



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“SINTESIS ENANTIOSELECTIVA DE DERIVADOS  
HETEROCÍCLICOS DE PIRROLO[1,2-a]ISOQUINOLINAS A  
TRAVES DE INTERMEDIARIOS DE ISOINDOLONA”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
Maestro en Ciencias Químicas

PRESENTA

Q.F.B. JUAN JAVIER MEJÍA VEGA

DIRIGIDA POR:

DR. DAVID CORONA BECERRIL

DR. CARLOS GONZÁLEZ ROMERO

DRA. MARÍA PAULINA AYDEÉ GRACIA FUENTES BENÍTES



TOLUCA, MÉX.

2020



CONTENIDO		Pág.
RESUMEN		4
I	INTRODUCCIÓN	6
II	MARCO TEÓRICO	7
2.1	Alcaloides de isoindolona.....	7
2.2	Métodos de síntesis de heterociclos isoindolonas.....	8
2.2.1	Síntesis e importancia del Grupo Vinil Azida, en la síntesis de derivados heterocíclicos.....	10
2.2.2	Síntesis e importancia del Grupo Vinil Iminofosforano, en la <b>síntesis de derivados heterocíclicos</b> .....	11
2.2.2.1	Reacción de Vinil Iminofosforano con Compuestos Carbonilo...	12
2.3	Síntesis Enantioselectiva.....	13
2.3.1	Reducción Asimétrica de Alquenos.....	13
2.3.2	Biorreducción.....	13
2.3.2.1	Mecanismo de Reacción de la biorreducción por medio de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	14
2.3.2.2	Biorreducción de Alquenos Activados con <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....	15
III	OBJETIVOS E HIPÓTESIS	17
3.1	General.....	17
3.2	Particulares.....	17
3.3	Hipótesis.....	18
IV	JUSTIFICACIÓN	19
V	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
5.1	Obtención de azido acetato de etilo.....	20
5.2	Obtención de los derivados de (Z)-etil-2-azido-3-fenilacrilato...	21
5.3	Obtención de los derivados de (Z)-Etil-3-fenil-2-fosfanilidienaminoacrilatos.....	24
5.4	Obtención de derivados de (Z)-etil-2-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-fenilacrilatos.....	26
5.5	Estudio del proceso de biorreducción utilizando <i>S. cerevisiae</i> como agente biorreductor.....	30
VI	DESARROLLO EXPERIMENTAL	45
6.1	Obtención de azido acetato de etilo.....	46
6.2	Obtención de los derivados de (Z)-etil-2-azido-3-fenilacrilato...	47
6.3	Obtención de los derivados de (Z)-Etil-3-fenil-2-fosfanilidienaminoacrilatos.....	53
6.4	Obtención de derivados de (Z)-etil-2-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-fenilacrilatos.....	60
6.5	Síntesis de (Z) acido-2-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-fenilacrilico....	67
6.6	Síntesis de 2-azido-3-fenilacrilaldehído y 3-azido-4-fenil-3-buten-2-ona.....	69
6.7	Síntesis de 4-fenil-3-buten-2-ona.....	72
6.8	Reacción de Biorreducción con Levadura ( <i>S. cerevisiae</i> ) .....	74



## Contenido

VII	CONCLUSIONES	80
VIII	BIBLIOGRAFIA	83
IX	ANEXOS	86



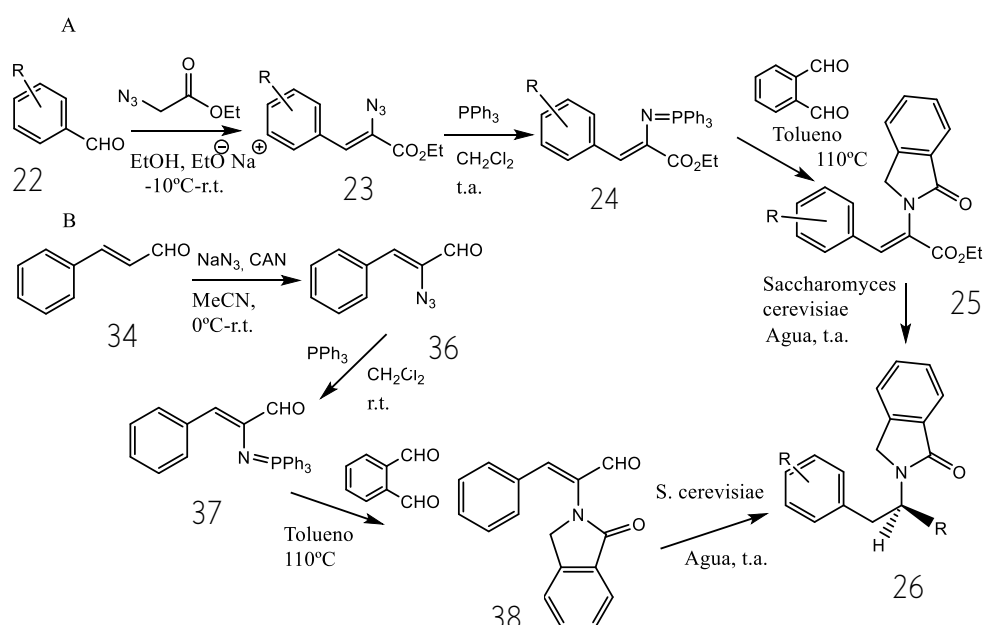
### ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

AcOEt	Acetato de etilo
CAN	Nitrato cérico amoniacal
ccf	Cromatografía en capa fina
DCM	Diclorometano
DEPT	Mejora de Distorsiones por Transferencia de Polarización
EM	Espectrometría de masas
eq.	Equivalente
g	Gramo
h	Hora
HMBC	Correlación de enlace Multiple Heteronuclear $2J_{C-H}, 3J_{C-H}$ .
HSQC	Espectroscopía de Coherencia Cuántica heteronuclear Única $1J_{C-H}$ .
Hex	Hexano
Hz	Hertz
IR	Espectroscopía infrarroja
$J$	Constante de acoplamiento
mg	Miligramo
mL	Mililitro
pf	Punto de fusión
RMC $^{13}C$	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13
RMC $^1H$	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno
UV	Radiación ultravioleta.
$\delta$	Desplazamiento químico
$\delta C$	<b>Desplazamiento químico de carbono</b>
$\delta H$	<b>Desplazamiento químico de hidrógeno</b>
t.a.	Temperatura ambiente



## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación, se presenta el estudio metodológico hacia la formación de derivados de isoindolonas, las cuales presentan como característica principal la presencia de un carbono asimétrico sobre una cadena lineal de dos carbonos que tienen como principal función servir como puente de la porción aromática de benceno y la heteroaromática de la isoindolona. El proceso de obtención de los derivados isoindolonas se realizó utilizando principalmente dos metodologías, las cuales incluyen en su estrategia el uso de intermediarios iminofosforanos. Una parte importante del proyecto se basó en la utilización de células enteras de *Saccharomyces cerevisiae*, contenida en la levadura de pan, para la bio-reducción de los compuestos  $\alpha, \beta$ -insaturados presentes, como se muestra en el Esquema 1 de la parte inferior. La reacción de bio-reducción utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* tuvo mejores resultados utilizando los derivados que presentan al grupo aldehído como parte del sistema  $\alpha, \beta$ -insaturado. Sin embargo, el producto obtenido en la reducción se presentó como racemato.

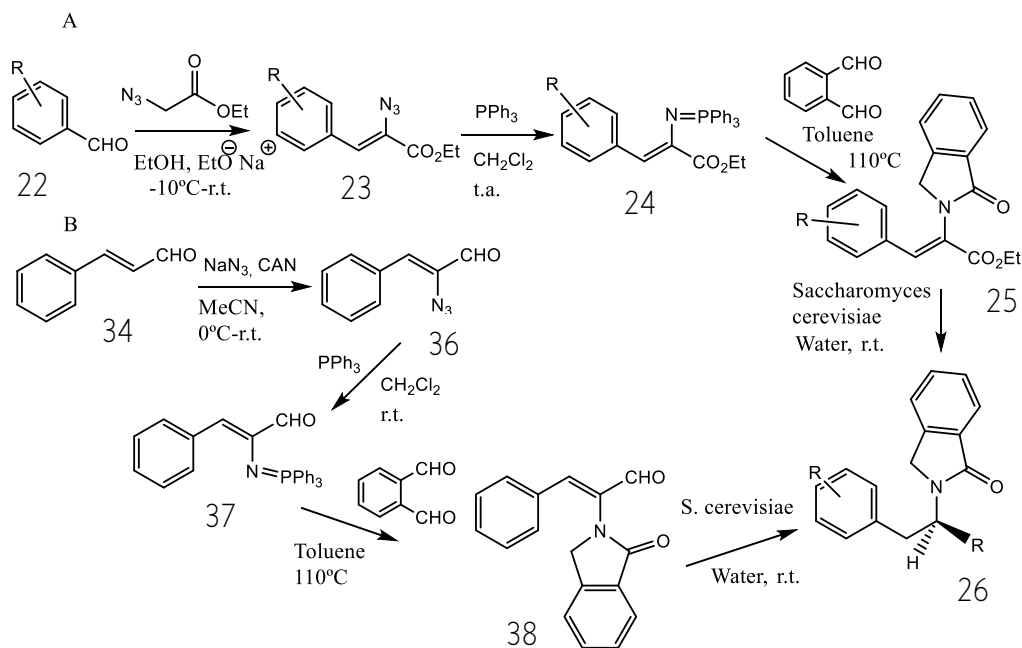


Esquema 1. Rutas sintéticas para la formación de derivados de isoindolona. Ruta A: a partir de la condensación de derivados de benzaldehído y azidoacetato de etilo. Ruta B: a través de derivados de cinamaldehído.



## ABSTRACT

In this work, a methodological study is presented towards the formation of isoindolone derivatives, which has as main feature the presence of an asymmetric carbon on a linear two carbons chain which work as a bridge of the portion aromatic benzene and heteroaromatic isoindolone. The process of obtaining isoindolone derivatives was mainly carried out using two methodologies, which include in their strategy the use of iminophosphorus intermediates. An important part of the project was based on the use of whole *Saccharomyces cerevisiae* cells, contained in bread yeast, for the bioreduction of the  $\alpha, \beta$ -unsaturated compounds present as shown in Scheme 1. The bioreduction reaction using the *Saccharomyces cerevisiae* yeast had better results using the derivatives that present the aldehyde group as part of the  $\alpha, \beta$ -unsaturated system. However, the product obtained in the reduction was presented as a racemate.



Scheme 1. Synthetic routes for the formation of isoindolone derivatives. Route A: from the condensation of benzaldehyde derivatives and ethyl azidoacetate. Route B: from cinnamaldehyde derivatives.



## I. INTRODUCCIÓN

La isoindolona 1 (Figura 1) es una estructura clave que se encuentra en muchos fármacos de origen natural y sintético con importante actividad biológica. Además, los derivados de isoindolona también son considerados productos intermedios versátiles para la síntesis total de alcaloides complejos con bioactividades atractivas.<sup>1</sup>

En las últimas décadas, se han desarrollado una variedad de métodos sintéticos de isoindolonas, sin embargo, la mayoría de los métodos requieren la adición estequiométrica de oxidantes, catalizadores de metales de transición y reactivos tóxicos.<sup>2</sup> La mayoría de los métodos para la síntesis de isoindolonas ópticamente activas se basan en el uso de auxiliares quirales. Algunos ejemplos son la adición de reactivos de Grignard a ftalimidias quirales *N*-sustituidas, reacción de bases de Schiff quirales de glicina con 2-cianobenzaldehído, la ciclación quiral de bencilaminas  $\alpha$ -sustituidas, alquilación quiral de *N*-acilisoindolonas, y métodos catalíticos que incluyen arilación catalizada por Rh (I) de 2-bromobenzaldiminas seguidas de aminocarbonilación.<sup>3</sup>

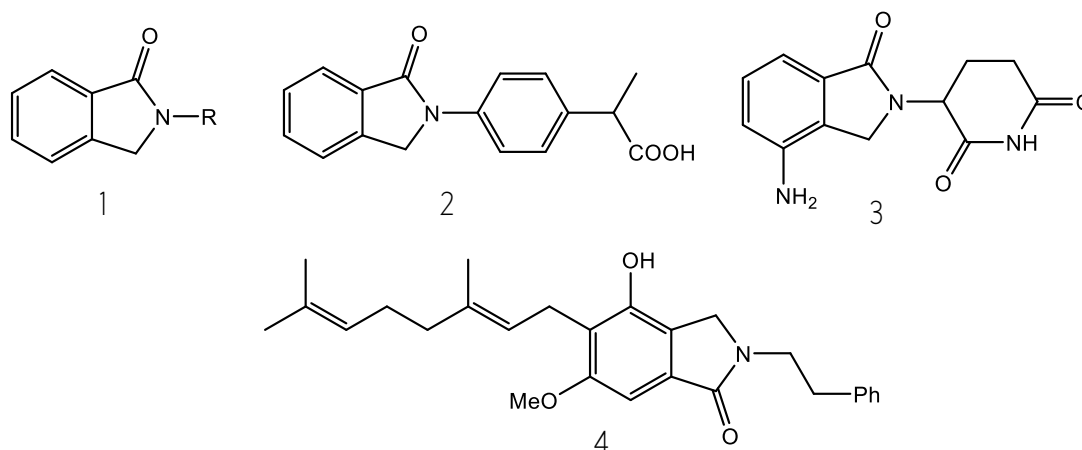


Figura 1. Isoindolonas representativas con actividad biológica. (Indoprofeno) 2, (Lenalidomida) 3, (Isohericerina) 4.

A pesar del hecho de que se ha logrado un gran progreso en la síntesis asimétrica en la última década, las metodologías para la síntesis estereoselectiva de isoindolonas rara vez se han explorado.



### II. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Alcaloides de Isoindolona

Los alcaloides son moléculas orgánicas complejas que contienen un anillo de nitrógeno heterocíclico y que han sido ampliamente estudiados por sus diversas propiedades farmacológicas. La mayor parte del interés en los alcaloides se debe a sus efectos farmacológicos específicos y potentes en los seres humanos, y esta es también la razón por la cual la ingeniería de la biosíntesis de alcaloides es una importante área de investigación.<sup>4</sup>

Las isoindolonas (ftalimidinas) representan una clase creciente de productos naturales de  $\gamma$ -lactama benzofusionados. Las isoindolonas sintéticas y naturales son relevantes desde el punto de vista médico y son componentes valiosos para la síntesis de alcaloides de mayor complejidad. Algunos de los alcaloides naturales aislados de *Berberis*, por ejemplo, Lenoxamina 5 y Magalanesina 6, contienen el esqueleto de isoindolona. Esta estructura está ampliamente presente en compuestos biológicamente activos, incluidos los inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos del VIH-1, los inhibidores de la polimerización de la tubulina, los inhibidores de la quinasa, los agentes antiobesidad, los inhibidores del TNF- $\alpha$  y los antagonistas del receptor de la urotensina-II 7.<sup>5</sup> (Figura 2)

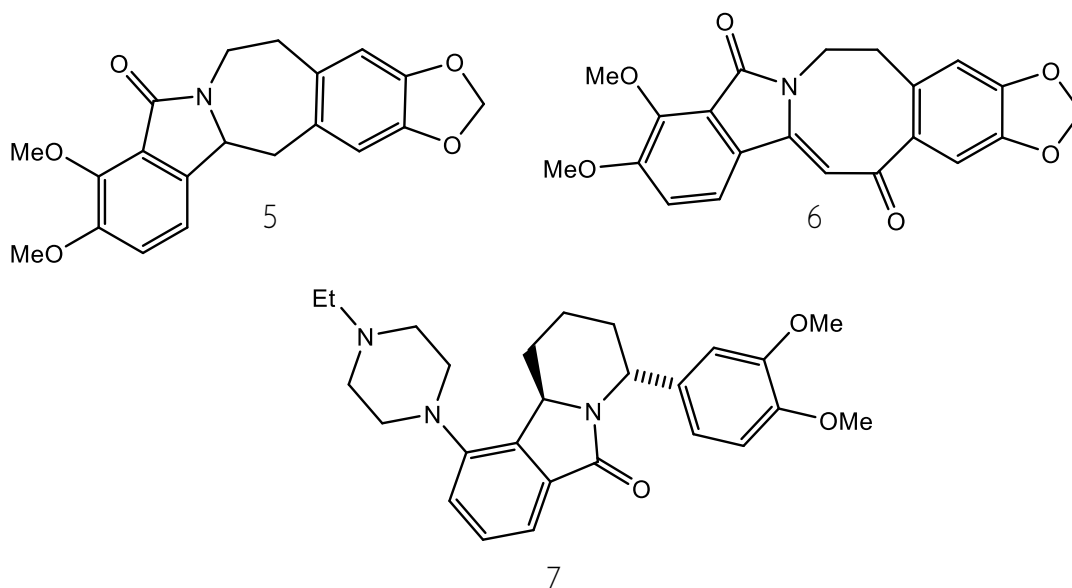


Figura 2. Ejemplos de alcaloides naturales y biológicamente activos que contienen el anillo de isoindolona.





## II. MARCO TEÓRICO

Existen tres productos naturales derivados de la isoindolona y que son conocidos como estructuras de Isoindolo[1,2-*a*]isoquinolina. Estos son los alcaloides de Jamtina 8, Hirsutina 9, y (+/-)-Nuevamina 10 (Figura 3).

La lactama de (+/-)-Nuevamina, fue el primer alcaloide de Isoindoloisoquinolina conocido, fue aislado en 1984 por Berberis Darwinii Hooke en Chile. Su estructura fue establecida un año después y hay varias publicaciones de su síntesis.<sup>6</sup>

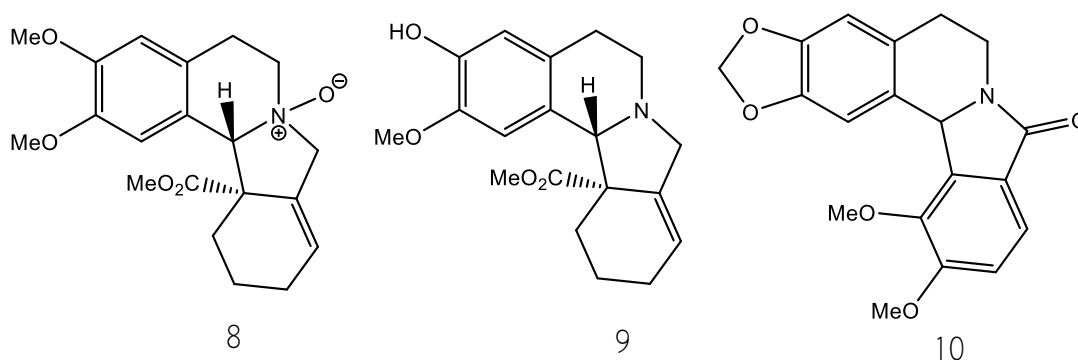


Figura 3: Alcaloides conocidos de Isoindolo[1,2-*a*]isoquinolina.

La Jamtina es probablemente la sustancia más conocida entre los alcaloides de isoindoloisoquinolina. Su aislamiento junto con la Hirsutina fue reportado en 1987 y 1991 respectivamente y producida por el arbusto trepador *Cocculus Hirsutus*, originario de Pakistán e India y ampliamente utilizado en la medicina tradicional. Estos alcaloides junto con otras sustancias similares son responsables de poseer actividad antihiperlipémica.<sup>7</sup>

Otro interés en la síntesis de análogos de alcaloides de isoindoloisoquinolinas es debido a que estos compuestos son estimulantes del sistema nervioso central y muestran actividad antiinflamatoria.

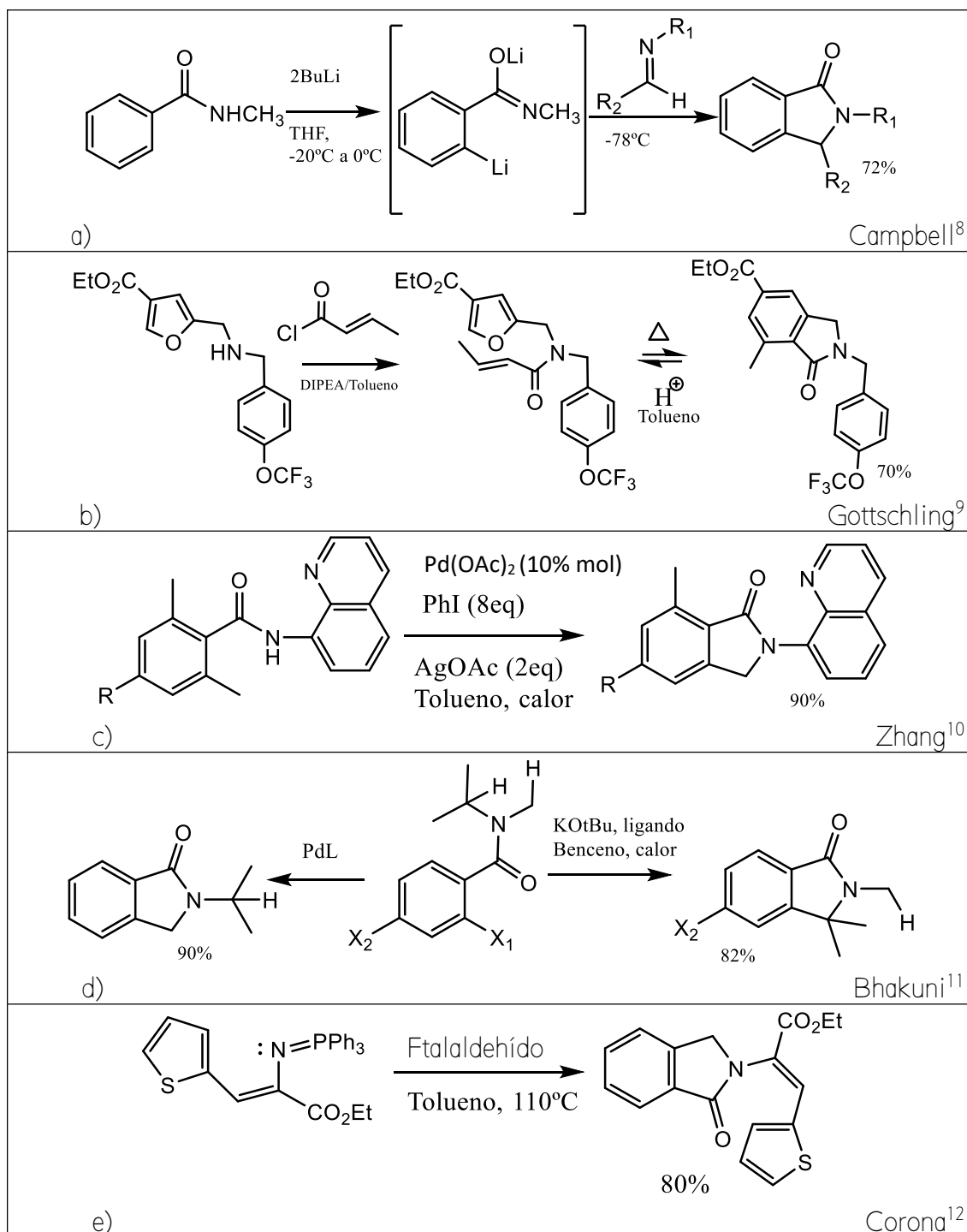
### 2.2 Métodos de Síntesis de Heterociclos Isoindolonas

Existen diversos métodos de síntesis de las isoindolonas. Los más comunes en la literatura se observan en la Tabla 1.



## II. MARCO TEÓRICO

Tabla 1. Métodos de síntesis de isoindolonas.



La obtención de isoindolonas por el método de Corona *et al*, como se muestra en la Tabla 1, inciso e, es una técnica sustancialmente eficiente para la síntesis de isoindolonas. Basándose principalmente en la química del iminofosforano como herramienta principal en la construcción de estructuras heterocíclicas nitrogenadas, su grupo de investigación



demonstró su utilidad sintética en la producción del anillo de isoindolona a través de una estrategia electrocíclica de cierre tipo tándem aza-wittig ò TAWERS por sus siglas en inglés. Otras características que convierten a esta técnica de gran interés es que no presenta formación de subproductos, fácil disponibilidad de sus precursores y baja toxicidad de las condiciones de reacción.<sup>12</sup>

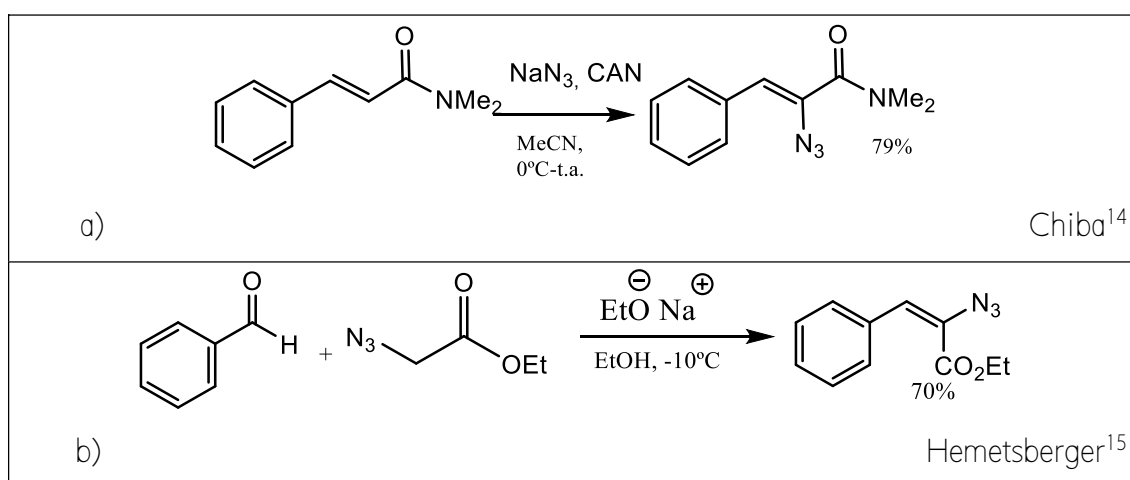
El método que empleó Corona *et al*, para generar compuestos de vinil iminofosforano se apoya en la reacción de Staudinger, cuya reacción involucra los compuestos de vinil azidas y trifetilfosfina en diclorometano a temperatura ambiente.

### 2.2.1 Síntesis e importancia del Grupo Vinil Azida en la Síntesis de Derivados Heterocíclicos

El grupo vinil azida representa un grupo especial de azidas insaturadas, cuyo grupo se encuentra sobre el doble enlace carbono-carbono formando un compuesto conjugado con propiedades anfotéricas. En consecuencia, el interés activo de estos compuestos es debido a su alta reactividad que abarca amplias aplicaciones en transformaciones orgánicas como las síntesis de aziridina, indol y triazoles.<sup>13</sup>

Hay pocos métodos reportados para la síntesis de vinil azidas, sin embargo, existen algunas reacciones principales que permiten la preparación de estos compuestos, como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Métodos de síntesis de vinil azidas.





### 2.2.2 Síntesis e importancia del Grupo Vinil Iminofosforano en la Síntesis de Derivados Heterocíclicos

La reacción de Staudinger fue el primer método para la preparación de iminofosforanos y posiblemente la técnica más utilizada. Estos compuestos de fósforo son conocidos como fosfacenos, iminofosforanos o fosfoiminas (Figura 4).<sup>16</sup>

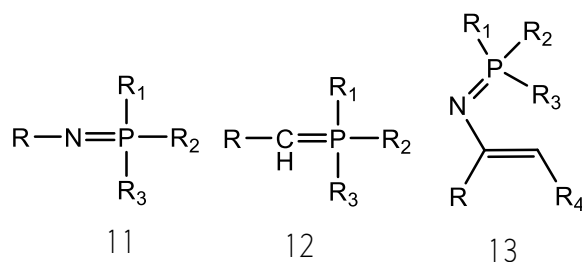


Figura 4: Iminofosforano 11, Reactivo de Wittig 12, Vinil Iminofosforano 13.

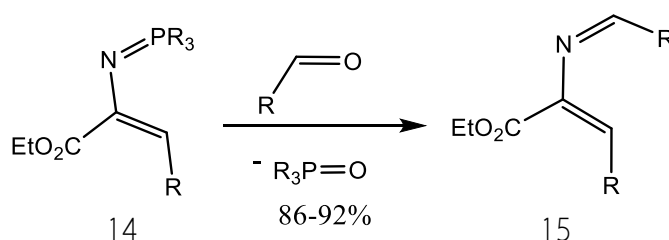
Los iminofosforanos han emergido como reactivos e intermediarios en la síntesis orgánica para su utilidad en síntesis de compuestos que contengan enlaces C=N, en particular compuestos heterocíclicos nitrogenados por reacciones inter e intramolecular aza-Wittig. La ciclación de sistemas N-heterocíclicos por una reacción aza-Wittig se ha generalizado ampliamente debido a la fácil disponibilidad de iminofosforanos funcionalizados. Este grupo funcional reacciona con compuestos carbonílicos para formar iminas y con isocianatos, isotiocianatos, dióxido de carbono y disulfuro de carbono para formar heterocumulenos.<sup>17</sup>

La presencia de un grupo vinilo ofrece nuevas oportunidades sintéticas para esta clase de reactivos de fósforo para la preparación de derivados acíclicos y cíclicos. El doble enlace adjunto con la estructura de iminofosforano induce un nuevo sitio de reactividad, permitiendo dos vías de reacción con reactivos electrófilos: a) reacción del átomo de nitrógeno del iminofosforano (adición 1,2) y b) reacción en el átomo de carbono (adición 1,4); dependiendo de las condiciones de reacción, se favorece el mecanismo de una sola vía. Esta propiedad ha convertido en la actualidad al vinil iminofosforano en una valiosa herramienta estratégica de síntesis orgánica para la construcción de heterociclos que contienen nitrógeno, compuestos como productos naturales o alcaloides.<sup>18</sup>



### 2.2.2.1 Reacción De Vinil Iminofosforanos con Compuestos Carbonílicos

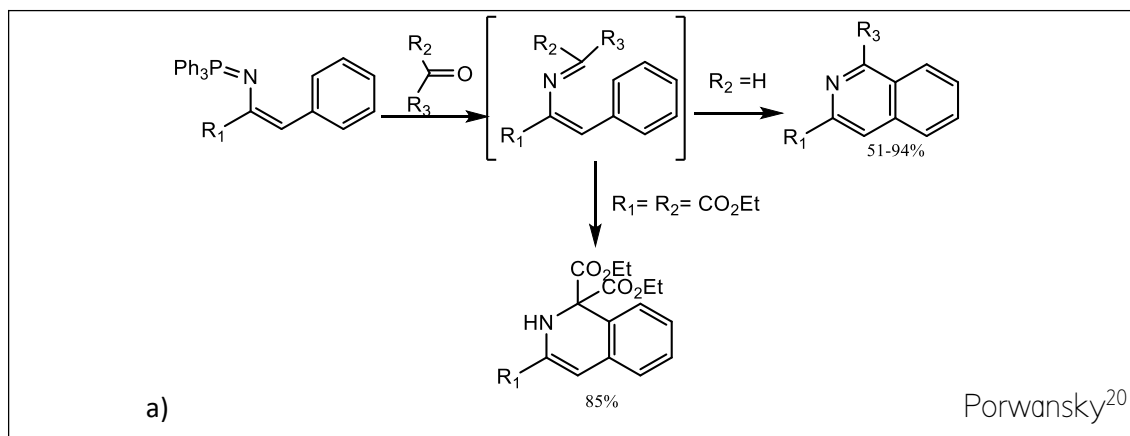
La reacción de vinil iminofosforanos con compuestos carbonílicos ha sido utilizado en la síntesis de compuestos imino funcionalizados como el 2-azadieno, que corresponde a una excelente estructura para la síntesis de heterociclos a través de procesos de cicloadición. La reacción aza-Wittig de iminofosforanos 14 con aldehídos produce 3-etoxicarbonil 2-aza-1,3-dienos 15 en muy alto rendimiento (Esquema 2).<sup>19</sup>



Esquema 2: Reacción de vinil iminofosforanos 14 con un aldehído.

Estos **heterodienos representan sistemas  $4\pi$  en reacciones de cicloadición (4+2) y, por tanto**, muchos tipos de heterociclos nitrogenados de cinco y seis miembros incluyendo productos naturales y análogos se han preparado por la llamada estrategia de TAWERS (Tandem Aza-Wittig/intramolecular Electrocyclic Ring Closure Strategy), como se muestra en la Tabla 3.

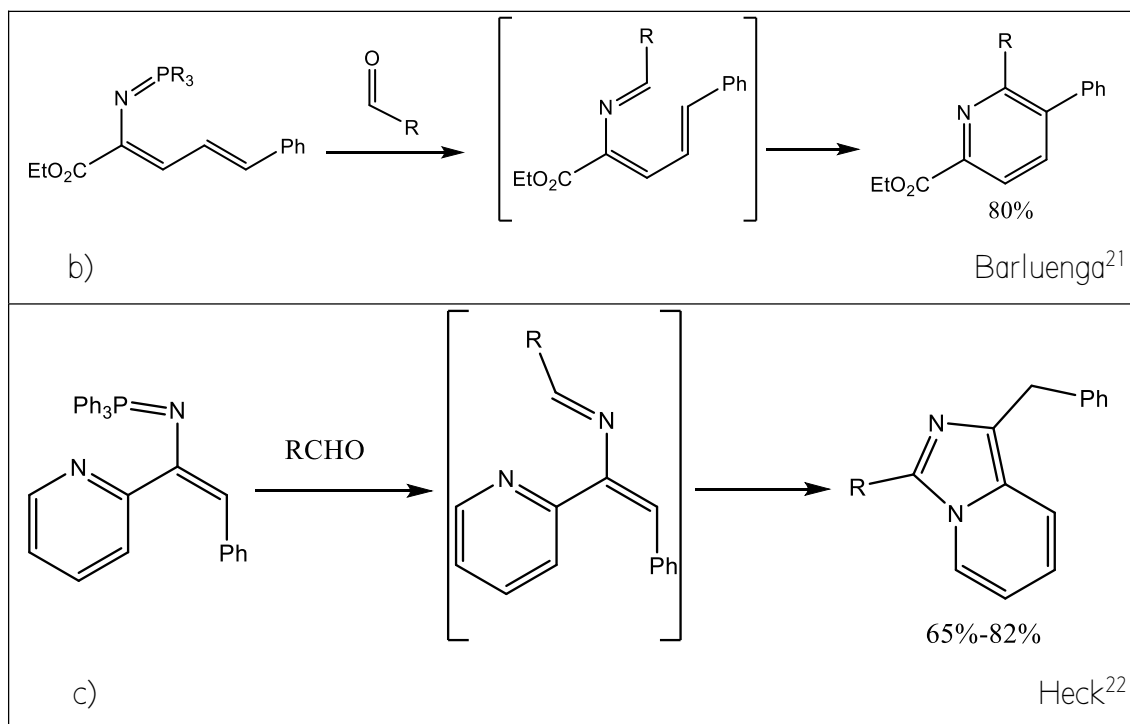
Tabla 3. Ejemplos de síntesis de derivados heterocíclicos a través de la técnica de TAWERS.



Porwansky<sup>20</sup>



## II. MARCO TEÓRICO



### 2.3 Síntesis Enantioselectiva por Biorreducción con *Saccharomyces cerevisiae*

#### 2.3.1 Reducción Asimétrica de Alquenos

La hidrogenación catalítica asimétrica de compuestos proquirales insaturados como los alquenos, ha sido ampliamente estudiada y es considerado como un método eficaz para el acceso y aislamiento de compuestos quirales individuales.<sup>23</sup>

La hidrogenación asimétrica mediada por metales de transición y fosfinas quirales es un método eficiente para la reducción catalítica de alquenos proquirales, cetonas e iminas en los correspondientes productos quirales. Muchas son las ventajas que sobresalen de esta técnica, como lo son la amplia gama de sustratos, alta reactividad y selectividad, así como la producción mínima de subproductos, lo que hace que este método sea altamente deseable.<sup>24</sup>

#### 2.3.2 Biorreducción

Poniendo énfasis en la química verde, se requieren más métodos amigables con el ambiente en síntesis orgánica, para ello la hidrogenación asimétrica biocatalítica utilizando enzimas aisladas o suspensiones con células enteras han ganado importancia

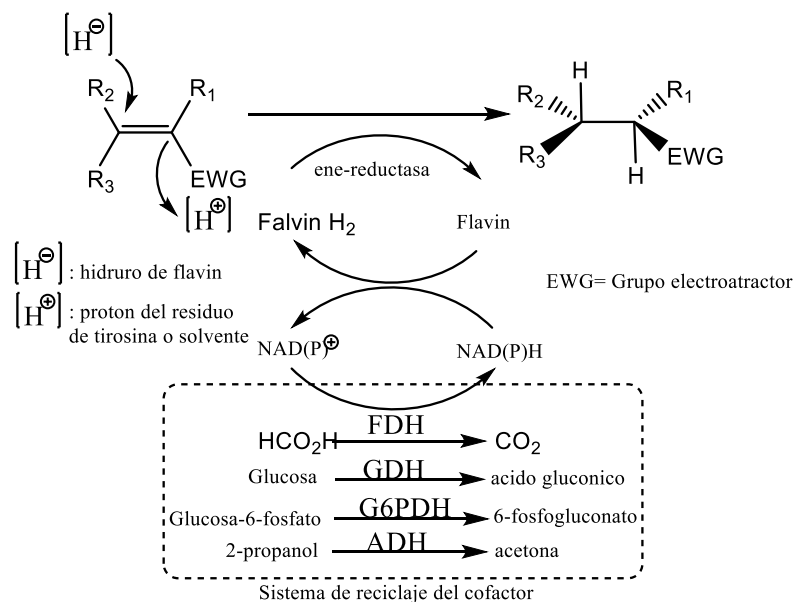


## II. MARCO TEÓRICO

en la producción de compuestos e intermediarios farmacéuticos importantes.<sup>25</sup> Las enzimas son atractivos biocatalizadores debido a su alta eficiencia en regio-, estéreo- y enantioselectividad. Las enzimas catalizan reacciones bajo condiciones relativamente suaves de pH, temperatura y presión bajo condiciones acuosas, que es particularmente importante en términos ambientales.<sup>26</sup> Una clase de enzimas que ha recibido mucha atención y que ha sido intensamente estudiada en años recientes son las llamadas ene-reductasas.<sup>27</sup> Estas enzimas catalizan la reducción estereoselectiva de diversos enlaces **dobles conjugados  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados** activados por un grupo electroattractor, por ejemplo, cetona, aldehído, ácido carboxílico/éster, lactona, imida, nitro y nitrilo.<sup>28</sup>

### 2.3.2.1 Mecanismo de Reacción De la biorreducción por medio de *Saccharomyces cerevisiae*

El mecanismo de reducción de la ene-reductasa de compuestos  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados ha sido estudiada en gran detalle. Se ha demostrado que la reacción procede por una *vía* de transferencia estereoselectiva de un hidruro (derivado de un cofactor reducido) en el carbono  $\beta$ , mientras que un residuo de tirosina adiciona un protón (o derivado del solvente) en el carbono  $\alpha$  por el lado opuesto (Esquema 3).<sup>29</sup>



Esquema 3. Biorreducción asimétrica de alquenos activados usando ene-reductasas.



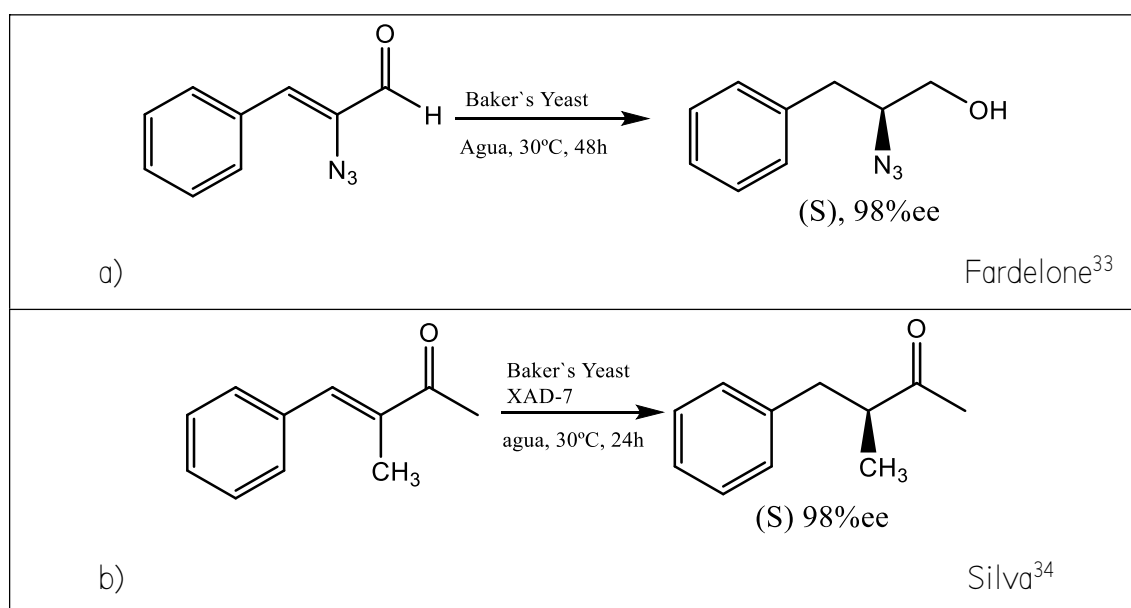
La adición completa de hidrógeno sobre el doble enlace C=C es parecida a la adición de Michael y que resulta con exclusiva estereoespecificidad trans. Reducción del cofactor oxidado de flavina a expensas de NAD(P)H cierra el ciclo catalítico. Las enzimas ene-reductasas frecuentemente muestran especificidades relacionadas para NADH o NADPH como cofactor, lo que permite la elección de un sistema de reciclaje (sistema metabólico) en cualquier caso.<sup>30</sup>

### 2.3.2.2 Biorreducción de Alquenos Activados con *Saccharomyces cerevisiae*

La levadura de pan (*Saccharomyces cerevisiae*) es un conveniente sistema biocatalítico que ha sido empleado extensamente para la reducción asimétrica de cetonas entre otros grupos carbonilo. Varios autores han mostrado que la levadura de pan también es eficiente para la reducción de enlaces dobles debido a la presencia de enzimas ene-reductasas.<sup>31</sup>

En esta área, la levadura de pan es el material biológico más empleado para la reducción de dobles enlaces proquirales debido a que es altamente económico, comercialmente disponible y las conversiones ocurren usualmente con alta enantioselectividad.<sup>32</sup> En la Tabla 4 se presentan algunos ejemplos de reacciones de biorreducción de compuestos  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados utilizando levadura de pan.

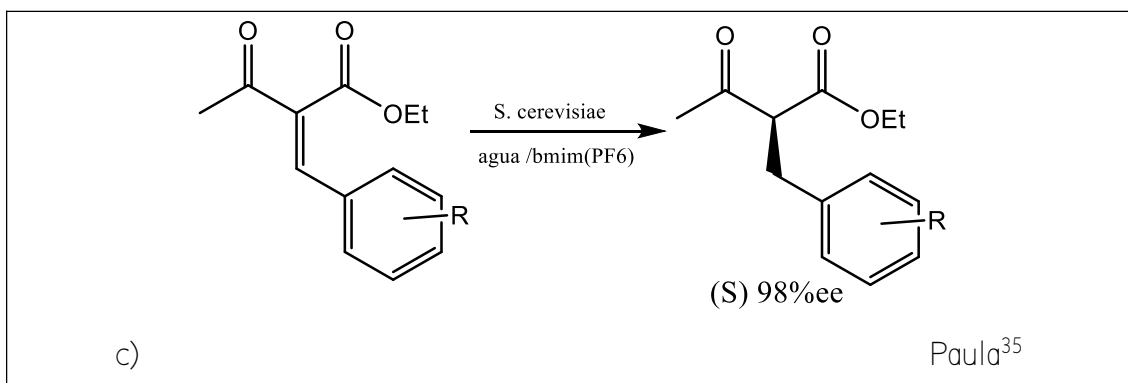
Tabla 4. Ejemplos de reacciones de biorreducción.







## II. MARCO TEÓRICO



Sin embargo, existen algunos inconvenientes con el método. La eficiencia es usualmente baja ya que la mayoría de los sustratos no naturales son tóxicos para los organismos vivos y, por tanto, son tolerados en bajas concentraciones. La cantidad de biomasa presente en la reacción provoca bajos rendimientos y hace que la recuperación del producto sea laboriosa.



### III. OBJETIVOS

#### 3.1 General.

Llevar a cabo un estudio metodológico para la formación de moléculas orgánicas ópticamente activas a través de un proceso sustentable que involucra una reacción de biorreducción a través del uso de células enteras de *Saccharomyces cerevisiae*. y en cuya estructura se presenten anillos heterocíclicos de isoindolonas.

#### 3.2. Particulares

- Obtener el azido acetato de etilo por medio de la reacción nucleofílica de bromo acetato de etilo y azida de sodio que servirá como materia prima para la síntesis de 2-azido-3-fenilacrilatos de la ruta sintética A.
- Desarrollar la síntesis de intermediarios de isoindolona conteniendo a los sistemas  **$\alpha$ - $\beta$  insaturados de la ruta sintética A por una reacción aza-Wittig** de iminofosforano y una molécula de dialdehído.
- Estudiar la reducción del enlace doble C=C por medio de pruebas de bio-reducción de los compuestos de isoindolona  **$\alpha$ - $\beta$  insaturados de la ruta sintética A con las células enteras de *Saccharomyces cerevisiae*** con el fin de encontrar las condiciones idóneas que permitan la reducción enantioselectiva.
- **Desarrollar la síntesis de otros compuestos intermediarios  $\alpha$ - $\beta$  insaturados** de isoindolona con un grupo funcional de aldehído como grupo activador de la bio-reducción (Ruta sintética B) a partir de una reacción de moléculas de cinamaldehído con nitrato cérico amoniacal y azida de sodio.
- Realizar las pruebas de biorreducción del compuesto de isoindolona obtenido a través de la ruta B con las células enteras de *Saccharomyces cerevisiae* y comparar **los resultados de reducción con los compuestos de isoindolona  $\alpha$ - $\beta$  insaturados de la ruta sintética A.**
- Caracterizar cada uno de los productos intermediarios y los productos finales de la ruta de síntesis por medios espectroscópicos y espectrométricos.



### III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

---

#### 3.3 Hipótesis

Será posible llevar a cabo la formación de moléculas orgánicas ópticamente activas en cuya estructura se presente un anillo de isoindolona como parte del sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado, a través de una de las estrategias de síntesis que involucra como paso importante la reducción estereoselectiva de los intermediarios  $\alpha\text{-}\beta$  insaturados con células enteras de *Saccharomyces cerevisiae*.



### IV. JUSTIFICACIÓN

La idea de emprender el desarrollo de un método de síntesis que permita el acceso a compuestos enantioméricamente puros, como lo es la obtención de derivados de isoindolona tiene como fundamento obtener de manera más eficaz y económica productos de interés farmacéutico. Las moléculas de isoindolona tienen también la función de servir como intermediarios para la síntesis de alcaloides de mayor complejidad e interés farmacológico.

En este contexto, con la metodología propuesta para la realización de este proyecto, se busca también una aportación importante en la generación de conocimiento y experiencia nueva en beneficio de la sociedad. Las ventajas asociadas al empleo de esta ruta sintética son la disponibilidad de los materiales y la alta selectividad en la obtención de los productos deseados y por tanto la generación de subproductos es mínima, haciendo que esta metodología sea altamente deseable académica e industrialmente.

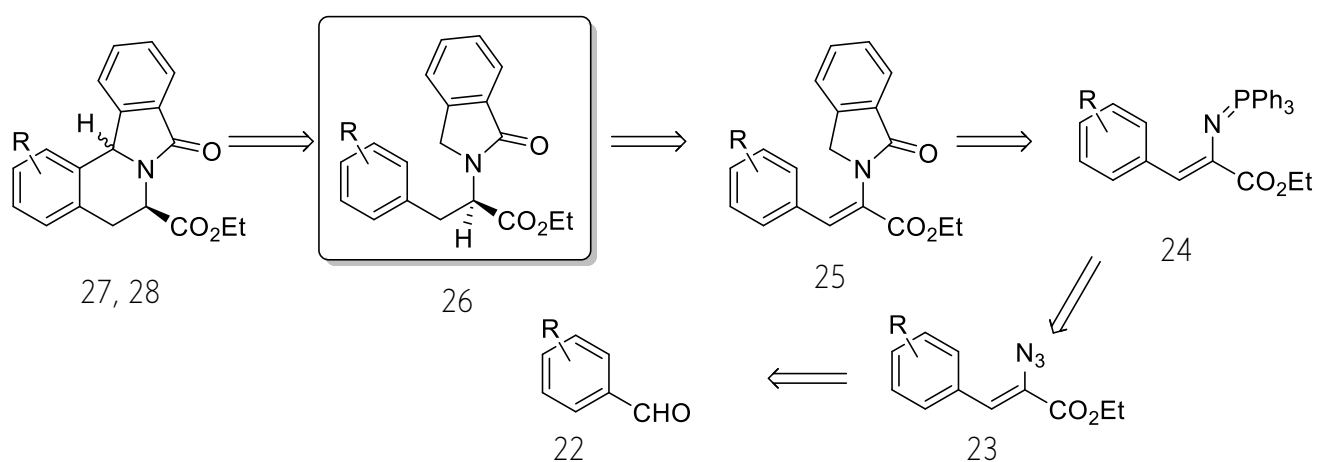
Se propone que los compuestos enantioméricos puros que se obtengan en este proyecto podrán tener actividad biológica y aunque este estudio no se abordará aquí, el disponer de estas nuevas estructuras para el conocimiento de su reactividad, puede ser un objetivo más a largo plazo, abriendo paso a estudios posteriores.



### V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente trabajo de investigación planteó como objetivo principal la formación de los derivados de las pirrolo[1,2-a]isoquinolinas, moléculas con una interesante aplicación tanto biológica como farmacológica; sin embargo, al final del proceso de experimentación, el objetivo inicial cambió de forma radical, presentando en este trabajo a las moléculas de la isoindolonas, que presentan centros asimétricos, como los productos más interesantes de este estudio.

En el Esquema 4 se presentan las rutas retrosintéticas de síntesis estudiadas, en las cuales se observa que el producto final esperado es la correspondiente pirrolo[1,2-a]isoquinolina 28. Sin embargo, al finalizar el estudio de la síntesis se encontró a las isoindolonas asimétricas 26, las cuales fueron obtenidas principalmente a través del uso de los intermediarios iminofosforanos correspondientes 24.



Esquema 4: Ruta retrosintética para la formación de derivados de pirrolo[1,2-a]isoquinolinas 27 y 28.

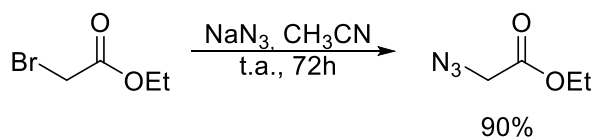
#### 5.1 Síntesis de Azidoacetato de etilo.

El estudio hacia la formación de los derivados de las isoindolonas inició con la reacción de condensación aldólica tipo Knoevenagel, utilizando como material de partida el azidoacetato de etilo, el cual fue preparado como se muestra en el Esquema 5.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---



Esquema 5: Síntesis de azido acetato de etilo.

El azido acetato de etilo se obtuvo en un 90% de rendimiento, y sus estudios de caracterización por medio de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  (ver Anexos) corresponden a los reportados en la bibliografía.<sup>36</sup>

### 5.2 Síntesis de (Z)-2-azido-3-fenilacrilatos de etilo adecuadamente sustituidos sobre el anillo de benceno

El azidoacetato de etilo previamente formado se hizo reaccionar con cinco derivados de benzaldehído diferentes (benzaldehído, benzo[d][1,3]dioxo-5-carbaldehído, 4-dimetilamino benzaldehído, 2,3-dimetoxibenzaldehído, 2,4-diclorobenzaldehído) con la finalidad de obtener los correspondientes derivados  $\alpha,\beta$ -insaturados adecuadamente funcionalizados. En la Tabla 5 se muestra la reacción general de condensación, los productos derivados de vinil azidas obtenidos, tiempos de reacción empleados y rendimientos.

Durante el desarrollo experimental se observó que para obtener mejores rendimientos en la reacción de condensación es necesario el uso de un exceso de seis equivalentes del azidoacetato de etilo, así como de la base por un equivalente del aldehído correspondiente. Como puede observarse en la Tabla 5, el tiempo máximo de reacción fue de 24 horas para las reacciones 1 a 3, después de ese tiempo la formación del producto permanecía sin cambios. En contra parte, el tiempo de reacción para los ensayos 4 y 5 fue de 4 horas, lo anterior tenía por objetivo comparar el rendimiento alcanzado en estos ensayos y los obtenidos por Zhang<sup>36</sup> en cuyo caso el rendimiento de reacción alcanzaba el 60% en un tiempo de 4 horas.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 5: Rendimientos de reacción y puntos de fusión de vinil azidas 23a-e.

Reacción General:				
Ensayo	Productos	Tiempo de Reacción (hrs)	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)
1		24	75	Aceite amarillo
2		24	76	37
3		24	61	Aceite amarillo
4		4	40	Aceite incoloro
5		4	35	65

Para comprobar la formación de los correspondientes sistemas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados, se llevó a cabo su caracterización por medio de técnicas espectroscópicas de IR, observando la banda de vibración característica del grupo azida en  $2100\text{ cm}^{-1}$ , además de la presencia del grupo funcional carbonilo de éster en  $1675\text{ cm}^{-1}$ ; por otra parte, a través de la espectroscopía de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se determinaron los desplazamientos químicos característicos de estas moléculas, los cuales se resumen en la Tabla No. 6. De la



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

información más importante se tiene que en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  se muestra un patrón característico para los seis derivados  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados 23a-e y se observa el sistema de spin para el grupo etilo como una señal cuádruple para los metilenos ( $\text{CH}_2$ ) en una región comprendida entre 4.35 a 4.39 ppm y una señal triple para los metilos ( $\text{CH}_3$ ) en la región de 1.12 a 1.41 ppm; ambos con constantes de acoplamiento de entre  $J=7.2$  a 7.4 Hz. Por otra parte, el hidrógeno vinílico para estos derivados es una señal simple en todos los casos presente en la región entre 6.88 a 7.44 ppm. El espectro correspondiente de RMN  $^{13}\text{C}$ , también indico la formación de los derivados  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados, ya que muestra las señales de los grupos carbonilo del grupo éster, para todos los derivados en la región comprendida de 163 a 165 ppm, la presencia de los carbonos vinílicos y aromáticos en la región de 110 a 135 ppm, en la región alifática se presentan el grupo etilo como una señal alrededor de 14 ppm para el metilo y entre 55 a 62 ppm para el grupo metileno.

Tabla 6. Desplazamiento químico de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  en ppm de vinil azidas 23a-e (multiplicidad y  $J$  en Hz).

Átomo	23a	23b	23c	23d	23e
<b>H<math>\beta</math></b> <sub>Vinílico</sub>	6.91 (s)	6.88 (s)	6.89 (s)	7.33 (s)	7.44 (s)
H -CH <sub>3</sub>	1.40 (t, $J = 7.2$ )	1.39 (t, $J = 7.2$ )	1.39 (t, $J = 7.1$ )	1.41 (t, $J = 7.1$ )	1.12 (t, $J = 8.0$ )
H -CH <sub>2</sub> -	4.37 (q, $J = 7.2$ )	4.36 (q, $J = 7.2$ )	4.34 (q, $J = 7.1$ )	4.39 (q, $J = 7.1$ )	4.35 (q, $J = 8.0$ )
H <sub>Ar</sub>	7.81 (d, $J = 6.5$ ) 7.44 - 7.29 (m)	7.30 - 7.13 (m) 6.88 - 6.72 (m)	7.81 (d, $J = 8$ ) 6.73 (d, $J = 8$ )	7.81 (d, $J = 8$ ) 7.09 (t, $J = 8.1$ ) 6.92 (d, $J = 8$ )	7.74 (s) 7.67 (d, $J = 7.5$ ) 7.52 - 7.44 (m)
<b>C<math>\beta</math></b>	128.44	126.45	129.80	125.44	119.07
C -CH <sub>3</sub>	14.03	14.05	13.41	13.93	14.20
C -CH <sub>2</sub> -	62.28	62.15	60.84	55.95	62.62
C <sub>Ar</sub>	125.33 -133.22	110.58-151.73	110.58-151.73	114.20-152.47	126.97-135.28
C (C=O)	163.55	163.68	165.13	165.67	163.08





## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.3 Síntesis de etil (Z)-3-fenil-2-(trifenilfosfanilidien-amino)acrilatos

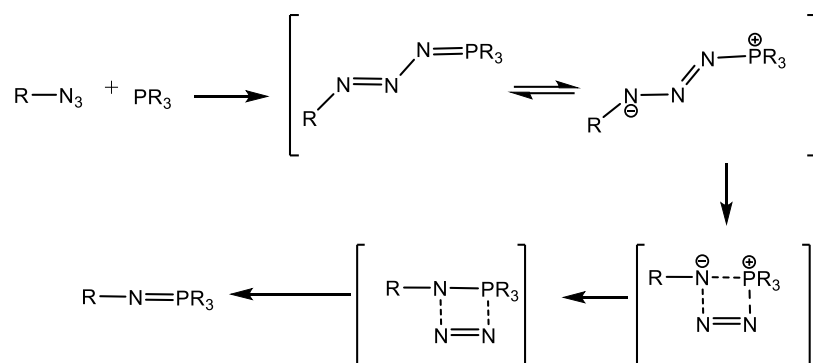
Una vez que se comprobó la obtención de las vinilazidas se continuó a efectuar la síntesis de vinil iminofosforanos 24a-e mediante la reacción de vinil azidas 23a-e y trifenilfosfina en diclorometano a temperatura ambiente. Los compuestos sintetizados, los rendimientos y tiempos de reacción se representan en la Tabla 7.

Tabla 7: Rendimientos de reacción y puntos de fusión de vinil iminofosforanos 24a-e.

Reacción General:			
Ensayo	Productos	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)
1		95	120
2		90	130
3		83	114
4		80	Aceite amarillo
5		75	128



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Esquema 6. Secuencia de reacción de Staudinger para la síntesis de iminofosforanos (24a–24e).

Los rendimientos de reacción que presentan los compuestos de vinil iminofosforanos 24a–e se encuentran en un intervalo de 75 a 95 % y con tiempos de reacción moderados. El mecanismo de la reacción de Staudinger se muestra en el Esquema 6.

La caracterización correspondiente a los derivados iminofosforanos 24a–e, se realizó a través del uso de la espectroscopia de IR, donde la información más importante se observa debido a la ausencia de la banda correspondiente del grupo azida, el cual inicialmente se encontraba alrededor de  $2100 \text{ cm}^{-1}$ , y la cual ya no está presente en los derivados 24a–e obtenidos. Además, para corroborar la formación de los intermediarios iminofosforanos, se realizó la RMN<sup>1</sup>H observando un patrón muy similar con sus antecesores azida; se presenta el sistema de espín del grupo etilo correspondiente ( $\text{CH}_2$ ; q, 3.78–3.88 ppm,  $\text{CH}_3$ ; t, 0.98–1.01 ppm), la señal del hidrógeno vinílico ( $-\text{CH}=\text{}$ ; s, 6.73–7.46 ppm); la diferencia notable es el aumento en el número de hidrógenos presentes en la región de sistemas aromáticos, lo cual corresponde a 15 hidrógenos de los tres grupos arilos incorporados, provenientes de la trifenilfosfina.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 8. Desplazamiento químico de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  en ppm de vinil iminofosforanos 24a-e (multiplicidad y  $J$  en Hz).

Átomo	24a	24b	24c	24d	24e
<b>H<math>\beta</math></b> <sub>Vinílico</sub>	6.73(s)	6.72(s)	6.76(s)	7.4 (s).	7.46 (s)
H -CH <sub>3</sub>	1.01 (t, $J = 7.1$ )	0.98 (t, $J = 7.1$ )	0.99 (t, $J = 7.1$ )	1.00 (t, $J = 7.1$ )	1.01 (t, $J = 7.1$ )
H -CH <sub>2</sub> -	3.85 (q, $J = 7.1$ )	3.78 (q, $J = 7.2$ )	3.88 (q, $J = 7.1$ )	3.85 (q, $J = 7.1$ )	3.88 (q, $J = 7.2$ )
H <sub>Ar</sub>	8.19 – 8.10 (m) 7.76 – 7.70 (m) 7.51 – 7.36 (m) 7.26 (m) 7.18 – 7.07 (m)	7.77 – 7.68 (m) 7.43 (ddtd, $J =$ 11.4, 8.7, 6.1, 2.7) 7.27 (d, $J = 3.3$ ) 6.75 – 6.69 (m)	7.75 – 7.67 (m) 7.44 (dddd, $J =$ 13.7, 11.9, 6.0, 4.2) 6.65 (d, $J = 8.8$ )	7.77 – 7.70 (m) 7.52 – 7.35 (m) 7.04 (d, $J = 7.0$ ) 6.95 (t, $J = 8.1$ ) 6.77 – 6.74 (m)	7.73 – 7.67 (m) 7.46 (ddt, $J =$ 10.8, 5.4, 2.6) 7.08 (dd, $J = 8.7,$ 2.5) 6.95 (d, $J = 7.0$ )
<b>C<math>\beta</math></b>	127.58	128.59	128.15	134.60	131.88
C -CH <sub>3</sub>	12.25	14.07	14.03	14.05	12.73
C -CH <sub>2</sub> -	58.92	60.67	61.79	60.94	59.80
C <sub>Ar</sub>	123.86-136.48	107.79-147.09	112.74-151.63	110.12-152.70	126.92-131.88
C (C=O)	166.22	168.05	169.32	160.05	166.17

### 5.4 Síntesis de etil-(Z)-2-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-fenilacrilatos

Una vez obtenidos los compuestos de vinil iminofosforanos 24a-e, se llevó a cabo la construcción de los intermediarios de isoindolona correspondientes 25a-e por medio de la reacción con ftalaldehído en tolueno a temperatura de reflujo. Los intermediarios de isoindolonas obtenidos se presentan en la Tabla 9.

Durante el proceso de experimentación se observó que el tiempo de reacción adecuado para lograr los mejores rendimientos fueron 48 horas. La identificación de los derivados de las isoindolonas fue posible a través de diferentes técnicas de análisis, inicialmente la espectroscopia de infrarrojo mostró las vibraciones correspondientes de las bandas de absorción característica de los grupos funcionales presentes, por ejemplo: el grupo carbonilo de la lactama, así como la del éster se presentan como dos bandas de mediana intensidad en 1650 y 1690  $\text{cm}^{-1}$  (ver Anexos).



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 9: Rendimientos de reacción y puntos de fusión de derivados de isoindolona 25a–e.

Reacción General:			
Ensayo	Productos	Rendimiento (%)	Punto de fusión (°C)
1		84	95°C
2		83	114°C
3		85	108°C
4		82	Aceite café
5		70	Aceite amarillo



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

La información más importante de la formación de los derivados de las isoindolonas se obtuvo del análisis de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . En el espectro RMN  $^1\text{H}$ , se observó la aparición de las señales simples en la región de entre 4.42 y 4.56 ppm de los correspondientes grupos metileno parte del anillo de la lactama formada, es evidente también la disminución del número de hidrógenos aromáticos en quince unidades de integración, debido a la pérdida de tres fenilos como parte del grupo óxido de trifenilfosfina, como consecuencia de la formación del grupo imina intermediario (ver Esquema 7). Los espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  por su parte, muestran las señales de los carbonos de los grupos metileno en la región de entre 48.5 a 50.4 ppm, así como los carbonos debido a los grupos carbonilo de éster y lactama en la región comprendida de 167 a 169 ppm, siempre en todos los casos, dos señales presentes de carbonilo, el grupo éster y el grupo amida (Tabla 10).

En función a la información obtenida sobre reactividad de los iminofosforanos, y a la información de la literatura se describe el posible mecanismo de transformación, el cual ha sido estudiado por nuestro grupo de investigación.<sup>12</sup> Inicialmente el mecanismo transcurre con la formación de la imina A posteriormente el par libre de electrones de la imina ataca de forma intramolecular al carbonilo restante polarizando el enlace C-O formando el intermediario B. Cuando el enlace C-O polarizado regresa el par de electrones, ocurre una migración del hidrógeno [1,3] que se adiciona en el carbono de la imina produciendo como producto final la formación de la isoindolona 25 (Esquema 7).



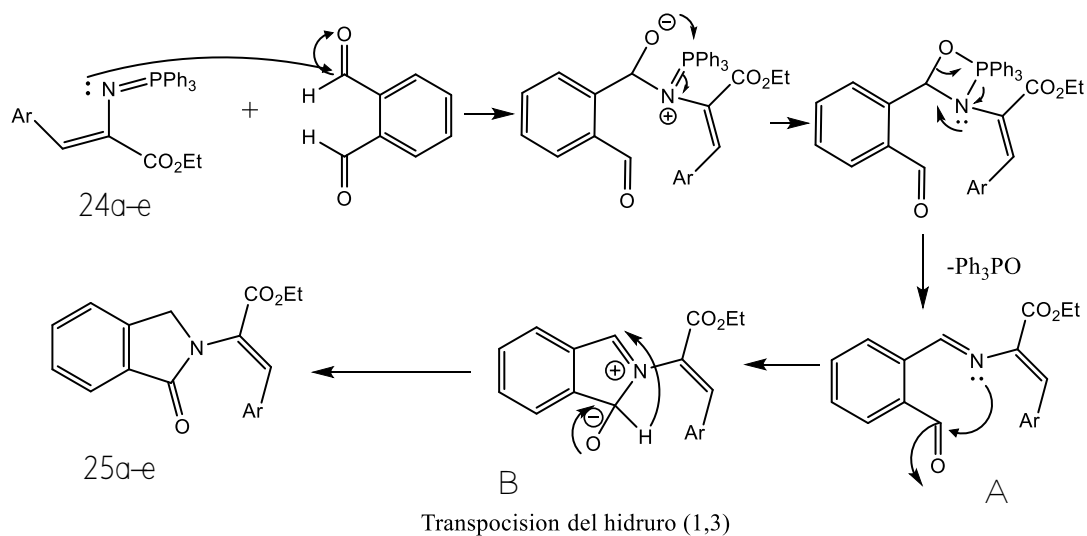
## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 10. Desplazamiento químico de RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  en ppm de intermediarios de isoindolona 25a-e (multiplicidad y  $J$  en Hz).

Átomo	25a	25b	25c	25d	25e
$\text{H}\beta_{\text{Vinílico}}$	7.84 (s)	7.75 (s)	7.78 (s)	8.06(s)	7.40 (s)
$\text{H}_{\text{benílico}}$	4.51 (s)	4.55 (s)	4.56 (s)	4.48 (s)	4.42 (s)
$\text{H}-\text{CH}_3$	1.31 (t, $J = 7.1$ )	1.29(t, $J = 1.5$ )	1.29 (t, $J = 7.1$ )	1.32 (t, $J = 7.1$ )	1.33 (t, $J = 7.1$ )
$\text{H}-\text{CH}_2-$	4.30 (q, $J = 7.1$ )	4.25 (q, $J = 6.4$ )	4.21 (q, $J = 7.1$ )	4.31 (q, $J = 7.1$ )	4.33 (q, $J = 7.1$ )
$\text{H}_{\text{Ar}}$	7.94 (dd, $J = 7.5, 1.3$ ) 7.61 (td, $J = 7.4, 1.3$ ) 7.56 – 7.48 (m) 7.48 – 7.39 (m) 7.37 – 7.25 (m)	7.93 (d, $J = 7.5$ ) 7.63 – 7.43 (m) 7.03 – 6.91 (m)	7.96 (d, $J = 7.5$ ) 7.64 – 7.45 (m) 7.31 (d, $J = 7.5$ ) 6.56 (d, $J = 8.9$ )	8.06 (d, $J = 8$ ) 7.90 (d, $J = 7.5$ ) 7.61 – 7.39 (m) 6.87 (d, $J = 5.6$ )	7.89 (d, $J = 7.4$ ) 7.63 – 7.32 (m)
$\text{C}\beta_{\text{Vinílico}}$	121.83	123.06	119.67	121.37	115.60
$\text{C}_{\text{benílico}}$	48.94	50.41	49.51	48.52	50.54
$\text{C}-\text{CH}_3$	13.06	14.14	13.83	12.60	14.21
$\text{C}-\text{CH}_2-$	60.55	61.89	60.67	62.57	62.06
$\text{C}_{\text{Ar}}$	123.30-141.06	108.68-149.45	111.22-150.97	113.83-149.15	123.00-142.14
$\text{C}$ ( $\text{C}=\text{O}$ )Isoindolona	167.92	169.12	168.46	167.53	169.17
$\text{C}$ ( $\text{C}=\text{O}$ )éster	163.26	164.62	164.65	162.81	163.82



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Esquema 7: Mecanismo de obtención de isoindolonas utilizando vinil iminofosforano y dialdehídos.

5.5 Estudio del proceso de biorreducción utilizando *S. cerevisiae* como agente biorreductor.

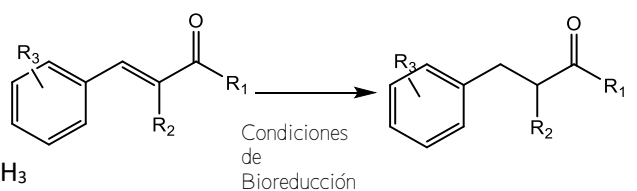
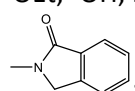
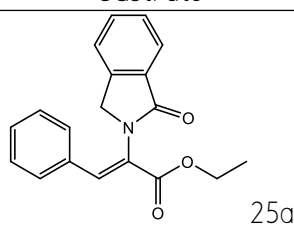
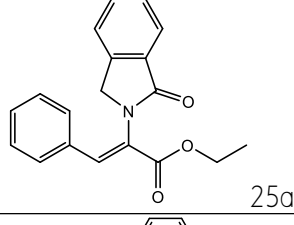
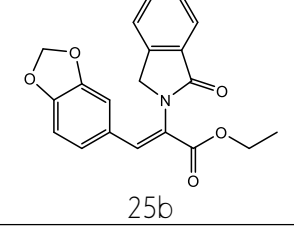
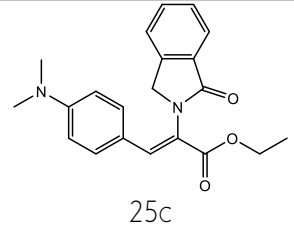
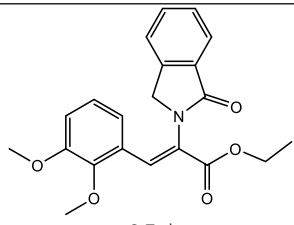
De acuerdo con la bibliografía se ha encontrado que la *Saccharomyces cerevisiae*, una levadura, produce reacciones de reducción de sistemas orgánicos  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados en condiciones suaves,<sup>37</sup> por lo cual se decidió en este paso utilizarlas como paso de reducción de los derivados de isoindolonas formados anteriormente. En la Tabla 11 se presenta la reacción general de la biorreducción.

Las pruebas de biorreducción de los cinco derivados de isoindolonas (Ensayos 1-6) se llevaron a cabo utilizando las mismas condiciones de reacción que se encuentran reportadas en la literatura.<sup>38</sup> Se colocaron 10g de *S. cerevisiae* tipo 2 en 150mL de agua previamente hervida, a la suspensión se adiciono 5g de dextrosa y se mantuvo en agitación por 20 minutos. Se disolvieron 0.2mmol del sustrato de isoindolona en 5mL de etanol y se depositaron lentamente en el medio de reacción. Al término, la mezcla se filtra sobre una capa de celita en un buchner y vacío, las aguas madre al igual que el residuo solido remanente de la filtración se lavan con 3 porciones de acetato de etilo (75mL) y la fase orgánica se separa por un embudo de separación, se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentra a vacío. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando como sistema eluente una mezcla de acetato de etilo/hexano.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 11. Reacción General y Ensayos de Bioreducción con *S. cerevisiae*

Reacción General:			
 <p><math>R_1 = -OEt; -OH; H; -CH_3</math></p> <p><math>R_2 = </math>; <math>N_3; H</math></p> <p><math>R_3 = H; 3,4(-O-CH_2-O-); -N(CH_3)_2; 2,3-(OMe)_2; 2,4-(Cl)_2</math></p>			
Ensayo	Sustrato	Producto	Condiciones de Bioreducción
1	 25a	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 24h.
2	 25a	-	0.8mmol/20g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
3	 25b	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
4	 25c	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
5	 25d	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.





## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo	Sustrato	Producto	Condiciones de Bioreducción
6	 25e	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
7	 31	-	0.4mmol/20g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
8	 23a	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
9	 34	 20% 35	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 48h.
10	 36	 50% 41	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 48h.
11	 38	 50% 42  10% 26	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
12	 20% 35	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
13	 50% 41	-	0.4mmol/10g ( <i>S. cerevisiae</i> tipo 2) H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

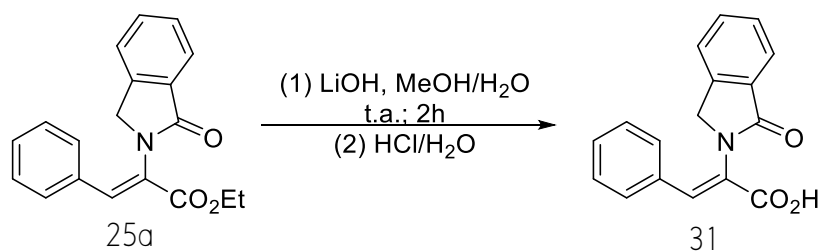
Ensayo	Sustrato	Producto	Condiciones de Biorreducción
<b>14</b>	 42	-	0.4mmol/10g (42/ <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
<b>15</b>	 44	-	0.4mmol/10g (44/ <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), H <sub>2</sub> O, Glucosa, 30°C, 7 días.
16	 44	-	0.4mmol/10g (44/ <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), Tolueno (50mL), H <sub>2</sub> O (2mL), 30°C, 2 días.
17	 44	 <b>45</b>	0.4mmol/4g (44/ <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), Amberlita XAD-7 (1g), H <sub>2</sub> O, 30°C, 4 días.
<b>18</b>	 <b>23a</b>	-	0.4mmol/4g (23a/ <i>S. cerevisiae</i> tipo 2), Amberlita XAD-7 (1g), H <sub>2</sub> O, 30°C, 4 días.

Los resultados para este paso de biorreducción fueron limitados, observando que en ninguno de los derivados se observó la formación del producto de reducción deseado (ver Tabla 11).

Los informes en la literatura indican que el proceso de biorreducción de un sistema  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado utilizando a la *S. Cerevisiae* se ve favorecido con la presencia de grupos electroattractores,<sup>39</sup> sin embargo, la reacción de reducción bajo estas condiciones de los derivados de las isoindolonas no fue factible, esta inactividad se atribuye principalmente al grupo éster, que a pesar de ser el principal grupo electroattractor del enlace doble carbono-carbono este grupo funcional no se considera un agente activador de acuerdo con lo reportado en la literatura.<sup>40</sup> Para tratar de lograr realizar la reducción se planteó el cambio del grupo electroattractor del sistema  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado como se muestra en el Esquema 8.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Esquema 8. Reacción de hidrólisis del grupo éster.

Para mejorar la reactividad del derivado de la isoindolona 25a, se decidió llevar a cabo su hidrólisis del éster al correspondiente ácido carboxílico 31, utilizando hidróxido de litio como reactivo en metanol/agua como sistema de disolventes; esperando que el cambio en su naturaleza química aumente su afinidad con el medio en el cual se realiza y por tanto procurar una mayor actividad de la *S. cerevisiae* sobre el sustrato (ver Esquema 8).

El nuevo derivado de isoindolona debidamente funcionalizado con un grupo ácido carboxílico 31 obtenido en buen rendimiento (90%) fue sometido a las condiciones de reducción de *S. cerevisiae*, sin embargo, después de una semana, no se observó cambio alguno en el material de partida, el cual fue recuperado del seno de la reacción y caracterizado como la isoindolona 31 (Tabla 11, ensayo 7).

Debido a que los derivados de azidoacrilatos 23 presentan una mayor similitud con las estructuras de los compuestos utilizados en este tipo de reacciones de reducción enzimática y gracias también a la falta de reactividad de los derivados de las isoindolonas, se planteó la utilización de los intermediarios azida como objetivo de estudio para la obtención de los compuestos de reducción. De esta manera, el compuesto 23a, se hizo reaccionar bajo las condiciones de reacción anteriormente informadas; Levadura *S. Cerevisiae*, agua, glucosa, 30°C por 7 días. Desafortunadamente, los resultados no muestran ninguna conversión del material de partida, es decir, se recuperó el azidoacrilato 23a sin cambio alguno (ver Tabla 11, ensayo 8).



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

Debido a la falta de resultados en la reacción de reducción de los derivados de las isoindolonas, así como en los azidoacrilatos, se decidió poner a prueba la capacidad reductora de la levadura en otro compuesto insaturado cuyo grupo funcional sea parecido a los reportados en la literatura. El cinamaldehído (34) fue el reactivo elegido para realizar un nuevo ensayo de reducción con levadura como se muestra en la Tabla 11 ensayo 9.

La reacción del cinamaldehído en presencia de la levadura presentó un cambio significativo a las 48 horas, observando a través de ccf la formación de un solo producto, el cual fue tratado y purificado, para posteriormente ser caracterizado. El compuesto obtenido se analizó por RMN  $^1\text{H}$ , observando la aparición de las señales correspondientes a los hidrógenos vinílicos cada uno como señales dobles y doble de doble, en 6.37 y 6.62 ppm, indicio de que la reacción no procedió para dar el producto esperado derivado de la reducción del doble enlace. Por otra parte, la aparición de una señal en 3.68 ppm que integra para dos hidrógenos y que corresponde a un carbono de un alcohol, es evidencia de la reducción del grupo carbonilo.

Por su parte en el espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , se observan las señales de los carbonos vinílicos en 127 ppm y 131 ppm, así como la señal del metileno unido al hidroxilo en 63.2 ppm y la ausencia de la señal del grupo carbonilo del aldehído (ver Anexos).

De manera general, estos resultados hacen referencia a una reducción parcial de la molécula de cinamaldehído donde el doble enlace  $\text{C}=\text{O}$  fue reducido por la levadura *S. cerevisiae* a un alcohol primario ( $\text{R}-\text{CH}_2-\text{OH}$ ), mientras que el enlace doble  $\text{C}=\text{C}$  no fue afectado.

Consecuentemente, este resultado confirma la actividad de reducción existente en el uso de células enteras de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*); sin embargo, también se observó que el cinamaldehído no es el sustrato indicado para el propósito de este proyecto que es la reducción del enlace doble  $\text{C}=\text{C}$ .

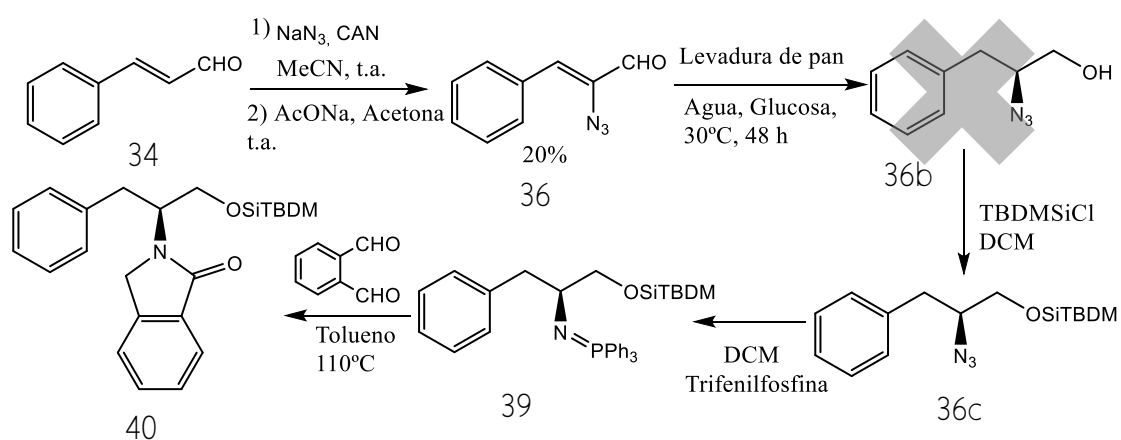
En este sentido, los informes en la literatura muestran que los derivados  $\alpha$ ,  $\beta$ -sustituidos con bromo o el grupo azida sobre el cinamaldehído, sufren un proceso de reducción a los respectivos arilpropanoles, a través del uso de la levadura *S. cerevisiae*, por lo cual, en función a estos informes, se decidió plantear una nueva estrategia o ruta alternativa y la



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

cuál se muestra en el Esquema 9. El punto clave para el logro de esta estrategia, es la obtención del derivado 36, el cual se reduciría al derivado 36b.

Al realizar la reacción de adición del grupo azida en posición alfa al carbonilo de la molécula 34 siguiendo la metodología propuesta del Esquema 9, el producto 36 se produjo en un rendimiento de 20%, resultado que debe suponerse a la alta reactividad del grupo carbonilo de aldehído y a la recuperación de la materia prima en un 50 %. Como información adicional, este tipo de reacción se realizó sobre sustratos donde el grupo carbonilo activante es derivado de un éster, amida o cetona,<sup>41</sup> no encontrando información sobre el uso del grupo carbonilo de aldehído como activador en este tipo de procesos.



Esquema 9. Ruta alternativa para la formación de intermediarios de isoindolona a partir de cinamaldehído.

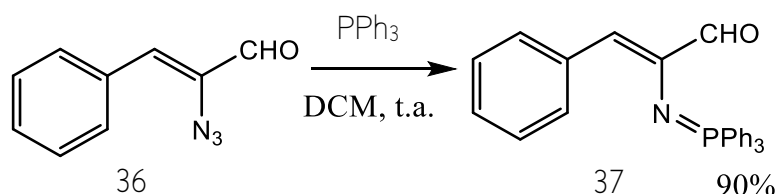
Una vez aislado el derivado 36, se llevó a cabo su reacción de biorreducción utilizando la levadura *S. cerevisiae*, obteniendo como producto mayoritario al alcohol alílico 41, en un 50% de rendimiento (ver Tabla 11, ensayo 10), sin embargo, no se obtuvo el producto deseado 36b, por lo cual la estrategia planteada en el Esquema 9, no fue posible de finalizar con éxito.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos de la reactividad de los sustratos en el proceso de biorreducción, donde se observó una gran reactividad del grupo funcional carbonilo de aldehído hacia la reducción al alcohol saturado, se planteó el uso de este grupo carbonilo de aldehído en una molécula que además contuviera otro grupo carbonilo que dirigiera la reacción solo a la reducción del grupo alqueno, se analizaron las opciones, encontrando que el mejor sustrato es la correspondiente a la isoindolona, que contiene al grupo carbonilo de amida, pero además conteniendo al grupo carbonilo de aldehído.

El inicio hacia la formación del producto reducido de isoindolona 26, comenzó con la utilización del intermediario vinilazida 36; compuesto formado anteriormente en este estudio (ver Esquema 10), el cual se hizo reaccionar con trifenilfosfina en diclorometano, para formar el correspondiente intermediario iminofosforano. Es conocido de la literatura que los iminofosforanos reaccionan rápidamente con derivados carbonilo de aldehídos y cetonas, el derivado iminofosforano 37, se obtuvo como el único producto de la reacción, sin la formación de subproductos (ver Esquema 10). La obtención de un único compuesto en esta reacción se atribuye a la temperatura utilizada en el proceso, que fue la temperatura ambiente; y que acuerdo con lo descrito en la literatura,<sup>21</sup> la interacción del iminofosforano con los grupos carbonilos requiere de altas temperaturas.



Esquema 10. Reacción de Staudinger del intermediario de vinil azida 36.

La síntesis del intermediario isoindolona 38 se llevó a cabo utilizando la misma estrategia antes citada para los derivados 25 (Tabla 9). Teniendo en cuenta la presencia del grupo carbonilo de aldehído presente en el mismo intermediario iminofosforano, se utilizaron dos equivalentes de ftalaldehído, con la intención de aumentar el rendimiento de la isoindolona, debido a que el proceso llevado a cabo a una alta temperatura (110°C), podría generar la aparición de varios subproductos de reacción. Los resultados obtenidos



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

después de llevada a cabo la reacción, muestran la formación correspondiente de la isoindolona 38 en un 50% de rendimiento; asimismo, puede observarse a través de la ccf, la formación de varios subproductos debido posiblemente a la competencia en la reactividad de los grupos aldehídos presentes.

Una vez preparado el intermediario isoindolona 38, se decidió realizar la reacción de biorreducción correspondiente. Las condiciones de reacción se observan en la Tabla 11, ensayo 11, para lo cual el compuesto 38 se colocó en un medio acuoso en presencia de la levadura y glucosa, después de un tiempo de reacción de siete días, se observó la desaparición total del material de partida y la formación de dos productos mayoritarios.

Después de realizar la caracterización de los dos derivados obtenidos, a partir de la espectroscopia de IR y RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se encontró que uno de los compuestos formados es el alcohol alílico 42 que corresponde al producto mayoritario (50%), y el segundo derivado es el producto de reducción total del sistema  $\alpha, \beta$ -insaturado 26, produciendo un alcohol saturado en la cadena que lo soporta y que corresponde al producto minoritario (10%) (ver Tabla 11, ensayo 11).

El seguimiento de la reacción por cromatografía en placa fina de la prueba de biorreducción de la Tabla 11, ensayo 11, reveló que la materia prima presentó un consumo total hasta los siete días de reacción, este resultado es semejante al experimento llevado a cabo con la molécula de cinamaldehído (Tabla 11, ensayo 9), donde ambos compuestos mostraron la formación de un alcohol alílico como producto principal. Al mismo tiempo, en el ensayo 11, se observó que el consumo de la materia prima fue más lento y requirió de más tiempo para llevarse a cabo en su totalidad, no obstante, se obtuvo un alcohol insaturado (42) cuyo rendimiento representó el producto principal de la reacción.

Estos ensayos hacen constar la alta reactividad del grupo carbonilo del aldehído en el medio de reducción con *S. cerevisiae*, sin embargo, esta reactividad trae como consecuencia que cuando el grupo carbonilo es reducido en primer lugar, ya no se observa algún otro cambio importante en la reacción ya que, de acuerdo con lo descrito en la literatura, la presencia del grupo electroatractor es importante para la reducción del enlace doble. Por tanto, el alcohol alílico formado en las reacciones de biorreducción (Tabla 11, ensayos 9, 10, 11) no posee actividad posterior en las pruebas de biorreducción.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

Para corroborar la afirmación anterior, fue necesario realizar los ensayos correspondientes, de esta manera, cada uno de los alcoholes alílicos obtenidos en las pruebas de biorreducción, se sometieron a las mismas condiciones de reacción con prolongados periodos de tiempo. Sin embargo, no se obtuvo un resultado positivo en cualquiera de las pruebas llevadas a cabo. Con base en estas observaciones se determinó que el alcohol alílico no tiene actividad con la levadura (*S. cerevisiae*) y que, por tanto, no puede ser considerado un agente activador o intermediario en la reducción del enlace doble C=C (Tabla 11, ensayos 12, 13, 14).

Dando seguimiento a la elucidación de los productos de isoindolona 42 y 26, el aspecto principal en RMN <sup>1</sup>H que permitió su distinción fue la aparición de una señal simple en 6.64 ppm que indica la aparición del H vinílico (H5) de la molécula insaturada 42, y cuya señal está ausente en el espectro de RMN <sup>1</sup>H de la molécula 26 y que además éste muestra una señal múltiple entre 2.96 y 3.20 ppm correspondientes a la formación de los H bencílicos (H5) para la molécula saturada 26. Por su parte, en el espectro de RMN <sup>13</sup>C de 26, se aprecia la formación de las señales de los carbonos C5 y C6 en 35.37ppm y 57.23ppm respectivamente, demostrándose de esta forma la obtención de un compuesto reducido C=C.

Los estudios de IR y Masas (EI), refuerzan la obtención de los productos 42 y 26, donde es importante destacar que en ambos compuestos se comprueba la aparición de la señal en 3300 cm<sup>-1</sup> del alcohol en el caso de los espectros de IR (ver anexos, Espectros 79 y 83) y el peso molecular corresponde a los presentados en los espectros de Masas 80 y 84.

Para la elucidación correcta de la estructura también se realizaron experimentos de DEPT 90 y 135, así como de pruebas de correlación HSQC y HMBC. De acuerdo con el espectro de DEPT-90 (Espectro 86, ver anexos) se aprecia una señal en 57.21 ppm que pertenece al único átomo de carbono de tipo -CH (C-6) de la estructura saturada 26, cuyo átomo es resultado de la reducción del enlace doble C=C. Por otro lado, en el espectro de HSQC, se puede observar una relación precisa entre los respectivos hidrógenos y carbonos; H5-C5, H6-C6, H7-C7, H9-C9. Dentro de la misma figura se halla el espectro de DEPT-135 (Eje Y) donde se pueden identificar los carbonos de tipo -CH<sub>2</sub> presentes en la molécula 26 como C-5, C-7 y C-9 como las únicas señales negativas (Figura 5).





## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

El experimento de HMBC aporta más pruebas de la existencia de un enlace saturado entre los carbonos C-5 y C-6. Por ejemplo, se observan señales de la correlación entre el H6 a átomos de carbonos cercanos como C5, C6, C7, y hasta átomos de carbono aromáticos como C3 y C4, que es posible observarlos al tratarse de sistemas conjugados (ver anexos, Espectro 89b).

De manera conjunta, para conocer de manera cualitativa si el compuesto de isoindolona 26 presentaba un exceso enantiomérico general, se tomó una pequeña muestra del compuesto en forma de cristal y se colocó en un portaobjetos para analizarlo en un microscopio de haz de luz polarizada. Para tener un resultado positivo en la prueba, se esperaba que la mayoría de los pequeños cristales que se observaban por la lente del microscopio presentaran característica anisotrópica, es decir, un brillo multicolor. Sin embargo, en este estudio los cristales analizados no presentaron la característica anisotrópica esperada (Figura 6), por lo que se estima que el producto de isoindolona 26 obtenido es racémico y que la reacción de biorreducción no procedió de forma estereoselectiva.

La falta de eficiencia por parte de las células de *S. cerevisiae* contenida en la levadura hacia el sustrato 38 (Tabla 11, ensayo 11) para producir un compuesto con exceso enantiomérico, implica factores como el tamaño del sustrato y toxicidad. En el primer caso, no hay evidencia en la literatura en donde la biorreducción de un enlace doble C=C involucre una estructura voluminosa secundaria como la isoindolona, es decir, en este tipo de **reacciones destacan compuestos que tienen en la posición  $\alpha$  al grupo electroatractor grupos alquilo de entre 1 y 2 átomos de carbono de longitud**, estos a su vez, han sido reportados como los sustituyentes con mayor afinidad para las células de *S. cerevisiae*.<sup>34</sup>



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

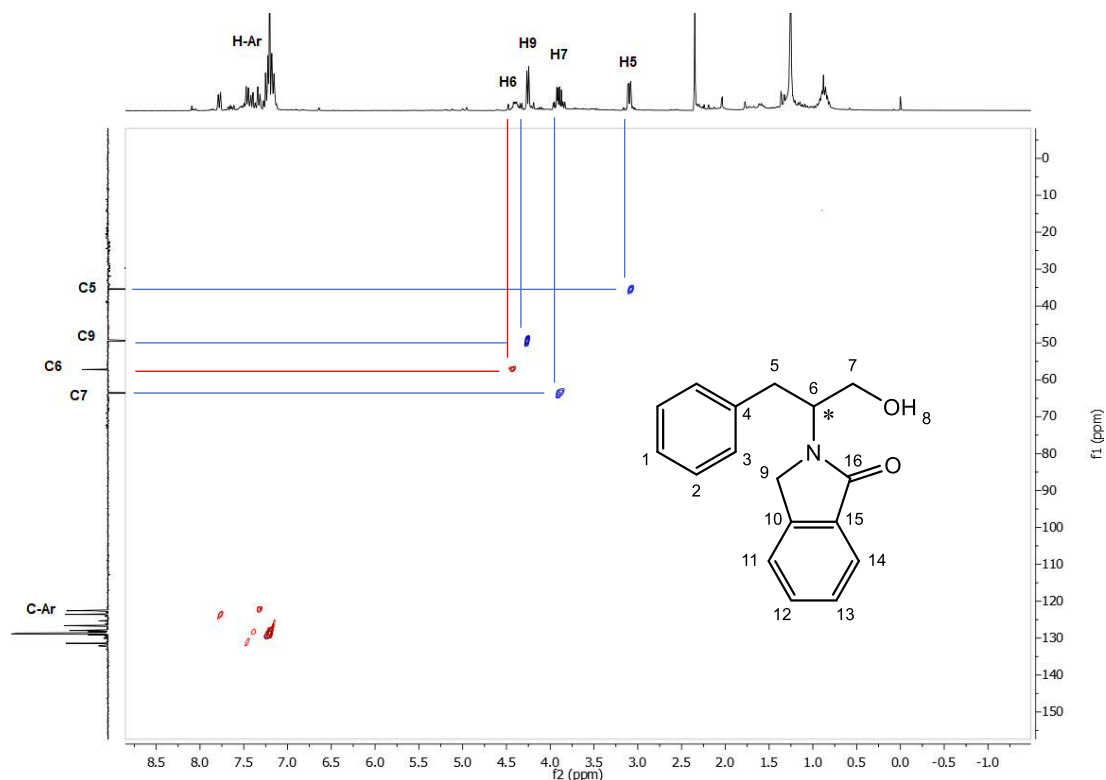


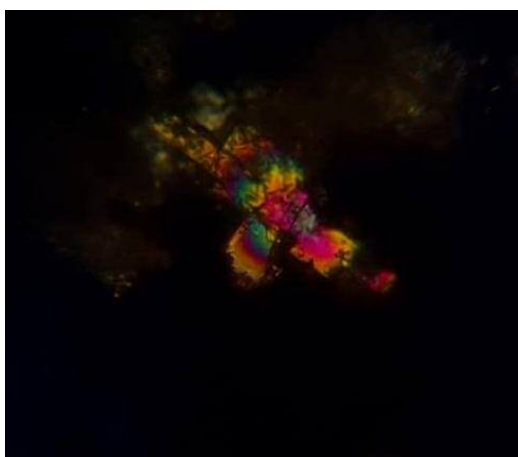
Figura 5. Espectro de HSQC del compuesto 26.

En segundo lugar, existen reportes donde se menciona que algunos sustratos empleados para la biorreducción presentan algún grado de toxicidad para la célula *S. cerevisiae*. Esta toxicidad se ve reflejada en una inhibición parcial o total de la reacción, obteniéndose bajos rendimientos y ausencia de actividad enzimática. Además, no existe una lista específica donde se esclarezca los grupos funcionales o estructuras exactas que mencione a los sustratos que provoquen toxicidad a este mecanismo enzimático.<sup>39</sup>

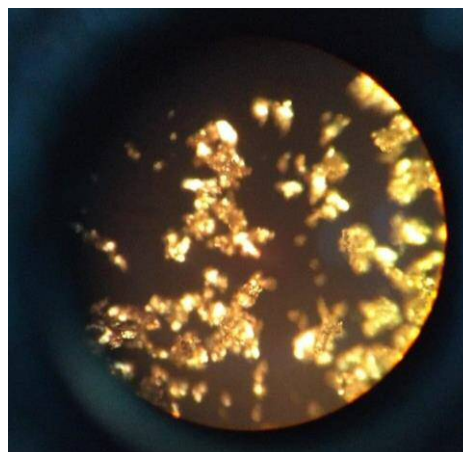


## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---



a) Ejemplo de cristal anisótropo (ópticamente activo)



b) Cristales isotrópicos de la isoindolona 26 (racémico).

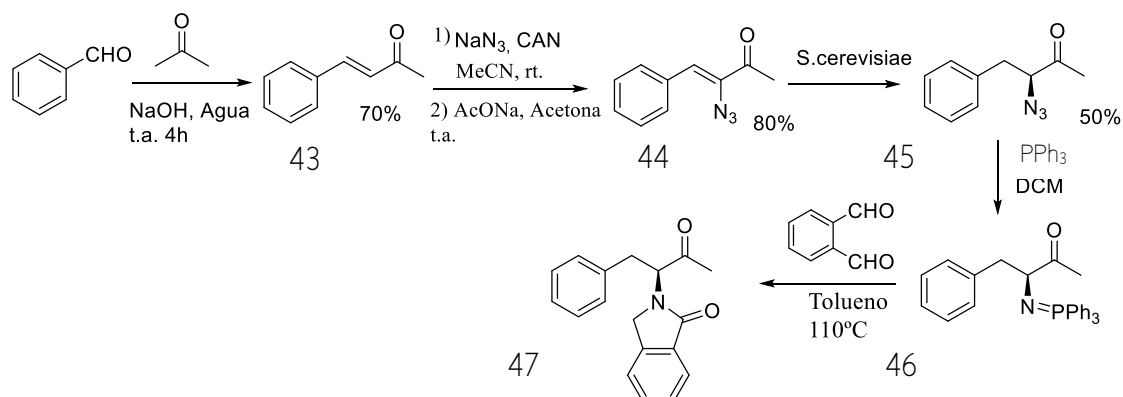
Figura 6. Comparación de cristales anisotrópicos ópticamente activos (a)<sup>43</sup>, y Cristales isotrópicos de la isoindolona 26 obtenida (racémico).

Con el propósito de completar este estudio, se llevó a cabo la síntesis de un compuesto **derivado  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado** diferente a los utilizados en las pruebas de biorreducción de la Tabla 11, ensayos 1–14 y que, de acuerdo con lo reportado en la literatura,<sup>37</sup> corresponden a reconocidos sustratos que pueden ser empleados para la biorreducción del enlace doble con *S. cerevisiae*. La síntesis del compuesto (Z)-3-azido-4-fenil-3-buten-2-ona 44 se puede ver en el Esquema 11 y sus pruebas de biorreducción correspondientes se aprecian en la Tabla 11, ensayos 15–18.

Las condiciones normales de biorreducción aplicadas al sustrato 44 no formaron el producto saturado esperado 45 (Tabla 11, ensayo 15), sin embargo, en los ensayos siguientes se modificaron las condiciones de biorreducción con aquellas reportadas recientemente con éxito en la literatura.<sup>34</sup> Se realizó un nuevo ensayo considerando la existencia de una fase orgánica en el medio de biorreducción, para tal caso, se eligió al tolueno como el solvente principal<sup>44</sup> (Tabla 11, ensayo 16). De igual forma, el sustrato 44 se recuperó intacto después de su extracción, el tiempo de reacción es más corto en este ensayo por la insolubilidad de la levadura *S. cerevisiae* en el medio orgánico impidiendo la agitación de la reacción de forma continua.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Esquema 11. Ruta sintética para la formación de intermediarios de isoindolona a partir de benzaldehído.

Cuando 0.2 mmol del sustrato 44 se soportó en 1g de Amberlita XAD-7 y este se adicionó a un medio de biorreducción preparado con anticipación, se observó por ccf el consumo total del sustrato 44 para producir como producto principal al compuesto reducido 45 en un 50% de rendimiento (Tabla 11, ensayo 17). La reducción del enlace doble del intermediario 44 puede apreciarse al comparar los espectros de RMN<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C con los obtenidos del producto 45 después de llevar a cabo su aislamiento (ver Anexos).

La aparición de una señal múltiple entre 2.8 y 3.1 ppm son evidencia de hidrógenos bencílicos enantiotópicos, así como la señal triple en 4 ppm que indica el spin del H en posición alfa al carbonilo del compuesto 45. Los espectros de RMN <sup>13</sup>C, DEPT 90 y 135 presentan mayor evidencia de lo expuesto con anterioridad. En primer lugar, el espectro de RMN <sup>13</sup>C del producto 45 muestra la señal del grupo carbonilo (C=O) en 205 ppm, indicando entonces que la biorreducción realizada sobre el sustrato 44 actuó específicamente sobre el enlace doble carbono-carbono. Los estudios de DEPT de la molécula 45 revela resultados contundentes al observar de forma cualitativa las señales positivas de los carbonos C-6, C-8 y como única señal negativa C-5 en el espectro DEPT 135. Al mismo tiempo, el espectro de IR presenta la banda característica en 2100 cm<sup>-1</sup> del grupo azida y en 1723 cm<sup>-1</sup> correspondientes al grupo carbonilo (ver Anexos). Con la formación del intermediario de reducción 45, se plantea también que este compuesto



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

puede servir como sustrato principal para la formación del compuesto de isoindolona 47 a través de la ruta sintética propuesta en el Esquema 11.

De acuerdo con la literatura,<sup>34</sup> el aditivo de Amberlita XAD-7 que soporta al sustrato en la reacción de biorreducción, disminuye la cantidad del sustrato disuelto en el medio acuoso y de esta forma se reduce el factor de toxicidad que puede tener el sustrato sobre la célula favoreciendo al mismo tiempo la actividad enzimática de las levaduras de *S. cerevisiae* **en el sistema  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado**.

Con la información anterior, se realizó una prueba adicional utilizando el aditivo de Amberlita XAD-7 **sobre el sistema  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado 23a**, sin embargo, el sustrato fue recuperado sin alteraciones después de 4 días de reacción, reafirmando así, la falta de actividad del grupo funcional éster en las pruebas de biorreducción.



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Los reactivos utilizados fueron adquiridos de la compañía UAEM-UNAM.

La determinación de los puntos de fusión se realizó en un aparato Melt-Temp y se informan sin corrección.

Los espectros de masas (EM) de baja resolución se obtuvieron de un equipo JEOLJMS-SX-102-A por impacto electrónico a 70 e.V.

La cromatografía en capa fina se desarrolló en cromatofolios de sílica gel ALUGRAM® SILG/UV 254 y se revelaron con luz ultravioleta proveniente de una lámpara de luz UV Mineralight. La purificación de los compuestos se realizó por cromatografía en columna utilizando como soporte gel de sílice malla 230-400.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de Hidrógeno (RMN  $^1\text{H}$ ) a 300 MHz y de carbono 13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) a 125.7 MHz se determinaron en un espectrómetro VARIANINOVA 300MHz. **Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están dados en partes por millón (ppm) y se utilizó como disolvente cloroformo deuterado, cuya señal se ajustó a 77.16 de acuerdo con lo estipulado en la literatura.**

Se utilizó un microscopio de luz de haz polarizada marca Carl Zeiss®, modelo K-7 incorporado con filtro de polarización primario, polarizador analizador con aumentos de X10 y X40 y binoculares CPLW, con el objetivo de hallar compuestos con características anisotrópicas.

El significado de las claves para la interpretación de los espectros de RMN  $^1\text{H}$  es el siguiente:

s = señal simple

d = señal doble



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

da = señal doble ancha

t = señal triple

q = señal cuádruple

dd = señal doble de doble

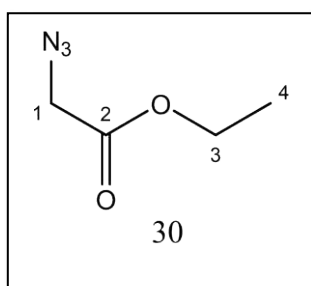
ddd = señal doble de doble de doble

m = señal múltiple.

### 6.1 Metodología

#### A. Obtención de azido acetato de etilo

En un matraz de fondo redondo de 250 mL, acondicionado de agitación magnética y atmósfera de nitrógeno, se colocaron 9.5 g (146.15 mmol) de azida de sodio, se agregaron con jeringa 16 mL (146.15 mmol) de bromoacetato de etilo en campana de extracción y 25 mL de acetonitrilo anhidro y se agitó a temperatura ambiente por 48 horas. Pasado este tiempo, el producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 15 mL) y la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La mezcla se filtró y evaporó en un rotavapor y después se realizó una destilación del compuesto utilizando calentamiento no mayor a 100°C y vacío.



RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 4.26 (q,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 3.87 (s, 2H), 1.32 (t,  $J = 7.2$ , Hz, 3H).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### B. Obtención de los derivados de (Z)-etil-2-azido-3-fenilacrilato

#### Método General

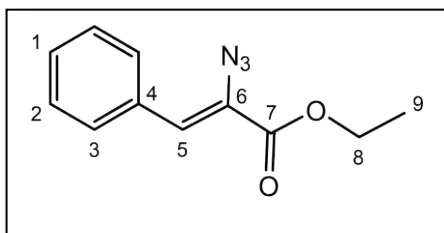
En un matraz redondo de 100 mL, acondicionado con embudo de adición, agitación magnética y atmósfera de nitrógeno, se disuelven 6 equivalentes de sodio previamente lavado en hexano seco. La mezcla se deja agitar por 5 minutos a temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$ . En un vaso de precipitado de 25 mL se disuelven 1 equivalente de un derivado de benzaldehído junto con 6 equivalentes de azido acetato de etilo en 5 mL de etanol anhidro, la mezcla se vierte en el embudo de adición y se agrega gota a gota durante 1 hora. La reacción es monitoreada por extracción de alícuotas y análisis por cromatografía en capa fina. Al término de la reacción, se agregaron 30 mL de una solución saturada de  $\text{NH}_4^+\text{Cl}^-$ , se realizaron extracciones con acetato de etilo ( $3 \times 15$  mL) y la fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, posteriormente se filtró y evaporó en un rotavapor. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna empleando gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hexano/AcOEt (7:3).





## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-Etil-2-azido-3-fenilacrilato (23a)



23a

Siguiendo el método general, se hicieron reaccionar 0.2 g (1.88 mmol) de benzaldehído y 1.46 g (11.3 mmol, 0.96 mL) de azidoacetato de etilo disuelto en 5 mL de etanol anhidro, obteniéndose 0.306 g (75%) del derivado de vinil azida 23a como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>** = 0.71 (Hexano/AcOEt 9:1)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm):  $\delta$  7.81 (dd,  $J$  = 6.5, 1.9 Hz, 2H), 7.44 – 7.29 (m, 3H), 6.91 (s, 1H), 4.37 (q,  $J$  = 7.2 Hz, 2H), 1.40 (t,  $J$  = 7.2 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 163.55 (C-7), 133.22 (C-4), 130.57 (C-6), 129.75 (C-1), 128.44 (C-5), 126.48 (C-2), 125.33 (C-3), 62.28, (C-8), 14.03 (C-9).

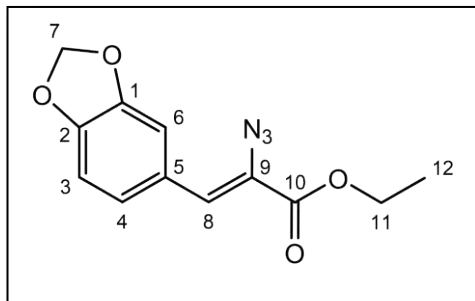
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3063, 3025, 2982, 2937, 2113, 1708, 1617, 1492, 1464, 1447, 1375, 1324, 1305, 1239.

MS [E<sup>+</sup>]  $m/z$  (%): 217 (M<sup>+</sup>), 118 (84), 105 (50), 88 (56), 77 (43), 63 (100), 51 (48), 39 (74).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-Etil-2-azido-3-(benzo[3,4]dioximetilen-5-il) acrilato (23b)



23b

Siguiendo el método general, se hicieron reaccionar 0.2 g (1.33 mmol) de 3,4-dioximetilen benzaldehído y 1.032 g (8 mmol, 0.68 mL) de azidoacetato de etilo disuelto en 5 mL de etanol anhidro, obteniéndose 0.264 g (76%) del derivado de vinil azida 23b como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.42 (Hexano/AcOEt 95:5)

PF= 38 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.57 (s, 1H), 7.19 (dq, *J* = 8.1, 1.9 Hz, 1H), 6.88 – 6.77 (m, 2H), 6.01 (s, 2H), 4.36 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163.68 (C-10), 148.59 (C-2), 147.76 (C-1), 127.59 (C-9), 126.45 (C-8), 125.32 (C-5), 120.45 (C-4), 108.31 (C-6), 106.69 (C-3), 101.47 (C-7), 62.15 (C-11), 14.05 (C-12).

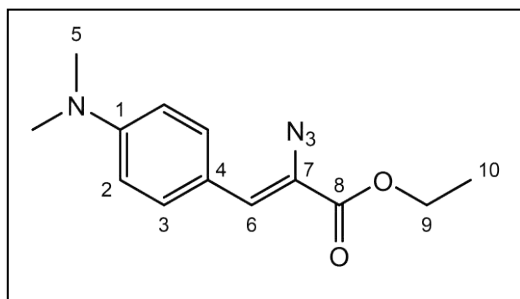
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 2955, 2923, 2872, 2855, 2784, 2105, 1696, 1618, 1599, 1490, 1447, 1380, 1260, 1233.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 261 (M<sup>+</sup>), 233 (38), 187 (25), 161 (100), 130 (30), 102 (69), 76 (66), 51 (40).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-Etil-2-azido-3-(4-(dimetilamino)fenil)acrilato (23c)



23c

Seguendo el método general, se hicieron reaccionar 0.4 g (2.68 mmol) de 4-dimetilamino benzaldehído y 2.07 g (16 mmol, 1.38 mL) de azidoacetato de etilo disuelto en 5 mL de etanol anhidro, obteniéndose 0.425 g (61%) del derivado de vinil azida 23c como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.37 (Hexano/AcOEt 9:1)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.81 – 7.71 (d, 2H), 6.89 (s, 1H), 6.73 – 6.62 (d, 2H), 4.34 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.03 (s, 6H), 1.39 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 165.13 (C-8), 151.73 (C-1), 131.49 (C-7), 130.39 (C-3), 129.80 (C-6), 126.93 (C-4), 110.58 (C-2), 60.84 (C-9), 39.18 (C-5), 13.41 (C-10).

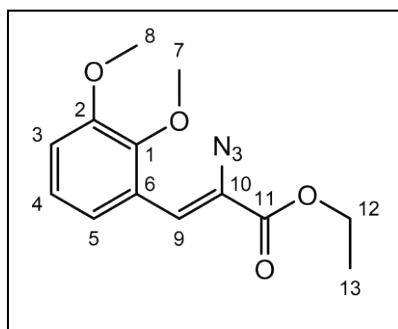
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 2980, 2902, 2853, 2803, 2112, 1696, 1592, 1522, 1360, 1326, 1254, 1230, 1187, 1165.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 260 (M<sup>+</sup>), 232 (40), 186 (30), 158 (100), 143 (96), 116 (45), 89 (35).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-Etil-2-azido-3-(2,3-dimetoxifenil)acrilato (23d)



23d

Siguiendo el método general, se hicieron reaccionar 0.8 g (4.81 mmol) de 2,3-dimetoxi benzaldehído y 2.48 g (19.26 mmol, 1.65 mL) de azidoacetato de etilo disuelto en 5 mL de etanol anhidro, obteniéndose 0.532 g (40%) del derivado de vinil azida 23d como un aceite incoloro.

**R<sub>f</sub>**= 0.32 (Hexano/AcOEt 9:1)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.81 (dd, *J* = 8.0, 1.5 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.09 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.92 (dd, *J* = 8.2, 1.4 Hz, 1H), 4.39 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.86 (d, *J* = 10.5 Hz, 6H), 1.41 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

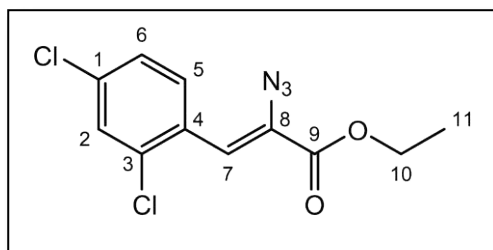
RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 165.77 (C-11), 152.54 (C-2), 145.47 (C-1), 134.80 (C-10), 131.0 (C-6), 128.08 (C-5), 127.97 (C-9), 124.32 (C-4), 114.20 (C-3), 61.91 (C-8), 61.56 (C-7), 55.95 (C-12), 13.93 (C-13).

MS [E<sup>+</sup>] *m/z* (%): 277 (M<sup>+</sup>), 199 (15), 183 (13), 152 (10), 91 (100), 77 (32).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)etil-2-azido-3-(2,4-diclorofenil)acrilato (23e)



23e

Siguiendo el método general, se hicieron reaccionar 0.2 g (1.14 mmol) de 2,4-dicloro benzaldehído y 0.88 g (6.85 mmol, 0.58 mL) de azidoacetato de etilo disuelto en 5 mL de etanol anhidro, obteniéndose 0.114 g (35%) del derivado de vinil azida 23e como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.77 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 65 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.74 (s, 1H), 7.67 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.52 – 7.44 (m, 2H), 4.35 (q, *J* = 8.0 Hz, 2H), 1.12 (t, *J* = 8.0 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 163.08 (C-9), 135.28 (C-4), 132.40 (C-1), 131.77 (C-3), 129.82 (C-8), 129.48 (C-5), 127.01 (C-6), 126.97 (C-2), 119.07 (C-7), 62.62 (C-10), 14.20 (C-11).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3088, 2981, 2924, 2853, 2118, 1708, 1614, 1581, 1547, 1465, 1379, 1300, 1267, 1247, 1199.

MS [E<sup>+</sup>] *m/z* (%): 285 (M<sup>+</sup>), 185 (100), 173 (17), 157 (29), 149 (55), 114 (64), 87(30).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### C. Obtención de los derivados de (Z)-Etil-3-fenil-2-fosfanilidienaminoacrilatos

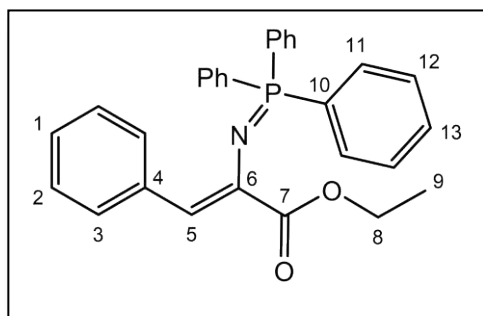
#### Método General

En un matraz redondo de 50 mL provisto de agitación magnética, se disolvieron un equivalente de la (Z)-etil-2-azido-3-fenilacrilato (23a-e) correspondiente y un equivalente de trifenilfosfina en 20mL de diclorometano. El matraz se dejó en agitación a temperatura ambiente por 8 horas. El fin de la reacción se determinó por cromatografía en capa fina. La mezcla se evaporó en un rotavapor y el crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hexano/AcOEt.



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-fenil-2-fosfanilidienaminoacrilato (24a)



24a

Usando el método general, se disolvieron 0.126 g (0.58 mmol) del derivado vinil azida 23a y 0.152 g (0.58 mmol) de trifetilfosfina en 20 mL de diclorometano, obteniéndose 0.247 g (95%) de 24a como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.13 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 130 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): δ 8.19 – 8.10 (m, 2H), 7.73 (ddt, *J* = 12.1, 6.6, 1.6 Hz, 6H), 7.53 – 7.31 (m, 9H), 7.27 (d, *J* = 7.6 Hz, 2H), 7.18 – 7.07 (m, 1H), 6.72 (s, 1H), 3.85 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.00 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 166.22 (C-7), 136.48 (C-4), 134.68 (C-11), 131.89 (C-13), 130.69 (C-1), 129.15 (C-3), 127.58 (C-5), 126.26 (C-2), 125.93 (C-12), 123.86 (C-10), 114.38 (C-6), 58.92 (C-8), 12.25 (C-9).

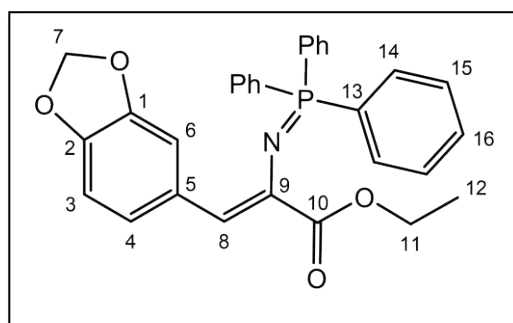
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3057, 2991, 2974, 1689, 1584, 1557, 1478, 1440, 1410, 1315, 1224, 1200, 1108.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 451 (M<sup>+</sup>), 394 (17), 262 (88), 201 (100), 183 (72), 116 (40), 108 (30), 89 (15).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(benzo[1,2]dioxometilen-5-il)-2-fosfanilidienaminoacrilato (24b)



24b

Usando el método general, se disolvieron 0.33 g (1.26 mmol) del derivado vinil azida 23b y 0.331 g (1.26 mmol) de trifenilfosfina en 20 mL de diclorometano, obteniéndose 0.563 g (90%) de 24b como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.13 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 130 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.78 – 7.65 (m, 6H), 7.50 – 7.37 (m, 10H), 7.26 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 6.72 (dt, J = 12.6, 5.2 Hz, 2H), 5.91 (s, 2H), 3.91 – 3.77 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 168.05 (C-10), 147.09 (C-2), 145.49 (C-1), 133.76 (C-14), 132.84 (C-16), 130.95 (C-5), 128.59 (C-8), 128.43 (C-15), 128.24 (C-4), 128.08 (C-13), 123.56 (C-9), 109.43 (C-6), 107.79 (C-3), 101.12 (C-7), 60.67 (C-11), 14.07 (C-12).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3063, 2956, 2924, 2778, 1726, 1674, 1603, 1585, 1501, 1483, 1438, 1405, 1266, 1217, 1183, 1108, 1037.

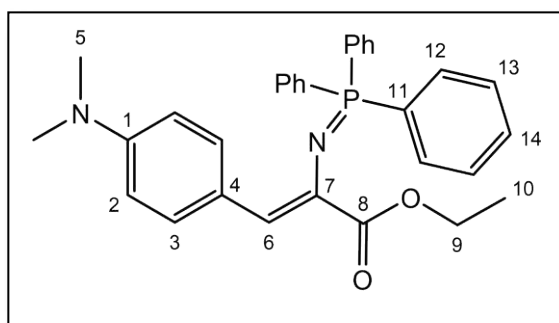
MS [EI<sup>+</sup>] m/z (%): 495 (M<sup>+</sup>), 438 (40), 262 (80), 211 (24), 201 (54), 183 (100), 160 (77), 108 (35), 77 (17).





## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(4-(dimetilamino)fenil)-2-fosfanilidienaminoacrilato (24c)



24c

Usando el método general, se disolvieron 0.18 g (0.69 mmol) del derivado vinil azida 23c y 0.181 g (0.69 mmol) de trifenilfosfina en 20 mL de diclorometano, obteniéndose 0.283 g (83%) de 24c como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.11 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 114 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) **δ** (ppm): 7.81 – 7.54 (m, 8H), 7.54 – 7.35 (m, 9H), 6.76 (s, 1H), 6.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 3.84 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.95 (s, 6H), 0.98 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) **δ** (ppm): 169.32 (C-8), 151.63 (C-1), 132.04 (C-12), 129.94 (C-14), 129.82 (C-3), 128.15 (C-6), 127.91 (C-13), 127.39 (C-4), 126.16 (C-11), 124.75 (C-7), 112.74 (C-2), 61.79 (C-9), 40.29 (C-5), 14.03 (C-10).

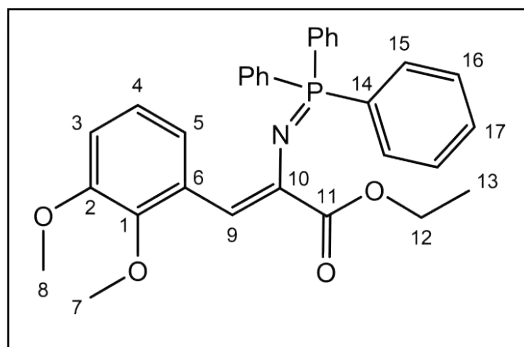
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3056, 2955, 2924, 2854, 2802, 1688, 1601, 1586, 1541, 1515, 1404, 1351, 1320, 1304.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 494 (M<sup>+</sup>), 277 (100), 210 (15), 183 (25), 159 (30), 77 (28).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(2,3-dimetoxifenil)-2-fosfanilidienaminoacrilato (24d)



24d

Usando el método general, se disolvieron 0.2 g (0.72 mmol) del derivado vinil azida 23d y 0.19 g (0.72 mmol) de trifenilfosfina en 20 mL de diclorometano, obteniéndose 0.294 g (80%) de 24d como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.3 (Hexano/AcOEt 9:1)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.77 – 7.70 (m, 6H), 7.52 – 7.35 (m, 10H), 7.04 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.95 (t, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.77 – 6.74 (m, 1H), 3.88 – 3.85 (m, 8H), 1.00 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

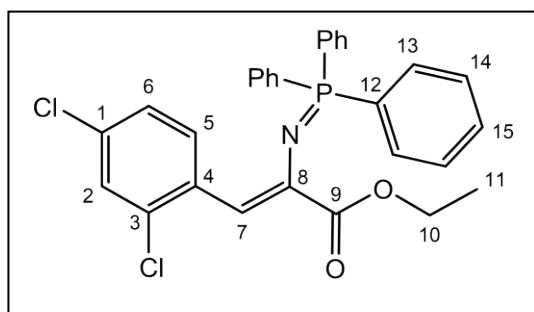
RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 160.05 (C-11), 152.70 (C-2), 145.50 (C-1), 134.60 (C-9), 134.20 (C-15), 132.52 (C-17), 132.40 (C-16), 130.94 (C-6), 128.22 (C-5), 128.06 (C-14), 123.10 (C-4), 123.03 (C-10), 110.12 (C-3), 60.94 (C-12), 60.75 (C-7), 55.93 (C-8), 14.05 (C-13).

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 511(M<sup>+</sup>), 468 (60), 277 (25), 262 (100), 201 (65), 183 (80), 108 (38).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(2,4-diclorofenil)-2-fosfanilidienaminoacrilato (24e)



24e

Usando el método general, se disolvieron 0.066 g (0.23 mmol) del derivado vinil azida 23e y 0.06 g (0.23 mmol) de trifenilfosfina en 20 mL de diclorometano, obteniéndose 0.09 g (75%) de 24e como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.25 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 128 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.73 – 7.67 (m, 6H), 7.46 (ddt, *J* = 10.8, 5.4, 2.6 Hz, 1H), 7.08 (dd, *J* = 8.7, 2.5 Hz, 1H), 6.95 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 3.88 (q, *J* = 7.2 Hz, 2H), 1.01 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 166.17 (C-9), 131.88 (C-7), 130.68 (C-1), 130.51 (C-13), 129.92 (C-15), 129.88 (C-2), 127.36 (C-5), 127.31 (C-4), 127.15 (C-6), 127.08 (C-14), 126.92 (C-12), 124.75 (C-8), 59.80 (C-10), 12.73 (C-11).

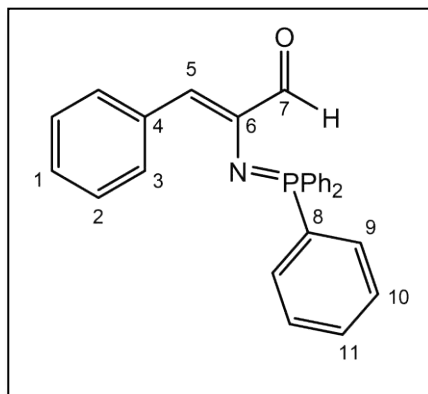
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3078, 3057, 2959, 2926, 2855, 1732, 1691, 1577, 1539, 1465, 1419, 1380, 1236.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 519 (M<sup>+</sup>), 262 (75), 201 (100), 183 (82), 108 (32).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 3-fenil-2-(trifenilfosfanilidienamino)acrilaldehído (37)



37

Usando el método general, una solución de 2-azido-3-fenilacrilaldehído 36 0.120g (0.7 mmol) en diclorometano (20 mL) se adicióno trifenilfosfina 0.180 g (0.7 mmol) y se agito por 8h a temperatura ambiente. Al término de la reacción la mezcla resultante se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 9:1) para obtener 0.25g (90%) de 37 como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.35 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 154 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): δ 9.10 (s, 1H), 8.34 – 8.26 (m, 2H), 7.75 (ddt, J = 12.0, 6.5, 1.7 Hz, 6H), 7.53 – 7.18 (m, 12H), 6.28 (s, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 192.39 (C-7), 137.74 (C-5), 132.83 (C-4), 132.35 (C-9), 132.18 (C-11), 130.93 (C-3), 130.89 (C-2), 129.62 (C-1), 128.59 (C-10), 128.43 (C-8), 127.12 (C-6).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3051, 2923, 2850, 2817, 1736, 1660, 1578, 1552, 1451, 1427.

MS [EI<sup>+</sup>] m/z (%): 407(M<sup>+</sup>), 378 (30), 277 (35), 262 (100), 183 (94), 108 (40), 91 (20), 77 (20).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### D. Obtención de derivados de (Z)-etil-2-(1-oxoisoindolin-2-il)-3-fenilacrilatos

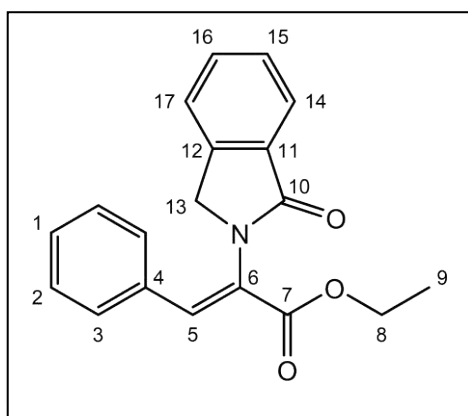
#### Método General

En un matraz de 50 mL provisto de agitación magnética se disolvieron un equivalente de (Z)-etil-3-fenil-2-fosfanilidienaminoacrilato (25a-e) correspondiente y un equivalente de ftalaldehído en 20 mL de tolueno. El matraz se colocó en un baño de arena y se calentó a 110°C por 48 horas. La reacción se monitoreó por cromatografía en capa fina, y una vez terminada, el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna usando como fase eluyente una mezcla de Hexano/Acetato distinta para cada producto.



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-2-(1-oxoisindolin-2-il)-3-fenilacrilato (25a)



25a

Usando el método general, se disolvieron 0.2 g (0.44 mmol) del derivado vinil iminofosforano 24a y 0.059 g (0.44 mmol) de ftalaldehído en 20 mL de tolueno, obteniéndose 0.114 g (84%) de 25a como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.05 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 110 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.94 (dd, *J* = 7.5, 1.3 Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.61 (td, *J* = 7.4, 1.3 Hz, 1H), 7.56 – 7.48 (m, 1H), 7.48 – 7.39 (m, 3H), 7.37 – 7.25 (m, 3H), 4.51 (s, 2H), 4.30 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.31 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 167.92 (C-10), 163.26 (C-7), 141.06 (C-12), 137.91 (C-6), 131.63 (C-4), 130.85 (C-11), 128.51 (C-3), 128.48 (C-1), 127.73 (C-2), 127.70 (C-16), 126.96 (C-15), 125.22 (C-17), 123.30 (C-14), 121.83 (C-5), 60.55 (C-8), 48.94 (C-13), 13.06 (C-9).

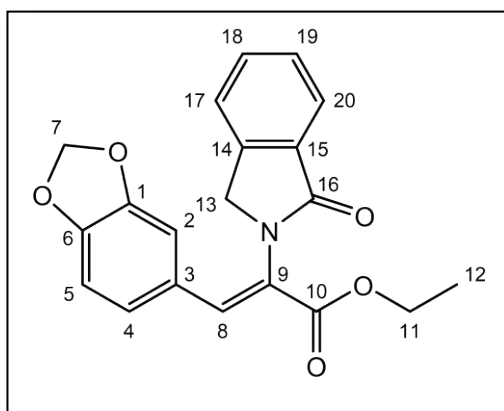
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3059, 2958, 2923, 2853, 1724, 1705, 1691, 1637, 1599, 1470, 1450, 1411, 1376.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 307(M<sup>+</sup>), 261 (52), 233 (100), 204 (36), 118 (37), 90 (88), 77 (12).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(benzo[1,2]dioxometilen-5-il)-2-(1-oxoisindolin-2-il)acrilato (25b)



25b

Usando el método general, se disolvieron 0.2 g (0.4 mmol) del derivado vinil iminofosforano 24b y 0.054 g (0.44 mmol) de ftalaldehido en 20 mL de tolueno, obteniéndose 0.117 g (83%) de 25b como un sólido rojo.

**R<sub>f</sub>**= 0.25 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 108 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 7.93 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.75 (s, 1H), 7.54 – 7.46 (m, 1H), 7.30 – 7.22 (m, 2H), 7.00 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.76 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 5.98 (s, 2H), 4.56 (s, 2H), 4.27 (t, *J* = 8.2 Hz, 2H), 1.32 – 1.28 (q, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 169.12 (C-16), 164.62 (C-10), 149.45 (C-6), 148.26 (C-1), 142.28 (C-14), 139.13 (C-9), 132.41 (C-15), 131.76 (C-3), 128.19 (C-18), 126.96 (C-19), 126.30 (C-17), 124.56 (C-4), 124.38 (C-20), 123.06 (C-8), 108.75 (C-2), 108.68 (C-5), 101.51 (C-7), 61.89 (C-11), 50.41 (C-13), 14.14 (C-12).

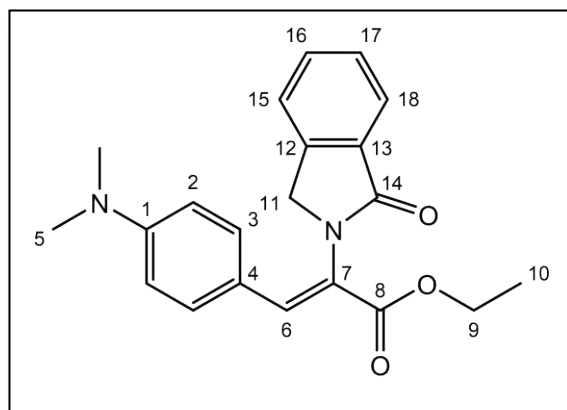
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3043, 2964, 2922, 2854, 2801, 1689, 1645, 1611, 1498, 1483, 1468, 1439,

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 352 (M<sup>+</sup>), 305 (84), 276 (83), 248 (35), 220 (65), 191 (20), 160 (34), 146(50), 118 (35), 90 (100).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(4-(dimetilamino)fenil)-2-(1-oxoisindolin-2-il)acrilato (25c)



25c

Usando el método general, se disolvieron 0.54 g (1.1 mmol) del derivado vinil iminofosforano 24c y 0.147 g (1.1 mmol) de ftalaldehido en 20 mL de tolueno, obteniéndose 0.327 g (85%) de 25c como un sólido café.

**R<sub>f</sub>**= 0.1 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 106 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): .96 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.64 – 7.45 (m, 4H), 7.31 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 6.56 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 4.56 (s, 2H), 4.29 – 4.21 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 2.97 (s, 6H), 1.29 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 168.46 (C-14), 164.65 (C-8), 150.97 (C-1), 141.84 (C-12), 139.55 (C-7), 131.69 (C-13), 131.43 (C-16), 131.23 (C-3), 129.73 (C-4), 127.76 (C-17), 123.95 (C-15), 122.49 (C-18), 119.67 (C-6), 111.22 (C-2), 60.67 (C-9), 49.51 (C-11), 39.73 (C-5), 13.83 (C-10).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 2955, 2924, 2855, 2805, 1694, 1585, 1528, 1465, 1443, 1405, 1365.

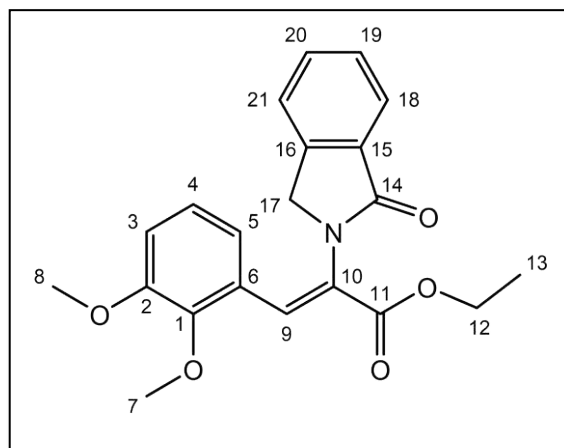
MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 350(M<sup>+</sup>), 275 (33), 232 (25), 219 (100), 159 (66), 145 (67), 90 (45).





## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(2,3-dimetoxifenil)-2-(1-oxoisoindolin-2-il)acrilato (25d)



25d

Usando el método general, se disolvieron 0.319 g (0.62 mmol) del derivado vinil iminofosforano 24d y 0.083 g (0.62 mmol) de ftalaldehído en 20 mL de tolueno, obteniéndose 0.186 g (82%) de 25d como un sólido café.

**R<sub>f</sub>** = 0.3 (Hexano/AcOEt 7:3)

PF = 103 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 8.06 (s, 1H), 7.90 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.61 – 7.39 (m, 4H), 6.87 (d, *J* = 5.6 Hz, 2H), 4.48 (s, 2H), 4.31 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.89 (d, *J* = 20.4 Hz, 6H), 1.32 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

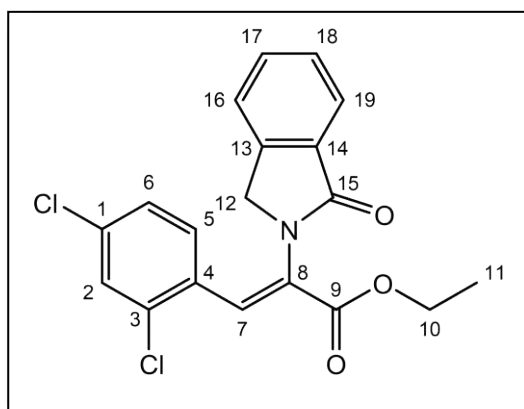
RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm): 167.53 (C-14), 162.81 (C-11), 149.5 (C-2), 147.20 (C-1), 140.61 (C-16), 137.53 (C-10), 130.42 (C-15), 130.03 (C-20), 128.36 (C-6), 128.05 (C-19), 127.28 (C-21), 126.52 (C-5), 124.76 (C-18), 122.87 (C-4), 121.37 (C-9), 113.83 (C-3), 62.57 (C-12), 60.10 (C-7), 59.0 (C-8), 48.52 (C-17), 12.60 (C-13).

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 367(M<sup>+</sup>), 336 (40), 290 (100), 262 (50), 205 (25), 161 (30), 118 (39), 90 (79).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-etil-3-(2,4-diclorofenil)-2-(1-oxoisindolin-2-il)acrilato (25e)



25e

Usando el método general, se disolvieron 0.073 g (0.14 mmol) del derivado vinil iminofosforano 24e y 0.018 g (0.14 mmol) de ftalaldehído en 20 mL de tolueno, obteniéndose 0.036 g (70%) de 25e como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.16 (Hexano/AcOEt 9:1)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.89 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.63 – 7.32 (m, 6H), 7.10 (dd, *J* = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 4.42 (s, 2H), 4.33 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H), 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H).

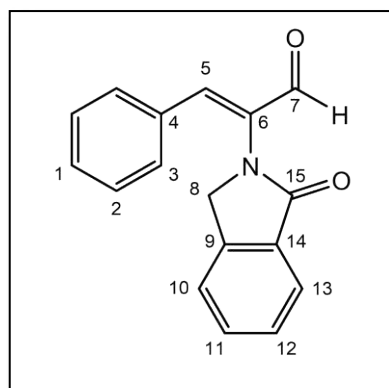
RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 169.17 (C-15), 163.82 (C-9), 142.14 (C-13), 136.03 (C-8), 135.17 (C-4), 133.94 (C-3), 132.26 (C-1), 131.27 (C-5), 130.40 (C-14), 129.68 (C-2), 129.27 (C-17), 128.61 (C-6), 128.27 (C-18), 124.48 (C-16), 123.00 (C-19), 115.60 (C-7), 62.06 (C-12), 50.54 (C-12), 14.21 (C-11).

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 375(M<sup>+</sup>), 340 (45), 294 (55), 266 (60), 118 (42), 90 (100).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-2-(1-oxoisoindolin-2-yl)-3-fenilacrilaldehído (38)



38

Siguiendo el método general, una mezcla de 3-fenil-2-(trifenilfosfanilidienamino)acrilaldehído 37 0.17 g (0.4 mmol) y ftalaldehído 0.11 g (0.8 mmol) disueltos en tolueno (20 mL) se sometió a reflujo durante 16 h. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego purificado por cromatografía en columna gel de sílice (acetato de etilo/hexano, 1:99) produciendo 0.05 g (50%) de 38 como un sólido blanco.

**R<sub>f</sub>**= 0.44 (Hexano/AcOEt 5:5)

PF= 100 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): δ 9.65 (s, 1H), 7.94 (dt, *J* = 7.5, 1.0 Hz, 1H), 7.63 – 7.37 (m, 9H), 4.61 (s, 2H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 189.74(C-7), 168.47(C-15), 147.90(C-6), 142.35(C-9), 135.21(C-4), 132.48(C-14), 132.23(C-1), 131.55(C-3), 131.37(C-11), 130.18(C-2), 129.16(C-12), 128.25(C-10), 124.61(C-13), 123.12(C-5), 49.81(C-8).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 2955, 2923, 2853, 2840, 1690, 1679, 1624, 1594, 1571, 1491, 1468, 1448, 1409, 1385.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 263(M<sup>+</sup>), 234 (46), 218 (18), 206 (20), 132 (25), 118 (41), 104 (62), 90 (100), 77 (22).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### E. Síntesis de (Z) ácido-2-(1-oxoisindolin-2-il)-3-fenilacrilico

#### Método General

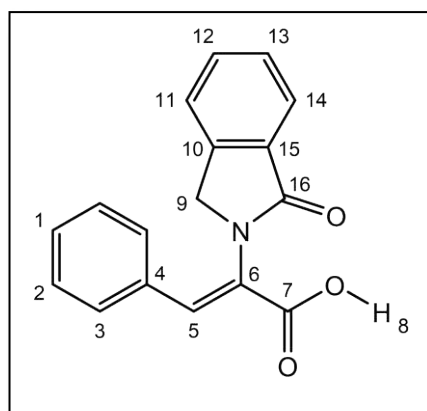
El compuesto (Z)-etil-2-(1-oxoisindolin-2-il)-3-fenilacrilato (1 eq) fue disuelto en 10 mL de metanol y 1 mL de agua destilada. La solución se agitó a temperatura ambiente. Hidróxido de litio (4 eq) fue agregado, y la mezcla de reacción se mantuvo en agitación por 45 minutos. La reacción se monitorea por cromatografía en placa fina. El tratamiento de la reacción involucra acidificar a pH de 2 con HCl al 10% y extracción con 30 mL de acetato de etilo tres veces. La Fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro, se filtra y se evapora el solvente hasta sequedad.



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

(Z) acido-2-(1-oxoisindolin-2-il)-3-fenilacrilico (31)



31

Usando el método general, se disolvieron 0.15 g (0.48 mmol) del derivado de isoindolona 25a y 0.046 g (1.95 mmol) de hidróxido de litio en 10 mL de etanol y 1 mL de agua destilada, obteniéndose 0.122 g (90%) de 31 como un aceite café.

**R<sub>f</sub>**= 0.33 (Hexano/AcOEt 7:3)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 10.05 (s, 1H) 7.94 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.63 – 7.42 (m, 5H), 7.35 – 7.27 (m, 3H), 4.50 (s, 2H).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### F. Síntesis de 2-azido-3-fenilacrilaldehído y 3-azido-4-fenil-3-buten-2-ona

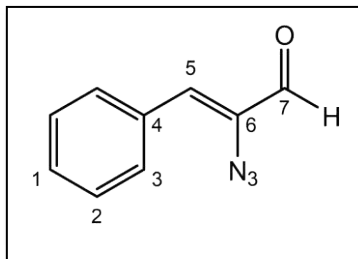
#### Método General

A una suspensión agitada de cinamaldehído (1 eq) y  $\text{NaN}_3$  (1.5 eq) en acetonitrilo (5 mL) se agrega nitrato cérico amoniacal (2.5 eq) disuelto en acetonitrilo (25 mL) a  $0^\circ\text{C}$  en atmosfera de nitrógeno y la mezcla se agita a temperatura ambiente. Después de 12 h, la reacción es detenida con la adición de agua y extraída con acetato de etilo (3x30), secada con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y concentrada a vacío. El residuo resultante se disuelve en acetona (20 mL) y con acetato de sodio anhidro (1.5 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 12 h y después de ese tiempo se inactiva con agua y se extrae con acetato de etilo (3x30 mL). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentra al vacío. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice (hexano/ acetato de etilo, 9:1).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 2-azido-3-fenilacrilaldehído (36)



36

Usando el método general, se disolvieron 0.5 g (3.78 mmol) de cinamaldehído 34 y 0.36 g (5.67 mmol) de azida de sodio en 5 mL de acetonitrilo. En otro matraz se disuelve 3.11 g (5.674 eq) de Nitrato cérico amoniacal y se adiciona gota a gota a la primera solución a 0°C obteniéndose 0.130 g (20%) de 36 como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.45 (Hexano/AcOEt 9:1)

PF= 73 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): δ 9.47 (s, 1H), 7.92 – 7.83 (m, 2H), 7.50 – 7.35 (m, 3H), 6.49 (s, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 188.49 (C7), 134.72 (C-5), 132.87 (C-4), 131.08 (C-2), 130.86 (C-1), 130.54 (C-3), 128.76 (C-6).

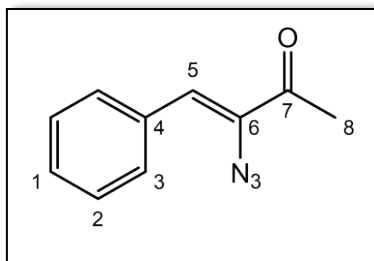
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3336, 2995, 2925, 2842, 2131, 1673, 1610, 1569.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 173(M<sup>+</sup>), 116 (100), 105 (5), 88 (34), 77 (15), 63 (52), 51 (31), 39 (48).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

3-azido-4-fenil-3-buten-2-ona (44)



44

Usando el método general, se disolvieron 0.5 g (3.42 mmol) de 4-fenil-3-buten-2-ona 43 y 0.33 g (5.13 mmol) de azida de sodio en 5mL de acetonitrilo. En otro matraz se disuelve 4.69 g (8.55 mmol) de Nitrato cérico amoniacal y se adiciona gota a gota a la primera solución a 0°C obteniéndose 0.4 g (62%) de 44 como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.55 (Hexano/AcOEt 7:3)

PF= 63-65 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.93 – 7.80 (m, 2H), 7.47 – 7.30 (m, 3H), 6.72 (s, 1H), 2.52 (s, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 194.38(C7), 134.008(C6), 133.18(C4), 130.69(C5), 129.80(C1), 129.12(C2), 128.61(C3), 25.88(C8).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3066, 3055, 2927, 2109, 1724, 1643, 1274, 839, 691.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 187(M<sup>+</sup>), 117 (94), 89 (80), 63 (50), 44 (100).





## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### G. Síntesis de 4-fenil-3-buten-2-ona

#### Método General

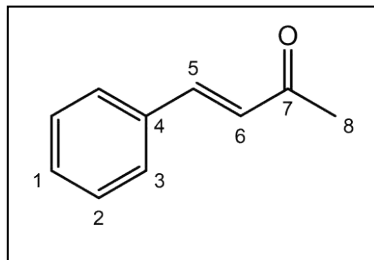
Piperonal (25 g, 0.167 mol) se disuelve en acetona (200 mL). Una solución de hidróxido de sodio (10 g, 0.25 mol) en 250 mL de agua se adiciona en una sola porción, y la mezcla se agita por 1 h. La mezcla se extrae con porciones de 100 mL de Diclorometano y la fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y es evaporado. El residuo es recristalizado con Tolueno obteniéndose 43 como un sólido amarillo.



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

4-fenil-3-buten-2-ona (43)



43

Usando el método general, el Piperonal (2 g, 0.02 mol) se disolvió en acetona (20 mL). Una solución de hidróxido de sodio (1 g, 0.025 mol) en 25 mL de agua se adiciono en una sola porción, y la mezcla se agito por 1 h. La mezcla se extrae con porciones de 50 mL de Acetato de etilo y la fase orgánica se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y es evaporado. El residuo es recristalizado con Tolueno obteniéndose 1.6 g (80%) de 43 como un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.5 (Hexano/AcOEt 7:3)

PF= 108–109 °C

RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 7.59 – 7.46 (m, 3H), 7.46 – 7.36 (m, 3H), 6.72 (d,  $J = 16.3$  Hz, 1H), 2.39 (s, 3H).

RMN  $^{13}\text{C}$  (75.4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 198.41(C7), 143.45(C5), 134.45(C4), 130.53(C1), 128.99(C2), 128.27(C3), 127.19(C6), 27.54(C8).

MS [E $^+$ ]  $m/z$  (%): 146(M $^+$ ), 131 (95), 103 (100), 77 (65).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

### H. Reacción de Biorreducción con Levadura (*S. cerevisiae*)

#### Método General

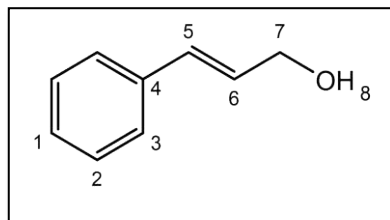
A un matraz Erlenmeyer de 500 mL de capacidad se adiciona 250 mL de agua hervida y se deja reposar para alcanzar la temperatura de 30°C, a esta temperatura se adiciona 10 g de levadura (*S. cerevisiae*) y 10 g de glucosa, la suspensión se mantiene en agitación por 20min y se agrega el correspondiente sustrato  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado disuelto en 5 mL de etanol lentamente. La mezcla se mantiene en agitación durante el tiempo necesario y para la extracción del producto se agrega 10 g de celita a la reacción y 50 mL de acetato de etilo y la mezcla se mantiene en agitación por 30min. Al termino, la mezcla se filtra sobre una capa de celita en un buschner y vacío, las aguas madre al igual que el residuo solido remanente de la filtración se lavan con 3 porciones de acetato de etilo (75 mL) y la fase orgánica se separa con un embudo de separación, se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se concentra a vacío. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice utilizando como sistema eluente una mezcla de acetato de etilo/hexano.



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

(E)-3-fenil-2-propen-1-ol (35)



35

Usando el método general, se disolvieron 1 g (7.56 mmol) de cinamaldehído 34 en 5 mL de etanol y se adicionaron a una mezcla de agua, 10 g de levadura de pan (*S. cerevisiae*) tipo 2 y 10 g de glucosa previamente agitado y la reacción se mantiene en incubación por 48 horas. Después del tratamiento se obtuvo 0.2 g (20%) de 35 como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.33 (Hexano/AcOEt 7:3)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.51 – 7.23 (m, 5H), 6.62 (d, *J* = 15.9, 1H), 6.37 (d, t, *J* = 15.9, 5.7 Hz, 1H), 4.33 (dd, *J* = 5.7, 1.5 Hz, 2H), 3.68 (t, *J* = 6.4 Hz, 1H).

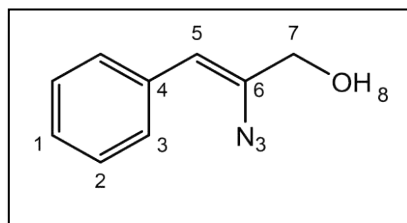
RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 136.13 (C-4), 130.65 (C-5), 129.49 (C-2) 128.59 (C-1), 127.18 (C-6), 125.94 (C-3), 63.22 (C-7).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

(Z)-2-azido-3-fenil-2-propen-1-ol (41)



41

Usando el método general, se disolvieron 0.2 g (1.15 mmol) del compuesto 36 en 5 mL de etanol y se adicionaron a una mezcla de agua, 10 g de levadura de pan (*S. cerevisiae*) tipo 2 y 10 g de glucosa previamente agitado y la reacción se mantiene en incubación por 48 horas. Después del tratamiento se obtuvo 0.1 g (50%) de 41 como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>** = 0.5 (Hexano/AcOEt 7:3)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.62 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.35–7.17 (m, 3H), 5.81 (s, 5H), 4.47 (d, *J* = 5.3 Hz, 2H), 3.70 (t, *J* = 4.7 Hz, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 150.00 (C-6), 134.52 (C-4), 128.98 (C-2), 128.29 (C-1), 127.46 (C-3), 116.59 (C-5), 65.16 (C7).

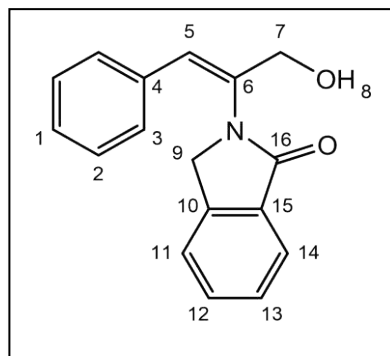
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3353, 3062, 3026, 2926, 2870, 2102, 1643, 1598, 1492, 1448.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 175(M<sup>+</sup>), 149 (12), 117 (24), 105 (25), 90(100), 77 (28).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

(Z)-2-(3-hidroxi-1-phenil-1-propen-2-il)isoindolin-1-one (42)



42

Usando el método general, se disolvieron 0.2 g (0.76 mmol) del compuesto 38 en 5 mL de etanol y se adicionaron a una mezcla de agua, 10 g de levadura de pan (*S. cerevisiae*) tipo 2 y 10 g de glucosa previamente agitado y la reacción se mantiene en incubación por 7 días. Después del tratamiento se obtuvo 0.1 g (50%) de 42 como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.38 (Hexano/AcOEt 5:5)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.91 – 7.88 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7.62 – 7.42 (m, 4H), 7.35 – 7.25 (m, 4H), 6.64 (s, 1H), 4.48 (s, 2H), 4.34 (d, *J* = 12 Hz, 2H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 168.44(C-16), 140.51(C-6), 135.47(C-10), 133.28(C-4), 130.59(C-15), 127.16(C-3), 126.95(C-1), 126.68(C-12), 126.46(C-2), 124.57(C-13), 122.57(C-11), 121.30(C-14), 114.01(C-5), 63.94(C-7), 49.02(C-9).

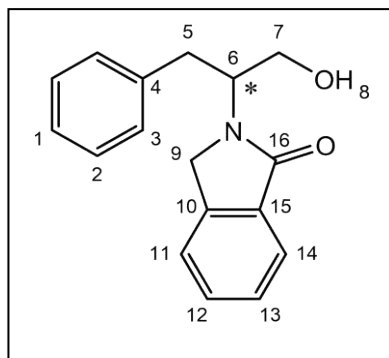
IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3342, 3056, 3024, 2919, 2853, 1672, 1649, 1617, 1597, 1469, 1453, 1423, 1396.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 265(M<sup>+</sup>), 247(11), 236(72), 174(30), 167(10), 149(28), 134(45), 118(38), 90(65), 77(25).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2-(1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)isoindolin-1-ona (26)



26

Usando el método general, se disolvieron 0.2 g (0.76 mmol) del compuesto 38 en 5 mL de etanol y se adicionaron a una mezcla de agua, 10 g de levadura (*S. cerevisiae*) tipo 2 y 10 g de glucosa previamente agitado y la reacción se mantiene en incubación por 7 días. Después del tratamiento se obtuvo 0.025 g (10%) de 26 como un sólido blanco.

**R<sub>f</sub>**= 0.3 (Hexano/AcOEt 5:5)

PF= 96 °C

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.78 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.43 (ddt, *J* = 15.7, 7.6, 1.6 Hz, 2H), 7.33 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.27 – 7.15 (m, 5H), 4.52 – 4.09 (m, 4H), 3.90 (qd, *J* = 11.7, 5.1 Hz, 2H), 3.20 – 2.96 (m, 2H).

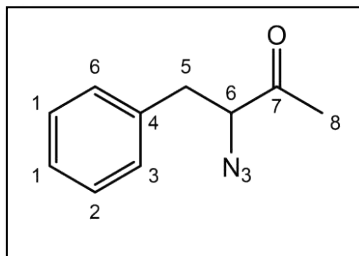
RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 169.80(C-16), 141.52(C-10), 137.88(C-4), 131.40(C-15), 128.88(C-2), 128.64(C-3), 128.24(C-12), 127.95(C-1), 126.61(C-13), 125.31(C-11), 123.59(C-14), 63.60(C-7), 57.23(C-6), 49.42(C-9), 35.37(C-5).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 3367, 3061, 3028, 2956, 2917, 2850, 1660, 1496, 1470, 1452, 1413, 1369, 1326, 1303, 1269, 1215, 1179, 1156, 734, 699.

MS [EI<sup>+</sup>] *m/z* (%): 267(M<sup>+</sup>), 236(28), 176(100), 91(38), 77(17).



### 3-azido-4-fenilbutan-2-ona (45)



45

Las condiciones de biorreducción fueron agua (50 mL), levadura *S. cerevisiae* tipo 2 (4g) y el sustrato 3-azido-4-fenil-3-buten-2-ona 44 (0.2 mmol) absorbido en 1 g de resina Amberlita XAD-7. El sustrato fue absorbido en la resina sobre un matraz de fondo redondo. Acetona (2 mL) fue utilizado como solvente y posteriormente removido a presión reducida. El medio de biorreducción fue preincubado para activación en un matraz Erlenmeyer con agitación a 30 °C por 30 min, y el sustrato soportado en la resina es agregado y se deja reposar por un tiempo de 4 días. Después del tratamiento se obtuvo 0.03 g (20%) de 45 como un aceite amarillo.

**R<sub>f</sub>**= 0.93 (Hexano/AcOEt 7:3)

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 7.36 – 7.11 (m, 6H), 4.08 – 3.92 (m, 1H), 3.08 (dd, *J* = 14.0, 5.2 Hz, 1H), 2.86 (dd, *J* = 14.0, 8.7 Hz, 1H), 2.11 (s, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75.4 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 204.96(C7), 135.97(C4), 129.20(C2), 128.82(C3), 127.29(C1), 69.65(C6), 37.14(C5), 29.71(C8).

IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>): 2955, 2924, 2855, 2103, 1723, 1603, 1456, 1268, 732, 699.





### VII. CONCLUSIONES

- Se logró desarrollar con éxito dos rutas sintéticas para la obtención de intermediarios de isoindolona  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados, uno a partir de la condensación de azido acetato de etilo y derivados de benzaldehído (Ruta A) y a partir de cinamaldehído y azida de sodio (Ruta B).
- La preparación directa de vinil azidas a partir de cinamaldehído y azida de sodio (Ruta B) no está informada en la literatura, posiblemente por el bajo rendimiento que produce (20%), en este caso, se estima que es por causa de la alta reactividad del grupo carbonilo (CHO) con el medio oxidante de la reacción, sin embargo, no se realizó una medida de protección adicional del grupo carbonilo (CHO) ya que se necesita al grupo carbonilo (C=O) de manera íntegra para la adición de la molécula de azida en la posición requerida (alfa).
- La estrategia de síntesis de iminofosforanos por la reacción de Staudinger aplicada en ambas rutas (A, B) se llevó a cabo a temperatura ambiente, resultando en la formación de los respectivos compuestos en alto rendimiento y sin la formación de subproductos. Este hecho favorece en gran medida a la ruta sintética A donde el bajo rendimiento obtenido de vinil azida 36 se ve compensado en esta reacción por la producción cuantitativa del iminofosforano 37.
- **Los intermediarios de isoindolona  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados (25a-e)** no resultaron ser los sustratos adecuados para producir los productos saturados correspondientes bajo las condiciones de biorreducción con la levadura de *S. cerevisiae* tipo 2. Esta falta de actividad por parte del sustrato corresponde a que el grupo electroattractor principal éster de etilo no es considerado un grupo activador para la reducción de un enlace doble C-C.
- La sustitución del grupo electroattractor éster de etilo en el intermediario de isoindolona 25 por un grupo funcional más hidrofílico como el ácido carboxílico, no propone un cambio significativo para la biorreducción.



- La sustitución del grupo electroattractor éster de etilo por el grupo funcional (CHO) en los ensayos de biorreducción llevados a cabo con la molécula de cinamaldehído 34 y 2-azido-3-fenilacrilaldehído 36, conducen a la rápida formación de un solo producto, correspondiente a la reducción particular del grupo carbonilo (CHO). La alta reactividad de (CHO) en el sistema  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturado provoca al mismo tiempo que no pueda ser aprovechado como un agente activador para apoyar la reducción del enlace doble C=C, por lo que este factor es su principal limitante.
- Se estableció que los alcoholes alílicos 34, 36, y 42 no representan ser intermediarios o influir en el proceso de biorreducción del enlace doble C=C, ya que se pueden recuperar intactos después del tratamiento a pesar de permanecer incubados por largos periodos de tiempo.
- De los **diferentes sistemas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturados** sintetizados, el grupo carbonilo de cetona resulto ser el grupo activador indicado para llevar a cabo la reducción exclusiva del enlace doble carbono-carbono. Para ello fue necesario que el sustrato 44 sea soportado en el aditivo de Amberlita XAD-7, con la finalidad de reducir su concentración en el medio acuoso.
- El éxito de la reducción del enlace doble C=C en el sustrato de isoindolona 38, se debe a que la reducción del grupo carbonilo (CHO) fue mucho más lenta, esto puede ser debido al volumen del sustituyente de isoindolona empleado en posición  **$\alpha$  al carbonilo (CHO)**, por lo que la concentración del sustrato 38 permaneció por más tiempo en el medio dando oportunidad a la levadura la reducción del enlace doble C=C.
- El bajo rendimiento, así como la ausencia de enantioselectividad que presentó la reacción de biorreducción de la isoindolona 38, esta descrito en la literatura a posibles factores como la toxicidad, en la que el mismo sustrato inhibe el mecanismo de reducción.



## VII. CONCLUSIONES

---

- No se pudo conseguir la síntesis enantioselectiva de un intermediario de isoindolona a través de ensayos de biorreducción con *S. cerevisiae*, no obstante, se logró desarrollar una ruta sintética a través de una serie de reacciones que no involucra el uso de agentes altamente tóxicos y costosos para la obtención de intermediarios de isoindolona como 26 que pertenece a una clase de moléculas con alto interés farmacológico.
- Se caracterizaron correctamente todos los productos a través del uso de técnicas espectroscópicas unidimensionales y bidimensionales tales como RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C, DEPT, HSQC y HMBC, así como técnicas espectrométricas.



### VIII. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Xiang, Z.; Zhou, J.; Liang, H.; Zhang, X.; Yan, M.; Chan, A. *Tetrahedron Letters*, 2019, 60, 147.
- 2 Meng, J.; Tang J.; Chen, Y.; Fu, R.; Zhang, S.; Zhao, Q. *Tetrahedron Letters*, 2018, 59, 1564.
- 3 Kaweckki, R.; Stanczyk, W.; Jaglinska, A. *Tetrahedron*, 2018, 74, 578.
- 4 Murphy, D. J., *Plant Breeding and Genetics*, 2017, 1, 493.
- 5 Tyagi, V.; Khan, S.; Chauhan, P. *Tetrahedron Letters*, 2013, 54, 1279.
- 6 Zubkov F.; Ershova J.; Orlova, A. *Tetrahedron* 2009, 65, 3789.
- 7 Boltukhina, E. V.; Zubkov, F. I.; Varlamov A. V. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* 2006, 42, 971.
- 8 Campbell, J.; Dedinas, R.; Walsh, S. *J. Org. Chem.* 2010, 61, 6205.
- 9 Gottschling, S.; Hajar, A.; Jiang, J.; Lo, J.; Suchozak B. *Org. Process Res. Dev.* 2012, 16, 741.
- 10 Zhang, M.; Chen, T.; Liu Q. *Heterocycles* 2014, 89, 1255.
- 11 Bhakuni, B.; Yadav, A.; Kumar, S.; Patel, S.; Sharma, S.; Kumar S. *J. Org. Chem.* 2014, 79, 2944.
- 12 Corona D.; Díaz E.; Guzmán E.; Jankowski C. *Spectrochimica Acta Part A* 61 2005, 2788.
- 13 Hassner A. *Academic Press, Inc.* 2014, 2, 35.
- 14 Chiba, S.; Wang, Y.; Lapointe, G.; Narasaka, K. *American Chemical Society* 2008, 36, 52.
- 15 Hemetsberger, H.; Knittel, D., Weidmann, H., *Syntheses* 2013, 100, 1599.
- 16 Heinrich, W.; Richardt, G.; Stolben S. *Advances in Heterocyclic Chemistry*, 2015, 44, 160.
- 17 Palacios, F.; Aparicio, D.; Rubiales, G.; Alonso, C.; Santos J. *Current Organic Chemistry* 2006, 10, 2371.
- 18 Palacios, F.; Aparicio, D.; Rubiales, G.; Alonso, C.; Santos J. *Tetrahedron* 2007, 63, 523.
- 19 Zhou, Y. *Acc. Chem. Res.* 2007, 40, 1357.



- 20 Porwanski, S.; Menuel, S.; Marsura, X.; Marsura, A. *Tetrahedron Lett.* 2004, 45, 502.
- 21 Barluenga, J.; Ferrero, M.; Palacios, F. J. *Chem. Soc., Perkin Trans.* 2009, 1, 2193.
- 22 Heck, R.; Marsura, A. *Tetrahedron Lett.* 2005, 45, 281.
- 23 Knowles, W. *American Chemical Society* 2007, 16, 106.
- 24 Gridnev, I.; Imamoto, T. *American Chemical Society*, 2015, 5, 2911.
- 25 Toogood H., Mansell D., Gardiner J., y Scrutton N. *Comprehensive Chirality*, 2012, 7, 216.
- 26 Toogood, H., Fryszkowska, A., Hulley, M. *ChemBioChem*, 2011, 12, 738.
- 27 Clouthier C., Pelletier J., *Chemical Society Reviews*, 2012, 41, 1585.
- 28 Winkler C., Tasnadi G, Clay D., Hall M., Faber K. *Journal of Biotechnology*, 2012, 162, 381.
- 29 Patel P., Dr. Kumar A., Sandhyavali M., Priyadarshini S., Singh A. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2017, 6, 937.
- 30 Fronza G., Fuganti C., Serra S. *Eur. J. Org. Chem.* 2009, 35, 6160.
- 31 Rossetti A., Sacchetti A., Bonfanti M., Roda G., Rainoldi G., Silvani A. *Tetrahedron*, 2017, 73, 4584.
- 32 Mo K., Hyeong J., Bang S., Kimb Y., Sup Y., Wook J., Keum G. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2016, 123, 29.
- 33 Fardelone, L.; Rodrigues, J.; Moran Paulo J.S. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2004, 29, 41.
- 34 Silva, R.; Okano, L; Rodrigues. J.; Clososki, G. *Tetrahedron: Asymmetry* 2017, 28, 939.
- 35 Paula, B.; Zampieri, D.; Nasário, F.; Rodrigues, J.; Moran, P. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 2017, 12, 166.
- 36 Fan Z., Yanfang Z., Li S., Lu D., Yucheng G., Ping G., *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, 46, 3149.
- 37 Paula, B.; Zampieri, D.; Rodrigues, J. Moran, P. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2013, 24, 973.
- 38 Kheng G.; Hekarl M., *Yeast*, 2011, 28, 93.
- 39 Csuk, R.; Glanzer, B. *Chem. Rev.* 1991, 91, 49.

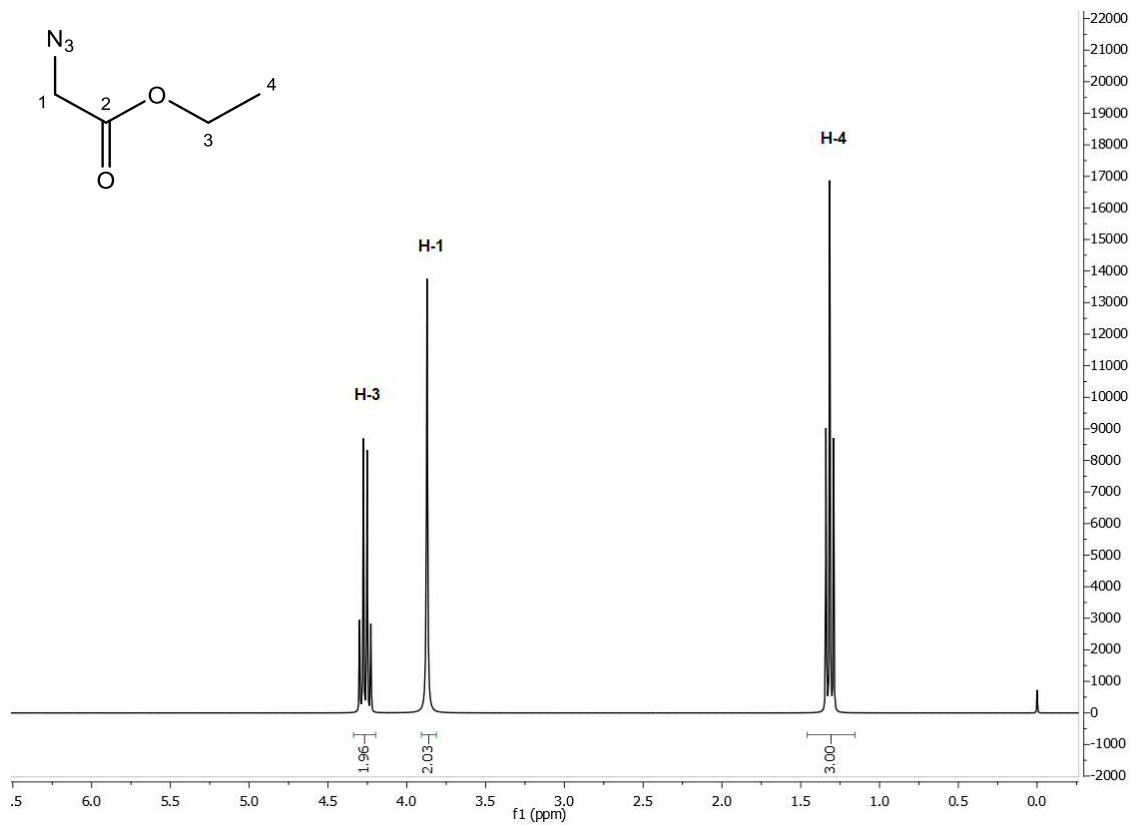


- 40 Toogood H.; Mansell D.; Gardiner J.; Scrutton N. *Comprehensive Chirality*, 2012, 7, 216.
- 41 Rajaguru. K.; Mariappan, A.; Muthusubramanian, S.; Bhuvanesh, N. *Chemistry Select*, 2016, 4.
- 42 Simon A.; Szankasi P.; Nguyen K.; Ludlow C.; Dunstan M.; Roberts J.; Jensen L.; Hartwell H.; Friend H. *American Association Cancer Research*. 2000, 60, 2.
- 43 Peña D.; Trabajo de investigación de Tesis de Licenciatura, Centro Conjunto de Investigación de Química Sustentable UAEM-UNAM.
- 44 Nakamura K., Kondo S., Kawai Y., Ohno A. *Tetrahedron Letters*, 1991, 32, 48, 7075.



IX. ANEXOS

Espectro 1. Espectro de RMN<sup>1</sup>H de Azidoacetato de etilo.

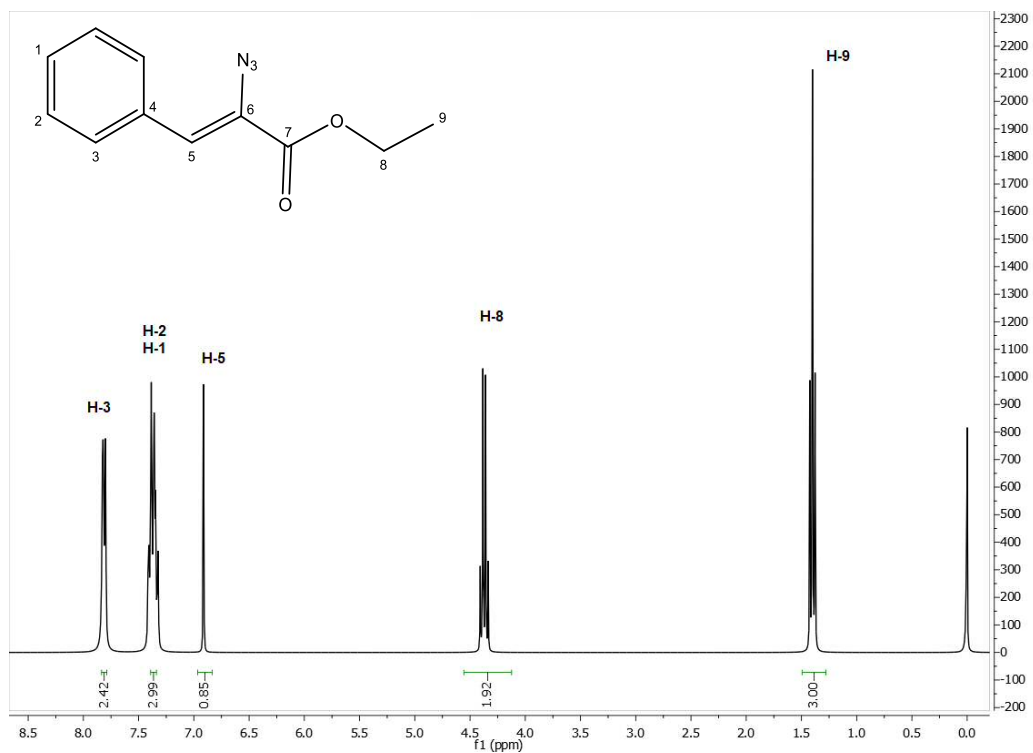


Espectro 2. Espectro de RMN<sup>13</sup>C Azidoacetato de etilo.

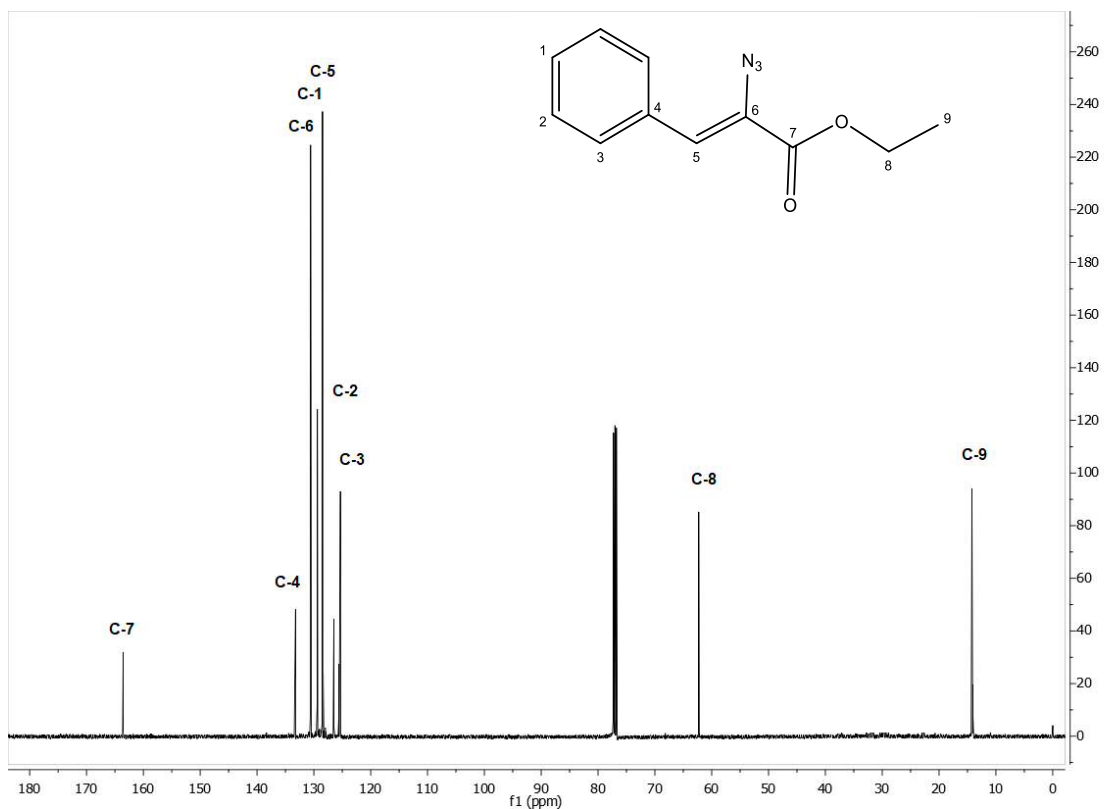




Espectro 3. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 23a.



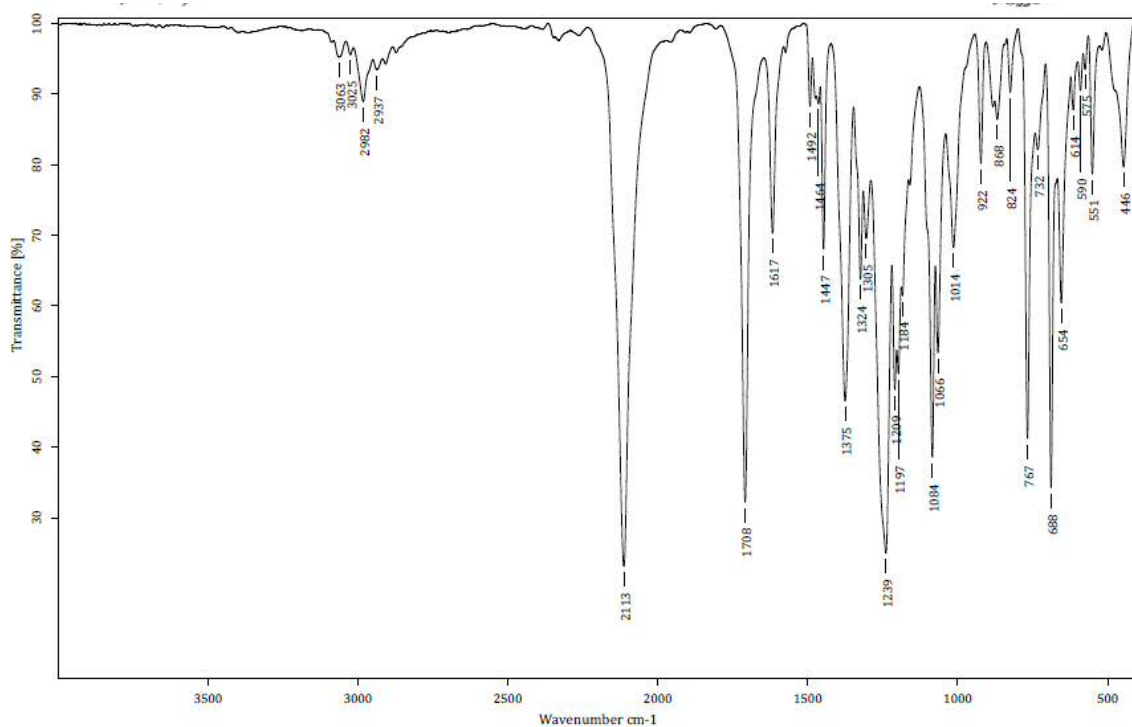
Espectro 4. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 23a.



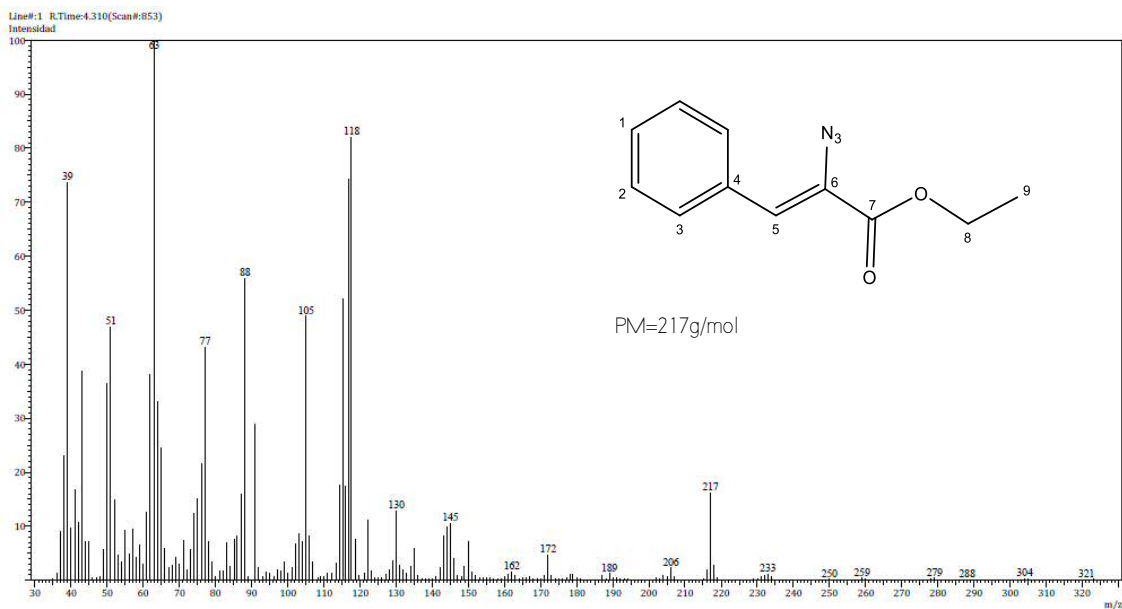




Espectro 5. Espectro de IR del compuesto 23a.

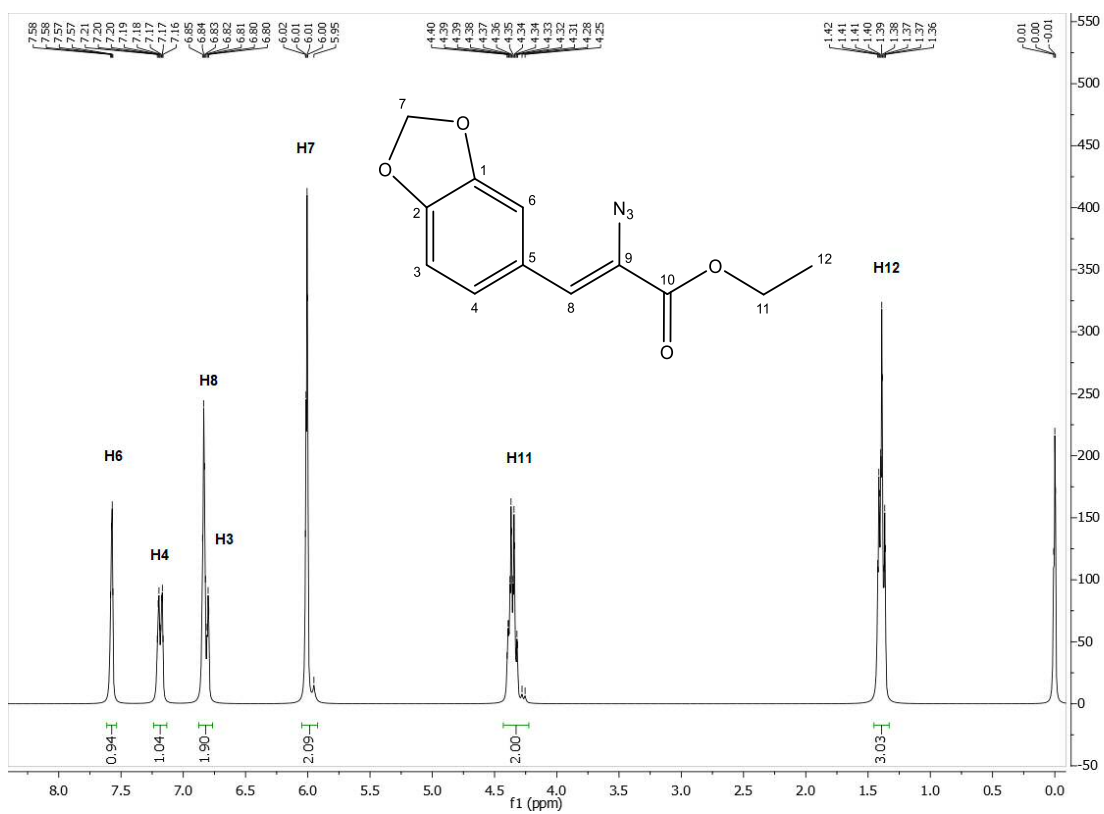


Espectro 6. Espectro de Masas del compuesto 23a.

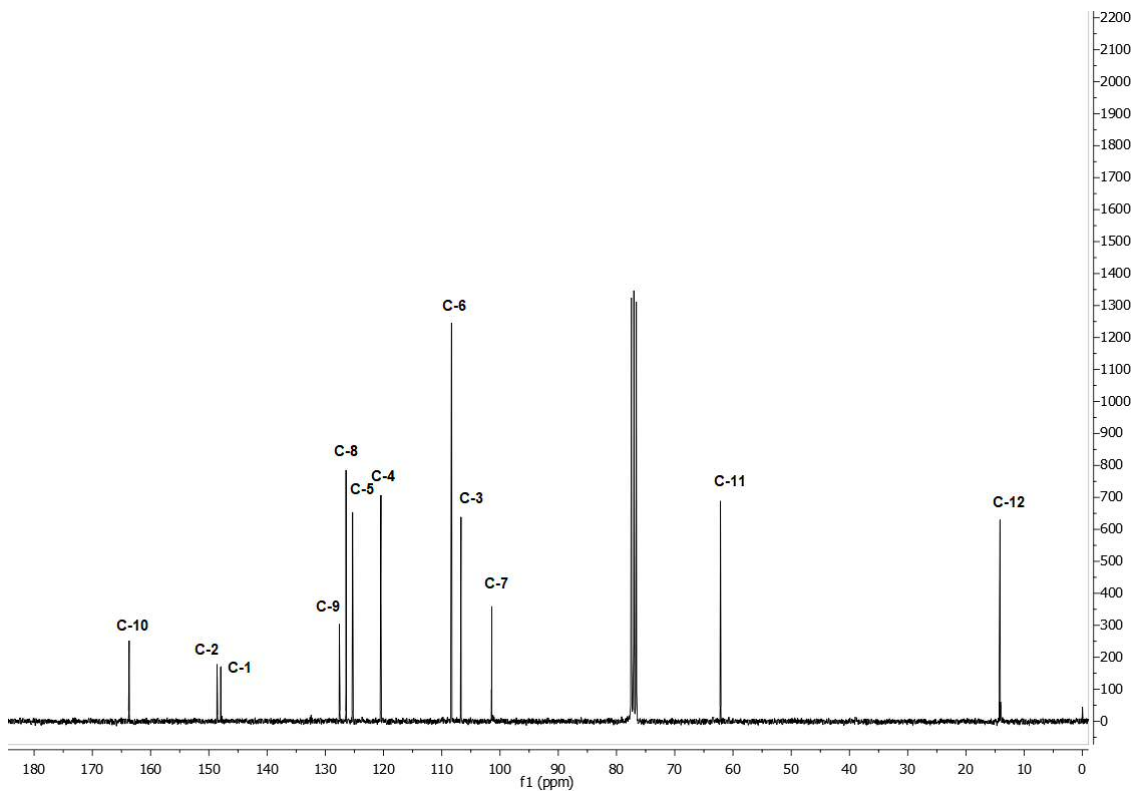




Espectro 7. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 23b.

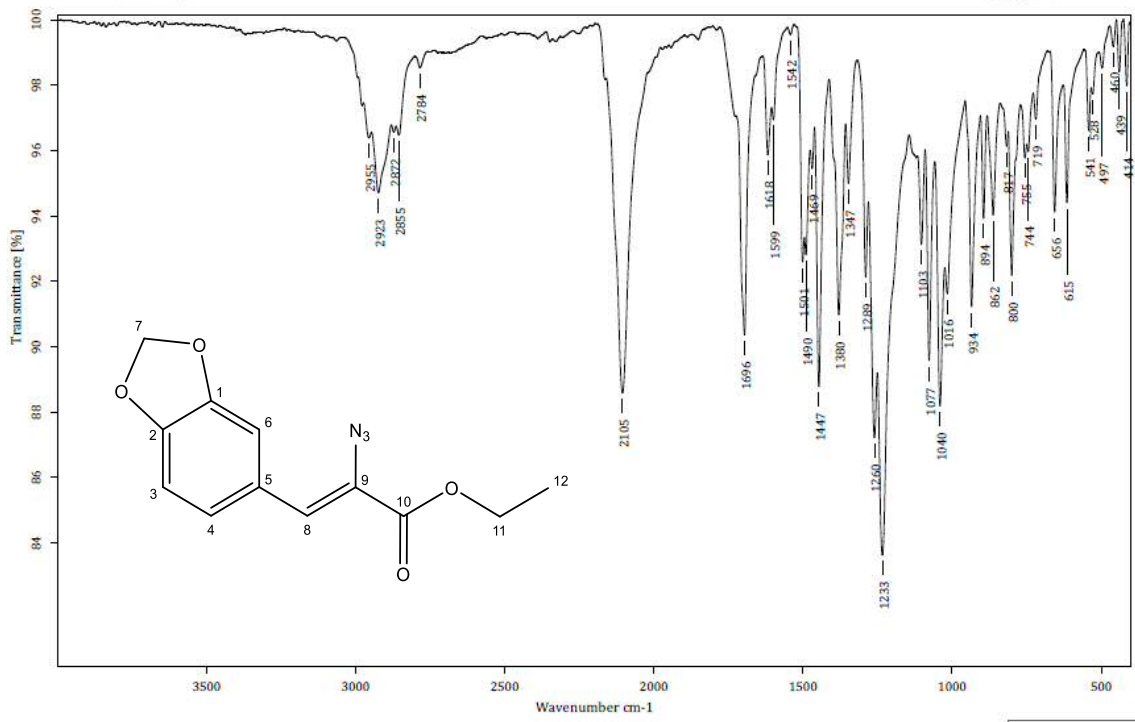


Espectro 8. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 23b.

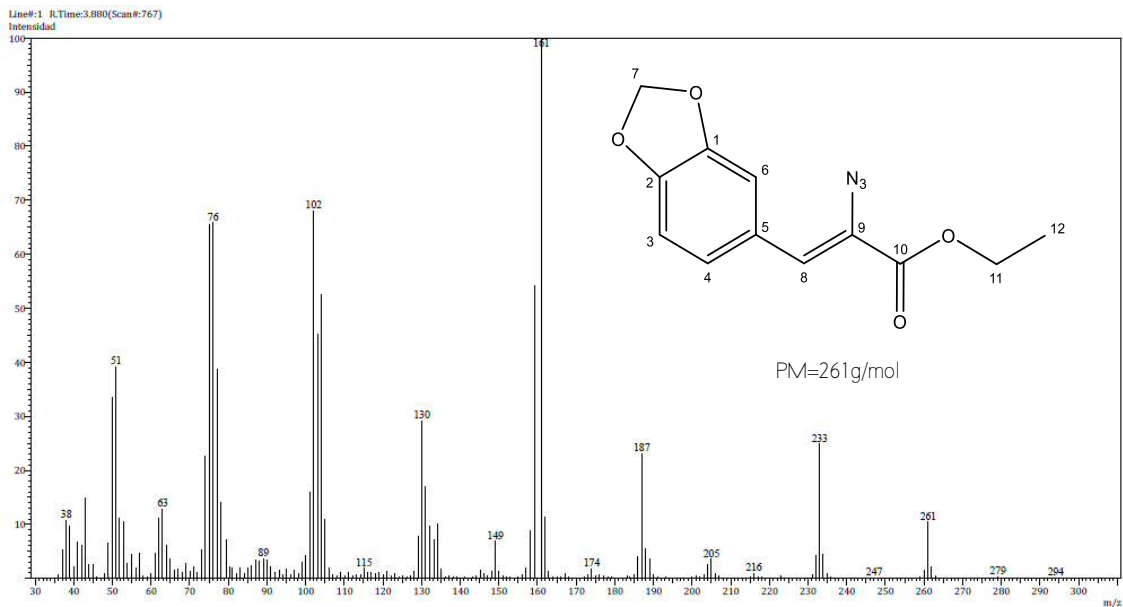




Espectro 9. Espectro de IR del compuesto 23b.



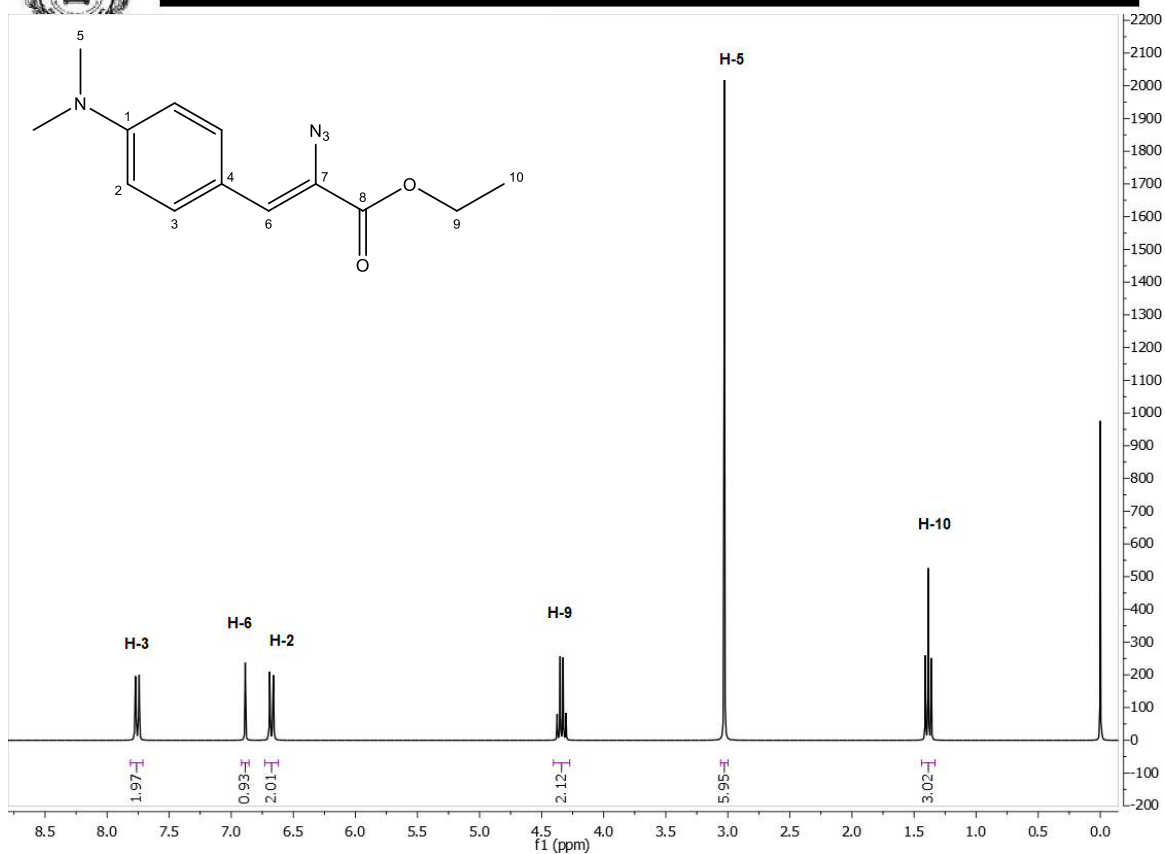
Espectro 10. Espectro de Masas del compuesto 23b.



Espectro 11. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 23c.



# IX. ANEXOS



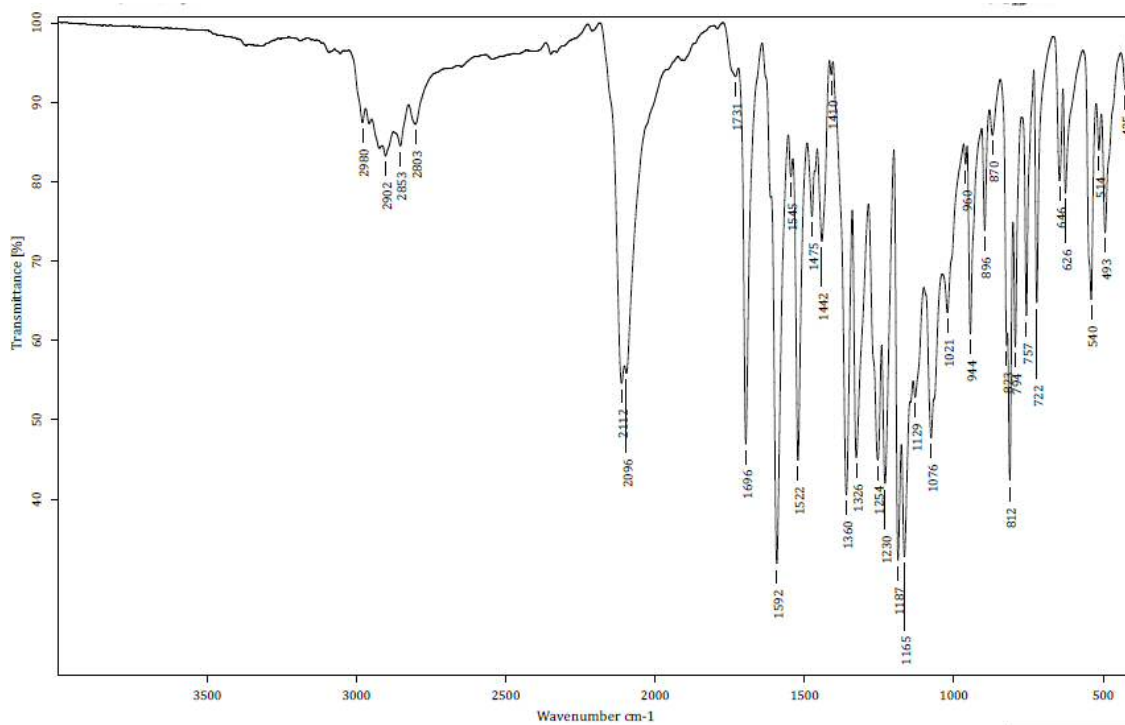
Espectro 12. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 23c.



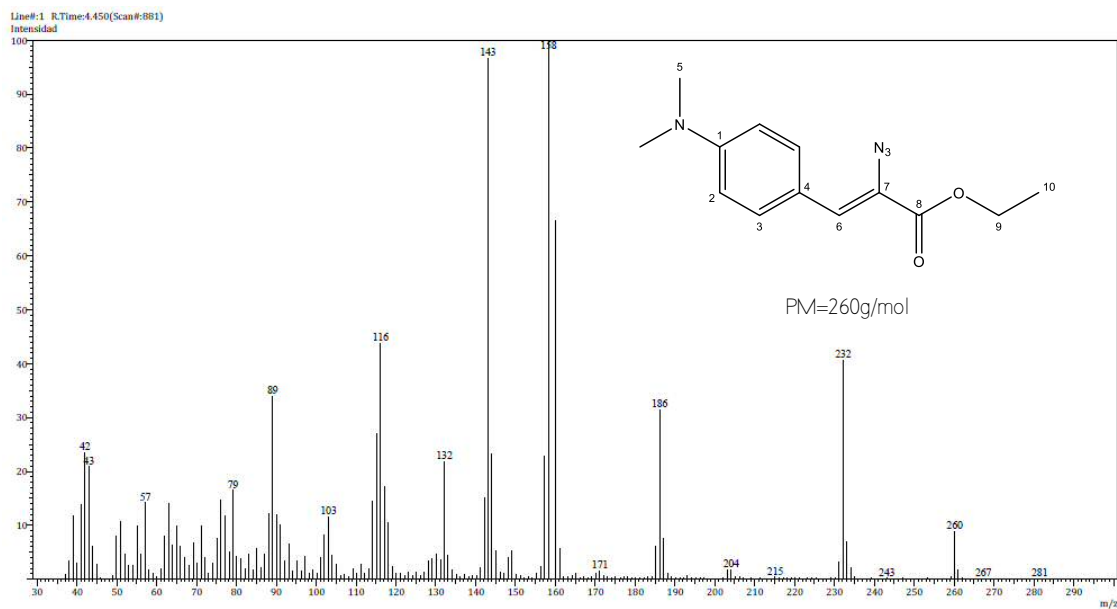


## IX. ANEXOS

Espectro 13. Espectro de IR del compuesto 57c.

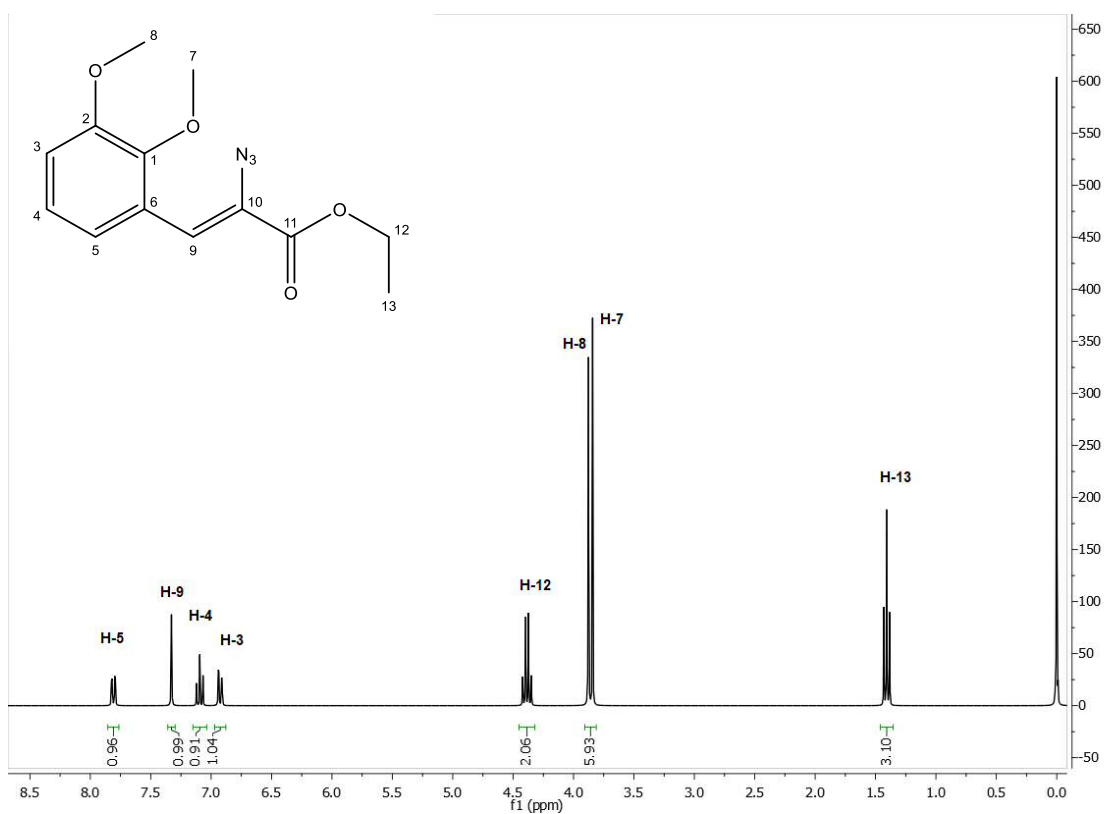


Espectro 14. Espectro de Masas del compuesto 23c.

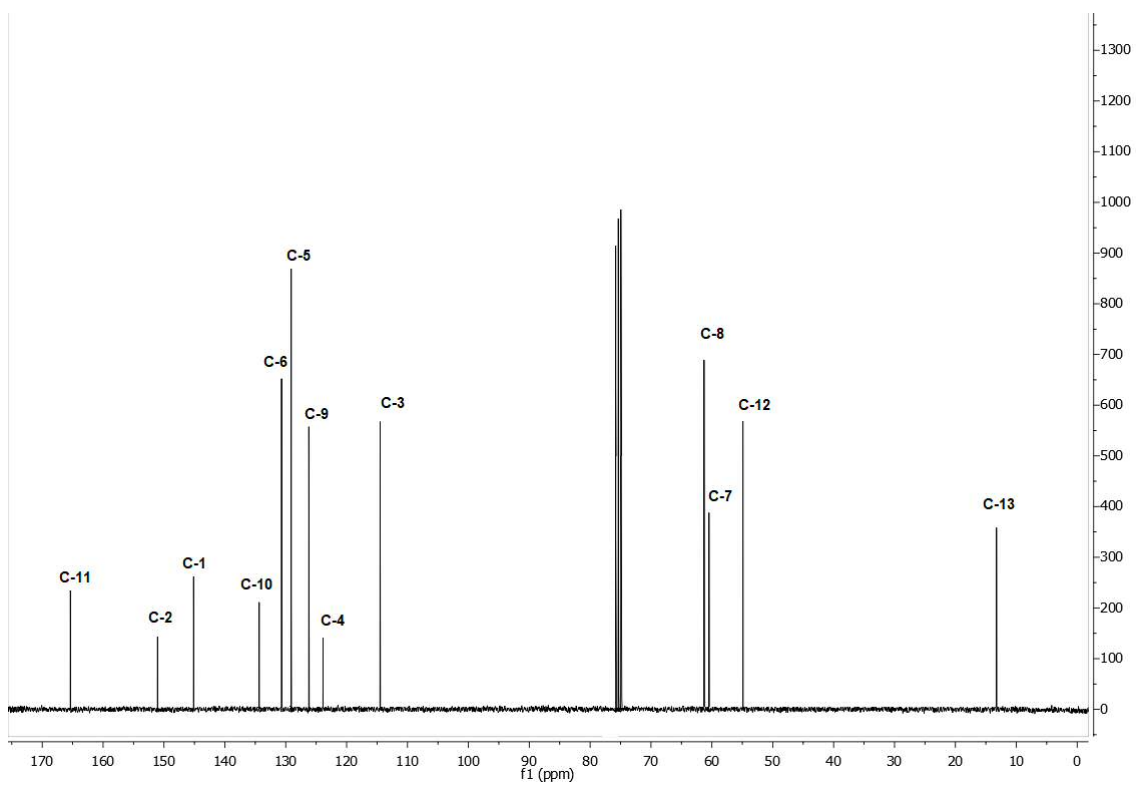




Espectro 15. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 23d.

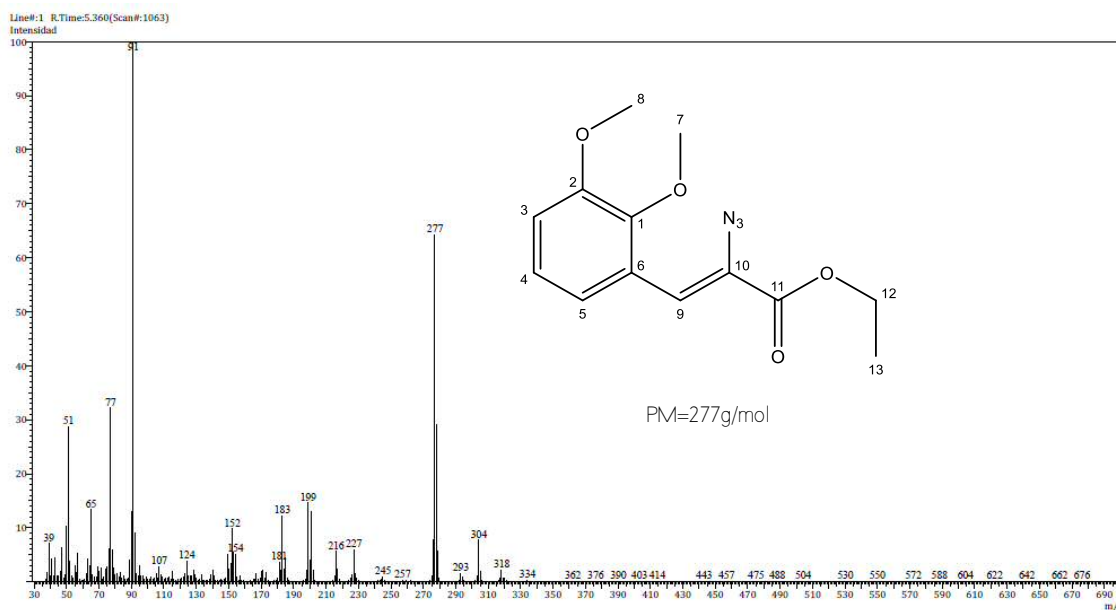


Espectro 16. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 23d.

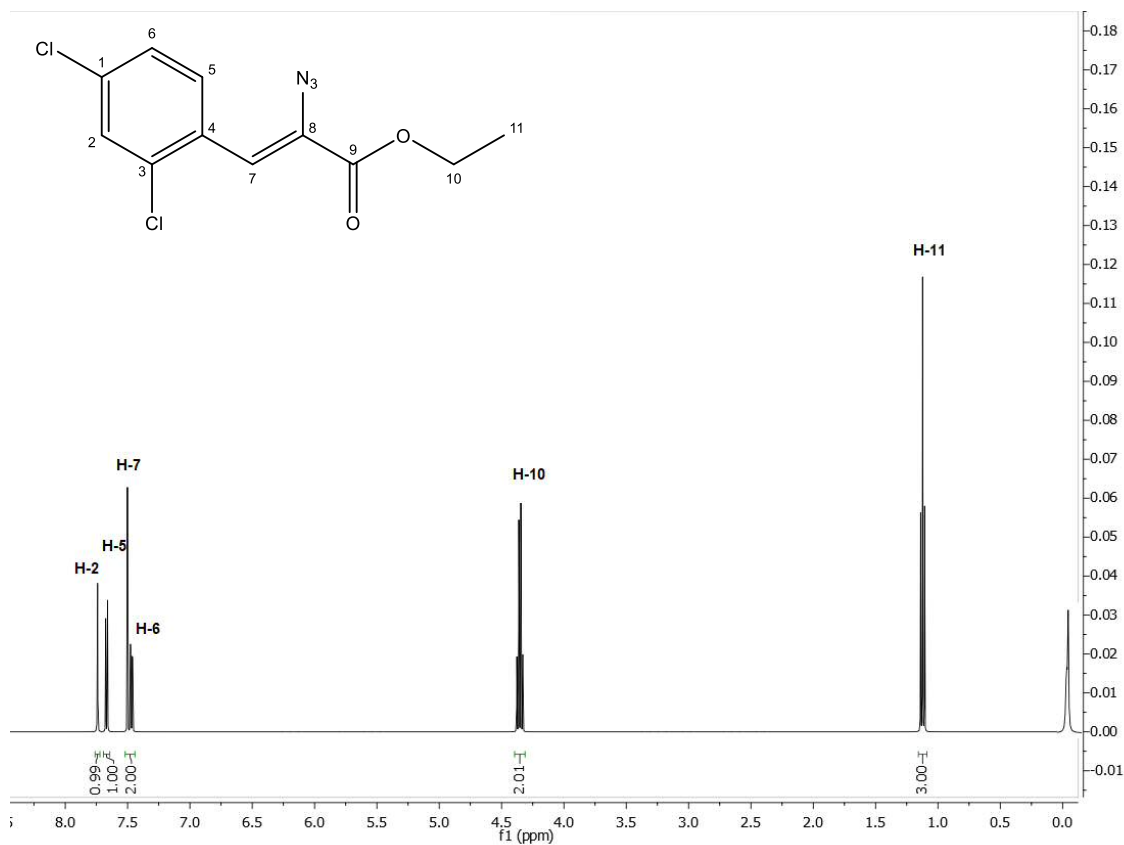




Espectro 17. Espectro de Masas del compuesto 23d.

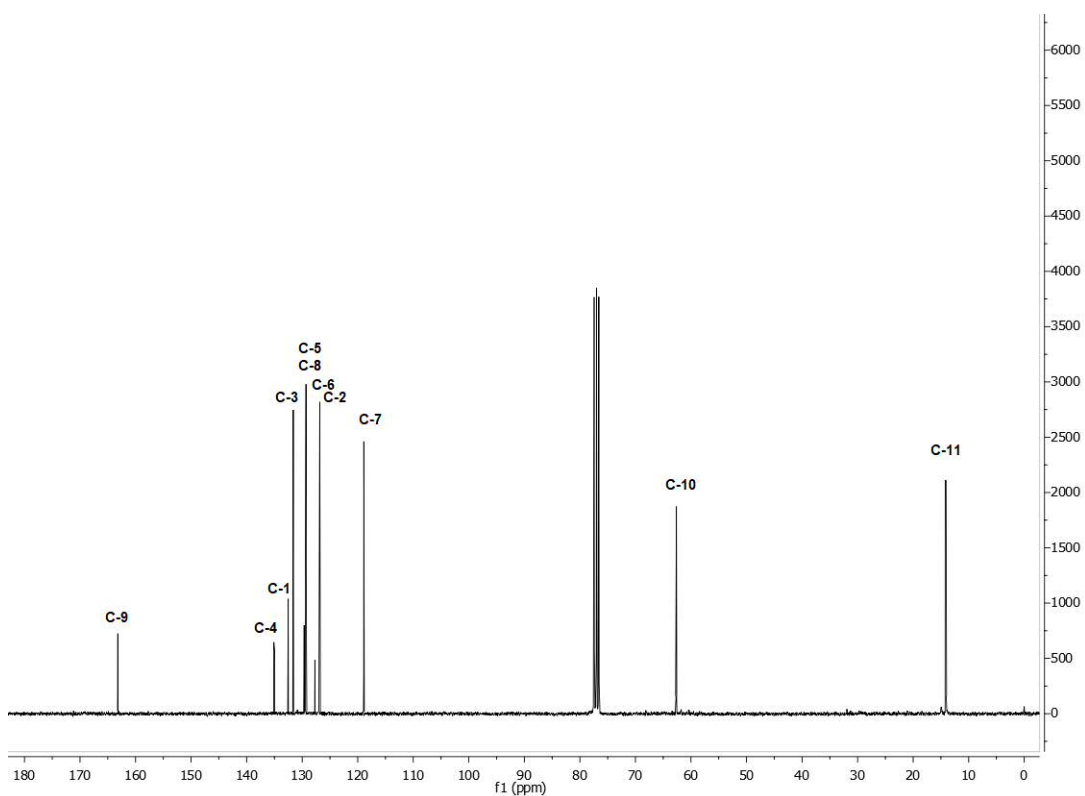


Espectro 18. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 23e.

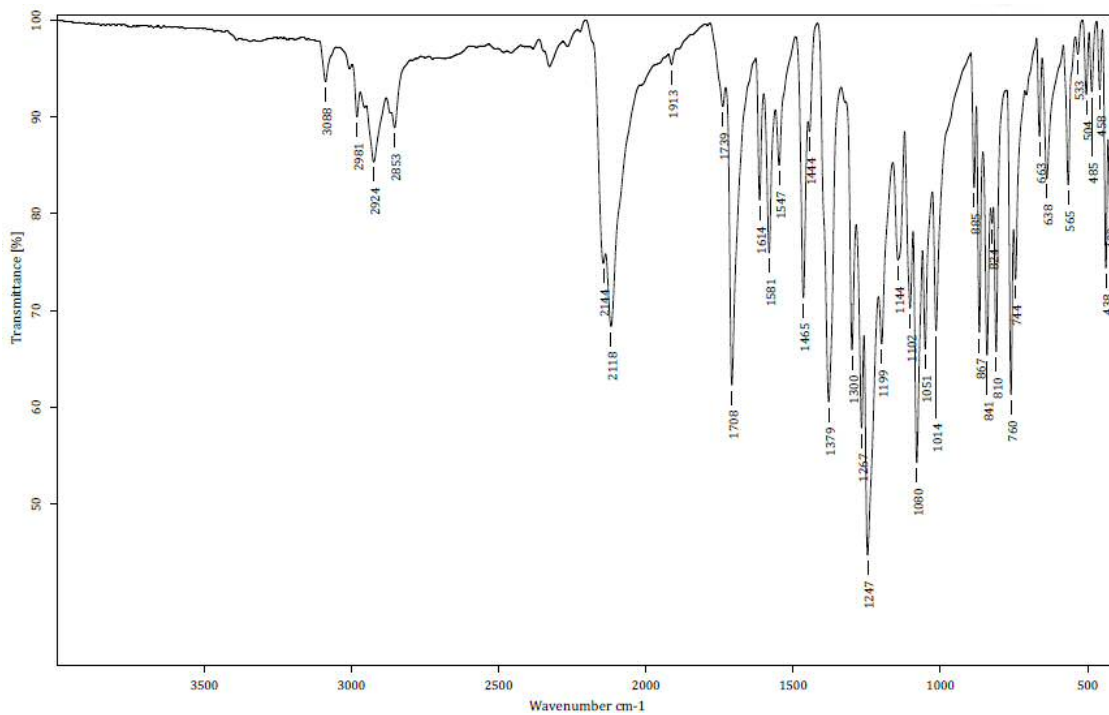




Espectro 19. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 23e.



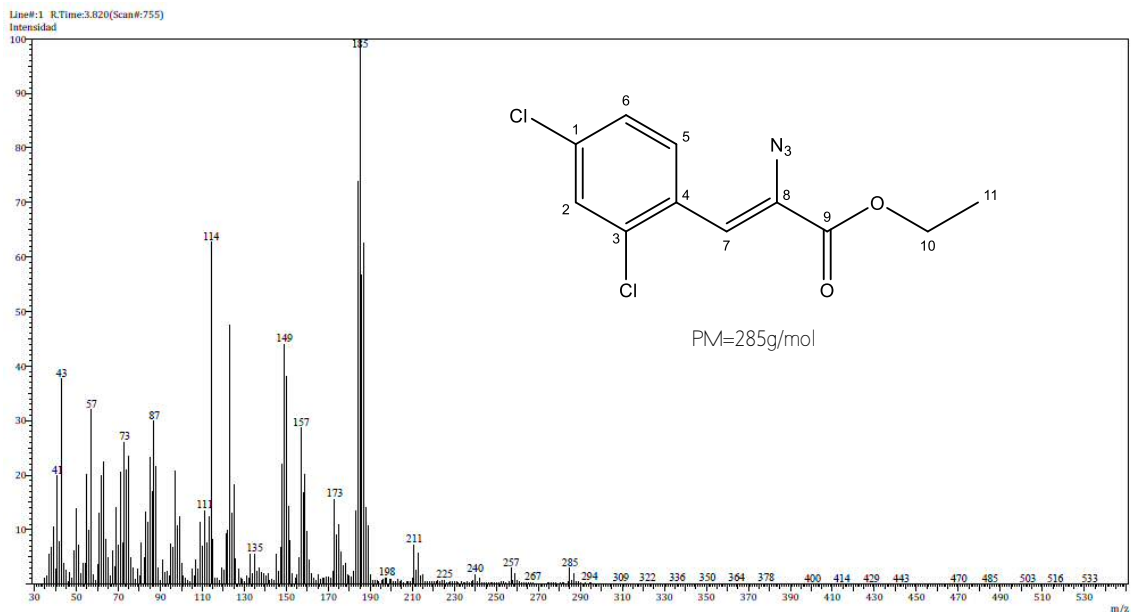
Espectro 20. Espectro de IR del compuesto 23e.



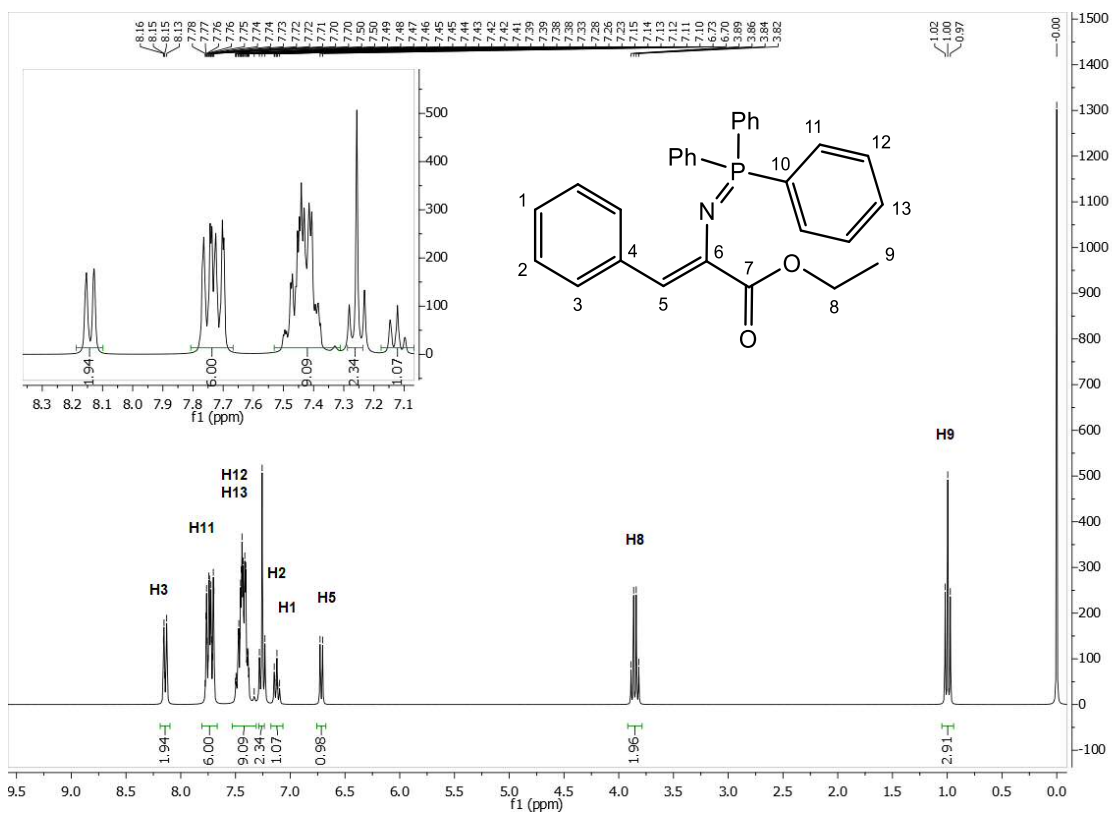




Espectro 21. Espectro de Masas del compuesto 23e.

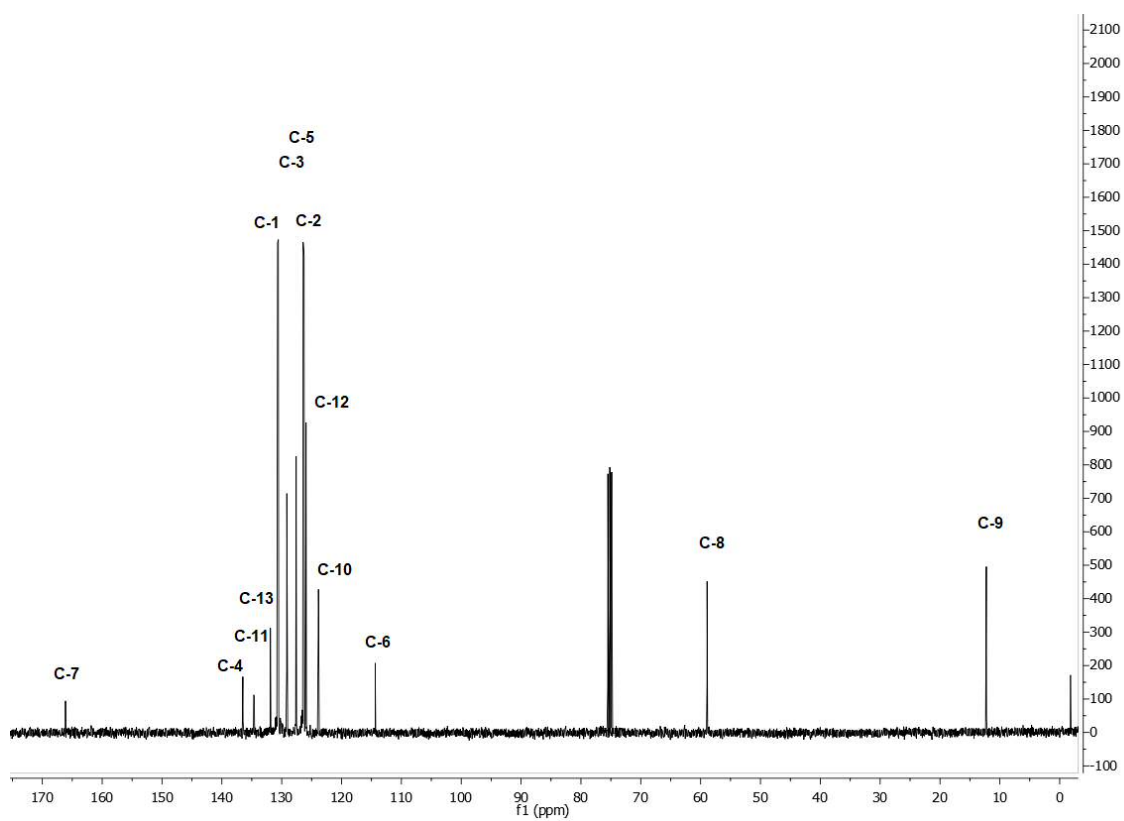


Espectro 22. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 24a.

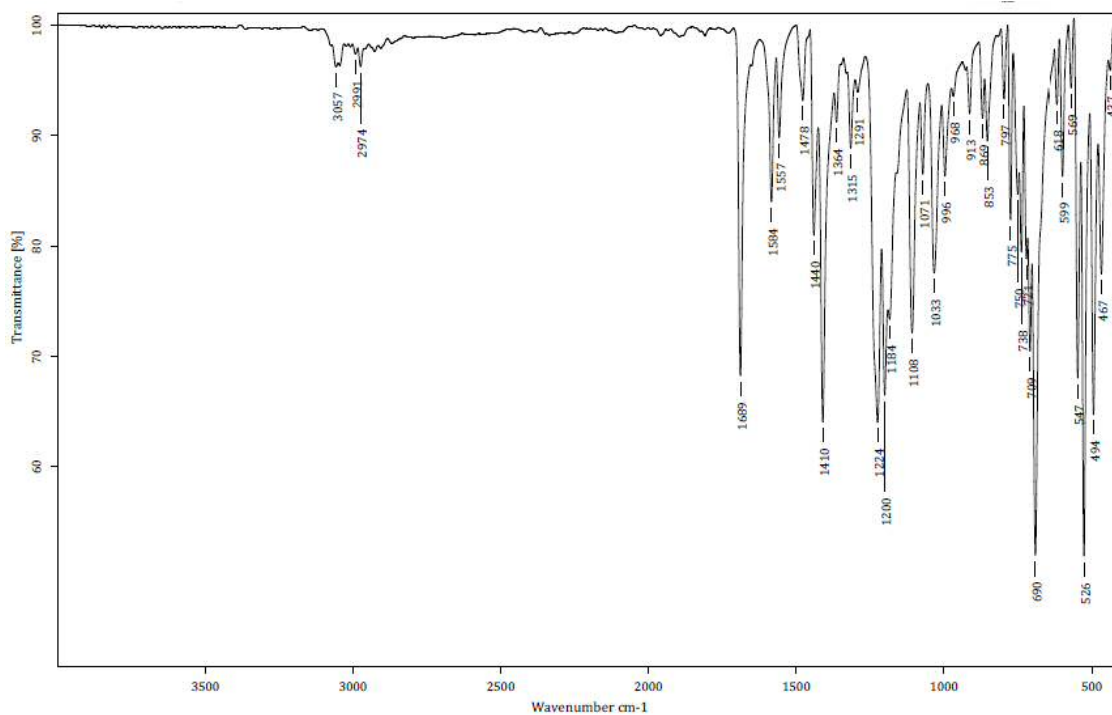




Espectro 23. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 24a.

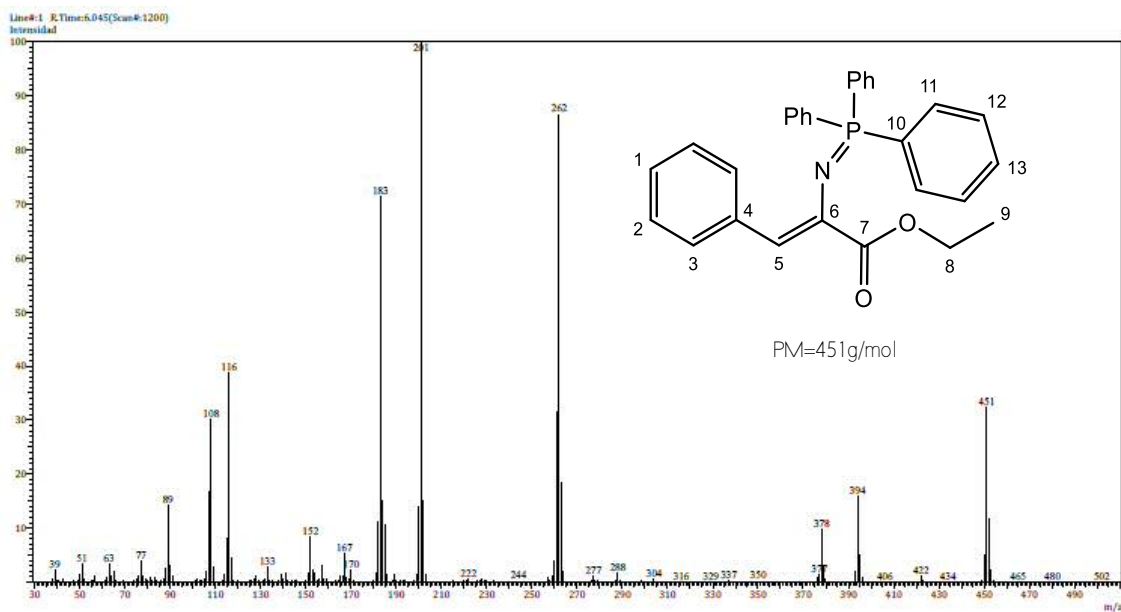


Espectro 24. Espectro de IR del compuesto 24a.

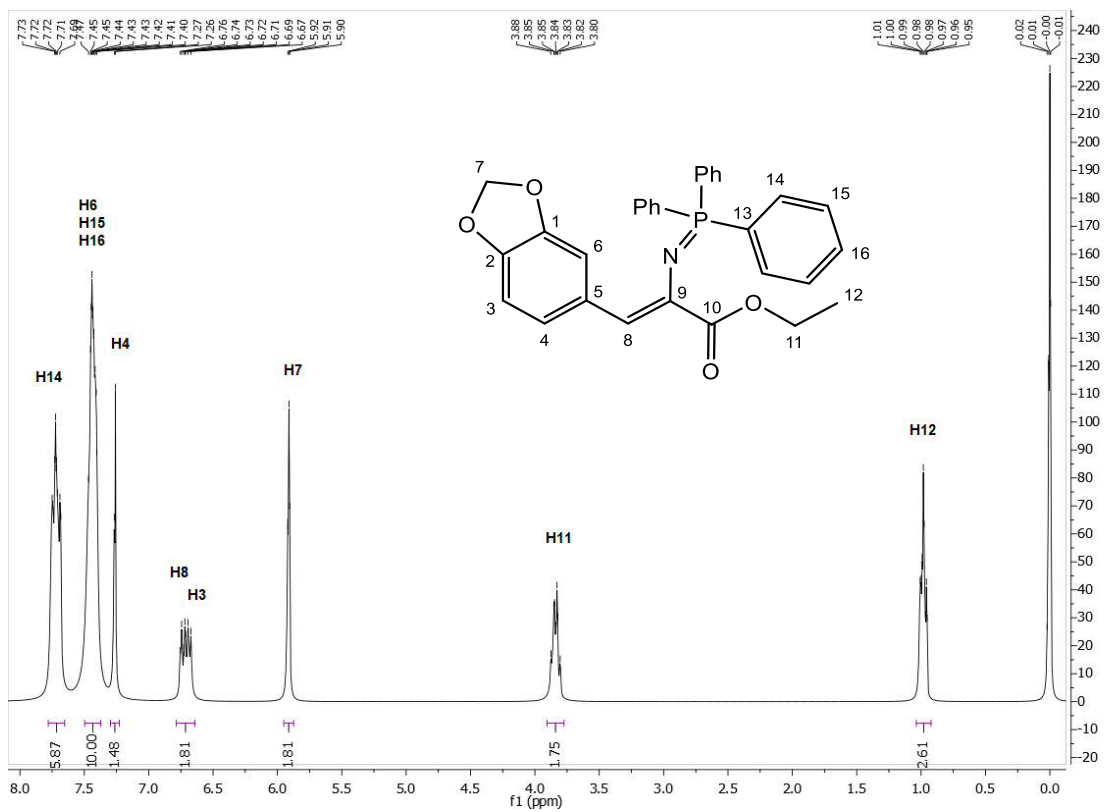




Espectro 25. Espectro de Masas del compuesto 24a.

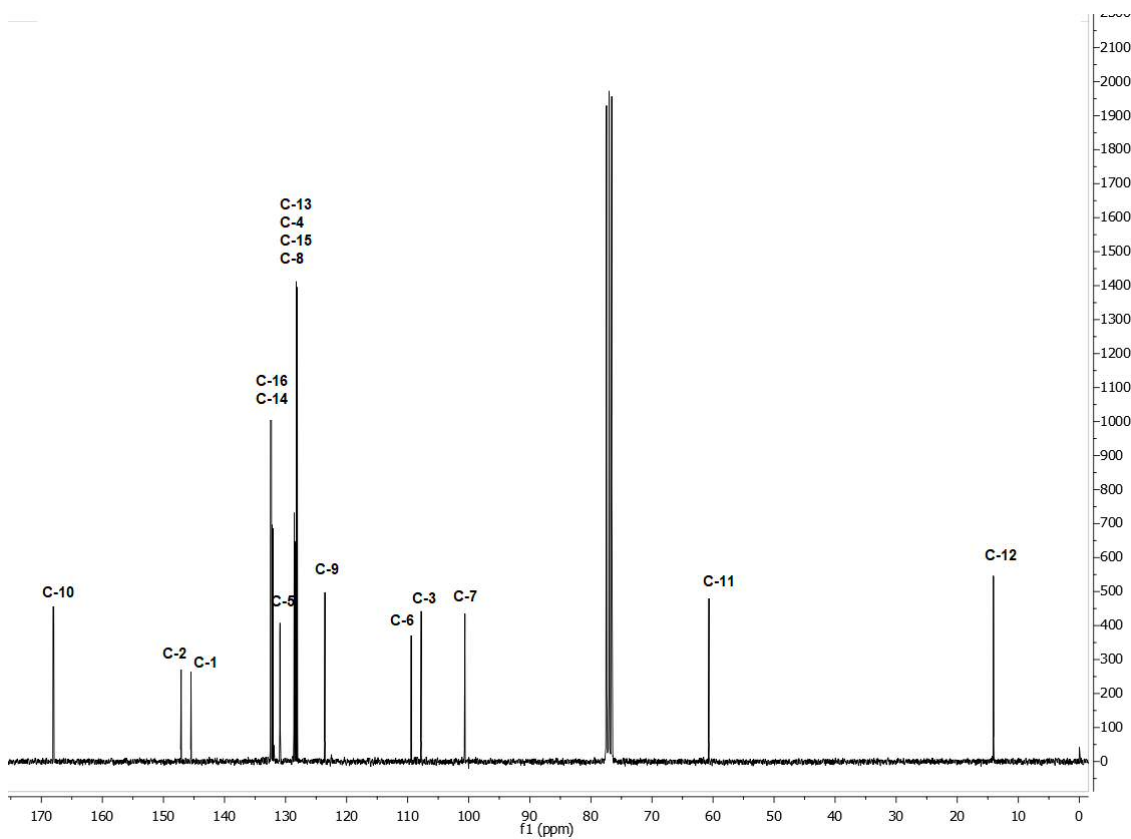


Espectro 26. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 24b.

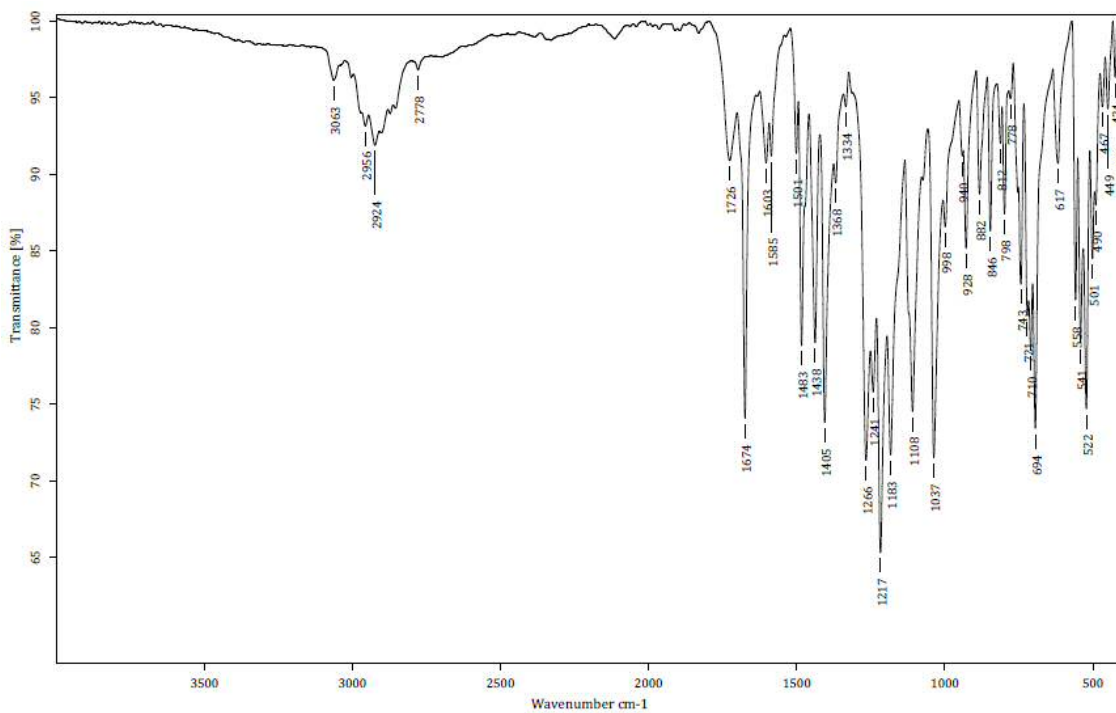




Espectro 27. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 24b.

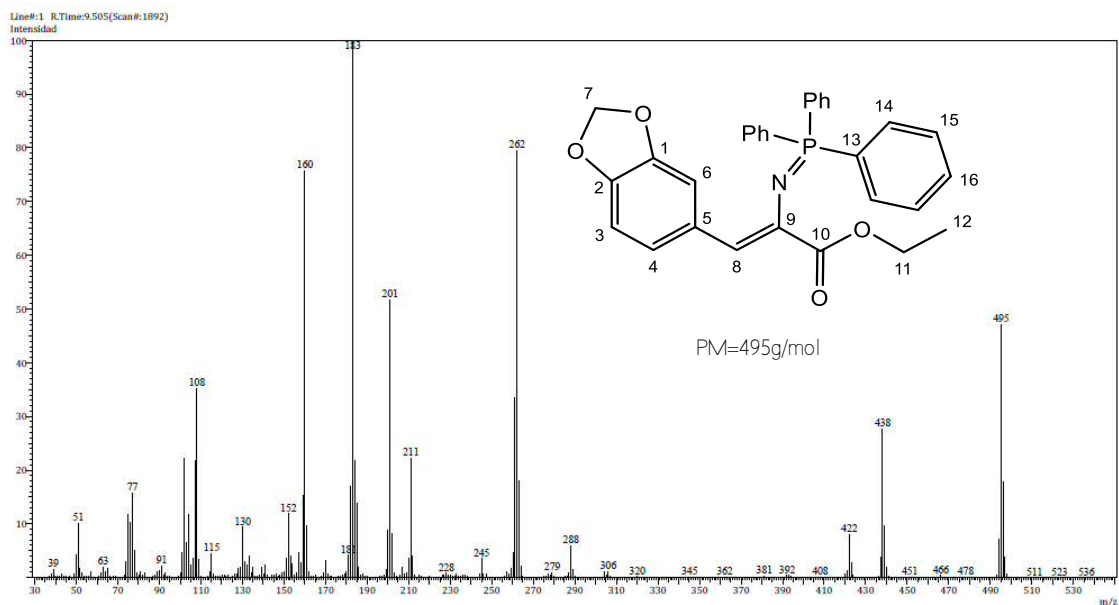


Espectro 28. Espectro de IR del compuesto 24b.

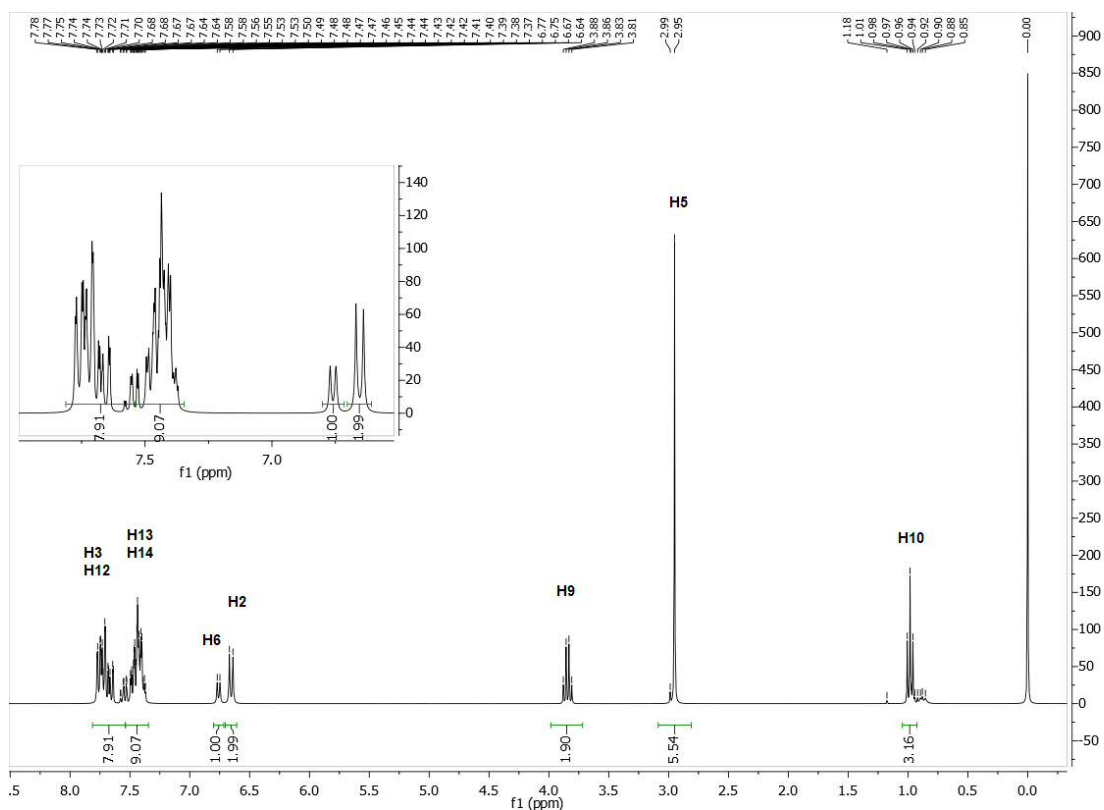




Espectro 29. Espectro de Masas del compuesto 24b.



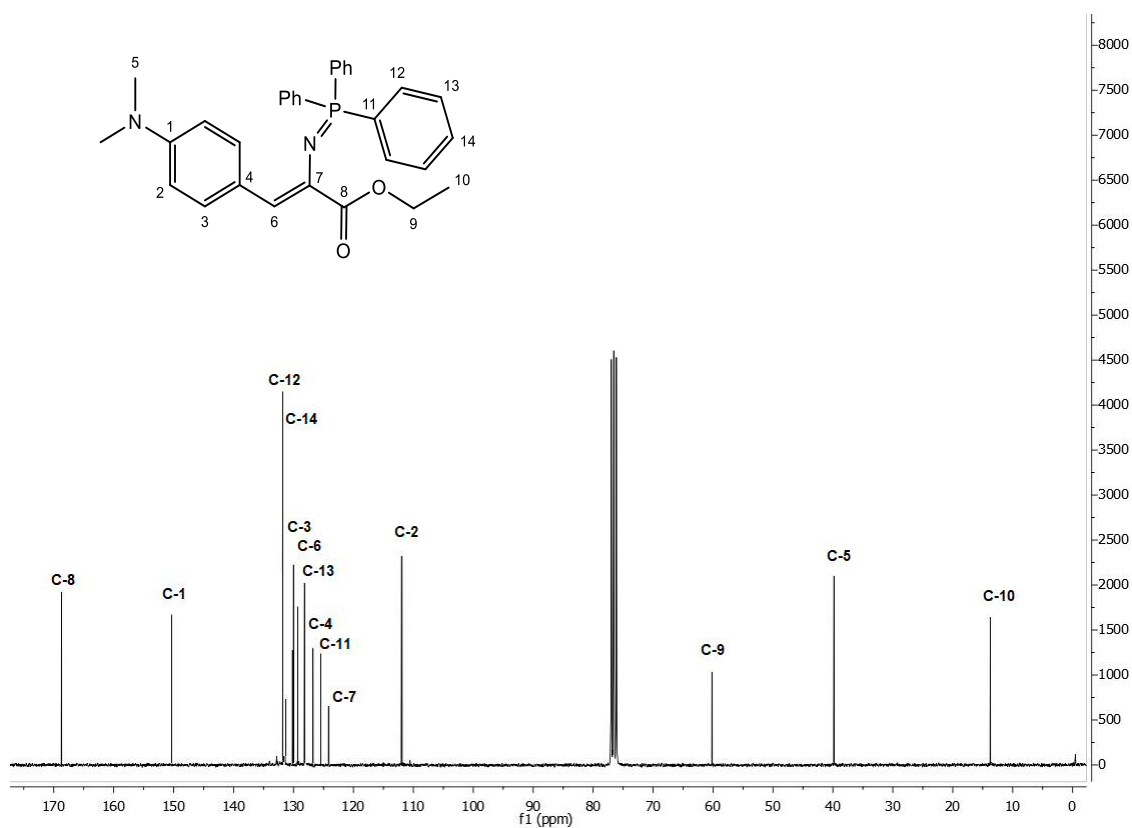
Espectro 30. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 24c.



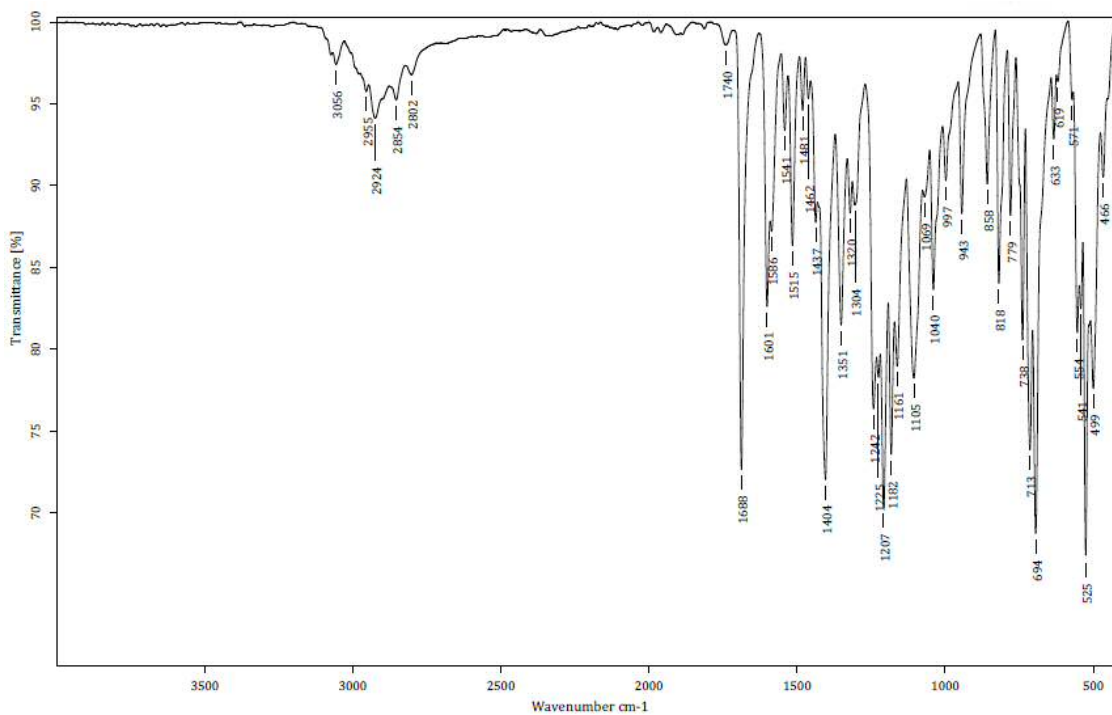


# IX. ANEXOS

Espectro 31. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 24c.

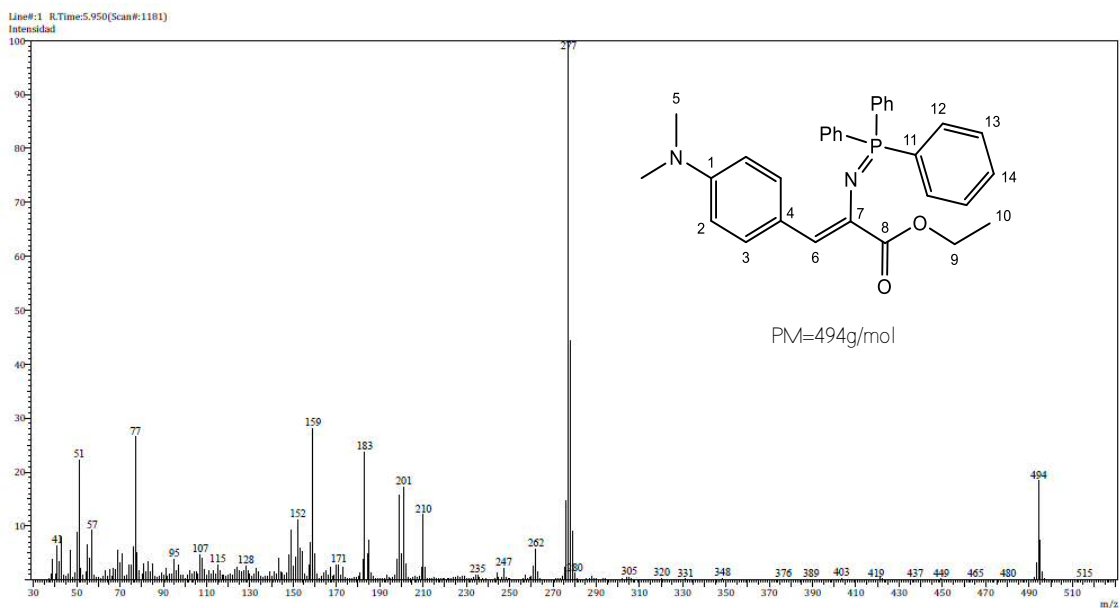


Espectro 32. Espectro de IR del compuesto 24c.

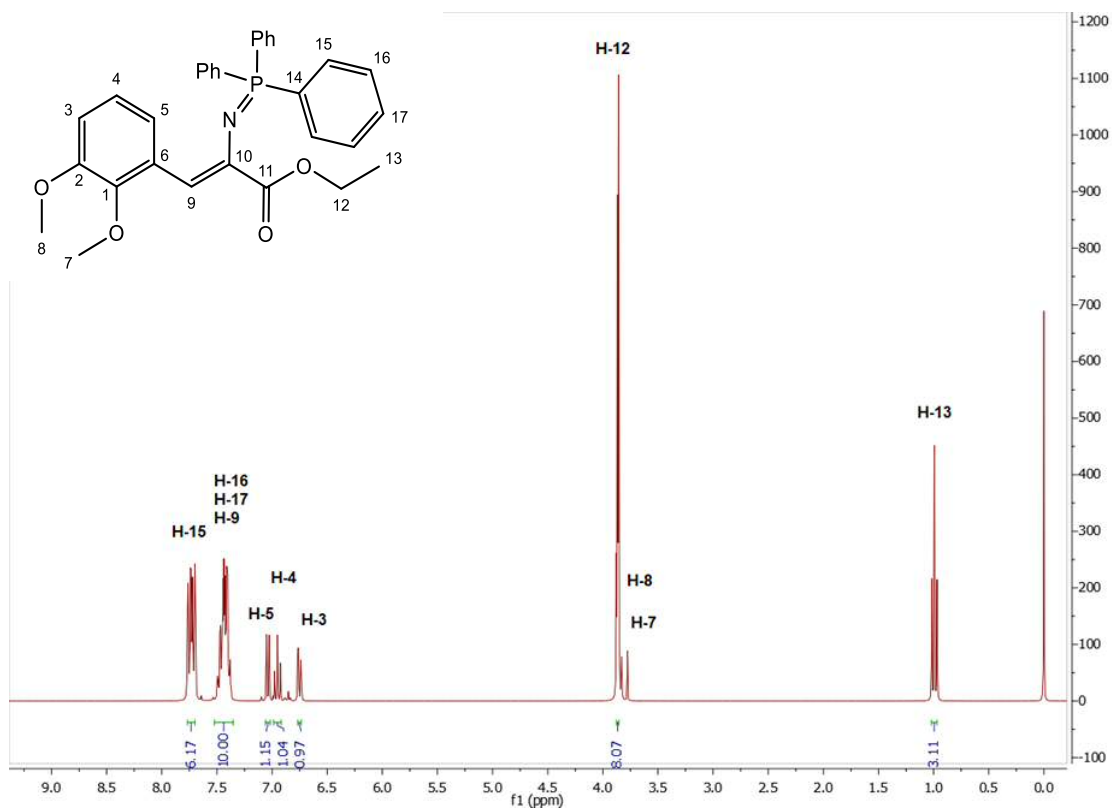




Espectro 33. Espectro de Masas del compuesto 24c.

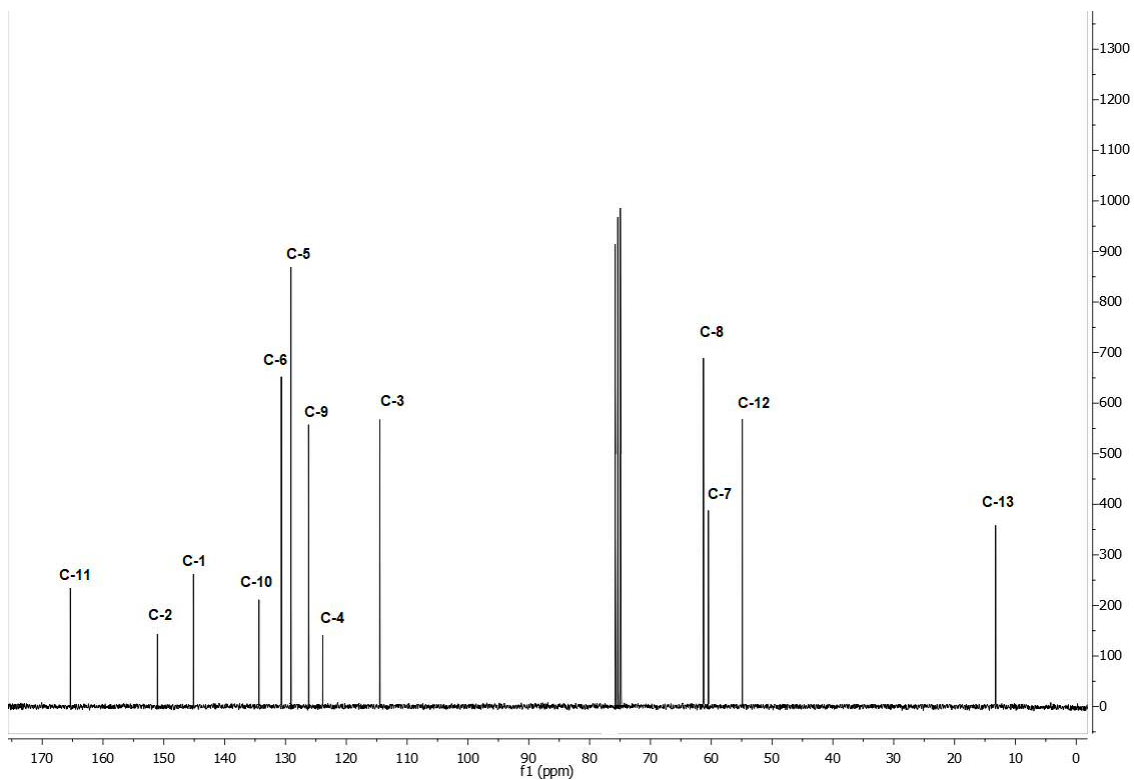


Espectro 34. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 24d.

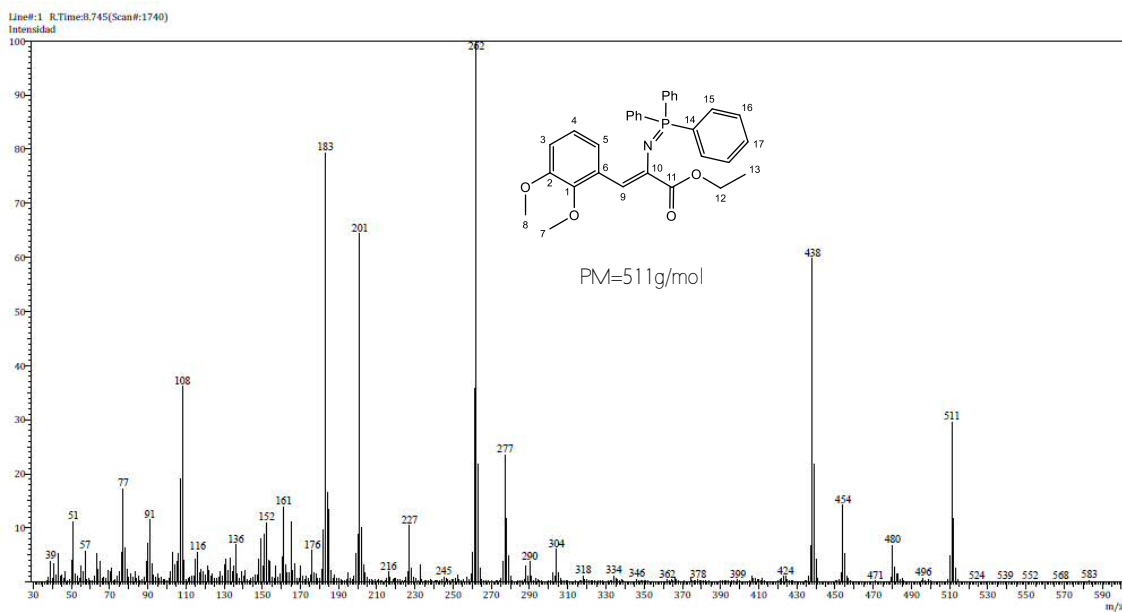




Espectro 35. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 24d.



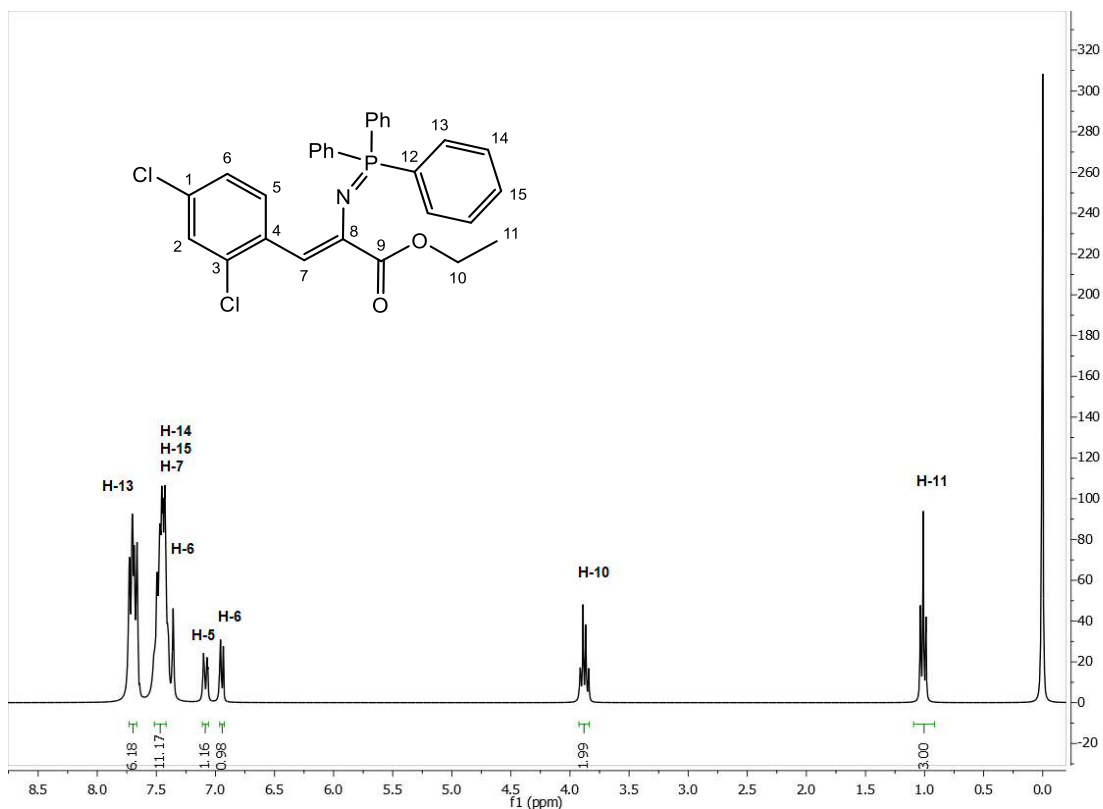
Espectro 36. Espectro de Masas del compuesto 24d.



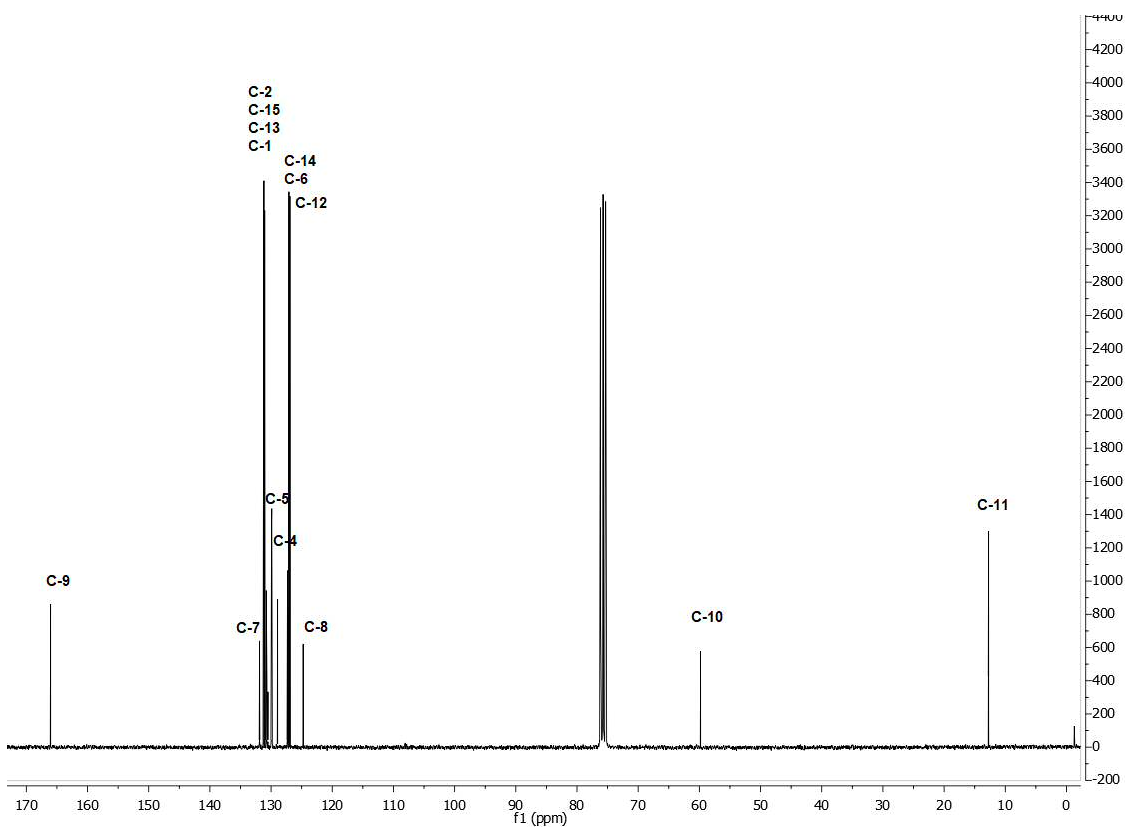




Espectro 37. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 24e.

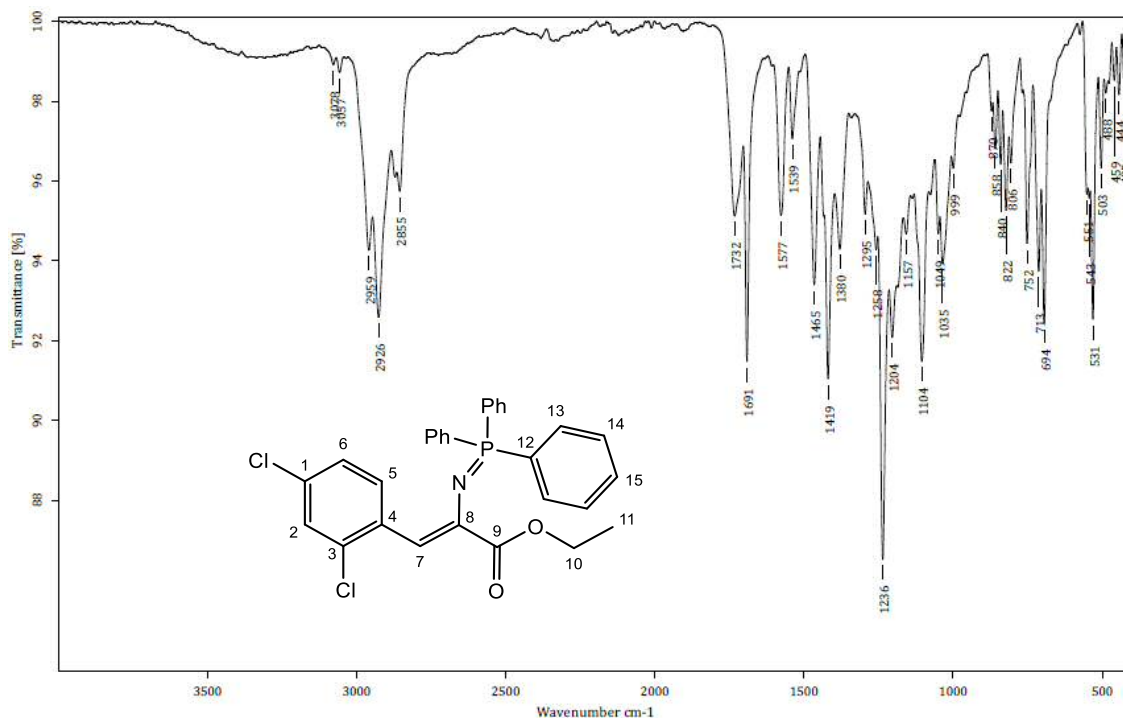


Espectro 38. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 24e.

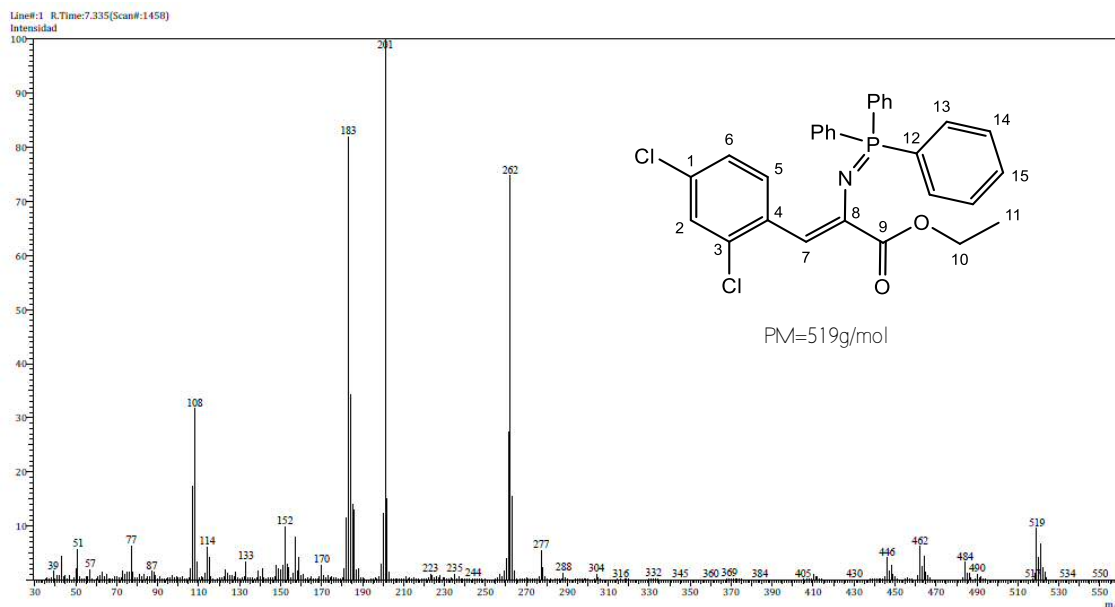




Espectro 39. Espectro de IR del compuesto 24e.

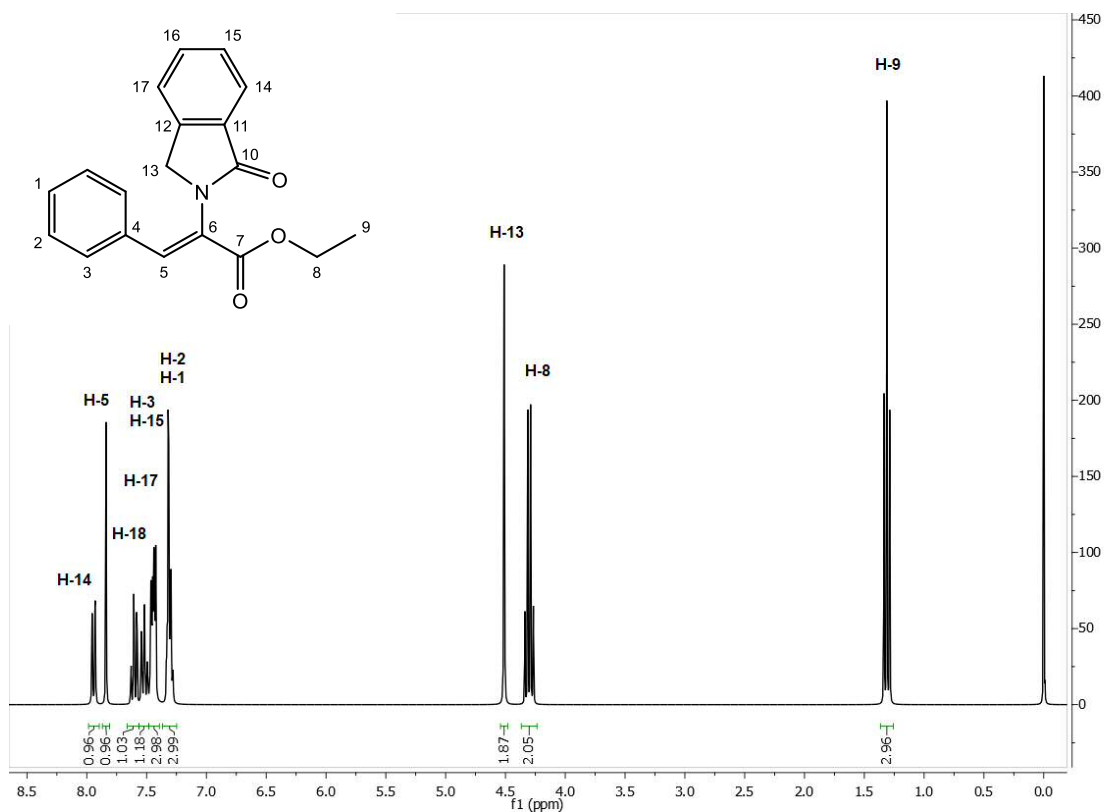


Espectro 40. Espectro de Masas del compuesto 24e.

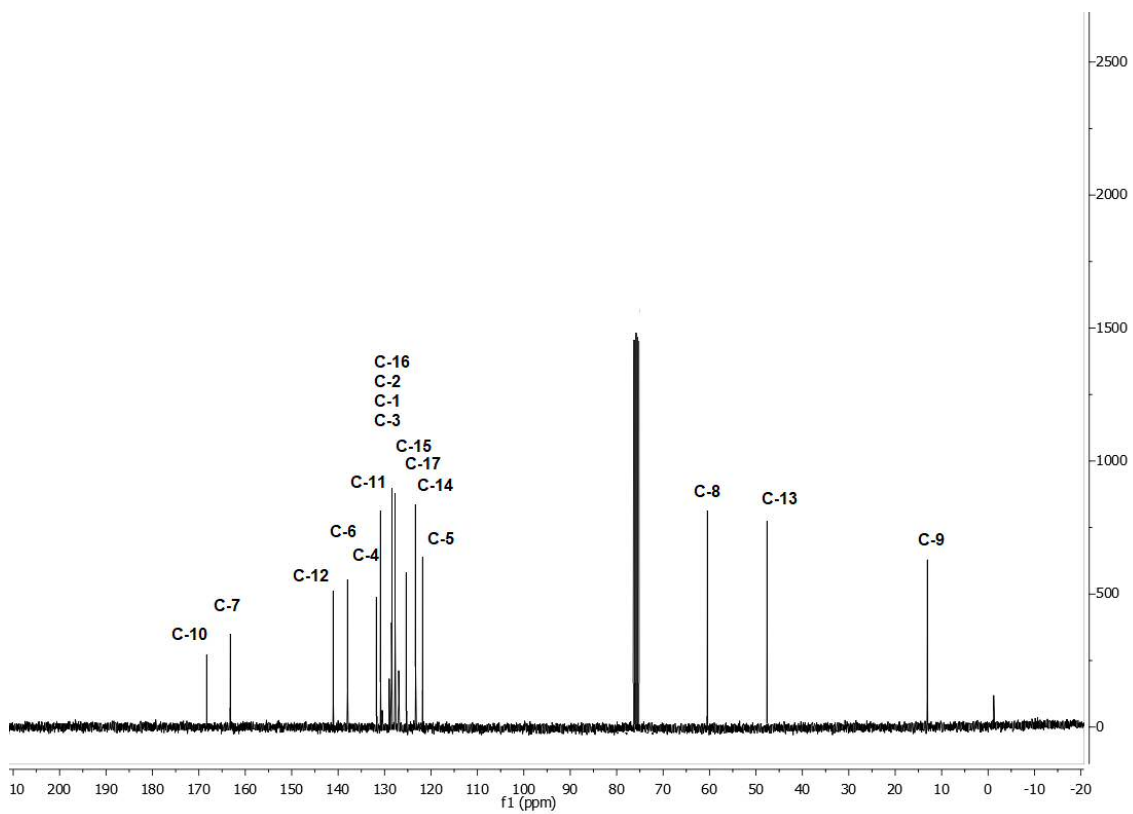




Espectro 41. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 25a.

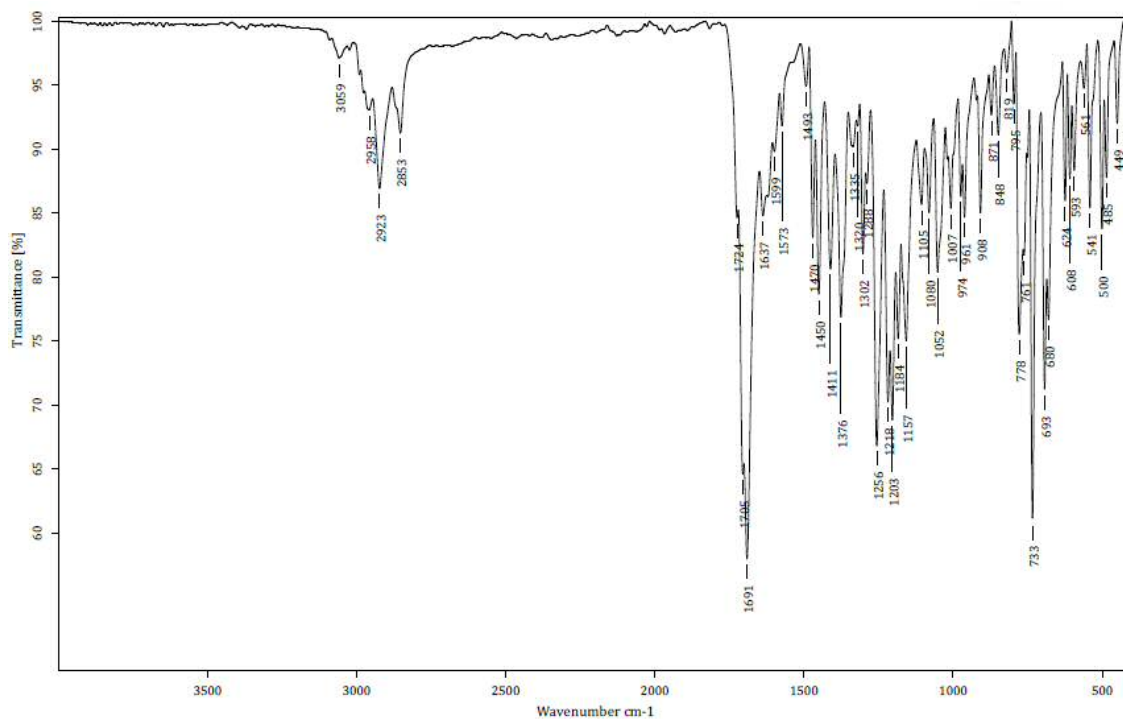


Espectro 42. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 25a.

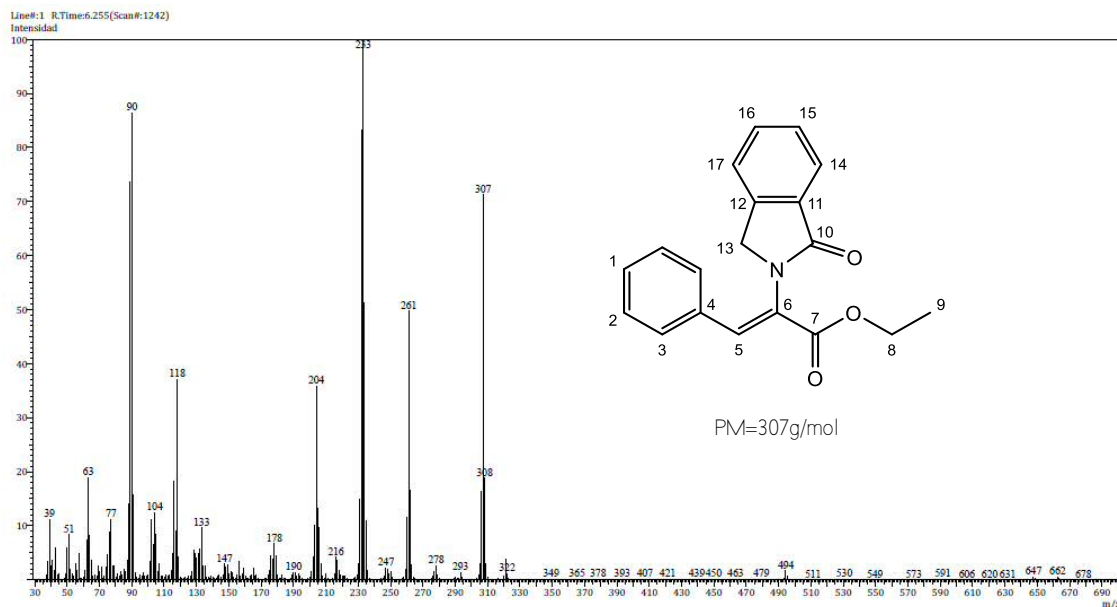




Espectro 43. Espectro de IR del compuesto 25a.

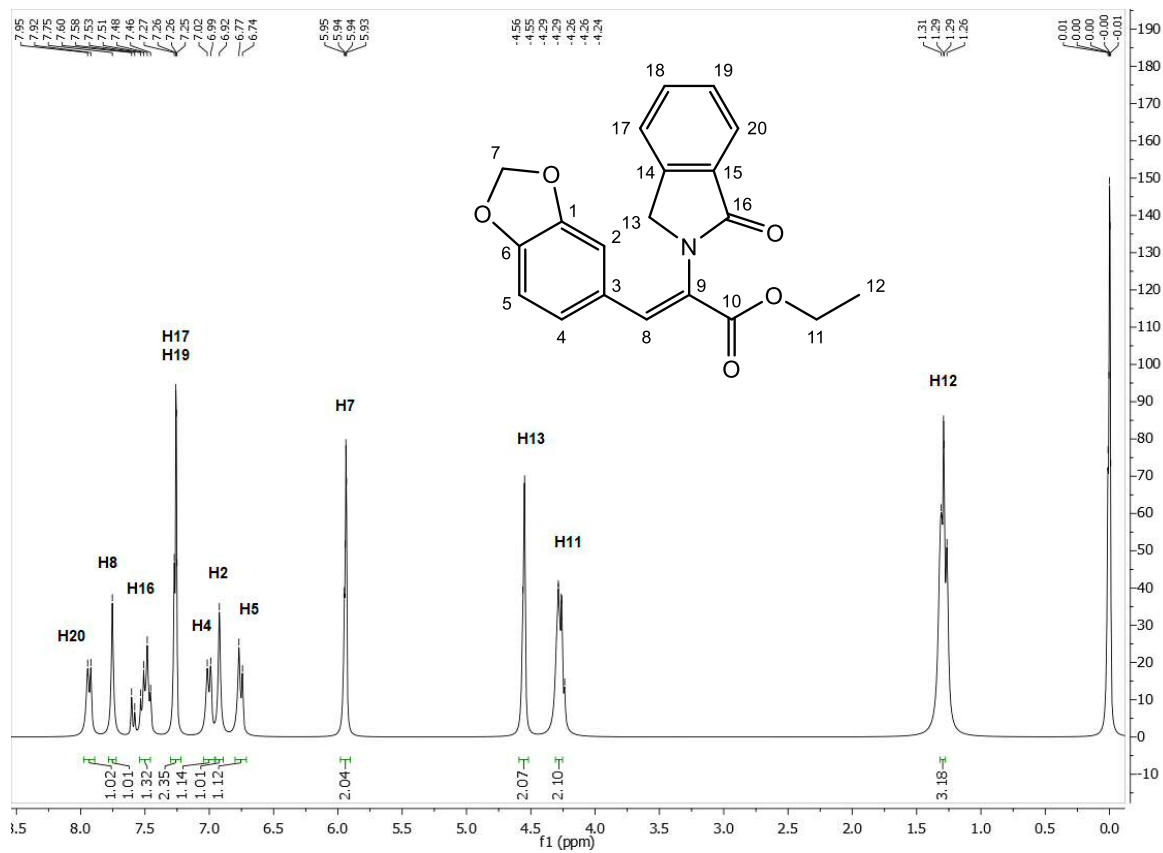


Espectro 44. Espectro de Masas del compuesto 25a.

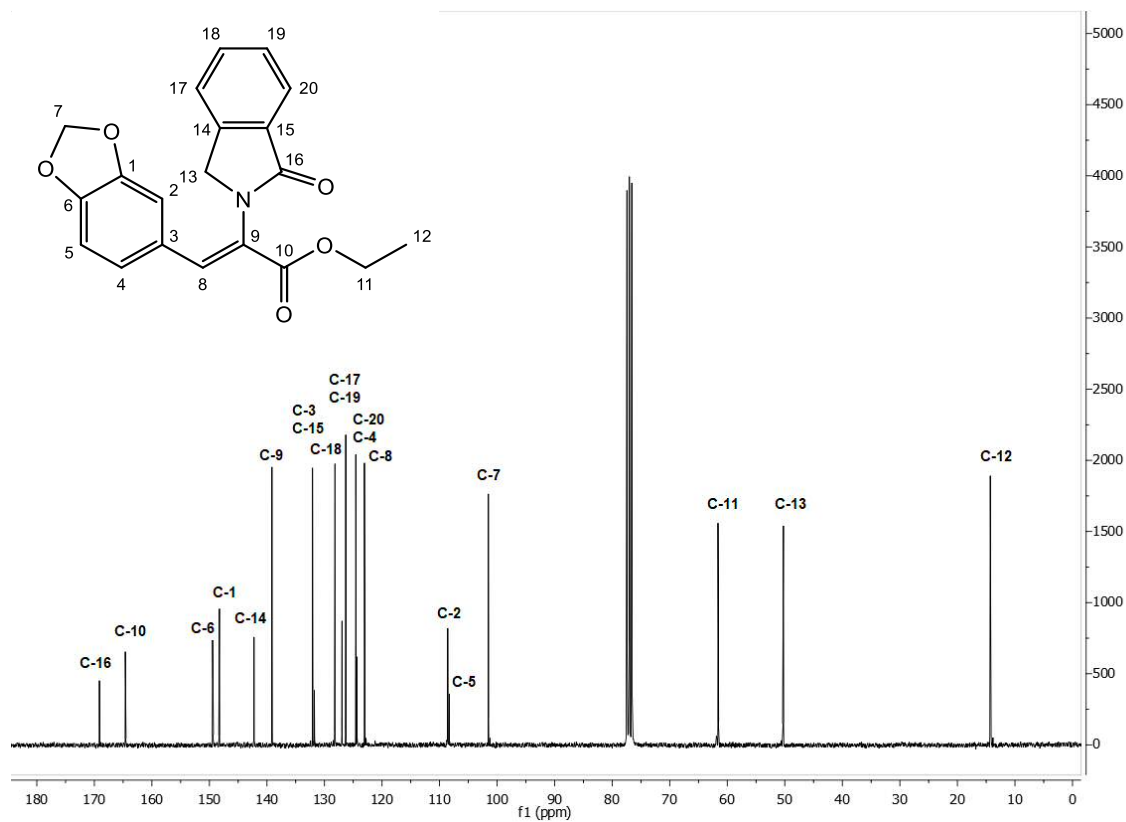




Espectro 45. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 25b.

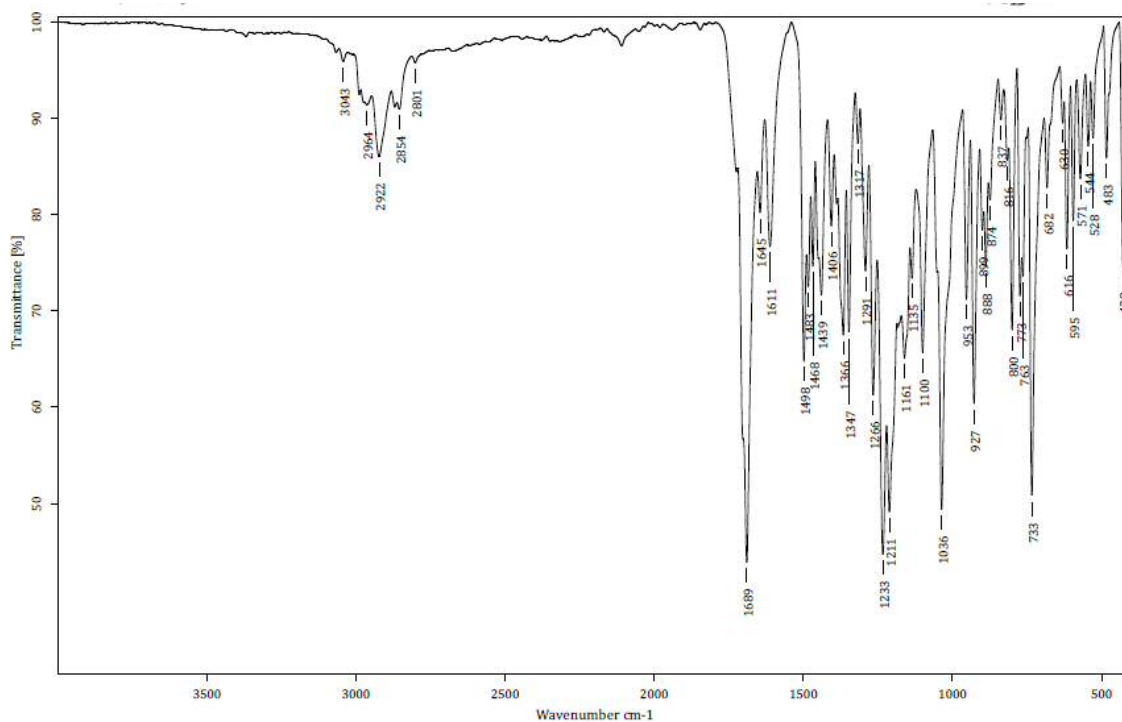


Espectro 46. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 25b.

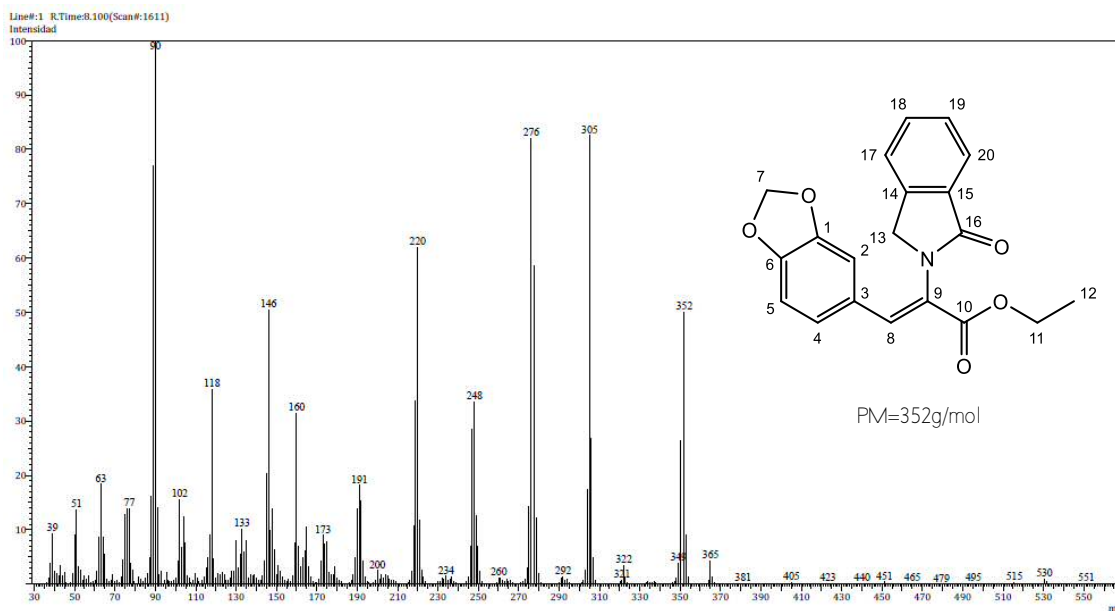




Espectro 47. Espectro de IR del compuesto 25b.



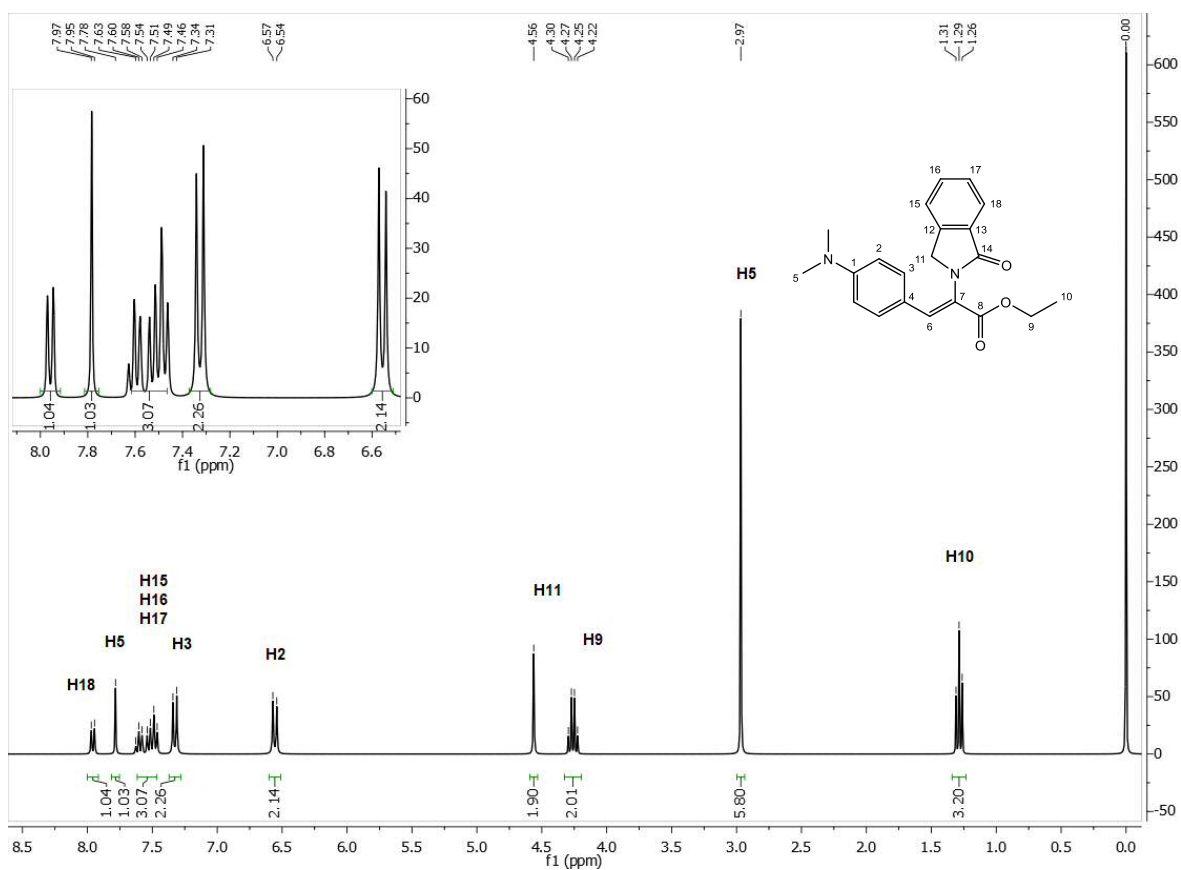
Espectro 48. Espectro de Masas del compuesto 25b.



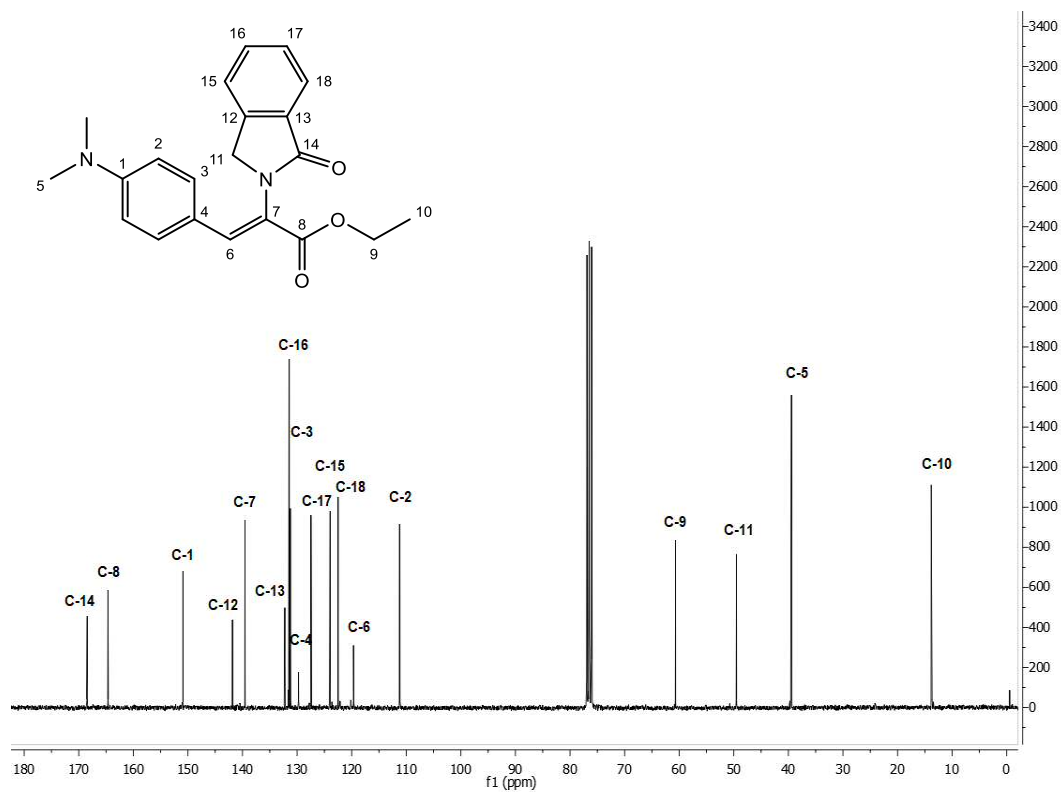


# IX. ANEXOS

Espectro 49. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 25c.

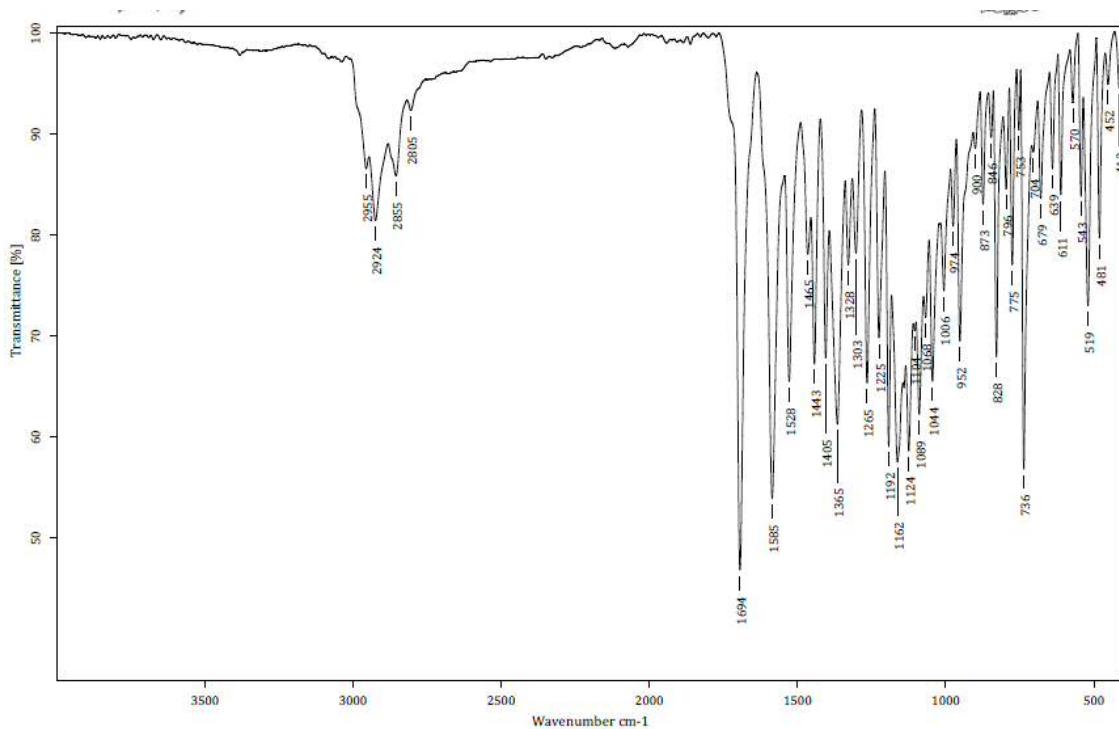


Espectro 50. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 25c.

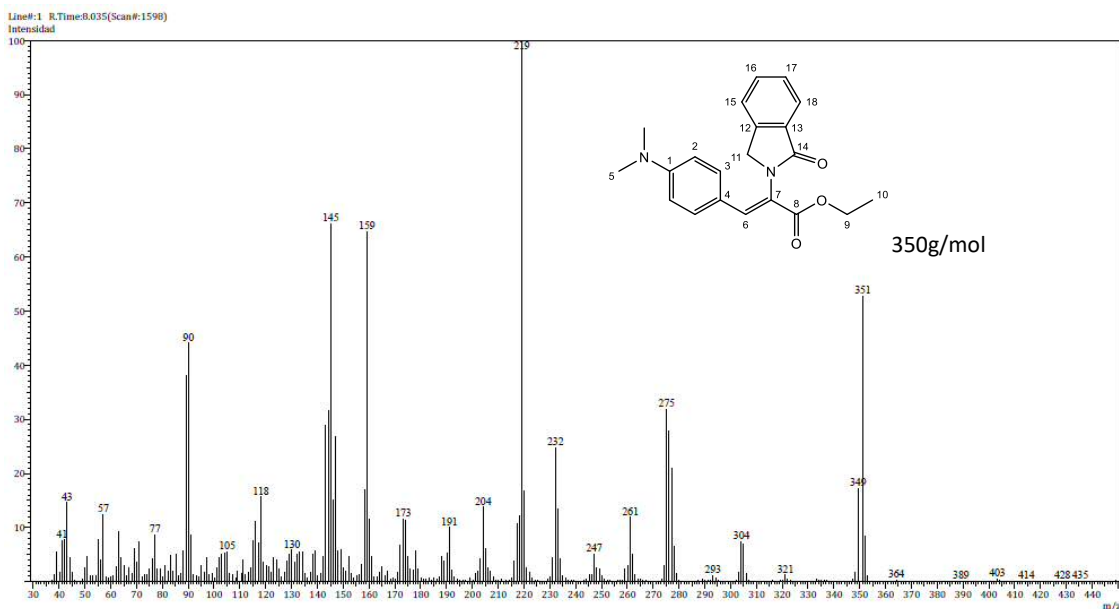




Espectro 51. Espectro de IR del compuesto 25c.



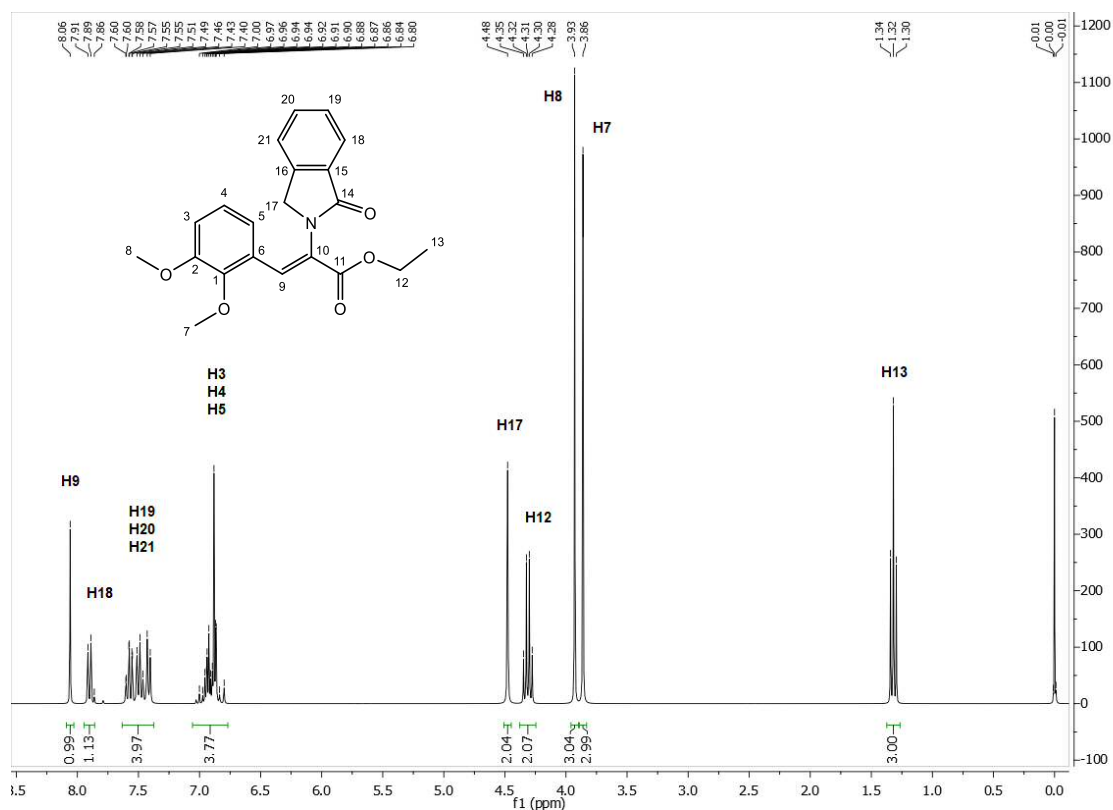
Espectro 52. Espectro de Masas del compuesto 25c.



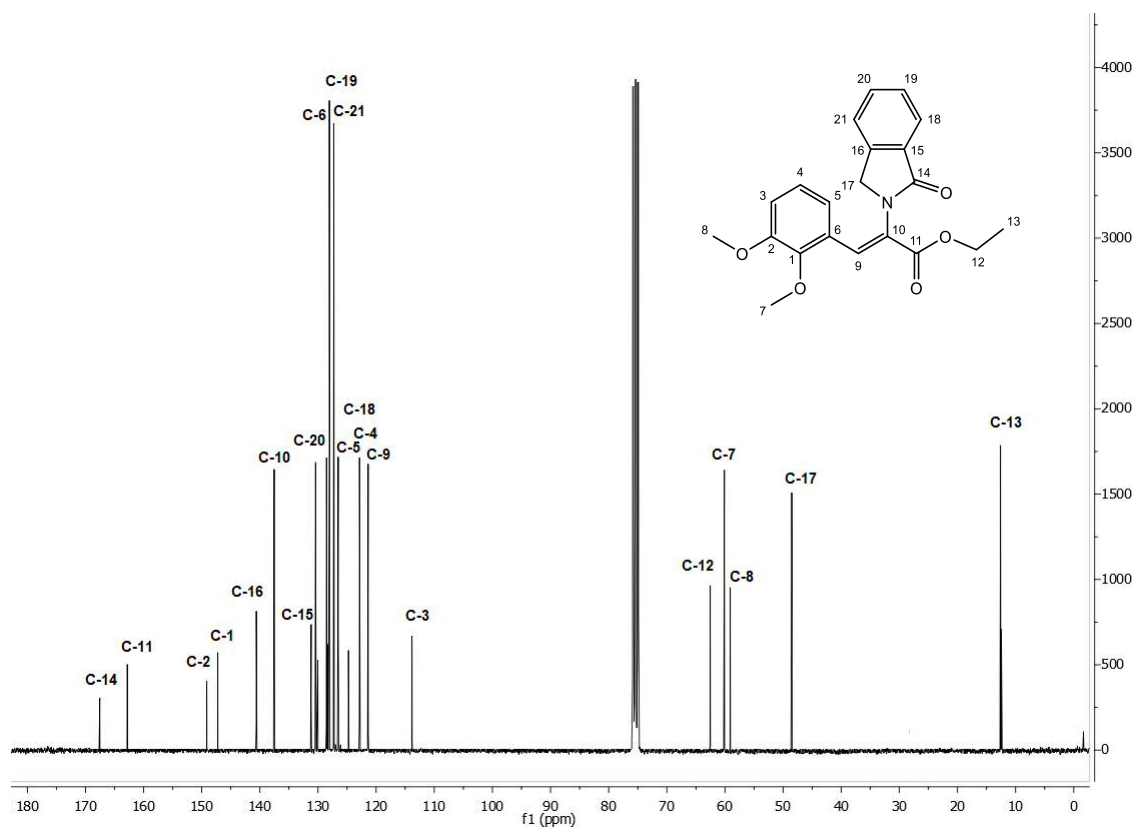




Espectro 53 Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 25d.

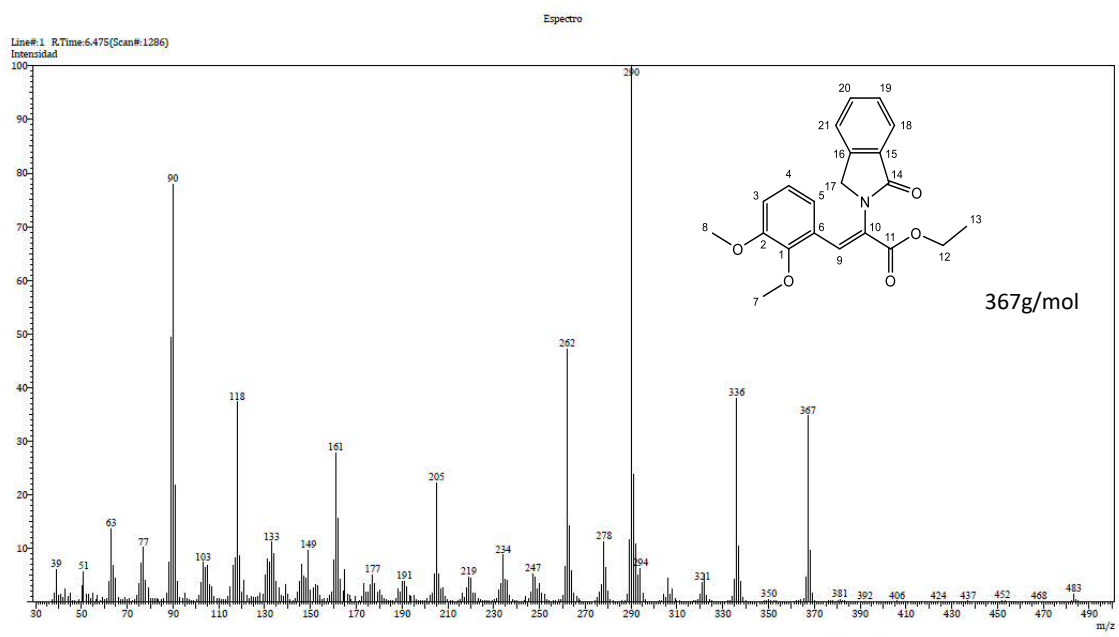


Espectro 54. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 25d.

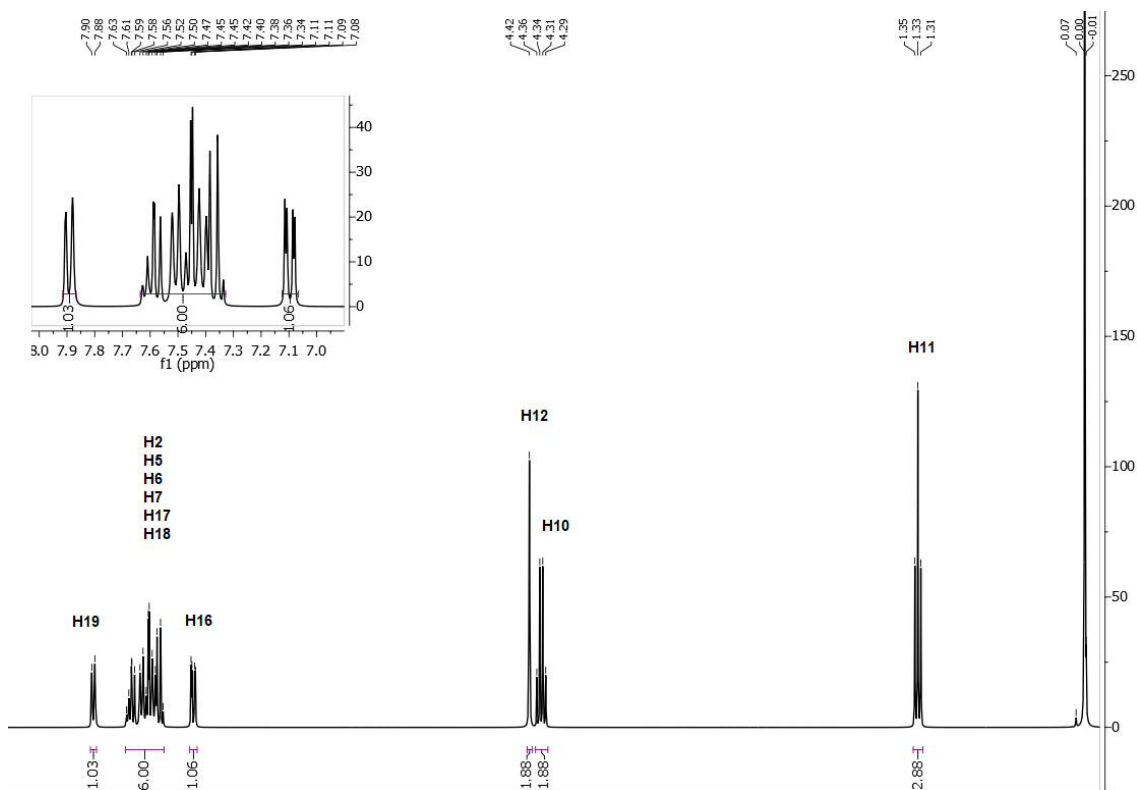




Espectro 55. Espectro de Masas del compuesto 25d.

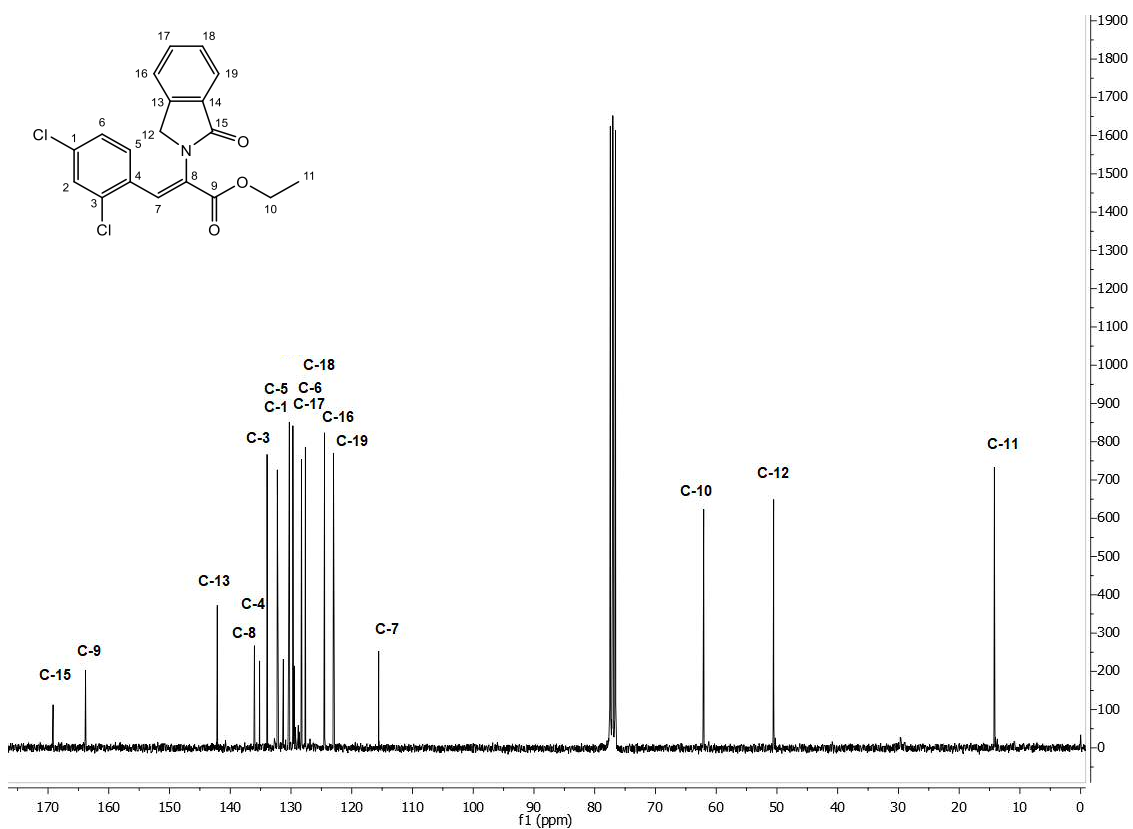


Espectro 56. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 25e.

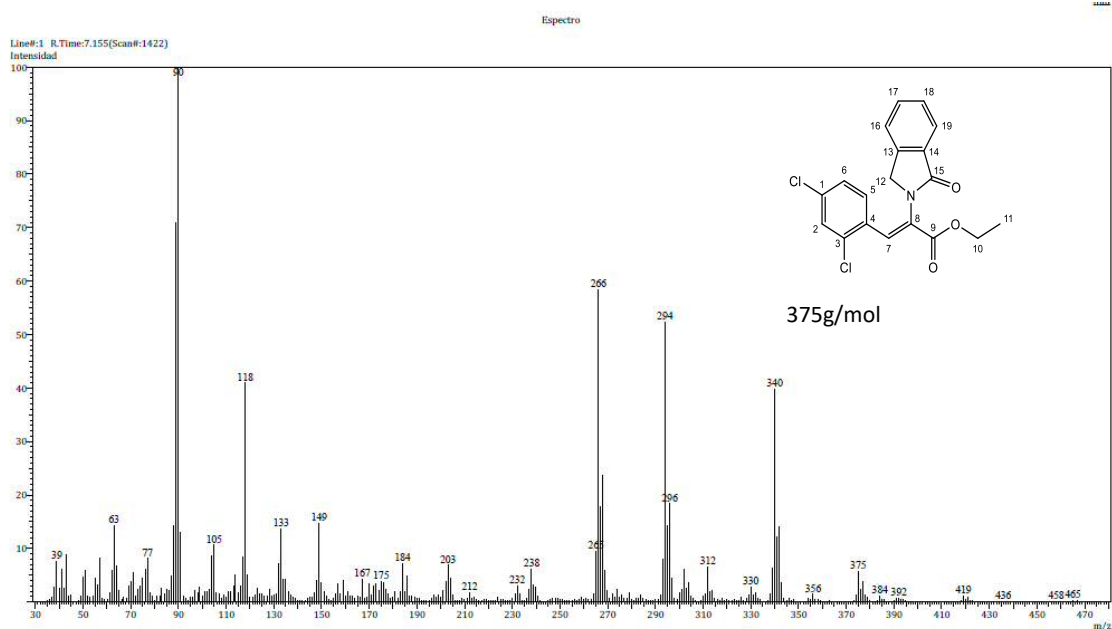




Espectro 57. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 25e.

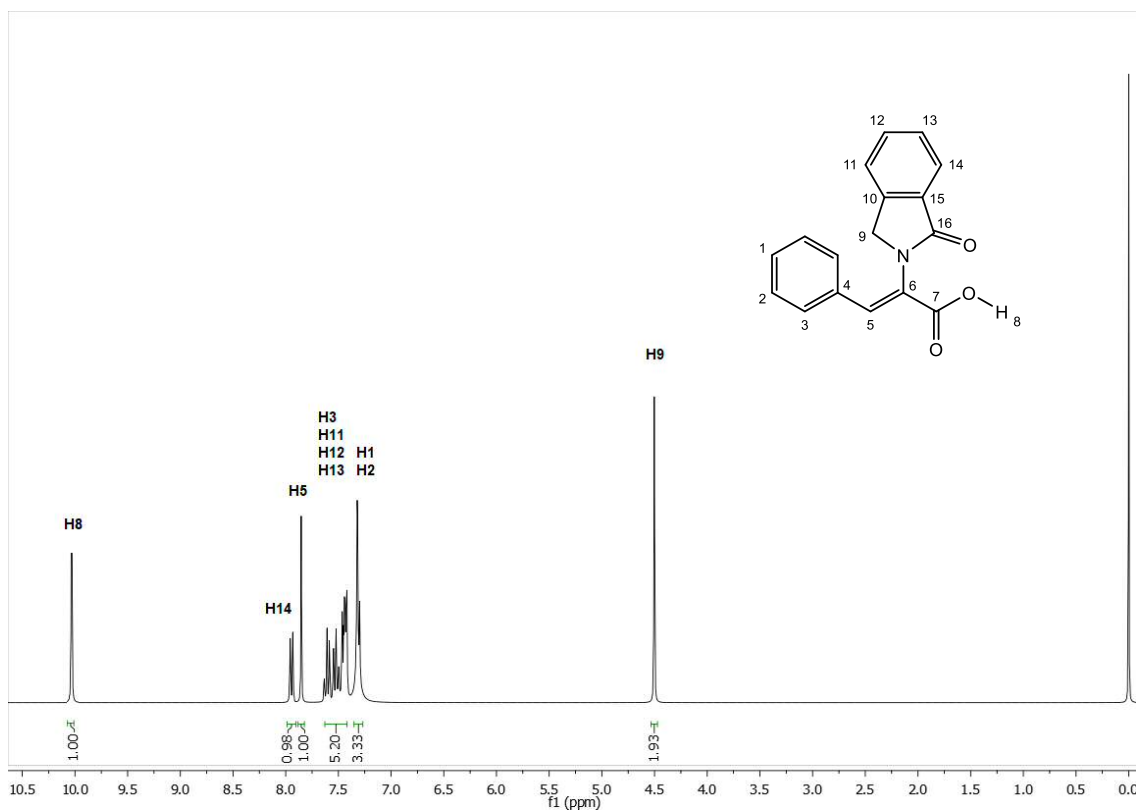


Espectro 58. Espectro de Masas del compuesto 25e.

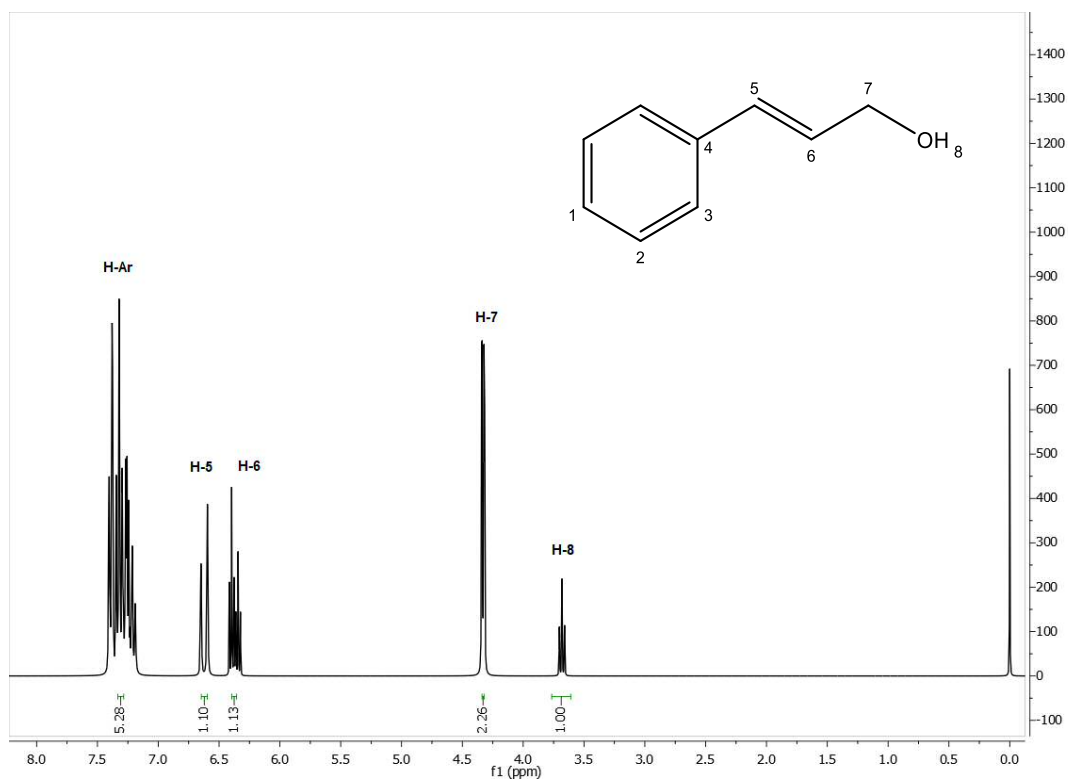




Espectro 59. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 32.

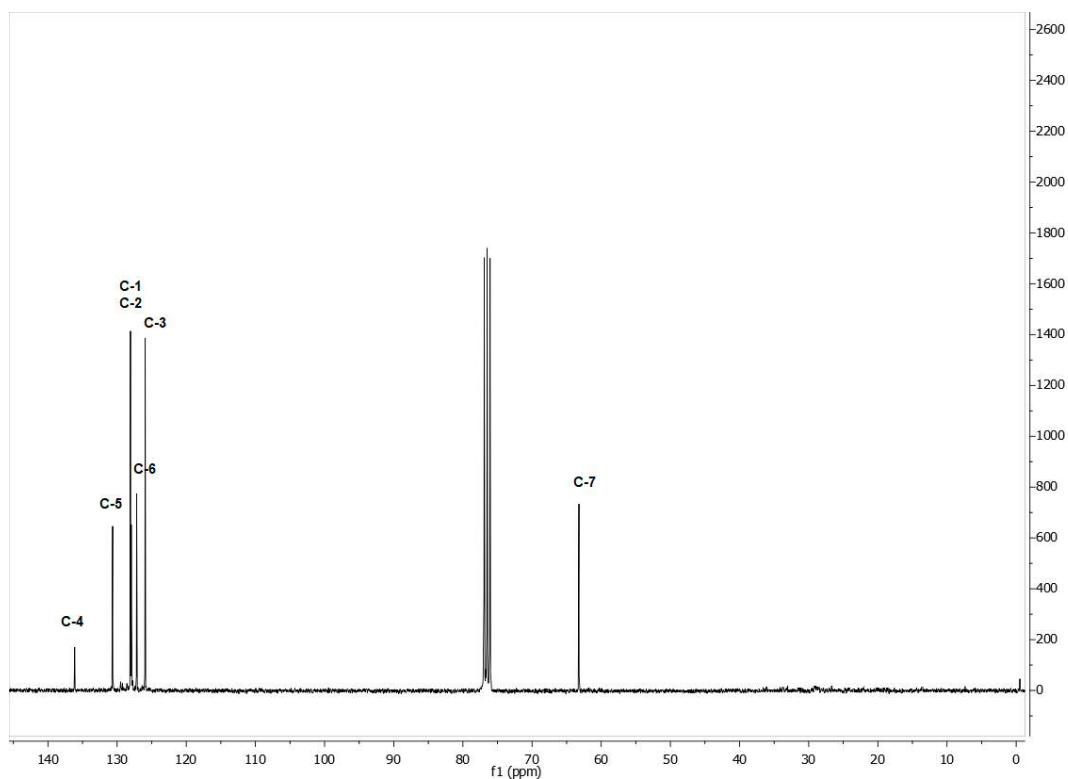


Espectro 60. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 35.

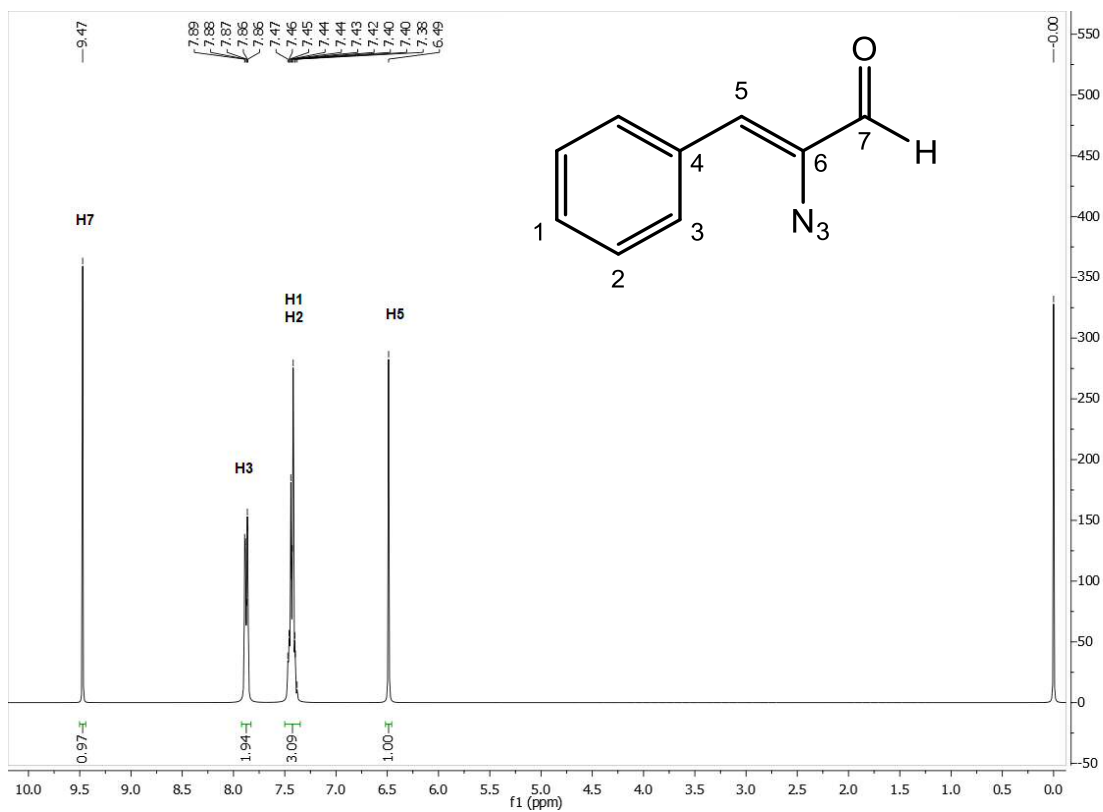




Espectro 61. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 35.

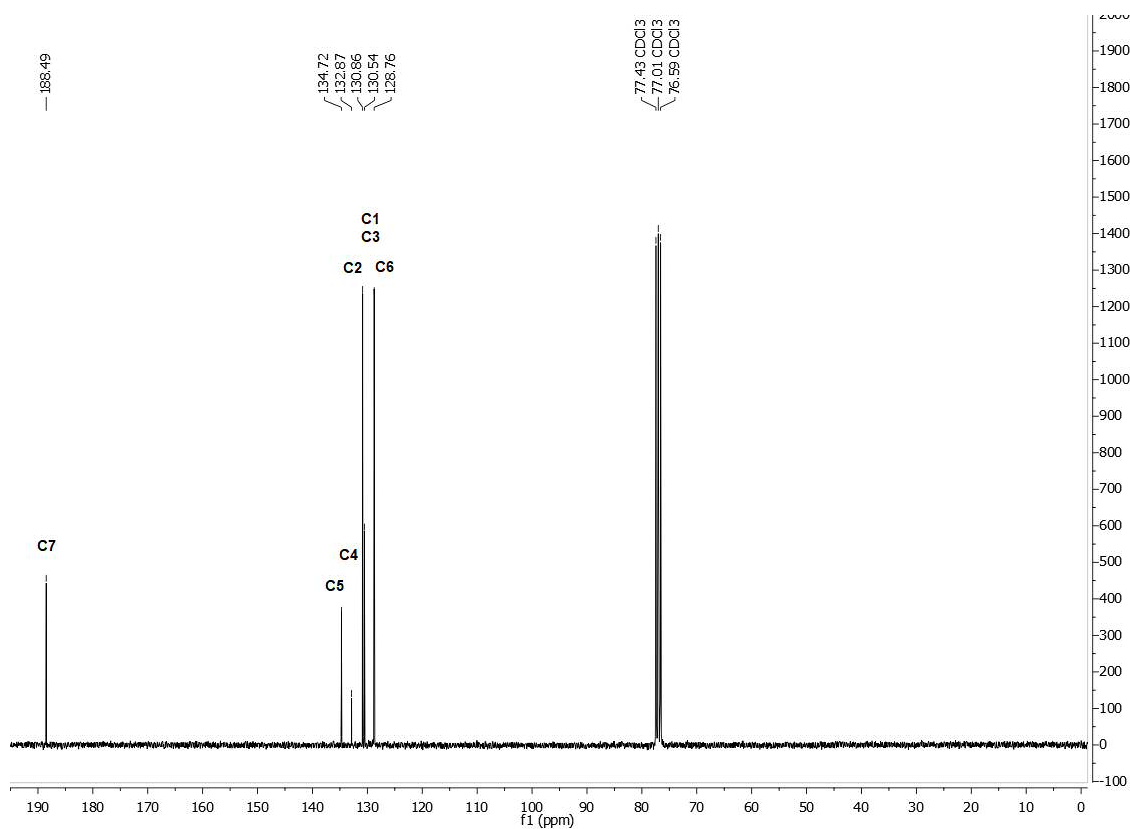


Espectro 62. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 36.

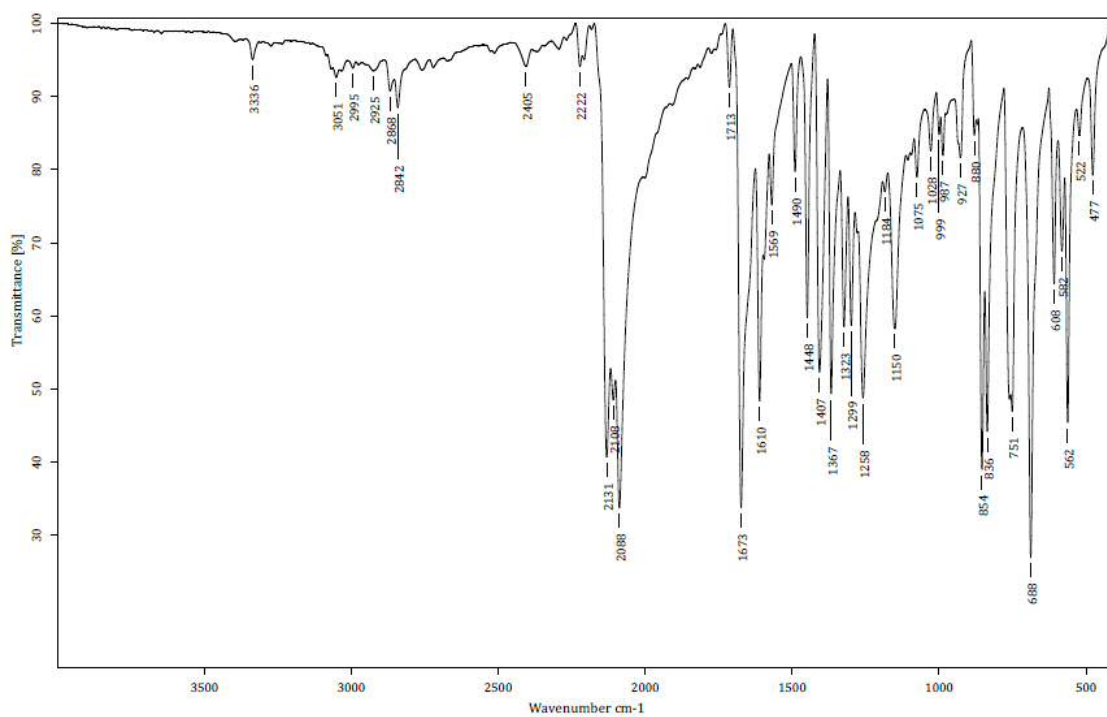




Espectro 63. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 36.

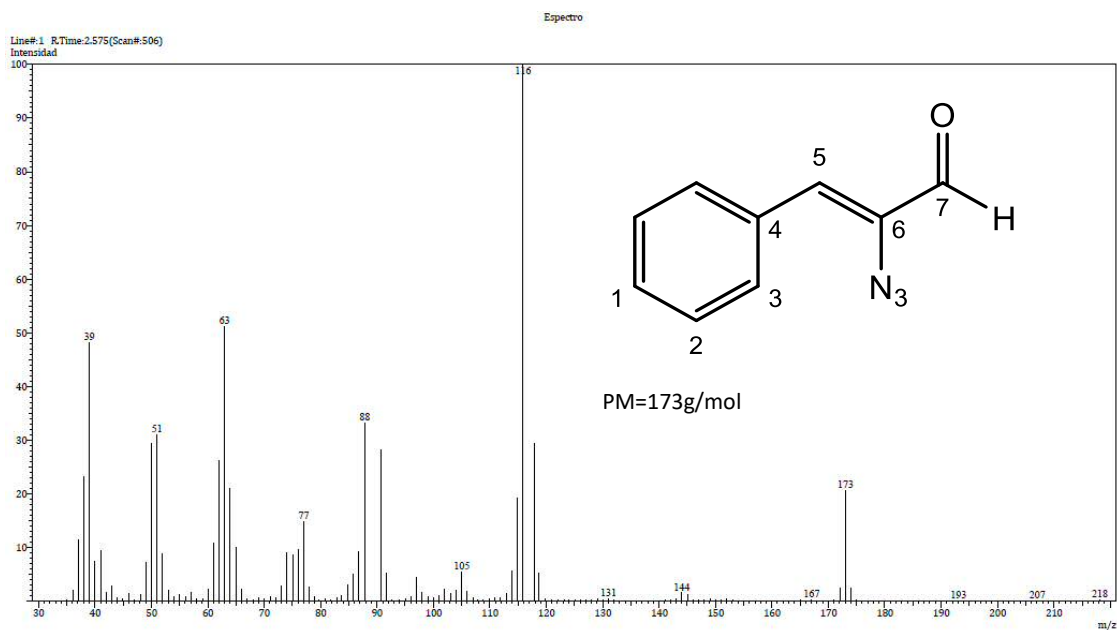


Espectro 64. Espectro de IR del compuesto 36.

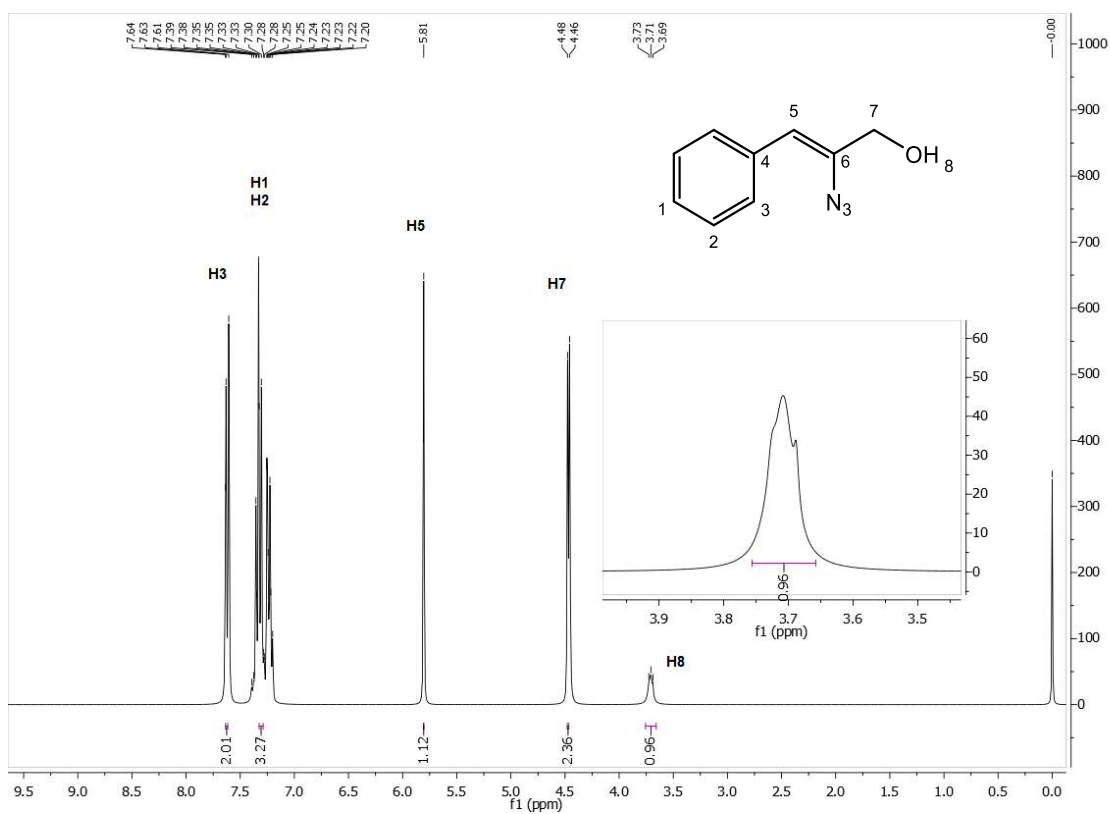




Espectro 65. Espectro de Masas del compuesto 36.

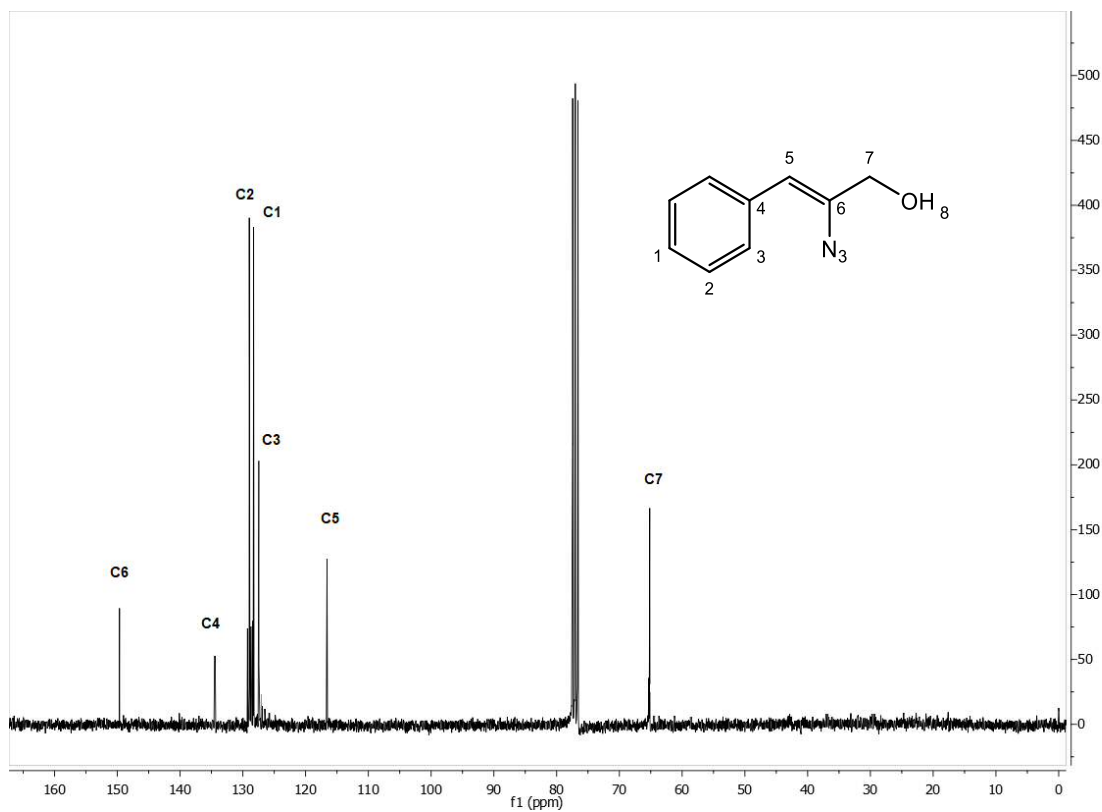


Espectro 66. Espectro de RMN-1H del compuesto 41.

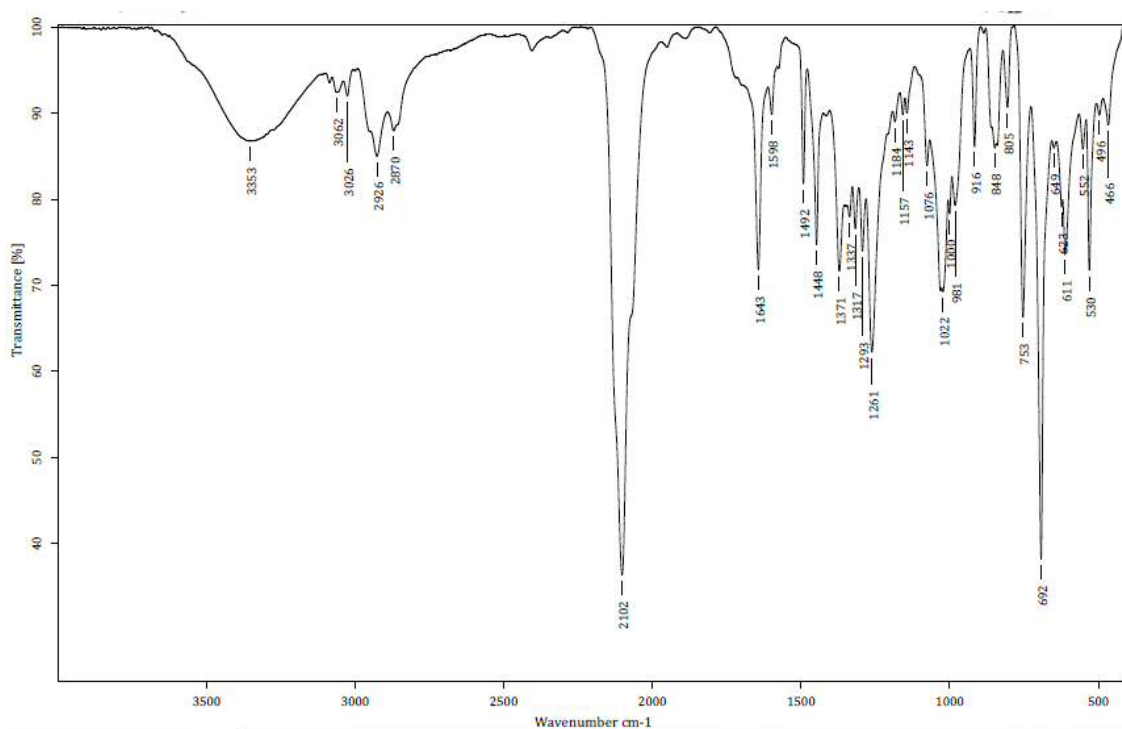




Espectro 67. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 41.



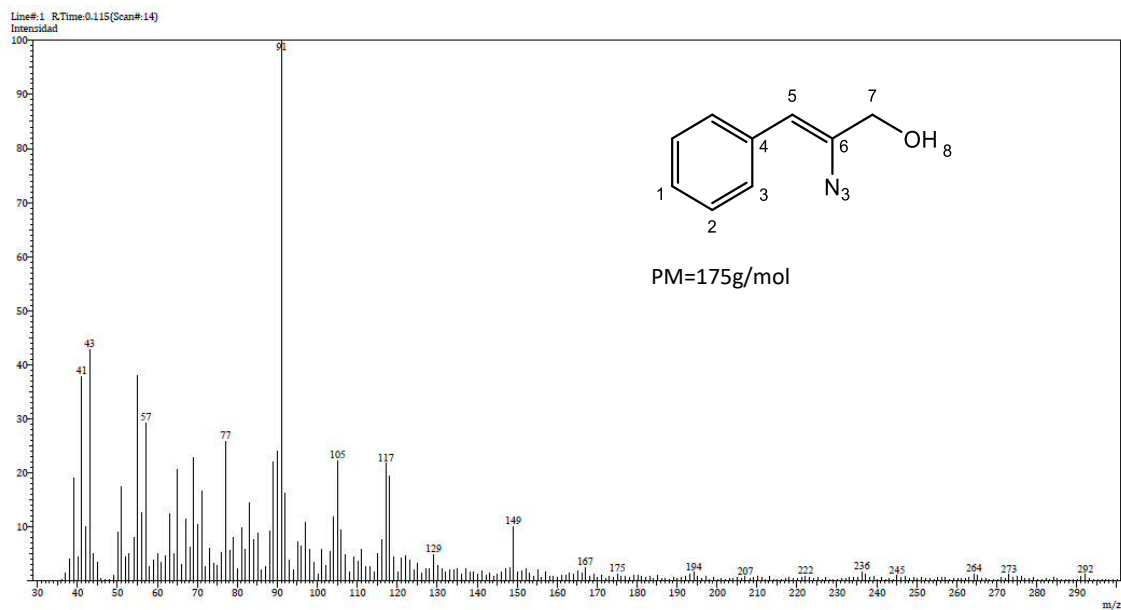
Espectro 68. Espectro de IR del compuesto 41.



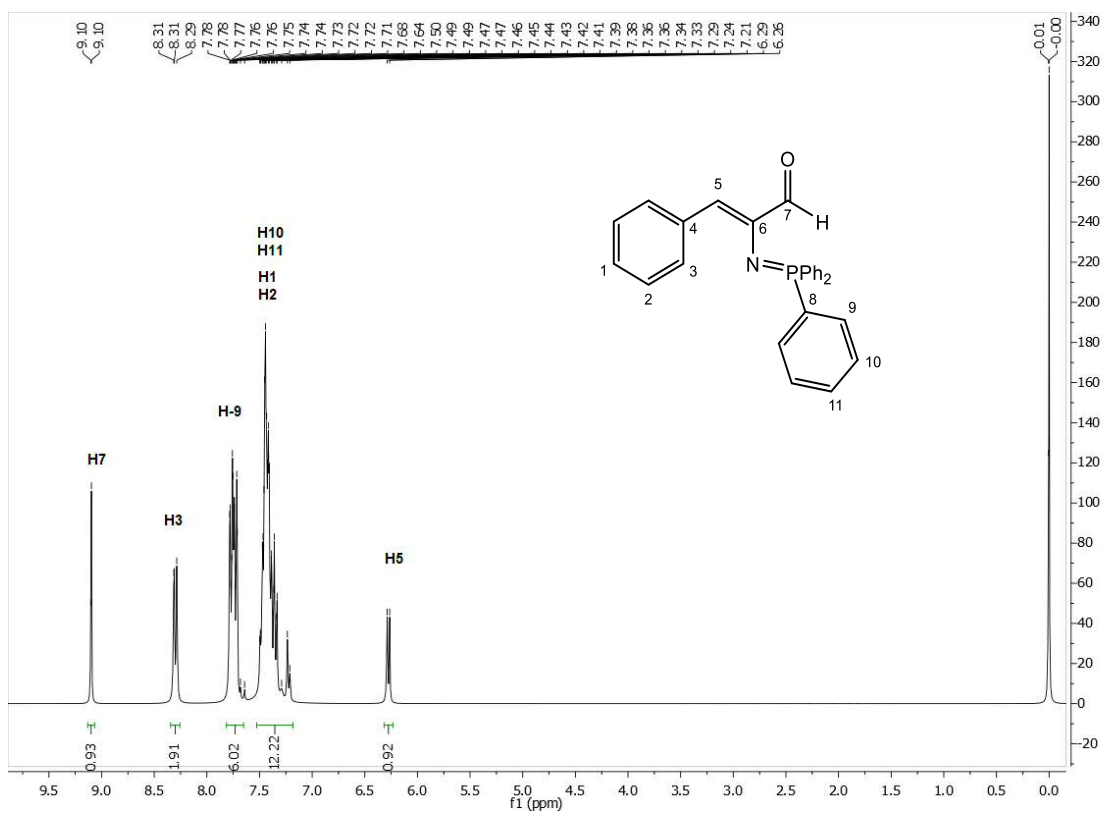




Espectro 69. Espectro de Masas del compuesto 41.

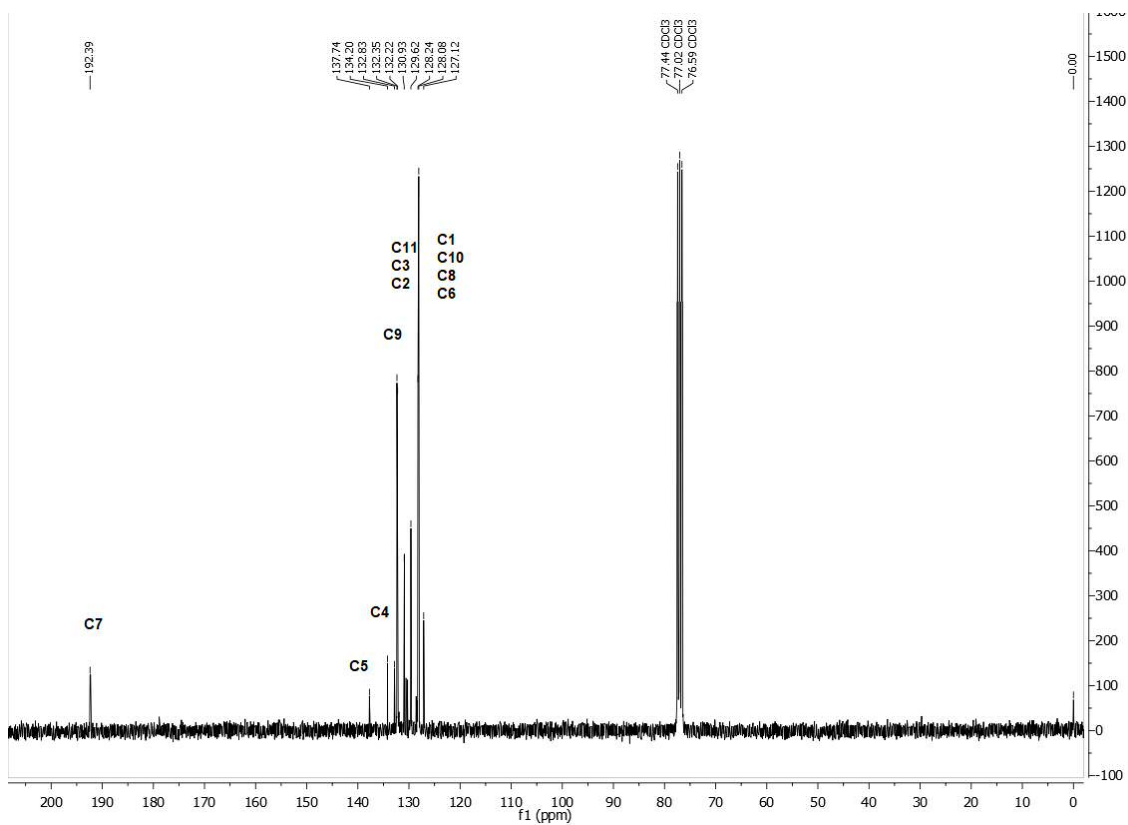


Espectro 70. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 37.

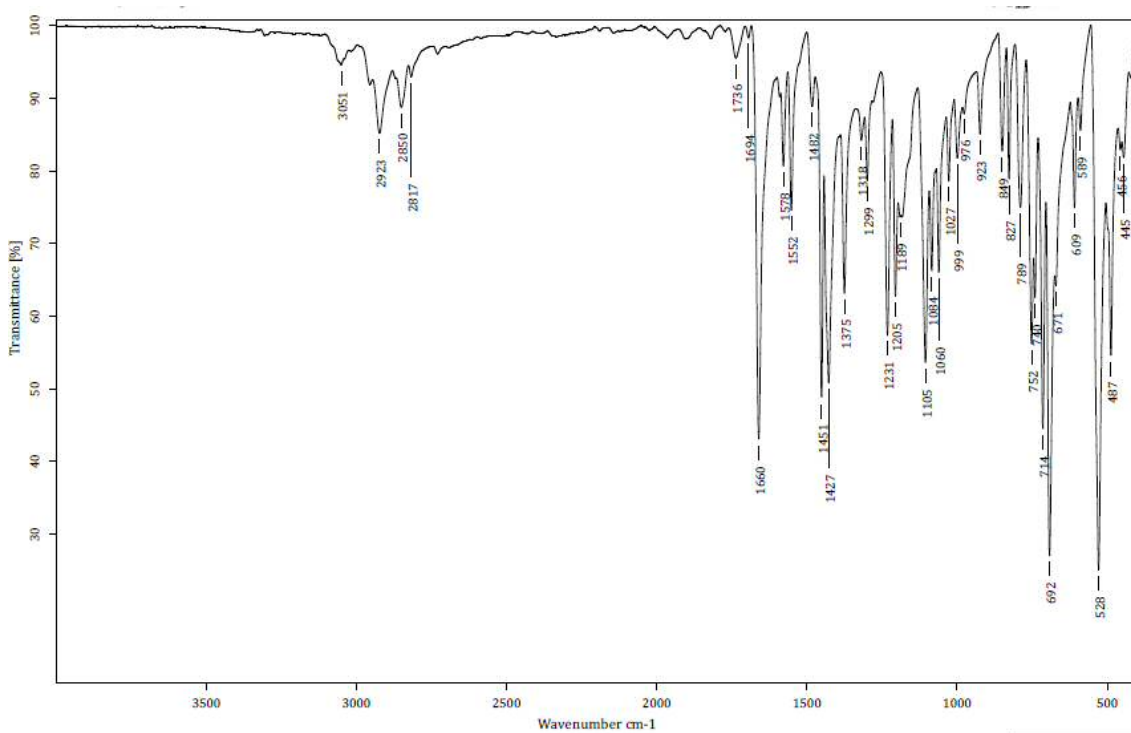




Espectro 71. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 37.

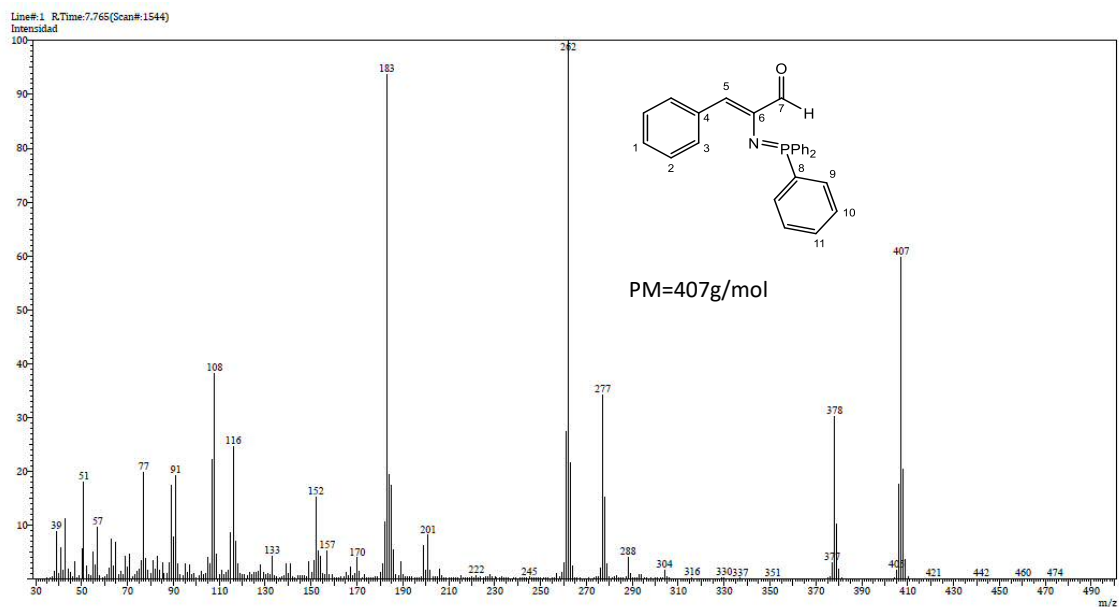


Espectro 72. Espectro de IR del compuesto 37.

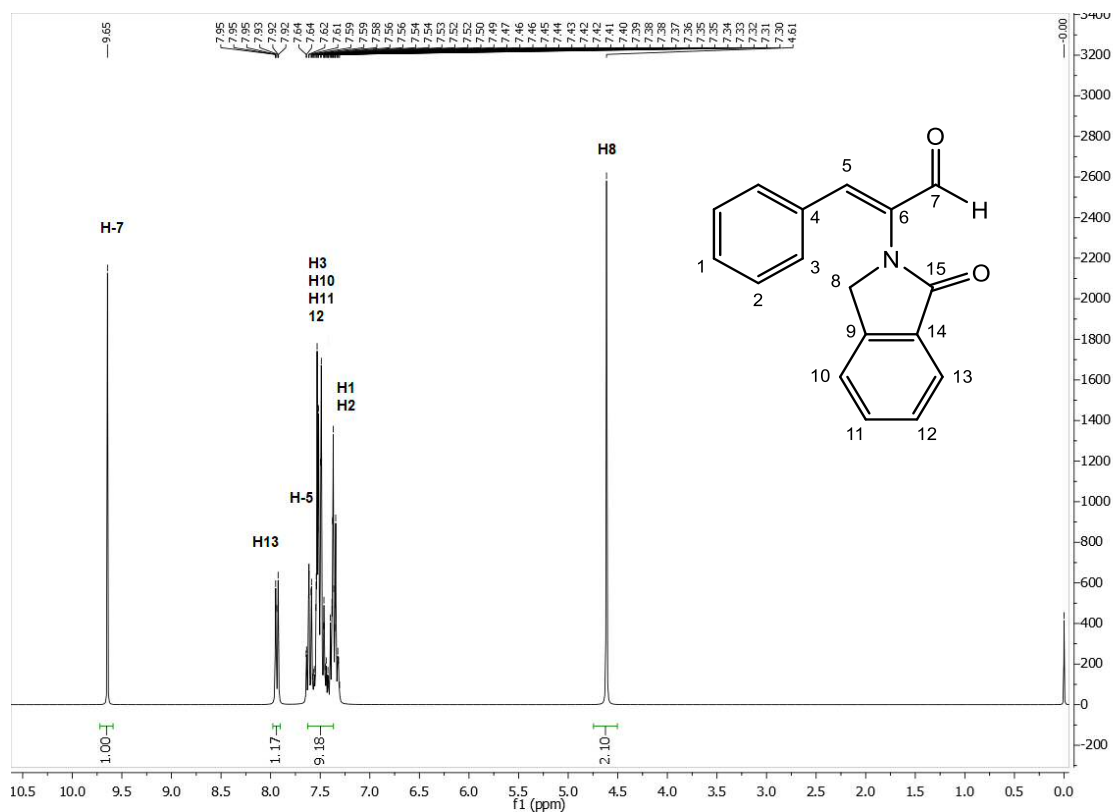




Espectro 73. Espectro de Masas del compuesto 37.

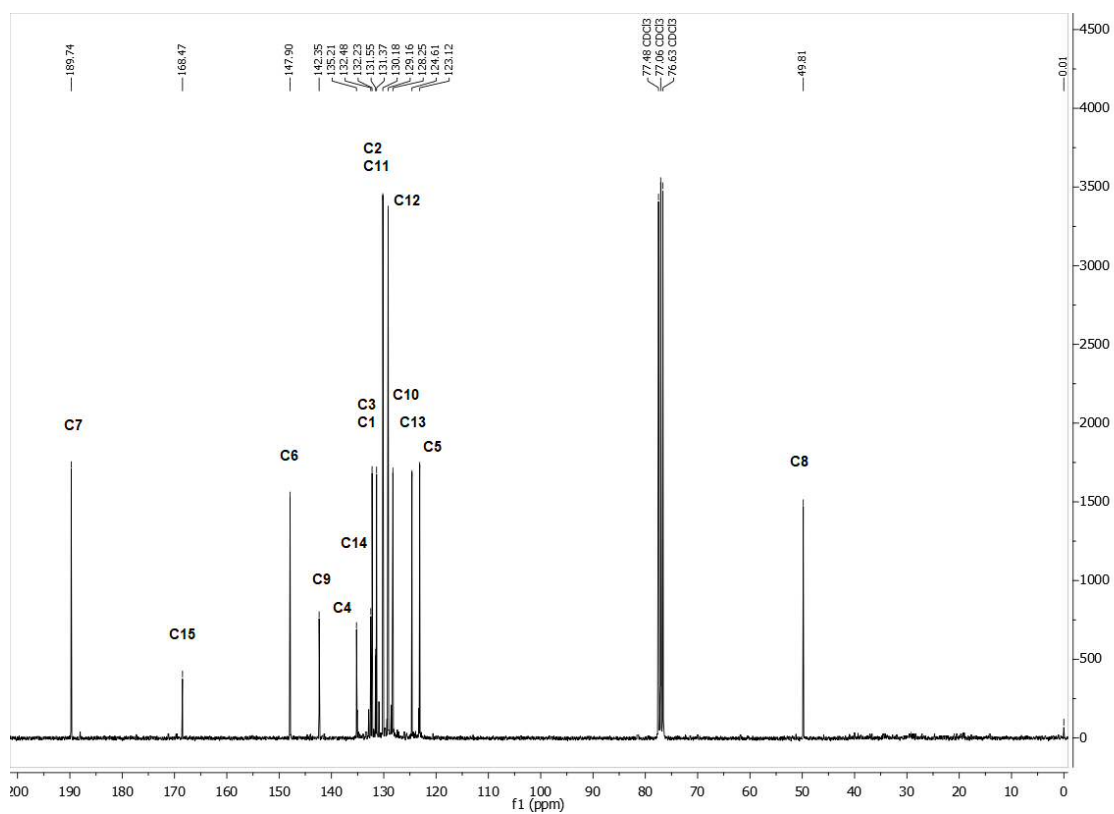


Espectro 74. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 38.

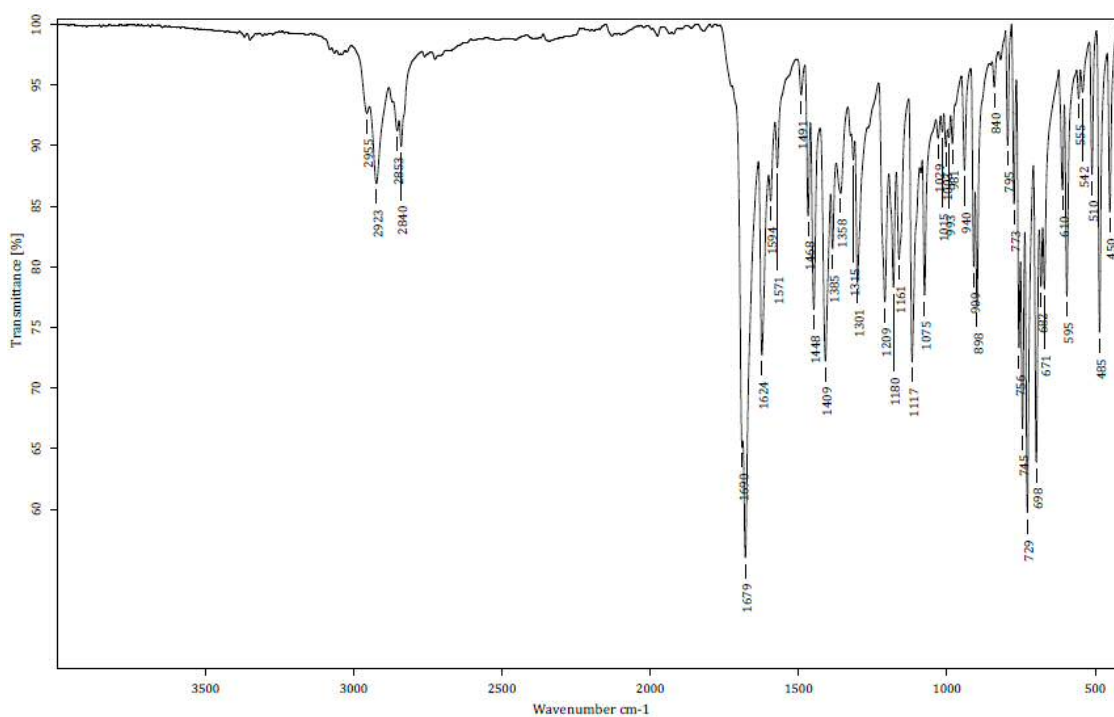




Espectro 75. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 38.

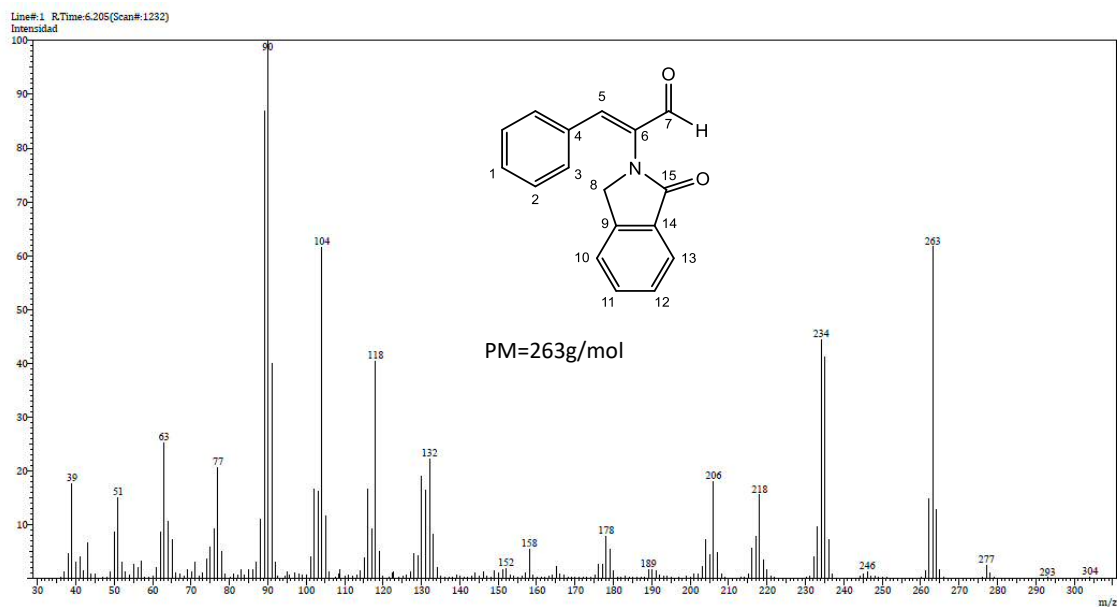


Espectro 76. Espectro de IR del compuesto 38.

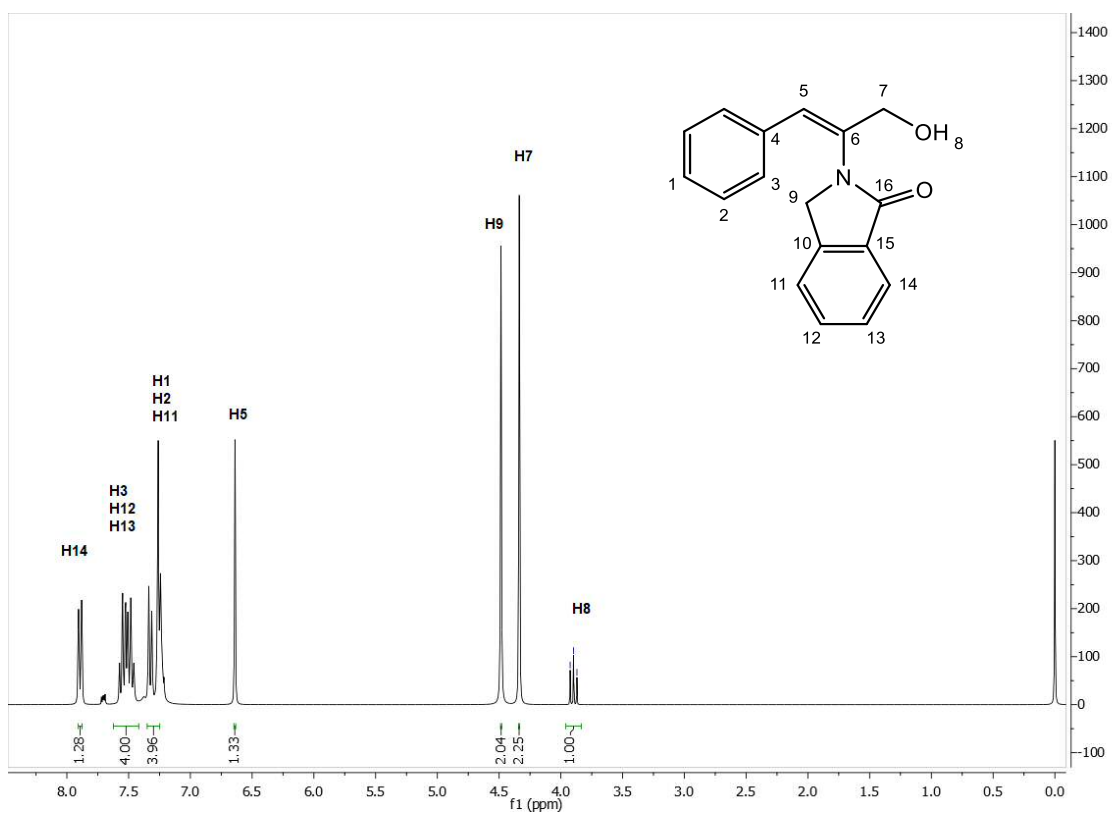




Espectro 77. Espectro de Masas del compuesto 38.

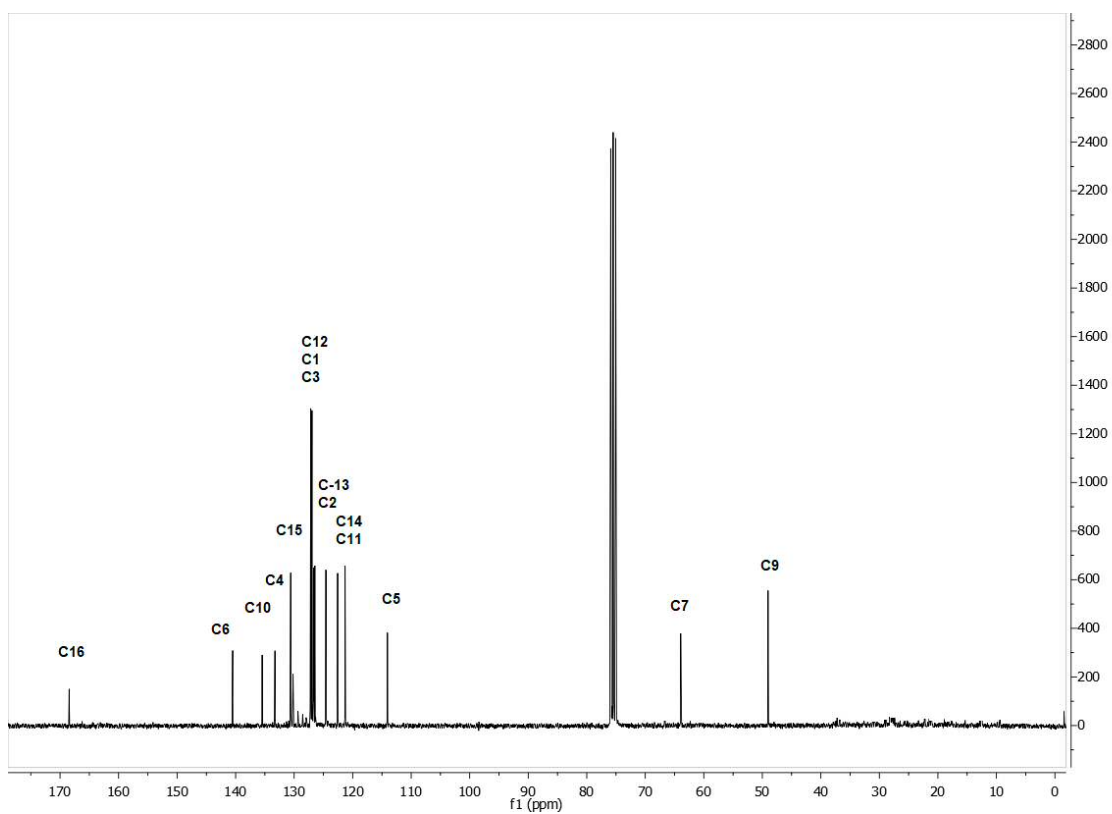


Espectro 78. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 42.

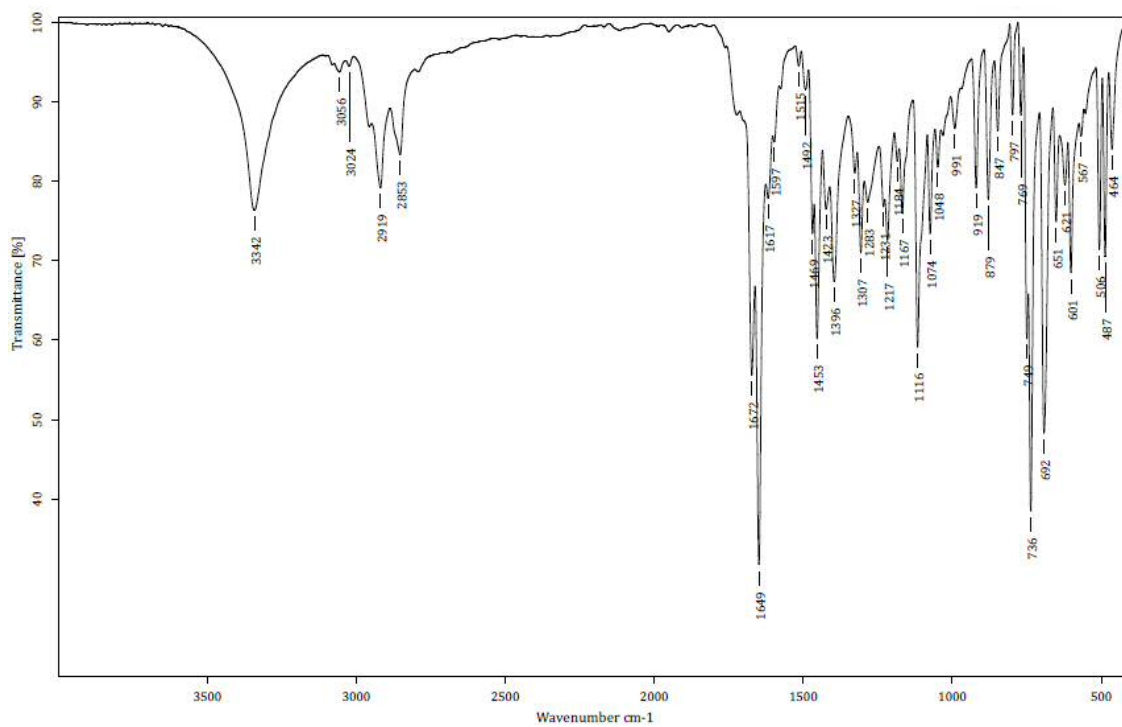




Espectro 79. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 42.

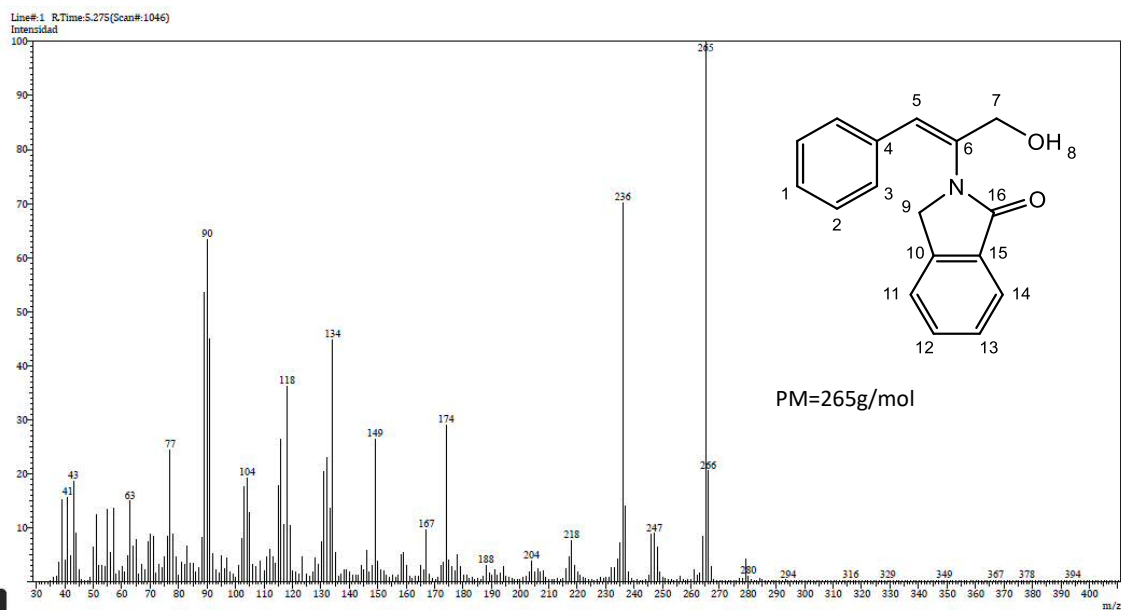


Espectro 80. Espectro de IR del compuesto 42.

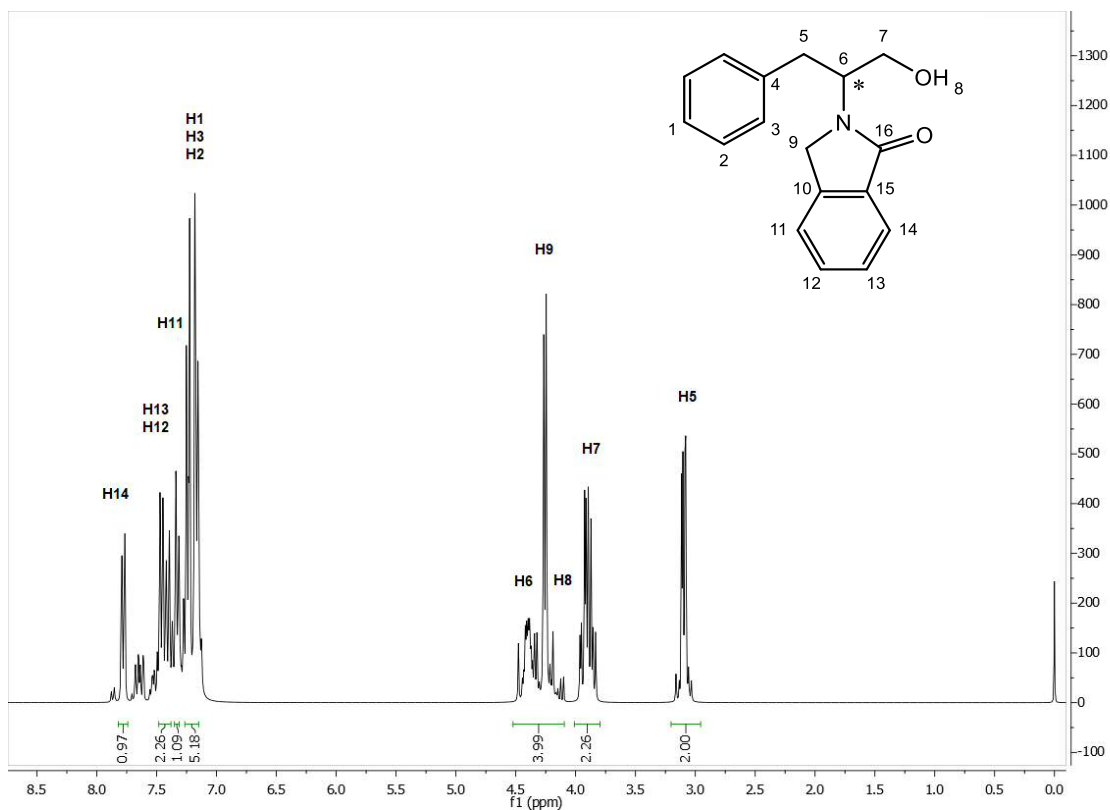




Espectro 81. Espectro de Masas del compuesto 42.

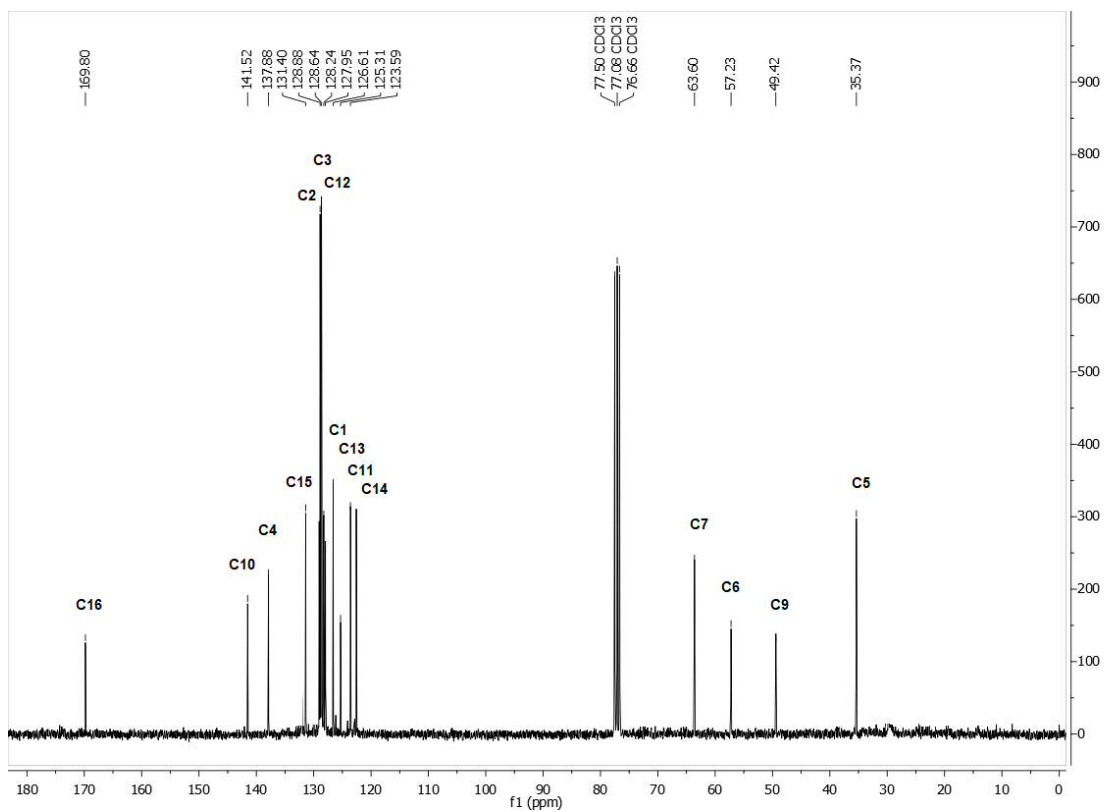


Espectro 82. Espectro de RMN-1H del compuesto 26.

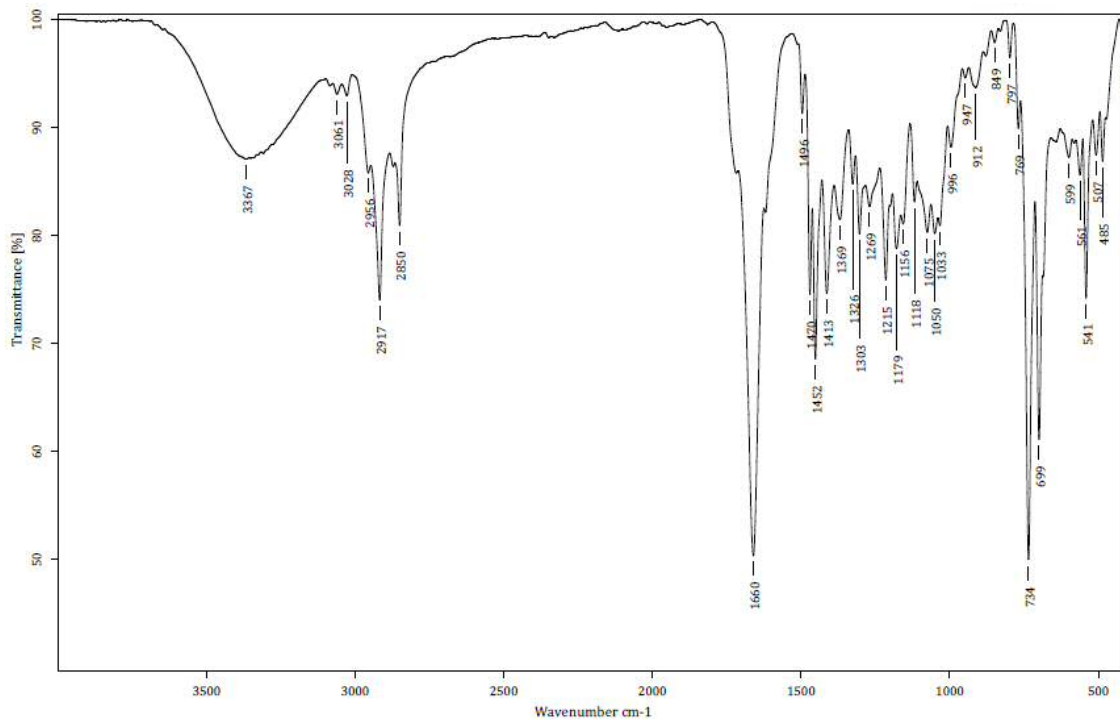




Espectro 83. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 26.



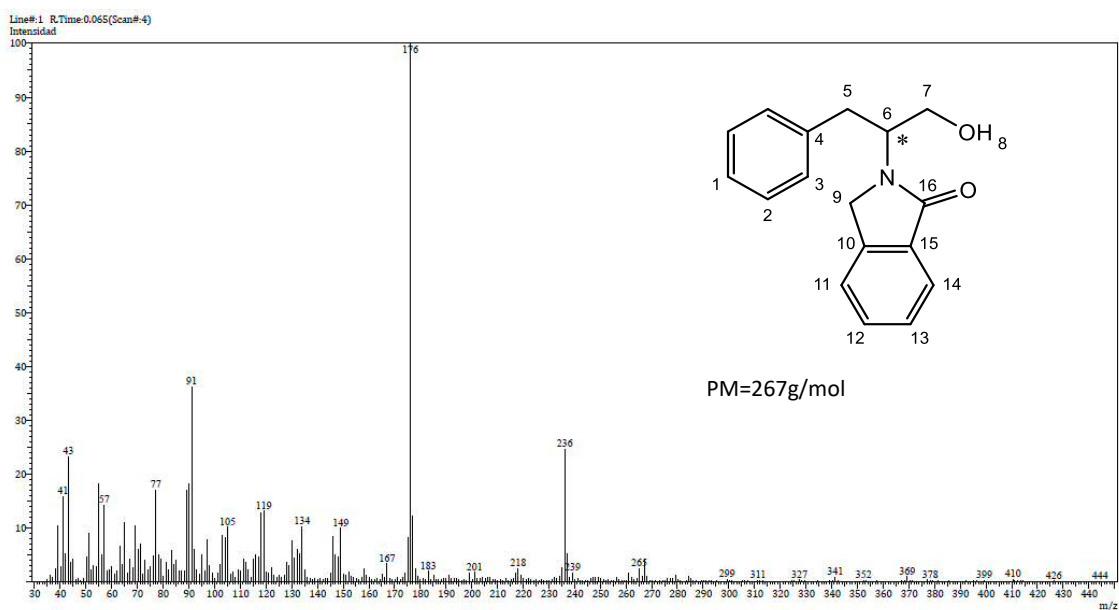
Espectro 84. Espectro de IR del compuesto 26.



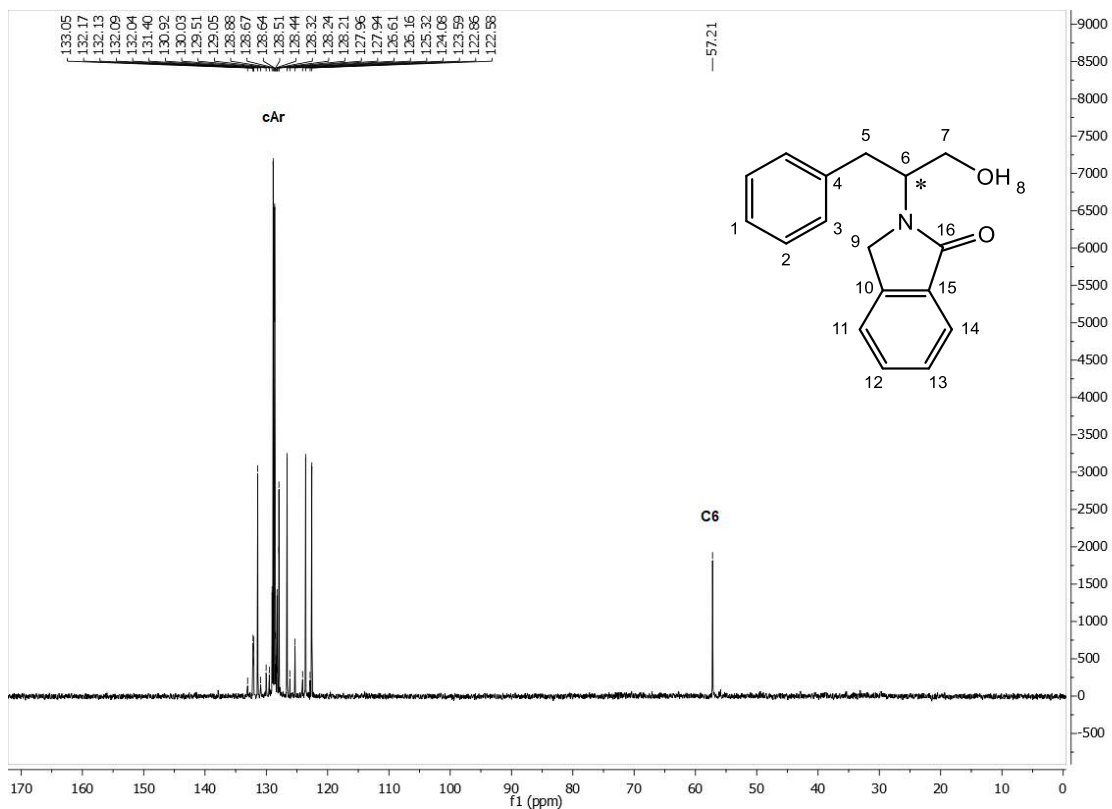




Espectro 85. Espectro de Masas del compuesto 26.

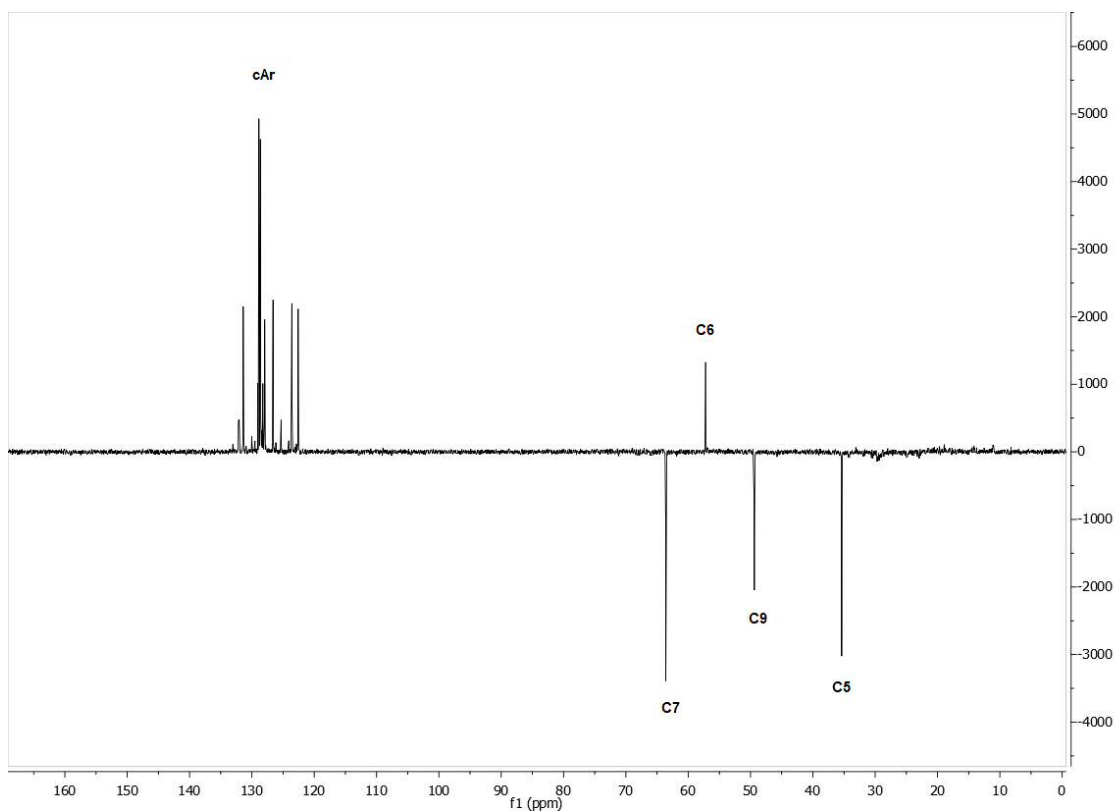


Espectro 86. Espectro de DEPT-90 del compuesto 26.

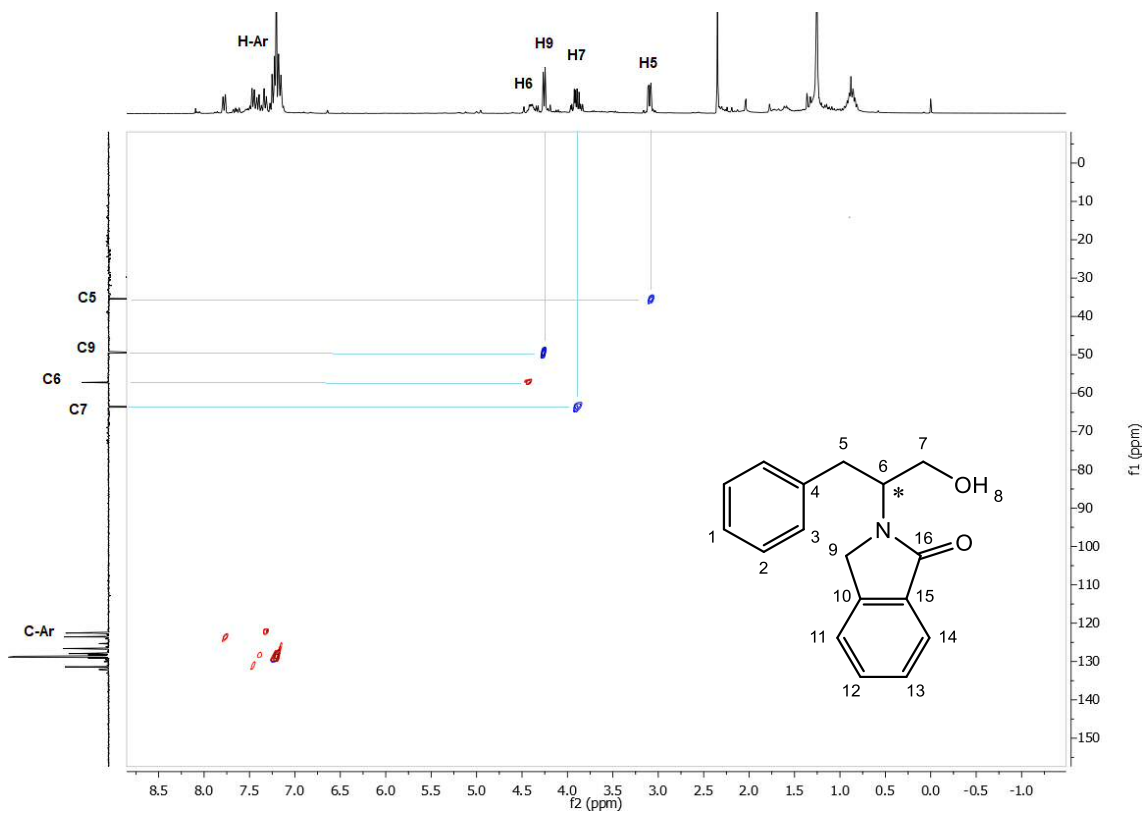




Espectro 87. Espectro de DEPT-135 del compuesto 26.

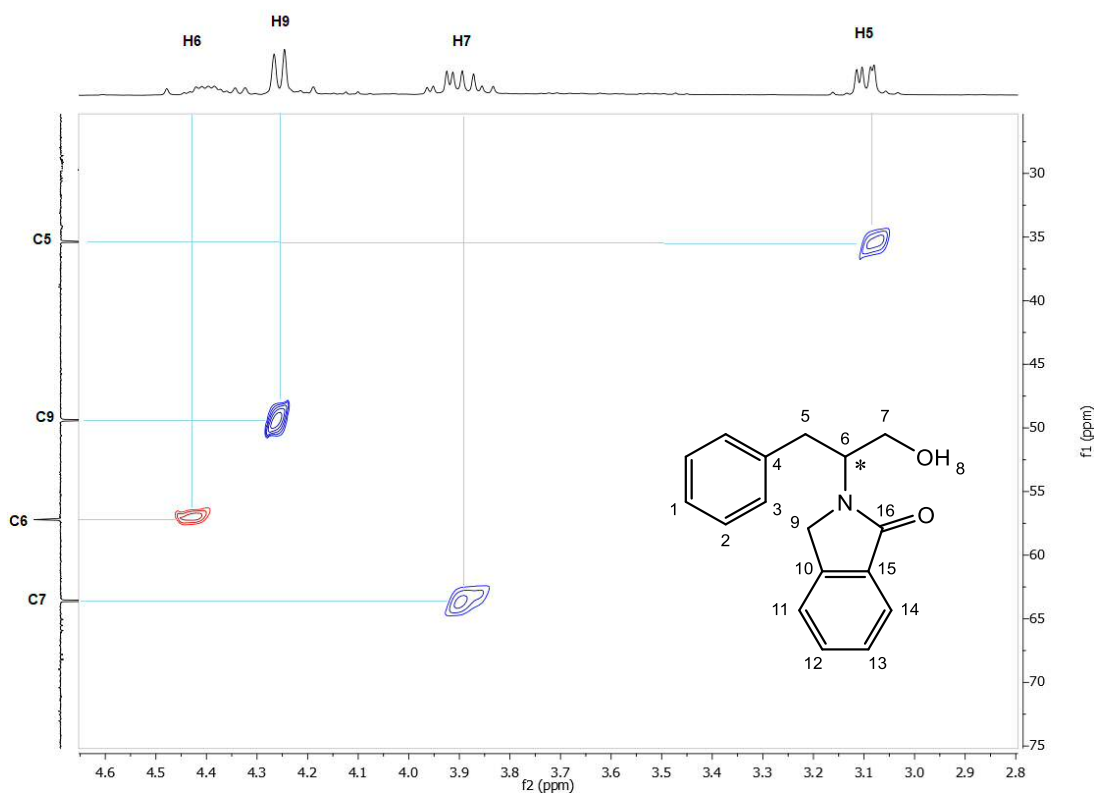


Espectro 88a. Espectro de HSQC del compuesto 26.

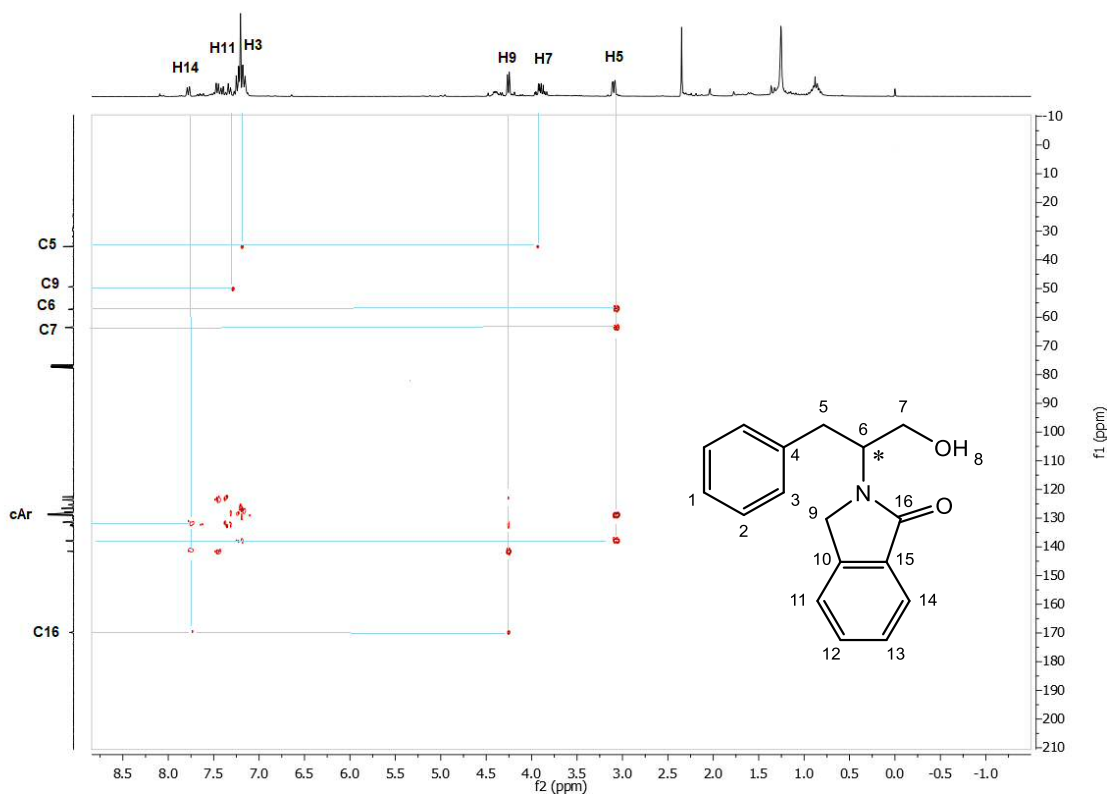




Espectro 88b. Espectro de HSQC del compuesto 26.

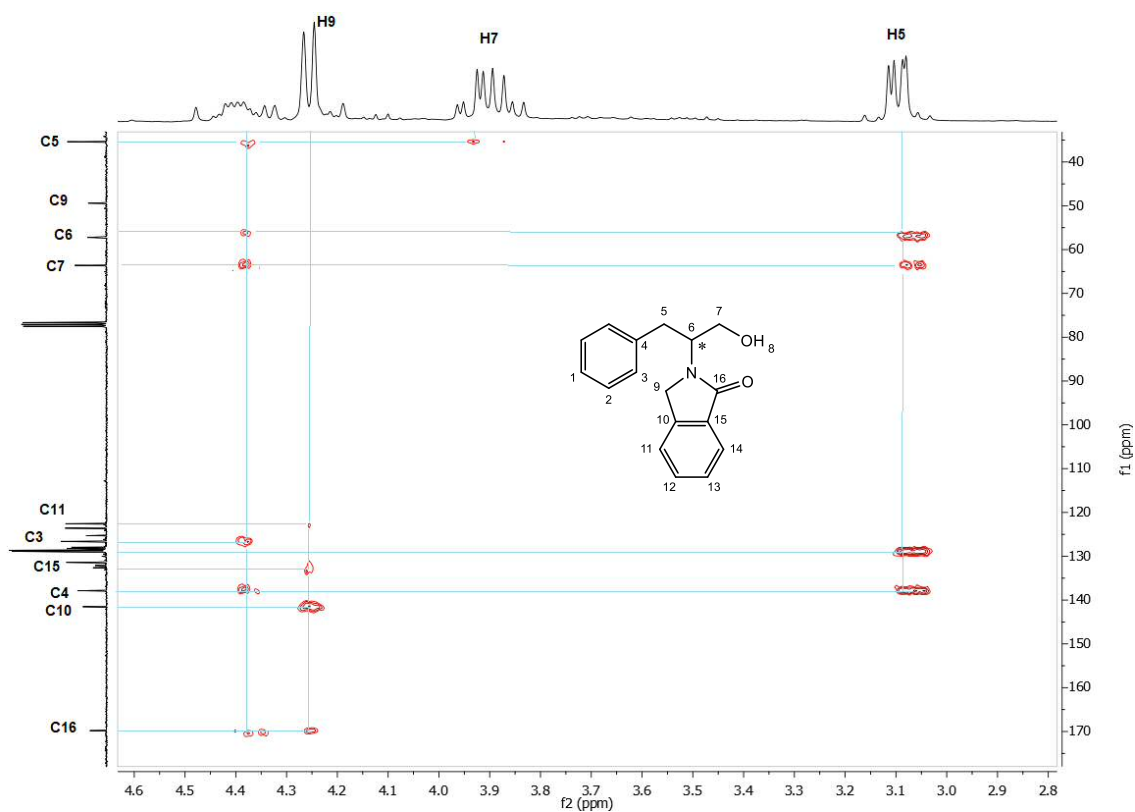


Espectro 89a. Espectro de HMBC del compuesto 26.

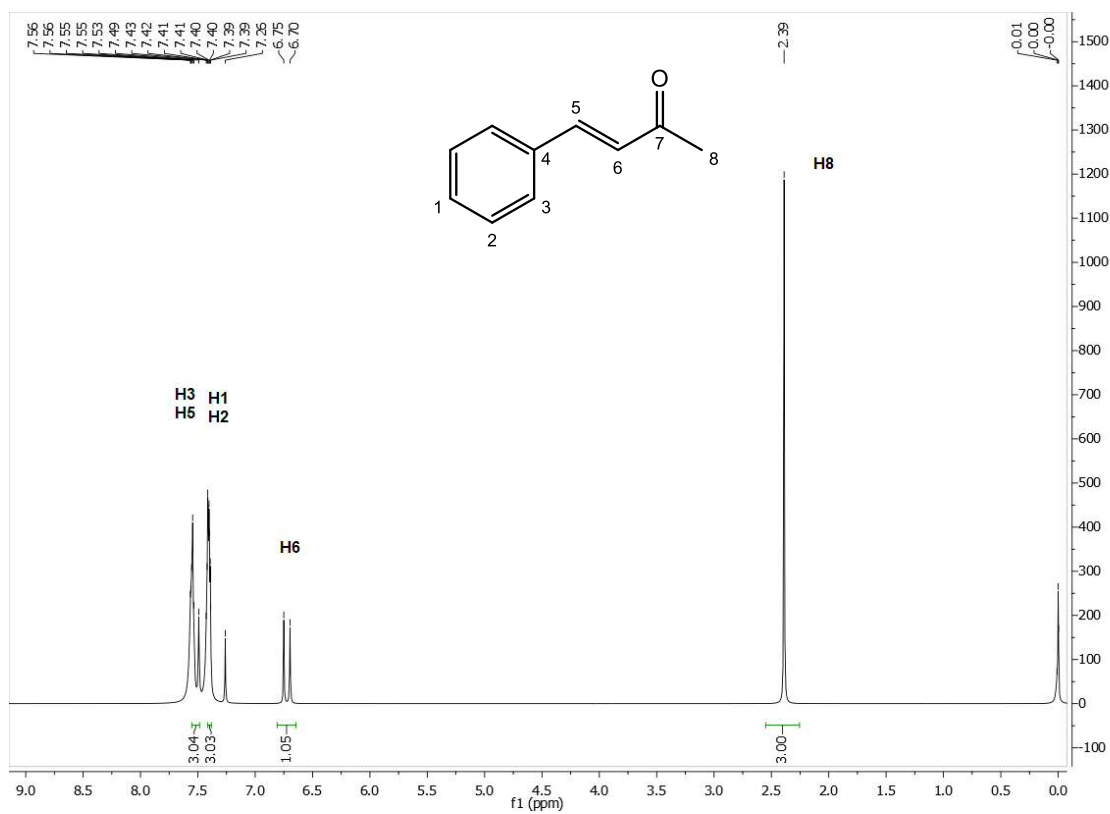




Espectro 89b. Espectro de HMBC del compuesto 26.



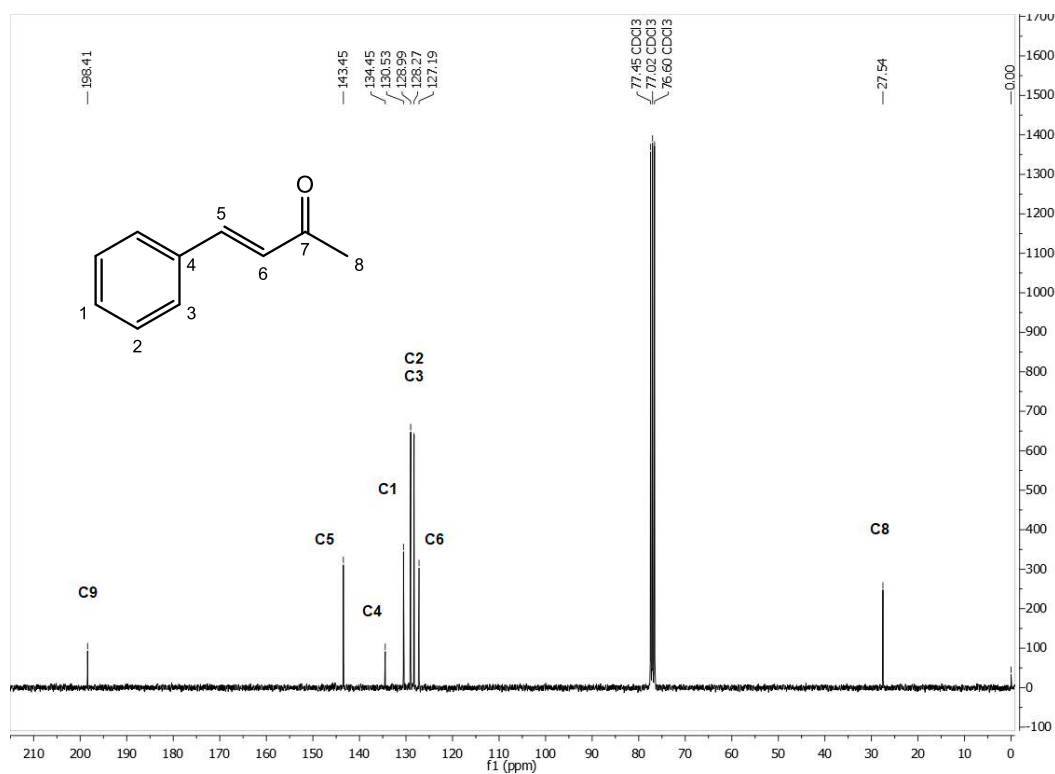
Espectro 90. Espectro de RMN<sup>1</sup>H del compuesto 43.



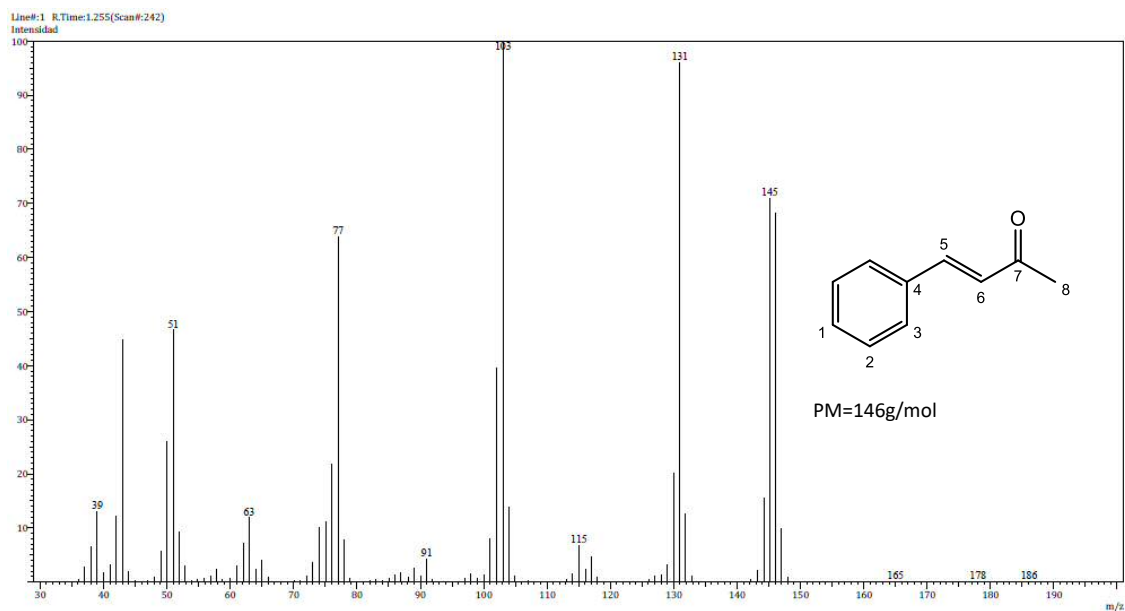


# IX. ANEXOS

Espectro 91. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 43.

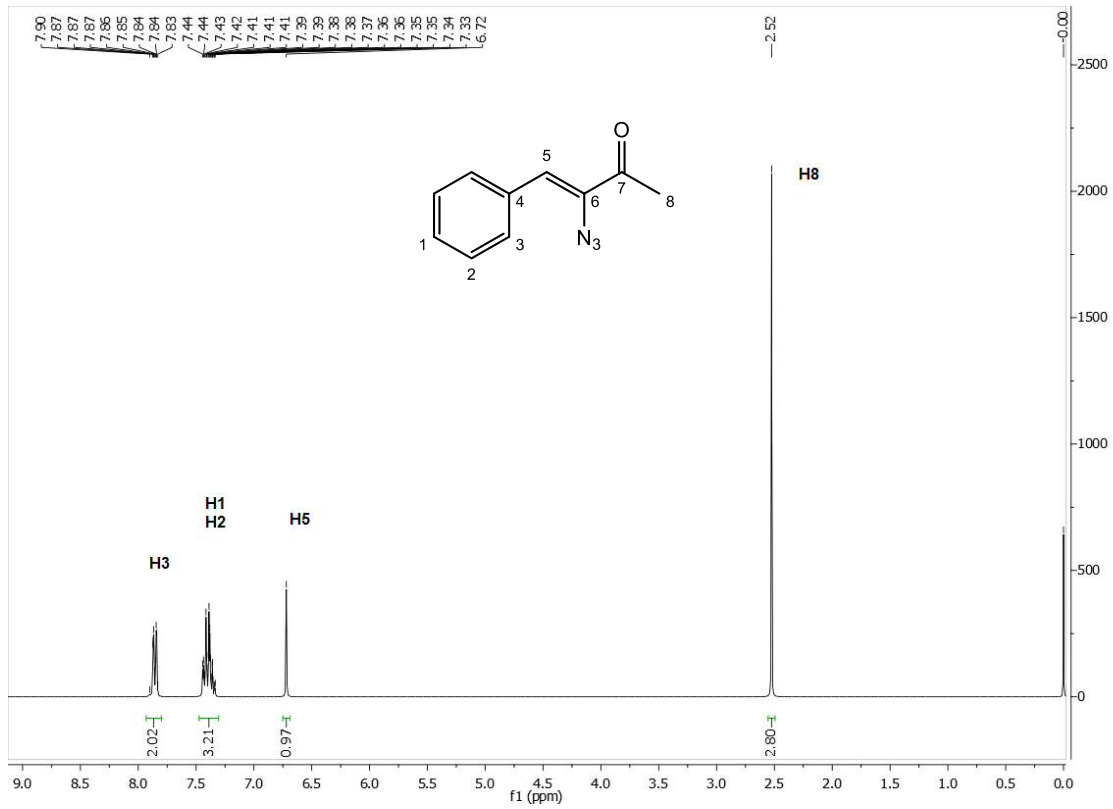


Espectro 92. Espectro de Masas del compuesto 43.

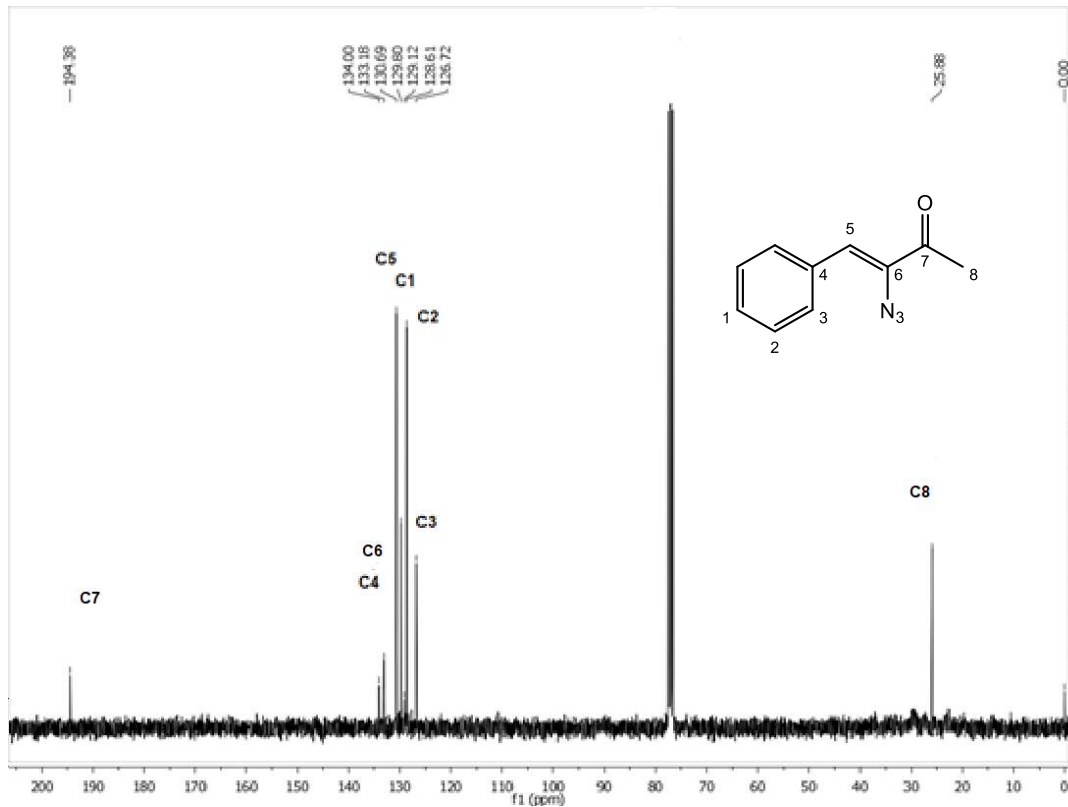




Espectro 93. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 44.

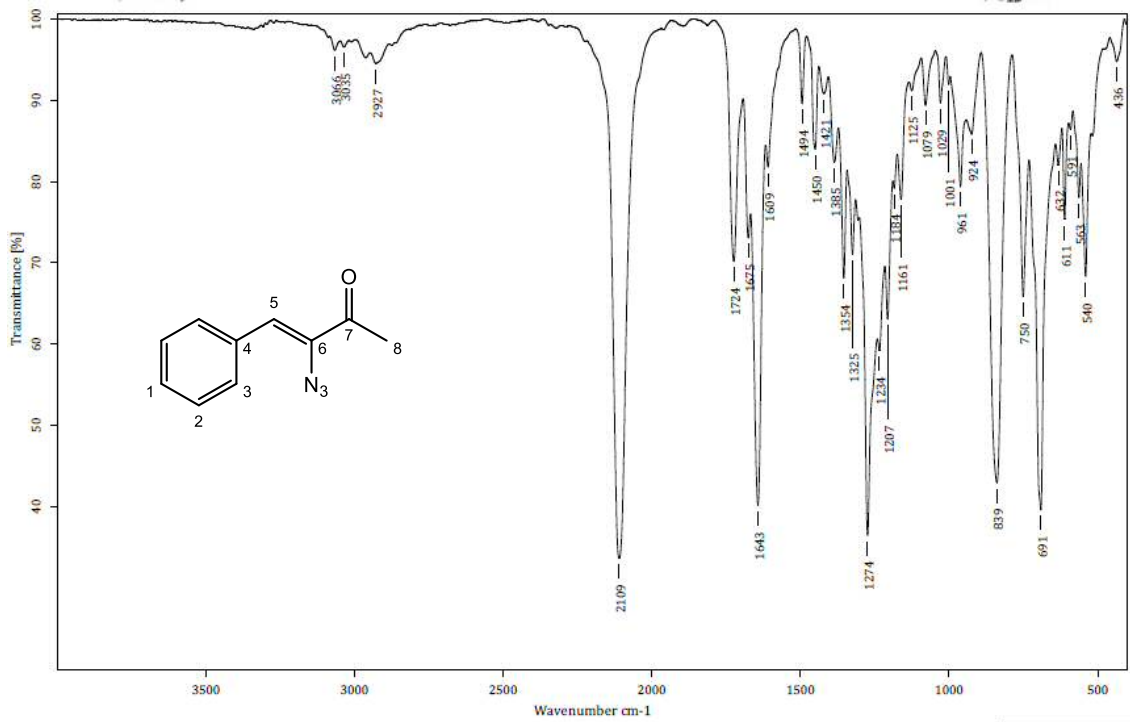


Espectro 94. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 44.

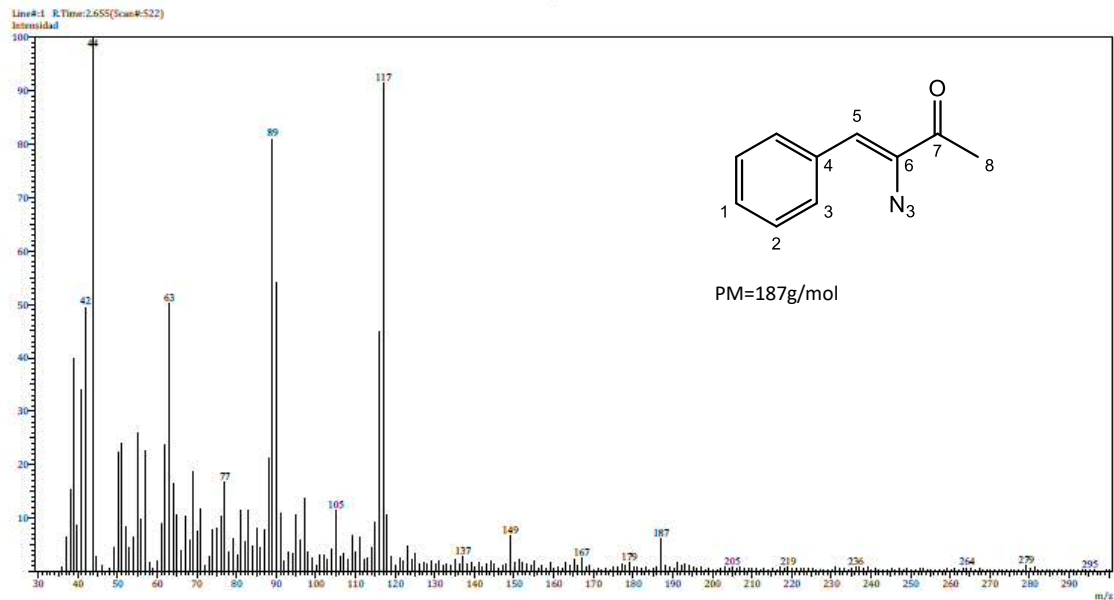




Espectro 95. Espectro de IR del compuesto 44.

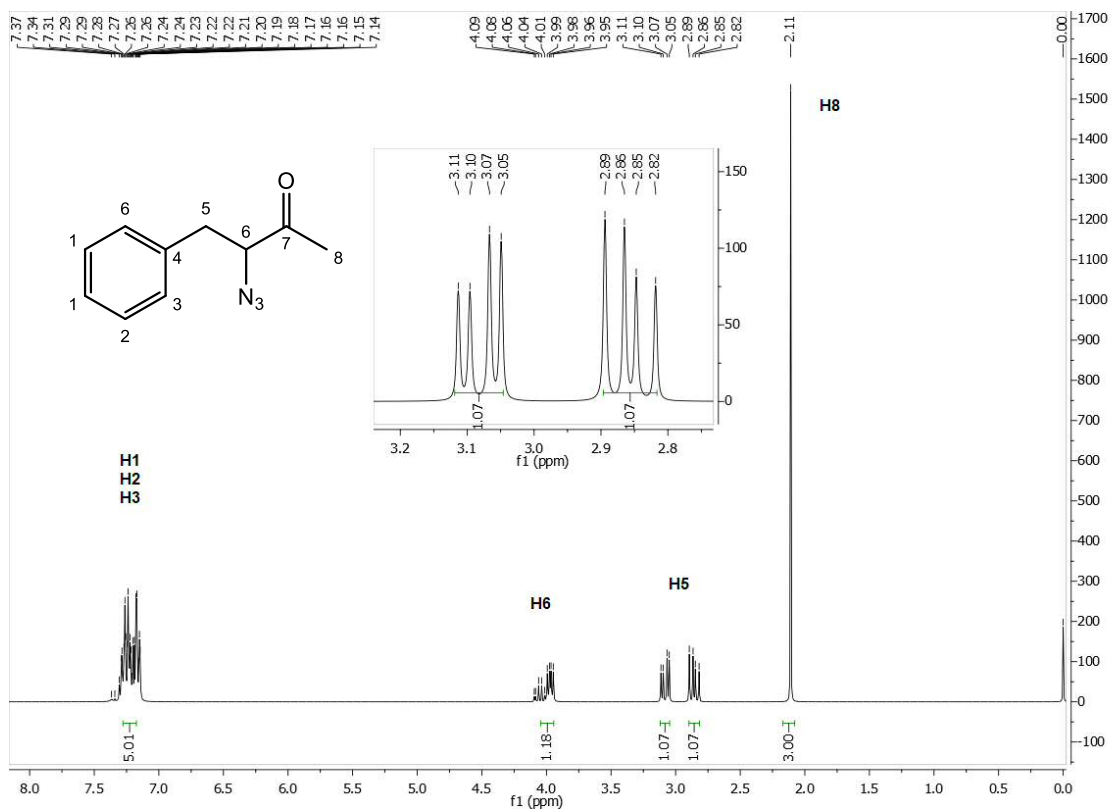


Espectro 96. Espectro de Masas del compuesto 44.

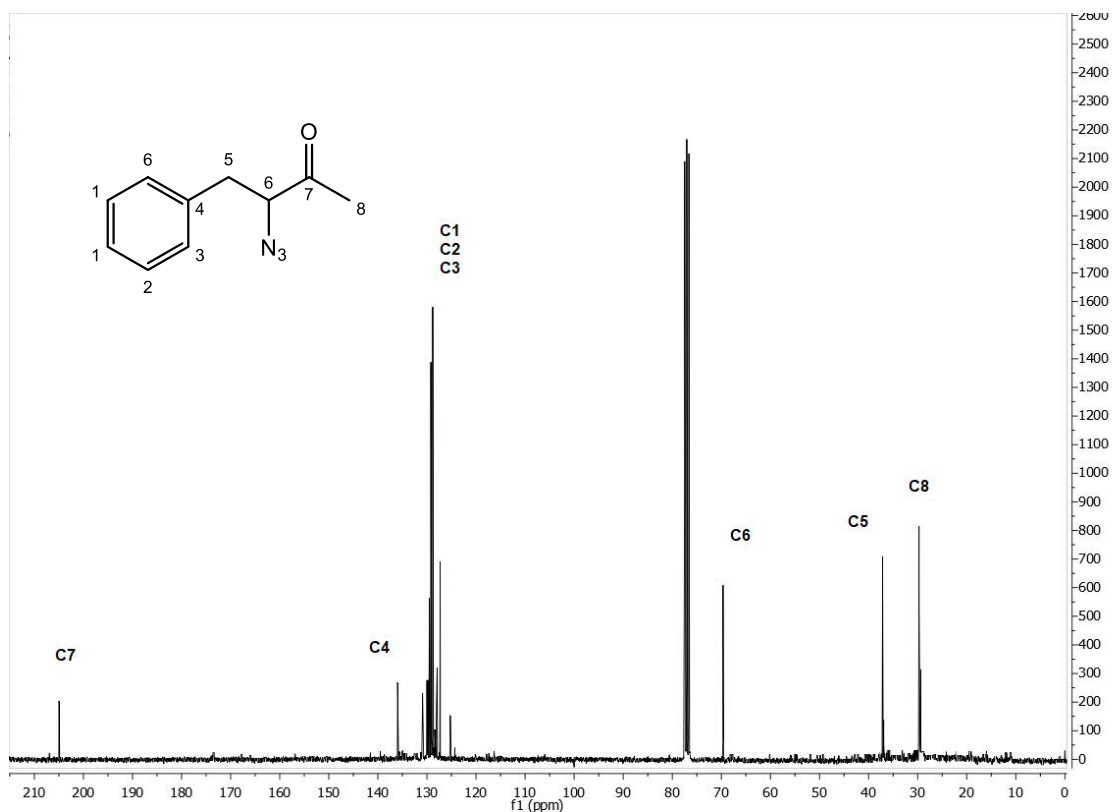




Espectro 97. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H del compuesto 45.



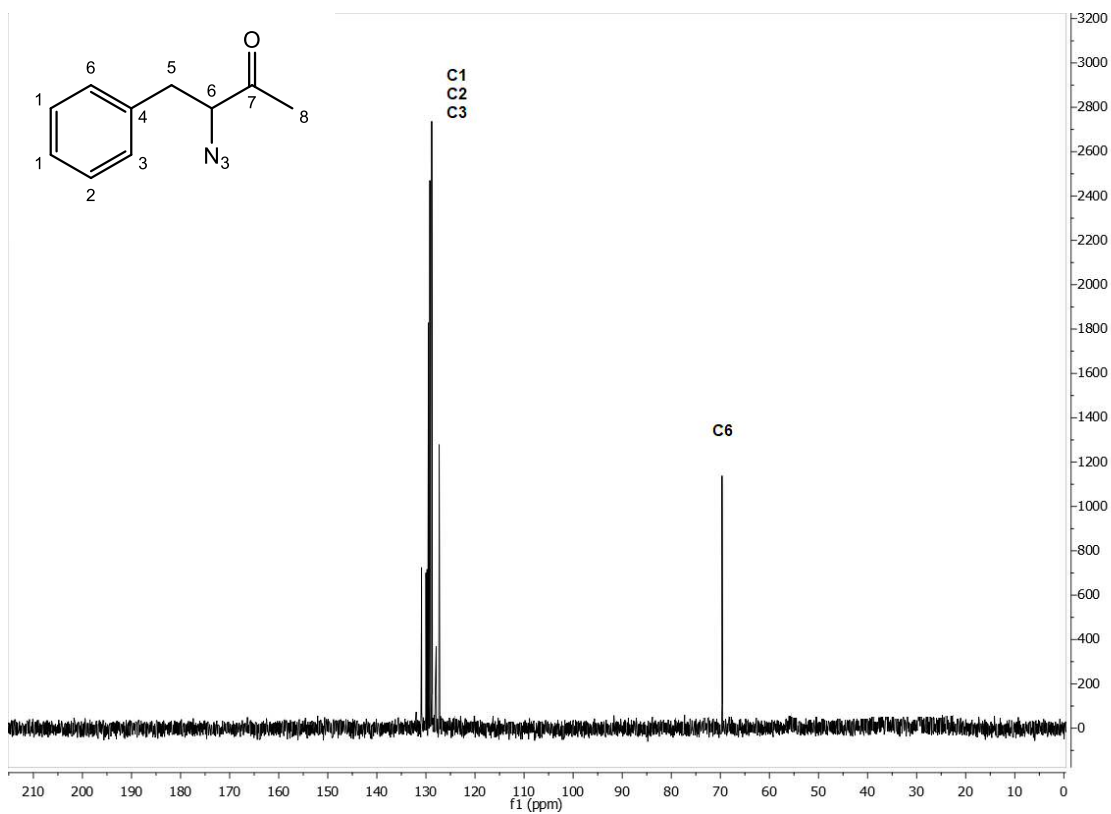
Espectro 98. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C del compuesto 45.



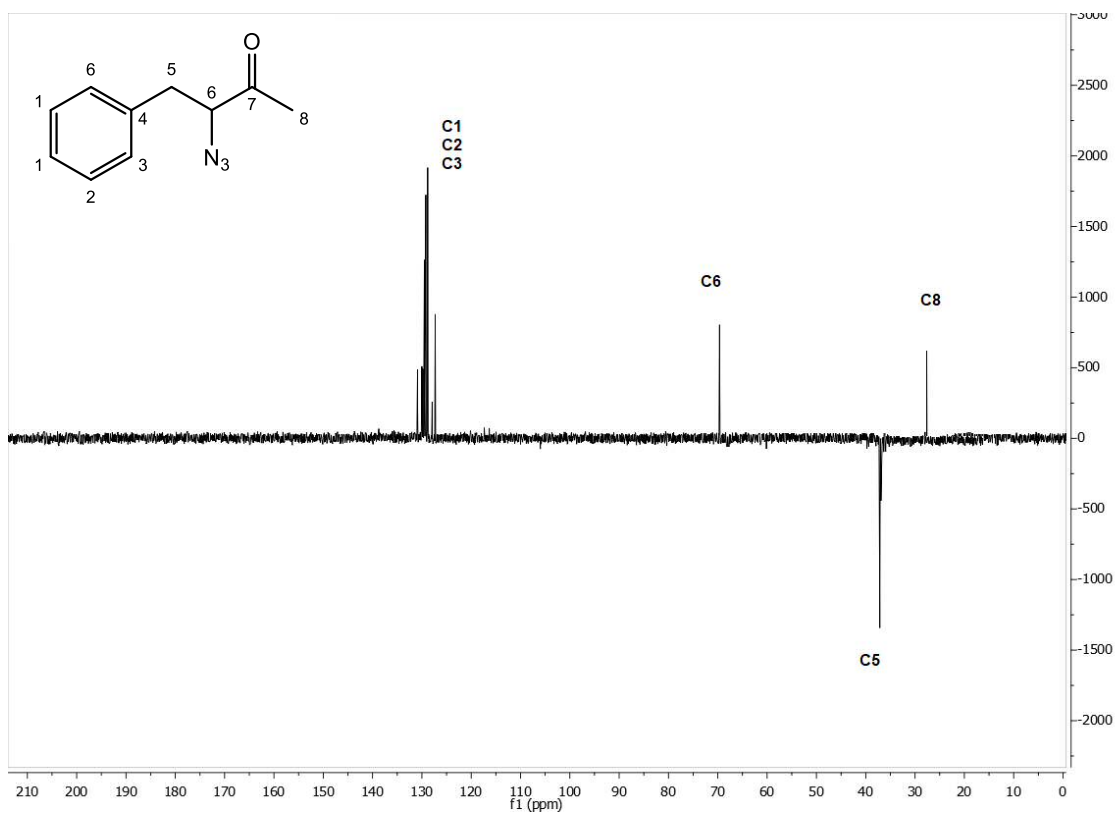




Espectro 99. Espectro de DEPT-90 del compuesto 45.



Espectro 100. Espectro de DEPT-135 del compuesto 45.





Espectro 101. Espectro de IR del compuesto 45.

