

Departamento de Química Orgánica



Programa de doctorado en Química

DISEÑO, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN DE COMPUESTOS
CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA.
PREPARACIÓN Y APLICABILIDAD DE IMIDAZOLINAS
EN NUEVOS ORGANOCATALIZADORES
BIFUNCIONALES

Tesis Doctoral

Nuria Roda Monsálvez

Burjassot (Valencia), Marzo 2017

Directores

Ana C. Cuñat Romero

Juan F. Sanz Cervera

Juan A. Marco Ventura

Dra. Dña. Ana Carmen Cuñat Romero, Profesora titular de Química Orgánica del Departamento de Química Orgánica de la Universitat de València,

Dr. D. Juan Francisco Sanz Cervera, Catedrático de Química Orgánica del Departamento de Química Orgánica de la Universitat de València, y

Dr. D. Juan Alberto Marco Ventura, Catedrático de Química Orgánica del Departamento de Química Orgánica de la Universitat de València.

CERTIFICAN:

Que la presente Tesis Doctoral, titulada **“Diseño, síntesis y evaluación de compuestos con potencial actividad antimalárica. Preparación y aplicabilidad de imidazolinas en nuevos organocatalizadores bifuncionales”** ha sido realizada bajo su dirección en el Departamento de Química Orgánica de la Universitat de València por la licenciada en Química **Dña. Nuria Roda Monsálvez** y autorizan su presentación para que sea calificada como Tesis Doctoral.

Burjassot (València), 2017

Fdo. Ana C. Cuñat Romero Fdo. Juan F. Sanz Cervera Fdo. Juan A. Marco Ventura

A mi familia y amigos

AGRADECIMIENTOS

Una vez terminada la Tesis Doctoral te das cuenta de todo lo que tienes que agradecer a tanta gente que ha estado presente durante esta etapa, y que de una manera u otra han contribuido a que esta Tesis haya llegado a buen fin.

En primer lugar me gustaría dar las gracias a mis directores de Tesis Ana Carmen Cuñat Romero y Juan Francisco Sanz Cervera por su gran apoyo y dedicación que han mostrado durante todos estos años. Igualmente, me gustaría agradecer al Dr. Alberto Marco Ventura la oportunidad de incorporarme a su grupo de investigación y desarrollar así el presente trabajo.

A la Generalitat Valenciana y al Ministerio de Educación y Cultura el soporte económico recibido para la realización del presente trabajo.

A la empresa multinacional GlaxoSmithKline (GSK), por su disposición a colaborar con nuestro grupo de investigación en el análisis biológico de los compuestos sintetizados y en especial a María Luisa León por su ayuda y buenos consejos.

Me gustaría dar las gracias a mis queridos compañeros de Laboratorio Judith, Salva, Adrián y especialmente a Ana y Víctor. Gracias por vuestro apoyo incondicional en los momentos más difíciles. Siempre habéis estado dispuestos a escucharme, ayudarme, entenderme y por supuesto hacerme pasar muy buenos momentos.

Al Dr. Raül Blasco, por su experiencia en Química Médica y su gran interés que ha mostrado en ayudarme. Gracias por tus buenos consejos.

A los demás compañeros de departamento Amparo, Marc, Javi, Eric, Lode, Alicia, Guillermo, Carlos, Meli. Me guardo lo mejor de cada uno y una gran amistad. A su vez también agradecer a Inma, Javi y Oscar su gran labor resolviendo asuntos burocráticos. A Rosario.

I would like to express my gratitude to Professor Steven V. Ley for giving the opportunity to stay three months in his magnificent research group in the University of

Cambridge and for his kindly attention. I learnt a lot of chemistry and I also made very good friends, especially Claudio, Duc, Ricardo and Meike.

A mis amigas por saber perdonarme mis ausencias y por sus palabras de ánimo que siempre han mostrado. Si de algo puedo sentirme afortunada es de tener grandes amigas y aunque algunas de ellas estén lejos, tengo la suerte de sentirme siempre acompañada. No hace falta que las nombre. Ellas saben quiénes son y lo importantes que son para mí.

A Víctor, el que un día fue mi compañero de vitrina es ahora la persona más importante para mí y con la que pienso compartir el resto de mi vida. Ya sabes lo eternamente agradecida que estoy. Siempre has sabido entenderme y tu plena confianza en mí ha hecho que no me rindiera.

Pero mi mayor agradecimiento se lo debo a mi familia, por apoyarme en todas las decisiones que he tomado a lo largo de la vida, hayan sido buenas o malas, y especialmente por enseñarme a luchar por lo que quiero y a terminar lo que he empezado. Sin ellos nunca habría terminado esta Tesis Doctoral.

RESUMEN

La tesis que a continuación se expone es una tesis multidisciplinar dado que abarca distintos ámbitos de la química orgánica.

El primer capítulo se centra principalmente en el ámbito de la **química médica**, donde se discute el diseño, la síntesis y la evaluación biológica de cuatro familias de compuestos con potencial actividad antimalárica. Para el desarrollo de este trabajo se establece un convenio de colaboración con la empresa farmacéutica GSK, la cual lleva a cabo la evaluación biológica de todos los compuestos sintetizados. GSK ha publicado en una base de datos de acceso público los resultados obtenidos en *screenings* de compuestos que inhiben el crecimiento de *P. falciparum*. El desarrollo *hit to lead* de estos compuestos comienza con una exhaustiva búsqueda en dicha base de datos, eligiendo una serie de compuestos *hits* en base a sus propiedades farmacológicas y a su facilidad de síntesis. Una vez seleccionados los *hits* se procede al diseño de rutas sintéticas que permitan la obtención de las diferentes familias de compuestos de manera rápida y sencilla. En base a los resultados de actividad biológica se realiza un estudio *SAR* procediéndose, en caso necesario, a una reevaluación y rediseño de los compuestos obtenidos.

El segundo capítulo está basado en el campo de la **organocatálisis**. En él se discute la incorporación de imidazolinas quirales para el desarrollo y síntesis de nuevos organocatalizadores bifuncionales de tipo tiourea y escuaramida. Una vez obtenidos los diferentes estereoisómeros de cada organocatalizador se estudia la eficacia y aplicabilidad de estos sistemas en catálisis asimétrica. Concretamente, se aborda un estudio de su potencial utilidad en la reacción enantioselectiva de Morita-Baylis-Hillman y en la reacción de Strecker.

Por último y en forma de anexo se presenta el trabajo realizado durante la estancia doctoral en el grupo del Dr. Steven V. Ley de la universidad de Cambridge (Reino Unido). Durante este periodo en el *Innovative Technology Centre* (ITC), se ha desarrollado un trabajo basado en **Flow Chemistry** para la preparación de ciclopropanos funcionalizados a partir de diazo compuestos.

SUMMARY

The thesis that is exposed below is a multidisciplinary thesis that covers different areas of organic chemistry.

The first chapter is focused mainly on the field of **medical chemistry**, which discusses the design, synthesis and biological evaluation of four families of compounds with potential antimalarial activity. For the development of this work, a collaboration agreement is established with the pharmaceutical company GSK, which carries out the biological evaluation of all the synthesized compounds. GSK has published in a public access database the results obtained in screenings of compounds that inhibit the growth of *P. falciparum*. The development hit to lead of these compounds begins with an exhaustive search in this database, choosing a series of hits compounds based on its pharmacological properties and its simplicity of synthesis. Once the hits are selected, we proceed to the design of synthetic routes that allow obtaining different families of compounds quickly and easily. Based on the results of biological activity, a SAR study is carried out and, if necessary, a re-evaluation and redesign of the compounds obtained.

The second chapter is based on the field of **organocatalysis**. It discusses the incorporation of chiral imidazolines for the development and synthesis of new bifunctional thiourea/squaramide type organocatalysts. The utility of these systems is tested in asymmetric catalysis. For this purpose, all the diastereoisomers obtained are evaluated to determine the influence of stereochemistry in the different organocatalyst on enantioselective reactions, specifically in the Morita-Baylis-Hillman and in the Strecker reaction.

Finally, in an annex, the work carried out during the doctoral stay in Dr. Steven V. Ley group of the University of Cambridge (United Kingdom) is discussed. During this period at the Innovative Technology Center (ITC), a work based on **Flow Chemistry** was developed for the preparation of functionalized cyclopropanes from diazo compounds.

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	5
CAPÍTULO I: DISEÑO, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN BIOLÓGICA DE COMPUESTOS CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA	7
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1 DEFINICIÓN Y ETIOLOGÍA	11
1.2 VECTOR DE TRANSMISIÓN	12
1.3 HISTORIA DE LA MALARIA	12
1.4 CICLO DE VIDA DEL PLASMODIUM	14
1.5 SINTOMATOLOGÍA	16
1.6 DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO	16
1.7 EPIDEMIOLOGÍA.....	18
2. ANTECEDENTES.....	23
2.1 FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS.....	25
2.2 APARICIÓN DE RESISTENCIA FRENTE A LOS ANTIMALÁRICOS COMERCIALES.....	28
2.3 TERAPIAS PREVENTIVAS BASADAS EN LA QUIMIOPROFILAXIS	30
2.4 VACUNA CONTRA LA MALARIA	31
2.5 MEDIDAS PREVENTIVAS Y CONTROL VECTORIAL	34
2.6 NUEVAS TERAPIAS EN DESARROLLO	37
2.7 NECESIDAD DE NUEVOS FÁRMACOS.....	40
2.8 CANDIDATOS ANTIMALÁRICOS EN ENSAYOS CLÍNICOS	41
2.9 DESARROLLO DE NUEVOS ANTIMALÁRICOS	44
3. OBJETIVOS	49
4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	51
4.1 DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA FAMILIA DE LAS PIPERAZINAS	53
4.1.1 ELECCIÓN DEL HIT	53
4.1.2 INTRODUCCIÓN	56
4.1.2.1 PRIMERAS SÍNTESIS DESCRITAS PARA LA FORMACIÓN DEL ANILLO DE PIPERAZINA.	58
4.1.2.2 MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE DERIVADOS DE PIPERAZINA.....	59
4.1.3 OBJETIVOS	60
4.1.4 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	62
4.2 DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA FAMILIA DE LAS AMINOPYRIDINAS.....	75
4.2.1 ELECCIÓN DEL HIT	75
4.2.2 INTRODUCCIÓN	78

4.2.2.1	APLICACIONES BIOLÓGICAS ASOCIADAS AL NÚCLEO DE AMINOPIRIDINA.....	79
4.2.2.2	SÍNTESIS DESCRITAS EN LA FORMACIÓN DEL AMINOPIRIDINAS	81
4.2.3	OBJETIVOS	82
4.2.4	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	84
4.3	DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS LA FAMILIA DE LOS BENZIMIDAZOLES.....	97
4.3.1	ELECCIÓN DEL HIT.....	97
4.3.2	INTRODUCCIÓN	99
4.3.2.1	SÍNTESIS CLÁSICAS DE BENZIMIDAZOLES	101
4.3.2.2	ALTERNATIVAS A LA SÍNTESIS CLÁSICA	102
4.3.3	OBJETIVOS	105
4.3.4	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	106
4.4	DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA FAMILIA DE LOS TIAZOLES	111
4.4.1	ELECCIÓN DEL HIT.....	111
4.4.2	INTRODUCCIÓN	116
4.4.2.1	SÍNTESIS CLÁSICAS DE 1,3-TIAZOLES	118
4.4.2.2	REACCIONES MULTICOMPONENTES EN LA SÍNTESIS DE TIAZOLES.....	120
4.4.2.3	REACCIONES DE FORMACIÓN DE ENLACES C-C PARA LA OBTENCIÓN DE DERIVADOS DE TIAZOL.	121
4.4.2.4	SÍNTESIS DE TIAZOLES A PARTIR DE ÉSTERES DE AMINOÁCIDOS	122
4.4.3	OBJETIVOS	125
4.4.4	RESULTADOS.....	126
5.	PARTE EXPERIMENTAL	143
5.1	TÉCNICAS GENERALES.....	145
5.2	SÍNTESIS DE LA FAMILIA DE LAS PIPERAZINAS	147
5.2.1	PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS.....	147
5.2.2	PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS.....	148
5.3	PARTE EXPERIMENTAL DE LA FAMILIA DE LAS AMINOPIRIDINAS	159
5.3.1	PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS.....	159
5.3.2	PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS.....	161
5.4	SÍNTESIS DE LA FAMILIA DE LOS BENZIMIDAZOLES.....	173
5.4.1	PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS.....	173
5.4.2	PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS.....	174
5.5	SYNTHESIS OF THIAZOLE DERIVATIVES	181
5.5.1	GENERAL SYNTHETIC METHODS.....	181
5.5.2	SYNTHETIC PROCEDURES AND CHARACTERIZATION DATA	182
6.	ENSAYOS BIOLÓGICOS.....	215
6.1	METODOLOGÍA GENERAL EMPLEADA	217
6.2	RESULTADOS BIOLÓGICOS OBTENIDOS.....	219
6.2.1	FAMILIA DE LAS PIPERAZINAS	219
6.2.2	FAMILIA DE LAS AMINOPIRIDINAS	220
6.2.3	FAMILIA DE LOS BENZIMIDAZOLES	222
6.2.4	FAMILIA DE LOS TIAZOLES.....	224

6.2.4.1	MODIFICACIONES EN EL ANILLO DE PIPERAZINA.....	224
6.2.4.2	MODIFICACIONES EN LA PARTE CENTRAL DEL HIT	225
6.2.4.3	MODIFICACIONES EN EL ANILLO DE FENILO ADYACENTE.....	226
7.	CONCLUSIONS.....	235
CAPÍTULO II: PREPACIÓN Y APLICABILIDAD DE IMIDAZOLINAS EN NUEVOS ORGANOCATALIZADORES BIFUNCIONALES.....		
1.	INTRODUCCIÓN	241
1.1	SÍNTESIS ASIMÉTRICA.....	243
1.2	ORGANOCATÁLISIS ASIMÉTRICA.....	245
2.	ANTEDECENTES	249
2.1.	ANTECEDENTES HISTÓRICOS	249
2.2.	MODOS DE ACTIVACIÓN	251
2.3	ORGANOCATALIZADORES DE TIPO TIOUREA	255
2.3.1.	REACCIONES ENANTIOSELECTIVAS CATALIZADAS POR ORGANOCATALIZADORES BIFUNCIONALES DE TIPO TIOUREA.	261
2.3.1.1.	REACCIÓN DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN.....	261
2.3.1.2	REACCIÓN DE STRECKER.....	265
3.	OBJETIVOS	273
4.	DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	277
4.1	PREPARACIÓN DE IMIDAZOLINAS FLUORADAS A PARTIR DE PRECURSORES NITROGENADOS POR REACCIÓN DE IMINAS CON ISONITRILOS.	277
4.1.1	SÍNTESIS DE ALDIMINAS	277
4.1.2.	ISONITRILOS NO FLUORADOS	278
4.1.3	ISONITRILOS FLUORADOS.....	280
4.1.4	SÍNTESIS DE IMIDAZOLINAS.....	284
4.2	PREPARACIÓN DE IMIDAZOLINAS A PARTIR DE PRECURSORES NITROGENADOS POR CONDENSACIÓN DE 1,2-DIAMINAS QUIRALES CON ALDEHIDOS.	288
4.2.1	OBTENCIÓN DE 1,2-ETILENDIAMINAS QUIRALES.....	289
4.2.2	SÍNTESIS DE ALDEHÍDOS.....	290
4.2.3	SÍNTESIS DE IMIDAZOLINAS QUIRALES.....	291
4.2.4	SÍNTESIS DE ORGANOCATALIZADORES BIFUNCIONALES DE TIPO TIOUREA.....	293
4.3	ENSAYOS SOBRE REACCIONES ENANTIOSELECTIVAS.....	296
4.3.1	REACCIÓN DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN ENANTIOSELECTIVA.....	296
4.3.2	REACCIÓN DE STRECKER ENANTIOSELECTIVA.....	304
5.	EXPERIMENTAL SECTION	311
5.1	GENERAL PROCEDURES	311
5.2	GENERAL SYNTHETIC METHODS.....	312

5.3 SYNTHETIC PROCEDURES AND CHARACTERIZATION DATA	315
6. CONCLUSIONS	353
ANNEX I: CYCLOPROPANATION USING FLOW-GENERATED DIAZO COMPOUNDS	355
1. INTRODUCTION	357
2. THE AIM OF THE PROJECT	361
3. RESULTS AND DISCUSSION	362
4. CONCLUSIONS	370
5. EXPERIMENTAL SECTION OF CYCLOPROPANATION USING FLOW- GENERATED DIAZO COMPOUNDS	371
5.1 GENERAL EXPERIMENTAL SECTION	371
5.2 CHARACTERISATION DATA FOR COMPOUNDS	375

ABREVIATURAS

Å	angstrom/ 10^{-10} m
Ac	acetilo
AcOEt	acetato/etanoato de etilo
AcOH	ácido acético/etanoico
Ac ₂ O	anhídrido acético
Anh.	anhidro
Ar	arilo
Bn	bencilo
Boc	<i>terc</i> -butoxicarbonilo
Boc ₂ O	dicarbonato de di- <i>terc</i> -butilo
<i>t</i> -Bu	<i>terc</i> -butilo
cat.(*)	catalizador (quiral)
d	días
DABCO	1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano
dba	dibencilidenacetona
DBU	1,8-Diazabicycloundec-7-eno
DMAP	4-(dimetilamino)piridina
DCM	diclorometano
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
ee	exceso enantiomérico
eq.	equivalentes
Et	etilo
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
GP	grupo protector
GSK	GlaxoSmithKline
h	hora
HPLC	cromatografía líquida de alta eficacia

M	molar
MBH	Morita-Baylis-Hillman
Me	metilo
MeOH	metanol
mL	mililitros
mmol	milimol
MTI	mosquitera tratada con insecticida
OMS	organización mundial de la salud
PDR	pruebas de diagnóstico rápido
Ph	fenilo
<i>i</i> -Pr	<i>iso</i> -propilo
RMN	resonancia magnética nuclear
rt	<i>room temperature</i>
Rto.	rendimiento
SP	sustrato de partida
ta	temperatura ambiente
t	tiempo de reacción
T	temperatura
TBME	<i>terc</i> -butilmetiléter
TCA	terapia combinada con artemisinina
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TM	tamiz molecular
Ts	tosilo/4-metilbencenosulfonil
<i>p</i> TsOH	ácido <i>para</i> -toluensulfónico
USFDA	<i>United States Food and Drug Administration</i>

**CAPÍTULO I: DISEÑO, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN
BIOLÓGICA DE COMPUESTOS CON POTENCIAL
ACTIVIDAD ANTIMALÁRICA**

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 DEFINICIÓN Y ETIOLOGÍA

La malaria, también denominada paludismo, es una enfermedad parasitaria que se trasmite de un ser humano a otro por la picadura de mosquitos del género *Anopheles* infectados por parásitos del género *Plasmodium*.¹



Figura 1.1 Imagen real de un mosquito del género *Anopheles*²

Dicha enfermedad está considerada como una de las mayores amenazas a la salud humana en todo el mundo, siendo la más letal de las infecciones parasitarias humanas. La malaria es una de las enfermedades más antiguas que existen, pues ha estado presente en la vida del hombre por más de 50.000 años.³ Según recientes investigaciones científicas, el parásito fue transferido a la especie humana desde especies de primates, probablemente gorilas.⁴ Esta afirmación es el resultado de la investigación de más de tres mil muestras fecales de estos animales, donde se descubrió que en sus restos había presencia de este microorganismo. De esta manera, el mosquito del tipo *Anopheles* se situaba sobre los restos fecales de estos primates donde se les adhería el parásito y posteriormente ellos picaban a los humanos transmitiendo la enfermedad.

¹Greenwood, B. M.; Fidock, D. A.; Kyle, D. E.; Kappe, S. H. I.; Alonso, P. L.; Collins, F. H.; Duffy, P. E., *J. Clin. Invest.* **2008**, *118*, 1266-1276.

²<http://www.paludismo.org/mosquitos-anopheles/>.

³Carter, R.; Mendis, K. N. *Clin. Microbiol. Rev.* **2002**, *15*, 564-594.

⁴Liu, W.; Li, Y.; Learn, G.H.; Rudicell, R.S.; Robertson, J.D.; Keele, B.F.; Ndjango, J.-B.N.; Sanz, C.M.; Morgan, D.B.; Locatelli, S.; Gonder, M.K.; Kranzusch, P.J.; Walsh, P.D.; Delaporte, E.; Mpoudi-Ngole, E.; Georgiev, A.V.; Muller, M.N.; Shaw, G.M.; Peeters, M.; Sharp, P.M.; Rayner, J.C.; Hahn, B.H. *Nature* **2010**, *467*, 420-427.

1.2 VECTOR DE TRANSMISIÓN

Los mosquitos del género *Anopheles* habitan prácticamente en todo el mundo, con especial intensidad en las zonas templadas, tropicales y subtropicales. Únicamente las hembras de este mosquito son las que se alimentan de sangre mientras que los machos no pican y no pueden transmitir enfermedades, ya que sólo se alimentan de néctares y jugos vegetales. Existen aproximadamente 400 especies del género *Anopheles*, de las cuales de 30 a 40 transmiten cinco especies de parásitos del género *Plasmodium* causantes de la malaria humana⁵ (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y la más recientemente descubierta *P. knowlesi*⁶). De estas cinco especies, *P. vivax* y *P. falciparum* son los más importantes,⁷ ya que transmiten la forma más peligrosa de malaria con los índices más altos de morbilidad y mortalidad.⁸

1.3 HISTORIA DE LA MALARIA

A lo largo de la historia se han encontrado diversas referencias de casos de fiebre que podrían haber sido producidos por malaria. Los registros más antiguos datan del año 2700 a.C en China.⁹ Además, se han encontrado tablas de la antigua Mesopotamia del 2000 a.C, papiros del antiguo Egipto del 1570 a.C, y diversos textos hindúes del siglo VI que reflejan los inicios de dicha enfermedad. En referencia al continente europeo, la malaria era común en zonas de ciénagas en Roma y por esta razón su nombre se origina del italiano “mal – aria” o “mal – aire”, así como paludismo que deriva del latín “palud” que significa pantano. La malaria fue común en gran parte de Europa y América del Norte, donde hoy se encuentra totalmente erradicada, con solo algunos casos aislados.

Los primeros avances científicos de importante índole acerca de la malaria datan de 1880, cuando el médico francés Charles Louis Alphonse Laveran observó por primera

⁵a) Greenwood, B. M.; Bojang, K.; Whitty, C. J.; Targett, G. A. *Lancet*. **2005**, *365*, 1487-1498. b) Snow, R. W.; Guerra, C. A.; Noor, A. M.; Myint, H. Y.; Hay, S. I. *Nature*. **2005**, *434*, 214-217.

⁶Castelli, F.; Odolini, S.; Autino, B.; Foca, E.; Russo, R. *Pharmaceuticals* **2010**, *3*, 3212-3239.

⁷Anstley, N. A.; Rusell, B.; Yeo, T. W.; Price, R.N. *Trends Parasitol.* **2009**, *25*, 220-227.

⁸Gamo, F.-J.; Sanz, L. M.; Vidal, J.; de Cozar, C.; Álvarez, E.; Lavandera, J.-L.; Vanderwall, D. E.; Green, D. V. S.; Kumar, V.; Hasan, S.; Brown, J. R.; Peishoff, C. E.; Cardon, L. R.; García- Bustos, J. F. *Nature* **2010**, *465*, 305-310.

⁹Neghina, R.; Neghina, A. M; Marincu, I.; Iacobiciu, I. *Am. J. Med. Sci.* **2010**, *340* (6), 492-498.

vez la presencia de parásitos del género *Plasmodium* dentro de los glóbulos rojos de personas infectadas con malaria. Esta fue la primera vez en la historia en la que se identificó un protozooario como causante de una enfermedad¹⁰ y por este y otros descubrimientos subsiguientes se le concedió el Premio Nobel de Medicina en 1907. En 1890, Ettore Marchiafava y Angelo Celli introdujeron por primera vez los términos *Plasmodium vivax* y *malariae* y no fue hasta 1922 cuando se descubrió el parásito *Plasmodium ovale*.¹¹ En 1898, surgió un importante avance en el estudio de la malaria cuando el médico inglés Sir Ronald Ross demostró que la malaria era transmitida por los mosquitos.¹² Ross consolidó su teoría mediante investigaciones realizadas con aves en India y se le otorgó por ello el Premio Nobel de Medicina en 1902.

Con motivo de este novedoso descubrimiento, numerosos grupos de investigación italianos se centraron en averiguar qué especie de mosquito era el transmisor de la malaria. Bignamo y Grassi fueron los primeros en demostrar que el parásito causante de la malaria humana era transmitido por mosquitos del género *Anopheles*¹³ pero no fue hasta medio siglo después cuando en 1948 H. Shortt y C. Garnham identificaron el ciclo vital de este mosquito.¹⁴ Costó varias décadas de estudio conseguir elucidar por completo el ciclo vital del parásito y no fue hasta 1982 cuando W. Krotoski encontró que el parásito se alojaba en el hígado al comienzo de su ciclo en el cuerpo.¹⁵ El descubrimiento de una forma latente del parásito en el hígado explicó el hecho de que se podía volver a recaer aunque el parásito había desaparecido de la circulación sanguínea y habían cesado los síntomas.

Uno de los mayores descubrimientos del siglo XXI que aporta una mayor comprensión acerca del modo de acción de estos parásitos fue la determinación del

¹⁰Laveran, C. L. *Reviews of infectious diseases* **1982**, 4(4), 908-11.

¹¹Stephens, J. W. W. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **1922**, 16, 383-388.

¹²a) Ross, R. *Lancet.* **1898**, 2, 489; b) Manson, P. *Brit Med J.* **1898**, 1, 1575-1577.

¹³Grassi, B.; Bignami, A.; Bastianelli, G. *Atti Reale Accad Lincei.* **1899**, 8, 21-28.

¹⁴Shortt, H.; Garnham, C. *Nature.* **1948** 161(126), 4082.

¹⁵Krotoski, W. A.; Collins, W. E.; Bray, R. S.; Garnham, P. C.; Cogswell, F. B.; Gwadz, R. W.; Killick-Kendrick R.; Wolf, R.; Sinden, R.; Koontz, L. C.; Stanfill, P.S. *Am J Trop Med Hyg.* **1982**, 31(6), 1291-3.

genoma completo del *Plasmodium falciparum*,¹⁶ así como el genoma de las otras especies que causan la enfermedad.¹⁷

1.4 CICLO DE VIDA DEL PLASMODIUM

El ciclo vital del *Plasmodium* se representa en la Figura 1.2. Las etapas asexuales en la sangre (anillos, trofocitos y esquizontes) son los responsables de los síntomas de la malaria y constituyen el objetivo principal de la quimioterapia en esta enfermedad, ya que las etapas sexuales (gametocitos) no causan patologías conocidas.

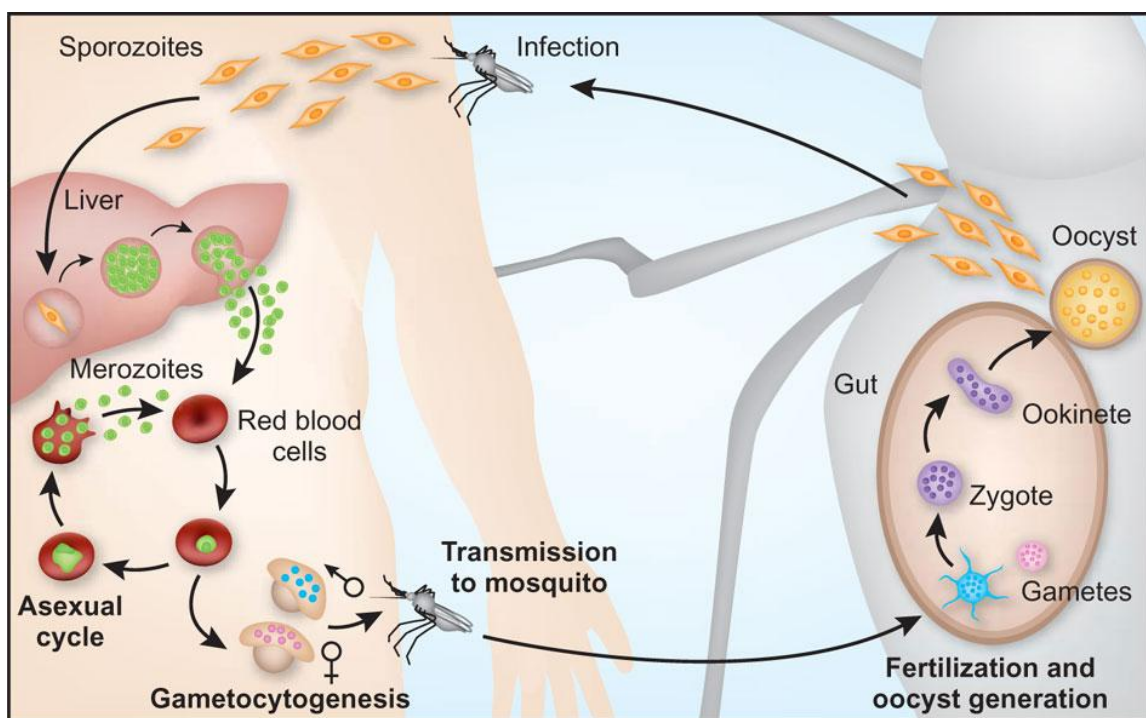


Figura 1.2. Ciclo vital del *Plasmodium*.¹⁸

¹⁶Gardner, M.J.; Hall, N.; Fung, E.; White, O.; Berriman, M.; Hyman, R. W; Carlton, J. M; Pain, A.; Nelson K. E.; Bowman, S.; Paulsen, I. T.; James, K.; Eisen, J. A; Rutherford, K.; Salzberg, S. L.; Craig, A.; Kyes, S.; Chan M-S.; Nene, V.; Shallom, S. J.; Suh, B.; Peterson, A ; Angiuoli, J. S.; Perlea, M.; Allen, J.; Selengut, J.; Haft D.; Mather, M. W.; Vaidya, A. B.; Martin, D. M. A.; Fairlamb, A. H; Fraunholz, M. J; Roos, D. S; Ralph, S. A; McFadden, G. I.; Cummings, L. M.; Subramanian, G. M.; Mungall, C.; Venter J. C.; Carucci, D. J.; Hoffman, S. L.; Newbold, C.; Davis, R. W.; Fraser, C. M.; Barrell, B. *Nature*. **2002**, 419, 489-511.

¹⁷Carlton, J. M.; Escalante, A. A.; Neafsey, D.; Volkman, S. K. *Trends Parasitol*. **2008**, 24, 545-550.

¹⁸Pasvol, G. *Nature Genetics*, **2010**, 42, 284-285.

Los parásitos se introducen en el ser humano a través de la picadura del mosquito, pasando a la sangre en forma de esporozoítos hasta alcanzar el hígado y penetrar en las células hepáticas (esta es la fase extraeritrocitaria).¹⁹ Los parásitos en etapa durmiente localizados en el hígado (hipnocitos) de *P. vivax* y *P. ovale* pueden reactivarse semanas o meses después de la infección inicial, dando lugar a recaídas. Transcurridos unos 8 días, la forma intermedia llamado merozoíto destruye la célula hepática y se libera de nuevo a la sangre, penetrando esta vez en los hematíes e iniciando clínicamente la enfermedad (fase intraeritrocitaria).²⁰ Es en los hematíes donde se transformará primero en trofozoíto, madurará, se dividirá y destruirá el glóbulo rojo de modo que las formas jóvenes quedarán libres y penetrarán en nuevos hematíes, formando los esquizontes y repitiendo la fase intraeritrocitaria.

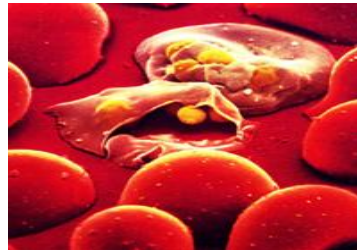


Figura 1.3. Eritrocitos infectados por *Plasmodium*²¹

Como dato a destacar de *P. falciparum*, añadir que coloniza a todos los hematíes (no importa su edad), cosa que explica su mayor virulencia. Sin embargo, el *P. vivax* y *P. ovale* tienen preferencia por eritrocitos jóvenes, lo cual limita su capacidad reproductiva y hace que no suelen ser causa de enfermedad grave.²² Cuando la enfermedad se prolonga, es habitual encontrar en sangre alguna forma sexuada, que será sorbida por el mosquito tras una nueva picadura, adquiriendo éste de este modo el protozoo; en él se producirá la maduración sexual que da lugar a la esporogonia la cual, una vez fecundada, pasará a las glándulas salivales y será inoculada de nuevo con otra picadura.²³ Con esta generación alternante, asexual en el hombre y sexual en el mosquito, se cierra el ciclo evolutivo del parásito.

¹⁹<http://www.youtube.com/watch?v=CHZnm7CpM7E&feature=related> (recomendable).

²⁰Griffith, K. S.; Lewis, L. S.; Mali, S.; Parise, M.E. *JAMA*, **2007**, *297*, 2264-2277.

²¹<http://www.mundodemicrobiologia.weebly.com>

²²Muller, I. B.; Hyde, J. *Future Microbiol.* **2010**, *5*, 1875-1873.

²³Su, X.; Hayton, K.; Wellems, T. E. *Nature Reviews Genetics* **2007**, *8*, 497-506.

1.5 SINTOMATOLOGÍA

Los síntomas de la malaria incluyen fiebre, escalofríos, sudoración, cefaleas y dolores generalizados de músculos y articulaciones. Estos síntomas son muy inespecíficos, pudiendo ser similares a los observados en enfermedades menos letales como gripe o gastroenteritis. Por ello resulta primordial un diagnóstico y tratamiento a tiempo, especialmente en el caso del *P. falciparum*, ya que puede ser mortal en uno a dos días al provocar un fallo multiorgánico.

Para la forma más grave de la enfermedad, el cuadro clínico incluye, además de los síntomas clásicos, tos, diarrea, dificultad respiratoria, insuficiencia renal y hepática, edema pulmonar y encefalopatía aguda, llevando a menudo a la muerte (paludismo cerebral).

Las otras formas de paludismo, tales como las causadas por *P. vivax*, *P. malariae* y *P. ovale*, no constituyen una amenaza para la vida, excepto en los niños de muy corta edad, los ancianos y los pacientes con enfermedades concurrentes o inmunodeficiencia. El tiempo que media entre la picadura del mosquito y la aparición del cuadro clínico (periodo de incubación) es de 7 a 14 días para *P. falciparum*, *P. vivax* y *P. ovale*, y de 7 a 30 días para *P. malariae*, pero puede ser mucho más prolongado en personas parcialmente inmunes o que han estado tomando medicamentos antipalúdicos como quimioprofilaxis. En el caso de las infecciones causadas por *P. vivax* y *P. ovale*, la fiebre y los escalofríos son síntomas cíclicos, repitiéndose cada dos o tres días. Si no se recibe tratamiento, los parásitos en etapa durmiente localizados en el hígado (hipnocitos) de *P. vivax* y *P. ovale* pueden reactivarse semanas o meses después de la infección inicial, dando lugar a recaídas. En el caso de infecciones causadas por *P. malariae* pueden persistir hasta 50 años, con crisis febriles recurrentes.

1.6 DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO

Las cuatro formas de paludismo humano pueden ser tan semejantes respecto a sus síntomas que es prácticamente imposible diferenciarlas por especie si no se hacen estudios de laboratorio (Tabla 1.1). La OMS recomienda que antes de administrar el tratamiento se confirme el diagnóstico con métodos parasitológicos. La confirmación del

diagnóstico se hace por la demostración de los parásitos del paludismo en frotis de sangre y en gota gruesa. Pueden ser necesarios los estudios microscópicos repetidos cada 12 a 24 horas, por la variación del número de parásitos en sangre periférica, sobre todo en la infección por *P. falciparum*. Incluso, a veces, no se puede demostrar la presencia de parásitos en los frotis de pacientes que han sido tratados en fecha reciente o que están bajo tratamiento.

Tabla 1.1. Características morfológicas de los parásitos palúdicos en extensiones sanguíneas finas (según OMS).

	P. vivax	P. ovale	P. malariae	P. falciparum
Glóbulo rojo infectado	Tamaño aumentado; puntos de Schüffner presentes	Tamaño aumentado; oval con fimbrias; puntos de Schüffner presentes	Tamaño normal o menor	Tamaño normal; pueden observarse hendiduras de Maurer
Fase de anillo (trofozoito precoz)	Grande; varios puntos de cromatina; puede haber dos anillos por eritrocito	Compacto; raramente dos anillos por eritrocito	Compacto; raramente dos anillos por eritrocito	Pequeño y delicado; a menudo dos puntos de cromatina; a menudo dos o más anillos por eritrocito; formas adheridas frecuentes
Trofozoito tardío	Grande; ameboide; pigmento en forma de bastones finos	Pequeño; no ameboide; pigmento granuloso	Pequeño; compacto; a menudo en forma de banda; pigmento granuloso	Tamaño moderado; Generalmente compacto; pigmento en gránulos
Esquizonte maduro	Grande; merozoítos Grandes (12-24); pigmento coalescente	Más pequeño que <i>P. vivax</i> ; merozoítos (6-12 merozoítos); pigmento más oscuro que en <i>P. vivax</i>	Pequeño; merozoítos Grandes (6-12); aspecto de "margarita"; pigmento granuloso	Raro en la sangre periférica; merozoítos pequeños (8-26); masa única de pigmento
Gametocitos	Esféricos; compactos; núcleo único; pigmento difuso	Parecidos a <i>P. vivax</i> , pero más pequeño	Parecidos a <i>P. vivax</i> pero más pequeños y sin puntos de Schüffner	En forma semilunar, núcleo único

Existen pruebas de diagnóstico rápido (PDR) que ofrecen la posibilidad de proporcionar un diagnóstico certero a todas las poblaciones vulnerables, alcanzando a aquellas que no tienen acceso a servicios de microscopia de calidad. Las PDR detectan antígenos específicos (proteínas) producidos por los parásitos de malaria. Estos antígenos están presentes en la sangre de las personas infectadas o recientemente infectadas. La

PDR muestra su presencia mediante un cambio de color en una tira de nitrocelulosa absorbente. Algunas PDR sólo pueden detectar una especie (*P. falciparum*), generalmente al detectar la proteína 2 rica en histidina (HRP2) o la lactato-deshidrogenasa específica del parásito (pLDH). Algunas pruebas, al descubrir otros antígenos, detectan una o más de las otras tres especies de parásitos de la malaria que infectan a los seres humanos.

El número de pruebas de diagnóstico rápido (PDR) distribuidas por los programas nacionales de control de la malaria aumentaron de menos de 200 000 en el 2005 a más de 160 millones en el 2013.²⁴ De estas, el 83% se entregaron en países en la región africana. La calidad de las PDR ha aumentado significativamente desde que inició el programa de evaluación de PDR en el 2008. La OMS recomienda que la sensibilidad de las PDR sean de $\geq 95\%$ con ≥ 100 parásitos/ μL en el caso de *P. falciparum*.

1.7 EPIDEMIOLOGÍA

La población mundial ha crecido geométricamente a lo largo del siglo XX, desde aproximadamente 1000 millones a 6000 millones de personas (Tabla 1.2). Estos datos demográficos son importantes en lo que se refiere a la proporción de la población humana expuesta en el tiempo a la malaria.

Tabla 1.2. Riesgo global de malaria desde 1900 hasta 2010.

Año	Población global nº	Área terrestre con malaria		Países en riesgo nº	Población expuesta	
		Km ²	%		nº	%
1900	1 158 400 472	77 594 460	53.16	140	892 373 056	77.03
1946	2 391 400 960	58 565 752	40.12	130	1 653 815 808	68.40
1965	3 363 417 344	53 492 988	36.65	103	1 925 360 320	57.21
1975	4 065 759 488	48 075 780	32.93	91	2 121 086 592	51.91
1992	5 419 255 808	43 650 812	29.90	88	2 565 602 144	47.34
1994	5 582 432 256	39 537 020	27.08	87	2 570 555 136	46.05
2002	6 204 095 488	39 758 172	27.24	88	2 996 419 584	48.30
2010	6 807 085 056	39 758 172	27.24	88	3 410 862 060	50.11

²⁴WHO. *World Malaria Report*. 2014.

El porcentaje de población en riesgo disminuyó desde el 77% a principios del siglo XX hasta un mínimo del 46% en 1994. Sin embargo, esta proporción aumentó hasta el 48% en 2002 a causa del crecimiento de población en una distribución geográfica que no ha variado sustancialmente.

En términos absolutos, la población en riesgo aumentó desde 900 millones a 3000 millones de habitantes en el período comprendido entre 1900 y 2002. Por lo tanto, se estima que la población que sigue expuesta a la malaria a principios del siglo XXI es del 48%.²⁵

La malaria afecta sobre todo a países pobres, con gran morbilidad y mortalidad en el mundo tropical (Figura 1.4).

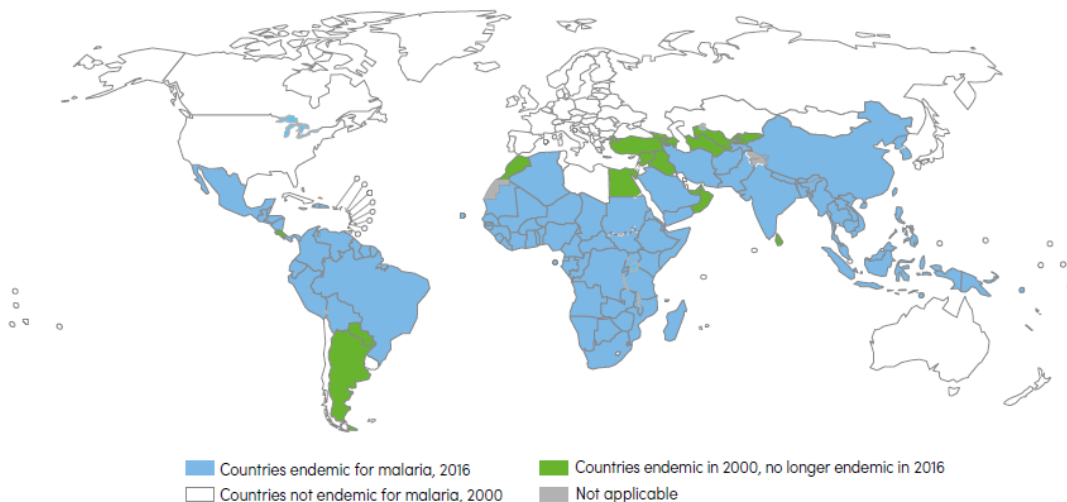


Figura 1.4. Países afectados por malaria en el 2016.²⁶

De acuerdo con los datos publicados por la OMS en el informe mundial sobre la malaria de 2016, a nivel mundial se estima que actualmente 3.200 millones de personas están en riesgo de infectarse con malaria y desarrollar la enfermedad, y 1.200 millones están en un alto riesgo (una probabilidad de >1 en 1000 de contraer malaria en un año). De acuerdo a las últimas estimaciones, ocurrieron 212 millones (rango de incertidumbre de 148-304 millones) de casos de malaria en el 2015 y la enfermedad ocasionó 429.000

²⁵Hay, I. S.; Guerra, C. A.; Tatem, A. J.; Noor, A. M.; Snow, R. W. *Lancet Infect. Dis.* **2004**, 4, 327-336.

²⁶WHO. *World Malaria Report*. **2016**.

muerres (rango de incertidumbre de 235.000-639.000). La carga es más pesada en la región africana, donde tiene lugar aproximadamente el 92% de todas las muertes por malaria. El número estimado de muertes en niños menores de 5 años fue de 303.000 (rango de incertidumbre de 165.000-450.000), el equivalente al 70% del total mundial. Se estima que el número de muertes ha disminuido un 29% desde 2010, aunque sigue siendo una de las principales causas de mortalidad infantil, acabando con la vida de un niño cada dos minutos. Las estadísticas precisas se desconocen porque muchos casos ocurren en áreas rurales, donde las personas no tienen acceso a hospitales o a recursos para garantizar cuidados de salud. Como consecuencia, la mayoría de los casos permanece indocumentada.

Los nuevos análisis reportados por la OMS²⁶ revelan que nivel mundial, la tasa de incidencia de casos de malaria ha disminuido un 41% entre 2000 y 2015, y un 21% entre 2010 y 2015. De los 91 países y territorios afectados por paludismo, se estima que al menos 40 han alcanzado una reducción en las tasas de incidencia de 40% o más entre 2010 y 2015. A su vez, la tasa de mortalidad ha disminuido un 62% entre 2000 y 2015, y un 29% entre 2010 y 2015. En niños menores de 5 años, el índice de mortalidad ha bajado un 69% entre 2000 y 2015, y un 35% entre 2010 y 2015.

Entre 2000 y 2015, se estima que a nivel mundial se evitaron un total acumulado de 6,8 millones de casos de muertes por malaria, en el supuesto de que las cifras de incidencia y mortalidad no se hubieran visto alteradas desde el 2000. La mayoría de las muertes (94%) fueron evitadas en la región de África de la OMS. Del total, alrededor de 6,6 millones (97%) fueron entre niños menores de 5 años.

Estos enormes logros son el resultado de herramientas mejoradas, un mayor compromiso político, el surgimiento de iniciativas regionales y un aumento importante en el financiamiento internacional y nacional. Pese al gran esfuerzo, alrededor de 278 millones de personas en África todavía viven en hogares sin mosquiteros tratados con insecticida, y alrededor de 15 millones de mujeres embarazadas permanecen sin acceso al tratamiento preventivo para la malaria.

Actualmente, la malaria sigue siendo responsable de la muerte de más de 300.000 niños en África cada año. La cura y prevención de dicha enfermedad depende

principalmente de la administración de un pequeño número de fármacos cuya eficacia se ve continuamente amenazada debido a la creciente resistencia que desarrollan los parásitos a dichos compuestos,^{27,28} fenómeno que se ha atribuido a la aparición de polimorfismos genéticos en el parásito.^{29,30} Además, existen otros factores que complican la situación y favorecen la aparición de dichas resistencias, tales como el uso incorrecto de las dosificaciones de los medicamentos, la no observación de las especificaciones de uso de los mismos, el estado inadecuado de salud y nutrición de los afectados, etc. Por esta razón, surge la necesidad y el compromiso de la comunidad científica de desarrollar nuevos, efectivos y asequibles compuestos que tengan potencial antimalárico.

²⁷Muller, I. B.; Hyde, J. *Future Microbiol.* **2010**, *5*, 1875-1873.

²⁸Tun, K. M.; Imwong, M.; Lwin, K. M.; Win, A. A.; Hlaing, T. M.; Hlaing, T.; Lin, K.; Kyaw, M. P.; Plewes, K.; Abul Faiz, M.; et al. *Lancet Infectious Diseases*, **2015**.

²⁹a) Kerb, R.; Fux, R.; Mörike, K.; Kremsner, P. G.; Gil, J. P.; Gleiter, C. H.; Schwab, M. *Lancet Infect. Dis.* **2009**; *9*, 760-774. b) Koenderink, J. B.; Kavishe, R. A.; Rijpma, S. R.; Russel, F. G. M. *Trends Parasitol.* **2010**, *26*, 440-446. c) López, C.; Saravia, C.; Gómez, A.; Hoebeke, J.; Patarroyo, M.A. *Gene* **2010**, *467*, 1-12.

³⁰a) Miotto, O.; Amato, R.; Ashley, E. A.; MacInnis, B.; Almagro-Garcia, J.; Amaratunga, C.; Lim, P.; Mead, D.; Oyola, S. O.; Dhorda, M. et al. *Nature Genetics.* **2015**, *47(3)*, 226-234. b) Murai, K.; Culleton, R.; Hisaoka, T.; Endo, H.; Mita, T. *Parasitology International.* **2014**.

2. ANTECEDENTES

2. ANTECEDENTES

2.1 FÁRMACOS ANTIMALÁRICOS

La **quinina** fue el principal fármaco para el tratamiento de los casos graves de malaria durante casi 400 años. Este alcaloide se extrae de la corteza del árbol *Cinchona officinalis*, tomando su nombre de la palabra *inca* (quina-quina, corteza de cortezas). Se trata de una especie originaria de Sudamérica cuyas propiedades curativas eran conocidas por los nativos americanos que empleaban su corteza para tratar fiebres. En 1640, los Jesuitas introdujeron esta práctica en Europa, donde fue aceptada con rapidez.³¹ En 1820, los químicos franceses Pierre Joseph Pelletier y Jean Bienaime Caventou extrajeron por primera vez el principio activo,³² la quinina, cuyo uso a gran escala como profiláctico se estableció en el año 1850. A pesar de su largo historial, la quinina tiene serias limitaciones. La **quinidina**, un estereoisómero de la quinina, es el único fármaco aprobado por la *United States Food and Drug Administration* (USFDA) para el tratamiento de malaria grave. Sin embargo, aunque disponible comercialmente y efectivo frente a la malaria, está muy lejos de ser un fármaco ideal. La quinidina es más cardiotóxica que la quinina y debería ser administrada únicamente en una unidad de cuidados intensivos, dado que los efectos cardiovasculares de este fármaco son potencialmente graves y pueden aparecer más frecuentemente cuando se administra el tratamiento de forma rápida.³³ La estructura de la quinina incluye un anillo de quinolina, al igual que sus derivados sintéticos más importantes: cloroquina (CQ), amodiaquina (ADQ), primaquina, piperaquina (PIP) y mefloquina (MQ).

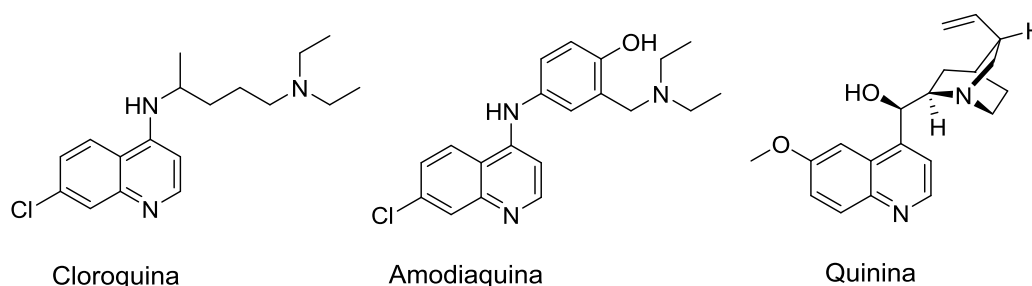


Figura 1.5. Estructuras de la Quinina y derivados

³¹Kaufman, T.; Rúveda, E. *Angew Chem Int Ed.* **2005**, *44*(6), 854-85.

³²Kyle, R.; Shampe, M. *JAMA.* **1974**, *229* (4), 462.

³³Qigui, L.; Weina, P. *Pharmaceuticals* **2010**, *3*, 2322-2332.

Otros dos antimaláricos importantes, que están menos claramente relacionados con la quinina, son la halofantrina (HF) y la lumefantrina (LMF, benflumetrol), que se basan en los sistemas de fenantreno y fluoreno, respectivamente (Tabla 1.3). La cloroquina ha sido uno de los antimaláricos sintéticos más efectivos hasta el momento. Este antimalárico sigue siendo el tratamiento de elección para todas las infecciones con *P. malariae* and *P. ovale* y algunas con *P. vivax*. A pesar de la eficacia inicial de la cloroquina, la emergencia de parásitos *Plasmodium* con resistencia a ésta, provocó en los años 90 un aumento de la incidencia de malaria en el mundo.³⁴

La resistencia a determinados fármacos se complica con la resistencia cruzada que puede ocurrir entre antimaláricos que pertenezcan a la misma familia o que tengan semejantes modos de acción, lo que provoca continuos cambios en la epidemiología global y en las implicaciones en el control de la misma. A continuación, se muestra una tabla que refleja los principales antimaláricos disponibles así como la familia química a la que pertenecen.

Tabla 1.3. Principales antimaláricos disponibles.²³

Familia química	Fármacos
4-Aminoquinolinas	Cloroquina, amodiaquina, piperaquina
Aminoalcoholes	Quinina, quinidina, mefloquina, halofantrina, lumefantrina
Sulfonamidas / Sulfonas	Sulfadoxina, sulfaleno, dapsona
Biguanidas	Proguanil, clorproguanil
Diaminopirimidina	Pirimetamina
8-Aminoquinolina	Primaquina
Lactonas sesquiterpénicas	Artemisinina, arteéter, arteméter, artesunato, dihidroartemisina
Naftoquinona	Atovacuona
Antibióticos	Azitromicina, clindamicina, aoxiciclina, tetraciclina

³⁴a) Krogstad, D.J et al. *Science*. **1987**, 238, 1283–1285. b) Martin, S. K.; Oduola, A. M.; Milhous, W. K. *Science*. **1987**, 235, 899-901. c) Foley, M.; Tilley L. *Int. J. Parasitol.* **1997**, 27, 231-240.

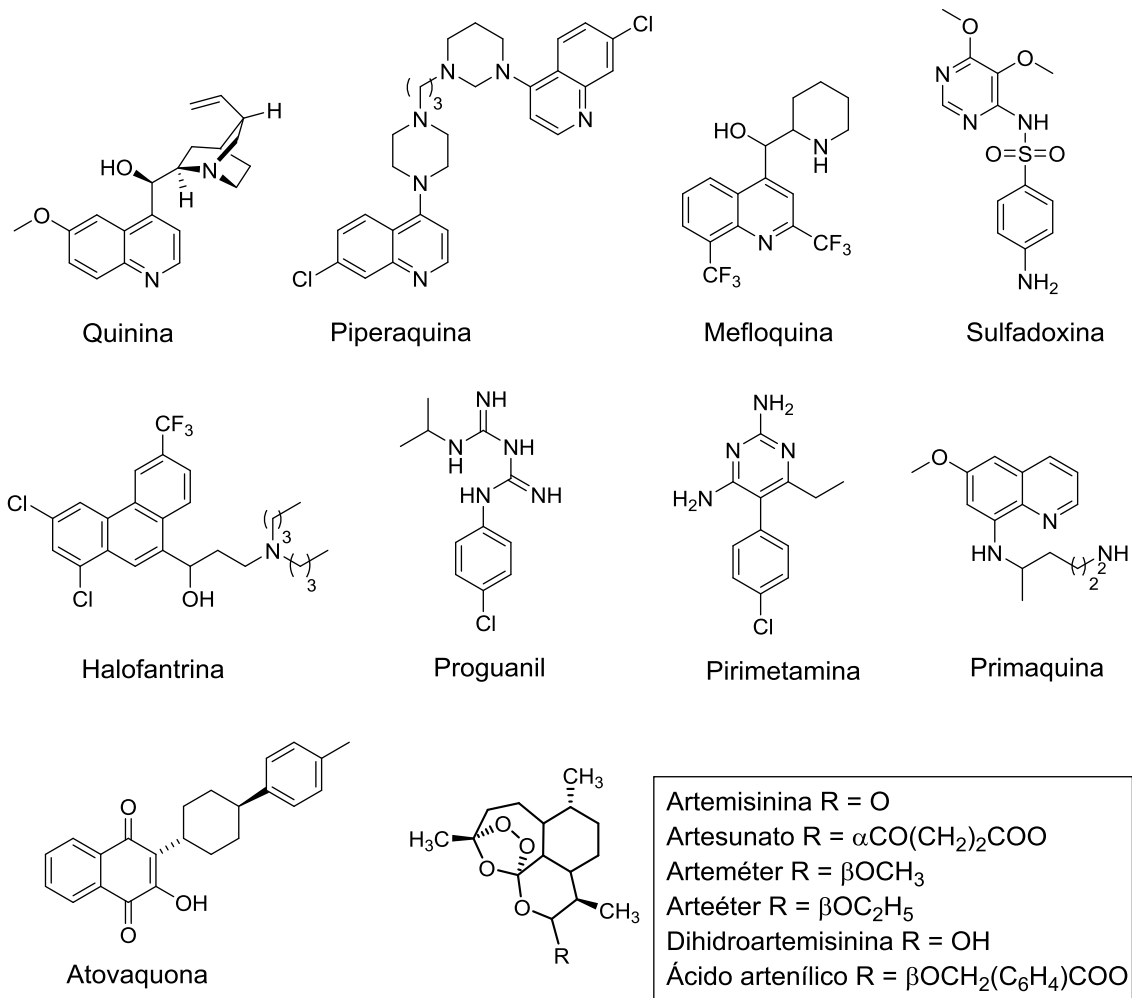


Figura 1.6. Estructuras de algunos medicamentos antimaláricos.³⁵

En la actualidad, los compuestos relacionados con la quinina están siendo sustituidos en el tratamiento de casos graves de malaria por la artemisinina, un sesquiterpeno natural aislado de la planta *Artemisia annua*.³⁶ Los derivados de artemisinina, que también han mostrado ser activos, eliminan los parásitos de forma muy rápida y han reducido el índice de mortalidad asociada en los casos graves de malaria en comparación con el tratamiento parental con quinina. La artemisinina, a pesar de ser muy efectiva, presenta algunos inconvenientes tales como su elevado coste y su baja solubilidad en agua.

³⁵Kaur, K.; Jain, M.; Reddy, R. P.; Jain, R. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3245-3264.

³⁶Porter-Kelly, J. M.; Cofie, J.; Jean, S.; Brooks, M. E.; Lassiter, M.; Mayer, D.C.G. *Infection and drug resistance*, **2010**, *3*, 87-94.

Con el objetivo de mejorar sus propiedades ADMET (administración, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad), se prepararon derivados semisintéticos de artemisinina entre los cuales se encuentran la dihidroartemisinina (DHA), artesunato (AS), arteméter (AM), y arteéter (Figura 1.6). Estos derivados actúan como profármacos y se metabolizan para dar dihidroartemisinina en el cuerpo. Este último es el metabolito con mayor actividad antiesquizonticida conocida.

El artesunato (AS) presenta varias ventajas frente a la artemisinina, dado que, a diferencia de ésta, permite la preparación sencilla de soluciones orales, rectales, intramusculares e intravenosas originando así una mayor biodisponibilidad. Esta ventaja farmacodinámica puede suponer una ventaja clínica en el tratamiento de casos graves de malaria. El artesunato es muy efectivo frente a la malaria multiresistente a otros fármacos y se utiliza con frecuencia en el tratamiento de casos graves de malaria en Vietnam, Tailandia, China, Myanmar y África.

2.2 APARICIÓN DE RESISTENCIA FRENTE A LOS ANTIMALÁRICOS COMERCIALES

La resistencia de *Plasmodium* frente a los antimaláricos comerciales constituye uno de los mayores obstáculos en la lucha frente a malaria.³⁷ La artemisinina y sus derivados, como se ha comentado anteriormente, son activos frente a parásitos multiresistentes a otros fármacos y presentan una muy baja toxicidad en humanos. Matan a los parásitos que circulan en etapa de anillo, así como los que están en etapas más maduras. Gracias a sus propiedades y a su amplio modo de acción, una única dosis del fármaco o sus derivados basta para matar a un elevado número de parásitos en todas las etapas del ciclo vital de *Plasmodium*, incluyendo los gametocitos. Sin embargo, la artemisinina exhibe el inconveniente de que, si bien mata una muy elevada proporción de parásitos en un corto espacio de tiempo, su corta vida metabólica en el cuerpo humano provoca que en algunos casos no todos los parásitos sean eliminados, y por lo tanto que la enfermedad quede latente.

³⁷WHO. *Global Report on Antimalarial Drug Efficacy and Drug Resistance: 2000-2010*; WHO Press: Geneva, Switzerland, **2010**.

Debido a la emergencia de parásitos resistentes a la artemisinina,³⁸ estos compuestos se usan ahora en terapias combinadas con otros fármacos antimaláricos. En el año 2001, la OMS lanzó su campaña *Roll Back Malaria Partnership*, haciendo hincapié en el uso de artemisinina en terapias combinadas junto con otros antimaláricos como amodiaquina, mefloquina, sulfadoxina o pirimetamina (Figura 1.6). De hecho, la terapia combinada con artemisinina (TCA) es el tratamiento sugerido para la malaria en todas las zonas endémicas. La TCA suele consistir en un tratamiento con una combinación de un derivado de artemisinina con otros antimaláricos, como la piperquina o la amodiaquina (ver Tabla 1.4). El efecto de los distintos tratamientos combinados sobre la transmisión de malaria puede variar, pero el efecto es sinérgico.

Tabla 1.4. Combinaciones de fármacos antimaláricos.

Combinaciones antimaláricas	Restricciones
Artemeter-lumefantrina	
Artesunato con amodiaquina	En áreas donde la velocidad de cura con la monoterapia de amodiaquina es mayor del 80%.
Artesunato con mefloquina	Datos de seguridad insuficientes para recomendar su uso en África.
Artesunato con sulfadoxina-pirimetamina	En áreas donde la velocidad de cura con sulfadoxina/pirimetamina es mayor del 80%.

Actualmente se ha empezado a observar resistencia a la artemisinina en *P. falciparum* en cinco de los países de la subregión del Gran Mekong: Camboya, Myanmar, República Democrática Popular Lao, Tailandia y Vietnam.^{39,40,41,42,43,44} Si la resistencia se expande de Asia a África gran parte del progreso realizado en la reducción de la mortalidad por la malaria podría revertirse.

Por lo tanto, la aparición de resistencia de *P. falciparum* a la artemisinina constituye una preocupación prioritaria en materia de salud pública dado que pone en

³⁸WHO. *Status report on artemisinin resistance*: September 2014. Geneva: World Health Organization, 2014.

³⁹Noedl, H.; Se, Y.; Schaecher, K.; Smith, B.L.; Socheat, D.; Fukuda, M. M. *N. Engl. J. Med.* **2008**, *359*, 2619-20.

⁴⁰Dondorp, A.M.; Nosten, F.; Yi, P. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *361*, 455-67.

⁴¹Ariey, F.; Witkowski, B.; Amaratunga, C. *Nature* **2014**, *505*, 50-55.

⁴²Ashley, E.A.; Dhorda, M.; Fairhurst, R.M. *N. Engl. J. Med.* **2014**, *371*, 411-23.

⁴³Phyo, A. P.; Nkhoma, S.; Stepniewska, K. *Lancet* **2012**, *379*, 1960-66.

⁴⁴Thriemer, K.; Hong, N. V.; Rosanas-Urgell, A. *Antimicrob Agents Chemother* **2014**, *58*, 7049-55.

peligro la sostenibilidad del esfuerzo que se está realizando a escala mundial para reducir la carga del paludismo en todas las regiones donde la enfermedad es endémica. En enero de 2011, la OMS dio a conocer el Plan mundial de contención de la resistencia a la artemisinina,⁴⁵ donde se formulaban diversos objetivos y recomendaciones principales: detener la propagación de parásitos resistentes; aumentar el seguimiento y la vigilancia para evaluar la amenaza de la resistencia a la artemisinina; mejorar el acceso a las pruebas de diagnóstico y el tratamiento racional con tratamientos combinados basados en la artemisinina e invertir en la investigación relacionada con la resistencia a la misma.

2.3 TERAPIAS PREVENTIVAS BASADAS EN LA QUIMIOPROFILAXIS

La infección por malaria en el embarazo es uno de los factores que contribuye a la mortalidad neonatal, principalmente debido al bajo peso al nacer, a los nacimientos prematuros y a la anemia materna o a la infección por malaria (placental parasitemia).⁴⁶

En áreas con una transmisión de moderada a alta, la estrategia recomendada actualmente por la OMS⁴⁷ incluye como medida preventiva el tratamiento intermitente preventivo durante el embarazo con sulfadoxina/pirimetamina (IPTp-SP).

En varios países de África, algunos parásitos de *P. falciparum* han mutado desarrollando una resistencia contra la SP, aun así, el IPTp con SP sigue siendo eficaz en áreas donde una gran proporción de parásitos *P. falciparum* llevan estas mutaciones. Administrando dos o tres dosis de IPTp-SP a mujeres embarazadas residentes en áreas endémicas, se reduce el riesgo de bajo peso al nacer en neonatos, incrementando así la probabilidad de supervivencia. Datos ofrecidos por la OMS revelan que el tratamiento con IPTp puede reducir la mortalidad neonatal en más del 60 %.

En áreas híper endémicas, el contacto permanente con el parásito de la malaria hace que muchos individuos acaben adquiriendo una inmunidad natural contra la enfermedad, en la que los individuos están infectados crónicamente y sólo ocasionalmente sufren episodios de malaria. Este estado de inmunidad parcial es

⁴⁵WHO (2011). Global plan for artemisinin resistance containment.

⁴⁶Shetty, P. *Nature* **2012**, *484*, S14.

⁴⁷http://www.who.int/malaria/iptp_sp_updated_policy_recommendation_en_102012.pdf

incompleto pues no impide nuevas infecciones, pero protege frente al desarrollo de manifestaciones clínicas graves.

En el caso de los niños, esta inmunidad es mucho menor y por lo tanto se recomienda la implementación de terapias preventivas para niños menores de 5 años de edad. En el caso de las personas no inmunes que viajan a un país con riesgo de malaria, la prevención de esta enfermedad debe hacerse a través de la quimioprofilaxis (atovacuna/proguanil, mefloquina, doxiciclina, cloroquina).⁴⁸ Estos fármacos no protegen al cien por cien, pero dado que actualmente no existe en el mercado ninguna vacuna contra la malaria, la quimioterapia sigue jugando un papel crucial en la lucha contra la enfermedad.

2.4 VACUNA CONTRA LA MALARIA

Actualmente no hay disponible una vacuna contra la malaria que pueda administrarse de forma rutinaria en los programas de vacunación de los países endémicos. Esto se debe a que los parásitos son organismos mucho más complejos que las bacterias y los virus. En el caso concreto del *Plasmodium*, en cada estadio de su ciclo biológico (esporozoito, trofozoito, esquizonte, merozoito) su envoltura antigénica se modifica confundiendo al sistema inmune. Esto dificulta saber cuáles son los antígenos fundamentales que desencadenan una respuesta inmune eficaz. Otro motivo principal es que la malaria afecta especialmente a los países subdesarrollados, y por tanto, no se destinan suficientes recursos en investigación y desarrollo de vacunas contra esta enfermedad. Esto y los escasos recursos económicos de los países afectados hacen que muchas empresas farmacéuticas consideren poco rentable investigar en vacunas contra la malaria.

Sin embargo, durante las últimas dos décadas, y especialmente en los últimos diez años se han realizado importantes avances científicos en el desarrollo de vacunas eficaces existiendo en la actualidad alrededor de 100 vacunas candidatas en diferentes fases de

⁴⁸Castelli, F.; Odolini, S.; Autino, B.; Foca, E. Russo R. *Pharmaceuticals* **2010**, 3, 3212-3239.

investigación.^{49,50,51} En la Figura 1.7 se muestran las principales vacunas en ensayos clínicos.⁵²

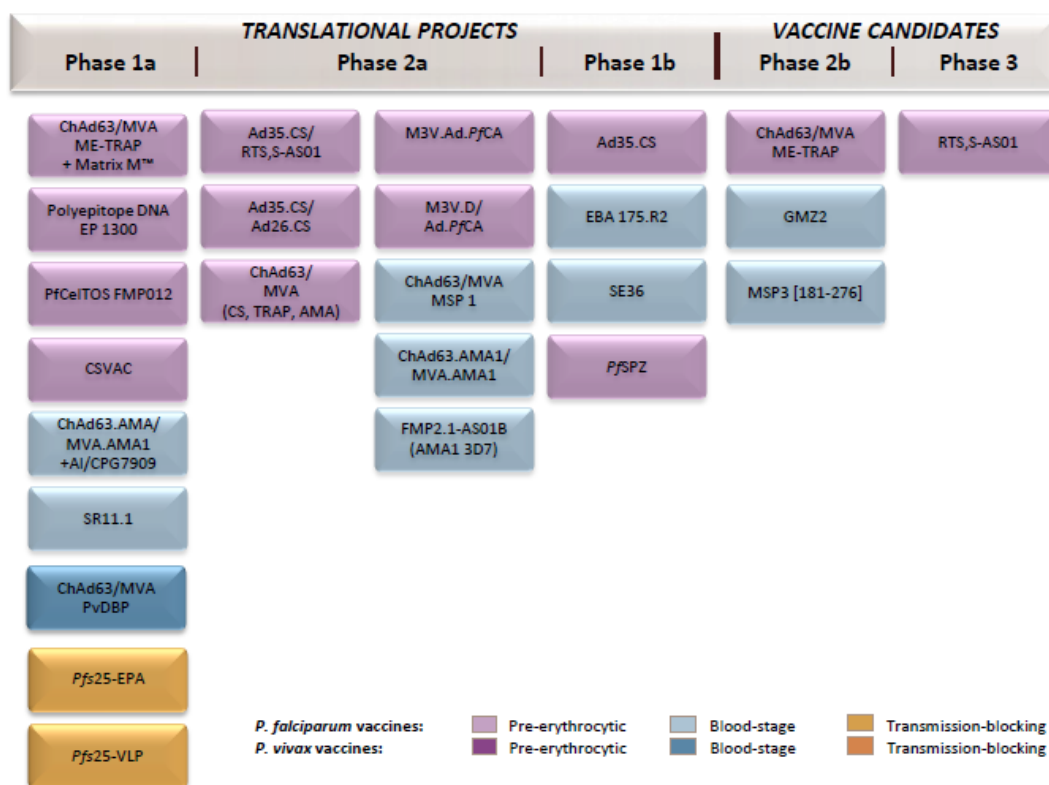


Figura 1.7. Principales vacunas candidatas de malaria en ensayos clínicos

Las vacunas se clasifican en pre-eritrocíticas (VPE), eritrocíticas o de estadio sanguíneo (VE), o bloqueadoras de la transmisión (VBT) según el estadio del ciclo vital parasitario contra el que se desee actuar. Así pues, las VPE están dirigidas contra los esporozoitos y su objetivo es impedir al parásito alcanzar el torrente sanguíneo; las VE están dirigidas contra los antígenos sanguíneos y su función es evitar la invasión de los hematíes por los merozoitos evitando la severidad de los síntomas, mientras las VBT bloquea la transmisión de la infección de individuo a individuo.

La vacuna candidata que se encuentra en un estado de desarrollo más avanzado es la llamada RTS,S/AS02A, desarrollada y financiada conjuntamente por GlaxoSmithKline y la Malaria Vaccine Initiative (MVI). Se trata de una vacuna recombinante basada en la

⁴⁹Graves, P.; Gelband, H. *Cochrane Database Syst Rev* **2003**; 1: CD000129.

⁵⁰Okie, S., N. *Engl. J. Med.* **2005**, 353, 1877–1881.

⁵¹Alonso, P. L; Brown, G.; Arevalo-Herrera, M. *PLoS Med* **2011**, 8(1): e1000406.

⁵²WHO (2012), Malaria Vaccine Rainbow Tables

fusión del antígeno de superficie del circumsporozoito (CS, la mayor proteína de superficie del esporozoito) con el antígeno de superficie de la Hepatitis B (HBsAg), formulada con el potente adyuvante AS02A.⁵³ Actualmente se encuentra en fase III, última fase de evaluación para poder ser comercializada.

La vacuna RTS,S/AS02A, en la que está trabajando el equipo de investigación español de ISGlobal liderado por Pedro Alonso, entre otros centros, podría estar disponible en 2017, tras obtener el registro concedido por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) en Julio del 2015. Los resultados del estudio clínico en fase III fueron publicados en la revista *New England Journal of Medicine*.^{54,55} Cerca de 16.000 niños de siete países del África Subsahariana fueron tratados con la vacuna RTS,S y los resultados confirman que la vacuna tiene una capacidad de protección de cerca del 50% en niños entre 5 y 17 meses y que esta se mantiene durante año y medio. Lamentablemente, en los más pequeños (los que recibieron la inmunización antes de los tres meses) esta eficacia se reduce al 25%. El hecho es que protecciones tan bajas no se consideran para la mayoría de las vacunas infantiles, cuya eficacia normalmente supera el 90%. Pero ante una enfermedad tan complicada y que afecta a los más pobres, podría ser una herramienta útil para combatir la enfermedad ya que además no se usaría aislada, sino junto con otras prácticas, como las mosquiteras con insecticida, los tratamientos y las pruebas rápidas.

Hasta ahora, la mayor parte de las vacunas candidatas contra la malaria intentan evitar que el parásito penetre en las células del hígado o en los glóbulos rojos.

El reciente descubrimiento de una proteína esencial en el proceso infectivo del parásito de la malaria puede ser una de las piezas clave en el diseño de una vacuna eficaz contra esta enfermedad infecciosa. Jonathan Kurtis y su equipo de investigación publicaron en la revista *Science* el descubrimiento de una proteína que actúa contra un

⁵³Alonso, P. L.; Sacarlal, J.; Aponte, J. J.; Leach, A.; Macete, E.; Aide, P.; Sigauque, B.; Milman, J.; Mandomando, I.; Bassat, Q.; Guinovart, C.; Espasa, M.; Corachan, S.; Lievens, M.; Navia, M. M.; Dubois, M-C.; Menendez, C.; Dubovsky, F.; Cohen, J.; Thompson, R.; Ripley, B. W. *The Lancet* **2005**, *366*, 2012-18.

⁵⁴Agnandji, S.T.; Selidji, T.; Lell, B.; Fernandes, J. F.; Aboosolo, B. P.; Methogo, B.; Gaele, N. O; Kabwende, A. L.; Adegnika, A. A; Mordmuller, B.; Issifou, S.; Kremsner, P. G.; Alonso, P. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *367*(24), 2284-2295.

⁵⁵The RTS,S Clinical Trials Partnership, *N. Engl. J. Med.* **2011**, *365*(20), 1863-1875.

antígeno del parásito *Plasmodium falciparum* impidiendo al parásito salir de los glóbulos rojos y seguir multiplicándose en el torrente sanguíneo.⁵⁶ Con dos muestras diferentes de individuos, en Kenia y Tanzania (con 785 y 140 niños respectivamente), Kurtis identificó que los que desarrollaban anticuerpos contra el antígeno PfSEA-1 (presente en la superficie del parásito) tenían menos casos de malaria y también formas de la enfermedad menos graves. De hecho, cuando replicaron sus observaciones con ratones, los animales inoculados con el anticuerpo tuvieron menos casos de malaria y una supervivencia más prolongada, con una reducción de hasta el 80% de la presencia de parásitos en su organismo en apenas una semana. El siguiente paso será iniciar un ensayo en fase I con humanos para comprobar el papel de estos anticuerpos, probablemente combinados con otras vacunas que ataquen otras fases de la malaria en el organismo.

2.5 MEDIDAS PREVENTIVAS Y CONTROL VECTORIAL

La quimiopprofilaxis y la quimioterapia juegan un papel esencial en la lucha contra la malaria, pero existen medidas económicamente asequibles que sinérgicamente permiten la prevención de la enfermedad y el control vectorial.⁵⁷ Una medida preventiva en la que se ha invertido un importante esfuerzo económico en los últimos años es la distribución de mosquiteras impregnadas con insecticida que cubran las camas, con la finalidad de impedir las picaduras nocturnas de los mosquitos vectores de la enfermedad.⁵⁸ En el 2013, en África subsahariana, casi la mitad de la población en riesgo (49%) tuvo acceso a una mosquitera tratada con insecticida (MTI) en su vivienda, comparado con un 3% en el 2004.

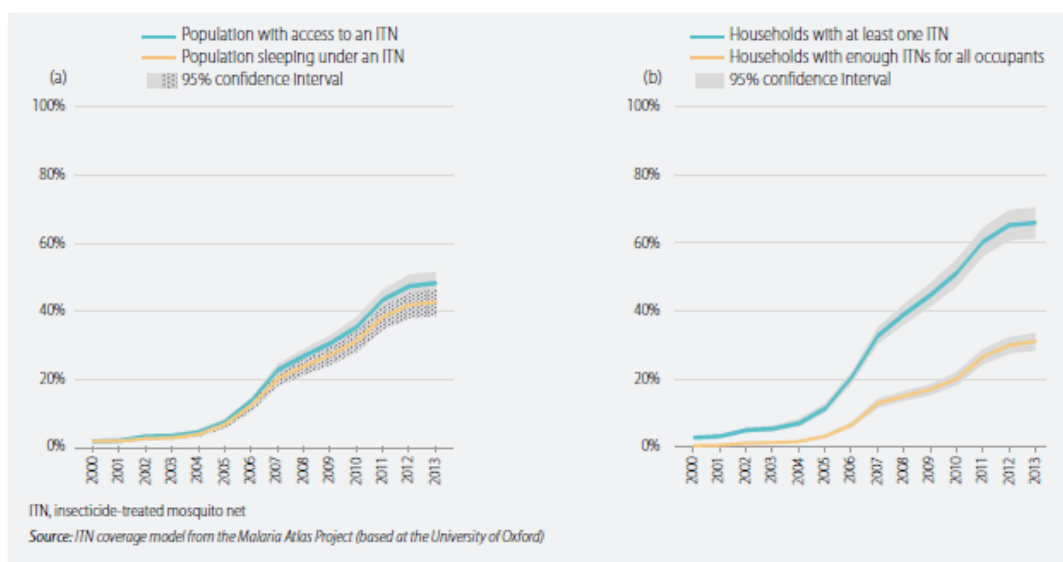
Además, aproximadamente el 44% de la población en riesgo durmió bajo la protección de un MTI en el 2013, mientras que solo un 2% lo hizo en el 2004 (ver gráfica 1.1).²² Con un coste medio inferior a 1.5 euros por año de protección, esta herramienta resulta ser la que tiene mejor relación costo-efectividad en todo el ámbito de la salud pública. Solamente entre el año 2012 y 2014 se han repartido más de 427 millones de MTI

⁵⁶Raj, D. K.; Nixon, C. P.; Nixon, C. E.; Dvorin, J. D.; Di Petrillo, C. G.; Pond-Tor, S.; Wu, H. -W; Jolly, G.; Pischel, L.; Lu, A.; Kurtis J. D. *Science* **2014**, *344* (6186), 871-877.

⁵⁷The malERA Consultative Group on Vector Control (2011) A research agenda for malaria eradication: Vector control. *PLoS Med* 8: e1000401. doi:10.1371/ journal.pmed.1000401.

⁵⁸Enayati, A.; Hemingway J.; *Ann. Rev. Entomol.* **2010**, *55*, 569–591.

en países del África subsahariana. Esta cantidad, que parece mucho, no es suficiente pues la OMS recomienda una mosquitera por cada 1.8 personas y en zonas de máxima pobreza una familia entera se cobija bajo ellas. Actualmente se están entregando mosquiteras con insecticidas de larga duración (MILD), en cualquier caso, las mosquiteras no duran para siempre. Hay que cambiarlas cada dos o tres años.



Gráfica 1.1. a) Proporción de población con acceso a MTI y proporción que duerme bajo una MTI, b) Proporción de hogares con al menos una MTI y proporción con suficientes MTI por persona, África subsahariana, 2000-2013.

Otra medida de prevención que se ha utilizado extensamente es la utilización de insecticidas, como las piretrinas o el DDT. En 1955, la OMS lanzó el Programa Mundial para la Erradicación de la Malaria en el cual se permitió el uso de DDT en infinidad de hogares.⁵⁹ Su uso conllevó la erradicación de la malaria en Europa donde en los años 60 era endémica en Grecia e Italia.

En 1964 la malaria fue oficialmente erradicada en España gracias al uso de insecticidas y al secado de humedales.⁶⁰ Además, la malaria decayó espectacularmente en Taiwán, Sri Lanka, India, el Caribe, los Balcanes y en áreas del Pacífico Sur. Sin embargo, en la región de África subsahariana, donde la infraestructura de salud pública es pobre y

⁵⁹Nájera, J. A.; González-Silva, M.; Alonso, P.L. *PLoS Med* **2011**, *8*(1), 1-7.

⁶⁰Bueno, R.; Jiménez, R. *Rev Esp Salud Pública* **2008**, *82*, 467-479.

la malaria endémica no se consiguieron grandes resultados. A finales de la década de los 70 la OMS decidió dejar de utilizar el DDT contra la malaria y desde 1972 está prohibido su uso agrícola debido a sus posibles riesgos a largo plazo sobre el medio ambiente y la salud humana. Tres décadas después de que el insecticida DDT se dejara de utilizar para combatir la malaria y debido al aumento masivo de casos de paludismo a finales del siglo XX, en 2006, la OMS anunció que el DDT volvía a formar parte del plan contra la lucha de la malaria.

Actualmente, el DDT se emplea bajo condiciones muy controladas, limitándose al interior de las casas y tejados en las zonas donde esta enfermedad es endémica. La aparición de nuevos insecticidas más biodegradables y de menos toxicidad para los humanos hizo que el DDT fuera poco a poco sustituido por otra clase de moléculas con actividad insecticida, como son los piretroides, insecticida usado más frecuentemente en el control de la malaria.

El rociado residual intradomiciliario protegió a nivel mundial en el año 2013 a 123 millones de personas, lo que representa un 3.5% de la población en riesgo. En relación a la región africana se protegió a 55 millones de personas. La resistencia a los insecticidas en los vectores de la malaria es un serio problema en el control de la población de mosquitos que aumenta año tras año.⁶¹ Tanto el DDT como los piretroides⁶² presentan el mismo mecanismo de acción (moduladores de los canales de sodio que generan la diferencia de voltaje entre el interior y el exterior de las células nerviosas permitiendo la conducción de los impulsos nerviosos).

Por lo tanto, muchas de las mutaciones que protegen a un insecto contra el DDT también lo protegen de los piretroides.⁶³

Un estudio internacional en el que ha participado el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) ha demostrado que una mutación puntual en la enzima

⁶¹Ranson, H.; N'Guessan, R.; Lines, J.; Moiroux, N.; Nkuni, Z. Corbel, V. *Trends Parasitol* **2011**, *27*, 91-98.

⁶²Ranson, H.; Abdallah, H.; Badolo, A.; Guelbeogo, W. M.; Kera-Hinzoumbé, C., *Malaria J.* **2009**, *8*, 299.

⁶³Hemingway, J.; Hawkes, N. J.; McCarroll, L.; Ranson, H. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* **2004**, *34*, 653-665.

glutación transferasa (GST) es la responsable de la resistencia del mosquito *Anopheles funestus* al insecticida DDT y a los piretroides. El estudio, que se ha publicado en la revista *Genome Biology*,⁶⁴ muestra por un lado una correlación entre este marcador y las poblaciones de mosquitos que han mostrado resistencia al DDT en África y, por otro, que la mutación produce cambios en el centro activo de la enzima que permiten metabolizar este insecticida. Este hallazgo proporciona una valiosa herramienta para monitorizar la resistencia del *Anopheles funestus* al insecticida en el continente africano y abre las puertas al desarrollo de nuevos compuestos más efectivos.

Debido a las resistencias previamente mencionadas, urge la necesidad de descubrir y desarrollar una amplia gama de insecticidas, con nuevos modos de acción que puedan eludir la aparición de cepas resistentes a los insecticidas actuales.^{65,66}

2.6 NUEVAS TERAPIAS EN DESARROLLO

La comunidad científica se encuentra actualmente desarrollando nuevos métodos que permitan un control vectorial de los mosquitos que causan el paludismo. Científicos del grupo de investigación Salud Tropical de la Universidad de Navarra trabajan actualmente el diseño de un implante de silicona que libera un insecticida que mata a los mosquitos que pican a su portador.

El implante contiene ivermectina,⁶⁷ un medicamento empleado en el trópico para controlar diversas enfermedades parasitarias, como por ejemplo la oncocercosis -más conocida como la ceguera del río-. Un estudio publicado en *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* confirma que el 80% de los mosquitos murieron tres días después de haber picado una persona que había ingerido la ivermectina.⁶⁸ El estudio se

⁶⁴Riveron, J. M.; Yunta, C.; Ibrahim, S. S.; Djouaka, R.; Irving, H.; Menze, B. D.; Ismail, H.M.; Hemingway, J.; Ranson, H., Albert, A.; Wondji, C. S. *Genome Biology*, **2014**, 15:R27.

⁶⁵WHO (2012): Global Plan for Insecticide Resistance Management (GPIRM). Geneva, Switzerland.

⁶⁶Edi, C. V.; Koudou, B. G.; Jones, C. M.; Weetman, D.; Ranson, H. *Emerg. Infect. Dis.* **2012**, *18*, 1508-1511.

⁶⁷Chaccour, C. J.; Kobylinski, K. C.; Bassat, Q.; Bousema, T.; Drakeley, C.; Alonso, P.; Foy B. D. *Malaria Journal* **2013**, *12*, 153.

⁶⁸Kobylinski, K. C.; Alout, H.; Foy, B. D.; Clements, A.; Adisakwattana, P.; Swierczewski, B. E.; Richardson, J. H. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **2014**, *91*, 655-662.

encuentra actualmente en fase preclínica, pero si todo sigue según lo esperado este tratamiento podría ser empleado por niños mayores de 5 años en unos pocos años.

Otra aproximación llevada a cabo para el control vectorial, que actualmente se encuentra bajo estudio, consiste en la manipulación genética de los machos del mosquito *Anopheles gambiae*. En condiciones de laboratorio, se ha conseguido la erradicación de los insectos en seis generaciones. El trabajo publicado en *Nature Communications*,⁶⁹ se basa en la actividad de una enzima “desestabilizada”, según la describen los científicos: la I-Ppo-I. Esta enzima tiene una propiedad: en la fase de la espermogénesis de los machos, altera el equilibrio entre los espermatozoides masculinos (con un cromosoma Y) y los femeninos (con uno X). Lo normal, estadísticamente, es que la producción de gametos de un macho se reparta al 50% entre los dos sexos, ya que estos se forman por división de las células del macho, que tienen un cromosoma de cada tipo. Lo que consigue con esta manipulación genética es que se produzca un ataque selectivo sobre los cromosomas X. El resultado es que a las hembras solo llegan espermatozoides Y, que, al unirse a los óvulos, tendrán como descendencia solo machos. El trabajo está en la línea de otros que ya se han probado, como el de soltar machos estériles en zonas donde hay riesgo de transmisión de enfermedades. Brasil, por ejemplo, soltó millones de ejemplares de *Aedes aegypti*, con el fin de acabar con la transmisión del dengue.⁷⁰

El ensayo, sin embargo, aún tiene que demostrar su eficacia en un entorno libre, ya que estos mosquitos transgénicos tendrán que competir con los machos normales para fecundar a las hembras. El problema es que los mosquitos no son sólo transmisores de enfermedades. También son un eslabón clave en la cadena alimentaria de numerosos animales (aves, peces, reptiles), que podrían verse afectados si estos desaparecieran totalmente.

Un novedoso descubrimiento que podría suponer otra alternativa para el control de la enfermedad, es el hallazgo de una cepa de la bacteria *Wolbachia* que puede infectar a los mosquitos y hacerlos resistentes a los parásitos de la malaria. El estudio, publicado

⁶⁹Galizi, R.; Doyle, L. A.; Menichelli, M.; Bernardini, F.; Deredec, A.; Burt, A.; Stoddard, B. L.; Windbichler, N.; Crisanti A. *Nature Communications* **2014**, *5*, 3977.

⁷⁰Carvalho, D. O.; Nimmo, D.; Naish, N.; McKemey, A. R.; Gray, P.; Wilke, A. B. B.; Marrelli, M. T.; Virginio, J. F.; Alpey, L.; Capurro, M. L. *Journal of Visualized Experiments* **2014**, *83*, 1-10.

en la revista *Science*, muestra cómo al parásito le cuesta sobrevivir en los insectos infectados con la bacteria, con niveles de parásito cuatro veces menor que la de los insectos no infectados.⁷¹ Los mosquitos *Anopheles* portadores de malaria no se ven naturalmente afectados por la *Wolbachia*, la cual si afecta de manera natural a otros tipos insectos, pero estudios de laboratorio demostraron que la infección temporal de estos mosquitos puede hacerlos inmunes al parásito de la malaria. El reto para los investigadores era convertir una infección temporal en una permanente y que pasara a otros mosquitos. El equipo de investigación descubrió que esta cepa de *Wolbachia* podía persistir en una especie de mosquito, el *Anopheles stephensi*, durante 34 generaciones. Esta especie es la causante de la malaria en Medio Oriente y el sur de Asia. Sin embargo, todavía no se ha estudiado si para el *Anopheles gambiae*, portador de la malaria en África, los efectos serían los mismos. De ser así, esta herramienta podría servir de complemento de las técnicas disponibles actualmente, como las mosquiteras y la quimioprofilaxis.

De todo el complejo ciclo del plasmodio, la proteína AP2-G actúa en una fase muy especial: la que permite que el organismo pase de la fase asexuada que prolifera en los humanos a la fase sexuada, los gametocitos, que es la que sobrevive si es absorbida por los mosquitos *Anopheles*.

El descubrimiento de esta proteína es un hallazgo clave para romper la cadena infecciosa, lo cual permitiría controlar o erradicar la malaria. En un trabajo publicado en la prestigiosa revista *Nature*⁷² se propone que si se consigue bloquear esta proteína el parásito quedaría en el afectado, pero sin generar formas viables para seguirse propagando.

Otra alternativa útil sería una aplicación contraria, es decir, activarla tanto que todos los parásitos del individuo se conviertan en formas sexuales. Estas solo sobreviven un corto periodo de tiempo en las personas, y necesitan pasar a un mosquito para

⁷¹Bian G.; Joshi D.; Dong Y.; Lu P.; Zhou G.; Pan X.; Xu Y.; Dimopoulos G.; Xi Z. *Science* **2013**, *340*, 748-751.

⁷²Sinha, A.; Hughes, K. R.; Modrzynska, K. K.; Otto, T. D.; Pfander, C.; Dickens, N. J.; Religa, A. A.; Bushell, E.; Graham, A. L.; Cameron, R.; Kafsack, B. F. C.; Williams, A. E.; Llinás, M.; Berriman, M.; Billker, O.; Waters A. P. *Nature*, **2014**, *507*, 253-261.

sobrevivir. Si se consiguiera este proceso, el afectado quedaría limpio de plasmodio, y si a la vez se logra que no pase a un mosquito, el organismo se extinguiría.

Otra posibilidad que barajan es actuar sobre la proteína para que todos los gametocitos generados sean machos o hembras, con lo que también se rompería el ciclo.

2.7 NECESIDAD DE NUEVOS FÁRMACOS

El descubrimiento de fármacos contra la malaria constituye un desafío mayor que en el caso de otras enfermedades.⁷³ Debido a lo comentado anteriormente, resulta primordial el desarrollo y descubrimiento de nuevos fármacos contra la malaria, los cuales, además de poseer las propiedades farmacológicas estándar para convertirse en un tratamiento antimalárico generalizado, han de tener seguridad en niños, efectividad durante los 3-5 días de tratamiento, con preferencia de una administración diaria: desarrollado en forma de pastilla o jarabe (el fármaco debe tener una buena absorción intestinal) y debe ser asequible económicamente (idealmente debería costar menos de 1\$ por tratamiento).

El desarrollo de nuevos antimaláricos se basa principalmente en dos aproximaciones: un fármaco puede descubrirse como un componente de un producto natural (p. ej. artemisina y quinina) o como una molécula sintética que podría ser completamente nueva o una modificación estructural de una ya existente (el modo por el cual la mayoría de los antimaláricos han sido descubiertos). En ambos casos, el compuesto obtenido debe ser eficaz y debe presentar unas propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas aceptables. Se estima que el 95-99% de los compuestos candidatos a fármaco se descartan durante el proceso de desarrollo debido a problemas relacionados con al menos una de estas dos áreas. Por este motivo no se ha logrado introducir ningún nuevo fármaco en el mercado desde hace varios años.

Una posible vía para desarrollar nuevos antimaláricos es encontrar nuevos usos en fármacos ya conocidos. Algunos agentes anticancerosos como metotrexato y trimetrexato son activos frente a la malaria. Sin embargo, éstos son considerados generalmente como

⁷³Nzila, A.; Chilengi, R.; *Trends in Pharmacological Sciences*, **2010**, *31*, 277-283.

compuestos tóxicos y eso suele convertirlos en no aceptables para el tratamiento de esta enfermedad.⁷⁴

La búsqueda tradicional de una diana esencial para tratar la enfermedad y posteriormente buscar moléculas potentes contra la enzima y activas en célula entera o bien modificaciones de los fármacos actuales para evitar las resistencias, son procesos demasiado largos. Es por ello que la estrategia basada en encontrar dianas antes de comenzar programas químico-médicos, ha sido reemplazada por estudios fenotípicos para identificar nuevas moléculas activas en célula entera.

2.8 CANDIDATOS ANTIMALÁRICOS EN ENSAYOS CLÍNICOS

En la Tabla 1.5 se representan algunos de los fármacos antimaláricos que se encuentran en fase clínica en la actualidad (las estructuras se dan en la Figura 1.8). Estos fármacos, están formados por combinaciones de sustancias conocidas: Eurartesim (piperquina/dihidroartemisinina); Pyramax (pironaridina/artesunato); mefloquina/artesunato y cloroquina/azitromicina.

Muchos de los otros compuestos en fase clínica están compuestos por 4-aminoquinolinas y peróxidos sintéticos. Solamente SAR97267 (formalmente conocido como T3) y la fosmidomicina actúan contra dianas que hasta el momento no han sido estudiadas para combatir la malaria. Para lograr la erradicación de la malaria, es obligatorio el desarrollo de nuevos fármacos cuyo modo de acción sea distinto a los que ya se conocen.

⁷⁴Nzila, A., Okombo, J., Perez-Becker, R., Chilengi, R., Lang, T., Niehues, T., *Trends in Parasitology* **2010**, 26, 125-129.

Tabla 1.5. Antimaláricos que se encuentran actualmente en evaluación clínica.

Fármaco	Clase	Diana	Comentarios
Piperaquina	4-aminoquinolina	Formación hemozoina	Sustancia antigua/resistencia en Asia
Pironaridina	4-aminoquinolina	Formación hemozoina	Sustancia antigua/resistencia en Asia
Azul de metileno	4-aminoquinolina	Formación hemozoina	Sustancia antigua
AQ-13	4-aminoquinolina	Formación hemozoina	¿Resistencia cruzada a cloroquina?
Tert-Butil isoquina	4-aminoquinolina	Formación hemozoina	
Ferroquina	4-aminoquinolina	Formación hemozoina	
Arterolano (OZ277)	Peróxido sintético	Desconocida	Baja biodisponibilidad en pacientes con malaria.
OZ439	Peróxido sintético	Desconocida	
CDRI97/78	Peróxido sintético	Desconocida	
Fosmidomicina		Desoxirilulosa reductoisomerasa	Nuevo modo de acción
SAR97267	Compuesto bicatiónico	Absorción y metabolismo de la colina	Nuevo modo de acción y baja biodisponibilidad oral.
GSK 932121	4-piridona	Complejo citocromo bc ₁	
Azitromicina	Antibiótico macrólico	Ribosoma	
Tafenoquina	8-aminoquinolina	Desconocido	¿Hemólisis en G6PD en pacientes deficientes?

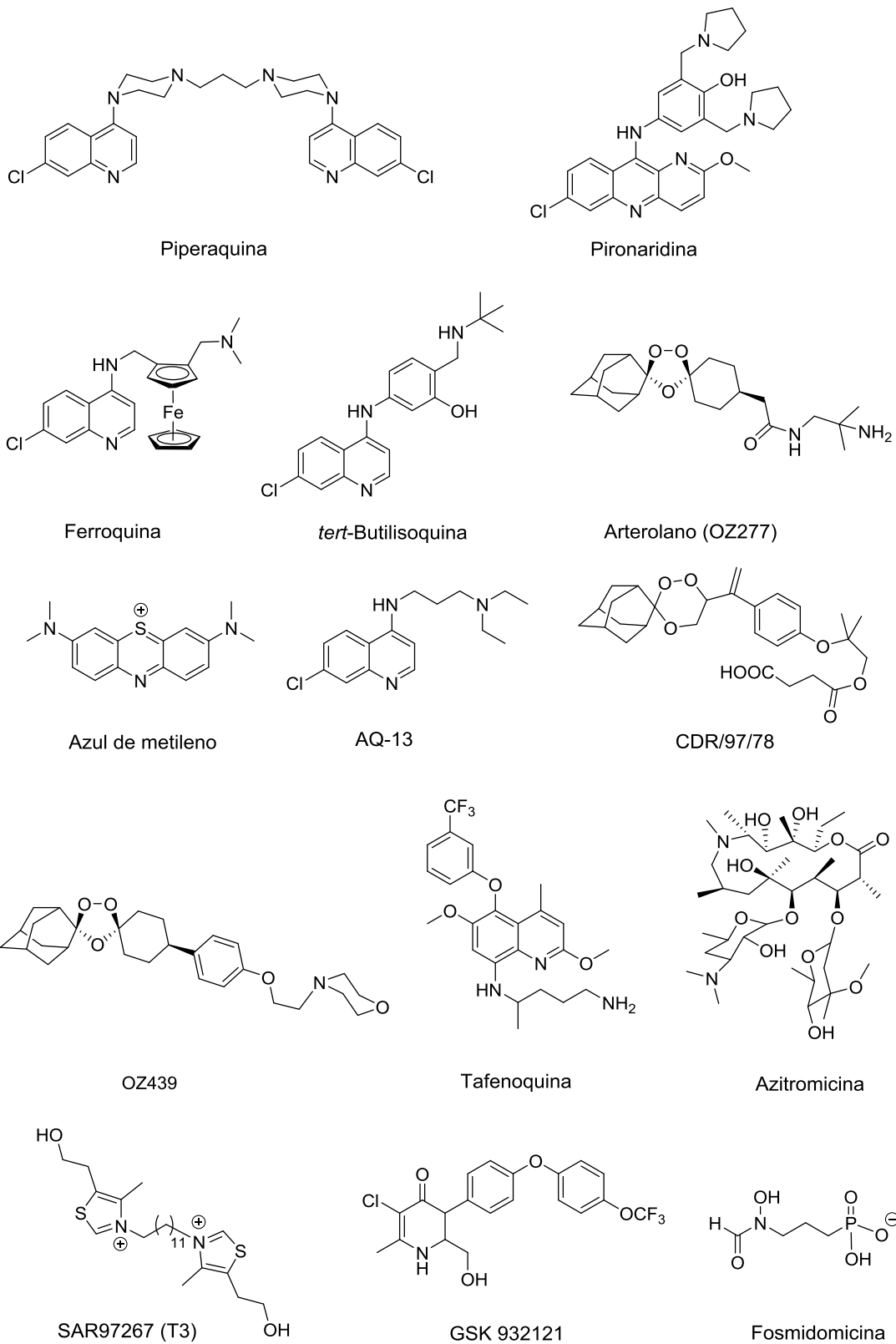


Figura 1.8. Medicamentos antimaláricos en diversas fases de evaluación clínica.

2.9 DESARROLLO DE NUEVOS ANTIMALÁRICOS⁷⁵

Aunque finalmente la OMS aprobara la producción y comercialización de una vacuna contra la malaria, tal y como se ha explicado en el apartado 2.4, esta vacuna no sería eficaz al 100% y solamente se aplicaría a un grupo concreto de individuos (niños menores de 5 años), por lo que la quimioprofilaxis y la quimioterapia seguirán siendo esenciales en la lucha contra la malaria.⁷⁶ Debido a la resistencia emergente que presentan los parásitos a los fármacos actuales, la comunidad científica se muestra cada vez más concienciada de la necesidad de desarrollar nuevos antimaláricos que permitan combatir la enfermedad.

En una primera aproximación, se pensaba que conociendo la secuencia del genoma del *P. falciparum*, se podrían descubrir nuevas dianas terapéuticas para el diseño de fármacos antimaláricos. Basándose en este hecho, se han descrito en los últimos años un gran número de dianas biológicas que actúan potencialmente en *P. falciparum* y para las cuales se describen inhibidores. Sin embargo, esta vía, basada en la genómica inversa, todavía no ha proporcionado ningún candidato a fármaco. Aunque muchos ensayos de inhibición dan resultados positivos *in vitro*, la mayoría de los compuestos no poseen una actividad significativa en células o bien no cumplen con las propiedades farmacológicas.

Otra aproximación en la búsqueda de nuevos antimaláricos consiste en hacer un cribado de extensas quimiotecas de compuestos haciendo ensayos sobre parásitos de la malaria cultivados. En una publicación de la revista *Nature*⁸ se muestra un *screening* de más de 2.000.000 de compuestos pertenecientes a la empresa farmacéutica *GlaxoSmithKline* (GSK). En un primer cribado, se identificaron 13.553 compuestos que inhibían el crecimiento de *P. falciparum* (cepa 3D7, sensible a la cloroquina) en más del 80% a una concentración del compuesto de 2 mM.

Más de 8000 compuestos también mostraron actividad frente a la cepa Dd2 (resistente a múltiples fármacos), y de ellos, menos de 2000 muestran citotoxicidad

⁷⁵Schlitzer, M.; Ortmann, R.; *Chem. Med. Chem.* **2010**, *5*, 1837-1847.

⁷⁶a) Chatterjee, A.; Yeung, B. K. S. *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, *12*, 473. b) Dechy-Cabaret, O.; Benoit-Vical, F. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 10328. c) Gravitz, L. *Nature* **2012**, *484*, S26. d) Biamonte, M. A.; Wanner, J.; Le Roch, K. G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2829.

apreciable cuando se ensayan a 10 mM frente a células humanas (HepG2). Para confirmar que el método es fiable, se probaron compuestos antimaláricos bioactivos ya conocidos siendo todos reidentificados, demostrándose así que el método discrimina cualquier molécula activa mediante un mecanismo de acción conocido. En un segundo artículo,⁷⁷ se partió de una quimioteca de 304.474 compuestos de gran diversidad estructural realizándose un *screening* en cepas 3D7 de *P. falciparum*. El primer *screening* identificó aproximadamente 1300 *hits* con actividad biológica superior al 80%. Estos 1300 compuestos se volvieron a analizar contra cepas 3D7 sensibles a la cloroquina y contra cepas K1 resistentes a la cloroquina, siendo validados en este caso 1134 *hits*.

Un análisis de la estructura química para la validación de estos *hits* por topología y *clustering* mostraron prometedoras relaciones estructura-actividad. Dentro de estos 1134 *hits* había estructuras previamente relacionadas con compuestos antimaláricos conocidos, pero la mayoría eran nuevas. Un total de 561 *hits* dieron valores de $EC_{50} \leq 2$ μ M para 3D7 y K1. Para validar estos *hits* se seleccionaron 172 para posteriores investigaciones. Si comparamos estos *hits* con los obtenidos en la aproximación basada en la estructura de la diana, vemos que estos presentan la ventaja de ser activos en células completas y cumplen las propiedades farmacológicas.

GSK ha publicado los resultados obtenidos en el *screening* en una base de datos de acceso público,⁷⁸ ofreciendo la oportunidad a instituciones académicas de unirse en el desarrollo *hit to lead* de estos compuestos.

Para el desarrollo de la presente tesis doctoral nuestro grupo de investigación ha establecido un convenio de colaboración con la empresa multinacional farmacéutica GlaxoSmithKline (GSK), líder en el sector del desarrollo, descubrimiento y comercialización de fármacos destinados a curar enfermedades como la malaria, presentes principalmente en países subdesarrollados.

⁷⁷Guiguemde, W. A.; Shelat, A. A.; Bouck, D.; Duffy, S.; Crowther, G. J.; Davies, P. H.; Smithson, D. C.; Connelly, M.; Clark, J.; Zhu, F.; Jiménez-Díaz, M. B.; Martínez, M. S.; Wilson E. B.; Tripathi, A. K.; Gut J.; Sharlow, E. R.; Bathurst, I.; Mazouni, F.; Fowble, J. W.; Rorquer, I., *Nature* **2010**, *465*, 311–315.

⁷⁸<http://www.ebi.ac.uk/chemblntd>.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

El **objetivo** principal del presente capítulo de la tesis se basa en la obtención de una extensa quimioteca de compuestos de diversa índole que presenten potencial actividad como antimaláricos.

Para el desarrollo *hit to lead* de estos compuestos se ha establecido un convenio de colaboración con la empresa farmacéutica GSK, la cual llevará a cabo la evaluación biológica de todos los compuestos sintetizados.

Los objetivos específicos a perseguir en este capítulo son los siguientes:

1. Elección de compuestos *hits*:

A través de la base de datos donde GSK ha publicado los resultados obtenidos en los *screenings* de compuestos que inhiben el crecimiento de *P. falciparum*,⁷⁷ se realizará un segundo cribado mucho más reducido eligiendo una serie de compuestos *hits* en base a sus propiedades farmacológicas y a su facilidad de síntesis.

Para la selección de estos *hits* se tendrá en cuenta los siguientes parámetros:

- **XC₅₀ (concentración μM):** Este ensayo sirve para estimar la potencia de los compuestos ensayados en la inhibición del crecimiento del parásito. Cuanto mayor es la inhibición de crecimiento, menor es la concentración de lactato deshidrogenasa de *P. falciparum*. Se toma como referencia valores menores que 0.3 μM .
- **Citotoxicidad sobre células humanas HepG2:** El valor debe ser lo más bajo posible para que la ventana terapéutica sea amplia. Se selecciona como referencia una inhibición menor que el 10% a la concentración ensayada, 10 μM .

- **Porcentaje de inhibición de la cepa 3D7 (sensible a cloroquina) y de la cepa Dd2 (resistente a cloroquina) (2 μM):** Este ensayo determina los niveles de lactato deshidrogenasa de *P. falciparum* como indicador de la inhibición del crecimiento del parásito. El valor debe ser elevado y se toma como referencia un mínimo del 90%.
- **Índice de frecuencia de inhibición (IFP):** este índice nos da una idea de las veces que una molécula ha resultado ser un *hit* en ensayos distintos de actividad llevados a cabo por GSK. Este valor debe ser bajo, ya que un compuesto con un valor elevado es muy probable que sea poco selectivo en su modo de acción. Se selecciona un valor máximo del 10% como referencia.

Además de cumplir todos estos parámetros los *hits* seleccionados deben permitir la introducción de diversidad estructural de manera sencilla, poseer buenas propiedades *druglike*, cumplir las reglas de Lipinski⁷⁹ y tener una estructura que prediga una cierta estabilidad metabólica.

2. Diseño y síntesis de familias de compuestos con actividad antimalárica y evaluación de su capacidad farmacológica.

Una vez seleccionados los *hits* se procederá al diseño de rutas sintéticas que nos conduzcan a la obtención de las diferentes familias de compuestos de la manera más rápida y sencilla posible. Una vez sintetizados todos los compuestos, se someterán a ensayos biológicos para evaluar su capacidad farmacológica.

3. A la vista de los resultados de las evaluaciones biológicas y de los estudios estructurales se procederá a una reevaluación y rediseño de los compuestos obtenidos.

⁷⁹Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. *Adv. Drug Del. Rev.* **1997**, *23*, 3–25.

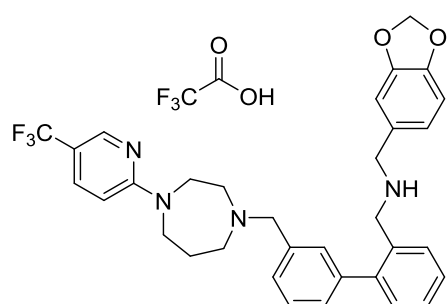
4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA FAMILIA DE LAS PIPERAZINAS

4.1.1 ELECCIÓN DEL HIT

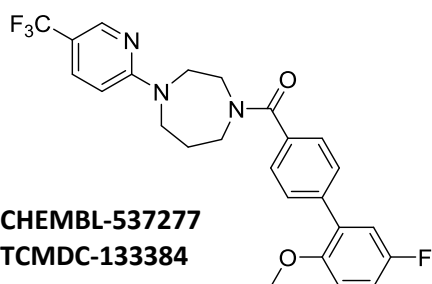
Debido a la presencia de diazepinas y piperazinas en numerosos fármacos que poseen un amplio rango de aplicaciones biológicas, se decidió realizar una búsqueda en la base de datos de GSK manteniendo el núcleo de diazepina invariable y acotando los parámetros reflejados en los objetivos específicos.

Para el desarrollo de la siguiente familia de compuestos, los *hits* propuestos serían los siguientes:



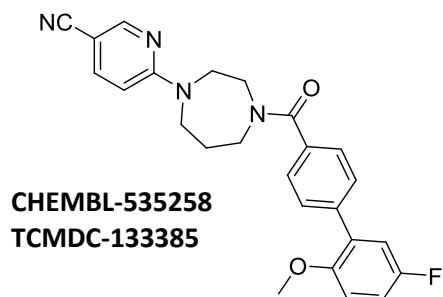
CHEMBL-532599
TCMDC-140216

MW 574.64 % Inhibition 3D7 (2 μ M) 87
 A LogP 5.71 % Inhibition Dd2 (2 μ M) 11
 PSA 49.86 pXC50 3D7 5.92 (1194.02 nM)
 HBA 6 % Inhibition HEPG2 (10 μ M) 23
 HBD 1 Inhibition Frequency Index 11.72
 # Ro5 Vio. 2 Chemical Cluster NR 948
 Graph Frame Cluster 337



CHEMBL-537277
TCMDC-133384

MW 473.46 % Inhibition 3D7 (2 μ M) 100
 A LogP 4.35 % Inhibition Dd2 (2 μ M) 100
 PSA 45.67 pXC50 3D7 6.80 (156.66 nM)
 HBA 4 % Inhibition HEPG2 (10 μ M) 4
 HBD 0 Inhibition Frequency Index 9.33
 # Ro5 Vio. 0 Chemical Cluster NR 948
 Graph Frame Cluster 368



CHEMBL-535258
TCMDC-133385

MW 430.47 % Inhibition 3D7 (2 μ M) 99
 A LogP 3.29 % Inhibition Dd2 (2 μ M) 100
 PSA 69.46 pXC50 3D7 7.41 (112.25 nM)
 HBA 5 % Inhibition HEPG2 (10 μ M) 9
 HBD 0 Inhibition Frequency Index 5.41
 # Ro5 Vio. 0 Chemical Cluster NR 948
 Graph Frame Cluster 368

Las diferencias más significativas entre los distintos *hits* suponen el cambio de un grupo CF_3 por un grupo CN en el anillo de piridina y la presencia de un grupo *N*-benzodioxolimetilamino como sustituyente de uno de los fenilos en lugar de un grupo metoxilo junto con la ausencia de átomos de flúor.

La primera premisa para descartar cualquier posible molécula que pueda ser considerada un *hit* en el desarrollo de un fármaco es que esta molécula debe de cumplir las reglas de Lipinski.

En 1997, Lipinski y colaboradores establecieron un conjunto de reglas empíricas, “la regla de los 5”, que permiten evaluar las propiedades físico-químicas de fármacos con biodisponibilidad oral.⁷⁹ La *regla de los 5* describe las propiedades moleculares que tienen importancia farmacocinética en el cuerpo humano, incluyendo la absorción, distribución, metabolismo y excreción. Esta regla resulta muy importante para el desarrollo de nuevos fármacos ya que permite refinar la selección de compuestos y librerías de compuestos que se someten a *screenings* guiando la química farmacéutica hacia la síntesis de nuevos compuestos capaces de convertirse posteriormente en fármacos con una mayor probabilidad. Tal y como indican las reglas de Lipinski, un compuesto activo y de consumo oral no debe contener más de cinco átomos dadores de enlaces por puentes de hidrógeno ni más de diez átomos aceptores de enlaces por puentes de hidrógeno. Además, debe poseer un peso molecular menor o igual a $500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ y un $\text{c}\cdot\log P$ menor o igual que 5 ($\text{m}\cdot\log P$ menor o igual que 4.15).^{80,81}

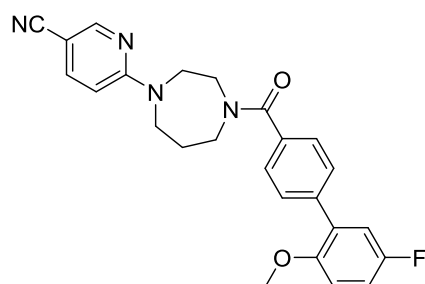
El compuesto **CHEMBL-532599** viola dos reglas de Lipinski ya que posee un peso molecular superior a $500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ($574.64 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) y el coeficiente de reparto octanol/agua ($\text{c}\cdot\log P$) es mayor que 5 (5.71). Por lo tanto, este compuesto no resulta óptimo como punto de partida. La diferencia entre los otros dos candidatos (**CHEMBL-537277** y **CHEMBL-535258**) es muy pequeña en términos de actividad pero algo notable en cuanto a sus propiedades físicas. El compuesto **CHEMBL-535258** (el que lleva como sustituyente el grupo CN) posee un grupo aceptor de enlaces por puentes de hidrógeno más que el

⁸⁰Leo, A. J. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 1281-1304.

⁸¹Moriguchi, I.; Hirono, S.; Liu, Q.; Nakagome, I.; Matsushita, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1992**, *40*, 127-130.

CHEMBL-537277, factor que puede favorecer la interacción fármaco-diana. Además, el compuesto **CHEMBL-537277** (el que lleva como sustituyente el grupo CF₃) posee cuatro átomos de flúor y por lo tanto su lipofilia es bastante mayor que el compuesto **CHEMBL-535258** que sólo contiene uno. El coeficiente de distribución ideal para un fármaco es habitualmente intermedio (ni demasiado hidrofóbico ni demasiado hidrofílico). Asimismo, se aconseja que el fármaco sea tan hidrófilo como sea posible mientras retenga la suficiente afinidad de enlace a las proteínas terapéuticas diana. Como el compuesto **CHEMBL-535258** presenta un log P más óptimo que el compuesto **CHEMBL-537277**, éste último quedaría descartado y por consiguiente el *hit* que ha sido seleccionado para el desarrollo de esta familia de compuesto es el siguiente:

HIT CHEMBL-535258



MW 430.47	% Inhibition 3D7 (2 µM) 99
A LogP 3.29	% Inhibition Dd2 (2 µM) 100
PSA 69.46	% Inhibition 3D7 PFLDH (2 µM) 0
HBA 5	pXC50 3D7 7.41 (112.25 nM)
HBD 0	% Inhibition HEPG2 (10 µM) 9
# Ro5 Vio. 0	Inhibition Frequency Index 5.41
	Chemical Cluster NR 948
	Graph Frame Cluster 368

A pesar de que este compuesto resultó ser activo frente a las cepas 3D7 en el ensayo HTS de inhibición de lactato deshidrogenasa (LDH), no mostró eficacia *in vivo* en un modelo murino de malaria causada por *Plasmodium berghei* con una dosis oral 50 mg/Kg durante dos días.⁸² Las causas de la falta de eficacia *in vivo* pueden ser de diferente naturaleza, desde la no esencialidad de la diana terapéutica asociada con el fármaco, hasta una insuficiente exposición al mismo causada por una deficiente farmacocinética. Dada la imposibilidad de diseñar nuevas moléculas basadas en la estructura de la diana debido al desconocimiento de la misma, los esfuerzos químicos se centraron en las posibles mejoras en el comportamiento farmacocinético del compuesto.

Dado que la molécula de partida presenta una lipofilia y un peso molecular adecuados para presentar una absorción suficiente por vía oral, se consideró que la causa

⁸²Jiménez-Díaz, M.B.; Viera, S.; Ibáñez, J.; Mulet, T.; Magán-Marchal, N.; Garuti, H. et al. *PLoS ONE*, **2013**, *8*(6), e66967.

de la posible insuficiente exposición al fármaco era debida a la degradación metabólica tipo Fase I provocada por el primer paso hepático. En este sentido, el trabajo químico se centró fundamentalmente en transformaciones dirigidas al bloqueo de posiciones potencialmente metabolizables tales como el grupo metileno central presente en el anillo de diazepina y el grupo metoxilo, el cual se degrada a fenol mediante O-desalquilación, seguida de glucuronidación del hidroxilo y fácil eliminación. Además, se verán modificados los sustituyentes del fenilo terminal (más expuesto al metabolismo) variando las diferentes posiciones relativas e incluyendo átomos de flúor y trifluorometilo en la posición *para*. Si bien la aproximación descrita permitiría estabilizar metabólicamente la molécula, también entraña un alto riesgo de pérdida de actividad, dado que se producen cambios importantes en la geometría de la parte central de la molécula, que podrían afectar al farmacóforo básico.

4.1.2 INTRODUCCIÓN

La piperazina es un compuesto orgánico que consiste en un anillo de seis miembros con dos átomos de nitrógeno en posición relativa 1,4. Se caracteriza por poseer un amplio espectro de actividades biológicas⁸³ siendo un fragmento importante de las estructuras de numerosos fármacos (Figura 1.9).

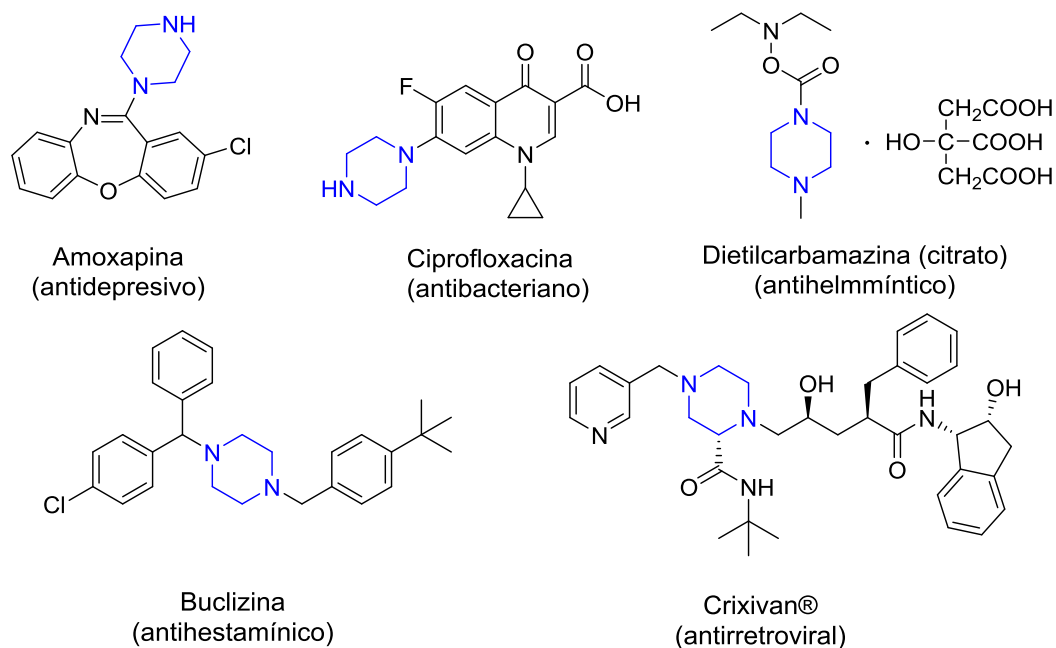


Figura 1.9. Ejemplo de fármacos presentes en el mercado que contienen el núcleo de piperazina.

⁸³Willems, L. I.; Ilzerman, A. P. *Med.Chem. Res.* **2010**, *30*, 778-817.

Además, este anillo heterocíclico se encuentra presente en muchos productos naturales, como por ejemplo aspernigerina⁸⁴ que exhibe propiedades anticancerígenas.

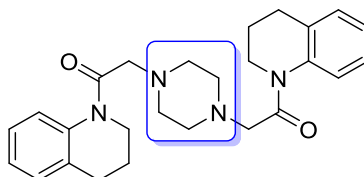


Figura 1.10. Estructura de la aspernigerina

La piperazina se comenzó a usar como un antihelmíntico en el año 1953 y desde entonces numerosos esfuerzos han sido empleados en la búsqueda de derivados que presentaran potenciales actividades contra distintas dianas terapéuticas.⁸⁵ Entre las diferentes aplicaciones farmacológicas, los derivados de piperazina actúan como agentes antifúngicos, antidepresivos,⁸⁶ antimaláricos, antibacterianos,^{87,88} antianginosos, anticancerígenos,⁸⁹etc.⁹⁰

⁸⁴a) Schmitz, A.; Kehraus, S.; Schäberle, T. F.; Neu, E.; Almeida, C.; König, M. *J. Nat. Prod.*, **2014**, *77*, 159-163; b) Miyake, F. Y.; Yakushijin, K.; Horne, D. A., *Org. Lett.*, **2000**, *2(20)*, 3185-3187 ; c) Gao, H. Q.; Liu, W. Z.; Zhu, T. J.; Mo, X. M.; Mándi, A.; Kurtán, T.; Li, J.; Ai, J.; Gua, Q. Q.; Li, D. H.; *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, *10*, 9501-9506.

⁸⁵a) Pinna, A.; Wardas, J.; Simola, N.; Morelli, M., *Life Sci.*, **2005**, *77*, 3259-3267; b) Nilsson, J. W.; Thorstensson, F.; Kvarnström, I.; Oprea, T.; Samuelsson, B.; Nilsson, I., *J. Comb. Chem.*, **2001**, *3*, 546-553; c) Aguilar, A.; Zhou, H. B.; Chen, J. F.; Liu, L.; Bai, L. C.; McEachern, D.; Yang, C. Y.; Meagher, J.; Stuckey, J.; Wang, S. M., *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 3048-3067.

⁸⁶ Ly, K. S.; Letavic, M. A.; Keith, J. M.; Miller, J. M.; Stocking, E. M.; Barbier, A. J.; Bonaventure, P.; Lord, B.; Jiang, X.; Boggs, J. D.; Dvorak, L.; Miller, K. L.; Nepomuceno, D.; Wilson, S. J.; Carruthers, N. I., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 39-43.

⁸⁷a) Vacca, J. P.; Dorsey, B. D.; Schleif, W. A.; Levine, R. B.; McDaniel, S. L.; Darke, P. L.; Zugay, J.; Quintero, J. C.; Blahy, O. M.; Sardana, B. B.; Schlabach, A. J.; Graham, P. I.; Condra, J. H.; Gotlib, L.; Holloway, M. K.; Lin, J.; Chen, I. W.; Vastag, K.; Ostovic, D.; Anderson, P. S.; Emini, E. A.; Huff, J. R. *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 3443; b) Askin, D.; Eng, K. K.; Rossen, K.; Purick, R. M.; Wells, K. M.; Volante, R. P.; Reider, P. J. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 673; c) Rossen, K.; Weissman, S. A.; Sagar, J.; Reamer, R. A.; Askin, D. A.; Volante, R. P.; Reider, P. J. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 6419.

⁸⁸Kerns, R. J.; Rybak, M. J.; Kaatz, G. W.; Vaka, F.; Cha, R.; Grucz, R. G.; Diwadkar, V. U. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2109.

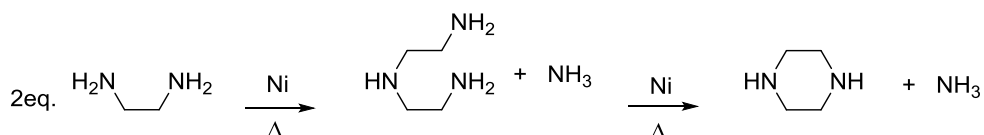
⁸⁹a) Bhuniya, S.; Maiti, S.; Kim, E. J.; Lee, H.; Sessler, J. L.; Hong, K. S.; Kim, J. S., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2014**, *53(17)*, 4469-4474; b) Patel R. V.; Park S. W., *Mini-Rev. Med. Chem.*, **2013**, *13(11)*, 1579-1601; c) Dömling, A., Wang, W.; Wang, K., *Chem. Rev.*, **2012**, *112*, 3083-3135.

⁹⁰a) Wright, M. H.; Clough, B.; Rackham, M. D.; Rangachari, K.; Brannigan, J. A.; Grainger, M.D.; Tewari, R.; Wilkinson, A. J.; Holder, A. A.; Tate, E. W., *Nat. Chem.*, **2014**, *6*, 112-121; b) Lloyd, D. J.; Kurzeja, R. J. M.; Wahl, R. C.; Michelsen, K.; Cupples, R.; Chen, M.; Wu, J.; Sivits, G.; Helmering, J.; Komorowski, R.; Ashton, K. S.; Pennington, L. D.; Fotsch, C.; Wang, M. H.; Jordan, S. R.; Hale, C., *Nature*, **2013**, *504*, 437-440.

Algunos derivados de piperazina disustituidos también presentan aplicaciones en la industria química como cristales iónicos,⁹¹ materiales de sellado y adhesivos, polímeros de transferencia de carga en paneles solares,⁹² autoensamblaje de polímeros supramoleculares y como agentes antiestáticos.

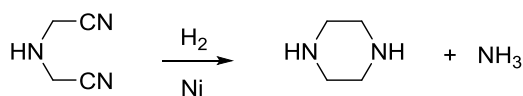
4.1.2.1 PRIMERAS SÍNTESIS DESCRITAS PARA LA FORMACIÓN DEL ANILLO DE PIPERAZINA.

La formación de aminas secundarias a partir de aminas primarias por desaminación catalítica fue descrita en los años 30 por Adkins⁹³ para la preparación de dibencilamina a partir de bencilamina. Hoerr y colaboradores⁹⁴ utilizaron el mismo método para la obtención de aminas secundarias alifáticas. A principios de los años 40, Kyrides⁹⁵ describió la preparación de piperazina a partir de etilendiamina y dietilentriamina empleando el mismo método (esquema 1.5).



Esquema 1.5. Formación del anillo de piperazina mediante desaminación catalítica

En 1953 Harry S. Mosher y colaboradores⁹⁶ describieron la formación del anillo de piperazina mediante una reacción de ciclación reductora de nitrilos basándose en el método descrito por Mignonac⁹⁷ (esquema 1.6).



Esquema 1.6. Formación del anillo de piperazina

⁹¹Petrov, V. F; Pavluchenko, A. I., *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **2003**, 393, 15-29.

⁹²Chance, B. S.; Mostafa, A; Bazzi H. S., *Polym. Prepr. (Am. Chem. Soc., Div. Polym. Chem.)*, **2008**, 49(1), 537-538.

⁹³Adkins, "Reactions of Hydrogen," The University of Wisconsin Press, Madison. Wis., **1937**, p. 55.

⁹⁴Hoerr, C. W. et al., *J. Org Chem.*, **1944**, 9, 201-210.

⁹⁵Kyrides, U. S. Patent 2.267.683, **1941**.

⁹⁶Mosher, H. S.; Cornell, Jr. J.; Stafford, O. L., Roe, Jr. T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1953**, 75 (20), 4949-4951.

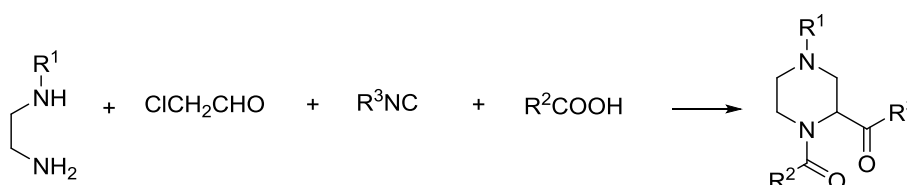
⁹⁷Mignonac, G., *Ann. Chim.*, **1934**, 11(2), 225.

Tanto la condensación de etilendiamina a altas temperaturas en presencia de un catalizador (níquel, cobre, cobalto) como la deshidratación de etanolaminas catalizadas por ZnCl_2 , H_3PO_4 o Al_2O_3 a elevadas temperaturas, son métodos que se emplean en la actualidad para la producción de piperazina a nivel industrial.

4.1.2.2 MÉTODOS DE PREPARACIÓN DE DERIVADOS DE PIPERAZINA

En la búsqueda de nuevos fármacos, la Química Combinatoria representa un potente método que en sus comienzos por los años 90 fue anunciado como una revolución científica en la investigación farmacéutica. Utilizando los principios de la química combinatoria, la reacción de Ugi⁹⁸ ofrece la posibilidad de sintetizar un gran número de diferentes compuestos en una reacción, por la reacción de varias cetonas (o aldehídos), aminas, isocianatos y ácidos carboxílicos.

En 1997, K. Rossen y colaboradores⁹⁹ publican la síntesis de derivados de piperazina empleando *N*-alquiletilendiaminas, cloroacetaldehido, un isonitrilo y un ácido carboxílico (esquema 1.7).



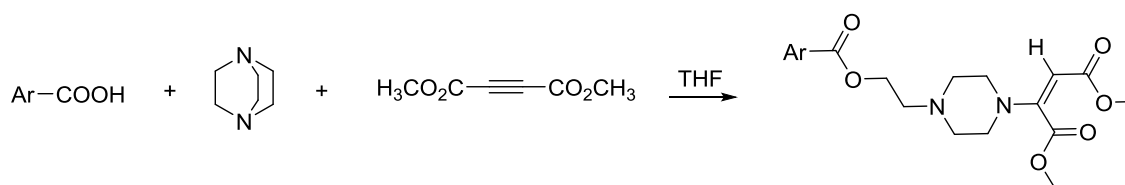
Esquema 1.7. Ejemplo de reacción de Ugi

En la bibliografía se pueden encontrar numerosos ejemplos de síntesis de derivados de piperazina basados en reacciones multicomponentes. Un ejemplo publicado recientemente es el que se muestra a continuación.¹⁰⁰

⁹⁸Ugi, I.; Lohberger, S.; Karl, R. in *Comprehensive Organic Chemistry: Selectivity for Synthetic Efficiency*, Berger, Vol. 20. (Eds. B.M. Trost, C.H. Heathcock), Pergamon, Oxford **1991**, P. 1083.

⁹⁹Rossen, K.; Sager, J.; DiMichele, L. M., *Tetrahedron Letters*, **1997**, 38 (18), 3183-3186.

¹⁰⁰Dong, H.-R.; Chen, Z.-B.; Li, R.-S.; Dong, H.-S.; Xie Z.-X., *RSC Adv.*, **2015**, 5, 10768-10772.



Esquema 1.8 Ejemplo de síntesis de derivados de piperazina mediante reacción multicomponente

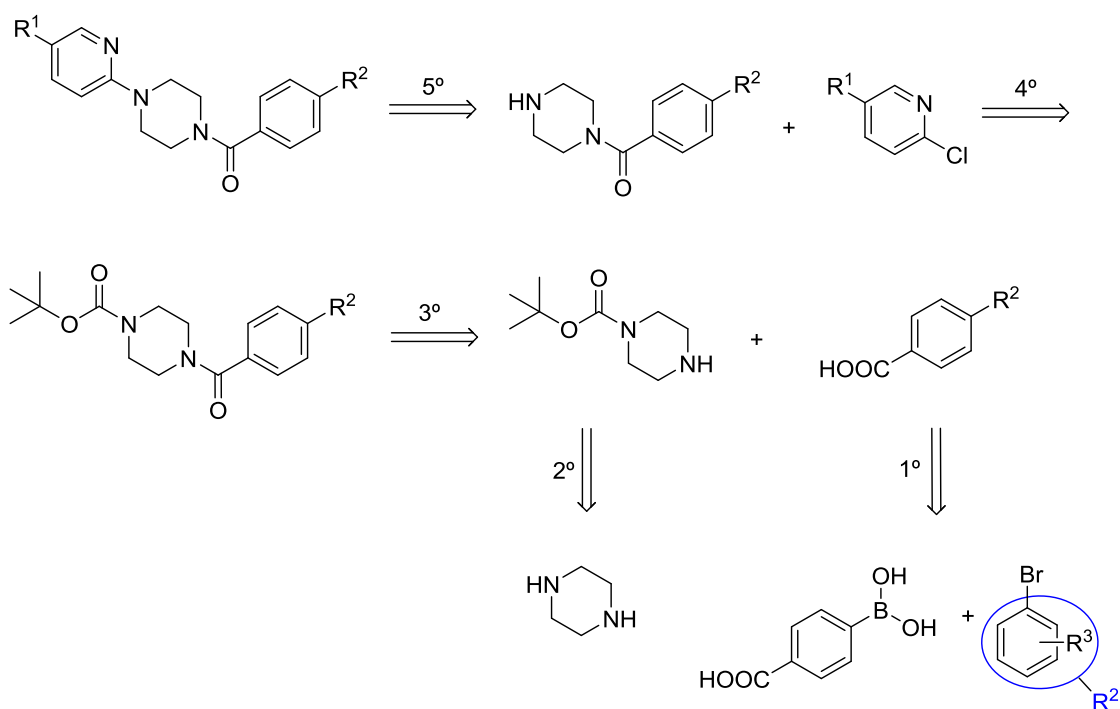
A pesar de las grandes ventajas que presenta la Química Combinatoria en la obtención de nuevos fármacos, numerosas publicaciones describen la síntesis de librerías de compuestos que presentan el núcleo de piperazina empleando como sustrato de partida piperazina comercial. Así pues, los diferentes derivados pueden obtenerse de manera sencilla mediante reacciones de aminación y acilación. La piperazina presenta un bajo coste económico y permite una gran versatilidad de reacciones en la que el nitrógeno de la piperazina actúa como nucleófilo.¹⁰¹

4.1.3 OBJETIVOS

El objetivo perseguido en este apartado es la síntesis de una librería de compuestos cuyo esqueleto principal sea un anillo de piperazina. El objetivo principal es que dichos compuestos presenten actividad antimalárica y que debido a su conformación estructural mejoren si cabe la actividad descrita para el *hit* seleccionado.

El esquema 1.9 muestra el análisis retrosintético planteado para la obtención de esta quimioteca de compuestos.

¹⁰¹a) Wang S.-F.; Yin Y.; Wu X.; Qiao F.; Sha S.; Lv P.-C.; Zhao J.; Zhu H.-L. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 5727-5737. b) Chen Y.; Wang G.; Xu X.; Liu B.-F.; Li J.; Zhang G., *Molecules* **2011**, *16*, 5785-5806. c) Ly K. S. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 39-43.



Esquema 1.9. Análisis retrosintético de la familia de las piperazinas

Tal y como se observa en el análisis retrosintético, la estrategia sintética comenzaría con un acoplamiento biarílico entre un ácido fenilborónico y un bromuro de arilo mediante una reacción de acoplamiento cruzado catalizada por paladio (1^a etapa). La siguiente etapa clave en la síntesis de esta familia de compuestos sería la formación de un enlace peptídico entre el ácido carboxílico del biarilo formado y la piperazina desimetrizada con anhídrido de Boc (3^a etapa). Por último, se llevaría a cabo una reacción de aminación entre el derivado desprotegido procedente de la reacción de amidación y diversas cloropiridinas sustituidas comerciales (5^a etapa).

En resumen, para la obtención de esta quimioteca de compuestos se abordará:

- Una investigación dirigida a la desimetrización del núcleo de piperazina mediante la protección con el grupo Boc (*ter*-butoxicarbonilo).¹⁰²
- La optimización de la reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki catalizada por paladio.¹⁰³
- Un estudio de la formación de enlace peptídicos.¹⁰⁴

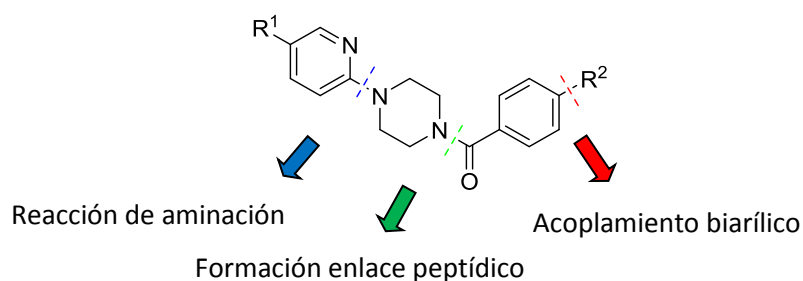
¹⁰²Sellitto G. et al, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 6143-6148.

¹⁰³Suzuki A., *Angew.Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6722-6737.

¹⁰⁴Montalbetti, C. A.G.N.; Falque, V.; *Tetrahedron*, **2005**, *61*, 10827-10852.

- La aminación del núcleo de piridina.¹⁰⁵

De esta manera se obtendrán diversos derivados que presenta la siguiente estructura general:



R¹ = CN, CF₃.

R² = CF₃,

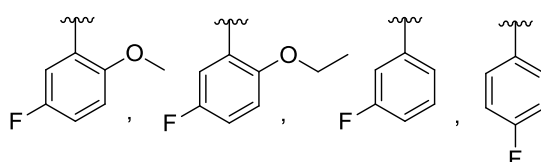
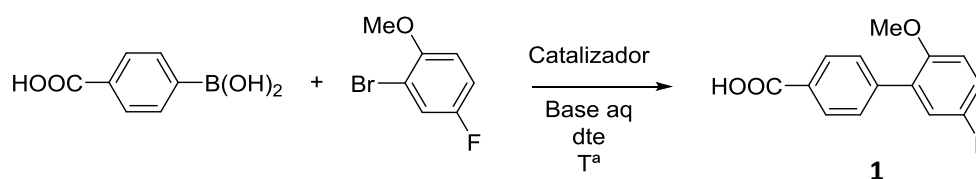


Figura 1.11. Derivados propuestos en la familia de las piperazinas

4.1.4 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

De acuerdo con el esquema retrosintético propuesto anteriormente, la ruta sintética comenzó con la formación de compuestos biarílicos mediante una reacción de acoplamiento cruzado catalizada por paladio.¹⁰³



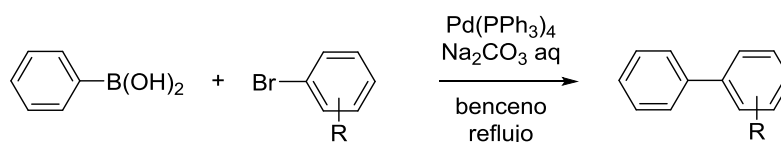
Esquema 1.10 Condiciones generales para la obtención del compuesto 1

Dicha reacción de acoplamiento cruzado con ácidos arilborónicos es una reacción que permite formar enlaces C-C entre anillos aromáticos con muy buenos resultados. Además del logro sintético, presenta una serie de ventajas: no se ve afectada por la presencia de agua, tolera un amplio número de grupos funcionales y los subproductos que

¹⁰⁵Ha, H.-H.; Kim, J.S.; Kim, B. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2008**, *18*, 653-656.

se forman no son tóxicos, lo que representa no sólo ventajas en su realización sino también en su procesado. Además, la reacción se puede llevar a cabo en presencia de grupos funcionales en posición *orto* y con anillos heteroaromáticos.

La primera síntesis de biarilos por acoplamiento cruzado de ácidos aril borónicos con haluros de arilo fue realizada en 1981 por Suzuki y Miyaura¹⁰⁶ (esquema 1.11).



Esquema 1.11. Condiciones empleadas en la primera síntesis de bifenilos

A continuación se muestra el ciclo catalítico propuesto para el acoplamiento cruzado de Suzuki:

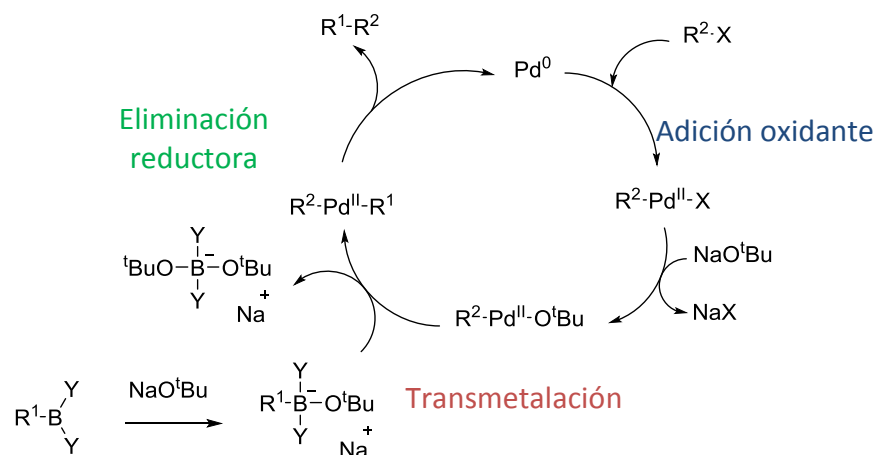


Figura 1.12. Ciclo catalítico de la reacción de acoplamiento cruzado catalizada por Pd de Suzuki¹⁰⁷

La adición oxidante representa a menudo el paso determinante del ciclo catalítico. La reactividad disminuye según el orden $I > Br > OTf \gg Cl$; por lo tanto, los haluros de arilo activados por la presencia de grupos electrones-atrayentes son más reactivos que aquellos con grupos electrón-dadores. La adición oxidante transcurre con completa

¹⁰⁶Miyaura, N.; Yanagi, T.; Suzuki, A., *Synth. Commun.* **1981**, 11, 513.

¹⁰⁷Suzuki, A., *Journal of Organometallic Chemistry*, **1999**, 576, 147-168.

retención de la configuración con haluros de alqueno y con inversión de configuración para los haluros alílicos y bencílicos. Inicialmente se forma el complejo *cis* que rápidamente se isomeriza para dar el isómero *trans*.

El siguiente paso, denominado transmetalación, tiene lugar en presencia de una base que actúa activando el complejo de paladio favoreciendo la formación de la especie $R_2Pd(OR)$ (base=OR) a partir de $ArPdX$ y facilitando de esta forma la transmetalación de organoboranos (Figura 1.12). Por lo tanto, en esta reacción resulta determinante la presencia de una base, y de hecho no se produce en medio neutro, lo que la hace diferente de otros acoplamientos con otros reactivos organometálicos.¹⁰⁸

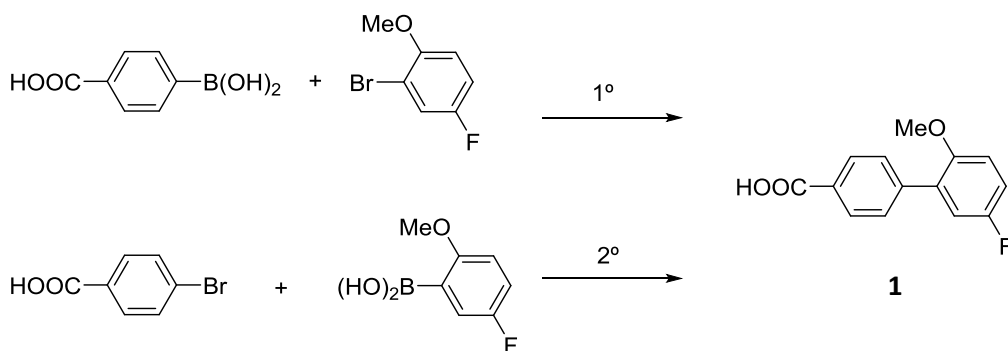
El último paso es la eliminación reductora de R^1 y R^2 de manera que se restablece el complejo de Pd (0). Para que se produzca esta eliminación es necesario que el complejo *trans* (8) se isomerice a la forma *cis*. El orden de reactividad es: diaril > alquilaril > dipropil > dietil > dimetilpaladio (II).

La reacción procede más rápidamente en condiciones homogéneas, por ejemplo, con una base en medio acuoso y DME, aunque los resultados también son buenos en condiciones heterogéneas. Generalmente se emplean catalizadores de paladio con ligandos de fosfina porque son estables bajo un calentamiento prolongado. Sin embargo, se obtienen también excelentes resultados empleando catalizadores de paladio como $Pd(OAc)_2$ o $Pd_2(dba)_3$. Estos catalizadores son incluso más activos en algunos casos que $Pd(Ph_3)_4$.¹⁰⁹

Volviendo al caso que aquí se discute, antes de poner en marcha la reacción se plantearon dos posibilidades:

¹⁰⁸Moreno- Mañas, M.; Pérez, M.; Pleixats, R.; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 2346.

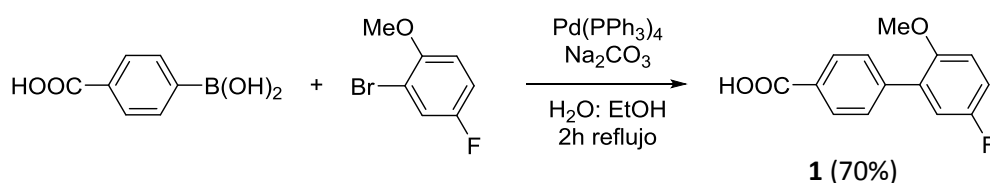
¹⁰⁹Marck, G.; Villiger, A.; Buchecker, R., *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3277.



Esquema 1.12. Estudio de reactividad para la obtención de bifenilos.

Aunque los impedimentos estéricos no son el factor determinante en la formación de bifenilos sustituidos, es bien sabido que el rendimiento es mucho menor cuando se lleva a cabo el acoplamiento con ácidos arilborónicos sustituidos en *orto*. Además, la presencia de grupos electrón-dadores aumenta el intercambio entre los grupos arílicos unidos al átomo de paladio y los ligandos fosfínicos del complejo de paladio (II), de manera que la síntesis de bifenilos sustituidos con grupos electrón-dadores va acompañada de una contaminación del producto de acoplamiento con el grupo arílico del ligando de fosfina.

Por otra parte, la presencia de grupos electrón-dadores en el ácido aril borónico favorece el autoacoplamiento (*homocoupling*) del ácido arilborónico, de manera que los rendimientos para la formación de bifenilos serán mucho mayores con ácidos arilborónicos que posean grupos electrón-atrayentes que con grupos electrón-dadores, ya que en este caso entra en competición dicha reacción de *homocoupling*. Por estas razones y por la disponibilidad de reactivos, se decidió comenzar por la primera opción descrita en el esquema 1.12.

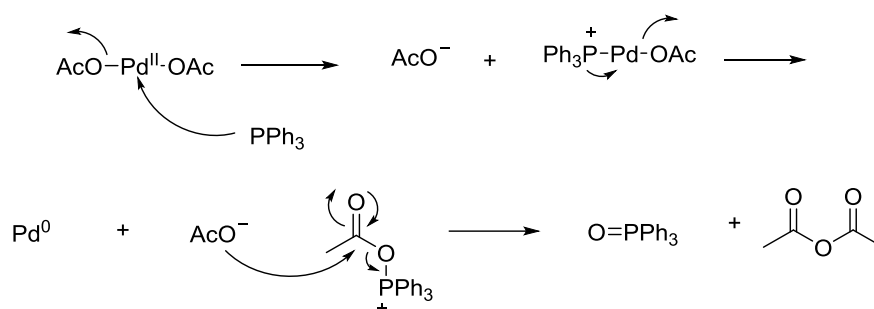


Esquema 1.13. Acoplamiento de Suzuki para la obtención del bifenilo **1**

Siguiendo el procedimiento experimental general para este tipo de reacciones descrito en la bibliografía,¹¹⁰ se obtuvo el compuesto **1**, el cual se cristalizó en MeOH

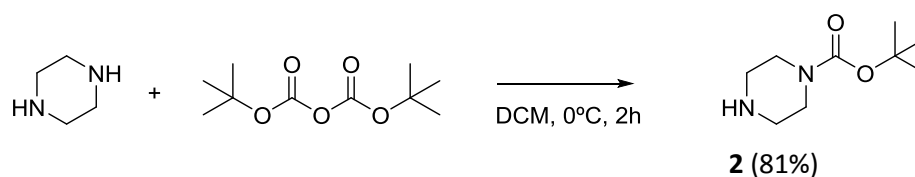
¹¹⁰Colacot T.J.; Shea, H.A., *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3731-3734.

caliente obteniéndose un sólido cristalino blanco con un 70% de rendimiento. A pesar de que el rendimiento es moderado, se procedió a realizar diferentes ensayos cambiando el catalizador $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ por $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, debido a su menor coste económico. De esta manera, la especie catalítica de Pd (0) se genera *in situ* por reducción del $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ con ligandos reductores de tipo fosfina, concretamente PPh_3 . La reacción transcurre con rendimientos similares, pero la formación de óxido de trifenilfosfina en el transcurso de la reacción dificulta el posterior aislamiento del producto.



Esquema 1.14. Mecanismo postulado de la generación de Pd (0) *in situ* con la consecuente formación de óxido de trifenilfosfina

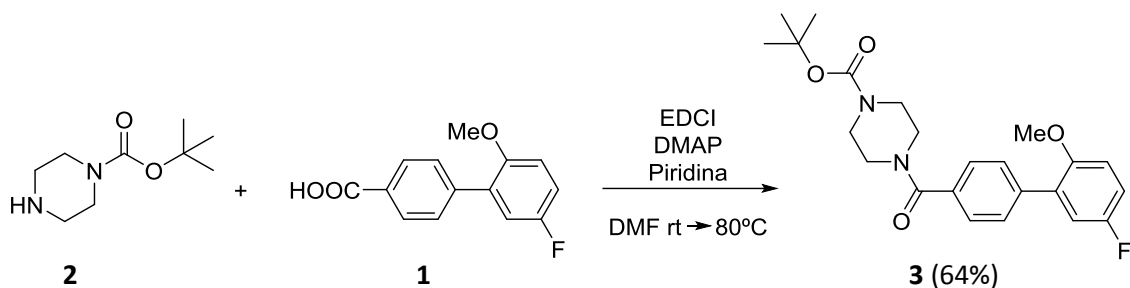
Siguiendo el análisis retrosintético descrito anteriormente en el esquema 1.9, el siguiente paso de la ruta sintética diseñada es la síntesis de la N-Boc piperazina, que posteriormente se hizo reaccionar con el ácido generado en la etapa anterior (compuesto **1**).



Esquema 1.15. Síntesis de la N- Boc piperazina

Para lograr la desimetrización de la molécula de piperazina hay que tener en cuenta la estequiometría de la reacción.⁹⁸ Así pues, empleando medio equivalente de anhídrido de Boc se obtiene el compuesto **2** con un rendimiento del 81%.

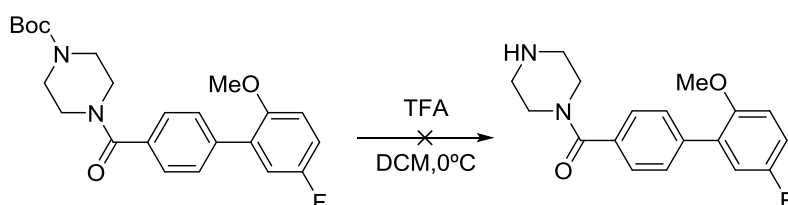
Una vez obtenidos estos dos fragmentos de la molécula objetivo, se procedió a la formación de un enlace peptídico entre el compuesto **1** y el compuesto **2**.



Esquema 1.16. Obtención del compuesto **3**

De las diversas alternativas existentes para la formación de un enlace peptídico,¹¹¹ se decidió llevar a cabo la reacción empleando EDCI como agente de acoplamiento. La EDCI es una carbodiimida que actúa activando el ácido carboxílico en la formación de amidas. Tiene la ventaja frente a otras carbodiimidas de ser soluble en agua, hecho que facilita su aislamiento y la purificación del compuesto. De esta manera se obtiene el compuesto deseado **3** con un rendimiento del 64%.

Una vez obtenido el compuesto **3** se procedió a la desprotección del N-Boc con TFA en DCM a 0°C.

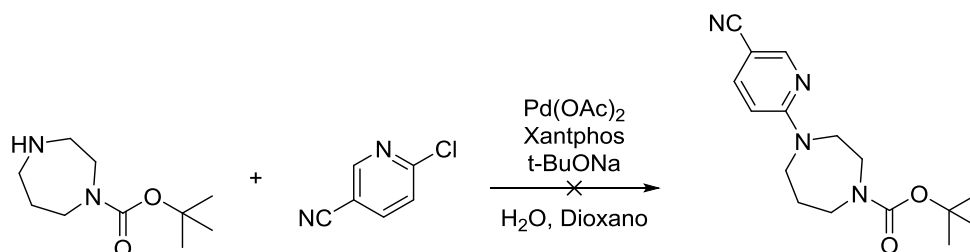


Esquema 1.17. Desprotección de N-Boc con TFA

La hidrólisis ácida del grupo protector Boc ocasionó numerosos inconvenientes a la hora de procesar la mezcla de reacción, no consiguiendo pasar el compuesto de la fase acuosa a la fase orgánica. Esto se debe a que la amina se encuentra protonada en forma de $^+NH_2^-O_2CCF_3$. Un tratamiento básico de la fase acuosa permitiría la transferencia de fase del compuesto orgánico. La fase acuosa se trató con NaOH hasta pH básico pero no se consiguió una completa transferencia de fase quedando mucho compuesto en la fase acuosa.

¹¹¹Włodarczyk, N.; Le Broc- Rycckewaert, D. et al, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 1178-1190.

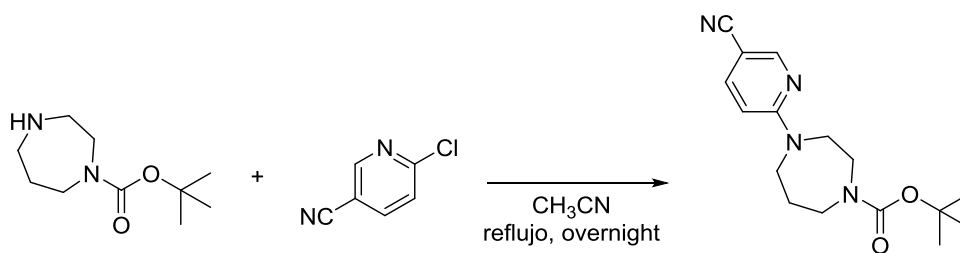
Llegados a este punto y con el objetivo de producir una mejora en la estrategia sintética, se planteó la posibilidad de cambiar el orden de las reacciones de la ruta diseñada (esquema 1.9), es decir, empezar la síntesis por la aminación catalizada por Pd (II)¹¹².



Esquema 1.18. Reacción de aminación catalizada por Pd (II)

En este caso se ensayó primero con la N-Boc-diazepina puesto que es comercial y estaba disponible en el laboratorio pero desafortunadamente no se pudo obtener el compuesto deseado.

Mediante una búsqueda bibliográfica más extensa se llegó a la conclusión de que no es preciso emplear catálisis en este tipo de reacción¹⁰⁵ debido a que la posición 2 de la piridina es una posición muy electrofílica y las reacciones de sustitución nucleofílicas están favorecidas en esa posición.

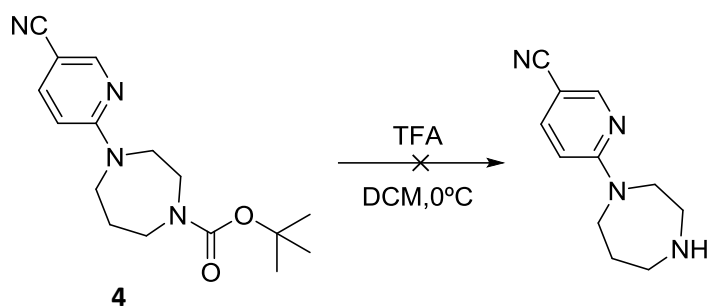


Esquema 1.19

4 (77%)

Empleando estas sencillas condiciones de reacción, se obtuvo el compuesto **4** con un rendimiento del 77%. Seguidamente se llevó a cabo la desprotección de Boc empleando TFA en DCM a 0 °C, condiciones generales de hidrólisis de carbamatos.

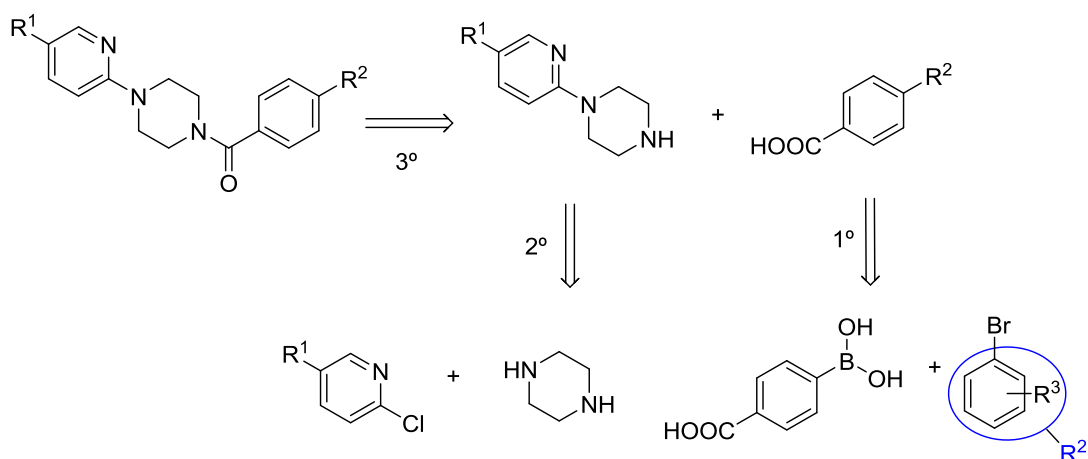
¹¹²Abad, A., Agulló, C., Cuñat, A., Vilanova, C., *Synthesis*, **2005**, 6, 0915-0924.



Esquema 1.20 Desprotección del compuesto **4** con TFA

Al igual que en la ocasión anterior, el aislamiento del compuesto resultó realmente tedioso. En el procesado de la reacción, la fase orgánica se lavó varias veces con NaOH y empleando distintos disolventes para llevar a cabo la extracción, pero en ninguno de los casos se consiguió el aislamiento total del compuesto.

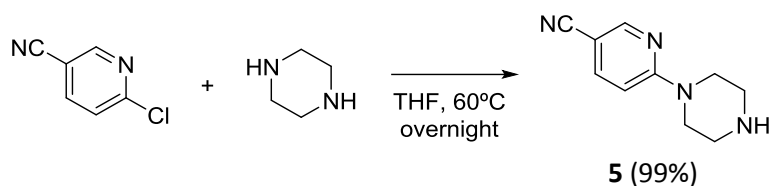
A la vista de los resultados obtenidos, se decidió cambiar la ruta sintética para la obtención de los diferentes derivados de piperazina.



Esquema 1.21 Análisis retrosintético modificado

Con esta nueva estrategia sintética se pretende reducir el número de pasos mediante la desimetrización de la molécula de piperazina en la reacción de aminación. De esta manera se evita tener que proteger y desproteger uno de los nitrógenos de la piperazina. Por otra parte, el procedimiento empleado para el acoplamiento biarílico no sufre modificación, proponiéndose los mismos sintones que en el primer esquema retrosintético.

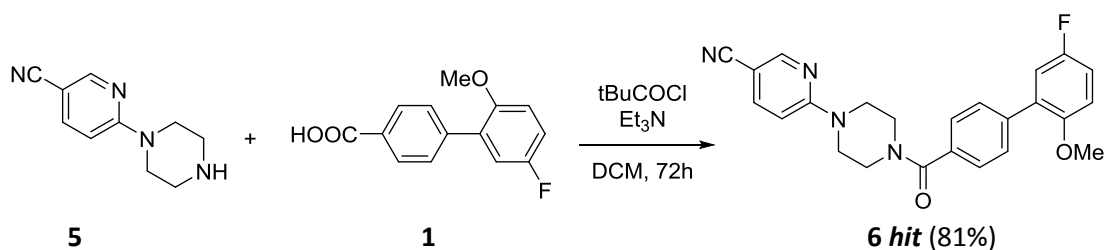
Siguiendo el nuevo esquema retrosintético, se procedió a realizar en primer lugar la reacción de aminación.



Esquema 1.22. Reacción de aminación para la obtención del compuesto **5**

Esta reacción se puede llevar a cabo tanto en THF como en CH₃CN. Para que sólo reaccione uno de los dos NH de la molécula de piperazina se han de poner al menos tres equivalentes de piperazina con respecto al 6-cloronicotinonitrilo. Así pues, la reacción presentaba la ventaja de ser muy limpia, no siendo necesaria la purificación del compuesto por cromatografía de columna. El compuesto **5** se obtiene como un sólido cristalino blanco con un rendimiento del 99%.

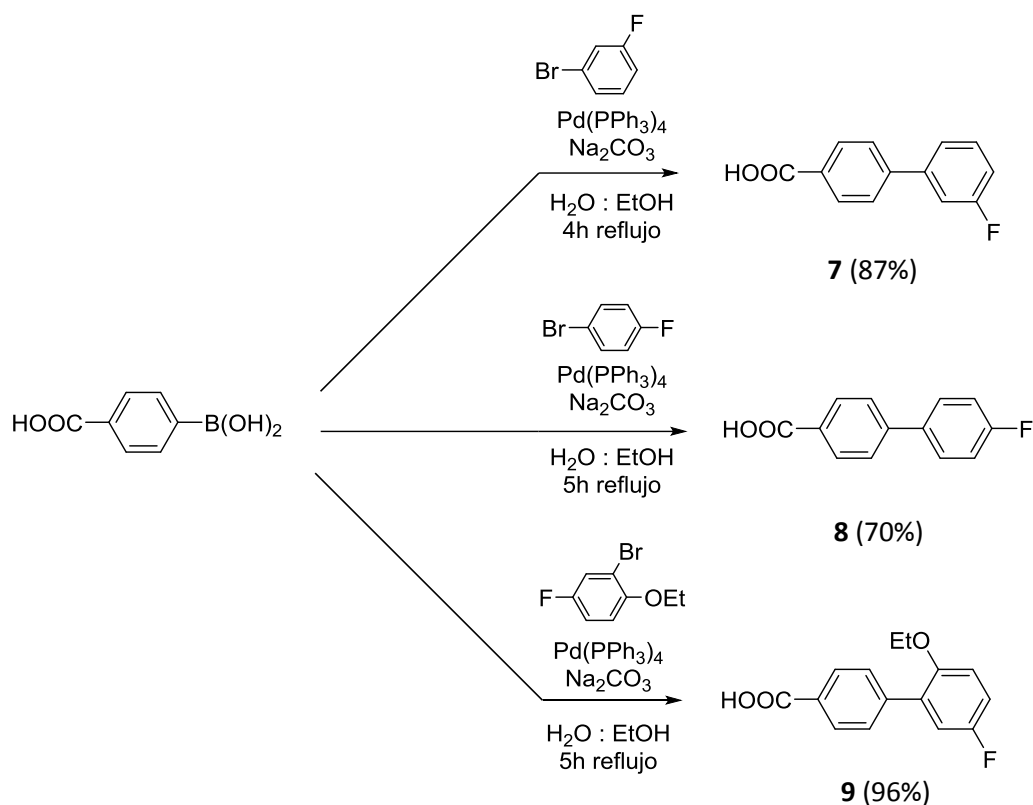
Finalmente, el último paso para la obtención del *hit* es la formación de un enlace de tipo amida entre el compuesto **1** y **5**. En este caso se utilizó cloruro de pivaloilo como agente activante en la formación del enlace peptídico.¹¹³



Esquema 1.23. Reacción de amidación empleando cloruro de pivaloilo

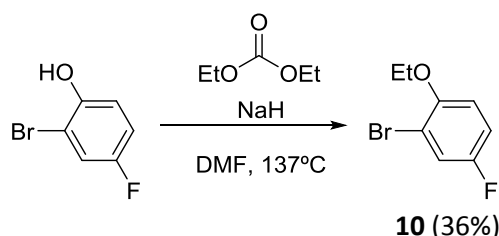
Una vez concretada la ruta sintética a seguir, los diferentes derivados que componen la familia de piperazina se obtuvieron de forma rápida y sencilla. Así pues, se preparan diferentes biarilos sustituidos mediante la reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki.

¹¹³Myers, A. G.; Gleason, J. L.; Yoon, Kung, D. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 656-673.



Esquema 1.24. Obtención de bifenilos mediante la reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki.

Con el objeto de determinar si la introducción de un grupo más voluminoso en la posición *orto* del biarilo afectaba a la actividad, se planteó la preparación del compuesto **9**. Para ello resultó ser necesaria la síntesis previa del haluro correspondiente, ya que éste no era comercial. En este caso se partió de 2-bromo-4-fluorofenol. En una primera aproximación se intentó introducir el grupo etoxilo empleando carbonato de dietilo.¹¹⁴ Este reactivo resulta ser poco tóxico, barato y medioambientalmente más conveniente que por ejemplo los haluros de alquilo, reactivos que se emplean con frecuencia para este tipo de reacciones.

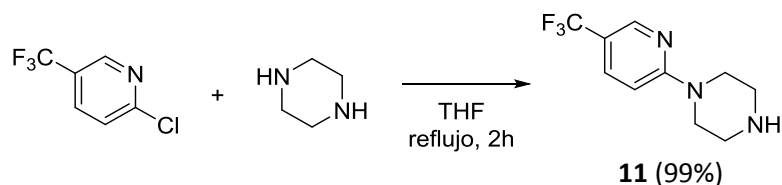


Esquema 1.25. Formación del compuesto **10** empleando carbonato de dietilo

¹¹⁴Tundo, P.; Memolo, S.; Héreault, D.; Hill, K., *Green Chem.*, **2004**, 6, 609-612.

Empleando las condiciones arriba indicadas se obtuvo el compuesto deseado con un rendimiento de 36%. Hay que indicar en este punto que, aunque el rendimiento no es muy bueno, para el propósito que perseguimos es suficiente, dado que se trata de preparar un compuesto para evaluar la actividad estando el grupo OH protegido.

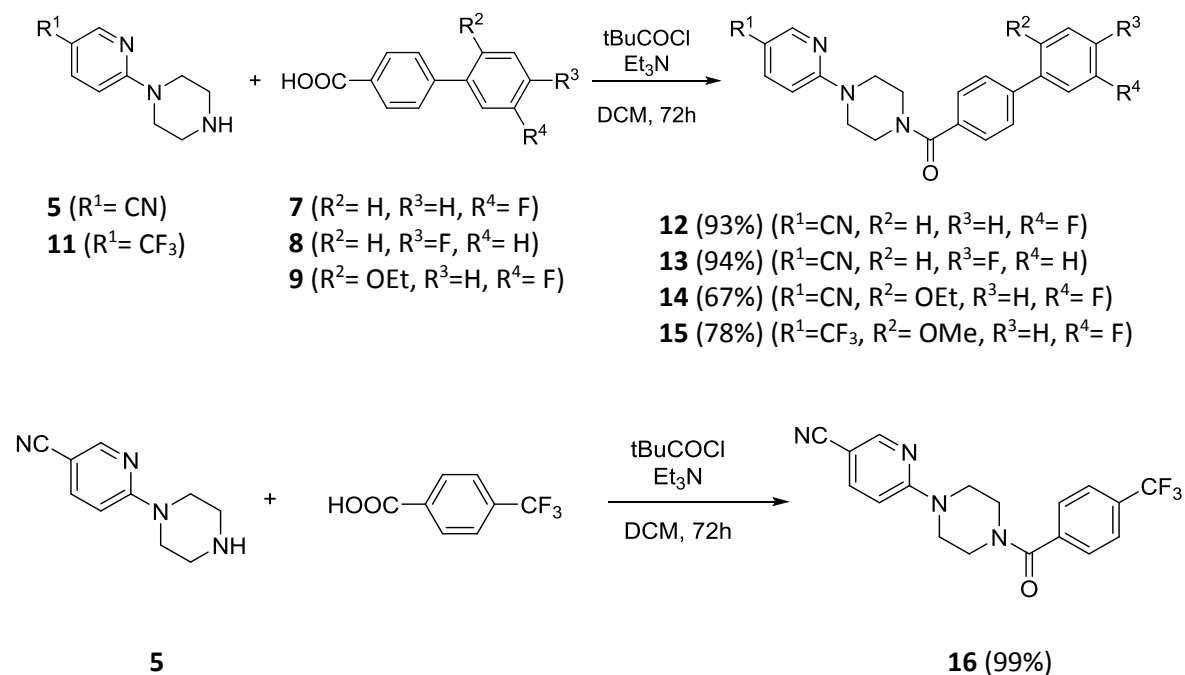
Por otra parte, se sintetizó un análogo al compuesto **5** empleando las condiciones descritas anteriormente para la reacción de aminación.



Esquema 1.26. Reacción de aminación para la obtención del compuesto **11**.

Al igual que en el compuesto **5**, la reacción transcurrió de manera cuantitativa y no se precisó de purificación adicional.

Una vez sintetizados todos los fragmentos necesarios para la obtención de los compuestos de la familia de las piperazinas se llevó a cabo como última etapa la formación de los enlaces peptídicos correspondientes.



Esquema 1.27. Obtención de los compuestos finales (**12-16**).

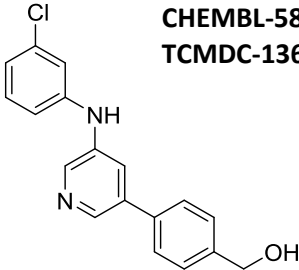
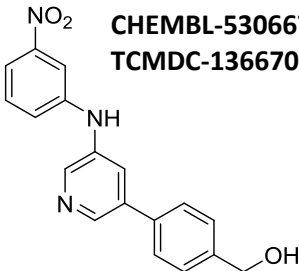
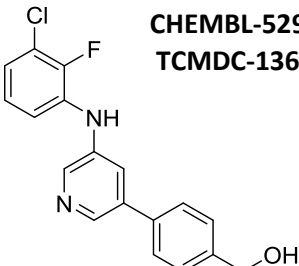
Una vez sintetizados todos los compuestos finales se sometieron a análisis biológicos para evaluar su capacidad farmacológica. Los resultados biológicos nos permitirán saber la influencia de ciertos grupos funcionales, la posición más adecuada de éstos, la necesidad o no del anillo bifenilo así como la necesidad de bloquear centros fácilmente oxidables. Los resultados de actividad se muestran reflejados más adelante en el apartado de ensayos biológicos (apartado 6).

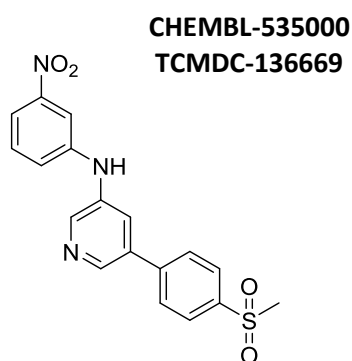
4.2 DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA FAMILIA DE LAS AMINOPIRIDINAS

4.2.1 ELECCIÓN DEL *HIT*

Para el desarrollo de la presente familia de compuestos se siguió el mismo protocolo establecido que en la familia anterior, realizando una búsqueda selectiva en la base de datos de GSK, acotando los parámetros establecidos en los objetivos específicos y manteniendo invariable el esqueleto de aminopiridina.

En esta ocasión la búsqueda ofreció los cuatro *hits* que se muestran a continuación:

	<p>CHEMBL-587610 TCMDC-136672</p>	<p>MW 310.78 A LogP 3.81 PSA 45.15 HBA 3 HBD 2 # Ro5 Vio. 0</p>	<p>% Inhibition 3D7 (2 μM) 99 % Inhibition Dd2 (2 μM) 100 % Inh. 3D7 PFLDH (2 μM) 0 pXC50 3D7 7.12 (74.32 nM) % Inh. HEPG2 (10 μM) 4 Inh. Frequency Index 4.62 Chemical Cluster NR 804 Graph Frame Cluster 255</p>
	<p>CHEMBL-530667 TCMDC-136670</p>	<p>MW 321.33 A LogP 3.04 PSA 90.97 HBA 5 HBD 2 # Ro5 Vio. 0</p>	<p>% Inhibition 3D7 (2 μM) 85 % Inhibition Dd2 (2 μM) 96 % Inhibition 3D7 PFLDH (2 μM) 0 pXC50 3D7 (nM) % Inhibition HEPG2 (10 μM) 16 Inhibition Frequency Index 4.55 Chemical Cluster NR 804 Graph Frame Cluster 255</p>
	<p>CHEMBL-529983 TCMDC-136671</p>	<p>MW 328.77 A LogP 4.01 PSA 45.15 HBA 3 HBD 2 # Ro5 Vio. 0</p>	<p>% Inhibition 3D7 (2 μM) 92 % Inhibition Dd2 (2 μM) 99 % Inhibition 3D7 PFLDH (2 μM) 0 pXC50 3D7 7.05 (88.55 nM) % Inhibition HEPG2 (10 μM) 2 Inhibition Frequency Index 6.02 Chemical Cluster NR 804 Graph Frame Cluster 255</p>



A LogP 3.17
PSA 113.26
HBA 6
HBD 1
Ro5 Vio. 0

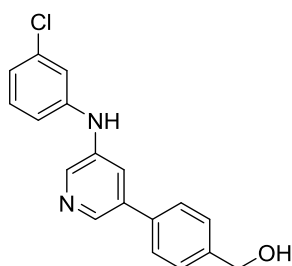
% Inhibition 3D7 (2 μ M) 97
% Inhibition Dd2 (2 μ M) 70
% Inh. 3D7 PFLDH (2 μ M) 0
pXC50 3D7 6.11 (733.11 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 μ M) 6
Inh. Frequency Index 3.05
Chemical Cluster NR 804
Graph Frame Cluster 255

Las variaciones que se pueden apreciar entre los diferentes posibles *hits* suponen el cambio de sustituyentes en el anillo de fenilo, en el que un átomo de cloro se intercambia por un grupo NO₂. Además, se introduce un átomo de flúor en uno de los *hits* aumentado así la lipofilia de éste. Por último, el cambio del grupo hidroxilo terminal por una sulfona supone la introducción de átomos aceptores de enlaces por puentes de hidrógeno en lugar de un átomo dador de enlaces de hidrógeno.

En la familia de las piperazinas, la primera premisa que se aplicó para descartar algunos de los posibles *hits* fue la violación de alguna de las reglas de Lipinski. En esta ocasión todas las moléculas cumplen las reglas por lo que nos fijamos en la actividad antimalárica que presentan cada una de ellas, eligiendo aquella cuya actividad sea mayor del 95% para ambas cepas de *P. falciparum* (3D7 (sensible a la cloroquina) y Dd2 (resistente a múltiples fármacos)).

Por lo tanto, para el desarrollo de esta familia de compuestos el *hit* seleccionado es:

HIT CHEMBL-587610



MW 310.78
A LogP 3.81
PSA 45.15
HBA 3
HBD 2
Ro5 Vio. 0

% Inhibition 3D7 (2 μ M) 99
% Inhibition Dd2 (2 μ M) 100
% Inh. 3D7 PFLDH (2 μ M) 0
pXC50 3D7 7.12 (74.32 nM)
% Inh. HEPG2 (10 μ M) 4
Inh. Frequency Index 4.62
Chemical Cluster NR 804
Graph Frame Cluster 255

El punto de partida en esta familia es similar al descrito anteriormente para la familia portadora del anillo de diazepina (actividad *in vitro* en el ensayo LDH y falta de actividad *in vivo* en el modelo murino de *P. berghei*).¹¹⁵ La aproximación química seguida para la expansión del *hit* es el mantenimiento de la unidad estructural central de aminopiridina, llevando a cabo la exploración de los dos anillos de fenilo adyacentes mediante la introducción de átomos de flúor en lugar de átomos de cloro. Ello hará disminuir la lipofilia global y el peso molecular, lo que conllevará una mejora de las propiedades fisicoquímicas.

Asimismo, con el fin de disminuir la posible oxidación metabólica del alcohol bencílico presente en el *hit*, se seguirá la clásica estrategia de homologación de cadena mediante la introducción de un grupo metileno adicional que aleja la posición bencílica del átomo de oxígeno, haciéndola así menos reactiva desde el punto de vista metabólico.

Por otra parte, se llevarán a cabo transformaciones más arriesgadas desde el punto de vista biológico, tales como la introducción de un grupo isopropilamido, así como el bloqueo de los grupos amino y alcohol mediante la preparación de la correspondiente amina terciaria y etil-éter, respectivamente. Con estas transformaciones se pretende estudiar el efecto de la eliminación de los dadores de enlaces de hidrógeno sobre la actividad biológica.

Finalmente, con el objetivo de comprender la influencia del átomo de nitrógeno de la piridina en la actividad biológica se preparará un análogo del *hit* que llevará como núcleo central un anillo de pirimidina en el que los dos nitrógenos del anillo se encuentran en posición contigua a los sustituyentes. Además, como el núcleo de piridina no es muy estable metabólicamente, se considerará la posibilidad de proteger las posiciones α al nitrógeno (C-2 y C-6) mediante la introducción de agrupaciones alquílicas.

¹¹⁵Jiménez-Díaz, M.B.; Viera, S.; Ibáñez, J.; Mulet, T.; Magán-Marchal, N.; Garuti, H. et al. *PLoS ONE*, **2013**, *8*(6), e66967.

4.2.2 INTRODUCCIÓN

La modificación funcional del núcleo de piridina es un área de investigación muy versátil y de gran interés para la comunidad científica debido a que este núcleo se encuentra presente en numerosos productos naturales, sustancias biológicamente activas y materiales funcionales.^{116,117}

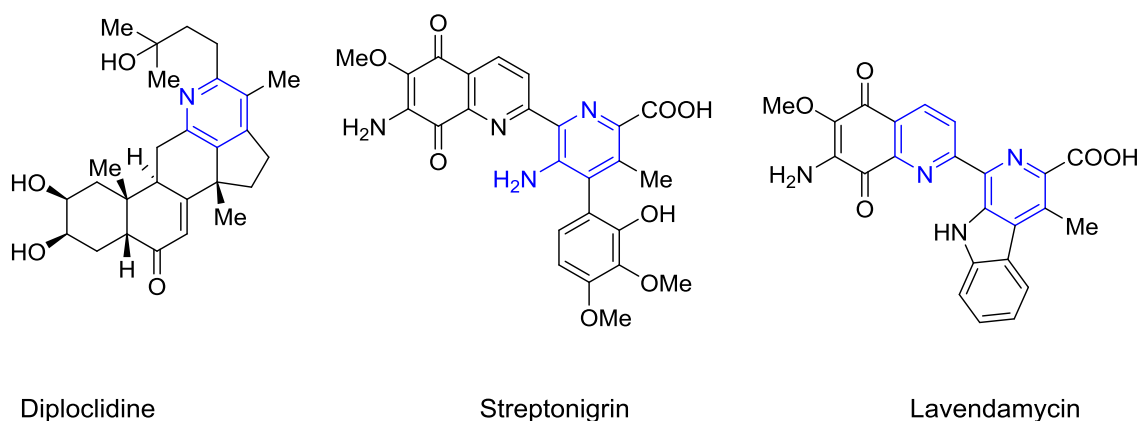


Figura 1.13 Productos naturales con núcleo de piridina^{118,119}

Además, las piridinas sustituidas son consideradas estructuras privilegiadas en química supramolecular debido a su capacidad formadora de enlaces de hidrógeno y su capacidad de dar interacciones de tipo π -stacking.¹²⁰

En el ámbito de la química médica, las piridinas funcionalizadas abarcan un amplio espectro de aplicaciones biológicas tales como antioxidantes,¹²¹ antimicrobianos,¹²²

¹¹⁶a) O'Hagan, D. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 435. b) Pinder, A. R. *Nat. Prod. Rep.* **1992**, *9*, 491. c) Plunkett, A. O. *Nat. Prod. Rep.* **1994**, *11* (5), 581.

¹¹⁷Schworer, M.; Volf, H. C., *Wiley-VCH, Weinheim*, **2005**.

¹¹⁸Jayasinghe, L.; Jayasooriya, C. P.; Hara, N; Fujimoto, Y., *Tetrahedron Lett.*, **2003**, *44*, 8769-8771.

¹¹⁹Bringmann G.; Reichert Y.; Kane V. V., *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 3539-3574.

¹²⁰a) Tu S.; Jia R.; Jiang B.; Zhang J.; Zhang Y.; Yao C.; Ji S., *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 381-388. b) Krohnke F., *Synthesis*, **1976**, 1-24. c) Neve F.; Crispini A.; Campagna S., *Inorg. Chem.*, **1997**, *36*, 6150-6256. d) MacGillivray L. R.; Diamente P. R.; Reid J. L.; Ripmeester J. A.; *Chem. Commun.*, **2000**, 359-360.

¹²¹Chaban, T.I.; Ogurtsov, V.V.; Chaban, I.G.; Klenina, O.V.; Komarytsia, J.D. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2013**, *188*, 1611-1620.

¹²²Janardhan, B.; Vijayalaxmi, S.; Rajitha, B. *J. Heterocycl. Chem.* **2013**, *50*, 1230-1235.

inhibidores de acetilcolinesterasa,¹²³ antibacterianos,^{124,125} anticancerígenos,^{126,127} anti VHB,¹²⁸ etc.

En cuanto a aplicaciones agroquímicas, algunos derivados de piridina pueden actuar como antifúngicos contra *Ralstonia solanacearum*,¹²⁹ *Cerospora beticola sacc.*,¹³⁰ *Colletotrichum orbiculare*¹³¹, etc. A continuación se muestran algunos fungicidas que han sido desarrollados y comercializados.

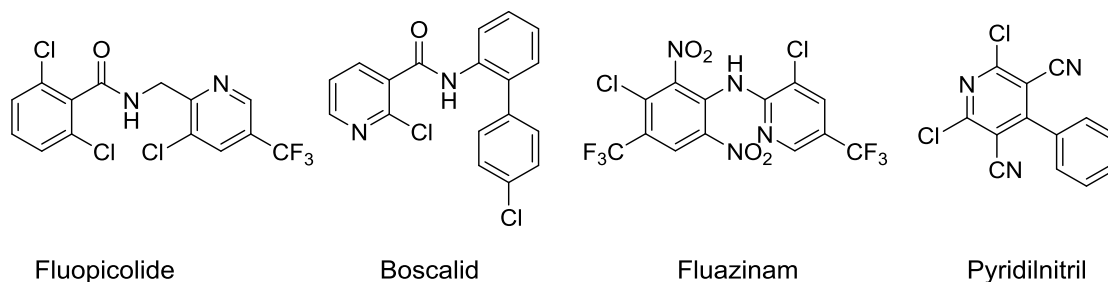


Figura 1.14 Ejemplos de fungicidas con núcleo de piridina

Considerando el amplio rango de aplicaciones que muestran las piridinas funcionalizadas, el diseño y desarrollo de nuevas metodologías para la síntesis de derivados de piridina ha atraído la atención tanto de químicos sintéticos como de químicos médicos.

4.2.2.1 APLICACIONES BIOLÓGICAS ASOCIADAS AL NÚCLEO DE AMINOPIRIDINA.

La 4-aminopiridina (4-AP) es un medicamento que bloquea los canales de potasio de las neuronas mejorando la conducción de los impulsos nerviosos. Fue aprobado por la FDA en 2010 para el tratamiento de esclerosis múltiple¹³² mejorando principalmente la

¹²³Szymański, P.; Lázníčková, A.; Lázníček, M.; Bajda, M.; Malawska, B.; Markowicz, M.; Mikiciuk-Olasik, E. *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 10067-10090.

¹²⁴El-Emary, T.I.; El-Mohsen, S.S.A. *Molecules.* **2012**, *17*, 14464-14483.

¹²⁵Altalbawy, F.M.A. *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 2967-2979.

¹²⁶Al-Abdullah, E.S. *Molecules.* **2011**, *16*, 3410-3419.

¹²⁷Mohareb, R.M.; Fleita, D.H.; Sakka, O.K. *Molecules.* **2011**, *16*, 16-27.

¹²⁸Chen, D.; Liu, Y.J.; Zhang, S.L.; Guo, D.X.; Liu, C.H.; Li, S.; Gong, P. *Arch. Der. Pharm.* **2011**, *344*, 158-164.

¹²⁹Wu, J.; Kang, S.H.; Song, B.A.; Hu, D.Y.; He, M.; Jin, L.H.; Yang, S. *Chem. Cent. J.* **2012**, *6*, 28.

¹³⁰Li, D.J.; Long, D.Q.; Fu, H.Q. *Phosphorus Sulfur Silicon Relat. Elem.* **2006**, *181*, 2079-2087.

¹³¹Liu, X.H.; Pan, L.; Ma, Y.; Weng, J.Q.; Tan, C.X.; Li, Y.H.; Shi, Y.X.; Li, B.J.; Li, Z.M.; Zhang, Y.G. *Chem. Biol. Drug Des.* **2011**, *78*, 689-694.

¹³²Korenke A.R.; Rivey M.; Allington DR. *Ann Pharmacother* **2008**, *42* (10), 1458-65.

forma de caminar de los pacientes. También ha sido útil para el tratamiento del Síndrome de Lambert-Eaton.

Por otra parte, la tacrina, un derivado de la 4-AP, fue el primer fármaco anticolinesterásico aprobado por la FDA para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer,^{133,134} si bien ha dejado de emplearse actualmente por su hepatotoxicidad.

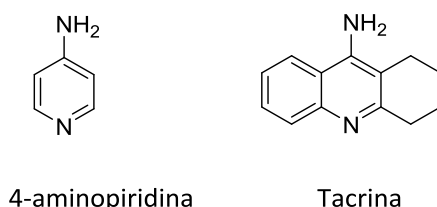


Figura 1.15 Ejemplo de fármaco con estructura de 4-AP

Una búsqueda detallada en la literatura, muestra como en la última década se han empleado numerosos esfuerzos en la síntesis y evaluación de nuevos derivados de 4-aminopiridina para el tratamiento de dolencias asociadas con el daño neurológico¹³⁵ y enfermedades cardiovasculares.¹³⁶

Un artículo reciente encontrado en la bibliografía, que resulta muy interesante para el desarrollo de la presente familia de aminopiridinas, es el descrito por Kelly Chibale y colaboradores.¹³⁷ El artículo describe cómo diferentes 3,5-diaril-2-aminopiridinas presentan propiedades antimaláricas vía monodosis orales suministradas a ratones y presentan un potencial candidato a fase clínica.

¹³³Andreania A.; Leonia A.; Locatellia A.; Morigia R.; Rambaldia M.; Pietrab C.; Villettib G. *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, 35, 77-82.

¹³⁴Sinha S.K.; Shrivastava S.K., *Med Chem Res*, **2012**, 21, 4395-4402.

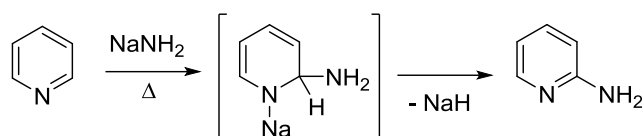
¹³⁵Smith D.T.; Shi R.; Borgens R.B.; McBride J.M.; Jackson K.; Byrn S.R. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, 40, 908-917.

¹³⁶Von der Saal, W.; Kucznierz R.; Leinert, H. Engh. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2007**, 7(10), 1283-1288.

¹³⁷Chibale K. et all. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 3479-3487.

4.2.2.2 SÍNTESIS DESCRITAS EN LA FORMACIÓN DEL AMINOPIRIDINAS

En la literatura se pueden encontrar numerosas revisiones¹³⁸ donde se describen estrategias sintéticas para la obtención de derivados de piridina, entre los que se encuentran las aminopiridinas. Algunos métodos, incluyendo el de Chichibabin (esquema 1.1),¹³⁹ se basan en el carácter deficiente en electrones que presenta el anillo de piridina, donde las reacciones de sustitución nucleofílica están favorecidas en las posiciones 2 y 4 del anillo.



Esquema 1.28. Reacción de Chichibabin

Muchas sustituciones son experimentadas fácilmente cuando la piridina se encuentra sustituida con bromo, cloro o ácido sulfónico que hacen el papel de grupo saliente. Por otra parte, la química basada en las reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas por metales de transición ha ido ganando popularidad en los últimos años.

La reacción de aminación de Buchwald-Hartwig ha experimentado un gran desarrollo en la última década convirtiéndose en uno de los métodos más generales y eficaces para la formación de enlaces C-N. Aplicando el protocolo de aminación catalizada por paladio de Buchwald-Hartwig se han podido obtener un gran número de derivados de aminopiridina estructuralmente muy diversos,¹⁴⁰ empleando como materia de partida diferentes halopiridinas mono y disustituidas.^{141,142,143}

¹³⁸a) Hill M.D., *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 12052-12062; b) Chinchilla R.; Nájera C., Yus M., *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2667-2722; c) Mongin F., Quéguiner G., *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4059-4090.

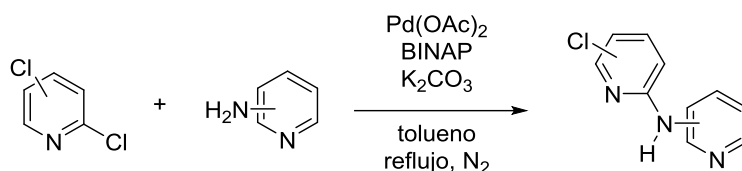
¹³⁹Chichibabin A. E.; Zeide O. A.; Russ J., *Phys. Chem. Soc.* **1914**, *46*, 1212-1215.

¹⁴⁰Jonckers T. H. M.; Maes B. U. W.; Lemièrre G. L. F. and Roger Dommissie, *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 7027-7034.

¹⁴¹Wolfe, J. P.; Timori, H.; Sadighi, J. P.; Ying, J.; Buchwald, S. L. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 1158.

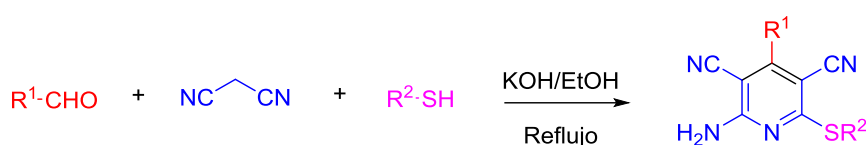
¹⁴²a) Marcoux, J. F.; Wagaw, S.; Buchwald, S. L. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1568. b) Nishiyama, M.; Yamamoto, T.; Koie, Y. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 617. c) Jaime-Figueroa, S.; Liu, Y.; Muchowski, J. M.; Putman, D. G. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *38*, 1.

¹⁴³Wagaw, S.; Buchwald, S. L. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7240.



Esquema 1.29. Condiciones de la reacción de aminación de Buchwald-Hartwig

La química combinatoria representa una alternativa mediante la cual se pueden obtener aminopiridinas altamente funcionalizadas mediante el uso de procesos multicomponente.¹⁴⁴



Esquema 1.30 MCR para la obtención de aminopiridinas funcionalizadas

4.2.3 OBJETIVOS

El objetivo principal consiste en la síntesis y evaluación biológica de una pequeña quimioteca de compuestos análogos al *hit* que, debido a los cambios conformacionales inducidos, sean capaces de aproximarse e incluso mejorar la actividad antimalárica del *hit*.

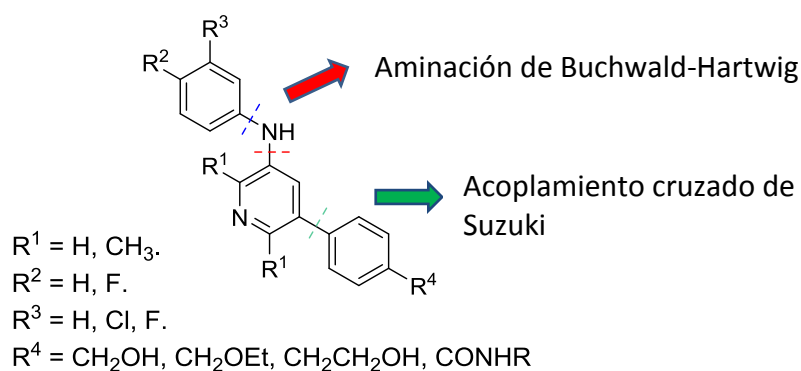
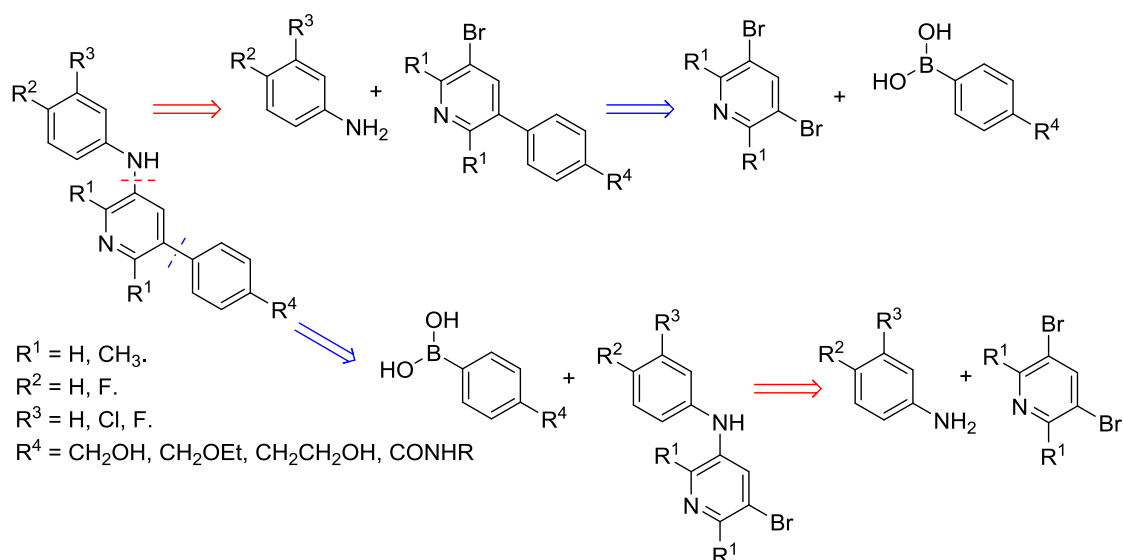


Figura 1.16. Derivados propuestos en la familia de las aminopiridinas

El análisis retrosintético planteado para la obtención de la familia de las aminopiridinas es el que se muestra a continuación.

¹⁴⁴Khan Md. N.; Pal S.; Parvinb T.; Choudhury L. H., *RSC Adv.*, **2012**, 2, 12305-12314.



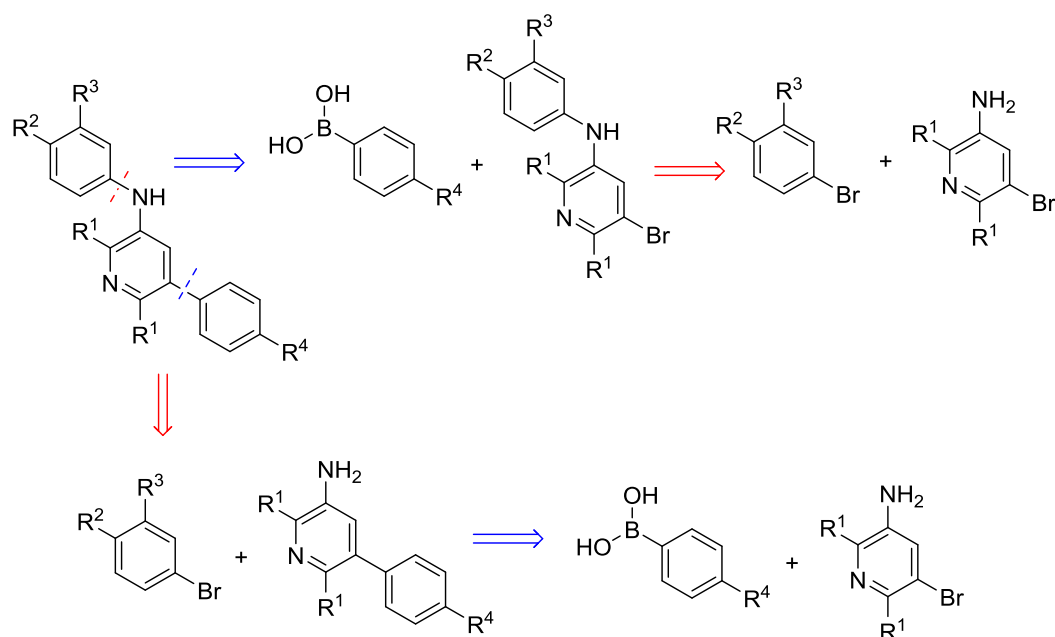
Esquema 1.31. Análisis retrosintético propuesto

Las etapas clave en la formación de estos compuestos son la aminación de anillos aromáticos catalizada por metales de transición¹⁴⁵ y un acoplamiento cruzado de Suzuki para la obtención de sistemas biarílicos.

El orden de las reacciones estará condicionado por la compatibilidad de las condiciones de reacción con los grupos funcionales presentes en los distintos núcleos aromáticos. Esta estrategia sintética nos permitirá introducir variabilidad funcional en la estructura mediante la desimetrización de la 3,5-dibromopiridina permitiendo realizar así un estudio lo más completo posible.

Otra estrategia posible a seguir es emplear como sustrato de partida la 3-amino-5-bromopiridina en lugar de la 3,5-dibromopiridina. Al tener la piridina doblemente funcionalizada se evita la desimetrización de la molécula, previendo mejores rendimientos (esquema 1.32).

¹⁴⁵Shetty Rupa S.; Lee Younghee; Liu Bin; Husain Arifa; Joseph Rhoda W.; Lu Yixin; Nelson David; Mihelcic John; Chao Wenchun; Moffett Kristofer K.; Schumacher Andreas; Flubacher Dietmar; Stojanovic Aleksandar; Bukhtiyarova Marina; Williams Ken; Lee Kyoung-Jin; Ochman Alexander R.; Saporito Michael S.; Moore William R.; Flynn Gary A.; Dorsey Bruce D.; Springman Eric B.; Fujimoto Ted; Kelly Martha J. *J. Med. Chem.*, **2011**, *54*, 179-200.



Esquema 1.32. Análisis retrosintético alternativo.

Una vez sintetizados todos los compuestos, serán sometidos a análisis biológicos para evaluar su capacidad farmacológica.

A la vista de los resultados de las evaluaciones biológicas y de los estudios estructurales se procederá en caso de ser necesario a una reevaluación y rediseño de los compuestos obtenidos.

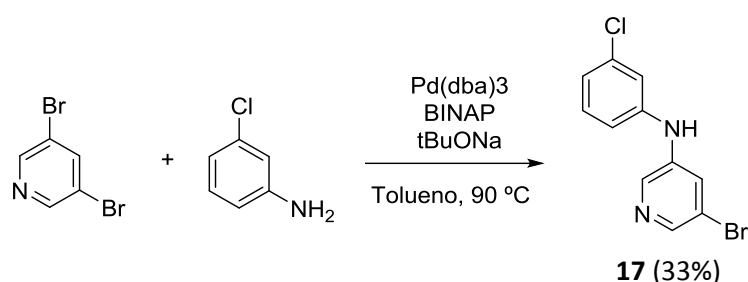
4.2.4 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Tal y como se observa en el análisis retrosintético descrito en el esquema **1.31** y **1.32**, las reacciones principales para la obtención de los productos finales de esta familia son: una reacción de aminación catalizada por paladio y una reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki.

La parte central de la molécula es una piridina sustituida en las posiciones 3 y 5. Teniendo en cuenta las transformaciones ideadas, en una primera aproximación se eligió como sustrato de partida la 3,5-dibromopiridina a partir del cual se puede llevar a cabo la síntesis mediante una reacción de desimetrización. Aprovechando la experiencia adquirida en la síntesis de la familia de las piperazinas y dado que las reacciones que se llevan a cabo son muy similares, la preparación de los derivados de aminopiridinas se logró de manera rápida y sencilla.

La primera reacción que se ensayó fue la aminación catalizada por paladio. Las reacciones de sustitución electrofílica en la piridina están desfavorecidas debido a la baja densidad de carga que presenta el anillo y, en caso de suceder, tienen lugar en las posiciones 3 y 5, que son los átomos de carbono más ricos en electrones. En cambio, las sustituciones nucleófilas ocurren usualmente en las posiciones 2 y 4 de la piridina.

Lo que se pretende en este caso es llevar a cabo una reacción de aminación en la posición 3 de la piridina, posición muy desactivada para sustituciones nucleofílicas. Por esa misma razón fue imprescindible recurrir a la catálisis.

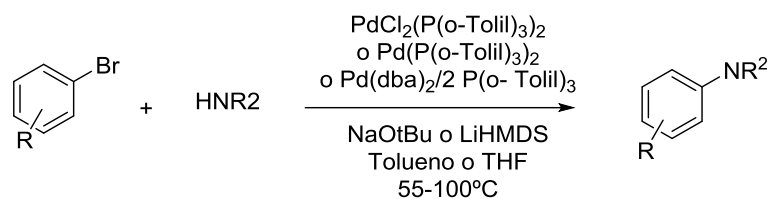


Esquema 1.33 Reacción de aminación catalizada por paladio

Este tipo de reacción se conoce con el nombre de aminación de Buchwald-Hartwig.¹⁴⁶ Se trata de una reacción que se emplea comúnmente en química orgánica para la formación de enlaces C-N a través de una reacción de acoplamiento cruzado catalizada por paladio de aminas y haluros de arilo. Esta reacción suple las deficiencias de otros métodos típicos (sustitución nucleófila, aminación reductora, etc.) mejorando la reactividad y la tolerancia frente a grupos funcionales. El primer ejemplo de una reacción catalizada por paladio para la formación de enlaces C-N fue descrita por Migita y colaboradores en 1983 donde se describe una reacción entre varios bromuros de arilo y N,N-dietilamino-tributil estaño utilizando un 1% en moles de $\text{PdCl}_2(\text{P}(o\text{-tolil})_3)_2$.¹⁴⁷ Varios años después, en 1995, estudios llevados a cabo tanto por el laboratorio de Buchwald como por el de Hartwig revelaron la posibilidad de emplear aminas libres sin necesidad de acoplamiento con reactivos de estaño, cuando la reacción se lleva a cabo en presencia de bases voluminosas.

¹⁴⁶Hartwig, J F., *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2046-2067.

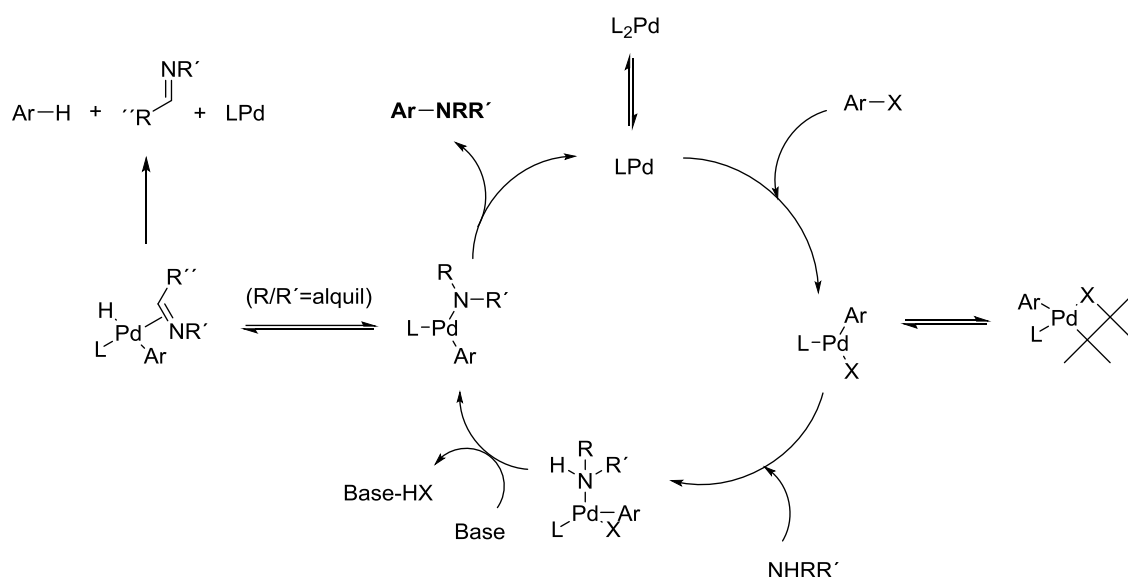
¹⁴⁷Kosugi, M.; Kameyama, M.; Migita, T. *Chemistry Letters* **1983**, *12* (6), 927-928.



Esquema 1.34. Condiciones de la reacción de aminación de Buchwald-Hartwig

A pesar de que la velocidad de la reacción mejora notablemente, la reacción se limita casi exclusivamente a las aminas secundarias ya que entra en competición la hidrodeshalogenación de los bromoarenos.¹⁴⁸

El ciclo catalítico es el siguiente:



Esquema 1.35. Ciclo catalítico de la aminación de Buchwald-Hartwig¹⁴⁹

Se ha demostrado que el mecanismo de esta reacción procede a través de pasos similares a los conocidos para las reacciones de acoplamiento C-C catalizadas por paladio, es decir, en primer lugar se produce una adición oxidante seguida de la formación del complejo paladio-amina (en lugar de transmetalación), y finalmente una eliminación reductora.¹⁵⁰

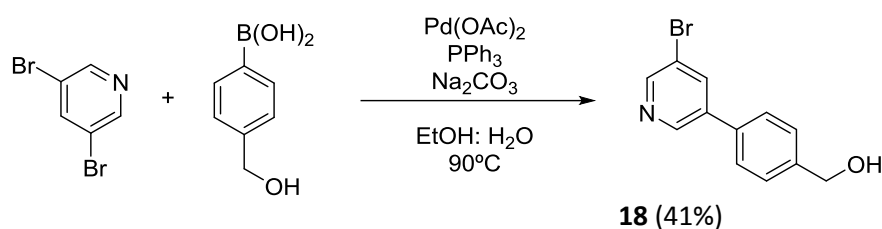
¹⁴⁸a) Louie, J.; Hartwig, J.F. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36 (21), 3609-3612. b) Guram, A.S; Rennels, R.A; Buchwald, S.L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1995**, 34 (12), 1348-1350.

¹⁴⁹Driver, M.S.; Hartwig, J.F. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119 (35), 8232-8245.

¹⁵⁰Hartwig, J.F., *Pure Appl. Chem.* **1999**, 71 (8), 1416-1423.

Volviendo al caso que nos ocupa, la reacción de aminación se llevó a cabo empleando las condiciones generales descritas en la bibliografía, que suponían el uso de $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ como fuente de Pd (0), BINAP como ligando bidentado de fosfina (se cree que los ligandos bidentados previenen la formación del dímero de bromuro de paladio después de la adición oxidante, y aceleran por lo tanto la reacción),¹⁵¹ tert-butoxido sódico como base fuerte y voluminosa y tolueno como disolvente (Esquema 1.33). La reacción no transcurrió con buenos rendimientos (33%). Esto pudo ser debido a diversas razones: competición con la β -eliminación, la baja reactividad de la 3,5-dibromopiridina, la calidad del t-BuONa, la parcial desimetrización de la 3,5-dibromopiridina, etc.

Por otra parte, se probó la desimetrización de la 3,5-dibromopiridina mediante una reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki con un ácido fenilborónico. En una primera aproximación se empleó un ácido fenilborónico que incluía en su estructura el grupo hidroximetilo presente en el *hit* seleccionado.



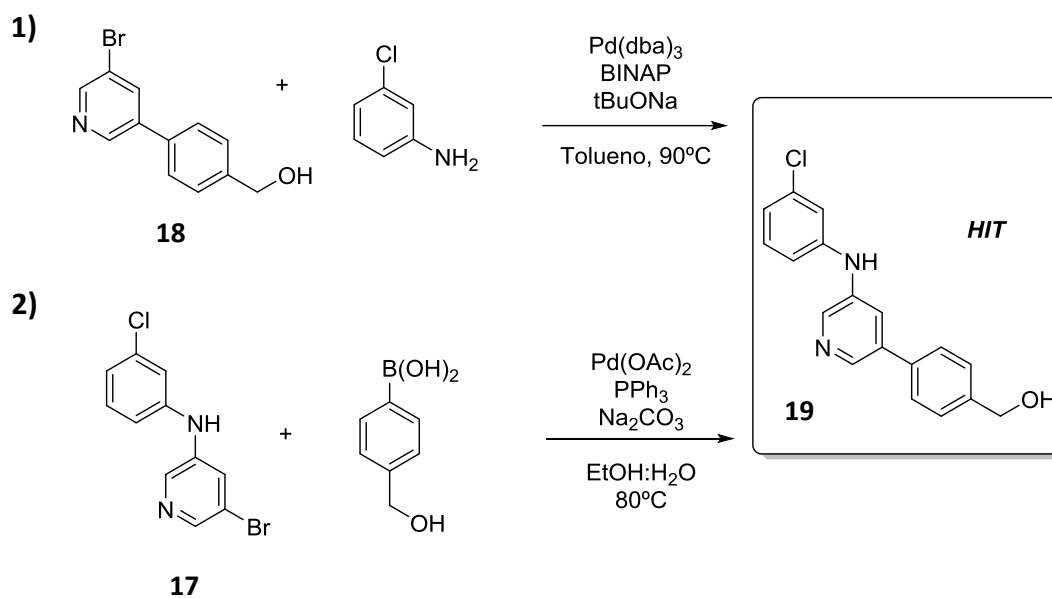
Esquema 1.36. Desimetrización de la 3,5-dibromopiridina.

A pesar de los buenos resultados que se habían obtenido anteriormente para este tipo de reacción, en este caso el rendimiento fue algo menor (41%). Ello es debido a que el acoplamiento cruzado transcurre lentamente, bien por impedimentos estéricos o por efectos electrónicos, y por ello tiene lugar de manera competitiva el homoacoplamiento del ácido aril borónico. Este homoacoplamiento o dimerización depende del tipo de sustrato y de las condiciones de reacción. Así pues, los sustituyentes dadores de electrones en el ácido aril borónico favorecen el homoacoplamiento, mientras que los ácidos arilborónicos con grupos electrón-atrayentes no lo favorecen. Por otra parte, se ha comprobado que la presencia de oxígeno acelera la dimerización. En este caso, el producto de homoacoplamiento se aisló y se determinó por ^1H RMN donde se observaron

¹⁵¹Driver, M.S.; Hartwig, J.F., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7217-7218.

ocho protones aromáticos, un singlete ancho a 5.26 ppm que corresponde a los dos grupos OH y una señal a 4.58 ppm correspondiente a los cuatro protones de los dos CH₂.

Una vez se obtuvieron los diferentes sintones que componen el *hit* de la familia de las aminopiridinas, se realizaron las pruebas descritas en el esquema 1.37 con el objetivo de decidir qué orden de reacción es el más adecuado desde el punto de vista sintético.



Esquema 1.37. Estudio del orden de las reacciones para la obtención del *hit*

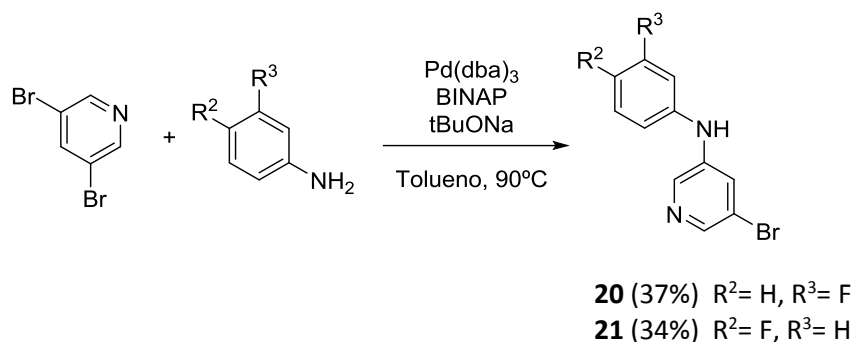
La primera reacción no dio buenos resultados. Un análisis de la mezcla de reacción por capa fina reveló la formación de una mezcla de productos difíciles de separar por cromatografía de columna. Además, se observó gran cantidad del compuesto **18** sin reaccionar.

Por otra parte, la segunda reacción condujo a la obtención del compuesto **19** pero con un rendimiento bastante bajo (34%). El producto mayoritario que se aisló fue el producto de homoacoplamiento. Para intentar mejorar el rendimiento de la reacción se decide cambiar el disolvente, empleando en este caso una mezcla DME: EtOH (9:1).¹⁵²

En esta mezcla de disolventes la reacción de homoacoplamiento transcurre más lentamente, obteniéndose el compuesto **19** con un **76%**.

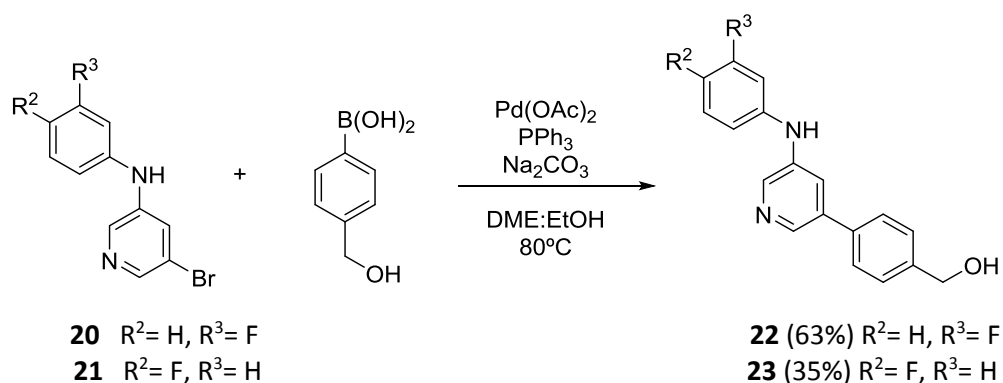
¹⁵²Liu C.; Ni Q., Bao F.Y.; Qiu J. S, *Green Chem.*, **2011**, *13*, 1260-1266.

Así pues, teniendo claro el orden de las reacciones (en primer lugar la aminación de Buchwald-Hartwig y en segundo lugar el acoplamiento de Suzuki) se prepararon las siguientes aminopiridinas, empleando para ello las condiciones generales de la aminación de Buchwald-Hartwig.



Esquema 1.38. Obtención de los compuestos **20** y **21** empleando las condiciones generales de la aminación de Buchwald-Hartwig

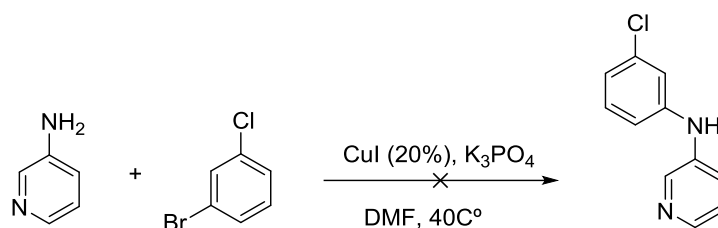
Una vez sintetizados los compuestos **20** y **21** se llevó a cabo un acoplamiento de Suzuki obteniéndose dos compuestos finales en los que se ve afectada la posición y el átomo del halógeno con respecto al *hit*.



Esquema 1.39. Obtención de los compuestos **22** y **23** por acoplamiento de Suzuki

En un intento de mejorar el rendimiento obtenido en la reacción de aminación se decidió realizar unas pruebas empleando en esta ocasión la 3-amino-5-bromopiridina en lugar de la 3,5-dibromopiridina. Así pues, dados los inconvenientes observados en el transcurso de la reacción cuando se emplea catálisis de paladio, se decide ensayar paralelamente dos propuestas sintéticas basadas en catálisis de Cu (I) y Cu (II). En el primero de los casos y a modo de ensayo, se hizo reaccionar 3-aminopiridina con 3-

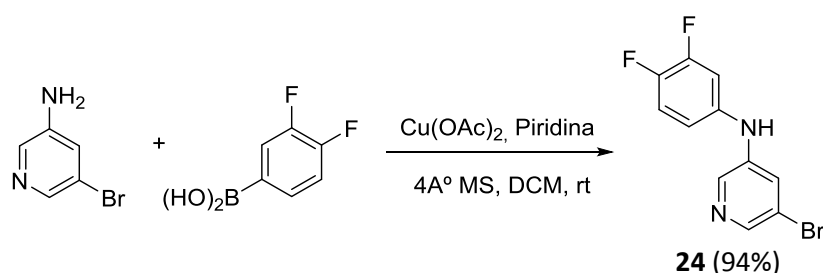
clorobenceno empleando catálisis mediada por CuI y K₃PO₄ como base, condiciones de reacción típicas para la reacción de acoplamiento de tipo Ullmann.¹⁵³



Esquema 1.40. Reacción de acoplamiento de Ullmann

Tras procesar la mezcla de reacción y analizar los espectros de RMN se llegó a la conclusión de que la reacción no evoluciona según lo esperado observándose gran cantidad de sustrato de partida sin reaccionar. Por lo tanto, se decidió abandonar momentáneamente este tipo de metodología sintética para centrar los estudios en el acoplamiento catalizado por sales de Cu (II).¹⁵⁴

En este caso la reacción se llevó a cabo empleando como sustrato de partida 3-amino-5-bromopiridina, Cu(OAc)₂ como catalizador y piridina como base para favorecer el acoplamiento.¹⁵⁵ La diferencia con respecto a la reacción anterior (esquema 1.40) radica en que el acoplamiento no se realiza empleando un haluro de arilo, sino que en este caso se trata de un ácido fenilborónico comercial.¹⁵⁶ En un primer ensayo, se empleó el ácido 3,4- difluorofenilborónico debido a su disponibilidad en el laboratorio.



Esquema 1.41. Reacción de aminación aromática catalizada por una sal de Cu (II)

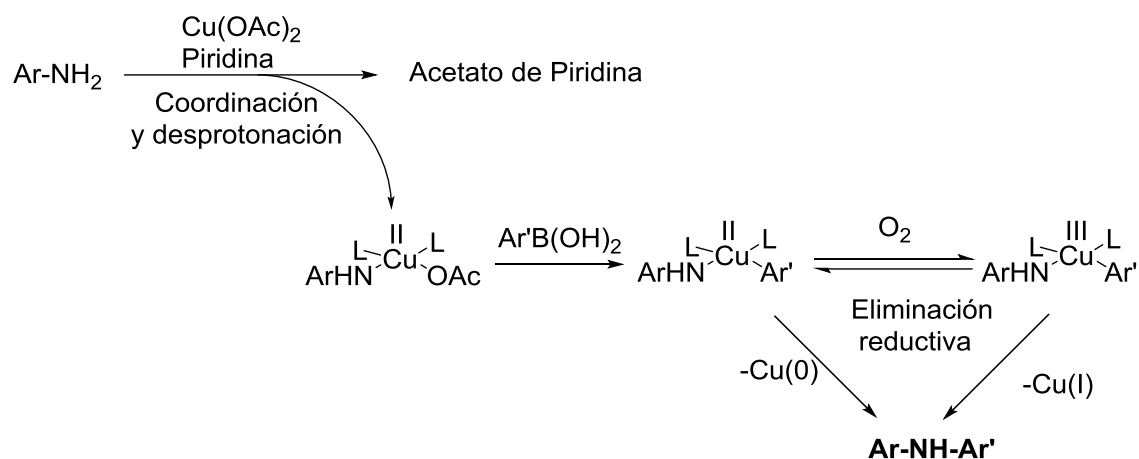
¹⁵³Zhu L.; Li G.; Luo L.; Guo P.; Lan J.; You J., *J. Org. Chem*, **2009**, *74*, 2200-2202.

¹⁵⁴Chan, D. M. T.; Monaco, K. L.; Wang R.-P.; Winters, M. P., *Tetrahedron letters*, **1998**, *39*, 2933-2936.

¹⁵⁵Lam, P. Y. S.; Clark, C. G.; Saubern, S.; Adams, J.; Winters, M. P.; Chan, D. M. T.; Combs, A., *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 2941-2944.

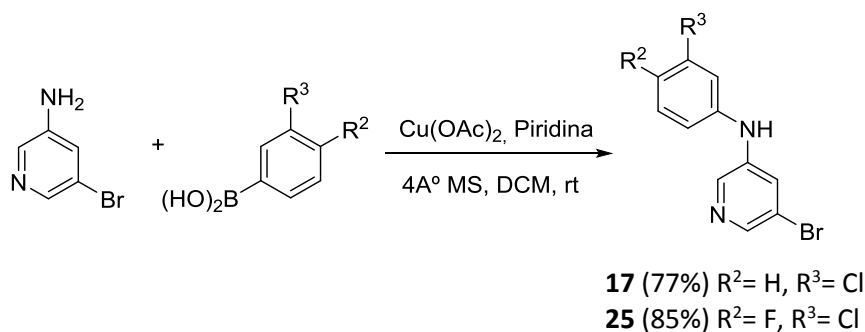
¹⁵⁶Cuthbertson E., *Boronic Acids: Properties and Applications*, Alfa Aesar, a Johnson Matthey Company, Heysham, UK.

El compuesto **24** se obtuvo después de purificarlo por cromatografía de columna con un rendimiento excelente (94%). Este tipo de reacción, similar a un acoplamiento de Chan-Lam, permite la formación de un enlace C-heteroátomo a partir de los reactivos mencionados anteriormente. A continuación, se muestra un esquema general del mecanismo catalítico por el que transcurre esta reacción.



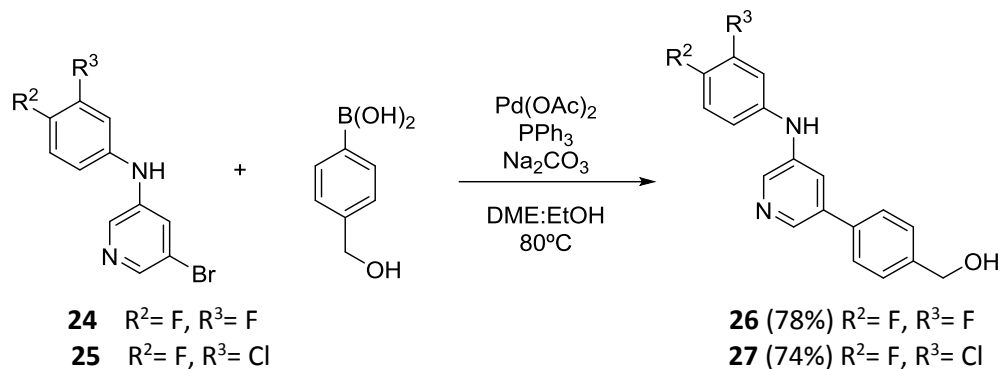
Esquema 1.42. Mecanismo de la reacción de aminación catalizada por Cu (II)

Así pues, a partir de esta metodología sintética se preparó de nuevo el compuesto **17** obteniéndose un rendimiento del 77%, mucho mejor que el que se obtuvo empleando las condiciones de Buchwald-Hartwig (33%). Del mismo modo se obtuvo el compuesto **25** con un rendimiento del 85% (esquema 1.43). Por lo tanto, se puede concluir que la reacción de aminación catalizada por Cu (II) resulta más conveniente que la aminación de Buchwald-Hartwig cuando esta tiene lugar en la posición 3 de la piridina. Además, el acoplamiento de Chan-Lam presenta la ventaja de que las reacciones se pueden llevar a cabo a temperatura ambiente y en presencia de aire.



Esquema 1.43. Obtención de los compuestos **17** y **25** por acoplamiento de Chan-Lam

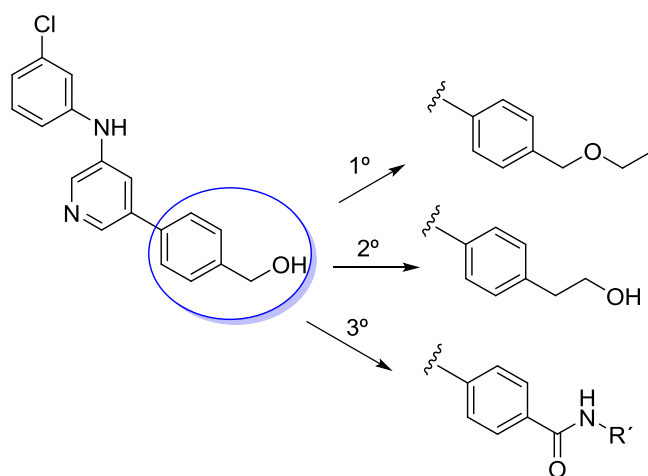
Una vez obtenidas las aminopiridinas correspondientes se procedió a la preparación de los compuestos finales análogos al *hit* mediante una reacción de acoplamiento de Suzuki, tal y como se ha mencionado en apartados anteriores.



Esquema 1.44. Obtención de los compuestos finales **26** y **27** mediante una reacción de acoplamiento de Suzuki.

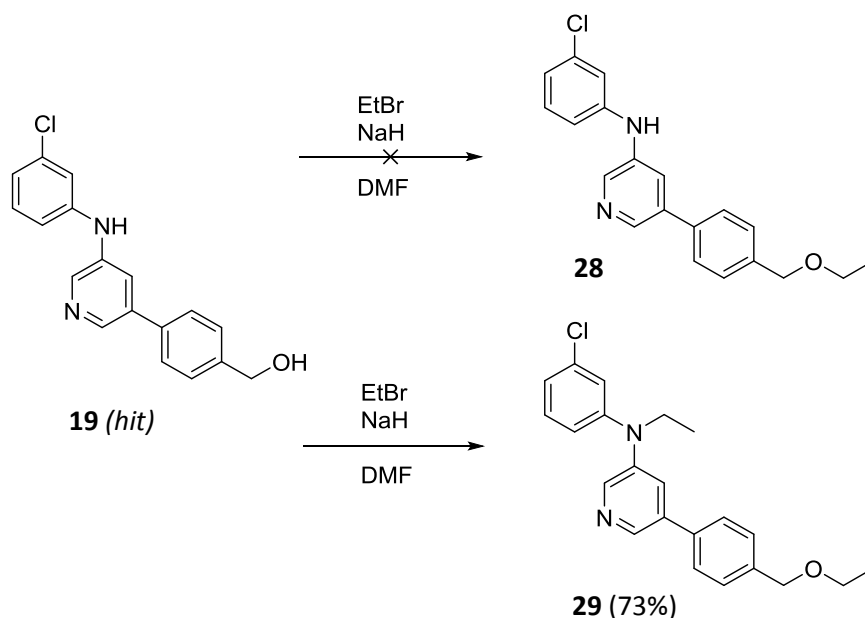
Una vez introducidas las modificaciones adecuadas en el anillo de fenilo, se procedió a realizar transformaciones en la parte correspondiente al biarilo. Para la preparación de derivados funcionalizados en la agrupación biarílica se emplearon ácidos fenilborónicos funcionalizados. La manipulación de la agrupación hidroximetilo nos aportará información relevante sobre el papel que juega dicha agrupación.

Es por esta razón que en una primera aproximación se estudió la preparación de sistemas como los que se propone en el esquema siguiente.



Esquema 1.45. Diferentes funcionalizaciones del grupo hidroxilo.

La primera aproximación implica la protección del alcohol en forma de etil éter dada la mayor estabilidad metabólica de los etil éteres frente a los metil éteres. Para llevar a cabo esta transformación se empleó bromuro de etilo, utilizado comúnmente para este tipo de reacción.



Esquema 1.46. Reacción de O-alkilación.

Aunque en un principio el compuesto **29** no estaba propuesto como producto final, este análogo también puede tener propiedades antimaláricas y por lo tanto se someterá a ensayos biológicos junto al resto de compuestos. Para ver si la reacción de etilación sucede primero a través del OH o del NH se repitió la reacción empleando en este caso un equivalente de bromuro de etilo y 1.2 equivalentes de NaH. De esta forma se obtuvo el compuesto monoetilado. Si se tiene en cuenta el impedimento estérico, cabría decir que el compuesto se ha etilado en el OH. En cambio, si tenemos en cuenta la basicidad, el átomo de N es más básico que el átomo de O y por lo tanto el compuesto se habrá N-etilado. Un análisis exhaustivo del RMN revela que el compuesto obtenido es el N-etilado, ya que no se observa la banda ancha del NH y se mantiene la banda característica del OH. Además, se realiza un experimento NOE que confirma nuestra hipótesis. Por lo tanto, el compuesto que se obtiene es el que se muestra en la siguiente figura.

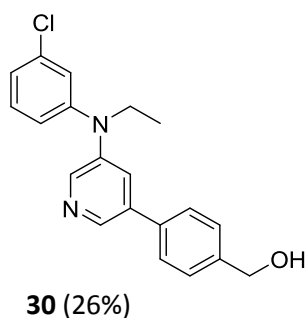
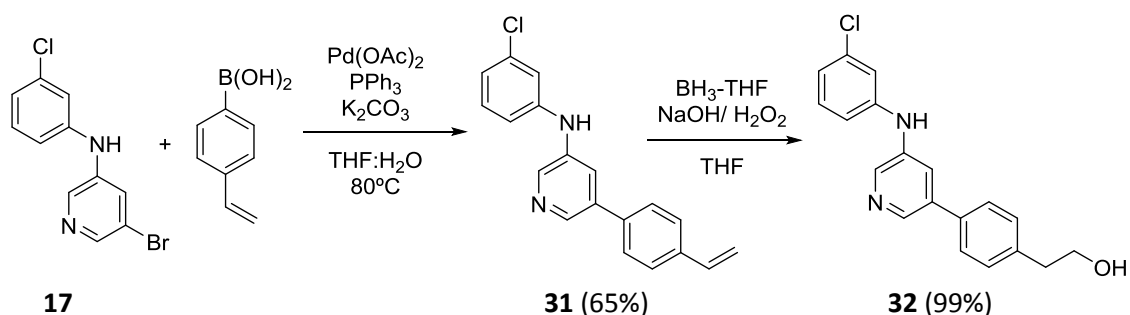


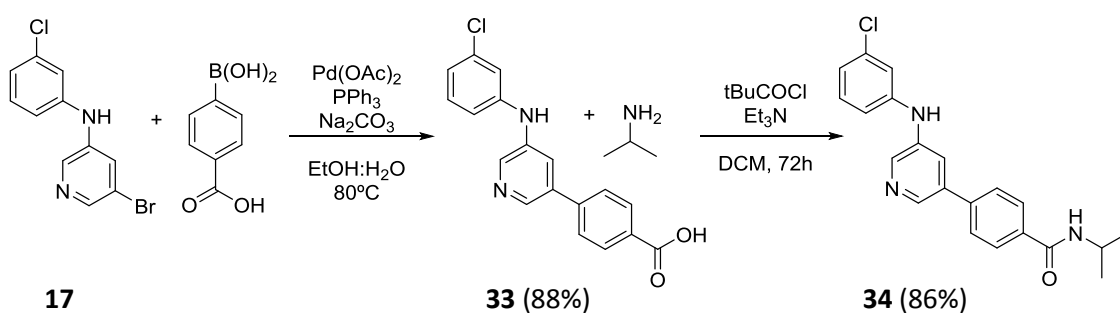
Figura 1.17. Reacción de *N*-alquilación.

La segunda aproximación según el esquema **1.45** implicaba la elongación de la cadena hidroxilada en un átomo de carbono. Para ello, se llevó a cabo una reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki seguida de una reacción de hidrobromación-oxidación que nos proporcionó el grupo hidroxietilo derivado.



Esquema 1.47. Obtención del compuesto **32**.

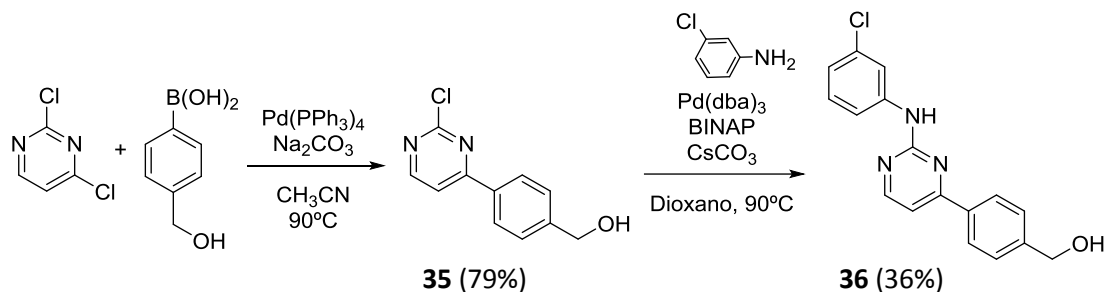
Por otra parte, la preparación de amidas *N*-sustituidas nos permitiría evaluar el cambio de actividad mostrada y abrir un amplio abanico de posibilidades y de diversidad estructural. La amida **34** se preparó a partir del ácido carboxílico correspondiente mediante una reacción de acoplamiento típica para la preparación del enlace peptídico.



Esquema 1.48 Obtención del compuesto **34**

Finalmente, con el objetivo de comprender la influencia del átomo de nitrógeno de la piridina en la actividad biológica, se preparó un análogo del *hit* que lleva como núcleo

central un anillo de pirimidina. La modificación del anillo de piridina por uno de pirimidina resulta un cambio bastante grande, que puede conllevar una gran variación en la actividad antimalárica.



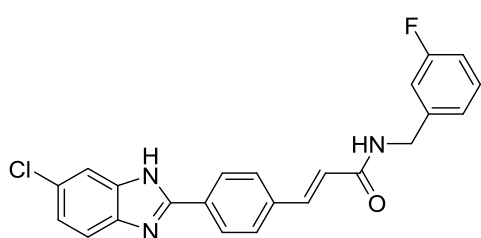
Esquema 1.49. Obtención del análogo **36** que contiene un anillo de pirimidina.

Una vez sintetizados todos los compuestos finales, éstos se analizaron por HPLC, estando el grado de pureza en el intervalo 95-100%. Este es el rango que habitualmente exigen las empresas farmacéuticas para analizar biológicamente los compuestos, así que todos los compuestos fueron aptos para ser analizados.

4.3 DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS LA FAMILIA DE LOS BENZIMIDAZOLES.

4.3.1 ELECCIÓN DEL HIT

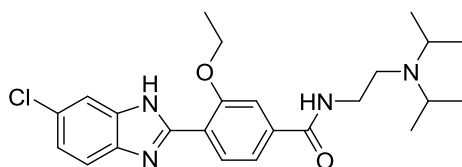
Al igual que en los casos anteriores se realizó una búsqueda en la base de datos de GSK manteniendo en este caso intacto el núcleo de benzimidazol. Algunos ejemplos seleccionados de estructuras interesantes de compuestos con elevada actividad y baja toxicidad que pertenecen a esta familia son los siguientes:



CHEMBL-529227
TCMDC-140444

MW 405.85
AlogP 5.40
PSA 57.78
HBA 2
HBD 2
#Ro5 Vio. 1

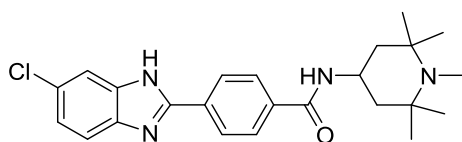
%Inhibition 3D7 (2uM) 99
%Inhibition Dd2 (2uM) 68
%Inhibition 3D7 PFLDH (2uM) 2
pXC50 3D7 6.19 (639.97nM)
%Inhibition HEPG2 (10uM) 1
Inhibition Frequency Index 5.07
Chemical Cluster NR 247
Graph Frame Cluster 159



CHEMBL-587778
TCMDC-140910

MW 442.98
AlogP 5.07
PSA 70.24
HBA 4
HBD 2
#Ro5 Vio. 1

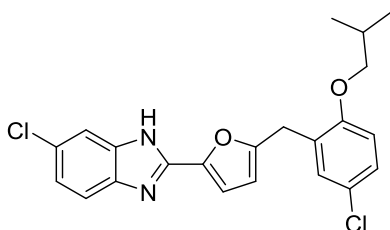
%Inhibition 3D7 (2uM) 100
%Inhibition Dd2 (2uM) 90
%Inhibition 3D7 PFLDH (2uM) 2
pXC50 3D7 6.10 (778.02nM)
%Inhibition HEPG2 (10uM) 4
Inhibition Frequency Index 1.41
Chemical Cluster NR 94
Graph Frame Cluster 236



CHEMBL-586627
TCMDC-139250

MW 459.41
AlogP 5.08
PSA 61.02
HBA 3
HBD 2
#Ro5 Vio. 1

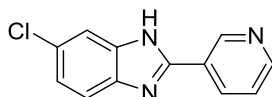
%Inhibition 3D7 (2uM) 98
%Inhibition Dd2 (2uM) 97
%Inhibition 3D7 PFLDH (2uM) 4
pXC50 3D7 6.13 (730.30nM)
%Inhibition HEPG2 (10uM) 8
Inhibition Frequency Index 3.82
Chemical Cluster NR 97
Graph Frame Cluster 95



CHEMBL-531089
TCMDC-136546

MW 415.31
A LogP 7.01
PSA 51.05
HBA 2
HBD 1
#Ro5 Vio. 1

%Inhibition 3D7 (2uM) 97
%Inhibition Dd2 (2uM) 96
%Inhibition 3D7 PFLDH (2uM) 0
pXC50 3D7 6.03 (925.47nM)
%Inhibition HEPG2 (10uM) 19
Inhibition Frequency Index 19.05
Chemical Cluster NR 173
Graph Frame Cluster 108



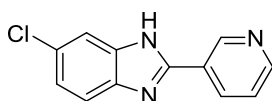
CHEMBL-531089
TCMDC-136546

MW 229.67
A LogP 2.78
PSA 41.57
HBA 2
HBD 1
Ro5 Vio. 0

% Inhibition 3D7 (2uM) 92
% Inhibition Dd2 (2uM) 97
% Inhibition 3D7 PFLDH (2 uM) 2
pXC50 3D7 7.41 (38.35 uM)
% Inhibition HEPG2 (10 uM) 0
Inhibition Frequency Index 1.33
Chemical Cluster NR 1232
Graph Frame Cluster 236

Todos estos compuestos presentan un átomo de halógeno (Cl) en el anillo bencénico del benzimidazol y un anillo aromático o heteroaromático en la posición 2 del benzimidazol. Los cuatro primeros compuestos (**CHEMBL-529227**, **CHEMBL-587778**, **CHEMBL-586627** y **CHEMBL-531089**) violan al menos una regla de Lipinski (Log P > 5). Asimismo, estos compuestos tienen pesos moleculares bastante elevados y cercanos al máximo señalado por las reglas de Lipinski, de manera que para el desarrollo de esta familia de compuestos el *hit* seleccionado en este caso es:

HIT CHEMBL-531089



MW 229.67
A LogP 2.78
PSA 41.57
HBA 2
HBD 1
Ro5 Vio. 0

% Inhibition 3D7 (2uM) 92
% Inhibition Dd2 (2uM) 97
% Inhibition 3D7 PFLDH (2 uM) 2
pXC50 3D7 7.41 (38.35 uM)
% Inhibition HEPG2 (10 uM) 0
Inhibition Frequency Index 1.33
Chemical Cluster NR 1232
Graph Frame Cluster 236

Se trata de un benzimidazol clorado con un anillo de piridina unido a la posición C2. La síntesis de este tipo de compuestos es sencilla y está muy bien documentada. Resulta ser un farmacóforo que presenta muchas de las características que pueden hacer a una molécula biológicamente activa: la lipofilia que aporta el anillo de fenilo fusionado, el nitrógeno de tipo pirrólico que puede actuar como donador de enlace de hidrógeno y un átomo de nitrógeno piridínico que aporta basicidad y actúa como aceptor de enlace de hidrógeno.

Además, se puede introducir diversidad con facilidad, tanto en el anillo bencénico del benzimidazol, como en el anillo piridínico. Cumple con las reglas de Lipinski (#Ro5 Vio.= 0), tiene un peso molecular adecuado, pero todavía podría permitir la introducción de complejidad. De hecho, es de esperar que este compuesto esté protonado a pH fisiológico, por lo que, debido a su pequeño tamaño, es posible que no sea capaz de penetrar barreras celulares y podría por tanto ser inactivo en seres humanos. Este problema se podría solucionar aumentando la lipofilia de la molécula que debe ser muy baja a pH fisiológico. Esto se puede conseguir incrementando la complejidad del compuesto. En este sentido es conocido los cambios de lipofilia de los compuestos como consecuencia, por ejemplo, de la introducción de átomos de flúor en la estructura.

4.3.2 INTRODUCCIÓN

El núcleo de benzimidazol se encuentra presente en una gran variedad de compuestos naturales como por ejemplo la vitamina B12 y sus derivados. Estructuralmente es similar a las bases púricas y se caracteriza por la fusión de un anillo de benceno y un imidazol. Tanto los benzimidazoles como sus derivados son compuestos que poseen un amplio espectro de actividades biológicas^{157,158,159,160,161} y su aplicación se extiende a una amplia variedad de fármacos comerciales entre los que se encuentran Atacand® (Candesartán), Micardis® (Telmisartán), Nexium® (Omeoprazol), Protonix® (Pantoprazol) y Vermox® (Mebendazol) (Figura 1.18).

Dentro de las aplicaciones quimioterapéuticas, los derivados de benzimidazol actúan como agentes antibacterianos y antifúngicos,^{162,163,164} agentes antihelmínticos,¹⁶⁵

¹⁵⁷Zarrinmayeh H.; Nunes A.M.; Ornstein P.L.; Zimmerman D.M.; Arnold M.B.; Schober D.A.; et al. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2709-19.

¹⁵⁸Hasegawa M.; Nishigaki N.; Washio Y.; Kano K.; Harris P.A.; Sato H.; et al. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 4453-70.

¹⁵⁹Hranjec, M.; Kralj, M.; Piantanida, I.; Sedic, M.; Suman, L.; Pavelic, K.; et al. *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5696-711.

¹⁶⁰Falco, J.; Pique, M.; Gonzalez, M.; Buira, I.; Mendez, E.; Terencio, J.; et al. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 985-90.

¹⁶¹Spasov, A.A.; Yozhitsa, I.N.; Bugaeva, L.I.; Anisimova, V.A. *J. Pharm. Chem.* **1999**, *33*, 232-43.

¹⁶²Desai, K.G.; Desai, K.R. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 8271-8279.

¹⁶³Güven, Ö.Ö.; Erdoğan, T.; Göker, H.; Ylidiz, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 2233-2236.

¹⁶⁴Igual-Adell, R.; Oltra-Alcaraz, C.; Soler-Company, E.; Sánchez-Sánchez, P.; Matogo-Oyany, J.; Rodríguez-Dalabuig, D. *Expert Opin. Pharm.* **2004**, *5*, 2615-2619.

¹⁶⁵Mavrova, A.T.; Anichina, K.K.; Vuchev, D.I.; Tsenov, J.A.; Denkova, P.S.; Kondeva, M.S.; Micheva, M.K. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, *41*, 1412-1420.

inhibidores citopáticos de VIH-1,¹⁶⁶ agentes antiinflamatorios y anti úlceras,¹⁶⁷ agentes antitumorales¹⁶⁸ y como agonistas o antagonistas de receptores enzimáticos.¹⁶⁹ Otras aplicaciones bajo estudio incluyen su uso como ligandos orgánicos en forma de carbenos N-heterocíclicos^{170,171} así como su empleo para el desarrollo de materiales funcionales.^{172,173}

Dada la gran aplicabilidad que muestran los derivados de benzimidazol, la construcción de estos heterociclos ha sido siempre de gran interés para la comunidad química y por consiguiente, numerosos esfuerzos han sido empleados en la síntesis y desarrollo de los mismos.¹⁷⁴

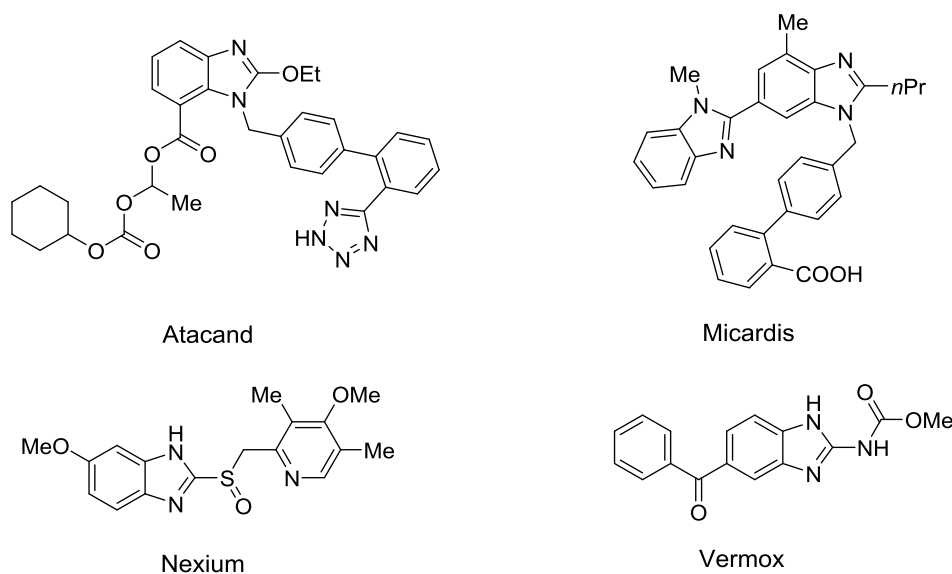


Figura 1.18. Ejemplo de fármacos que contienen el núcleo de benzimidazol

¹⁶⁶Barreca, M.L.; Chimirri, A.; de Clercq, E.; de Luca, L.; Monforte, A.-M.; Monforte, P.; Rao, A.; Zappala, M. // *Farmaco*, **2003**, *58*, 259–263.

¹⁶⁷Leonard, J.T.; Rajesh, O.S.; Jeyaseeli, L.; Murugesh, K.; Sivakumar, R.; Gunasekaran, V. *Asian J. Chem.* **2007**, *19*, 116–120.

¹⁶⁸Baraldi, P.G.; Bovero, A.; Fruttarolo, F.; Preti, D.; Tabrizi, M.A.; Pavani, M.G.; Romagnoli, R. *Med. Res. Rev.* **2004**, *24*, 475–528.

¹⁶⁹Chaudhuri, P.; Ganguly, B.; Bhattacharya, S. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 1912–1923.

¹⁷⁰Han W.; Yuyu X.; Shang L.; Jingli X.; Zhihua S. *Tetrahedron Letters*, **2013**, *54*, 2124–2127.

¹⁷¹Pal, S.; Hwang, W.-S.; Lin, I.J.B.; Lee, C.-S. *J. Mol. Catal. A: Chem.*, **2007**, *269*, 197–203.

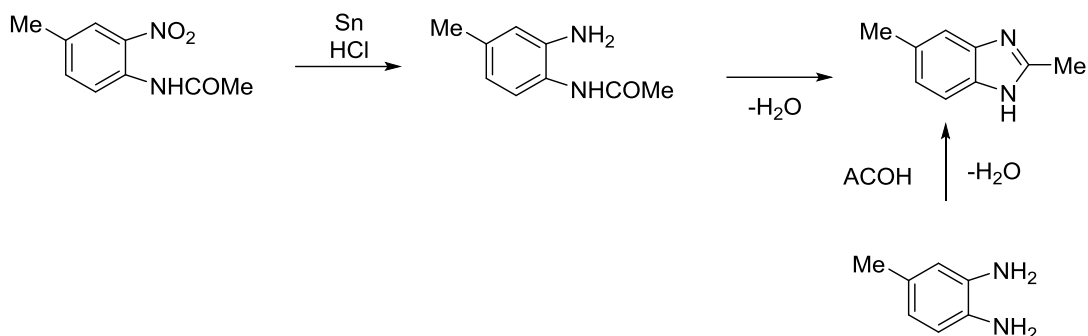
¹⁷²Asensio, J.A.; Gomez-Romero, P. *Fuel Cells* **2005**, *5*, 336–343.

¹⁷³Schwartz, G.; Fehse, K.; Pfeiffer, M.; Walzer, K.; Leo, K. *Appl. Phys. Lett.* **2006**, *89* (8).

¹⁷⁴Carvalho, L.C.R.; Fernandes, E.; Marques, M. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 12544–12555.

4.3.2.1 SÍNTESIS CLÁSICAS DE BENZIMIDAZOLES

Históricamente, el primer benzimidazol fue sintetizado en 1872 por Hoesbrecker, quien obtuvo el 2,5-dimetilbenzimidazol por reducción de la 2-nitro-4-metilacetanilida (esquema 1.50). Varios años después, Ladenburg obtuvo el mismo compuesto calentando a reflujo 3,4-diaminotolueno en ácido acético.¹⁷⁵



Esquema 1.50. Síntesis clásica de benzimidazoles

A partir de ese momento se desarrollaron numerosas rutas sintéticas para la obtención de diferentes derivados de benzimidazol. Uno de los métodos clásicos que se emplean todavía en la actualidad debido a su simplicidad es la condensación de *o*-fenilendiaminas con carboxaldehidos, ácidos carboxílicos^{176,177} o sus derivados^{178,179} (cloruros, nitrilos y ortoésteres) bajo condiciones ácidas fuertes y a temperaturas elevadas.^{180,181}

Otro método clásico es la ciclodeshidrogenación oxidante de bases de Schiff generadas a partir de *o*-fenilendiaminas y aldehídos en presencia de diversos

¹⁷⁵a) Hoesbrecker, F., *Chem. Ber.* **1872**, 5, 920 (1872). b) Ladenberg, A., *Chem. Ber.* **1875**, 10, 677.

¹⁷⁶Phillips M.A. *J Chem Soc*, **1928**; JR9280002393:2393.

¹⁷⁷Grimmet M.R.; Katritzky A.R.; Rees C.W. *Heterocyclic Chemistry*. **1984**, 5, 457.

¹⁷⁸Czarny A.; Wilson W.D, Boykin D.W. *J. Heterocyc.I Chem.* **1996**, 33, 1393.

¹⁷⁹Tidwell RR.; Geratz J.D.; Dann O.; Volz G.; Zeh D.; Loewe H. *J. Med. Chem.* **1978**, 21, 613-23.

¹⁸⁰Hisano T.; Ichikawa M.; Tsumoto K.; Tasaki M. *Chem Pharm Bull*, **1982**, 30, 2996–3004.

¹⁸¹Kumar BVS.; Vaidya S.D.; Kumar R.V.; Bhirud S.B.; Mane R.B. *Eur. J. Med. Chem.* **2006**, 41, 599-604.

catalizadores. Los catalizadores más comunes son nitrato de cerio y amonio (CAN), K_3PO_4 , ácido sulfámico, DDQ, $PhI(OAc)_2$, yodo y $KHSO_4$.^{182,183,184,185,186,187}

Aunque estos métodos se siguen empleando dada su sencillez, presentan algunas limitaciones. Su uso está restringido para sustratos de partida comercialmente disponibles. Además, conllevan el empleo de condiciones drásticas de reacción y un procesamiento laborioso. Aparte de ello las reacciones tienen lugar a menudo con bajos rendimientos debido a la formación de productos secundarios. Al mismo tiempo, esta metodología no resulta útil para la síntesis regioselectiva de benzimidazoles *N*-sustituídos ya que ambas síntesis dan como resultado regioisómeros y productos disustituídos partiendo de 1,2-diaminoarenos.

4.3.2.2 ALTERNATIVAS A LA SÍNTESIS CLÁSICA

4.3.2.2.1 AMINACIÓN CATALIZADA POR METALES DE TRANSICIÓN

Para evitar los problemas comentados anteriormente, se ha utilizado una estrategia basada en la aminación catalizada por metales de transición. La bibliografía contiene numerosos ejemplos de este tipo de reacciones de acoplamiento en las que se

¹⁸²Bahrami K.; Khodaei M.M.; Naali F. J. Org. Chem. **2008**, 73, 6835–6837.

¹⁸³Buchwald S.L.; Zheng N.; Anderson K.W.; Huang X.; Nguyen H.N. *Angew. Chem*, **2007**, 46, 7509–7512.

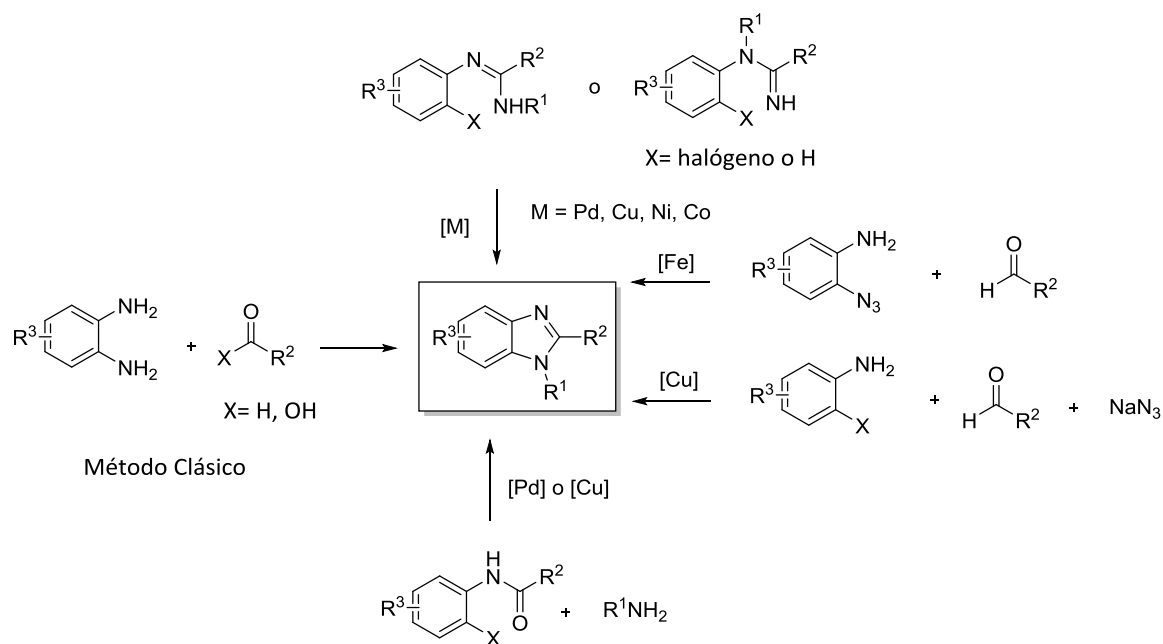
¹⁸⁴Eynde J.J.V.; Delfosse F.; Lor P.; Van Y.H *Tetrahedron*, **1995**, 51, 5813–5818.

¹⁸⁵Du L.H.; Wang Y.G, *Synthesis*, **2007**, 5, 675–678.

¹⁸⁶Du H.L.; Luo A.P. *Synth Commun*, **2010**, 40, 2880–2886.

¹⁸⁷Gogoi P.; Konwar D. *Tetrahedron Lett*, **2006**, 47, 79–82.

emplean como catalizadores diferentes complejos metálicos de paladio,^{188,189,190,191,192} cobre,^{193,194,195,196,197,198} níquel,¹⁹⁹ hierro²⁰⁰ y cobalto²⁰¹ (esquema 1.51).



Esquema 1.51. Síntesis de benzimidazoles catalizada por metales de transición

A pesar de estos avances recientes, los métodos que emplean catálisis metálica suelen acarrear un gran coste económico y requieren a menudo el diseño de ligandos específicos. Otro inconveniente es la necesidad de encontrar una forma eficaz para

¹⁸⁸Brain, C.T.; Brunton, S.A. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 1893–1895.

¹⁸⁹Brain, C.T.; Brunton, S.A. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 6814–6816.

¹⁹⁰Zhao, D.; Hu, J.; Wu, N.; Huang, X.; Qin, X.; Lan, J.; You *J. Org. Lett.* **2011**, *13*, 6516–6519.

¹⁹¹Xiao, Q.; Wang, W.-H.; Liu, G.; Meng, F.-K.; Chen, J.-H.; Yang, Z.; Shi, Z.-J. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 7292–7296.

¹⁹²Zheng, N.; Anderson, K.W.; Huang, X.H.; Nguyen, H.N.; Buchwald, S.L. *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 7653–7656; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, *46*, 7509–7512.

¹⁹³Peng, J.; Ye, M.; Zong, C.; Hu, F.; Feng, L.; Wang, X.; Wang, Y.; Chen *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 716–719.

¹⁹⁴Brasche, G.; Buchwald, S.L. *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 1958–1960; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2008**, *47*, 1932–1934.

¹⁹⁵Zou, B.L.; Yuan, Q.L.; Ma, D.-W. *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 2652–2655; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2007**, *46*, 2598–2601.

¹⁹⁶Kim, Y.; Kumar, M.R.; Park, N.; Heo, Y.; Lee, S. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 9577–9583.

¹⁹⁷Deng, X.; Mani, N.S. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 680–686.

¹⁹⁸Deng, X.; McAllister, H.; Mani, N.S. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 5742–5745.

¹⁹⁹Amrani, R.O.; Thomas, A.; Brenner, E.; Schneider, R.; Fort, Y. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2311–2314.

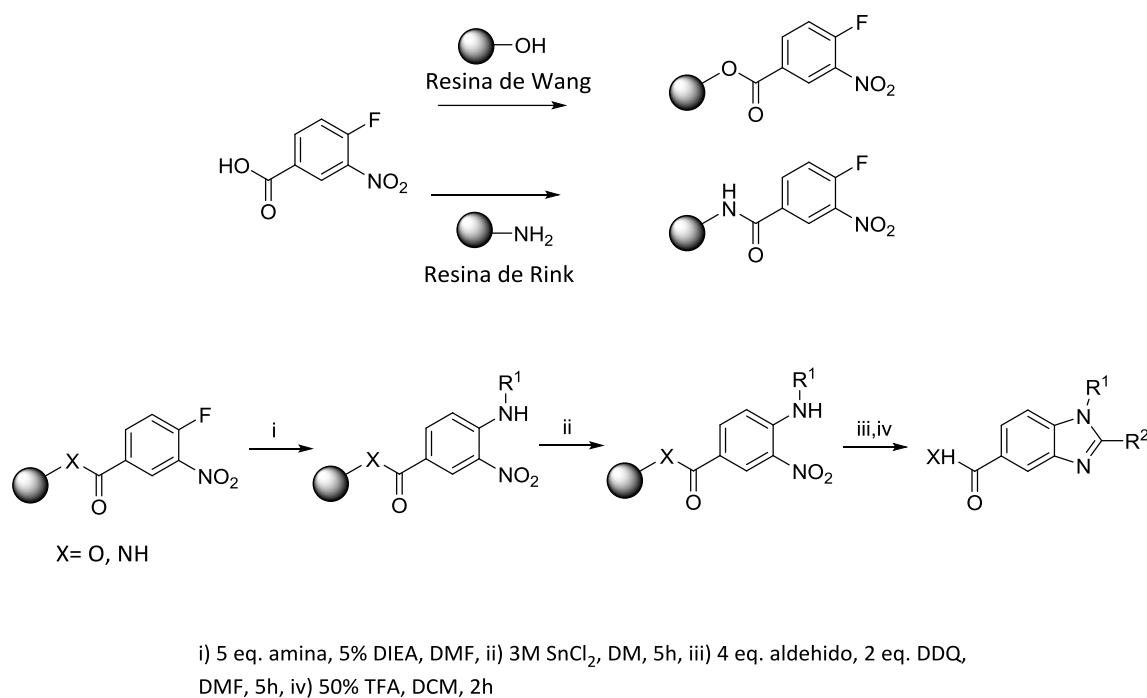
²⁰⁰Shen, M.; Driver, T.G. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3367–3370.

²⁰¹Saha, P.; Ali, M.A.; Ghosh, P.; *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 5692–5699.

eliminar las trazas de metales en los productos finales, problema importante en la síntesis de compuestos farmacológicos.

4.3.2.2.2 SÍNTESIS EN FASE SÓLIDA

La química combinatoria es una herramienta muy útil cuando se precisa realizar una extensa quimioteca de compuestos estructuralmente relacionados entre sí, de manera que se pueda realizar de forma rápida y sencilla un cribado en diversos sistemas biológicos. Por este motivo, numerosos grupos de investigación han volcado su atención en la síntesis de benzimidazoles en fase sólida dado que ofrece un rápido acceso a una elevada cantidad de compuestos.^{202,203,204,205,206,207} En el esquema 1.52 se muestra la primera síntesis de benzimidazoles en fase sólida descrita por Mayer.²⁰⁴



Esquema 1.52. Síntesis de benzimidazoles en fase sólida

²⁰²Phillips, G. B.; Wei, G. P. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4887–4890.

²⁰³Mayer, J. P.; Lewis, G. S.; McGee, C.; Bankaitis-Davis, D. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 6655–6658.

²⁰⁴Smith, J. M.; Krchnak, V. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7633–7636.

²⁰⁵Song, Aimin; Zhang, Jinhua; Lebrilla, Carlito B.; Lam, Kit S. *J. Com. Chem.* **2004**, *6(4)*, 604-610.

²⁰⁶Rios, Natalia; Varela, Javier; Birriel, Estefania; Gonzalez, Mercedes; Cerecetto, Hugo; Merlino, Alicia; Porcal, Williams *Future Medicinal Chemistry* **2013**, *5(15)*, 1719-1732.

²⁰⁷Krupkova, Sona; Funk, Petr; Soural, Miroslav; Hlavac, Jan *Combinatorial Science*, **2013**, *15(1)*, 20-28.

4.3.3 OBJETIVOS

En una primera etapa se propone la síntesis y evaluación de actividad antimalárica de benzimidazoles con la siguiente estructura general:

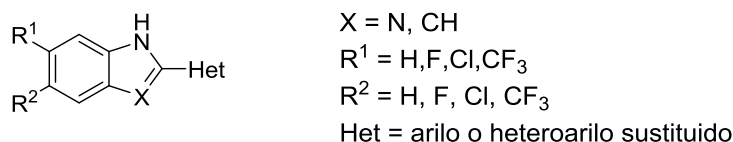
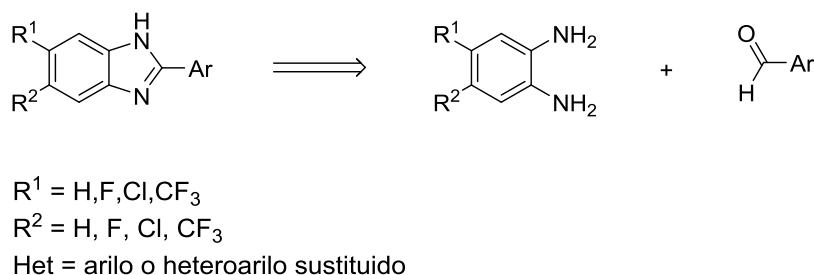


Figura 1.19. Derivados propuestos en la familia de los benzimidazoles

La síntesis de estos benzimidazoles podría abordarse desde distintas alternativas. Una de estas alternativas implica como etapa clave la reacción de sistemas carbonílicos con *o*-fenilendiaminas en condiciones oxidantes (por ejemplo, con H₂O₂/CAN o con yodo hipervalente)¹⁸² para dar directamente el benzimidazol correspondiente.

El esquema retrosintético de la familia de los benzimidazoles es el que se muestra a continuación:



Esquema 1.53. Esquema retrosintético

La disponibilidad de aldehídos aromáticos nos permitirá preparar una quimioteca extensa, aunque aquellos aldehídos que no sean comerciales se sintetizarán en el laboratorio.

Una vez sintetizados todos los compuestos, se someterán a análisis biológicos para evaluar su capacidad farmacológica.

A la vista de los resultados de las evaluaciones biológicas y de los estudios estructurales se procederá a una reevaluación y rediseño de los compuestos obtenidos.

4.3.4 DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

A continuación se presentan algunos de los compuestos análogos al *hit* a sintetizar en una primera etapa:

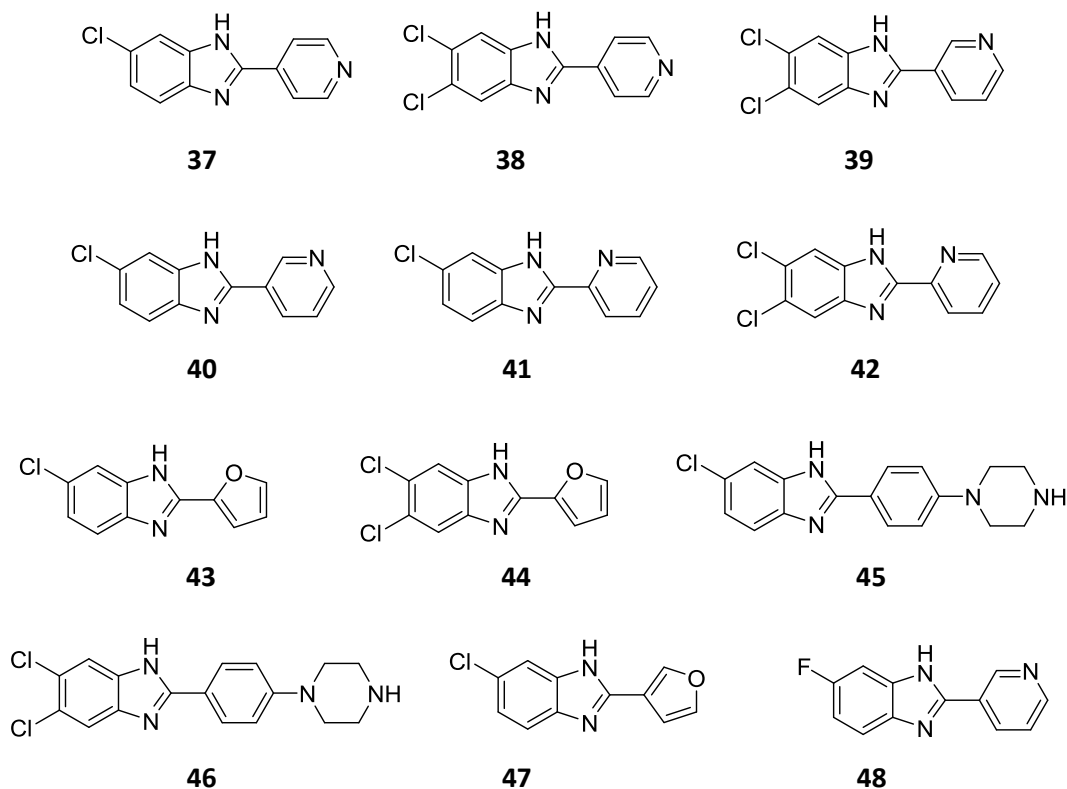
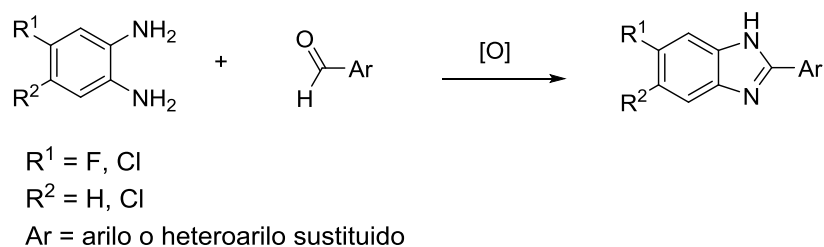


Figura 1.20 Derivados propuestos en la familia de los benzimidazoles

Es posible que sea necesario aumentar la lipofilia de la molécula en la serie de benzimidazoles en una etapa posterior para que sean activos en humanos, debido a la ya comentada facilidad con la que se protonan estos compuestos. El análisis de las variaciones de actividad inducidas por los cambios estructurales introducidos con respecto al *hit* dará lugar al establecimiento de una relación estructura-actividad que nos indicará las modificaciones necesarias para la siguiente ronda sintética.

La síntesis de estos benzimidazoles se abordó desde distintas alternativas. La primera que se muestra a continuación implica como etapa clave la reacción de sistemas carbonílicos con *o*-fenilendiaminas en condiciones oxidantes para dar directamente el benzimidazol correspondiente.

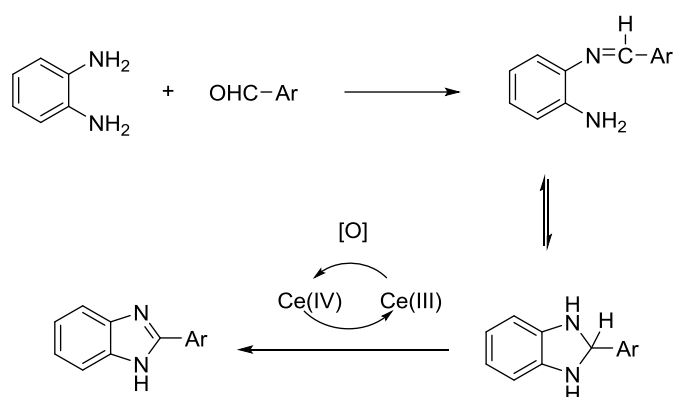


Esquema 1.54. Síntesis propuesta de derivados de la familia de los benzimidazoles

Dado que la disponibilidad de aldehídos y o-fenilendiaminas comerciales es grande, los compuestos a sintetizar se obtuvieron de forma rápida y sencilla.

En una primera aproximación, se probó la reacción descrita en el esquema 1.54 empleando H_2O_2 como reactivo oxidante y nitrato de cerio (IV) y amonio (CAN) como catalizador.¹⁸² Esta reacción presenta una serie de ventajas: tiempos de reacción cortos, rápido y fácil aislamiento de productos, excelente quimioselectividad, ausencia de disolventes, etc.

A continuación se muestra el mecanismo propuesto para la preparación de los benzimidazoles siguiendo este procedimiento.



Esquema 1.55. Mecanismo propuesto

Los resultados obtenidos en la síntesis de la familia de los benzimidazoles empleando el sistema $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CAN}$ como medio oxidante son los que se muestran a continuación en la Tabla 1.6.

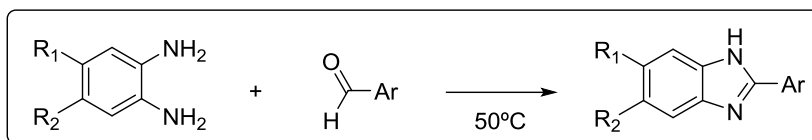
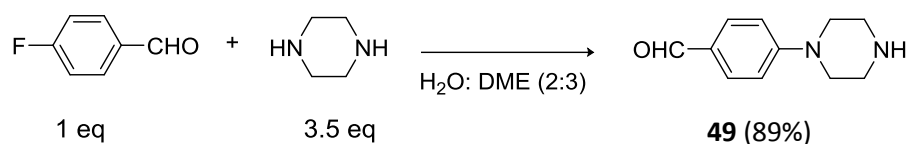


Tabla 1.6. Resultados obtenidos para la serie de los benzimidazoles empleando H₂O₂/CAN.

Entrada	Compuesto	Ar	R ¹	R ²	Tiempo	Rendimiento (%)
1	37		Cl	H	5h	48
2	38		Cl	Cl	2h	32
3	39		Cl	Cl	2h	47
4	40		Cl	H	2h	70
5	41		Cl	H	5h	37
6	42		Cl	Cl	3h	17
7	43		Cl	H	5h	15
8	44		Cl	Cl	5h	17
9	45		Cl	H	5h	10
10	46		Cl	Cl	2h	54

Para la síntesis de los compuestos **45** y **46** (entradas 9 y 10 de la Tabla 1.6) resultó necesario sintetizar previamente el aldehído de partida, ya que éste no era comercial. Para ello, se investigó la desimetrización del núcleo de piperazina mediante una reacción de aminación.²⁰⁸

²⁰⁸Wang Q.-C.; Qu D.; Ren J.; Xu L.; Liu M.; Tian H. *Dyes and Pigments*, **2003**, 59, 163-172.



Esquema 1.56. Obtención del compuesto **49**.

En un intento de mejorar los rendimientos en la formación de los benzimidazoles se cambió el sistema oxidante $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CAN}$ por $\text{PhI}(\text{OAc})_2$, un reactivo de yodo hipervalente.

Tabla 1.7. Resultados obtenidos para la serie de benzimidazoles empleando $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ como agente oxidante.

Entrada	Compuesto	Ar	R ¹	R ²	Tiempo	Rendimiento (%)
1	37		Cl	H	4h	70
2	40		Cl	H	4h	70
3	43		Cl	H	4h	52
4	45		Cl	H	4h	17
5	47		Cl	Cl	4h	60
6	48		F	H	4h	66

A la vista de los resultados se puede concluir que en todas las pruebas realizadas con $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ los rendimientos mejoran considerablemente.

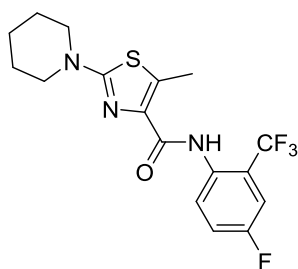
Los 12 compuestos sintetizados (Figura 1.20) se analizaron por HPLC siendo el grado de pureza (95-100%) y por lo tanto aptos para ser analizados.

4.4 DISEÑO Y SÍNTESIS DE DERIVADOS DE LA FAMILIA DE LOS TIAZOLES

4.4.1 ELECCIÓN DEL *HIT*

El núcleo de tiazol se encuentra presente en una gran variedad de fármacos que abarcan un amplio espectro de actividades biológicas. Con el objeto de seleccionar un *hit* adecuado para el desarrollo de la presente familia de compuestos se mantuvo el *cluster* de tiazol intacto y se acotaron los parámetros descritos anteriormente (XC_{50} 3D7 < 0.3 μ M, citotoxicidad en hepatocitos humanos (< 15% a 10 μ M), porcentaje de inhibición (> 98% para 3D7 y D2d) e índice de frecuencia de inhibición (<10)).

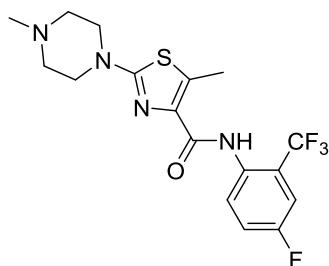
Limitando estos parámetros, la búsqueda en la base de datos nos ofreció nueve posibles *hits*, los cuales se muestran a continuación.



MW 387.39
A LogP 3.79
PSA 73.46
HBA 3
HBD 1
Ro5 Vio. 0

% Inhibition 3D7 (2uM) 86
% Inhibition Dd2 (2uM) 35
pXC50 3D7 5.96 (1154.12 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 μ M) 0
Inhibition Frequency Index 0
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241

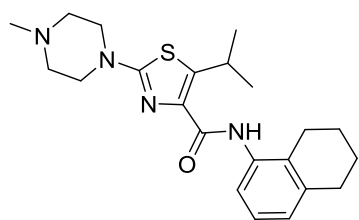
CHEMBL-580922
TCMDC-134301



MW 402.41
A LogP 2.83
PSA 76.70
HBA 4
HBD 1
Ro5 Vio. 0

% Inhibition 3D7 (2uM) 92
% Inhibition Dd2 (2uM) 63
pXC50 3D7 5.97 (1066.84 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 μ M) 7
Inhibition Frequency Index 0
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241

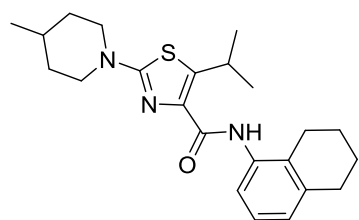
CHEMBL-537338
TCMDC-134302



CHEMBL-526406
TCMDC-134303

MW 398.56
A LogP 4.33
PSA 76.70
HBA 4
HBD 1
Ro5 Vio. 0

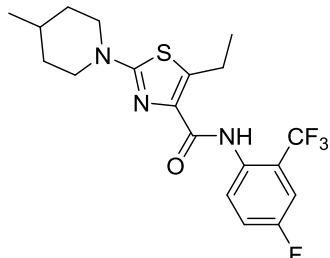
% Inhibition 3D7 (2uM) 98
% Inhibition Dd2 (2uM) 50
pXC50 3D7 5.89 (1282.33 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 µM) 3
Inh. Frequency Index 3.85
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241



CHEMBL-547160
TCMDC-134662

MW 397.58
A LogP 5.54
PSA 73.46
HBA 3
HBD 1
Ro5 Vio. 1

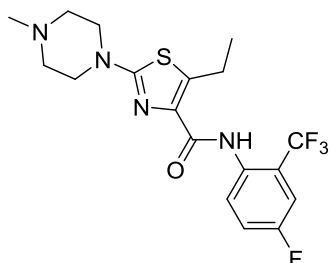
% Inhibition 3D7 (2uM) 96
% Inhibition Dd2 (2uM) 49
pXC50 3D7 5.98 (1039.99 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 µM) 14
Inh. Frequency Index 8.82
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241



CHEMBL-587329
TCMDC-134663

MW 415.45
A LogP 4.71
PSA 73.46
HBA 3
HBD 1
Ro5 Vio 0

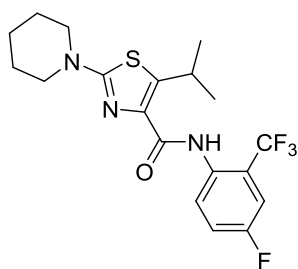
% Inhibition 3D7 (2uM) 94
% Inhibition Dd2 (2uM) 65
pXC50 3D7 5.96 (1089.83 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 µM) 1
Inhibition Frequency Index 0
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241



CHEMBL-548802
TCMDC-134298

MW 415.45
A LogP 4.71
PSA 73.46
HBA 3
HBD 1
Ro5 Vio. 0

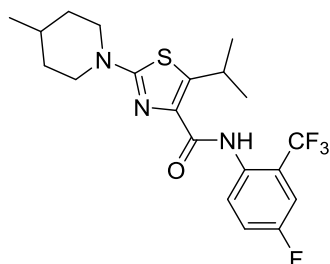
Inhibition 3D7 (2uM) 94
% Inhibition Dd2 (2uM) 65
pXC50 3D7 5.96 (1089.83 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 µM) 1
Inhibition Frequency Index 0
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241



CHEMBL-548048
TCMDC-134299

MW 415.45
A LogP 4.71
PSA 73.46
HBA 3
HBD 1
Ro5 Vio. 0

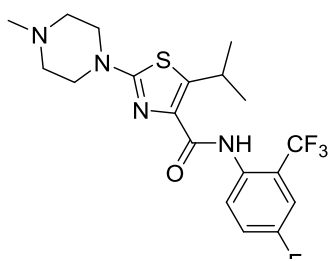
% Inhibition 3D7 (2uM) 94
% Inhibition Dd2 (2uM) 65
pXC50 3D7 5.96 (1089.83 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 µM) 1
Inhibition Frequency Index 0
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241



CHEMBL-547449
TCMDC-134661

MW 429.47
A LogP 5.17
PSA 73.46
HBA 3
HBD 1
Ro5 Vio. 1

% Inhibition 3D7 (2uM) 100
% Inhibition Dd2 (2uM) 66
pXC50 3D7 5.96 (229.02 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 µM) 5
Inhibition Frequency Index 5.71
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241



CHEMBL-587278
TCMDC-134300

MW 430.46
A LogP 3.96
PSA 76.70
HBA 4
HBD 1
Ro5 Vio. 0

% Inhibition 3D7 (2uM) 100
% Inhibition Dd2 (2uM) 99
pXC50 3D7 5.96 (189.62 nM)
% Inhibition HEPG2 (10 µM) 3
Inhibition Frequency Index 5.77
Chemical Cluster NR 300
Graph Frame Cluster 241

Las diferencias más significativas que se aprecian entre los distintos *hits* son las siguientes:

- Presencia de grupos fluorados (CF₃ y F) en el anillo de fenilo en contraste con el grupo 1,2,3,4-tetrahidronaftaleno.
- Introducción de impedimento estérico en la posición 5 del tiazol debido al cambio del grupo metilo o etilo por isopropilo.

- Introducción de un átomo adicional que actúa como aceptor de enlaces por puentes de hidrógeno, como es el caso de la piperazina en contraste con la piperidina.

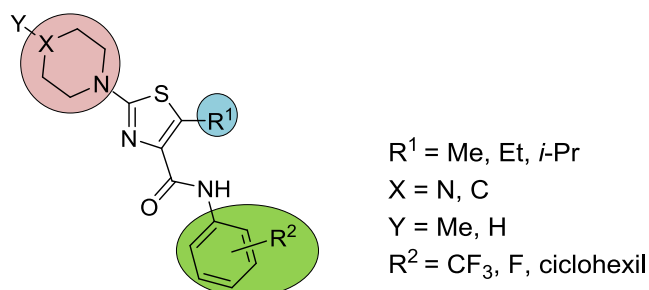


Figura 1.21. Esqueleto general de los nueve posibles *hits*

En primer lugar nos dispusimos a elegir un *hit* a desarrollar entre todos los compuestos hallados en la búsqueda. Para ello, en primera instancia discriminamos aquellos compuestos que no cumplen las reglas de Lipinski.

De los nueve compuestos hay dos que violan una regla de Lipinski (**CHEMBL-547449** y **CHEMBL-547160**). Estos compuestos presentan un coeficiente de reparto octanol/agua (log P) mayor de cinco, lo que se traduce en una lipofilia mayor de la deseada y no son óptimos para nuestro estudio.

Por otra parte, acotamos los parámetros referentes a la actividad antimalárica (% de inhibición a las cepas 3D7 sensibles a la cloroquina y % de inhibición a las cepas Dd2 resistentes a múltiples fármacos) en valores superiores al 95% en cada caso. Siguiendo esta premisa, los compuestos **CHEMBL-580922**, **CHEMBL-526406**, **CHEMBL-537338** y **CHEMBL-587329** quedarían descartados.

Tanto el compuesto **CHEMBL-548802** como el compuesto **CHEMBL-587278** presentan en su estructura un átomo aceptor de enlaces por puentes de hidrógeno más que el compuesto **CHEMBL-548048**, lo cual podría mejorar la interacción fármaco-diana.

En este punto y con dos candidatos a *hit* (**CHEMBL548802** y **CHEMBL-587278**) finalmente, nos decantamos por el compuesto **CHEMBL-587278** debido a que éste presenta un XC₅₀ menor (189.62 nM < 229.02 nM).

Por lo tanto el *hit* seleccionado en este caso es:

HIT CHEMBL-587278

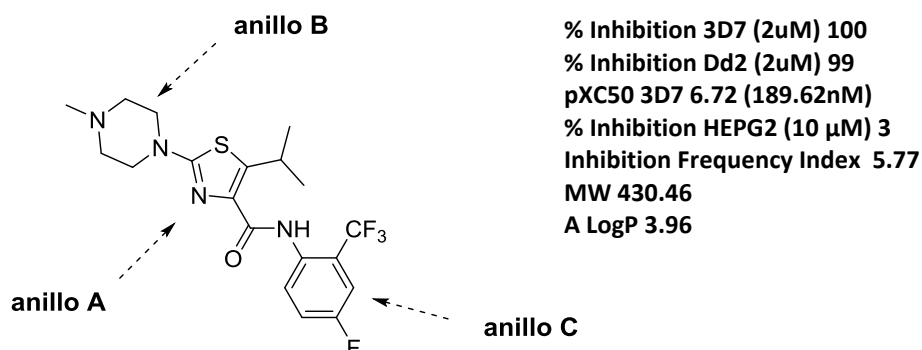


Figura 1.22. Estructura del *hit* seleccionado

Se trata de un farmacóforo que presenta muchas de las características necesarias para que una molécula sea biológicamente activa: la lipofilia que aporta tanto el anillo de fenilo como la presencia de átomos de flúor, el nitrógeno de tipo amídico que puede actuar como dador de enlace de hidrógeno y el átomo de nitrógeno del anillo de piperazina que aporta basicidad y actúa como aceptor de enlaces de hidrógeno.

La aproximación seguida para la expansión del *hit* será el mantenimiento de la unidad estructural central de tiazol, aunque también se ensayará el análogo de oxazol para ver si esta modificación varía la actividad biológica.

Principalmente, todos los esfuerzos se centrarán en la exploración del anillo C mediante la introducción de átomos de halógenos en varias posiciones, así como el estudio de la presencia tanto de grupos electrón atrayentes como electrón dadores. De esta manera se modifica tanto la lipofilia global como el peso molecular de la molécula con el fin de mejorar las propiedades fisicoquímicas.

Asimismo, con el fin de estudiar la influencia del anillo de piperazina, se introducirán variaciones en el anillo B mediante la apertura del heterociclo, con el objetivo de evaluar la influencia tanto del aspecto estérico como la mayor disposición de centros básicos capaces de actuar como aceptores de puentes de hidrógeno.

4.4.2 INTRODUCCIÓN

El tiazol es un heterociclo de cinco miembros que se encuentra presente en una gran variedad de fármacos ya que abarca un amplio espectro de actividades biológicas.^{209,210} Juega un papel muy importante en química médica debido a que tanto el tiazol como sus derivados, forman parte de una gran variedad de productos naturales como por ejemplo la penicilina, cefalosporina y vitamina B1. Por este motivo los derivados de tiazol han atraído la atención de la comunidad química durante muchos años.

Numerosos estudios demuestran que este esqueleto y sus derivados tienen una gran relevancia química debido a su papel como antimicrobiano, antifúngico y antiinflamatorio.^{211,212} Recientemente se han publicado diversos estudios basados en el aislamiento de productos naturales que contenían como núcleo principal el esqueleto de tiazol y exhibían citotoxicidades considerables y potenciales actividades como agentes anti tumorales,^{213,214,215,216} debido a su papel como inhibidor de quinasas.^{217,218} Esta aplicación se extiende al desarrollo de fármacos para el tratamiento de alergias²¹⁹,

²⁰⁹Shiradkar, M.R.; Murahari, K.K.; Gangadasu, H.R.; Suresh, T.; Kalyan, C.A.; Panchal, D., Kaur, R.; Burange, P.; Ghogare, J.; Mokale V.; Raut, M., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *15*, 3997-4008.

²¹⁰Bharti, S.K.; Nath, G.; Tilak, R., Singh S.K., *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 651-660.

²¹¹Hans N.; Swiss Patent 592103, **1977**, *Chem. Abstract* **1978**, *88*, 22886.

²¹²Wilson, K.J.; Utig, C.R.; Subhasinghe, N.; Hoffman, J.B.; Rudolph, N.J.; Soll, R.; Molloy, C.J.; Bone, R.; Green, D.; Randall, J., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 915-918.

²¹³Taori, K.; Paul, V.J.; H. Luesch, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 1806-1807.

²¹⁴Sasse, F.; Steinmetz, H.; Hofle, G.; Reichenbach, H., *J. Antibiot.* **2003**, *56*, 520-525.

²¹⁵Kehraus, S.; Konig, G.M.; Wright, A.D., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4989-4992.

²¹⁶Gerth K.; Bedorf, N.; Hofle, G.; Irschik, H.; Reichenbach, H., *J. Antibiot.* **1996**, *49*, 560-563.

²¹⁷Reichelt A. et al. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *80*, 364-382.

²¹⁸Jänne, P. A.; Gray, N.; Settleman J. *Nature Rev.* **2009**, *8*, 709-723.

²¹⁹Hargrave, K.D.; Hess, F.K.; Oliver, J.T., *J. Med. Chem.* **1983**, *26*, 1158-1163.

hipertensión²²⁰, inflamación²²¹, esquizofrenia²²², tratamiento para el dolor²²³ y retrovirales²²⁴.

El tiazol se encuentra presente en muchas moléculas biológicamente activas tales como el Sulfatiazol (antimicrobiano), Ritonavir (antirretroviral), Abafungin (antimicótico) y Tiazofurina (antineoplásico), que muestran una amplia gama de actividades biológicas (Figura 1.23)

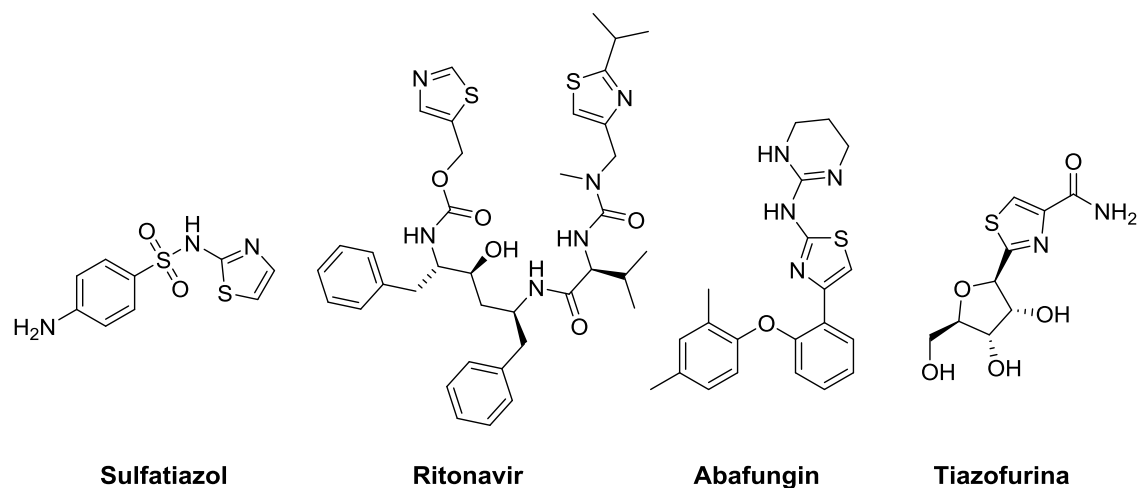


Figura 1.23. Estructuras de fármacos que contienen el núcleo de tiazol

Dada la gran relevancia química que presentan estos heterociclos y sus derivados sintéticos, se han dedicado numerosos esfuerzos al desarrollo de nuevas rutas sintéticas que conduzcan a la obtención de estos compuestos minimizando el número de etapas e introduciendo una gran diversidad estructural con elevados rendimientos, lo que resulta un gran reto para el descubrimiento de nuevos fármacos.

²²⁰Patt, W.C.; Hamilton, H.W.; Taylor, M.D.; Ryan, M.J.; Taylor, D.G.; Connolly, C.J.C.; Doharty, A.M.; Klutchko, S.R.; Sircar, I.; Steinbaugh, B.A.; Batley, B.L.; Painchand, C.A.; Rapundalo, S.T.; Michniewicz, B.M.; Olzon S.C.J., *J. Med. Chem.* **1992**, 35, 2562-2572.

²²¹Sharma, P.K.; Sawhney, S.N.; Gupta, A.; Sing, G.B.; Bani, S., *Indian J. Chem.* **1998**, 37, 376-381.

²²²Jaen, J.C.; Wise, L.D.; Caprathe, B.W.; Teclé, H.; Bergmeier, S.; Humblet, C.C.; Heffner, T.G.; Meltzner, L.T.; Pugsley, T.A., *J. Med. Chem.* **1990**, 33, 311-317.

²²³ Carter, J.S.; Kramer, S.; Talley, J.J.; Penning, T.; Collins, P.; Graneto, M.J.; Seibert, K.; Koboldt, C.; Masferrer, J.; Zweifel, B., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1171-1174.

²²⁴ Bell, F.W.; Cantrell, A.S.; Hoberg, M.; Jaskunas, D.R.; Johansson, N.G.; Jordon, C.L.; Kinnick, P. Lind, J.M. Morin Jr., R. Noreen, B. Oberg, J.A. Palkowitz, C.A. Parrish, J. Pranc, H. Zhang, M.D.; Zhou, X.X., *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 4929-4936.

4.4.2.1 SÍNTESIS CLÁSICAS DE 1,3-TIAZOLES

El método clásico más conocido para la síntesis de tiazoles es la síntesis de Hantzsch,²²⁵ en la cual un compuesto α -halocarbonílico se condensa con una tioamida primaria (o una tiourea para formar el correspondiente 2-amino derivado).

La reacción procede mediante el ataque nucleofílico del átomo de azufre al carbono que está unido al átomo de halógeno.

El intermedio acíclico que se forma experimenta una transferencia de protón que facilita la ciclación de la molécula. La subsiguiente eliminación de una molécula de agua da lugar a la formación del tiazol, tal y como se muestra en la Figura 1.24.

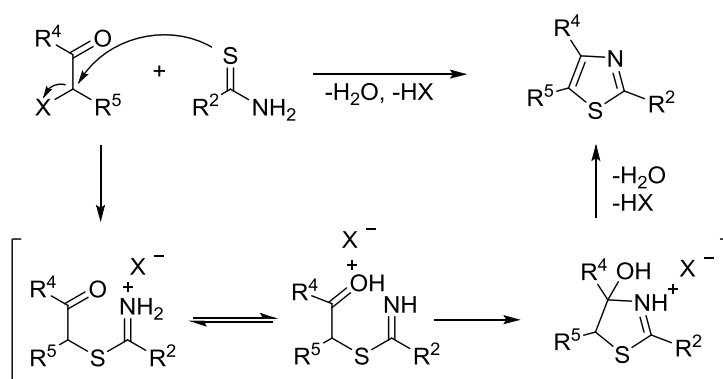


Figura 1.24 Mecanismo propuesto para la síntesis de Hantzsch.

Este procedimiento resulta muy útil cuando se desean obtener tiazoles sencillos pues suelen obtenerse rendimientos excelentes. Sin embargo, cuando se quiere extrapolar el método para la obtención de tiazoles más sustituidos los rendimientos que se obtienen son bajos debido a la deshalogenación de la α -halocetona en el transcurso de la reacción.²²⁶

En la bibliografía se pueden encontrar numerosas modificaciones de la síntesis de Hantzsch,²²⁷ entre las cuales cabe destacar el uso de α -tosilcetonas en vez de compuestos

²²⁵a) Hantzsch, A.; Weber, J.H. *Chem. Ber.* **1887**, 20, 3118. b) Hantzsch, A. *Chem. Ber.* **1888**, 21, 942-946.

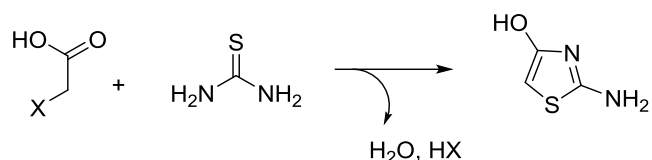
²²⁶a) Bach, T.; Heuser, S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 1707-1710. b) Carter, J. S.; Rogier, D. J.; Graneto, M. J.; Seibert, K.; Koboldt, C. M.; Zhang, Y.; Talley, J. J. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 1167-1170.

²²⁷Aguilar, E.; Meyers, A. I. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 2473-2476.

α -halocarbonílicos.²²⁸ Esto supone una gran ventaja, ya que los compuestos α -halocarbonílicos resultan bastante tóxicos e irritantes.

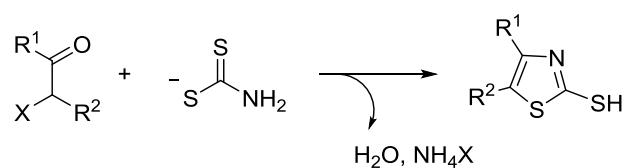
Otras modificaciones a destacar son los siguientes:

- i) Formación de 2-amino-4-hidroxitiazoles a partir de tiourea y ácidos α -halocarboxílicos (esquema 1.57).



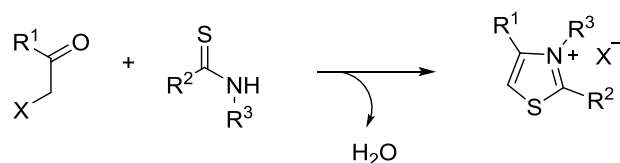
Esquema 1.57

- ii) Formación de 2-sulfaniltiazoles a partir de sales o ésteres del ácido ditiocarbámico (esquema 1.58).



Esquema 1.58

- iii) Formación de sales de tiazol 3-sustituidas a partir de tioamidas *N*-sustituidas (esquema 1.59).

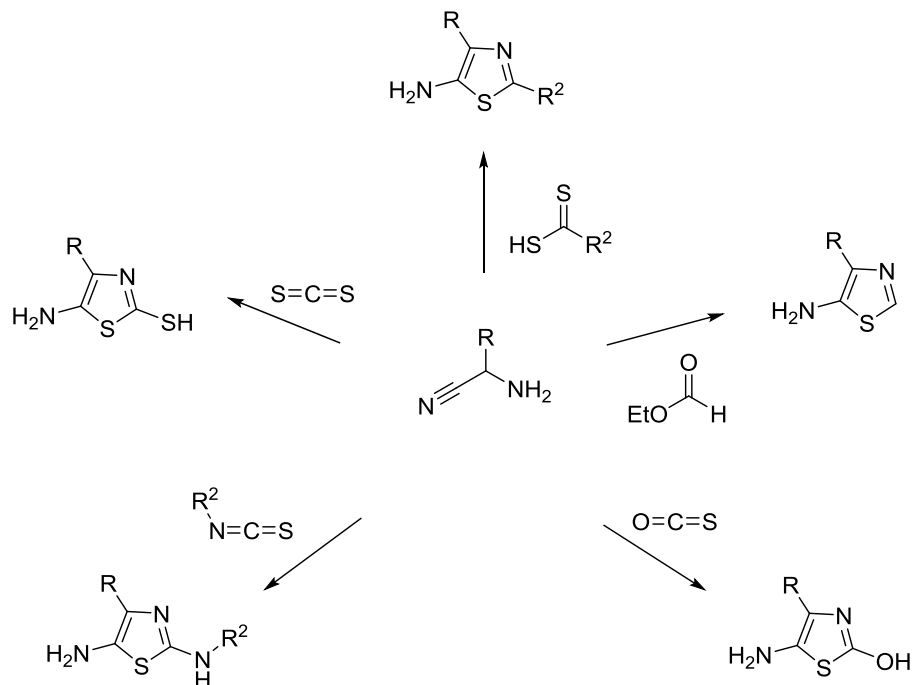


Esquema 1.59

Otro método muy versátil que permite la preparación de tiazoles altamente sustituidos es la síntesis de Cook-Heilbron. Esta síntesis implica la reacción de α -aminonitrilos con sales y ésteres de ácidos ditiocarboxílicos, disulfuro de carbono, sulfuro

²²⁸Moriarty, R.M.; Vaid, B.K.; Duncan, M.P.; Levy, S.G.; Prasash, O.; Goval, S. *Synthesis*, **1992**, 845.

de carbonilo o isotiocianatos para formar 5-aminotiazoles 2,4-disustituidos bajo condiciones suaves (esquema 1.60).²²⁹



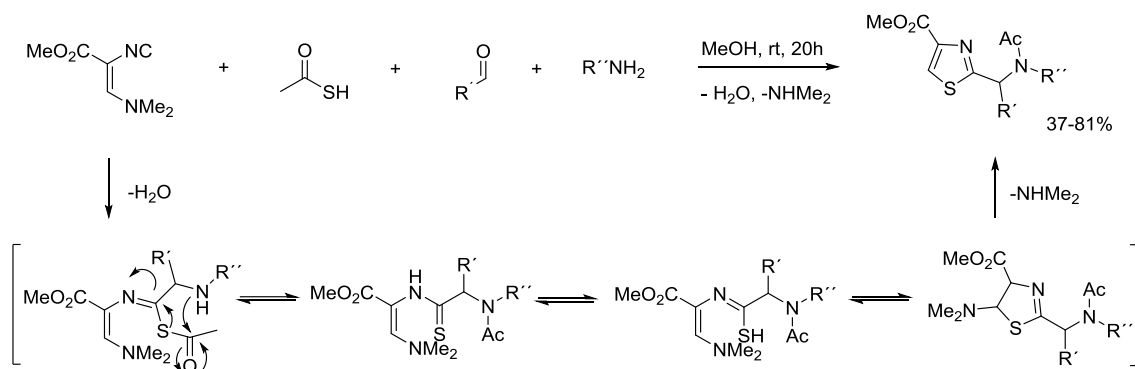
Esquema 1.60. Síntesis de tiazoles a partir de α -aminonitrilos

4.4.2.2 REACCIONES MULTICOMPONENTES EN LA SÍNTESIS DE TIAZOLES

La química combinatoria representa una alternativa eficaz a los métodos tradicionales que se emplean en la síntesis de 1,3-tiazoles. Presenta la ventaja de poder sintetizar en un menor tiempo una mayor diversidad de compuestos, y por lo tanto disponer de un mayor número de ellos para someter a los ensayos biológicos. Un ejemplo de esta química lo podemos encontrar en el esquema 1.61.²³⁰

²²⁹Cook, A. H.; Heilbron, I.; MacDonald, S. F.; Mahadevan, A. P. *J. Chem. Soc.* **1949**, 1064-1068.

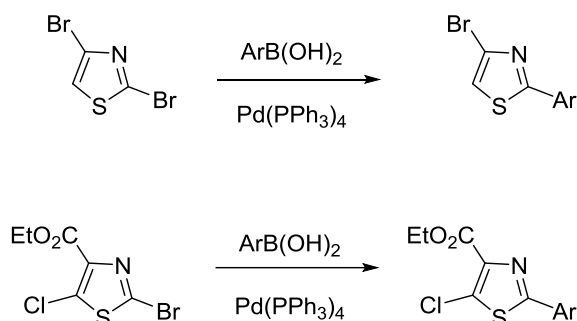
²³⁰Heck, S.; Dömling, A. *Synlett*, **2000**, 2000(3), 424-426.



Esquema 1.61. Síntesis de tiazoles mediante química combinatoria.

4.4.2.3 REACCIONES DE FORMACIÓN DE ENLACES C-C PARA LA OBTENCIÓN DE DERIVADOS DE TIAZOL.

Métodos que implican reacciones de acoplamiento regioselectivas catalizadas por metales de transición se emplean comúnmente para la obtención de tiazoles altamente sustituidos. Esta reacción tiene lugar selectivamente por el carbono más deficiente de electrones (Esquema 1.62).^{231,232}



Esquema 1.62

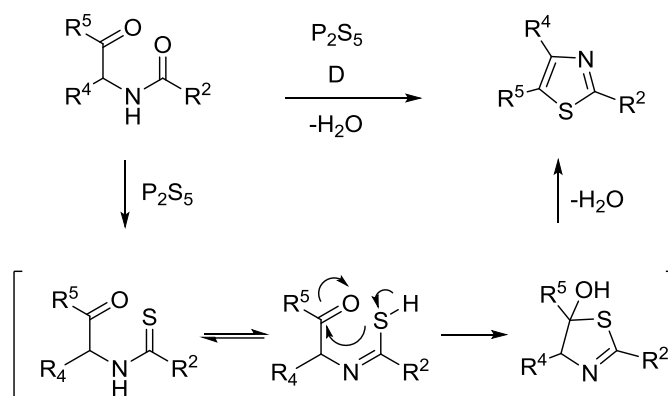
Mediante el empleo de estas reacciones de acoplamiento cruzado se puede introducir complejidad a la molécula de una manera versátil, obteniéndose una gran variedad de derivados sintéticos.

²³¹Wellmar, U.; Hörnfeldt, A.-B; Gronowitz, S. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **1995**, 32, 1159.

²³²Hodgetts, K.J.; Kershaw, M.T. *Organic Letters*, **2002**, 4, 1363.

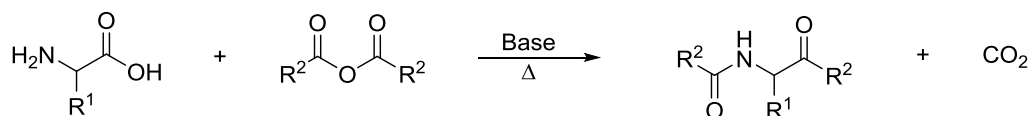
4.4.2.4 SÍNTESIS DE TIAZOLES A PARTIR DE ÉSTERES DE AMINOÁCIDOS

Los compuestos 1,4-dicarbonílicos son intermedios que presentan una gran versatilidad en la síntesis de heterociclos aromáticos de cinco miembros. Se emplean como reactivos de partida en la síntesis de tiazoles de Gabriel, en la que se forman 1,3-tiazoles mediante una reacción de ciclodeshidratación con pentasulfuro de fósforo (esquema 1.63).²³³



Esquema 1.63 Síntesis de Gabriel de tiazoles

En la bibliografía se pueden encontrar diversos métodos para la preparación de estos intermedios empleando como material de partida ésteres de aminoácidos. Entre estos métodos se encuentra el método de Dakin-West, que consiste en la transformación de un aminoácido en una α -acilaminocetona empleando un exceso de anhídrido en presencia de una base, generalmente piridina.²³⁴

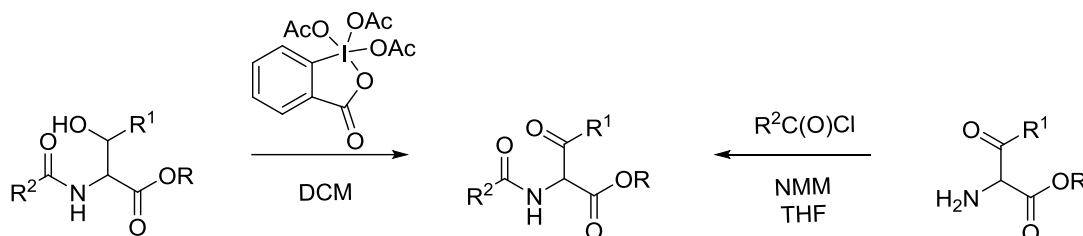


Esquema 1.64. Obtención de α -acilaminocetonas a partir de ésteres de aminoácidos

²³³Thomsen, I.; Pedersen, U.; Rasmussen, P. B.; Yde, B.; Andersen, T. P.; Lawesson, S. O. *Chem. Lett.* **1983**, 6, 809-810.

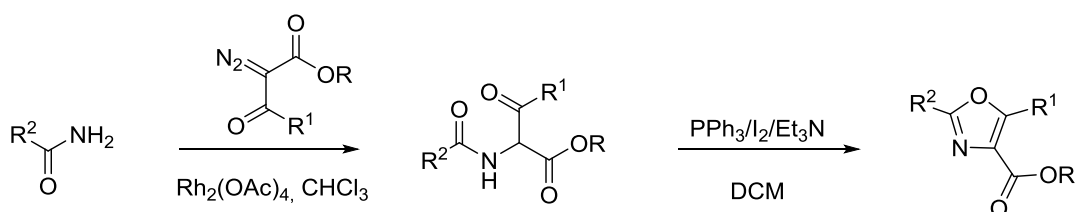
²³⁴Dakin, H. D.; West, R. J. *Biol. Chem.* **1928**, 78, 745-756.

La oxidación de β -hidroxiamidas²³⁵ o la acilación de un α -amino- β -cetoéster²³⁶ son métodos más recientes para la síntesis de intermedios α -acilaminocetónicos (esquema 1.65).



Esquema 1.65

En los años 90, el grupo de Moody introdujo una nueva variación de la síntesis de Robinson-Gabriel en la que el intermedio 1,4-dicarbonílico se obtenía mediante una reacción de inserción N-H catalizada por complejos rodio-carbeno.²³⁷ Esta reacción se lleva a cabo con compuestos diazocarbonílicos en presencia de amidas primarias a través de una inserción regioselectiva del carbeno en el enlace amídico (esquema 1.66).



Esquema 1.66

De esta manera se obtienen amidas α -carbonílicas que, tratadas posteriormente con el sistema PPh_3/I_2 en presencia de una base, dan lugar a la formación de derivados de ácidos 1,3-oxazol-4-carboxílicos 2,5-disustituidos.

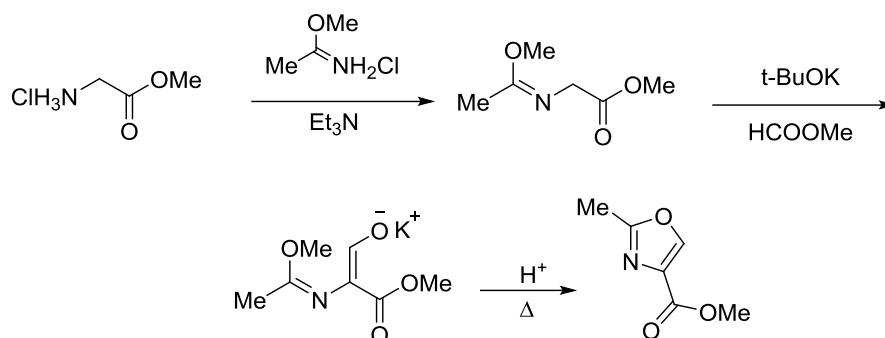
La síntesis de Cornforth es un método clásico de síntesis de ácidos 1,3-oxazol-4-carboxílicos 2-sustituidos en el cual se emplea como sustrato de partida un éster de aminoácido *N*-sustituido (esquema 1.67).²³⁸

²³⁵Wipf, P.; Miller, C. P. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3604-3606.

²³⁶Singh, J.; Gordon, T. D.; Earley, W. G.; Morgan, B. A. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 211-214.

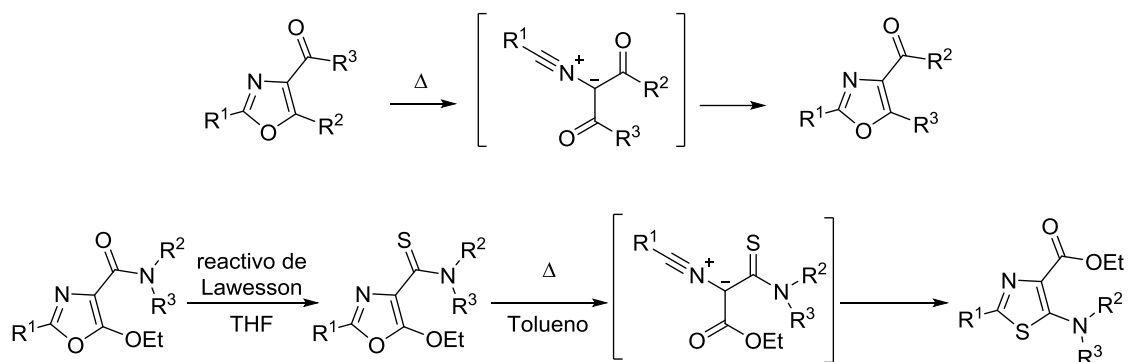
²³⁷Bagley, M. C.; Buck, R. T.; Hind, S. L.; Moody, C. J.; Slawin, A. M. Z. *Synlett* **1996**, 825-826.

²³⁸Cornforth, J. W.; Cornforth, R. H. *J. Chem. Soc.* **1947**, 96-102.



Esquema 1.67. Síntesis de Cornforth de 1,3-oxazoles

Cornforth observó que, bajo condiciones térmicas, los 4-aciloxazoles experimentaban una reordenación para dar los correspondientes isómeros. Esta reordenación dependía de la estabilidad termodinámica de los reactivos y de los productos finales.²³⁹ Varios años después, Turchi y colaboradores demostraron que esta reagrupación servía también para convertir 4-aminotiocarbonil-5-etoxioxazoles en 5-aminotiazoles (esquema 1.68).

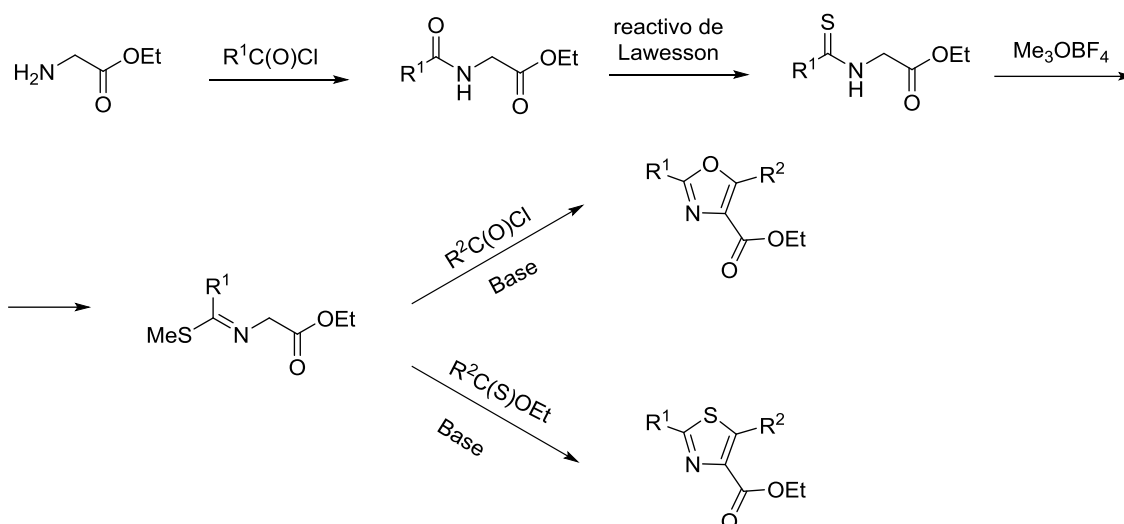


Esquema 1.68 Obtención de 5-aminotiazoles a partir de 4-aciloxazoles

Por último, el grupo de Yokoyama publicó un nuevo método para la síntesis de oxazoles y tiazoles mediante un intermedio común derivado del éster de glicina (esquema 1.69).²⁴⁰

²³⁹a) Cornforth, J. W. "The Chemistry of Penicillin", Princeton University Press, Princeton, N. J., **1949**, p 700. b) Dewar, M. J. S.; Turchi, I. J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, *96*, 6148-6152.

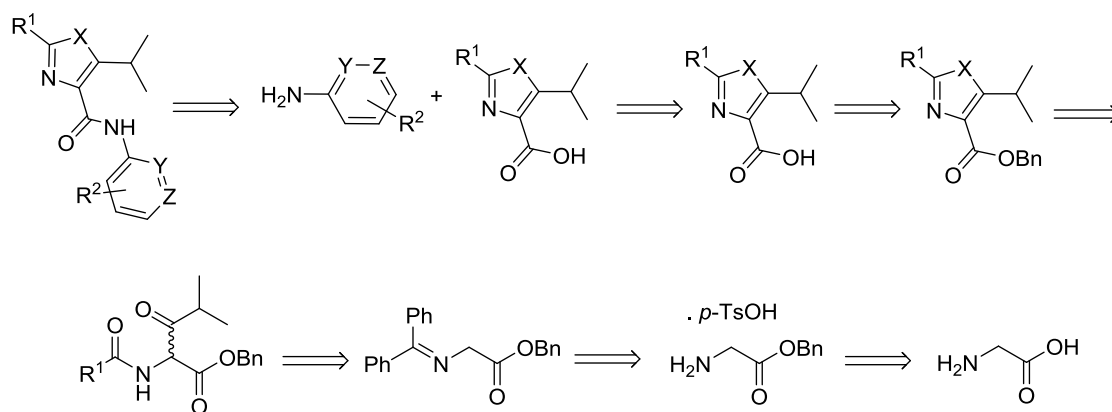
²⁴⁰Yokoyama, M.; Menjo, Y.; Watanabe, M.; Togo, H. *Synthesis* **1994**, 1467-1470.



Esquema 1.69. Síntesis de tiazoles a partir de éster de glicina.

4.4.3 OBJETIVOS

La síntesis de esta familia de compuestos podría abordarse desde distintas alternativas. El esquema 1.70 muestra el análisis retrosintético propuesto para la obtención de esta quimioteca de compuestos.



Esquema 1.70. Análisis retrosintético

Las etapas claves de la ruta sintética serían:

- Formación de compuestos α -amido- β -cetoésteres mediante la condensación de una benzofenonimina con diferentes derivados de ácidos seguida de la formación de un enlace peptídico.²⁴¹

- Ciclación de α -amido- β -cetoésteres empleando el reactivo de Lawesson, siguiendo la estrategia de la síntesis de tiazoles de Gabriel.²⁴²

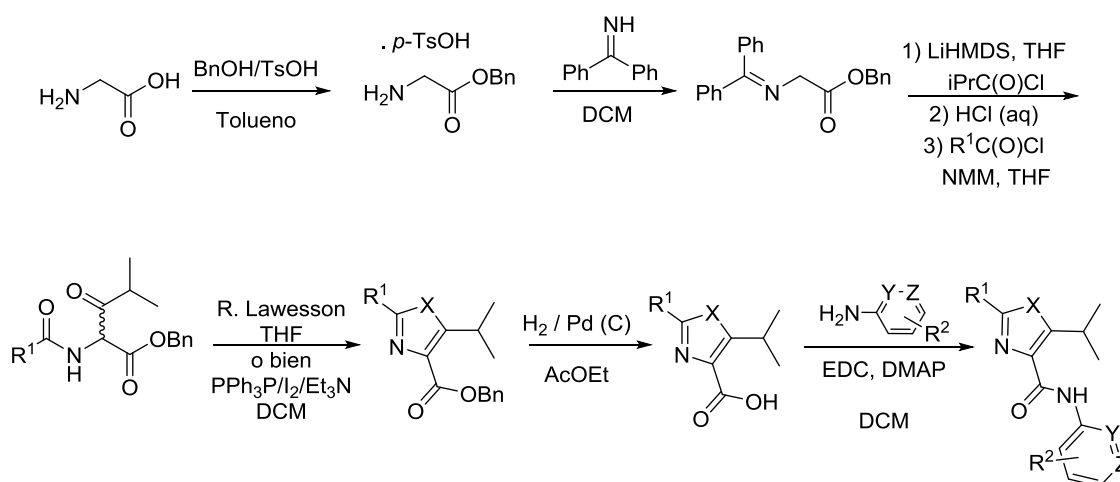
- Hidrogenólisis del grupo bencilo con posterior formación de un enlace tipo amida.

Una vez sintetizados todos los compuestos, se someterán a análisis biológicos para evaluar su capacidad farmacológica.

A la vista de los resultados biológicos obtenidos en una primera tanda, se procederá a una reevaluación y rediseño de los compuestos obtenidos.

4.4.4 RESULTADOS

Con el fin de obtener una amplia quimioteca de compuestos, se planteó la siguiente ruta sintética debido a su sencillez y a la disponibilidad de sustratos en nuestro laboratorio. Así mismo, dicha ruta permitía la introducción de gran diversidad funcional en la estructura sin variar drásticamente el planteamiento de la misma.

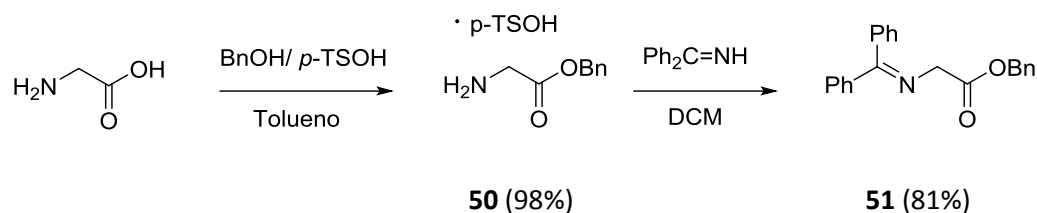


Esquema 1.71. Primera ruta sintética planteada.

²⁴¹Singh, J.; Gordon, T. D.; Earley, W. G.; Morgan, B. A. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 211-214.

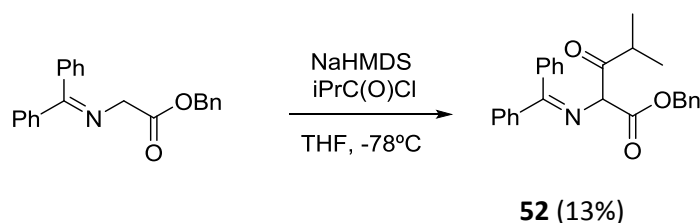
²⁴²Sanz-Cervera J. F.; Blasco R.; Píera J.; Cynamon M.; Ibáñez I.; Murguía M.; Fustero S. *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, 8988-8996.

La estrategia sintética comenzó con la protección del grupo carboxílico de la glicina en forma de éster por tratamiento con alcohol bencílico en presencia de una cantidad catalítica de ácido *p*-toluensulfónico. El tosilato así obtenido se hizo reaccionar con benzofenonimina para obtener el derivado **51** con buen rendimiento (esquema 1.72). Este procedimiento permite una doble protección del aminoácido. La metodología que se ha utilizado se encuentra previamente descrita en la bibliografía.²⁴³



Esquema 1.72. Doble protección de la glicina.

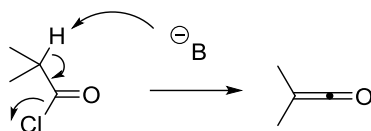
A continuación, la imina **51** se convirtió en su enolato por tratamiento con hexametildisilazida de sodio,²⁴⁴ seguido de adición de cloruro de isobutiroilo. El α -amino- β -oxoéster **52** se aisló mediante cromatografía de columna, pero con muy bajo rendimiento (13%) (Esquema 1.73).



Esquema 1.73. Obtención del compuesto **52**.

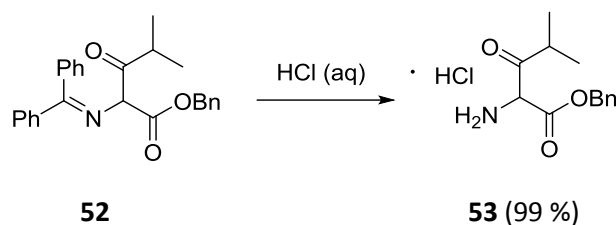
Es bien sabido que el estado de la base influye considerablemente a la hora de formar el carbanión, descomponiéndose fácilmente en hexametildisilazano e hidróxido sódico. Al repetir la reacción con una disolución nueva de base el rendimiento pasó de un 13% a un 21%. Una de las causas que explicarían este bajo rendimiento es la presencia de hidrógenos ácidos en posición α al carbonilo del cloruro de acilo. La abstracción del hidrógeno ácido por parte de la base conduciría a la formación de una cetena de bajo punto de ebullición (34°C) interrumpiéndose así el curso de la reacción.

²⁴³Pinter, A.; Haberhauer, G.; Hyla-Kryspin, I.; Grimme, S. *Chem. Comm.* **2007**, 36, 3711-3713.



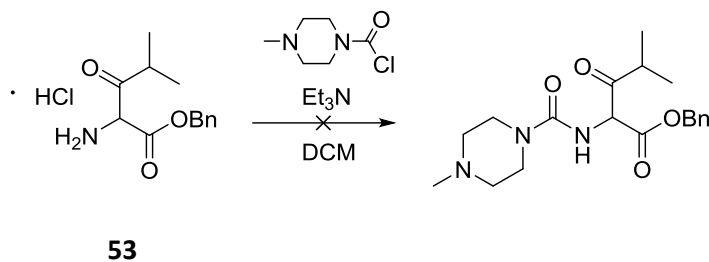
Esquema 1.74. Hipótesis de formación de cetena.

Teniendo en cuenta este hecho y esperando que el rendimiento de la siguiente etapa pudiera ser más elevado, se procedió a la hidrólisis del compuesto **52** empleando una disolución acuosa de HCl. La mezcla de reacción se llevó a sequedad y el residuo obtenido se suspendió en éter para eliminar los restos de benzofenona. El clorhidrato **53** formado se filtró y se empleó en la siguiente etapa sin purificación adicional.



Esquema 1.75. Hidrólisis del α -amino- β -oxoéster **52**.

Para llevar a cabo la siguiente reacción de amidación se hizo reaccionar el clorhidrato obtenido con el cloruro de ácido de la 4-metilpiperazina en presencia de Et₃N.



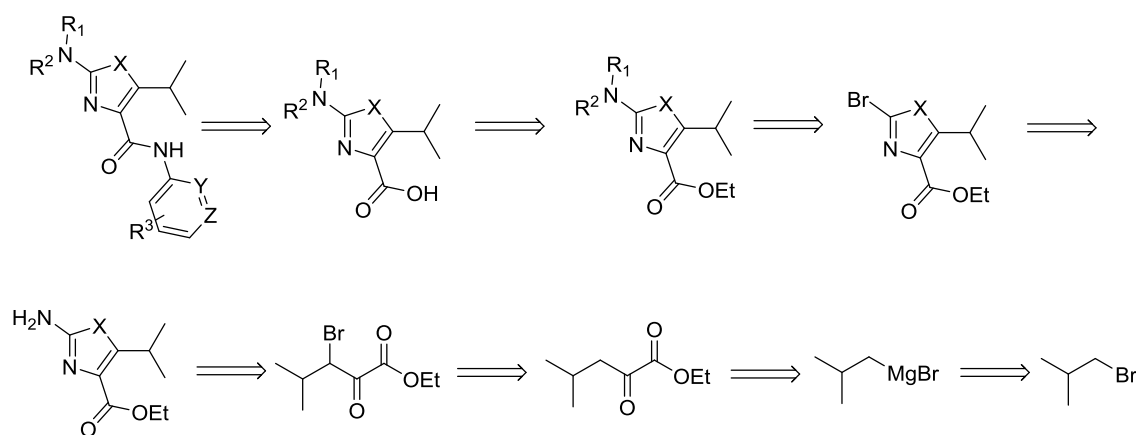
Esquema 1.76. Reacción de formación de enlace peptídico.

Desafortunadamente no observamos la formación del compuesto esperado. En un intento de obtener el correspondiente α -amido- β -cetoéster, se probaron diferentes condiciones de reacción: Et₃N/DIPEA como bases y DMAP/EDC hidrocloreuro como agente de acoplamiento.²⁴⁴

²⁴⁴Singh, J.; Gordon, T. D.; Earley, W. G.; Morgan, B. A. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 211-214.

Ninguna de las pruebas realizadas condujo a la formación del compuesto deseado. El procesado de las diferentes mezclas de reacción resultaba muy laborioso y no daba en ningún caso una completa conversión del sustrato **53**. En este punto nos planteamos dos opciones: seguir investigando esta reacción o proponer un cambio en la ruta sintética que nos permitiera obtener el *hit* de manera más sencilla y en el menor tiempo posible.

Dado que la formación del intermedio α -acilaminocetónico estaba planteando muchos problemas, decidimos explorar una nueva ruta sintética para la obtención de esta familia de compuestos (esquema 1.77).

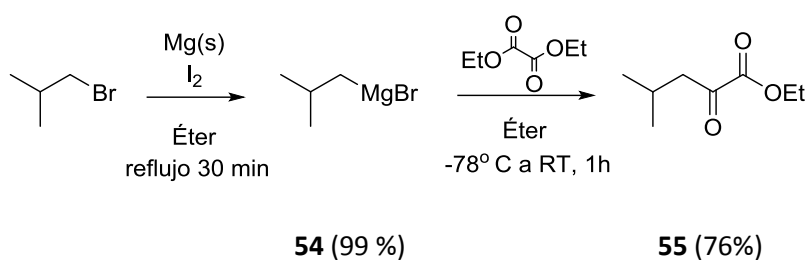


Esquema 1.77. Segundo análisis retrosintético planteado

En este caso, en vez de abordar la síntesis de tiazoles empleando el método de Gabriel, se decidió llevar a cabo la síntesis de tiazoles por condensación de α -bromocetonas con tiourea (síntesis de Hantzsch). Formado el núcleo de tiazol se llevarán a cabo reacciones de aminación y amidación que conllevarán la obtención de los diferentes derivados sintéticos.

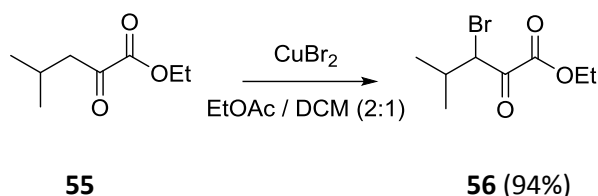
Esta nueva ruta sintética permite la introducción de una gran variabilidad estructural y, aunque contiene un mayor número de etapas que la ruta anterior, presenta una ventaja: los cinco primeros pasos son comunes a todos los derivados, de forma que se puede preparar un intermedio a gran escala y obtener así varios compuestos en un corto intervalo de tiempo.

Esta nueva estrategia comenzó con la formación del α -cetoéster **55**. Para ello se hizo reaccionar el reactivo de Grignard **54** con oxalato de dietilo (esquema 1.78).²⁴⁵



Esquema 1.78. Obtención del compuesto **55**.

Una vez obtenido el compuesto **55** se procedió a realizar una bromación en posición α al carbonilo, para lo que existe una gran variedad de métodos.²⁴⁶ Debido a la suavidad de las condiciones de reacción se decidió llevar a cabo la bromación empleando como reactivo CuBr_2 .²⁴⁷ Por consiguiente, el compuesto **55** se trató con CuBr_2 empleando como disolvente una mezcla EtOAc/DCM en condiciones de reflujo, obteniéndose el compuesto **56** con excelente rendimiento (94%).



Esquema 1.79. Reacción de bromación con CuBr_2 .

A continuación se hizo reaccionar el α -bromocetoéster **56** con tiourea empleando EtOH como disolvente.²⁴⁸ La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 5 horas, obteniéndose el tiazol **57** con un 93% de rendimiento, caracterizado

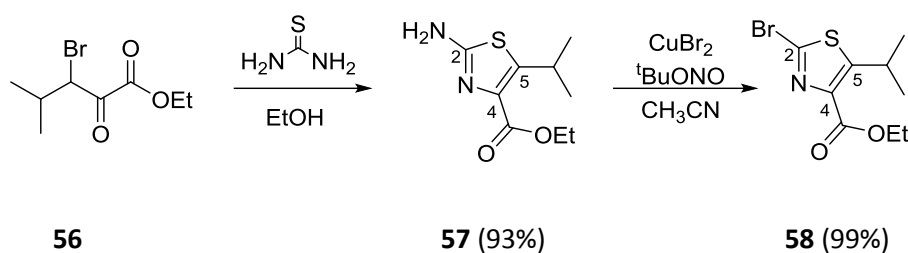
²⁴⁵Creary X. J. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5026-5030.

²⁴⁶a) Cornwall, P.; Dell, C. P.; Knight, D. W. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1991**, 2417-2428. b) Vaccaro, H. A. Levy, D. E.; Sawabe, A.; Jaetsch, T.; Masamune, S. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 1937-1940.

²⁴⁷a) Kinsella, M. A.; Kalish, V. J.; Weinreb, S. M. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 105-111. b) King, L. C.; Ostrum, G. K. *J. Org. Chem.* **1964**, *29*, 3459. c) Blanco, L.; Amice, P.; Conia, J. M. *Synthesis* **1976**, 194-196. d) Snider, B. B.; Kulkarni, Y. S. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 307-310.

²⁴⁸Karuvalam, R.P.; Haridas, K.R.; Nayak, S.K.; Guru Row, T.N.; Rajeesh, P.; Rishikesan, R.; Kumari. N. *Eur.J.Med.Chem.* **2012**, *49*, 172-182.

espectroscópicamente por las señales de ^{13}C RMN del heterociclo (162.4 (C2), 149.1 (C4), 134.9 (C5)).

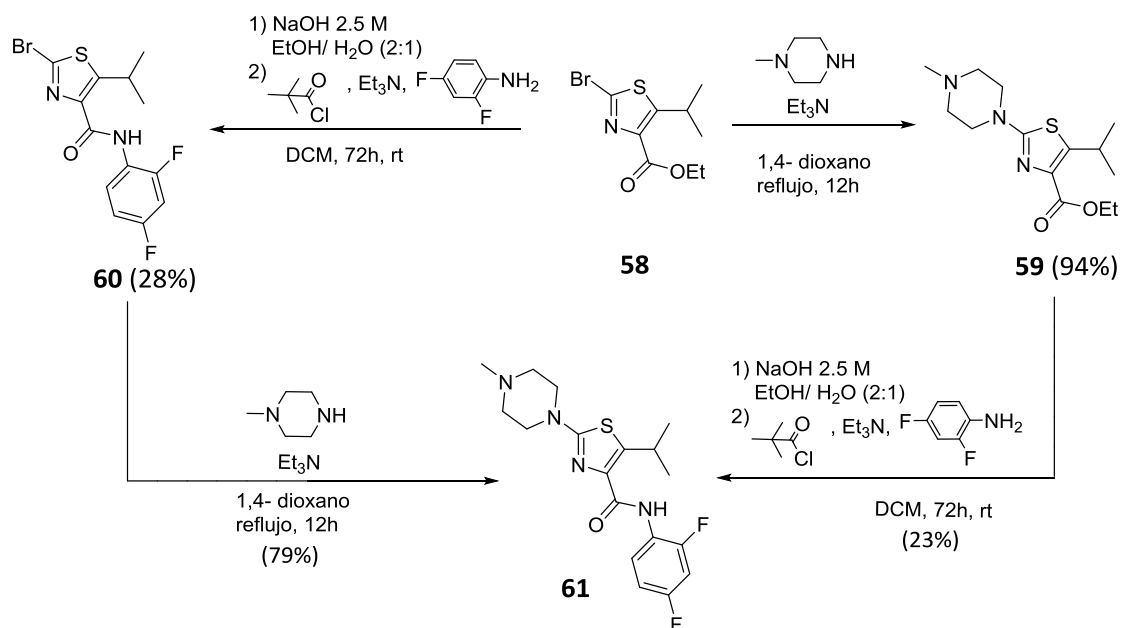


Esquema 1.80. Obtención del intermedio **58**.

Para la obtención del intermedio **58**, común a los diferentes derivados, se llevó a cabo la sustitución del grupo amino del tiazol por un bromuro mediante la reacción de Sandmeyer (esquema 1.80).²⁴⁹ Esta transformación implica la formación de la correspondiente sal de diazonio intermedia, que a continuación se hace reaccionar con la sal de cobre (II). De esta manera se obtuvo el compuesto **58** con un rendimiento cuantitativo, pudiéndolo emplear en la siguiente etapa sin necesidad de realizar una purificación adicional. La introducción del átomo de bromo se pone de manifiesto a través de un cambio en las señales de ^{13}C RMN donde el C2 directamente unido al átomo de bromo sale mucho más apantallado (132.3 ppm) que el C2 unido al grupo NH_2 en el compuesto **57** (162.4 ppm).

Una vez llegados a este punto y según el planteamiento inicial (esquema 1.77), las reacciones de aminación del núcleo de tiazol y la amidación del grupo carboxílico serían las etapas siguientes. Por lo tanto, se planteó la hipótesis de si el orden de las siguientes reacciones podría afectar al resultado en la obtención del producto final. Por consiguiente, se estudiaron ambas alternativas sintéticas (esquema 1.81).

²⁴⁹Sandmeyer T. *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*. **1884**. 17, 4, 2650–2653.



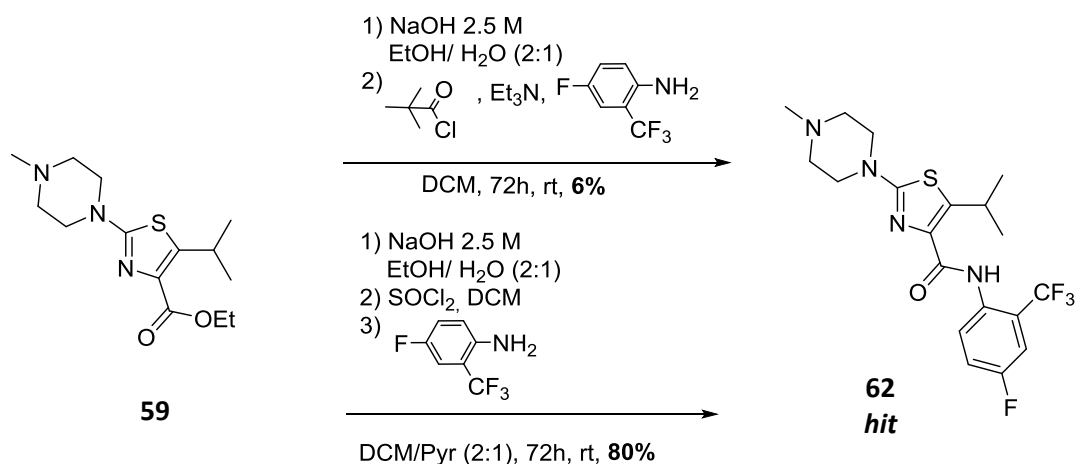
Esquema 1.81. Posibles aproximaciones para la obtención del compuesto **61**.

Estos ensayos de reactividad mostraron que el orden de las reacciones no afectaba considerablemente al rendimiento global. La reacción de aminación tuvo lugar con rendimientos moderados (79-94%). Esta diferencia de rendimientos está estrechamente relacionada con el impedimento estérico, siendo mayor el rendimiento cuando el sustrato está menos impedido. Por otra parte, la reacción de amidación sucedió en ambos casos con bajos rendimientos (23-28%).

Para llevar a cabo la reacción de amidación se emplearon diferentes anilinas como agentes nucleofílicos. Las aminas aromáticas son nucleófilos débiles *per se* debido a la deslocalización del par electrónico del átomo de nitrógeno en el anillo de benceno. Para la formación del compuesto **61** se empleó 2,4-difluoroanilina. Esta anilina es muy poco nucleofílica debido a la presencia de átomos de flúor en posiciones *orto* y *para*. Por lo tanto, la activación del electrófilo con cloruro de pivaloilo no fue suficiente para llevar a cabo la reacción con buenos rendimientos, tal y como demuestran los resultados obtenidos (esquema 1.81).

En la síntesis del *hit* fue necesario cambiar las condiciones de reacción ya que la presencia del grupo CF₃ en posición *orto* de la anilina impedía que la reacción de amidación tuviera lugar. De entre todos los procedimientos que se llevaron a cabo para mejorar la reacción, la formación del cloruro de ácido como método de activación del

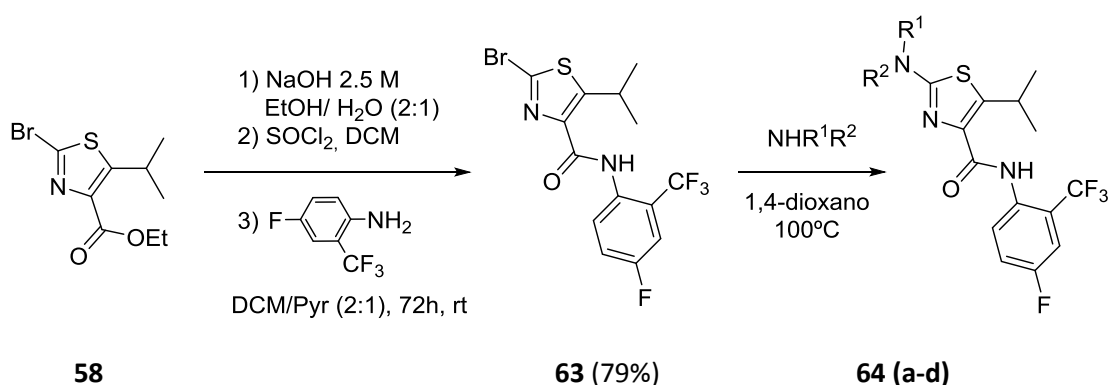
electrófilo fue el que mejor resultado proporcionó (esquema 1.82). Además, el empleo de piridina como codisolvente mejoró considerablemente el rendimiento de la reacción.



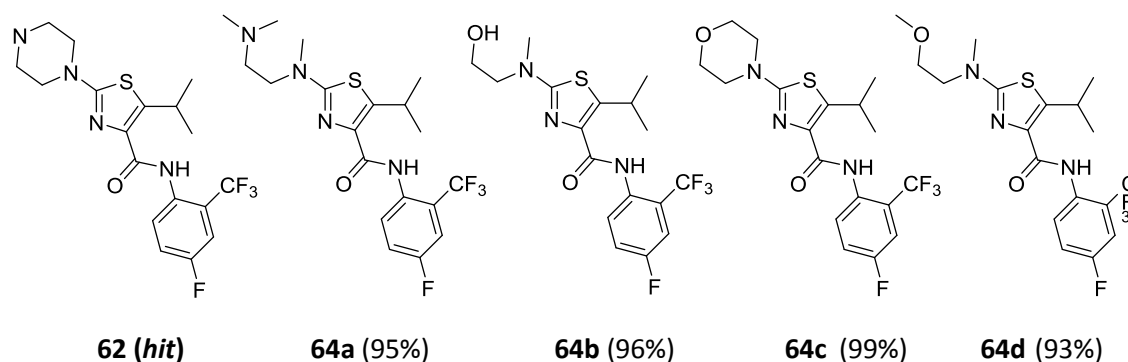
Esquema 1.82. Obtención del compuesto *hit*

Una vez puesta a punto la metodología sintética, la síntesis de derivados del *hit* (compuesto 62) se realizó de manera sencilla, lo cual nos permitió preparar una quimioteca extensa en un corto intervalo de tiempo.

Con el objetivo de estudiar la influencia del anillo de piperazina en la actividad biológica, se realizaron modificaciones en la parte izquierda del *hit* (esquema 1.83). Con este fin, se sintetizó el intermedio común **63** sobre el cual se realizaron las diferentes reacciones de aminación que darían lugar a los correspondientes derivados sintéticos.



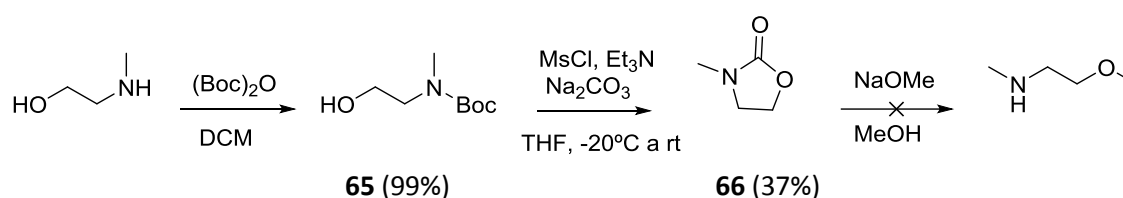
Esquema 1.83. Obtención de los derivados **64 (a-d)**.



Esquema 1.84. Estructuras de los análogos **64 (a-d)**.

Los compuestos **64a** y **64b** son análogos al *hit* que presentan la apertura del ciclo de piperazina. Con esta modificación se pretendía estudiar la influencia del aspecto estérico en la actividad. El compuesto **64b** y **64c** introducen a su vez un nuevo centro básico capaz de actuar como dador u aceptor de enlaces de hidrógeno.

Dado que el grupo –OH libre presente en el compuesto **64b** es susceptible a la oxidación metabólica, se planteó la síntesis del éter análogo (**64d**). La amina secundaria necesaria para la síntesis de este derivado es comercial, pero presenta un elevado coste económico, por lo que se decidió sintetizarla mediante la siguiente secuencia sintética (esquema 1.85).^{250, 251}



Esquema 1.85

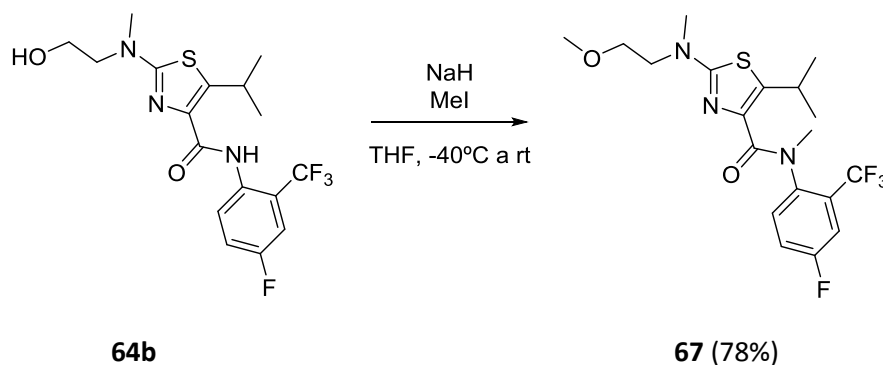
La primera etapa consistió en la protección del grupo –NH con anhídrido de Boc. Esta etapa se llevó a cabo con rendimientos cuantitativos (99%). El siguiente paso fue la formación de la N-metil-2-oxazolidona a través de la protección del alcohol con cloruro de

²⁵⁰Tucker, J. et al. *PCT Int. Appl.* **2010**, 2010042445.

²⁵¹Fancher, L. W. et al. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29 (40), 5095-5098.

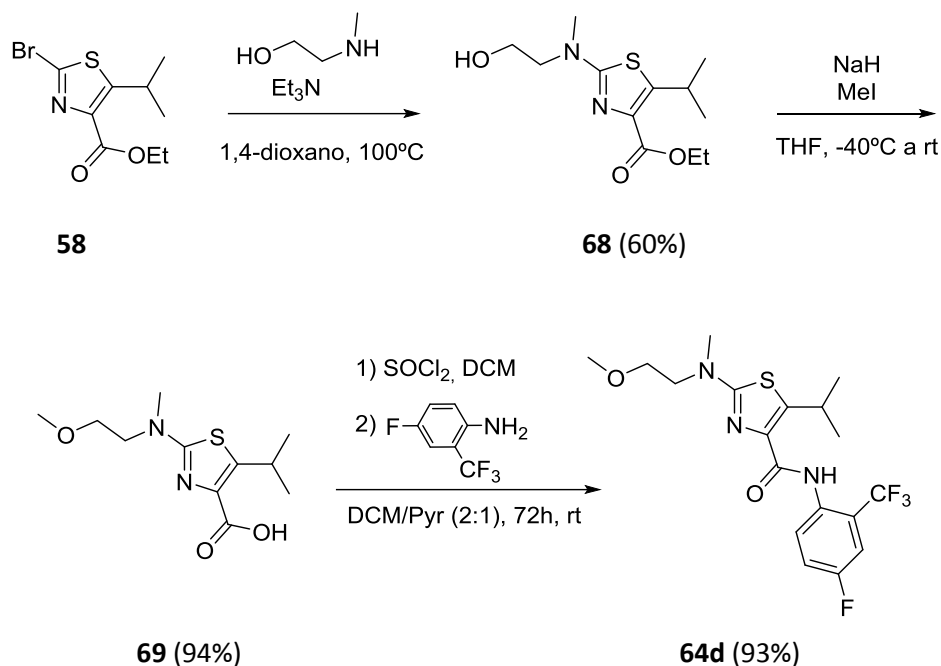
mesilo y posterior ciclación de la molécula. Esta reacción transcurrió con un rendimiento relativamente bajo (37%).

La apertura de la 2-oxazolidona con NaOMe para dar la correspondiente 2-alcoxiethylamina no transcurrió con buena conversión y no se consiguió aislar el compuesto final. Este resultado nos llevó a probar una metilación directa del compuesto **64b** (esquema 1.86). El derivado **64b** presenta dos centros susceptibles a la reacción de metilación; el -OH terminal y el -NH del grupo amida. Si se tiene en cuenta el impedimento estérico, cabría pensar que la reacción de metilación tendría lugar exclusivamente a través del alcohol terminal mientras que en términos de basicidad el átomo de nitrógeno es más básico que el de oxígeno. El análisis de ^1H RMN nos mostró que el compuesto mayoritario que se obtiene es el doblemente metoxilado debido a la presencia de tres señales características de metilo (4.01, s, 3H, CONCH₃), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.12 (s, 3H, NCH₃).



Esquema 1.86. Obtención del compuesto **67** doblemente metoxilado.

Con el objetivo de evitar que se produzca la reacción sobre el átomo de nitrógeno de la amida se decidió llevar a cabo en primer lugar la reacción de aminación con posterior metilación del OH. A continuación se procedió con la formación del cloruro de ácido para llevar a cabo en último lugar la reacción de amidación (esquema 1.87). Siguiendo esta ruta sintética se obtiene el derivado **64d** con elevado rendimiento.



Esquema 1.87. Obtención del análogo 64d.

Con el derivado **64d** se concluyen las modificaciones introducidas en la parte izquierda del *hit*, alterando tanto los factores estéricos como la diversidad funcional mediante la introducción de nuevos centros básicos.

A continuación se procedió a realizar modificaciones en el anillo de tiazol. El cambio de la unidad estructural central por un anillo de oxazol fue la primera alternativa que se propuso debido a la amplia ventana de estructuras oxazólicas de origen natural que presentan actividad biológica. Estas estructuras comprenden desde los más simples derivados 2,5-disustituídos de los alcaloides pimprina y pimprimetina,²⁵² hasta los más complejos compuestos 2,4-disustituídos como el fenoxan,²⁵³ caliculina A²⁵⁴ y rizoxina.²⁵⁵

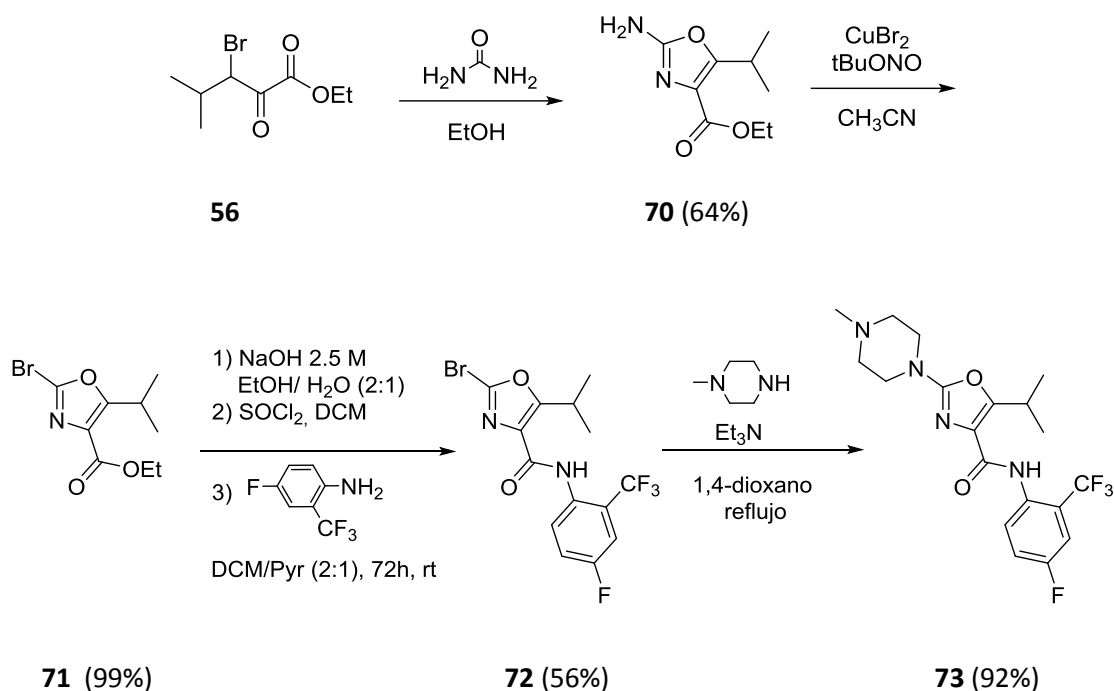
²⁵²Koyama, Y.; Yokose, K.; Dolby, L. J. *Agric. Biol. Chem.* **1981**, *45*, 1285-1287.

²⁵³Ishibashi, Y.; Ohba, S.; Nishiyama, S.; Yamamura, S. *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 2997-3000. b) Garey, D.; Ramirez, M.; Gonzales, S.; Wertsching, A.; Tith, S.; Keefe, K.; Peña, M. R.; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4853-4856.

²⁵⁴a) Evans, D. A.; Gage, J. R.; Leighton, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9434-9453. b) Tanimoto, N.; Gerritz, S.W.; Sawabe, A.; Noda, T.; Filla, S. A.; Masamune, S. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1994**, *33*, 673-675.

²⁵⁵Nakada, M.; Kobayashi, S.; Shibasaki, M.; Iwasaki, S.; Ohno, M. *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 1039-1042.

Con el objetivo de no modificar sustancialmente la ruta sintética diseñada para la obtención de los derivados tiazólicos, se procedió a la síntesis del derivado oxazólico siguiendo la misma secuencia sintética e introduciendo como único cambio el empleo de urea en lugar de tiourea en el paso de formación del heterociclo (esquema 1.88).



Esquema 1.88. Obtención del derivado oxazólico.

Por último y con el fin de mejorar las propiedades farmacocinéticas que presenta el *hit* en cuestión, se han llevado a cabo modificaciones en el anillo de fenilo adyacente, permitiendo variar tanto la lipofilia global de la molécula como el peso molecular. La introducción de átomos de halógenos en distintas posiciones del anillo, así como la presencia de grupos dadores y aceptores de electrones permiten introducir cambios importantes tanto en la actividad biológica como en las propiedades fisicoquímicas.

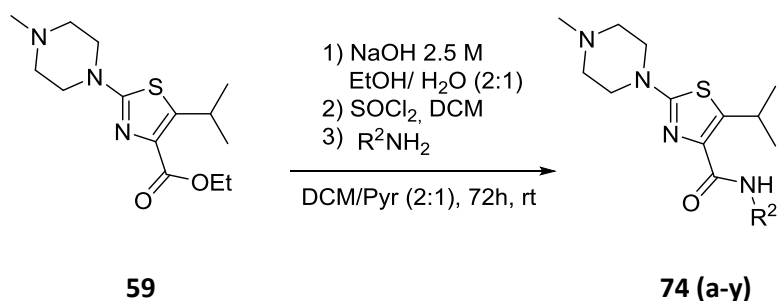
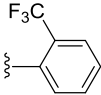
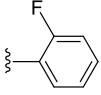
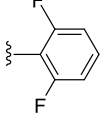
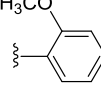
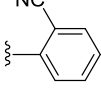
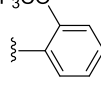
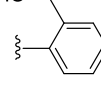
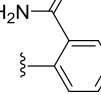
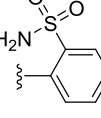
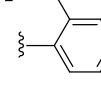
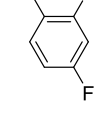
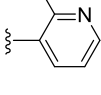


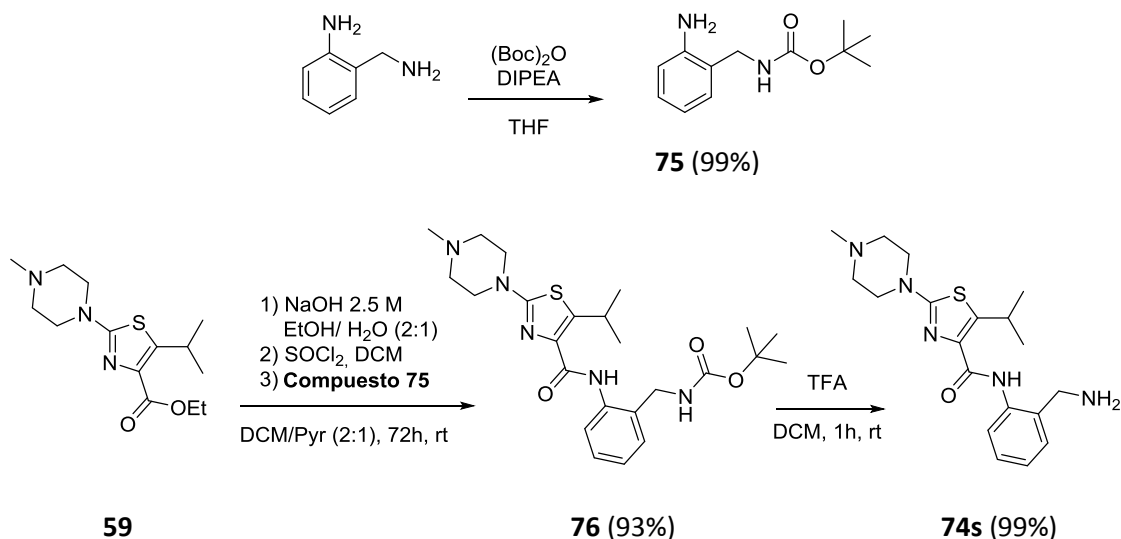
Tabla 1.8 Síntesis de derivados del *hit* a partir del compuesto **59**.

Entrada	Compuesto	R ²	Rendimiento (%)
1	74a		79%
2	74b		90%
3	74c		99%
4	74d		88%
5	74e		73%
6	74f		77%
7	74g		80%
8	74h		68%
9	74i		75%

10	74j		83%
11	74k		42%
12	74l		46%
13	74m		84%
14	74n		76%
15	74o		57%
16	74p		87%
17	74q		82%
18	74r		65%
19	74s		93%
20	74t		64%
21	74u		76%

22	74v		82%
23	74w		63%
24	74x		75%
25	74y		82%

Dado que las aminas alifáticas primarias presentan mayor carácter nucleofílico que las aromáticas, en la síntesis del compuesto **74s** (entrada 19, Tabla 1.8) es necesario proteger previamente el NH₂ bencílico empleando para ello anhídrido de Boc. Una vez realizada la protección, se llevó a cabo la reacción de amidación y posteriormente la desprotección del grupo amino (esquema 1.89).



Esquema 1.89. Obtención del compuesto **74s**

Adicionalmente y con el objetivo de modificar la distancia entre el anillo de tiazol y el anillo de fenilo se sintetiza el análogo **74t** (entrada 20, Tabla 1.8) empleando como

nucleófilo una amina bencílica en lugar de la correspondiente anilina en la reacción de formación del enlace peptídico.

Por último, los compuestos **74u-74y** (entrada 21-25, Tabla 1.8) presentan un anillo de piridina en lugar del anillo de fenilo. La introducción del átomo de nitrógeno aporta un nuevo centro básico capaz de actuar como aceptor de puentes de hidrógeno en la unión con proteínas. Por ese motivo, se sintetizaron algunos derivados que contienen dicho átomo en distintas posiciones del anillo, así como átomos de halógenos que aportan lipofilia a la molécula.

Una vez sintetizados todos los compuestos finales se sometieron a análisis biológicos para evaluar su capacidad farmacológica.

5. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 TÉCNICAS GENERALES

RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Los espectros de RMN se registran en un espectrómetro Bruker Avance 300 DRX (300.13 MHz para ^1H -RMN, 282MHz para ^{19}F (a)-RMN y 75,48 MHz para ^{13}C -RMN). En algunos casos también se emplea un espectrómetro Bruker Avance 400 (399.91MHz para ^1H -RMN y 100.55 MHz para ^{13}C -RMN) y un Bruker 500 DPX. Como disolvente deuterado se emplea CDCl_3 , tomando la señal del disolvente no deuterado residual como referencia (7.26 ppm para ^1H -RMN y 77.16 ppm para ^{13}C -RMN). Para compuestos muy polares se emplea $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ referenciado a 2.05 ppm para ^1H -RMN y 29.84 ppm para ^{13}C -RMN. En el caso del CD_3OD los picos residuales aparecen a 3.31 ppm para ^1H -RMN y 49.00 ppm para ^{13}C -RMN). Los valores de desplazamiento químico están expresados en unidades δ (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en hertzios (Hz). La multiplicidad del carbono se determina mediante experimentos DEPT.

TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

- **CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA (CCF)**

Para llevar a cabo la cromatografía de capa fina se utilizan placas cromatográficas de Sílica Gel Merck 60 F-254 (ref 5554 Merck) de 0.2 mm de grosor sobre soporte de aluminio. Una vez eluidas, se observan a la luz UV y se revelan químicamente con una disolución de 10 g de $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, 25 g de ácido fosfomolibdico y 80 mL de H_2SO_4 (conc) en un litro de agua. Otros reveladores químicos que se emplean frecuentemente en el laboratorio son KMnO_4 (1.1 g KMnO_4 , 6.8 g K_2CO_3 , 1.6 mL NaOH 1M en 500 mL de H_2O) y ninhidrina (0.2 g de ninhidrina en 100 mL de EtOH).

CROMATOGRAFÍA DE COLUMNA

En cromatografía de columna se ha utilizado Sílica Gel Merck 60, 0.040-0.063 mm de tamaño de partícula (ref 109385 Merck).

- **HIGH-PRESSURE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC)**

El aparato empleado es un L-2130 Elite Lachrom. Se utiliza una columna de fase reversa LiChospher® 100 RP-18, 250x4 mm, 5 µm. El eluyente que se emplea es una mezcla de CH₃CN:H₂O cuya proporción varía según la polaridad del compuesto final.

DISOLVENTES Y REACTIVOS

Los disolventes utilizados para extracciones y eluciones en cromatografía de capa fina y columna son de grado técnico, previamente secados y destilados. Los disolventes utilizados en las reacciones se secan y purifican siempre que es necesario: el tetrahidrofurano y el éter se destilan sobre Na(s) mientras que el diclorometano se destila sobre CaH₂.

PUNTO DE FUSIÓN

Los puntos de fusión se determinan en tubos capilares en un instrumento Büchi M-560.

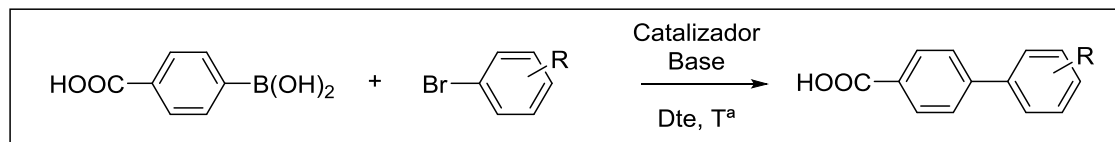
ESPECTOMETRÍA DE MASAS

Los espectros de masas de alta resolución (ESI) se obtuvieron con un espectrómetro de masas híbrido con analizador cuadrupolo-tiempo de vuelo, TRIPLETOF^T5600 (ABSciex).

5.2 SÍNTESIS DE LA FAMILIA DE LAS PIPERAZINAS

5.2.1 PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS

Procedimiento general para la síntesis de biarilos (Procedimiento general A)



En un matraz de dos bocas se pesa el ácido 4-carboxifenilborónico (1.1 eq.) junto con el bromobenceno correspondiente (1 eq.), Pd(OAc)₂ (0.03 eq.) y PPh₃ (0.06 eq.). A continuación, se purga el montaje alternando ciclos de argón con ciclos de vacío. Por otra parte se prepara una disolución de Na₂CO₃ (3 eq.) en 10 mL de agua y a esta disolución acuosa se le añaden 10 mL de EtOH. La disolución resultante se adiciona lentamente a la mezcla de reacción que se dejar reaccionar bajo atmósfera de argón a 80°C el tiempo necesario para completar la reacción (normalmente entre dos y tres horas). Una vez completada, la mezcla de reacción se concentra a vacío en el rotavapor y el sólido negro obtenido se disuelve en agua. Esta disolución acuosa se acidifica hasta pH=4 empleando una disolución de HCl 0.1 M y se extrae con EtOAc. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El sólido obtenido se purifica por cristalización empleando MeOH o mediante cromatografía de columna.

Procedimiento general para la formación de enlaces peptídicos (procedimiento general B)

- **Empleando agentes de acoplamiento: (procedimiento general B1)**

En un matraz de 25 mL se pesa el biarilo correspondiente (1 eq.) junto con EDCI (2 eq.). El sistema se purga con una corriente de argón y se adicionan 5 mL de DMF anhidra. Sobre la disolución resultante se añade otra disolución de *N*-boc piperazina (1.1 eq.) en 2 mL de DMF. Posteriormente se adiciona a la mezcla de reacción piridina (1.5 eq.) y una cantidad catalítica de DMAP. La reacción se agita a T^a ambiente durante toda la noche. Una vez completada la reacción, se adicionan 10 mL de EtOAc y la fase orgánica se lava

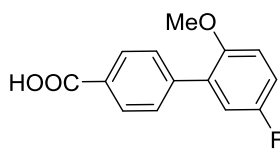
con NH₄Cl 1M, Na₂CO₃ y NaCl sat. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El producto obtenido se purifica por cromatografía de columna en caso de ser necesario.

- **Empleando cloruro de pivaloilo: (Procedimiento general B2)**

En un matraz de 10 mL se pesa el biarilo correspondiente (1eq.) y se disuelve en 1.5 mL de DCM anhidro. El sistema se purga con una corriente de argón. Seguidamente se adiciona Et₃N (2.3 eq.) y cloruro de pivaloilo (1 eq.). La mezcla de reacción se agita a T^a ambiente durante 2h. A continuación, se añade una disolución de piperazina *N*-sustituida (1eq.) en 1.5 mL de DCM. La reacción se mantiene en agitación a T^a ambiente durante 72h. Una vez completada, la mezcla de reacción se lava con HCl 1M, NaHCO₃ sat. y NaCl sat. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El residuo obtenido se purifica por cromatografía de columna.

5.2.2 PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS

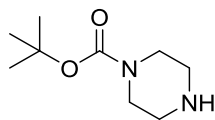
Síntesis del ácido 5'-fluoro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-carboxílico (**1**)



Mediante el procedimiento general **A**, a partir de ácido 4-carboxifenilborónico (365.1 mg, 2.2 mmol), 2-bromo-4-fluoroanisol (270 μ L, 2 mmol), Pd(OAc)₂ (13.5 mg, 0.06 mmol), PPh₃ (31.5 mg, 0.12 mmol) y Na₂CO₃ (635.9 mg, 6 mmol) se obtienen 343.4 mg de compuesto **1** después de agitar la mezcla de reacción durante 2h a 80°C. El producto se cristaliza en metanol caliente. Rendimiento de cristalización 70%.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.04 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, H₅, H₃), 7.59 (d, *J* = 6.8 Hz, 2H, H₆, H₂), 7.10-7.08 (m, 3H, H_{3'}, H_{4'}, H_{6'}), 3.78 (s, 3H, OCH₃); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** (-126.37)-(-126.45) (m, F); **¹³C RMN (125 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 169.2 (COOH), 158.8 (d, ¹*J*_{CF} = 236.8 Hz, C5'), 154.5 (C2'), 143.9 (C1'), 132.6 (d, ³*J*_{CF} = 7.5 Hz, C1'), 130.9 (C4), 130.64 (C2, C6), 130.59 (C3, C5), 118.1 (d, ²*J*_{CF} = 23.8 Hz, C6') 116.3 (d, ²*J*_{CF} = 22.8 Hz, C4'), 114.6 (d, ²*J*_{CF} = 8.4 Hz, C3'), 57.0 (CH₃); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo negativo):** calculada para C₁₄H₁₁FO₃ [M-H]: 245.0619. Obtenida: 245.0614; **Punto de fusión:** 236-238°C.

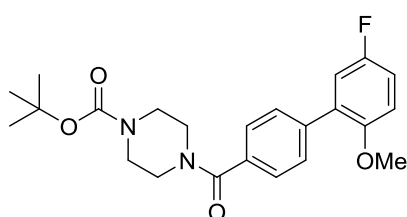
Síntesis de piperazin-1-carboxilato de *ter*-butilo (**2**)



En un matraz de 250 mL se pesan (861.4 mg, 10 mmol) de piperazina que se disuelven en 16 mL de DCM. La disolución resultante se enfría a 0°C bajo atmósfera de argón. Por otra parte se pesan (1.09 g, 5 mmol) de carbonato de ditertbutilo que se disuelven en 16 mL adicionales de DCM. La disolución resultante se mantiene bajo argón y se añade lentamente a la mezcla de reacción anterior manteniendo la agitación durante 2h a T^a ambiente. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se filtra y el filtrado se concentra a sequedad en el rotavapor. Se obtiene un sólido blanco con aspecto oleoso que se disuelve en agua, apareciendo de nuevo un precipitado blanco que se vuelve a filtrar. El filtrado se satura con Na₂CO₃ y se extrae con EtOAc. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. Finalmente se obtienen 754 mg de compuesto **2** como un sólido blanco. Rendimiento del 81%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3.38 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H₂, 2 x H₆), 2.79 (t, *J*= 5.4 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H₃, 2 x H₅), 1.71 (*s*_{ancho}, NH), 1.45 (s, 9H, 3 x CH₃); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 154.9 (CO), 79.7 (C7), 46.0 (4 x CH₂, C2, C3, C5, C6), 28.6 (*t*- Bu); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₉H₁₈N₂O₂ [M+H]⁺: 187.1441. Obtenida: 187.1445; **Punto de fusión:** 45-47°C.

Síntesis de 1-*ter*-butoxicarbonil-4-(5'-fluor-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-carboxil) piperazina (**3**)



Mediante el procedimiento general **B1**, a partir del compuesto **1** (120 mg, 0.48 mmol), compuesto **2** (100 mg, 0.54 mmol), EDCI (149 mg, 0.96 mmol), piridina (58 μL, 0.72 mmol) y DMAP se obtienen 127.6 mg de compuesto **3**. Líquido incoloro. Rendimiento 64%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.57 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H, H₃, H₅), 7.44 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H, H₂, H₆), 7.05-6.99 (m, 2H, H₄', H₆'), 6.94-6.89 (m, 1H, H₃'), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.59-3.30 (m, 8H, 4 x CH₂ (piperazina)), 1.48 (s, 9H, *t*Bu); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -124.23-(-124.30) (m, F); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 170.6 (CO), 158.2 (COO), 156.4

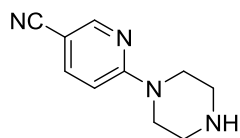
(C2'), 153.8 (d, $J=242.1$ Hz, C5'), 139.4 (C1), 134.4 (C4), 131.0 (d, $J=7.3$ Hz, C1'), 129.7 (C5, C3), 127.1 (C2, C6), 117.5 (d, $J=23.3$ Hz, C6'), 115.0 (d, $J=22.5$ Hz, C4'), 112.6 (d, $J=8.3$ Hz, C3'), 80.5 (^tBu), 56.3 (OMe), 45.6 (4 x CH₂, piperazina), 28.5 (3 x CH₃, ^tBu); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo)**: calculada para C₂₃H₂₇FN₂O₄ [M+H]⁺= 415.2028. Obtenida: 415.2026.

Síntesis de 4-(5'-cianopiridin-2'-il)-1,4-diazepan-1-carboxilato de *ter*-butilo (4)

En un matraz de 10 mL se pesan (27.7 mg, 0.2 mmol) de 6-cloronicotinonitrilo y se disuelven bajo argón en 2 mL de CH₃CN. A continuación se añaden (39 μL, 0.2 mmol) de *N*-Boc-diazepina. Sobre la mezcla resultante se adicionan (84 μL, 0.6 mmol) de Et₃N y la reacción se agita a reflujo durante toda la noche. Una vez completada, la mezcla de reacción se concentra en el rotavapor y el residuo obtenido se purifica por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente Hex:EtOAc (1:0→1:4→1:1). Finalmente se obtienen 48.5 mg de compuesto **4**. Líquido amarillo. Rendimiento 77%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.37 (dd, $J=2.1, 0.6$ Hz, 1H, H6'), 7.57 (dd, $J=9, 2.4$ Hz, 1H, H4'), 6.50 (d, $J=9.3$ Hz, 1H, H3'), 3.80 (m, 2H, H7), 3.67 (t, $J=6$ Hz, 2H, H2), 3.55 (t, $J=5.7$ Hz, 2H, H3), 3.30-3.26 (m, 2H, H5), 1.93-1.89 (m, 2H, H6), 1.40 (s, 3 x CH₃, ^tBu); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm)**: 158.5 (C2'), 155.1 (COO), 153.1 (C6'), 139.8 (C4'), 118.9 (CN), 105.3 (C3'), 95.9 (C5'), 79.9 (C, ^tBu), 48.9 (C2), 47.4 (C7), 46.1 (C5), 28.4 (3 x CH₃, ^tBu), 24.9 (C6); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo)**: calculada para C₁₆H₂₂N₄O₂ [M+H]⁺= 303.1816. Obtenida: 303.1821.

Síntesis de 6-(piperazin-1'-il)nicotinonitrilo (5)

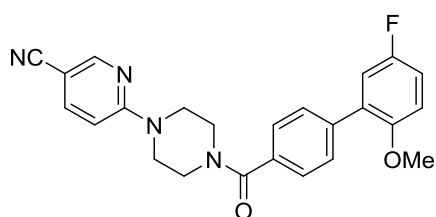


En un matraz de dos bocas se pesan (138.6 mg, 1 mmol) de 6-cloronicotinonitrilo y (258.4 mg, 3 mmol) de piperazina. El sistema se purga con una corriente de argón y se adicionan 10 mL de THF anhidro. La mezcla de reacción resultante se mantiene en agitación constante durante toda la noche a 60°C. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se concentra en el rotavapor hasta sequedad y el sólido blanco obtenido se disuelve en agua (10 mL) y se extrae con DCM. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y

se concentran en el rotavapor. Finalmente se obtienen 374.5 mg de compuesto **5** como un sólido blanco amarillo. Rendimiento 99%. El crudo se emplea en la siguiente etapa sin purificación adicional.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.38 (dd, *J* = 2.1, 0.3 Hz, 1H, H₂), 7.58 (dd, *J* = 9, 2.4 Hz, 1H, H₄), 6.57 (dd, *J* = 9.3, 0.9 Hz, 1H, H₅), 3.63 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H₂', H₆'), 2.94 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H₃', H₅'), 1.77 (S_{ancho}, NH); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 159.6 (C₆), 152.8 (C₂), 139.8 (C₄), 118.8 (CN), 105.7 (C₅), 96.3 (C₃), 45.9 (2x CH₂, C₂', C₆'), 45.69 (2x CH₂, C₃', C₅'); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₀H₁₂N₄ [M+H]⁺: 189.1135. Obtenida: 189.1127; **Punto de fusión:** 125-126°C.

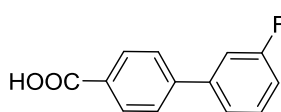
Síntesis de 6-(4-(5'-fluoro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-carbonil)piperazin-1-il)nicotinonitrilo (6)



Mediante el procedimiento general **B2**, A partir del compuesto **1** (73.9 mg, 0.3 mmol), compuesto **5** (56.5 mg, 0.3 mmol), Et₃N (96 μL, 0.69 mmol) y cloruro de pivaloilo (37 μL, 0.3 mmol) se obtienen 100.7 mg de compuesto **6** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyente Hex: EtOAc (4:1→3:2→1:1→0:1). Rendimiento 81%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.42 (dd, *J* = 2.4, 0.6 Hz, 1H, H₂ (piridina)), 7.65 (dd, *J* = 9, 2.4 Hz, 1H, H₄ (piridina)), 7.59 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H₃, H₅), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₂, H₆), 7.06-6.99 (m, 2H, H₆', H₄'), 6.95-6.90 (m, 1H, H₃'), 6.63 (dd, *J* = 9, 0.9 Hz, 1H, H₅ (piridina)), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.75 (S_{ancho}, 8H, 4 x CH₂ (piperazina)); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** (-124.1)-(-124.2) (m); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 170.6 (CO), 159.3 (C₆ (piridina)), 157.3 (d, *J* = 237.7 Hz, C₅'), 152.7 (C₂ (piridina)), 152.7 (C₂'), 140.2 (C₄ (piridina)), 139.6 (C₁), 134.0 (C₄), 130.9 (d, *J* = 7.5 Hz, C₁'), 129.8 (C₃, C₅), 127.2 (C₂, C₆), 118.4 (CN), 117.4 (d, *J* = 23.5 Hz, C₆'), 115.1 (d, *J* = 22.4 Hz, C₄'), 112.6 (d, *J* = 8.2 Hz, C₃'), 106.0 (C₅ (piridina)), 97.4 (C₃ (piridina)), 56.3 (OMe), 44.6 (4 x CH₂ (piperazina)); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₂₄H₂₁FN₄O₂ [M+H]⁺: 417.1721. Obtenida: 417.1720; **Punto de fusión:** 193-194°C.

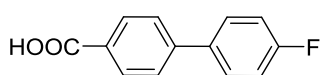
Síntesis del ácido 3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-carboxílico (7)



Mediante el procedimiento general **A**, a partir del ácido 4-carboxifenilborónico (91.3 mg, 0.55 mmol), 1-bromo-3-fluorobenceno (56 μ L, 0.5 mmol), Pd(PPh₃)₄ (17.3 mg, 0.02 mmol) y Na₂CO₃ (158.9 mg, 1.5 mmol) se obtienen 93.8 mg de compuesto **7** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando como eluyente (DCM + 1% de Et₃N) \rightarrow (DCM: MeOH (9:1)+ 1% de Et₃N). Una vez purificado el compuesto se disuelve en EtOAc y se lava tres veces con una disolución acuosa de HCl 0.1 M (para eliminar la Et₃N) y una vez con NaCl sat. Rendimiento 87%.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.10 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H₃, H₅), 7.72 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H₂, H₆), 7.51-7.44 (m, 2H, H_{2'}, H_{5'}), 7.42-7.39 (m, 1H, H_{6'}), 7.14-7.09 (m, 1H, H_{4'}); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** (-113.17)-(-113.26) (m, F); **¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 169.5 (CO), 164.1 (d, J = 244.7 Hz, C_{3'}), 147.6 (C₁), 143.8 (d, J = 7.6 Hz, C_{1'}), 131.8 (d, J = 8.4 Hz, C_{5'}), 131.4 (C₂, C₆), 131.4 (C₄), 128.1 (C₃, C₅), 124.1 (d, J = 2.8 Hz, C_{6'}), 115.7 (d, J = 21.4 Hz, C_{2'}), 114.9 (d, J = 22.3 Hz, C_{4'}); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₃H₉FO₂ [M-H]: 215.0514. Obtenida: 215.0518; **Punto de fusión:** 229-231°C.

Síntesis del ácido 4'-fluoro-[1,1'-bifenil]- 4-carboxílico (8)

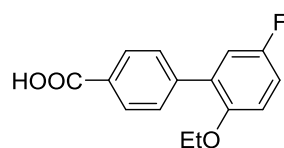


Mediante el procedimiento general **A**, a partir del ácido 4-carboxifenilborónico (91.3 mg, 0.55 mmol), 1-bromo-4-fluorobenceno (56 μ L, 0.5 mmol), Pd(PPh₃)₄ (17.3 mg, 0.02 mmol) y Na₂CO₃ (159 mg, 1.5 mmol) se obtienen 75.7 mg de compuesto **8** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando como eluyente (DCM + 1% de Et₃N) \rightarrow (DCM: MeOH (9:1)+ 1% de Et₃N). Una vez purificado el compuesto se disuelve en EtOAc y se lava tres veces con una disolución acuosa de HCl 0.1 M. De esta manera se elimina la presencia de Et₃N. Rendimiento 70%.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.09 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H₃, H₅), 7.70 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H₂, H₆), 7.71 (dd, J = 9, 5 Hz, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 7.20 (t, J = 9 Hz, 2H, H_{3'}, H_{5'}); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** -115.0 (dt, ³J_{HF}= 9.0 Hz, ⁴J_{HF}= 5.0 Hz, F_{4'}); **¹³C RMN (100 MHz,**

CD₃OD) δ (ppm): 169.8 (CO), 164.6 (d, J = 243.5 Hz, C4'), 146.0 (C1), 137.8 (d, J = 3.4 Hz, C1'), 131.5 (C2, C6), 130.9 (C4), 130.3 (d, J = 8.1 Hz, C2', C6'), 128.0 (C3, C5), 116.7 (d, J = 21.7 Hz, C3', C5'), 116.7 (d, J = 21.7 Hz, C3', C5'); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo negativo):** calculada para C₁₃H₉FO₂ [M-H]: 215.0514. Obtenida: 215.0516; **Punto de fusión:** 234-236°C.

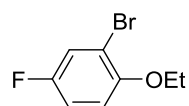
Síntesis del ácido 2'-etoxi-5'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-carboxílico (9)



Mediante el procedimiento general **A**, a partir del ácido 4-carboxifenilborónico (96.2 mg, 0.58 mmol), compuesto **10** (115.2 mg, 0.53 mmol), Pd(PPh₃)₄ (12.2 mg, 0.011 mmol) y Na₂CO₃ (167.4 mg, 1.58 mmol) se obtienen 131.2 mg de compuesto **9** como un sólido blanco después de purificarlo por cromatografía de columna empleando como eluyente DCM→(DCM:MeOH) (9:1)). Rendimiento 96%.

¹H RMN (400 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.04 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H3, H5), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 2H, H6, H2), 7.08 (dt, J = 8.8, 2 Hz, 1H, H6'), 7.06-7.03 (m, 2H, H3', H4'), 4.00 (q, J = 6.8 Hz, 2H, CH₂, OEt), 1.29 (t, J = 6.8 Hz, 3H, CH₃, Et); **¹³C RMN (100 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 169.8 (COOH), 158.6 (d, $^1J_{CF}$ = 236.8 Hz, C5'), 153.6 (d, J = 2 Hz, C2'), 143.8 (C1), 132.7 (d, $^3J_{CF}$ = 7.5 Hz, C1'), 130.7 (C4), 130.5 (C2, C6), 130.4 (C3, C5), 117.9 (d, $^2J_{CF}$ = 23.7 Hz, C6'), 116.2 (d, $^2J_{CF}$ = 22.9 Hz, C4'), 115.9 (d, $^2J_{CF}$ = 8.7 Hz, C3'), 66.2 (CH₂, OEt), 15.0 (CH₃, OEt); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo negativo):** calculada para C₁₅H₁₃FO₃ [M-H]: 259.0776. Obtenida: 259.0769; **Punto de fusión:** 241-243°C.

Síntesis de 2-bromo-1-etoxi-4-fluorobenceno (10)

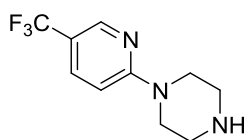


En un tubo a presión se mezclan (95.5 mg, 0.5 mmol) de 2-bromo-4-fluorofenol y (3.6 mL, 30 mmol) de carbonato de dietilo que se disuelven en 4 mL de DMF. Seguidamente se enfría el tubo de presión a 0°C en un baño de hielo. Una vez enfriado, se añaden (24 mg, 1 mmol) de NaH y la reacción se agita a (130°C-140°C) durante 3h. La mezcla de reacción se extrae con EtOAc y se lava varias veces con NH₄Cl (para eliminar la DMF). Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El residuo se purifica por cromatografía de columna

empleando como eluyente Hex: EtOAc (4:1). Finalmente se obtienen 39.8 mg de compuesto **10** como un aceite incoloro. Rendimiento 36%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.29 (dd, *J*= 7.8, 3 Hz, 1H, H₃), 6.96 (ddd, *J*= 9.7, 8.3 Hz, 1H, H₅), 6.83 (dd, *J*= 9,4.8 Hz, 1H, H₆), 4.06 (q, *J*= 6.9 Hz, 2H, CH₂, OEt), 1.45 (t, *J*= 6.9 Hz, 3H, CH₃, OEt); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -122.52-(-122.59) (ddd, *J*= 7.8, 7.8, 4.8 Hz, F); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 156.7 (d, *J*= 241.1 Hz, C₄), 152.1 (C₁), 120.5 (d, *J*= 25.6 Hz, C₃), 114.7 (d, *J*= 22.3 Hz, C₅), 114.0 (d, *J*= 8.3 Hz, C₆), 112.5 (d, *J*= 9.8 Hz, C₂), 65.7 (CH₂, OEt), 14.9 (CH₃, OEt).

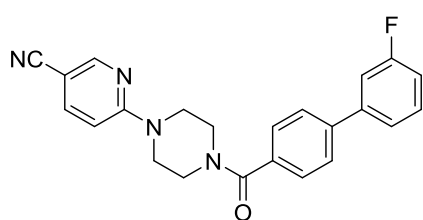
Síntesis de 1-(5'-(trifluorometil)piridin-2'-il)piperazina (**11**)



En un matraz de 50 mL, se disuelven (452 mg, 2 mmol) de 2-cloro-5-(trifluorometil)piridina y (516.8 mg, 6 mmol) de piperazina en 10 mL de THF. La reacción se mantiene en agitación constante durante 2h a 60°C bajo atmosfera de argón. Una vez completa, la mezcla de reacción se concentra en el rotavapor y el sólido blanco obtenido se disuelve en H₂O. La fase acuosa resultante se extrae con DCM y las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro. Se filtra el agente desecante y se elimina el disolvente en el rotavapor obteniéndose 466.2 mg de compuesto **11** como un sólido blanco cristalino. Rendimiento 99 %.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.38 (d, *J*= 2.4 Hz, 1H, H_{6'}), 7.61 (dd, *J*= 9,2.4 Hz, 1H, H_{4'}), 6.62 (d, *J*= 9 Hz, 1H, H_{3'}), 3.62 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H₂, H₆), 2.96 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H₃, H₅), 1.86 (s, NH); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** - 61.64 (s, CF₃); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 160.7 (C_{2'}), 145.8 (q, *J*= 4.4 Hz, C_{6'}), 134.5 (q, *J*= 3.2 Hz, C_{4'}), 124.7 (q, *J*= 268.4 Hz, CF₃), 115.2 (q, *J*= 32.7 Hz, C_{5'}), 105.6 (C_{3'}), 45.94 (2x CH₂, C₂, C₆), 45.92 (2x CH₂, C₃, C₅); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₀H₁₂F₃O₃ [M+H]⁺: 232.1056. Obtenida: 232.1055; **Punto de fusión:** 122-123°C.

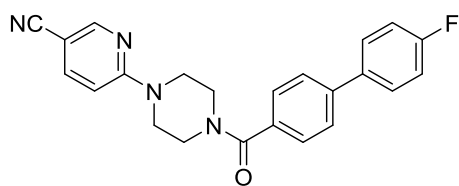
Síntesis de 6-[4-(3'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-carbonil)piperazin-1''-il]nicotinonitrilo (12)



Mediante el procedimiento general **B2**, a partir del compuesto **7** (64.9 mg, 0.3 mmol), compuesto **5** (56.5 mg, 0.3 mmol), Et₃N (96 μL, 0.69 mmol) y cloruro de pivaloilo (37 μL, 0.3 mmol) se obtienen 108.6 mg de compuesto **12** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyente Hex: EtOAc (4:1→3:2→1:1). Rendimiento 93%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.40 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, H2 (piridina)), 7.66-7.60 (m, 1H, H4 (piridina)), 7.63 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H3, H5), 7.52 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, H2, H6), 7.45-7.35 (m, 2H, H5', H6'), 7.30-7.25 (m, 1H, H2'), 7.10-7.03 (m, 1H, H4'), 6.62 (dd, *J* = 9, 0.6 Hz, 1H, H5 (piridina)), 3.75 (S_{ancho}, 8H, 4 x CH₂ (piperazina)); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 170.3 (CO), 163.3 (d, *J* = 244.7 Hz, C3'), 159.2 (C6 (piridina)), 152.7 (C2 (piridina)), 142.3 (d, *J* = 7.6 Hz, C1'), 141.8 (d, *J* = 2.2 Hz, C1), 140.2 (C4 (piridina)), 134.6 (C4), 130.6 (d, *J* = 8.4 Hz, C5'), 127.9 (C3, C5), 127.4 (C2, C6), 122.9 (d, *J* = 2.8 Hz, C6'), 118.4 (CN), 114.8 (d, *J* = 21.0 Hz, C4'), 114.1 (d, *J* = 22.1 Hz, C2'), 106.0 (C5 (piridina)), 97.3 (C3 (piridina)), 44.5 (4 x CH₂ (piperazina)); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₂₃H₁₉FN₄O [M+H]⁺: 387.1616. Obtenida: 387.1630; **Punto de fusión:** 163-164°C.

Síntesis de 6-[4-(4'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-carbonil)piperazin-1''-il]nicotinonitrilo (13)

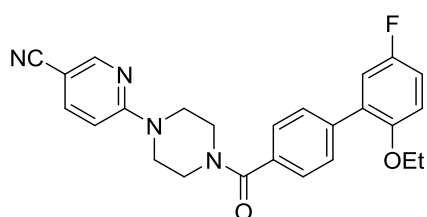


Mediante el procedimiento general **B2**, a partir del compuesto **8** (64.9 mg, 0.3 mmol), compuesto **5** (56.5 mg, 0.3 mmol), Et₃N (96 μL, 0.69 mmol) y cloruro de pivaloilo (37 μL, 0.3 mmol) se obtienen 109.4 mg de compuesto **13** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyente Hex: EtOAc (4:1→3:2→1:1). Rendimiento 94%.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.40 (dd, *J* = 2, 0.4 Hz, 1H, H2 (piridina)), 7.64 (dd, *J* = 8.8, 2.4 Hz, 1H, H4 (piridina)), 7.59 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H3, H5), 7.56-7.53 (m, 2H, H2', H6'), 7.50 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H2, H6), 7.13 (dd, *J* = 8.8, 4.8 Hz, 2H, H3', H5'), 6.62 (dd, *J* = 9.2, 0.4

Hz, 1H, H5 (piridina)), 3.74 (S_{ancho} , 8H, 4 x CH₂ (piperazina)); **¹³C RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 170.5 (CO), 162.9 (d, J = 246.4 Hz, C4'), 159.2 (C6 (piridina)), 152.7 (C2 (piridina)), 142.1 (C1), 140.2 (C4 (piridina)), 136.2 (d, J = 3.1 Hz, C1'), 134.0 (C4), 128.8 (d, J = 8.2 Hz, C2', C6'), 127.9 (C3, C5), 127.2 (C2, C6), 118.4 (CN), 115.9 (d, J = 21.5 Hz, C3', C5'), 106.0 (C5 (piridina)), 97.3 (C3 (piridina)), 44.5 (4 x CH₂ (piperazina)); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₂₃H₁₉FN₄O [M+H]⁺: 387.1616. Obtenida: 387.1635; **Punto de fusión:** 196-198°C.

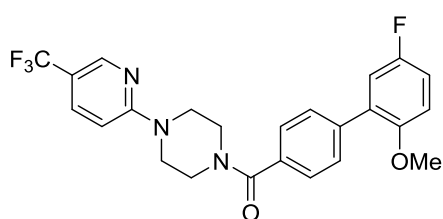
6-[4-(2'-etoxi-5'-fluoro-[1,1'-bifenil]-4-carbonil)piperazin-1''-il]nicotinonitrilo (14)



Mediante el procedimiento general **B2**, a partir del compuesto **9** (78.1 mg, 0.3 mmol), compuesto **5** (56.5 mg, 0.3 mmol), Et₃N (96 μL, 0.69 mmol) y cloruro de pivaloilo (37 μL, 0.3 mmol) se obtienen 86.3 mg de compuesto **14** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyente Hex: EtOAc (4:1→3:2→1:1→2:3). Rendimiento 67%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.42 (dd, J = 2.1, 0.6 Hz, 1H, H2 (piridina)), 7.65 (dd, J = 9, 2.1 Hz, 1H, H4 (piridina)), 7.62 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H3, H5), 7.48 (d, J = 8.7 Hz, 2H, H2, H6), 7.07-6.97 (m, 2H, H6', H4'), 6.91 (dd, J = 9, 4.8 Hz, 1H, H3'), 6.63 (dd, J = 9, 0.9 Hz, 1H, H5 (piridina)), 3.99 (q, J = 6.9 Hz, 2H, CH₂, OEt), 3.75 (S_{ancho} , 8H, 4 x CH₂ (piperazina)), 1.32 (t, J = 6.9 Hz, 3H, CH₃, OEt); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** (-124.0)-(-124.1) (m, F); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 170.6 (CO), 159.2 (C6 (piridina)), 157.2 (d, J = 237.6 Hz, C5'), 152.7 (C2 (piridina)), 152.1 (d, J = 2.0 Hz, C2'), 140.1 (C4 (piridina)), 139.6 (d, J = 1.3 Hz, C1), 133.9 (C4), 131.0 (d, J = 7.3 Hz, C1'), 129.7 (C3, C5), 127.0 (C2, C6), 118.4 (CN), 117.2 (d, J = 23.3 Hz, C6'), 115.0 (d, J = 22.4 Hz, C4'), 114.1 (d, J = 8.2 Hz, C3'), 106.0 (C5 (piridina)), 97.3 (C3 (piridina)), 64.9 (CH₂, OEt), 44.6 (4 x CH₂ (piperazina)), 14.8 (CH₃, OEt); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₂₅H₂₃FN₄O₂ [M+H]⁺: 431.1878. Obtenida: 431.1879; **Punto de fusión:** 163-165°C.

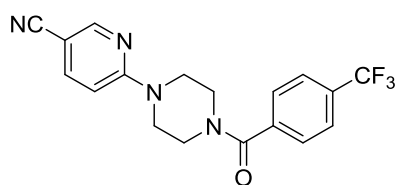
Síntesis de 6-[4-(5'-fluoro-2'-metoxi-[1,1'-bifenil]-4-carboxil)piperazin-1''-il]nicotintrifluoro-metano (15)



Mediante el procedimiento general **B2**, a partir del compuesto **1** (73.9 mg, 0.3 mmol), compuesto **9** (69.4 mg, 0.3 mmol), Et₃N (96 μL, 0.69 mmol) y cloruro de pivaloilo (37 μL, 0.3 mmol) se obtienen 107.7 mg de compuesto **15** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyente Hex: EtOAc (4:1→3:2→1:1→2:3→0:1). Rendimiento 78%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.41 (dd, *J* = 1.8, 0.9 Hz, 1H, H2 (piridina)), 7.67 (dd, *J* = 9.3, 2.7 Hz, 1H, H4 (piridina)), 7.59 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H3, H5), 7.49 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H2, H6), 7.07-7.00 (m, 2H, H6', H4'), 6.94-6.90 (m, 1H, H3'), 6.67 (d, *J* = 9Hz, 1H, H5 (piridina)), 3.79 (s, OMe), 3.72 (S_{ancho}, 8H, 4 x CH₂ (piperazina)); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -61.70 (s, CF₃), [(-124.16)-(-124.24)] (m, F); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 170.6 (CO), 160.3 (C6 (piridina)), 157.3 (d, *J* = 237.8 Hz, C5'), 152.8 (d, *J* = 2.1Hz, C2'), 145.9 (q, *J* = 4.3 Hz, C2 (piridina)), 139.5 (d, *J* = 1.4 Hz, C1), 134.8 (q, *J* = 3.2 Hz, C4 (piridina)), 134.3 (C4), 131.0 (d, *J* = 7.4 Hz, C1'), 129.7 (C3, C5), 127.2 (C2, C6), 124.6 (q, *J* = 268.8 Hz, CF3), 117.4 (d, *J* = 23.4 Hz, C6'), 116.1 (d, *J* = 33 Hz, C3 (piridina)), 115.0 (d, *J* = 22.5 Hz, C4'), 112.6 (d, *J* = 8.3 Hz, C3'), 105.9 (C5 (piridina)), 56.3 (OMe), 45.0 (4 x CH₂ (piperazina)); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₂₄H₂₁F₄N₃O₂ [M+H]⁺: 460.1643. Obtenida: 460.1635; **Punto de fusión:** 211-212°C.

Síntesis de 6-[4-(4'-(trifluorometil)benzoil)piperazin-1''-il]nicotinonitrilo (16)



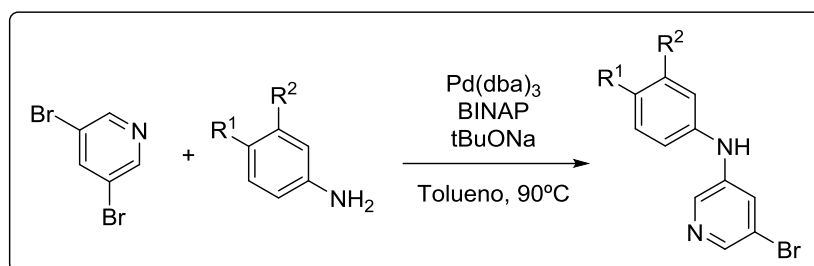
Mediante el procedimiento general **B2**, a partir del ácido 4-(trifluorometil)benzoico (57 mg, 0.3 mmol), compuesto **5** (56.5 mg, 0.3 mmol), Et₃N (96 μL, 0.69 mmol) y cloruro de pivaloilo (37 μL, 0.3 mmol) se obtienen 107 mg de compuesto **16** como un sólido blanco después de purificarlo por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyente Hex: EtOAc (4:1→3:2→1:1). Rendimiento 99%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.41 (dd, *J* = 2.4, 0.6 Hz, 1H, H2), 7.71 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H2', H6'), 7.67 (dd, *J* = 9, 2.4 Hz, 1H, H4), 7.55 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H3', H5'), 6.63 (dd, *J* = 9, 0.6 Hz, 1H, H5), 3.90-3.53 (m, 8H, 4 x CH₂ (piperazina)); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 169.3 (CO), 159.2 (C6), 152.7 (C2), 140.3 (C4), 138.8 (C1'), 132.2 (q, *J* = 32.5 Hz, C4'), 127.6 (C2', C6'), 125.9 (q, *J* = 3.7 Hz, C3', C5'), 125.5 (q, *J* = 270.8, CF₃), 118.3 (CN), 106.0 (C5), 97.6 (C3), 44.5 (4 x CH₂ (piperazina)); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₈H₁₅F₃N₄O [M+H]⁺: 361.1271. Obtenida: 361.1275; **Punto de fusión:** 116-117°C.

5.3 PARTE EXPERIMENTAL DE LA FAMILIA DE LAS AMINOPIRIDINAS

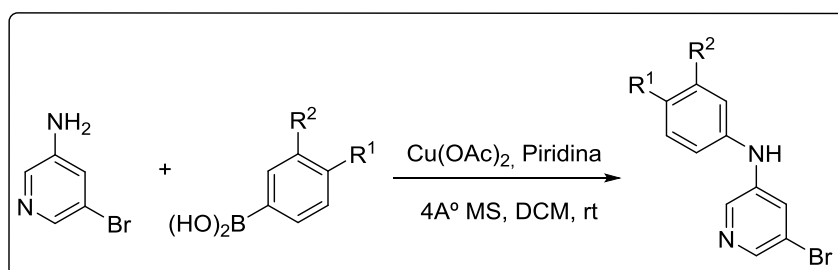
5.3.1 PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS

Procedimiento general para la reacción de aminación de Buchwald-Hartwig (Procedimiento general A)



En un matraz de dos bocas se pesa 3,5-dibromopiridina (1 eq.) junto con la anilina sustituida correspondiente (1.2 eq.), BINAP (0.04 eq.) y Pd₂(dba)₃ (0.02 eq.). A continuación se acopla un tubo refrigerante a una de las dos bocas y el sistema se purga alternando ciclos de argón con ciclos de vacío. Seguidamente se adiciona tolueno anhidro (0.3 M) y *ter*-butóxido sódico (1.4 eq.). La mezcla de reacción se deja en agitación durante toda la noche a 90°C. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se concentra a vacío en el rotavapor y el residuo obtenido se disuelve en EtOAc y se lava dos veces con una disolución saturada de NaCl. La fase orgánica se seca sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentra en el rotavapor. El residuo obtenido se purifica por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente adecuado para cada compuesto.

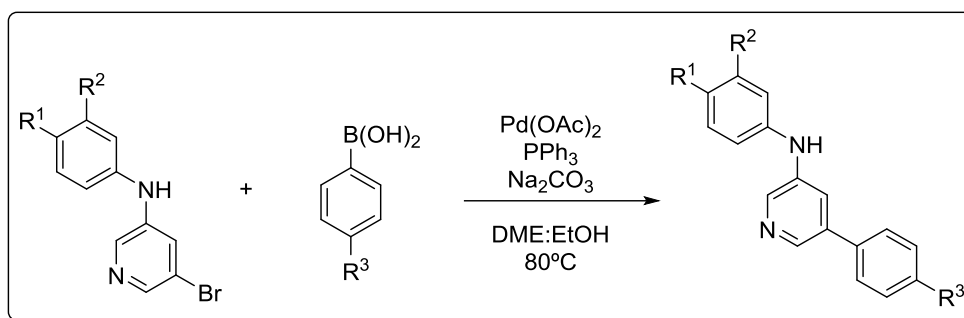
Procedimiento general para la reacción de acoplamiento de Chan-Lam (Procedimiento general B)



En un matraz de 10 mL se pesa 3-amino-5-bromopiridina (1 eq.) junto con el ácido fenilborónico correspondiente (2 eq.), Cu(OAc)₂ (0.5 eq.) y tamiz molecular de 4Å. A

continuación se añade DCM anhidro (0.1 M) y piridina (2 eq.). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente el tiempo necesario para que se consuman los sustratos de partida (se monitoriza el curso de la reacción por TLC). Una vez completa, se filtra la mezcla de reacción sobre celite, lavando el filtro con MeOH. El filtrado se concentra a vacío en el rotavapor y el residuo obtenido se purifica por cromatografía de columna, empleando el eluyente adecuado para cada producto.

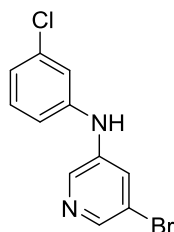
Procedimiento general para la síntesis de biarilos (Procedimiento general C)



En un matraz de dos bocas, se pesa el derivado de bromopiridina correspondiente (1 eq.) junto con el ácido fenilborónico conveniente (1.1 eq.), Pd(OAc)₂ (0.03 eq.) y PPh₃ (0.06 eq.). A continuación se acopla un tubo refrigerante a una de las dos bocas y el sistema se purga alternando ciclos de argón con ciclos de vacío. Por otra, parte se prepara una disolución de Na₂CO₃ (3 eq.) en H₂O (0.1 M). A esta disolución básica se añade EtOH absoluto (0.1 M) y la disolución resultante se adiciona a la mezcla de reacción. La reacción se mantiene en agitación durante la noche a 80°C bajo atmosfera de argón. La mezcla de reacción se concentra a sequedad en el rotavapor y el residuo obtenido se disuelve en agua. A continuación se adiciona a la disolución NaOH 1M hasta alcanzar pH= 12. Esta disolución se extrae con DCM y las fases orgánicas reunidas se lavan con una disolución concentrada de NaCl, se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentra en el rotavapor. El residuo se purifica por cromatografía de columna empleando el eluyente adecuado para cada caso.

5.3.2 PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS

Síntesis de 5-bromo-*N*-(3'-clorofenil)piridin-3-amina (**17**)

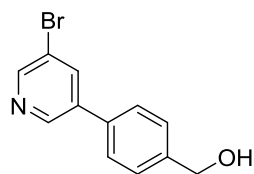


Mediante el procedimiento general **A**, a partir de 3,5-dibromopiridina (71 mg, 0.3 mmol), 3-cloroanilina (38 μ L, 0.36 mmol), BINAP (7.5 mg, 0.012 mmol), Pd₂(dba)₃ (5.5 mg, 0.006 mmol), ter-butóxido sódico (44.3 μ L, 0.42 mmol) y 1 mL de tolueno anhidro se obtienen 27.4 mg de compuesto **17** como un sólido amarillento que cristaliza en una mezcla de DCM:MeOH, 5:1. Rendimiento 33%.

Mediante el procedimiento general **B**, a partir de 3-amino-5-bromopiridina (69.3 mg, 0.41 mmol), ácido 3-clorofenilborónico (125.6 mg, 0.81 mmol), Cu(OAc)₂ (35.4 mg, 0.20 mmol), piridina (65 μ L, 0.81 mmol), tamiz molecular de 4Å y 3 mL de DCM anhidro se obtienen 87.5 mg de compuesto **17** como un sólido amarillento tras purificarlo por cromatografía de columna empleando como eluyente una mezcla Hex:EtOAc (6:4). Rendimiento 77%.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.23 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H₆), 8.06 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H₂), 7.62 (t, *J* = 2.0 Hz, 1H, H₄), 7.26 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H, H_{6'}), 7.11-7.08 (m, 1H, H_{5'}), 7.07-7.05 (m, 1H, H_{4'}), 6.96 (dt, *J* = 7.8, 2.1 Hz, 1H, H_{2'}); ¹³C RMN (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 144.4 (C1'), 143.2 (C3'), 142.0 (C6), 138.1 (C2), 136.3 (C3), 131.9 (C5'), 126.4 (C4), 123.2 (C4'), 122.1 (C5), 119.5 (C2'), 117.7 (C6'); HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo): calculada para C₁₁H₈BrClN₂ [M+H]⁺ = 282.9632, obtenida: 282.9636.

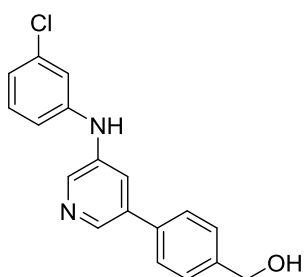
Síntesis de 4'-(5-bromopiridin-3-il)fenilmetanol (**18**)



Mediante el procedimiento general **C**, a partir de 3,5-dibromopiridina (71 mg, 0.3 mmol), ácido 4-(hidroximetil)fenil borónico (45.6 mg, 0.33 mmol), Pd(OAc)₂ (2 mg, 0.009 mmol), PPh₃ (4.7 mg, 0.018 mmol) y Na₂CO₃ (95.4 mg, 0.9 mmol) se obtienen 32.6 mg de compuesto **18** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente DCM:EtOAc (9:1→8:2→7:3→5:5→3:7→0:1). Rendimiento 41%.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.78 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H, H2), 8.50 (dd, *J* = 4.8, 1.5 Hz, 1H, H6), 8.10-8.06 (m, 1H, H4), 7.64 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H2', H6'), 7.49 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H3', H5'), 4.67 (s, 2H, CH₂, CH₂OH); **¹³C RMN (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 148.8 (C6), 148.4 (C2), 143.4 (C1'), 138.6 (C4'), 137.6 (C3), 136.6 (C4), 128.9 (C2', C6'), 128.2 (C3', C5'), 125.6 (C5), 64.9 (CH₂OH); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₂H₁₀BrNO [M+H]⁺ = 264.0019. Obtenida: 264.0021.

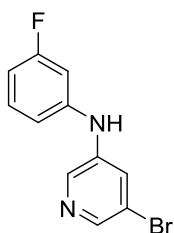
Síntesis de 4'-[5-(3''-clorofenilamino)piridin-3-il]fenilmetanol (**19**) hit



Mediante el procedimiento general **C**, a partir del compuesto **17** (73.4 mg, 0.26 mmol), ácido 4-(hidroximetil)fenil borónico (43.5 mg, 0.29 mmol), Pd(OAc)₂ (2.9 mg, 0.013 mmol), PPh₃ (6.8 mg, 0.026 mmol), Na₂CO₃ (82.7 mg, 0.78 mmol) y una mezcla de disolventes DME: EtOH: (9:1) se obtienen 61.1 mg de compuesto **19** como un sólido blanco que cristaliza en una mezcla de disolventes DCM: MeOH (5:1). Rendimiento 76%.

¹H RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.43 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H, H2), 8.41 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H6), 7.87 (NH), 7.76 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H4), 7.64 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H2', H6'), 7.49 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H3', H5'), 7.30 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H, H5''), 7.18-7.15 (m, 2H, H2'', H6''), 6.94-6.90 (m, 1H, H4''), 4.70 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂, CH₂OH), 4.30 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, OH); **¹³C RMN (75 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 145.7 (C1''), 143.6 (C1'), 141.4 (C6), 140.2 (C2), 140.16 (C3), 137.5 (C4'), 137.2 (C3''), 135.4 (C5), 131.7 (C5''), 128.1 (C3', C5'), 127 (C2', C6'), 122.9 (C4''), 121.3 (C4), 117.6 (C2''), 116.1 (C6''), 64.3 (CH₂OH); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₈H₁₅ClN₂O [M+H]⁺: 311.0946. Obtenida: 311.0948; **Punto de fusión:** 165-166°C.

Síntesis de 5-bromo-N-(3'-fluorofenil)piridin-3-amina (**20**)

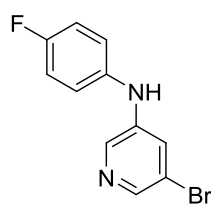


Mediante el procedimiento general **A**, a partir de 3,5-dibromopiridina (71 mg, 0.3 mmol), 3-fluoroanilina (35 μL, 0.36 mmol), BINAP (7.5 mg, 0.012 mmol), Pd₂(dba)₃ (5.5 mg, 0.006 mmol), *ter*-butóxido sódico (44 μL, 0.42 mmol) y 1 mL de tolueno anhidro se obtienen 29.5 mg de compuesto **20**

como un sólido anaranjado después de purificarlo por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyente DCM:EtOAc (1:0→5:1). Rendimiento 37%.

¹H RMN (400 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.37 (d, *J*= 2.4 Hz, 1H, H₂), 8.16 (d, *J*= 2 Hz, 1H, H₆), 8.00 (s, NH), 7.70 (dd, *J*= 2.4 Hz, 1H, H₄), 7.36-7.30 (m, 1H, H₂'), 7.00 (dd, *J*= 8.2 Hz, 1H, H₆'), 6.93 (dt, *J*= 10.8, 2.4 Hz, 1H, H₅'), 6.72 (tdd, *J*= 8.8, 2.4, 0.8 Hz, 1H, H₄'); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** [(-112.24-(-112.34))] (m, F); **¹³C RMN (100 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 164.5 (d, *J*= 241.7 Hz, C₃'), 144.8 (d, *J*= 10.1 Hz, C₁'), 142.7 (C₆), 141.9 (C₃), 139.2 (C₂), 131.9 (d, *J*= 9.8 Hz, C₅'), 125.8 (C₄), 121.2 (C₅), 114.7 (d, *J*= 2.5 Hz, (C₆')), 109.0 (d, *J*= 21.4 Hz, C₄'), 105.6 (d, *J*= 24.8 Hz, C₂); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₂H₉BrFN [M+H]⁺: 265.9975. Obtenida: 265.9977.

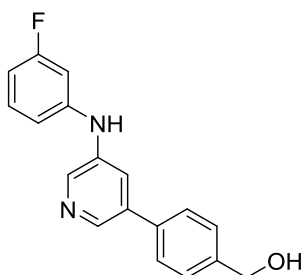
Síntesis de 5-bromo-*N*-(4'-fluorofenil)piridin-3-amina (21)



Mediante el procedimiento general **A**, a partir de 3,5-dibromopiridina (71 mg, 0.3 mmol), 4-fluoroanilina (35 μL, 0.36 mmol), BINAP (7.5 mg, 0.012 mmol), Pd₂(dba)₃ (5.5 mg, 0.006 mmol), *ter*-butóxido sódico (44 μL, 0.42 mmol) y 1 mL de tolueno anhidro se obtienen 26.8 mg de compuesto **21** como un sólido anaranjado después de purificarlo por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente DCM:EtOAc (1:0→5:1). Rendimiento 34%.

¹H RMN (400 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.26 (d, *J*= 2.4 Hz, 1H, H₂), 8.05 (d, *J*= 1.6 Hz, 1H, H₆), 7.74 (s, NH), 7.51 (t, *J*= 2.0 Hz, 1H, H₄), 7.26-7.22 (m, 2H, H₂', H₆'), 7.14-7.09 (m, 2H, H₃', H₅'); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** [(-120.73)-(-120.85)] (m, F); **¹³C RMN (100 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 159.5 (d, *J*= 238.6 Hz, C₄'), 143.7 (C₁'), 141.4 (C₆), 138.5 (C₃), 137.7 (C₂), 123.6 (C₄), 122.9 (d, *J*= 8.0 Hz, C₂', C₆'), 121.3 (C₅), 117.0 (d, *J*= 22.6 Hz, (C₃', C₅')); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₂H₉BrFN [M+H]⁺: 265.9975. Obtenida: 265.9979

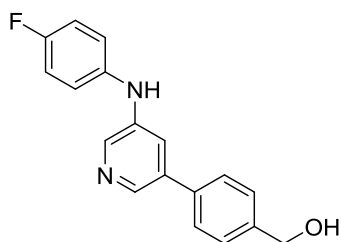
Síntesis de 4'-[5-(3''-fluorofenilamino)piridin-3-il]fenilmetanol (22)



Mediante el procedimiento general **C**, a partir del compuesto **20** (69.7 mg, 0.26 mmol), ácido 4-(hidroximetil)fenil borónico (43.6 mg, 0.29 mmol), Pd(OAc)₂ (2.9 mg, 0.013 mmol), PPh₃ (6.8 mg, 0.026 mmol), Na₂CO₃ (82.7 mg, 0.78 mmol) y una mezcla de disolventes DME:EtOH (9:1) se obtienen 48.5 mg de compuesto **22** como un sólido blanco que cristaliza en una mezcla de disolventes DCM:MeOH (5:1). Rendimiento 63%.

¹H RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.43-8.41 (m, 2H, H₂, H₆), 7.89 (s_{ancho}, NH), 7.77 (t, *J* = 1.8 Hz, 1H, H₄), 7.65 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₂', H₆'), 7.49 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₃', H₅'), 7.34-7.26 (m, 1H, H₂''), 7.02 (ddd, *J* = 8.1, 2.1, 0.9 Hz, 1H, H₆''), 6.92 (dt, *J* = 11.4, 2.1 Hz, 1H, H₅''), 6.65 (tdd, *J* = 8.7, 2.4, 0.9 Hz, 1H, H₄''), 4.70 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, CH₂, CH₂OH), 4.30 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, OH); **¹⁹F(a) RMN (282 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** [(-112.50)-(-112.61)] (m, F); **¹³C RMN (75 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 164.7 (d, *J* = 240.9 Hz, C₃''), 146.1 (d, *J* = 10.5 Hz, C₁''), 143.6 (C₁'), 141.3 (C₆), 140.3 (C₄'), 140.2 (C₂), 137.4 (C₃), 137.2 (C₅), 1.31.8 (d, *J* = 9.9 Hz, (C₅''), 128.1 (C₃', C₅'), 127.7 (C₂', C₆'), 122.8 (C₄), 113.6 (d, *J* = 2.5 Hz, C₆''), 107.8 (d, *J* = 21.4 Hz, C₄''), 104.5 (d, *J* = 24.8 Hz, C₂''), 64.3 (CH₂OH); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₈H₁₅FN₂O [M+H]⁺: 295.1241. Obtenida: 295.1245; **Punto de fusión:** 189-190 °C

Síntesis de 4'-[5-(4''-fluorofenilamino)piridin-3-il]fenilmetanol (23)

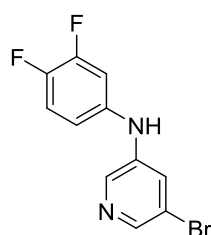


Mediante el procedimiento general **C**, a partir del compuesto **21** (83.4 mg, 0.31 mmol), ácido 4-(hidroximetil)fenil borónico (51.8 mg, 0.34 mmol), Pd(OAc)₂ (3.5 mg, 0.016 mmol), PPh₃ (8.1 mg, 0.031 mmol), Na₂CO₃ (98.6 mg, 0.93 mmol) y una mezcla de disolventes DME:EtOH (9:1) se obtienen 28.7 mg de compuesto **23** como un sólido blanco que cristaliza en una mezcla de disolventes DCM:MeOH (5:1). Rendimiento 35%.

¹H RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.32 (dd, *J* = 2.1 Hz, 2H, H₂, H₆), 7.63-7.60 (m, 3H, H₄, H₂', H₆'), 7.48 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H₃', H₅'), 7.29-7.24 (m, 2H, H₂'', H₆''), 7.13-7.07 (m,

2H, H3'', H5''), 4.69 (d, $J = 5.7$ Hz, 2H, CH₂, CH₂OH), 4.25 (t, $J = 5.7$ Hz, 1H, OH); ¹⁹F(a) RMN (282 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): [(-122.21)-(-122.44)] (m, F); ¹³C RMN (100.55 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 159.8 (d, $J = 238.5$ Hz, C4''), 143.4 (C1''), 142.9 (C1'), 139.4 (C5), 138.8 (C6), 138.6 (C4'), 137.7 (C3), 137.2 (C2), 128.5 (C3', C5'), 128.0 (C2', C6'), 122.4 (d, $J = 7.9$ Hz, C2'', C6''), 121.4 (C4), 116.9 (d, $J = 22.6$ Hz, C5'', C3''), 64.7 (CH₂OH); HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo): calculada para C₁₈H₁₅FN₂O [M+H]⁺: 295.1241. Obtenida: 295.1239; Punto de fusión: 220-221°C.

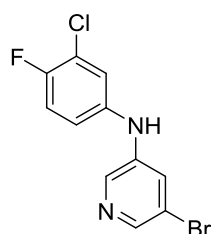
Síntesis de 5-bromo-*N*-(3',4'-fluorofenil)piridin-3-amina (24)



Mediante el procedimiento general **B**, a partir de 3-amino-5-bromopiridina (52 mg, 0.29 mmol), ácido 3,4-difluorofenilborónico (91 mg, 0.58 mmol), Cu(OAc)₂ (26.2 mg, 0.14 mmol), tamiz molecular de 4 Å, piridina (47 μ L, 0.56 mmol) y 3 mL de DCM anhidro se obtienen 80.7 mg de compuesto **24** como un sólido amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando como eluyente una mezcla Hex:EtOAc (6:4). Rendimiento 98%.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.25 (s, 1H, H2), 8.10 (s, 1H, H6), 7.6 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H, H4), 7.25 (dt, $J = 7.2, 5.1$ Hz, 1H, H5'), 7.1 (m, 1H, H2'), 6.95 (t, $J = 7.1$ Hz, 1H, H6'); ¹³C RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 152.4 (d, $J = 237.3$ Hz, C3'), 147.1 (C1'), 145.2 (d, $J = 239.1$ Hz, C4'), 142.6 (C6), 140.8 (C3), 138.4 (C2), 126.5 (C4), 122.5 (C5), 120.2 (d, $J = 23.1$ Hz, C5'), 117.1 (C6'), 110.3 (d, $J = 22.6$ Hz, C2'); HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo): calculada para C₁₁H₇F₂N₂ [M+H]⁺: 284.9833. Obtenida: 284.9834.

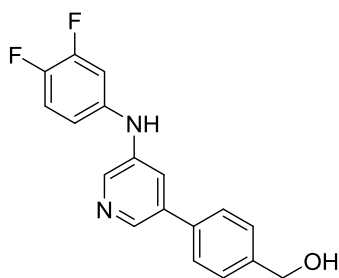
Síntesis de 5-bromo-*N*-(3-cloro-4-fluorofenil)piridin-3-amina (25)



Mediante el procedimiento general **B**, a partir de 3-amino-5-bromopiridina (70.6 mg, 0.41 mmol), ácido 3-cloro-4-fluorofenilborónico (140 mg, 0.81 mmol), Cu(OAc)₂ (38.9 mg, 0.20 mmol), tamiz molecular de 4 Å, piridina (65 μ L, 0.81 mmol) y 3 mL de DCM anhidro se obtienen 103.2 mg de compuesto **25** como un sólido amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando como eluyente una mezcla Hex:EtOAc (7:3). Rendimiento 85%.

¹H RMN (500 MHz, DMSO) δ (ppm): 8.60 (s, 1H, NH), 8.25 (d, *J*= 2.4 Hz, 1H, H2), 8.10 (d, *J*= 2.4 Hz, 1H, H6), 7.55 (t, *J*= 1.8 Hz, 1H, H4), 7.30 (t, *J*= 9 Hz, 1H, H5'), 7.22 (dd, *J*= 7.1, 2.0 Hz, 1H, H2'), 7.1 (m, 1H, H6'); **¹³C RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 156.7 (d, *J*= 238.5 Hz, C4'), 153.5 (C1'), 141.6 (C6), 139.8 (C3), 137.4 (C2), 125.5 (C4), 122.4 (C6'), 120.5 (C2'), 120.4 (d, *J*= 22.6 Hz, C5'), 118.5 (C3'), 118.2 (C5); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₁H₇BrClFN₂ [M+H]⁺: 300.9538. Obtenida: 300.9534.

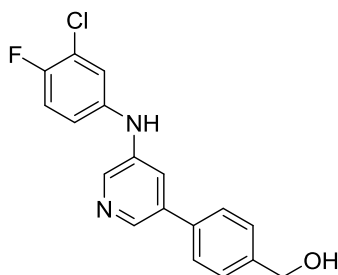
Síntesis de 4'-[5-(3'',4''-difluorofenilamino)piridin-3-il]fenilmetanol (26)



Mediante el procedimiento general **C**, a partir del compuesto **24** (50 mg, 0.18 mmol), ácido 4-(hidroximetil)fenil borónico (29.3 mg, 0.19 mmol), Pd(OAc)₂ (1.2 mg, 0.005 mmol), PPh₃ (2.8 mg, 0.01 mmol), Na₂CO₃ (36.9 mg, 0.35 mmol) y una mezcla de disolventes DME:EtOH (9:1) se obtienen 42.6 mg de compuesto **26** como un sólido blanco después de purificarlo por cromatografía de columna empleando una mezcla de eluyente DCM:EtOAc (8:2→5:5→3:7). Rendimiento 78%.

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.25 (S_{ancho}, 2H, H2, H6), 7.70 (s, 1H, H4), 7.61 (d, *J*= 8 Hz, 2H, H2', H6'), 7.52 (d, *J* = 8 Hz, 2H, H3', H5'), 7.23 (dt, *J*= 7.2, 5.3 Hz, 1H, H5''), 7.10-7.06 (m, 1H, H2''), 6.95 (t, *J*= 7.2 Hz, 1H, H6''), 4.70 (s, 2H, CH₂, CH₂OH); **¹³C RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 152.2 (d, *J*= 239.3 Hz, C3''), 145.3 (d, *J*= 238.7 Hz, C4''), 143.2 (C1''), 139.7 (C1'), 139.4 (C5), 138.7 (C6), 137.9 (C4'), 137.6 (C3), 128.8 (C2), 128.7 (C3', C5'), 128.1 (C2', C6'), 122.6 (C4), 118.8 (d, *J*= 7.8 Hz, C6''), 115.3 (d, *J*= 23.1 Hz, C5''), 108.5 (d, *J*= 22.5 Hz, C2''), 64.7 (CH₂OH); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₈H₁₄F₂N₂O [M+H]⁺: 313.1147. Obtenida: 313.1148; **Punto de fusión:** 174-175°C.

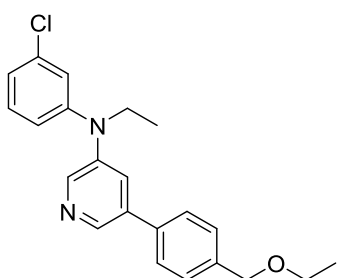
Síntesis de 4'-[5-(3''-cloro-4''-fluorofenilamino)piridin-3-il]fenilmetanol (27)



Mediante el procedimiento general **C**, a partir del compuesto **25** (30 mg, 0.10 mmol), ácido 4-(hidroximetil)fenil borónico (16.6 mg, 0.11 mmol), Pd(OAc)₂ (0.7 mg, 0.003 mmol), PPh₃ (1.6 mg, 0.006 mmol), Na₂CO₃ (20.9 mg, 0.20 mmol) y una mezcla de disolventes DME:EtOH (9:1) se obtienen 24.1 mg de compuesto **27** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando una mezcla de eluyente DCM: EtOAc (8:2→5:5→3:7). Rendimiento 74%.

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.25 (S_{ancho}, 2H, H₂, H₆) 7.63 (t, *J* = 2Hz, 1H, H₄), 7.58 (d, *J* = 8Hz, 2H, H₂', H₆'), 7.45 (d, *J* = 8Hz, 2H, H₃', H₅'), 7.22 (dd, *J* = 7.2, 2.1 Hz, 1H, H₅''), 7.15-7.11 (m, 1H, H₂''), 7.01-6.96 (m, 1H, H₆''), 4.68 (s, 2H, CH₂, CH₂OH); **¹³C RMN (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 153.5 (d, *J* = 238.7 Hz, C₄''), 143.2 (C₁'), 141.8 (C₁'') 139.4 (C₆), 138.3 (C₅), 137.9 (C₄'), 136.4 (C₃), 136.2 (C₂) 127.3 (C₃', C₅'), 126.6 (C₂', C₆'), 121.1 (C₃''), 119.9 (C₄), 117.9 (d, *J* = 7.8 Hz, C₆''), 116.9 (d, *J* = 7.9 Hz, C₂''), 116.7 (d, *J* = 23.1 Hz, C₅''), 63.9 (CH₂OH); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₈H₁₄ClFN₂O [M+H]⁺: 329.0851. Obtenida: 329.0856; **Punto de fusión:** 201-202°C.

Síntesis de N-(3''-clorofenil)-5-(4'-etoximetilfenil)-N-etilpiridin-3-amina (29)

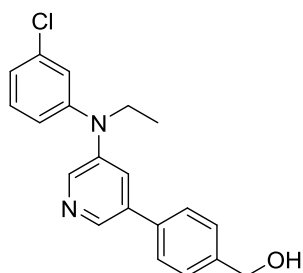


En un matraz cónico se disuelven 23.6 mg (0.98 mmol) de NaH en 150 μL de DMF. Posteriormente se enfría el matraz a 0°C y se añade lentamente el compuesto **19** (61.1 mg, 0.20 mmol) disuelto en 150 μL de DMF. Seguidamente se adicionan (88 μL, 0.39 mmol) de bromuro de etilo y la disolución se vuelve naranja. La mezcla de reacción se deja en agitación durante 2h a T^{amb}. El NaH que queda en exceso se destruye con un poco de agua fría y la disolución resultante se extrae con EtOAc y se lava rigurosamente con NH₄Cl 1M. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El residuo se purifica por cromatografía de columna empleando como gradiente de eluyente

Hex:EtOAc (4:1→3:2). Se obtienen 52.2 mg del compuesto **29** como un aceite naranja. Rendimiento 73%.

¹H RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.53 (d, *J* = 1.8, 1H, H₆), 8.42 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H, H₂), 7.69 (dd, *J* = 2.7, 2.1 Hz, 1H, H₄), 7.65 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H_{3'}, H_{5'}), 7.45 (d, *J* = 8.4 Hz, H_{2'}, H_{6'}), 7.28 (dd, *J* = 8.1, 8.1 Hz, 1H, H_{5''}), 7.05 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H_{2''}), 7.00-6.94 (m, 2H, H_{4''}, H_{6''}), 4.53 (s, 2H, CH₂OEt), 3.92 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, OCH₂CH₃), 3.53 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, NCH₂CH₃), 1.26 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, (NCH₂CH₃)), 1.19 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, OCH₂CH₃); **¹³C RMN (75.5 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 149.5 (C1''), 144.2 (C₃), 144.2 (C₆), 143.8 (C₂), 140.2 (C_{4'}), 137.5 (C_{1'}), 137.4 (C_{3''}), 135.5 (C₅), 131.6 (C_{5''}), 128.9 (C_{3'}, C_{5'}), 127.8 (C_{2'}, C_{6'}), 127.5 (C_{4''}), 121.8 (C₄), 120.2 (C_{2''}), 119.1 (C_{6''}), 72.5 (CH₂OEt), 66.2 (OCH₂CH₃), 47.1 (NCH₂CH₃), 15.6 (OCH₂CH₃), 12.8 (NCH₂CH₃); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₂₂H₂₃ClN₂O [M+H]⁺: 367.1572. Obtenida: 367.1575.

Síntesis de 4'-[5-(3''-clorofeniletilamino)piridin-3-il]fenilmetanol (**30**)

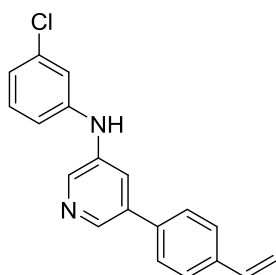


En un matraz cónico se disuelven 5 mg (0.21 mmol) de NaH en 150 μL de DMF. Posteriormente se enfría el matraz a 0°C y se añade lentamente el compuesto **19** (54.8 mg, 0.18 mmol) disuelto en 150 μL de DMF. Seguidamente se adicionan (40 μL, 0.18 mmol) de bromuro de etilo y la disolución se vuelve naranja. La reacción se deja en agitación durante toda noche a T^a ambiente. El NaH que queda en exceso se destruye con un poco de agua fría y la disolución resultante se extrae con EtOAc y se lava rigurosamente con NH₄Cl 1M. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El residuo se purifica por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyentes Hex:EtOAc (4:1→3:2→1:1). Finalmente se obtienen 15.7 mg de compuesto **30** como un aceite naranja. Rendimiento 26%.

¹H RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.53 (d, *J* = 2.1, 1H, H₆), 8.32 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, H₂), 7.77 (dd, *J* = 2.4, 2.1 Hz, 1H, H₄), 7.65 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 7.48 (d, *J* = 8.1 Hz, H_{3'}, H_{5'}), 7.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H_{5''}), 7.04 (t, *J* = 2.1 Hz, 1H, H_{2''}), 7.00-6.94 (m, 2H, H_{4''}, H_{6''}), 4.68 (s, 2H, CH₂OH), 4.33 (t, *J* = 5.7 Hz, 1H, OH), 3.93 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, NCH₂CH₃), 1.27 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, (NCH₂CH₃)); **¹³C RMN (75.5 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 149.7 (C1''), 144.3

(C3), 143.8 (C6), 143.7(C1'), 142.6 (C2), 137.7 (C4'), 137.0(C3''), 135.5 (C5), 131.7 (C5''), 128.1 (C2', C6'), 127.8 (C3', C5'), 127.7 (C4''), 121.8 (C4), 120.2 (C2''), 119.1 (C6''), 64.3 (CH₂OH), 47.2 (NCH₂CH₃), 12.9 (NCH₂CH₃); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₂₀H₁₉ClN₂O [M+H]⁺: 339.1259. Obtenida: 339.1259.

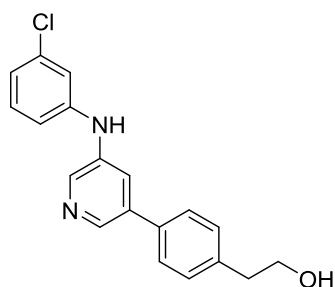
Síntesis de *N*-(3''-clorofenil)-5-(4'-vinilfenil)piridin-3-amina (**31**)



Mediante el procedimiento general **C**, a partir del compuesto **1** (115.4 mg, 0.41 mmol), ácido 4-(vinilfenil)borónico (50.3 mg, 0.34 mmol), Pd(OAc)₂ (3.8 mg, 0.017 mmol), PPh₃ (8.9 mg, 0.034 mmol), K₂CO₃ (140 mg, 1.02 mmol) y 5 mL de THF anhidro se obtienen 67.5 mg de compuesto **31** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente DCM: EtOAc (1:0→10:2→10:3). Rendimiento 65%.

¹H- RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.45 (d, *J*= 2.1, 1H, H₆), 8.42 (d, *J*= 2.7 Hz, 1H, H₂), 7.86 (s_{ancho}, NH), 7.77 (t, *J*= 2.4 Hz, 1H, H₄), 7.67 (d, *J*= 8.7 Hz, 2H, H₂', H₆'), 7.60 (d, *J*= 8.4 Hz, 2H, H₃', H₅'), 7.32-7.27 (m, 1H, H₅''), 7.18-7.15 (m, 2H, H₂'', H₆''), 6.94-6.91 (m, 1H, H₄''), 6.82 (dd, *J*= 15.6, 11.1 Hz, 1H, CH (vinil)), 5.89 (dd, *J*= 17.7, 0.9 Hz, 1H, H_{trans} (vinil)), 5.30 (dd, *J*= 11.1, 0.9 Hz, 1H, H_{cis} (vinil)); **¹³C RMN (125 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 143.8 (C1''), 141.6 (C6), 139.8 (C2), 139.1 (C4'), 137.9 (C1'), 137.1 (C3''), 137.0 (C3), 136.4 (CH (vinil)), 135.6 (C5), 130.9 (C5''), 127.5 (C2', C6'), 127.2 (C3', C5'), 123.0 (C4''), 120.1 (C4), 117.9 (C2''), 116.0 (C6''), 114.9 (CH₂ (vinil)); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₉H₁₅ClN₂ [M+H]⁺: 307.0997. Obtenida: 307.0997; **Punto de fusión:** 158-159°C.

Síntesis de 2-[4'-[5-(3''-clorofenilamino)piridin-3-il]fenil]etanol (**32**)

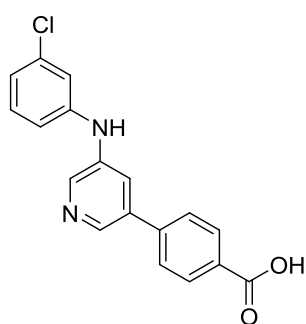


En un matraz de 10 mL se pesan 12.4 mg (0.04 mmol) del compuesto **31**. A continuación se adicionan lentamente a la mezcla de reacción 200 µL de BH₃-THF. Esta adición se lleva a cabo a 0°C y bajo atmósfera de argón. A continuación se deja la reacción agitando durante 2 h a T^a ambiente. La mezcla de reacción se concentra en el rotavapor y se vuelve

a purgar el matraz con una corriente de argón. Seguidamente se disuelve el residuo en 50 μL de THF y se adicionan 100 μL de una disolución de NaOH 3M. A continuación se adicionan 100 μL de H_2O_2 al 30%. La reacción se agita a 50°C durante 2h. La mezcla de reacción se concentra en el rotavapor y el aceite amarillo obtenido se disuelve en unos 3 mL de agua. A continuación se añaden dos puntas de espátula de K_2CO_3 . Esta disolución saturada se extrae con éter y las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El residuo obtenido se purifica por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente Hex: EtOAc (20:5 \rightarrow 18:7 \rightarrow 15:15 \rightarrow 10:15 \rightarrow 5:20). Finalmente se obtienen 13.1 mg de compuesto **32** como un aceite incoloro. Rendimiento 99%.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.42 (d, $J= 1.8$ Hz, 1H, H2), 8.40 (d, $J= 2.7$ Hz, 1H, H6), 7.86 (S_{ancho} , NH), 7.74 (t, $J= 2.4$ Hz, 1H, H4), 7.59 (d, $J= 8.4$ Hz, 2H, H3', H5'), 7.38 (d, $J= 8.1$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.32-7.27 (m, 1H, H5''), 7.17-7.14 (m, 2H, H2'', H6''), 6.94-6.90 (m, 1H, H4''), 3.83-3.76 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 3.72 (t, $J= 5.7$ Hz, 1H, OH), 2.87 (t, $J= 6.9$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); **^{13}C RMN (75.5 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 145.8 (C1''), 141.4 (C2), 140.9 (C1'), 140.2 (C5), 140.2 (C6), 137.4 (C4'), 136.4 (C3''), 135.4 (C3), 131.7 (C5''), 130.7 (C2', C6'), 127.7 (C3', C5'), 122.8 (C4''), 121.3 (C4), 117.6 (C2''), 116.1 (C6''), 63.7 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$), 39.9 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{O}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 325.1102. Obtenida: 325.1109.

Síntesis del ácido 4-[5-(3''-clorofenilamino)piridin-3-il]benzoico (**33**)



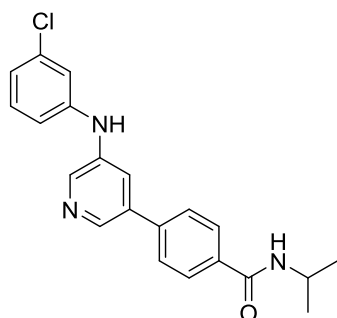
Mediante el procedimiento general **C**, a partir del compuesto **17** (115.4 mg, 0.41 mmol), ácido 4-carboxifenilborónico (74.5 mg, 0.45 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (2.8 mg, 0.012 mmol), PPh_3 (6.4 mg, 0.024 mmol), Na_2CO_3 (129.8 mg, 1.22 mmol) y una mezcla $\text{H}_2\text{O}:\text{EtOH}$ (5:5) se obtienen 116.1 mg de compuesto **33** como un sólido amarillento después de acidificar el crudo de reacción con HCl

1M y purificarlo por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente DCM:MeOH (1:0 \rightarrow 9:1). Rendimiento 88%.

^1H RMN (300 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 8.35 (S_{ancho} , 2H, H2, H6), 8.14 (d, $J= 8.7$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.77 (t, $J= 2.4$ Hz, 1H, H4), 7.74 (d, $J= 8.7$ Hz, 2H, H3', H5'), 7.27 (t, $J= 7.8$ Hz, 1H, H5''),

7.15- 7.10 (m, 2H, H2'', H6''), 6.94 (ddd, $J = 7.8, 1.8, 1.2$ Hz, 1H, H4''); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo negativo)**: calculada para $C_{18}H_{13}ClN_2O_2$ [M-H]: 323.0593. Obtenida: 323.0591; **Punto de fusión**: 134-135°C.

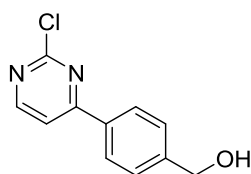
Síntesis de 4'-[5-(3''-clorofenilamino)piridin-3-il]-N-isopropilbenzamida (34)



En un matraz de 10 mL se disuelven (51.9 mg, 0.16 mmol) del compuesto **33** en 1 mL de DCM. A continuación se adicionan (51 μ L, 0.37 mmol) de Et_3N y (20 μ L, 0.16 mmol) de cloruro de pivaloilo. La mezcla de reacción se deja en agitación a T^a ambiente durante 2.5 horas bajo atmósfera de argón. Después de este tiempo se añade a la mezcla de reacción una disolución de isopropilamina (14 μ L, 0.16 mmol) en 1 mL de DCM. La mezcla de reacción se agita a T^a ambiente durante 72h. El crudo de reacción se lava con HCl 1M, $NaHCO_3$ sat. y NaCl sat. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor. El residuo se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente una mezcla DCM:EtOAc (22:3 \rightarrow 20:5 \rightarrow 18:7 \rightarrow 10:10 \rightarrow 10:20). Finalmente se obtienen 50.2 mg de compuesto **34** como sólido blanco que cristaliza en una mezcla de DCM:MeOH (5:1). Rendimiento 86%.

1H RMN (500 MHz, Me_2CO-d_6) δ (ppm): 8.46 (s_{ancho} , 2H, H2, H6), 7.99 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H2', H6'), 7.91 (s_{ancho} , NH(CO)), 7.84 (t, $J = 2$ Hz, 1H, H4), 7.75 (d, $J = 8$ Hz, 2H, H3', H5'), 7.45 (s_{ancho} , NH), 7.31 (t, $J = 8$ Hz, 1H, H5''), 7.21-7.17 (m, 2H, H2'', H6''), 6.95 (ddd, $J = 8, 2, 1$ Hz, 1H, H4''), 4.25 (sept, $J = 7$ Hz, 1H, CH_{iPr}) 1.26 (d, $J = 7$ Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **^{13}C RMN (125 MHz, Me_2CO-d_6) δ (ppm)**: 165.1 (CO), 144.4(C1'), 140.0 (C4'), 139.8 (C3'), 139.2 (C6), 138.8 (C2), 136.2 (C1'), 135.2 (C3), 134.6 (C5), 130.8 (C5''), 127.9 (C2', C6'), 126.8 (C3', C5'), 122.4 (C4''), 120.8 (C4), 117.1 (C2''), 115.7 (C6''), 41.4 (CH_{iPr}), 21.8 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo)**: calculada para $C_{21}H_{20}ClN_3O$ [M+H]⁺:366.1368. Obtenida: 366.1372; **Punto de fusión**: 161-163°C.

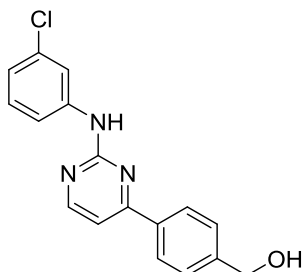
Síntesis de 4'-[2-cloropirimidin-4-il]fenilmetanol (35)



Mediante el procedimiento general **C**, a partir de 2,4-dicloropirimidina (100 mg, 0.67 mmol), ácido 4-(hidroximetil)fenil borónico (101.9 mg, 0.67 mmol), Pd(PPh₃)₄ (23.3 mg, 0.02 mmol), Na₂CO₃ (213.4 mg, 2.01 mmol) y 10 mL de CH₃CN anhidro se obtienen 116.9 mg de compuesto **35** como un aceite incoloro después de purificarlo por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente Hex:EtOAc (1:0→9:1→8:2→7:3). Rendimiento 79%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.74 (d, *J*= 3.9 Hz, 1H, H₆), 8.19 (d, *J*= 6.3 Hz, 2H, H_{3'}, H_{5'}), 8.03 (d, *J*= 4.2 Hz, 1H, H₅), 7.56 (d, *J*= 6.6 Hz, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 4.75 (d, *J*= 4.2 Hz, 2H, CH₂, CH₂OH), 4.43 (t, *J*= 4.2 Hz, 1H, OH); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 167.6 (C₂), 161.5 (C₄), 159.0 (C₆) 147.9 (C_{1'}), 134.5 (C_{4'}), 128.1 (C_{2'}, C_{6'}), 127.8 (C_{3'}, C_{5'}), 116.3 (C₅), 64.1 (CH₂); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₁H₉ClN₂O [M+H]⁺:221.0476. Obtenida: 221.0481.

Síntesis de 4'-[2-(3''-clorofenilamino)pirimidin-4-il]fenilmetanol (36)

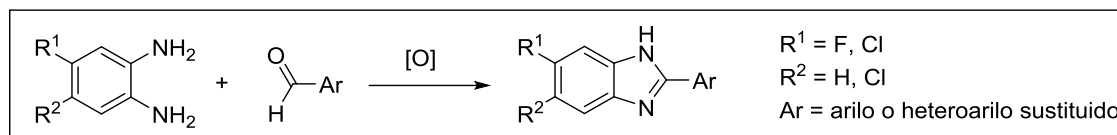


Mediante el procedimiento general **A**, a partir del compuesto **35** (93 mg, 0.42 mmol), 3-cloroanilina (53 μL, 0.51 mmol), BINAP (10.5 mg, 0.017 mmol), Pd(OAc)₂ (1.9 mg, 0.008 mmol), Cs₂CO₃ (205.7 mg, 0.63 mmol) y una mezcla Dioxano:H₂O (9:1) se obtienen 47.3 mg de compuesto **36** como un sólido blanco amarillento después de purificarlo por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyente Hex:EtOAc (1:0→9:1→8:2→7:3). Rendimiento 36%.

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD δ (ppm): 8.47 (d, *J*= 5.4 Hz, 1H, H₆), 8.15 (d, *J*= 5.1 Hz, 2H, H_{3'}, H_{5'}), 8.08 (t, *J*= 1.8 Hz, 1H, H_{2''}), 7.58 (ddd, *J*= 9.0, 2.1, 1.0 Hz, 1H, H_{6''}), 7.50 (d, *J*= 8.1 Hz, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 7.33 (d, *J*= 5. Hz, 1H, H₅), 7.27 (t, *J*= 8.1 Hz, 1H, H_{5''}), 6.97 (ddd, *J*= 9.0, 2.1, 1.0 Hz, 1H, H_{4''}), 4.69 (s, 2H, CH₂, CH₂OH); **¹³C RMN (75 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 165.2 (C₂), 161.2 (C₄), 159.4 (C₆), 146.7 (C_{1''}), 143.2 (C_{1'}), 136.1 (C_{3''}), 134.6 (C_{4'}), 130.6 (C_{5''}), 127.5 (C_{2'}, C_{6'}), 127.4 (C_{3'}, C_{5'}), 121.7 (C_{4''}), 118.9 (C_{2''}), 117.7 (C_{6''}), 109.1 (C₅), 63.9 (CH₂); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₇H₁₄ClN₃O [M+H]⁺:312.0898. Obtenida: 312.0895; **Punto de fusión:** 155-156°C.

5.4 SÍNTESIS DE LA FAMILIA DE LOS BENZIMIDAZOLES

5.4.1 PROCEDIMIENTO GENERAL DE SÍNTESIS



Procedimiento general A:

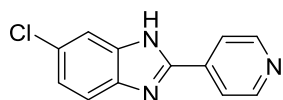
En un matraz de tipo cónico se mezclan la 1,2-fenilendiamina (0.5 mmol) junto con el aldehído aromático correspondiente (0.5 mmol), H_2O_2 (30%, 2 mmol, 200 μL) y CAN (0.05 mmol). La mezcla de reacción se agita bajo argón a 50 °C y se sigue por cromatografía de capa fina hasta la desaparición de los sustratos de partida. Los tiempos de reacción en cada caso se mencionan en la Tabla 1.6 Una vez completada, la mezcla de reacción se disuelve en EtOH (5 mL) y se vierte sobre agua-hielo (15 mL). El precipitado obtenido se filtra y se lava con agua fría. En caso de ser necesario, los compuestos se purifican por cromatografía de columna empleando como eluyente EtOAc 100%.

Procedimiento general B:

Una mezcla de la 1,2-fenilendiamina (0.5 mmol) y de aldehído aromático correspondiente (0.5 mmol) en EtOH absoluto se agita durante 2 h a T^a ambiente bajo atmósfera de argón. A continuación se adicionan (0.7 mmol) de diacetoxiyodobenceno y la mezcla de reacción se deja en agitación una hora más. La mezcla de reacción se concentra a sequedad y el residuo obtenido se disuelve en EtOAc y se lava con una disolución acuosa de NaHCO_3 y por último con una disolución saturada de NaCl. Las fases orgánicas reunidas se secan sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se concentran en el rotavapor.

5.4.2 PROCEDIMIENTO DE SÍNTESIS

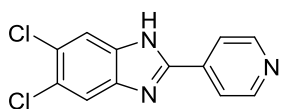
Síntesis de 6-cloro-2-(piridin-4'-il)-1H-benzimidazol (37)



El compuesto **37** se obtiene vía el procedimiento general B como un sólido marrón con un 70% de rendimiento. Se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente EtOAc.

¹H RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 8.77 (d, *J* = 6 Hz, 2H, H2', H6'), 8.08 (d, *J* = 6.5 Hz, 2H, H3', H5'), [7.72-7.66] (m, 2H, H4, H7), 7.29 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1H, H5); **¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 150.6 (C_{2'}, C_{6'}), 150.2 (C₂), 136.7 (C_{4'}), 127.3 (C_{3A}, C_{7A}), 123.3 (C₅), 120.4 (C_{3'}, C_{5'}). Faltan C₆, C₄ y C₇. No se observan debido a la tautomería; **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** Calculada para C₁₂H₈ClN₃ [M+H]⁺: 230.0480. Obtenida: 230.0484; **Punto de fusión:** 306-307°C.

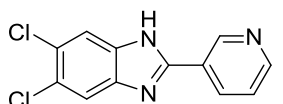
Síntesis de 5,6-dicloro-2-(piridin-4'-il)-1H-benzimidazol (38)



Mediante el procedimiento general A, se obtiene el compuesto **38** como un sólido amarillo con un 32% de rendimiento. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando EtOAc como eluyente.

¹H RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 8.77 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H, H2', H6'), 8.10 (d, *J* = 6 Hz, 2H, H3', H5'), 7.86 (s, 2H, H4, H7); **¹³C RMN (100.5 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm):** 152.6 (C₂), 151.6 (C_{2'}, C_{6'}), 142.4 (C_{4'}), 137.6 (C_{3A}, C_{7A}), 128.5 (C₅, C₆), 121.5 (C_{3'}, C_{5'}), 118.1 (C₄, C₇); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** Calculada para C₁₂H₇Cl₂N₃ [M+H]⁺: 264.0090. Obtenida: 264.0097; **Punto de fusión:** 329-330°C.

Síntesis de 5,6-dicloro-2-(piridin-3'-il)-1H-benzimidazol (39)

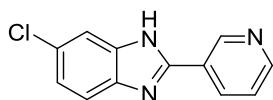


El compuesto **39** se obtiene mediante el procedimiento general A como un sólido marrón con un 47% de rendimiento. Se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente EtOAc.

¹H RMN (300 MHz, Me₂CO-d₆) δ (ppm): 12.33 (1H, NH), 9.37 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H, H2'), 8.72 (dd, *J* = 4.8, 1.5 Hz, 1H, H6'), 8.52 (m, 1H, H4'), 7.84 (s_{ancho}, 2H, H4, H7), 7.57 (m, 1H, H5');

^{13}C RMN (100.5 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 152.7 (C_2), 151.9 (C_6'), 148.6 (C_2'), 136.1 (C_4'), 132.3 (C_3'), 129.8 ($\text{C}_{3\text{A}}$, $\text{C}_{7\text{A}}$), 128.1 (C_5 , C_6), 127.3 (C_4 , C_7), 125.6 (C_5'); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** Calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{Cl}_2\text{N}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 264.0090. Obtenida: 264.0096; **Punto de fusión:** 224-226°C.

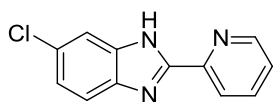
Síntesis de 6-cloro-2-(piridin-3'-il)-1H-benzimidazol (40)



El compuesto **40** se obtiene mediante el procedimiento general B como un sólido amarillo-marrón con un rendimiento del 70%. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente EtOAc.

^1H RMN (300 MHz, $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$) δ (ppm): 12.32 (1H, NH), 9.38 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H, H_2'), 8.70 (dd, $J = 4.8, 1.5$ Hz, 1H, H_6'), 8.67 (ddd, $J = 8.1, 2.4, 1.8$ Hz, 1H, H_4'), 7.63 (m, 2H, H_4 , H_7), 7.55 (m, 1H, H_5'), 7.25 (dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, 1H, H_5); **^{13}C RMN (75 MHz, $\text{Me}_2\text{CO}-d_6$) δ (ppm):** 151.8 (C_6'), 151.4 (C_2), 148.7 (C_2'), 134.7 (C_4'), 128.5 ($\text{C}_{3\text{A}}$, $\text{C}_{7\text{A}}$), 127.0 (C_3'), 124.7 (C_5'), 123.9 (C_5), 118.9, 116.8, 115.5 (C_4 , C_6 , C_7); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** Calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClN}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 230.0480; Obtenida: 230.0483; **Punto de fusión:** 289-290°C.

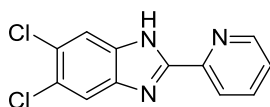
Síntesis de 6-cloro-2-(piridin-2'-il)-1H-benzimidazol (41)



El compuesto **41** se obtiene mediante el procedimiento general A como un sólido marrón con un 37% de rendimiento. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente Hex: EtOAc (4:1).

^1H RMN (500 MHz, CD_3OD) δ (ppm): 8.68 (d, $J = 4.5$ Hz, 1H, H_6'), 8.24 (d, $J = 8$ Hz, 1H, H_3'), 7.93 (td, $J = 7.5, 1.5$ Hz, 1H, H_4'), 7.60 (m, 2H, H_4 , H_7), 7.45 (dd, $J = 7, 4.5$ Hz, 1H, H_5'), 7.24 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H, H_5); **^{13}C RMN (125 MHz, CD_3OD) δ (ppm):** 153.7 (C_2), 150.9 (C_6'), 149.0 (C_2'), 138.5 (C_4'), 126.2 (C_3'), 125.2, 124.3 ($\text{C}_{3\text{A}}$, $\text{C}_{7\text{A}}$), 122.6 (C_5'), 120.9, 119.4 (C_5 , C_6) 114.0, 112.9 (C_4 , C_7); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** Calculada para $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{ClN}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 230.0480. Obtenida: 230.0479; **Punto de fusión:** 140-141°C.

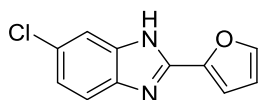
Síntesis de 5,6-dicloro-2-(piridin-2'-il)-1H-benzimidazol (42)



El compuesto **42** se obtiene mediante el procedimiento A como un sólido marrón con un 17% de rendimiento. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando un gradiente de eluyentes (Hex: EtOAc 4:1 → Hex: EtOAc 1:1).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.70 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, H6'), 8.23 (d, *J* = 8 Hz, 1H, H3'), 7.95 (td, *J* = 7.5, 1.5 Hz, 1H, H4'), 7.75 (s, 2H, H4, H7), 7.47 (ddd, *J* = 7.5, 5, 1 Hz, 1H, H5'); **¹³C RMN (125 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 154.8 (C₂), 150.9 (C_{6'}), 148.7 (C_{2'}), 138.6 (C_{4'}), 129.4 (C_{3A}, C_{7A}), 127.9 (C₅, C₆), 126.4 (C_{3'}), 122.8 (C_{5'}), 117.5 (C₄, C₇); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₂H₇Cl₂N₃ [M+H]⁺: 264.0090. Obtenida: 264.0098; **Punto de fusión:** 172-174°C.

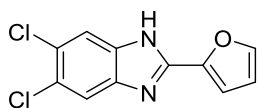
Síntesis de 6-cloro-2-(furan-2'-il)-1H-benzimidazol (43)



El compuesto **43** se obtiene mediante el procedimiento general B como un sólido naranja-marrón con un rendimiento del 52%. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando como gradiente de eluyente Hex:EtOAc (1:0→4:1→3:2).

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.69 (dd, *J* = 1.8, 0.6 Hz, 1H, H5'), 7.49 (dd, *J* = 2.4, 0.3 Hz, 1H, H7), 7.44 (dd, *J* = 8.7, 0.3 Hz, 1H, H4), 7.15 (m, 2H, H5, H3'), 6.62 (dd, *J* = 3.6, 1.8 Hz, 1H, H4'), 5.06 (s_{ancho}, 1H, NH); **¹³C RMN (75.5 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 146.5 (C₂), 146.0 (C_{5'}), 145.9 (C_{2'}), 140.5 (C_{3A}), 138.2 (C_{7A}), 129.5 (C₆), 124.4 (C₅), 116.7 (C₄), 115.6 (C₇), 113.3 (C_{4'}), 112.4 (C₃); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₁H₇ClN₂O [M+H]⁺: 219.0320. Obtenida: 219.0321; **Punto de fusión:** 178-179 °C.

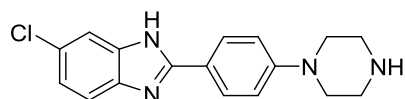
Síntesis de 5,6-dicloro-2-(furan-2'-il)-1H-benzimidazol (44)



El compuesto **44** se obtiene siguiendo el procedimiento general A como un sólido naranja con un rendimiento del 17%. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando para ello un gradiente de eluyentes Hex:EtOAc (1:0→4:1→3:2).

¹H RMN (500 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H5'), 7.69 (s_{ancho}, 2H, H4, H7), 7.23 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H, H3'), 6.69 (dd, *J* = 3.5, 2 Hz, 1H, H4'), 4.58 (s_{ancho}, 1H, NH); **¹³C RMN (125 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 147.7 (C₂), 146.5 (C_{5'}), 145.7 (C_{2'}), 130.2 (C_{3A}, C_{7A}), 127.7 (C₅, C₆), 117.2 (C₄, C₇), 113.5 (C_{4'}), 113.1 (C_{3'}); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₁H₆Cl₂N₂O [M+H]⁺: 252.9930. Obtenida: 252.9940; **Punto de fusión:** 189-190°C.

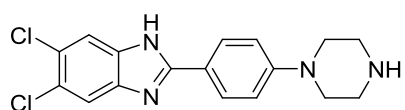
Síntesis de 6-cloro-2-[4'-(piperazin-1''-il)fenil]-1H-benzimidazol (45)



El compuesto **45** se sintetiza a partir del compuesto **49** y de la 6-cloro-o-fenilendiamina siguiendo el procedimiento general B obteniéndose el compuesto como un sólido naranja con un rendimiento del 10%. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando DCM:MeOH (9:1).

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.95 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H2', H6'), 7.50 (m, 2H, H4, H7), 7.19 (m, 1H, H5), 7.09 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H3', H5'), 3.36 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x H2'', 2 x H6''), 3.10 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x H3'', 2 x H5''), 1.27 (s_{ancho}, 1H, NH_{piperazina}); **¹³C RMN (75.5 MHz, DMSO-d₆) δ ppm:** 153.2 (C₂), 150.0 (C_{4'}), 130.9 (C_{3A}, C_{7A}), (127.7 (C_{2'}, C_{6'}), 125.8 (C₆), 121.7 (C₅), 119.2 (C₄, C₇), 114.7 (C_{3'}, C_{5'}), 114.6 (C_{1'}), 46.9 (C_{2''}, C_{6''}), 44.3 (C_{3''}, C_{5''}); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₇H₁₇ClN₄ [M+H]⁺: 313.1215. Obtenida: 313.1226; **Punto de fusión:** 138-140°C.

Síntesis de 5,6-dicloro-2-[4'-(piperazin-1''-il)fenil]-1H-benzimidazol (46)

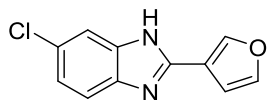


El compuesto **46** se sintetiza a partir del compuesto **49** y la 5,6-dicloro-o-fenilendiamina siguiendo el procedimiento general A obteniéndose el compuesto como un sólido naranja con un 54% de rendimiento. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente DCM:MeOH (9:1).

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 7.96 (d, *J* = 9 Hz, 2H, H2', H6'), 7.70 (s, 2H, H4, H7), 7.11 (d, *J* = 9 Hz, 2H, H3', H5'), 3.38 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x H2'', 2 x H6''), 3.09 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x H3'', 2 x H5''), 1.28 (s_{ancho}, 1H, NH_{piperazina}); **¹³C-RMN (75.5 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm):** 154.4 (C₂), 152.1 (C_{4'}), 131.8 (C_{3A}, C_{7A}), 127.9 (C_{2'}, C_{6'}), 123.8 (C₆, C₅), 119.1 (C₄, C₇), 114.7

(C₃, C₅'), 114.6 (C₁'), 46.6 (C₂'', C₆''), 44.1 (C₃'', C₅''); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₇H₁₆Cl₂N₄ [M+H]⁺: 347.0825. Obtenida: 347.0836; **Punto de fusión:** 143-144°C.

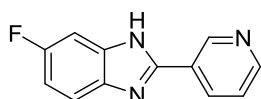
Síntesis 6-cloro-2-(furan-3''-il)-1H-benzimidazol (47)



El compuesto **47** se obtiene mediante el procedimiento general B como un sólido naranja-marrón con un rendimiento del 60%. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente Hex: EtOAc (4:1).

¹H RMN (300 MHz, CD₃OD) δ (ppm): 8.17 (dd, *J* = 1.5, 0.9 Hz, 1H, H₂''), 7.63 (m, 1H, H₅''), 7.46 (dd, *J* = 2.1, 0.6 Hz, 1H, H₇), 7.41 (dd, *J* = 8.7, 0.6 Hz, 1H, H₄), 7.13 (dd, *J* = 8.4, 1.8 Hz, 1H, H₅), 6.97 (dd, *J* = 1.8, 0.9 Hz, 1H, H₄''), 5.11 (*s*_{ancho}, 1H, NH); **¹³C-RMN (75.5 MHz, CD₃OD) δ (ppm):** 148.9 (C₂), 145.8 (C₂''), 143.9 (C₅'), 140.6 (C_{3A}), 138.2 (C_{7A}), 129.2 (C₃'), 124.1 (C₅), 118.3 (C₆), 116.3 (C₄), 115.4 (C₇), 109.5 (C₄'); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₁H₆Cl₂N₂O [M+H]⁺: 219.0320. Obtenida: 219.0320; **Punto de fusión:** 223-225°C.

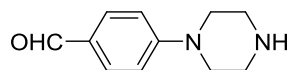
Síntesis de 6- fluoro-2-(piridin-3'-il)-1H-benzimidazol (48)



El compuesto **48** se obtiene mediante el procedimiento general B como un sólido blanco con un rendimiento del 66%. El compuesto se purifica por cromatografía de columna empleando EtOAc como eluyente.

¹H-RMN (500 MHz, CD₃OD) δ ppm: 9.23 (m, 1H, H₂''), 8.66 (dd, *J* = 4.5, 1 Hz, 1H, H₆''), 8.46 (dd, *J* = 8, 1 Hz, 1H, H₄''), [7.62-7.60] (m, 2H, H₄, H₅''), 7.31 (dd, *J* = 8.5, 2.5 Hz, 1H, H₇), 7.07 (ddd, *J*_{H₅-F} = *J*_{H₅-H₄} = 9 Hz, *J*_{H₅-H₇} = 2.5 Hz, 1H, H₅); **¹³C-RMN (125 MHz, CD₃OD) δ ppm:** 161.3 (d, *J* = 237.1 Hz, C₆), 151.5 (C₆''), 150.2 (C₂), 135.9 (C₄'), 127.7 (C₃''), 125.7 (C₅'), 151.4 (C₂), 148.7 (C₂''), 112.8 (C₅). No se observan los carbonos C₄, C₇, C_{3A}, C_{7A}; **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₂H₈FN₃ [M+H]⁺: 214.0775. Obtenida: 214.0778; **Punto de fusión:** 228-229°C.

Síntesis de 4-(piperazin-1'-il)benzaldehído (49)



En un matraz de 10 mL se mezclan (323.03 mg, 3.75 mmol) de 1,4-piperazina y (105 μ L, 1mmol) de 4-fluorobenzaldehído en una mezcla DME: H₂O (1.5:1). La reacción se agita a reflujo 5 h bajo atmósfera de argón. Se observa la aparición de un precipitado amarillo. La mezcla de reacción se enfría a T^a ambiente y se filtra. El sólido amarillo obtenido se disuelve en HCl 1M y la disolución se basifica con NaOH hasta pH= 10. La disolución acuosa resultante se extrae con DCM y las fases orgánicas reunidas se lavan con una disolución saturada de NaCl y se secan sobre Na₂SO₄ anhidro. El crudo de reacción se purifica por cromatografía de columna empleando como eluyente DCM: MeOH (95:5) + unas gotas de NH₄OH. Se obtiene el compuesto como un sólido amarillo con un rendimiento del 89% (168.4 mg, 0.89 mmol).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.78 (s, 1H, CHO), 7.75 (d, J = 9 Hz, 2H, H₂, H₆), 6.91 (d, J = 9 Hz, 2H, H₃, H₅), 3.36 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2H₂', 2H₆'), 3.02 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2H₃', 2H₅'), 1.73 (s_{ancho}, 1H, NH); **¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 190.6 (CHO), 155.6 (C₄), 132.0 (C₂, C₆), 127.3 (C₁), 113.7 (C₃, C₅), 48.4 (C₂', C₆'), 46.0 (C₃', C₅'); **HRMS (QTOF, ESI alta, modo positivo):** calculada para C₁₁H₁₄N₂O [M+H]⁺: 191.1179. Obtenida: 194.1182; **Punto de fusión:** 65-66°C.

5.5 SYNTHESIS OF THIAZOLE DERIVATIVES

5.5.1 GENERAL SYNTHETIC METHODS

Amination reaction (general procedure A)

1.05 equivalents of the corresponding amine were dissolved in anh. dioxane to make a 0.2 M solution and introduced into a two-neck, round-bottom flask equipped with a condenser. 2 molar equivalents of Et₃N were then added and the system was purged with an argon stream. In parallel, a solution of the corresponding 2-bromo-4-carboxy-5-isopropylthiazole (1 equivalent) in anh. dioxane (0.2 M) was prepared. This solution was then slowly added to the reaction mixture, which was kept under reflux. Once the reaction was complete as indicated by TLC monitoring, the solvent was removed under reduced pressure and the resulting crude reaction product was purified by column chromatography on silica gel.

Hydrolysis reaction (general procedure B)

In a 25 mL round-bottom flask, the corresponding ester was dissolved in a 2:1 mixture of EtOH:H₂O to make a 0.2 M solution, which was then treated with 15 molar equivalents of 2.5 M aq. NaOH and allowed to react at 35°C. When the reaction was complete, as indicated by TLC monitoring, it was treated with 1M HCl until an acidic pH was reached. The resulting intermediate was processed in one of two ways, depending on the product obtained. If the product was a brominated carboxylic acid, the reaction mixture was extracted with EtOAc. The organic extract was dried over anh. Na₂SO₄ and filtered, and the solvent was removed under reduced pressure. If an amino acid was obtained, the solvent of the crude reaction mixture was removed under reduced pressure to obtain the desired compound plus NaCl. This mixture was then used with no further purification.

Amidation reaction (general procedure C)

- **Amidation reaction by reaction with pivaloyl chloride (general procedure C1):**

1 molar equivalent of the carboxylic acid obtained in the hydrolysis reaction (general procedure B) was introduced into a 25 mL round-bottom flask. The system was

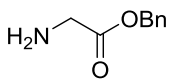
then purged with an argon stream and dichloromethane was added (0.2 M). Once the compound was dissolved, 2.3 eq. of Et₃N and 1 eq. of pivaloyl chloride were added. The reaction mixture was stirred for 2 hours at rt, after which 1 eq. of the corresponding aniline dissolved in dichloromethane (0.2 M) was added. This mixture was then stirred for 72 h. at rt. If a precipitate appeared, the reaction was filtered and the filtrate was concentrated under reduced pressure. The resulting crude mixture was then purified by column chromatography on silica gel.

- **Amidation reaction by reaction with thionyl chloride (general procedure C2):**

1 molar equivalent of the carboxylic acid obtained in the hydrolysis reaction (general procedure B) was introduced into a 25 mL round-bottom flask fitted with a condenser. The system was purged with an argon stream and 4 mL of SOCl₂ (excess) were added. The reaction mixture was refluxed for 1 h, after which it was concentrated under reduced pressure and the crude acyl chloride was dissolved in dichloromethane. In parallel, 1.33 eq. of the corresponding aniline were dissolved in a 1:1 mixture of DCM:pyridine (0.2 M). The resulting solution was added to the reaction mixture, which was then stirred for 12 h at rt. The solvents were removed under reduced pressure and the resulting crude mixture was purified by column chromatography on silica gel.

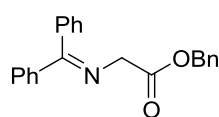
5.5.2 SYNTHETIC PROCEDURES AND CHARACTERIZATION DATA

Synthesis of 2-(benzyloxy)-2-oxoethanamine-4-methylbenzenesulfonate (**50**)

 342 mg of glycine (4.56 mmol) and 1.27 g of *p*-toluenesulfonic acid (6.68 mmol, 1.5 eq.) were introduced to a 100 mL two round-bottom flask. The system was purged with argon and 30 mL of toluene were added. Next, 4.98 g of benzyl alcohol (46 mmol, 10 eq.) were introduced to the flask and the resulting reaction mixture was heated up under reflux during 22 h with removal of water as the azeotrope using a Dean-Stark trap. The mixture was cooled to 25°C and concentrated (15 mL) at reduced pressure. Afterwards, 30 mL of diethyl ether were added to the residue and the mixture was cooled to 0°C in an ice bath. The formed solid was filtered off and washed with cold diethyl ether to afforded 1.52 g of compound **50** (98% yield).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.11 (br s, 3H, NH₂, OH), 7.69 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H_{Ar} Ts), (m, 5H, H_{Ar} Bn), 6.99 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H_{Ar} Ts), 4.99 (s, 2H, CH₂ Bn), 3.71 (s, 2H, CH₂), 2.25 (s, 3H, CH₃ Ts); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 167.4 (COO), 141.2 (C_q Ts), 140.4 (C_q Ts), 134.6 (C_q Bn), 128.9 (2 x CH_{Ar} Ts), 128.5 (2 x CH_{Ar} Bn), 128.3 (2 x CH_{Ar} Ts), 128.2 (CH_{Ar} Bn), 125.9 (2 x CH_{Ar} Bn), 67.7 (CH₂ Bn), 40.5 (CH₂), 21.2 (CH₃ Ts); **HRMS (QTOF, ESI, positive mode):** Calcd. For C₁₆H₁₉NO₅S [M+H]⁺: 338.1057; found: 338.1079; **Mp:** 130-132°C.

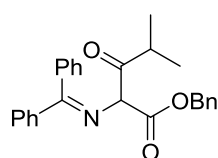
Synthesis of benzyl 2-[(diphenylmethylene)amino]acetate (**51**)



In a 50 mL round-bottom flask, 1.5 g of compound **50** (4.44 mmol) were dissolved in 10 mL of anh. dichloromethane. Next, 760 μL of benzhydrylamine (4.44 mmol) were added dropwise to the reaction mixture and it was stirred at rt overnight. The resulting solid was filtered off and washed with water. The two layers obtained in the filtrate were separated and the organic phase was dried over anh. Na₂SO₄, filtered, and dried in vacuum. The resulting residue was crystalized in dichloromethane/Hexane to yield 1.18 g of compound **51** (81%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.65-7.73 (m, 2H, H_{Ar}), 7.31-7.49 (m, 11H, H_{Ar}), 7.15-7.23 (m, 2H, H_{Ar}), 5.22 (s, 2H, CH₂ Bn), 4.29 (s, 2H, CH₂); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 172.0 (COO), 170.5 (C=N), 139.2 (C_q Bn), 135.9 (C_q Ph), 135.7 (C_q Ph), 130.5 (2 x CH_{Ar}), 128.8 (CH_{Ar}), 128.7 (CH_{Ar}), 128.7 (2 x CH_{Ar}), 128.5 (2 x CH_{Ar}), 128.3 (2 x CH_{Ar}), 128.2 (2 x CH_{Ar}), 128.0 (CH_{Ar}), 127.6 (2 x CH_{Ar}), 66.5 (CH₂ Bn), 55.6 (CH₂); **HRMS (QTOF, ESI, positive mode):** Calcd. for C₂₂H₁₉NO₂ [M+H]⁺: 329.1416; found: 329.1407; **Mp:** 86-88°C.

Synthesis of benzyl 2-[(diphenylmethylene)amino]-4-methyl-3-oxopentanoate (**52**)

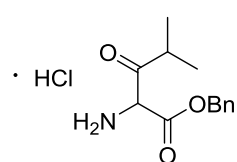


100 mg of compound **51** (0.3 mmol) were introduced into a two-neck round-bottom flask. The system was purged with an argon stream and 5 mL of anh. THF were added. Next, the reaction mixture was cooled to -78°C and a solution of 1M hexamethyldisilazane sodium salt in 3 mL THF (0.3 mL, 0.3 mmol) was added dropwise to the mix reaction, which was kept at -78°C for 30 min. After this time, the reaction mixture was transferred *via cannula* to a solution of isobutryl chloride (30 μL, 0.3 mmol) in anh. THF (3 mL). The reaction mixture was stirred at -78°C

for 2h. Afterwards, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel (Hex: EtOAc (98:2)) to afforded 25.2 mg of compound **52** as a colourless oil. 21% yield.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.98-6.92 (m, 15H_{Ar}), 6.15 (s, 1H, H₂), 5.13 (s, 2H, CH₂ Bn), 2.69-2.55 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.14 (d, *J*= 6.9 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.11 (d, *J*= 6.4 Hz, 3H, CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 212.3 (C₃), 171.8 (C₁), 169.3 (C=N), 140.2 (C_q Bn), 136.7 (C_q Ph), 136.1 (C_q Ph), 130.4 (2 x CH_{Ar}), 129.6 (CH_{Ar}), 129.5 (CH_{Ar}), 129.5 (2 x CH_{Ar}), 129.4 (2 x CH_{Ar}), 129.3 (2 x CH_{Ar}), 129.1 (2 x CH_{Ar}), 128.7 (CH_{Ar}), 128.0 (2 x CH_{Ar}), 70.8 (C₂), 66.7 (CH₂ Bn), 37.8 (CH_{iPr}), 18.4 (CH_{3iPr}), 17.1 (CH_{3iPr}); **HRMS (QTOF, ESI, positive mode):** Calcd. for C₂₈H₂₉NO₃ [M+H]⁺: 427.2147; found: 427.2143.

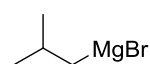
Synthesis of benzyl 2-amino-4-methyl-3-oxopentanoate hydrochloride (**53**)



The hydrolysis of compound **52** was carried out by means of addition of 1M HCl solution (3 mL) at room temperature. The aqueous solution was extracted with EtOAc twice. The combined organic phase was dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered, and dried in vacuum. The obtained residue was suspended in Et₂O and the formed solid was filtered off and it was employed in the next reaction without further purification. 99% yield.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.00 (s_{ancho}, 2H, NH₂), 7.32-7.38 (m, 5H, H_{Ar} Bn), 5.47 (s, 1H, H₂), 5.24 (s, 2H, CH₂ Bn), 3.03-3.09 (m, 1H, H₄), 1.22 and 0.96 ((d, *J*= 6.7 Hz), (d, *J*= 6.4 Hz), 6H, H₅, H₆, 2 x CH₃); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 202.1 (C₃), 163.3 (C₁), 134.1 (C_q Bn), 128.8 (2 x CH_{Ar} Bn), 128.7 (CH_{Ar}), 128.6 (2 x CH_{Ar} Bn), 69.2 (C₂), 67.0 (CH₂ Bn), 38.9 (C₄), 18.9 and 17.1 (2 x CH₃); **HRMS (QTOF, ESI, positive mode):** Calcd. for C₁₃H₁₈NO₃ [M+H]⁺: 236.1281; found: 236.1272.

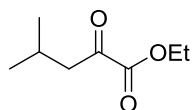
Synthesis of isobutyl magnesium bromide (**54**)



292 mg of magnesium (12 mmol) were introduced into a dry, 2-necked, roundbottom flask together with a small iodine crystal. One of the necks was fitted with a condenser and the system was kept under argon cooled in an ice bath. 6 mL of dry diethyl ether were added to the reaction flask, after which a solution of isobutyl bromide (0.87 mL, 8 mmol) in 6 mL of diethyl ether was slowly added. The reaction

mixture was kept at rt for 30 min and then maintained under reflux for 15 min. After this time, the reaction flask was cooled to room temperature and its contents transferred *via cannula* to the next reaction.

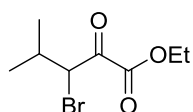
Synthesis of ethyl 4-methyl-2-oxopentanoate (**55**)



730 mg (5 mmol) of diethyl oxalate and 12 mL of anh. diethyl ether were introduced into a 100 mL round-bottom flask under argon atmosphere. The resulting solution was cooled to -78°C and a solution of the Grignard reagent described above (compound **54**, 1.5 eq.) was added. The reaction mixture was stirred at rt for 2 h, after which time the reaction was quenched with NH_4Cl 1M and extracted three times with Et_2O . The combined organic phases were dried over anh. Na_2SO_4 and the volatile compounds in the filtrate were removed under reduced pressure. The crude reaction product was purified by column chromatography, yielding 601 mg of compound **55** as colourless oil in 76% yield.

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 4.28 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2 , Et), 2.68 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H, $\text{CH}_{2\text{iBu}}$), 2.16 (sept, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{iBu}), 1.33 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH_3 , Et), 0.93 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iBu}}$); **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 194.5 (C2), 161.5 (C1), 62.4 (CH_2 , Et), 48.0 (C3, $\text{CH}_{2\text{iBu}}$), 24.3 (C4, CH_{iBu}), 22.5 (2 x $\text{CH}_{3\text{iBu}}$), 14.1 (CH_3 , Et); **HRMS (ESI):** Calcd. for $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_3$: 158.0943; found: 158.0951.

Synthesis of ethyl 3-bromo-4-methyl-2-oxopentanoate (**56**)

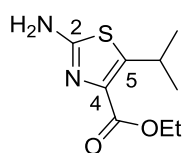


2.2 g of CuBr_2 (9.9 mmol) were introduced into a 250 mL two-neck, roundbottom flask equipped with a condenser. The system was purged with an argon stream and then 35 mL of EtOAc were added to the reaction flask. In parallel, a solution of compound **55** (552 mg, 3.3 mmol) in 17 mL of dichloromethane was prepared. The resulting solution was slowly added to the reaction flask and the mixture was then stirred for an additional 18 h under reflux. After this time, the reaction mixture was filtered over silica gel to remove the excess CuBr_2 and the volatile compounds were removed under reduced pressure. This yielded 734 mg of the crude product **56**, which was

used in the next reaction with no further purification. The compound was obtained as a yellowish oil in 94% crude yield. Rf= 0.72 (98:2 (Hex: EtOAc)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.83 (d, *J*= 7.8 Hz, 1H, H₃), 4.36 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H, CH₂, Et), 2.34 (m, 1H, H₄, CH_{iPr}), 1.38 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H, CH₃, Et), 1.12 (d, *J*= 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.04 (d, *J*= 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 186.0 (C₂), 160.9 (C₁), 63.1 (CH₂, Et), 56.8 (C₃), 30.0 (C₄), 20.4 (CH_{3iPr}), 20.2 (CH_{3iPr}), 14.0 (CH₃, Et); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₈H₁₃BrO₃ [M+H]⁺: 237.0121; found: 237.0121.

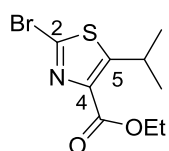
Synthesis of ethyl 2-amino-5-isopropylthiazole-4-carboxylate (**57**)



115.5 mg (1.5 mmol) of thiourea were introduced into a 25 mL two-neck, round-bottom flask fitted with a condenser. The system was purged with argon and 2 mL of EtOH were added. Then, a solution of compound **56** (300 mg, 1.26 mmol) in 2 mL of EtOH was added to the reaction mixture, which was kept under reflux for 5 h. Afterwards, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The resulting residue was dissolved in EtOAc and washed three times with water to eliminate excess urea. The organic phase was then dried over anhydrous Na₂SO₄, filtered, and dried in vacuum. The crude reaction product was purified by column chromatography on silica gel to afford 252 mg of compound **57** as a yellowish solid in 93% yield. Rf= 0.5 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.81 (br s, 2H, NH₂), 4.29 (q, *J*= 6.9 Hz, 2H, CH₂, Et), 3.98 (sept, *J*=6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 1.33 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H, CH₃, Et), 1.22 (d, *J*= 6.9 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 164.1 (COO), 162.4 (C₂), 149.1 (C₄), 134.9 (C₅), 60.8 (CH₂, Et), 27.7 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x CH_{3iPr}), 14.4 (CH₃, Et); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₉H₁₄N₂O₂S [M+H]⁺: 215.0849; found: 215.0848. **Mp:** 121-123°C.

Synthesis of ethyl 2-bromo-5-isopropylthiazole-4-carboxylate (**58**)

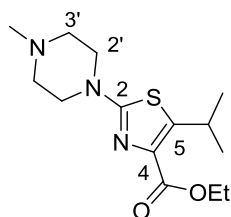


70 mg (0.33 mmol) of compound **57** were introduced into a two-neck, roundbottom flask equipped with a condenser and flushed with Ar. 1 mL of CH₃CN was added and the mixture was heated to 60°C. In parallel, 80 mg

(0.36 mmol) of CuBr₂ and 73 μL (0.55 mmol) of t-BuONO were dissolved in 1 mL of CH₃CN. The resulting solution was slowly added to the reaction mixture, which was then kept at 80°C for 15 min. Afterwards, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was dissolved in dichloromethane, washed twice with a 1 M HCl solution, and then washed again with 1M NH₄Cl. The organic phase was dried over anh. Na₂SO₄, filtered, and then concentrated under reduced pressure to afford 90 mg of pure compound **58** as a brownish oil. Yield: 99%.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.38 (q, *J*=7.2 Hz, 2H, CH₂, Et), 4.11 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 1.37 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H, CH₃, Et), 1.30 (d, *J*= 6.9 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 162.6 (COO), 161.2 (C5), 140.0 (C4), 132.3 (C2), 61.5 (CH₂, Et), 28.3 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x CH_{3iPr}), 14.4 (CH₃, Et); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₉H₁₂BrNO₂S [M+H]⁺: 277.9845; found: 277.9844.

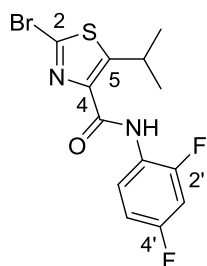
Synthesis of ethyl 5-isopropyl-2-(4'-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxylate (**59**)



Following general procedure A, reaction of *N*-methylpiperazine (25 μL, 0.23 mmol), Et₃N (70 μL, 0.45 mmol), and 60 mg of compound **58** (0.22 mmol) in 2mL of anh. dioxane yielded 61.5 mg of compound **59** as a yellowish oil after CC purification on silica gel (94% yield). R_f= 0.1 (100% EtOAc).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.31 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H, CH₂, Et), 3.98 (sept, *J*= 6.6 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.46 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H_{2'}, H_{6'}), 2.47 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H_{3'}, H_{5'}), 2.30 (s, 3H, N-CH₃), 1.34 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H, CH₃, Et), 1.23 (d, *J*= 6.6 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.7 (COO), 162.9 (C2), 147.7 (C4), 136.1 (C5), 60.9 (CH₂, Et), 54.3 (C_{3'}, C_{5'}), 48.1 (C_{2'}, C_{6'}), 46.2 (N-CH₃), 27.7 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}), 14.4 (CH₃, Et); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₄H₂₃N₃O₂S [M+H]⁺: 298.1584; found: 298.1584.

Synthesis of 2-bromo-*N*-(2',4'-difluorophenyl)-5-isopropylthiazole-4-carboxamide (60)

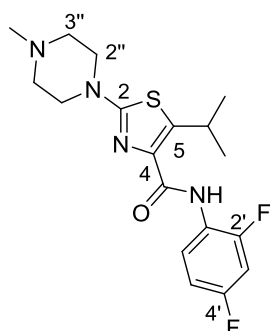


Following general procedure C1, reaction of 35 mg (0.14 mmol) of the hydrolysis product of **58** with Et₃N (45 μL, 0.32 mmol) and pivaloyl chloride (17.2 μL, 0.14 mmol) afforded the corresponding acyl chloride. This compound then reacted with 2,4-difluoroaniline (15 μL, 0.14 mmol) in 2 mL of anh. dichloromethane to yield 14 mg (28%) of compound **60**

as a yellowish solid after CC purification on silica gel. R_f = 0.9 (Hex: EtOAc (1:1)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.253 (br s, 1H, NH), 8.38-8.30 (m, 1H, H6'), 6.95-6.87 (m, 2H, H3', H5'), 4.40 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 1.35 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -115.33-(-115.42) (m, 1F, F4'), -125.45-(-125.55) (m, 1F, F2'); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 160.6 (CO), 159.9 (C5), 141.4 (C4), 131.8 (C2), 122.7 (dd, ³*J*_{C-F} = 9.2, 2.5 Hz, C6'), 111.3 (dd, ²*J*_{C-F} = 21.7 Hz, ⁴*J*_{C-F} = 3.8 Hz, C5'), 103.9 (dd, ²*J*_{C-F} = 26.3, 23.1 Hz, C3'), 28.1 (CH_{iPr}), 25.1 (2 x CH_{3iPr}). The signals for carbons C1', C2', and C4' were not observed due to slow relaxation. **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₃H₁₁BrF₂N₂OS [M+H]⁺: 360.9816; found: 360.9833. **Mp:** 122-123°C.

Synthesis of *N*-(2',4'-difluorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (61)



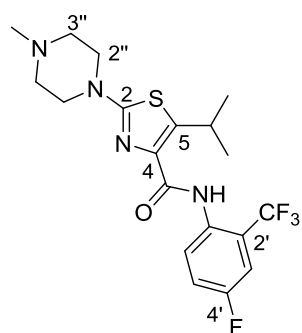
Following general procedure C1, reaction of 45 mg (0.17 mmol) of the hydrolysis product of **59** with Et₃N (58 μL, 0.42 mmol) and pivaloyl chloride (21 μL, 0.17 mmol) afforded the corresponding acyl chloride. This compound then reacted with 2,4-difluoroaniline (18 μL, 0.17 mmol) dissolved in 2 mL of anh. dichloromethane to yield 14 mg (28%) of compound **61** as a yellowish solid after CC

purification on silica gel. R_f = 0.9 (Hex: EtOAc (1:1)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.45 (br s, 1H, NH), 8.46-8.38 (m, 1H, H6'), 6.91-6.84 (m, 2H, H3', H5'), 4.34 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.50 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2x CH₂, H2'', H4''), 2.54 (t, *J* = 5.1, 4H, 2x CH₂, H3'', H5''), 2.36 (s, 3H, N-CH₃), 1.29 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -116.56-(-116.66) (m, 1F, F4'), -127.00-(-127.11) (m, 1F, F2'); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.3 (CO), 160.8 (C2), 145.5 (C5), 137.2 (C4),

122.1 (dd, $^3J_{C-F} = 8.9, 2.6$ Hz, C6'), 111.2 (dd, $^2J_{C-F} = 21.6$ Hz, $^4J_{C-F} = 3.4$ Hz, C5'), 103.6 (dd, $^2J_{C-F} = 26.6, 23.3$ Hz, C3'), 54.3 (2x CH₂, C3'', C5''), 48.2 (2 x CH₂, C2'', C6''), 46.3 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.1 (2 x CH_{3iPr}). The signals for carbons C1', C2', and C4' are not observed due to slow relaxation. **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₁₈H₂₂F₂N₄OS [M+H]⁺: 381.1555; found: 381.1551. **Mp**: 141-142°C.

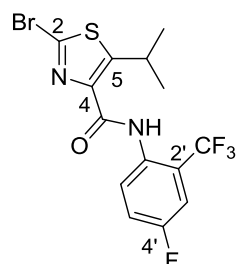
Synthesis of *N*-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1''-yl)thiazole-4-carboxamide (**62**) (*Hit*)



Following general procedure C2, reaction of 202 mg (0.75 mmol) of the hydrolysis product of **59** with SOCl₂ (4 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was dissolved in 1 mL of anhydrous dichloromethane. This solution was then added to 4-fluoro-2-(trifluoromethyl)aniline (100 μL, 1 mmol) in a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine (2 mL) as solvent to yield 258 mg (80%) of compound **62** as a white solid after CC purification. R_f = 0.2 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, acetone-d₆) δ (ppm): 9.97 (br s, 1H, NH), 8.61-8.54 (m, 1H, H6'), 7.54-7.46 (m, 2H, H3', H5'), 4.32 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.49 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2x CH₂, H2'', H6''), 2.50 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2x CH₂, H3'', H5''), 2.28 (s, 3H, N-CH₃), 1.28 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282 MHz, acetone-d₆) δ (ppm)**: -60.97 (s, 3F, CF₃), -117.55-(-117.63) (m, 1F, F4'); **¹³C NMR (75 MHz, acetone-d₆) δ (ppm)**: 167.0 (CO), 161.0 (C2), 158.9 (d, *J* = 243.9 Hz, C4'), 145.5 (C5), 137.8 (C4), 125.6 (q, *J* = 8 Hz, C1'), 125.0 (d, *J* = 7.7 Hz, C6'), 123.0 (q, *J* = 265.9 Hz, CF₃), 122.6 (C2'), 120.2 (d, *J* = 21.7 Hz, C5'), 114.0 (dq, *J* = 26.0, 5.8 Hz, C3'), 54.7 (C3'', C5''), 48.8 (C2'', C6''), 46.3 (N-CH₃), 27.7 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₁₉H₂₂F₄N₄OS [M+H]⁺: 431.1523; found: 431.1523. **Mp**: 112-114°C.

Synthesis of 2-bromo-*N*-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropylthiazole-4-carboxamide (**63**)

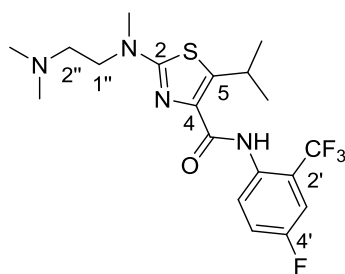


Following general procedure C2, reaction of 50 mg (0.20 mmol) of the hydrolysis product of **58** with SOCl₂ (1 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 1 mL of anhydrous dichloromethane. This solution reacted with 4-fluoro-2-(trifluoromethyl)aniline (27 μL, 0.27 mmol) in a 1:1 mixture of

dichloromethane:pyridine (2 mL) as solvent to yield 65 mg (79%) of compound **63** as a white solid after CC purification. $R_f=0.8$ (9:1 Hex:EtOAc).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.51 (s, 1H, NH), 8.32 (dd, $J=9.1, 5.0$ Hz, 1H, H_{6'}), 7.36 (dd, $J= 8.5, 3.0$ Hz, 1H, H_{3'}), 7.32-7.23 (m, 1H, H_{5'}), 4.36 (sept, $J= 6.8$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 1.35 (d, $J= 6.8$ Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -61.97 (s, 3F, CF₃), -116.23(-116.31) (m, 1F, F_{4'}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 160.9 (CO), 159.3 (C₅), 158.8 (d, $J= 247.5$ Hz, C_{4'}), 141.1 (C₄), 131.9 (C₂), 131.4 (C_{1'}), 126.2 (d, $J= 7.7$ Hz, C_{6'}), 125.0 (C_{2'}), 123.2 (q, $J= 270.9$ Hz, CF₃), 119.6 (d, $J= 22.1$ Hz, C_{5'}), 113.7 (dq, $J= 26.1, 5.5$ Hz, C_{3'}), 28.1 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₄H₁₁BrF₄N₂OS [M+H]⁺: 410.9784; found: 410.9789. **Mp:** 95-96°C.

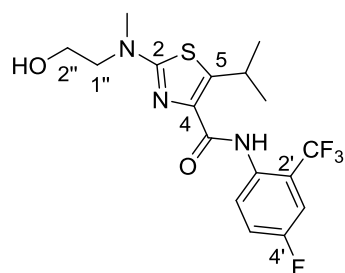
Synthesis of 2-[(2'-dimethylamino)ethyl(methyl)amino]-N-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropylthiazole-4-carboxamide (**64a**)



Following general procedure A, reaction of 40 mg (0.097 mmol) of compound **63** with *N,N,N*-trimethylethylenediamine (150 μL, 1.018 mmol) (10.5 eq.) and Et₃N (50 μL, 0.194 mmol) (2 eq.) in 1 mL of anh. dioxane afforded 40 mg (95% yield) of compound **64a** as a white solid after CC purification. $R_f=0.2$ (Hex:EtOAc (4:6)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.99 (br s, 1H, NH), 8.55 (dd, $J=9.3, 5.1$ Hz, 1H, H_{6'}), 7.31 (dd, $J= 8.7, 3$ Hz, 1H, H_{3'}), 7.27-7.21 (m, 1H, H_{5'}), 3.30 (sept, $J=6.9$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.57 (t, $J= 6.9$ Hz, 2H, CH₂, H_{1''}), 3.08 (s, 3H, N-CH₃), 2.57 (t, $J= 6.9$ Hz, 2H, CH₂, H_{2''}), 2.94 (s, 6H, 2 x CH₃, N-CH₃), 1.28 (d, $J= 6.9, 6H, 2 x CH_3iPr); **¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -62.08 (s, CF₃), -118.14 (ddd, $J=8.4, 8.4, 6.4$ Hz, 1F, F_{4'}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.3(CO), 160.9 (C₂) 158.0 (d, $J= 244.9$ Hz, C_{4'}), 144.7 (C₅), 137.1 (C₄), 132.6 (C_{1'}), 124.5 (d, $J= 7.6$ Hz, C_{6'}), 123.5 (q, $J= 271.8$ Hz, CF₃), 120.1 (qd, $J= 32.5, 7.6$ Hz, C_{2'}), 119.6 (d, $J= 22.3$ Hz, C_{5'}), 113.4 (dq, $J= 25.8, 5.5$ Hz, C_{3'}), 56.4 (C_{1''}), 50.9 (C_{2''}), 45.8 (2x CH₃, N_{iPr}), 38.7 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₄F₄N₄OS [M+H]⁺: 433.1680; found: 433.1686; **Mp:** 72-74°C.$

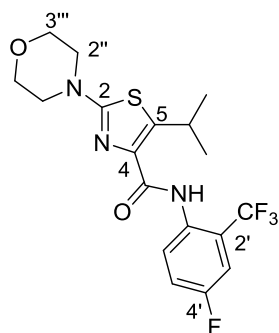
Synthesis of *N*-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)phenyl]-2-[(2'-hydroxyethyl)(methyl)amino]-5-isopropylthiazole-4-carboxamide (64b**)**



For the preparation of compound **64b**, general procedure A was applied, but without the addition of Et₃N and with an excess of aminoalcohol. Thus, 171.5 mg (0.417 mmol) of compound **63** reacted with 2-(methylamino)ethanol (336 μL, 4.17 mmol, 10 eq.) in 4 mL of anh. dioxane to afford 161 mg of compound **64b** (96% yield) as a white solid. R_f = 0.05 (Hex: EtOAc (9:1)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.98 (br s, 1H, NH), 8.53 (dd, *J* = 9.3, 5.1 Hz, 1H, H6'), 7.32 (dd, *J* = 8.7, 3 Hz, 1H, H3'), 7.29-7.22 (m, 1H, H5'), 4.30 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.90 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂, H1''), 3.63 (t, *J* = 5.1 Hz, 2H, CH₂, H2''), 3.14 (s, 3H, N-CH₃), 2.51 (br s, 1H, OH), 1.30 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -62.06 (s, 3F, CF₃), -117.78 (s, 1F, F4'); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.5 (CO), 160.8 (C2), 158.0 (d, *J* = 245.2 Hz, C4'), 145.0 (C5), 136.9 (C4), 132.4 (C1'), 124.4 (d, *J* = 7.5 Hz, C6'), 123.4 (q, *J* = 273.4 Hz, CF₃), 120.4 (qd, *J* = 30.6, 7.2 Hz, C2'), 119.6 (d, *J* = 21.6 Hz, C5'), 113.4 (dq, *J* = 26.1, 5.6 Hz, C3'), 60.4 (CH₂, C1''), 55.0 (CH₂, C2''), 39.7 (N-CH₃), 27.2 (CH_{iPr}), 24.9 (2x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₇H₁₉F₄N₃O₂S [M+H]⁺: 406.1207; found: 406.1217. **Mp:** 116-117°C.

Synthesis of *N*-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropyl-2-morpholinthiazole-4-carboxamide (64c**)**

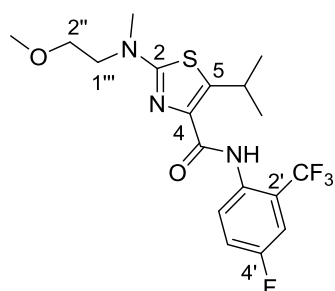


33 mg (0.08 mmol) of compound **63** and 1 mL of morpholine were introduced into a 25 mL round-bottom flask equipped with a condenser and kept under reflux in an Ar atmosphere for 72 h. The reaction was then cooled to rt and extracted with EtOAc. The organic phase was washed three times with water and once with brine. The organic phase was then dried over anh. Na₂SO₄, filtered, and the volatile components were removed under reduced pressure. The residue was

purified by CC to yield 33 mg of compound **64c** as a white solid in 99% yield. Rf= 0.4 (Hex: EtOAc (9:1)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.94 (br s, 1H, NH), 8.54 (dd, *J*= 9, 4.8 Hz, 1H, H6'), 7.32 (dd, *J*= 8.4, 3 Hz, 1H, H3'), 7.29-7.22 (m, 1H, H5'), 4.33 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.83 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2x CH₂, morpholine), 3.44 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2x CH₂, morpholine), 1.30 (d, *J*= 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -62.02 (s, 3F, CF₃), -117.88 (ddd, *J*= 8.4, 8.4, 5.4 Hz, 1F, F4'); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.2 (CO), 160.7 (C2), 158.1 (d, *J*= 245.2 Hz, C4'), 146.1 (C5), 137.0 (C4), 132.1 (C1'), 124.5 (d, *J*= 7.6 Hz, C6'), 123.0 (q, *J*= 271.8 Hz, CF₃), 121.0 (qd, *J*= 32.5, 6.1 Hz, C2'), 119.8 (d, *J*= 21.7 Hz, C5'), 113.5 (dq, *J*= 20.8, 5.4 Hz, C3'), 66.2 (2 x CH₂, morpholine), 48.3 (2 x CH₂, morpholine), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₁₉F₄N₃O₂S [M+H]⁺: 418.1207; found: 418.1209. **Mp:** 100-102°C.

Synthesis of *N*-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropyl-2-[(2''-methoxyethyl)methylamino]thiazole-4-carboxamide (64d**)**



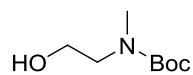
Following general procedure C2, 55 mg (0.21 mmol) of 5-isopropyl-2-((2''-methoxyethyl)methylamino)thiazole-4-carboxylic acid reacted with SOCl₂ (2 mL) to afford the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 1 mL of anh. dichloromethane. This solution was combined

with 4-fluoro-2-trifluoromethylaniline (28 μL, 0.28 mmol) in a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine (2 mL) as solvent to yield 82 mg (93%) of compound **64d** as a white solid. Rf= 0.7 (Hex:EtOAc (8:2)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.97 (br s, 1H, NH), 8.58 (dd, *J*= 9, 4.8 Hz, 1H, H6'), 7.32 (dd, *J*= 8.7, 3 Hz, 1H, H3'), 7.29-7.22 (m, 1H, H5'), 4.31 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.65 (s, 4H, 2 x CH₂, 2 x H1''), 3.37 (s, 3H, OCH₃), 3.12 (s, 3H, NCH₃), 1.29 (d, *J*= 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -62.16 (s, 3F, CF₃), -118.23 (ddd, *J*= 8.5, 8.5, 5.3 Hz, 1F, F4'); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.1 (CO), 160.9 (C2), 158.0 (d, *J*=243.5 Hz, C4'), 144.8 (C5), 137.2 (C4), 132.7 (C1'), 124.3 (d, *J*= 7.4 Hz, C6'), 123.5 (qd, *J*= 272.7, 2.6 Hz, CF₃), 120.3 (qd, *J*= 30.1, 7.3 Hz, C2'), 119.7 (d, *J*= 21.5 Hz, C5'), 113.4 (dq, *J*=

25.7, 5.6 Hz, C3'), 70.3 (C2'), 59.1 (OCH₃), 52.6 (C1'), 39.9 (NCH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₁₈H₂₁F₄N₃O₂S [M+H]⁺: 420.1363; found: 420.1358. **Mp**: 60-68°C.

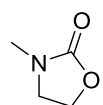
Synthesis of 2-[*N*-(*tert*-butyloxycarbonyl)-*N*-methylamino]ethanol (**65**)



This compound is commercially available. In a 100 mL round-bottom flask, 1.1 mL (13.62 mmol) of 2-(methylamino)ethanol were dissolved in 10 mL of anh. dichloromethane. The reaction flask was then cooled in an ice bath and a solution of 2.5 g (11.4 mmol) of Boc anhydride in 3.6 mL of dichloromethane was added. The reaction mixture was stirred for 3 h at rt. Afterwards, dichloromethane was added to the crude reaction mixture and the organic phase was washed first with 8 mL of a saturated solution of NH₄Cl and then with 4 mL of water. The organic phase was washed over anh. Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to yield 1.97 g of compound **65** as a colourless oil in 99% yield. R_f = 0.4 (Hex: EtOAc (1:1)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 3.72 (t, 2H, *J* = 5.2 Hz, H1), 3.37 (d, 2H, *J* = 5.4 Hz, H2), 2.90 (s, 3H, N-CH₃), 2.59 (br s, 1H, OH), 1.44 (s, 9H, 3 x CH₃, *t*Bu); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm)**: 157.1 (CO), 79.7 (C_q, *t*-Bu), 61.1 (C1), 51.2 (C2), 35.3 (N-CH₃), 28.0 (3 x CH₃, *t*Bu).

Synthesis of 3-methyl-2-oxazolidinone (**66**)

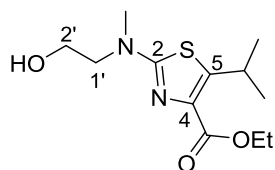


This compound is commercially available. A solution of compound **65** (500 mg, 2.85 mmol) in 4.2 mL of anh. THF was prepared in a 25 mL round-bottom flask under Ar, to which 600 μL (4.28 mmol) of Et₃N were added. The reaction mixture was cooled to -20°C and 265 μL (3.42 mmol) of mesyl chloride were added dropwise with the aid of a microsyringe. Once the addition was complete, the reaction mixture was cooled in an ice bath and then kept at rt. for 3 h. The resulting solid was filtered off and washed with 2 mL of THF. The combined filtrates were treated with 2.5 mL of saturated aqueous Na₂CO₃ soln. This mixture was then stirred for 12 h at rt, after which time H₂O was added. Finally, the reaction mixture was extracted with dichloromethane. The combined organic phases were washed first with 0.1 M HCl, then with brine, and finally dried over anh. Na₂SO₄. The mixture was filtered and the resulting solution was concentrated under

reduced pressure. The residue was purified by CC to yield 107 mg of compound **66** as a colourless oil in 37% yield. Rf= 0.2 (Hex: EtOAc (1:1)).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.24 (t, *J*= 7.8 Hz, 2H, CH₂), 3.50 (t, *J*= 8.1 Hz, 2H, CH₂), 2.81 (s, 3H, N-CH₃); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 158.8 (CO), 61.49 (CH₂), 46.74 (CH₂), 30.99 (N-CH₃).

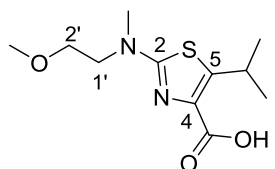
Synthesis of ethyl 2-[(2'-hydroxyethyl)methylamino]-5-isopropylthiazole-4-carboxylate (**68**)



General procedure A was used, but without adding Et₃N and with an excess of aminoalcohol. Thus, reaction of 50 mg (0.18 mmol) of compound **58** with 2-(methylamino)ethanol (127 μL, 1.58 mmol, 8.5 eq.) and 2 mL of anh. dioxane yielded 30 mg (60%) of compound **68** as a pale yellowish liquid. Rf=0.6 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.29 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H, CH₂, CO₂Et), 3.99 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.96 (s, 1H, OH), 3.84 (t, *J*= 4.5 Hz, 2H, CH₂, 2 x H1'), 3.61 (t, *J*= 4.5 Hz, 2H, CH₂, 2 x H2'), 3.06 (s, 3H, N-CH₃), 1.35 (t, *J*= 7.2 Hz, 3H, CH₃, CO₂Et), 1.25 (d, *J*= 6.9 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 167.3 (CO), 162.8 (C2), 147.8 (C4), 135.6 (C5), 62.7 (CH₂, C1'), 61.2 (CH₂, CO₂Et), 57.2 (CH₂, C2'), 41.5 (N-CH₃), 27.9 (CH_{iPr}), 25.2 (2 x CH_{3iPr}), 14.6 (CH₃, CO₂Et).

Synthesis of 5-isopropyl-2-[(2'-methoxyethyl)methylamino]thiazole-4-carboxylic acid (**69**)

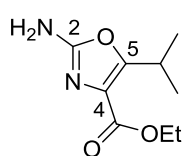


Under Ar atmosphere, 10 mg (0.42 mmol) of NaH were introduced into a 10 mL round-bottom flask equipped with a stirring bar. The NaH was washed three times with pentane to remove the mineral oil and then dried under an Ar stream, after which 0.5 mL of dry THF were added. 28.5mg of ethyl 2-[(2'-hydroxyethyl)methylamino]-5-isopropylthiazole-4-carboxylate dissolved in 0.5 mL of dry THF were added and the mixture was stirred for 30 min at 40°C. After subsequent cooling of the mixture to rt, a solution of 10 μL (0.159 mmol) of MeI in 0.1 ml of THF was added. The reaction mixture was kept at rt overnight. The volatiles were then

removed at reduced pressure and the mixture was purified by CC on silica gel to afford 25.5 mg of compound **69** as a colourless oil in 94% yield.

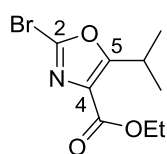
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.06 (sept, *J*=6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.57 (m, 4H, 2x CH₂, H1', H2'), 3.31 (s, 3H, OCH₃), 3.05 (s, 3H, NCH₃), 1.20 (d, sept, *J*= 6.9 Hz, 2 x CH₃, CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165 (CO₂H), 145.9 (C5), 70.5 (C2'), 59.1 (OCH₃), 52.6 (C1'), 39.5 (NCH₃), 27.4 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x CH_{3iPr}). The signals corresponding to C2 and C4 were not observed due to slow relaxation. **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₁H₁₈N₂O₃S [M+H]⁺: 259.1111; found: 259.1113.

Synthesis of ethyl 2-amino-5-isopropylloxazole-4-carboxylate (**70**)



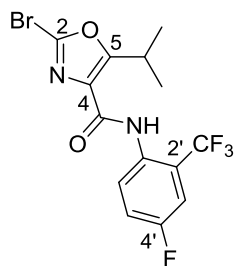
91.2 mg (1.5 mmol) of urea were introduced into a 25 mL two-neck, round-bottom flask fitted with a condenser. The system was purged with argon and 2 mL of EtOH were added. Then, a solution of compound **56** (300 mg, 1.26 mmol) in 2 mL of EtOH was added to the reaction mixture, which was kept under reflux overnight. Afterwards, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure. The resulting residue was dissolved in EtOAc and washed three times with water to eliminate excess urea. The organic phase was then dried over anh. Na₂SO₄, filtered, and dried in vacuum. The crude reaction product was purified by column chromatography on silica gel to afford 160 mg of compound **70** as a yellowish solid in 64% yield. R_f= 0.3 (EtOAc 100%)

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.72 (br s, 2H, NH₂), 4.34 (q, *J*= 7.2 Hz, 2H, CH₂, Et), 3.63 (sept, *J* = 7.2 Hz, 1H, CH_{iPr}), 1.36 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H, CH₃, Et), 1.21 (d, *J*= 6.9 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 164.5 (COO), 162.3 (C2), 147.2 (C4), 135.8 (C5), 60.3 (CH₂, Et), 29.7 (CH_{iPr}), 25.2 (2 x CH_{3iPr}), 14.1 (CH₃, Et). **HRMS (ESI):** Calcd. for C₉H₁₄N₂O₃ [M+H]⁺: 199.1077; found: 199.1075.; **Mp:** 98-100°C

Synthesis of ethyl 2-bromo-5-isopropylloxazole-4-carboxylate (71)

108 mg (0.55 mmol) of compound **70** were introduced into a two-neck, roundbottom flask equipped with a condenser and flushed with Ar. 2 mL of CH_3CN was added and the mixture was heated to 60°C . In parallel, 134.1 mg (0.60 mmol) of CuBr_2 and 122 μL (0.92 mmol) of $t\text{-BuONO}$ were dissolved in 2 mL of CH_3CN . The resulting solution was slowly added to the reaction mixture, which was then kept at 80°C for 15 min. Afterwards, the reaction mixture was concentrated under reduced pressure and the residue was dissolved in dichloromethane, washed twice with a 1 M HCl solution, and then washed again with 1M NH_4Cl . The organic phase was dried over anhydrous Na_2SO_4 , filtered, and then concentrated under reduced pressure to afford 142 mg of pure compound **71** as a brownish oil. Yield: 99%.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 4.29 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H, CH_2 , Et), 3.69 (sept, $J = 7.2$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H, CH_3 , Et), 1.21 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 167.8 (CO), 160.9 (C2), 131.6 (C5), 128.1 (C4), 61.2 (CH_2 , Et), 26.2 (CH_{iPr}), 20.4 (2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$), 14.2 (CH_3 , Et). HRMS (ESI): Calcd. for $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{BrNO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 262.0073; found: 262.0073.

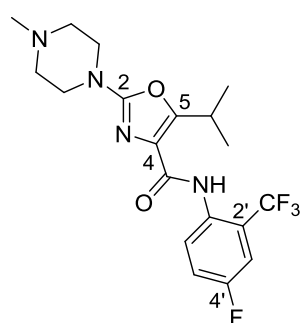
Synthesis of 2-bromo-N-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropylloxazole-4-carboxamide (72)

Following general procedure C2, reaction of 102.5 mg (0.44 mmol) of the hydrolysis product of compound **71** with SOCl_2 (2 mL), 4-fluoro-2-trifluoromethylaniline (60 μL , 0.58 mmol), and 2 mL of anhydrous dichloromethane in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 97.5 mg of compound **72** (56% yield) as a white solid after CC purification. $R_f = 0.9$ (Hex: EtOAc 9:1).

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.49 (br s, 1H, NH), 7.82 (dd, $J = 9$ Hz, 5.1 Hz, 1H, $\text{H}_{6'}$), 6.86 (dd, $J = 8.7, 3.0$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}$), 6.81-6.75 (m, 1H, $\text{H}_{3'}$), 3.4 (sept, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 0.83 (d, $J = 6.9$, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); $^{19}\text{F RMN}$ (282 MHz, CDCl_3) δ (ppm): -61.85 (s, 3F, CF_3), -

115.99 (ddd, $J = 8.4, 8.4, 5.1$ Hz, 1F, F4'); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 164.9 (CO), 158.9 (C2), 158.9 (d, $J = 246.9$ Hz, C4'), 148.0 (C5), 131.1 (C1'), 128.9 (C4), 126.2 (d, $J = 7.8$ Hz, C6'), 123.1 (q, $J = 273.6$ Hz, CF_3), 122.3 (qd, $J = 31.0, 7.4$ Hz, C2'), 119.7 (d, $J = 21.7$ Hz, C5'), 113.7 (dq, $J = 26.1, 5.4$ Hz, C3'), 26.3 (CH_{iPr}) 20.5 (2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$). HRMS (ESI): Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 415.1752; found: 415.1735. Mp: 85-86°C.

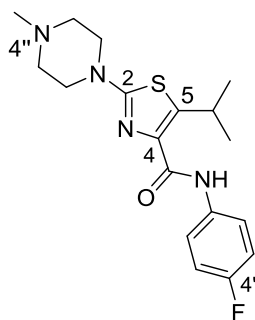
Synthesis of *N*-[4'-fluoro-2'-[trifluoromethyl]phenyl]-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)oxazole-4-carboxamide (73)



Following general procedure A, reaction of 81.3 mg (0.21 mmol) of compound **72** with *N*-methylpiperazine (233 μL , 2.1 mmol) (10 eq.) and Et_3N (54 μL , 0.42 mmol) (2 eq.) in 4 mL of anh. dioxane afforded 79 mg (92% yield) of compound **73** as a white solid after CC purification. Rf=0.1 (Hex:EtOAc (9:1)).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.29 (br s, 1H, NH), 8.46 (dd, $J = 9, 5.1$ Hz, 1H, H6'), 7.32 (dd, $J = 8.7, 3$ Hz, 1H, H3'), 7.29-7.22 (m, 1H, H5'), 3.8 (sept, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.53 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , H2'', H6''), 2.51 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , H3'', H5''), 2.35 (s, 3H, N- CH_3), 1.27 (d, $J = 6.9$, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); ^{19}F RMN (282MHz, CDCl_3) δ (ppm): -61.97 (s, 3F, CF_3), -117.53 (s, 1F, F4'); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 160.7 (CO), 158.3 (C2), 158.2 (d, $J = 245.5$ Hz, C4'), 156.2 (C5), 132.1 (C1'), 126.3 (C4), 125.1 (d, $J = 7.6$ Hz, C6'), 123.3 (q, $J = 272.5$ Hz, CF_3), 121.1 (qd, $J = 31.0, 7.6$ Hz, C2'), 119.6 (d, $J = 22.3$ Hz, C5'), 113.4 (dq, $J = 25.8, 5.5$ Hz, C3'), 56.4 (CH_2 , C1''), 50.9 (CH_2 , C2''), 38.7 (N- CH_3), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); HRMS (ESI): Calcd. for $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{BrF}_4\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 395.0013; found: 395.0015; Mp: 119-121°C.

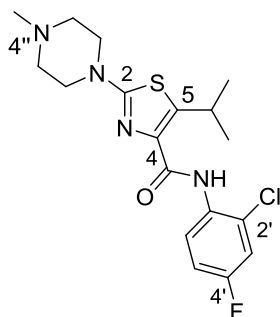
Synthesis of *N*-(4'-fluorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1''-yl)thiazole-4-carboxamide (**74a**)



Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 4-fluoroaniline (100 μL , 1.05 mmol), and 2 mL of anh. dichloromethane in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 226.1 mg of compound **74a** (79% yield) as a white solid after CC purification. R_f = 0.2 (Hex:EtOAc 1:1).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.19 (br s, 1H, NH), 7.63-7.56 (m, 2H, H_2' , H_6'), 7.05-6.97 (m, 2H, H_3' , H_5'), 4.34 (sept, J = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.49 (t, J = 4.8 Hz, 4H, 2 x CH_2 , H_2'' , H_6''), 2.53 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH_2 , H_3'' , H_5''), 2.36 (s, 3H, N- CH_3), 1.28 (d, J = 6.9 Hz, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **$^{19}\text{F NMR}$ (282MHz, CDCl_3) δ (ppm):** -117.99-(-118.09 (m, 1F, F_4''); **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 166.1 (CO), 160.8 (C2), 159.2 (d, J =241.3 Hz, C_4'), 145.2 (C4), 137.3 (C5), 134.3 (d, J = 3.0 Hz, C_1'), 121.5 (d, J = 7.9 Hz, C_2' , C_6'), 115.6 (d, J = 23.2 Hz, C_3' , C_5'), 54.3 (2 x CH_2 , C_3'' , C_5''), 48.2 (2 x CH_2 , C_2'' , C_6''), 46.2 (N- CH_3), 27.3 (CH_{iPr}), 25.1 (2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **HRMS(ESI):** Calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{FN}_4\text{OS}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 363.1649; found: 363.1662; **Mp:** 93-95°C.

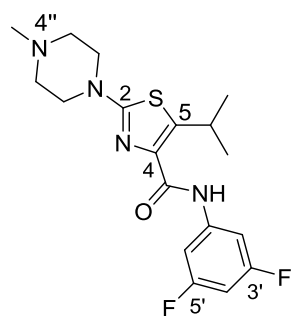
Synthesis of *N*-(2'-chloro-4'-fluorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1''-yl)thiazole-4-carboxamide (**74b**)



Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 2-chloro-4-fluoroaniline (125 μL , 1.05 mmol), and 2 mL of anh. dichloromethane in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 282.3 mg of compound **74b** (90% yield) as a white solid after CC purification. R_f = 0.3 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.87 (br s, 1H, NH), 8.52 (dd, *J* = 9.3 Hz, 5.7 Hz, 1H, H6'), 7.10 (dd, *J* = 8.1, 3.0 Hz, 1H, H3'), 6.96 (ddd, *J* = 8.1, 8.1, 3.0 Hz 1H, H5'), 4.31 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.47 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, H2'', H6''), 2.49 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, H3'', H5''), 1.26 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -117.94 (ddd, *J* = 8.1, 8.1, 5.6 Hz 1F, F4'); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 160.5 (CO), 160 (C2), 158. (d, *J* = 245.9 Hz, C4'), 145.4 (C5), 137.3 (C4), 131.8 (d, *J* = 3.1 Hz, C1'), 123.3 (d, *J* = 10.1 Hz, C2'), 121.7 (d, *J* = 10.1 Hz, C6'), 116.4 (d, *J* = 25.9 Hz, C3'), 114.5 (d, *J* = 21.5 Hz, C5'), 54.2 (C3'', C5''), 48.1 (C2'', C6''), 46.2 (N-CH₃), 27.2 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₂₂ClFN₄OS [M+H]⁺: 397.1260; found: 397.1257. **Mp:** 132-133°C.

Synthesis of N-(3',5'-difluorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1''-yl)thiazole-4-carboxamide (74c)

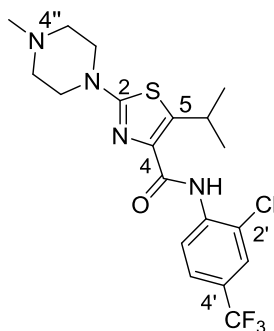


Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (4 mL), 3,5-difluoroaniline (113 μL, 1.05 mmol), and 2 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 297.5 mg of compound **74c** (99% yield) as a white solid after CC purification.

R_f = 0.2 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.32 (br s, 1H, NH), 7.32-7.30 (m, 2H, H2', H6'), 6.53 (tt, *J* = 9, 2.4 Hz, 1H, H4'), 4.33 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.50 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H2'', H6''), 2.55 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, H3'', H5''), 1.29 (d, *J* = 6.6 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** [(-108.62)-(-108.68)] (m, 2F, F3'', F5''); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.2 (CO), 163.4 (d, *J* = 244 Hz, C3', C5'), 160.8 (C2), 145.9 (C4), 140.5 (t, *J* = 13.4 Hz, C1'), 136.9 (C5), 102.6 (d, *J* = 28.9 Hz, C2', C6'), 99.1 (t, *J* = 25.7 Hz, C4'), 54.2 (2 x CH₂, C3'', C5''), 48.2 (2 x CH₂, C2'', C6''), 46.3 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₂₂F₂N₄OS [M+H]⁺: 380.1555; found: 381.1567. **Mp:** 111-113°C.

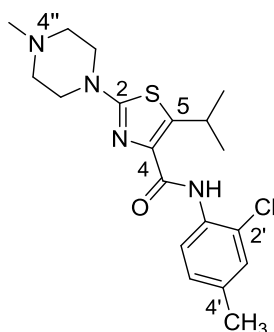
Synthesis of *N*-[2'-chloro-4'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74d**)



Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 2-chloro-4-trifluoromethylaniline (150 μL , 1.05 mmol), and 3 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent yielded 311 mg of compound **74d** (89% yield) as a yellowish solid after CC purification. $R_f=0.1$ (EtOAc 100%).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.19 (br s, 1H, NH), 8.76 (d, $J= 8.7$ Hz, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7.66 (d, $J= 1.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{3'}$), 7.52 (dd, $J= 8.7, 2.1$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}$), 4.32 (sept, $J= 6.9$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.51 (t, $J= 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x $\text{H}_{2''}$, 2 x $\text{H}_{6''}$), 2.54 (t, $J= 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x $\text{H}_{3''}$, 2 x $\text{H}_{5''}$), 2.36 (s, 3H, NCH_3), 1.30 (d, $J= 6.9$, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **$^{19}\text{F NMR}$ (282MHz, CDCl_3) δ (ppm):** -62.66 (s, 3F, CF_3); **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 166.0 (C=O), 160.9 (C2), 146.4 (C5), 138.5 (C4), 137.1 (C1'), 126.3 (q, $J= 3.8$ Hz, C3'), 125.8 (q, $J=33.7$ Hz, C4'), 125.3 (q, $J=270.2$ Hz, CF_3) 125.0 (q, $J= 3.6$ Hz, C5'), 122.6 (C2'), 120.2 (C6'), 54.3 (C3'', C5''), 48.2 (C2'', C6''), 46.3 (N- CH_3), 27.4 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **HRMS (ESI):** Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 447.12; found: 447.1234. **Mp:** 114-115°C.

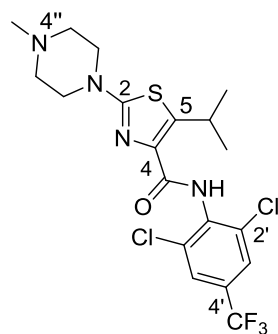
Synthesis of *N*-(2'-chloro-4'-methylphenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74e**)



Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 2-chloro-4-methylaniline (135 μL , 1.05 mmol), and 3 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent yielded 226.5 mg of compound **74e** (73% yield) as a white solid after CC purification. $R_f= 0.15$ (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.88 (br s, 1H, NH), 8.42 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H, H_{6'}), 7.20 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H, H_{3'}), 7.07 (dd, *J* = 8.7, 2.1 Hz, 1H, H_{5'}), 4.36 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.64 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{2''}, 2 x H_{6''}), 2.73 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{3''}, 2 x H_{5''}), 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.30 (s, 3H, N-CH₃), 1.29 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.5 (CO), 160.5 (C₂), 145.9 (C₅), 137.7 (C₄), 134.2 (C_{4'}), 132.7 (C_{1'}), 129.5 (C_{3'}), 128.4 (C_{5'}), 122.7 (C_{2'}), 120.7 (C_{6'}), 53.8 (C_{3''}, C_{5''}), 47.4 (C_{2''}, C_{6''}), 45.7 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.1 (2 x CH_{3iPr}), 20.8 (CH₃); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₅ClN₄OS [M+H]⁺: 393.1510; found: 393.1519. **Mp:** 132-134°C.

Synthesis of *N*-[2',6'-dichloro-4'-(trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74f)

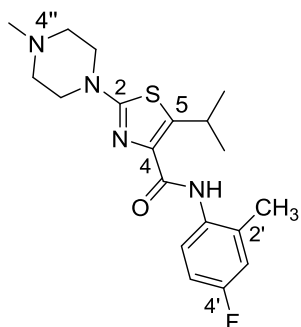


Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (4 mL), 2,6-dichloro-4-trifluoromethylaniline (242 mg, 1.05 mmol), and 3 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 292 mg of compound **74f** (77% yield) as a white solid after CC purification.

R_f = 0.05 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.10 (br s, 1H, NH), 7.64 (s, 2H, H_{3'}, H_{5'}), 4.27 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.50 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{2''}, 2 x H_{6''}), 2.53 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{3''}, 2 x H_{5''}), 2.35 (s, 3H, N-CH₃), 1.27 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -63.31 (s, 3F, CF₃); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.3 (CO), 159.9 (C₂), 146.4 (C₅), 136.5 (C₄), 136.2 (C_{1'}), 133.8 (C_{2'}, C_{6'}), 130.1 (q, *J* = 34.1 Hz, C_{4'}), 125.5 (q, *J* = 3.7 Hz, C_{3'}, C_{5'}), 122.7 (q, *J* = 272.9 Hz, CF₃), 54.3 (C_{3''}, C_{5''}), 48.2 (C_{2''}, C_{6''}), 46.3 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₁Cl₂F₃N₄OS [M+H]⁺: 481.0838; found: 481.0845. **Mp:** 65-66°C.

Synthesis of *N*-(4'-fluoro-2'-methylphenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74g**)

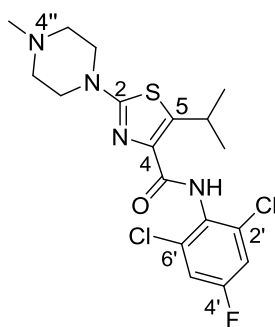


Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 4-fluoro-2-methylaniline (122 μL , 1.05 mmol), and 3 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 238 mg of compound **74g** (80% yield) as a white solid after CC purification.

R_f=0.1 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.20 (br s, 1H, NH), 8.06 (dd, J = 8.9, 5.7 Hz, 1H, H_{6'}), 6.96-6.86 (m, 2H, H_{3'}, H_{5'}), 4.37 (sept, J = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.49 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{2''}, 2 x H_{6''}), 2.53 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{3''}, 2 x H_{5''}), 2.36 (s, 3H, N-CH₃), 2.31 (s, 3H, CH₃), 1.29 (d, J = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -119.37-(-119.45) (m, F); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.1 (CO), 160.7 (C₂), 159.4 (d, J = 242.8 Hz, C_{4'}), 145.0 (C₅), 137.6 (C₄), 132.4 (d, J = 2.7 Hz, C_{1'}), 130.5 (d, J = 7.6 Hz, C_{2'}), 123.3 (d, J = 8.3 Hz, C_{6'}), 116.9 (d, J = 22.4 Hz, C_{3'}), 113.2 (d, J = 21.8 Hz, C_{5'}), 54.3 (C_{3''}, C_{5''}), 48.2 (C_{2''}, C_{6''}), 46.3 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}), 18.0 (CH₃); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₅FN₄OS [M+H]⁺: 377.1806 ; found: 377.1805. **Mp:** 117-118°C.

Synthesis of *N*-(2',6'-dichloro-4'-fluorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74h**)

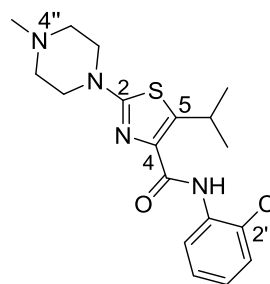


Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 2,6-dichloro-4-fluoroaniline (190 mg, 1.05 mmol), and 3 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 231.5 mg of compound **74h** (68% yield) as a white solid after CC purification.

R_f= 0.1 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.85 (br s, 1H, NH), 7.16 (d, *J* = 7.8 Hz, 2H, H_{3'}, H_{5'}), 4.28 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.50 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{2''}, 2 x H_{6''}), 2.53 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{3''}, 2 x H_{5''}), 2.35 (s, 3H, N-CH₃), 1.27 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -112.34-(-112.40) (m, F); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.3 (CO), 160.6 (C2), 160.3 (d, *J* = 251.9 Hz, C4'), 146.0 (C5), 136.7 (C4), 134.6 (d, *J* = 11.9 Hz, C2', C6'), 129.3 (d, *J* = 4.1 Hz, C1'), 116.0 (d, *J* = 25.3 Hz, C3', C5'), 54.3 (C3'', C5''), 48.2 (C2'', C6''), 46.3 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₂₁Cl₂FN₄OS [M+H]⁺: 431.0870; found: 431.0861. **Mp:** 67-69°C.

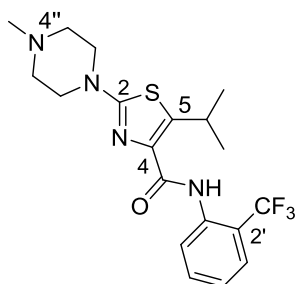
Synthesis of *N*-(2'-chlorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74i)



Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (4 mL), 2-chloroaniline (142 μL, 1.35 mmol), and 3 mL of anh.dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 287 mg of compound **74i** (75% yield) as a white solid after CC purification. R_f=0.1 (EtOAc 100%).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.01 (br s, 1H, NH), 8.56 (dd, *J* = 8.4, 1.8 Hz, 1H, H_{6'}), 7.37 (dd, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H, H_{3'}), 7.26 (td, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H, H_{5'}), 7.00 (td, *J* = 8.1, 1.6 Hz, 1H, H_{4'}), 4.35 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.50 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{2''}, 2 x H_{6''}), 2.52 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{3''}, 2 x H_{5''}), 2.34 (s, 3H, NCH₃), 1.28 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.2 (CO), 160.8 (C2), 145.5 (C5), 137.5 (C4), 135.4 (C1') 129.1 (C4'), 127.7 (C3'), 124.1 (C6'), 122.9 (C2'), 120.8 (C5'), 54.3 (C3'', C5''), 48.2 (C2'', C6''), 46.3 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.1 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₂₃ClN₄OS [M+H]⁺: 379.1354; found: 379.1352. **Mp:** 136-137°C.

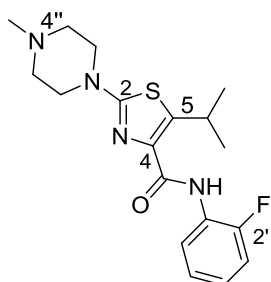
Synthesis of *N*-[2'-trifluoromethyl)phenyl]-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74j**)



Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 2-trifluoromethylaniline (170 μL , 1.35 mmol), and 3 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 345.5 mg of compound **74j** (83% yield) as a white solid after CC purification. R_f = 0.05 (EtOAc 100%).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.05 (br s, 1H, NH), 8.57 (d, J = 8.1 Hz, 1H, H3'), 7.56 (d, J = 8.1 Hz, H6'), 7.50 (t, J = 8.4 Hz, 1H, H4'), 7.11 (t, J = 7.8 Hz, 1H, H5'), 4.32 (sept, J = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.46 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x H2'', 2 x H6''), 2.48 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x H3'', 2 x H5''), 2.30 (s, 3H, NCH_3), 1.27 (d, J = 6.9, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **$^{19}\text{F NMR}$ (282 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** -61.48 (s, 3F, CF_3); **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 165.8 (CO), 160.7 (C2), 145.5 (C5), 137.1 (C4), 136.3 (q, J = 1.5 Hz, C1'), 132.9 (C5'), 126.0 (q, J = 5.4 Hz, C3'), 124.3 (q, J = 273.0 Hz, CF_3), 123.2 (C4'), 122.0 (C6'), 118.7 (q, J = 29.8 Hz, C2'), 54.1 (C3'', C5''), 48.0 (C2'', C6''), 46.2 (N- CH_3), 27.2 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **HRMS (ESI):** Calcd. for $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{N}_4\text{OS}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 413.1617; found: 413.1614. **Mp:** 62-63°C.

Synthesis of *N*-(2'-fluorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74k**)

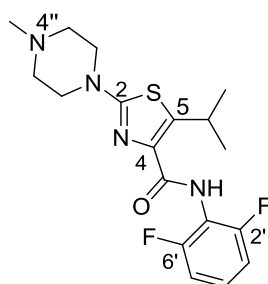


Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4 mL), 2-fluoroaniline (130 μL , 1.35 mmol), and 3 mL of anh. dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 154 mg of compound **74k** (42% yield) as a yellowish solid after CC purification. R_f = 0.15 (EtOAc 100%).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 9.51 (br s, 1H, NH), 8.42-8.36 (m, 1H, H6'), 7.08-6.90 (m, 3H, H3', H4', H5), 4.28 (sept, J = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.43 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x H2'', 2 x H6''), 2.48 (t, J = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x H3'', 2 x H5''), 2.28 (s, 3H, N-CH_3), 1.23

(d, $J = 6.9$, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **19F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -131.60-(-131.82) (m, F); **13C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.8 (CO), 160.6 (C2), 152.5 (d, $J = 243.4$ Hz, C2'), 145.4 (C5), 137.2 (C4), 126.7 (d, $J = 15.9$ Hz, C1'), 124.4 (d, $J = 3.7$ Hz, C5'), 123.7 (d, $J = 7.6$ Hz, C4'), 121.0 (d, $J = 7.5$ Hz, C6'), 114.7 (d, $J = 19.1$ Hz, C3'), 53.9 (C3'', C5''), 47.7 (C2'', C6''), 45.9 (N-CH₃), 27.0 (CH_{iPr}), 24.8 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₂₃FN₄OS [M+H]⁺: 363.1649; found: 363.1638. **Mp:** 133-135°C.

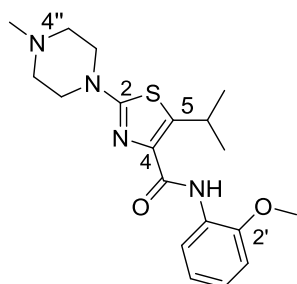
Synthesis of *N*-(2',6'-difluorophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74l**)



Following general procedure C2, reaction of 213 mg (0.79 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (4 mL), 2,6-difluoroaniline (145 μ L, 1.35 mmol), and 3 mL of anh.dichloromethane in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 177 mg (46% yield) of compound **74l** as a colourless oil after CC purification. Rf= 0.1 (EtOAc 100%).

1H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.70 (br s, 1H, NH), 7.19-7.08 (m, 1H, H4'), 6.97-6.86 (m, 2H, H3', H5'), 4.29 (sept, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.44 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.46 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.29 (s, 3H, N-CH₃), 1.23 (d, $J = 6.9$, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **19F NMR (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -117.73-(-117.81) (m, F); **13C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.8 (CO), 160.6 (C2), 157.9 (d, $J = 250.8$ Hz, C2', C6'), 145.7 (C5), 136.6 (C4), 127.0 (t, $J = 9.7$ Hz, C4'), 114.1 (t, $J = 16.4$ Hz, C1'), 111.6 (d, $J = 23.9$ Hz, C3', C5'), 54.1 (C3'', C5''), 48.1 (C2'', C6''), 46.1 (N-CH₃), 27.1 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₂₂F₂N₄OS [M+H]⁺: 381.1555; found: 381.1549.

Synthesis of 5-isopropyl-*N*-(2'-methoxyphenyl)-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74m**)

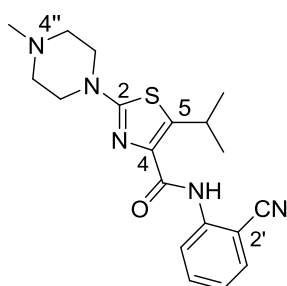


Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2 mL), 2-methoxyaniline (92 μ L, 0.82 mmol), and 2 mL of anh. dichloromethane in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 192 mg (84%

yield) of compound **74m** as a brownish solid after CC purification. Rf=0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CH₃OD) δ (ppm): 8.29 (dd, *J*= 8.1, 1.5 Hz, 1H, H6'), 7.11-6.90 (m, 3H, H3', H4', H5'), 4.29 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.92 (s, 3H, OCH₃), 3.71 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 3.14 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.74 (s, 3H, N-CH₃), 1.29 (d, *J*= 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CH₃OD) δ (ppm):** 166.7 (CO), 161.9 (C2), 150.1 (C2'), 146.9 (C4), 139.0 (C5), 128.6 (C1'), 125.3 (C4'), 121.8 (C5'), 120.4 (C6'), 111.6 (C3'), 56.6 (OCH₃), 54.0 (C3'', C5''), 47.3 (C2'', C6''), 44.6 (N-CH₃), 28.4 (CH_{iPr}), 25.3 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₆N₄O₂S [M+H]⁺: 375.1849; found: 375.1854. **Mp:** 99-101°C.

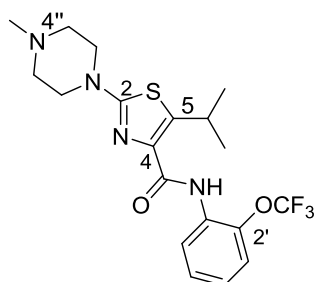
Synthesis of *N*-(2'-cyanophenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74n**)



Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2 mL), 2-aminobenzonitrile (98.4 mg, 0.82 mmol), and 2 mL of anh. dichloromethane in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 171.5 mg (76% yield) of compound **74n** as a white solid after CC purification. Rf=0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.22 (br s, NH), 8.63 (dd, *J*= 8.7, 1.0 Hz, 1H, H6'), 7.60-7.54 (m, 2H, H3', H5'), 7.12 (td, *J*= 7.5, 1.2 Hz, 1H, H4'), 4.30 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.58 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.59 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.39 (s, 3H, N-CH₃), 1.30 (d, *J*= 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.7 (CO), 160.7 (C2), 146.3 (C4), 141.5 (C1'), 136.9 (C5), 134.2 (C5'), 132.3 (C3'), 123.4 (C4'), 119.8 (C6'), 116.1 (CN), 101.5 (C2'), 54.1 (C3'', C5''), 47.9 (C2'', C6''), 46.1 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 25.0 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₃N₅OS [M+H]⁺: 370.1696; found: 370.1697. **Mp:** 126-128°C.

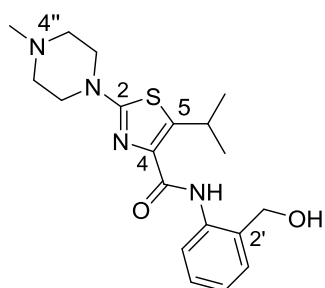
Synthesis of 5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)-N-[2'-(trifluoromethoxy)phenyl]thiazole-4-carboxamide (74o)



Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2 mL), 2-(trifluoromethoxy)aniline (110 μL, 0.82 mmol), and 2 mL of anh. dichloromethane in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 149 mg (57%) of compound **74o** as a white solid after CC purification. R_f = 0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CH₃OD) δ (ppm): 8.46 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H6'), 7.35-7.24 (m, 2H, H3', H5'), 7.16-7.07 (m, 1H, H4'), 4.26 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.64 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.96 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.62 (s, 3H, N-CH₃), 1.27 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F NMR (282 MHz, CH₃OD) δ (ppm):** -59.31 (s, CF₃). **¹³C NMR (75 MHz, CH₃OD) δ (ppm):** 166.4 (CO), 161.3 (C2), 147.3 (C2'), 139.1 (C4), 138.1 (C5), 132.1 (C1'), 128.7 (C4'), 124.9 (C6'), 121.7 (C3', C5'), 121.8 (q, *J* = 258 Hz, CF₃), 53.9 (C3'', C5''), 47.3 (C2'', C6''), 44.9 (N-CH₃), 28.1 (CH_{iPr}), 25.2 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₃F₃N₄O₂S [M+H]⁺: 429.1567; found: 429.1575. **Mp:** 178-179°C.

Synthesis of N-[2'-(hydroxymethyl)phenyl]5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74p)

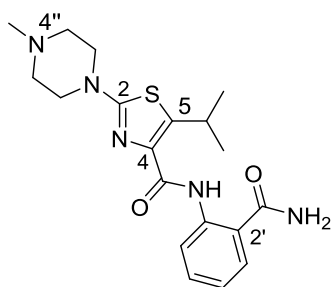


Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2 mL), 2-(aminophenyl)methanol (102.5 mg, 0.82 mmol), and 2 mL of anh. dichloromethane in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 199 mg (87% yield) of compound **74p** as a white solid after CC purification. R_f = 0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CH₃OD) δ (ppm): 8.13 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H, H6'), 7.3-7.26 (m, 2H, H3', H5'), 7.10 (td, *J* = 7.5, 1.2 Hz, 1H, H4'), 4.68 (s, 2H, CH₂), 4.32 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.60 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.79 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.51 (s, 3H, N-CH₃), 1.30 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CH₃OD) δ**

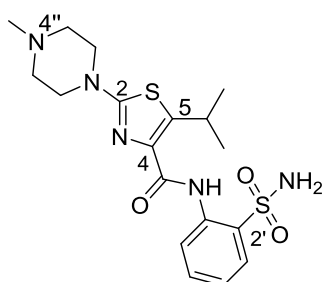
(ppm): 167.0 (CO), 162.7 (C2), 146.5 (C2'), 139.0 (C4), 138.5 (C5), 132.1 (C1'), 129.9 (C4'), 129.4 (C5'), 125.2 (C3'), 122.8 (C6'), 64.2 (CH₂OH), 54.6 (C3'', C5''), 48.2 (C2'', C6''), 45.5 (N-CH₃), 28.3 (CH_{iPr}), 25.3 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₆N₄O₂S [M+H]⁺: 375.1849; found: 375.1847. **Mp:** 148° C(dec).

Synthesis of *N*-(2'-carbamoylphenyl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74q)



Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anh. dichloromethane. Reaction of this solution with 2-aminobenzamide (111 mg, 0.82 mmol) in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 194 mg (82% yield) of **74q** as a white solid after CC purification. R_f=0.1 (9:1 EtOAc:MeOH). **1H NMR (300 MHz, CH₃OD) δ (ppm):** 8.61 (dd, *J* = 8.4, 1.2 Hz, 1H, H6'), 7.71 (dd, *J* = 7.8, 1.5 Hz, 1H, H3') 7.47 (ddd, *J* = 8.4, 8.4, 1.5 Hz, 1H, H5'), 7.12 (ddd, *J* = 7.8, 7.8, 1.2 Hz, 1H, H4'), 4.30 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.60 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.66 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.41 (s, 3H, N-CH₃), 1.29 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **13C NMR (75 MHz, CH₃OD) δ (ppm):** 173.3 (NH₂CO), 166.7 (CO), 162.8 (C2), 146.5 (C4), 139.0 (C4), 139.9 (C5), 139.0 (C1'), 133.0 (C5'), 129.3 (C3'), 123.8 (C4'), 122.5 (C2'), 121.5 (C6'), 54.8 (C3'', C5''), 48.5 (C2'', C6''), 46.0 (N-CH₃), 28.1 (CH_{iPr}), 25.3 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₉H₂₅N₅O₂S [M+H]⁺: 388.1802; found: 388.1802. **Mp:** 232-234°C.

Synthesis of 5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)-*N*-(2'-sulfamoylphenyl)thiazole-4-carboxamide (74r)

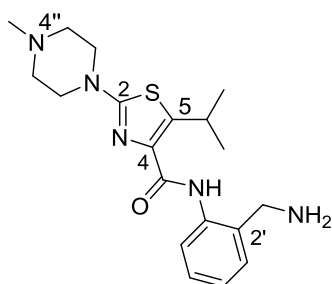


Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anh. dichloromethane. Reaction of this solution with 2-aminobenzenesulfonamide (143 mg, 0.82

mmol) in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 168 mg (82%) of compound **74r** as a white solid after CC purification. Rf=0.3 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CH₃OD) δ (ppm): 8.55 (d, *J*= 8.4 Hz, 1H, H6'), 7.95 (d, *J*= 8.0 Hz, 1H, H3'), 7.58 (t, *J*= 7.6 Hz, 1H, H5'), 7.23 (t, *J*= 7.6 Hz, 1H, H4'), 4.30 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.57 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.58 (t, *J*=5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.36 (s, 3H, N-CH₃), 1.30 (d, *J*= 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (100 MHz, DMSO) δ (ppm):** 165.2 (CO), 160.3 (C2), 144.61 (C4), 137.12 (C5), 135.5 (C3'), 132.8 (C2'), 131.1 (C1'), 127.9 (C5'), 123.2 (C4'), 121.0 (C6'), 54.6 (C3'', C5''), 47.7 (C2'', C6''), 45.7 (N-CH₃), 26.5 (CH_{iPr}), 24.7 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₈H₂₅N₅O₃S₂ [M+H]⁺: 424.1472; found: 324.1469. **Mp:** 117-119°C.

Synthesis of *N*-[2'-(aminomethyl)phenyl]-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74s)

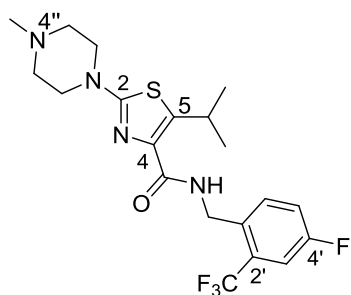


50 mg (0.1 mmol) of compound **76** were introduced into a 10 mL round-bottom flask. The system was purged with argon and 1 mL of anh. dichloromethane was added. Next, 105 μl (1.37 mmol) of TFA was added dropwise to the reaction mixture, which was stirred at rt for an hour. Afterwards, 1M solution of NaOH was added until basic pH and the mixture was extracted with dichloromethane. The organic phase was then dried over anh. Na₂SO₄, filtered, and dried in vacuum. Finally, 34.7 mg of compound **74s** were obtained as colourless oil in 93% yield. Rf= 0.05 (EtOAc 100%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 11.08 (br s, 1H, NH), 7.26 (dd, *J*= 8.1, 1.2 Hz, 1H, H6'), 7.28 (ddd, *J*= 8.1, 8.1, 1.8 Hz, 1H, H5'), 7.15 (dd, *J*= 8.1 Hz, 1H, H4'), 7.01 (ddd, *J*= 8.1, 8.1, 1.2 Hz, 1H, H3'), 4.41 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.49 (s, 2H, CH₂), 3.49 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.50 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.33 (s, 3H, N-CH₃), 1.56 (br s, 2H, NH₂), 1.28 (d, *J*= 6.9 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.9 (CO), 161.3 (C2), 144.9 (C4), 138.2 (C5), 138.1 (C2'), 130.8 (C1'), 128.9 (C5'), 128.1 (C3'), 123.6 (C4'), 122.1 (C6'), 54.3 (C3'', C5''), 48.1 (C2'', C6''), 46.3 (CH₂), 45.3 (N-

CH₃), 27.2 (CH_{iPr}), 25.1 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₁₉H₂₇N₅O₅ [M+H]⁺: 374.2029; found: 374.2014.

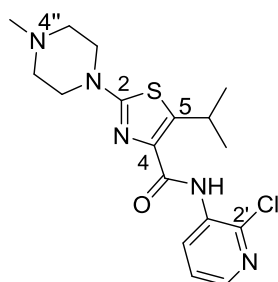
Synthesis of N-[4'-fluoro-2'-(trifluoromethyl)benzyl]-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74t)



Following general procedure C2, reaction of 164.3 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (4 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anhydrous dichloromethane. Reaction of this solution with 4-fluoro-(2-trifluoromethyl)benzylamine (157.2 mg, 0.82 mmol) in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 173.5 mg of compound **74t** as a yellowish solid after CC purification (64% yield). R_f = 0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.70 (t, *J* = 6.6 Hz, 1H, NH), 7.55 (dd, *J* = 8.7, 5.4 Hz, 1H, H6'), 7.28 (dd, *J* = 9.0, 2.7 Hz, 1H, H3'), 7.13 (ddd, *J* = 8.1, 8.1, 2.7 Hz, 1H, H5'), 4.63 (d, *J* = 6.6 Hz, 2H, CH₂), 4.28 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.37 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2''), 2.43 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3''), 2.27 (s, 3H, N-CH₃), 1.19 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹⁹F RMN (282 MHz, CDCl₃) δ (ppm)**: -60.65 (s, 3F, CF₃), -113.97 (ddd, *J* = 9.0, 9.0, 5.4 Hz, F); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm)**: 166.3 (CO), 162.9 (C2), 151.7 (d, *J* = 247.9 Hz, C4'), 144.6 (C4), 137.1 (C5), 133.4 (C1'), 132.7 (d, *J* = 8.0 Hz, C6'), 129.8 (C2'), 123.8 (qd, *J* = 272.8, 2.6 Hz, CF₃), 119.2 (d, *J* = 20.6 Hz, C5'), 113.7 (dq, *J* = 25.1, 6.0 Hz, C3'), 54.3 (C3'', C5''), 48.1 (C2'', C6''), 46.3 (N-CH₃), 38.9 (CH₂), 27.1 (CH_{iPr}), 25.2 (2 x CH_{3iPr}). **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₂₀H₂₄N₄O₄S [M+H]⁺: 445.1680; found: 445.1682; **Mp**: 113-115 °C.

Synthesis of N-(2'-chloropyridin-3-yl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74u)

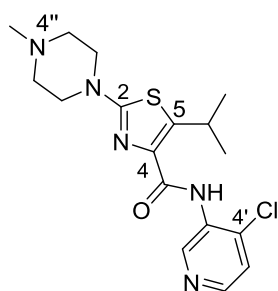


Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anhydrous dichloromethane. Reaction of this solution with 3-amino-2-chloropyridine (107.6 mg, 0.82 mmol) in

4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 169 mg of compound **74u** as a yellowish solid after CC purification (76% yield). Rf=0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.97 (br s, 1H, NH), 8.86 (dd, *J*= 8.1, 1.8 Hz, 1H, H6'), 8.05-8.03 (m, H4'), 7.22 (dd, *J*= 8.1, 4.5 Hz, H5'), 4.26 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.50 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2''), 2.55 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3''), 2.35 (s, 3H, N-CH₃), 1.26 (d, *J*= 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 165.9 (CO), 161.1 (C2), 146.2 (C3'), 143.1 (C6'), 140.0 (C5), 136.9 (C4), 132.6 (C2'), 127.9 (C4'), 123.3 (C5'), 54.1 (C3'', C5''), 47.9 (C2'', C6''), 46.1 (N-CH₃), 27.2 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₇H₂₂ClN₅OS [M+H]⁺: 380.1306; found: 380.1311. **Mp:** 134-136° C.

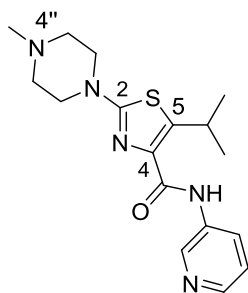
Synthesis of *N*-(4'-chloropyridin-3-yl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (**74v**)



Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (2mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anh. dichloromethane. Reaction of this solution with 3-amino-4-chloropyridine (107.6 mg, 0.82 mmol) in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 190 mg of compound **74v** as a yellowish solid after CC purification (82% yield). Rf= 0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.89 (br s, 1H, NH), 9.76 (s, 1H, H2'), 8.25 (d, *J*= 4.8 Hz, H6'), 7.34 (d, *J*= 5.1 Hz, H5'), 4.33 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.51 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2''), 2.55 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3''), 2.36 (s, 3H, N-CH₃), 1.30 (d, *J*= 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 167.2 (CO), 161.6 (C2), 147.4 (C4, C3'), 145.5 (C6'), 142.8 (C2'), 137.8 (C5), 134.2 (C4'), 125.8 (C5'), 54.8 (C3'', C5''), 48.6 (C2'', C6''), 45.9 (N-CH₃), 28.4 (CH_{iPr}), 25.2 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₇H₂₂ClN₅OS [M+H]⁺: 380.1306; found: 380.1312. **Mp:** 110-112°C.

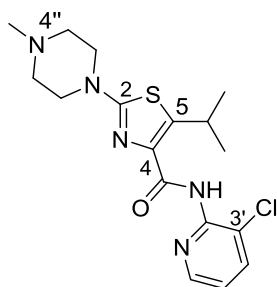
Synthesis of 5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)-N-(pyridin-3-yl)thiazole-4-carboxamide (74w)



Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg, (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (2mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anh. dichloromethane. Reaction of this solution with 3-aminopyridine (76.7 mg, 0.82 mmol) in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 190 mg of compound **74w** as a yellowish solid after CC purification (63% yield). $R_f = 0.1$ (9:1 EtOAc:MeOH).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CH_3OD) δ (ppm): 8.89 (br s, 1H, $\text{H}_{2'}$), 8.27-8.21 (m, 2H, $\text{H}_{4'}$, $\text{H}_{6'}$), 7.40 (dd, $J = 8.1, 4.8$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}$), 4.26 (sept, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.57 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x $\text{H}_{2''}$, 2 x $\text{H}_{6''}$), 2.64 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x $\text{H}_{3''}$, 2 x $\text{H}_{5''}$), 2.40 (s, 3H, N- CH_3), 1.28 (d, $J = 6.9$, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CH_3OD) δ (ppm):** 167.4 (CO), 162.9 (C2), 146.8 (C4), 145.1 (C4'), 142.4 (C6'), 138.4 (C5), 137.1 (C3'), 129.3 (C2'), 125.2 (C5'), 54.9 (C3'', C5''), 48.6 (C2'', C6''), 46.0 (N- CH_3), 28.4 (CH_{iPr}), 25.3 (2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **HRMS (ESI):** Calcd. for $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{OS}$ [$\text{M}+\text{H}$] $^+$: 346.1696; found: 346.169. **Mp:** 106-108°C.

Synthesis of N-(3'-chloropyridin-2-yl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74x)

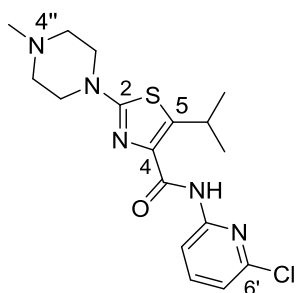


Following general procedure C2, reaction of 374.5 mg (1.39 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl_2 (4mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 4 mL of anh. dichloromethane. Reaction of this solution with 2-amino-3-chloropyridine (244 mg, 1.84 mmol) in 6 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 396 mg of compound **74x** as a brownish oil after CC purification (75% yield). $R_f = 0.1$ (9:1 EtOAc:MeOH).

$^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.14 (br s, 1H, NH), 8.35 (dd, $J = 4.5, 1.5$ Hz, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7.64-7.61 (m, 1H, $\text{H}_{4'}$), 6.95-6.91 (m, 1H, $\text{H}_{5'}$), 4.32 (sept, $J = 6.9$ Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.43 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x $\text{H}_{2''}$, 2 x $\text{H}_{6''}$), 2.46 (t, $J = 5.1$ Hz, 4H, 2 x CH_2 , 2 x $\text{H}_{3''}$, 2 x $\text{H}_{5''}$), 2.43 (s, 3H, N- CH_3), 1.22 (d, $J = 6.9$, 6H, 2 x $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **$^{13}\text{C NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 165.8

(CO), 159.3 (C2), 148.2 (C1'), 146.8 (C6'), 146.3 (C4), 137.4 (C4'), 137.2 (C5), 120.3 (C2'), 119.4 (C5'), 54.0 (C3'', C5''), 47.9 (C2'', C6''), 46.1 (N-CH₃), 27.1 (CH_{iPr}), 24.8 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₁₇H₂₂ClN₅OS [M+H]⁺: 380.1306; found: 380.1313.

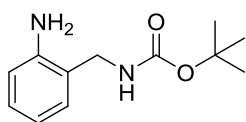
Synthesis of N-(6'-chloropyridin-2-yl)-5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamide (74y)



Following general procedure C2, reaction of 164.5 mg (0.61 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (4 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anhydrous dichloromethane. Reaction of this solution with 2-amino-6-chloropyridine (108 mg, 1.84 mmol) in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 190 mg of compound **74y** as a yellowish solid after column purification (82% yield). R_f = 0.1 (9:1 EtOAc:MeOH).

¹H NMR (300 MHz, CH₃OD) δ (ppm): 9.73 (br s, 1H, NH), 8.27 (dd, *J* = 8.1, 1.0 Hz, 1H, H3'), 7.62 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H, H4'), 7.01 (dd, *J* = 7.8, 1.0 Hz, 1H, H5'), 4.28 (sept, *J* = 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.49 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H2'', 2 x H6''), 2.50 (t, *J* = 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H3'', 2 x H5''), 2.33 (s, 3H, N-CH₃), 1.27 (d, *J* = 6.9, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C NMR (75 MHz, CH₃OD) δ (ppm)**: 165.9 (CO), 161.0 (C1'), 151.7 (C2), 149.0 (C6'), 146.4 (C4), 140.7 (C4'), 136.8 (C5), 119.3 (C5'), 111.9 (C3'), 54.2 (C3'', C5''), 48.2 (C2'', C6''), 46.3 (N-CH₃), 27.3 (CH_{iPr}), 24.9 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI)**: Calcd. for C₁₇H₂₂ClN₅OS [M+H]⁺: 380.1306; found: 380.1303. **Mp**: 137-139°C.

Synthesis of tert-butyl (2-aminobenzyl)carbamate (75)

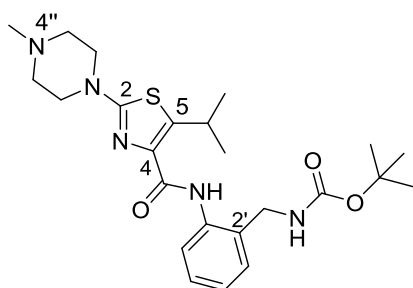


306 mg (2.46 mmol) of 2-(aminomethyl)aniline were introduced into a 50 mL round-bottom flask. The system was purged with argon and 3 mL of anhydrous THF were added. Next, 215 μL (1.23 mmol) of DIPEA were added to the reaction mixture. After five minutes stirring, a solution of Boc anhydride (268 mg, 1.23 mmol) in 3 mL of anhydrous THF was added dropwise to the reaction mixture, which was stirred at room temperature overnight. Afterwards, the reaction mixture was concentrated under

reduced pressure. The resulting residue was purified by column chromatography on silica gel to afford 270 mg of compound **75** as a white solid in 99% yield. Rf= 0.5 (Hex:EtOAc).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.10 (ddd, *J*= 7.5, 1.5 Hz, 1H, H₅), 7.02 (dd, *J*= 7.5, 1.5 Hz, 1H, H₃), 6.71-6.64 (m, 2H, H₄, H₆), 4.99 (br s, NH), 4.22 (d, *J*= 6.0 Hz, 2H, CH₂), 1.47 (s, 9H, 3 x CH₃, tBu); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 156.5 (CO), 145.4 (C₁), 130.2 (C₅), 129.0 (C₃), 122.6 (C₂), 117.8 (C₄), 115.7 (C₆), 79.6 (C_q, tBu), 42.0 (CH₂), (3 x CH₃, tBu); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₁₂H₁₈N₂O₂ [M+H]⁺: 223.1441; found: 223.1435. **Mp:** 92-94°C.

Synthesis of tert-butyl [2'-(5-isopropyl-2-(4''-methylpiperazin-1-yl)thiazole-4-carboxamido)benzyl]carbamate (**76**)



Following general procedure C2, reaction of 247 mg (0.92 mmol) of the hydrolysis product of compound **59** with SOCl₂ (4 mL) afforded the corresponding acyl chloride, which was then dissolved in 2 mL of anhydrous dichloromethane. Reaction of this solution with compound **75** (270 mg, 1.22 mmol) in 4 mL of a 1:1 mixture of dichloromethane:pyridine as solvent afforded 405 mg of compound **76** as a yellowish solid after CC purification (93% yield). Rf= 0.1 (EtOAc 100%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.65 (br s, 1H, NHCO), 7.88 (dd, *J*= 8.1 Hz, 1.0 Hz, 1H, H_{6'}), 7.32-7.93 (m, 2H, H_{4'}, H₅), 7.16-7.10 (m, 1H, H_{3'}), 5.04 (br s, 1H, NHCOO), 4.36 (sept, *J*= 6.9 Hz, 1H, CH_{iPr}), 4.27 (d, *J*= 5.7 Hz, 2H, CH₂), 3.52 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{2''}, 2 x H_{6''}), 2.52 (t, *J*= 5.1 Hz, 4H, 2 x CH₂, 2 x H_{3''}, 2 x H_{5''}), 2.52 (s, 3H, N-CH₃), 1.40 (s, 9H, tBu), 1.28 (d, *J*= 6.9 Hz, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.1 (CONH), 161.6 (COONH), 156.2 (C₂), 145.1 (C₄), 137.6 (C₅), 135.8 (C_{2'}), 130.6 (C_{5'}), 129.8 (C_{1'}), 128.4 (C_{3'}), 125.3 (C_{4'}), 124.4 (C_{6'}), 79.6 (C_q, Boc), 54.3 (C_{3''}, C_{5''}), 48.2 (C_{2''}, C_{6''}), 46.3 (N-CH₃), 41.4 (CH₂), 28.5 (3 x CH₃, tBu), 27.2 (CH_{iPr}), 25.1 (2 x CH_{3iPr}); **HRMS (ESI):** Calcd. for C₂₄H₃₅N₅O₃S [M+H]⁺: 474.2533; found: 474.2539. **Mp:** 155-156°C.

6. ENSAYOS BIOLÓGICOS

6. ENSAYOS BIOLÓGICOS

Todos los compuestos sintetizados y descritos previamente son sometidos a ensayos biológicos para determinar así su potencial actividad como antimaláricos. Dichos ensayos se llevan a cabo en el departamento *Fighting disease in the developing world* perteneciente a la compañía farmacéutica GSK, en Tres Cantos (Madrid).

Los ensayos *in vitro* se realizan contra cepas 3D7A de *Plasmodium Falciparum* sensibles a la cloroquina (obtenidas del *Malaria Research and Reference Reagent Resource Center MR4*).

En relación a la metodología aplicada en los ensayos, la actividad antimalárica *in vitro* se evalúa mediante el método de incorporación de Hipoxantina tritiada desarrollado por Desjardins.²⁵⁶ Este método radioisotópico permite realizar una medición indirecta de la actividad metabólica del parásito, por medio de la incorporación de un precursor de ácidos nucleicos marcado radiactivamente. El *Plasmodium* al no poder sintetizar las purinas que necesita para su replicación se ve obligado a obtenerlas de una fuente externa. De esta manera, el empleo del precursor de purinas marcado isotópicamente permite determinar la incorporación de material genético del parásito y por lo tanto actuará como marcador de la regeneración del mismo, siendo la incorporación de hipoxantina marcada proporcional al crecimiento del *P. Falciparum*.

6.1 METODOLOGÍA GENERAL EMPLEADA

Los cultivos se llevan a cabo empleando eritrocitos humanos (RBC) de tipo AB, B o A- infectados con la cepa 3D7A de *P. Falciparum* (0.5% de parasitemia, 2% de hematocrito) en medio de cultivo RPMI 1640 (Sigma, Ref. R5886) con 25 mM HEPES y NaHCO₃. Éste medio no contiene L-glutamina pero se complementa con una disolución de Albumax que contiene: Albumax II 100 g/L (Gibco, Ref. 11021-037), D-glucosa 40g/L (Sigma, Ref. 68720), L-glutamina 6 g/L (Merck, Ref. 1.00229) e Hipoxantina 0.150 mM (Fluka, Ref. 5670).

²⁵⁶Desjardins, R.E.; Canfield, C.J.; Haynes, J.D.; Chulay, J.D. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **1979**, 16(6),710-718.

Se evalúan nueve concentraciones de cada compuesto siendo la concentración máxima empleada 5 μM . Cada concentración se evalúa por triplicado y se preparan a partir de diluciones seriadas de la solución madre de 200 μM en DMSO. La concentración máxima de DMSO empleada es de 0.5% (Sigma Ref. D6250), siendo ésta no toxica para el parásito.

Para los ensayos de actividad se emplean placas de 96 pocillos (Costar, Ref. 3599) dejando como control de crecimiento medio de cultivo y como control de tratamiento cloroquina. Cada placa se trata con hipoxantina 5 μM y se expone a tres diluciones en serie de cada compuesto. Una vez realizado el tratamiento la placas se dejan incubando 24 horas a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5%, O₂ 5% y N₂ 90%. Transcurrido este tiempo, se adiciona [³H] Hipoxantina y se dejan incubando las placas durante otro periodo de 24 horas. A continuación, los parásitos se depositan sobre un filtro de fibra de vidrio con ayuda de un recolector de células TOMTEC 96. Los filtros se secan y la radioactividad se mide empleando un contador Microbeta β -counter Wallac. Los datos de incorporación de hipoxantina tritiada se normalizan empleando el control positivo (glóbulos rojos parasitados sin fármaco). Los ensayos se realizan por triplicado y los resultados se obtienen por interpolación lineal.²⁵⁷ La IC₅₀ (concentración que provoca la reducción del crecimiento de los parásitos en un 50% respecto al control) se determina utilizando el programa Grafit 7.0.

$$y = \frac{100\%}{1 + \left(\frac{x}{\text{IC}_{50}} \right)^s}$$

Ecuación 1. Determinación de la IC₅₀.

Los datos de inhibición obtenidos se adaptan a una ecuación de dos parámetros, donde el límite inferior es 0 (*background corrected*) y el límite superior es 100 (*range corrected*). En esta ecuación, *s* es la pendiente. La ecuación asume que *y* (% de inhibición) decrece con el incremento de *x* (concentración del fármaco).

²⁵⁷Huber W.; Koella J. C. *Acta tropica*, **1993**, 55(4), 257-61.

6.2 RESULTADOS BIOLÓGICOS OBTENIDOS

6.2.1 FAMILIA DE LAS PIPERAZINAS

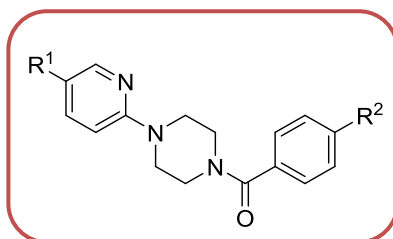
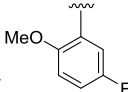

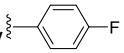
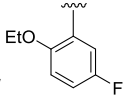
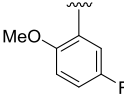


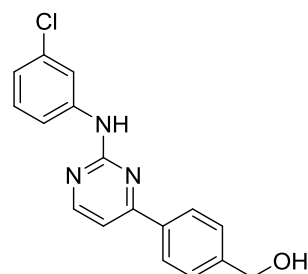
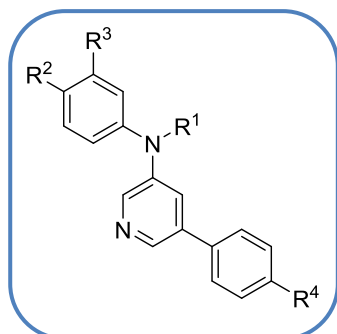
Tabla 1.9. Resultados de actividad antimalárica de la familia de las piperazinas.

Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	R ¹ /R ²	IC ₅₀ (μM) a 48 h
6 (HIT)	416.46	CN/ 	> 5
12	386.43	CN/ 	> 5
13	386.43	CN/ 	> 5
14	430.48	CN/ 	> 5
15	459.44	CF ₃ / 	> 5
16	360.34	CN/CF ₃	> 5

En una primera aproximación y con el objeto de eliminar posiciones fácilmente metabolizables, como es el grupo metileno central presente en el anillo de diazepina, decidimos cambiar el núcleo central del *hit* seleccionado por el núcleo de piperazina. Desgraciadamente, este cambio provocó una pérdida de actividad debido a un cambio importante en la geometría de la parte central de la molécula. Por otra parte, los cambios propuestos en los sustituyentes unidos al fenilo terminal (más expuesto al metabolismo), incluyendo átomos de flúor y trifluorometilo en posiciones *para*, estabilizan metabólicamente la molécula mejorando sus propiedades fisicoquímicas pero

desafortunadamente, los cambios planteados llevaron a compuestos inactivos en el ensayo de actividad antimalárica *in vitro*.

6.2.2 FAMILIA DE LAS AMINOPIRIDINAS



Compuesto 36

Tabla 1.10. Resultados de actividad antimalárica de la familia de las aminopiridinas.

Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	R ¹ /R ² /R ³ /R ⁴	IC ₅₀ (μM) a 48 h	IC ₅₀ (μM) a 72 h
19 (HIT)	310.78	H/H/Cl/CH ₂ OH	1.3	0.07
22	294.33	H/H/F/CH ₂ OH	>5	>5
23	294.33	H/F/H/CH ₂ OH	>5	>5
26	312.32	H/F/F/CH ₂ OH	>5	>5
27	328.77	H/F/Cl/CH ₂ OH	>5	>5
29	366.89	Et/H/Cl/CH ₂ OEt	8.2	4.2
30	338.84	Et/H/Cl/CH ₂ OH	6.3	3.9
32	324.81	H/H/Cl/CH ₂ CH ₂ OH	>5	>5
34	351.83	H/H/Cl/C(O)N(iPr)	>5	>5
36	311.77	Ver figura arriba	>5	>5

En este caso, únicamente el *hit* ya conocido mantiene un cierto nivel de actividad biológica en el ensayo de incorporación de hipoxantina tritiada. Hay que recordar que en el *screening* que ofrece la base de datos de GSK el método de ensayo es la inhibición de Lactato Deshidrogenasa (LDH). El hecho de que los compuestos se ensayen con hipoxantina tritiada o LDH como métodos de detección no parece influir en el resultado ya que se ha verificado con una nueva metodología que los dos ensayos dan exactamente lo mismo. La diferencia suele radicar en el tiempo de ensayo. Los ensayos en hipoxantina son siempre a 48h, mientras que los de LDH se suelen hacer a 72h. Esto implica que los compuestos que son más lentos en actuar (*delayed death phenotype*) en un ensayo a 48 horas aparecen como inactivos, mientras que en un ensayo a 72 horas sí muestran actividad. Este hecho queda reflejado en el compuesto **19** (*hit*), el cual dio una IC₅₀ de 0.07 μM en el *screening* inicial (a 72 h) y cuando se retestó en el ensayo de hipoxantina (a 48 h) el valor de IC₅₀ resultó ser de 1.3 μM. Lo mismo parece apuntar el resultado obtenido para los compuestos **29** y **30** cuya actividad disminuye en el ensayo a 48 h. La falta de actividad observada en el resto de análogos ensayados muestra la sensibilidad de la molécula ante pequeños cambios, indicando la existencia de un estrecho margen disponible para realizar transformaciones dirigidas a establecer relaciones estructura-actividad (SAR) entorno al *hit* inicial.

6.2.3 FAMILIA DE LOS BENZIMIDAZOLES

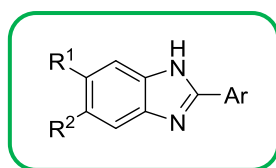


Tabla 1.11. Resultados de actividad antimalárica de la familia de las aminopiridinas.

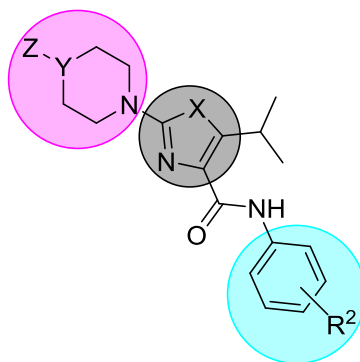
Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	Ar	R ¹ /R ²	IC ₅₀ (μM) a 48 h
37	229.67		Cl/H	>5
38	264.11		Cl/Cl	>5
39	264.11		Cl/Cl	>5
40 (HIT)	229.67		Cl/H	>5
41	229.67		Cl/H	>5
42	264.11		Cl/Cl	>5
43	218.64		Cl/H	>5
44	253.08		Cl/Cl	>5
45	312.80		Cl/H	0.89
46	347.24		Cl/Cl	1.33
47	218.64		Cl/H	>5
48	213.22		F/H	>5

En este caso se pretendía resintetizar el *hit* **537521** (compuesto 40, Tabla 1.11) y una serie de derivados estructuralmente relacionados con el fin de mejorar la actividad antimalárica del mismo. Para ello se llevaron a cabo variaciones estructurales en el anillo de fenilo fusionado, mediante la introducción de halógenos en diferentes posiciones, con el fin de conocer el efecto en la introducción de grupos electrón-atractores y lipófilos. Además, se han introducido anillos heterocíclicos de diferente índole en la posición 2 del anillo de benzimidazol con el objeto de estudiar su efecto en la actividad.

Los resultados obtenidos indican que únicamente los compuestos que presentan grupos básicos (**45** y **46**) ofrecieron un nivel interesante de actividad antimalárica *in vitro*, con una IC₅₀ en rango de unidades de micromolar. Si bien la actividad no es suficiente para considerar la progresión de los compuestos, sí ofrecen una información valiosa acerca de la relación entre la actividad antimalárica observada y la introducción de grupos amino básicos. Es bien conocida la actividad antimalárica de moléculas planas portadoras de átomos de nitrógeno complejantes y aminas básicas (como la cloroquina y otras 4-aminoquinoleínas), probablemente mediante la inhibición del proceso de polimerización del grupo hemo tóxico para el parásito.

Si bien los resultados obtenidos son interesantes, sorprendentemente el *hit* inicial no ofreció en el ensayo de hipoxantina la actividad mostrada en el ensayo LDH inicial. Actualmente se están llevando a cabo investigaciones para determinar si esta falta de actividad se debe al diferente mecanismo utilizado para la medición de la actividad en ambos ensayos o a un artefacto en la medición del ensayo de LDH. La empresa GSK ha diseñado recientemente una nueva metodología que verifica que los dos ensayos dan exactamente el mismo resultado por lo que todo parece apuntar que en este caso el *hit* seleccionado resulta ser un falso positivo. Esto no ocurre muy a menudo, pero tampoco resulta ser un hecho excepcional teniendo en cuenta que los hits seleccionados salen de una campaña de *screening* donde la metodología no es tan fina como la que se describe en el protocolo. Además, el manejo de una cantidad tan ingente de compuestos aumenta la posibilidad de error.

6.2.4 FAMILIA DE LOS TIAZOLES



En esta familia de compuestos existen tres regiones susceptibles de sufrir cambios. Los resultados biológicos se exponen por grupos de compuestos que presentan modificaciones en la misma región.

6.2.4.1 MODIFICACIONES EN EL ANILLO DE PIPERAZINA

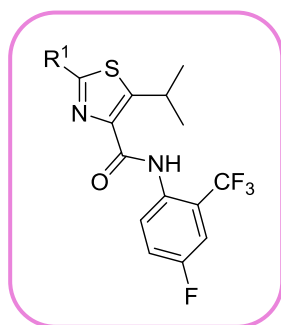


Tabla 1.12. Actividad antimalárica como resultado de modificar el anillo de piperazina en la familia de los tiazoles.

Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	R ¹	IC ₅₀ (μM) a 48 h
62 (Hit)	430.47		0.024
64a	432.48		3.150
64b	405.41		3.260
64c	417.42		0.102
64d	419.44		0.590

Los compuestos **64a**, **64b** y **64d** son análogos al *hit* que presentan la apertura del ciclo de piperazina. Con esta modificación se pretendía estudiar la influencia del aspecto estérico en la actividad. Además, los compuestos **64b** y **64c** introducen a su vez un nuevo centro básico capaz de actuar como dador u aceptor de enlaces de hidrógeno, hecho que podría modificar la actividad antiplasmódica. Dado que el grupo -OH libre presente en el compuesto **64b** es susceptible a la oxidación metabólica se planteó la síntesis del éter análogo **64d**.

A la vista de los resultados reflejados en la **Tabla 1.12**, se deduce que la apertura del anillo de piperazina provoca una disminución considerable de la actividad (de 0.024 μM a 3.150 μM), mientras que el cambio de piperazina por morfolina no afecta demasiado (de 0.024 μM a 0.102 μM). Por otra parte al igual que sucede con la apertura del anillo de piperazina, cuando el anillo de morfolina se abre, provoca una disminución considerable de la actividad (de 0.102 μM a 3.260 μM). Si se compara la actividad del compuesto **64b** (3.260 μM) con la del análogo **64d** (0.590 μM), se podría deducir que la presencia de un grupo -OH libre fácilmente oxidable podría provocar una disminución de la actividad antimalárica. Por lo tanto, las modificaciones realizadas confirman la necesidad de un anillo en esa posición que contenga un centro básico (mejor N que O) y ejerza impedimento estérico.

6.2.4.2 MODIFICACIONES EN LA PARTE CENTRAL DEL HIT

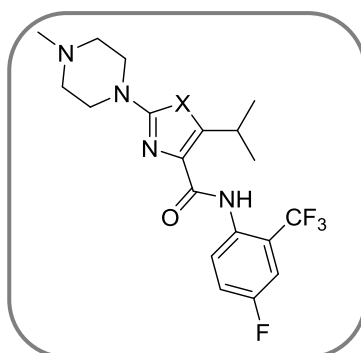


Tabla 1.13. Actividad antimalárica como resultado de modificar el anillo de tiazol por oxazol.

Compuesto	MW ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	X	IC ₅₀ (μM) a 48 h
62 (<i>hit</i>)	430.47	S	0.024
73	414.40	O	>5

Tal y como se observa en la **Tabla 1.13**, el cambio de la unidad estructural central por un anillo de oxazol provoca la pérdida total de actividad antimalárica por lo que se deduce que el anillo de tiazol parece apuntar al carácter esencial para la actividad.

6.2.4.3 MODIFICACIONES EN EL ANILLO DE FENILO ADYACENTE

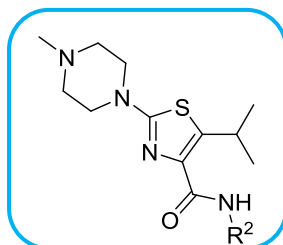
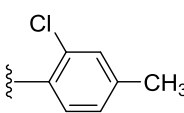
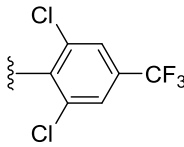
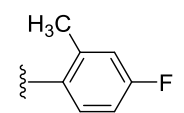
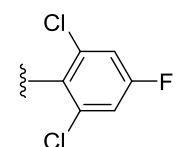
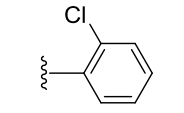
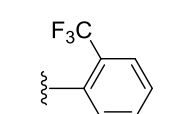
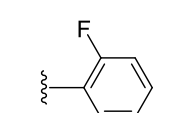
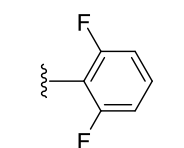
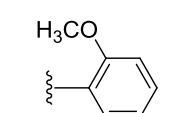
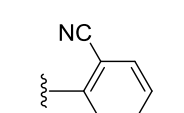
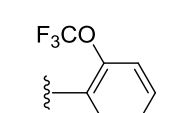
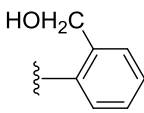
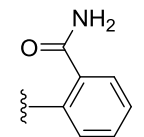
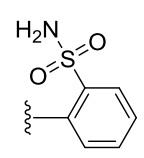
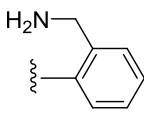
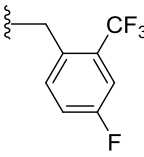


Tabla 1.14. Actividad antimalárica como resultado de modificar los sustituyentes en el anillo de fenilo.

Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	R ²	IC ₅₀ (μM) a 48 h
62 (hit)	430.47		0.024
61	380.46		1.194
74a	362.47		>5
74b	396.91		0.058
74c	380.46		>5
74d	446.92		>5

Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	R ²	IC ₅₀ (μM) a 48 h
74e	392.95		3.270
74f	481.36		>5
74g	376.49		0.72
74h	431.35		>5
74i	378.92		0.058
74j	412.48		0.031
74k	362.47		0.260
74l	380.46		>5
74m	374.50		0.350
74n	369.49		0.098
74o	428.47		0.034

Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	R ²	IC ₅₀ (μM) a 48 h
74p	374.50		>5
74q	387.50		>5
74r	423.55		>5
74s	373.52		>5
74t	444.49		2.560

Tal y como se observa en la **Tabla 1.14**, la introducción de átomos de halógenos en distintas posiciones del anillo de fenilo así como la presencia de grupos dadores y aceptores de electrones permitieron introducir cambios importantes en la actividad biológica. Esto nos hizo pensar que la región de la molécula que más interacciona con nuestra diana terapéutica es la correspondiente al anillo de fenilo.

Analizando más detenidamente los resultados obtenidos, se puede observar que al disminuir el efecto estérico de la molécula mediante la sustitución del grupo CF₃ (compuesto **62** (*hit*)) por un átomo de F (compuesto **61**) se produce una pérdida de actividad pasando de 0.024 μM a 1.194 μM. A su vez, cuando los dos átomos de F se colocan en posición *meta* (compuesto **74c**) y se deja sin sustituir la posición *orto* del fenilo (compuesto **74a**) sucede una pérdida total de actividad (>5 μM para cada compuesto). Este hecho nos indicó la necesidad de bloquear la posición *orto* del anillo de fenilo. Por esta razón se ensayaron distintos análogos *orto* sustituidos.

Si comparamos el compuesto **74b** (*o*-Cl, *p*-F) con el compuesto **74d** (*o*-Cl, *p*-CF₃) vemos como la actividad de **74b** (0.058 μM) es mucho mayor que la del compuesto **74d** (>5 μM), por lo que se deduce que en la posición *para* no debe ser sustituida por un grupo voluminoso. Esta hipótesis parece corroborarse con el compuesto **74e**, cuya actividad (3.270 μM) se ve disminuida drásticamente al introducir un grupo metilo en posición *para*. De hecho, al comparar la actividad del *hit* (0.024 μM) con la del compuesto **74j** (0.031 μM), el cual presenta la posición *para* libre, se deduce que la presencia de un átomo de F en posición *para* no afecta prácticamente a la actividad lo cual posiblemente se debe a que el F es bioisómero del H. Lo mismo sucede al comparar **74b** (*o*-Cl, *p*-F) con **74i** (*o*-Cl) donde la actividad es idéntica en ambos casos (0.058 μM).

Dado que la actividad se mantiene cuando la posición *para* queda libre y en el marco del estudio estructura-actividad que estamos realizando, se sintetizaron una serie de compuestos *orto* monosustituídos. Como conclusiones de este estudio parece deducirse que cuando el grupo en posición *orto* es activante, como es el caso del compuesto **74m** (*o*-OCH₃), la actividad disminuye (0.350 μM) si la comparamos con grupos electrón-atrayentes como en el caso del compuesto **74n** (*o*-CN) y **74o** (*o*-OCF₃) cuyas actividades son 0.098 μM y 0.034 μM respectivamente.

Dado que la posición *orto* parece determinante para la actividad de la molécula, con objeto de profundizar en este hecho, se sintetizaron compuestos con una doble sustitución *orto*, como es el caso de los compuestos **74f**, **74h** y **74l**. Todos estos ejemplos mostraron una total falta de actividad. Como posible explicación de este hecho, puede que la doble sustitución fuerce a la molécula a una disposición que le impida la formación de interacciones favorables. Conjuntamente se ensayan los compuestos **74p**, **74q**, **74r** y **74s**, los cuales además de presentar un efecto estérico mayor en la posición *orto* contienen grupos básicos libres (NH₂) o dadores de hidrógeno (OH). Lamentablemente, en ninguno de los casos se consigue observar actividad antimalárica.

Por último, con el objetivo de ver cómo influye la distancia entre el anillo de tiazol y el anillo de fenilo se evalúa el análogo **74t**, el cual contiene un metileno adicional entre el NH de la amida y el fenilo. Este compuesto da una actividad de 2.560 μM, bastante

inferior a la del *hit*, de manera que se concluye que la distancia entre ambos anillos resulta esencial mantenerla.

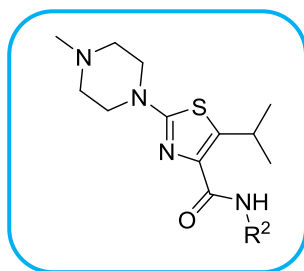


Tabla 1.15. Actividad antimalárica obtenida como resultado de remplazar el anillo de fenilo por diferentes piridinas monosustituidas

Compuesto	MW (g·mol ⁻¹)	R ²	IC ₅₀ (μM) a 48 h
62 (hit)	430.47		0.024
74u	379.91		0.080
74v	379.91		1.700
74w	345.47		>5
74x	379.91		>5
74y	379.91		0.350

Por último, los compuestos **74u-74y** presentan un anillo de piridina en lugar del anillo de fenilo. La introducción del átomo de nitrógeno aporta un cambio en la molécula en términos de lipofilia y basicidad y por ese motivo, se decidió ensayar algunos derivados que contengan dicho átomo en distintas posiciones del anillo así como átomos de halógenos que aportan lipofilia a la molécula. De los resultados biológicos (Tabla 1.15)

parece deducirse que tanto la presencia de sustituyentes en el anillo como su posición relativa al átomo de nitrógeno son decisivas para la actividad. También puede concluirse que, si bien muchos de estos derivados mostraron una disminución de la actividad o incluso una pérdida de ella, en el caso del compuesto **74u** se consiguió un compuesto potente (0.080 μM) y probablemente con mejores propiedades fisicoquímicas que el *hit*.

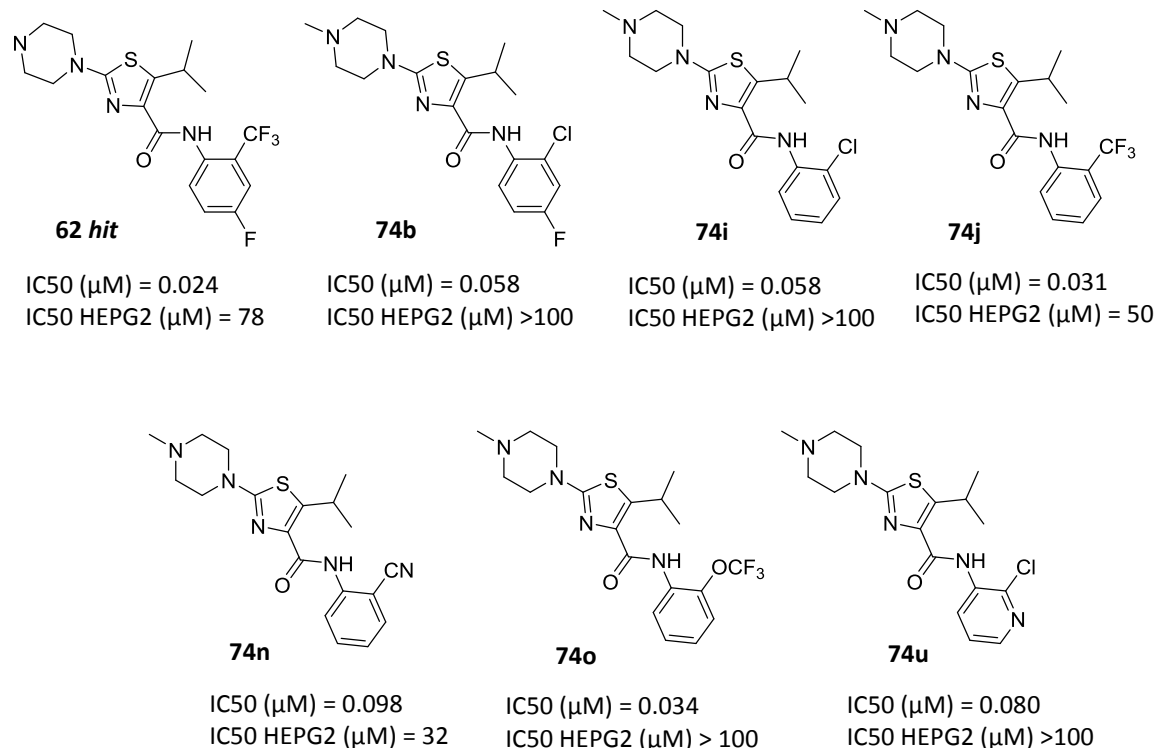


Figura 1.25. Actividad antimalárica *in vitro* (IC₅₀, cepa 3D7 de *P. falciparum*) y toxicidad (IC₅₀, HepG2 human liver cells) del *hit* y análogos más activos.

Los derivados sintéticos que resultaron ser más activos frente al *P. falciparum* fueron sometidos a ensayos de citotoxicidad. Los compuestos **74b**, **74i**, **74o** y **74u** resultaron ser menos tóxicos que el propio *hit* (Figura 1.25), lo cual podría constituir una nueva línea de investigación para futuros estudios.

7. CONCLUSIONS

7. CONCLUSIONS

1. We have designed and synthesized efficiently four libraries of compounds with potential activities as antimalarial drugs.

2. All prepared compounds were biologically tested to determine their potential activity as antimalarials, which allowed us to build a SAR study, analysing their in vitro activities against the 3D7 strain of *P. falciparum*.

3. **Piperazine derivatives:** In this case, synthetic efforts were mainly focused on blocking potentially metabolizable positions such as the central methylene group present in the diazepine ring and the methoxyl group. In addition, the terminal phenyl substituents (most exposed to metabolism) were modified by varying the different relative positions and including fluorine and trifluoromethyl atoms in *para* positions. Unfortunately, a change in the main part of the selected *hit* structure by the introduction of piperazine moiety instead of diazepine scaffold caused the total loss of activity ($IC_{50} > 5 \mu\text{M}$) due to a significant change in the geometry of the central part of the molecule.

4. **Aminopyridine derivatives:** The followed chemical approach for the *hit* expansion was the maintenance of the central aminopyridine structural unit, carrying out the exploration of the two adjacent phenyl rings by the introduction of fluorine atoms instead of chlorine atoms. In order to reduce the possible metabolic oxidation of the benzyl alcohol present in the *hit*, an introduction of an additional methylene group was achieved following a classical chain homologation strategy. On the other hand, more risky transformations from the biological point of view such as the introduction of an isopropylamide group and the blocking of amine and alcohol groups were carried out by the preparation of the corresponding tertiary amine and ethyl ether respectively. Biological results revealed that unfortunately only the *hit* compound (**19**) showed significant antimalarial activity ($1.3 \mu\text{M}$) when it was tested with the ^3H -Hypoxanthine incorporation assay. The lack of activity observed in the remaining analogs tested showed the high sensitivity of the molecule to small changes.

5. Benzimidazole derivatives: According to the biological results, compounds containing pyridine moiety did not afford good results as well as those containing furan group. Only those compounds which include in their structure the piperazine scaffold (**45** and **46**) offered an interesting level of antimalarial activity in vitro, with an IC₅₀ in micromolar range (0.89 μM and 1.33 μM respectively). Surprisingly, the *hit* compound of benzimidazole family did not reproduce the antimalarial activity shown in the initial LDH assay obtained from the data base of GSK. Everything seems to point out that in this case the selected *hit* turned out to be a false positive.

6. Thiazole derivatives: Finally, we were able to identify a suitable *hit* (**62**) which allowed us to develop a wide range of analogues which provided excellent antimalarial activities. The biological results led to several conclusions.

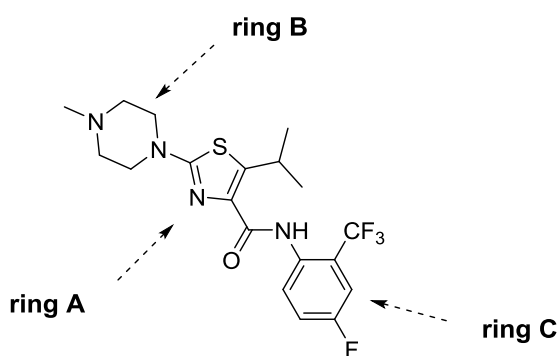


Figure 1.26. Structure of compound **62** (thiazole *hit*)

First, modifications to the B ring of the molecule did not significantly affect its activity as long as position 2 of the thiazole is directly bound by a nitrogen atom from a piperidine, piperazine, or N-methylpiperazine moiety. However, opening the B ring significantly decreased the potency of the corresponding analogs. Secondly, position 5 of the thiazole must be occupied by an ethyl or isopropyl group, as a methyl group made it lose most of its activity.²⁵⁸ Third, and most importantly, ring C is the most significant in this series, greatly affecting antimalarial activity. The most potent compounds had one electron attractor group in *ortho* position and a free *para* position, with only two exceptions: compounds **62** and **74b**, in which the *para* substituent is a fluorine atom. Furthermore, when both *ortho* positions were simultaneously substituted, the analogs are

²⁵⁸ Bach, T.; Heuser, S. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 1707.

inactive. These findings indicated that ortho monosubstitution was required for activity, with non-bulky electron-withdrawing groups being preferred. When the para position was occupied, the substituent must be a small atom, such as F. Moreover, preliminary assays against HepG2 human liver cells indicated that toxicity does not seem to be a problem in this series of analogs. Finally, replacement of the aryl ring by a pyridine afforded a compound with similar potency to the *hit*, but with potentially better pharmacological properties, which could constitute a new line of work for further studies.

**CAPÍTULO II: PREPARACIÓN Y APLICABILIDAD DE
IMIDAZOLINAS EN NUEVOS
ORGANOCATALIZADORES BIFUNCIONALES**

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

1.1 SÍNTESIS ASIMÉTRICA

La quiralidad es una propiedad fundamental de las moléculas que nos permite saber su disposición geométrica en el espacio. Se denominan enantiómeros a dos imágenes especulares no superponibles de una molécula quiral. La mayoría de los compuestos de origen biológico se encuentran presentes en su forma enantiomérica. El grado de selectividad es tal que en la naturaleza solo se encuentran presente la forma L (levógira) en los aminoácidos y la forma D (dextrógira) en los carbohidratos.

En la mayoría de los compuestos farmacológicos la actividad viene dada exclusivamente por una de las formas enantioméricas de la molécula, mientras que su isómero puede mostrar propiedades farmacológicas completamente diferentes, llegando incluso a provocar efectos secundarios nocivos.²⁵⁹ Por este motivo la síntesis asimétrica juega un papel fundamental en el ámbito de la Química Médica ya que el uso de fármacos enantioméricamente puros puede conllevar la reducción de la dosis manteniendo los mismos efectos terapéuticos. Además, se pueden controlar las diferencias farmacocinéticas y farmacodinámicas de los diferentes enantiómeros reduciendo la toxicidad del estereoisómero terapéuticamente inactivo.

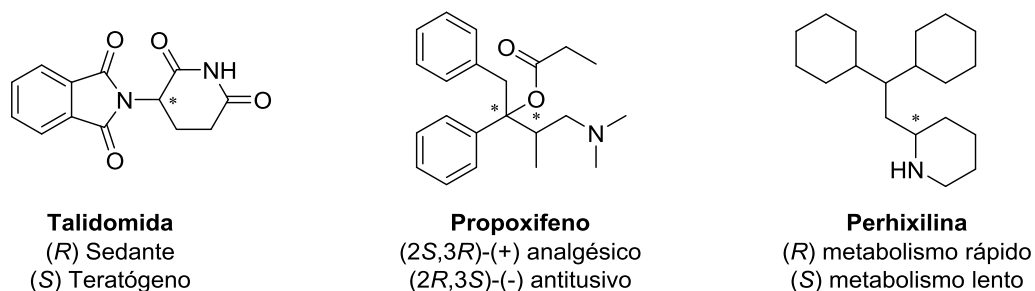


Figura 2.1. Ejemplos de fármacos cuyos enantiómeros presentan propiedades biológicas distintas.

²⁵⁹a) Tseng, S.; Pak, G.; Washenik, K.; Pomeranz, M., Shupack J. L., *J. Am. Acad. Derm.* **1996**, *35* (6), 969-979. b) Maruotti, N.; Cantatore, F. P.; Ribatti, D. *Reumatismo*, **2006**, *58*, 187-277. c) Stephens, T.D. *Chemistry in Britain*, **2001**, *38*.

Existen tres aproximaciones para la obtención de compuestos enantioméricamente puros: la resolución de racematos,²⁶⁰ el empleo de sustratos de partida de origen natural ópticamente puros (*Chiral pool*)²⁶¹ y la síntesis asimétrica.²⁶²

La síntesis asimétrica consiste en la obtención de compuestos quirales a partir de sustratos no quirales. La isomería en este caso puede venir inducida por el empleo de auxiliares quirales,²⁶³ enzimas (biocatálisis)²⁶⁴ o mediante la catálisis asimétrica.

Dentro del campo de la catálisis asimétrica podemos discernir entre dos tipos de catálisis: La catálisis organometálica,²⁶⁵ basada en el uso de complejos quirales metal-ligando y la organocatálisis,²⁶⁶ fundamentada en el empleo de moléculas orgánicas como catalizadores en ausencia de metales de transición.

El presente capítulo de esta Tesis Doctoral se encuentra enmarcado en el ámbito de organocatálisis donde se discutirá la síntesis y la aplicabilidad de nuevas imidazolinas quirales como organocatalizadores bifuncionales de tipo tiourea.

²⁶⁰Huerta, F.F.; Minidisi, A.B.E.; Baeckwall, Jan-E. *Chem. Soc. Rev.* **2001**, *30*, 321.

²⁶¹Hanessian, S. *Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach*. Pergamon Press: New York, **1983**.

²⁶²a) Aitken, R. A.; Kilényi, S. N. *Asymmetric Synthesis*, **1992**, Chapman & Hall. Cambridge. b) Nógrádi, M. *Stereoselective Synthesis: A Practical Approach*, **1995**, Weinheim, New York; VCH.

²⁶³a) Hoveida A.; Evans D.A.; Fu, G. *Chem. Rev.*, **1993**, *93*, 1307. b) Seyden-Penne, J. *Chiral auxiliaries and Ligand in Asymmetric Synthesis*, Wiley: New York **1995**.

²⁶⁴a) Saalfrank, J. W. Maier, W. F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2028-2031. b) Reetz, M. T. Brunner, B.; Schnerider, F.; Schulz, C. M.; Clouthier, M. M. Kayser. M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4075-4078.

²⁶⁵a) Ma, J-A.; Cahard, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4566-4583. b) *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 323-440. c) Jacobsen, E. N.; Pfaltz, A.; Yamamoto, H. *Comprehensive Asymmetric Catalysis* **1999**, (Voll-III; Springer, Berlin).

²⁶⁶a) List, B. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5413-5415. Pellissier, H. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9267-9331. b) Erkkilä, A.; Majander, I.; Pihko, P. M. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5416-5470. c) Mukherjee, S.; Yang, J. W.; Hoffmann, S.; List, B. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 12, 5471-5569. d) Berkessel, A.; Gröger, H. *Metal-Free Organic Catalysts in Asymmetric Synthesis*, **2004**, Wiley-VCH, Weinheim. e) Dalko, P. I.; Moisan, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5138-5175. f) Benaglia, M.; Publis, F.; Cozzi, *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3430. g) Movassaghi, E. N.; Jacobsen, *Science* **2002**, *298*, 1904. h) Dalco, P. I.; Moisan, L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 3726-3748.

1.2 ORGANOCATÁLISIS ASIMÉTRICA.

Existen precedentes bibliográficos que datan de principios del siglo XX, donde comienzan a surgir las primeras transformaciones enantioselectivas organocatalíticas.²⁶⁷ No obstante, el término “organocatálisis” fue introducido por primera vez en la comunidad científica en el año 2000 por D. W. C. MacMillan, químico pionero en este campo.²⁶⁸ MacMillan definió el concepto básico de la organocatálisis asimétrica como la utilización de moléculas orgánicas enantioméricamente puras de bajo peso molecular como catalizadores en reacciones orgánicas. Durante las últimas décadas la organocatálisis ha experimentado un crecimiento muy importante dentro del área de catálisis asimétrica empleándose en la formación enantioselectiva de enlaces C-Het, donde Het puede ser N, O, S, P y haluro.^{269,270,271,272,273} El número de publicaciones ha aumentado gradualmente en los últimos años, con más de 2000 manuscritos publicados en este campo.



Diagrama 2.1. Número de publicaciones por año en el área de organocatálisis.²⁷⁴

²⁶⁷Mackwald, W. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1904**, *37*, 349-354.

²⁶⁸Ahrendt, K.A.; Borths, C.J, MacMillan D.W.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*(17), 4243-44.

²⁶⁹Chauhan P.; Mahajan S.; Enders D., *Chem Rev.* **2014**, *114*(18), 8807-64.

²⁷⁰Rueda-Becerril M.; Mahé O.; Drouin M.; Majewski M.B.; West J.G.; Wolf M.O; Sammis G.M.; Paquin J-F., *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*(6), 2637-41.

²⁷¹Carlone A.; Bartoli G.; Bosco M.; Sambri L.; Melchiorre P., *Angew Chem Int Ed.* **2007**, *46*, 4504.

²⁷²Barrulas P.; Benaglia M.; Burke A.J., *Tetrahedron: Asymmetry.* **2014**, *25*(12), 923-35.

²⁷³Scettri A.; Massa A.; Palombi L.; Villano R.; Acocella M.R., *Tetrahedron: Asymmetry.* **2008**, *19*(18), 2149-52.

²⁷⁴El número de publicaciones ha sido obtenido mediante la búsqueda de “organocatalysis” como *topic* en el SciFinder.

Inicialmente, la catálisis organometálica supuso una revolución en el área de la síntesis estereoselectiva, conllevando incluso la concesión del premio Nobel en 2001 a W. Knowless,²⁷⁵ R. Noyori²⁷⁶ y a K.P. Sharpless²⁷⁷ por sus contribuciones en este campo. Recientemente la organocatálisis ha ido ganando terreno en los últimos años debido a las ventajas que presenta frente a la catálisis organometálica. La organocatálisis mantiene la mayoría de las características de la catálisis metálica minimizando el impacto medioambiental, costes, tiempo y energía. Además, los procedimientos experimentales empleados suelen ser más sencillos ya que generalmente los organocatalizadores no muestran sensibilidad a la humedad ni a la presencia de oxígeno.

²⁷⁵a) Knowless, W. S. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 15. b) Knowless, W. S. *Angew. Chem. Int. ed.* **2002**, 41, 1998.

²⁷⁶a) Noyori, R. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 15. b) Noyori, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2008.

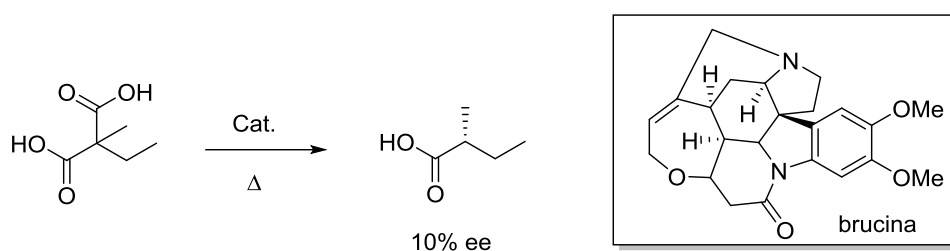
²⁷⁷Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2024.

2. ANTECEDENTES

2. ANTEDECENTES

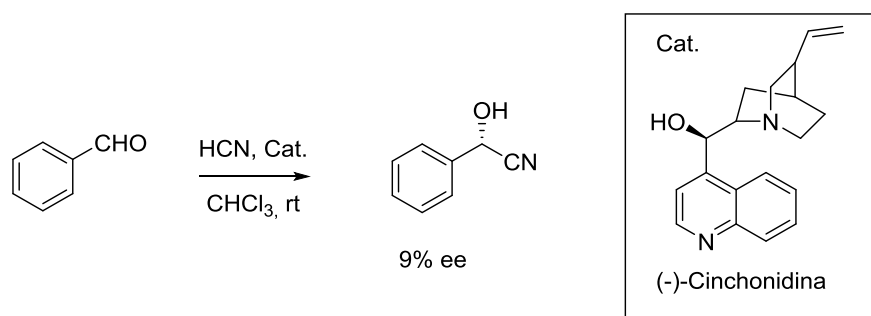
2.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La primera reacción organocatalítica de la historia fue descrita por Marckwald en 1904, al realizar la descarboxilación enantioselectiva del ácido α -etil- α -metilmalónico empleando como organocatalizador el alcaloide brucina.²⁶⁷ Aunque el exceso enantiomérico no superó el 10%, Marckwald impulsó el uso de organocatalizadores de origen natural.



Esquema 2.1. Primera reacción organocatalítica descrita

En 1912, los científicos Bredig y Fiske publicaron la primera reacción de adición enantioselectiva de cianuro de hidrógeno a benzaldehído catalizada por un derivado de la quinina, alcaloide del género *cinchona*.²⁷⁸

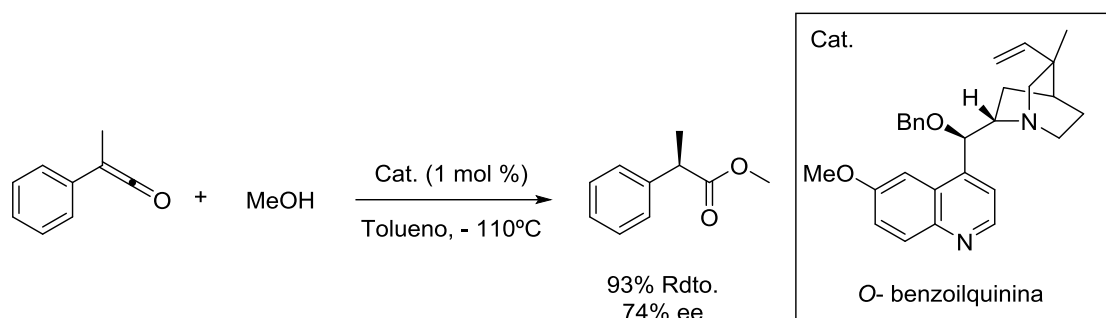


Esquema 2.2. Primera reacción catalizada por alcaloides del género cinchona.

Sin embargo, los alcaloides de tipo *cinchona* no se volvieron a emplear en organocatálisis asimétrica hasta los años sesenta, cuando Pracejus reveló que la *O*-

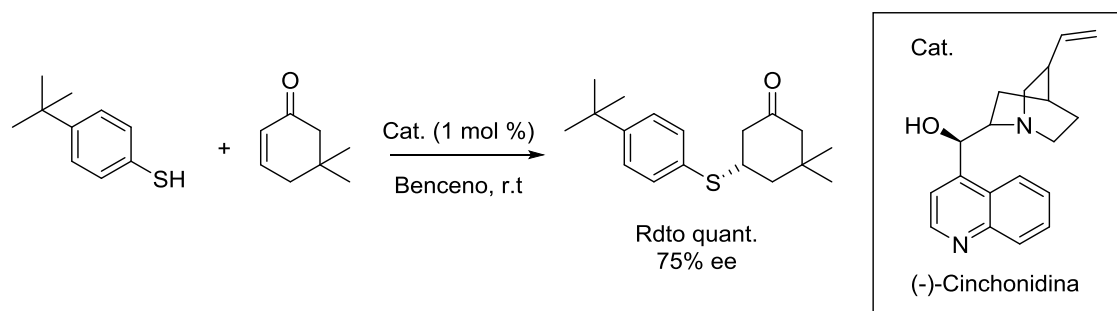
²⁷⁸Bredig, G.; Fiske, P. S. *Biochem. Z.* **1912**, *46*, 7-23.

benzoilquinina actuaba como organocatalizador en la reacción de adición de metanol a fenilmetilcetenas con elevada enantioselectividad.²⁷⁹



Esquema 2.3. Adición enantioselectiva de metanol a cetenas empleando derivados de *cinchona*.

Fue en 1981 cuando Wynberg y colaboradores investigaron la influencia de los alcaloides de tipo *cinchona* (quinina, quinidina, cinchonina y cinchonidina) en la reacción de adición de Michael enantioselectiva, descubriendo que la cinchonidina daba excesos enantioméricos superiores al 75% con rendimientos cuantitativos.²⁸⁰



Esquema 2.4. Adición de Michael enantioselectiva con derivados de la cinchona.

Los resultados obtenidos en ambos grupos de investigación impulsaron el uso de alcaloides de tipo *cinchona*²⁸¹ como organocatalizadores. Actualmente muchas reacciones importantes en química orgánica continúan siendo catalizadas por dichos alcaloides.²⁸²

A principio de la década de los 70 tuvo lugar un descubrimiento que marcó un antes un y después en el área de la organocatálisis. De manera independiente, los grupos

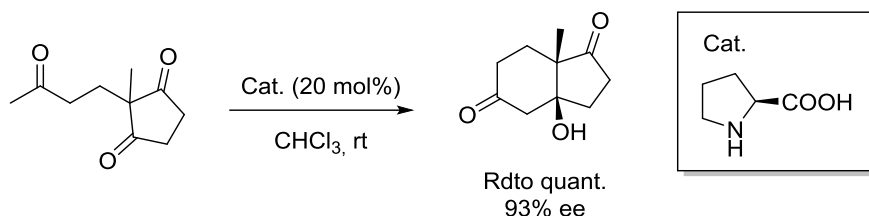
²⁷⁹Pracejus, H., *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1960**, 634, 9-22.

²⁸⁰Hiemstra, H.; Wynberg H., *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 417-430

²⁸¹Hiemstra, H.; Leeper, F. J., *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3611.

²⁸²Nakamura, S.; Takahashi, S.; Nakane, D.; Masuda, H., *Org. Lett.* **2015**, 17(1), 106-109.

de investigación de Hajos²⁸³ y Wiechert²⁸⁴ fueron capaces de llevar a cabo una reacción aldólica intramolecular enantioselectiva, empleando cantidades subestequiométricas de L-prolina como catalizador.



Esquema 2.5. Primera reacción aldólica intramolecular enantioselectiva catalizada por L-prolina.

No obstante, no fue hasta el año 2000 cuando el grupo de Benjamin List publicó la primera reacción aldólica intermolecular enantioselectiva catalizada por L-prolina.²⁸⁵ En el mismo año el grupo de MacMillan publicó una reacción de Diels-Alder catalizada por una imidazolidinona quiral.²⁸⁶ Fue a partir de entonces cuando se acuñó oficialmente el término de organocatálisis dando comienzo a la “edad de oro” en este campo.

2.2. MODOS DE ACTIVACIÓN

En base a su mecanismo, los organocatalizadores pueden unirse al sustrato de diversas maneras activándolo mediante diferentes tipos de interacciones. Éstas pueden ser fuertes mediante la formación de un enlace covalente o pueden ser más débiles a través de la formación de pares iónicos o enlaces de hidrógeno.

²⁸³Hajos, Z. G.; Parrish, D. R. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1615-21.

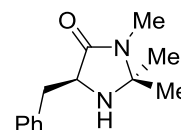
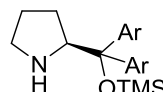
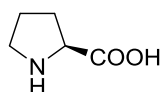
²⁸⁴Eder, U.; Sauer, G.; Wiechert, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1971**, *10*, 496-497.

²⁸⁵List, B.; Lerner, R. A.; Barbas, III, C. F. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-96.

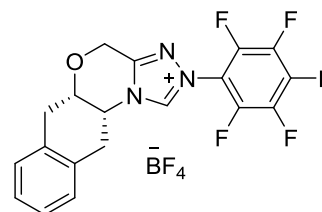
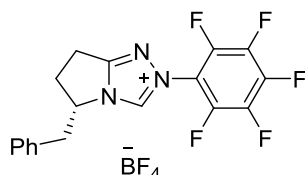
²⁸⁶Ahrendt, K.A.; Borths, C.J.; MacMillan, D.W.C. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4243-44.

ORGANOCATÁLISIS
COVALENTE

Aminas
(aminocatálisis)

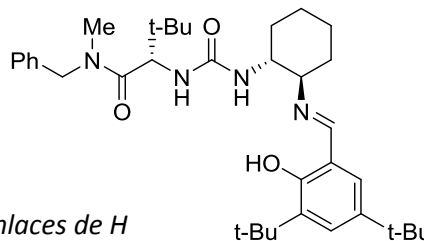
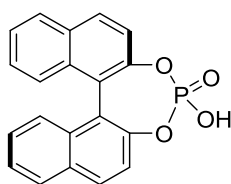


Carbenos



ORGANOCATÁLISIS
NO COVALENTE

Enlaces de H



Pares iónicos

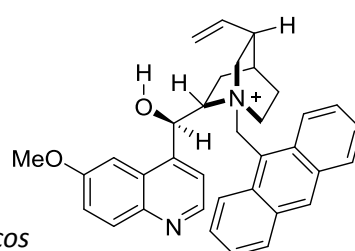
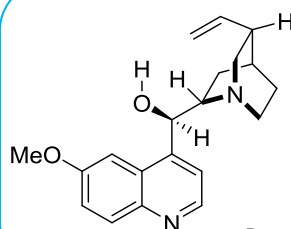


Figura 2.2 Ejemplos de organocatalizadores en catálisis covalente y no covalente.

En la **organocatálisis covalente** la reacción tiene lugar mediante la formación de un complejo covalente catalizador-sustrato. Este tipo de catálisis se emplea frecuentemente en compuestos carbonílicos donde el catalizador puede activar tanto al nucleófilo (vía enamina) como al electrófilo (vía iminio).²⁸⁷

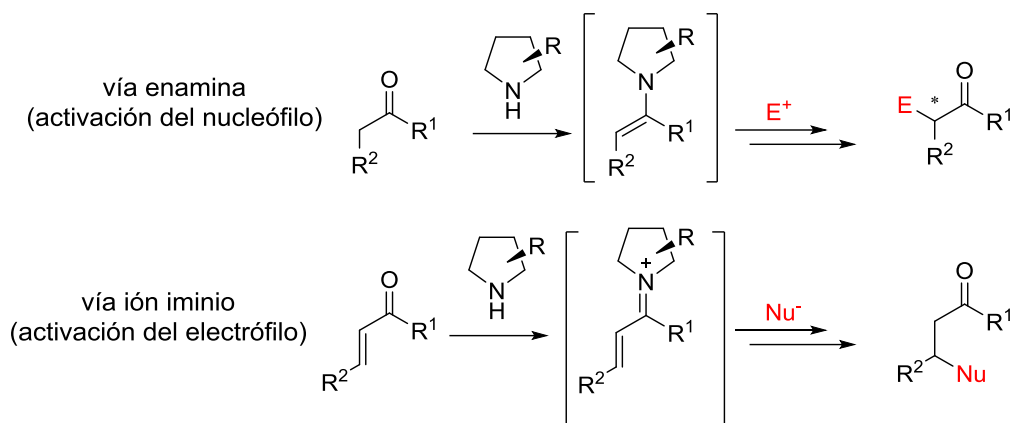


Figura 2.3. Catálisis vía enamina e ión iminio.

Aunque la mayoría de reacciones implican las dos vías de activación (Figura 2.3), en la literatura podemos encontrar otros métodos de activación covalente como la vía SOMO²⁸⁸ o la vía dienamina.²⁸⁹ Los ejemplos más destacados en la bibliografía emplean como organocatalizadores aminoácidos, péptidos, alcaloides y otras moléculas quirales que contengan átomos de N-, C-, O-, P- y S- pudiendo actuar éstos como bases de Lewis en reacciones que implican carbenos,²⁹⁰ epoxidaciones,²⁹¹ ciclopropanaciones,²⁹² etc.

La **organocatálisis no covalente** puede tener lugar por transferencia de fase enantioselectiva mediante la formación de un par iónico quiral²⁹³ o a través de enlaces de hidrógeno. En lo que se refiere a la primera aproximación emplean como catalizadores

²⁸⁷Seayad, J.; List, B. *Org. Biomol. Chem.* **2005**, *3*, 719-724.

²⁸⁸Young, H-Y.; Hong, J-B.; MacMillan, D. W. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 7004-7005.

²⁸⁹Bertelsen, S.; Nielsen, M.; Jørgensen, K. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 7356-7359.

²⁹⁰a) Johnson, J. S., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 1326-1328, b) Enders, D.; Balensiefer, T. *Acc. Chem. Res.* **2004**, *37*, 534-541.

²⁹¹a) Marigo, M.; Franzen, J.; Poulsen T.B.; Zhuang W.; Jørgensen K.A. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*(19), 6964-65. b) Bondzic, B.P; Urushima T.; Ishikawa, H.; Hayashi Y. *Org. Lett.* **2010**, *12*(23), 5434-37.

²⁹²Bremeyer, N.; Smith, S. C.; Ley, S. V.; Gaunt M. J., *Angew. Chem., Int. Ed.* **2004**, *43*, 2681-2684.

²⁹³Hashimoto, T.; Maruoka, K. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5656-5682.

sales de amonio cuaternarias derivadas de binaftilaminas y alcaloides de cinchona.²⁹⁴ Por otra parte, en cuanto a los organocatalizadores que actúan por puentes de hidrógeno podemos destacar los ácidos fosfóricos²⁹⁵ y las tioureas.²⁹⁶ En este punto cabe recalcar que las interacciones de tipo no covalente son más débiles y menos direccionales que las covalentes. Por este motivo y con el objeto de conseguir una mejor restricción espacial que favorezca una mayor estereoselectividad, surgen los llamados “organocatalizadores bifuncionales”, los cuales poseen funcionalidades complementarias, siendo capaces de activar dos sitios de unión en el sustrato simultáneamente.

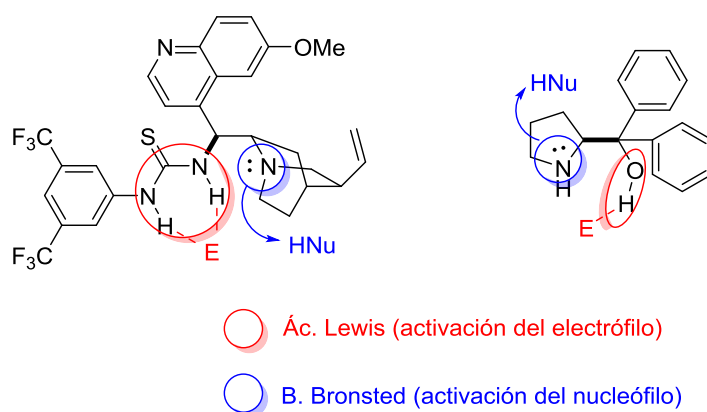


Figura 2.4. Ejemplo de organocatalizadores bifuncionales no covalentes.²⁹⁷

Esta clase de organocatalizadores combinan la activación del sustrato mediante interacciones por puentes de H y bases de Bronsted²⁹⁸, las cuales aumentan la nucleofilia abstrayendo un protón de la especie pro-nucleófila, creándose así un entorno quiral a través de la formación de un par iónico. Las bases de Bronsted más empleadas en este tipo de organocatalizadores son las aminas terciarias, guanidinas, imidazoles y alcaloides del género cinchona.

El objetivo del presente capítulo de la tesis es sintetizar un organocatalizador bifuncional de tipo tiourea que presente un anillo de imidazolina y probar su posterior

²⁹⁴a) Dolling, U.-H.; Davis, P.; Grabowski E. J. J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1984**, *118*, 446–447. b) O’Donnell, M. J.; Bennett, W. D.; Wu, S. J. *Am. Chem. Soc.*, **1989**, *111*, 2353-2355; c) O’Donnell M. J., *Acc. Chem. Res.*, **2004**, *37*, 506–517.

²⁹⁵Akiyama, T.; Itoh, J.; Yokota, K.; Fuchibe, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*(12), 1566-68.

²⁹⁶Connon, S.J. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 5418-5427.

²⁹⁷Vakulya, B.; Varga, S.; Csámpai, A.; Soós T. *Org. Lett.* **2005**, *7*(10), 1967-69.

²⁹⁸Palomo, C.; Oiarbide, M.; López, R. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, *38*, 632-653.

aplicabilidad en la reacción enantioselectiva de Strecker y en la Morita-Baylis-Hillman. Por este motivo, a continuación se discutirá el uso de tioureas como organocatalizadores así como el empleo de imidazolinas como ligandos quirales en síntesis asimétrica.

2.3 ORGANOCATALIZADORES DE TIPO TIOUREA

La primera evidencia de que las ureas podían formar enlaces de hidrógeno estabilizantes fue descrita por Coiro en los años 70, al observar la formación de enlaces intermoleculares al cristalizar *N,N'*-Diciclohexilurea.²⁹⁹

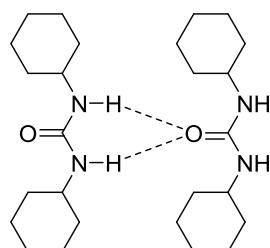
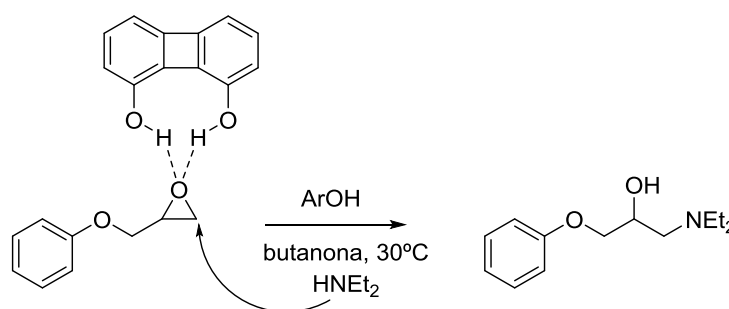


Figura 2.5. Dobles enlaces de H entre moléculas de *N,N'*-Diciclohexilurea.

Pero no fue hasta 1985 cuando el grupo de Hine describió que la rígida conformación del 1,8-bifenilendiol le permitía formar puentes de H con el átomo de O de sustratos que actúan como bases de Lewis.³⁰⁰ De esta manera se incrementaba la velocidad de la reacción al aumentar la electrofilia del sustrato.



Esquema 2.6 Reacción de fenilglicidil éter con dietilamina catalizada por 1,8-bifenilendiol.

²⁹⁹Coiro, V. M.; Giacomello, P., Giglio E., *Acta Cryst.* **1971**, B27, 2112-14.

³⁰⁰Hine, J.; Linden, S.-M, Kanagasabapathy V. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1985**, 107, 1082-1083.

Pocos años después Etter y colaboradores³⁰¹ observaron mediante experimentos cristalográficos la co-cristalización de *N,N'*-diarilureas con compuestos que presentaban grupos funcionales básicos de Lewis (compuestos nitroaromáticos, éteres, cetonas y sulfóxidos).³⁰² Estos descubrimientos asentaron las bases para el desarrollo de organocatalizadores de tipo urea.

El primer ejemplo de una reacción catalizada por ureas fue descrito por el grupo de Curran en 1994.³⁰³ Curran descubrió que al añadir cantidades subestequiométricas de una diarilurea, análoga a la descrita por Etter, aumentaba tanto el rendimiento como la diastereoselectividad en la reacción de alilación de radicales cíclicos α -sulfinil.

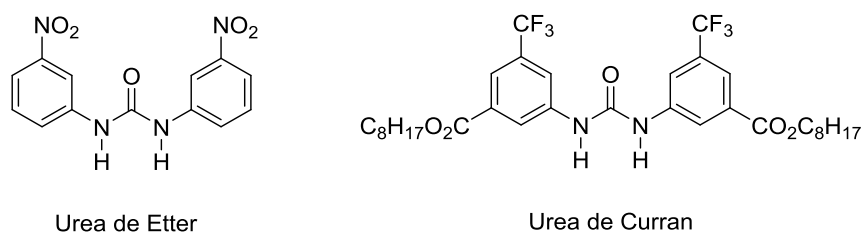


Figura 2.6. Primeros organocatalizadores de tipo urea.

Con el objeto de evitar los problemas de solubilidad que a menudo se asocian con el uso de diarilureas, numerosos grupos de investigación comenzaron a emplear en su lugar análogos de tiourea, más solubles,³⁰⁴ fáciles y seguros de preparar. Además, el cambio del átomo de O por el de S proporciona una mayor acidez a los H, facilitando su interacción con bases de Lewis.³⁰⁵ Asimismo las tioureas son peores aceptores de enlaces de H de manera que se limita en mayor medida el autoensamblaje.³⁰⁶

³⁰¹a) Etter, M. C.; Panunto, T. W., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 5896-7. b) Etter M. C.; Urbańczyk-Lipkowska Z.; Zia-Ebrahimi M.; Panunto T. W, *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8415-26.

³⁰²a) Etter, M. C.; *Acc. Chem. Res.* **1990**, *23*(4), 120-126. b) Etter M. C., *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 4601-10; c) Kelly, T. R.; M. H. Kim, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 7072-80.

³⁰³Curran, D. P.; Kuo, L. H., *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 3259-3261.

³⁰⁴Curran, D. P.; Kuo, L. H., *Tet. Lett.* **1995**, *36*, 6647-6650.

³⁰⁵Bordwell, F. G.; Algrim, D. J.; Harrelson Jr, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110* (17), 5903-5904.

³⁰⁶Dannecker, W.; Kopf, J.; Rust, H. *Cryst. Struct. Commun.* **1979**, *8*, 429-432.

En 2002, Schreiner demostró que la presencia de dos grupos CF_3 en posición *meta* en los anillos aromáticos de las N,N' -diariltioureas aumentaba la acidez del N-H, además de aportar rigidez al organocatalizador.³⁰⁷

En la actualidad esta aportación sigue siendo muy importante para el diseño de nuevos organocatalizadores bifuncionales.³⁰⁸

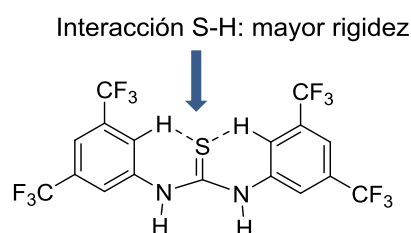
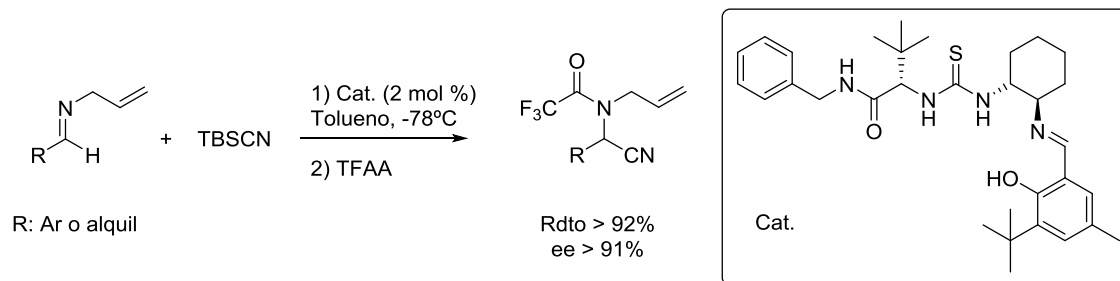


Figura 2.7. Organocatalizador de tiourea. **Schreiner, 2002.**

En 1998 Sigman y Jacobsen introdujeron por primera vez un organocatalizador quiral de tipo tiourea, el cual proporcionaba una elevada enantioselectividad en la reacción de Strecker de adición de HCN a *N*-alil aldminas.³⁰⁹



Esquema 2.7. Reacción de Strecker catalizada por un derivado de tiourea quiral

Este tipo de organocatalizador y sus derivados han sido empleados posteriormente en diversas reacciones enantioselectivas tales como la reacción de Mannich,³¹⁰ aza-Henry³¹¹ y Baylis-Hillman³¹² entre otras.

³⁰⁷Schreiner P. R.; Wittkopp A., *Org. Lett.* **2002**, *4*, 217-220.

³⁰⁸Fang, X.; Wang, C.-J. *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 1185-1197.

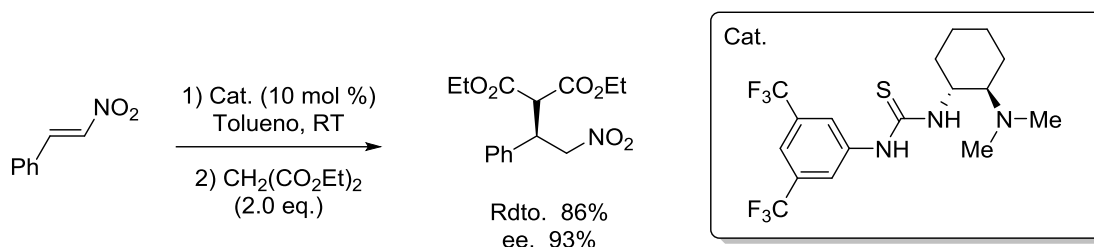
³⁰⁹Sigman, M. S.; Jacobsen, E. N., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901-4902.

³¹⁰Wenzel, A. G.; Lalonde, M. P.; Jacobsen, E. N., *Synlett*, **2003**, 1919-1922.

³¹¹Yoon, T. P.; Jacobsen, E. N. *Angew. Chem.* **2005**, *117*(3), 470-472; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 466-468.

³¹²Raheem, I. T.; Jacobsen E. N., *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1701-1708.

Poniendo en práctica las ideas desarrolladas anteriormente por Curran, Schreiner y Jacobsen, Takemoto y colaboradores desarrollaron en 2003 el primer organocatalizador bifuncional de tipo tiourea, capaz de promover la adición de malonato de dietilo a β -nitrostirenos con excelente enantioselectividad.³¹³



Esquema 2.8. Organocatalizador bifuncional de Takemoto.

En este caso, el fragmento de tiourea actúa como un ácido de Lewis activando electrofílicamente el nitroalqueno mediante enlaces de H, mientras que la amina quiral básica activa el nucleófilo desprotonándolo.

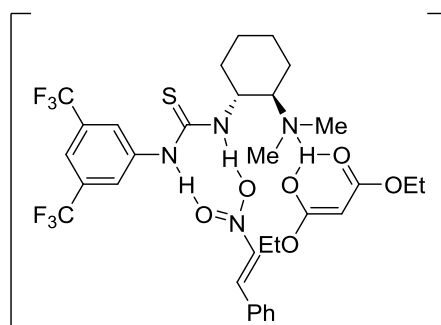


Figura 2.8. Modo de activación del organocatalizador de Takemoto.

En la última década, la comunidad científica ha empleado numerosos esfuerzos en desarrollar organocatalizadores bifuncionales de tipo tiourea, cuyo esqueleto además de comprender un entorno quiral presente un grupo funcional amino básico, demostrándose su gran aplicabilidad en síntesis estereoselectiva.³¹⁴

³¹³Okino, T.; Hoashi Y.; Takemoto Y., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12672-73.

³¹⁴a) Serdyuk, O.V.; Heckel, C.M.; Tsogoeva S.B. *Org. Biomol. Chem.*, **2013**, *11*, 7051-7071. b) Fang, X.; Wang, C.-J. *Chem. Commun.*, **2015**, *51*, 1185-1197. c) Connon, S. J., *Synlett*, **2009**, *3*, 354-376.

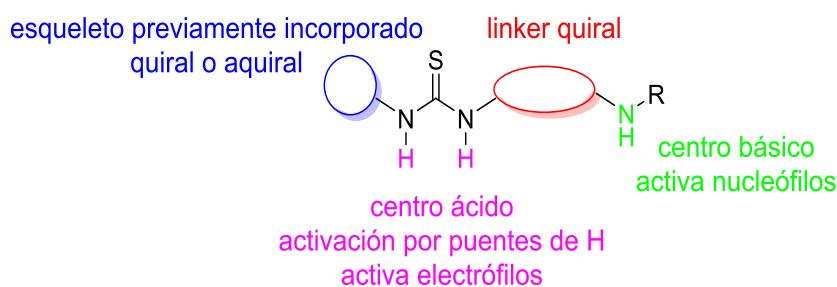


Figura 2.9. Representación esquemática de la doble activación del sustrato con organocatalizadores bifuncionales de tipo tiourea.

En este sentido, numerosos ejemplos de organocatalizadores bifuncionales por combinación de tiourea y aminas quirales han sido descritos en la bibliografía.³¹⁵ No obstante, en ningún caso incluyen en su estructura la agrupación imidazolina.

Las imidazolininas son una clase de heterociclos que han atraído la atención de los químicos por su presencia en productos naturales y como parte activa en numerosos compuestos farmacéuticos. Adicionalmente, sus características estructurales las convierten en atractivas agrupaciones en la preparación de ligandos para la síntesis asimétrica de compuestos quirales.³¹⁶ En la literatura se pueden encontrar diversos ejemplos de imidazolininas empleadas como ligandos quirales en reacciones estereoselectivas: alquilaciones alílicas,³¹⁷ Diels-Alder,³¹⁸ epoxidaciones,³¹⁹ cicloisomerizaciones,³²⁰ reacción de Henry³²¹ y alquilaciones de Friedel-Crafts³²² entre otras.

Este tipo de heterociclos podrían resultar muy interesantes para el diseño de organocatalizadores bifuncionales ya que poseen dos tipos de nitrógenos distintos, uno

³¹⁵Takemoto, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **2010**, *58*, 593-601.

³¹⁶Liu, H., Du, D-M. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 489-519.

³¹⁷Boland, N. A.; Casey, M.; Hynes, S. J.; Matthews, J. W.; Iler-Bunz, H. M.; Wilkes, P. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, *2*, 1995-2002.

³¹⁸Davenport, A. J.; Davies, D. L.; Fawcett, J.; Russell, D. R. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **2001**, 1500-1503.

³¹⁹Bhor, S.; Anikumar, G.; Tse, M. K.; Klawonn, M.; Döbler, C.; Bitterlich, B.; Grotevendt, A.; Beller, M. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 3393-3396.

³²⁰Çetinkaya, B.; Alici, B.; Özdemir, İ.; Bruneau, C.; Dixneuf, P.H.; *J. Organomet. Chem.* **1999**, *575*, 187-192.

³²¹Arai, T.; Yokoyama, N.; Yanagisawa, A. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 2052-2059.

³²²Nakamura, S.; Hyodo, K.; Nakamura, Y.; Shibata, N.; Toru, T. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, *350*, 1443-1448.

de tipo amina y otro imínico, formando parte de un anillo. Uno de los objetivos de este capítulo de la Tesis sería incorporar este tipo de estructura como fracción básica o nucleófila en nuestro organocatalizador.

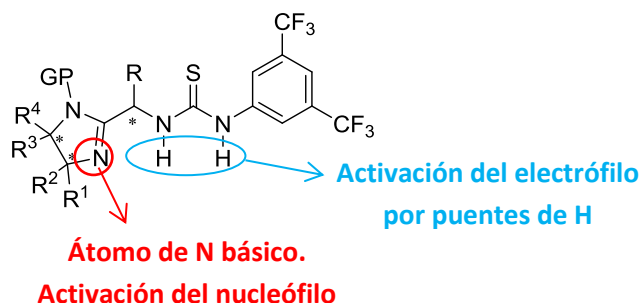
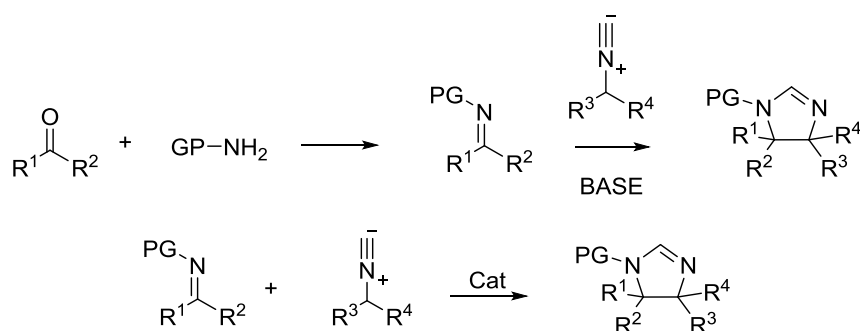


Figura 2.10 Propuesta de organocatalizador bifuncional.

Dado el interés que han despertado las imidazolinas en los últimos años se han descrito algunos métodos eficaces para su preparación. Algunos de ellos implican el uso de α -diaminas,³²³ aminoalcoholes,³²⁴ α -amino compuestos carbonílicos³²⁵ o incluso aziridinas por reacción con nitrilos.³²⁶

Sin embargo, la reacción de tipo aldólica entre isonitrilos e iminas, es una alternativa versátil para la preparación de este tipo de sustratos, ya sea mediante una estrategia multicomponente³²⁷ o mediante una catálisis metálica con Ag y Cu.³²⁸



Esquema 2.9. Síntesis de imidazolinas por reacción aldólica entre isonitrilos e iminas.

³²³Dalko, P.I.; Langlois, Y. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 8107-8117.

³²⁴Boland, N. A.; Casey, M.; Hynes, S.J.; Matthews, J. W.; Smyth, M.P., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3919-3922.

³²⁵Sharma, V.; Tepe, J. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 6091-5094.

³²⁶Gandhi, S.; Bisai, A.; Prasad, B.A.B.; Singh V.K., *J. Org. Chem.*, **2007**, *72*, 2133-2143.

³²⁷Elders, N.; Ruijter, E.; Kanter, F.J.J.; Groen M.B.; Orru, R.V.A. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4961-4973.

³²⁸Garragorri, D.B.; Bocokic, V.; Kirchner, K. *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 8641-8644.

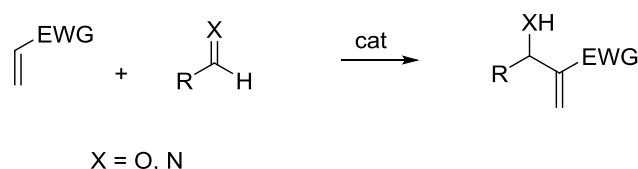
2.3.1. REACCIONES ENANTIOSELECTIVAS CATALIZADAS POR ORGANOCATALIZADORES BIFUNCIONALES DE TIPO TIOUREA.

En la bibliografía podemos encontrar una gran variedad de reacciones asimétricas para la formación de enlaces C-C en la que se emplean este tipo de organocatalizadores, como por ejemplo la reacción de Michael,³²⁹ Mannich,³³⁰ aza-Henry³³¹ y Friedel-Crafts³³² entre otras.

En nuestro caso y para el desarrollo del presente capítulo se ha escogido la reacción de Morita-Baylis-Hillman y la reacción de Strecker con el objeto de estudiar la aplicabilidad de nuestro organocatalizador de tipo tiourea en catálisis asimétrica.

2.3.1.1. REACCIÓN DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN

La reacción de Morita-Baylis-Hillman (MBH),³³³ generalmente definida como la condensación de un aldehído y una olefina deficiente en electrones (esquema 2.10), constituye una reacción muy versátil y de gran economía atómica que permite obtener compuestos polifuncionalizados de manera sencilla.³³⁴ Esta reacción es catalizada generalmente por bases de Lewis tales como aminas terciarias (DABCO) o fosfinas (PPh₃). Cuando el electrófilo es un imina, la reacción se conoce con el nombre de aza-Morita-Baylis-Hillman.



Esquema 2.10. Reacción Morita-Baylis-Hillman

³²⁹Li, X.; Zhang, B.; Xi, Z.-G.; Luo, S.; Cheng, J.-P., *Adv Synth. Catal.* **2010**, *352*, 416-424.

³³⁰Han, X.; Kwiatkowski, J.; Xue F., Huang, K.-W.; Lu, Y., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 7604-7607.

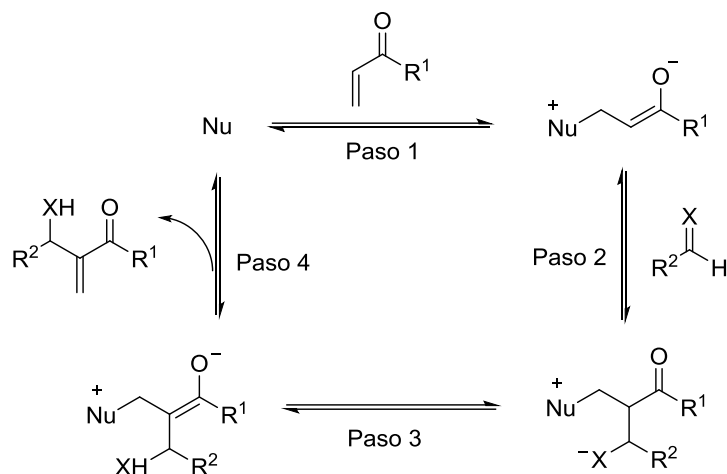
³³¹Okino, T.; Nakamura, S.; Furukawa, T.; Takemoto, Y., *Org. Lett.*, **2004**, *6*, 625-627.

³³²Dessole, G.; Herrera, R. P.; Ricci, A. *Synlett* **2004**, *13*, 2374-2378.

³³³a) Baylis, A. B.; Hillman, M. E. D. *German Patent* 2155113, **1972**. b) Morita, K.; Suzuki, Z.; Hirose H., *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **1968**, *41*, 2815.

³³⁴Basavaiah, D.; Rao, A. J.; Satyanarayana, T. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 811-892.

La reacción de MBH implica formalmente una secuencia de reacciones que consiste en una adición de Michael seguida de una reacción aldólica y β -eliminación. El mecanismo comúnmente aceptado es el que se muestra a continuación.



Esquema 2.11. Mecanismo de la MBH

Pese a su gran versatilidad, en ciertos casos, la aplicabilidad y utilidad de esta reacción se ve obstaculizada por los bajos rendimientos con los que transcurre y la necesidad de altas concentraciones de catalizador y largos tiempos de reacción. En este sentido se han llevado a cabo numerosos estudios para mejorar la eficiencia de la reacción basados en el empleo de diversos catalizadores, disolventes polares, aditivos, altas presiones, líquidos iónicos, etc.

Dado el gran potencial sintético que supone la transformación de MBH, el desarrollo de la versión asimétrica ha despertado un gran interés.³³⁵ En ese sentido, tioureas,³³⁶ imidazolinas,³³⁷ y otras aminas terciarias derivadas de pirrolidina o de los alcaloides cinchona³³⁸ se han descrito como excelentes organocatalizadores proporcionando buenos rendimientos.

³³⁵Masson, G.; Housseman, C.; Zhu, J., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4614-4628.

³³⁶Shi, Y-L. Shi, M., *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 2129-2135.

³³⁷Xu, J., Yang, S., Ng, Y., Peh, G., Tan, C-H. *Chem. Asian J.* **2006**, 724-729.

³³⁸Iwabuchi, Y.; Nakatani, M.; Yokoyama, N.; Hatakeyama, S., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 10219-10220.

En 2004, Connon y Maher demostraron por primera vez que *N,N'*-diaril(tio)ureas eran capaces de acelerar la reacción de MBH entre acrilatos de metilo y aldehídos por coordinación por puentes de H.³³⁹

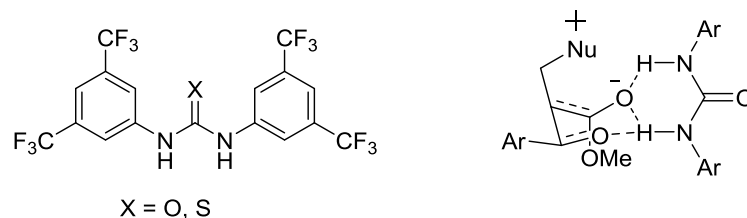
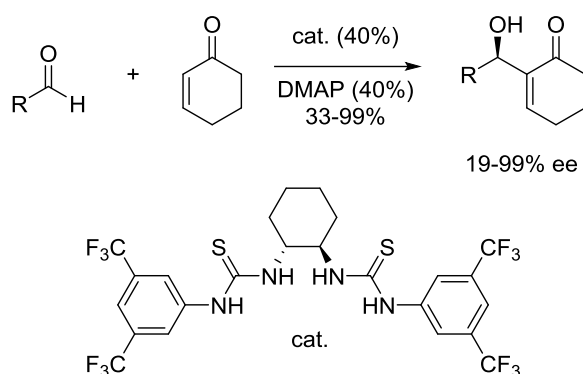


Figura 2.11. Doble activación por puentes de H de acrilato de metilo y aldehídos.

Esta posible doble activación postulada por Connon llevó al grupo de Nagasawa a sintetizar una bis-tiourea (esquema 2.12), que en combinación con DMAP era capaz de promover de manera enantioselectiva la reacción de MBH entre ciclohexenona y diferentes aldehídos.³⁴⁰



Esquema 2.12. Primera reacción de MBH enantioselectiva catalizada por bis-tiourea.

Posteriormente, Berkessel y colaboradores prepararon una versión quiral mejorada de la bis-tiourea anterior a partir de isoforondiamina (IPDA).³⁴¹ La reacción tenía lugar empleando un 20% de organocatalizador y sin disolvente, obteniéndose excesos enantioméricos superiores al 96%.

³³⁹Maher, D. J.; Connon, S. J., *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 1301-1305.

³⁴⁰Sohtome, Y.; Tanatani, A.; Hashimoto, Y.; Nagasawa, K. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 5589-5592.

³⁴¹Berkessel, A.; Roland, K.; Neudörfl, J. M. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4195-4198.

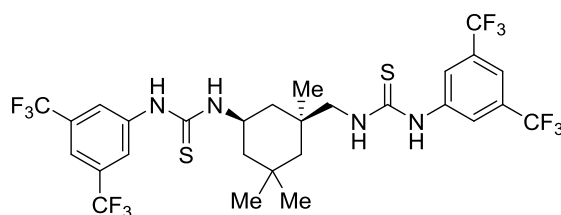


Figura 2.12. Organocatalizador quiral de tipo bis tiourea en MBH.

Jacobsen y colaboradores descubrieron otra aplicabilidad a un organocatalizador de tipo tiourea sintetizado y ensayado previamente en su grupo de investigación para la reacción de Mannich entre *N*-Boc iminas y silil enol éteres.

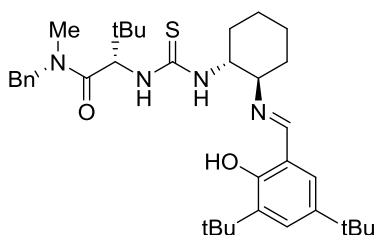


Figura 2.13. Organocatalizador de Jacobsen de tipo tiourea.

Este derivado resultó ser óptimo para la reacción de aza-Baylis-Hillman entre *N*-*p*-nitrobenzenosulfoniliminas y acrilato de metilo en presencia de DABCO, obteniéndose excesos enantioméricos superiores al 99%.³⁴²

Wang y colaboradores desarrollaron un organocatalizador bifuncional de tipo amino-tiourea que contenía un grupo binaftilo. En este caso el grupo dimetilamino actúa como base de Lewis iniciando la secuencia de reacción mientras, que la función tiourea actúa como ácido de Lewis activando el electrófilo.³⁴³

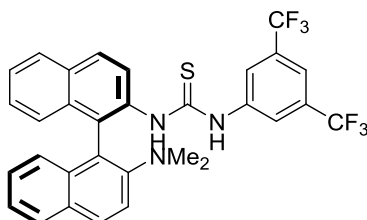


Figura 2.14. Organocatalizador bifuncional de Wang.

³⁴²Raheem, I. T.; Jacobsen, E. N., *Adv. Synth. Catal.* **2005**, *347*, 1701-1708.

³⁴³Wang, J.; Li H.; Yu, X.; Zu, L.; Wang, W., *Org. Lett.* **2005**, *7*, 4293-4296.

Nuestro interés se centrará en investigar la potencial actividad de nuestro organocatalizador bifuncional de tipo tiourea en la reacción de MBH. En ese sentido se estudiará si la presencia del núcleo de imidazolina permite la asociación de los reactivos a través del átomo de N del heterociclo, teniendo así una doble activación de los sustratos.

Para defender esta hipótesis se plantean dos posibles escenarios: La primera alternativa está basada en la coordinación de la urea al fragmento de acrilato y la imidazolina al compuesto carbonílico, mientras que la otra posibilidad supondría necesariamente la intervención del N enamínico en la estabilización del acrilato. El grupo fluorado jugaría un papel importante en la estabilización del sistema, favoreciendo la coordinación debido al incremento del carácter ácido del NH enamínico.

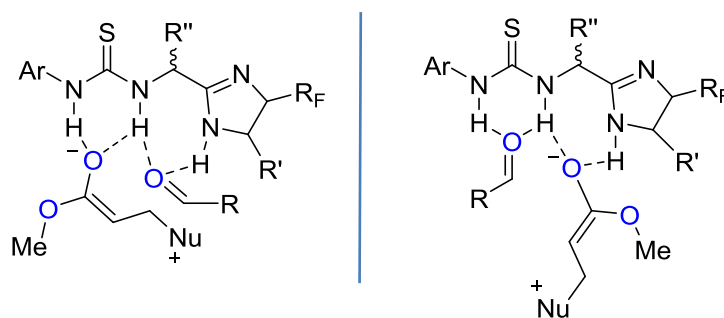


Figura 2.15. Hipótesis de la doble activación de sustratos con nuestro organocatalizador

2.3.1.2 REACCIÓN DE STRECKER

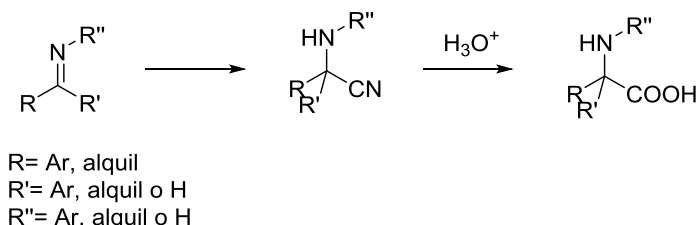
La síntesis de Strecker es uno de los métodos sintéticos más atractivos para la obtención de (\pm)- α -aminoácidos y otros compuestos bioactivos, siendo precursores importantes en la síntesis de productos naturales complejos. Además, éstos presentan numerosas aplicaciones tanto en el campo de la química médica³⁴⁴ como en catálisis asimétrica.³⁴⁵ Por este motivo la comunidad científica ha tratado de impulsar el desarrollo de la versión enantioselectiva de esta reacción.³⁴⁶ La variante clásica representa la

³⁴⁴a) Wang, L.; Shultz, P. G. *Angew. Chem. Int. Edn Engl.* **2005**, *44*, 34-66. b) Tsantrizos, Y. S. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1252-1263.

³⁴⁵a) Davie, E. A. C.; Mennen, S. M.; Xu, Y. J.; Miller, S. J. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5759-5812. b) Helmchen, G.; Pfaltz, A. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 336-345.

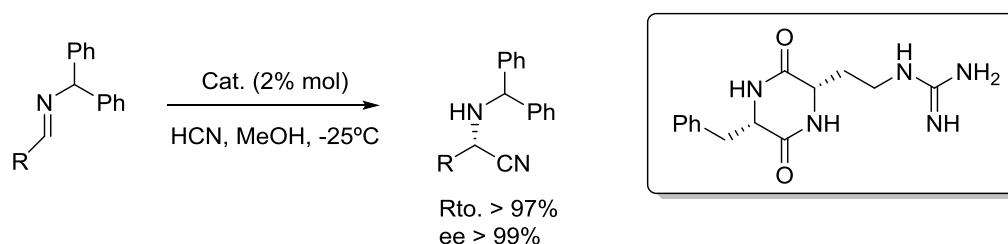
³⁴⁶a) Wang J.; Liu, X.; Feng, X. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6947-6983. b) Cai, X.-H.; Xie, B., *ARKIVOC*, **2014** (*i*) 205-248.

condensación de aldehídos o cetonas con aminas para dar lugar a iminas (base de Schiff). Dichas iminas reaccionan con el anión CN^- (generado vía KCN o HCN) para dar α -aminonitrilos, cuya hidrólisis origina el α -aminoácido deseado.



Esquema 2.13. Reacción de Strecker

En el campo de organocatálisis, la primera reacción de Strecker enantioselectiva fue descrita por Lipton y colaboradores en 1996.³⁴⁷ Su investigación describía el uso de un organocatalizador quiral que contenía un núcleo de dicetopiperazina, obteniéndose excesos enantioméricos superiores al 99%.



Esquema 2.14. Primer ejemplo de reacción de Strecker organocatalizada.

Después del éxito obtenido, numerosos grupos de investigación se sumaron al desarrollo de nuevos organocatalizadores para la reacción de Strecker enantioselectiva. Estos organocatalizadores incluyen ácidos fosfóricos quirales derivados de BINOL,³⁴⁸ catalizadores de transferencia de fase,³⁴⁹ derivados de cinchona,³⁵⁰ ureas y tioureas,³⁵¹ bisformamidas³⁵² y *N*-óxidos entre otros.

³⁴⁷Iyer, M. S.; Gigstad, K. M.; Namdev, N. D.; Lipton M., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4910-4911.

³⁴⁸Zhang, G-W.; Zheng, D-H.; Nie, J.; Wang, T.; Ma, J-A. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 1399.

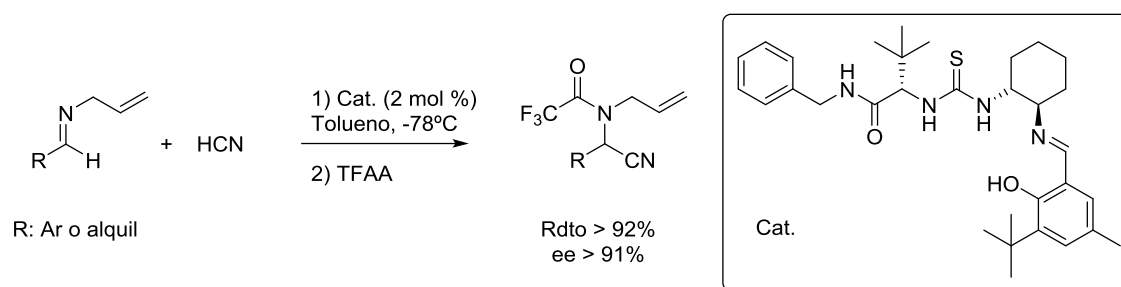
³⁴⁹Yan, H. L. Oh, J. S.; Lee, J. -W.; Song, C. E. *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 1212.

³⁵⁰Reingruber, R.; Baumann, T.; Dahmen S.; Bräse, S. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 1019.

³⁵¹Zhang, F-G.; Zhu, X-Y.; Li, S.; Nie, J.; Ma, J-A. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11552.

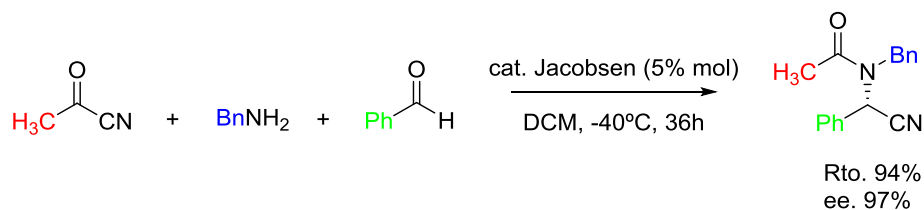
³⁵²Saravanan, S.; Sadhukhan, A.; Khan, N. H.; Kureshy, R. I.; Abdi, S. H. R.; Bajaj, H. C. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 4375.

En 1998, el grupo de Jacobsen describió por primera vez el uso de un organocatalizador quiral de tipo tiourea para la reacción de Strecker enantioselectiva.³⁵³



Esquema 2.15. Primera reacción de Strecker catalizada por un derivado de tiourea.

En 2007, Pan y List estudiaron la aplicabilidad del organocatalizador de Jacobsen en la reacción de acilcianación de iminas generadas *in situ*.³⁵⁴ En esta variante multicomponente de la reacción de Strecker se obtuvieron amido nitrilos con excelentes rendimientos y enantioselectividades, evitando el uso de HCN altamente tóxico.



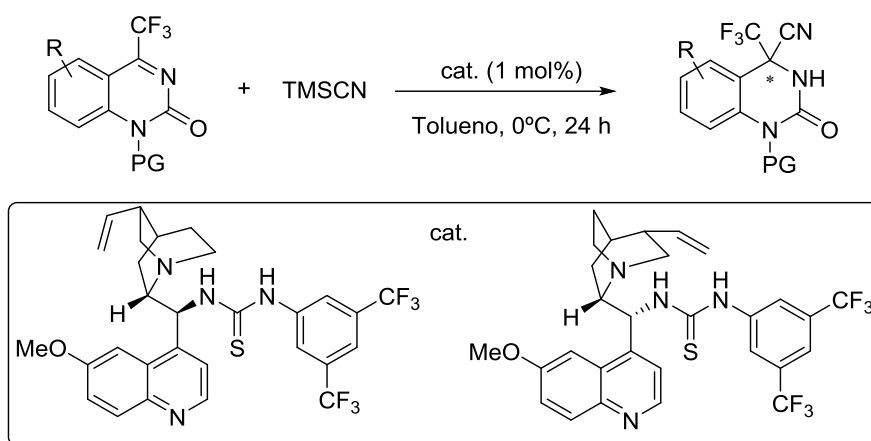
Esquema 2.16. Reacción catalítica asimétrica multicomponente de Acil-Strecker

En el año 2012, Ma y colaboradores describieron el uso de tioureas derivadas de cinchona como organocatalizadores eficaces para la reacción de Strecker. La ventaja del proceso es que ambos enantiómeros eran obtenidos con elevados rendimientos (91-99%) y enantioselectividades (90-97%).³⁵⁵

³⁵³Sigman, M. S.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901-4902.

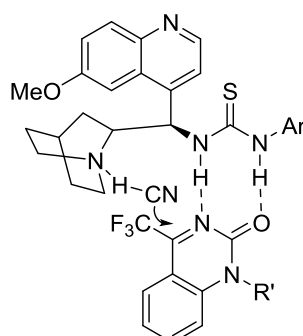
³⁵⁴Pan, S. C.; List, B. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1149.

³⁵⁵Zhang, F-G.; Zhu, X-Y.; Li, S.; Nie, J.; Ma, J-A. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 11552.



Esquema 2.17. Reacción de Strecker catalizada por tioureas derivadas de cinchona

Respecto al mecanismo de la reacción, el organocatalizador actúa activando ambos sustratos: los NH de la agrupación tiourea se coordinan por puentes de H con las trifluorometilquinazolin-2(1H)-onas, mientras que el HCN generado *in situ* es activado por la amina terciaria, que actúa como una base de Lewis.



Esquema 2.18. Plausible mecanismo de la reacción.

En el estudio de la reacción de Strecker con nuestro organocatalizador bifuncional de tipo tiourea se podrían plantear dos posibles alternativas: La primera consistiría en la activación de aldiminas a través de la coordinación por puentes de H con la agrupación tiourea, mientras que la imidazolina actuaría como porción básica activando el nucleófilo (CN^-). La segunda alternativa consistiría en la formación de un par iónico iminio/cianuro que se coordinaría con el organocatalizador a través de interacciones no covalentes. De esta manera el HCN activaría la imina frente al ataque nucleofílico.

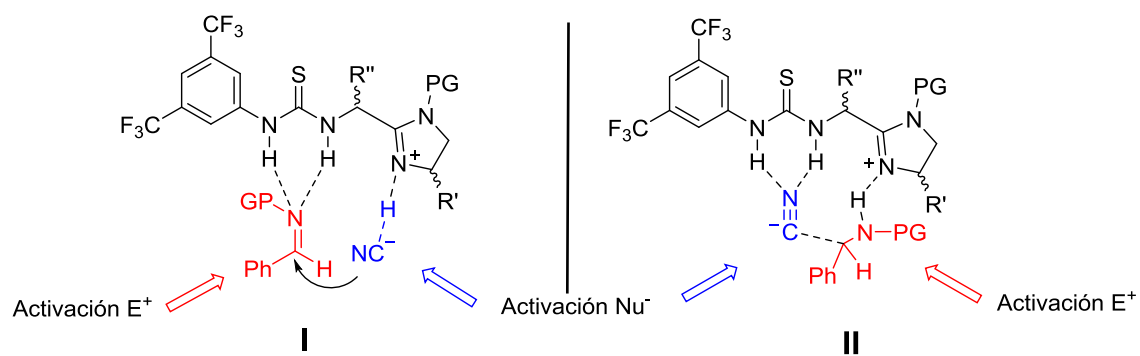


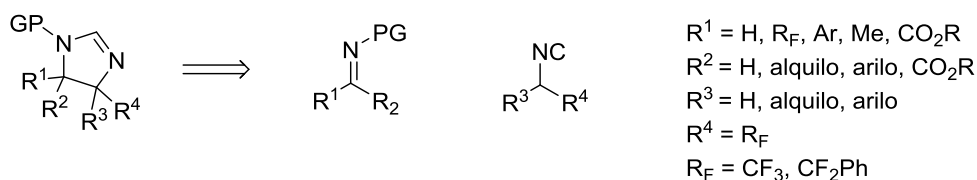
Figura 2.16. Hipótesis de la doble activación de sustratos con nuestro organocatalizador.

3. OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

Continuando con el interés de nuestro grupo por la preparación de sistemas nitrogenados fluorados y con la intención de explorar su potencial aplicación en catálisis asimétrica, nos planteamos los siguientes objetivos.

El **objetivo** principal del presente capítulo de la tesis se centra en la síntesis de 2-imidazolinias polifuncionalizadas en C4 y en C5, a partir de precursores nitrogenados por reacción de iminas con isonitrilos, tal y como se muestra en el esquema 2.19. Se estudiará la síntesis de diversas 2-imidazolinias en las que el sintón fluorado pueda venir tanto de la imina como del isonitrilo.



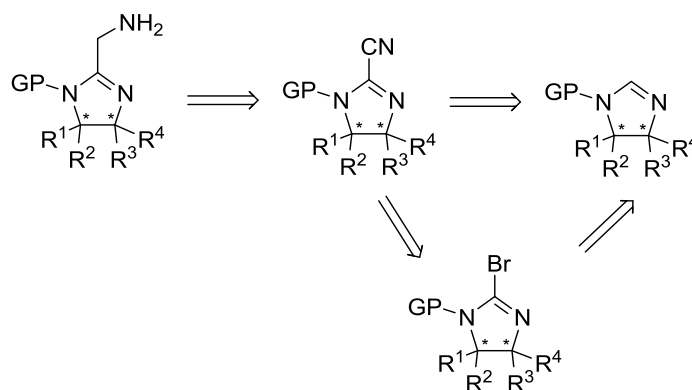
Esquema 2.19. Esquema retrosintético para la preparación de imidazolinias a partir de isonitrilos.

Posteriormente se estudiará la funcionalización de las imidazolinias en el C2 para su conversión en agrupaciones de utilidad en catálisis. En ese sentido, nuestro primer objetivo será la alquilación de C2 mediante transformaciones que pueden desarrollarse por medio de cianación directa³⁵⁶ seguida de reducción selectiva a una agrupación metilamina.³⁵⁷ La preparación del ciano derivado podría hacerse a través de la halogenación y acoplamiento catalizado por Pd, o por reacción con cianuros alcalinos mediante una secuencia de adición eliminación propia de los haluros de imidoílo.³⁵⁸

³⁵⁶Castellanos, M.L. Llinás, M., Bruix, M., De Mendoza, J., Martín, R., *J. Chem. Soc, Perkin Trans. 1* **1985**, 1209-15.

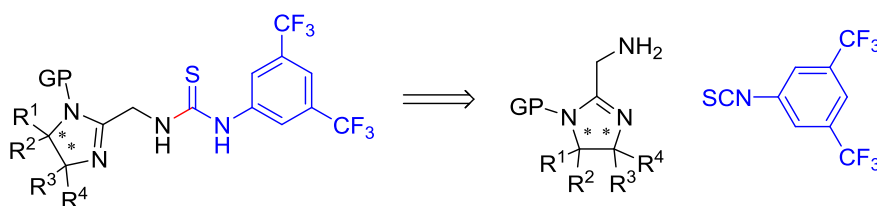
³⁵⁷Tohru, U., Yuji, N., Akira, M., *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33, 3263-3270.

³⁵⁸Butora, G.; Schmitt, C.; Levorse, D.A.; Streckfuss, E.; Doss, G.A.; MacCoss, M. *Tetrahedron* **2007**, 63, 3782-3789.



Esquema 2.20. Esquema retrosintético propuesto para la funcionalización de las imidazolininas.

Una vez obtenidas las diferentes imidazolininas funcionalizadas en el C2, se procederá a la obtención de los organocatalizadores bifuncionales mediante la reacción del grupo amino libre de la imidazolinina con un isotiocianato.



Esquema 2.21. Esquema retrosintético para la formación del organocatalizador

Finalmente, estudiaríamos **la utilidad de todos estos sistemas en catálisis**. Concretamente abordaremos su potencial utilidad en la reacción de Morita-Baylis-Hillman y en la reacción de Strecker.

4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Tal y como se ha comentado anteriormente, el objetivo principal del presente capítulo de la tesis se centra en el estudio de la síntesis de 2-imidazolinias polifuncionalizadas para su posterior aplicación en el diseño de organocatalizadores bifuncionales. Para alcanzar dicho objetivo se plantearon varias alternativas sintéticas que se discutirán a continuación.

4.1 PREPARACIÓN DE IMIDAZOLINAS FLUORADAS A PARTIR DE PRECURSORES NITROGENADOS POR REACCIÓN DE IMINAS CON ISONITRILOS.

4.1.1 SÍNTESIS DE ALDIMINAS

Las aldiminas que se muestran en la Tabla 2.1 se prepararon siguiendo el procedimiento general descrito en la bibliografía.^{359,360,361}

Los grupos protectores del nitrógeno (R^2) se eligieron con el objeto de comparar la reactividad de las aldiminas con grupos electrón-dadores, como el *p*-metoxifenil (PMP), frente a grupos electrón-aceptores, como el *p*-toluensulfonil (Ts). Estos últimos son capaces de aumentar la electrofilia del carbono imídico, facilitando así el ataque del anión isonitrilo.

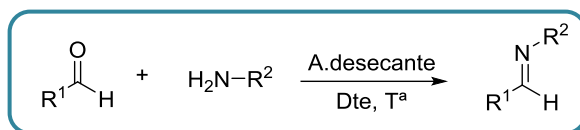
La gran ventaja de los procedimientos empleados para la formación de iminas es que son reacciones cortas y muy limpias, por lo que no es necesario purificar los compuestos por cromatografía de columna.

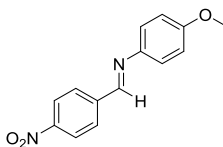
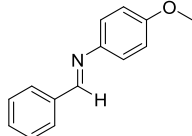
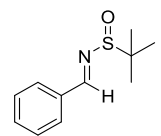
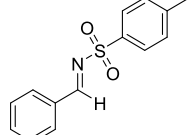
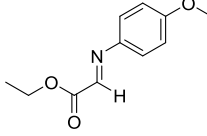
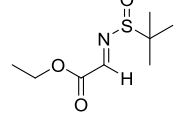
³⁵⁹Naka, H.; Koseki, D.; Kondo, Y. *Adv. Synth. Catal.*, **2008**, *350*, 1901-1906.

³⁶⁰De Lamo Marin, S.; Catala, C.; Ratna Kumar, S.; Valleix, A.; Wagner, A.; Mioskowski, C. *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 3985-3989.

³⁶¹Ardej-Jakubisiak, M.; Kawecki, R.; Swietlinska, A.; *Tetrahedron: Asymm.*, **2007**, *18*, 2507-2509.

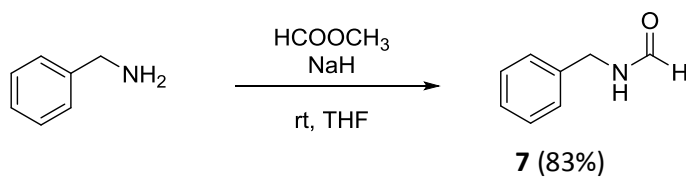
Tabla 2.1. Condiciones empleadas para la obtención de las aldiminas intermedias en la síntesis de imidazolinas polifuncionalizadas.



Compuesto	R ¹	R ²	Dte	T ^a	Aditivo	Producto	Rto.
1	4-NO ₂ Ph	PMP	DCM	rt	MgSO ₄		98%
2	Ph	PMP	EtOH	rt	3Å MS		93%
3	Ph	tBu-S=O	MeOH	rt	NaOH		82%
4	Ph	Ts	Tolueno	Reflujo			60%
5	CO ₂ Et	PMP	Tolueno	Reflujo	Na ₂ SO ₄		Quant.
6	CO ₂ Et	tBu-S=O	DCM	rt	4Å MS		88%

4.1.2. ISONITRILOS NO FLUORADOS

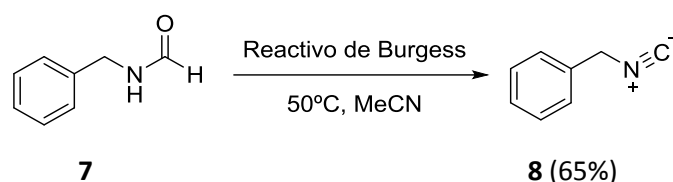
El estudio se inició con la preparación de isocianometil benceno a partir de bencil amina.



Esquema 2.22. Obtención de *N*-bencilformamida.

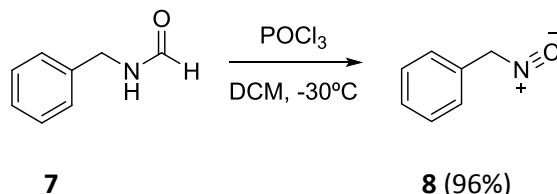
La primera etapa de la síntesis consistió en la obtención de la formamida correspondiente, la cual se preparó mediante un procedimiento de formilación empleando un exceso de base fuerte (NaH) y formiato de metilo como electrófilo.³⁶² El formiato de metilo tiene la ventaja de ser un reactivo que supone una buena economía atómica y el residuo que genera es alcohol metílico, el cual se elimina fácilmente.

A continuación se exploraron varios métodos y condiciones para llevar a cabo la deshidratación del compuesto **7**, etapa clave en la formación del isonitrilo. En primer lugar se empleó el reactivo de Burgess ($C_8H_{18}N_2O_4S$; Metil *N*-(trietilamoniosulfonil) carbamato) como agente deshidratante.³⁶³ Dicho reactivo es considerado un buen agente de deshidratación, de fácil manipulación y soluble en disolventes orgánicos, que permite emplear unas condiciones de reacción suaves.



Esquema 2.23. Deshidratación de la *N*-bencilformamida empleando el reactivo de Burgess.

Pese a que la reacción había funcionado bien, el elevado precio del reactivo de Burgess llevó a la búsqueda de nuevas alternativas para llevar a cabo la deshidratación. Así pues se trató de realizar esta transformación pero empleando $POCl_3$ como agente deshidratante.



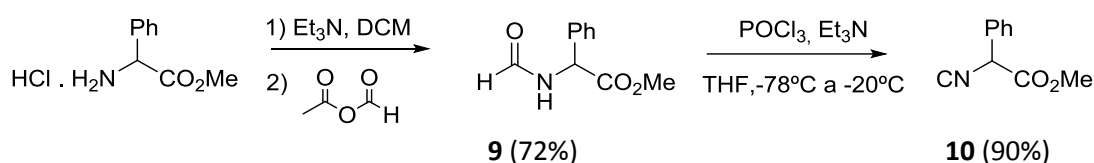
Esquema 2.24. Deshidratación de la *N*-bencilformamida empleando $POCl_3$.

³⁶²Deutsch, J.; Eckelt, R.; Kockritz, A.; Martin, A., *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 10365-10369.

³⁶³Creedon, S. M.; Crowley, H. K.; McCarthy, D. G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1998**, 1015-1017.

Tal y como se puede apreciar en el esquema 2.24, la reacción trascurrió con mayor rendimiento que en el caso anterior, por lo que se concluyó que la deshidratación empleando POCl_3 , un reactivo menos tóxico y más asequible en comparación con el reactivo de Burgess, era la mejor opción para llevar a cabo las subsecuentes deshidrataciones.

Siguiendo el curso de la investigación, se procedió a preparar otro isonitrilo de interés a partir del hidrocloreto del éster de fenilglicina comercial. Este sustrato se hizo reaccionar con anhídrido acético mixto para obtener la formamida correspondiente (compuesto **9**), la cual por deshidratación con POCl_3 se transformó en el isonitrilo deseado.³⁶⁴



Esquema 2.25. Obtención del compuesto **10** a partir de fenilglicina metil éster.

Una vez estudiada la validez del procedimiento sintético en sustratos no fluorados y comprobada la coherencia de la ruta, se procedió a la investigación de isonitrilos fluorados funcionalizados.

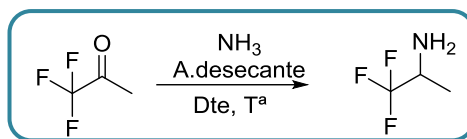
4.1.3 ISONITRILOS FLUORADOS

En el caso de los isonitrilos fluorados, la primera reacción que se llevó a cabo fue la síntesis de la 2,2,2-trifluorobencilamina a partir de 2,2,2-trifluoroacetofenona mediante una reacción de aminación reductora.³⁶⁵ Para optimizar esta reacción se probaron varias aminas, agentes reductores, catalizadores, disolventes y agentes desecantes (Tabla 2.2).

³⁶⁴Bon, R. S.; Hong, C; Bouma, M. J.; Schmitz, R. F.; de Kanter, F. J. J.; Lutz, M.; Spek, A. L.; Orru, R.V.A. *Org. Lett.*; **2003**, *5*, 3759-3762.

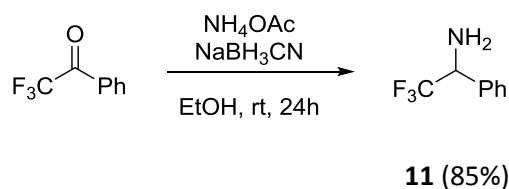
³⁶⁵Abdel-Magid, A. F.; Carson, K. G.; Harris, B. D.; Maryanoff, C. A.; Shah, R. D., *J. Org. Chem*, **1996**, *61*, 3849-3862.

Tabla 2.2. Condiciones de reacción para la aminación reductora de la 2,2,2-trifluoroacetofenona.



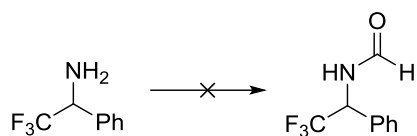
Entrada	Fuente de N	Reductores	Dte.	A. Desecante	Catalizador	Rto.
1	NH ₄ HCO ₂	NaBH(OAc) ₃	Dicloroetano	4Å MS	AcOH	--
2	NH ₄ OAc	NaBH(OAc) ₃	Etanol	4Å MS	AcOH	56%
3	NH ₄ OAc	NaBH ₃ CN	Etanol	No	No	85%

El formiato amónico (entrada 1) presenta baja solubilidad en disolventes orgánicos, por lo que la reacción no transcurre favorablemente. Por otra parte el acetato amónico, mucho más soluble, nos permitió obtener el producto deseado con un rendimiento del 56%. Con el objeto de mejorar el rendimiento de la reacción se decidió cambiar el agente reductor NaBH(OAc)₃ por NaBH₃CN. A pesar de ser un reactivo más caro y tóxico que el NaBH(OAc)₃, el empleo de NaBH₃CN hizo aumentar el rendimiento hasta un 85%.



Esquema 2.26. Obtención del compuesto **11**

Una vez obtenido el compuesto **11** se procedió a la preparación de la formamida correspondiente. En este caso la reacción con formiato de metilo no condujo al producto esperado lo que llevó a probar nuevas condiciones de reacción.



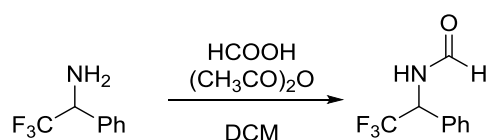
12

- a) HCO_2NH_4 , CH_3CN , reflujo
 b) HCOOH , HCOONa , rt, solvent-free

Esquema 2.27. Condiciones empleadas para la obtención del compuesto **12**

Hay que señalar en este punto que nuestro compuesto nitrogenado es poco reactivo por la presencia del grupo CF_3 que ejerce un efecto electrón-atrayente, reduciendo la nucleofilia del átomo de nitrógeno. Éste podría ser el motivo por el que ninguna de las pruebas anteriores resultó dar la formamida deseada (esquema 2.27).

Por última instancia se probó la formación de la misma, a través del anhídrido mixto, agente de formilación más reactivo. En esta ocasión, la reacción dio lugar al compuesto deseado con un rendimiento del 42%. El éxito de esta reacción depende en gran medida de la pureza del ácido fórmico empleado, puesto que puede hidratarse dificultando el transcurso de la reacción.



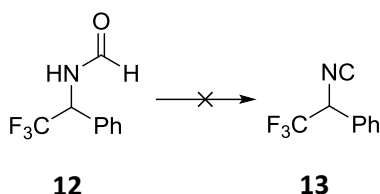
12 (42%)

Esquema 2.28. Condiciones para la formación del compuesto **12**

Para llevar a cabo la etapa de deshidratación, se estudiaron diferentes reactivos (esquema 2.29) que pudieran producir este efecto sobre la formamida fluorada sintetizada. En primer lugar la reacción se llevó a cabo con POCl_3 , dado que había proporcionado buenos resultados con los isonitrilos no fluorados. No obstante, la reacción no evolucionó de manera favorable y no se logró obtener el isonitrilo deseado.

Por otra parte, el reactivo de Burgess tampoco era lo suficientemente reactivo como para llevar a cabo esta transformación. Una búsqueda bibliográfica más detallada puso de manifiesto que los sistemas fluorados requerían el uso de difosgeno (triclorometil cloroformiato) o trifosgeno (bis(triclorometil) carbonato) para llevar a cabo el proceso de

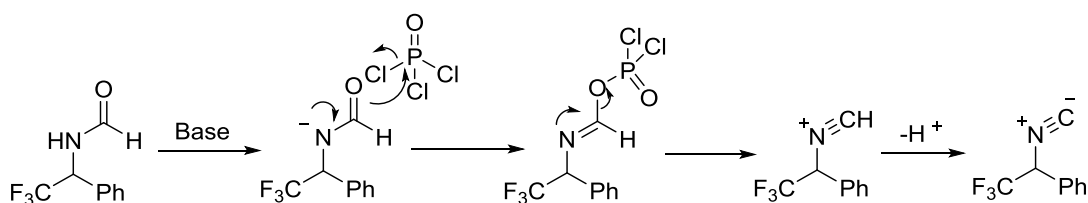
deshidratación.³⁶⁶ En este sentido se ensayó dicha transformación empleando los reactivos mencionados, esperando obtener resultados satisfactorios. Sin embargo, en lugar de obtenerse el isonitrilo deseado se observó la hidrólisis de la formamida de partida, aislándose de nuevo la amina inicial.



- a) 1.5 eq POCl₃, 6 eq EtMe₂N, DCM -30°C, 2h
- b) 2 eq PPh₃, 2 eq CCl₄, 2 eq NEt₃, DCE, 60°C 2h
- c) 3 eq POCl₃, 5 Et₃N, DCM, de -30°C a ta., 3h
- d) 1.5 eq POCl₃, 5 Et₃N, DCM, de 0°C a ta., 48h
- e) 1 eq reactivo Burgess, CH₃CN, 50°C 72h
- f) 1 eq difosgeno, 2 eq Et₃N, DCM, de 0°C a ta. 12h
- g) 2 eq trifosgeno, 3 eq LDA, THF, -78°C → -50°C → 0°C → rt.
- h) 2 eq CDI, 3 eq Et₃N, THF, de 0°C a ta 24h
- i) 2 eq trifosgeno, 3 eq NMM, THF, de 0°C a ta. 48h
- j) 1.3 POCl₃, 5 Et₃N, THF, de -30°C a ta. 24h
- k) 1.2 eq trifosgeno, 3 eq Et₃N (después), DCM, de 0°C a ta., 24h
- l) 2 eq trifosgeno, 3 eq Et₃N (después), THF 0°C a ta., 24h
- m) 2 eq trifosgeno, 3 eq DBU, THF, de 0°C a ta.
- n) 2 eq trifosgeno, 3 eq Et₃N (después), DCM, de 0°C a ta, 24h

Esquema 2.29. Diferentes condiciones ensayadas para la síntesis del compuesto **13**

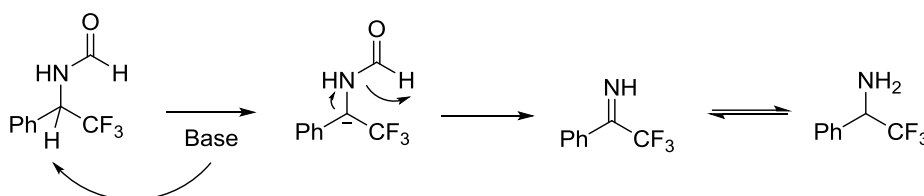
En el esquema anterior se reflejan los numerosos ensayos realizados para lograr deshidratar la formamida **12**. Lamentablemente ninguno de los intentos realizados dio lugar a la obtención del compuesto deseado. Así pues, parece que nuestro sustrato inicial no es lo suficientemente reactivo como para facilitar el proceso de deshidratación (esquema 2.30).



Esquema 2.30. Posible mecanismo de deshidratación del compuesto **13**

³⁶⁶Burger, K.; Schierlinger, C.; Mutze, L., *Journal of Fluorine Chemistry*, **1993**, *65*, 149-152.

La hipótesis que se plantea para explicar esta falta de reactividad está basada en la existencia de un protón más ácido en la molécula que el del grupo amino, el cual se desprotonará antes dando lugar al producto de hidrólisis en lugar del de deshidratación. Por lo tanto, si el H contiguo al grupo CF_3 es un hidrógeno más ácido que el del NH se podría explicar la poca inercia del compuesto **13** a deshidratarse.



Esquema 2.31. Posible mecanismo de hidrólisis.

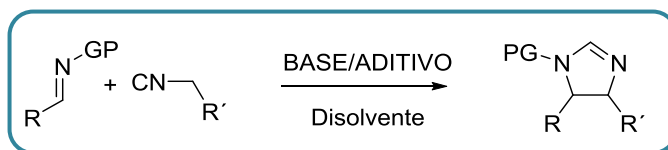
Dada la imposibilidad de obtener el isonitrilo fluorado, todos nuestros esfuerzos se centraron en evaluar la reactividad de las iminas sintetizadas previamente haciéndolas reaccionar con los isonitrilos no fluorados obtenidos.

4.1.4 SÍNTESIS DE IMIDAZOLINAS

Con la intención de evaluar la reactividad de las iminas sintetizadas se compararon dos isonitrilos no fluorados comerciales: Tosmic (*p*-toluensulfonilmetilisonitrilo) y etilisocianoacetato. Los isonitrilos sintetizados previamente (compuesto **8** y compuesto **10**) eran de costosa manipulación debido al olor tan desagradable que presentaban. Los isonitrilos comerciales presentaban la ventaja de ser bastante estables e inodoros, siendo candidatos óptimos para el estudio de formación de imidazolininas a partir de los precursores previamente descritos.

En la siguiente tabla se describen las condiciones ensayadas en la preparación de estas imidazolininas y los resultados obtenidos.

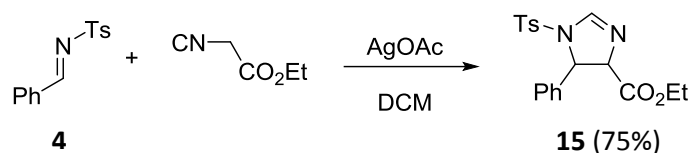
Tabla 2.3. Condiciones empleadas en la síntesis de imidazolinas



Entrada	R	R'	GP	BASE/ADITIVO	Dte.	Rto.
1	Ph	Ts	PMP	NaH	DCM	SP
2	Ph	Ts	PMP	NaH	THF	SP
3	Ph	Ts	PMP	DBU	DCM	SP
4	Ph	Ts	PMP	Na ₂ SO ₄	MeOH	SP
5	Ph	CO ₂ Et	PMP	Na ₂ SO ₄	MeOH	SP
6	Ph	Ts	tBu-S=O	DBU	DCM	SP
7	Ph	Ts	tBu-S=O	NaH	THF	SP
8	Ph	Ts	tBu-S=O	LDA	THF	SP
9	CO ₂ Et	Ts	tBu-S=O	LDA	THF	SP
10	Ph	CO ₂ Et	Ts	LDA	THF	Mezcla de productos
11	Ph	Ts	Ts	DBU	DCM	Compuesto 14 67%
12	Ph	CO ₂ Et	Ts	DBU	DCM	Compuesto 15 73%

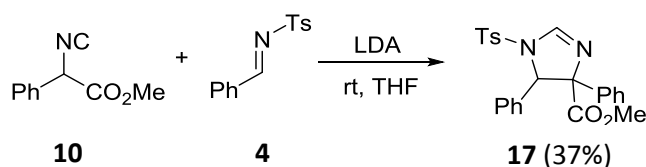
Tal y como se observa en la Tabla 2.3, las condiciones que mejores resultados proporcionaron son las correspondientes a las entradas 11 y 12. En estos casos la imina se hizo reaccionar en condiciones ligeramente básicas (20% de DBU) y a temperatura ambiente, obteniéndose las correspondientes imidazolinas con buenos rendimientos. De esta manera se pone de manifiesto la necesidad de un grupo fuertemente electrón atrayente sobre el átomo de nitrógeno de la imina.

Adicionalmente y dado que el acetato de plata (I) actúa como catalizador en la cicloadición del isocianoacetato de metilo a aceptores de Michael,³⁶⁷ se llevaron a cabo ensayos en presencia de este catalizador, especulando que podría actuar como ácido de Lewis activando el isonitrilo.



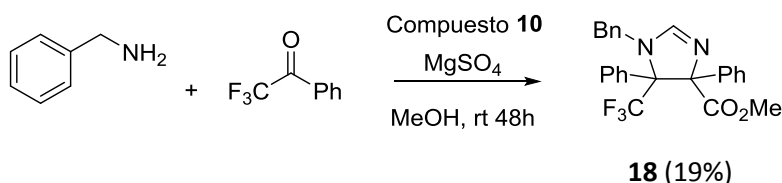
Esquema 2.32. Obtención de la imidazolina **15** por activación con acetato de plata (I)

A continuación, se llevaron a cabo varias pruebas con el isonitrilo no fluorado sintetizado previamente (esquema 2.25) y tosylimina. Solamente se obtuvo la imidazolina deseada con un 37% de rendimiento cuando se emplea como base LDA (esquema 2.33).



Esquema 2.33. Obtención del compuesto **17**

Este resultado algo alentador nos hizo buscar nuevas alternativas. Puesto que uno de los objetivos era preparar imidazolininas fluoradas se decidió probar un procedimiento alternativo de síntesis de imidazolininas descrito por Orru y col.,³⁶⁸ en la que se lleva a cabo la síntesis de imidazolininas mediante una reacción multicomponente (esquema 2.34).



Esquema 2.34. Preparación de la imidazolina fluorada **18**

Aunque diversas fuentes bibliográficas revelan que esta reacción transcurre con óptimos resultados, en nuestro caso y después de varios ensayos, solamente fuimos capaces de aislar el producto con un 19% de rendimiento.

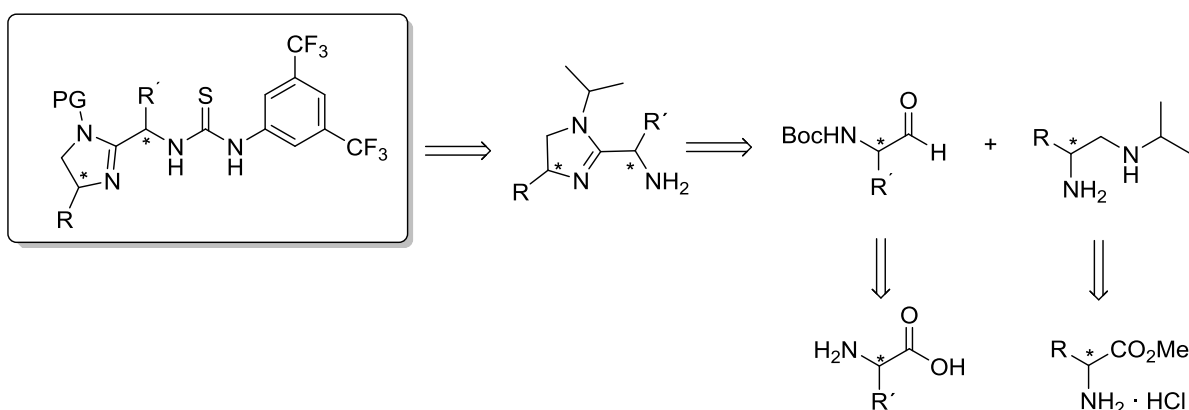
³⁶⁷Grigg, R.; Lansdell, M. I.; Thornton-Pett, M. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 2025-2044.

³⁶⁸Creedon, S. M.; Crowley, H. K.; McCarthy D. G., *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **1998**, 1015-1017.

Debido a los bajos rendimientos obtenidos en la síntesis de imidazolininas a partir de iminas e isonitrilos y los problemas indicados anteriormente para la introducción de átomos de F, decidimos concretar más el objetivo, aprovechando también la experiencia del grupo de investigación.

Por lo tanto, con el objeto de introducir quiralidad en el anillo de imidazolina se decidió iniciar un estudio complementario para la preparación de imidazolininas quirales no fluoradas y su posterior incorporación en moléculas más funcionalizadas.

Para llevar a cabo este objetivo se propuso una nueva ruta sintética en la que la etapa clave consistirá en la obtención de imidazolininas quirales mediante condensación de aldehídos con 1,2-diaminas quirales. Una vez obtenidas las imidazolininas, éstas se harán reaccionar con fenil isotiocianatos sustituidos para la obtención de los diferentes organocatalizadores de tipo tiourea.



Esquema 2.35. Nueva ruta propuesta para la obtención de organocatalizadores bifuncionales a partir de imidazolininas quirales.

4.2 PREPARACIÓN DE IMIDAZOLINAS A PARTIR DE PRECURSORES NITROGENADOS POR CONDENSACIÓN DE 1,2-DIAMINAS QUIRALES CON ALDEHIDOS.

La síntesis de imidazolininas a partir de 1,2-diaminas es uno de los métodos más ampliamente estudiado por la comunidad científica.³⁶⁹ La gran ventaja que presenta este método es su facilidad y rapidez para introducir quiralidad mediante el uso de 1,2-diaminas enantioméricamente puras. Considerando la similitud estructural entre 2-imidazolininas y amidas, es lógico pensar inicialmente en el uso de ésteres o ácidos carboxílicos como fuente de C1 en el anillo de imidazolinina. Así pues, una mezcla 1:1 de la diamina y del ácido carboxílico o éster correspondiente se calienta directamente a elevada temperatura (≈ 150 °C) con la subsecuente eliminación de agua o alcohol formado en el proceso de condensación.³⁷⁰ Este método no suele ser empleado en la síntesis de 2-imidazolininas quirales puesto que requiere condiciones drásticas de reacción (elevada temperatura), que podría originar la pérdida de quiralidad en el producto final. No obstante, análogos a los ácidos carboxílicos como son los ésteres imídicos (imidatos) y los ortoésteres han sido ampliamente usados en la síntesis de 2-imidazolininas quirales, ya que implican el uso condiciones de reacción más suaves.^{371,372} Otra fuente de C1 pueden ser los nitrilos.³⁷³

Durante la década pasada se han desarrollado nuevas condiciones para dicha transformación empleando para ello ácidos de Lewis, ácidos de Bronsted u otras moléculas de tamaño pequeño que puedan actuar como catalizadores.

Uno de los métodos más recientes en la síntesis de imidazolininas a partir de diaminas quirales es el uso de aldehídos como fuente de C1. Considerando el hecho de que el estado de oxidación del C1 en las imidazolininas con respecto al de los aldehídos de partida es diferente, resulta necesario el uso de oxidantes después de la generación *in situ*

³⁶⁹Liu, H.; Du, D.-M. *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 489-519.

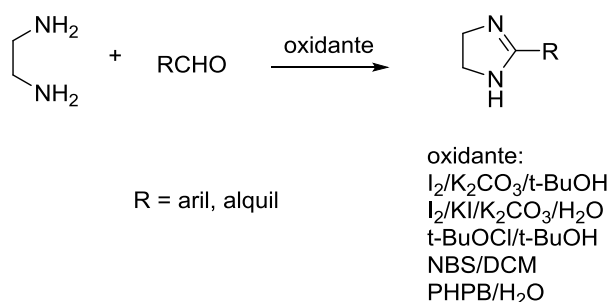
³⁷⁰Neef, G.; Eder, U.; Sauer, G.; *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 2824-28.

³⁷¹Dauwe, C.; Buddrus, J., *Synthesis* **1995**, 171-176.

³⁷²Jones, R. C. F.; Howard, K. J.; Snaith J. S., *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 1707-16.

³⁷³Rousselet, G.; Capdevielle, P.; Maumy, M., *Tetrahedron Lett.* **1993**, *34*, 6395-98.

del intermedio de imidazolina. En la bibliografía podemos encontrar diferentes sistemas de oxidación para llevar a cabo dicha transformación (esquema 2.36).



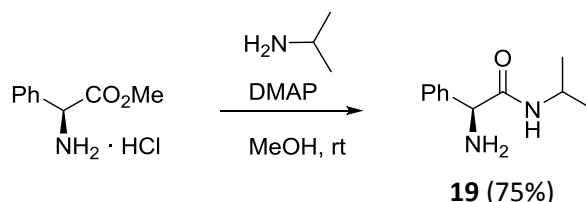
Esquema 2.36. Condensación de 1,2-diaminas con aldehídos en medio oxidante.

En 2005, Fujioka, Kita y colaboradores describieron el uso de NBS como agente oxidante para la reacción entre etilendiamina y diferentes aldehídos.^{374,375} La reacción se lleva a cabo en DCM con excelentes rendimientos. Posteriormente se ha ampliado su uso para la obtención de imidazolidinas quirales y su aplicación en organocatálisis.³⁷⁶

4.2.1 OBTENCIÓN DE 1,2-ETILENDIAMINAS QUIRALES

Tal y como se ha indicado anteriormente en el esquema 2.35, uno de los intermedios principales de esta nueva estrategia sintética para la obtención de imidazolidinas quirales es la correspondiente 1,2-diamina funcionalizada. Para la obtención de estas diaminas quirales se emplearon como precursores aminoácidos enantioméricamente puros.

La ruta sintética se inició con la reacción de amidación entre el (S)-fenilglicinato de metilo e isopropil amina, empleando dimetilaminopiridina como catalizador (esquema 2.37).



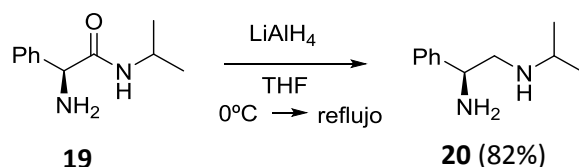
Esquema 2.37. Obtención de la amida **19**

³⁷⁴Fujioka, H.; Murai, K.; Ohba, Y.; Hiramatsu, A.; Kita, Y., *Tetrahedron Lett.* **2005**, *46*, 2197-2202.

³⁷⁵Fujioka, H.; Murai, K.; Kubo, O.; Ohba, Y.; Kita, Y., *Tetrahedron*, **2007**, *63*, 638-644.

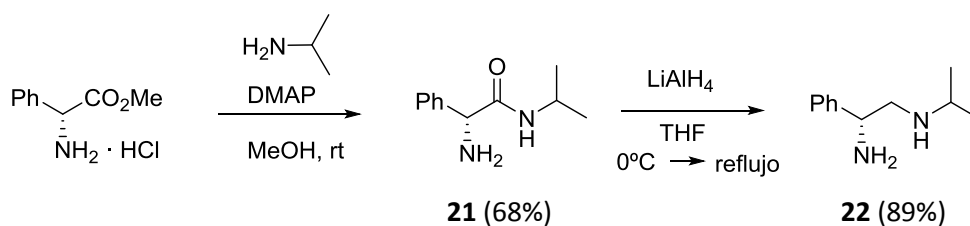
³⁷⁶Murai, K.; Fukushima, S.; Hayashi, S.; Takahara, Y.; Fujioka, H. *Org. Lett.*, **2010**, *12* (5), 964-966.

La introducción de un grupo alquilo en uno de los nitrógenos de la diamina resulta primordial a la hora de impedir el equilibrio tautomérico que se observa en el núcleo de imidazolina cuando se encuentra en medio básico. Una vez obtenido el producto de amidación **19**, el siguiente paso consistió en la reducción del grupo amida para obtener la diamina deseada. Para ello se empleó como agente reductor hidruro de aluminio y litio.



Esquema 2.38. Obtención de la (*R*)-*N*-isopropil-2-feniletano-1,2-diamina **20**.

De igual manera, pero en esta ocasión partiendo del (*R*)-fenilglicinato de metilo, se obtuvo el otro estereoisómero del compuesto **20** (esquema 2.39).



Esquema 2.39. Obtención de la (*S*)-*N*-isopropil-2-feniletano-1,2-diamina **22**.

Una vez obtenidas las diaminas correspondientes, la siguiente etapa de la ruta sintética consistiría en la obtención de los diferentes aldehídos, precursores de la formación del anillo de imidazolina.

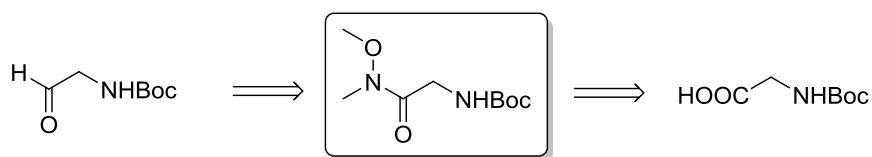
4.2.2 SÍNTESIS DE ALDEHÍDOS.

En una primera aproximación se decidió comenzar la síntesis de aldehídos empleando como sustratos de partida diferentes aminoácidos.

La conversión de aminoácidos en las correspondientes amidas de Weinreb es una alternativa que permite la preparación de aldehídos por reducción de la amida formada con un exceso de hidruro de aluminio y litio.³⁷⁷ En cambio, la reducción de un ácido

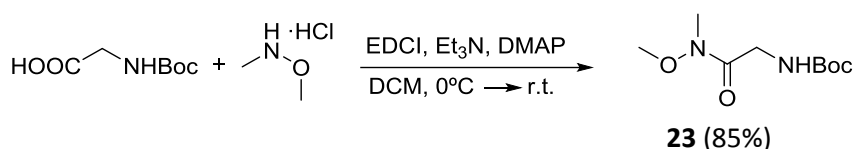
³⁷⁷Johnson, E. P.; Hubieki M. P.; Combs, A. P.; Teleha, C. A. *Synthesis*, **2011**, 24, 4023-4026.

carboxílico directamente a aldehído es un proceso difícil de controlar, obteniéndose mayoritariamente el producto totalmente reducido.



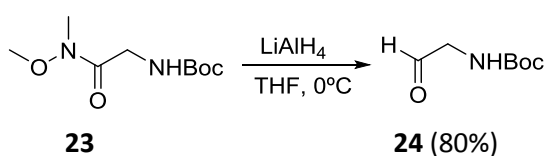
Esquema 2.40. Análisis retrosintético planteado para la obtención aldehídos.

En este sentido, la primera reacción llevada a cabo consistió en la formación de la amida de Weinreb correspondiente a partir de *N*-Boc glicina, empleando un reactivo de acoplamiento de tipo carbodiimida. El producto deseado se obtuvo con un rendimiento del 85%.



Esquema 2.41. Formación del compuesto **23**

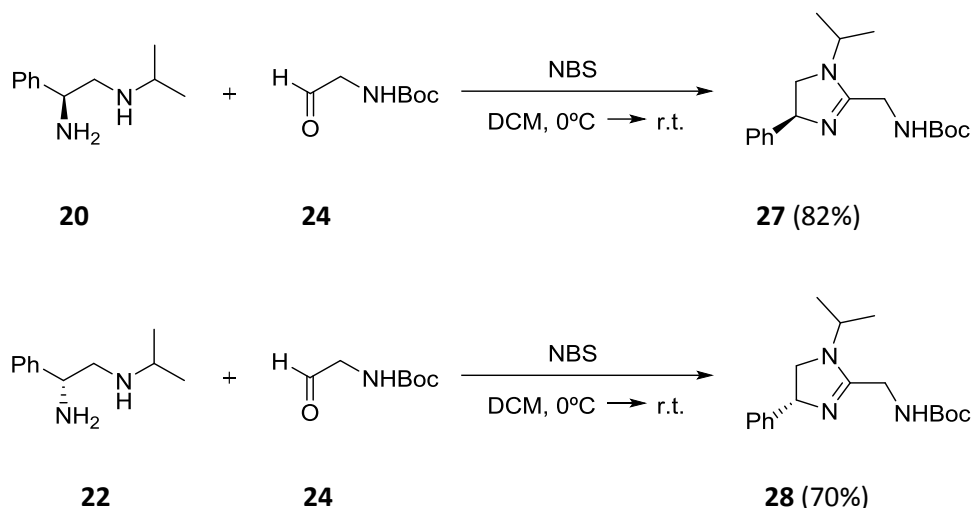
A continuación, se procedió a la reducción la amida de Weinreb con hidruro de aluminio y litio aislándose el aldehído derivado con un 80% de rendimiento.



Esquema 2.42. Obtención del compuesto **24**

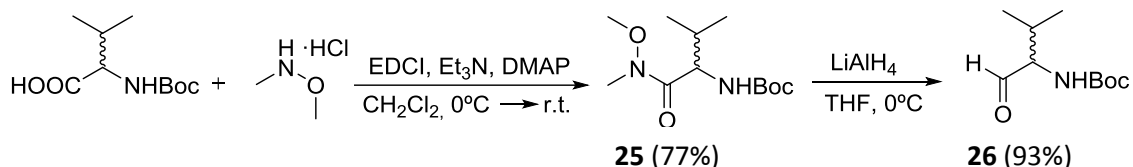
4.2.3 SÍNTESIS DE IMIDAZOLINAS QUIRALES

Una vez obtenido el aldehído **24** y las diferentes 1,2-diaminas quirales (compuestos **20** y **22**) se procedió a la síntesis de las imidazolininas correspondientes mediante la condensación de los sustratos mencionados. Para ello se ensayaron diferentes sistemas oxidantes ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaI}$, $\text{I}_2/\text{K}_2\text{CO}_3/t\text{-BuOH}$ y $\text{PhI}(\text{OAc})_2$) sin obtenerse resultados satisfactorios. En cambio, empleando como reactivo *N*-bromosuccinimida en DCM se obtuvieron ambos enantiómeros con rendimientos aceptables (esquema 2.43).



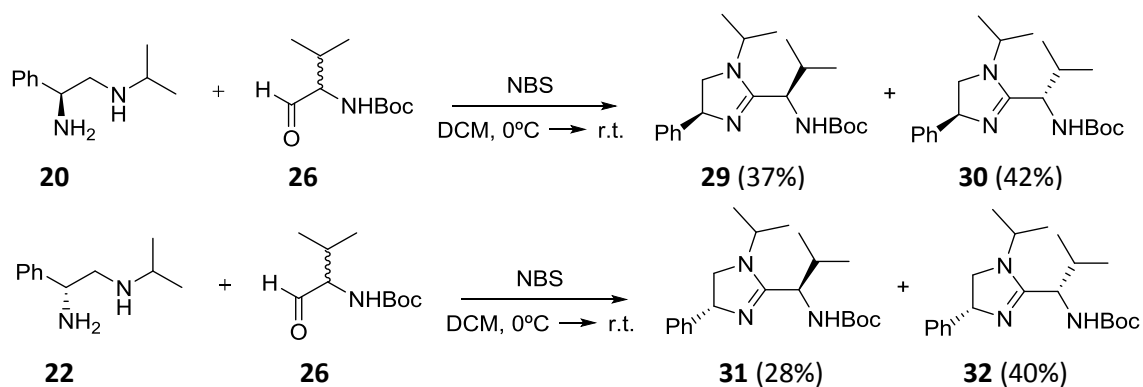
Esquema 2.43. Obtención de las imidazolinas **27** y **28**.

Con el objeto de introducir un nuevo centro quiral en la molécula, se procedió a la síntesis de imidazolinas empleando en esta ocasión valina como precursor en la formación del aldehído. Teniendo en cuenta el bajo coste de los aminoácidos racémicos y la disponibilidad de reactivos que ofrecía el laboratorio se optó por emplear la *N*-Boc-DL-Valina.



Esquema 2.44. Obtención del aldehído **26**.

A continuación se procedió a la formación de la imidazolina con el aldehído **26** y las 1,2-diaminas quirales **20** y **22** previamente sintetizadas (esquema 2.45).



Esquema 2.45. Obtención de los distintos estereoisómeros.

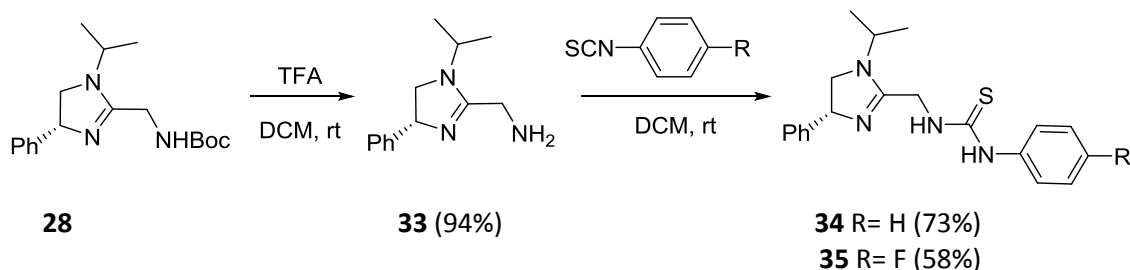
El seguimiento de la reacción por cromatografía de capa fina puso de manifiesto la formación de dos productos que se aislaron posteriormente. Experimentos de RMN revelaron que los compuestos obtenidos eran los correspondientes diastereoisómeros (esquema 2.45).

Aprovechando que las 1,2-diaminas quirales inducen diastereoselectividad en la reacción con el aldehído racémico, estudiaremos todas las posibles conformaciones del organocatalizador y evaluaremos así la influencia de este nuevo centro quiral en la molécula.

Siguiendo el enfoque planteado en los objetivos, el siguiente paso consistirá en la preparación de tioureas bifuncionalizadas como organocatalizadores potencialmente activos.

4.2.4 SÍNTESIS DE ORGANOCATALIZADORES BIFUNCIONALES DE TIPO TIOUREA.

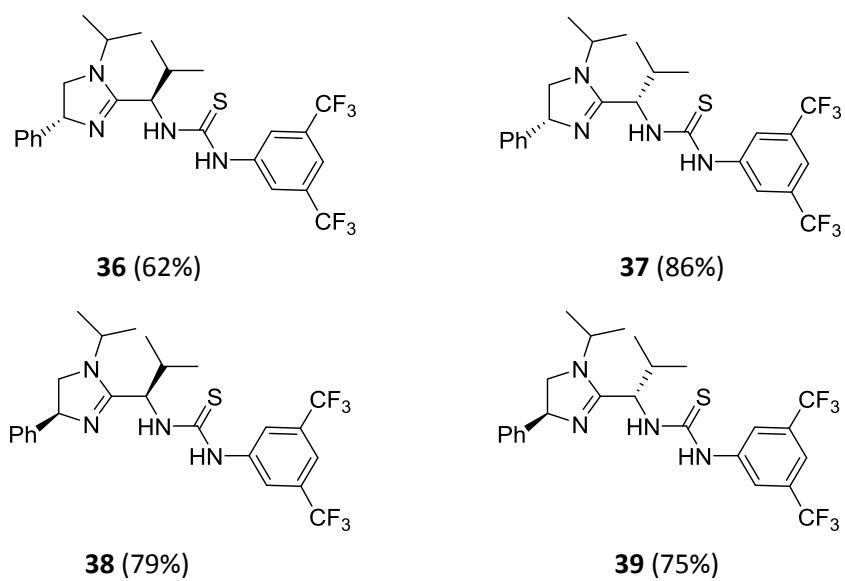
En primer lugar se procedió a la desprotección del grupo Boc del compuesto **28** seguida de la adición a fenil isotiocianato.



Esquema 2.46. Obtención de los organocatalizadores **34** y **35**.

En el caso de las imidazolidinas derivadas de valina se escogió como isotiocianato 3,5-bis(trifluorometil)fenil isotiocianato. En este sentido, dada la presencia de dos grupos CF_3 en posición meta del anillo aromático, la acidez del enlace NH se ve incrementada, pudiendo aportar mayor rigidez al organocatalizador y evitar en mayor medida el autoensamblaje.

Por lo tanto, siguiendo el procedimiento descrito en el esquema 2.46 se sintetizaron los siguientes organocatalizadores bifuncionales de tipo tiourea.



Esquema 2.47

La configuración absoluta de cada estero-centro fue determinada por difracción de rayos X de monocristal para los organocatalizadores **38** y **39**.

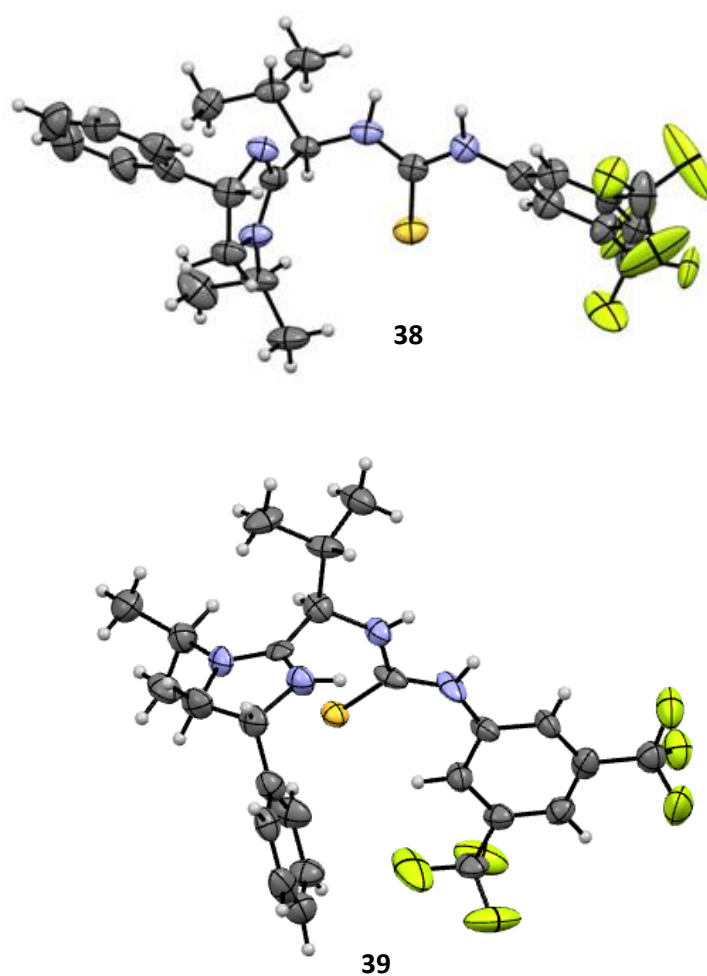
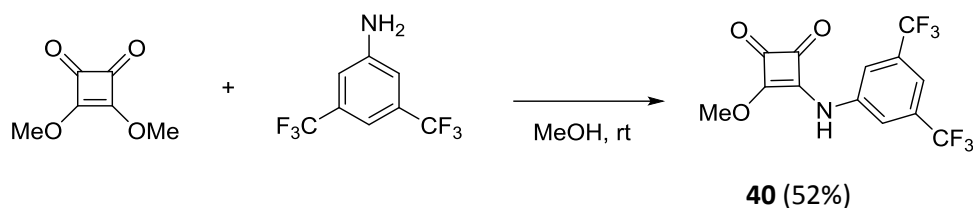


Figura 2.17. RX organocatalizador **38** y **39**.

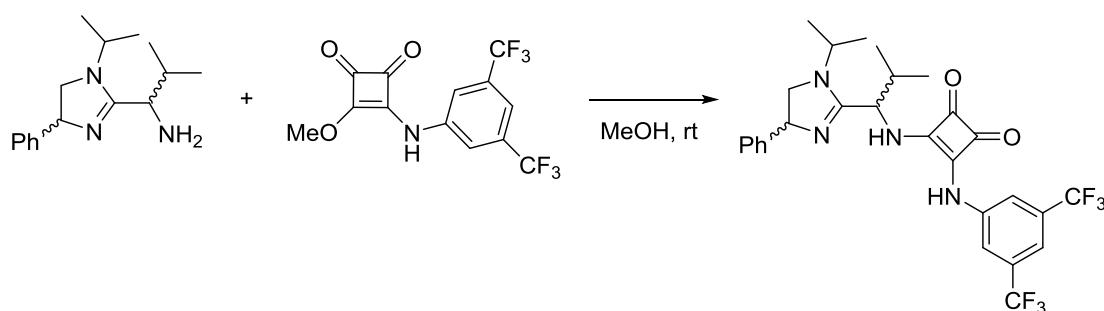
Paralelamente a la síntesis de tioureas, se estudió la síntesis de sustratos análogos pero con esqueleto de escuaramida. Esta agrupación tiene una excelente capacidad para actuar como dadores de enlaces de H. En la bibliografía es posible encontrar numerosos ejemplos donde se emplean organocatalizadores de tipo escuaramida para llevar a cabo reacciones enantioselectivas.³⁷⁸

La síntesis de nuestro organocatalizador de tipo escuaramida comenzó con la preparación de la amida intermedia a partir del éster del ácido escuárico.



Esquema 2.48. Obtención de la amida intermedia **40**

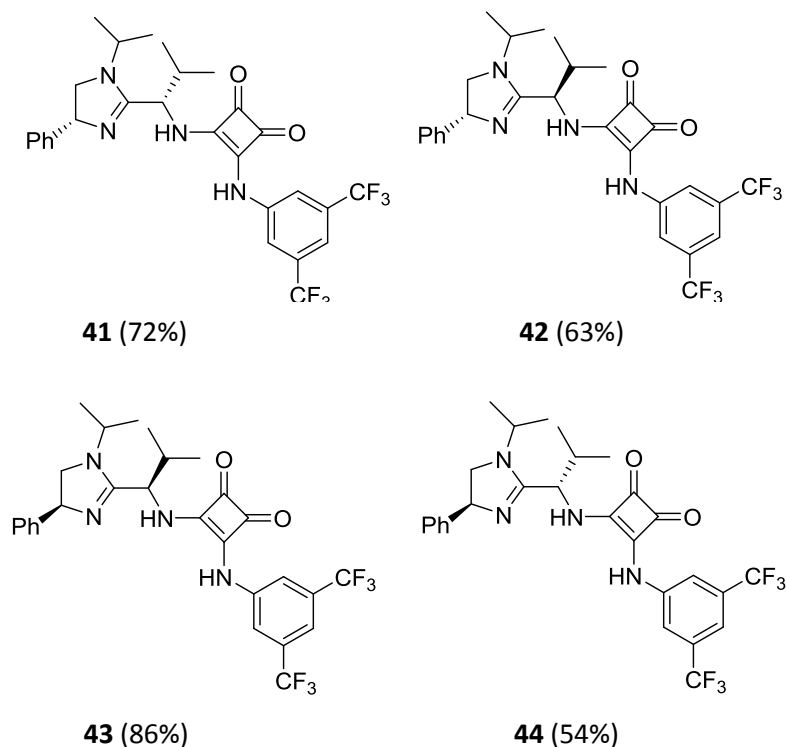
Una vez sintetizado el compuesto **40**, se procedió a preparar los cuatro diastereoisómeros correspondientes mediante una reacción de amidación entre el compuesto **40** y las diferentes imidazolinas quirales derivadas de la valina.



Esquema 2.49. Síntesis de organocatalizadores de tipo escuaramida.

³⁷⁸Ejemplos representativos de organocatálisis con derivados del ácido escuárico. a) Malerich, J. P.; Hagihara, K.; Rawal, V. H. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 14416. b) Qian, Y.; Ma, G. Y.; Lv, A. F.; Zhu, H. L.; Zhao, J.; Rawal, V. H. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3004. c) Zhu, Y.; Malerich, J. P.; Rawal, V. H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 153. d) Konishi, H.; Lam, T. Y.; Malerich, J. P.; Rawal, V. H. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2028. e) Xu, D. Q.; Wang, Y. F.; Zhang, W.; Luo, S. P.; Zhong, A. G.; Xia, A. B.; Xu, Z. Y. *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 4177. f) Jang, H. B.; Rho, H. S.; Oh, J. S.; Nam, E. H.; Park, S. E.; Bae, H. Y.; Song, C. E. *Org. Biomol. Chem.* **2010**, *8*, 3918. g) Yang, W.; Du, D. M. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5450.

Los diferentes estereoisómeros sintetizados se muestran en la figura siguiente:

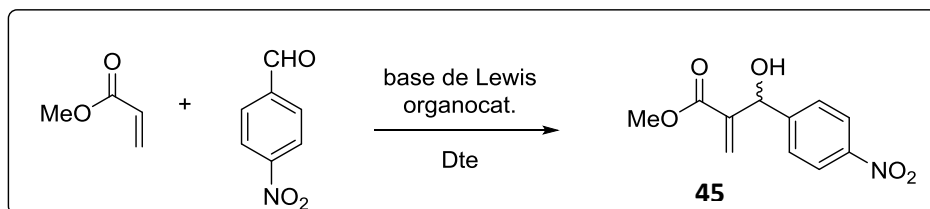


Esquema 2.50. Organocatalizadores de tipo escuaramida.

Una vez obtenidos todos los compuestos finales, se procedió a ensayar dichos sustratos como organocatalizadores bifuncionales en las reacciones asimétricas de Morita Baylis-Hillman y Strecker.

4.3 ENSAYOS SOBRE REACCIONES ENANTIOSELECTIVAS

4.3.1 REACCIÓN DE MORITA-BAYLIS-HILLMAN ENANTIOSELECTIVA



Para llevar a cabo los ensayos de enantioselectividad se eligieron como sustratos de partida acrilato de metilo y *p*-nitrobenzaldehído. La presencia del grupo nitro en posición *para* aumenta la electrofilia del grupo aldehído, facilitando el curso de la reacción. Además de ser sustratos de bajo coste económico, presentan cierta estabilidad y su empleo en la reacción de MBH está bien documentado en la bibliografía.³⁷⁹

La reacción de MBH conlleva la formación de un nuevo enlace C-C entre un aldehído y el carbono α de una olefina deficiente de electrones. A pesar de su gran potencial sintético, la reacción presenta ciertas limitaciones: largos tiempos de reacción, rendimientos bajos, altas concentraciones de catalizador, etc.

En primer lugar se estudió la reacción en ausencia de organocatalizador para determinar las condiciones más favorables de reacción. Por este motivo se ensayaron diferentes bases de Lewis, disolventes y temperaturas.

Tabla 2.4. Condiciones ensayadas para la reacción de MBH entre acrilato de metilo y *p*-nitrobenzaldehído.

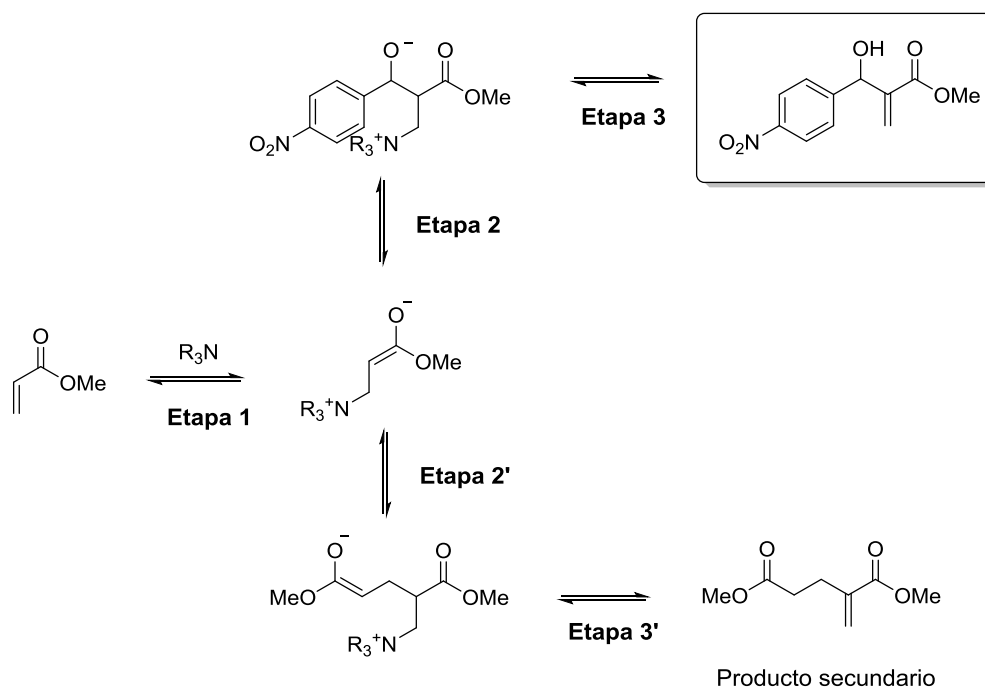
Entrada	Proporción acrilato : aldehído	Tiempo (h)	T ^a (°C)	Base	Disolvente	Rendimiento
1	1:1	48	t.a	DABCO (15% mol)	CH ₂ Cl ₂	26
2	2:1	48	t.a	DABCO (20% mol)	CH ₃ CN	55
3	5:1	48	t.a	DABCO (20% mol)	CH ₃ CN	79
4	5:1	16	t.a	DABCO (20% mol)	Octanol	74
5	5:1	24	t.a	DABCO (1 eq)	THF	67
6	5:1	24	t.a	PPh ₃ (1 eq)	THF	66
7	5:1	24	0°C	DABCO (1 eq)	THF	19
8	5:1	24	t.a	DABCO (1 eq)	CH ₂ Cl ₂	67

³⁷⁹Yuan, K.; Song, H.-l.; Hu, Y.; Wu, X.-Y. *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 8185-8190.

Tal y como se observa en la Tabla 2.4, los tiempos de reacción son muy largos (entre 24 y 48h), excepto empleando octanol como disolvente, mediante el cual se consiguió reducir el tiempo de reacción a 16 h. El octanol, al ser un disolvente polar prótico, estabiliza el intermedio zwitteriónico facilitando así la liberación del producto y la regeneración del catalizador.³⁸⁰ Por otra parte, al disminuir la temperatura a 0°C el rendimiento se redujo al 19% después de 24 horas de reacción.

Para alcanzar rendimientos aceptables hubo que emplear cinco equivalentes de acrilato de metilo, ya que una parte se consumía en la formación de un producto secundario, resultado de la adición de Michael al propio acrilato (esquema 2.51).

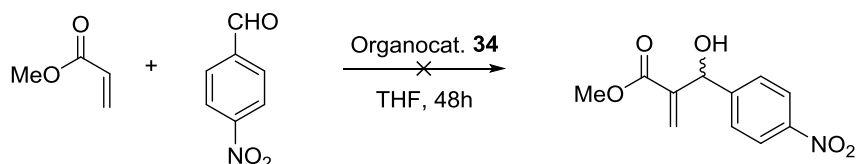
Como consecuencia de los resultados obtenidos, la reacción en presencia de organocatalizador se ensayó empleando un exceso de acrilato de metilo (5:1) y 20% de DABCO, dejando variables la cantidad de carga catalítica, temperatura y disolventes.



Esquema 2.51. Reacción de MBH y descripción del producto secundario obtenido.

³⁸⁰Park, K.-S.; Kim, J.; Choo, H., Chong, Y. *Synlett*, **2007**, 3, 0395-0398.

El siguiente paso en el estudio de la reacción de MBH enantioselectiva consistió en determinar si el organocatalizador podía actuar por sí solo como base de Lewis quiral catalizando el curso de la reacción.



Esquema 2.52. Reacción de MBH sin DABCO

Lamentablemente la reacción no tuvo lugar en ausencia de DABCO por lo que dedujimos que nuestro organocatalizador no actuaba como una base nucleofílica, sino que su efecto podría venir dado por la coordinación mediante puentes de H con uno o ambos sustratos de partida (Figura 2.18).

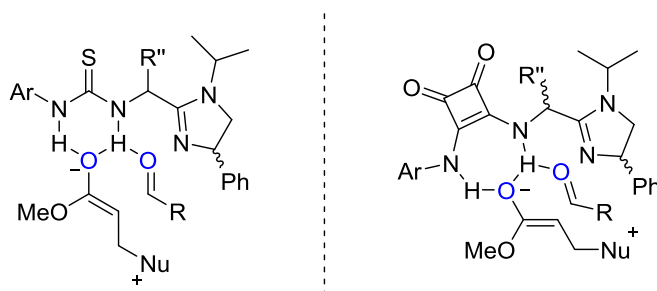
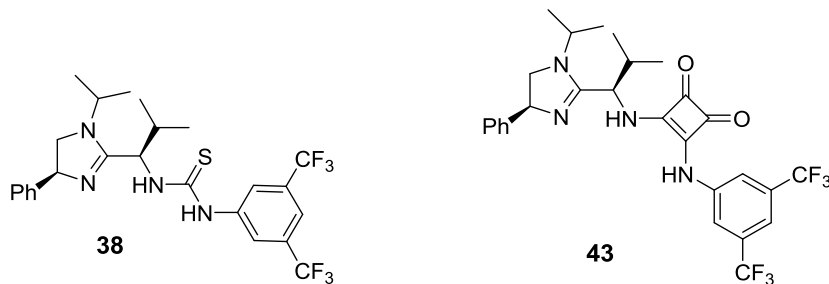
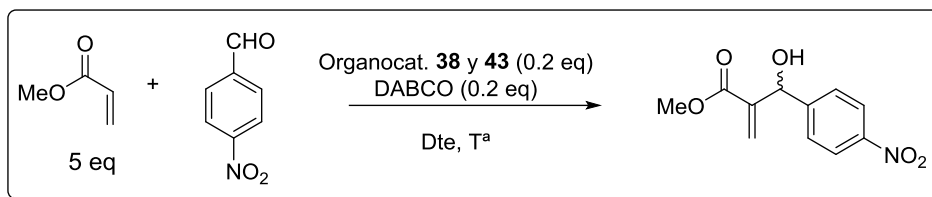


Figura 2.18. Hipótesis de activación de los sustratos con los organocatalizadores sintetizados.

Antes de llevar a cabo la transformación, se decidió realizar un proceso de selección de los organocatalizadores preparados (uno con esqueleto tiourea y otro con esqueleto escuaramida), y en base a estos optimizar las condiciones de reacción.

El primer parámetro a estudiar fue el disolvente de la reacción.

Tabla 2.5. Efecto del disolvente en la reacción de MBH enantioselectiva.



Entrada	Organocat. ^[a]	Base ^[b]	Disolvente	T ^a (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento	ee (%) ^[c]
1	38	DABCO	CH ₂ Cl ₂	t.a	14	54	4
2	43	DABCO	CH ₂ Cl ₂	t.a	14	48	6
3	38	DABCO	Tolueno	t.a	20	46	14
4	43	DABCO	Tolueno	t.a	20	55	17
5	38	DABCO	THF	t.a	24	53	0
6	43	DABCO	THF	t.a	24	57	0
7	38	DABCO	CH ₃ CN	t.a	18	67	0
8	43	DABCO	CH ₃ CN	t.a	18	79	5
9	38	DABCO	Octanol	t.a	6	78	0
10	43	DABCO	Octanol	t.a	6	74	0
11	38	DABCO	DCE	t.a	14	43	10
12	43	DABCO	DCE	t.a	14	56	7

[a] 20% mol de organocatalizador; [b] 20% mol de base; [c] el % de ee se obtiene por HPLC empleando las condiciones descritas en la literatura (columna OD-H, Hex: iPr 95:5, flujo 1 mL/min).³⁸¹

³⁸¹Yuan, K.; Song H.-L.; Hu, Y.; Wu, X.-Y, *Tetrahedron*, **2009**, *65*, 8185-8190.

Tal y como se observa en la Tabla 2.5 y si comparamos con los resultados obtenidos en la Tabla 2.4, podemos ver que en presencia de organocatalizador los tiempos de reacción son significativamente más cortos, de manera que la reacción se ve catalizada. Aun así, los excesos enantioméricos obtenidos no fueron buenos. En el caso de octanol y THF se obtuvo una mezcla racémica. Esto puede deberse a una coordinación de tipo éter entre el disolvente y los protones ácidos del grupo tiourea del organocatalizador. De esta manera el organocatalizador queda inactivado, no pudiendo llevar a cabo la reacción de manera enantioselectiva. No obstante, los mejores resultados se obtuvieron empleando como disolvente tolueno (entradas **3** y **4**), donde el exceso enantiomérico fue del 14% y 17% respectivamente. Los rendimientos de la reacción fueron moderados, aunque teniendo en cuenta las limitaciones mencionadas se consideran aceptables. Finalmente se eligió tolueno como disolvente para ensayos posteriores.

Con el objeto de estudiar cómo afectaría el orden de adición de los reactivos al resultado enantiomérico se realizaron dos ensayos en paralelo empleando para ello las condiciones reflejadas en la Tabla 2.5 (entrada **4**).

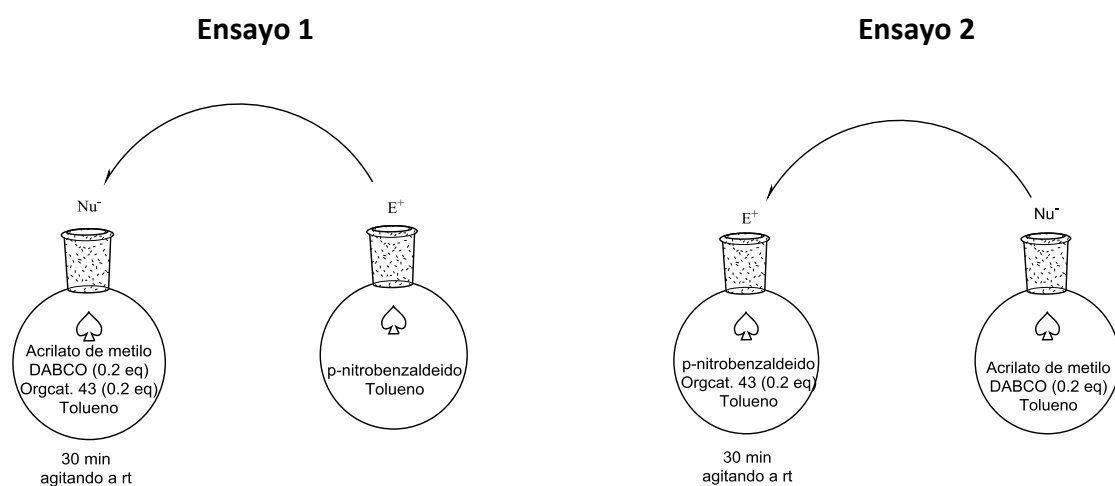


Figura 2.19. Condiciones de reacción para cada ensayo de MBH

En el primer ensayo se dejó reaccionar 30 minutos una mezcla de acrilato de metilo y DABCO en tolueno y en presencia del organocatalizador **43**. A esta mezcla de reacción se le añadió una disolución de *p*-nitrobenzaldeído en tolueno. El segundo ensayo consistió en dejar reaccionar 30 minutos *p*-nitrobenzaldeído en presencia del organocatalizador **43**. A esta mezcla de reacción se le añadió a continuación una

disolución de acrilato de metilo y DABCO en tolueno. En el primer ensayo el exceso enantiomérico fue del 17%, obteniéndose el mismo resultado que la vez anterior. Sin embargo, al alterar el orden de adición de los reactivos (ensayo 2) el exceso enantiomérico resulto ser incluso más bajo (11%) por lo que decidimos continuar los ensayos siguiendo el procedimiento descrito en el Ensayo 1.

La siguiente variable a estudiar fue la temperatura. Los resultados obtenidos fueron los siguientes.

Tabla 2.6. Efecto de la temperatura en la reacción de MBH enantioselectiva

Entrada	Organocat. ^[a]	Base ^[b]	Disolvente	T ^a (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento	ee (%) ^[c]
1	38	DABCO	Tolueno	0	42	41	18
2	43	DABCO	Tolueno	0	42	36	32
3	38	DABCO	Tolueno	-30	48	18	14
4	43	DABCO	Tolueno	-30	48	24	22
5	38	DABCO	Tolueno	-78	72	12	12
6	43	DABCO	Tolueno	-78	72	15	18
7	43	DABCO	Tolueno	60	22	78	4

[a] 20% mol de organocatalizador; [b] 20% mol de base; [c] el % de ee se obtiene por HPLC empleando las condiciones descritas en la literatura (columna OD-H, Hex: iPr 95:5, flujo 1 mL/min).

De los resultados de la Tabla 2.6, podemos deducir que una disminución de la temperatura provoca una reducción significativa en el rendimiento de la reacción, siendo los tiempos de reacción más largos. En cuanto al exceso enantiomérico, el mejor resultado lo encontramos con el organocatalizador **43** a 0°C, siendo en este caso el ee del 32% (entrada **2**). Una disminución más drástica de la temperatura no mejoraba prácticamente el resultado (entrada **4** y **6**), mientras que un incremento a 60°C lo empeoraba (entrada **7**).

Los resultados de enantioselectividad al ensayar el resto de organocatalizadores sintetizados en el laboratorio son los que se muestran a continuación.

Tabla 2.7. Efecto de los diferentes organocatalizadores en la reacción enantioselectiva de MBH

Entrada	Organocat. ^[a]	Base ^[b]	Disolvente	T ^a (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento	ee (%) ^[c]
1	34	DABCO	Tolueno	0	40	42	0
2	35	DABCO	Tolueno	0	40	36	0
3	36	DABCO	Tolueno	0	40	48	6
4	37	DABCO	Tolueno	0	40	44	15
5	38	DABCO	Tolueno	0	40	41	18
6	39	DABCO	Tolueno	0	40	32	0
7	41	DABCO	Tolueno	0	40	48	37
8	42	DABCO	Tolueno	0	40	51	8
9	43	DABCO	Tolueno	0	40	35	32
10	44	DABCO	Tolueno	0	40	43	26

[a] 20% mol de organocatalizador; [b] 20% mol de base; [c] el % de ee se obtiene por HPLC empleando las condiciones descritas en la literatura (columna OD-H, Hex: iPr 95:5, flujo 1 mL/min).

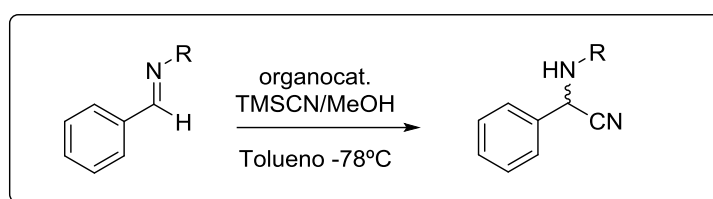


Tal y como se muestra en la Tabla 2.7, cuando se emplean diferentes organocatalizadores de tipo tiourea, el mejor resultado en cuanto a exceso enantiomérico es un 18% (entrada 5). En el caso de las escuaramidas, el mejor exceso enantiomérico obtenido es del 37% (entrada 7).

No obstante, en términos generales podemos deducir que las escuaramidas proporcionaron mejores resultados que las tioureas, si comparamos los organocatalizadores que presentan la misma estereoquímica entre sí: **36 vs 42**, **37 vs 41**, **38 vs 43** y **39 vs 44**.

Dado los bajos excesos enantioméricos obtenidos para la reacción de MBH se decidió ensayar la actividad catalítica de los diferentes organocatalizadores sintetizados en la reacción de Strecker, esperando obtener mejores resultados.

4.3.2 REACCIÓN DE STRECKER ENANTIOSELECTIVA



Tal y como adelantábamos en la introducción del presente capítulo, existen diferentes hipótesis para la activación de los sustratos de partida en la reacción de Strecker. La primera aproximación consistiría en la activación de aldiminas a través de la coordinación por puentes de H con la agrupación tiourea, mientras que la imidazolina actuaría como fragmento básico activando el nucleófilo (CN⁻). La segunda alternativa consistiría en la formación de un par iónico iminio/cianuro que se coordinaría con el organocatalizador a través de interacciones no covalentes. De esta manera el HCN activaría la imina frente al ataque nucleofílico.

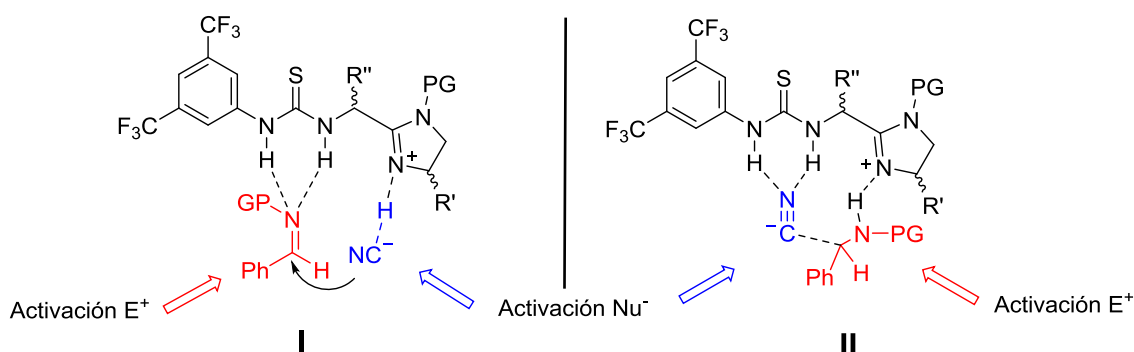
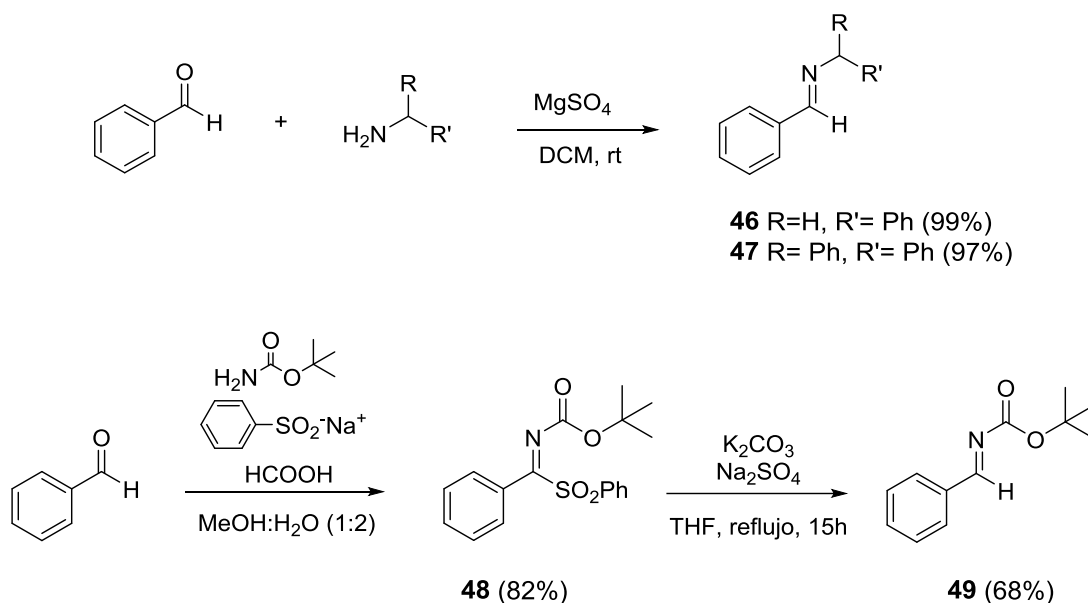


Figura 2.20. Hipótesis de la doble activación de sustratos con nuestro organocatalizador

De igual manera actuaría el organocatalizador de tipo escuaramida, siendo los NH de la escuaramida los encargados de activar los sustratos por puentes de H.

El estudio de la reacción de Strecker enantioselectiva comenzó con la preparación de las aldiminas de partida.



Esquema 2.53. Síntesis de los sustratos de partida para la reacción de Strecker.

Una vez obtenidas las aldiminas esperadas, el siguiente paso fue testarlas en la reacción de Strecker con los diferentes organocatalizadores sintetizados. En la literatura encontramos varias publicaciones en las que la reacción de Strecker enantioselectiva se lleva a cabo preferiblemente en tolueno y a baja temperatura (entre -30°C y -78°C), obteniéndose buenos excesos enantioméricos.³⁸² Por ese motivo se decidieron escoger como punto de partida estas condiciones.

A continuación se muestran diversas tablas con los resultados obtenidos de excesos enantioméricos para cada aldimina preparada, empleando los organocatalizadores previamente sintetizados.

³⁸²a) Signan, M. S.; Vachal, P.; Jacobsen, N. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39 (7), 1279-1281. b) Vachal, P.; Jacobsen, E. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 10012-10014.

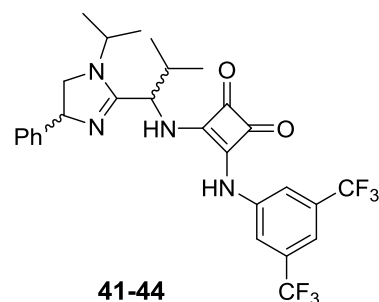
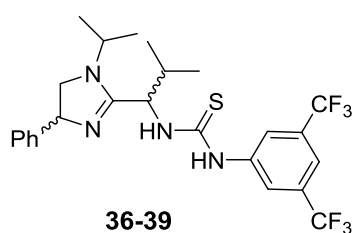
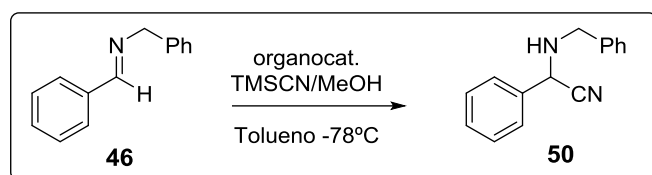


Tabla 2.8. Efecto de los diferentes organocatalizadores en la reacción de Strecker



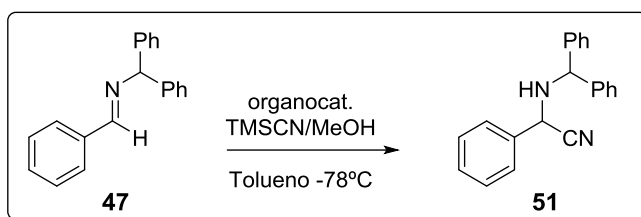
Entrada	Organocat. ^[a]	Disolvente	T ^a (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento	ee (%) ^[b]
1	36	Tolueno	-78	5	74	6
2	37	Tolueno	-78	5	95	4
3	38	Tolueno	-78	4	98	0
4	39	Tolueno	-78	4	87	12
5	41	Tolueno	-78	5	71	8
6	42	Tolueno	-78	6	93	7
7	43	Tolueno	-78	4	96	22
8	44	Tolueno	-78	5	98	0

[a] 20% mol de organocatalizador, [b] el % de ee se obtiene por HPLC empleando las condiciones descritas en la literatura (columna AS-H, Hex: iPr (99:1), flujo 0.5 mL/min).³⁸³

Empleando la aldimina **46**, los mejores excesos enantioméricos, aunque no muy elevados, fueron obtenidos con los organocatalizadores **39** (12% ee) y **43** (22% ee).

³⁸³Seayad, A. M.; Ramalingam, B.; Yoshinaga K.; Nagata.; T. Chai C. L. L. , *Org. Lett.*, **2010**, 12 (2), 264-267.

Tabla 2.9. Efecto de los diferentes organocatalizadores en la reacción de Strecker



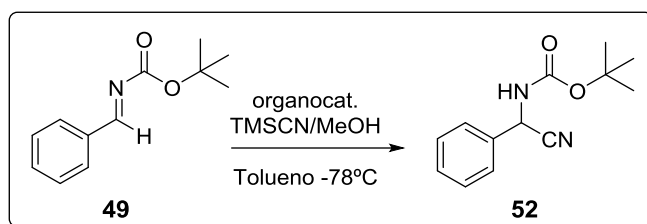
Entrada	Organocat. ^[a]	Disolvente	T ^a (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento	ee (%) ^[b]
1	36	Tolueno	-78	6	85	13
2	37	Tolueno	-78	5	96	24
3	38	Tolueno	-78	8	91	17
4	39	Tolueno	-78	6	78	29
5	41	Tolueno	-78	5	97	42
6	42	Tolueno	-78	5	99	15
7	43	Tolueno	-78	4	74	10
8	44	Tolueno	-78	7	88	4

[a] 20% mol de organocatalizador, [b] el % de ee se obtiene por HPLC empleando las condiciones descritas en la literatura (columna OD-H, Hex: iPr (95:5), flujo 1 mL/min).³⁸⁴

Cuando empleamos la aldimina **47**, los mejores resultados se obtuvieron con el organocatalizador **39** (29% ee) y con el organocatalizador **41** (42% ee). Por otra parte, cabe destacar que la reacción transcurrió con excelentes rendimientos en la mayoría de los casos.

³⁸⁴Zuend, S. J.; Coughlin, M. P.; Lalonde, M. P.; Jacobsen, E. N. *Nature Lett.*, **2009**, 461, 968-970.

Tabla 2.10. Efecto de los diferentes organocatalizadores en la reacción de Strecker



Entrada	Organocat. ^[a]	Disolvente	T ^a (°C)	Tiempo (h)	Rendimiento	ee (%) ^[b]
1	36	Tolueno	-78	4	73	14
2	37	Tolueno	-78	5	68	12
3	38	Tolueno	-78	5	75	6
4	39	Tolueno	-78	4	81	24
5	41	Tolueno	-78	6	74	10
6	42	Tolueno	-78	5	68	31
7	43	Tolueno	-78	5	82	4
8	44	Tolueno	-78	4	77	8

[a] 20% mol de organocatalizador, [b] el % de ee se obtiene por HPLC empleando las condiciones descritas en la literatura (columna OD-H, Hex: iPr (99:1), flujo 0.5 mL/min).³⁹¹

Al igual que con las aldiminas anteriores, la reacción con la aldimina **49** transcurrió con bajos excesos enantioméricos. Los mejores resultados se obtuvieron con el organocatalizador **39** (24% ee) y con el **42** (31% ee).

Llegados a este punto, solo fue posible llevar a cabo estudios preliminares acerca de esta reacción, quedando pendiente un desarrollo más completo de su posible aplicabilidad. En este sentido será necesario optimizar las condiciones de reacción y establecer el alcance de la misma, tratando de obtener mejores excesos enantioméricos. No obstante, y debido a la falta de tiempo para completar de manera rigurosa la investigación, se decidió desarrollar este apartado en estudios posteriores.

5. EXPERIMENTAL SECTION

5. EXPERIMENTAL SECTION

5.1 GENERAL PROCEDURES

Materials and Methods

All starting materials, reagents, and solvents were obtained from commercial sources and used without further purification unless otherwise indicated. Analytical quality solvents were used for general purposes. Solvents were dried as follows: CH₂Cl₂, CH₃CN and toluene were freshly distilled from CaH₂ under nitrogen; THF and diethyl ether were freshly distilled from Na/benzophenone ketyl under nitrogen; DMF, Et₃N and CHCl₃ were dried and stored over activated 4Å molecular sieves; MeOH was dried and stored over activated 3Å molecular sieves. Thin layer chromatography (TLC) was employed to monitor reactions, using Merck Silica Gel 60 F-254 thin layer plates and visualized using a UV lamp (254 nm). Flash column chromatography was performed on Merck silica gel 60, 0.040-0.063 mm.

Melting points

Melting points were determined in capillary tubes in a Büchi M-560 instrument.

Nuclear magnetic resonance (NMR)

NMR spectra were recorded on a Bruker Avance 300 DPX (300 MHz for ¹H NMR, 75 MHz for ¹³C NMR, and 282 MHz for ¹⁹F spectra). Chemical shifts (δ values) are given in ppm. Coupling constants (J) are given in Hz. Residual nondeuterated solvent was used as internal standard: δ 7.26 ppm for ¹H NMR and δ 77.0 ppm for ¹³C in the case of CDCl₃; δ 2.50 ppm for ¹H NMR and δ 39.5 ppm for ¹³C in the case of DMSO-*d*₆. δ 2.05 ppm for ¹H NMR and δ 29.8 ppm for ¹³C in the case of acetone-*d*₆; δ 3.31 ppm for ¹H NMR and δ 49.0 ppm for ¹³C in the case of MeOD. For ¹⁹F NMR experiments, CFCl₃ was used as internal standard.

Polarimetry

Specific optical rotations were measured in a Perkin-Elmer polarimeter using sodium light (D line 589 nm) and a 1 dm cell. Concentrations (*c*) are given in g/100 mL.

Mass spectrometry

High resolution mass spectra (ESI) was recorded on an AB SCIEX TRIPLETOF™5600 spectrometer equipped with an electrospray source with a capillary voltage of 4.5 kV (ESI).

HPLC analyses

Chiral HPLC analyses were performed in a Hitachi Elite Lachrom instrument equipped with a Hitachi UV diode-array L-2455U detector using chiral stationary columns from Daicel, using the corresponding mixture of hexane:isopropanol (HPLC grade) as mobile phase. Retention times are expressed in minutes.

5.2 GENERAL SYNTHETIC METHODS

Imines formation (general procedure A)

In a 25 mL round-bottom flask, to a solution of the aniline derivate (1 eq) and a drying agent (2 eq) in the appropriated dry solvent is added the corresponding aldehyde (1.2 eq) under argon atmosphere. The resulting solution is stirred at r.t or reflux until the reaction is complete (monitored by TLC). Once the reaction is complete, the reaction mixture is filtered through a pad of Celite and washed with an organic solvent. The combined organic phase is concentrated under vacuum and purified by column chromatography on silica gel or crystalized in the appropriated solvent to provide the desired compound.

Amidation of α -amino acids (general procedure B)

In a 100 mL round-bottom flask, the appropriated α -amino ester is dissolved in dry MeOH. DMAP (0.1 eq) and the corresponding amine (15 eq) are added to the reaction mixture which is stirred at r.t or reflux until the reaction is complete (monitored by TLC). The mix reaction is concentrated under vacuum and purified directly by column chromatography on silica gel to provide the desired product.

Reduction of carbonyl group with lithium aluminium hydride (general procedure C)

In a 25 mL round-bottom flask, a solution of the corresponding amide (1 eq) in dry THF is added dropwise at 0°C to a cold solution of Lithium aluminium hydride (5 eq) in dry THF under argon atmosphere. The reaction is stirred at 0°C for 1h and quenched by addition dropwise of EtOAc and ice water until it stops bubbling. Afterwards, Na₂SO₄ anh. is added and the mix is stirred for 15 min at rt. All the formed salts are filtered through a pad of Celite under vacuum and washed with EtOAc. The filtrate is concentrated under reduce pressure and the resulting residue is purified by column chromatography on silica gel to provide the desired product.

Weinreb amide synthesis (general procedure D)

In a 100 mL round-bottom flask, *N*-protected amino acid (1 eq), 4-(dimethylamino)pyridine (0.1 eq) and *N,O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride (1.2 eq) are added. The flask is purged with Argon and dry DCM is added. The resulting solution is cooled in an ice-water bath for 10 min and triethylamine (1.6 eq) is added. After 5 min, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (1.2 eq) is added and the reaction mixture is stirred at 0°C for 2h and then at room temperature for 16 h. When the reaction is complete, the mix reaction is washed twice with 1M HCl solution follow by saturated aqueous solution of NaHCO₃ and finally with brine. The combined organic phase is dried over anh. Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum. The residue is purified by column chromatography on silica gel to provide the desired product.

Imidazolines synthesis (general procedure E)

In a 100 mL round-bottom flask, the corresponding aldehyde (1 eq) is dissolved in dry DCM under argon atmosphere. The solution is cooled in an ice-water bath for 5 min and a solution of the corresponding 1,2-diamine (1.05 eq) in dry DCM is added. The reaction mixture is stirred at 0 °C for 30 min and then NBS (1.05 eq) is added in small portions. The mix reaction is stirred at rt overnight. A saturated aqueous solution of Na₂SO₅ is added to the reaction mixture and is stirred for 5 min. Next, 10% NaOH solution is added until basic pH and the solution is extracted three times with DCM. The combined

organic phase is dried over anh. Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum. The residue is purified by column chromatography on silica gel to provide the desired product.

Deprotection of Boc group (general procedure F)

In a 25 mL round-bottom flask, Boc-protected imidazoline (1 eq) is dissolved in dry DCM under argon atmosphere. TFA (13 eq) is added dropwise to the mix reaction. The reaction mixture is stirred for 30 min at rt and quenched by addition of 1M NaOH solution until basic pH. The aqueous phase is extracted three times with DCM and the combined organic phase is dried over anh. Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum. The residue is used in the next step without further purification.

Thiourea derivatives synthesis (general procedure G)

In a 50 mL round-bottom flask, deprotected imidazoline with free amine group (1 eq) is dissolved in dry DCM under argon atmosphere. Et₃N (2 eq) is added to the reaction mixture and the reaction is stirred for 15 min at rt. Next, isothiocyanate derivate (3 eq) is added dropwise to the reaction mixture which is stirred overnight at rt. The mixture is concentrated under vacuum and the residue is purified by column chromatography on deactivate silica gel 5% trimethylamine to provide the desired product.

Squaramide derivatives synthesis (general procedure H)

In a 100 mL round-bottom flask, deprotected imidazoline with free amine group (1.2 eq) is dissolved in dry MeOH under argon atmosphere. Next, compound **40** (3-((3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino)-4-methoxycyclobut-3-ene-1,2-dione) (1 eq) is added and the reaction mixture is stirred overnight at rt. The mixture is concentrated under vacuum and the residue is purified by column chromatography silica gel with the appropriate eluent to provide the desired product.

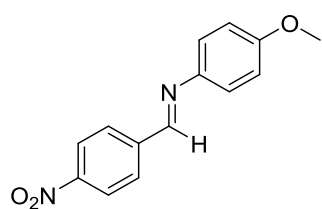
Strecker reaction: Hydrocyanation of imines using TMSCN and MeOH (general procedure I)

Caution! HCN is produced. The experiment should be executed in a well-ventilated fume hood. A 10 mL round-bottom flask containing a stir bar is charged with the

corresponding imine (1 eq.) and the synthesized thiourea or squaramide organocatalyst (0.2 eq.). The flask is capped with a rubber septum and flushed with argon. Toluene (0.2 mL) is added via syringe under argon and the mixture is stirred at rt until a homogenous solution formed. The flask is then cooled in a dry ice/acetone (-78 °C) bath for 10 min. A stock solution of HCN is prepared as follows: a 1 mL conic flask containing a stir bar is capped with a septum. Toluene (0.2 mL) is added via syringe under argon and the flask is cooled in an ice-water bath for 10 min. Then, TMSCN (2 eq.) is added via syringe followed by methanol (2 eq.). The stock solution is stirred at 0 °C for 30 min and then added dropwise via syringe to reaction mixture. The reaction is stirred at -78 °C and monitored by TLC. The reaction mixture was directly poured into the column chromatography, using hexane:EtOAc (95:5) as eluent to afford the desired product.

5.3 SYNTHETIC PROCEDURES AND CHARACTERIZATION DATA

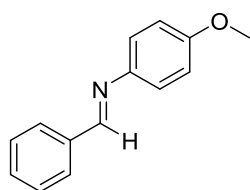
Synthesis of (*E*)-*N*-(4-methoxyphenyl)-1-(4'-nitrophenyl)methanimine (**1**)



By means of general procedure A, the reaction of *p*-anisidine (124 mg, 1 mmol), MgSO₄ (240 mg, 2 mmol) and *p*-nitrobenzaldehyde (182 mg, 1.2 mmol) at rt in dry DCM (10 mL) provided 250 mg of imine **1** as an orange solid (98%) without further purification.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.52 (s, 1H, N=CH), 8.25 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H3', H5'), 8.05 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H, H2', H6'), 7.26 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H2, H6), 6.92 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H3, H5), 3.80 (s, 3H, OCH₃); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 159.2 (C4), 154.7 (N=C), 148.7 (C4'), 143.5 (C1), 142.0 (C1'), 129.0 (C2', C6'), 123.9 (C3', C5'), 122.6 (C2, C6), 114.5 (C3, C5), 55.4 (OCH₃); **Mp**: 133-134 °C.

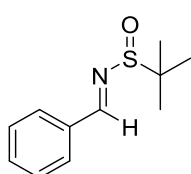
Synthesis of (*E*)-*N*-(4-methoxyphenyl)-1-phenylmethanimine (**2**)



By means of general procedure A, reaction of *p*-anisidine (5.1 mmol) and benzaldehyde (6.1 mmol, 0.62 mL) in presence of 3 Å molecular sieves in EtOH at rt yielded 996 mg (93%) of the imine **2** as pale-yellow solid after purification by column chromatography on silica gel Hex:EtOAc (8:2).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.49 (s, 1H, N=CH), 7.92-7.88 (m, 2H, Ar), 7.48-7.46 (m, 3H, Ar), 7.25 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H₂, H₆), 6.96 (d, *J* = 8.9 Hz, H₃, H₅), 3.84 (s, 3H, OCH₃); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 158.4 (N=CH), 158.3 (C₄), 144.9 (C₁), 136.4 (C_{1'}), 131.0 (C_{4'}), 128.7 (C_{2'}, C_{6'}), 128.6 (C_{3'}, C_{5'}), 122.2 (C₂, C₆), 114.5 (C₃, C₅), 55.5 (OCH₃); **Mp:** 69-70°C.

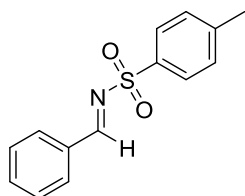
Synthesis of (*E*)-*N*-benzylidene-2-methylpropane-2-sulfonamide (**3**)



To a solution of tert-butanesulfonamide (129 mg, 1.06 mmol) in 4 mL of MeOH was added NaOH (48 mg, 1.2 mmol). After stirring 15 min benzaldehyde (153 μL, 1.5 mmol) was added and the reaction was stirred at rt for 24h. The mix reaction was concentrated under vacuum and the obtained crude was dissolved in DCM and washed three times with NH₄Cl. The combined organic phase was dried under MgSO₄ and concentrated. The residue was purified by column chromatography on silica (Hex:EtOAc 5:5) to provide 181 mg of compound **3** (82% yield).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.58 (s, 1H, N=CH), 7.86-7.83 (dd, *J* = 7.8, 1.8 Hz, 2H, Ar), 7.49-7.46 (m, 3H, Ar), 1.26 (s, 9H, 3 x CH₃, tBu); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 162.7 (N=CH), 134.1 (C₁, Ar), 132.4 (C₄, Ar), 129.3 (C₂, C₆, Ar), 128.9 (C₃, C₅, Ar), 57.7 (C_q, tBu), 22.6 (3 x CH₃, tBu).

Synthesis of (*E*)-*N*-benzylidene-4-methylbenzenesulfonamide (**4**)

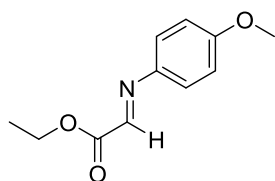


In a two-neck round bottom flask equipped with a Dean-Stark, *p*-toluenesulfonamide (1.01 g, 5.9 mmol) and benzaldehyde (605 μL, 6.0 mmol) were dissolved in 15 mL of toluene. The reaction was heated under reflux for 24 h. The reaction mixture was concentrated under vacuum and the crude was purified by column chromatography on silica gel (Hex:EtOAc 8:2) to provide 884 mg of compound **4** as a white solid (60% yield).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.03 (s, 1H, N=CH), 7.94-7.88 (m, 4H, Ar), 7.62 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H, Ar), 7.49 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H, Ar), 7.36 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, Ar), 2.44 (s, CH₃); **¹³C RMN**

(75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 170.1 (N=CH), 144.6 (C1), 134.9 (C4), 131.3 (C1'), 129.8 (C4'), 129.1 (2 x CHAr), 129.9 (2 x CHAr), 129.1 (2 x CHAr), 127.8 (2x CHAr), 21.6 (CH₃); **Mp**: 114-115 °C.

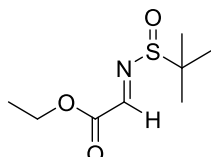
Synthesis of ethyl (*E*)-2-((4-methoxyphenyl)imino)acetate (**5**)



By means of general procedure A, reaction of *p*-anisidine (458 mg, 3.7 mmol), ethyl glyoxylate (2.2 mL, 3.8 mmol) and Na₂SO₄ anh. (714 mg, 5 mmol) in toluene at rt, provided 840 mg (quantitative yield) of the imine **5** as an oil by direct concentration of the reaction mixture.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.94 (s, 1H, N=CH), 7.36 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H₂, H₆), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, H₃, H₅), 4.42 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂, OEt), 3.84 (s, 1H, OCH₃), 1.40 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃, OEt); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 163.6 (C=O), 160.5 (C₄), 147.9 (N=CH), 141.3 (C₁), 123.6 (C₂, C₆), 114.5 (C₃, C₅), 61.9 (CH₂, OEt), 55.5 (OCH₃), 14.2 (CH₃, OEt)

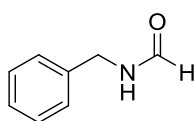
Synthesis of ethyl (*E*)-2-((*tert*-butylsulfinyl)imino)acetate (**6**)



By means of general procedure A, reaction of *tert*-butanesulfinamide (570 mg, 4.7 mmol) and ethyl glyoxylate (2.8 mL, 4.7 mmol) in presence of 4Å molecular sieves in DCM yielded 1.35 g (88%) of compound **6** as a yellow oil after purification by column chromatography on silica gel (Hex:EtOAc 6:4).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.00 (s, 1H, N=CH), 4.38 (q, *J* = 6.9 Hz, 2H, CH₂, OEt), 1.38 (t, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃, OEt), 1.27 (s, 9H, 3 x CH₃, *t*Bu); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 161.1 (N=CH), 155.6 (N=CH), 62.4 (CH₂, OEt), 58.9 (C_q, *t*Bu), 22.7 (3 x CH₃, *t*Bu), 14.0 (CH₃, OEt).

Synthesis of *N*-benzylformamide (**7**)

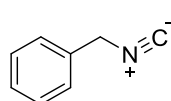


In a 25 mL round bottom flask NaH (155mg, 6.5 mmol) was added and freed from the mineral oil by washing with four 10-mL portions of pentane under argon atmosphere. Once NaH was dried, it was

suspended in 0.5 mL of THF and benzylamine (310 μ L, 2.8 mmol) was added slowly. The mix reaction was stirred 30 min at rt and then methyl formiate (258 μ L, 2.8 mmol) was added to the solution. After 24 h stirring, the mix reaction was concentrated under vacuum and the residue was dissolved in DCM and washed twice with brine. The combined organic phase was dried over anh. $MgSO_4$, filtered and dried in vacuum. The residue was purified by column chromatography on silica gel (Hex:TBME 1:9) to provide 316 mg of compound **7** (83% yield) as a white solid. The presence of two rotamers (ratio 5.5:1) was observed in the NMR spectra.

1H RMN (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8.24 (s, 1H, CHO), 8.17 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H, CHO), 7.31-7.26 (m, 10H, Ar), 6.01 (brs, 2H, NH) 4.48 (d, $J = 5.2$ Hz, 2H, CH_2), 4.41 (d, $J = 6.3$ Hz, 2H, CH_2); **^{13}C RMN (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm):** 164.8 (mi), 161.2 (ma), 137.8 (ma + mi), 129.2 (mi), 128.9 (ma), 128.2 (mi), 127.8 (ma+mi), 127.6 (ma), 127.1(mi) , 45.7 (mi) , 42.3 (ma); **Mp:** 62-63°C

Synthesis of (isocyanomethyl)benzene (**8**)

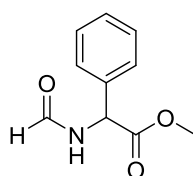
 **Procedure A:** In a 10 mL round-bottom flask, compound **7** (22 mg, 0.15 mmol) and Burgess reagent (methyl *N*-(triethylammoniumsulfonyl) carbamate) (36 mg, 0.15 mmol) were dissolved in 1 mL of CH_3CN under argon atmosphere. The reaction mixture was heated up at 50 °C during 3h and then was stirred overnight at rt. Afterwards, the mix reaction was concentrated under vacuum and the resulting residue was dissolved in DCM and washed three times with brine. The organic phase was dried over anh. Na_2SO_4 , filtered and the solvent was removed under reduced pressure. The crude reaction product was purified by column chromatography on silica gel (Hex: EtOAc (9:1)) to yield 9 mg (65%) of compound **8** as a yellowish oil with an extremely unpleasant odor.

Procedure B: In a 10 mL round-bottom flask, compound **7** (25 mg, 0.19 mmol) was dissolved in 1.5 mL of dry DCM under argon atmosphere. Et_3N (150 μ L, 0.93 mmol) was added to the solution and the reaction mixture was cooled to -25 °C. After 5 min, a solution of $POCl_3$ (22 μ L, 0.24 mmol) in 1 mL of DCM was added dropwise to the mix reaction. The reaction mixture was stirred during 5h keeping the temperature at -25 °C. After this period of time, the reaction was quenched with 4 mL of Na_2CO_3 aq. and extracted three

times with Et₂O. The combined organic phase was washed with brine and dried over anh. MgSO₄. The mixture was filtered and concentrated under reduced pressure. 14 mg (96%) of the crude product **8** were obtained as a yellowish oil which was used in the following reaction without further purification due to its unpleasant odor.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.53-7.15 (m, 5H, Ar), 4.72 (s, 2H, CH₂); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 157.9 (NC), 131.7 (C_q, Ar), 129.2 (2 x CH, Ar), 128.6 (2 x CH, Ar), 126.9 (CH, Ar), 43.4 (CH₂).

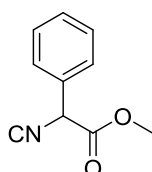
Synthesis of methyl 2-formamido-2-phenylacetate (**9**)



(*R*)-2-phenylglycine methyl ester hydrochloride (420 mg, 2.1 mmol) was dissolved in 4 mL of DCM and neutralized with Et₃N (285 μL, 2.1 mmol). On the other hand, to prepare acetic formic anhydride, formic acid (170 μL, 4.5 mmol) and acetic anhydride (380 μL, 4.0 mmol) were added to a 10 mL round-bottom flask and the mix reaction was heated up at 55 °C during 90 min. Afterwards, the reaction mixture was cooled to rt and the solution of (*R*)-2-phenylglycine methyl ester was added dropwise to the stirred solution of the acetic formic anhydride formed. The resulting reaction mixture was stirred 3h at rt and then it was quenched with water and extracted three times with DCM. The organic phase was dried over anh. MgSO₄, filtered and concentrated under vacuum. The residue was purified by column chromatography on silica gel (Hex: EtOAc (5:5)) to afford 287 mg (72%) of compound **9** as a pale yellow solid.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.19 (s, 1H, CHO), 7.36-7.32 (m, 5H, Ar), 6.91 (br s, 1H, NH), 5.65 (dd, *J*= 7.5, 0.9 Hz, 1H, H₂), 3.72 (s, 3H, CH₃). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.3 (OC=O), 160.6, (CHO), 136.3 (C_q, Ar), 129.3 (CH, Ar), 129.0 (CH, Ar), 127.5 (CH, Ar), 55.3 (CH, Ar), 53.2 (CH₃); **Mp:** 65-66°C

Synthesis of methyl 2-isocyano-2-phenylacetate (**10**)

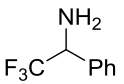


By means of procedure B of the synthesis of compound **8**, reaction of compound **9** (206 mg, 1.07 mmol), Et₃N (0.72 mL, 5.2 mmol) and POCl₃ (145

μL , 1.6 mmol) yielded 168 mg (90%) of compound **10** which was used in the next reaction without further purification.

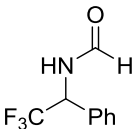
^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.44-7.40 (m, 5H, Ar), 5.34 (s, 1H, H₂), 3.78 (s, 3H, CH₃). ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 172.6. (OC=O), 160.8 (CN), 136.0, (C_q, Ar), 129.1 (2 x CH, Ar), 128.7 (2 x CH, Ar), 127.2 (CH, Ar), 55.0 (C₂), 53.0 (CH₃).

Synthesis of 2,2,2-trifluoro-1-phenylethan-1-amine (**11**)

 Ammonium acetate (408 mg, 5.21 mmol) and 2,2,2-trifluoroacetophenone (80 μL , 0.59 mmol) were mixed in 2 mL of EtOH and then treated with sodium cyanoborohydride (46 mg, 0.71 mmol). The reaction mixture was stirred at rt under argon atmosphere for 48h until the reactants were consumed as determined by TLC analysis. The reaction mixture was quenched by adding 0.1 mL of HCl 37% and concentrated under vacuum. The resulting solid crude was dissolved in 10 mL of water and KOH 5% solution was added until pH 10. The aqueous solution was extracted with DCM. The combined organic phase was washed with brine and dried over MgSO_4 . The solvent was evaporated and the residue was purified by column chromatography on silica gel (Hex:EtOAc 9:1) to provide 87 mg of compound **12** (85% yield) as a colourless oil.

^1H RMN (300MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.54-7.32 (m, 5H, Ar), 5.05 (q, J = 6.6 Hz, 1H, H₁), 2.55 (br s, 2H, NH₂); ^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 135.42 (C_q, Ar), 129.02 (2 x CH, Ar), 128.54 (2 x CH, Ar), 127.56 (CH, Ar), 125.64 (q, J = 280.4 Hz, CF₃), 57.96 (q, J = 29.3 Hz, C₁). ^{19}F RMN (282MHz, CDCl_3) δ (ppm): -78.88 (d, J = 5.6 Hz, 3F, CF₃).

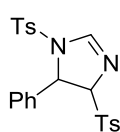
Synthesis of N-(2,2,2-trifluoro-1-phenylethyl)formamide (**12**)

 Formic acid (47 μL , 1.25 mmol) and acetic anhydride (107 μL , 1.34 mmol) were added to a 1 mL conic flask and the reaction mixture was heated up at 55 °C during 2h. Afterwards, the reaction flask was cooled with an ice bath and a solution of compound **11** (100 mg, 0.57 mmol) in cold DCM was added. The reaction mixture was stirred under argon atmosphere 48h at rt. The mix reaction was quenched with water and extracted with DCM. The combined organic phase was washed with brine, dried over anh. MgSO_4 and concentrated under vacuum. The residue was

purified by column chromatography on silica gel (Hex: EtOAc (8:2)) to afford 65 mg (55%) of compound **12** as colorless thick oil.

¹H RMN (300MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.16 (s, 1H, CHO), 7.49-7.40 (m, 5H, Ar), 6.24 (q, *J*= 6.7 Hz, 1H, CH) ppm; **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** **¹⁹F RMN (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -76.52 (d, *J*=5.6 Hz, 3F, CF₃).

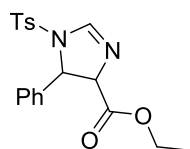
Synthesis of 5-phenyl-1,4-ditosyl-4,5-dihydro-1H-imidazole (14)



1,8-diazabicycloundec-7-ene (DBU) (2.5 μL, 0.017 mmol) was added to a solution of toluenesulfonylmethyl isocyanide (TOSMIC) (14 mg, 0.07 mmol) in 1 mL of dry DCM. The reaction was stirred 30 min at rt under argon atmosphere. Next, a solution of compound **4** (18 mg, 0.07 mmol) in 1 mL of DCM was added dropwise to the mix reaction. The reaction mixture was stirred 3h at rt and then quenched with a few mL of water. The aqueous phase was extracted three times with DCM. The combined organic phase was dried over anh. MgSO₄, filtered and dried in vacuum. The residue was purified by column chromatography on silica gel (Hex: EtOAc (6:4)) to afford 18 mg (67%) of compound **14**.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.74-7.72 (m, 3H, Ar), 7.56 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, Ar), 7.31-7.18 (m, 8H, Ar), 5.33 (d, *J*=5.4 Hz, 1H, C4), 5.02 (d, *J*=5.4 Hz, 1H, C5), 2.43 (s, 3H, CH₃), 2.42 (s 3H, CH₃). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 160.7 (C2) 143.7 (C_q, Ar), 135.8 (C_q, Ar), 133.5 (C_q, Ar), 129.7 (4 x CH, Ar), 129.1 (2 x CH, Ar), 128.6 (4 x CH, Ar), 127.3 (2 x CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 90.9 (C4), 55.8 (C5), 21.5 (CH₃).

Synthesis of ethyl 5-phenyl-1-tosyl-4,5-dihydro-1H-imidazole-4-carboxylate (15)

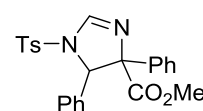


Employing the same procedure as compound **14**, reaction of ethyl isocyanoacetate (14 μL, 0.13 mmol), DBU (4 μL, 0.03 mmol) and compound **4** (30.6 mg, 0.12 mmol) in DCM at rt yielded 33 mg (73%) of compound **15**.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.68 (s, 1H, H2), 7.47 (d, *J*=8.4 Hz, 2H, Ar), 7.26-7.17 (m, 7H, Ar), 5.07 (d, *J*=7.5 Hz, 1H, H5), 4.65 (d, *J*=7.5 Hz, 1H, H4), 4.17 (q, *J*=7.2 Hz, 2H, CH₂, OEt), 2.39 (s, 3H, CH₃), 1.23 (t, *J*=7.2 Hz, 3H, CH₃, OEt). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):**

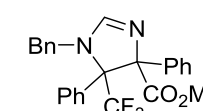
169.2 (OC=O), 150.2, (C2), 144.8 (C_q, Ar), 138.1 (C_q, Ar), 134.4 (C_q, Ar), 129.8 (2 x CH, Ar), 128.8 (2 x CH, Ar), 128.5 (2 x CH, Ar), 127.4 (2 x CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 79.8 (C4), 63.9 (C5), 62.0 (CH₂, OEt), 21.6 (CH₃), 14.0 (CH₃, OEt).

Synthesis of methyl 4,5-diphenyl-1-tosyl-4,5-dihydro-1H-imidazole-4-carboxylate (**17**)

 LDA was prepared by adding BuLi (69 μL, 0.11 mmol, 1.6 M in hexanes) to a solution of diisopropylamine (19 μL, 0.13 mmol) in 0.2 mL of THF, at -78 °C. The solution was stirred 15 min at 0 °C and then cooled again to -78 °C. A solution of compound **10** (19 mg, 0.11 mmol) in 0.2 mL of dry THF was added to the freshly LDA solution and the mixture was stirred for 30 min. Afterwards, compound **4** (34 mg, 0.11 mmol) were added and the reaction was stirred overnight at 4 °C and one extra day at rt. The reaction mixture was quenched with water and extracted with three portions of Et₂O. The combined organic phase was dried over anh. Na₂SO₄, filtered and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on deactivate silica gel 5% trimethylamine in hexane (eluent EtOAc 100%) to afford 18 mg (37%) of compound **17**.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.44-7.01 (m, 14H, H_{Ar}), 7.85 (s, 1H, H₂), 3.71 (s, 3H, CH₃), 2.43 (s, 3H, CH₃); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 160.7 (C2) 143.7 (C_q, Ar), 135.8 (C_q, Ar), 133.5 (C_q, Ar), 129.7 (CH, Ar), 129.1 (CH, Ar), 128.6 (CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 90.9 (C4), 55.8 (C5), 21.5 (CH₃).

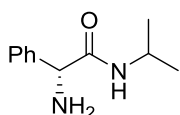
Synthesis of methyl 1-benzyl-4,5-diphenyl-5-(trifluoromethyl)-4,5-dihydro-1H-imidazole-4-carboxylate (**18**)

 Benzyl amine (50 μL, 0.46 mmol) was added to a solution of 2,2,2-trifluoroacetophenone (63 μL, 0.46 mmol), MgSO₄ (57 mg, 0.48 mmol) and AgOAc (2.1 mg, 0.01 mmol) in 1.2 mL of MeOH. The reaction mixture was stirred for overnight at rt. Next, compound **10** (39 mg, 0.22 mmol) dissolved in 0.2 ml of MeOH was added to the reaction mixture and it was stirred for 24h at rt. The reaction mixture was quenched with water and extracted with Et₂O. The combined organic phase was dried over anh. MgSO₄, filtered and concentrated under reduced

pressure. The residue was purified by column chromatography on deactivate silica gel 5% trimethylamine in hexane (eluent EtOAc 100%) to afford 18 mg (19%) of compound **18**.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.58-7.26 (m, 16H, 15H_{Ar}, H₂), 4.05 (s, 2H, CH₂), 3.5 (s, 3H, CH₃), **¹⁹F RMN (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -80.60 (s, CF₃).

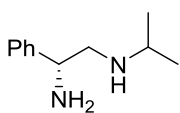
Synthesis of (*R*)-2-amino-*N*-isopropyl-2-phenylacetamide (**21**)



By means of general procedure B, reaction of (*R*)-(-)-2-Phenylglycine methyl ester hydrochloride (7 g, 34.71 mmol), DMAP (423 mg, 3.47 mmol) and diisopropylamine (44.3 mL, 521 mmol) yielded 5.01 g (75%) of compound **21** as a colourless oil after purification by column chromatography on silica gel (EtOAc 100% + NH₄OH 1%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.41-7.27 (m, 5H, Ar), 6.95 (br s, 1H, NH), 4.49 (s, 1H, H₂), 4.16-4.00 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.81 (brs, 2H, NH₂), 1.17 (d, *J* = 5.1 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.15 (d, *J* = 5.1 Hz, 3H, CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.8 (C=O), 141.1 (C1', Ar), 128.8 (C2', C6', Ar), 127.8 (C1', Ar), 126.7 (C3', C5', Ar), 59.7 (C2), 40.8 (CH_{iPr}), 22.7 (CH_{3iPr}), 22.6 (CH_{3iPr}).

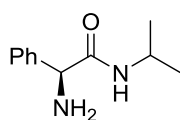
Synthesis of (*R*)-*N*-isopropyl-2-phenylethane-1,2-diamine (**22**)



By means of general procedure C, reaction of compound **21** (0.5 g, 2.60mmol) and LiAlH₄ (494 mg, 13.01 mmol) in 10 mL of THF at 0°C provided 380 mg (82%) of compound **22** as a yellowish oil after purification by column chromatography on silica gel (DCM:MeOH (95:5)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.30-7.18 (m, 5H, Ar), 3.99 (dd, *J* = 8.4, 4.8 Hz, 1H, H₂), 2.84-2.74 (m, 2H, H₁, CH_{iPr}), 2.66 (dd, *J* = 11.7, 8.4 Hz, H₁), 1.84 (br s, 3H, NH₂, NH), 1.05 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.00 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 144.5 (C_q, Ar), 128.4 (2 x CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 126.3 (2 x CH, Ar), 55.7 (C₂), 55.2 (C₁), 48.6 (CH_{iPr}), 22.9 (CH_{3iPr}), 22.7 (CH_{3iPr}).

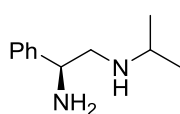
Synthesis of (S)-2-amino-N-isopropyl-2-phenylacetamide (19)



By means of general procedure B, reaction of (S)-(+)-2-Phenylglycine methyl ester hydrochloride (3.5 g, 17.36 mmol), DMAP (211 mg, 1.74 mmol) and diisopropylamine (22 mL, 261 mmol) yielded 2.27 g (68%) of compound **19** as a colourless oil after purification by column chromatography on silica gel (EtOAc 100% + NH₄OH 1%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.40-7.26 (m, 5H, Ar), 6.93 (br s, 1H, NH), 4.47 (s, 1H, H₂), 4.15-3.99 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.82 (brs, 2H, NH₂), 1.17 (d, *J* = 4.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.14 (d, *J* = 4.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.9 (C=O), 141.3 (C1', Ar), 128.8 (C2', C6', Ar), 127.8 (C1', Ar), 126.8 (C3', C5', Ar), 59.8 (C2), 41.0 (CH_{iPr}), 22.7 (CH_{3iPr}), 22.6 (CH_{3iPr}). [α]_D²⁰ = +2.3 (c 0.5, CHCl₃).

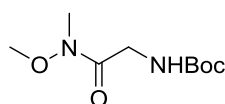
Synthesis of (S)-N-isopropyl-2-phenylethane-1,2-diamine (20)



By means of general procedure C, reaction of compound **19** (1 g, 5.20 mmol) and LiAlH₄ (989 g, 26.02 mmol) in 15 mL of THF at 0°C provided 825 mg (89%) of compound **20** as a brownish oil after purification by column chromatography on silica gel (DCM:MeOH (95:5)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.28-7.16 (m, 5H, Ar), 3.95 (dd, *J* = 8.7, 4.8 Hz, 1H, H₂), 2.81-2.71 (m, 2H, H₁, CH_{iPr}), 2.63 (dd, *J* = 11.7, 8.4 Hz, H₁), 1.82 (br s, 3H, NH₂, NH), 1.04 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.98 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH_{3iPr}). ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 144.7 (C_q, Ar), 128.5 (2 x CH, Ar), 127.2 (CH, Ar), 126.3 (2 x CH, Ar), 55.8 (C₂), 55.2 (C₁), 48.7 (CH_{iPr}), 22.9 (CH_{3iPr}), 22.8 (CH_{3iPr}). [α]_D²⁰ = +3.35 (c 0.83, CHCl₃).

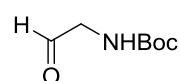
Synthesis of tert-butyl (2-(methoxy(methyl)amino)-2-oxoethyl)carbamate (23)



By means of general procedure D, reaction of Boc-glycine (1 g, 5.71 mmol), DMAP (70 mg, 0.57 mmol), *N,O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride (725 mg, 7.42 mmol), Et₃N (1.26 mL, 9.14 mmol), EDCI (2 g, 6.85 mmol) and 20 mL of dry DCM provided 1.06 g (85%) of compound **23** as a white solid after purification by column chromatography on silica gel with EtOAc 100%.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.30 (br s, 1H, NH), 4.16 (d, *J* = 4.8 Hz, 2H, CH₂), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 3.22 (s, 3H, NCH₃), 1.44 (s, 9H, 3 x CH₃, tBu); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 174.9 (N-C=O), 154.8 (C=O, Boc), 79.9 (C_q, tBu), 62.3 (OCH₃), 42.5 (CH₂), 32.7 (NCH₃), 27.8 (3 x CH₃, tBu); **Mp:** 99-101°C.

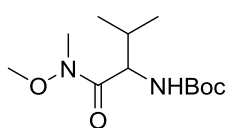
Synthesis of tert-butyl (2-oxoethyl)carbamate (**24**)



By means of general procedure C, reaction of compound **23** (750 mg, 3.44 mmol) and LiAlH₄ (260 mg, 6.88 mmol) in anhydrous THF (20 mL) yielded 438 mg (80%) as a colorless oil. In this case, the reaction was stirred at 0°C for 1h and quenched by addition of 17 mL of 0.4 M KHSO₄ aq. Solution. The mix reaction was stirred for 15 min and concentrated under vacuum. The residue was dissolved in water and extracted three times with EtOAc. The combined organic phase was washed with 1M HCl solution, NaHCO₃ sat. solution and brine. The combined organic phase was dried over anh. Na₂SO₄, filtered and concentrated under vacuum. Compound **24** was used in the next reaction without further purification.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.65 (s, 1H, CHO), 5.20 (brs, 1H, NH), 4.12 (d, *J* = 4.6 Hz, 2H, CH₂), 1.44 (s, 9H, 3 x CH₃, tBu); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 197.5 (CHO), 155.8 (C=O, Boc), 79.8 (C_q, tBu), 51.7 (CH₂), 28.2 (3 x CH₃, tBu).

Synthesis of tert-butyl 1-(methoxy(methyl)amino)-3-methyl-1-oxobutan-2-yl) carbamate (**25**)

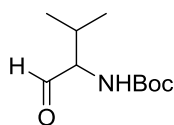


By means of general procedure D, reaction of Boc-DL-valine (100 mg, 0.46 mmol), DMAP (6 mg, 0.05 mmol), *N,O*-dimethylhydroxylamine hydrochloride (47 mg, 0.48 mmol), DIPEA (84 μL, 0.48 mmol) and CDI (76 mg, 0.48 mmol) in 2 mL of dry THF provided 92 mg (77%) of compound **25** as a colorless oil after purification by column chromatography on silica gel (Hex:EtOAc (9:1)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.11 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, NH), 4.53 (br s, 1H, H₂), 3.73 (s, 3H, OCH₃), 3.17 (s, 3H, NCH₃), 1.95-1.89 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.39 (s, 9H, 3 x CH₃, tBu), 0.92 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.87 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 173.0

(C=O, Boc), 155.9 (N(C=O)), 79.4 (C_q tBu), 61.6 (OCH₃), 55.0 (C₂), 31.8 (CH_{iPr}), 31.4 (NCH₃), 28.4 (3 x CH₃, tBu), 19.4 (CH_{3iPr}), 17.6 (CH_{3iPr}).

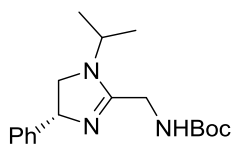
Synthesis of tert-butyl (3-methyl-1-oxobutan-2-yl)carbamate (26)



By means of general procedure C, reaction of compound **25** (4.80 g, 20 mmol) and LiAlH₄ (1.51 g, 40 mmol) in anhydrous THF (40 mL) yielded 3.74 g (93%) as a colorless oil. The compound was used in the next step without further purification.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.64 (s, 1H, CHO), 5.06 (br s, 1H, NH), 4.24 (dd, *J* = 7.3, 4.1 Hz, 1H, H₂), 2.37-2.17 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.44 (s, 9H, 3x CH₃, tBu), 1.02 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.94 (d, *J* = 7.0 Hz, 3H, CH_{3iPr}); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 200.5 (CHO), 156.0 (C=O, Boc), 80.1 (C_q, tBu), 64.8 (C₂), 29.2 (CH_{iPr}), 28.4 (3x CH₃, tBu), 19.2 (CH_{3iPr}), 17.7 (CH_{3iPr}).

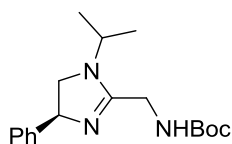
Synthesis of tert-butyl (*R*)-((1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)methyl)carbamate (28)



By means of general procedure E, reaction of compound **22** (441 mg, 2.48 mmol), compound **24** (375 mg, 2.36 mmol) and NBS (441 mg, 2.48 mmol) in 20 mL of dry DCM provided 524 g (70%) of compound **28** as a colorless oil after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex: EtOAc) (8:2 → 1:1 → 0:1)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.26-7.18 (m, 5H, Ar), 6.47 (br s, 1H, NH), 5.13 (dd, *J* = 8.4, 6.1 Hz, 1H, H₄), 4.14 (d, *J* = 5.9 Hz, 2H, CH₂), 4.02 (dd, *J* = 9.4, 7.3 Hz, 1H, CH₂, H₅), 3.37 (dd, *J* = 9.6, 7.4 Hz, 1H, CH₂, H₅), 1.36 (s, 9H, 3x CH₃, tBu); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.5 (C₂), 156.0 (C=O, Boc), 141.3 (C_q, Ar), 128.8 (2 x CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 126.3 (2 x CH, Ar), 79.8 (C_q, Boc), 61.2 (C₄), 52.4 (C₅), 46.6 (CH_{iPr}), 36.9 (CH₂), 28.1 (3 x CH₃, tBu), 20.2 (CH_{3iPr}), 19.9 (CH_{3iPr}). [α]_D²⁰ = -2.70 (c 0.46, CHCl₃).

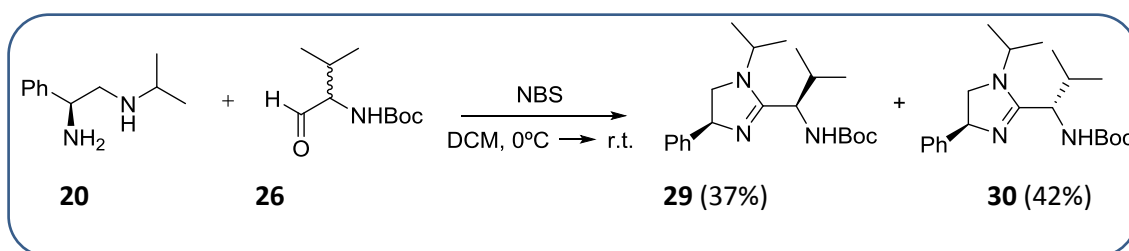
Synthesis of tert-butyl (S)-((1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)methyl) carbamate (27)



By means of general procedure E, reaction of compound **20** (187 mg, 1.05 mmol), compound **24** (159 mg, 1 mmol) and NBS (187 mg, 1.05 mmol) in 10 mL of dry DCM provided 260 mg (82%) of compound **27** as a colorless oil after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex: EtOAc) (8:2 → 1:1 → 0:1)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.23-7.16 (m, 5H, Ar), 6.49 (br s, 1H, NH), 5.14 (dd, *J*= 8.1, 6.0 Hz, 1H, H₄), 4.14 (d, *J*= 5.9 Hz, 2H, CH₂), 4.01 (dd, *J*= 8.9, 7.4 Hz, 1H, CH₂, H₅), 3.37 (dd, *J*= 9.2, 7.5 Hz, 1H, CH₂, H₅), 1.34 (s, 9H, 3x CH₃, tBu); ¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 165.3 (C₂), 155.7 (C=O, Boc), 141.4 (C_q, Ar), 128.7 (2 x CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 126.7 (2 x CH, Ar), 79.9 (C_q, Boc), 61.4 (C₄), 53.2 (C₅), 46.6 (CH_{3iPr}), 37.2 (CH₂), 28.0 (3 x CH₃, tBu), 20.4 (CH_{3iPr}), 20.0 (CH_{3iPr}).

Synthesis of tert-butyl ((R)-1-((S)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-methylpropyl)carbamate (29) and tert-butyl ((S)-1-((S)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-methylpropyl)carbamate (30)



By means of general procedure E, reaction of compound **20** (1.01 g, 5.88 mmol), compound **26** (1.13 g, 5.60 mmol) and NBS (1.05 g, 5.88 mmol) in 22 mL of dry DCM yielded a mix of diastereoisomers providing 745 mg (37%) of compound **29** and 846 mg (42%) of compound **30** after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (95:5 → 9:1 → 8:2 → 7:3 → 5:5 → 0:1)). Both compounds are colorless oils. Compound **29** comes out first from the column than compound **30**.

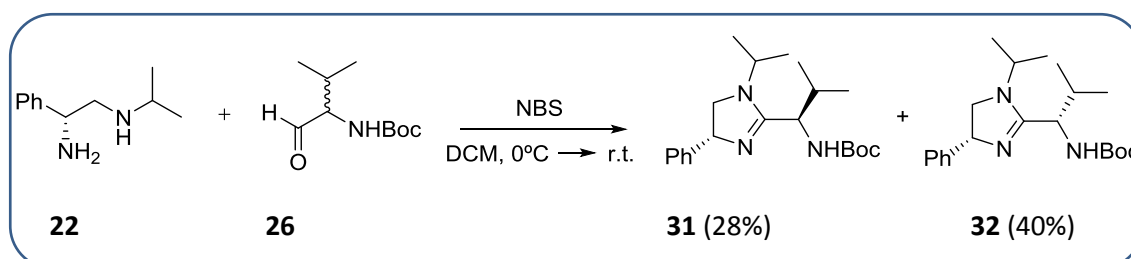
Compound 29 (Diast.1)

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.32-7.03 (m, 5H, Ar), 5.46 (d, *J* = 9.4 Hz, 1H, NH), 4.94 (dd, *J* = 11.5, 7.6 Hz, 1H, H₄), 4.25 (dd, *J* = 9.4, 6.0 Hz, 1H, H_{1'}), 3.87 (Sept, *J* = 6.6 Hz, 1H, CH, N_{iPr}), 3.71 (dd, *J* = 11.5, 9.3 Hz, 1H, CH₂, H₅), 3.24 (dd, *J* = 9.3, 7.6 Hz, 1H, CH₂, H₅), 2.08-1.88 (m, 1H CH_{iPr}), 1.35 (s, 9H, 3x CH₃, tBu), 1.11 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 1.08 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 0.96 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.89 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.0 (C₂), 155.7 ((O)C=O), 145.0 (C_q, Ar), 128.5 (2 x CH, Ar), 126.9 (CH, Ar), 126.6 (2 x CH, Ar), 79.1 (C_q, Boc), 66.2 (C₄), 51.8 (C_{1'}), 51.1 (C₅), 45.6 (CH, N_{iPr}), 32.5 (CH, C_{iPr}), 28.3 (3 x CH₃, tBu), 20.9 (CH₃, N_{iPr}), 20.0 (CH₃, N_{iPr}), 19.9 (CH₃, C_{iPr}), 17.3 (CH₃, C_{iPr}). [α]_D²⁰ = + 22.38 (c 1.09, CHCl₃).

Compound 30 (Diast. 2)

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.33-7.07 (m, 5H, Ar), 5.48 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, NH), 4.85 (t, *J* = 10.5 Hz, 1H, H₄), 4.25 (dd, *J* = 9.6, 5.7 Hz, 1H, H_{1'}), 3.83 (Sept, *J* = 6.7 Hz, 1H, CH, N_{iPr}), 3.66 (dd, *J* = 10.9, 9.2 Hz, 1H, CH₂, H₅), 3.05 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H, CH₂, H₅), 2.02-1.88 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.37 (s, 9H, 3x CH₃, tBu), 1.10 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 1.07 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 0.95 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.88 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.9 (C₂), 155.9 ((O)C=O), 144.8 (C_q, Ar), 128.3 (2 x CH, Ar), 126.8 (CH, Ar), 126.5 (2 x CH, Ar), 79.3 (C_q, Boc), 66.2 (C₄), 52.5 (C_{1'}), 52.2 (C₅), 46.0 (CH, N_{iPr}), 32.1 (CH, C_{iPr}), 28.5 (3 x CH₃, tBu), 21.3 (CH₃, N_{iPr}), 20.0 (CH₃, N_{iPr}), 19.2 (CH₃, C_{iPr}), 17.1 (CH₃, C_{iPr}).

Synthesis of tert-butyl ((*R*)-1-((*R*)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2-methylpropyl)carbamate (31) and Synthesis of tert-butyl ((*S*)-1-((*R*)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2'-methylpropyl)carbamate (32)



By means of general procedure E, reaction of compound **20** (1.01 g, 5.88 mmol), compound **26** (1.13 g, 5.60 mmol) and NBS (1.05 g, 5.88 mmol) in 22 mL of dry DCM yielded a mix of diastereoisomers providing 563 mg (28%) of compound **31** and 805 mg (40%) of compound **32** after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (95:5 → 9:1 → 8:2 → 7:3 → 5:5 → 0:1)). Both compounds are colorless oils. Compound **32** comes out first from column than compound **31**.

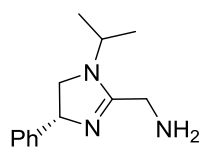
Compound 31 (Diast. 2):

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.38-7.15 (m, 5H, Ar), 5.49 (d, *J* = 9.1 Hz, 1H, NH), 4.92 (t, *J* = 10.6 Hz, 1H, H₄), 4.32 (dd, *J* = 9.6, 5.6 Hz, 1H, H₁'), 3.89 (Sept, *J* = 6.7 Hz, 1H, CH, N_{iPr}), 3.73 (dd, *J* = 10.8, 9.1 Hz, 1H, CH₂, H₅), 3.11 (t, *J* = 9.7 Hz, 1H, CH₂, H₅), 2.14-1.95 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.45 (s, 9H, 3x CH₃, tBu), 1.18 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 1.13 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 1.02 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.95 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 167.1 (C₂), 156.3 ((O)C=O), 144.7 (C_q, Ar), 128.5 (2 x CH, Ar), 127.1 (CH, Ar), 126.9 (2 x CH, Ar), 79.2 (C_q, Boc), 66.2 (C₄), 52.2 (C₁'), 51.4 (C₅), 46.0 (CH, N_{iPr}), 31. (CH, C_{iPr}), 28.4 (3 x CH₃, tBu), 21.6 (CH₃, N_{iPr}), 19.9 (CH₃, N_{iPr}), 19.0 (CH₃, C_{iPr}), 17.4 (CH₃, C_{iPr}). [α]_D²⁰ = -46.7 (c 0.16, CHCl₃)

Compound 32 (Diast.1):

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.32-7.15 (m, 5H, Ar), 5.55 (d, *J* = 9.2 Hz, 1H, NH), 4.99 (dd, *J* = 11.5, 7.6 Hz, 1H, H₄), 4.29 (dd, *J* = 9.3, 6.2 Hz, 1H, H₁'), 3.92 (Sept, *J* = 6.6 Hz, 1H, CH, N_{iPr}), 3.75 (dd, *J* = 11.5, 9.3 Hz, 1H, CH₂, H₅), 3.27 (dd, *J* = 9.0, 7.8 Hz, 1H, CH₂, H₅), 2.13-1.95 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.40 (s, 9H, 3x CH₃, tBu), 1.15 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 1.13 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃, N_{iPr}), 1.01 (d, *J* = 6.8 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.93 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.0 (C₂), 155.8 ((O)C=O), 145.1 (C_q, Ar), 128.5 (2 x CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 126.8 (2 x CH₂), 79.1 (C_q, Boc), 66.2 (C₄), 51.9 (C₁'), 51.2 (C₅), 45.7 (CH, N_{iPr}), 32.5 (CH, C_{iPr}), 28.3 (3 x CH₃, tBu), 21.0 (CH₃, N_{iPr}), 20.1 (CH₃, N_{iPr}), 20.0 (CH₃, C_{iPr}), 17.4 (CH₃, C_{iPr}). [α]_D²⁰ = -11.37 (c 1.6, CHCl₃).

Synthesis of (*R*)-1-(1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)methanamine (33)

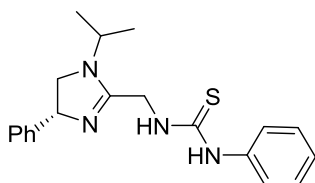


By means of general procedure F, reaction of compound **28** (124 mg, 0.39 mmol) and TFA (387 μ L, 5.1 mmol) in 2 of dry DCM yielded 80 mg (94%) of compound **33** as a pale brown oil which was used in the next step

without further purification.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.41-7.07 (m, 5H, Ar), 4.89 (dd, $J = 10.5, 9.4$ Hz, 1H, H4), 3.71 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H, H5), 3.75-3.62 (m, 1H, CH_{iPr}), 3.44 (s, 2H, CH_2), 3.16 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H, H5'), 1.91 (br s, 2H, NH_2), 1.11 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, $\text{CH}_{3\text{iPr}}$), 1.04 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, $\text{CH}_{3\text{iPr}}$). **^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 164.9 (C2), 141.4 (C1', Ar), 129.3 (C3', C5', Ar), 127.8 (C2', C6', Ar), 125.6 (C4', Ar), 65.3 (C4), 54.4 (CH_{iPr}), 48.2 (C5), 42.8 (CH_2), 21.3 ($\text{CH}_{3\text{iPr}}$), 19.4 ($\text{CH}_{3\text{iPr}}$).

Synthesis of (*R*)-1-((1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)methyl)-3-phenylthiourea (34)

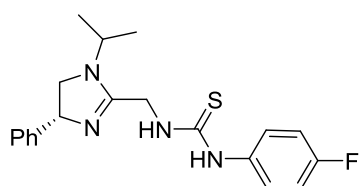


By means of general procedure G, reaction of compound **33** (80 mg, 0.37 mmol), Et_3N (105 μ L, 0.79 mmol) and phenyl isothiocyanate (141 μ L, 1.18 mmol) in 2 mL of dry DCM yielded

95 mg (73%) of compound **34** as a yellowish solid after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et_3N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2 \rightarrow 6:4 \rightarrow 5:5 \rightarrow 2:8)).

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.73 (br s, 2H, 2 x NH), 7.37-7.07 (m, 10H, Ar), 4.86 (t, $J = 9.9$ Hz, 1H, H4) 4.52 (d, $J = 16.6$ Hz, 1H, H5) 4.08 (d, $J = 16.7$ Hz, 1H, H5'), 3.83-3.74 (m, 2H, CH_{iPr} , CH_2), 3.28 (t, $J = 8.7$ Hz, 1H, CH_2), 1.19 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, $\text{CH}_{3\text{iPr}}$), 1.13 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, $\text{CH}_{3\text{iPr}}$); **^{13}C RMN (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 181.0 (C=S), 163.4 (C2), 143.6 (C_q Ar), 137.9 (C_q Ar), 129.0 (2 x CH, Ar), 128.6 (2 x CH, Ar), 127.3 (CH, Ar), 126.46 (2 x CH, Ar), 125.6 (CH, Ar), 124.46 (2 x CH, Ar), 64.6 (C4), 51.7 (CH_{iPr}), 45.7 (CH_2), 41.9 (C5), 20.6 ($\text{CH}_{3\text{iPr}}$), 20.0 ($\text{CH}_{3\text{iPr}}$). **Mp:** 164-166 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -4.01$ (c 0.4, CHCl_3).

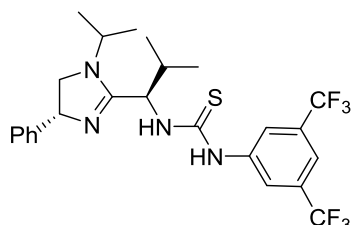
Synthesis of (*R*)-1-(4'-fluorophenyl)-3-((1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)methyl)thiourea (35)



By means of general procedure G, reaction of compound **33** (70 mg, 0.32 mmol), Et₃N (89 μL, 0.64 mmol) and 4-fluorophenyl isothiocyanate (148 mg, 0.97 mmol) in 2 mL of dry DCM yielded 69 mg (58%) of compound **35** as a yellowish solid after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 9.08 (br s, 1H, NH), 8.80 (br s, 1H, NH), 7.31-7.11 (m, 7H, Ar), 6.93-6.82 (m, 2H, Ar), 4.82 (dd, *J* = 10.6, 8.2 Hz, 1H, H4), 4.51 (d, *J* = 17.3 Hz, 1H, H5), 4.00 (d, *J* = 17.5 Hz, 1H, H5), 3.79 (dd, *J* = 11.1, 9.4 Hz, 1H, CH₂), 3.71 (sept, *J* = 6.6 Hz, 1H, CH_{iPr}), 3.31 (dd, *J* = 9.3, 7.8 Hz, 1H, CH₂), 1.19 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.16 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}); **¹⁹F RMN (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -117,52 (s, F). **Mp:** 133-135 °C; [α]_D²⁰ = -16.07 (c 0.73, CHCl₃).

Synthesis of 1-(3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-((*R*)-1-((*R*)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)thiourea (36)

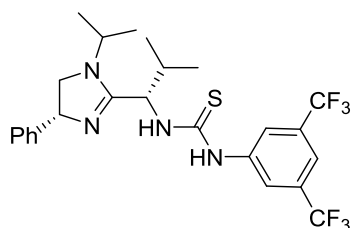


By means of general procedure G, reaction of 3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl isothiocyanate (233 μL, 1.28 mmol), and the resulting product of hydrolysis of compound **31** (300 mg, 1.16 mmol) in 6 mL of dry DCM provided 382 mg (62%) of compound **36** as a white solid after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5→4:6)) and after crystallization in toluene.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.16 (s, 2H, Ar), 7.55 (s, 1H, Ar), 7.34-7.23 (m, 2H, Ar), 7.19-7.08 (m, 2H, Ar), 5.36-5.33 (m, 1H, H1''), 5.22-5.18 (m, 1H, H4), 4.43-4.30 (m, 1H, CH, N_{iPr}), 4.23-4.11 (m, 1H, H5), 3.68 (dd, *J* = 12.9, 5.5 Hz, 1H, H5), 2.45-2.33 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.42 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.33 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.20-1.11 (m, 6H, 2 x CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 182.4 (C=S), 168.7 (C2), 143.9 (C_q, Ph), 138.5 (C1'), 130.8 (q, *J* = 33.1 Hz, C3', C5'), 129.0 (2 x CH, Ph), 128.7 (CH, Ph), 126.1 (2 x CH, Ph), 123.4 (C2',

C6'), 123.1 (q, $J = 270.7$ Hz, CF₃), 118.0 (C4'), 57.2 (C4), 56.8 (C1''), 52.2 (C5), 47.6 (CH, N_{iPr}), 31.9 (CH_{iPr}), 20.5 (CH₃, N_{iPr}), 20.3 (CH₃, N_{iPr}), 19.3 (CH₃, CH_{iPr}), 18.7 (CH₃, CH_{iPr}). **¹⁹F RMN (282MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -62.38 (CF₃); **Mp:** 150-152°C; $[\alpha]_D^{20} = -22.58$ (c 0.31, CHCl₃).

Synthesis of 1-(3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-((S)-1-((R)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)thiourea (37)

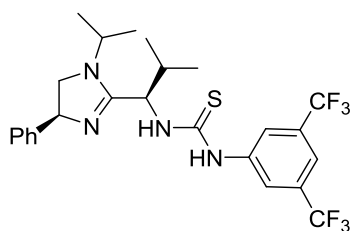


By means of general procedure G, reaction of 3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl isothiocyanate (233 μL, 1.28 mmol), and the resulting product of hydrolysis of compound **32** (300 mg, 1.16 mmol) in 6 mL of dry DCM provided 529 mg (86%) of compound **37** as a white solid after purification

by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5→4:6)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.44 (s, 1H, NH), 8.51 (s, 1H, NH), 8.11 (s, 2H, Ar), 7.43 (s, 1H, Ar), 7.34-7.13 (m, 5H, Ar), 5.46 (d, $J = 5.4$ Hz, 1H, H1''), 4.82 (dd, $J = 11.5, 5.9$ Hz, 1H, H4), 4.17-4.06 (m, 1H, CH, N_{iPr}), 3.99-3.84 (m, 1H, H5), 3.54 (dd, $J = 10.0, 6.0$ Hz, 1H, H5), 2.01-1.81 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.42 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.25 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.80 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.55 (br s, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 181.8 (C=S), 169.4 (C2), 144.3 (C_q, Ph), 141.2 (C1'), 131.1 (q, $J = 33.4$ Hz, C3', C5'), 129.1 (2 x CH, Ph), 127.9 (CH, Ph), 126.9 (2 x CH, Ph), 123.5 (q, $J = 271.4$ Hz, CF₃), 121.6 (C2', C6'), 116.8 (C4'), 65.1 (C4), 56.2 (C1''), 51.5 (C5), 47.0 (CH, N_{iPr}), 31.7 (CH_{iPr}), 21.5 (CH₃, N_{iPr}), 19.9 (CH₃, N_{iPr}), 19.7 (CH₃, CH_{iPr}), 17.6 (CH₃, CH_{iPr}); **Mp:** 158-160°C; $[\alpha]_D^{20} = -16.40$ (c 1.03, CHCl₃).

Synthesis of 1-(3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-((R)-1-((S)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)thiourea (38)

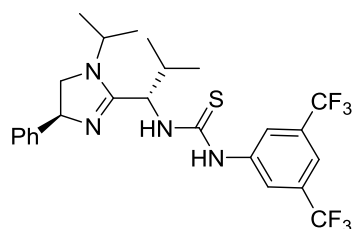


By means of general procedure G, reaction of 3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl isothiocyanate (156 μL, 0.85 mmol), and the resulting product of hydrolysis of compound **29** (200 mg, 0.77 mmol) in 4 mL of dry DCM provided 323 mg (79%) of compound **38** as a white solid after purification

by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5→4:6)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.11 (s, 2H, Ar), 7.45 (s, 1H, Ar), 7.32-7.16 (m, 5H, Ar), 5.44 (d, *J* = 5.7 Hz, 1H, H1''), 4.89 (dd, *J* = 11.7, 6.3 Hz, 1H, H4), 4.21-4.06 (m, 1H, CH, N_{iPr}), 3.99 (dd, *J* = 11.1, 10.8 Hz, 1H, H5), 3.57 (dd, *J* = 10.6, 6.3 Hz, 1H, H5), 2.09-1.95 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.43 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.26 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 0.84 (br s, 3H, CH_{3iPr}), 0.55 (br s, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 181.8 (C=S), 169.4 (C2), 144.0 (C_q, Ph), 141.2 (C1'), 131.1 (q, *J* = 33.4 Hz, C3', C5'), 129.1 (2 x CH, Ph), 127.9 (CH, Ph), 126.9 (2 x CH, Ph), 123.4 (q, *J* = 271.4 Hz, CF₃), 121.6 (C2', C6'), 116.8 (C4'), 64.9 (C4), 56.2 (C1''), 51.5 (C5), 47.0 (CH, N_{iPr}), 31.7 (CH_{iPr}), 21.4 (CH₃, N_{iPr}), 19.9 (CH₃, N_{iPr}), 19.7 (CH₃, CH_{iPr}), 19.6 (CH₃, CH_{iPr}). **Mp:** 154-156°C; [α]_D²⁰ = +15.40 (c 0.8, CHCl₃).

Synthesis of 1-(3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)-3-((S)-1-((S)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)thiourea (39)



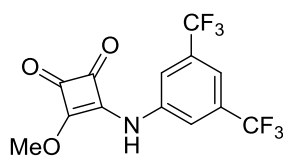
By means of general procedure G, reaction of 3,5-Bis(trifluoromethyl)phenyl isothiocyanate (78 μL, 0.43 mmol), and the resulting product of hydrolysis of compound **30** (100 mg, 0.39 mmol) in 2 mL of dry DCM provided 155 mg (75%) of compound **39** as a white solid after purification by column chromatography on deactivate silica gel 5% Et₃N in hexane (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5→4:6)).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.13 (s, 2H, Ar), 7.59 (s, 1H, Ar), 7.34-7.11 (m, 5H, Ar), 5.34 (br s, 1H, H1''), 5.19 (br s, 1H, H4), 4.63-4.39 (m, 1H, CH, N_{iPr}), 4.22 (dd, *J* = 11.1, 10.9 Hz, 1H, H5), 3.68 (dd, *J* = 13.7, 5.4 Hz, 1H, H5), 2.47-2.15 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.42 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.34 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.20 (br s, 3H, CH_{3iPr}), 1.09 (br s, 3H, CH_{3iPr}). **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 183.0 (C=S), 169.6 (C2), 144.2 (C_q, Ph), 138.9 (C1'), 131.5 (q, *J* = 33.1 Hz, C3', C5'), 129.5 (2 x CH, Ph), 129.3 (CH, Ph), 126.1 (2 x CH, Ph), 123.7 (C2', C6'), 123.4 (q, *J* = 270.7 Hz, CF₃), 118.5-117.5 (m, C4'), 58.1 (C4), 56.8 (C1''), 52.6 (C5), 48.8

(CH, N_{iPr}), 31.8 (CH_{iPr}), 20.5 (CH₃, N_{iPr}), 20.3 (CH₃, N_{iPr}), 19.8 (CH₃, CH_{iPr}), 19.5 (CH₃, CH_{iPr}).

Mp: 186-187°C; $[\alpha]_D^{20} = +18.04$ (c 0.27, CHCl₃).

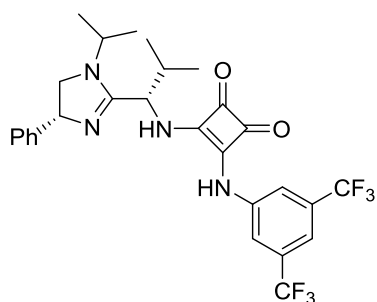
Synthesis of 3-((3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino)-4-methoxycyclobut-3-ene-1,2-dione (40)



In a 25 mL round-bottom flask, Dimethyl squarate (300 mg, 1.46 mmol) was dissolved in 3 mL of dry MeOH under argon atmosphere. Next, 3,5-Bis(trifluoromethyl)aniline (360 μ L, 2.32 mmol) was added and the mixture was stirred at rt for 2 days (yellow precipitate was generated). The reaction mixture was filtered with the aid of cold MeOH. The obtained yellow solid was dried in vacuum to give compound **40** (258 mg, 52%).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.82 (s, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 7.54 (s, 1H, H_{4'}), 4.46 (s, 3H, OCH₃), 4.04 (br s, 1H, NH); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 185.0 (C=O), 179.0 (C=C), 139.4 (C_{1'}), 132.7 (q, $J = 33.7$ Hz, C_{3'}, C_{5'}), 122.9 (q, $J = 272.7$ Hz, CF₃), 119.1 (C_{2'}, C_{6'}), 117.2 (C_{4'}), 61.1 (OCH₃); **Mp:** 180-182°C.

Synthesis of 3-((3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino)-4-(((S)-1-((R)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione (41)

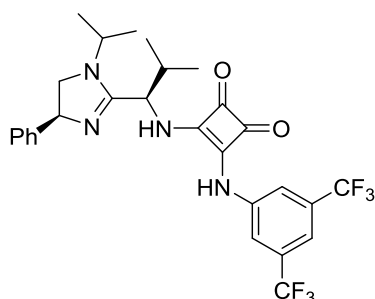


By means of general procedure H, reaction of compound **40** (536 mg, 1.58 mmol) and the resulting product of hydrolysis of compound **32** (490 mg, 1.90 mmol) in 10 mL of dry MeOH provided 645 mg (72%) of compound **41** as a yellowish solid after purification by column chromatography on silica gel (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2 \rightarrow 7:3 \rightarrow 5:5 \rightarrow 4:6 \rightarrow 2:8)).

¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ (ppm): 8.06 (br s, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 7.54 (br s, 1H, H_{4'}), 7.39-7.21 (m, 5H, Ar), 5.09-5.02 (m, 2H, H₄, H_{1''}), 4.18-4.08 (m, 1H, CH, N_{iPr}), 4.01 (dd, $J = 11.4, 10.5$ Hz, 1H, CH₂, H₅), 3.48 (dd, $J = 10.5, 8.7$ Hz, 1H, CH₂, H₅), 2.36-2.25 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.28 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.25 (d, $J = 6.6$ Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.15 ($J = 6.6$ Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.10 ($J =$

6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}); ¹³C RMN (75 MHz, MeOD) δ (ppm): 185.9 (C=O), 167.1 (C2), 145.1 (C_q, Ar), 143.1 (NHC=CNH), 134.4 (q, J = 33.0 Hz, C3', C5'), 129.8 (2 x CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 127.8 (2 x CH, Ar), 124.6 (q, J = 272.1 Hz, CF₃), 119.6 (2 x CH, Ar), 116.3 (CH, Ar), 66.2 (C4), 57.6 (C1''), 52.4 (C5), 47.6 (CH, N_{iPr}), 33.5 (CH_{iPr}), 20.9 (CH₃, N_{iPr}), 20.5 (CH₃, N_{iPr}), 20.1 (CH₃, CH_{iPr}), 17.6 (CH₃, CH_{iPr}); ¹⁹F RMN (282MHz, MeOD) δ (ppm): -62.94 (s, CF₃); Mp: 148-150°C; [α]_D²⁰ = -7.88 (c 0.52, CHCl₃).

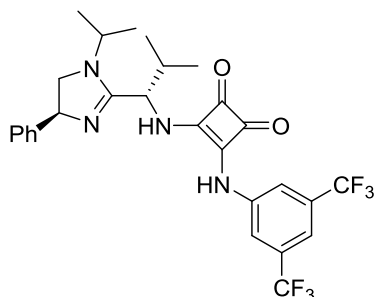
Synthesis of 3-((3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino)-4-(((R)-1-((S)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione (42)



By means of general procedure H, reaction of compound **40** (94 mg, 0.28 mmol) and the resulting product of hydrolysis of compound **29** (78 mg, 0.30 mmol) in 2 mL of dry MeOH provided 100 mg (63%) of compound **42** as a yellowish solid after purification by column chromatography on silica gel (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5→4:6→2:8)).

¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ (ppm): 8.07 (br s, 2H, H2', H6'), 7.53 (br s, 1H, H4'), 7.38-7.23 (m, 5H, Ar), 5.09-5.03 (m, 2H, H4, H1''), 4.20-4.09 (m, 1H, CH, N_{iPr}), 4.02 (dd, J = 11.7, 10.2 Hz, 1H, CH₂, H5), 3.48 (dd, J = 10.2, 8.7 Hz, 1H, CH₂, H5), 2.36-2.23 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.28 (d, J = 6.9 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.26 (d, J = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.15 (J = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.10 (J = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}); ¹³C RMN (75 MHz, MeOD) δ (ppm): 185.6 (C=O), 168.4 (C2), 145.3 (C_q, Ar), 143.4 (NHC=CNH), 133.7 (q, J = 33.0 Hz, C3', C5'), 129.1 (2 x CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.1 (2 x CH, Ar), 124.5 (q, J = 272.1 Hz, CF₃), 119.0 (2 x CH, Ar), 115.8 (CH, Ar), 65.7 (C4), 57.6 (C1''), 51.8 (C5), 47.6 (CH, N_{iPr}), 33.3 (CH_{iPr}), 21.3 (CH₃, N_{iPr}), 20.8 (CH₃, N_{iPr}), 20.0 (CH₃, CH_{iPr}), 17.9 (CH₃, CH_{iPr}); ¹⁹F RMN (282MHz, MeOD) δ (ppm): -61.8 (s, CF₃); Mp: 144-146°C; [α]_D²⁰ = +5.28 (c 1.06, CHCl₃).

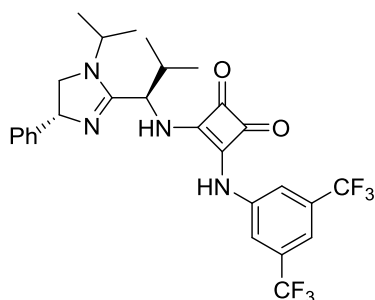
Synthesis of 3-((3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino)-4-(((S)-1-((S)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione (43)



By means of general procedure H, reaction of compound **40** (315 mg, 0.93 mmol) and the resulting product of hydrolysis of compound **30** (264 mg, 1.02 mmol) in 6 mL of dry MeOH provided 453 mg (86%) of compound **43** as yellowish solid after purification by column chromatography on silica gel (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5→4:6→2:8)). Crystallization in toluene provided 300 mg (57%) as a white solid.

¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ (ppm): 8.06 (br s, 2H, H2', H6'), 7.53 (br s, 1H, H4'), 7.35-7.13 (m, 5H, Ar), 5.11-4.96 (m, 2H, H4, H1''), 4.16-4.06 (m, 1H, CH, N_{iPr}), 4.01-3.94 (m, 1H, CH₂, H5), 3.42-3.33 (m, 1H, CH₂, H5), 2.33-2.22 (m, 1H, CH_{iPr}), 1.29 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.24 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.15 (*J* = 6.4 Hz, 3H, CH_{3iPr}), 1.08 (*J* = 6.9 Hz, 3H, CH_{3iPr}); **¹³C RMN (75 MHz, MeOD) δ (ppm):** 185.9 (C=O), 167.6 (C2), 144.7 (C_q, Ar), 143.2 (NHC=CNH), 134.0 (q, *J* = 33.2 Hz, C3', C5'), 129.7 (2 x CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 127.9 (2 x CH, Ar), 124.6 (q, *J* = 272.0 Hz, CF₃), 119.6 (2 x CH, Ar), 116.3 (CH, Ar), 66.1 (C4), 57.7 (C1''), 52.9 (C5), 47.8 (CH, N_{iPr}), 33.3 (CH_{iPr}), 21.4 (CH₃, N_{iPr}), 19.8 (CH₃, N_{iPr}), 19.7 (CH₃, CH_{iPr}), 17.0 (CH₃, CH_{iPr}); **¹⁹F RMN (282MHz, MeOD) δ (ppm):** -62.97 (s, CF₃); **Mp:** 140-141°C; [α]_D²⁰ = +5.45 (c 0.66, CHCl₃)

Synthesis of 3-((3',5'-bis(trifluoromethyl)phenyl)amino)-4-(((R)-1-((R)-1-isopropyl-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-2-yl)-2''-methylpropyl)amino)cyclobut-3-ene-1,2-dione (44)

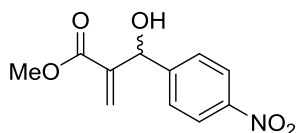


By means of general procedure H, reaction of compound **40** (96 mg, 0.28 mmol) and the resulting product of hydrolysis of compound **31** (80 mg, 0.31 mmol) in 2 mL of dry MeOH provided 86 mg (54%) of compound **44** as white solid after purification by column chromatography on

silica gel (gradient of eluent (Hex:EtOAc) (8:2→7:3→5:5→4:6→2:8)).

¹H RMN (300 MHz, MeOD) δ (ppm): 8.06 (br s, 2H, H2', H6'), 7.53 (br s, 1H, H4'), 7.37-7.17 (m, 5H, Ar), 5.12-4.97 (m, 2H, H4, H1''), 4.19-4.06 (m, 1H, CH, N_iPr), 4.01-3.95 (m, 1H, CH₂, H5), 3.43-3.34 (m, 1H, CH₂, H5), 2.34-2.22 (m, 1H, CH_iPr), 1.29 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₃_iPr), 1.25 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, CH₃_iPr), 1.15 (*J* = 6.6 Hz, 3H, CH₃_iPr), 1.09 (*J* = 6.9 Hz, 3H, CH₃_iPr); **¹³C RMN (75 MHz, MeOD) δ (ppm):** 186.0 (C=O), 167.7 (C2), 144.7 (C_q, Ar), 143.1 (NHC=CNH), 134.4 (q, *J* = 33.2 Hz, C3', C5'), 129.7 (2 x CH, Ar), 128.7 (CH, Ar), 128.0 (2 x CH, Ar), 124.6 (q, *J* = 272.1 Hz, CF₃), 119.6 (2 x CH, Ar), 116.3 (CH, Ar), 66.1 (C4), 57.7 (C1''), 53.0 (C5), 47.8 (CH, N_iPr), 33.3 (CH_iPr), 21.4 (CH₃, N_iPr), 19.8 (CH₃, N_iPr), 19.7 (CH₃, CH_iPr), 17.0 (CH₃, CH_iPr); **Mp:** 136-138°C; [α]_D²⁰ = -7.19 (c 0.32, CHCl₃).

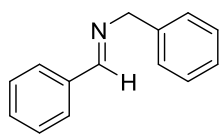
Synthesis of methyl 2-(hydroxy(4'-nitrophenyl)methyl)acrylate (45)



The corresponding organocatalyst (thiourea compound **34-39**) or (squaramide compound **41-44**) (5 mg, 0.2 eq.) and DABCO (0.2 eq.) were added to a 1 mL conic flask. The flask was purged with argon and 0.25 mL of the appropriated dry solvent was added. Next, methyl acrylate (5 eq.) was added and the reaction mixture was stirred for 30 min at 0°C. On the other hand, a solution of *p*-nitrobenzaldehyde (1 eq.) in 0.25 ml of dry solvent is prepared and added dropwise to the reaction mixture. The mix reaction is stirred at 0°C and monitored by TLC. Finally, the reaction mixture was directly poured into the column chromatography, using hexane:EtOAc (9:1→8:2) as eluent to afford the desired product as a colorless oil. Enantiomeric excess was determined by chiral HPLC (Chiralcel[®] OD-H), hexane-*i*PrOH 95:5, 1.0 mL/min, major enantiomer *t_r* = 31.09min, minor enantiomer *t_r* = 27.15min. (Tables **5**, **6** and **7**).

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.14 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H3', H5'), 7.54 (d, *J* = 9.0 Hz, 2H, H2', H6'), 6.36 (s, 1H, CH₂), 5.89-5.87 (m, 1H, CH₂), 5.60 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, H2), 3.70 (s, 3H, OCH₃), 3.52 (d, *J* = 6.3 Hz, 1H, OH); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 166.4 (C=O), 148.8 (C1'), 147.4 (C4'), 141.1 (C1), 127.4 (C2', C6'), 127.2 (CH₂), 123.6 (C3', C5'), 72.5 (C2), 52.2 (OCH₃).

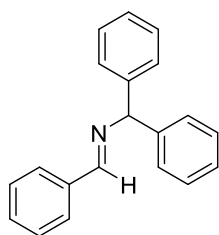
Synthesis of (*E*)-*N*-benzyl-1-phenylmethanimine (**46**)



A 50 mL round-bottom flask was charged with 3Å molecular sieves or MgSO₄ (2.4 g, 20 mmol) and placed under argon. Benzaldehyde (1.02 mL, 10 mmol) was taken in 10 mL of dry DCM and benzylamine (1.09 mL, 10 mmol) was added slowly over five minutes. The reaction mixture was stirred overnight at rt. After removing the suspension by filtration, the solvent was evaporated under reduced pressure and the crude oil was used in the next step without further purification. Light yellow oil. 99% yield.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.44 (s, 1H, CNH), 7.85-7.82 (m, 2H, Ar), 7.47-7.45 (m, 3H, Ar), 7.38-7.42 (m, 4H, Ar), 7.28-7.33 (m, 1H, Ar), 4.87 (s, 2H, Ar); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 162.1 (C=N), 139.4 (C_q, Ar), 136.2 (C_q, Ar), 130.8 (CH, Ar), 128.6 (2 x CH, Ar), 128.5 (2 x CH, Ar), 128.3 (2 x CH, Ar), 128.0 (2 x CH, Ar), 127.0 (CH, Ar), 65.2 (CH₂).

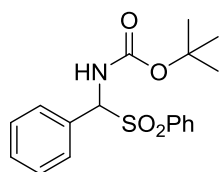
Synthesis of (*E*)-*N*-benzylidenediphenylmethanamine (**47**)



A 50 mL round-bottom flask was charged with Na₂SO₄ (710 mg, 5 mmol) and placed under argon. Benzaldehyde (254 μL, 2.5 mmol) was taken in 10 mL of dry DCM and diphenylmethanamine (443 μL, 2.5 mmol) was added slowly over five minutes. The reaction mixture was stirred overnight at rt. After removing the suspension by filtration, the solvent was evaporated under reduced pressure and the crude oil was purified by column chromatography on silica gel, using hexane:Et₂O:Et₃N (9:1:0.1) as eluent to afford 658 mg (97%) of the desired product as a white solid.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.41 (s, 1H, CNH), 7.85-7.79 (m, 2H, Ar), 7.42-7.34 (m, 7H, Ar), 7.30 (m, 4H, Ar), 7.25-7.16 (m, 2H, Ar), 5.58 (s, 1H, CH); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 160.9 (C=N), 144.0 (C_q, Ar), 136.5 (C_q, Ar), 130.9 (C_q, Ar), 128.7 (2 x CH, Ar), 128.6 (2 x CH, Ar), 128.6 (4 x CH, Ar), 127.8 (4 x CH, Ar), 127.12 (3 x CH, Ar), 78.0 (CH); Mp: 100-101°C.

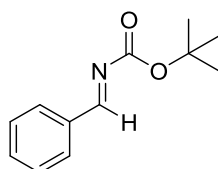
Synthesis of tert-butyl (Z)-(phenyl(phenylsulfonyl)methylene)carbamate (**48**)



To a solution of tert-butyl carbamate (164 mg, 1.39 mmol) and sodium benzenesulfinate (457 mg, 2.78 mmol) in H₂O/MeOH = 2/1 (12 mL), benzaldehyde (210 μ L, 2.09 mmol) was added followed by formic acid (210 μ L, 2.78 mmol) at rt. The mixture was stirred at rt for 72 h, during which time the product precipitates as a white solid. This precipitate was filtered off, then washed with H₂O followed by Et₂O successively to afford 396 mg as a white solid (82% yield). Compound **48** was used in the next step without further purification.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.91 (d, J = 7.5 Hz, 2H, Ar), 7.63 (t, J = 7.5 Hz, 1H, Ar), 7.53 (t, J = 7.5 Hz, 2H, Ar), 7.46-7.35 (m, 5H, Ar), 5.89 (d, J = 11.0 Hz, 1H, CH), 4.62 (d, J = 11.0 Hz, 1H, NH), 1.25 (s, 9H, 3 x CH₃, tBu); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 153.6 (C=O(O)), 137.1 (C_q, Ar), 131.9 (C_q, Ar), 129.6 (C_q, Ar), 129.3 (2 x CH, Ar), 129.1 (2 x CH, Ar), 128.9 (2 x CH, Ar), 128.9 (2 x CH, Ar), 128.4 (CH, Ar), 81.3 (C_q, Boc), 74.1 (CH), 28.3 (3 x CH₃, tBu); Mp: 169-171°C.

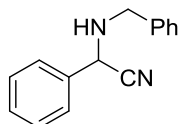
Synthesis of tert-butyl (E)-benzylidenecarbamate (**49**)



A suspension of **48** (300 mg, 0.86 mmol), K₂CO₃ (716 mg, 5.18 mmol) and anhydrous Na₂SO₄ (900 mg, 6.04 mmol) in 7.5 mL of dry THF was refluxed for 12 h. After cooling to room temperature, solids were removed through a Celite pad, and the filtrate was concentrated under vacuum to give 120 mg (68%) of compound **49** as colorless oil.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.87 (s, 1H, CNH), 7.97-7.84 (m, 2H, Ar), 7.60-7.53 (m, 1H, Ar), 7.51-7.43 (m, 2H, Ar), 1.59 (s, 9H, tBu); **¹³C RMN (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 169.8 (C=N), 162.8 (C=O(O)), 134.2 (C_q, Ar), 133.6 (CH, Ar), 130.3 (2 x CH, Ar), 129.0 (2 x CH, Ar), 82.4 (C_q, Boc), 28.1 (3 x CH₃, tBu).

Synthesis of 2-(benzylamino)-2-phenylacetonitrile (**50**)

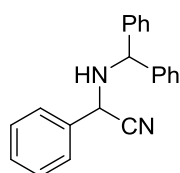


Compound **50** was obtained by means of general procedure I as colorless oil. Enantiomeric excess was determined by chiral HPLC (Daicel Chiralcel®

AS-H), hexane-*i*PrOH 99:1, 0.5 mL/min, major enantiomer t_r = 18.95min, minor enantiomer t_r = 22.34min.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.59-7.50 (m, 2H, Ar), 7.45-7.28 (m, 8H, Ar), 4.76 (s, 1H, HC-CN), 4.08 (d, J = 13.0 Hz, 1H, CH_2), 3.96 (d, J = 13.0 Hz, 1H, CH_2), 2.00 (br s, 1H, NH);
 $^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 138.3 (C_q , Ar), 134.9 (C_q , Ar), 129.2 (2 x CH, Ar), 129.2 (2 x CH, Ar), 128.8 (CH, Ar), 128.6 (2 x CH, Ar), 127.8 (2 x CH, Ar), 127.4 (CH, Ar), 118.9 (CN), 53.6 (CH), 51.4 (CH_2).

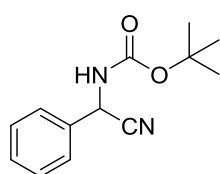
Synthesis of 2-(benzhydrylamino)-2-phenylacetonitrile (51)



Compound **51** was obtained by means of general procedure I as colorless oil. Enantiomeric excess was determined by chiral HPLC (Daicel Chiralcel® OD-H), hexane-*i*PrOH 95:5, 1.0 mL/min, major enantiomer t_r = 7.16 min, minor enantiomer t_r = 6.43min.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.53-7.43 (m, 4H, Ar), 7.42-7.09 (m, 11H, Ar), 5.17 (s, 1H, HC- Ph_2), 4.53 (d, J = 10.8 Hz, 1H, HC-CN), 2.07 (d, J = 11.5 Hz, 1H, NH); **$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 142.9 (C_q , Ar), 141.2 (C_q , Ar), 135.1 (C_q , Ar), 129.2 (2 x CH, Ar), 129.2 (2 x CH, Ar), 128.9 (2 x CH, Ar), 128.1 (CH, Ar), 127.9 (CH, Ar), 127.6 (2 x CH, Ar), 127.4 (3 x CH, Ar), 127.3 (2 x CH, Ar), 118.9 (CN), 65.8 (HC- Ph_2), 52.6 (HC-CN).

Synthesis of tert-butyl (cyano(phenyl)methyl)carbamate (52)



Compound **52** was obtained by means of general procedure I as a white solid. Enantiomeric excess was determined by chiral HPLC (Daicel Chiralcel® OD-H), hexane-*i*PrOH 99:1, 0.5 mL/min, major enantiomer t_r = 26.34 min, minor enantiomer t_r = 39.07min.

$^1\text{H RMN}$ (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.50-7.41 (m, 5H, Ar), 5.80 (d, J = 7.6, 1H, HC-CN), 5.12 (br s, 1H, HN), 1.48 (s, 9H, 3 x CH_3 , tBu); **$^{13}\text{C RMN}$ (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm):** 161.4 (C=O(O)), 130.3 (C_q , Ar), 129.6 (CH, Ar), 129.4 (2 x CH, Ar), 129.0 (2 x CH, Ar), 117.8 (CN), 82.4 (C_q , Boc), 46.2 (CH), 28.3 (3 x CH_3 , tBu).

Table 2.11. Crystal data and structure refinement for compound 38.

Identification code	shelx	
Empirical formula	C ₂₅ H ₂₈ F ₆ N ₄ S	
Formula weight	530.57	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Triclinic	
Space group	P -1	
Unit cell dimensions	a = 9.2996(18) Å	α = 99.459(18)°.
	b = 9.4912(12) Å	β = 91.506(16)°.
	c = 16.536(4) Å	γ = 113.728(19)°.
Volume	1311.1(5) Å ³	
Z	2	
Density (calculated)	1.344 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.187 mm ⁻¹	
F(000)	552	
Crystal size	? x ? x ? mm ³	
Theta range for data collection	2.903 to 29.948°.	
Index ranges	-12 ≤ h ≤ 12, -12 ≤ k ≤ 13, -20 ≤ l ≤ 22	
Reflections collected	12093	
Independent reflections	6626 [R(int) = 0.1041]	
Completeness to theta = 25.242°	99.8 %	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	6626 / 0 / 411	
Goodness-of-fit on	F2	0.988
Final R indices [I > 2σ(I)]	R1 = 0.1044, wR2 = 0.1984	
R indices (all data)	R1 = 0.2931, wR2 = 0.3005	
Extinction coefficient	n/a	
Largest diff. peak and hole	0.502 and -0.340 e.Å ⁻³	

Table 2.12 Atomic coordinates ($\times 10^4$) and equivalent isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for compound 38. $U(\text{eq})$ is defined as one third of the trace of the orthogonalized U^{ij} tensor.

	x	y	z	U(eq)
F(1A)	101(16)	2947(16)	4714(7)	58(3)
F(2A)	340(30)	1237(19)	3884(16)	136(11)
F(3A)	-1320(12)	2170(20)	3577(10)	93(5)
F(1B)	750(50)	2270(60)	4530(30)	390(30)
F(2B)	-480(40)	1260(20)	3522(11)	169(15)
F(3B)	-800(50)	2910(30)	4280(40)	360(30)
C(24)	-1447(8)	1198(8)	-2040(5)	75(2)
C(25)	-1863(7)	2903(8)	-794(5)	65(2)
F(4A)	4726(19)	9060(14)	3635(9)	63(3)
F(5A)	4840(40)	8304(14)	4712(15)	149(12)
F(6A)	2830(20)	8675(15)	4240(20)	143(11)
F(4B)	3440(60)	8980(20)	3830(20)	260(20)
F(5B)	5500(20)	8710(40)	4070(30)	270(20)
F(6B)	3700(30)	8220(18)	4813(10)	105(6)
S(1)	459(2)	2073(2)	889(1)	47(1)
N(3)	3252(6)	3221(5)	282(3)	41(1)
N(4)	3318(6)	4145(5)	1630(3)	40(1)
N(1)	3433(5)	4818(5)	-1150(3)	40(1)
N(2)	805(5)	3456(5)	-1242(3)	42(1)
C(7)	2751(7)	5706(7)	-1607(4)	43(2)
C(10)	2537(6)	2443(6)	-556(4)	34(1)
C(20)	3519(7)	6024(7)	2848(4)	44(2)
C(14)	2409(7)	3168(6)	923(4)	38(2)
C(17)	1324(7)	3756(7)	3557(4)	47(2)
C(15)	2817(7)	4454(7)	2411(4)	42(2)
C(9)	2249(6)	3613(6)	-997(4)	37(1)
C(11)	3596(7)	1768(7)	-1021(4)	43(2)
C(6)	3319(7)	5805(7)	-2437(4)	42(2)
C(8)	925(7)	4794(8)	-1616(5)	48(2)

C(12)	2887(7)	963(7)	-1896(4)	46(2)
C(23)	-768(6)	2186(7)	-1193(4)	48(2)
C(16)	1721(7)	3352(7)	2785(4)	45(2)
C(1)	4388(7)	7235(7)	-2601(5)	53(2)
C(19)	3153(7)	6429(7)	3617(4)	48(2)
C(13)	3887(6)	632(7) -	560(4)	51(2)
C(5)	2856(7)	4502(8)	-3064(4)	54(2)
C(22)	141(11)	2521(11)	3937(6)	73(2)
C(18)	2023(8)	5304(8)	3986(4)	55(2)
C(4)	3413(9)	4585(9)	-3831(5)	68(2)
C(2)	4936(8)	7328(9)	-3368(5)	63(2)
C(21)	3934(12)	8106(9)	4074(6)	68(2)
C(3)	4465(9)	6008(10)	-3991(5)	69(2)

Table 2.13. Bond lengths [Å] and angles [°] for compound 38.

F(1A)-C(22)	1.288(16)	C(7)-C(6)	1.488(9)
F(2A)-C(22)	1.292(17)	C(7)-C(8)	1.563(8)
F(3A)-C(22)	1.355(15)	C(10)-C(9)	1.528(7)
F(1B)-C(22)	1.22(3)	C(10)-C(11)	1.535(8)
F(2B)-C(22)	1.177(17)	C(20)-C(19)	1.359(9)
F(3B)-C(22)	1.20(2)	C(20)-C(15)	1.417(8)
C(24)-C(23)	1.512(9)	C(17)-C(16)	1.374(9)
C(25)-C(23)	1.543(8)	C(17)-C(18)	1.396(9)
F(4A)-C(21)	1.263(15)	C(17)-C(22)	1.490(10)
F(5A)-C(21)	1.271(16)	C(15)-C(16)	1.380(8)
F(6A)-C(21)	1.355(18)	C(11)-C(12)	1.514(8)
F(4B)-C(21)	1.21(2)	C(11)-C(13)	1.520(8)
F(5B)-C(21)	1.333(19)	C(6)-C(5)	1.385(8)

Capítulo II

F(6B)-C(21)	1.242(16)	C(6)-C(1)	1.397(8)
S(1)-C(14)	1.682(6)	C(1)-C(2)	1.383(9)
N(3)-C(14)	1.331(7)	C(19)-C(18)	1.400(9)
N(3)-C(10)	1.458(7)	C(19)-C(21)	1.509(9)
N(4)-C(14)	1.379(7)	C(5)-C(4)	1.385(10)
N(4)-C(15)	1.409(8)	C(4)-C(3)	1.385(10)
N(1)-C(9)	1.296(7)	C(2)-C(3)	1.390(10)
N(1)-C(7)	1.516(7)	C(9)-N(2)-C(23)	130.1(5)
N(2)-C(9)	1.334(6)	C(8)-N(2)-C(23)	120.4(4)
N(2)-C(8)	1.468(8)	C(6)-C(7)-N(1)	111.2(5)
N(2)-C(23)	1.490(7)	C(6)-C(7)-C(8)	114.6(6)
N(1)-C(7)-C(8)	104.0(5)	N(2)-C(23)-C(24)	109.8(6)
N(3)-C(10)-C(9)	109.0(4)	N(2)-C(23)-C(25)	109.8(5)
N(3)-C(10)-C(11)	110.6(4)	C(24)-C(23)-C(25)	112.7(5)
C(9)-C(10)-C(11)	111.2(5)	C(17)-C(16)-C(15)	121.4(6)
C(19)-C(20)-C(15)	121.3(6)	C(2)-C(1)-C(6)	120.5(7)
N(3)-C(14)-N(4)	112.0(5)	C(20)-C(19)-C(18)	120.5(6)
N(3)-C(14)-S(1)	124.8(5)	C(20)-C(19)-C(21)	120.2(7)
N(4)-C(14)-S(1)	123.1(5)	C(18)-C(19)-C(21)	119.3(7)
C(16)-C(17)-C(18)	120.7(6)	C(6)-C(5)-C(4)	122.2(7)
C(16)-C(17)-C(22)	119.4(7)	F(2B)-C(22)-F(3B)	112(2)
C(18)-C(17)-C(22)	120.0(7)	F(2B)-C(22)-F(1B)	102(2)
C(16)-C(15)-N(4)	125.3(6)	F(3B)-C(22)-F(1B)	99(3)
C(16)-C(15)-C(20)	117.7(6)	F(1A)-C(22)-F(2A)	104.0(14)
N(4)-C(15)-C(20)	117.0(6)	F(1A)-C(22)-F(3A)	105.9(13)
N(1)-C(9)-N(2)	117.2(5)	F(2A)-C(22)-F(3A)	108.4(15)
N(1)-C(9)-C(10)	120.1(5)	F(2B)-C(22)-C(17)	116.5(12)

N(2)-C(9)-C(10)	122.7(5)	F(3B)-C(22)-C(17)	114.2(16)
C(12)-C(11)-C(13)	110.3(5)	F(1B)-C(22)-C(17)	111.3(16)
C(12)-C(11)-C(10)	111.8(5)	F(1A)-C(22)-C(17)	114.0(9)
C(13)-C(11)-C(10)	110.0(5)	F(2A)-C(22)-C(17)	115.3(10)
C(5)-C(6)-C(1)	117.6(7)	F(3A)-C(22)-C(17)	108.8(9)
C(5)-C(6)-C(7)	122.1(6)	C(17)-C(18)-C(19)	118.4(6)
C(1)-C(6)-C(7)	120.3(6)	C(3)-C(4)-C(5)	119.9(7)
N(2)-C(8)-C(7)	102.2(4)	C(1)-C(2)-C(3)	121.3(7)
F(4B)-C(21)-F(6B)	104(2)	F(4B)-C(21)-C(19)	114.3(11)
F(4A)-C(21)-F(5A)	107.3(14)	F(6B)-C(21)-C(19)	111.7(10)
F(4B)-C(21)-F(5B)	109(2)	F(4A)-C(21)-C(19)	113.8(9)
F(6B)-C(21)-F(5B)	105(2)	F(5A)-C(21)-C(19)	113.9(10)
F(4A)-C(21)-F(6A)	98.7(13)	F(5B)-C(21)-C(19)	112.5(12)
F(5A)-C(21)-F(6A)	112.2(17)	F(6A)-C(21)-C(19)	110.0(11)

Table 2.14. Anisotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for compound **38**. The anisotropic displacement factor exponent takes the form: $-2\pi^2[h^2a^{*2}U^{11} + \dots + 2hkab^*U^{12}]$

	U11	U22	U33	U23	U13	U12
F(1A)	71(8)	56(6)	23(5)	-1(4)	18(5)	3(6)
F(2A)	250(20)	57(10)	160(20)	71(12)	160(20)	93(15)
F(3A)	35(6)	104(13)	98(11)	50(9)	-7(6)	-24(6)
F(1B)	300(40)	330(50)	270(40)	230(40)	-150(30)	-200(30)
F(2B)	250(30)	65(13)	57(10)	-1(9)	33(13)	-73(15)
F(3B)	320(40)	120(20)	650(80)	90(40)	410(50)	70(30)
C(24)	71(5)	45(4)	88(7)	2(4)	-23(5)	7(4)

Capítulo II

C(25)	33(4)	72(5)	97(7)	25(5)	16(4)	24(4)
F(4A)	75(9)	31(5)	68(8)	13(5)	21(7)	6(7)
F(5A)	220(20)	19(5)	135(17)	31(8)	-128(17)	-28(11)
F(4B)	430(50)	48(10)	210(30)	-23(14)	-240(30)	50(20)
F(5B)	80(13)	140(20)	420(50)	-170(20)	80(20)	-52(11)
F(6B)	153(15)	46(8)	55(9)	-31(6)	4(10)	-6(9)
S(1)	36(1)	38(1)	63(1)	12(1)	8(1)	9(1)
N(3)	31(3)	31(3)	59(4)	13(3)	5(3)	10(2)
N(4)	40(3)	28(3)	45(4)	6(2)	4(3)	9(2)
N(1)	32(3)	31(3)	53(4)	7(2)	-1(2)	8(2)
N(2)	34(3)	36(3)	59(4)	16(3)	9(2)	15(2)
C(7)	44(4)	26(3)	56(5)	14(3)	6(3)	11(3)
C(10)	26(3)	29(3)	45(4)	7(3)	1(3)	10(2)
F(6A)	151(13)	37(6)	260(30)	18(9)	128(18)	55(7)
F(4B)	430(50)	48(10)	210(30)	-23(14)	-240(30)	50(20)
F(5B)	80(13)	140(20)	420(50)	-170(20)	80(20)	-52(11)
F(6B)	153(15)	46(8)	55(9)	-31(6)	4(10)	-6(9)
S(1)	36(1)	38(1)	63(1)	12(1)	8(1)	9(1)
N(3)	31(3)	31(3)	59(4)	13(3)	5(3)	10(2)
N(4)	40(3)	28(3)	45(4)	6(2)	4(3)	9(2)
N(1)	32(3)	31(3)	53(4)	7(2)	-1(2)	8(2)
N(2)	34(3)	36(3)	59(4)	16(3)	9(2)	15(2)
C(7)	44(4)	26(3)	56(5)	14(3)	6(3)	11(3)
C(10)	26(3)	29(3)	45(4)	7(3)	1(3)	10(2)
C(20)	45(4)	30(3)	51(5)	11(3)	6(3)	9(3)

C(14)	37(3)	29(3)	47(4)	10(3)	4(3)	11(3)
C(17)	50(4)	38(3)	46(5)	5(3)	13(3)	13(3)
C(15)	43(4)	34(3)	45(4)	8(3)	-2(3)	12(3)
C(9)	36(3)	31(3)	43(4)	1(3)	3(3)	16(3)
C(11)	32(3)	33(3)	62(5)	11(3)	9(3)	11(3)
C(6)	42(4)	30(3)	52(5)	10(3)	-4(3)	14(3)
C(8)	39(4)	46(4)	66(6)	21(4)	6(4)	20(3)
C(12)	53(4)	32(3)	50(5)	8(3)	11(3)	15(3)
C(23)	28(3)	43(4)	76(5)	21(4)	4(3)	14(3)
C(16)	46(4)	32(3)	51(5)	11(3)	8(3)	9(3)
C(1)	57(4)	41(4)	68(6)	12(4)	0(4)	25(3)
C(19)	63(4)	42(4)	41(4)	-2(3)	11(3)	28(3)
C(13)	31(3)	39(3)	84(6)	23(4)	7(3)	12(3)
C(5)	54(4)	49(4)	49(5)	6(4)	-4(4)	14(3)
C(22)	72(6)	74(7)	57(7)	17(5)	22(5)	10(5)
C(18)	67(5)	61(4)	40(4)	11(4)	17(4)	28(4)
C(4)	87(6)	60(5)	57(6)	10(4)	-1(4)	30(5)
C(2)	61(5)	57(5)	80(6)	33(5)	16(4)	25(4)
C(21)	109(8)	39(4)	44(6)	-3(4)	4(5)	20(5)
C(3)	90(6)	81(6)	58(6)	35(5)	28(5)	48(5)

Table 2.15. Hydrogen coordinates ($\times 10^4$) and isotropic displacement parameters ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) for compound 38.

	x	y	z	U(eq)
H(24A)	-2460	382	-2005	113
H(24B)	-1563	1846	-2403	113
H(24C)	-748	740	-2251	113
H(25A)	-2874	2080	-763	98
H(25B)	-1404	3476	-249	98
H(25C)	-1990	3600	-1121	98
H(10)	1519	1579	-528	41
H(12A)	2709	1692	-2180	68
H(12B)	3602	600	-2175	68
H(12C)	1903	88	-1887	68
H(23)	-620	1512	-838	58
H(1)	4733	8131	-2191	64
H(13A)	4336	1155	-7	76
H(13B)	2906	-245	-547	76
H(13C)	4605	268	-835	76
H(5)	2147	3538	-2968	65
H(18)	1744	5582	4505	66
H(4)	3082	3687	-4239	82
H(2)	5633	8292	-3470	76
H(3)	4848	6079	-4504	83
H(11)	4630(40)	2620(50)	-1040(20)	2(10)

H(8)	400(60)	4460(60)	-2200(40)	38(16)
H(7)	3180(60)	6740(70)	-1220(40)	61(19)
H(20)	4350(60)	6690(60)	2620(30)	26(14)
H(16)	1230(70)	2250(80)	2470(40)	70(20)
H(3N)	4330(70)	3660(70)	400(40)	60(20)
H(4N)	4420(80)	4690(80)	1580(40)	80(20)
H(8B)	450(80)	5520(80)	-1300(50)	100(30)

6. CONCLUSIONS

6. CONCLUSIONS

1. The synthesis of chiral functionalized imidazolines was approached from different alternatives. Of all, condensation of aldehydes with chiral 1,2-diamines proved to be the most suitable for their preparation.

2. Different thiourea and squaramide organocatalysts, incorporating chiral polyfunctionalized imidazolines into their structure were synthesized successfully.

3. The utility of these systems has been tested in asymmetric catalysis. For this purpose, all the diastereoisomers obtained were evaluated in order to determine the influence of stereochemistry in the different organocatalyst on enantioselective reactions, specifically in the Morita-Baylis-Hillman and in the Strecker reaction.

4. The best results for the Morita-Baylis-Hillman were obtained with organocatalyst **38** (ee 18%, Entry 5, Table 2.7) and organocatalyst **41** (ee 37%, Entry 7, Table 2.7). The scope of the reaction was studied employing different experimental conditions such as temperature, solvents, ratio of substrates and organocatalysts. Unfortunately, none of different preliminary assays afforded good enantioselective excess.

5. For the Strecker reaction the best results were obtained with organocatalyst **39** (ee 29%, Entry 4, Table 2.9) and organocatalyst **41** (ee 42%, Entry 5, Table 2.9). Although the results were slightly better than in the previous case did not report excellent results either.

6. With the purpose of improving the obtained results, these preliminary results encourage us to continue with the search for new structures that can be incorporated into our thiourea/squaramide-type organocatalyst, including the introduction of new substituents in the imidazoline ring as well as the use of different *N*-protecting groups.

**ANNEX I: CYCLOPROPANATION USING FLOW-GENERATED
DIAZO COMPOUNDS**

1. INTRODUCTION

Flow chemistry is finding increasing use as an enabling technology in both industrial and academic settings,³⁸⁵ providing a number of advantages over traditional batch mode processes and thereby leading to a variety of interesting opportunities. Recent interest in the continuous flow production of fine chemicals has motivated a re-evaluation of how synthetic transformations are performed at the laboratory, intermediary, and manufacturing scales.³⁸⁶

The application of small scale flow reactors (microreactors) in the laboratory environment can sometimes offer considerable advantages over batch reactor designs, but it depends on the nature of the chemistry, reactor design principles, and the overall goal. Faster kinetic information can be obtained by carrying out reactions in automated flow reactor systems, which in turn reduce development times.³⁸⁷

Flow reaction concepts become particularly important when reaction time scales are on the order of heat and mass transport time scales. Using flow chemistry methods the space/ time dynamics of a reaction profile can be adjusted along with other reaction parameters (i.e. pressure, temperature and mixing) that can be controlled accurately. A reduction in hazardous waste, safer synthesis of hazardous compounds, and the isolation

³⁸⁵Selected recent reviews for chemical flow systems: (a) Hartman R. L.; McMullen J. P.; Jensen K. F., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2011**, *50*, 7502–7519; (b) Wegner J.; Ceylan S.; Kirschning A., *Adv. Synth. Catal.*, **2012**, *354*, 17–57; (c) Wiles C.; Watts P., *Green Chem.*, **2012**, *14*, 38–54; (d) Malet-Sanz L.; Susanne F.; *J. Med. Chem.*, **2012**, *55*, 4062–4098; (e) Baxendale I. R., *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **2013**, *88*, 519–552; (f) Pastre J. C.; Browne D. L.; Ley S. V., *Chem. Soc. Rev.*, **2013**, *42*, 8849–8869; (g) Ley S. V.; Fitzpatrick D. E.; Ingham R. J.; Myers R. M., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2014**, *53*, 2–17.

³⁸⁶a) Webb D.; Jamison T. F.; *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 675–680; b) Wirth T.; *Microreactors in Organic Synthesis and Catalysis*, Wiley-VCH, Weinheim, **2008**; c) Hartman R. L.; Jensen K. F.; *Lab Chip* **2009**, *9*, 2495; d) Mason B. P.; Price K. E.; Steinbacher J. L.; Bogdan A. R.; McQuade D. T., *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2300–2318; e) Geyer K.; Gustavson T.; Seeberger P. H.; *Synlett* **2009**, 2382; f) Kirschning A.; Solodenko W.; Mennecke K., *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 5972; g) Watts P.; Wiles C.; *Chem. Commun.* **2007**, 443–467; h) Baxendale I. R.; S. V. Ley; Mansfield A. C.; Smith C. D., *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 407–4081.

³⁸⁷a) McMullen J. P.; Jensen K. F., *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2010**, *3*, 19–42; b) McMullen J. P.; Jensen K. F.; *Org. Proc. Res. Dev.* **2010**, DOI: 10.1021/op100300p; c) Zaborenko N.; Bedore M.W.; Jamison T. F.; Jensen K. F., *Org. Proc. Res. Dev.* **2011**, *15*, 131–139.

of compounds sensitive to air and/or moisture represent additional advantages of flow reactors.

Chemical processes define our modern world in terms of providing society's functional materials.³⁸⁸ Many of these processes involve complex reaction pathways and proceed via transient reactive intermediates. The lifetime of these reactive species can vary enormously and their selectivity can often be difficult to exploit. Their high level of reactivity, when they are generated in batch mode, can be problematic because of incompatibilities with their chemical environment or functional groups, or because of associated exothermic properties. In a flow mode, it is possible to continuously generate highly reactive species free from contaminating reagents and then deliver these to a reaction zone for combination with various partners to afford a range of products.

An example of reactive intermediate species is diazo compounds which are a class of interesting reactive building blocks.³⁸⁹ For example, isolated stabilized diazo compounds, bearing one or more electron withdrawing groups, have been extensively investigated in a wide range of applications such as dipolar cycloadditions,³⁹⁰ carbonyl homologation³⁹¹ and cyclopropanation.³⁹²

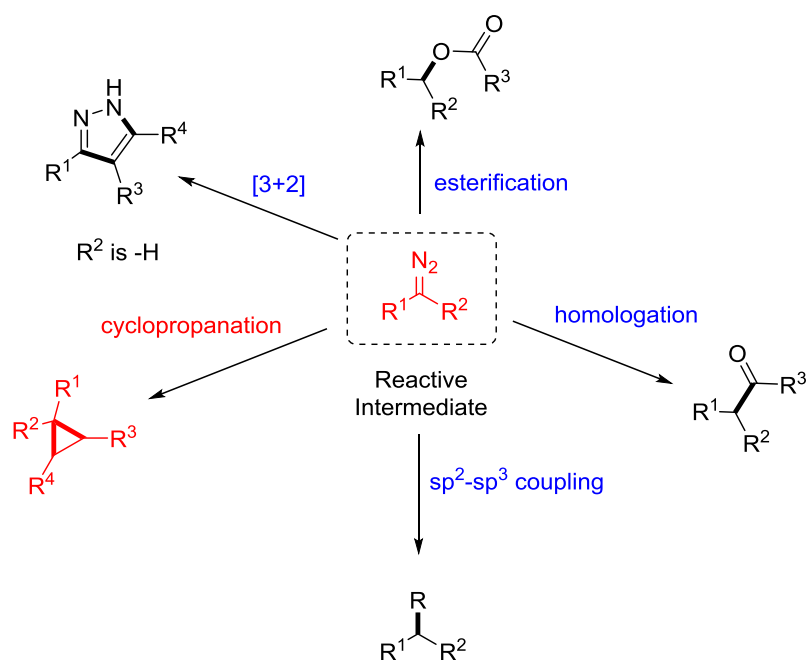
³⁸⁸a) Ley S. V., *Chem. Rec.*, **2012**, *12*, 378–390; b) Myers R. M.; Fitzpatrick D. E.; Turner R. M.; Ley S. V., *Chem.–Eur. J.*, **2014**, *20*, 12348–12366.

³⁸⁹a) Doyle M., *Acc. Chem. Res.*, **1986**, *19*, 348–356; b) Padwa A. J., *Organomet. Chem.*, **2001**, *617*, 3–16; c) Regitz M.; Mass G., *Diazo Compounds Properties and Synthesis*, Academic Press, Inc., Orlando, **1986**; d) Doyle M. P.; McKervey M. A.; Ye T., *Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds*, Wiley, New York, **1998**; e) Johnston J. N.; Muchalski H.T.; Troyer L., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2010**, *49*, 2290–2298.

³⁹⁰a) Huisgen R., *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, ed. A. Padwa, Wiley, New York, **1984**; b) Mass G., *Heterocyclic Compounds: 1,3-Dipolar Cycloaddition*, ed. A. Padwa and W. H. Pearson, John Wiley and Sons, Inc., New York, **2002**, vol. 59, pp. 541–621.

³⁹¹a) Gutsche C. D., *Org. React.*, **1954**, *8*, 364–429; b) Holmquist C. R. and Roskamp E. J., *J. Org. Chem.*, **1989**, *54*, 3258–3260; c) Moebius D. C. and Kingsbury J. S., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 878–879; d) Allwood D. M.; Blakemore D. C.; Ley S. V., *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 3064–3067.

³⁹²a) Aggarwal V. K.; de Vicente J.; Bonnert R. V., *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 2785–2788; b) Lebel H.; Marcoux J.-F.; Molinaro C.; Charette A. B., *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 977–1050; c) G. Maas, *Chem. Soc. Rev.*, **2004**, *33*, 183–190; d) Goudreau S. R.; Charette A. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 15633–15635.



Scheme 1. Different applications of diazo species.

However, their unstabilised alkyl and aryl diazo counterparts are much more difficult to harness.³⁹³ Their chemical preparation is limited due to the often tedious, corrosive or toxic synthesis protocols.³⁹⁴ *In situ* generation of diazo compounds therefore represents an interesting opportunity for synthesis,³⁹⁵ although any new procedure must be compatible with both the generation of the diazo compound and with its subsequent chemical transformation.

Manganese dioxide (MnO_2) has been used previously in batch mode to generate diazo compounds from hydrazones, although with low efficiency and with very specific substrates.³⁹⁶

³⁹³a) Maas G., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, *48*, 8186–8195; b) Rendina V. L.; Kingsbury J. S., *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 1181-1185; c) Wommack A. J.; Kingsbury J. S., *J. Org. Chem.*, **2013**, *78*, 10573-10587; d) Holton T. L.; Shechter H., *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 4725-4729.

³⁹⁴a) Smith L. I.; Howard K. L., *Org. Synth.*, **1944**, *24*, 53; b) Nakagawa K.; Onoue H.; Minami K., *Chem. Commun.*, **1966**, 730; c) Javed M. I.; Brewer M., *Org. Lett.*, **2007**, *9*, 1789-1792. d) Maas, G. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, *48*, 8186–8195.

³⁹⁵a) Maurya R. A.; Park C. P.; Lee J. H.; Kim D.-P., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2011**, *50*, 5952–5955; b) Morandi B.; E. M. Carreira, *Science*, **2012**, *335*, 1471-1474; c) Rossi E., Woehl P.; Maggini M., *Org. Process Res. Dev.*, **2012**, *16*, 1146-1149; d) Mastronardi F.; Gutmann B.; Kappe C. O., *Org. Lett.*, **2013**, *15*, 5590–5593; e) Martin L. J.; Marzinzik A. L.; Ley S. V.; Baxendale I. R., *Org. Lett.*, **2011**, *13*, 320-323.

³⁹⁶a) Barakat M. Z.; Abdel-Wahab M. F.; El-Sadr M. M., *J. Chem. Soc.*, **1956**, 4685-4687; b) Doyle M. P.; Yan M., *ARKIVOC*, **2002**, 180-185; c). Doyle M. P.; Yan M., *J. Org. Chem.*, **2002**, *67*, 602-604.

Following on from the advantages that accrue when using MnO₂ under continuous flow reactions,³⁹⁷ we believed that we could devise a system capable of delivering reactive unstable diazo compounds on demand.

The cyclopropane ring features in many natural products and often in bioactive and other functional materials due to its particular conformational constraints and properties.³⁹⁸ Accordingly, cyclopropanation of olefins using stabilized electrophilic diazo compounds has been well studied. In particular, transition-metal catalysis for the coupling of olefins and diazo compounds are amongst the most well developed methods for cyclopropane preparation.³⁹⁹ By contrast, unstabilised diazo compounds are underexplored.

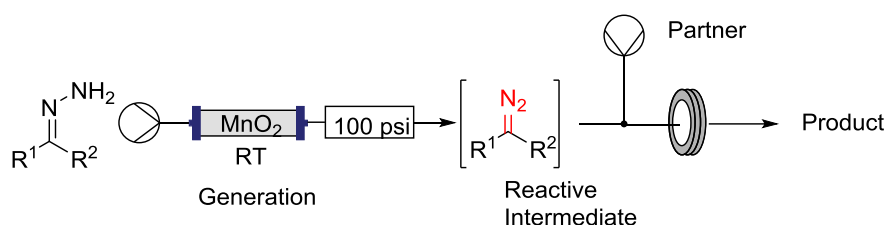
³⁹⁷a) Battilocchio C.; Hawkins J. M.; Ley S. V., *Org. Lett.*, **2014**, *16*, 1060-1063.

³⁹⁸a) Donaldson W. A., *Tetrahedron*, **2001**, *57*, 8589-8627; b) Lebel H.; Marcoux J.-F.; Molinaro C.; Charette A. B., *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 977-1050; c) Wessjohann L. A.; Brandt W.; Thiemann T., *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 1625-1648; d) Brackmann F.; de Meijere A., *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 4493-4537.

³⁹⁹a) Shen J.-J.; Zhu S.-F.; Cai Y.; Xu H.; Xie X.-L.; Zhou Q.-L., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2014**, *53*, 13188-13191; b) Lindsay V. N. G.; Fiset D.; Gritsch P. J.; Azzi S.; Charette A. B., *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 1463-1470; c) Xu X.; Lu H. J.; Ruppel J. V.; Cui X.; de Mesa S. L.; Wojtas L.; Zhang X. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 15292-15295; d) Zhu S. F., Xu X., Perman J. A.; Zhang X. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 12796-12799; e) Doyle M. P., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, *48*, 850-852.

2. THE AIM OF THE PROJECT

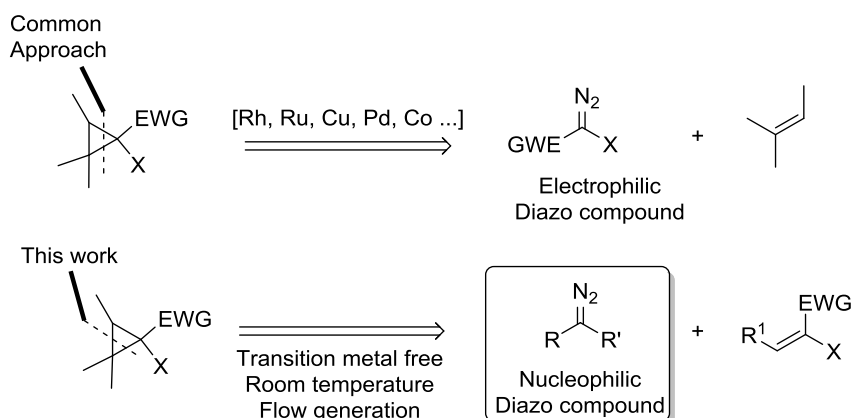
The main goal of the project is to investigate the cyclopropanation reaction using a flow generation/translocation/reaction protocol avoiding the hazards associated with bulk handling of unstabilized diazo species (scheme 2).



Scheme 2. Flow generation, translocation and reaction of diazo intermediates.

Using this approach we could establish a continuous process for the production of transient diazo species which could be rapidly transferred into another chemical environment, in order to react with different poor olefins to give access to substituted cyclopropanes, under mild conditions and without the need for any transition metals in the coupling step. This method would represent an attractive alternative approach to the preparation of poly functional cyclopropanes.

The chemistry of nucleophilic diazo compounds is almost unexplored and generally transition metal catalysis is required. Interestingly, this highly energetic species often demonstrates a reversed reactivity pattern due to their amphiphilic character (scheme 3).⁴⁰⁰

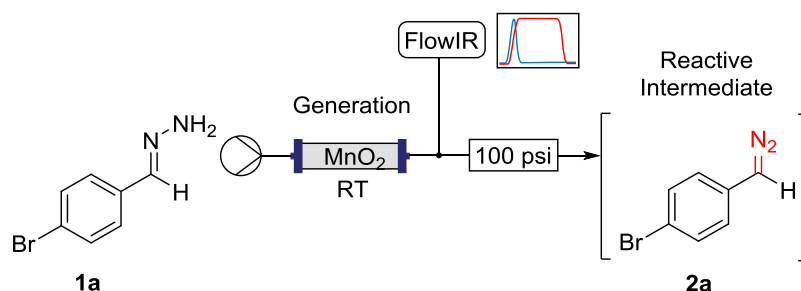


Scheme 3. Cyclopropanation of diazo species.

⁴⁰⁰Rendina V. L.; Kingsbury J. S., *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 1181–1185.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The study commenced with the use of the readily prepared hydrazone **1a** as model substrate for the reaction.⁴⁰¹ We soon found that in AcOEt as solvent, a consistent and clean stream of diazo compounds **2a** was generated by passage through a column packed with activated manganese dioxide.

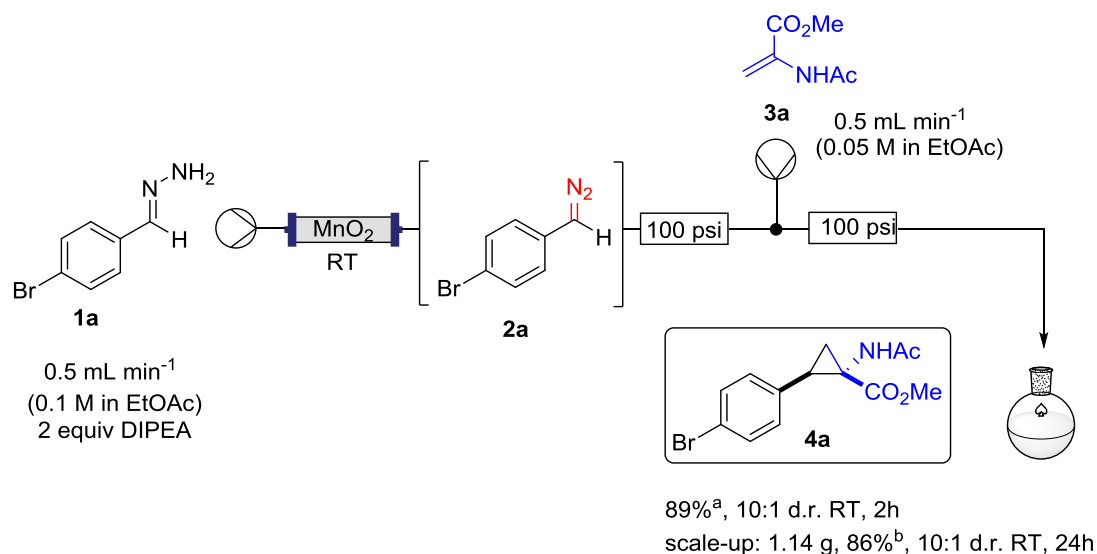


Scheme 4. Generation of diazo compound **2a**

As in previous studies,⁴⁰² the use of Hünig's base was necessary to suppress the formation of by-products. Using this protocol, we were able to rapidly establish the cyclopropanation procedure using the olefin substrate **3a**. Under optimized conditions, a solution of **1a** (0.1 M in AcOEt, 2 equiv. of DIPEA) was passed through a column reactor packed with activated MnO_2 . The exiting stream of diazo (0.5 mL min^{-1}) was combined with a solution of olefin (**3a**, 0.05 M in AcOEt, 0.5 mL min^{-1}) after mixing at a T-piece and then stirred at room temperature for 2 h. With these optimized conditions, **4a** was isolated in 89% yield (Scheme 5).

⁴⁰¹Hydrazones can be safely synthesized in flow manner starting from aldehydes/ketones and hydrazine. A preliminary example was shown in the telescoped synthesis of **4k** (Scheme 7).

⁴⁰²Tran D. N.; Battilocchio C.; Lou S.-B.; Hawkins J. M.; Ley S. V. *Chem. Sci.*, **2015**, *6*, 1120.

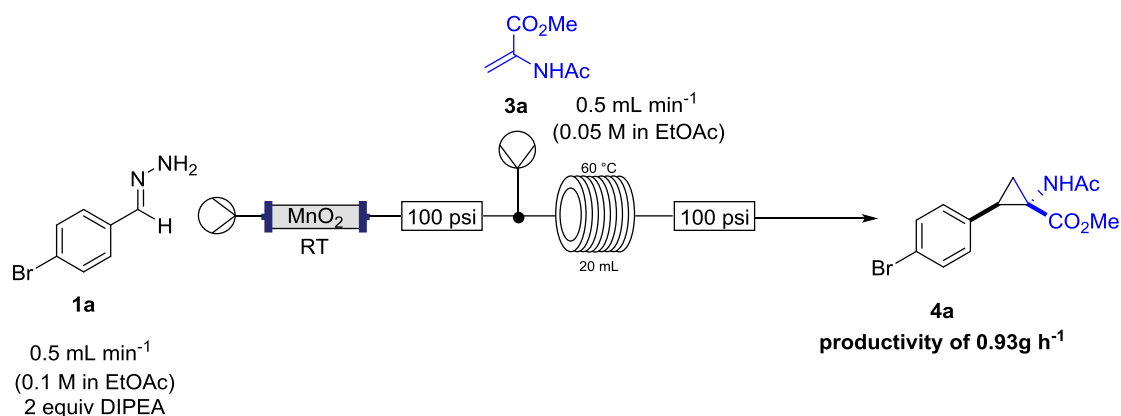


Scheme 5. Cyclopropanation reaction via the generate/translocate/react protocol (major isomer reported in scheme);^a 0.2 mmol scale;^b 4.25 mmol scale.

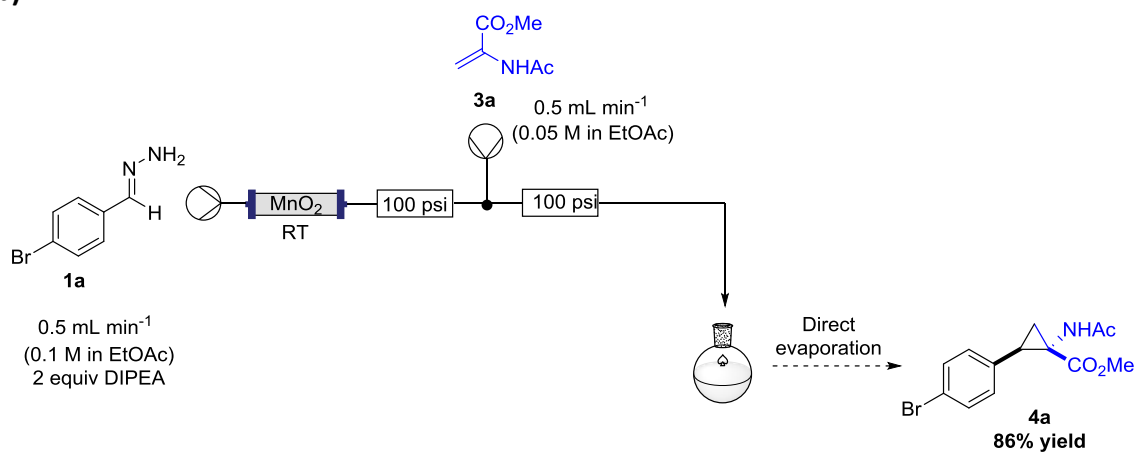
The process was scaled up using a column of 3g of MnO₂ to produce 1.14 g of cyclopropane **4a** (86% yield) in one run using only 1.2 equiv. of diazo compound. Notably, the transformation was also achieved with high diastereoselectivity (10:1). No attempt was made at this stage to further increase the scale of the reaction (scheme 5).

With the aim of continuously processing material, we briefly investigated the flow cyclopropanation under different conditions (i.e. temperature and residence time) and rapidly we found that running the reaction continuously in a 20 mL polymer (PFA) coil at 60 °C, a continuous throughput of 0.93 g·h⁻¹ of material could be obtained. Notably, in addition to this we found that the combination of the two reaction streams and the direct feed into a rotary evaporator gave complete conversion to the cyclopropyl derivative **4a** in situ (Scheme 6).

a)



b)



Scheme 6. Flow diazo preparation and cyclopropanation sequence using: (a) a heated reactor coil; (b) direct evaporation.

Next, we wished to assess the scope of this new room temperature cyclopropanation process. Keep following this purpose, we synthesized in batch as starting material different hydrazones from hydrazine and aromatic aldehydes with electron-withdrawing and electron-donating groups as well as different hydrazone from acetophenone and α,β -insaturated aldehydes (Figure 1).

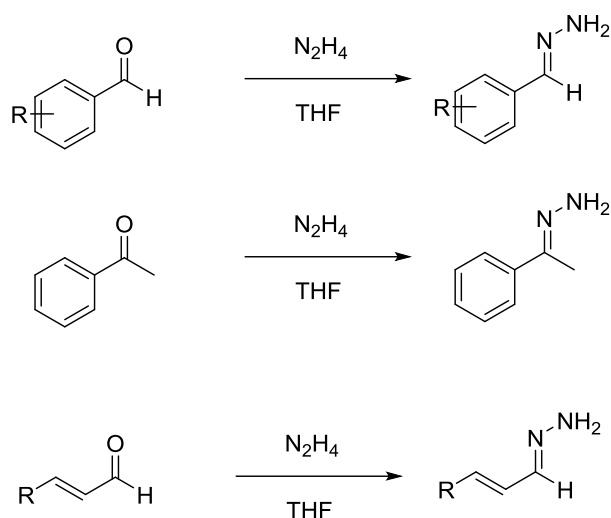
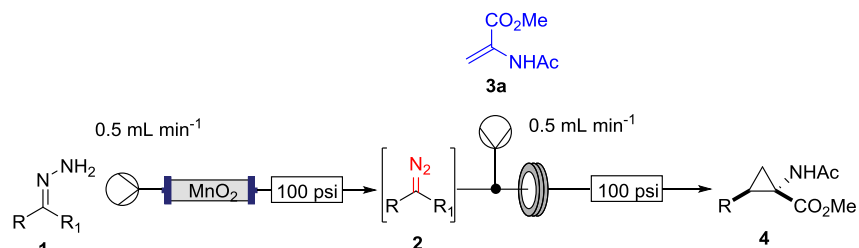
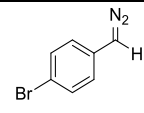
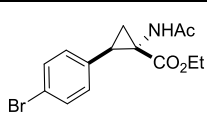
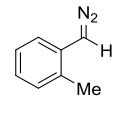
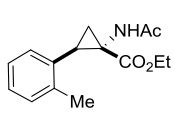
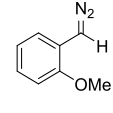
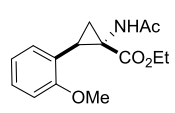
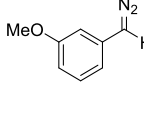
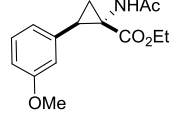
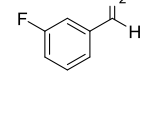
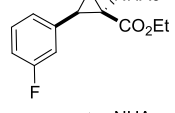
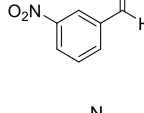
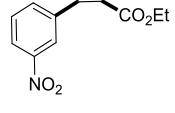
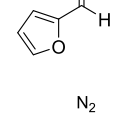
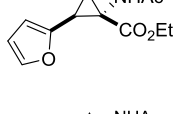
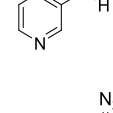
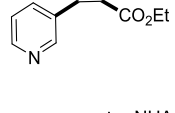
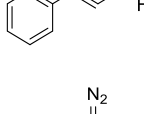
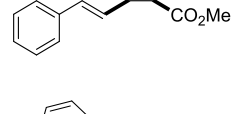
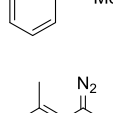
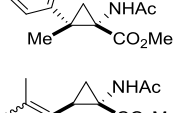
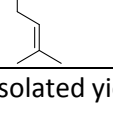
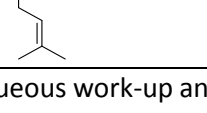


Figure 1. Preparation of hydrazones

Electron-withdrawing substituents on the aryl ring of diazo species (Table 1) were well tolerated, giving cyclopropanes **4a**, **4e** and **4f** in very good yields (79–89%). Similarly, electron-donating groups also generated cyclopropanes in high yields (**4b–d**, 89–99%). Importantly, the steric hindrance exerted by ortho substituents seems not to affect the reaction outcome, as illustrated by comparison between **4c** and **4d**. This unusual feature of the protocol contrasts with metal-catalyzed procedures for cyclopropanation.⁴⁰³ Heterocycles are well tolerated (**4g**, **4h**) as is the presence of unsaturation (**4i** and **4k**). Notably, the use of the ketone derivatives (Table 1, entry 10) gave an interesting 55% isolated yield of the product **4j**, with a good level of diastereoselectivity (5:1). One remarkable aspect of the protocol is that all the products were obtained with good to excellent diastereoselectivity (Table 1).

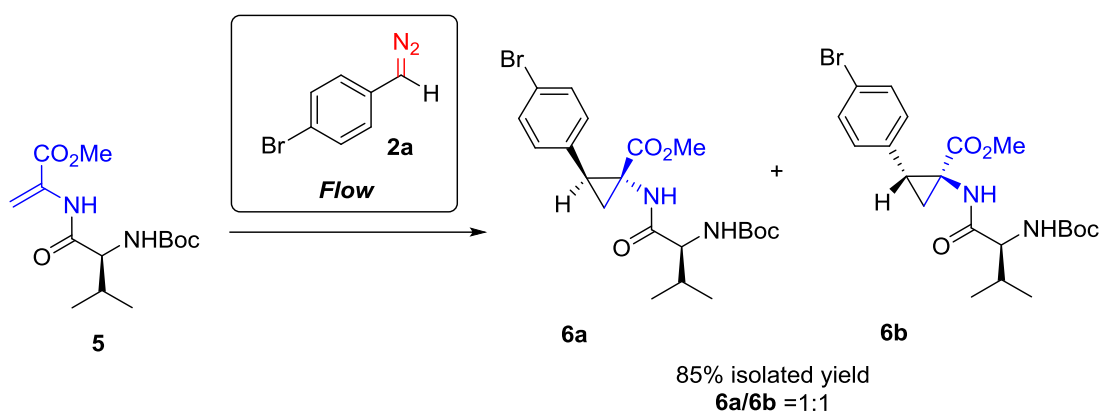
⁴⁰³Selected recent examples for metal-catalysed cyclopropanation: (a) Shen J.-J.; Zhu S.-F.; Cai Y.; Xu H.; Xie X.-L.; Zhou Q.-L., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2014**, *53*, 13188–13191; (b) Lindsay V. N. G.; Fiset D.; Gritsch P. J.; Azzi S.; Charette A. B.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2013**, *135*, 1463–1470; (c) Xu X.; Lu H. J.; Ruppel J. V.; Cui X.; de Mesa S. L.; Wojtas L.; Zhang X. P. *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, 15292–15295; (d) Zhu S. F.; Xu X.; Perman J. A.; Zhang X. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 12796–12799; (e) Doyle, M. P. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2009**, *48*, 850–852.

Table 1. Cyclopropanation of different diazo species with olefin **3a**.^a


entry ^a	substrate	Product	yield ^b	d.r.
1			4a 89%	10:1
2			4b 99%	10:1
3			4c 97%	10:1
4			4d 89%	10:1
5			4e 80%	8:1
6			4f 79%	7:1
7			4g 59%	6:1
8			4h 99%	10:1
9			4j 39%	5:1
10			4k 55%	5:1
11			4l 63% ^c	5:1

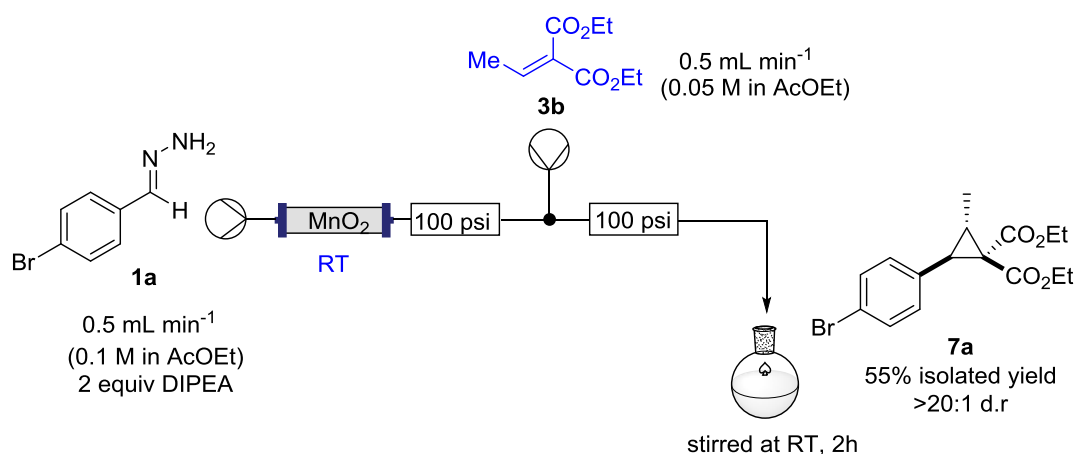
^a0.2 mmol scale. ^bIsolated yield after aqueous work-up and silica gel filtration. ^cRatio of E/Z 3:1.

Additionally, we were also pleased to find that increasing the functional complexity of the olefinic partner did not affect the outcome of the reaction as shown by reacting the diazo species **2a** with the more elaborate structures (i.e. **5**, Scheme 7) which gave high yield of the corresponding cyclopropyl peptides **6a** and **6b**.



Scheme 7. Diastereoselective cyclopropanation of dipeptide **5** to **6a/6b**.

We also decided to investigate the preparation of specifically challenging, unstable and difficult to access cyclopropyl compounds, in particular substituted donor-acceptor cyclopropanes.⁴⁰⁴ For example, the reaction of the diazo **2a** with olefin **3c** gave **7a** in 55% yield as a single diastereoisomer (Scheme 8).

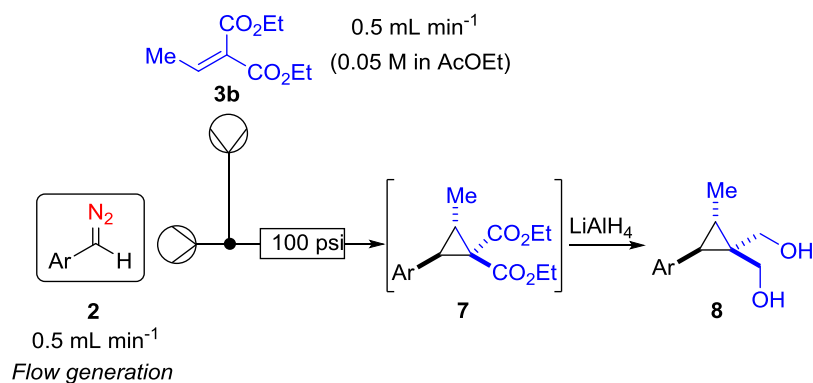


Scheme 8. Diastereoselective cyclopropanation of **3b**.

⁴⁰⁴Selected recent reviews for donor–acceptor cyclopropanes: (a) Schneider T. F.; Kaschel J.; Werz D. B., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 5504–5523; (b) Cavitt M. A.; Phun L. H.; France S., *Chem. Soc. Rev.*, **2014**, *43*, 804–818.

While this yield was lower than desired, the olefin starting material had all been consumed. Further attempts with different diazo species failed to give any isolable products.

We quickly realized the chemical sensitivity of this class of cyclopropane products to silica gel chromatography and devised an alternative “work-up” involving the use of LiAlH_4 (Scheme 9) to give the corresponding diols which were readily isolated (Table 2).



Scheme 9. Diastereoselective cyclopropanation of **3b**, followed by reduction to diol **8**.

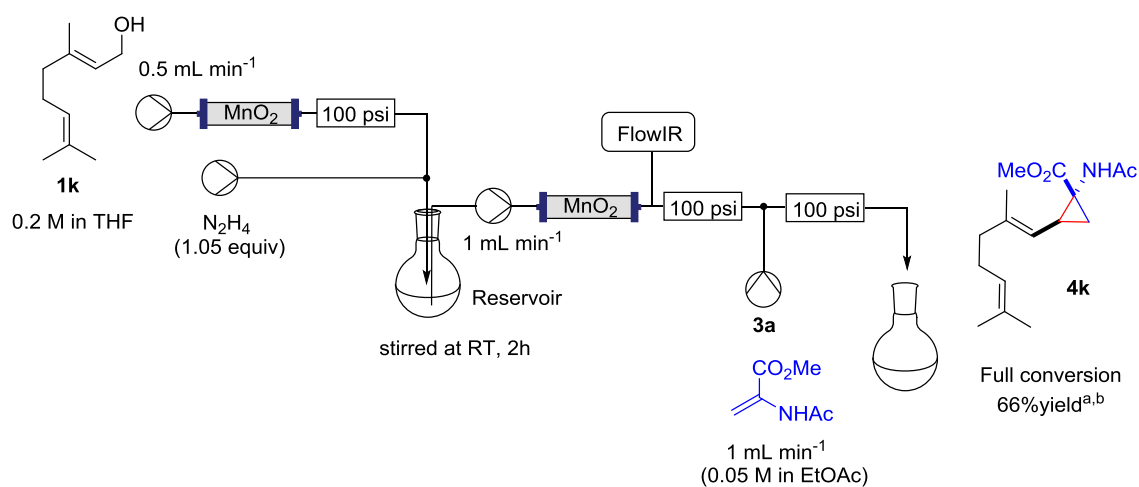
Table 2. Cyclopropanation of different diazo species with olefin **3b**^a followed by reduction to diol **8**.

Entry	substrate	Product	yield ^b	dia
1			48%	>20:1
2			55%	>20:1
3			58%	>20:1
4			40%	>20:1

^aOne-pot procedure at 0.2 mmol scale. ^bIsolated yield after aqueous work-up and silica gel plug filtration. ^cRatio of E/Z 1.2 : 1.

This 2-step transformation provides synthetically useful yields with very high diastereoselectivities.

Another valuable aspect of flow chemistry is associated with the advantages of continuously flowing material through a multistep sequence without the need to isolate intermediates. To showcase this aspect, we devised a 4-step sequence, whereby the use of a very cheap source of material (geraniol) would generate a more complex molecular product, **4k** (Scheme 10).



Scheme 10. Telescoped sequence for the preparation of cyclopropane amino acid **4k**.

^aYield following concentration, measured by $^1\text{H-NMR}$ compared to an internal standard;

^breaction run on 1 mmol scale.

During optimization of this procedure, we discovered that an excess of MnO_2 (7 g) was required for the complete oxidation of geraniol (delivered at 0.5 mL min^{-1} as a 0.2 M solution in THF) to geranial (step 1).⁴⁰⁵ The output from the reagent column was collected in a reactor flask containing 1.05 equiv. of hydrazine. After stirring for 2 h at room temperature (step 2), the crude reaction mixture was pumped through a pre-activated column of MnO_2 (1.0 mL min^{-1}) to generate the diazo intermediate (step 3). The MnO_2 column served also to decompose any residual hydrazine.⁴⁰⁶ In-line IR monitoring at around 2070 cm^{-1} identified the diazo product exiting the reactor. This diazo stream was

⁴⁰⁵Hemeon I.; Barnett N. W.; Gathergood N.; Scammells P. J.; Singer R. D., *Aust. J. Chem.*, **2004**, *57*, 125-128.

⁴⁰⁶Bhatnagar I.; George M. V., *J. Org. Chem.*, **1968**, *33*, 2407–2411.

finally combined in a T-piece with a stream (1.0 mL min⁻¹) containing olefin **3a** (step 4). Direct evaporation of the final reaction mixture in a rotary evaporator gave **4k** in good yield.

4. CONCLUSIONS

1. We devised a system that could deliver, rapidly and efficiently, differently decorated cyclopropanes under flow conditions, with no need for precious metal catalysis and under remarkable mild conditions (room temperature).

2. The process was successfully applied to a wide range of different unstabilised nucleophilic diazo species which were combined with electron-poor olefins.

3. We demonstrated how flow chemistry can serve as a discovery tool for generating new chemical reactivity windows to prepare valuable products. This approach again exemplifies the opportunities that arise by using flow chemistry methods.

5. EXPERIMENTAL SECTION OF CYCLOPROPANATION USING FLOW-GENERATED DIAZO COMPOUNDS.

5.1 GENERAL EXPERIMENTAL SECTION

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (^1H , ^{19}F and ^{13}C).

^1H -NMR spectra are recorded on a Bruker Avance DPX-400 DRX-500 Cryo or DRX-600 spectrometer with the residual solvent peak as the internal reference ($\text{CDCl}_3 = 7.26$ ppm). ^1H resonances are reported to the nearest 0.01 ppm. ^{13}C -NMR spectra are recorded on the same spectrometers with the central resonance of the solvent peak as the internal reference ($\text{CDCl}_3 = 77.16$ ppm). All ^{13}C resonances are reported to the nearest 0.1 ppm. DEPT 135, COSY, HMQC, and HMBC experiments are used to aid structural determination and spectral assignment. The multiplicity of ^1H signals are indicated as: s = singlet, d = doublet, t = triplet, m = multiplet, br. = broad, or combinations of thereof. Coupling constants (J) are quoted in Hz and reported to the nearest 0.1 Hz. Where appropriate, averages of the signals from peaks displaying multiplicity are used to calculate the value of the coupling constant.

Infrared Spectroscopy

Infrared spectra are recorded neat on a PerkinElmer Spectrum One FT-IR spectrometer using Universal ATR sampling accessories.

Mass Spectroscopy

Data regarding high resolution mass spectrometry (HRMS) was provided by the Mass Spectrometry Service for the Chemistry, Department of the University of Cambridge.

Flow Reactors

Unless otherwise stated, all the flow reactions were performed using a Uniqsis FlowSyn platform.⁴⁰⁷ In-line IR spectroscopy was performed using the Mettler Toledo FlowIR[®] device.⁴⁰⁸

⁴⁰⁷For information about the Uniqsis FlowSyn system, see: <http://www.uniqsis.com/>

⁴⁰⁸For information about the Mettler Toledo FlowIR[®], see:

http://uk.mt.com/gb/en/home/products/L1_AutochemProducts/ReactIR/flow-ir-chemis.html

Chromatographic separation techniques

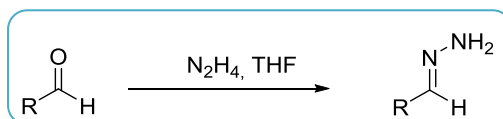
Thin Layer Chromatography is carried out using TLC Silica gel 60 F₂₅₄ Glass plates from Merck (ref. 100390). TLC Plates are visualized under short-wave UV (254 nm) or stained with iodine or potassium permanganate.

Some compounds are purified by column chromatography using flash silica gel 60, 230-400 mesh from Merck (ref. 9385) as stationary phase. Suitable solvents are used as mobile phase and they are specified in each case.

General conditions

Unless stated otherwise, reagents are obtained from commercial sources and used without purification. The removal of solvent under reduced pressure is carried out on a standard rotary evaporator. All the olefins are commercially available and are used as purchased without further purification.

Preparation of hydrazones:



In a round-bottom flash containing 12 mL of N₂H₄ (1M in THF, 12 mmol), a solution of aldehyde (1M in THF, 10 mmol) was slowly added. The mixture was stirred for 30 min at room temperature. The mixture was evaporated under reduced pressure to give the desired hydrazone compound. Hydrazones were used without further purification for the generation of diazo compound.

General procedure for cyclopropanation reaction:

- **Conditioning phase:** A solution of hydrazone (1 mmol, 0.1 M) and Hünig base (2 equiv.) in AcOEt (10 mL) was passed through the column reactor (Omnifit® column⁴¹⁷, 6.6 mm i.d. × 50 mm length), packed with activated MnO₂ (0.86 g),⁴¹⁸ at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹ for 20 min (phase 1) and the reactor output was monitored using a

Flow-IR® device.⁴¹⁶ The flow was switched to solvent (Hünig base, 0.2 M in AcOEt) for 10 min (phase 2). The column was then ready for the generation of the diazo compound.

- Generation phase:** A solution of hydrazone (2 mmol, 0.1 M) and Hünig's base (2 equiv.) in AcOEt (20 mL) was passed through a conditioned column reactor (Omnifit® column⁴¹⁷, 6.6 mm i.d. × 50 mm length) (phase 3) at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. When the FlowIR® showed that the intensity of the diazo peak (region 2050-2100 cm⁻¹, **Figure 2**) was stable,⁴¹⁶ 4 mL of the stream of diazo was combined with 4 mL of solution of olefin (0.05 M in AcOEt, 0.5 mL min⁻¹) at a T-piece and stirred at room temperature in a round-bottom flask for 2h (we observed slight changes in reactivity for the different diazo compounds). The reaction mixture was concentrated under vacuum and purified over silica gel using different gradients of hexane in AcOEt.

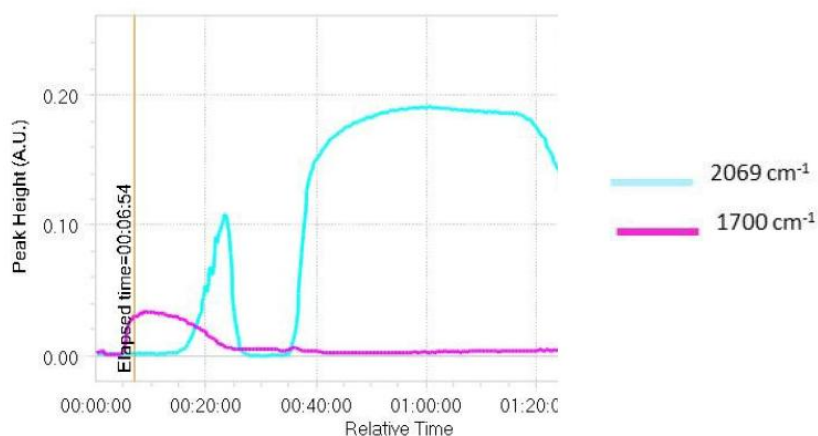


Figure 2. FlowIR® data (peak at 2069 cm⁻¹) for the generation of **2a**.

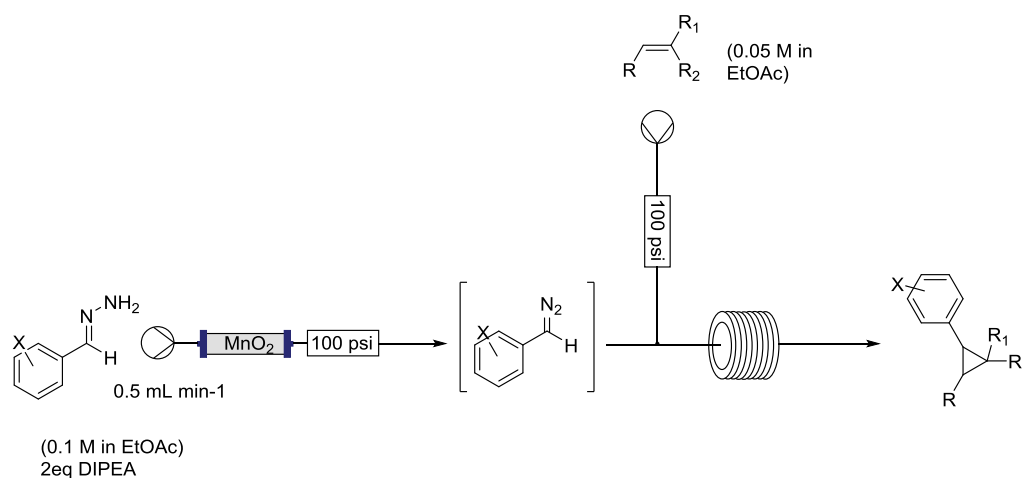


Figure 3. General protocol for cyclopropanation

Synthesis of diols 8a-d:

- **Conditioning phase:** vide supra.
- **Generation phase:** A solution of hydrazone (2 mmol, 0.1 M) and Hünig's base (2 equiv.) in AcOEt (20 mL) was passed through a conditioned column reactor (Omnifit® column⁴⁰⁹, 6.6 mm i.d. × 50 mm length) (phase 3) at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. When the FlowIR® showed that the intensity of the diazo peak (region 2050-2100 cm⁻¹, **Figure 1**) was stable,⁴¹⁶ 4 mL of the stream of diazo was combined with 4 mL of the solution of olefin (0.05 M in AcOEt, 0.5 mL min⁻¹) at a T-piece and stirred at room temperature in a round-bottom flask for 2h (we observed slight changes in reactivity for the different diazo compounds). The reaction mixture was concentrated under vacuum and dissolved in 2 mL of dry THF and added dropwise to a solution of LiAlH₄, maintained at 0 °C. The reaction mixture was stirred at 0 °C for 1h then quenched with H₂O and extracted with AcOEt. The organic solution was dried over MgSO₄, filtered and concentrated to give a crude mixture. The final product was obtained after purification over silica gel (hexane/AcOEt, 1:1 v/v).

Scale up:

- **Conditioning phase:** A solution of hydrazone (0.1 M) and Hünig base (2 equiv.) in AcOEt (30 mL) was passed through the column reactor (Omnifit® column⁴¹⁷, 6.6 mm i.d. × 100 mm length), packed with activated MnO₂ (3 g),⁴¹⁰ at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹ for 60 min (phase 1) and the reactor output was monitored using a Flow-IR® device.⁴¹⁶ The column was then washed with a standard solution (Hünig's base, 0.2 M in AcOEt) for 20 min (phase 2). The column was then ready for the generation of the diazo compound.
- **Generation phase:** A solution of hydrazone (0.1 M) and Hünig's base (2 equiv.) in AcOEt (80 mL) was passed through a conditioned column reactor (Omnifit® column⁴¹⁷, 6.6 mm i.d. × 50 mm length) (phase 3) at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. When the FlowIR® showed that the intensity of the diazo peak (region 2050-2100 cm⁻¹, **Figure 1**) was stable,⁴¹⁶ the stream of diazo was combined with a solution of olefin (0.05 M in AcOEt, 0.5 mL min⁻¹) at a T-piece and stirred at room temperature in a round-bottom flask for 24h.

⁴⁰⁹For information about Omnifit® glass columns, see: <http://www.omnifit.com/>

⁴¹⁰Activated MnO₂ was purchased from Sigma Aldrich (cod. 63548).

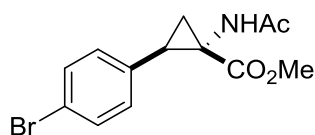
The reaction mixture was concentrated under vacuum and purified over silica gel using different gradients of hexane in AcOEt.

Telescoped synthesis of 4k:

A solution of geraniol (0.2 M in THF, 10 mL) was passed through a column packed with MnO₂ (7 g) at a flow rate of 0.5 mL min⁻¹. The output was delivered to a round-bottom flask containing a solution of hydrazine in THF and MeOH (1.05 eq., 10 mL 10% v/v MeOH). The reaction mixture was stirred at rt for 2 h and then pumped (1.00 mL min⁻¹) through a column packed with MnO₂ (Omnifit® column⁴¹⁷, 6.6 mm i.d. × 50 mm length, 0.86 g). The reaction stream was combined with a solution of olefin **3a** (0.05 M in AcOEt, 1.00 mL min⁻¹) and the output directly concentrated to give the final product **4k** in 66% yield (as determined by ¹H-NMR with internal standard).

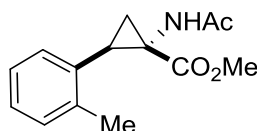
5.2 CHARACTERISATION DATA FOR COMPOUNDS

(Trans)-methyl 1-acetamido-2-(4-bromophenyl)cyclopropane-1-carboxylate (**4a**)



¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.36 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.22 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 6.92 (s, 1H, NH), 3.34 (s, 3H), 2.75 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.13 (dd, *J* = 8.4, 5.7 Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.56 (dd, *J* = 9.6, 5.6 Hz, 1H); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.5, 169.9, 134.5, 131.1, 131.1, 121.0, 52.1, 40.4, 34.3, 23.2, 20.6; MS: (ESI+) C₁₃H₁₄BrNO₃⁺ (M⁺) calc.: 312.0235, det.: 312.0251; FT-IR: film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3279, 2954, 2327, 1733, 1661, 1530, 1490, 1436, 1371, 1334, 1270, 1209, 1196, 1157, 1073, 1012, 975, 933, 834, 781, 756, 735, 707.

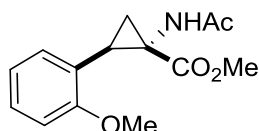
(Trans)-methyl 1-acetamido-2-(o-tolyl)cyclopropane-1-carboxylate (**4b**)



¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.36-7.18 (m, 4H), 6.99 (s, 1H), 3.41 (s, 3H), 2.77 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 2.49 (dd, *J* = 8.4, 5.8 Hz, 1H), 2.44 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.81 (dd, *J* = 9.6, 5.7 Hz, 1H); ¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 171.4, 170.2, 137.8, 133.6, 129.7, 129.1,

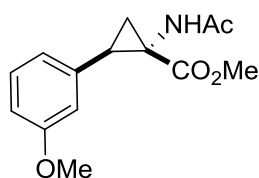
127.3, 125.7, 51.9, 40.9, 33.0, 23.2, 20.8, 19.7; **MS:** (ESI+) $C_{14}H_{18}NO_3^+$ (M^+) **calc.:** 248.1281, **det.:** 248.1274; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3292, 2953, 1733, 1655, 1531, 1493, 1436, 1372, 1333, 1286, 1226, 1195, 1156, 1115, 1031, 977, 932, 880, 825, 789, 757, 731, 701.

(Trans)-methyl 1-acetamido-2-(2-methoxyphenyl)cyclopropane-1-carboxylate (4c)

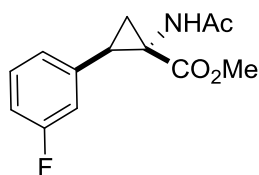


1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.21 (td, $J = 7.7, 1.3$ Hz, 1H), 7.16 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 6.90 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 6.79 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 6.45 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.30 (s, 3H), 2.58 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 2.27 (dd, $J = 8.6, 5.7$ Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.69 (dd, $J = 9.5, 5.7$ Hz, 1H); **^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm):** 171.2, 170.2, 158.6, 130.1, 128.5, 123.8, 120.3, 109.7, 55.5, 51.8, 40.4, 30.3, 23.3, 20.9; **MS:** (ESI+) $C_{14}H_{17}NO_4Na^+$ ($M+Na^+$) **calc.:** 286.1055, **det.:** 286.1052; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3279, 2952, 2839, 1731, 1655, 1603, 1586, 1528, 1496, 1459, 1437, 1372, 1334, 1285, 1246, 1201, 1158, 1117, 1048, 1027, 978, 908, 822, 802, 785, 753, 731.

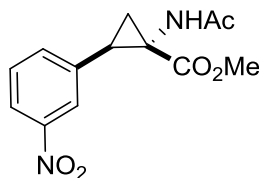
(Trans)-methyl-1-acetamido-2-(3'-methoxyphenyl)cyclopropane-1-carboxylate (4d)



1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.18 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 6.94-6.89 (m, 2H), 6.76 (dd, $J = 8.2, 2.4$ Hz, 1H), 6.42 (s, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.35 (s, 3H), 2.80 (t, $J = 9.1$ Hz, 1H), 2.22 (dd, $J = 8.5, 5.6$ Hz, 1H), 2.04 (s, 3H), 1.59 (dd, $J = 9.7, 5.6$ Hz, 1H); **^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm):** 171.2, 170.0, 159.3, 136.9, 128.9, 121.5, 114.7, 112.8, 55.2, 52.0, 40.6, 34.7, 23.2, 20.6; **MS:** (ESI+) $C_{14}H_{17}NO_4Na^+$ ($M+Na^+$) **calc.:** 286.1055, **det.:** 286.1061; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3279, 2953, 2365, 2343, 1732, 1662, 1604, 1584, 1531, 1490, 1436, 1372, 1334, 1287, 1260, 1199, 1152, 1046, 875, 791, 767, 720, 694.

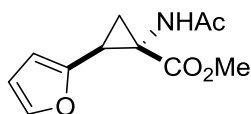
(Trans)-methyl 1-acetamido-2-(3-fluorophenyl)cyclopropane-1-carboxylate (4e)

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.23 (dd, *J* = 14.0, 7.9 Hz, 1H), 7.16 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.08 (d, *J* = 9.9 Hz, 1H), 6.91 (td, *J* = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 6.41 (s, 1H), 3.37 (s, 3H), 2.82 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.19 (dd, *J* = 8.5, 5.7 Hz, 1H), 2.05 (s, 3H), 1.61 (dd, *J* = 9.7, 5.6 Hz, 1H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.4, 169.9, 163.5, 161.8, 138.1 (d, *J* = 7.9 Hz), 129.5 (d, *J* = 8.4 Hz), 125.1 (d, *J* = 2.8 Hz), 116.4 (d, *J* = 21.7 Hz), 114.2 (d, *J* = 21.1 Hz), 52.2, 40.6, 34.5 (d, *J* = 2.1 Hz), 23.4, 20.7; **¹⁹F NMR (376 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** -113.88 (s, F); **MS:** (ESI+) C₁₃H₁₄NO₃FNa⁺ (M+Na⁺) **calc.:** 274.0855, **det.:** 274.0869; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3279, 3031, 2955, 2372, 2350, 1735, 1663, 1616, 1588, 1531, 1491, 1440, 1373, 1337, 1274, 1249, 1198, 1170, 1144, 1003, 875, 792, 722, 689.

(Trans)-methyl-1-acetamido-2-(3-nitrophenyl)cyclopropane-1-carboxylate (4f)

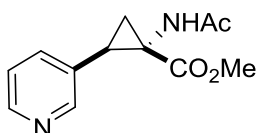
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.21 (s, 1H), 8.07 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H), 7.44 (t, *J* = 7.9 Hz, 1H), 6.73 (s, 1H), 3.37 (s, 3H), 2.91 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.21 (dd, *J* = 8.6, 5.7 Hz, 1H), 2.06 (s, 3H), 1.69 (dd, *J* = 9.7, 5.7 Hz, 1H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.7, 169.7, 148.0, 137.9, 136.1, 129.0, 124.3, 122.2, 52.4, 40.4, 34.6, 23.3, 21.0; **MS:** (ESI+) C₁₃H₁₄N₂O₅Na⁺ (M+Na⁺) **calc.:** 301.0800, **det.:** 301.0814; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3291, 3054, 2959, 2365, 1732, 1664, 1528, 1438, 1349, 1285, 1218, 1197, 1161, 1099, 909, 811, 786, 733, 683.

(Trans)-methyl 1-acetamido-2-(furan-2'-yl)cyclopropane-1-carboxylate (4g)



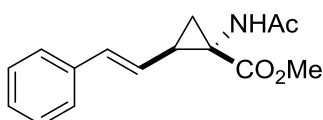
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.29 (s, 1H), 6.36 – 6.26 (m, 2H), 6.17 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 3.49 (s, 3H), 2.61 (t, *J* = 9.0 Hz, 1H), 2.27 (dd, *J* = 8.1, 5.8 Hz, 1H), 2.02 (s, 3H), 1.71 (dd, *J* = 9.8, 5.8 Hz, 1H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.3, 169.6, 150.0, 142.0, 110.6, 108.6, 52.5, 40.3, 27.0, 23.3, 20.8; **MS:** (ESI+) C₁₁H₁₄NO₄Na⁺ (M+Na⁺) **calc.:**224.0923, **det.:**224.0932; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3278, 2954, 1734, 1662, 1529, 1437, 1372, 1333, 1283, 1199, 1163, 1076, 1009, 884, 815, 738.

(Trans)-methyl 1-acetamido-2-(pyridine-3'-yl)cyclopropane-1-carboxylate (4h)



¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8.66 (s, 1H), 8.49 (d, *J* = 3.9 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 7.9 Hz, 1H), 7.31 (dd, *J* = 7.8, 4.9 Hz, 1H), 6.46 (s, 1H), 3.40 (s, 3H), 2.86 (t, *J* = 9.1 Hz, 1H), 2.23 (dd, *J* = 8.6, 5.8 Hz, 1H), 2.07 (s, 3H), 1.71 (dd, *J* = 9.7, 5.7 Hz, 1H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.5, 169.8, 150.1, 147.7, 137.8, 123.2, 52.4, 40.3, 32.5, 23.4, 20.4; **MS:** (ESI+) C₁₂H₁₅N₂O₃⁺ (M⁺) **calc.:**235.1077, **det.:**235.1073; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3240, 3027, 2160, 1731, 1664, 1534, 1483, 1437, 1372, 1337, 1285, 1197, 1160, 1029, 821, 714.

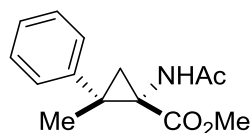
(Trans)-methyl 1-acetamido-2-(E-styryl)cyclopropane-1-carboxylate (4j)



¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.36-7.30 (m, 3H), 7.28 (t, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.20 (t, *J* = 7.2 Hz, 1H), 6.62 (d, *J* = 15.9 Hz, 3H), 6.15 (dd, *J* = 15.9, 9.0 Hz, 3H), 6.13 (s, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.28 (dd, *J* = 17.5, 8.9 Hz, 1H), 2.01 (s, 3H), 1.99 (dd, *J* = 8.1, 5.8 Hz, 1H), 1.62 (dd, *J* = 9.4, 5.6 Hz, 1H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.0, 170.8, 137.1, 133.2, 128.7, 127.5, 126.2, 125.5, 52.7, 40.7, 34.1, 24.0, 23.4; **MS:** (ESI+) C₁₅H₁₇NO₃Na⁺ (M+Na⁺)

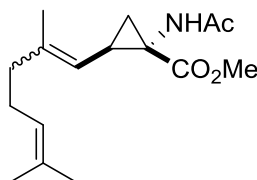
calc.:282.1106, det.:282.1116; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3299, 1731, 1664, 1534, 1439, 1335, 1197, 1158, 695.

(Trans)-methyl 1-acetamido-2-methyl-2-phenylcyclopropane-1-carboxylate (4k)



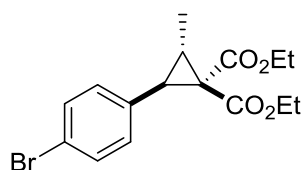
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.29-7.22 (m, 5H), 6.24 (s, 1H), 3.19 (s, 3H), 2.36 (d, J = 5.7 Hz, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.51 (s, 3H), 1.31 (d, J = 5.7 Hz, 2H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.6, 170.9, 142.0, 128.4, 128.4, 126.9, 51.9, 43.8, 37.0, 26.3, 24.1, 23.4; **MS:** (ESI+) C₁₄H₁₇NO₃Na⁺ (M+Na⁺) **calc.:**270.1106, **det.:**270.1113; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) =3280, 2989, 1730, 1662, 1604, 1524, 1497, 1436, 1371, 1319, 1263, 1199, 1101, 1085, 1065, 1026, 993, 922, 890, 815, 763, 734, 701.

(Trans)-methyl-1-acetamido-2-(2',6'-dimethylhepta-1',5'-dien-1'-yl)cyclopropane-1-carboxylate(4l)



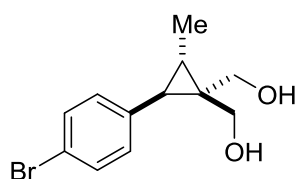
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 6.45 (s, 1H), 5.08-4.97 (m, 2H), 3.65 (s, 3H), 2.17 (dd, J = 17.5, 8.5 Hz, 1H), 2.04 – 1.98 (m, 4H), 1.96 (s, 3H), 1.77 (dd, J = 8.0, 5.3 Hz, 1H), 1.71 (s, 3H), 1.65 (s, 3H), 1.56 (s, 3H), 1.45 (dd, J = 9.6, 5.3 Hz, 1H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 171.1, 171.1, 140.0, 131.6, 124.0, 119.7, 52.3, 40.5, 39.7, 29.5, 26.6, 25.7, 23.8, 23.2, 17.8, 16.8; **MS:** (ESI+) C₁₆H₂₅NO₃Na⁺ (M+Na⁺) **calc.:**302.1732, **det.:**302.1740; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3279, 2914, 2342, 1732, 1663, 1534, 1437, 1374, 1336, 1287, 1196, 1167, 1107, 1027, 869,681.

(Trans)-diethyl 2-(4'-bromophenyl)-3-methylcyclopropane-1,1-dicarboxylate (5a)



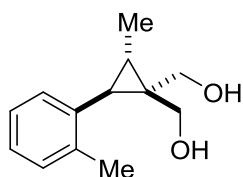
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.37 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.07 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 4.33–4.19 (m, 2H), 3.94–3.82 (m, 2H), 2.96 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 2.48 (dq, *J* = 8.1, 6.3 Hz, 1H), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.25 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 0.95 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 167.9, 167.1, 134.5, 131.3, 130.5, 121.2, 61.7, 61.4, 43.5, 36.9, 25.0, 14.4, 14.0, 12.5; **MS:** (ESI+) C₁₆H₁₉NO₄BrNa⁺ (M+Na⁺) **calc.:**377.0364, **det.:**377.0364; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 2982, 2936, 1723, 1492, 1464, 1395, 1369, 1336, 1292, 1260, 1218, 1192, 1142, 1113, 1073, 1026, 1011, 861, 836, 802, 768, 698.

(Trans) 2-(4'-bromophenyl)-3-methylcyclopropane-1,1-diyl)dimethanol (6a)



¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.38 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.09 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 3.97 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 3.82 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 3.52 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 3.35 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 2.28 (s, 2H), 2.28 (s, 2H), 1.87 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 1.44–1.38 (m, 1H), 1.29 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H); **¹³C NMR (151 MHz, CDCl₃) δ (ppm):** 137.3, 131.3, 130.5, 120.1, 66.8, 66.1, 34.5, 33.7, 20.7, 13.3; **MS:** (ESI+) C₁₂H₁₅O₂BrNa⁺ (M+Na⁺) **calc.:**293.0148, **det.:**293.0143; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm⁻¹) = 3351, 2937, 2874, 1491, 1396, 1194, 1071, 1033, 913, 840, 781, 701.

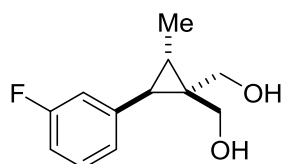
(Trans) 2-methyl-3-(o-tolyl)cyclopropane-1,1-diyl)dimethanol (6b)



¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.19–7.07 (m, 4H), 4.16 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 3.85 (d, *J* = 11.4 Hz, 1H), 3.43 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 3.38 (d, *J* = 11.5 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.17 (s, 2H),

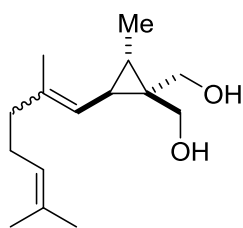
1.77 (d, $J = 6.1$ Hz, 1H), 1.52 (p, $J = 6.2$ Hz, 1H), 1.35 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 138.1, 136.3, 129.9, 127.7, 126.5, 125.7, 67.2, 66.7, 33.9, 33.2, 20.0, 19.7, 13.5; MS: (ESI+) $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{O}_2\text{Na}^+$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) calc.:229.1199, det.:229.1195.; FT-IR: film, $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3371, 2924, 2160, 1981, 1458, 1087, 782, 734.

(Trans) 2-(3'-fluorophenyl)-3-methylcyclopropane-1',1'-diyl)dimethanol (6c)



^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7.23 (td, $J = 7.9, 6.2$ Hz, 1H), 7.00 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 6.94-6.87 (m, 2H), 4.00 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 3.84 (d, $J = 11.4$ Hz, 1H), 3.56 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 3.40 (d, $J = 11.6$ Hz, 1H), 2.04 (s, 2H), 1.93 (d, $J = 6.0$ Hz, 1H), 1.45 (p, $J = 6.2$ Hz, 1H), 1.31 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 162.9 (d, $J = 246.0$ Hz), 141.1 (d, $J = 7.5$ Hz), 129.9 (d, $J = 8.5$ Hz), 124.5 (d, $J = 2.7$ Hz), 115.7 (d, $J = 21.2$ Hz), 113.4 (d, $J = 21.0$ Hz), 67.0, 66.3, 34.9, 34.1, 20.9, 13.4; ^{19}F NMR (376 MHz, CDCl_3) δ (ppm): -113.33 (s, F); MS: (ESI+) $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{FNa}^+$ ($\text{M}+\text{Na}^+$) calc.:233.0948, det.:233.0944.; FT-IR: film, $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3707, 3681, 3666, 3355, 2940, 2982, 2973, 2923, 2053, 1614, 1586, 1490, 1455, 1434, 1346, 1332, 1322, 1271, 1145, 1013, 1013, 869, 789, 756, 693.

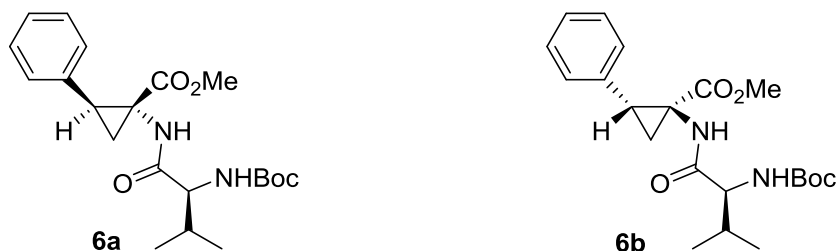
2-(2,6-dimethylhepta-1,5-dien-1-yl)-3-methylcyclopropane-1,1-diyl)dimethanol (6d)



^1H NMR (600 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 5.10 (s, 1H), 5.05 (tt, $J = 6.6, 1.3$ Hz, 1H), 4.96 (dd, $J = 8.1, 1.2$ Hz, 1H), 3.91 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 3.89 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 3.70 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 3.54 (d, $J = 11.8$ Hz, 1H), 2.01-2.12 (m, 4H), 1.72 (s, 3H), 1.69 (s, 3H), 1.61 (s, 3H), 1.29-1.24 (m, 2H), 1.20 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H); ^{13}C NMR (151 MHz, CDCl_3) δ (ppm): δ 138.7, 131.9, 124.0, 122.5, 68.1, 66.3, 39.4, 34.6, 28.1, 26.4, 25.7, 25.2, 17.7, 16.6, 13.41; MS: (ESI+)

$C_{15}H_{26}O_2Na^+$ ($M+Na^+$)= **calc.:**261.1830, **det.:**261.1835; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3676, 3370, 2970, 2922, 1451, 1407, 1394, 1378, 1250, 1076, 1057, 892, 699.

(Trans) 2-(4-bromophenyl)-1-((S)-2-((tert-butoxycarbonyl)amino)-3-methylbutanamido) cyclopropane-1-carboxylate (6a + 6b) methyl ester (mixture of diastereoisomers)



1H NMR (600 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7.42-7.36 (m, 2H), 7.31-7.26 (m, 2H), 7.06-6.97 (m, 1H), 5.24-5.03 (m, 1H), 3.98-3.91 (m, 1H), 3.37 (d, 3H), 2.83-2.72 (m, 1H), 2.28-2.11 (m, 2H), 1.63-1.53 (m, 1H), 1.48-1.42 (m, 9H), 1.08-0.93 (m, 6H); ^{13}C NMR (151 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 172.8, 169.4, 156.0, 134.3, 134.2, 131.6, 131.4, 131.1, 131.1, 131.1, 130.4, 130.3, 128.6, 121.0, 59.8, 52.7, 52.1, 52.0, 39.9, 39.8, 34.8, 34.6, 31.1, 30.6, 28.3, 20.7, 20.6, 19.3, 19.1, 17.9, 17.7; **MS:** (ESI+) $C_{21}H_{29}N_2O_5BrNa^+$ ($M+Na^+$) **calc.:**491.1158, **det.:**491.1167; **FT-IR:** film, $\tilde{\nu}$ (cm^{-1}) = 3301, 2965, 1737, 1660, 1524, 1491, 1438, 1391, 1366, 1334, 1297, 1246, 1212,.

