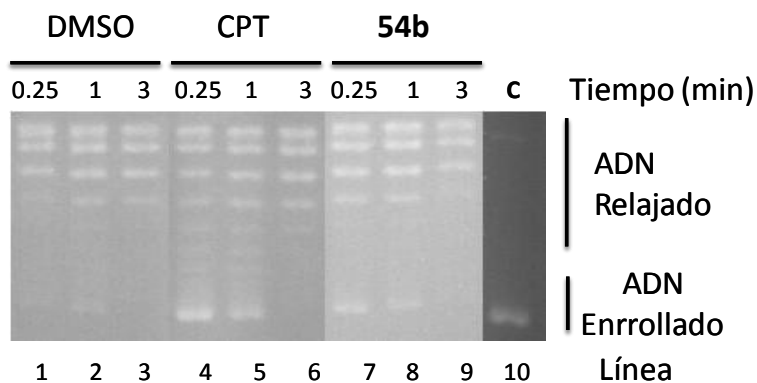
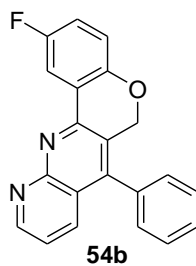
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/+/+	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
51/45/7	>50	>50	>50



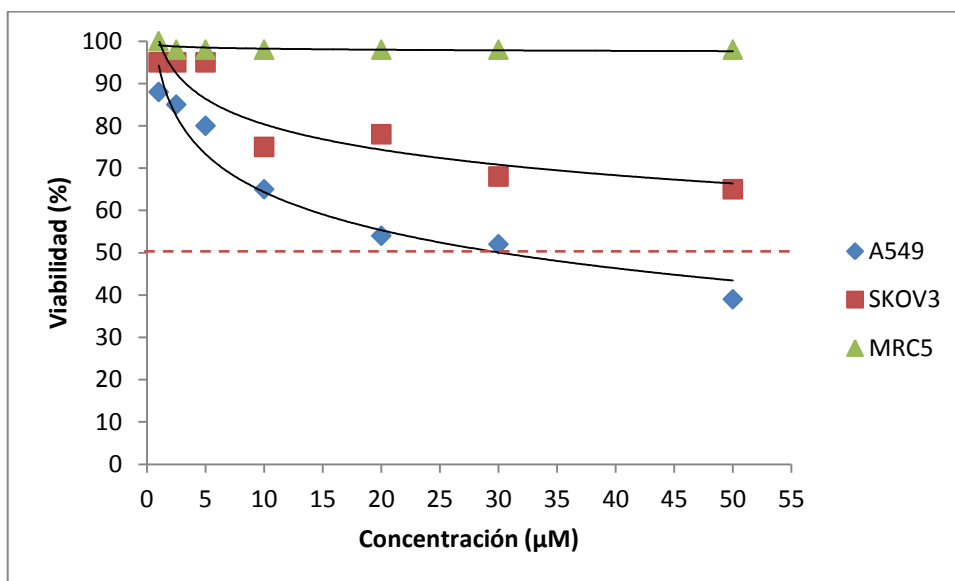


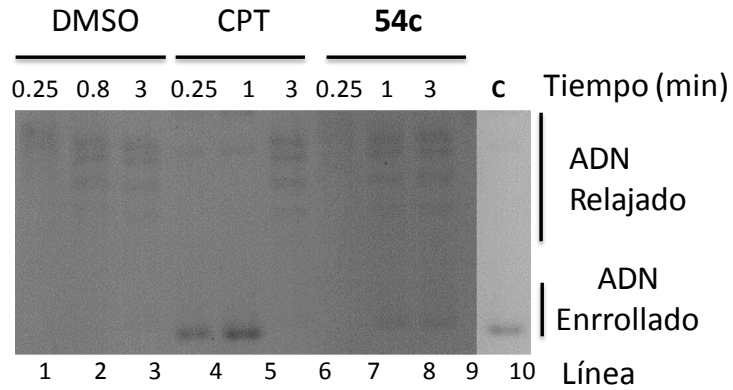
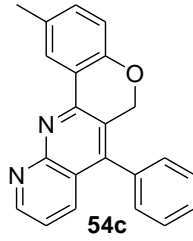
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/+/+	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
50/26/26	>50	>50	>50



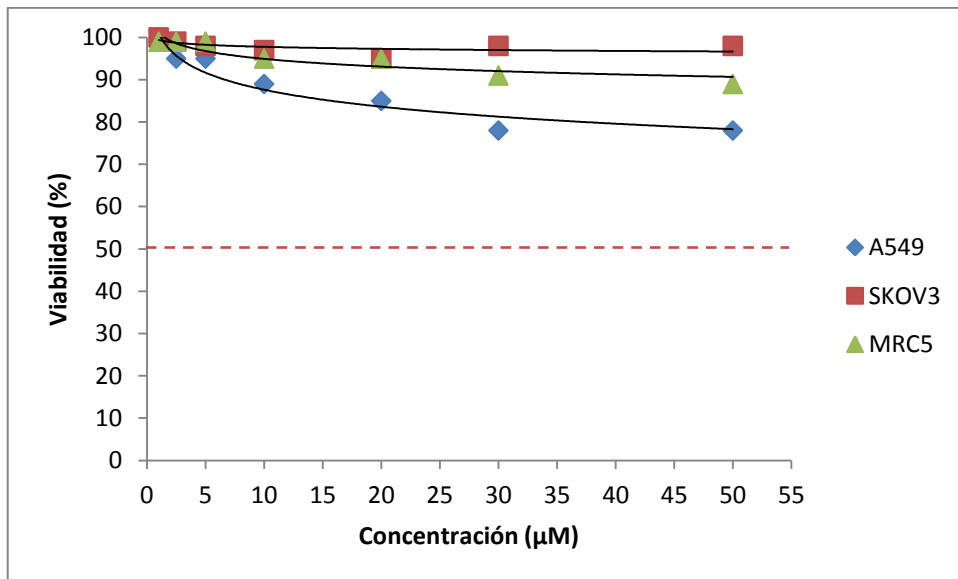


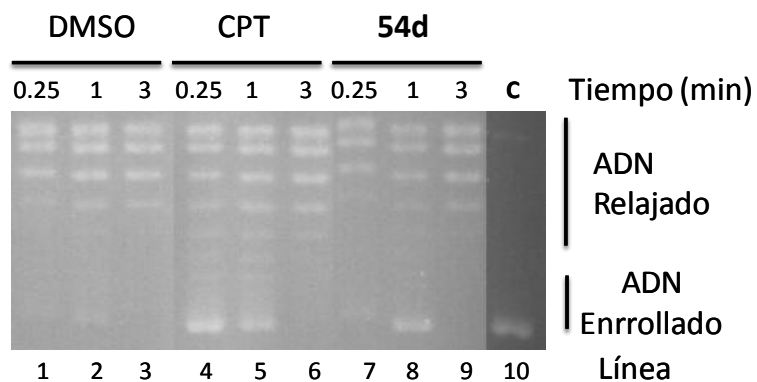
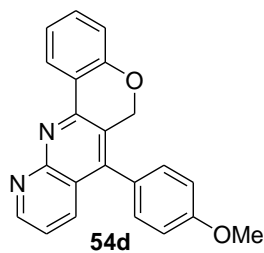
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/++/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
52/50/2	31.21 ± 3.51	>50	>50



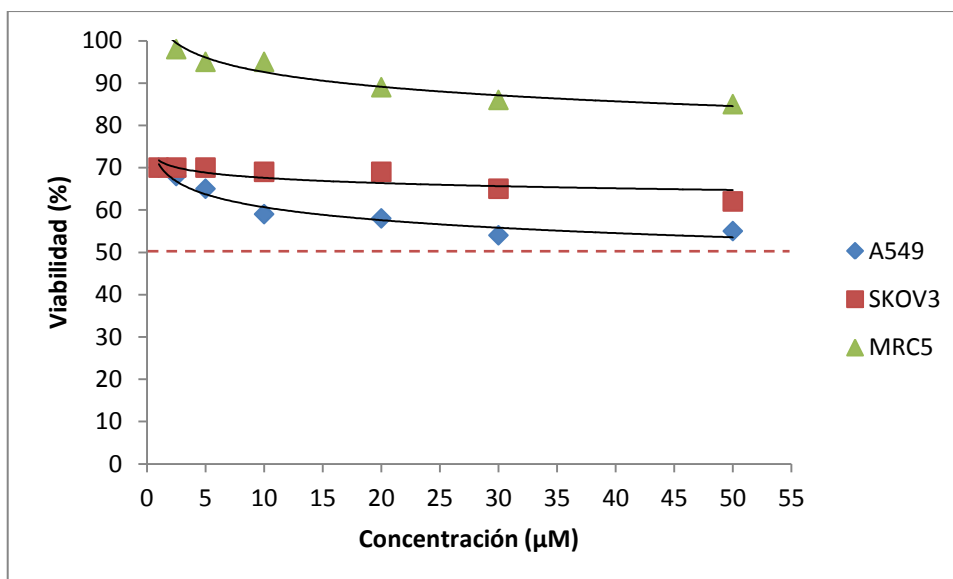


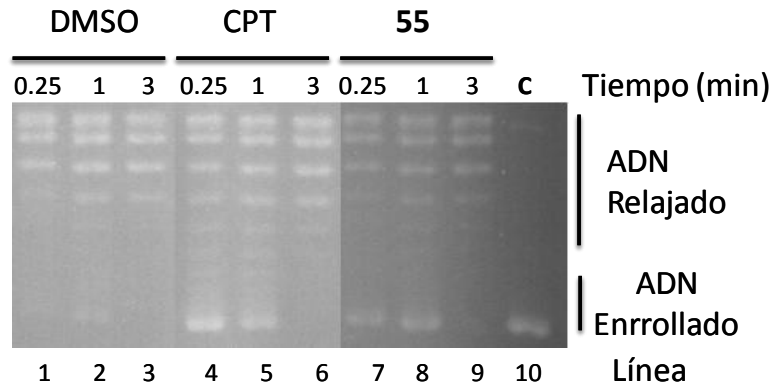
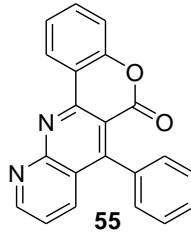
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+/-/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
26/0/0	>50	>50	>50



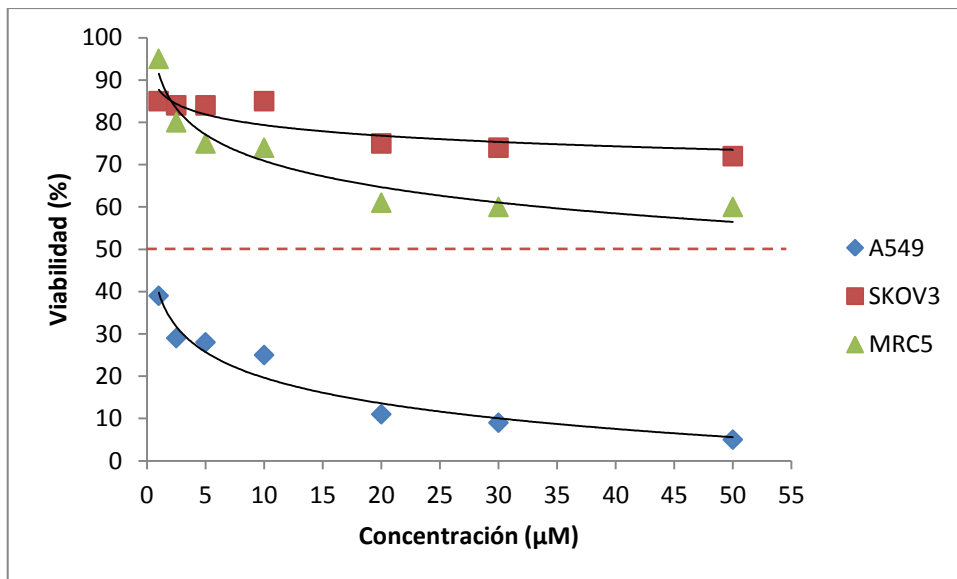


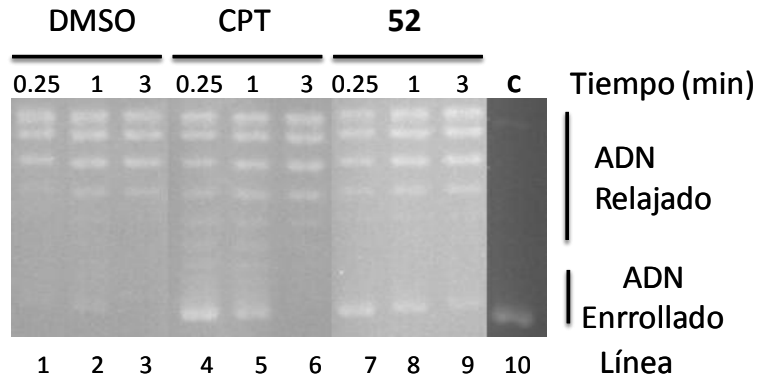
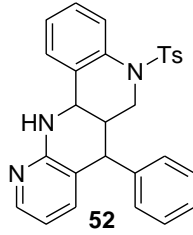
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/++/+	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
51/51/26	>50	>50	>50



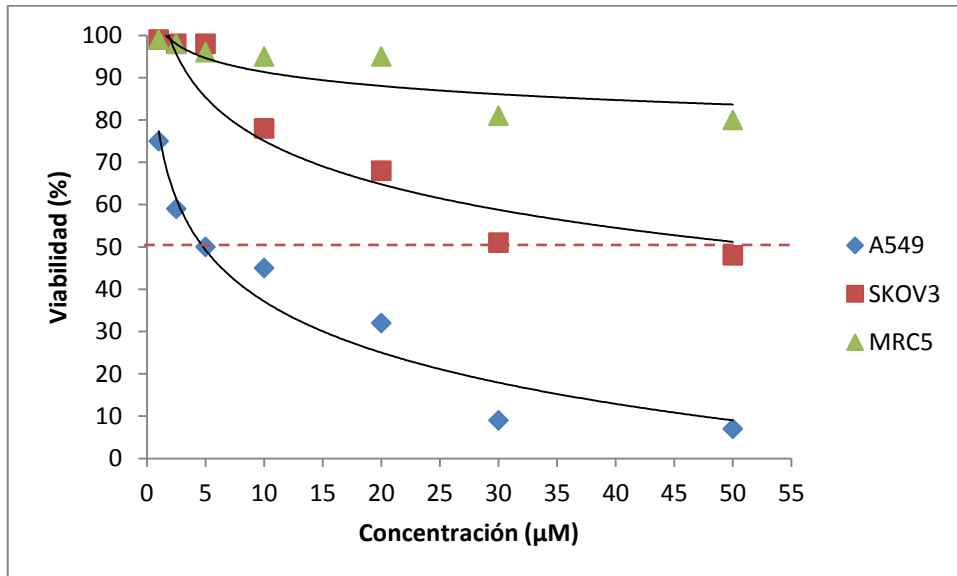


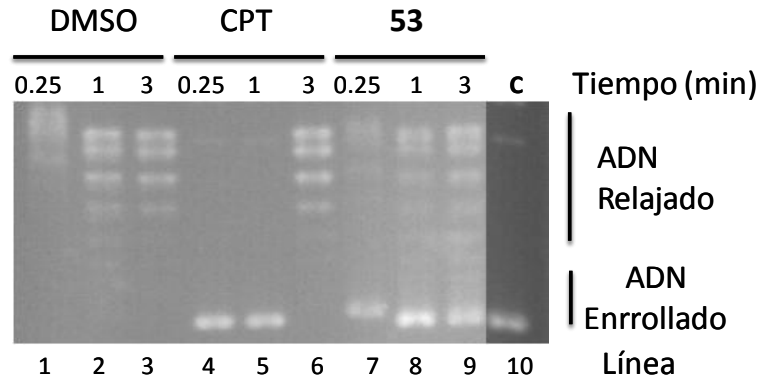
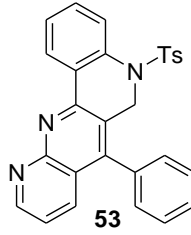
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
++/++/-	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
51/51/5	1.23 ± 0.21	>50	>50



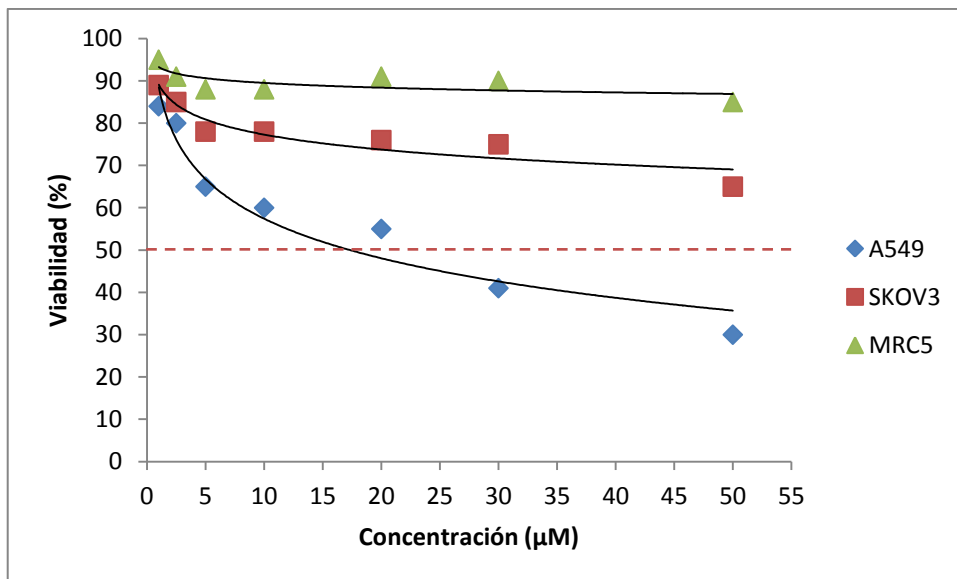


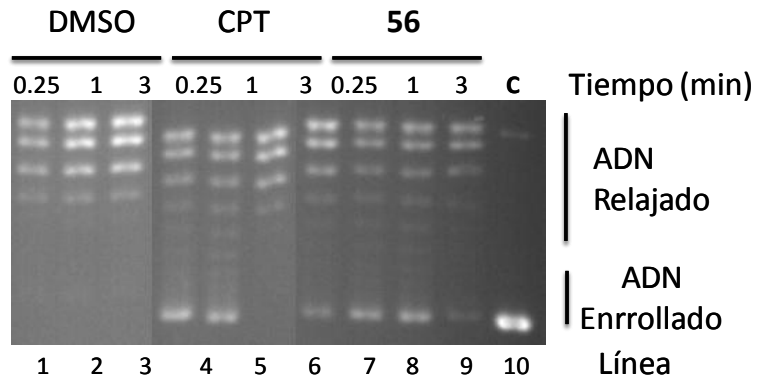
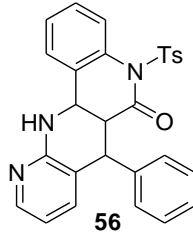
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
85/85/75	6.30 ± 1.29	>50	>50



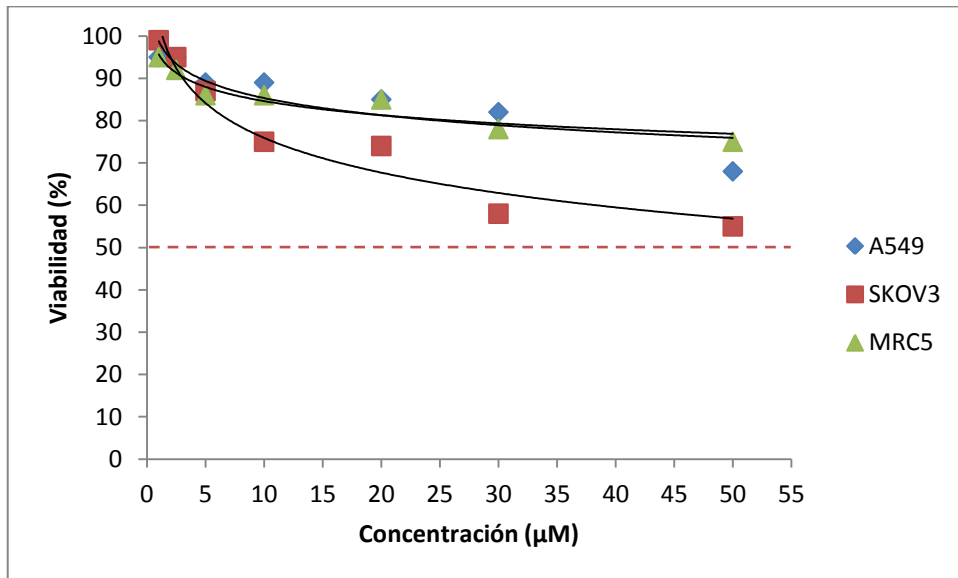


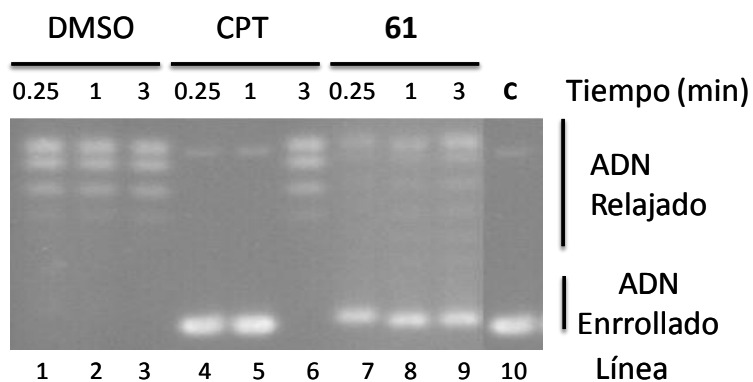
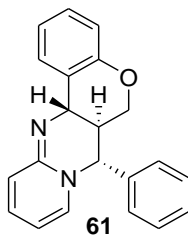
Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
98/98/95	17.93 \pm 0.38	>50	>50





Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
89/89/85	>50	>50	>50





Inhibición (%) 0.25/1/3 (min)	Citotoxicidad (μM)		
	Cáncer		Sanas
+++ / +++ / +++	Pulmón (A549)	Ovario (SKOV3)	Pulmón (MRC5)
93/93/92	3.18 ± 0.38	11.23 ± 1.53	>50

