

Tesis Doctoral

Síntesis de derivados mono- y di-heterocíclicos de D-ribosa y su efecto antiproliferativo en células tumorales

Avanzo, Romina Edith

2018

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Avanzo, Romina Edith. (2018). Síntesis de derivados mono- y di-heterocíclicos de D-ribosa y su efecto antiproliferativo en células tumorales. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6392_Avanzo

Cita tipo Chicago:

Avanzo, Romina Edith. "Síntesis de derivados mono- y di-heterocíclicos de D-ribosa y su efecto antiproliferativo en células tumorales". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2018. http://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6392_Avanzo

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Química Orgánica

**Síntesis de derivados mono- y di-heterocíclicos de
D-ribosa y su efecto antiproliferativo en células
tumorales.**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad
de Buenos Aires en el Área Química Orgánica

Lic. Romina Edith Avanzo

Directora de Tesis: Dra. Mirta Liliana Fascio

Consejera de Estudios: Dra. Norma Beatriz D'Accorso

Lugar de trabajo: Departamento de Química Orgánica

Fecha de defensa: 7 de marzo de 2018

Síntesis de derivados mono- y di-heterocíclicos de D-ribosa y su efecto antiproliferativo en células tumorales.

El desarrollo de nuevos principios activos para el tratamiento de enfermedades tales como el cáncer es un tema de interés continuo debido a la agresividad y/o a la rápida resistencia a fármacos que presentan estas enfermedades. El uso de un heterociclo no natural como base nitrogenada es una de las aproximaciones usadas para obtener novedosos análogos de nucleósidos. Además, cabe destacar que la presencia de más de un anillo heterocíclico puede potenciar la actividad de los compuestos independientemente de su acción terapéutica.

En el presente trabajo de tesis se sintetizaron y caracterizaron compuestos mono- y di-heterocíclicos derivados de D-ribofuranosa, donde la nucleobase consistió en heterociclos de cinco miembros, unidos por un espaciador. Para evaluar la influencia del tipo y cantidad de heteroátomos se sintetizaron 1,2,3-triazoles, 1,2,4-oxadiazoles, isoxazoles e isoxazolininas utilizando tanto reacciones de cicloadición 1,3-dipolares como de condensación intramolecular. A partir de los derivados mono-heterocíclicos, fue posible obtener derivados di-heterocíclicos por funcionalización del carbono terminal del hidrato de carbono con anillos tales como 1,2,4-triazol, 1,3,4-tiadiazol o 1,2,4-triazolil-3-tiona. Con el objetivo de analizar la influencia de los grupos protectores en las posiciones dos y tres de la D-ribosa se sintetizaron compuestos con grupos isopropilidén y ciclopentilidén. Estos últimos presentaron la mayor actividad antiproliferativa.

Los compuestos di-heterocíclicos así como también intermediarios y precursores fueron evaluados como agentes antitumorales contra diferentes líneas celulares humanas. El compuesto más activo presentó una CI_{50} de 4,5 μM contra la línea celular de cáncer de colon WiDr.

Palabras clave: D-ribosa, triazoles, isoxazoles, isoxazolininas, oxadiazoles, tiadiazoles, grupos protectores, actividad antiproliferativa.

Synthesis of mono- y di-heterocyclic D-ribose derivatives and their antiproliferative effect against cancer cell lines.

The synthesis of small molecules with antitumor activity remains the focus of attraction of many research groups because of the ability to develop resistance to traditional therapies and/or the aggressiveness that these diseases present. The use of unnatural heterocycles as unconventional nucleobases is one of the typical strategies to obtain nucleoside analogues. In addition, it should be noted that the presence of more than one heterocyclic ring may enhance the activity of the compounds irrespective of their therapeutic action.

For these reasons, the aim of the present work was to synthesize and characterize D-ribofuranoside heterocyclic derivatives in which the nucleobase consists of five-membered heterocyclic rings, connected by a linker. Reactions of 1,3-dipolar cycloadditions and intramolecular condensations were carried out to synthesize 1,2,3-triazoles, 1,2,4-oxadiazoles, isoxazoles and isoxazolines to evaluate the influences of the type, quantity, and distributions of heteroatoms in the heterocyclic unit. It was possible to obtain di-heterocyclic derivatives from mono-heterocycles by functionalization of carbon in five position of the carbohydrate moiety with 1,2,4-triazoles, 1,3,4-thiadiazoles or 1,2,4-triazolyl-3-thiones. With the objective of comparing the influences of different protective groups on the activity, isopropylidene and cyclopentylidene D-ribose derivatives were synthesized. The presence of the cyclopentylidene group was relevant for the antiproliferative activity of the compounds.

The di-heterocyclic compounds as well as some precursors and intermediates were evaluated as antitumor agents against different human cancer cell lines. The most active compound exhibited an IC_{50} value of 4.5 μ M against colon cancer cell line WiDr.

Keywords: D-ribose, triazole, isoxazole, isoxazoline, oxadiazole, thiadiazole, protecting groups, antiproliferative activity.

A mi hija Mora,

porque sin ella nada de esto hubiera sido posible.

A mi esposo Mariano,

por el apoyo incondicional, por confiar en mí y por caminar a mi lado en este largo camino.

“La perseverancia es el trabajo duro
que haces después de cansarte del
trabajo duro que ya hiciste.”

-Newt Gingrich

“El modo de dar una vez en el clavo
es dar cien veces en la herradura.”

-Miguel de Unamuno

Agradecimientos

Quisiera agradecer a mi familia, principalmente a mi esposo Mariano por haberme acompañado en este proyecto, por impulsarme a seguir para adelante en momentos difíciles, por escucharme y aconsejarme todos los días. Gracias a mi hija Mora, que con sus dos añitos me brinda muchísimos momentos de risas y juego, y sin darse cuenta hace que sea una persona enteramente feliz. Los amo.

Un pilar importante en mi vida son mi papá Martín y mi mamá Edith, que me acompañaron y escucharon siempre que lo necesité y me brindaron ayuda incondicional en innumerables cantidades de veces. A ellos les estoy eternamente agradecida. Le agradezco a mi hermano Pablo por todos los momentos compartidos y las charlas, y por siempre estar dispuesto a ayudarme y compartir momentos conmigo. Los amo.

También quiero agradecerle a mi nueva familia: mi suegro Victorio, mis cuñados Silvana y Marcelo, mi sobrina Sasha, Mirta y Sebastián, por todo el apoyo y ayuda que siempre me dieron, y por los hermosos momentos que siempre pasamos juntos.

Quiero agradecer muy especialmente a la Dra. Mirta Fascio, mi directora de Tesis, por haber hecho que todo esto sea posible. Los caminos de la vida nos cruzaron por casualidad y fuiste una directora hecha a mi medida. Te agradezco infinitamente la confianza que depositaste en mí para poder llevar a cabo este proyecto, el impulso que me dabas día a día y todas las enseñanzas que me brindaste a lo largo de los años. Gracias por haberme escuchado siempre y por haberme guiado para que pueda ser una mejor profesional.

Le agradezco mucho a la Prof. Dra. Norma D'Accorso, por abrirme las puertas de su laboratorio cuando era una estudiante y por haber confiado en mí para realizar esta Tesis de doctorado. Gracias por estar siempre en la búsqueda de nuevas ideas y proyectos y por brindarme ayuda siempre que fue necesario.

Quisiera agradecer a las instituciones que hicieron posible esta Tesis de doctorado: a la Universidad de Buenos Aires y al CONICET por el financiamiento y las becas otorgadas. Al Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por haberme brindado un espacio de trabajo y la infraestructura necesaria.

Agradezco principalmente a las Dras. Claudia Anesini, Elba Vazquez y Geraldine Gueron por los ensayos biológicos realizados, que complementaron y completaron mi

trabajo de Tesis. A la Dra. Rosana Mísico por introducirme al Dr. José M. Padrón, que realizó un screening de una manera muy completa y rápida.

Durante estos años me acompañaron día a día muchas personas que hicieron que los días en el laboratorio sean amenos. Me acompañaron, me escucharon y me ayudaron, me aconsejaron, me apoyaron y me impulsaron a poder terminar este trabajo.

Muchos pasaron por el laboratorio. No puedo dejar de mencionar a la Dra. María Inés Errea, quién comenzó a enseñarme el trabajo en la mesada y transmitió su vocación a la investigación y la docencia. Gracias a vos comencé una Tesis. A la Dra. Miriam Martins Alho, por los momentos compartidos en el laboratorio y por la confianza que depositaste en mí para dar clases. Gracias por impulsarme a crecer y desarrollarme como mejor profesional.

A mis antiguos compañeros de laboratorio: Sebastián, gracias por los momentos compartidos, por enseñarme y cuidarme, por mostrarme que sí se puede. Te fuiste del laboratorio, pero siempre te recordé. A Melisa, por compartir charlas a la mañana temprano, por siempre estar dispuesta a ayudar y escucharme. A Hernán, compañero de carrera y doctorado, por compartir los logros y las dificultades, por ayudarnos mutuamente a salir adelante. Gracias porque siempre me diste palabras de aliento. A Guillermo. Amigo, no me alcanzan las palabras. Orgullosa de vos y agradecida de todo lo que me brindaste estos años. Gracias por alentarme, ayudarme e impulsarme para poder terminar este proyecto, desde el principio y hasta el final.

A mis nuevos compañeros de laboratorio: muchas gracias por alegrar estos últimos años. A Joana, por todas las charlas compartidas, por escucharme, por ayudarme y alentarme. Gracias por todo el cariño que me diste todo este tiempo. A Mario, por toda la ayuda que me diste, por estar siempre dispuesto para todo, por lo sencillo y la excelente persona que sos, agradezco haberte conocido. Gracias por impulsarme a terminar esta Tesis. A Natalia, por todas las charlas y momentos compartidos. Gracias por escucharme, ayudarme y alentarme. Gracias por ponerle picardía y risas a los días. A Nancy, por llevar una alegría característica cada vez que está presente en el laboratorio, gracias por las sonrisas y las charlas. A los chicos de Venezuela, Carlos y Custodiana, que trajeron una alegría inmensa cuando llegaron. Los días con ustedes son más amenos y divertidos. Gracias por confiarme en mí y por empujarme a terminar la Tesis. A Gabriel, por esas charlas intelectuales que hacen los días diferentes, por introducirnos a esos debates que llevan días sin resolverse. Gracias por traer esa juventud que me recuerda a la carrera.

Quisiera agradecerles a mis amigas de la vida: a Vanina, Yanina, Lucía, Daniela, Nadia y Jesica. Gracias por acompañarme en este camino. Gracias por haberme escuchado y aconsejado cuando lo necesité. A mis amigos químicos: Vanina, Lucía, Akemi, Carlos, Iñaki, Martín y Walter. Gracias por haberme acompañado durante todos estos años, por la ayuda que me brindaron siempre y porque no hay nadie mejor que ustedes para entender lo que es hacer una Tesis. Gracias por haberme escuchado y alentado durante tanto tiempo. Los admiro mucho.

Agradezco a las secretarias del Departamento de Química Orgánica, María del Carmen, Nancy y Micaela por la buena y rápida resolución de todos los trámites administrativos. A Sergio y Gabriela por su ayuda y buena predisposición para buscar reactivos y solventes cuando los necesité.

Agradezco al UMYMFOR y al personal de apoyo que trabaja en el instituto, Jose, Gernot, Meri y Evelyn, por los microanálisis y los espectros de RMN y masa realizados.

Por último, quisiera agradecer a todas las personas del Departamento de Química Orgánica, que me brindaron su apoyo y ayuda durante todo este tiempo. Gracias a todos aquellos que me escucharon cuando lo necesité y me alentaron a poder terminar mi trabajo de Tesis.

Índice

Introducción

Capítulo 1

Cáncer: ciclo celular y compuestos antitumorales 1

1. Cáncer. Definición.	1
2. Generalidades.	1
2.1. Ciclo celular.	3
2.2. Fármacos antitumorales.	7
2.2.1. Agentes alquilantes.	8
2.2.2. Antimetabolitos.	9
2.2.3. Antibióticos antitumorales.	9
2.2.4. Inhibidores de la topoisomerasa.	9
2.2.5. Inhibidores de la mitosis.	10
3. Estrategias en la síntesis de compuestos anti-cáncer.	10
4. Anillos heterocíclicos y su actividad farmacológica.	11
4.1. Triazoles.	11
4.1.1. Anillos heterocíclicos 1,2,3-triazólicos.	11
4.1.2. Anillos heterocíclicos 1,2,4-triazólicos.	14
4.2. Isoxazoles.	16
4.3. Isoxazolininas.	19
4.4. Oxadiazoles.	21
4.5. Tiadiazoles.	24
5. Análogos de nucleósidos.	26

Referencias 30

Capítulo 2

Métodos de obtención de los anillos heterocíclicos 33

1. Generalidades.	33
2. Triazoles.	33
2.1. Antecedentes en la síntesis de 1,2,3-triazoles.	34
2.2. Síntesis de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituídos.	35
2.2.1. Mecanismo de la Cu-AAC.	35
2.3. Síntesis de 1,2,3-triazoles 1,5- y 1,4,5-sustituídos.	36
2.3.1. Mecanismo de la Ru-AAC.	36
2.4. Síntesis de 1,2,4-triazolil-3-tionas.	39
3. Isoxazoles.	41
3.1. Síntesis de isoxazoles mediante reacciones de cicloadición [3+2].	42
3.1.1. Cicloadiciones [3+2] catalizadas por metales.	43
3.1.2. Cicloadiciones [3+2] promovidas por catalizadores no-metálicos.	45
3.1.3. Cicloadiciones [3+2] libres de catalizador.	46
3.2. Síntesis de isoxazoles mediante reacciones de cicloisomerización.	47
3.3. Síntesis de isoxazoles mediante reacciones de condensación.	49

4. Oxadiazoles.	50
4.1. Métodos generales para la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles.	50
4.2. Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles a partir de amidoximas.	51
4.3. Adición de óxidos de nitrilo a nitrilos.	51
4.4. Oxidación de 1,2,4-oxadiazolinas.	52
4.5. Nuevos avances en la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles.	53

Referencias	55
--------------------	-----------

Capítulo 3	
Objetivos de la Tesis	59

Resultados y discusión

Capítulo 4	
Síntesis de 1,2,4-triazolil/4,5-dihidro isoxazolil D-ribósidos	61

1. Introducción.	61
2. Resultados y discusión.	62
2.1. Síntesis de precursores de alil β -D-ribofuranósido.	62
2.2. Síntesis de derivados mono-heterocíclicos β -D-ribofuranósidos conteniendo 1,2,4-triazol-3-tioles.	66
2.3. Síntesis de derivados di-heterocíclicos β -D-ribofuranósidos conteniendo isoxazolininas y 1,2,4-triazol-3-tioles.	69
2.4. Síntesis de derivados mono-heterocíclicos β -D-ribofuranósidos conteniendo 5-(4-clorofenil)-1,2,4-triazol-3-tionas.	72
2.5. Síntesis de derivados di-heterocíclicos β -D-ribofuranósidos conteniendo isoxazolininas y 5-(4-clorofenil)-1,2,4-triazol-3-tionas.	80
3. Estudios de actividad antiproliferativa.	85
4. Conclusiones.	88

Referencias	89
--------------------	-----------

Capítulo 5	
Síntesis de derivados di-heterocíclicos de D-ribofuranosa conteniendo isoxazoles y 1,2,3-triazoles	91

1. Introducción.	91
2. Resultados y discusión.	93
2.1. Síntesis de derivados propargílicos de D-ribosa debidamente protegidos.	93
2.2. Síntesis de derivados isoxazólicos de β -D-ribofuranosa.	96
2.3. Síntesis de derivados triazólicos de β -D-ribofuranosa.	98
2.4. Síntesis de derivados di-heterocíclicos de β -D-ribofuranosa: triazólicos/isoxazólicos y triazólicos/triazólicos.	100
2.4.1. Derivados triazólicos/isoxazólicos.	101
2.4.2. Derivados triazólicos/triazólicos.	102
2.5. Ruta alternativa para la síntesis de derivados di-heterocíclicos de	104

β-D-ribofuranosa triazólicos/triazólicos.	
3. Estudios de actividad antiproliferativa.	106
4. Conclusiones.	111

Referencias	112
--------------------	------------

Capítulo 6

Síntesis de 5-aril-1,2,4-oxadiazoles derivados de β-D-ribofuranósidos	113
--	------------

1. Introducción.	113
2. Resultados y discusión.	115
2.1. Etapa I: Síntesis de la amidoxima precursora derivada de D-ribosa.	116
2.1.1. Grupo protector en la posición cinco de la β-D-ribofuranosa.	117
2.1.2. Síntesis de 2'-(hidroxiimino)etil derivados de β-D-ribofuranosa.	118
2.1.3. Nueva forma de obtención de 2'-(hidroxiimino)etil derivados.	121
2.1.4. Síntesis de nitrilo y amidoxima derivados de β-D-ribofuranósidos.	128
2.2. Etapa II: Síntesis de los derivados 1,2,4-oxadiazólicos de D-ribosa y transformación del sustituyente en posición cinco para la posterior sustitución.	131
2.3. Síntesis de compuestos di-heterocíclicos de D-ribosa con 5-aril-1,2,4-oxadiazoles.	137
2.3.1. Serie 1: Di-heterociclos sustituidos con un anillo 1,2,4-triazol-3-tiol.	137
2.3.2. Serie 1: Di-heterociclos sustituidos con un anillo 1,3,4-tiadiazol-5-amino-2-tiol.	139
3. Estudios de actividad antiproliferativa.	140
4. Conclusiones.	142

Referencias	143
--------------------	------------

Capítulo 7

Síntesis de derivados de D-ribono-1,4-lactona	145
--	------------

1. Introducción.	145
2. Resultados y discusión.	146
2.1. Síntesis de derivados protegidos de D-ribono-1,4-lactona.	146
2.2. Síntesis de aductos de Grignard derivados de D-ribono-1,4-lactona.	147
2.2.1. Reacción de la lactona 144 con bromuro de alilmagnesio.	147
2.2.2. Reacción de la lactona 144 con bromuros triazólicos/ isoxazólicos.	147
2.3. Síntesis de etinil derivados de D-ribono-1,4-lactona.	149
3. Conclusiones.	155

Referencias	156
--------------------	------------

Experimental

Capítulo 8

Técnicas Experimentales 157

1. Instrumentos y métodos generales. 157
2. Metodologías y resultados. 159
3. Ensayos de actividad biológica. 212
 - 3.1. Estudios farmacológicos realizados en los compuestos: 212
79, 80, 81, 82, 86, 87, 89, 90 y 91.
 - 3.2. Estudios farmacológicos realizados en los compuestos: 213
79, 81, 82, 100-103.
 - 3.3. Estudios farmacológicos realizados en los compuestos: 215
81, 100, 102, 122, 125, 126, 130, 133-140.

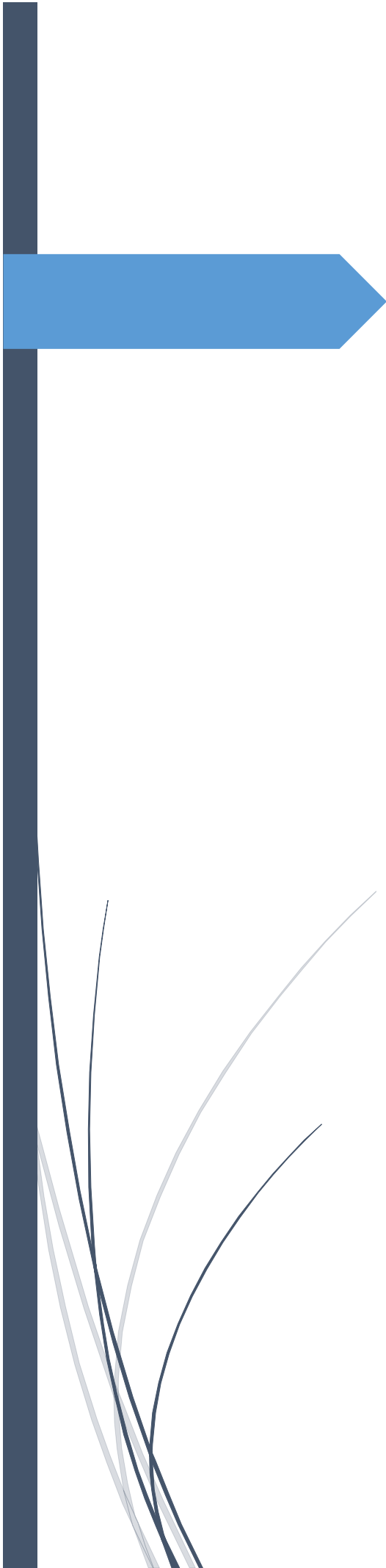
Referencias 218

Espectros Adicionales 219

Abreviaturas 237

Líneas celulares 240

Resumen extendido 241



Introducción

Capítulo 1 – Cáncer: ciclo celular y compuestos antitumorales

Capítulo 2 – Métodos de obtención de anillos heterocíclicos

Capítulo 3 – Objetivos de la Tesis

Capítulo 1

Cáncer: ciclo celular y compuestos antitumorales

1. Cáncer: definición.

Una neoplasia es una masa anormal de tejido cuyo crecimiento excede y no está coordinado con el de los tejidos normales, y persiste de la misma manera en exceso tras cesar el estímulo que suscitó el cambio, siendo cáncer la denominación habitual de todos los tumores malignos.¹

2. Generalidades.

Las enfermedades no transmisibles son en la actualidad la principal causa de mortalidad mundial. Las enfermedades neoplásicas, como segunda causa de estas defunciones, fueron responsables de 7,6 millones de muertes en el mundo; más de las dos terceras partes de las cuales ocurrieron en países de ingresos bajos y medios (datos del Instituto Nacional del Cáncer²). En Argentina, los tumores registran el 20 % del total de las defunciones que se producen anualmente en el país y es la segunda causa de muerte después de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Esto representa aproximadamente 60.000 muertes por año, de las cuales más del 90% se produce en personas mayores de 44 años de edad. El cáncer de pulmón ocasiona más de 9.000 muertes por año en ambos sexos, 15% del total de defunciones por cáncer. Le siguen en orden de importancia el cáncer colon-rectal y el de mama (11% y 9% respectivamente). Sin embargo, se observan diferencias importantes según sexo (ver Tabla 1.1).

El cáncer es una proliferación celular descontrolada causada por factores físicos, químicos, genéticos o biológicos, con crecimiento y división más allá de los límites normales, lo que provoca la invasión de los tejidos circundantes y, en determinados casos, metástasis en puntos distantes del organismo. Existen decenas de formas en que se presenta la enfermedad, pero su fisiopatología básica comprende aberraciones en

cualquier punto de la maquinaria molecular que gobierna el ciclo celular (CC) y que, por tanto, causan las disregulaciones del mismo.³

SITIO TUMORAL	HOMBRES		MUJERES		TOTAL
	N	%	N	%	
Pulmón	6283	19,9	3027	10,4	9316
Colon-recto	3911	12,4	3400	11,7	7313
Mama	45	0,1	5645	19,4	5690
Páncreas	1930	6,1	2136	7,3	4068
Próstata	3701	11,8		0,0	3701
Estómago	1858	5,9	1014	3,5	2874
Útero (Cx 71%)		0,0	2691	9,2	2691
Riñón y v. urinarias	1282	4,1	632	2,2	1916
Leucemia	1029	3,3	834	2,9	1863
Hígado y v. biliares.	1045	3,3	788	2,7	1836
Esófago	1210	3,8	568	2,0	1778
Vejiga	1053	3,3	355	1,2	1409
Linfoma No Hodgkin	749	2,4	595	2,0	1344
Encéfalo_SNC	719	2,3	572	2,0	1292
Vesícula	499	1,6	765	2,6	1266
Ovario		0,0	1118	3,8	1118
Otros	4113	13,1	2959	10,2	7072
Mal definidos	2010	6,4	1957	6,7	3973
TOTAL	31495	100,0	29100	100,0	60622

Tabla 1.1 Mortalidad en hombres y mujeres de cáncer de Argentina 2014. Distribución absoluta y relativa de los principales sitios tumorales. Fuente: *SILVER / INC* en base a datos de la DEIS (Dirección de Estadísticas e Información en Salud). Ministerio de Salud de la Nación, Argentina, 2016.

Para entender las bases moleculares del cáncer, el mecanismo de acción de los agentes quimioterápicos y los mecanismos de la quimio resistencia es necesario conocer los procesos biológicos que regulan el CC y la apoptosis. En condiciones normales existe un equilibrio entre la proliferación celular y la apoptosis, pero en el cáncer aparecen mutaciones que dan lugar a la activación de oncogenes (codifican proteínas del CC que favorecen la proliferación celular) o a la inactivación de genes supresores (codifican proteínas que frenan el CC). De este modo el equilibrio se rompe y la balanza se inclina hacia la proliferación desenfrenada y la inmortalización de la línea celular. El cáncer se define no sólo por la inmortalización de las células sino también por la

capacidad invasora local y a distancia, para lo cual son necesarias mutaciones adicionales. Aquellas mutaciones que favorezcan la angiogénesis mediada por los factores de crecimiento VEGF y PD-EDGF y la adhesión intercelular o a membranas basales mediada por las cadherinas E, integrinas, cateninas y otras moléculas de adhesión (genes *car* y *nm-23*) serán decisivas en la agresividad local y la capacidad metastásica del tumor.

2.1. Ciclo celular.

El ciclo celular es el conjunto de eventos que van desde el nacimiento y el crecimiento hasta la división de una célula cualquiera; es decir, la proliferación celular propiamente dicha. Este ciclo regula la división celular y es fundamental tanto para generar nuevas células en el desarrollo embrionario como para reemplazar las células dañadas en un órgano adulto.

El CC se encuentra dividido en cuatro fases morfológicamente no muy bien diferenciadas, pero molecularmente bien delimitadas y en el siguiente orden secuencial: fases G_1 , S, G_2 y M. Las fases G_1 y G_2 (gap o intervalo) implican una actividad metabólica para el crecimiento en masa de la célula (Figura 1.1). En la fase G_1 o de pre-síntesis se producen ARN y proteínas mientras que en G_2 o de post-síntesis el núcleo se organiza para la división celular. Por su parte la fase S (síntesis) consiste en la replicación del ADN para heredar a cada célula hija la misma carga genética. La fase M (mitosis) o de división celular como su nombre lo indica es la división de todo el material celular para originar dos células hijas. La duración completa de este ciclo varía con el tipo de célula de que se trate y de las condiciones del medio en el que se encuentre. Cuando la célula no está en actividad proliferante se encuentra en estado de quiescencia o G_0 , pero conservan la capacidad de reiniciar el ciclo para repoblar un tejido.

Las moléculas reguladoras del CC son universales y están muy conservadas durante la evolución. Distintas proteínas (Figura 1.2) ejercen el control en la entrada y la progresión de las células a lo largo de las fases del ciclo.^{4,5}



Figura 1.1 Fases del ciclo celular.

La progresión del CC en los organismos eucariotas está regulada por la formación secuencial y la activación e inactivación de un conjunto de moléculas. Estas moléculas implican a dos grandes familias de proteínas que son las quinasas dependientes de ciclina (CDKs) y las ciclinas (Figura 1.2). Las ciclinas (proteínas que sólo se expresan en el CC) activan a las CDKs uniéndose al sitio activo. Además de esta serie de reguladores positivos del ciclo celular (CDKs y ciclinas), existe una familia de reguladores negativos denominados inhibidores de las CDKs (CDKIs) que bloquean la actividad de uno o varios complejos CDK/ciclina, así como las CDKs propiamente dichas.

Proteín-kinasas dependientes de ciclinas (CDKs): fosforilan elementos claves en la progresión del CC. Para ser activas requieren unirse a las ciclinas. Hay tres tipos: CDKs G₁ (CDKs 4, 6 y 2), CDKs fase S (CDK2) y CDKs mitóticas (CDKs 2 y 1).

Ciclinas: proteínas que se unen a las CDKs y controlan su capacidad de fosforilar. Se denominan ciclinas porque se sintetizan y degradan durante el CC. Hay al menos 6 tipos de ciclinas distintas en mamíferos: A, B, C, D, E, F. Se clasifican además en: ciclinas G₁ (D₁, D₂, D₃ y E), ciclinas fase S (A y E) y ciclinas mitóticas (A y B).

Inhibidores de las CDK (CDKIs): existen dos familias de CDKIs, la familia del inhibidor de la CDK4 (INK4) y la familia de la proteína inhibidora de CDK (CIP/KIP). Las proteínas de la familia INK4 inhiben específicamente a la CDK4 y la CDK6 en G₁,

mientras que los inhibidores de la familia CIP/KIP inhiben a las CDKs en todas las fases del ciclo.

Proteína del retinoblastoma (pRb) y factor de transcripción E2F: la pRb forma un complejo con miembros de la familia del factor de transcripción E2F. Cuando la pRb es fosforilada por las CDKs se libera el E2F, que induce el paso de G₁ a S al activar la maquinaria de síntesis del ADN.

Factor de maduración-promoción (maturationpromoting factor o MPF): proteína-kinasa que en la meiosis induce la maduración de los oocitos, y en la mitosis interviene en la transición de G₂ a M. Una vez activado por las ciclinas, fosforila proteínas implicadas en la rotura de la membrana nuclear, la condensación de los cromosomas y la degradación de las ciclinas.

Complejo promotor de la anafase (anaphase-promoting complex o APC): recientemente descubierto, es capaz de iniciar la separación de las cromátides hermanas en la anafase, favoreciendo la progresión de la fase M.

Ubiquitinas y proteosomas: las ubiquitinas son pequeñas proteínas que por acción de las enzimas activadora E1, conjugadora de ubiquitinas E2 y ubiquitín ligasa E3 se adhieren a un sustrato haciéndolo susceptible de la proteólisis por un proteosoma. Los proteosomas son complejos proteicos formados por múltiples subunidades responsables de la degradación de las ciclinas y CKIs una vez que han efectuado su acción fosforiladora en cada fase. Una vez degradadas se hace irreversible la marcha atrás del ciclo.

Proteína p53 (gen supresor TP53): activa a la p21^{CIP1}, CDKI que inhibe la fosforilación de la pRb impidiendo la liberación del E2F, deteniendo el ciclo en G₁ e induciendo apoptosis. También puede detener el ciclo en G₂ mediante la activación de la proteína 14-3-3σ. Además, la p53 activa genes reparadores del ADN (mlh-1 y mlh-2) protegiendo de mutaciones y confiriendo estabilidad genética.

Otras proteínas: factores de crecimiento, proteínas pro-mitóticas de la familia Bcl-2, proteínas pro-apoptóticas de la familia Bcl-2.

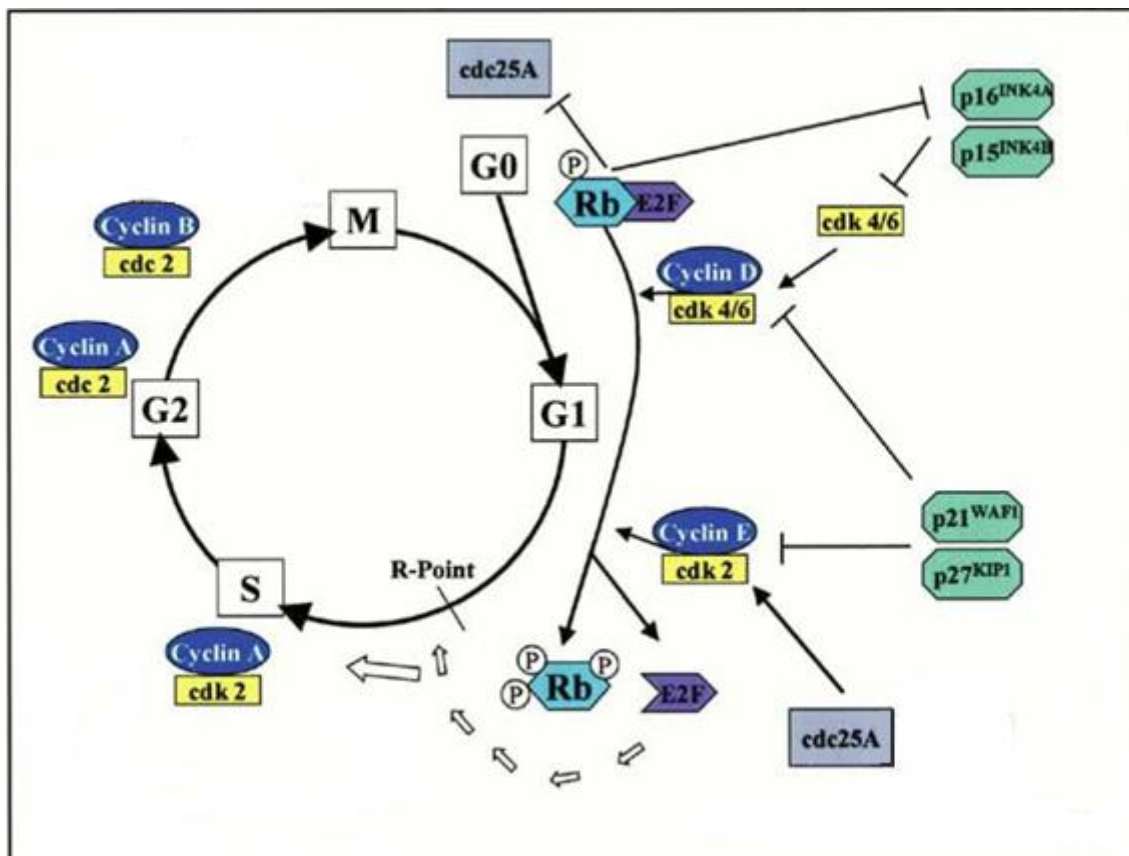


Figura 1.2 Moléculas reguladoras del ciclo celular.

En la Figura 1.2 se puede observar un esquema resumido de la maquinaria del control del CC. El ensamblaje de las CDKs y las ciclinas constituye el ritmo que lleva a la célula a avanzar por las distintas fases de su ciclo. Cuando una célula abandona su estado de quiescencia en respuesta a los estímulos mitogénicos, tiene lugar una inducción de la síntesis de ciclinas del tipo D que formarán complejos con CDK4 y CDK6. En la fase G₁ tardía se produce la síntesis y formación de complejos ciclina E-CDK2 cuya activación es clave para la conclusión de esta fase y la entrada en la fase S. En esta fase es cuando se expresa la ciclina A, siendo necesaria para que la maquinaria de replicación lleve a cabo la síntesis de ADN. En la fase G₂ se producen complejos ciclina A-cdc2, necesarios para iniciar los preparativos para la inminente mitosis. También, en esta fase la actividad cdc2 es orientada hacia otros sustratos al formar complejos activos con otras ciclinas (ciclina B-cdc2).

Es casi imposible resumir todos los tipos de alteraciones que existen en cada forma de cáncer conocida, pero ejemplificaremos algunos casos.

La ciclina D se ha visto incrementada en múltiples tipos de cáncer, como el de estómago o el de esófago; las ciclinas A y E, por su parte, se sobreexpresan en carcinomas hepatocelulares y su nivel de sobreexpresión se relaciona con la agresividad de la enfermedad.³ La ciclina B se incrementa en casos positivos a los virus del papiloma humano 16 o 18, los cuales son la principal causa de cáncer de cervix en mujeres.

El de gen p53 se encuentra mutado en la mitad de los cánceres humanos conocidos (de hígado, piel, pulmón, etc.). Las leucemias mieloides son parte del otro cincuenta por ciento donde no hay mutaciones en este gen.⁶ La pérdida de la función de p53 deja a las células sin un mecanismo para inhibir el desarrollo de tumores y, por lo tanto, frente a un daño al ADN que active un oncogen no podrían detener su ciclo proliferativo y corregir el daño o morir por apoptosis.

2.2. Fármacos antitumorales.

El objetivo último de la terapéutica antitumoral es la eliminación completa de toda célula neoplásica mediante métodos quirúrgicos, radioterápicos y farmacológicos. La quimioterapia es, en general, cualquier tratamiento médico basado en la administración de sustancias químicas (fármacos). Dichos fármacos se denominan citotóxicos (matan las células tumorales) o citostáticos (inhiben el crecimiento tumoral). Los principales mecanismos de acción de la quimioterapia se enfocan a:

- 1) Impedir el crecimiento de los vasos sanguíneos que nutren el tumor (angiogénesis).
- 2) Detener el proceso de división celular.
- 3) Provocar la muerte espontánea de la célula (apoptosis).
- 4) Impedir la división celular alterando la estructura de las células.

En la Figura 1.3 se indican esquemáticamente los mecanismos de acción de la quimioterapia. La acción de los agentes antitumorales varía según la dosis a la que se administren. Debido a la inespecificidad de muchos de ellos su administración afecta a otras células y tejidos normales del organismo, sobre todo si se encuentran en división activa.

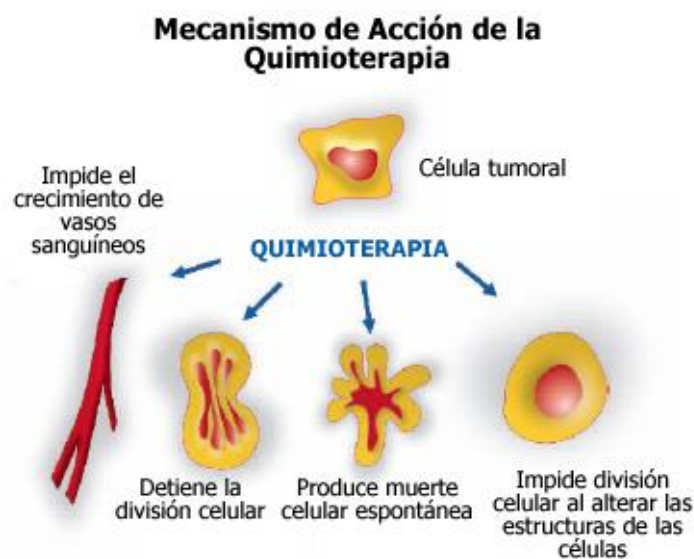


Figura 1.3 Mecanismos de acción de la quimioterapia.

Los fármacos antitumorales pueden clasificarse en función de su mecanismo de acción o del momento en que actúan sobre el ciclo celular. En la Figura 1.4 se indica una clasificación de los fármacos y su diana de acción terapéutica. Algunos medicamentos funcionan en más de una forma y puede que pertenezcan a más de un grupo.

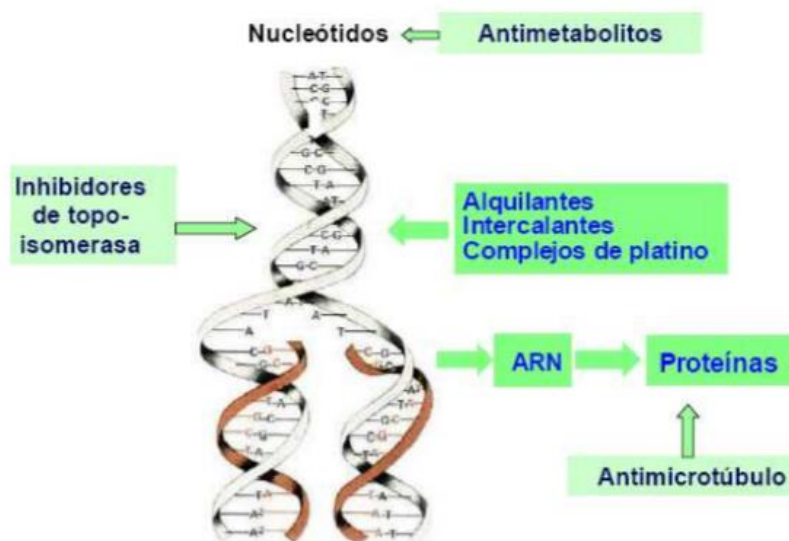


Figura 1.4 Diana de acción de fármacos.

2.2.1. Agentes alquilantes.

Los agentes alquilantes impiden la reproducción de las células al dañar su ADN. Estos medicamentos se usan para tratar muchas clases diferentes de cánceres,

incluyendo el cáncer pulmonar, de mama y ovárico, así como la leucemia, el linfoma, la enfermedad de Hodgkin, el mieloma múltiple y el sarcoma. Debido a que estos medicamentos dañan el ADN, pueden afectar a las células de la médula ósea, las cuales son formadoras de nuevos glóbulos (células sanguíneas). Por ejemplo, la Ciclofosfamida se emplea en el tratamiento de linfomas y algunos tipos de leucemia y el Melfalán se administra en el tratamiento del melanoma y cáncer de ovario (Figura 1.5).

2.2.2. Antimetabolitos.

Los antimetabolitos interfieren con el crecimiento del ADN y del ARN al sustituir elementos fundamentales de estas moléculas. Estos agentes dañan las células durante la fase en la que se copian los cromosomas de la célula. Se usan comúnmente para tratar leucemias, cáncer de mama, de ovarios y del tracto intestinal. Ejemplos son el 5-Fluorouracilo (5-Fu) que se incorpora a la síntesis del ARN y la Gemcitabina que inhibe la síntesis del ADN (Figura 1.5).

2.2.3. Antibióticos antitumorales.

Estos medicamentos no son como los antibióticos que se usan para tratar infecciones. Ejercen su acción al cambiar el ADN dentro de las células cancerosas para impedir que crezcan y se multipliquen. Las antraciclinas, como por ejemplo la Doxorrubicina y la Daunorrubicina, son antibióticos contra tumores cancerosos que interfieren con las enzimas involucradas en la replicación de ADN durante el ciclo celular y se usan ampliamente para tratar varios tipos de cáncer (Figura 1.5).

2.2.4. Inhibidores de la topoisomerasa.

Estos medicamentos interfieren con las enzimas llamadas topoisomerasas, las que ayudan a separar las hebras de ADN para que se puedan copiar. Los inhibidores de la topoisomerasa se usan principalmente para tratar ciertas leucemias, así como cánceres del pulmón, de ovarios y gastrointestinales. Los inhibidores de la topoisomerasa se agrupan según el tipo de enzima que afectan, inhibidores de la topoisomerasa I y II. Entre los fármacos que inhiben la topoisomerasa I se destacan el Irinotecan y el Topotecan. El Etopósido y el Tenipósido ejercen su acción antitumoral mediante la inhibición de la topoisomerasa II (Figura 1.5).

2.2.5. Inhibidores de la mitosis.

Los inhibidores de la mitosis son compuestos derivados de productos naturales. Ejercen su acción al detener la división celular pero pueden dañar las células en todas las fases al evitar que las enzimas sinteticen las proteínas necesarias para la reproducción de las mismas. Ejemplos de estos medicamentos son el Paclitaxel y la Vinblastina (Figura 1.5).

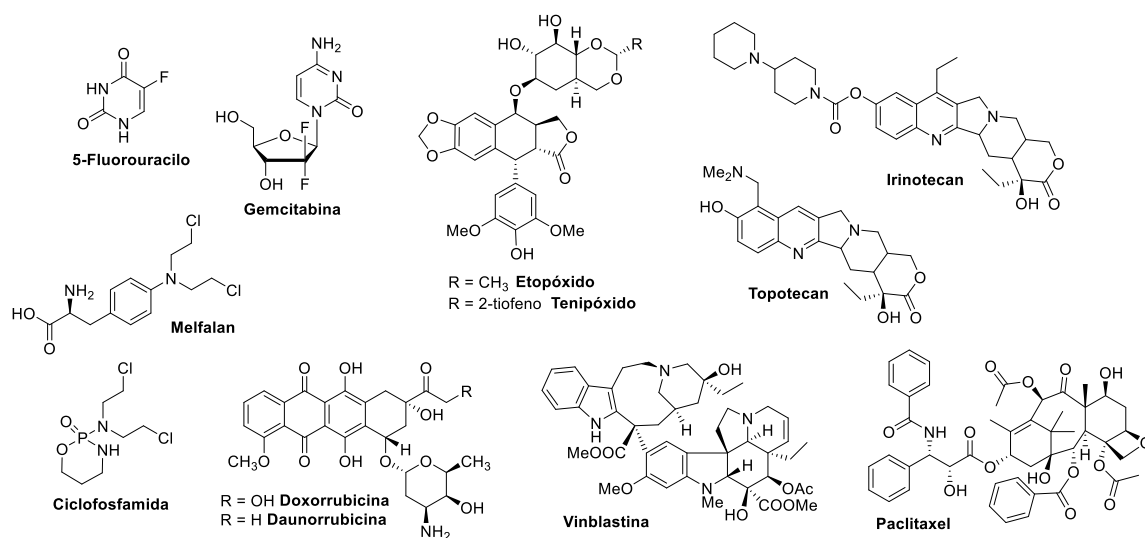


Figura 1.5 Fórmula química de fármacos utilizados como antitumorales.

3. Estrategias en la síntesis de compuestos anti-cáncer.

Los heterociclos son componentes estructurales clave de muchos de los medicamentos contra el cáncer disponibles actualmente en el mercado. La ingeniería y la razón de ser del diseño de fármacos están estrechamente relacionadas con la incorporación estratégica de fragmentos heterocíclicos con propiedades fisicoquímicas específicas. La lipofilicidad, polaridad, solubilidad acuosa, potencia y la selectividad a través de reemplazos bioisostéricos, pueden ajustarse en última instancia hasta el punto de alterar y condicionar los posibles mecanismos de acción de los fármacos para obtener agentes dirigidos molecularmente.⁷

Por otra parte, las bases de datos de la FDA (Food and Drugs Administration) de EE.UU. revelan la importancia estructural de los heterociclos nitrogenados en el diseño y la ingeniería de fármacos. Cerca del 60% de fármacos de moléculas pequeñas contienen un heterociclo nitrogenado. Recientemente, Vitaku *et al.*⁸ compilaron exhaustivamente la diversidad estructural, los patrones de sustitución y la frecuencia de heterociclos nitrogenados entre los productos farmacéuticos aprobados por la FDA.

Cabe destacar que el número promedio de átomos de nitrógeno por fármaco es de alrededor de 2,3 mientras que, en los que contienen un heterociclo nitrogenado, se evidencia un aumento de 3,1 átomos de nitrógeno por fármaco.

La capacidad de los heterociclos para participar en una amplia variedad de interacciones intermoleculares, incluida la capacidad de donante/aceptor de enlaces de hidrógeno, interacciones de sincronización, enlaces de coordinación de metales y fuerzas hidrofóbicas y van der Waals, les permite unirse con enzimas en una multitud de formas. Además, su amplia gama de tamaños de anillo y permutaciones estructurales les permite coincidir con el rango estructural igualmente diverso de los sitios de unión de las enzimas. En definitiva, la dinámica estructural involucrada en heterociclos nitrogenados (y otras clases de heterociclos), junto con aspectos fundamentales como el tamaño del anillo y la aromaticidad, se traduce en una amplia gama de estructuras químicas mediante las cuales sus mecanismos moleculares de acción pueden variar significativamente. Esto hace que la química de heterociclos sea una herramienta importante para el descubrimiento de nuevas sustancias activas con un variado potencial de aplicaciones.

Dado que los objetivos de la esta Tesis consisten en sintetizar derivados mono- y di-heterocíclicos de D-ribofuranosa y estudiar además su posible acción antitumoral, a continuación, se presentará un resumen de los anillos heterociclos que fueron seleccionados para la síntesis de los compuestos con posible actividad antitumoral, mostrando su efectividad como farmacóforos en drogas comerciales y específicamente incorporados en compuestos con probada actividad antiproliferativa.

4. Anillos heterocíclicos y su actividad farmacológica.

4.1. Triazoles.

4.1.1. Anillos heterocíclicos 1,2,3-triazólicos.

Recientemente, los 1,2,3-triazoles han ganado interés en el campo del descubrimiento de nuevas drogas. El triazol es un anillo heterocíclico interesante debido

a que tiene una estructura cuya geometría es intermedia entre purinas y pirimidinas, una alta polaridad y una buena capacidad para formar enlaces hidrógeno. La reacción “click” descrita por Sharpless,⁹ una cicloadición azida-alquino catalizada por Cu (I) (Cu-AAC), ha dado como resultado la producción de una gran cantidad de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituídos en altos rendimientos, por lo cual esta reacción fue ampliamente aplicada al desarrollo de fármacos. Los anillos triazólicos son más que simples uniones pasivas; se asocian fácilmente con dianas biológicas, a través de enlaces de hidrógeno e interacciones dipolo. La sustitución de enlaces amida por 1,2,3-triazoles ha sido frecuentemente utilizada, demostrándose la versatilidad de este efecto isostérico.¹⁰ Numerosos compuestos que llevan este grupo también son bien conocidos por sus efectos terapéuticos y son comercialmente utilizados, como la Cefatrizina y el Tazobactam (Figura 1.6). El carboxiamidotriazol es un bloqueador de los canales de Ca^{2+} . Tiene una comprobada actividad antiproliferativa, antiangiogénica y antimetastásica *in vivo* y muestra selectividad frente a numerosas líneas de células tumorales *in vitro*, y actualmente se encuentra en Fase Clínica II (Figura 1.6).

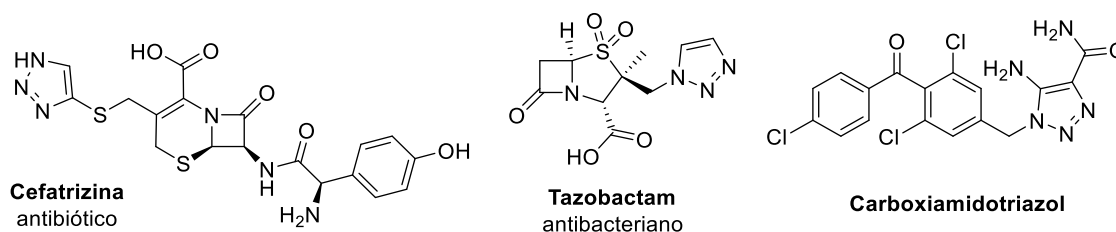


Figura 1.6 Estructuras de Cefatrizina, Tezobactam y del Carboxiamidotriazol.

Durante el período 2008-2017 se han realizado los principales avances en el uso medicinal de este farmacóforo. A continuación, se presentan algunos ejemplos recientes de compuestos con probada actividad antiproliferativa incorporando el anillo 1,2,3-triazólico en su estructura.

La reacción Cu-AAC utilizando radiación de microondas, fue empleada para obtener una serie de nuevos híbridos de cumarina 1,2,3-triazólicos. Se sintetizaron los azidometil derivados de cumarinas y se trataron con alquinos terminales aromáticos (Tabla 1.2). Las muestras fueron evaluadas contra el adenocarcinoma del cuello uterino humano (HeLa), el adenocarcinoma de colon (CaCo-2), la leucemia mieloide crónica en crisis de blastos (K562) y en células del riñón canino Madin Darby (MDCK1). Aunque los compuestos **1-4** mostraron los efectos citostáticos más altos, los derivados **5, 6 y 8** con un sustituyente *p*-metoxifenil-1,2,3-triazolilo fueron los más selectivos y los más

potentes en células K562 (**5**: $CI_{50} = 8,7 \mu M$, **6**: $CI_{50} = 7,5 \mu M$, **8**: $CI_{50} = 9,8 \mu M$). El compuesto **7** presentó un valor de $CI_{50} = 12,2 \mu M$ frente a la misma línea celular.

		R₁	R₂	R₃
	1	OH	OH	H
	2	OH	OH	<i>p</i> -OCH ₃
	3	OH	OH	<i>m</i> -OCH ₃
	4	OH	OH	<i>o</i> -OCH ₃
	5	OCH ₃	H	<i>p</i> -OCH ₃
	6	H	OCH ₃	<i>p</i> -OCH ₃
	7	H	OH	H
	8	H	OH	<i>p</i> -OCH ₃

Tabla 1.2 Derivados de cumarina 1,2,3-triazólicos sintetizados con diferentes sustituyentes.

Hou *et al.* propusieron un esquema sintético conciso y eficiente para acceder fácilmente a una serie de nuevos derivados de ácido deshidroabiético unidos a 1,2,3-triazol con grupos alifáticos y aromáticos.¹¹ Evaluaron la actividad antiproliferativa *in vitro* frente a cuatro líneas celulares de cáncer humano diferentes, incluyendo ovario (SKOV-3), próstata (PC-3) y mama (MDA-MB-231 y MCF-7), y vieron que la mayoría de los híbridos exhibían actividades inhibitoras potentes con valores de CI_{50} de micromolar a submicromolar. Los estudios demostraron que **9**, **10** y **11** (Figura 1.7), que poseen diferentes sustituyentes en la posición C-4 del resto de triazol, fueron eficaces contra células MCF-7 en bajas concentraciones (CI_{50} $0,8 \pm 0,4$; $1,4 \pm 0,4$ y $0,8 \pm 0,2 \mu M$, repectivamente). Además, el derivado **11** mostró una actividad antiproliferativa de amplio espectro con valores de CI_{50} entre $0,7$ y $1,2 \mu M$, mayores que el fármaco comercial 5-Fu (valor CI_{50} promedio $16,1 \mu M$).

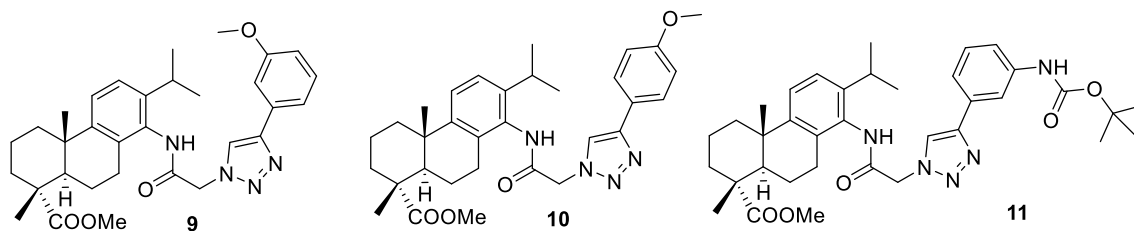
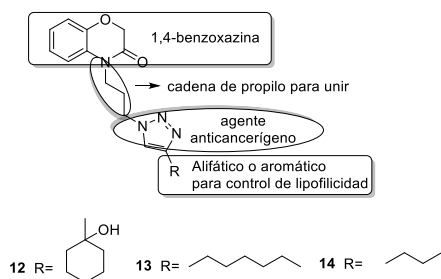


Figura 1.7 Híbridos del ácido deshidroabiético-1,2,3-triazol más activos.

Por otra parte, Bollu *et al.* integraron dos unidades farmacóforas, la 1,4-benzoxazina y el 1,2,3-triazol, en una sola plataforma molecular, unidos por un propilo y un resto lipofílico sobre el anillo triazólico. Dos compuestos **12** y **13** (Figura 1.8) exhibieron actividades antiproliferativas contra cuatro líneas celulares HeLa (cervico-

uterino), MIAPaCa (pancreática), MDA-MB-231 (mama) y IMR32 (neuroblastoma) con valores de CI_{50} en el rango micromolar, mientras que **14** mostró una actividad importante frente a las líneas celulares MDA-MB-231 and IMR32 (Tabla 1.3).¹²



	HeLa	MIAPaCa	MDA-MB-231	IMR32
12	2,0 ± 0,5	2,5 ± 0,5	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,06
13	0,1 ± 0,3	0,15 ± 0,09	1,1 ± 0,08	0,71 ± 0,07
14	23,2 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,1 ± 0,04	1,4 ± 0,06

Tabla 1.3 Valores de CI_{50} en μM para los compuestos **12**, **13** y **14**.

Figura 1.8 Estructura de los compuestos **12**, **13** y **14**.

4.1.2. Anillos heterocíclicos 1,2,4-triazólicos.

Los 1,2,4-triazoles y sus derivados tienen un lugar distintivo en el campo de la química médica y farmacéutica.¹³ Algunos de los fármacos comercialmente disponibles en el mercado que poseen estos anillos nitrogenados se muestran en la Figura 1.9.

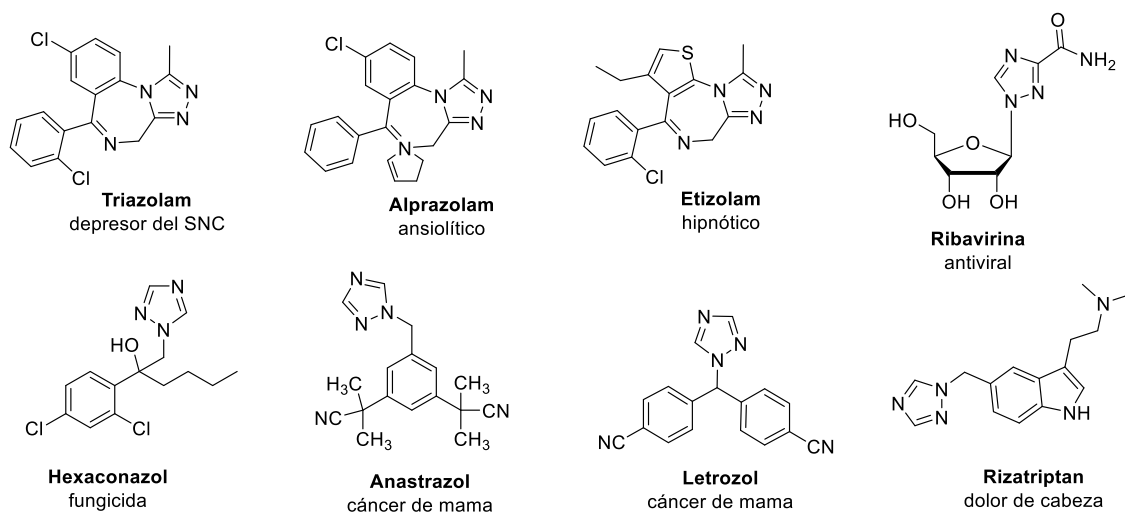


Figura 1.9 Estructuras de fármacos comerciales conteniendo 1,2,4-triazoles.

Dado que algunos compuestos conteniendo 1,2,4-triazoles ya se utilizan en el tratamiento de cáncer de mama como el Anastrozol y el Letrozol (Figura 1.9), diversos grupos de trabajo se han abocado al desarrollo de nuevos derivados 1,2,4-triazólicos como potenciales anticancerígenos en los últimos años.

Los 3-tio-1,2,4-triazoles derivados son parte importante de compuestos que resultaron inhibidores de diferentes quinasas. Park *et al.*¹⁴ exploraron las fosfatasa Cdc25 como objetivos para la terapia contra el cáncer. Dado que las Cdc25 actúan controlando de las transiciones G₁/S, G₂/S y G₂/M en el ciclo celular, estas fosfatasa son reguladores centrales del ciclo celular. El compuesto **15** exhibió una potente actividad *in vitro* con un CI₅₀ menor a 10 µM (Figura 1.10).

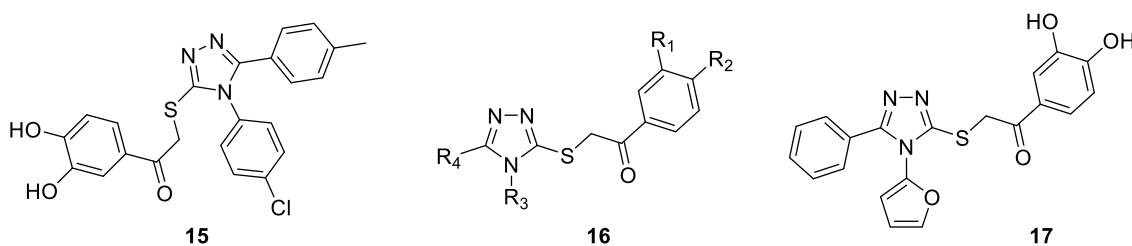


Figura 1.10 Estructuras de los compuestos **15**, **16** y **17**.

A partir de este compuesto líder, Park *et al.*¹⁵ sintetizaron una serie de derivados de **16** donde el derivado más potente fue el **17** con valores de CI₅₀ de 4,7 y 2,3 µM para las fosfatasa Cdc25a y Cdc25b, respectivamente.

Los modos de enlaces con los sitios activos de ambas fosfatasa fueron calculados con el programa AUTODOCK. Uno de los átomos de nitrógeno del anillo triazólico forma un enlace de hidrógeno con el grupo guanidinio de cadena lateral del residuo de Arg alrededor del sitio activo (Arg436 en Cdc25A y Arg479 en Cdc25B). (Figura 1.11).

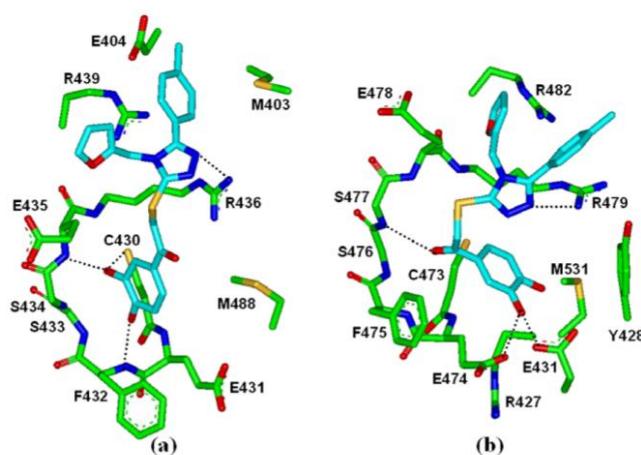


Figura 1.11 Los modos de enlace calculados de **17** en los sitios activos de (a) Cdc25A y (b) Cdc25B. Los átomos de carbono de la proteína y el ligando están indicados en verde y celeste, respectivamente. Cada línea punteada indica un enlace de hidrógeno.

Zhang *et al.*¹⁶ sintetizaron 28 derivados de 1,2,4-triazoles conteniendo piridina como posibles inhibidores de quinasas y agentes antitumorales. El compuesto **18**

(Figura 1.12) demostró ser un inhibidor eficaz contra líneas celulares HCT116 y HepG2 con valores de CI_{50} de 8,17 y 7,04 μM , respectivamente, mientras que el compuesto **19** mostró una potente actividad contra la línea celular HCT116 ($CI_{50} = 1,99 \mu M$).

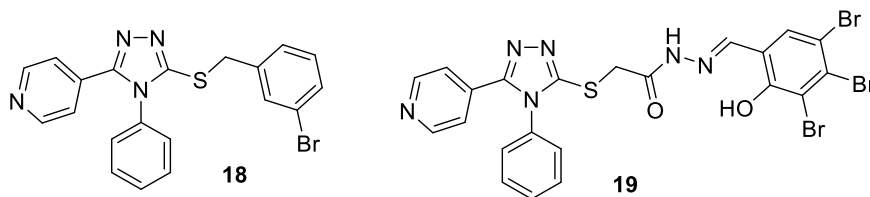


Figura 1.12 Estructuras de los compuestos **18** y **19**.

Xu *et al.*¹⁷ informaron la síntesis de series de *N*-(4-hidroxi-3-mercaptonaftalen-1-il) amidas y las examinaron *in vitro* por su actividad antiangiogénica. Por estudios de relación estructura-actividad, se observó que la presencia de grupos atractores de electrones en el anillo aromático y el anillo 1*H*-1,2,4-triazol eran responsables de la actividad de inhibición de citotoxicidad y quinasa. El compuesto más prometedor de la serie con un grupo orto nitro en el anillo aromático (**20**, Figura 1.13), mostró actividad inhibidora significativa en la proliferación de células HUVEC, A549, K562, PC-3, HCT116, MDA-MB-231 y MCF-7 (con valores de CI_{50} de 2,8-52,5 μM).

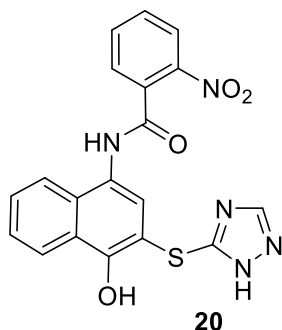


Figura 1.13 Estructura del compuesto **20**.

4.2. Isoxazoles.

Otro heterociclo de gran interés para los químicos y especialmente farmacólogos, es el 1,2-oxazol o isoxazol, debido a su relativamente fácil síntesis. Estructuras conteniendo anillos isoxazólicos presentaron importantes actividades biológicas y la modificación estructural de sustancias incorporando isoxazoles derivó en el descubrimiento de nuevos fármacos (Figura 1.14).¹⁸

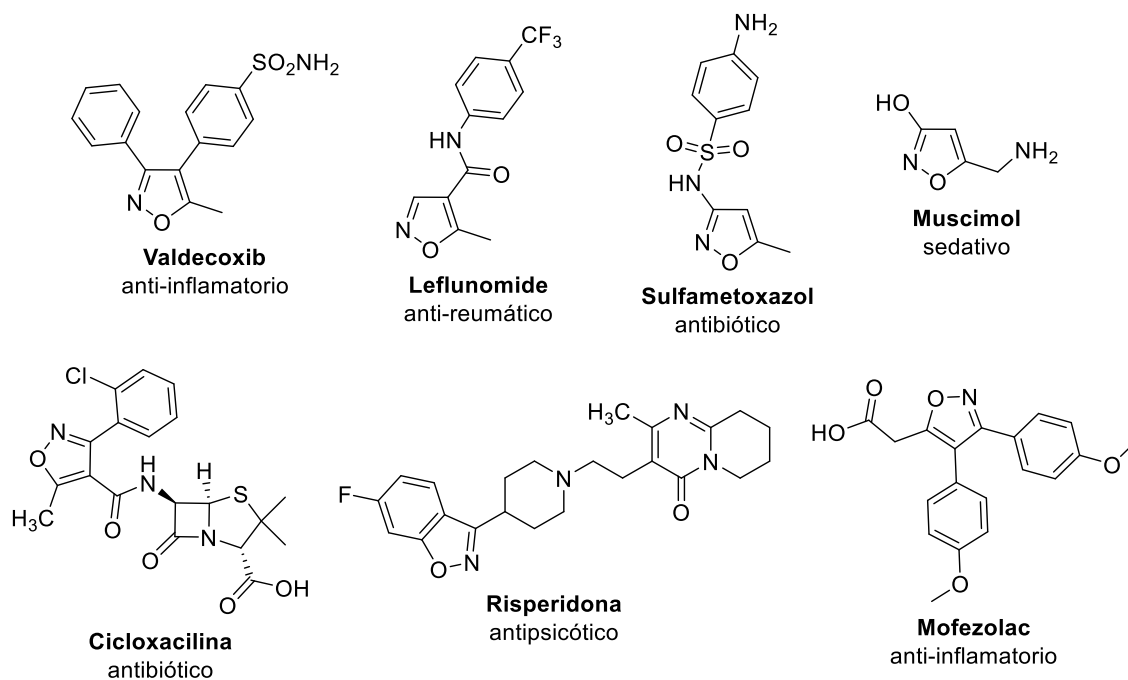


Figura 1.14 Estructuras de fármacos comerciales conteniendo anillos isoxazólicos.

Particularmente, nos vamos a enfocar en los derivados isoxazólicos que mostraron actividad como antitumorales.

Sharp *et al.*¹⁹ sintetizó y describió las propiedades del isoxazol **21** como inhibidor de la chaperona Hsp90, una proteína de choque térmico (*Heat Shock Proteins*) (Figura 1.15). La potencia antiproliferativa celular media del derivado **21** para una variedad de líneas celulares de cáncer humano (líneas de melanoma, cáncer de colon, de ovario y de mama) fue $GI_{50} 78 \pm 15$ nM.

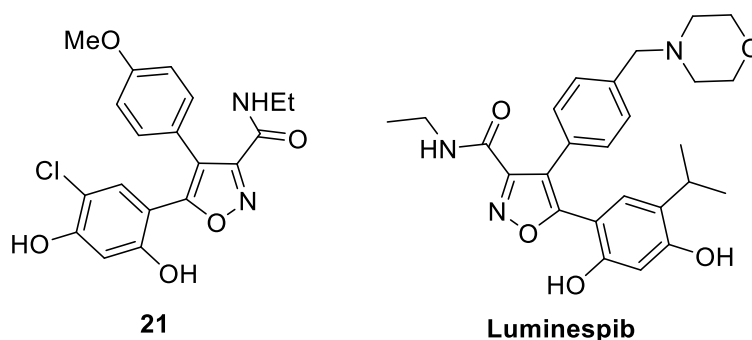


Figura 1.15 Estructuras de Luminespib y el compuesto **21**.

El prometedor avance de este tipo de agentes derivó en la búsqueda de nuevos inhibidores. Cambios de sustituyentes sobre los anillos aromáticos permitió encontrar una resorcinil-isoxazol-amida (Luminespib), que se encuentra actualmente en Fase II de ensayos clínicos. Eccles *et al.*²⁰ describieron sus propiedades biológicas y demostraron

su capacidad para inhibir la proliferación de células tumorales por inducción de la detención de G₁-G₂ y la apoptosis. El compuesto es activo para una amplia gama de líneas de células tumorales, especialmente cáncer de mama.

Por otra parte la Hsp27, forma parte de un conjunto de proteínas que se generan cuando se encuentran en un medio ambiente que provoca cualquier tipo de estrés. En muchos cánceres diferentes se observa una elevada expresión de Hsp27 y por ende se sospecha que dicha proteína aumenta el potencial metastásico de las células tumorales. Shin *et al.*²¹ mostraron que el isoxazol **22** (Figura 1.16) inhibía la migración e invasión de la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-231 sin efectos citotóxicos. El reemplazo del bromo por un grupo metoxilo derivó en el compuesto **23**, que presentó una actividad antimigratoria dos unidades menor que el **22**. Se demostró que el derivado **23** se unía a Hsp27, bloqueando la quinasa C-dependiente de la fosforilación de esta proteína e inhibiendo así la migración de células tumorales.

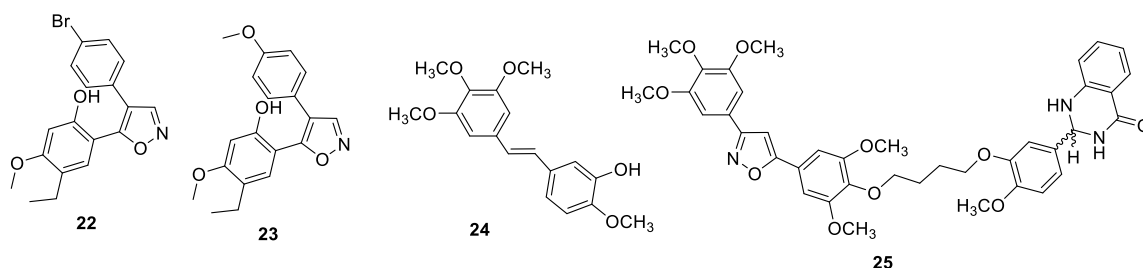


Figura 1.16 Estructuras de los compuestos 22-25.

Un producto natural, la combretastatina A-4 (**24**, CA4), parece ser un agente antimitótico muy prometedor. CA4 es capaz de inhibir la polimerización de tubulina y tiene una actividad antivasculativa selectiva hacia tumores sin afectar tejidos normales. Un análogo de CA4 muy prometedor fue descrito por Kamal *et al.*²² El isoxazol **25** (Figura 1.16) mostró un valor GI₅₀ de 0,18 μ M en un ensayo citotóxico contra la línea celular A549 (línea celular de cáncer de pulmón humano).

Bis-isoxazoles derivados de azepinas fueron descritos por Rajanarendar *et al.*²³ En este caso se encontraron dos compuestos **26** y **27** (Figura 1.17), que presentaron actividad antiproliferativa contra dos líneas tumorales de cáncer de mama MCF-7 (CI₅₀ 12,45 y 10,20 μ M, respectivamente), MDA-MB-231 (CI₅₀ 10,32 y 18,25 μ M, respectivamente) y una línea de células epiteliales de cáncer de riñón humano HEK-293 (CI₅₀ 30,23 y 10,26 μ M, respectivamente). Sus actividades eran generalmente más altas

que las del fármaco de referencia cisplatina (CI_{50} : 12,25 μ M, 24,16 μ M, 40,40 μ M, respectivamente para las tres líneas testeadas).

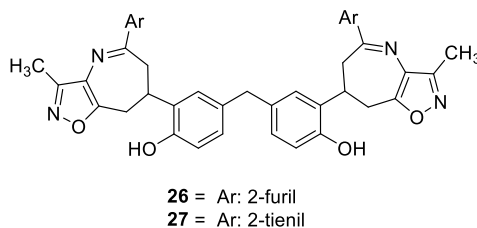


Figura 1.17 Estructuras de los compuestos 26 y 27.

La introducción de un anillo isoxazol unido a la posición 4 de una quinazolina, generó cuatro posibles candidatos (**28**, **29**, **30**, **31**), que resultaron activos frente a tres líneas celulares A549 (cáncer de pulmón), HCT116 (cáncer colorrectal) y MCF-7 (cáncer de mama) en el rango de micromolar. Dos compuestos (**32**, **33**) resultaron mucho más potentes frente a la línea celular HCT116 que el Gefitinib, un fármaco que presenta como núcleo central un anillo quinazolinico utilizado clínicamente como agente anticanceroso (Tabla 1.4).²⁴

	Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
	28	H	H	Ph	2-Cl
	29	OCH ₃	OCH ₃	Cl	4-CH ₃
	30	OCH ₃	OCH ₃	Cl	2-Cl
	31	OCH ₃	OCH ₃	Cl	2,4-diCl
	32	H	H	Ph	4-Br
	33	H	H	Ph	4-OCH ₃

Tabla 1.4 Derivados de quinazolininas con un anillo isoxazólico en la posición 4.

4.3. Isoxazolininas.

Algunos productos naturales conteniendo Δ^2 -isoxazolininas presentaron interesantes actividades como antitumorales.²⁵ Por ejemplo, el metabolito Psamaplysin E (Figura 1.18) fue aislado de un extracto metanólico de la esponja *Pseudoceratina Purpurea* y de los extractos combinados de metanol y metanol/diclorometano de la esponja *Aplysinella strongylata*. Psamaplysin E fue significativamente citotóxico contra KB (carcinoma epidermoide oral, humano) y LoVo (adenocarcinoma de colon) pero además contra P-388 (célula de leucemia murina) con un CI_{50} de 2,1 μ g/ml.

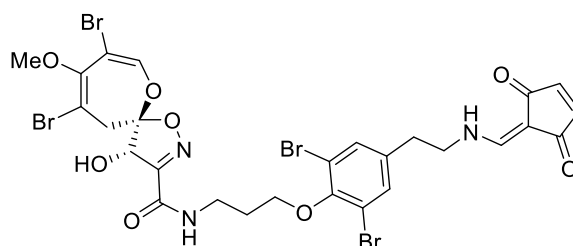


Figura 1.18 Estructura del Psamaplysin E.

La introducción de este anillo heterocíclico en compuestos biológicamente activos genera derivados con mayor actividad. Así, los análogos isoxazolínicos **34** y **35** de CA4 (Figura 1.19),²⁶ mostraron una potente actividad apoptótica a concentraciones menores de 0,25 μM y por un mecanismo diferente al del compuesto de partida.

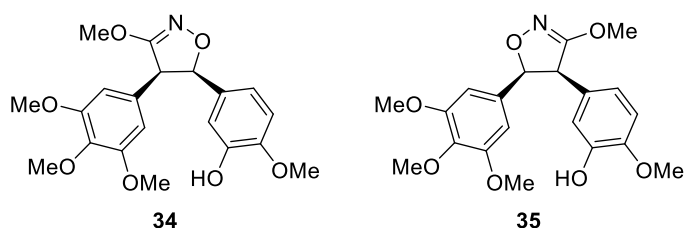


Figura 1.19 Estructuras de los compuestos **34** y **35**.

Kamal describió la síntesis de derivados que resultaban de la unión entre la unidad 3,5-diaril-isoxazolina/isoxazol y el sistema de anillos pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepinas.²⁷ Si bien tanto los derivados isoxazolínicos como los isoxazólicos mostraron importantes actividades antiproliferativas frente a nueve diferentes líneas celulares con valores de GI_{50} en el rango de 0,1-2,5 μM , las isoxazolininas resultaron más interesantes. Los compuestos **36** y **37** (Figura 1.20) fueron evaluados en el Instituto Nacional del Cáncer (National Cancer Institute, Bethesda, EE.UU.) exhibiendo una potente actividad anticancerígena contra diversas líneas celulares de cáncer, indicando que estos compuestos tienen el potencial para su desarrollo como agentes anticancerígenos de amplio espectro.

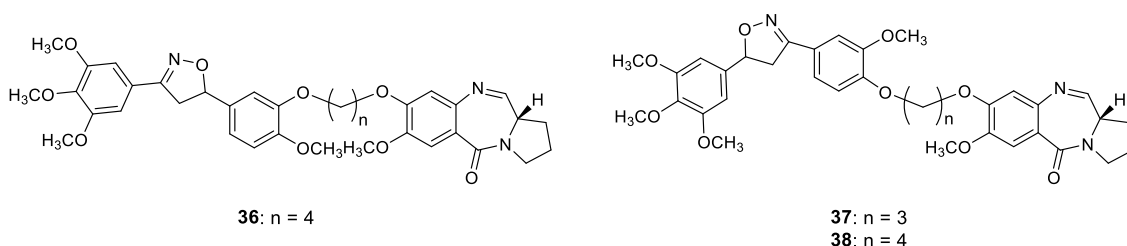


Figura 1.20 Estructuras de los compuestos **36**, **37** y **38**.

Sin embargo, cuando se estudió el ciclo celular de la línea tumoral A375 de melanoma humano, se observó que los compuestos **37** y **38**, a una concentración de 4 μM y durante 24 h, inducían la apoptosis hasta 98,5 % y 95,3 % respectivamente de la fase G_0/G_1 y hay una disminución concomitante en la fase G_2/M . Por lo tanto, el aumento en las células de la fase G_0/G_1 y la disminución de las células de fase G_2/M demuestra claramente que estos compuestos causan la detención de la fase G_1 y son eficaces en causar apoptosis en el caso de células A375 cancerosas. Además, el compuesto **38** elevaba los niveles de p53, un gen supresor de tumores.

Filali *et al.* describieron la síntesis de isoxazolininas derivadas de harmina (Figura 1.21) y evaluaron su citotoxicidad *in vitro* contra las líneas celulares MCF7 (cáncer de mama) y HCT116 (cáncer de colon).²⁸ Algunas de ellas resultaron ser potentes inhibidores de la MCF7 siendo el compuesto **39** el más citotóxico (CI_{50} de 0,2 μM), más potente aún que el patrón utilizado la Doxorubicina (CI_{50} de 0,8 μM).

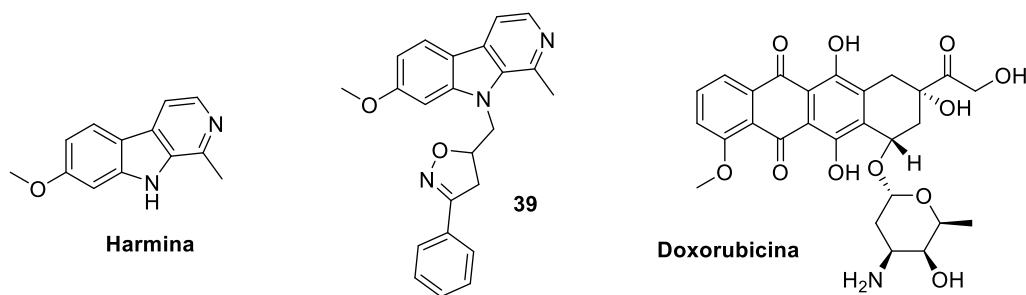


Figura 1.21 Estructuras del compuesto **39**, y de la Doxorubicina.

4.4. Oxadiazoles.

Los oxadiazoles son compuestos versátiles para el desarrollo de potentes agentes bioactivos. La presencia de estructuras heterocíclicas en diferentes tipos de compuestos aumenta su efecto farmacológico. Dentro del descubrimiento y desarrollo del fármaco, el sistema anular 1,2,4-oxadiazol es un andamio privilegiado y los anillos oxadiazólicos forman una parte esencial del farmacóforo en varios fármacos entre los que podemos mencionar el Ataluren, Brendon, Irrigor y Libexin (Figura 1.22).

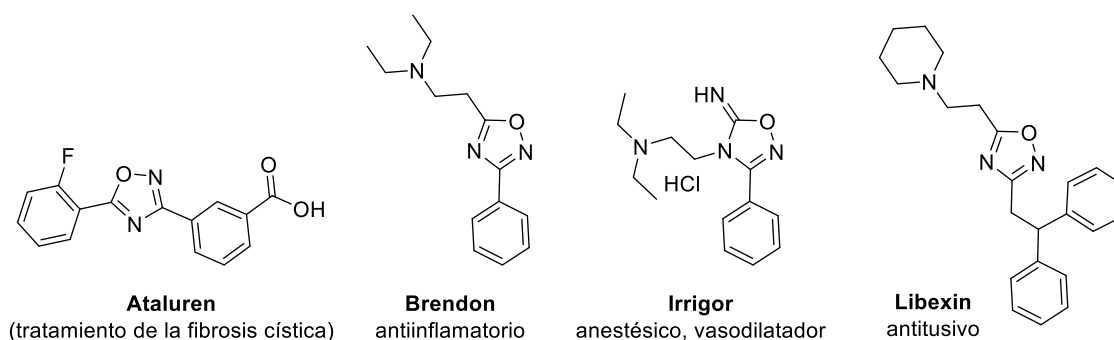


Figura 1.22 Estructuras de fármacos comerciales conteniendo 1,2,4-oxadiazoles.

Hay pruebas suficientes que avalan la eficacia anticancerígena de los derivados de 1,2,4-oxadiazol. En el año 2015, Cai *et al.*²⁹ diseñó y sintetizó tres series de análogos de hidroxamatos, 2-aminobenzamidas y trifluorometilcetonas, las cuales fueron probadas contra tres líneas celulares de cáncer humano, incluyendo A549 (pulmón), NCI-H661 (pulmón), y U937 (leucemia). La mayoría de los derivados presentaron altas actividades antiproliferativas contra la línea celular humana de leucemia mieloide aguda U937. El compuesto **40** mostró tener una actividad antiproliferativa contra U937 mayor que el compuesto líder (Vorinostat) mientras que **41** y **42** presentaron una actividad antiproliferativa similar o mayor al mismo (Figura 1.23).

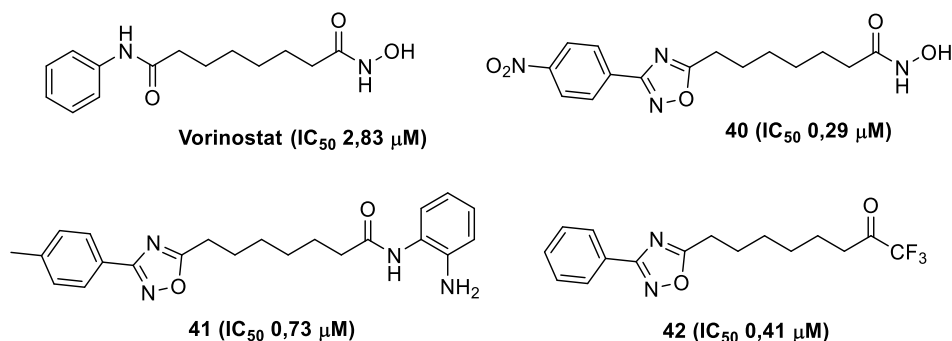


Figura 1.23 Estructuras de Vorinostat y los compuestos **40**, **41** y **42**.

En trabajos previos, se detectó al 3-(4-cloro-fenil)-5-(3-cloro-tiofén-2-il)-[1,2,4]-oxadiazol (**43**, Figura 1.24) como un compuesto líder utilizando los métodos biológicos de activación de capas e inhibición de crecimiento celular. Utilizando como metodología estudios de relación estructura y actividad, se determinó que la presencia de un grupo hidrofóbico y pequeño sobre el anillo aromático era fundamental para la actividad y se reemplazó el grupo fenilo por un piridilo (**44**, Figura 1.24).

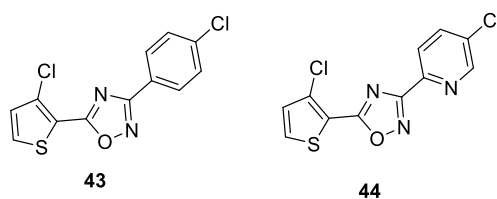


Figura 1.24 Estructuras de los compuestos 43 y 44.

GI ₅₀ (mmol/L) líneas celulares de cáncer									
Compuestos	Cáncer de mama			Otras líneas celulares			GI ₅₀ (mmol/L) líneas celulares normales		
	T47D	SKBR-3	MX-1	DLD-1	H1299	P388	HUVEC	RWPE-1	HMEC
43	0,2 ± 0,02	0,5 ± 0,13	0,12 ± 0,04	8,8 ± 0,11	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10
44	0,64 ± 0,18	0,6 ± 0,13	0,04 ± 0,01	0,4 ± 0,06	> 10	> 10	> 10	> 10	> 10

Tabla 1.5 Valores de CI₅₀ para los compuestos 43 y 44.

La identificación del compuesto 44 es importante ya que puede estar involucrado en el aumento de la apoptosis en células cancerosas sin efectos cuantificables sobre las células normales (Tabla 1.5).³⁰

Recientemente, se encontró que cinco derivados basados en la estructura 5-(5,7-dimetilpirazolo[1,5a]pirimidin-3-il)-3-(piperazin-1-il-metil)-1,2,4-oxadiazol (45-49) exhibieron una eficiente actividad contra células HeLa (Figura 1.25). Estos compuestos resultaron tener una actividad mayor que el fármaco de referencia, el paclitaxel, con valores de CI₅₀ menores a 10 µg/cm³.³¹

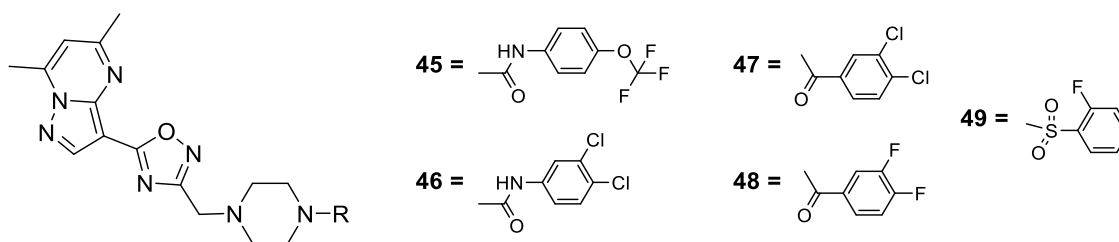


Figura 1.25 Estructuras de los compuestos 52-56.

Las sirtuinas (Sirt) son una clase de enzimas, unas desacetilasas de histona NAD-dependientes, y por lo tanto un objetivo para el tratamiento de enfermedades neurológicas, metabólicas y relacionadas con la edad, incluido el cáncer. Sirt2 regula la mitosis también a través de la desacetilación de la α-tubulina. Moniot y col. sintetizaron una serie de 1,2,4-oxadiazoles partiendo del compuesto líder 3-(4-clorofenil)-5-(piperidin-1-ilmetil)-1,2,4-oxadiazol.³² Utilizando estudios de SAR se detectaron dos compuestos 50 y 51 (Figura 1.26). Ambos compuestos se testearon contra diferentes

líneas celulares de leucemia observándose que **51** era altamente potente contra células NB4 a 10 μ M y mostraba un 80% de apoptosis en células U937 a 50 μ M. El compuesto **50** fue el más eficaz ($> 80\%$) como inductor de apoptosis a 25 μ M en 3 de 5 líneas celulares (NB4, K562 y MDA-MB-231).

Los compuestos **50** y **51** se ensayaron adicionalmente en un gran panel de células de leucemia caracterizadas por diferentes genotipos (OCI-AML3, IMS-M2, OCI-AML2, MV4-11, Kasumi-1, Karpas299). Entre las líneas celulares ensayadas, **50** fue más efectivo en detener el crecimiento de células Kasumi-1 y NB4 a un valor CI_{50} de 10 μ M. En cambio, **51** mostró un efecto antiproliferativo más reducido en general, pero con una eficacia preferencial contra las líneas celulares de Karpas299, MV4-11 y NB4.

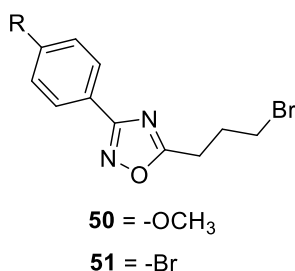


Figura 1.26 Estructura del compuesto **50** y **51**.

4.5. Tiadiazoles.

Los 1,3,4-tiadiazoles se han convertido en una clase importante de heterociclos y de gran interés en las investigaciones debido a sus amplios tipos de actividad biológica. Este anillo forma parte de una serie de compuestos de uso comercial entre los que podemos mencionar: el Megazol, la Acetazolamida, la Metazolamida y el Glybuzole (Figura 1.27).

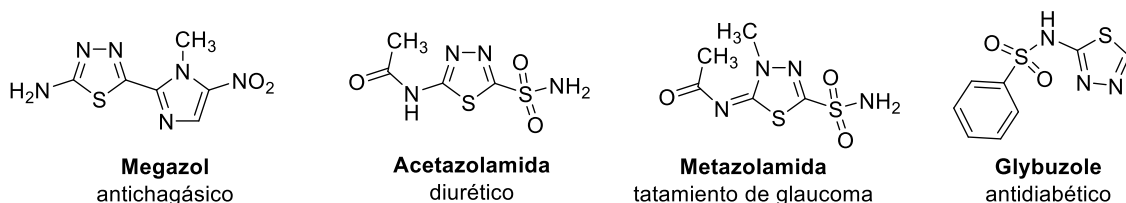


Figura 1.27 Estructuras de fármacos comerciales conteniendo 1,3,4-tiadiazoles.

Hay muchos trabajos en literatura que muestran la importancia biológica que presentan los derivados de 1,3,4-tiadiazoles.³³ Además, muchos son los antecedentes de derivados tiadiazólicos que presentan actividad antitumoral. Sobhi Gomha ha informado una variedad de derivados 1,3,4-tiadiazólicos y ha estudiado su actividad

antiproliferativa. En un trabajo actual describe la síntesis de derivados 1,3,4-tiadiazólicos con anillos tiazólicos (Figura 1.28) e informa su actividad anticancerígena contra la línea celular de cáncer de hígado humano HepG2. El compuesto más activo **52**, presentó un valor de CI_{50} en el rango del cisplatino, un medicamento muy usado en quimioterapia para el tratamiento de varios tipos de cáncer.

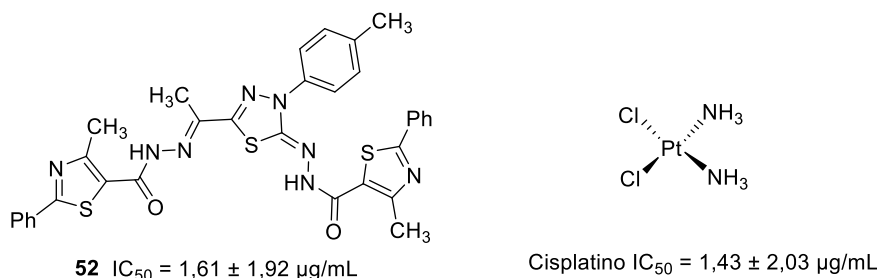


Figura 1.28 Estructuras de **52** y del Cisplatino.

En el año 2016 el grupo de Gomha³⁴ sintetizó una serie de derivados 2-(2-(3-aryl-5-sustituidos-1,3,4-tiadiazol-2(3*H*)-ilidén)-hidrazinil)-4,4-difenil-1*H*-imidazol-5-(4*H*)-ona y su actividad anticáncer fue evaluada contra la misma línea celular HepG2. Los compuestos **53-57** exhibieron una promisorio actividad con valores de CI_{50} de 0,86, 1,02, 1,08, 1,17 y 1,44 μM respectivamente (Figura 1.29).

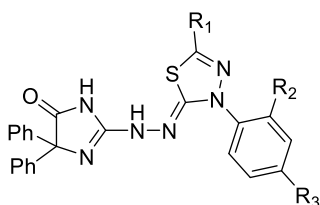


Figura 1.29 Estructuras los compuestos **53-57**.

compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
53	COOC ₂ H ₅	H	Cl
54	CONHPh	Cl	Cl
55	COCH ₃	H	NO ₂
56	CONHPh	H	Cl
57	COCH ₃	Cl	Cl

Durante el mismo año informó la síntesis de una novedosa serie derivados de 3-heteroarilindoles y su actividad antitumoral frente a una línea celular de cáncer de mama, la MCF-7 (Tabla 1.6).³⁵ Varios compuestos (**58-60**) presentaron una actividad significativa (Figura 1.30) y similar al estándar doxorubicina ($CI_{50} = 0,75 \mu M$).

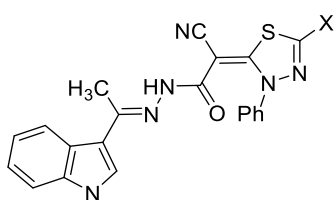


Figura 1.30 Estructuras de los derivados de 1,3,4-tiadiazoles 3-heteroarilindoles.

Compuesto	X	IC_{50} (μM)
58	COCH ₃	2,04
59	COOC ₂ H ₅	1,01
60	CONHPh	1,27

Tabla 1.6 Valores de CI_{50} para los compuestos **58 a 60**.

5. Análogos de nucleósidos.

Numerosos análogos de nucleósidos han sido diseñados con propósitos medicinales. Muchos de ellos han sido utilizados clínicamente como antivirales para el tratamiento de los virus de inmunodeficiencia humana (HIV), hepatitis B (HBV), herpes simples (HSV), hepatitis C (HCV) o como anticancerígenos contra diferentes líneas tumorales. El desarrollo de nuevas drogas para el tratamiento de enfermedades tales como el cáncer, es de suma importancia debido a la agresividad y a la rápida resistencia a fármacos que presentan estas enfermedades.

Después de la aparición de resistencia a los medicamentos y la reincidencia como resultado del tratamiento con inhibidores específicos de una sola de las etapas en la evolución tumoral, se han desarrollado actualmente moléculas que interfieren simultáneamente en más de una de estas etapas. Así, una serie de compuestos “multitarget” (multiblancos) están actualmente en ensayos clínicos o en la práctica clínica, como la Gemcitabina que inhibe la ADN-polimerasa y a la vez, es un potente inhibidor de la ribonucleótido reductasa³⁶ o la Clofarabina que actúa inhibiendo directamente la síntesis del ADN y la ribonucleótido reductasa e induce además la apoptosis (Figura 1.31).^{37,38}

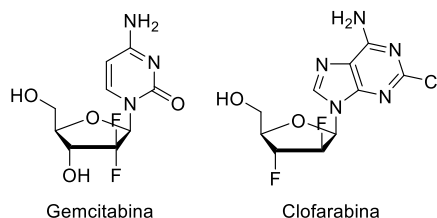


Figura 1.31 Estructuras de la Gemcitabina y la Clofarabina.

Por otra parte, la diversidad estructural de los miméticos de nucleósidos con actividad anticáncer sugiere que cualquier nuevo análogo de nucleósido vale la pena ser explorado. El descubrimiento de análogos de nucleósidos clínicamente útiles conteniendo una base heterocíclica de cinco miembros tales como la Ribavirina, Bredinina o el compuesto **61**³⁹ ha dado origen al desarrollo de nuevos análogos de nucleósidos que no contienen bases naturales (Figura 1.32).

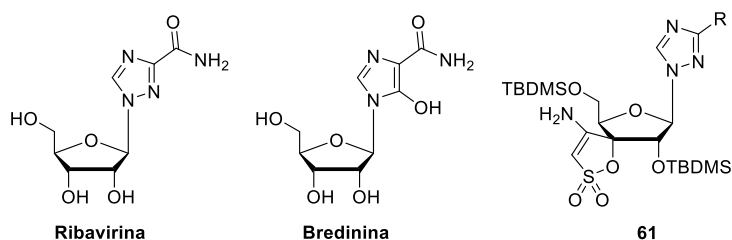


Figura 1.32 Estructuras de la Ribavirina, la Bredinina y el compuesto **61**.

El núcleo 1,2,4-triazol está presente en una variedad de compuestos anticáncer estructuralmente diferentes. Ha sido ampliamente utilizado en nucleósidos que resultaron ser inhibidores de quinasas, moduladores de tubulinas, inhibidores de sulfatasas y aromatasas y agentes antitumorales basados en complejos metálicos.

Derivados de la ribavirina fueron ampliamente estudiados encontrándose algunos compuestos que resultaron tener variadas e importantes actividades antiproliferativas.

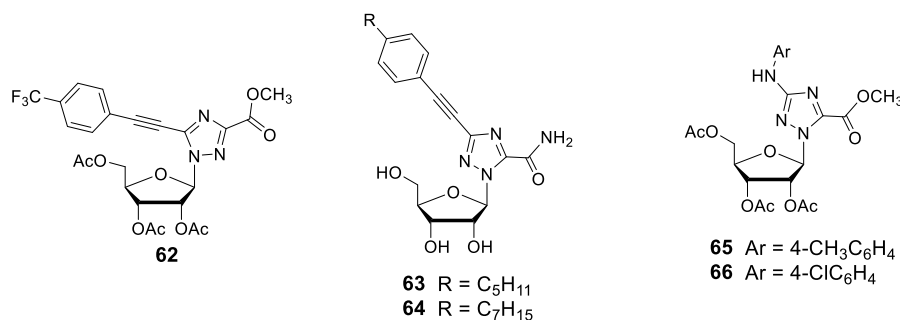


Figura 1.33 Estructuras de los compuestos **62-66**.

Wan *et al.* encontraron que el ribonucleósido sustituido con un grupo arilnitrotriazol **62** era un potente inductor de apoptosis *in vitro* e *in vivo*, exhibiendo una importante actividad antiproliferativa contra la línea celular de cáncer pancreático MiaPaCa-2 (Figura 1.33).⁴⁰ Cuando **62** se administró vía intraperitoneal una vez cada 3 días durante 4 semanas consecutivas, se redujo significativamente el volumen del tumor MiaPaCa-2 en un 60% después de sólo dos semanas de tratamiento. En la búsqueda de mejorar la actividad posteriormente se informó la síntesis de los derivados **63** y **64** siendo este último el más potente de la serie.⁴¹ El mismo grupo sintetizó ribonucleósidos derivados de *N*-ariltriazoles, investigando su actividad antiproliferativa contra diferentes líneas celulares: Capan-2 y MiaPaCa-2 de cáncer pancreático humano y PC-3 de cáncer de próstata. Dos compuestos **65** y **66** exhibieron significativa actividad anticáncer contra MiaPaCa-2 ($58,6 \pm 1,7$ y $43,8 \pm 1,6$, porcentaje de proliferación celular con una dosis de 50 μ M) con un mejor perfil de actividad comparado con el estándar gemcitabina ($70,4 \pm$

3,4).⁴² El estudio mecanístico demostró que el modo de acción primario de estos compuestos para el efecto anticancerígeno era la inducción de apoptosis dependiente de caspasa desregulando la expresión de la proteína HSP27 y aumentando así la sensibilidad celular a las drogas⁴³ a diferencia de la gemcitabina que actúa inhibiendo la síntesis del ADN.

Por otra parte, se ha evidenciado en los últimos tiempos una gran tendencia a sintetizar moléculas con dos o más anillos heterocíclicos. Es válido destacar que independientemente de su acción, estos productos di-heterocíclicos se encuentran entre los más potentes.⁴⁴ En este campo, el anillo triazólico es nuevamente una elección frecuente pues se cree que, dado su alto momento dipolar, puede favorecer interacciones, además de su resistencia relativa a la degradación metabólica. En general, se observó que la introducción de un anillo triazolólico en nucleósidos mejora su bioactividad como agentes antitumorales y/o aplicaciones antivirales. Así, Calenbergh y col. sintetizaron por reacciones de cicloadición un set de derivados 1,2,3-triazólicos del AZT (Figura 1.34) que resultaron ser efectivos como inhibidores de la timidina quinasa mitocondrial 2 (TK-2) (compuestos **67** y **68**).⁴⁵ Por otra parte, los 2',3',5'-tridesoxi-2',3'-dietanotio-5'-triazoloribonucleosidos han mostrado ser inhibidores de un amplio rango de líneas celulares tumorales. En particular el compuesto di-heterocíclico **69** resultó citotóxico contra tres células tumorales testeadas: HepG2, A549 y Hela.⁴⁶ Otro ejemplo es el compuesto **70** (Figura 1.34) que posee actividad antitumoral contra un amplio espectro de líneas celulares, mostrando mayor citotoxicidad que la droga control Floxuridina hacia las líneas celulares HepG2, ALC y HeLa.⁴⁷

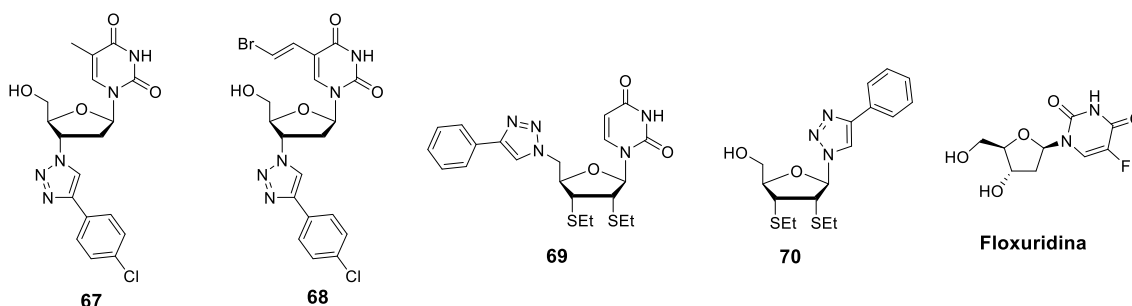


Figura 1.34 Estructuras de los compuestos **67-70** y la Floxuridina.

Una nueva serie de derivados de teofilina conteniendo 1,2,3-triazoles fue sintetizada y evaluada como antitumorales.⁴⁸ Los resultados mostraron que los compuestos **71** y **72** (Figura 1.35) exhiben un efecto citotóxico significativo sobre las

cuatro líneas celulares cancerosas seleccionadas a saber: pulmón (A549), colon (HT-29), mama (MCF-7) y melanoma (A375) con valores CI_{50} de 2,56, 2,19, 1,89, 4,89 μ M y 3,57, 2,90, 2,10, 5,81 μ M respectivamente.

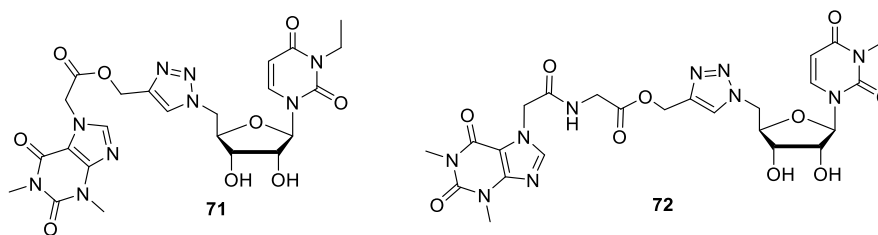


Figura 1.35 Estructuras de los compuestos **71** y **72**.

Para reforzar los experimentos *in vitro*, estudios de docking realizados sobre las proteínas VEGFR2, EGFR, Caspase 3 y ciclina A, que regulan la proliferación celular en diversas etapas en estos tipos de cáncer, mostraron una importante afinidad de unión con los compuestos sintetizados **71** y **72**.

Anillos isoxazólicos han demostrado aumentar la actividad de análogos de nucleósidos. Así, **73**, **74** y **75** (Figura 1.36) presentan una alta actividad contra dos líneas de células cancerosas: la NUGC-3 (estómago) y PC-3 (próstata).⁴⁹ Además, los compuestos **73** y **74** resultaron ser entre 2 y 4 veces más activos que la ribavirina contra tres virus ARN.⁵⁰

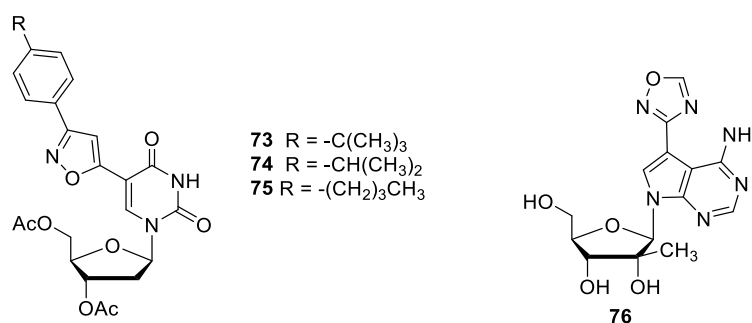


Figura 1.36 Estructuras de los compuestos **73** - **75** y **76**.

La introducción de oxadiazoles en la nucleobase de análogos de nucleósidos generó compuestos activos como por ejemplo **76** (Figura 1.36), un potente inhibidor de la replicación del virus de la hepatitis C *in vitro* (CE₅₀ 1,9 μ M) que se fosforiló *in vivo* de manera eficiente. Estas propiedades, junto a los altos niveles de potencia antiviral de **76**, comparable o superior a la de otros inhibidores, ofrecen una gran promesa para su desarrollo futuro.⁵¹

Referencias

- ¹ V. Kumar, A. Abbas, N. Fausto, *Robbins y Cotran, Patología Estructural y Funcional*, 7° Ed., Elsevier, **2007**.
- ² <http://www.msal.gov.ar/inc/acerca-del-cancer/mortalidad>
- ³ C.H. Golias, A. Charalabopoulos, K. Charalabopoulos, *Int. J. Clin. Pract.* **2004**, *58*, 1134–1141.
- ⁴ S.M. Ivanchuk, J.T. Rutka, *Neurosurgery* **2004**, *54*, 692–699; discusión 699–700.
- ⁵ W.C. DeWolf, S.M. Gaston, *J. Urol.* **2004**, *171*, 1674–1681.
- ⁶ K.M. Ryan, A.C. Phillips, K.H. Vousden, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 332–337.
- ⁷ A. Gomtsyan, *Chem. Heterocycl. Compd.* **2012**, *48*, 7–10.
- ⁸ E. Vitaku, D.T. Smith, J.T. Njardarson, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 10257–10274.
- ⁹ V.V. Rostovtsev, L.G. Green, V.V. Fokin, K.B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596–2599.
- ¹⁰ E. Bonandi, M.S. Christodoulou, G. Fumagalli, D. Perdicchia, G. Rastelli, D. Passarella, *Drug Discov. Today*, **2017**, *22*, 1572–1581.
- ¹¹ W. Hou, Z. Luo, G. Zhang, D. Cao, D. Li, H. Ruan, B.H. Ruan, L. Su, H. Xu, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *138*, 1042–1052.
- ¹² R. Bollu, J.D. Palem, R. Bantu, V. Guguloth, L. Nagarapu, S. Polepalli, N. Jain, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *89*, 2015, 138–146.
- ¹³ J.K. Shneine, Y.H. Alaraji, *IJSR* **2016**, *5* (3), 1411–1423.
- ¹⁴ H. Park, Y.J. Bahn, S.K. Jung, D.G. Jeong, S.H. Lee, I. Seo, T.S. Yoon, S.J. Kim, S.E. Ryu, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 5533–5541.
- ¹⁵ H. Park, Y.J. Bahn, S.E. Ryu, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4330–4334.
- ¹⁶ Y.B. Zhang, W. Liu, Y.S. Yang, X.L. Wang, H.L. Zhu, L.F. Bai, X.Y. Qiu, *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 1–11.
- ¹⁷ F. Xu, Y. Jia, Q. Wen, X. Wang, L. Zhang, Y. Zhang, K. Yang, W. Xu, *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *64*, 377–388.
- ¹⁸ A. Sysak, B. Obmińska-Mrukowicz, *Eur. J. Med. Chem.* **2017**, *137*, 292–309.
- ¹⁹ S.Y. Sharp, C. Prodromou, K. Boxall, M.V. Powers, J.L. Holmes, G. Box, T.P. Matthews, K.M. Cheung, A. Kalusa, K. James, A. Hayes, A. Hardcastle, B. Dymock, P.A. Brough, X. Barril, J.E. Cansfield, L. Wright, A. Surgenor, N. Foloppe, R.E. Hubbard, W. Aherne, L. Pearl, K. Jones, E. McDonald, F. Raynaud, S. Eccles, M. Drysdale, P. Workman, *Mol. Cancer Ther.* **2007**, *6*, 1198–1211.
- ²⁰ S.A. Eccles, A. Massey, F.I. Raynaud, S.Y. Sharp, G. Box, M. Valenti, L. Patterson, A. de Haven Brandon, S. Gowan, F. Boxall, W. Aherne, M. Rowlands, A. Hayes, V. Martins, F. Urban, K. Boxall, C. Prodromou, L. Pearl, K. James, T.P. Matthews, K.-M. Cheung, A. Kalusa, K. Jones, E. McDonald, X. Barril, P.A. Brough, J.E. Cansfield, B. Dymock, M.J. Drysdale, H. Finch, R. Howes, R.E. Hubbard, A. Surgenor, P. Webb, M. Wood, L. Wright, P. Workman, *Cancer Res.* **2008**, *68*, 2850–2860.
- ²¹ K.D. Shin, M.Y. Lee, D.S. Shin, S. Lee, K.H. Son, S. Koh, Y.K. Paik, B.M. Kwon, D.C. Han, *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 41439–41448.
- ²² A. Kamal, E.V. Bharathi, J.S. Reddy, M.J. Ramaiah, D. Dastagiri, M.K. Reddy, A. Viswanath, T.L. Reddy, T.B. Shaik, S. Pushpavalli, M.P. Bhadra, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, *46*, 691–703.
- ²³ E. Rajanarendar, M.N. Reddy, S.R. Krishna, K.G. Reddy, Y.N. Reddy, M.V. Rajam, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *50*, 344–349.
- ²⁴ J.-P. Yong, C.-Z. Lu, X. Wu, *Anticancer Agents Med. Chem.* **2015**, *15*, 131–136.
- ²⁵ K. Kaur, V. Kumar, A. Kumar Sharma, G. Kumar Gupta, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *77*, 121–133.
- ²⁶ D. Simoni, G. Grisolia, G. Giannini, M. Roberti, R. Rondanin, L. Piccagli, R. Baruchello, M. Rossi, R. Romagnoli, F.P. Invidiata, S. Grimaudo, M.K. Jung, E. Hamel, N. Gebbia, L. Crosta, V. Abbadessa, A. Di Cristina, L. Dusonchet, M. Meli, M. Tolomeo, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 723–736.
- ²⁷ A. Kamal, J.S. Reddy, M.J. Ramaiah, D. Dastagiri, E.V. Bharathi, M.A. Azhar, F. Sultana, S.N.C.V.L. Pushpavalli, M. Pal-Bhadra, A. Juvekar, S. Sen, S. Zingde, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3924–3937.
- ²⁸ I. Filali, J. Bouajila, M. Znati, F. Bousejra-El Garah, H. Ben Jannet, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2015**, *30*, 371–376.
- ²⁹ J. Cai, H. Wei, K.H. Hong, X. Wu, X. Zong, M. Cao, P. Wang, L. Li, C. Sun, B. Chen, G. Zhou, J. Chen, M. Ji, *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 3457–3471.
- ³⁰ K.A. Jessen, N.M. English, J. Yu Wang, S. Maliartchouk, S.P. Archer, L. Qiu, R. Brand, J. Kuemmerle, H.-Z. Zhang, K. Gehlsen, J. Drewe, B. Tseng, S. Xiong Cai, S. Kasibhatla, *Mol. Cancer Ther.* **2005**, *4*, 761–771.

- ³¹ A.K.A. Kumar, K.B. Nair, Y.D. Bodke, G. Sambasivam, K.G. Bhat. *Monatsh. Chem.* **2016**, *147*, 2221–2234.
- ³² S. Moniot, M. Forgione, A. Lucidi, G.S. Hailu, A. Nebbioso, V. Carafa, F. Baratta, L. Altucci, N. Giacchè, D. Passeri, R. Pellicciari, A. Mai, C. Steegborn, D. Rotili, *J. Med. Chem.* **2017**, *60* (6), 2344–2360.
- ³³ A.K. Jain, S. Sharma, A. Vaidya, V. Ravichandran, R.K. Agrawal, *Chem Biol Drug Des.* **2013**, *81*(5), 557–576.
- ³⁴ S.M. Gomha, H.M. Abdel-aziz, K.D. Khalila, *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 1356–1363.
- ³⁵ A.O. Abdelhamid, S.M. Gomha, N.A. Abdelriheem, M. Kandeel, *Molecules* **2016**, *21*(7), 929–944.
- ³⁶ A. Matsuda, T. Sasaki, *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 105–111.
- ³⁷ A. Zhenchuk, K. Lotfi, G. Juliusson, F. Albertioni, *Biochem. Pharmacol.* **2009**, *78*, 1351–1359.
- ³⁸ S. Weitzman, J. Braier, J. Donadieu, R.M. Egeler, N. Grois, S. Ladisch, U. Pötschger, D. Webb, J. Whitlock, J.R. Arceci, *Pediatr. Blood Cancer* **2009**, *53*, 1271–1276.
- ³⁹ F. Amblard, J.H. Cho, and R.F. Schinazi, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 4207–4220.
- ⁴⁰ J. Wan., Y. Xia, Y. Liu, M. Wang, P. Rocchi, J. Yao, F. Qu, J. Neyts., J.L. Iovanna, L. Peng, *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (4), 1144–1155.
- ⁴¹ Y. Xia, Y. Liu, J. Wan, M. Wang, P. Rocchi, F. Qu, J.L. Iovanna, L. Peng, *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (19), 6083–6096.
- ⁴² Y. Liu, Y. Xia, Y. Fan, A. Maggiani, P. Rocchi, F. Qu, J.L. Iovanna, L. Peng, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20* (8), 2503–2507.
- ⁴³ Y. Xia, Y. Liu, P. Rocchi, M. Wang, Y. Fan, F. Qu, J.L. Iovanna, L. Peng, *Cancer Lett.* **2012**, *318* (2), 145–153.
- ⁴⁴ M. Soural, I. Bouillon, V. Krchňák, *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 923–933.
- ⁴⁵ S. Van Poecke, A. Negri, F. Gago, I. Van Daele, N. Solaroli, A. Karlsson, J. Balzarini, S. Van Calenbergh, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 2902–2912.
- ⁴⁶ J.-L. Yu, Q.-P. Wu, Q.-S. Zhang, X.-D. Xi, N.-N. Liu, Y.-Z. Li, Y.-H. Liu, H.-Q. Yin, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 3219–3222.
- ⁴⁷ J.-L. Yu, Q.-P. Wu, Q.-Sh. Zhang, Y.-Zh. Li, Y. Liu, Z.-M. Zhou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 240–243.
- ⁴⁸ R.R. Ruddaraju, A.C. Murugulla, R. Kotla, M.C.B. Tirumalasetty, R. Wudayagiri, S. Donthabakthuni, R. Maraju, K. Baburao, L.S. Parasa, *Eur. J. Med. Chem.* **2016**, *123*, 379–396.
- ⁴⁹ Y.-S. Lee, S.M. Park, H.M. Kim, S.-K. Park, K. Lee, C.W. Lee, B.H. Kim, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 4688–4691.
- ⁵⁰ Y.-S. Lee, S.M. Park, B.H. Kim, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2009**, *19*, 1126–1128.
- ⁵¹ M.E. Di Francesco, S. Avolio, M. Pompei, S. Pesci, E. Monteagudo, V. Pucci, C. Giuliano, F. Fiore, M. Rowley, V. Summa, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 4801–4811.

Capítulo 2

Métodos de obtención de los anillos heterocíclicos

1. Generalidades.

Los heterociclos son sistemas cíclicos con al menos dos elementos diferentes como miembros del anillo. La mayoría contiene al menos un átomo de carbono, y uno o más heteroátomos.¹

En particular, los azoles son heterociclos aromáticos nitrogenados de cinco miembros que contienen al menos un heteroátomo adicional (N, O, S) que son importantes en numerosas aplicaciones en la industria farmacéutica y en la síntesis orgánica de moléculas complejas.²⁻⁵

En el siguiente Capítulo se presentarán una reseña de las rutas sintéticas más comúnmente utilizadas para la obtención de 1,2,3-triazoles y 1,2,4-triazol-3-iones, isoxazoles e isoxazolininas y 1,2,4-oxadiazoles, heterociclos sintetizados en esta Tesis.

2. Triazoles.

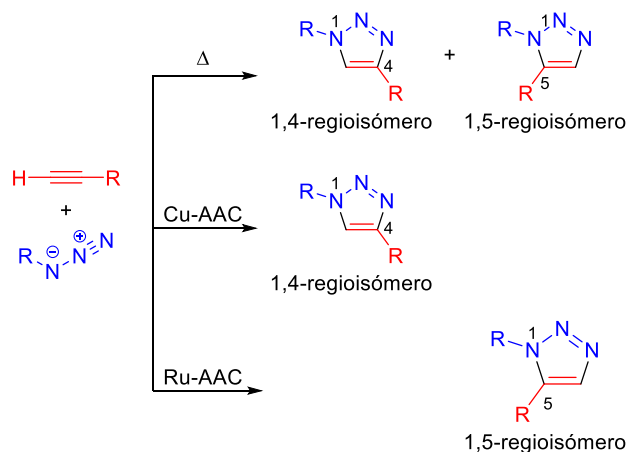
Los triazoles son anillos heterocíclicos de cinco miembros que contienen dos átomos de carbono y tres de nitrógeno. Forman un par de compuestos químicos isoméricos (Figura 2.1).⁶ En el año 1885, Bladin fue el primer científico que le dio el nombre de “triazol” a los anillos de carbono y nitrógeno de fórmula molecular $C_2N_3H_3$ y describió algunos derivados triazólicos.⁷



Figura 2.1 Estructura de 1,2,3-triazol y 1,2,4-triazol.

2.1. Antecedentes en la síntesis de 1,2,3-triazoles.

En las últimas décadas ha crecido el interés en la síntesis de compuestos conteniendo 1,2,3-triazoles debido a sus importantes aplicaciones en la industria farmacéutica. El anillo triazólico no sólo es esencial para la actividad biológica, sino que actúa como isótero del enlace amida. En el año 1960 Huisgen fue el primero en estudiar la síntesis de 1,2,3-triazoles,⁸ dando lugar a la cicloadición 1,3-dipolar que lleva su nombre y que involucra la reacción de un alquino y una azida para formar dos regiosímeros triazólicos 1,4- y 1,5-disustituidos.⁹ Con el fin de poder controlar la regioselectividad de la reacción, posteriormente se desarrollaron numerosas metodologías que involucran metales de transición. Así, la reacción de cicloadición azida-alquino catalizada por cobre (Cu-AAC) desarrollada simultáneamente por Sharpless¹⁰ y Meldal¹¹ permitieron obtener selectivamente el 1,4-regioisómero, mientras que la cicloadición catalizada por rutenio lleva a la formación del regioisómero 1,5-disustituido (Esquema 2.1).^{12,13} A partir de entonces, se describieron varias estrategias para lograr un mejor control de la regioselectividad y de las condiciones de reacción.



Esquema 2.1 Regioselectividad de la cicloadición 1,3-dipolar entre una azida y un alquino.

La sencillez y versatilidad de esta reacción “click” permitió su aplicación en el campo de la química medicinal y la química biológica.¹⁴ Desafortunadamente, los metales de transición tienen una aplicación limitada en sistemas biológicos debido a su toxicidad. Esta situación ha impulsado el desarrollo de métodos sintéticos libre de metales.

Por otra parte, las propiedades quelantes de los triazoles fueron estudiadas por Struthers *et al.*¹⁵ observándose que son ligandos estabilizantes para varios metales (como Pd, Cu, Zn)¹⁶ en catálisis, incluyendo la aplicación como radiofármacos.

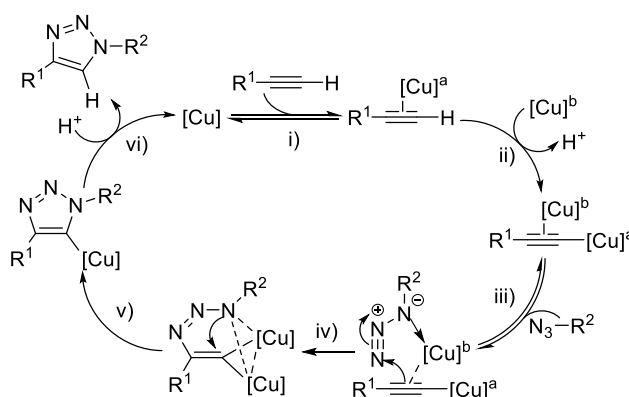
2.2. Síntesis de 1,2,3-triazoles 1,4-disustituídos.

La Cu-AAC es la metodología de la química “click” más ampliamente utilizada debido a su simplicidad y alta selectividad.¹⁰ El mecanismo de reacción ha sido estudiado en profundidad.^{17,18} Se utilizan sales de cobre (I) o cobre (II) en presencia de un agente reductor en un solvente orgánico o una mezcla de agua y alcohol *tert*-butílico a temperatura ambiente. Sharpless y col.¹⁰ demostraron que la preparación *in situ* del catalizador por reducción de sales de cobre (II) con un agente reductor resulta más efectiva, más barata y limpia que las sales de cobre (I). Kuang *et al.*¹⁹ encontraron condiciones no-reductoras utilizando Cu(OAc)₂ cuando el reactivo azidado contiene un nitrógeno adicional que permite la formación de complejos entre la azida y el nitrógeno aumentando significativamente la velocidad de reacción. Este aumento de velocidad también ocurre cuando se agrega al medio tris(benciltriazolilmetil)amina como cocatalizador. Debido a la toxicidad de las especies de cobre (I) para aplicaciones biológicas, McNulty *et al.*²⁰ comenzó a investigar sobre cicloadiciones azida-alquino catalizadas por plata (I). En este tipo de reacciones se utiliza acetato de plata y un ligando fosfano estable y se realizan a temperatura ambiente pudiendo aumentar la temperatura hasta los 90 °C para mejorar el rendimiento.

2.2.1. Mecanismo de la Cu-AAC.

El mecanismo de reacción que se encuentra más aceptado fue descrito por Worrell *et al.* en el año 2013 (Esquema 2.2).²¹ Los autores propusieron un mecanismo en donde es necesaria la presencia de dos átomos de cobre en el complejo activo de la cicloadición. La Cu-AAC (con alquinos terminales) ocurre a través de un ciclo catalítico de reacciones: (i) la generación *in situ* de un acetiluro de cobre unido por un enlace σ ; (ii) el reclutamiento de un segundo átomo de cobre unido por un enlace π , formando el complejo activo catalítico; (iii) la coordinación reversible de una azida orgánica al enlace π de este complejo de cobre; (iv) el ataque nucleofílico del carbono β del

acetiluro al N-3 de la azida para formar el primer enlace covalente C–N en la generación de un anillo cíclico de cobre de seis miembros (el segundo átomo de cobre actúa como un ligando donador estabilizante); y (v) la contracción a un derivado triazólico de cobre, seguida de protonólisis, que lleva a la formación del producto triazólico y cierra el ciclo catalítico.



Esquema 2.2 Modelo catalítico propuesto por Warrell para la Cu-AAC con dos átomos de cobre.

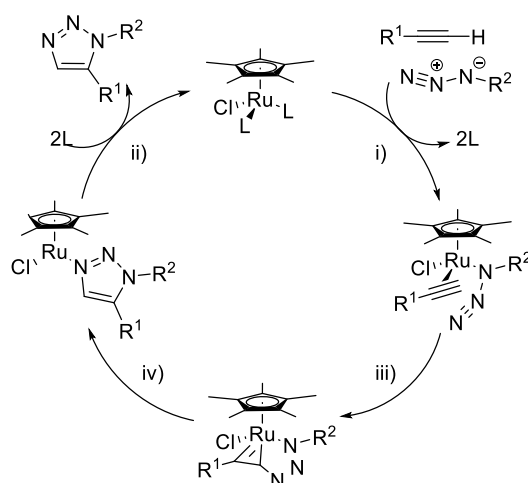
2.3. Síntesis de 1,2,3-triazoles 1,5- y 1,4,5-sustituídos.

Los caminos sintéticos para la obtención de triazoles 1,5- y 1,4,5-sustituídos de manera regioselectiva se han ido desarrollando en la última década. Los catalizadores de rutenio son los más comúnmente utilizados para la síntesis de triazoles 1,5-sustituídos a partir de una azida y un alquino (Ru-AAC).¹²

2.3.1. Mecanismo de la Ru-AAC.

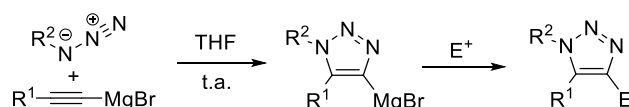
El mecanismo de reacción propuesto por Boren *et al.*²² para la reacción Ru-AAC se encuentra esquematizado en el Esquema 2.3. El primer paso (i) comienza con el desplazamiento de los ligandos para formar el complejo activado, que posteriormente (ii) es convertido en un rutenaciclo, a través de un acoplamiento oxidativo de un alquino y una azida. Este paso controla la regioselectividad de todo el proceso. El nuevo enlace C–N se forma entre el carbono más electronegativo y menos impedido estéricamente del alquino y el nitrógeno terminal de la azida (iii). El intermediario metalaciclo luego experimenta una eliminación reductiva liberando el anillo aromático triazólico y regenerando el catalizador o el complejo activado (iv). Los catalizadores más utilizados

son los complejos de η^5 -pentametilciclopentadienil rutenio [Cp^*RuCl]. Las propiedades catalíticas de estos complejos pueden ser atribuidas a la presencia del ligando rico en electrones Cp^* , que estabiliza los estados de oxidación más altos del centro metálico. Los complejos de [Cp^*RuCl], como por ejemplo [Cp^*RuCl]₄, $\text{Cp}^*\text{RuCl}(\text{PPh}_3)_2$ y $\text{Cp}^*\text{RuCl}(1,5\text{-ciclooctadieno})$, son especialmente activos y selectivos, llevando a la formación del triazol 1,5-disustituido con excelente rendimiento.



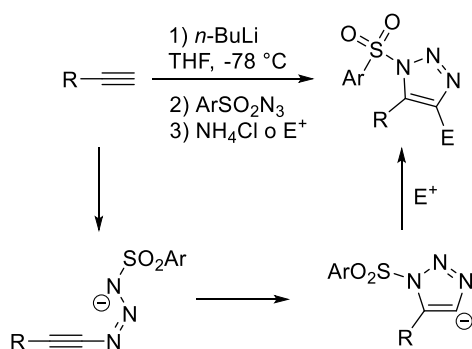
Esquema 2.3 Intermediarios propuestos en el ciclo catalítico de la reacción Ru-ACC.

Los complejos de rutenio no son efectivos para sustratos que se encuentren impedidos estéricamente. Krasiński *et al.* desarrolló una estrategia para obtener 1,2,3-triazoles-1,5-disustituidos utilizando acetiluros de bromomagnesio a temperatura ambiente.²³ Los productos se obtienen con buenos rendimientos sin necesidad de ser purificados. Una funcionalización posterior puede lograrse a partir de la posición 4 cuando el intermediario 4-halomagnesiotriazólico es capturado por un electrófilo apropiado para dar 1,2,3-triazoles-1,4,5-trisustituidos (Esquema 2.4).



Esquema 2.4 Síntesis de triazoles 1,5- y 1,4,5-sustituidos utilizando acetiluros de magnesio.

Recientemente, se sintetizaron sulfonil triazoles 1,5-sustituidos a partir de acetiluros de litio.²⁴ Los acetilenos primero reaccionan con butillitio a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y la reacción se corta con sulfonilazida para formar un anión triazólico que puede ser atrapado por varios electrófilos (Esquema 2.5).

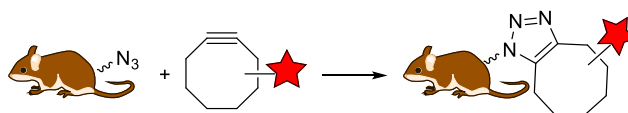


Esquema 2.5 Síntesis de sulfonil triazoles 1,5-sustituidos utilizando acetiluros de litio y sulfonil azidas.

Otra estrategia para la obtención de 1,2,3-triazoles-1,5- y -1,4,5-sustituidos es utilizar zinc como catalizador.²⁵ La reacción ocurre a temperatura ambiente en presencia de cantidades catalíticas de *N*-metilimidazol, el cual es necesario para generar el acetiluro de zinc. Al igual que en las metodologías anteriores, la funcionalización de la posición 4 a través de las especies intermediarias de zinc permite la formación de derivados 1,2,3-triazoles-1,4,5-trisustituidos. La cicloadición azida-alquino también puede ser catalizada por iridio²⁶ o samario²⁷ para obtener de manera regioselectiva 1,2,3-triazoles-1,4,5-trisustituidos.

Los metales de transición tienen una aplicación limitada en sistemas biológicos debido a su toxicidad y por este motivo se fueron desarrollando métodos sintéticos libre de metales. Fokin y col. fueron los primeros en encontrar condiciones para la cicloadición azida-alquino catalítica libre de metales de transición en la síntesis selectiva de 1,5-diaril-1,2,3-triazoles.²⁸ Triazoles fueron obtenidos con altos rendimientos a partir de aril azidas y alquinos terminales a temperatura ambiente, en presencia de cantidades catalíticas de un hidróxido (por ejemplo, hidróxido de tetraalquilamonio). Estas reacciones son sencillas y no son sensibles al oxígeno atmosférico o a la humedad.

Un ejemplo reciente es la variante desarrollada por Bertozzi para aplicaciones en marcación celular (Esquema 2.6).²⁹ Los ciclooctinos funcionalizados con biotina o fluoróforos reaccionan con glicoproteínas de la pared celular marcadas con azida para formar anillos triazólicos a través de un proceso químico “click” en ausencia de cobre. También se probó el uso de la reacción sobre proteínas no naturales utilizando microondas.³⁰



Esquema 2.6 Cicloadición de azidas y ciclooctinos (química “click” en ausencia de cobre).

Por otro lado, anillos 1,2,3-triazólicos con diferentes sustituyentes o como parte de sistemas más complejos pueden ser obtenidos en ausencia de metales pero utilizando otros precursores distintos de azidas y alquinos. Por ejemplo, acetofen *N*-tosilhidrazonas reaccionan con anilinas en presencia de perbenzoato de *tert*-butilo y cantidades catalíticas de yodo para dar 1,4-regioisómeros,³¹ mientras que una condensación *in situ* de Knoevenagel de un aldehído con un nitroalcano en presencia de una azida, da 1,2,3-triazoles-1,4,5-trisustituídos.³² La reacción utiliza *p*-toluénsulfonato de morfolinio como catalizador y 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol como aditivo.

2.4. Síntesis de 1,2,4-triazolil-3-tionas.

Los anillos 1,2,4-triazólicos sustituidos con un grupo tiona o tiol han sido de gran interés debido a que un gran número de derivados han resultado tener diferentes y promisorias actividades farmacológicas (Figura 2.2).

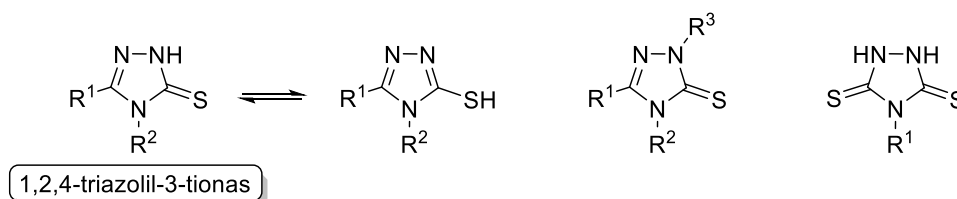
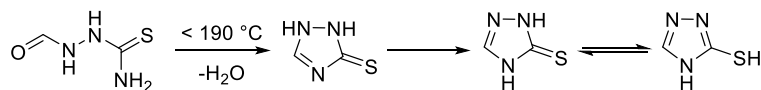


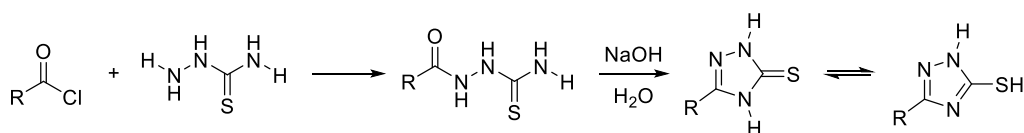
Figura 2.2 Estructura de anillos 1,2,4-triazólicos azufrados.

En el año 1896 Freund³³ describió la primera síntesis de 1,2,4-triazol-3-tiona por calentamiento a más de 190 °C en seco de formiltiosemicarbazida (Esquema 2.7).



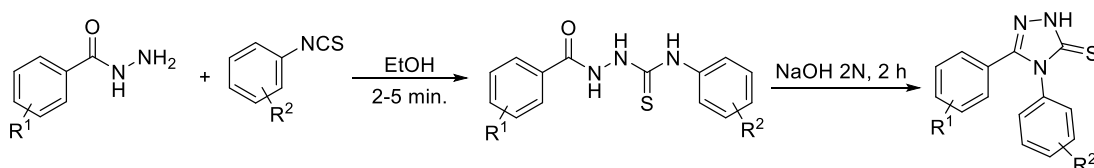
Esquema 2.7 Síntesis de 1,2,4-triazol-3-tiol.

La metodología más utilizada para la preparación de 1,2,4-triazoles sustituidos con tioles o tionas involucra la reacción entre un cloruro de ácido y una tiosemicarbazida para dar un intermediario acíclico, que sin previa purificación cicla en medio alcalino para obtener el 1,2,4-triazol-3-tiol derivado (Esquema 2.8).³⁴⁻³⁷



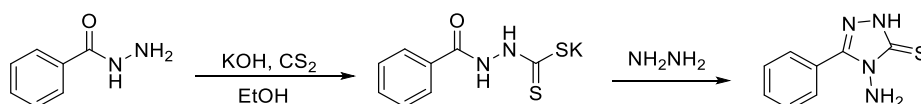
Esquema 2.8 Síntesis de 1,2,4-triazol-3-tiol.

La tiosemicarbazida intermedia puede obtenerse también a partir de una hidrazida y un isotiocianato (Esquema 2.9). Esta metodología ha sido utilizada en una gran cantidad de compuestos que tienen una variada aplicación, especialmente en la síntesis de compuestos biológicamente activos.³⁸⁻⁴³



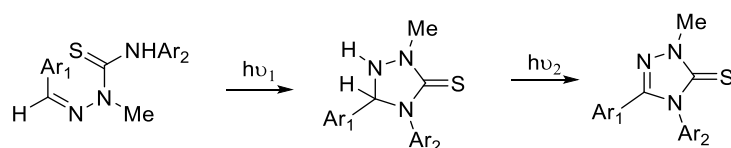
Esquema 2.9 Síntesis de un derivado 1,2,4-triazólico mediante un intermediario de tiosemicarbazida.

Un método eficiente es a partir del tratamiento de una carbohidrazida con disulfuro de carbono, que lleva a la formación de la sal hidrazinacarboditioato de potasio (Esquema 2.10). Luego, la ciclación se produce por el agregado de hidracina para formar el anillo 1,2,4-triazólico con funcionalidades activas (grupos amina y tiol).⁴⁴



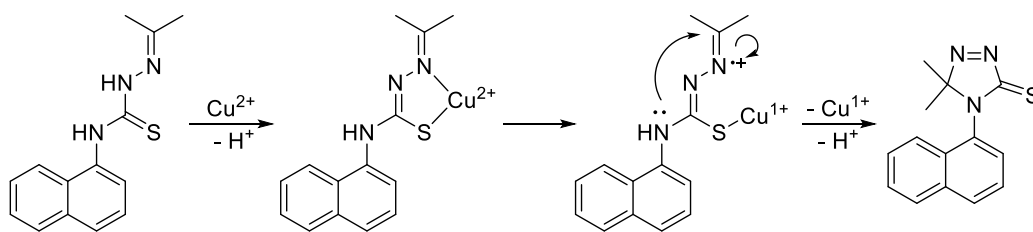
Esquema 2.10 Síntesis de derivados 1,2,4-triazólicos a través de la sal hidrazinacarboditioato de potasio.

Un método recientemente descrito es la reacción fotoquímica de tiosemicarbazonas sustituidas derivadas de aldehídos que ciclan para dar 5-tioxo-1,2,4-triazolinas en dos etapas, irradiando a diferentes longitudes de onda (Esquema 2.11).⁴⁵



Esquema 2.11 Esquema de obtención de 1,2,4-triazolil-5-tonas fotoquímicamente.

Un procedimiento alternativo fue informado recientemente por Basu y Das,⁴⁶ quienes utilizaron tiosemicarbazonas como ligandos para detectar fluorométricamente Cu^{2+} . El derivado 1,2,4-triazol-3-tiona se aisló del medio de reacción y se detectó el proceso de reducción de Cu^{2+} a Cu^{+} durante la ciclación oxidativa (Esquema 2.12).



Esquema 2.12 Mecanismo propuesto de ciclación oxidativa por Cu^{2+} .

3. Isoxazoles.

Los isoxazoles son importantes heterociclos aromáticos de cinco miembros en química orgánica (Figura 2.3).⁴⁷⁻⁵⁰ Los anillos isoxazólicos sirven como intermediarios en moléculas pequeñas y en la síntesis de productos naturales como equivalentes de compuestos 1,3-dicarbonílicos enmascarados, ya que pueden ser abiertos bajo condiciones reductivas suaves (hidrogenólisis o métodos radicalarios) dada la baja energía de disociación para la escisión del enlace N-O.⁵¹

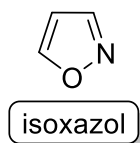
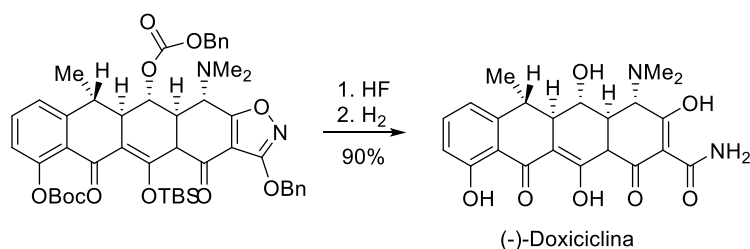


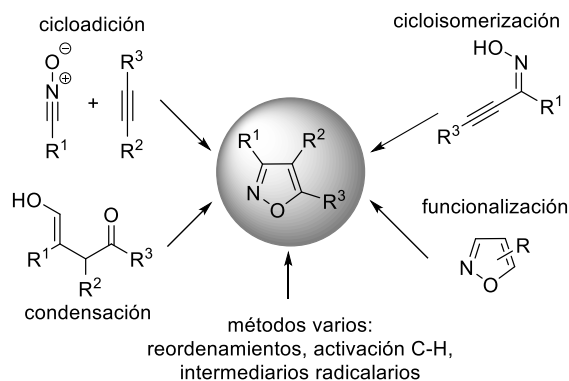
Figura 2.3 Estructura del isoxazol.

Un ejemplo del uso del isoxazol como un equivalente sintético 1,3-dicarbonílico fue descrito por Myers en la primera síntesis convergente y enantioselectiva de antibióticos tetraciclínicos, en el cual el anillo isoxazolinico sustituido apropiadamente fue hidrolizado para obtener la función β -cetoamida en el paso final de la síntesis de este sistema de anillos tetracíclico extremadamente sensible (Esquema 2.13).⁵²⁻⁵⁷



Esquema 2.13 Isoxazoles como equivalentes 1,3-dicarbonílicos en la síntesis total de antibióticos tetraciclinas desarrollado por Myers.

Los métodos a partir de los cuales pueden sintetizarse los isoxazoles se resumen en el siguiente esquema:



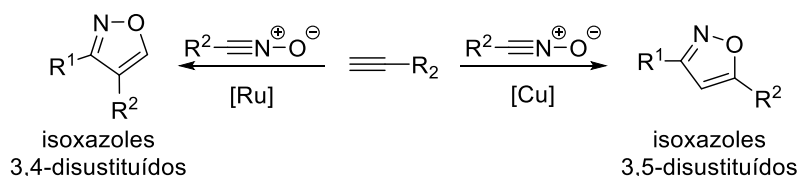
Esquema 2.14 Síntesis de isoxazoles.

En los últimos años se han realizado avances en la síntesis y funcionalización de isoxazoles. Se puede lograr un control completo de la regioselectividad a partir de la elección del catalizador y las condiciones de reacción. Si bien la catálisis metálica ha avanzado ampliamente, también han comenzado a desarrollarse isoxazoles catalizados en ausencia de metales.

3.1. Síntesis de isoxazoles mediante reacciones de cicloadición [3+2].

La importancia del anillo isoxazólico como un andamio importante en química orgánica comenzó a partir de 1930, cuando Quilico describió sus primeros compuestos utilizando cicloadiciones dipolares [3+2] entre óxidos de nitrilo y alquinos para formar isoxazoles.⁵⁸ A través de los años, se han desarrollado numerosos protocolos quimioselectivos para la síntesis de isoxazoles utilizando cicloadiciones [3+2], incluyendo la generación *in situ* de óxidos de nitrilo a partir de cloruros de hidroximilo y la deshidratación de nitroalcanos.⁵⁹⁻⁶⁹ Los óxidos de nitrilo pueden también generarse *in situ* a partir de aldoximas por tratamiento con cloramina-T.^{70,71,72}

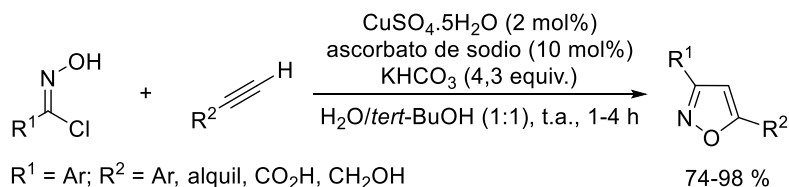
En la actualidad, la síntesis de isoxazoles *via* cicloadiciones [3+2] representa el método más importante para la síntesis de isoxazoles. El control sobre la regioselectividad ha sido demostrado en presencia de cobre o un catalizador de rutenio. Las reacciones mediadas por cobre promueven la formación de isoxazoles 3,5-disustituídos, mientras que la catálisis con rutenio favorece los análogos 3,4-disustituídos (Esquema 2.15).



Esquema 2.15 Reacciones de cicloadiciones regioselectivas entre óxidos de nitrilo y alquinos terminales.

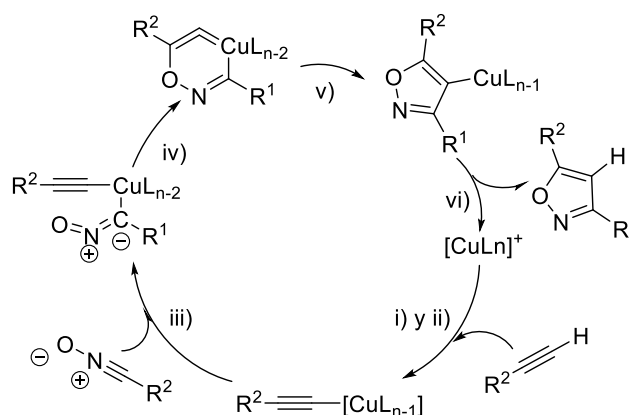
3.1.1. Cicloadiciones [3+2] catalizadas por metales.

Los primeros ejemplos de síntesis de isoxazoles *vía* cicloadición [3+2] catalizada por metales fueron descritas por Fokin y col. en el año 2005 (Esquema 2.16),⁷⁰ en el contexto de las cicloadiciones 1,3-dipolares catalizadas por Cu(I) de alquinos terminales y azidas para obtener 1,2,3-triazoles (ya vistas en la Sección 2.2). La reacción procede con una alta selectividad para la síntesis de isoxazoles 3,5-disustituídos mediante un mecanismo en pasos. El catalizador activo Cu(I) se genera *in situ* por reducción de Cu(II) con ascorbato de sodio. La reacción puede llevarse a cabo a temperatura ambiente y en tiempos cortos de reacción, con una selectividad mayor a 95:5, mientras que la reacción sin catálisis generalmente requiere altas temperaturas y genera mezclas de 3,4- y 3,5-regioisómeros.



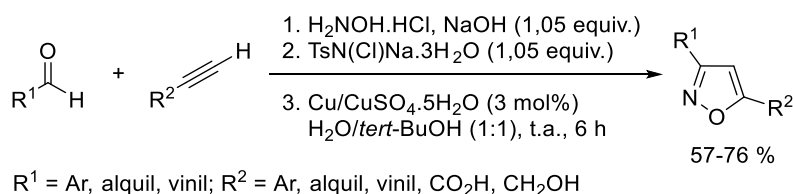
Esquema 2.16 Síntesis de isoxazoles 3,5-disustituídos catalizados por Cu(I).

El mecanismo de reacción propuesto por los autores (Esquema 2.17) y el más aceptado hasta el momento involucra los siguientes pasos: (i) la coordinación del alquino a Cu(I); (ii) la formación del acetiluro de cobre (I); (iii) el reemplazo de uno de los ligandos en el cobre por el óxido de nitrilo y el enlace al átomo de cobre por el carbono; (iv) el ataque del oxígeno al carbono C-2 del acetiluro con la formación de un metalacido de seis miembros; (v) la contracción anular; y (vi) proteólisis, que libera el producto isoxazólico y completa el ciclo catalítico.⁷⁰ Con este método se logra acelerar la velocidad de reacción en cinco órdenes de magnitud con respecto a la cicloadición térmica, que se origina al bajar la barrera energética necesaria para formar un intermediario Cu(III)-metalacido.



Esquema 2.17 Mecanismo propuesto para la cicloadición 1,3-dipolar catalizada por Cu(I).

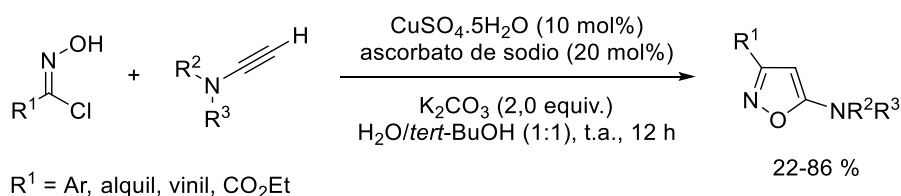
En el año 2005, Fokin *et al.* describió un práctico protocolo one-pot para la síntesis de isoxazoles 3,5-disustituídos utilizando cicloadiciones dipolares catalizadas por Cu(I) de alquinos con óxidos de nitrilo generados *in situ* a partir de los correspondientes aldehídos (Esquema 2.18).⁷² La reacción es particularmente notable ya que los autores demostraron una alta tolerancia a diferentes grupos funcionales, incluyendo bromuros de arilo, ésteres bencílicos, cetonas, ácidos carboxílicos y alcoholes alílicos. Todos los productos se obtuvieron con una excelente regioselectividad (>95:5).



$R^1 = \text{Ar, alquil, vinil}; R^2 = \text{Ar, alquil, vinil, CO}_2\text{H, CH}_2\text{OH}$

Esquema 2.18 Síntesis one-pot de isoxazoles 3,5-disustituídos catalizada por Cu(I).

Por otro lado, en el año 2007, Hsung y col.⁷³ demostraron que las cicloadiciones [3+2] catalizadas por Cu(I) con óxidos de nitrilo pueden obtenerse utilizando inamidas (Esquema 2.19).^{68,74} Esta reacción genera isoxazoles 5-amino-sustituídos con buenos rendimientos en general y con excelente regioselectividad (>95:5).

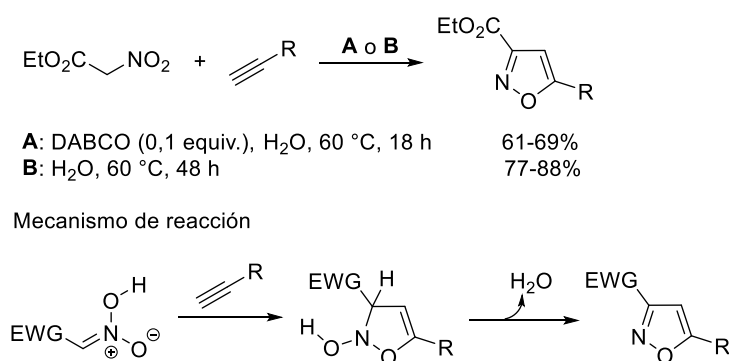


$R^1 = \text{Ar, alquil, vinil, CO}_2\text{Et}$

Esquema 2.19 Síntesis de isoxazoles 3,5-disustituídos catalizada por Cu(I) via inamidas.

El segundo gran avance en esta área también fue desarrollado por el grupo de Fokin. En el año 2008 describen la cicloadición [3+2] catalizada por Ru(II) de alquinos

isoxazoles 3,5-disustituídos a partir de una cicloadición [3+2] de nitroacetatos con alquinos en medio acuoso (Esquema 2.22)⁷⁷. A través de estudios cinéticos los autores demostraron que es necesaria una cantidad catalítica de base para que la reacción se pueda llevar a cabo. El paso determinante de la velocidad de reacción es la eliminación de agua. Este método de obtención de óxidos de nitrilo es promisorio porque las condiciones suaves son compatibles con entornos biológicos.



Esquema 2.22 Síntesis de isoxazoles mediante una cicloadición [3+2] de nitroacetatos en agua.

3.1.3. Cicloadiciones [3+2] libres de catalizador.

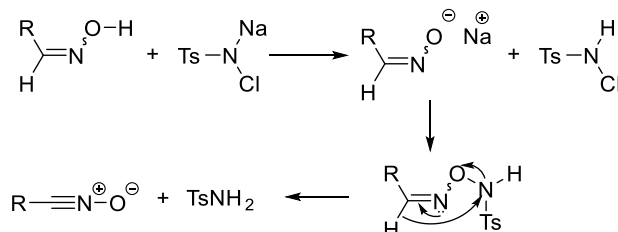
La reacción de cicloadición entre óxidos de nitrilo y alquinos es clave en la síntesis de compuestos inspirados en la naturaleza, incluyendo esteroides y glicósidos, que precisan de la generación *in situ* de los dipolos activos a partir de oximas, cloruros de hidroxiamilo o nitro compuestos.⁷⁸⁻⁸⁰

La compatibilidad de los reactivos en un medio acuoso es altamente favorable en bioaplicaciones; en consecuencia, la preparación de nucleósidos modificados por cicloadiciones entre óxidos de nitrilo y alquinos promovida por cloramina-T es un objetivo importante.⁸¹ El uso de cloramina-T en la obtención de peptidomiméticos unidos a isoxazoles,⁷¹ en reacciones de cicloadición catalizadas por anticuerpos y en la preparación de oligonucleótidos marcados con ¹²⁵I sugieren que debe haber armonía con los sistemas biológicos.⁸²

La cloramina-T genera la formación de óxidos de nitrilo a partir de aldoximas; también es capaz de transformar hidrazonas en nitrilo iminas.⁸³ Es un reactivo versátil que puede ser utilizado con sustratos sensibles a ácidos y bases.

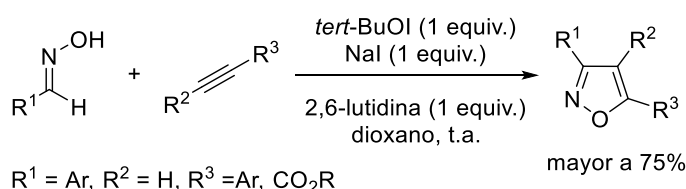
Un mecanismo plausible para la transformación de aldoximas en óxidos de nitrilo a través del tratamiento con cloramina-T se muestra en el Esquema 2.23.⁸³ En el uso de cloramina-T se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones: las reacciones

secundarias del óxido de nitrilo generado inicialmente con cloraminta-T (4 equiv.) puede llevar a la formación de productos indeseados y disminuir el rendimiento del dipolo,⁸³ así como también las observaciones de que algunos reactivos (por ejemplo, sulfonas vinílicas) podrían no ser inertes al poder oxidante de la cloramina-T. Una solución al problema anterior es el tratamiento de la oxima con cloramina-T previo a la adición del dipolarófilo.⁸⁴



Esquema 2.23 Mecanismo propuesto para la formación de óxidos de nitrilo a partir de oximas mediante tratamiento con cloramina-T.

Otro mecanismo de oxidación alternativo de oximas fue el descrito por Minataka en el año 2011 (Esquema 2.24), en donde anillos isoxazólicos fueron obtenidos a partir de oximas por generación *in situ* del correspondiente óxido de nitrilo utilizando *tert*-BuOI (hipoiodito de *tert*-butilo) como oxidante.⁸⁵ Una ventaja práctica del uso de *tert*-BuOI es que este reactivo puede prepararse fácilmente a partir de *tert*-BuOCl (hipoclorito de *tert*-butilo) y NaI.

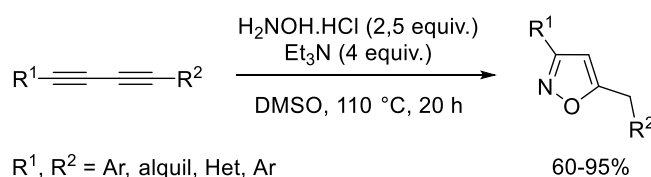


Esquema 2.24 Síntesis de isoxazoles utilizando óxidos de nitrilo a partir de oximas.

3.2. Síntesis de isoxazoles mediante reacciones de cicloisomerización.

En la última década, las reacciones de ciclación electrofílica han surgido como una herramienta poderosa para la síntesis de isoxazoles debido a la simplicidad de sus métodos, el uso de materiales de partida fácilmente accesibles y la capacidad de introducir heteroátomos en el anillo isoxazólico utilizando condiciones de reacciones suaves.⁸⁶⁻⁸⁹ Los isoxazoles pueden obtenerse a partir de reacciones de cicloisomerización en catálisis metálica o en ausencia de metales.

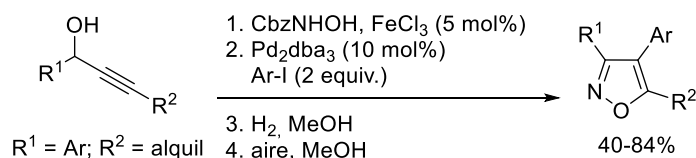
Un ejemplo reciente de cicloisomerización no-metálica fue la desarrollada por Yu y Bao en el año 2012. Los autores demostraron que anillos isoxazólicos 3,5-disustituidos pueden obtenerse fácilmente a partir del tratamiento de 1,3-dialquinos con hidroxilamina en condiciones suaves de reacción (Esquema 2.25).⁹⁰ El alcance de la reacción es amplio e incluye dialquinos sustituidos con grupos arilo y alquilo. Los autores demostraron que la reacción se puede realizar “one-pot” por dimerización de alquinos terminales con catálisis de CuI (5 mol%, DMSO/aire, 90 °C), seguida de la reacción con hidroxilamina, obteniéndose isoxazoles con buenos rendimientos.



Esquema 2.25 Síntesis de isoxazoles 3,5-disustituidos mediante una hidroaminación/cicloisomerización de 1,3-dialquinos.

En general, la síntesis de isoxazoles *via* cicloisomerizaciones catalizadas por metales presenta ciertas ventajas en términos de condiciones de reacción más suaves, tolerancia a más grupos funcionales y el potencial de introducir directamente nuevos enlaces C-C explorando la reactividad del catalizador metálico. Hasta la fecha, se han utilizado diferentes catalizadores metálicos tales como Au,⁹¹⁻⁹⁸ Ag,⁹⁹ Cu,^{100,101} Pt¹⁰² y Pd.^{103,104}

En el año 2011, Vrancken y Campagne dieron a conocer un método eficiente para la reacción en tándem de anulación/acoplamiento cruzado catalizada por Pd para la síntesis de isoxazoles trisustituidos (Esquema 2.26).¹⁰³ La utilidad de esta metodología fue aplicada a la preparación de un arreglo de isoxazoles trisustituidos con rendimientos globales altos a partir de alcoholes propargílicos comerciales.

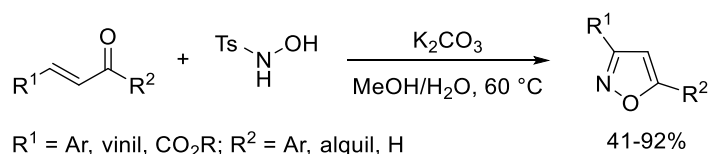


Esquema 2.26 Síntesis de isoxazoles 3,4,5-trisustituidos catalizados por Paladio(II) a partir de propargil hidroxilaminas *N*-protegidas.

3.3. Síntesis de isoxazoles mediante reacciones de condensación.

Históricamente, la síntesis de isoxazoles a partir de la reacción entre compuestos β -dicarbonílicos e hidroxilaminas, seguida de ciclodeshidratación ha sido uno de los métodos de obtención más importantes.⁶⁰⁻⁶⁷ Sin embargo, esta metodología presenta varias desventajas, incluyendo condiciones de reacción más duras; problemas de regioselectividad al utilizar compuestos 1,3-dicarbonílicos asimétricos; y baja eficacia cuando aumenta la complejidad del sustrato. A pesar de estos inconvenientes, algunos protocolos han resultado útiles para la síntesis de isoxazoles mediante reacciones de condensación.

El alcance de estas metodologías es más limitado que los métodos descritos anteriormente. Un ejemplo es el descrito por She y col. en 2009, demostrando que isoxazoles 3,5-disustituídos pueden ser sintetizados por condensación de *N*-hidroxi-*p*-toluensulfonamida con cetonas α,β -insaturadas (Esquema 2.27)^{105,106} Los autores descubrieron que utilizando K_2CO_3 como base y metanol acuoso como solvente, formaban anillos isoxazólicos con buenos rendimientos.



Esquema 2.27 Síntesis regioselectiva de isoxazoles 3,5-disustituídos mediante adición conjugada/condensación.

4. Oxadiazoles.

Los oxadiazoles o furodiazoles son una familia de heterociclos aromáticos de cinco miembros que contienen en su estructura dos heteroátomos de nitrógeno y uno de oxígeno. Dependiendo de la posición de esos átomos en el anillo heterocíclico se pueden describir cuatro estructuras isoméricas¹⁰⁷; 1,2,3-, 1,2,4-, 1,3,4- y 1,2,5-oxadiazoles (Figura 2.4).

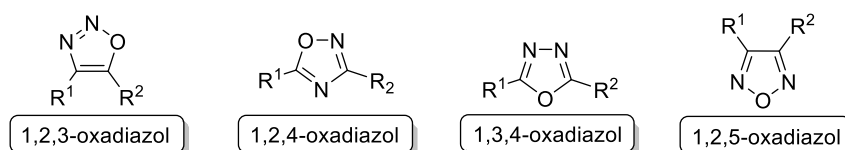


Figura 2.4 Estructura de los isómeros de oxadiazoles.

Entre los oxadiazoles, los derivados 1,2,4-oxadiazólicos son heterociclos importantes que se encuentran presentes en productos naturales¹⁰⁸ y se han utilizado ampliamente como farmacóforos y moléculas bioactivas (ver Capítulo 1). Además, los 1,2,4-oxadiazoles se han utilizado como bioisósteros de ésteres y amidas¹⁰⁹ y como miméticos de dipéptidos.¹¹⁰

4.1. Métodos generales para la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles.

Las estrategias sintéticas para la obtención de anillos 1,2,4-oxadiazólicos utilizan diversos precursores que contienen en su estructura los sustituyentes que se incluyen en las posiciones tres y cinco.¹¹¹⁻¹¹⁷ Las metodologías más utilizadas consisten en cicloadiciones 1,3-dipolares en donde el dipolo es un nitrilo y el dipolarófilo un óxido de nitrilo; y heterociclaciones entre una amidoxima y un derivado de ácido. Ambas estrategias contienen un nitrilo como síntón clave: en el caso de cicloadiciones 1,3-dipolares, el sustituyente del nitrilo termina formando parte de la posición C-5 en el oxadiazol obtenido; y en el caso de la ruta a partir de una amidoxima, en la posición C-3 de anillo oxadiazólico. Éstos dos métodos de formación de 1,2,4-oxadiazoles comprenden al menos el 95% de las síntesis que involucran a este anillo heterocíclico.

4.2. Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles a partir de amidoximas.

El nombre “amidoxima” fue utilizado por primera vez por Tiemann,¹¹⁸ que elucidó la estructura del nuevo grupo funcional en 1884 y reconoció que pueden existir dos formas tautoméricas diferentes **A** y **B** (Figura 2.5), siendo predominante la forma **A**.

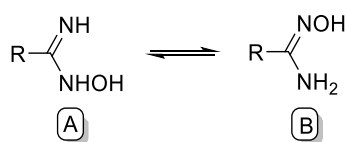
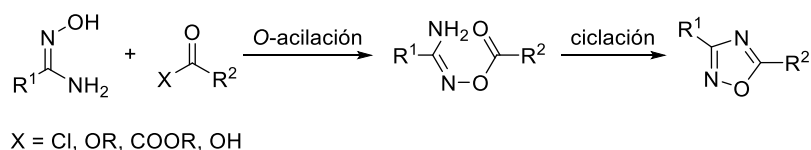


Figura 2.5 Equilibrio tautomérico de amidoximas.

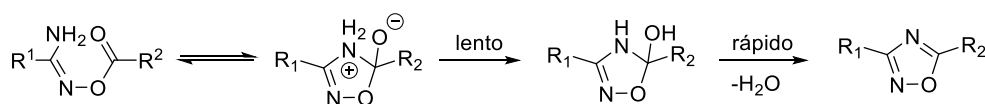
En general, la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles involucra dos pasos: el primero es una O-acilación de una amidoxima con un derivado de ácido activado, típicamente un cloruro de ácido, un anhídrido o un éster, seguido de ciclodeshidratación (Esquema 2.28).^{112,119-124} La ciclación puede llevarse a cabo por tratamiento de la O-

acilamidoxima con bases como NaH o NaOEt¹²⁵⁻¹²⁷ a temperatura ambiente, o por calentamiento con piridina.^{128,129}



Esquema 2.28 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles a partir de amidoximas.

Ooi y Wilson¹²⁸ estudiaron la cinética de la formación de oxadiazoles en el paso de la ciclación de la *O*-acilamidoxima en difeniléter y otros solventes a temperaturas entre 100–145 °C y propusieron el mecanismo de reacción del Esquema 2.29. La constante de equilibrio está desplazada hacia la izquierda, y el paso determinante de la velocidad de reacción es la transferencia de protón.

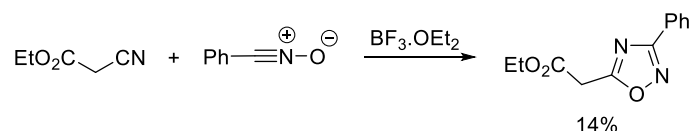


Esquema 2.29 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles a partir de amidoximas.

4.3. Adición de óxidos de nitrilo a nitrilos.

La reacción de cicloadición 1,3-dipolar puede ser una de las rutas sintéticas más ventajosas debido al fácil acceso a los materiales de partida (disponibles comercialmente), pero la baja reactividad del grupo nitrilo hace que la reacción sea menos favorable. De esta manera, la cicloadición 1,3-dipolar de óxidos de nitrilo con nitrilos desactivados ocurre sólo bajo condiciones de reacción vigorosas, y la formación del 1,2,4-oxadiazol compite con la dimerización de óxidos de nitrilo inestables^{114,130} para formar 1,2,5-oxadiazol-2-óxidos (furoxanos) o 1,2,4-oxadiazol-4-óxidos.

Un ejemplo es la cicloadición realizada por Morrocchi *et al.* entre etil cianoacetato y óxido de benzonitrilo, que en presencia de un ácido de Lewis como trifluoruro de boro permite la formación de un anillo 1,2,4-oxadiazólico (Esquema 2.30).¹³¹

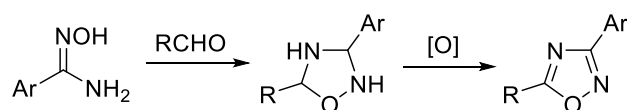


Esquema 2.30 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles mediante cicloadiciones [3+2].

La activación del triple enlace en nitrilos y, consecuentemente, su reactividad frente a la cicloadición con óxidos de nitrilo, puede mejorarse por introducción de sustituyentes fuertemente aceptores de electrones en el carbono del nitrilo.¹³²

4.4. Oxidación de 1,2,4-oxadiazolinas.

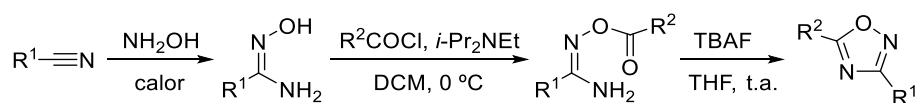
La condensación de amidoximas aromáticas con acetaldehído,¹³³⁻¹³⁵ propionaldehído, isobutiraldehído, fenilacetaldehído y salicilaldehído lleva a la formación de dihidro-1,2,4-oxadiazoles. Éstos intermediarios son oxidados en presencia de permanganato para obtener 1,2,4-oxadiazoles-3,5-disustituídos. (Esquema 2.31).



Esquema 2.31 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles por oxidación.

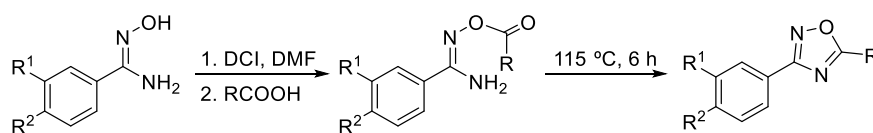
4.5. Nuevos avances en la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles.

Los heterociclos 1,2,4-oxadiazólicos pueden ser sintetizados utilizando diferentes metodologías. Algunos ejemplos recientes incluyen la técnica utilizada por Gangloff *et al.*,¹³⁶ la cual utiliza fluoruro de *tetra-n*-butilamonio (TBAF) como catalizador (Esquema 2.32). A partir de alcanoil y aroil hidroxiamidinas y utilizando 0,1-1,0 equivalentes de TBAF en THF a temperatura ambiente durante 1 a 24 horas es posible obtener los correspondientes anillos 1,2,4-oxadiazólicos.



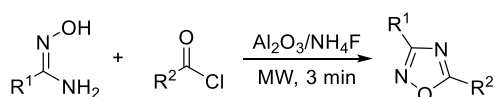
Esquema 2.32 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles utilizando TBAF como catalizador.

Otro ejemplo es la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles en solución descrito por Deegan Tracy *et al.*¹³⁷ Los ácidos carboxílicos pueden ser activados con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) en DMF a temperatura ambiente antes de ser tratados con benzamidoximas (Esquema 2.33). La *O*-acilbenzamidoxima resultante también puede ser deshidrata por tratamiento con CDI en DMF, lo que lleva a la formación del producto heterocíclico en una reacción one-pot. De manera similar, Braga *et al.*¹³⁸ también obtuvo oxadiazoles utilizando *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) como activante de ácidos carboxílicos.

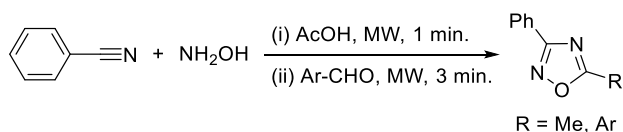


Esquema 2.33 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles utilizando ácidos carboxílicos activados con CDI.

En los últimos años, el calentamiento por microondas ha surgido como una alternativa valiosa a los métodos convencionales de calentamiento por conductividad. La aplicación de la energía de microondas para acelerar reacciones orgánicas ofrece diversas ventajas sobre las técnicas convencionales.¹³⁹ Estas reacciones se realizan en tiempos cortos y son específicas, llevando generalmente a la formación de productos con altos rendimientos. La irradiación con microondas ha sido aplicada a la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles en ausencia de solvente en la mayoría de los casos. En el año 2005, Kaboudin *et al.*^{120,140-143} sintetizó 1,2,4-oxadiazoles utilizando un soporte de alúmina con fluoruro de amonio y radiación por microondas. Las amidoximas sustituidas reaccionaron con cloruros de acilo en condiciones libres de solvente, donde el ion fluoruro promueve la ciclación actuando como un reactivo fuertemente básico (Esquema 2.34). Otro ejemplo reciente es la síntesis de 1,2,4-oxadiazoles 3,5-disustituidos asistida por microondas también en ausencia de solvente, descrita por Adib *et al.*¹⁴⁴ (Esquema 2.35).



Esquema 2.34 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles asistida por microondas.



Esquema 2.35 Síntesis de 1,2,4-oxadiazoles asistida por microondas.

Referencias

- ¹ T. Eicher, S. Hauptmann, *The chemistry of heterocyclic: structure, reaction synthesis and applications*, 2° Ed., Wiley- VCH, Weinheim, **2003**, 207–209.
- ² *Modern Heterocyclic Chemistry*, (Eds.: J. Alvarez-Builla, J.J. Vaquero, J. Barluenga), Wiley-VCH, Weinheim, **2011**.
- ³ J.A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry*, 5° Ed., Wiley-Blackwell, Chichester, **2010**.
- ⁴ *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*, (Eds.: A.R. Katritzky, C.A. Ramsden, E.F.V. Scriven, R.J.K. Taylor), Elsevier Ltd., **2008**.
- ⁵ *Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformations*, Vols. 9–12, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2004**.
- ⁶ N. Siddiqui, W. Ashsan, M.S. Alama, R. Ali, B. Azad, J. Akhtar, *Inter. J. Pharma. Sci. Rev. Tes.* **2011**, 8, 161–169.
- ⁷ J.K. Shneine, Y.H. Alaraji, *IJSR* **2016**, 23, 19–7064.
- ⁸ R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, 2, 633–696.
- ⁹ R. Huisgen, *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, (Ed.: A. Padwa), Wiley, New York, **1984**, 1–176.
- ¹⁰ V.V. Rostovtsev, L.G. Green, V.V. Fokin, K.B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2596–2599.
- ¹¹ C.W. Tornøe, C. Christensen, M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 3057–3064.
- ¹² L. Zhang, X. Chen, P. Xue, H.Y. Sun, I.D. Williams, K.B. Sharpless, V.V. Fokin, G. Jia, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 15998–15999.
- ¹³ L.K. Rasmussen, B.C. Boren, V.V. Fokin, *Org. Lett.* **2007**, 9, 5337–5339.
- ¹⁴ A. Lauria, R. Delisi, F. Mingoia, A. Terenzi, A. Martorana, G. Barone, A.M. Almerico, *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 16, 3289–3306.
- ¹⁵ H. Struthers, T.L. Mindt, R. Schibli, *Dalton Trans.* **2010**, 39, 675–696.
- ¹⁶ B. Schulze, U.S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.* **2014**, 43, 2522–2571.
- ¹⁷ V.O. Rodionov, V.V. Fokin, M.G. Finn, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 2210–2215.
- ¹⁸ V.O. Rodionov, S.I. Presolski, D. Díaz Díaz, V.V. Fokin, M.G. Finn, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 12705–12712.
- ¹⁹ G.C. Kuang, H.A. Michaels, J.T. Simmons, R.J. Clark, L. Zhu, *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 6540–6548.
- ²⁰ J. McNulty, K. Keskar, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 5462–5470.
- ²¹ B.T. Worell, J.A. Malik, V.V. Fokin, *Science* **2013**, 340, 457–460.
- ²² B.C. Boren, S. Narayan, L.K. Rasmussen, L. Zhang, H. Zhao, Z. Lin, G. Jia, V.V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 8923–8930.
- ²³ A. Krasinski, V.V. Fokin, K.B. Sharpless, *Org. Lett.* **2004**, 6, 1237–1240.
- ²⁴ M.E. Meza-Avina, M.K. Patel, C.B. Lee, T.J. Dietz, M.P. Croatt, *Org. Lett.* **2011**, 13, 2984–2987.
- ²⁵ C.D. Smith, M.F. Greaney, *Org. Lett.* **2013**, 15, 4826–4829.
- ²⁶ S. Ding, G. Jia, J. Sun, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 1877–1880.
- ²⁷ L. Hong, W. Lin, F. Zhang, R. Liu, X. Zhou, *Chem. Commun.* **2013**, 5589–5591.
- ²⁸ S.W. Kwok, J.R. Fotsing, R.J. Fraser, O.V. Rodionov, V.V. Fokin, *Org. Lett.* **2010**, 12, 4217–4219.
- ²⁹ E.M. Sletten, C.R. Bertozzi, *Acc. Chem. Res.* **2011**, 44, 666–676.
- ³⁰ L.E. Chatkewitz, J.F. Halonski, M.S. Padilla, D.D. Young, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, 28, 81–84.
- ³¹ Z.-J. Cai, X.-M. Lu, Y. Zi, C. Yang, L.-J. Shen, J. Li, S.-Y. Wang, *Org. Lett.* **2014**, 16, 5108–5111.
- ³² J. Thomas, J. John, N. Parekh, W. Dehaen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 10155–10459.
- ³³ M. Freund, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1896**, 29, 2483–2490.
- ³⁴ R.G. Jones, C. Ainsworth, *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 1538–1540.
- ³⁵ N.F. Eweiss, A. A-Bahajaj, E.A. Elsherbini, *J. Heterocycl. Chem.* **1986**, 23, 1451–1458.
- ³⁶ S.M. Golovlyova, Y.A. Moskvichev, E.M. Alov, D.B. Kobylinsky, V.V. Ermolaeva, *Chem. Heterocycl. Compd.* **2001**, 37, 1102–1106.
- ³⁷ L. Labanauskas, E. Udrenaitė, P. Gaidelis, A. Brukstus, *Farmaco* **2004**, 59, 255–259.
- ³⁸ T. Plech, M. Wujec, A. Siwek, U. Kosikowska, A. Malm, *Eur. J. Med. Chem.* **2001**, 46, 241–248.
- ³⁹ A.A. Siddiqui, R. Mishra, M. Shaharyar, A. Husain, M. Rashid, P. Pal, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 1023–1026.
- ⁴⁰ Y.X. Zong, J.K. Wang, G.R. Yue, L. Feng, Z.E. Song, H. Song, Y.Q. Han, *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 5139–5141.
- ⁴¹ A. Senthilvelan, D. Thirumalai, V.T. Ramakrishnan, *Tetrahedron* **2004**, 60, 851–860.
- ⁴² M. Koparir, C. Orek, P. Koparir, K. Sarc, *Mol. Biomol. Spec.* **2013**, 105, 522–531.

- ⁴³ R.V. Petal, S.W. Park, *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *71*, 24–30.
- ⁴⁴ D. Ji, J. Lu, B. Lu, C. Xin, J. Mu, J. Li, C. Peng, X. Bao, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 1997–2000.
- ⁴⁵ S. Buscemi, M. Gruttadauria, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 999–1004.
- ⁴⁶ A. Basu, G. Das, *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 2837–2843.
- ⁴⁷ B.J. Wakefield, en: *Science of Synthesis: Houben-Weyl Methods of Molecular Transformations*, Vol. 11, (Ed.: E. Schaumann), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2004**, 229–288.
- ⁴⁸ A.M.S. Silva, A.C. Tome, T.M.V. Pinho e Melo, J. Elguero, en: *Modern Heterocyclic Chemistry*, (Eds.: J. Alvarez-Builla, J.J. Vaquero, J. Barluenga), Wiley-VCH, Weinheim, **2011**, 727–808.
- ⁴⁹ P. Grñanger, P. Vita-Finzi, *Chemistry of Heterocyclic Compounds, Parte 1*, Vol. 49, (Ed.: E.C. Taylor), John Wiley & Sons, New York, **1991**, 1–116.
- ⁵⁰ P. Grñanger, P. Vita-Finzi, *Chemistry of Heterocyclic Compounds, Parte 2*, Vol. 49, (Eds.: E. C. Taylor, P. Wipf), John Wiley & Sons, New York, **1999**, 1–888.
- ⁵¹ P.G. Baraldi, A. Barco, S. Benetti, G.P. Pollini, D. Simon, *Synthesis* **1987**, 857–869.
- ⁵² M.G. Charest, C.D. Lerner, J.D. Brubaker, D.R. Siegel, A.G. Myers, *Science* **2005**, *308*, 395–398.
- ⁵³ M.G. Charest, D.R. Siegel, A.G. Myers, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 8292–8293.
- ⁵⁴ J.D. Brubaker, A.G. Myers, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3523–3525.
- ⁵⁵ C. Sun, Q. Wang, J.D. Brubaker, P.M. Wright, C.D. Lerner, K. Noson, M. Charest, D.R. Siegel, Y.M. Wang, A.G. Myers, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 17913–17927.
- ⁵⁶ D.A. Kummer, D. Li, A. Dion, A.G. Myers, *Chem. Sci.* **2011**, *2*, 1710–1718.
- ⁵⁷ P.M. Wright, A.G. Myers, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 9853–9869.
- ⁵⁸ A. Quilico, G. Stagno d’Alcontres, P. Grünanger, *Nature* **1950**, *166*, 226–227.
- ⁵⁹ T.M.V. Pinho e Melo, *Curr. Org. Chem.* **2005**, *9*, 925–958.
- ⁶⁰ B. Iddon, *Heterocycles* **1994**, *37*, 1263–1319.
- ⁶¹ A. Pace, S. Buscemi, N. Vivona, *Org. Prep. Proc.* **2007**, *39*, 1–70.
- ⁶² W.S. Hamama, M.E. Ibrahim, H.H. Zoorob, *Synth. Commun.* **2013**, *43*, 2393–2440.
- ⁶³ F. Heaney, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 3043–3048.
- ⁶⁴ N.T. Patil, Y. Yamamoto, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3395–3442.
- ⁶⁵ T. Lu, F. Hu, *Synthesis* **2012**, *44*, 2805–2824.
- ⁶⁶ A.V. Gulevich, A.S. Dudnik, N. Chernyak, V. Gevorgyan, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 3084–3213.
- ⁶⁷ T.M.V.D. Pinho e Melo, *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 3363–3376.
- ⁶⁸ G. Evano, A. Coste, K. Jouvin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 2840–2859.
- ⁶⁹ S. Kankala, R. Vadde, C.S. Vasam, *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 7869–7876.
- ⁷⁰ F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V.V. Rostovtsev, L. Noodleman, K.B. Sharpless, V.V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 210–216.
- ⁷¹ G. Chennakrishnaireddy, B. Vasantha, N. Narendra, V.V. Sureshbabu, *Int. J. Pept. Res. Therap.* **2011**, *17*, 185–191.
- ⁷² T.V. Hansen, P. Wu, V.V. Fokin, *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 7761–7764.
- ⁷³ H. Li, L. Yu, X. Zhang, W.L. Johnson, R. Figueroa, R.P. Hsung, *Heterocycles* **2007**, *74*, 553–568.
- ⁷⁴ K.A. DeKorver, H. Li, A.G. Lohse, R. Hayashi, Z. Lu, Y. Zhang, R.P. Hsung, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 5064–5160.
- ⁷⁵ S. Grecian, V.V. Fokin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 8285–8287.
- ⁷⁶ J.S. Oakdale, R.K. Sit, V.V. Fokin, *Chem. Eur. J.* **2014**, *20*, 11101–11110.
- ⁷⁷ E. Trogu, C. Vinattieri, F. De Sarlo, F. Machetti, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 2081–2093.
- ⁷⁸ T.K.M. Shing, W.F. Wong, H.M. Cheng, W.S. Kwok, K.H. So, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 753–756.
- ⁷⁹ V.V. Vaidya, K.S. Wankhede, M.M. Salunkhe, G.K. Trivedi, *Can. J. Chem.* **2008**, *86*, 138–141.
- ⁸⁰ V.V. Vaidya, K.S. Wankhede, S.J. Nara, M.M. Salunkhe, G.K. Trivedi, *Synth. Commun.* **2009**, *39*, 3856–3866.
- ⁸¹ A. Hassner, K.M.L. Rai, *Synthesis* **1989**, 57–59.
- ⁸² J.D. Toker, P. Wentworth, Y.F. Hu, K.N. Houk, K.D. Janda, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3244–3245.
- ⁸³ M. W. Reed, I. G. Panyutin, D. Hamlin, D. D. Lucas, D. S. Wilbur, *Bioconjugate Chem.* **1997**, *8*, 238–243.
- ⁸⁴ V. Padmavathi, K.V. Reddy, A. Padmaja, P. Venugopalan, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 1567–1570.
- ⁸⁵ K.M.L. Rai, A. Hassner, *Synth. Commun.* **1997**, *27*, 467–472.
- ⁸⁶ S. Minakata, S. Okumura, T. Nagamachi, Y. Takeda, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2966–2969.
- ⁸⁷ I.D.G. Watson, F.D. Toste, *Chem. Sci.* **2012**, *3*, 2899–2919.

- ⁸⁷ C. Aubert, L. Fensterbank, P. Garcia, M. Malacria, A. Simonneau, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1954–1993.
- ⁸⁸ V. Michelet, P.Y. Toullec, J.P. Genet, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 4268–4315.
- ⁸⁹ A.R. Chianese, S.J. Lee, M.R. Gagne, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 4042–4059.
- ⁹⁰ L. Wang, X. Yu, X. Feng, M. Bao, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 2418–2421.
- ⁹¹ C. Praveen, A. Kalyanasundaram, P.T. Perumal, *Synlett* **2010**, 777–781.
- ⁹² S. Murarka, A. Studer, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 2708–2714.
- ⁹³ S. Murarka, A. Studer, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2746–2749.
- ⁹⁴ K.K.Y. Kung, V.K.Y. Lo, H.M. Ko, G.L. Li, P.Y. Chan, K.C. Leung, Z. Zhou, M.Z. Wang, C.M. Che, M.K. Wong, *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 2055–2070.
- ⁹⁵ Y. Jeong, B.I. Kim, J.K. Lee, J.S. Ryu, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 6444–6455.
- ⁹⁶ C.Y. Wu, T. Horibe, C.B. Jacobsen, F.D. Toste, *Nature* **2015**, *517*, 449–454.
- ⁹⁷ W.J. Wolf, M.S. Winston, F.D. Toste, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 159–164.
- ⁹⁸ M. Ueda, A. Sato, Y. Ikeda, T. Miyoshi, T. Naito, O. Miyata, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 2594–2597.
- ⁹⁹ M. Ueda, Y. Ikeda, A. Sato, Y. Ito, M. Kakiuchi, H. Shono, T. Miyoshi, T. Naito, O. Miyata, *Tetrahedron* **2011**, *67*, 4612–4615.
- ¹⁰⁰ M. Ueda, S. Sugita, A. Sato, T. Miyoshi, O. Miyata, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 9344–9351.
- ¹⁰¹ W. Chen, B. Wang, N. Liu, D. Huang, X. Wang, Y. Hu, *Org. Lett.* **2014**, *16*, 6140–6143.
- ¹⁰² P.A. Allegretti, E.M. Ferreira, *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1053–1058.
- ¹⁰³ E. Gayon, O. Quinonero, S. Lemouzy, E. Vrancken, J.M. Campagne, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6418–6421.
- ¹⁰⁴ Z. She, D. Niu, L. Chen, M.A. Gunawan, X. Shanja, W.H. Hersh, Y. Chen, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3627–3633.
- ¹⁰⁵ S. Tang, J. He, Y. Sun, L. He, X. She, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3982–3985.
- ¹⁰⁶ S. Tang, J. He, Y. Sun, L. He, X. She, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 1961–1966.
- ¹⁰⁷ J.H. Boyer, *Heterocyclic Compounds*, (Ed.: R.C. Elderfield), John Wiley Sons, Inc., New York, **1961**, 524–540.
- ¹⁰⁸ M. Carbone, Y. Li, C. Irace, E. Mollo, F. Castelluccio, A. Di Pascale, G. Cimino, R. Santamaria, Y.W. Guo, M. Gavagnin, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2516–2519.
- ¹⁰⁹ G.D. Diana, D.L. Volkots, T.J. Nitz, T.R. Bailly, M.A. Long, N. Vescio, S. Aldous, D.C. Pevear, F. Dutko, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2421–2436.
- ¹¹⁰ S. Borg, R.C. Vollinga, M. Labarre, K. Payza, L. Terenius, K. Luthman, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 4331–4342.
- ¹¹¹ F. Eloy, *Fortschr. Chem. Forsh.* **1965**, *4*, 807–876.
- ¹¹² L.B. Clapp, *Adv. Heterocycl. Chem.* **1976**, *20*, 65–116.
- ¹¹³ L.B. Clapp, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry*, Vol. 6, (Eds.: C.W. Rees and A.R. Katritzky), Pergamon: Oxford, UK, **1984**, 365–391.
- ¹¹⁴ J.C. Jochims, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry II*, Vol. 4, (Eds.: A.R. Katritzky, C.W. Rees y E.F.V. Scriven), Pergamon, Oxford, UK, **1996**, 179–228.
- ¹¹⁵ K. Hemming, *J. Chem. Res. Synop.* **2001**, 209–216.
- ¹¹⁶ L.A. Kayukova, *Pharm. Chem. J.* **2005**, *39*, 539–547.
- ¹¹⁷ K. Hemming, *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*, Vol. 5, (Eds.: A.R. Katritzky, C.A. Ramsden, E.F.V. Scriven y R.J.K. Taylor), Elsevier, London, UK, **2008**, 243–314.
- ¹¹⁸ F. Tiemann, *F. Chem. Ber.* **1884**, *17*, 126–129.
- ¹¹⁹ Y. Wang, R.L. Miller, D.R. Sauer, S. W. Djuric, *Org. Lett.* **2005**, *7*, 925–928.
- ¹²⁰ M.D. Evans, J. Ring, A. Schoen, A. Bell, P. Edwards, D. Berthelot, R. Nicewonger, C.M. Baldino, *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 9337–9341.
- ¹²¹ S. Kandre, P.R. Bhagat, R. Sharma, A. Gupte, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3526–3529.
- ¹²² B. Kaboudin, L. Malekzadeh, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6424–6426.
- ¹²³ K.K.D. Amarasinghe, M.B. Maier, A. Srivastava, J.L. Gray, *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 3629–3631.
- ¹²⁴ B. Kaboudin, F. Saadati, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 2829–2832.
- ¹²⁵ D. Korbonits, K. Horvath, *Heterocycles* **1994**, *37*, 2051–2068.
- ¹²⁶ S. Chiou, H.J. Shine, *J. Heterocycl. Chem.* **1989**, *26*, 125–128.
- ¹²⁷ L.A. Kayukova, K.D. Praliev, I.S. Zhumadildaeva, S.G. Klepikova, *Chem. Heterocycl. Compd.* **1999**, *35*, 630–631.
- ¹²⁸ N.S. Ooi, D.A. Wilson, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **1980**, 1792–1799.

- ¹²⁹ K.E. Andersen, B.F. Lundt, A.S. Joergensen, C. Braestrup, *Eur. J. Med. Chem.* **1996**, 31, 417–425.
- ¹³⁰ K.B.G. Torrsell, *Nitrile Oxides, Nitrones, and Nitronates in Organic Synthesis. Novel Strategies in Synthesis*, (Ed. E. Feuer), Wiley-VCH, Weinheim, Germany, **1988**, 129–434.
- ¹³¹ S. Morrocchi, A. Ricca, L.Velo, *Tetrahedron Lett.* **1967**, 8, 331–334.
- ¹³² V.Y. Kukushkin, A.J.L. Pombeiro, *Chem. Rev.* **2002**, 102, 1771–1802.
- ¹³³ G.V.M. Sharma, B.A. Rakesh, P.R. Krishna, *Synth. Commun.* **2004**, 34, 2387–2391.
- ¹³⁴ Z. Li, A. Zhu, X. Mao, X. Sun, X. Gong, *J. Braz. Chem. Soc.* **2008**, 19, 1622–1626.
- ¹³⁵ G. Nagendra, R.S. Lamani, N. Narendra, V.V. Sureshbabu, *Tetrahedron Lett.* **2010**, 51, 6338–6341.
- ¹³⁶ A.R. Gangloff, J. Litvak, E.J. Shelton, D. Sperandio, V.R. Wang, K.D. Rice, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 1441–1443.
- ¹³⁷ L. Deegan, Tracy, T.J. Nitz, D. Cebzanov, D.E. Pufko, J.A. Porco, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 209–212.
- ¹³⁸ A.L. Braga, D.S. Lokdte, *Synthesis* **2004**, 1589–1591.
- ¹³⁹ S. Caddick, *Tetrahedron* **1995**, 51, 10403–10432.
- ¹⁴⁰ B. Kaboudin, F. Saadati, *J. Heterocyclic Chem.* **2005**, 42, 699–706.
- ¹⁴¹ V. Santagada, F. Frecentese, E. Perissutti, D. Cirillo, S. Terracciano, G. Caliendo, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 4491–4493.
- ¹⁴² S. Rostamizadeh, S.A.G. Housaini, *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 8753–8755.
- ¹⁴³ D. Villemin, F. Caillot, *Tetrahedron Lett.* **2001**, 42, 639–642.
- ¹⁴⁴ M. Adib, A.H. Jahromi, *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2965–2969.

Capítulo 3

Objetivos de la Tesis

La lucha contra el cáncer se ha vuelto una de las prioridades en materia de salud debido a su alta tasa de mortalidad. Se estima que los nuevos casos de cáncer en todo el mundo aumentarán a 19,3 millones por año en 2025, debido a los cambios en el estilo de vida y al aumento de la longevidad. Aunque las terapias tradicionales han sido efectivas en el tratamiento del cáncer, a menudo tienen efectos secundarios adversos debido a su acción no específica ya que actúan tanto en las células normales como en las tumorales. Por lo tanto, las estrategias de tratamiento dirigidas que usan inhibidores de moléculas pequeñas se están estudiando ampliamente. Estos compuestos usualmente tienen un tamaño de $\leq 500\text{Da}$ y a menudo se administran por vía oral. Su pequeño tamaño también les permite translocarse a través de la membrana plasmática e interactuar con el dominio citoplásmico de los receptores de la superficie celular y las moléculas de señalización intracelular. En principio, pueden desarrollarse moléculas pequeñas para atacar cualquier porción de una proteína o enzima, independientemente de la ubicación celular del objetivo.

Por este motivo es importante el desarrollo de nuevas moléculas pequeñas que puedan actuar específicamente en una sola de las etapas en la evolución tumoral o aún mejor, moléculas denominadas multiblancos (multitarget) que interfieren simultáneamente en más de una de estas etapas.

Numerosos análogos de nucleósidos han sido diseñados con propósitos medicinales. Muchos de ellos han sido utilizados clínicamente como antivirales para el tratamiento de los virus de inmunodeficiencia humana (HIV), hepatitis B (HBV), herpes simples (HSV), hepatitis C (HCV) o como anticancerígenos contra diferentes líneas tumorales. Por otra parte, la diversidad estructural de los miméticos de nucleósidos con actividad anticáncer sugiere que cualquier nuevo análogo de nucleósido vale la pena ser explorado. El descubrimiento de análogos de nucleósidos clínicamente útiles conteniendo una base heterocíclica de cinco miembros tales como la ribavirina o la bredinina ha dado origen al desarrollo de nuevos análogos de nucleósidos que no contienen bases naturales.

Es por estas razones que el objetivo general de esta tesis se enfoca hacia la síntesis de novedosos derivados di-heterocíclicos de D-ribofuranosa con la finalidad de desarrollar nuevos compuestos con actividad anticancerígena.

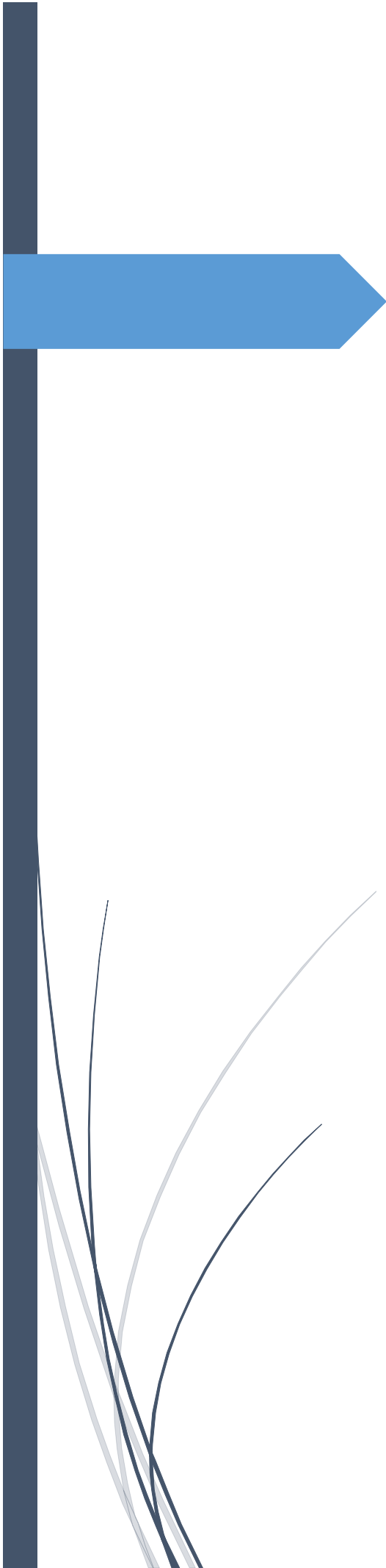
En particular, el objetivo específico del presente proyecto abarca la síntesis de una serie de derivados di-heterocíclicos de β -D-ribofuranosa que se encuentran unidos al hidrato de carbono en forma directa o por medio de un espaciador y la evaluación de su actividad antiproliferativa.

Por un lado, se partirá de derivados con anillos 1,2,4-triazólicos unidos al carbono terminal del hidrato de carbono por un azufre o por nitrógeno y se unirá un segundo heterociclo en la posición anomérica del carbohidrato por medio de un espaciador. Este segundo heterociclo podrá ser aromático (isoxazoles, 1,2,3-triazoles, 1,2,4-oxadiazoles) o no (isoxazolininas) para observar si la variación de la cantidad y tipo de heteroátomos influye sobre la actividad biológica. Se evaluará primero la eficiencia de este cambio sobre la actividad biológica manteniendo un grupo 3,4,5-trimetoxifenil como sustituyente dada su importancia biológica. Posteriormente se evaluará el cambio de dicho sustituyente manteniendo un mismo heterociclo. También se evaluará la influencia del cambio del anillo 1,2,4-triazólico en la porción terminal de la D-ribosa por un anillo 5-amino-1,3,4-tiadiazólico.

Por otra parte, y con el propósito de analizar la influencia de los grupos protectores en las posiciones dos y tres de la D-ribosa, se sintetizarán compuestos con grupos isopropilideno y ciclopentilideno y sus análogos desprotegidos.

También se presentarán los lineamientos para la obtención de C-glicósidos debido a su mayor resistencia al ataque biológico.

Se evaluará la citotoxicidad de los compuestos frente a diferentes líneas celulares con el objetivo de encontrar una estructura novedosa que será el compuesto líder para futuras investigaciones.



Resultados y discusión

Capítulo 4 – Síntesis de 1,2,4-triazolil/4,5-dihidro isoxazolil D-ribósidos

Capítulo 5 – Síntesis de derivados di-heterocíclicos de D-ribofuranosa conteniendo isoxazoles y 1,2,3-triazoles

Capítulo 6 – Síntesis 5-aril-1,2,4-oxadiazoles derivados de β -D-ribofuranósidos

Capítulo 7 – Síntesis de derivados de D-ribono-1,4-lactona

Capítulo 4

Síntesis de 1,2,4-triazolil/4,5-dihidro isoxazolil

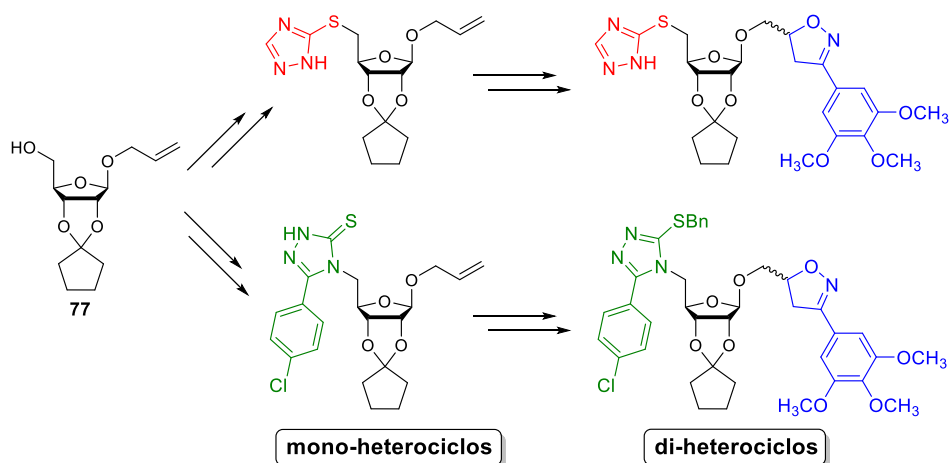
D-ribósidos

1. Introducción.

Los derivados triazólicos y sus análogos nucleosídicos han mostrado tener una alta toxicidad contra varias líneas celulares tumorales humanas.¹⁻³ La actividad biológica de compuestos que contienen un anillo triazólico en su estructura se debe al alto momento dipolar de este heterociclo, lo que le permite formar fuertes interacciones por puente hidrógeno con el objetivo (target) biológico.⁴ Desde el punto de vista químico, este heterociclo es estable a hidrólisis ácida y básica, así como también en condiciones de reducción y oxidación.⁵

Considerando que la actividad antiviral y/o antitumoral podría aumentar o potenciarse por agregado de un segundo anillo heterocíclico⁶⁻⁸, en este Capítulo se presentará la síntesis de derivados 1,2,4-triazólicos de D-ribosa incorporando en algunos casos un anillo isoxazolinico como un segundo farmacóforo. La actividad antitumoral de los compuestos sintetizados en esta etapa se evaluó sobre una línea celular BW 5147 de linfoma T, la cual posee una conocida malignidad *in vivo*.⁹

En el Esquema 4.1 se muestran las estructuras de los compuestos mono- y di-heterocíclicos sintetizados que se presentarán en este Capítulo. Partiendo de un mismo compuesto, el alil 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (**77**) se obtuvieron dos derivados 1,2,4-triazólicos diferentes unidos a la posición cinco de la β-D-ribofuranosa mediante un átomo de azufre o de nitrógeno. La reacción de cicloadición 1,3-dipolar entre una oxima derivada y el grupo alilo nos permitió incorporar el anillo isoxazolinico a la estructura para obtener los derivados di-heterocíclicos. Los derivados mono- y di-heterocíclicos fueron desprotegidos para evaluar la influencia de este cambio sobre la actividad biológica.

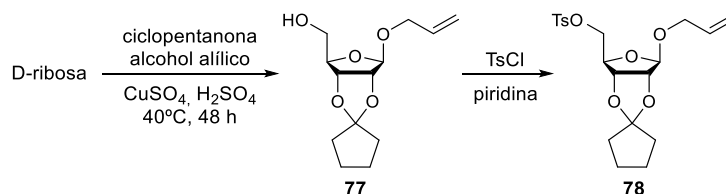


Esquema 4.1 Camino sintético para la obtención de derivados triazólicos mono-heterocíclicos y di-heterocíclicos triazólicos/isoxazolinicos.

2. Resultados y discusión.

2.1. Síntesis de precursores de alil β-D-ribofuranósido.

El primer paso de la síntesis planteada implica una protección simultánea de D-ribosa con ciclopentanona y alcohol alílico, para lo cual se siguió el protocolo previamente descrito por Busscher y col.¹⁰ Esta síntesis utiliza sulfato de cobre anhidro y ácido sulfúrico como catalizador y, en un único paso de síntesis y purificación, es posible obtener el alil 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido con rendimientos moderados (53 %). La aplicación de la técnica descrita nos condujo al compuesto protegido **77** cuyos datos espectroscópicos obtenidos experimentalmente coincidieron con los datos de literatura.



Esquema 4.2 Camino sintético para la obtención del derivado tosilado **78**.

El posterior tratamiento del alil 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (**77**) con cloruro de tosilo en piridina permitió la funcionalización del hidroxilo terminal del D-ribósido con un buen grupo saliente para un subsecuente desplazamiento nucleofílico

del mismo. El derivado tosilado **78** (Esquema 4.2) fue aislado como un sólido blanco con un rendimiento del 88 % y fue analizado por espectroscopía de resonancia magnética nuclear.

En la Figura 4.1 se muestra el espectro protónico del tosil derivado **78** en donde pueden observarse las señales correspondientes a los hidrógenos de la β -D-ribofuranosa que se analizará más específicamente para este compuesto.

El singlete a desplazamientos químicos de 5,08 ppm se asignó al hidrógeno H-1. Se comprueba que la D-ribofuranosa se encuentra en configuración β al no observarse acoplamiento entre los hidrógenos H-1 y H-2 (ver espectro COSY en la Figura 4.3), lo que indica que los ángulos diedros entre los correspondientes enlaces C–H son cercanos a 90° . En este caso en particular, H-3 y H-4 presentan una constante de acoplamiento pequeña ($J_{3,4}$ 0,7 Hz), por lo que el ángulo diedro es bastante cercano a 90° . La constante de acoplamiento entre los hidrógenos H-2 y H-3 ($J_{2,3}$ 6,0 Hz) se encuentra dentro de los valores que se describen en literatura para D-ribósidos en configuración β , que generalmente se encuentran entre 5,0 y 6,0 Hz.¹¹ Los valores de los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamientos para los hidrógenos del residuo glicosídico se encuentran detallados en la Tabla 4.1 y coinciden con datos descriptos en bibliografía.¹²⁻¹⁶

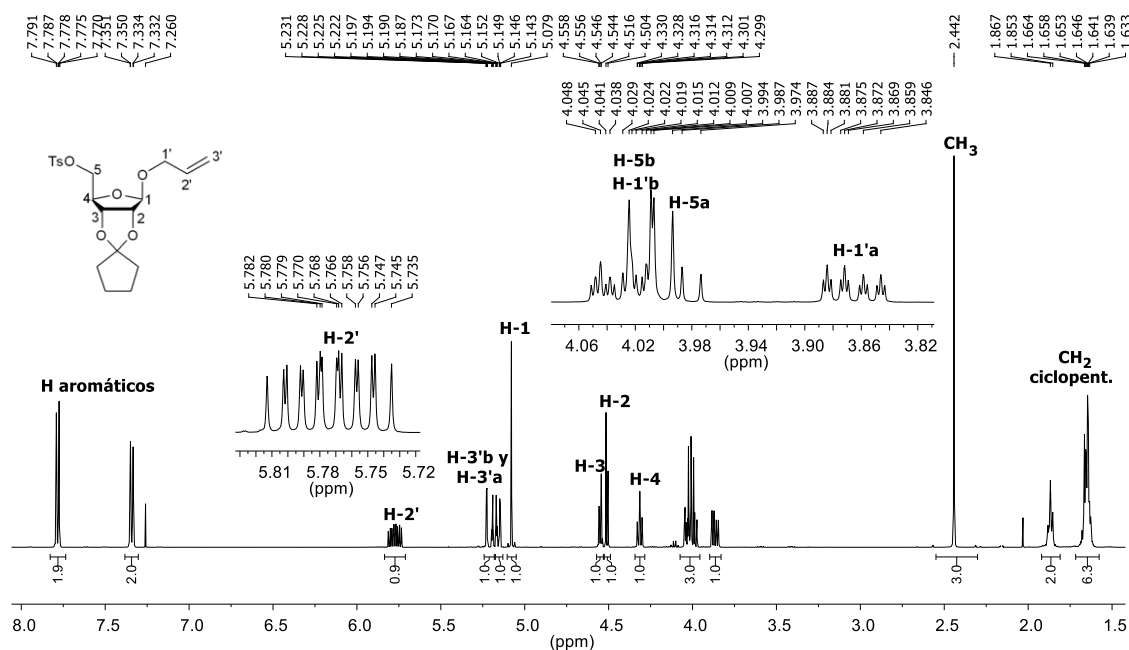


Figura 4.1 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **78**.

La presencia del alilo en la posición anomérica de la D-ribosa puede verificarse por las señales diagnósticas que corresponden a los hidrógenos H-1'a, H-1'b, H-2', H-3'a y H-3'b y las constantes de acoplamiento encontradas entre cada uno de estos hidrógenos, que se muestran en la Tabla 4.1. La incorporación del grupo tosilo se verifica a partir de la presencia de dos dobletes a δ 7,34 ppm y 7,78 ppm (aromático *p*-sustituido) y un singlete que integra para tres hidrógenos a desplazamientos químicos de 2,44 ppm correspondiente al metilo. La asignación de cada uno de los hidrógenos se realizó a partir del espectro COSY que se muestra en la Figura 4.3.

asignación	δ (ppm)	<i>J</i>
H-1	5,08	-
H-2	4,51	$J_{2,3} = 6,0$ Hz
H-3	4,55	$J_{3,2} = 6,0$ Hz, $J_{3,4} = 0,7$ Hz
H-4	4,31	$J_{4,5b} = 7,7$ Hz, $J_{4,5a} = 6,7$ Hz, $J_{4,3} = 0,9$ Hz
H-5a	3,99	$J_{5a,5b} = 10,0$ Hz, $J_{5a,4} = 6,7$ Hz
H-5b	4,03	$J_{5b,5a} = 10,0$ Hz, $J_{5b,4} = 7,8$ Hz
H-1'a	3,87	$J_{1'a,1'b} = 12,9$ Hz, $J_{1'a,2'} = 6,2$ Hz, $J_{1'a,3'b} = 1,3$ Hz, $J_{1'a,3'a} = 1,3$ Hz
H-1'b	4,03	$J_{1'b,1'a} = 12,9$ Hz, $J_{1'b,2'} = 5,2$ Hz, $J_{1'b,3'b} = 1,6$ Hz, $J_{1'b,3'a} = 1,6$ Hz
H-2'	5,77	$J_{2',3'b} = 17,2$ Hz, $J_{2',3'a} = 10,4$ Hz, $J_{2',1'a} = 6,2$ Hz, $J_{2',1'b} = 5,2$ Hz
H-3'a	5,16	$J_{3'a,2'} = 10,4$ Hz, $J_{3'a,3'b} = 1,4$ Hz, $J_{3'a,1'b} = 1,4$ Hz, $J_{3'a,1'a} = 1,4$ Hz
H-3'b	5,21	$J_{3'b,2'} = 17,2$ Hz, $J_{3'b,3'a} = 1,6$ Hz, $J_{3'b,1'b} = 1,6$ Hz, $J_{3'b,1'a} = 1,6$ Hz

Tabla 4.1 Desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento en el espectro de RMN-¹H para el compuesto **78**.

En el espectro de carbono del compuesto **78** (Figura 4.2) se observan las señales correspondientes a la D-ribofuranosa que son consistentes con una configuración β del carbono anomérico (δ 107,1 ppm). Los carbonos C-2, C-3 y C-4 se encuentran a desplazamientos químicos de 84,9; 81,3 y 83,4 ppm respectivamente, y la asignación de cada uno de ellos se realizó a partir del espectro de HSQC (ver Figura 4.3). El carbono C-5 se encuentra desplazado hacia campos más altos (δ_{C-5} 69,4 ppm).

La presencia de las señales a desplazamientos químicos altos para los carbonos C-2' (133,4 ppm) y C-3' (117,8 ppm) confirman la presencia del doble enlace, además de un carbono a δ 68,2 ppm correspondiente al C-1'. También se observan las señales de carbonos aromáticos a desplazamientos químicos de 128,1; 130,0; 132,8 y 145,2 ppm y el metilo a δ 21,8 ppm que comprueban incorporación del grupo tosilo. La asignación

de los carbonos fue posible a partir de la realización del espectro bidimensional HSQC (Figura 4.3).

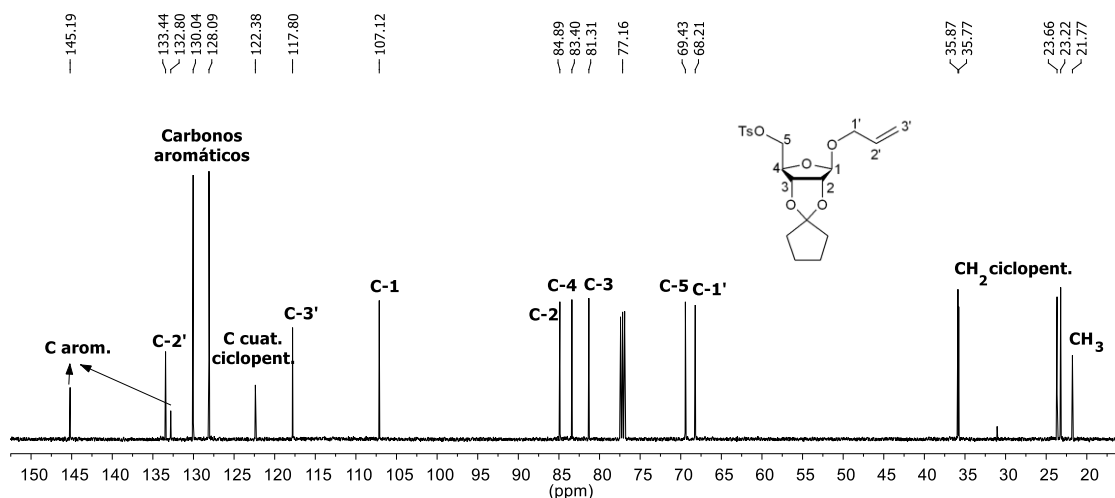


Figura 4.2 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **78**.

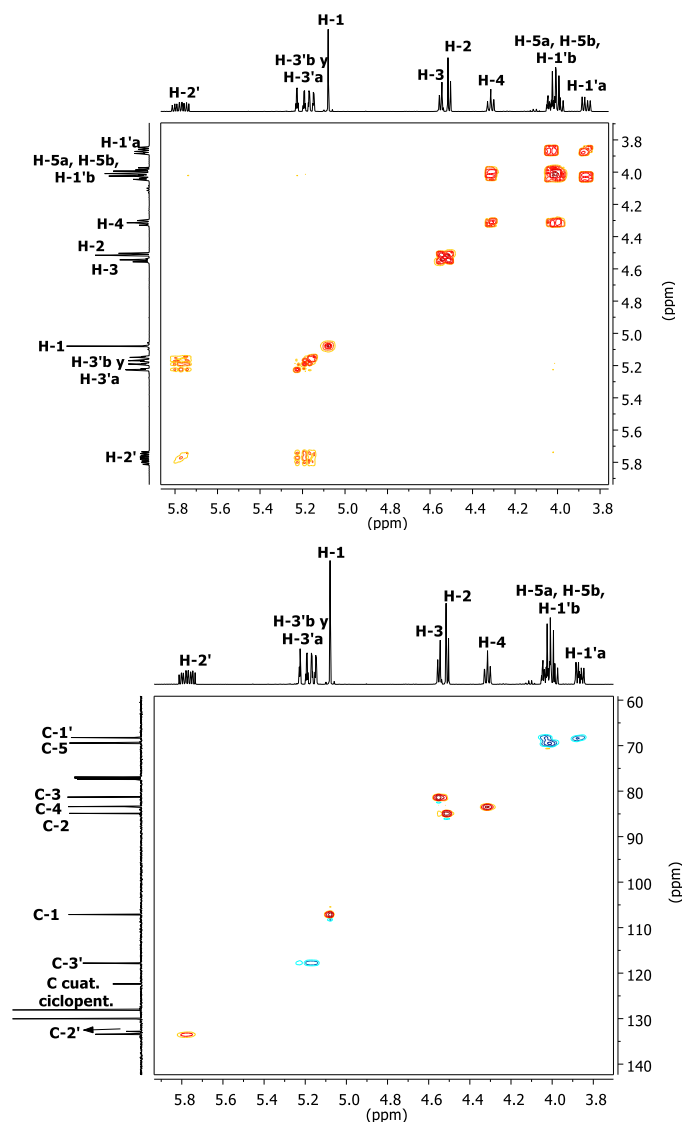
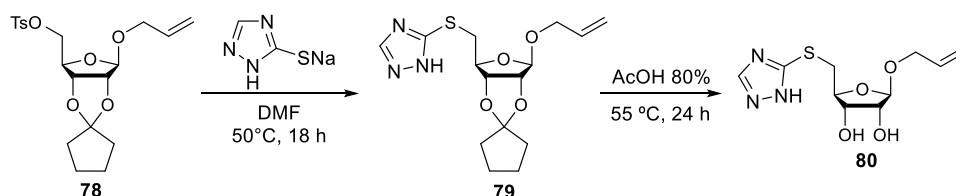


Figura 4.3 Espectro de COSY (arriba) y HSQC (abajo) para el compuesto **78**.

2.2. Síntesis de derivados mono-heterocíclicos β-D-ribofuranósidos conteniendo 1,2,4-triazol-3-tioles.

Para obtener los derivados triazólicos (Esquema 4.3), el compuesto **78** fue tratado con 1,2,4-triazolil-3-tiolato de sodio en *N,N*-dimetilformamida a 50 °C para dar el 1,2,4-triazol-3-il derivado **79**. El tiolato de sodio fue generado a partir de una solución de etóxido de sodio y 1,2,4-triazol-3-tiol de acuerdo con técnicas utilizadas previamente en el laboratorio.¹⁷ El compuesto **79** fue purificado por cromatografía en columna de sílica gel obteniéndose un sólido blanco con un rendimiento del 79 % que fue caracterizado por sus espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C.



Esquema 4.3 Camino sintético para la obtención de mono-heterociclos derivados de 1,2,4-triazol-3-tiol.

La elección del grupo protector ciclopentilidén en lugar del más comúnmente utilizado isopropilidén se realizó debido a que en bibliografía se encontró que variadas condiciones ácidas (como $\text{CF}_3\text{COOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (10:10:2), y $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}$ (80/20), $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{O}/(\text{HOCH}_2)_2$ (14:6:3), HCl 2M en MeOH, *p*-TsOH en MeOH, $\text{FeCl}_3\cdot\text{SiO}_2$ en CHCl_3 , $\text{FeCl}_3\cdot\text{SiO}_2$, y CH_3COOH en CHCl_3) llevaban a la formación de cierta cantidad del producto totalmente desprotegido si se utilizaban acetónidos derivados.¹⁸⁻²⁰

El grupo ciclopentilidén^{21,22} más lábil se hidrolizó quimiosselectivamente con ácido acético:agua (80:20) a 55 °C durante 24h, llevando a la formación del alil β-D-ribofuranósido derivado **80** con un rendimiento del 40 %. Sin embargo, se aisló un 16 % del producto protegido **79** que no reaccionó bajo las condiciones utilizadas ya que, aún en este caso, fue necesario cortar la reacción antes de las 48 horas para evitar la hidrólisis del grupo en la posición anomérica. Por purificación en columna de sílica gel se obtuvo el producto puro el cual fue caracterizado a partir de sus espectros de RMN-¹H y ¹³C.

En el espectro de RMN-¹H del derivado triazólico **79** (Figura 4.4) se observan las señales diagnósticas correspondientes al hidrógeno triazólico H-5'' como dos

singletes: uno de ellos se encuentra a desplazamientos químicos de 8,36 ppm e integra para 0,9 hidrógenos y el otro a δ 8,45 ppm (integración de 0,1 hidrógenos). La aparición de dos señales en el espectro se debe a la tautomería que presenta este tipo de heterociclos aromáticos.^{23,24} La confirmación de la unión por medio de un átomo de azufre del anillo triazólico al carbohidrato se muestra con los desplazamientos químicos de los protones 5a y 5b que se corren a campos más altos (δ 3,27 ppm y 3,38 ppm).

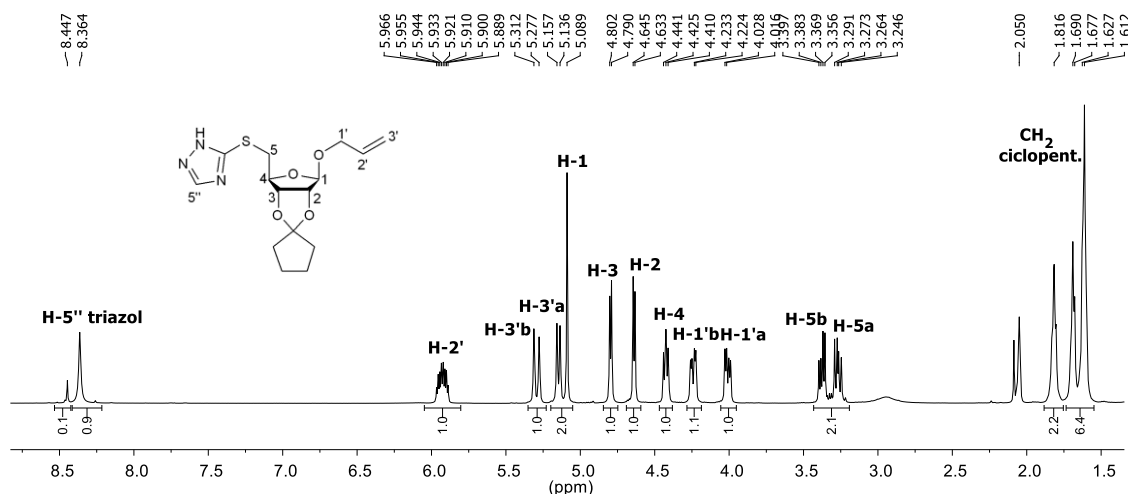


Figura 4.4 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO) para el compuesto **79**.

En el espectro de carbono del compuesto **79** (Figura 4.5) se pudieron observar las señales diagnósticas que confirman la incorporación del anillo triazólico, correspondientes a los carbonos C-3'' y C-5'' a δ 157,1 ppm y δ 146,6 ppm, respectivamente. El carbono C-5 del residuo de la D-ribose presentó una señal desplazada a campos más altos (δ 35,7 ppm) consistente con la unión a un átomo de azufre.

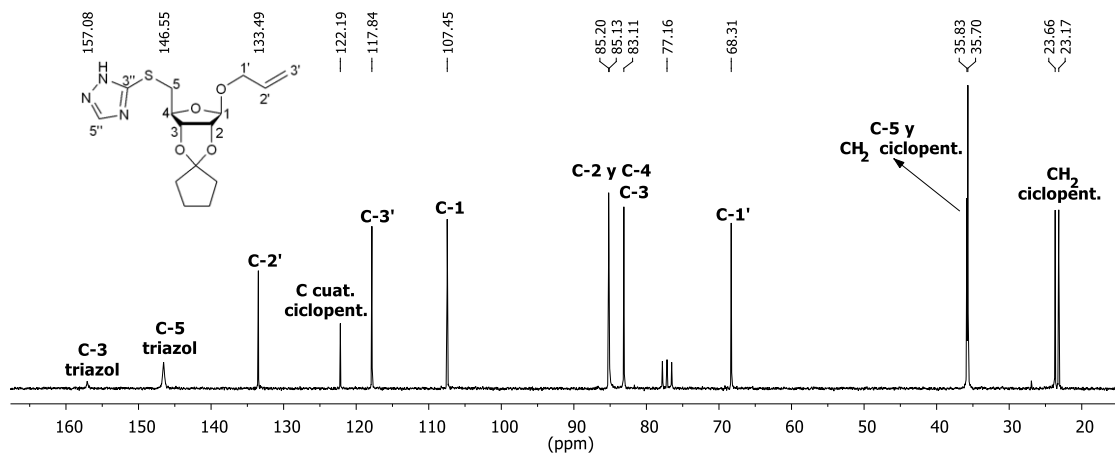


Figura 4.5 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para el compuesto **79**.

En la Figura 4.6 se muestra el espectro de RMN- ^1H realizado en metanol deuterado para el derivado triazólico desprotegido **80**. En el espectro se observa la ausencia de las señales del grupo protector y el corrimiento de los H-2 (que sale junto al H-4 como un multiplete a $\delta = 4,16\text{-}4,23$ ppm) y H-3 a $\delta 4,01$ ppm. La constante de acoplamiento entre los hidrógenos H-2 y H-3 de 4,7 Hz ($J_{2,3} = 5,9$ Hz en el compuesto protegido **79**) denota un posible cambio conformacional en el anillo furanósico, al eliminarse el grupo protector.

El espectro de carbono del compuesto **80** (Figura 4.7) muestra la ausencia de las señales correspondientes a los carbonos del grupo ciclopentilidén y se observa el corrimiento a desplazamientos químicos más bajos con respecto a **79** de los C-2 y C-3 ($\delta 75,3$ ppm y $\delta 76,5$ ppm, respectivamente) que confirman la desprotección de dicho compuesto.

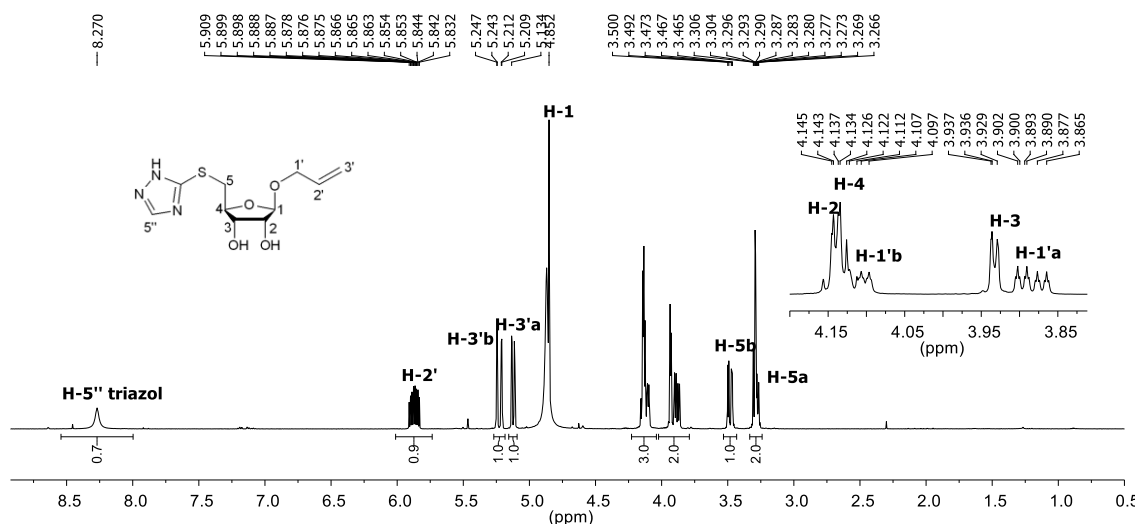


Figura 4.6 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, MeOD) para el compuesto **80**.

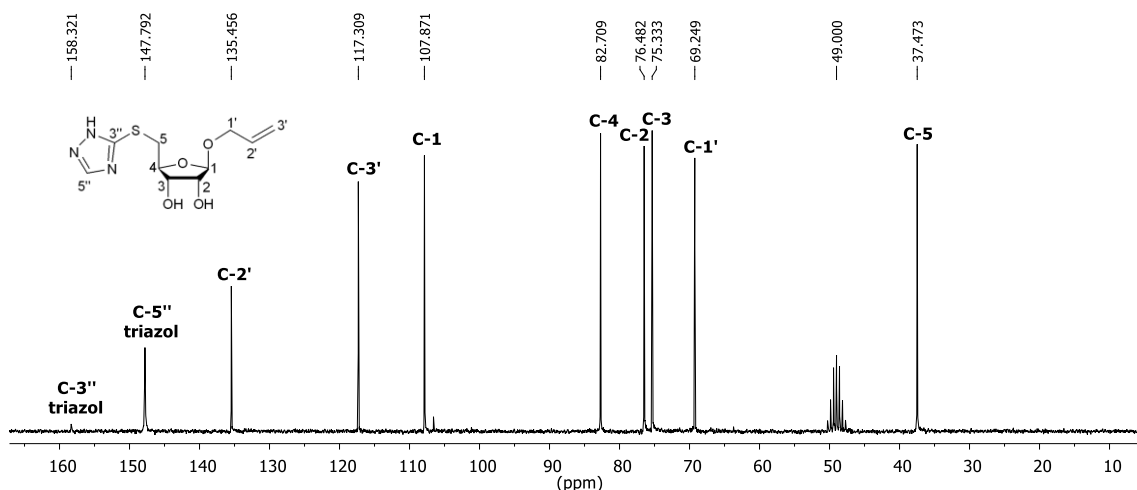


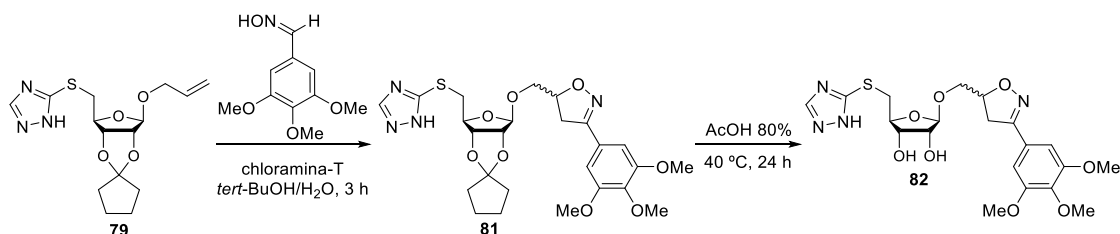
Figura 4.7 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, MeOD) para el compuesto **80**.

2.3. Síntesis de derivados di-heterocíclicos β -D-ribofuranósidos conteniendo isoxazolininas y 1,2,4-triazol-3-tioles.

Para obtener uno de los derivados di-heterocíclicos de β -D-ribofuranosa se utilizó como sustrato de partida el derivado triazólico **79**. Se realizó una reacción de cicloadición 1,3-dipolar en la cual el doble enlace del grupo alilo del compuesto **79** fue utilizado como dipolarófilo y el dipolo fue un *N*-óxido generado a partir de 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima en presencia de cloramina-T.²⁵ La 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima fue obtenida a partir de 3,4,5-trimetoxibenzaldehído e hidroxilamina mediante una reacción de formación de oxima a partir de procedimientos estándar, el cual se encuentra descrito en el Capítulo 8 de Técnicas Experimentales. El grupo 3,4,5-trimetoxifenilo fue seleccionado debido a que este grupo forma parte de muchos compuestos con probada actividad biológica.²⁶⁻²⁸

La reacción de cicloadición se llevó a cabo en una mezcla de *tert*-butanol/agua 1:1 y se probaron diferentes condiciones de temperatura. Cuando la reacción se realizó a temperatura ambiente, el compuesto **81** se obtuvo con bajos rendimientos (18 %), por lo que se probaron diferentes temperaturas, obteniéndose los mejores resultados a 45°C (42%). El producto así obtenido se purificó por cromatografía en columna de sílica gel para obtener el compuesto di-heterocíclico **81** (42 %) como una mezcla diastereomérica en una proporción 1:1, estimada por las áreas de los picos en los espectros de RMN-¹H.

El compuesto **81** fue caracterizado por sus espectros: protónico y carbono, y la asignación de las señales fue posible a partir de la realización de espectros bidimensionales COSY y HSQC.



Esquema 4.4 Reacciones para la obtención de di-heterociclos derivados de 1,2,4-triazol-3-tioles.

El di-heterociclo **81** se desprotegió utilizando el mismo procedimiento empleado anteriormente, pero en este caso fue necesario calentar a 40 °C durante 24 horas. El compuesto **82** puro se obtuvo con un rendimiento del 57 % luego de ser purificado por

cromatografía en columna de sílica gel, y fue caracterizado por sus espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C .

El espectro protónico del compuesto di-heterocíclico **81** (Figura 4.8) mostró las señales diagnósticas correspondientes a la formación del anillo isoxazolino junto con las señales aromáticas del anillo 3,4,5-trimetoxifenilo. La mayoría de las señales se encuentran duplicadas debido a la mezcla de dos diastereómeros. A continuación, se detallan las asignaciones y multiplicidades de los protones del anillo isoxazolino: H-5' como un multiplete a δ 4,90 ppm; dos señales a desplazamientos químicos de 3,39 ppm y 3,41 ppm para el hidrógeno H-4'b y otras dos señales a δ 3,15 ppm y 3,23 ppm para el H-4'a. La presencia del anillo trimetoxifenil se comprueba por la presencia de un singulete a desplazamientos químicos de 6,88 ppm correspondiente a los hidrógenos del anillo bencénico y los metoxilos a δ 3,85 y 3,86 (dos) ppm. Los hidrógenos H-1'a y H-1'b se observan como dos dobles dobletes a desplazamientos químicos de 3,56; 3,57 ppm y 3,91; 3,99 ppm.

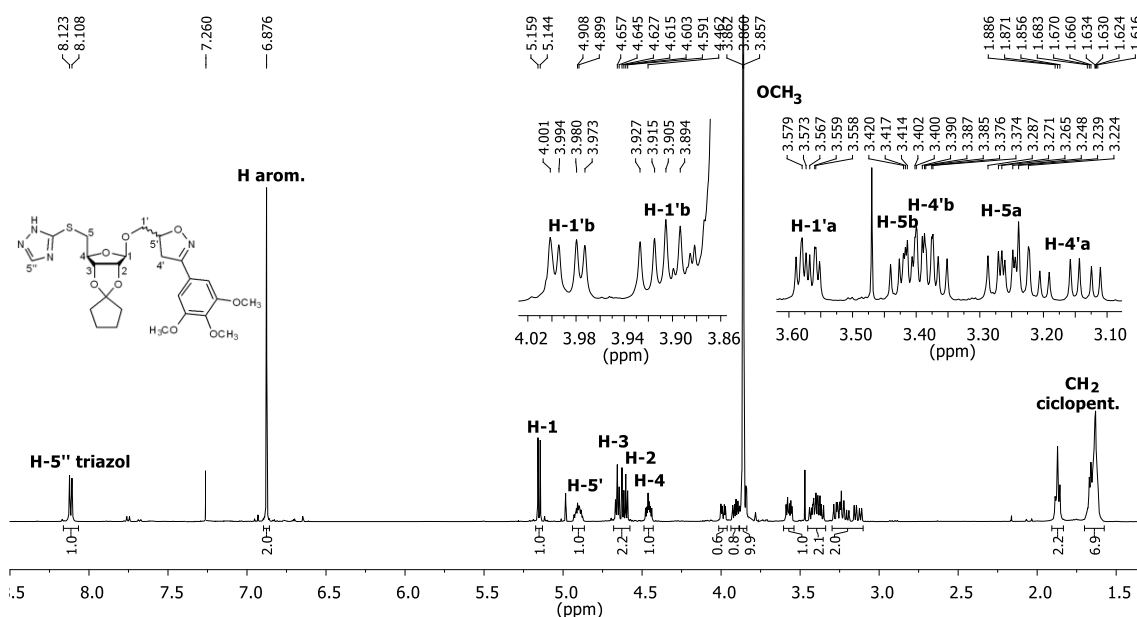


Figura 4.8 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **81**.

En el espectro de carbono del compuesto **81** (Figura 4.9) se muestran las señales diagnósticas que confirman la formación de anillo isoxazolino: los carbonos C-3' (δ 156,5; 156,6 ppm), C-4' (δ 37,1; 37,4 ppm) y C-5' (δ 79,4; 79,6 ppm), así como la incorporación del anillo aromático a desplazamientos químicos de 104,2; 124,7; 140,0 y 153,4 ppm y los metoxilos a δ 56,4 y 61,0 ppm.

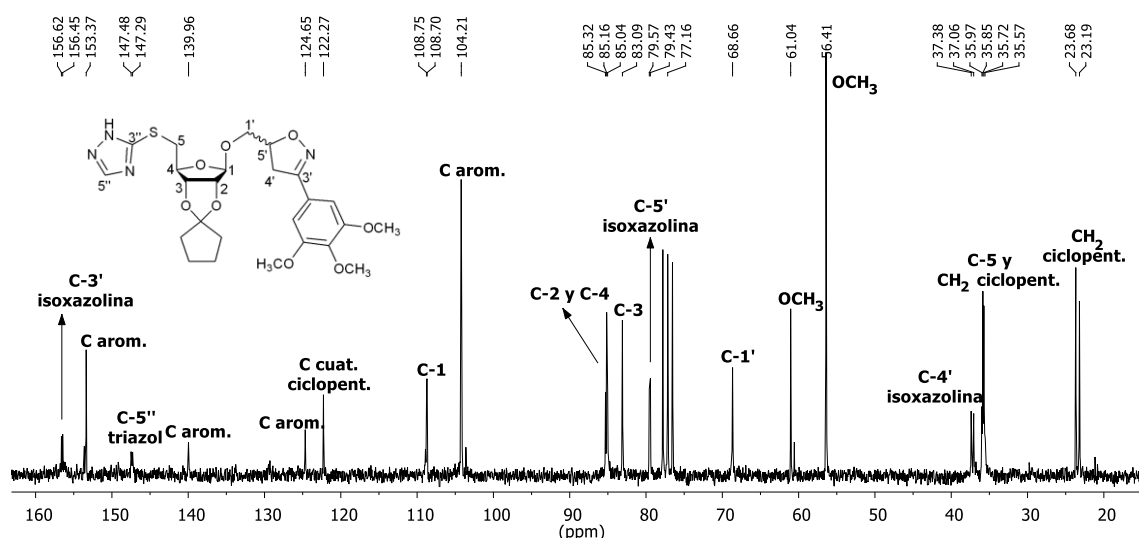


Figura 4.9 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto **81**.

Observando el espectro de RMN- ^1H del compuesto desprotegido **82** (Figura 4.10) pueden notarse la ausencia de los protones del grupo protector y los corrimientos de los H-2 (que sale junto al H-4 como un multiplete a δ 4,17-4,22 ppm) y H-3 a δ 3,98; 4,01 ppm (dos señales debido a la presencia de los dos diastereoisómeros). En la Figura 4.11 se muestra el espectro de carbono para el derivado **82**, donde se observa un corrimiento a desplazamientos químicos más bajos con respecto al compuesto **81** para los carbonos C-2 a δ 74,9; 75,0 ppm y C-3 a δ 76,3 ppm, y la ausencia de las señales del grupo ciclopentilidén.

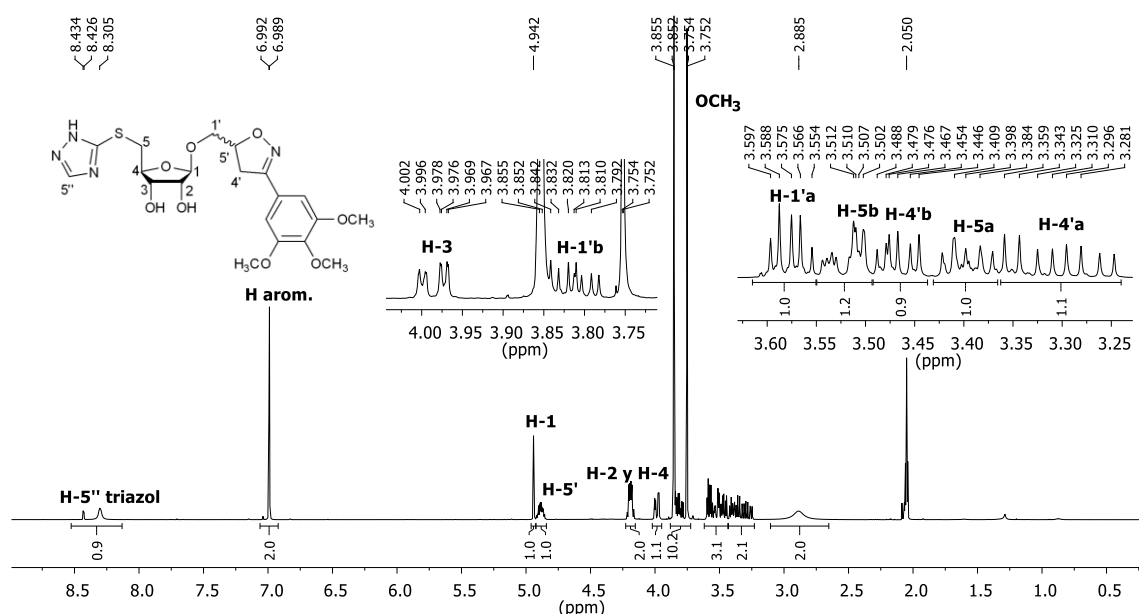


Figura 4.10 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) para el compuesto **82**.

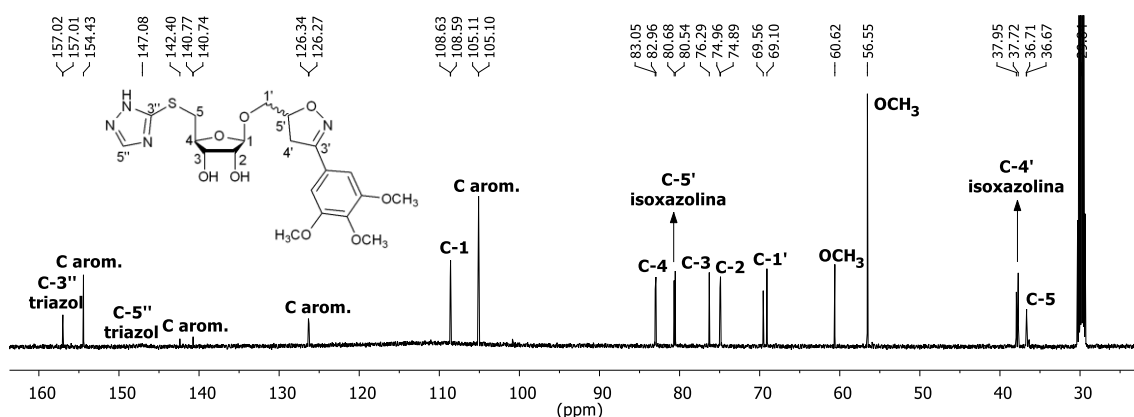
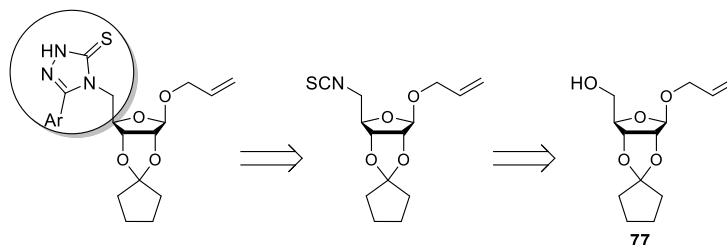


Figura 4.11 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, (CD₃)₂CO) para el compuesto **82**.

2.4. Síntesis de derivados mono-heterocíclicos β-D-ribofuranósidos conteniendo 5-(4-clorofenil)-1,2,4-triazol-3-tionas.

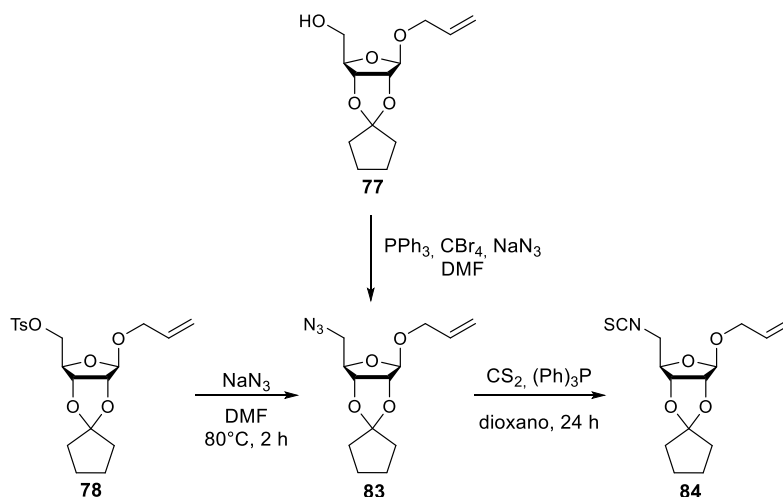
Con el objetivo de obtener derivados β-D-ribofuranósidos con anillos heterocíclicos de triazolil-tionas, fue necesario sintetizar un precursor apropiado para poder llevar a cabo la ciclación intramolecular en medio básico que genera los anillos de 1,2,4-triazolil-3-tionas (ver Capítulo 2). En la Figura 4.5 se muestra el camino retrosintético para la obtención de este tipo de heterociclos a partir del alil derivado **77**.



Esquema 4.5 Camino retrosintético para la obtención de derivados de β-D-ribofuranosa que contienen 1,2,4-triazolil-3-tionas.

El camino sintético propuesto para obtener el isotiocianato podría partir de **77** o **78**, vía la azida intermediaria (Esquema 4.6).

En una primera instancia, se propuso obtener el azido derivado **83** en un solo paso de reacción^{29,30} a partir del alil derivado **77**. Con este propósito, el compuesto **77** se hizo reaccionar con una mezcla de tetrabromuro de carbono (CBr₄), trifenilfosfina (PPh₃) y azida de sodio (NaN₃) en *N,N*-dimetilformamida anhidra. Se probaron diferentes temperaturas de reacción, obteniéndose los mejores resultados cuando se calentó a 100 °C durante cinco horas. Luego de la purificación por cromatografía en columna se obtuvo el azido derivado **83** con sólo un 10 % de rendimiento.



Esquema 4.6 Reacciones para la obtención del azido derivado (**83**) e isotiocianato derivado (**84**).

Para mejorar los rendimientos, la síntesis del azido derivado **83** se realizó por desplazamiento nucleofílico del derivado tosilado **78** con azida de sodio (Figura 4.6). En este caso, la reacción se llevó a cabo en *N,N*-dimetilformamida bajo atmósfera de argón a una temperatura de 80°C durante 3 horas. Luego de la purificación cromatográfica en sílica gel, se obtuvo el azido derivado **83** con un rendimiento del 74%.

Posteriormente, **83** se trató con disulfuro de carbono y trifenilfosfina, utilizando como solvente dioxano anhidro en atmósfera de argón. La reacción se realizó a temperatura ambiente, utilizando una relación azida:trifenilfosfina de 1:1,2 equivalentes, respectivamente y un exceso de disulfuro de carbono (10 equivalentes).³¹ El isotiocianato derivado **84** se obtuvo con un rendimiento del 79 %, luego de ser purificado por cromatografía en columna de sílica gel.

Tanto el azido derivado **83** como el isotiocianato **84** fueron caracterizados por espectroscopía de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C (Figuras 4.12 y 4.13). En la Figura 4.12 se muestran los espectros protónicos de los compuestos **83** y **84**. En ambos casos se consideraron como señales diagnósticas las correspondientes a los hidrógenos H-5a y H-5b de la D-ribosa que se encuentran unidos al carbono con el grupo azido o isotiocianato, respectivamente. Comparando ambos espectros se observan diferencias en el desplazamiento químico de los dobles dobletes correspondientes a dichos hidrógenos: δ 3,28 ppm (H-5a) y 3,47 ppm (H-5b) para el azido derivado **83**, y 3,55 ppm (H-5a) y

3,68 ppm (H-5b) para el isotiocianato derivado **84**. La asignación de los hidrógenos se realizó a partir del espectro bidimensional COSY.

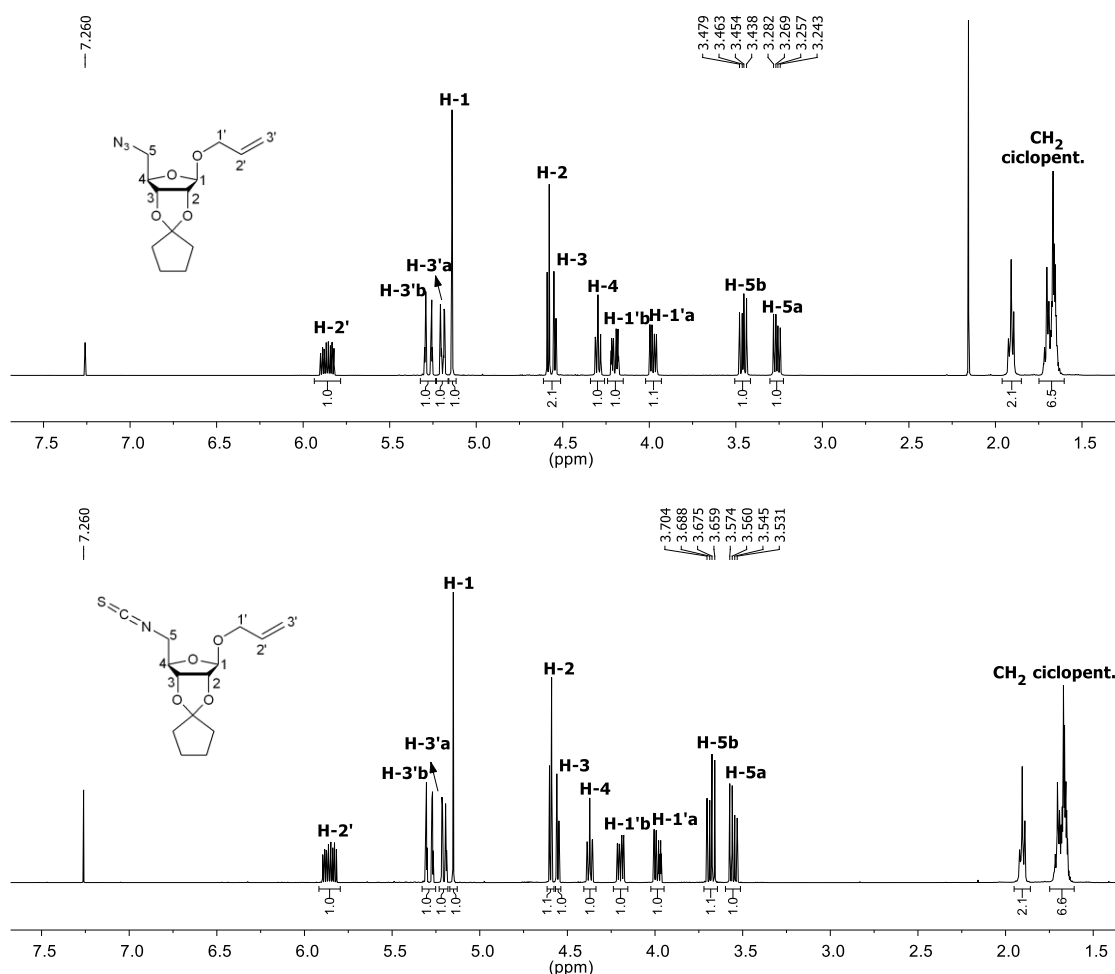
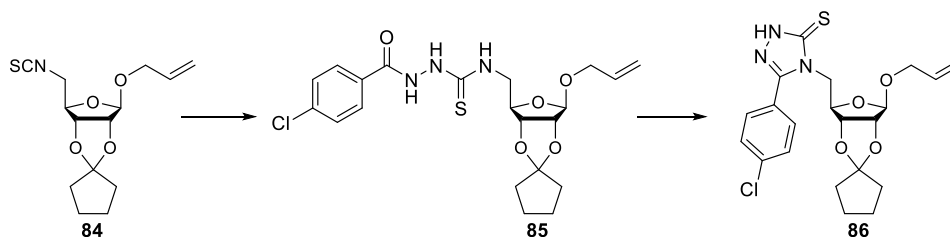


Figura 4.12 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para los compuestos **83** y **84**.

En el espectro de carbono de los compuestos **83** y **84** (Figura 4.13) se observaron los cambios producidos en los desplazamientos químicos de las señales correspondientes al carbono C-5 de la D-ribosa. La señal para el carbono C-5 en **83** se encuentra a δ 53,9 ppm mientras que en el compuesto **84** se desplaza a δ 48,1 ppm, valores que presentan corrimientos en comparación con el tosilo precursor **78** (δ_{C-5} 69,4 ppm). La asignación de las señales se realizó en base al espectro bidimensional HSQC.

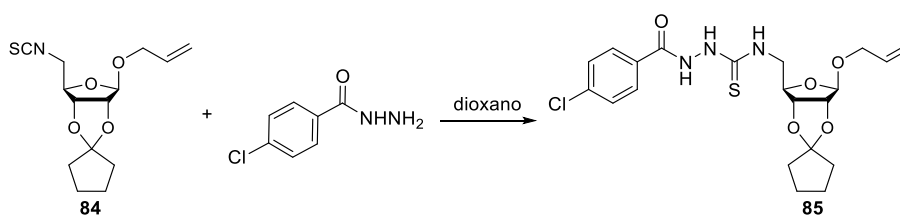
El carbono correspondiente al isotiocianato (N=C=S) no se observó en el espectro de RMN-¹³C y resultados similares fueron obtenidos anteriormente por Barradas *et. al.*³² La formación del grupo isotiocianato³³ en el compuesto **84** se comprobó a partir de la realización del espectro IR en donde se observaron las bandas $\nu_{N=C=S}$ a 2089 cm⁻¹ y 2207 cm⁻¹ correspondientes a dicho grupo (Figura 4.14).

A partir de **84** se puede obtener la triazolil tiona **86** por ciclación intermolecular de la tiosemicarbazida **85** (Esquema 4.7).



Esquema 4.7 Reacciones para la obtención de la triazoliltiona derivada (**86**).

Con este objetivo se condensó el isotiocianato **84** con 4-clorobenzilhidracida en dioxano anhidro y atmósfera de argón a reflujo durante 2 horas, utilizando una relación isotiocianato: hidracida de 1:1,1 equivalentes (Esquema 4.8). La tiosemicarbazida **85** fue purificada por cromatografía en columna y se obtuvo con un rendimiento cuantitativo. El derivado **85** fue caracterizado por espectroscopia de RMN-¹H y RMN-¹³C.



Esquema 4.8 Reacción para la obtención de la tiosemicarbazida derivada **85**.

Nuevamente en el espectro protónico del compuesto **85** (Figura 4.15) se consideraron diagnósticas las señales de los hidrógenos H-5a y H-5b de la β-D-ribosa observándose en este caso desplazamientos químicos a 3,63 ppm (señal ancha) y 4,11 ppm (doblete ancho), respectivamente. La presencia de las señales correspondientes a los dobletes del anillo aromático *p*-sustituido a desplazamientos químicos de 7,45 ppm y 7,82 ppm con una constante de acoplamiento de 8,6 Hz muestra la incorporación del anillo aromático mientras que la presencia de singuletes anchos correspondientes a los hidrógenos unidos a los nitrógenos de la tiosemicarbazida a δ 7,59; 8,73 y 9,10 ppm confirma la formación de **85** (valores a δ entre 7,98–11,93 ppm).³⁴ Las asignaciones de las señales en el espectro se realizaron a partir del espectro COSY.

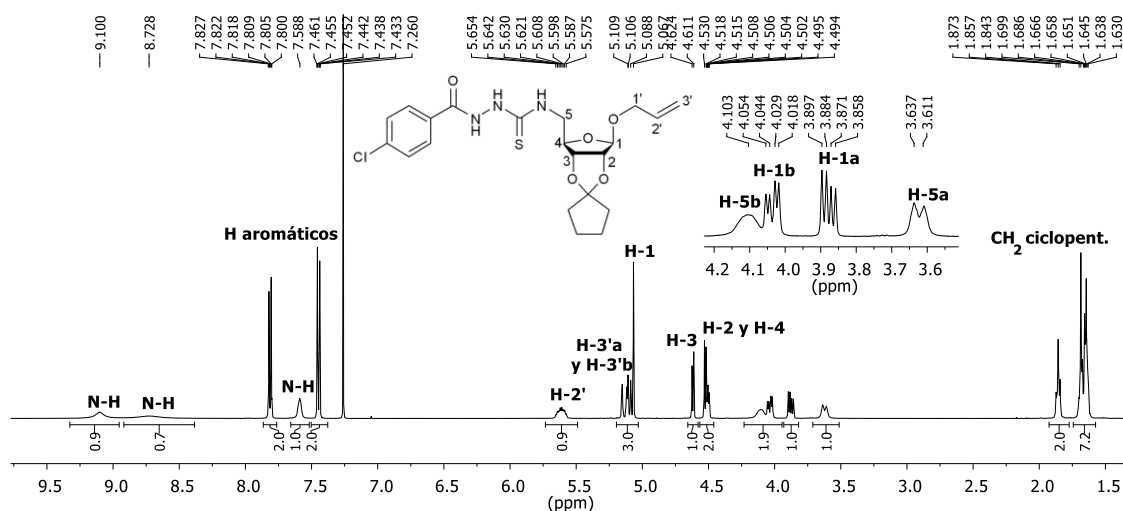


Figura 4.15 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **85**.

En el espectro de carbono del compuesto **85** (Figura 4.16) se observan las señales diagnósticas del grupo tiosemicarbazida a δ 166,2 ppm y a δ 182,6 ppm que se asignaron al carbono carbonílico y al carbono tiocarbonílico respectivamente. También se encuentran presentes las señales que corresponden al anillo aromático *p*-sustituido a δ 129,0; 129,3; 129,4 y 139,1 ppm. En este caso la señal del carbono C-5 de la D-ribosa se desplaza a δ 47,7 ppm. La asignación de los carbonos se realizó en base al espectro HSQC.

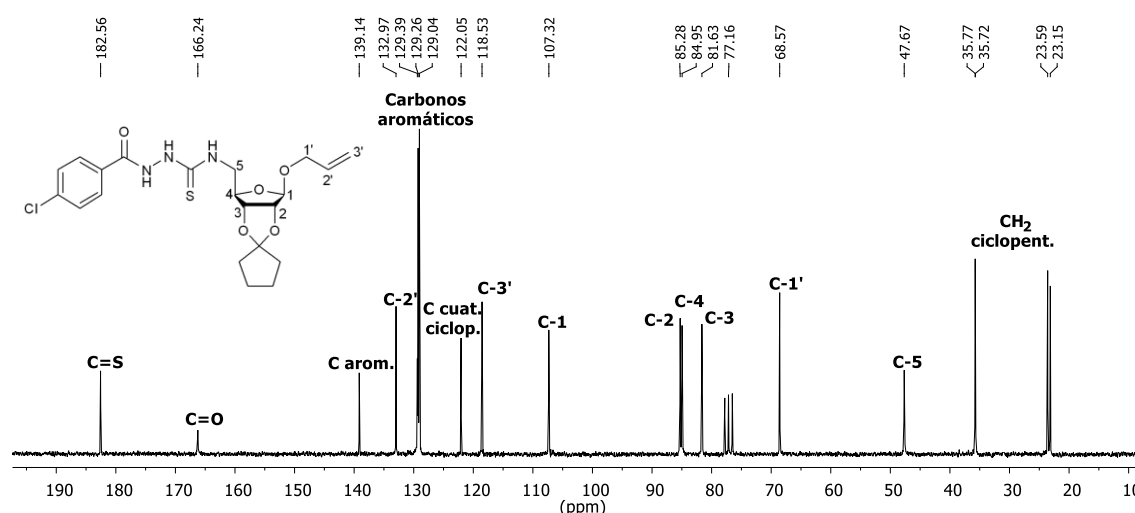
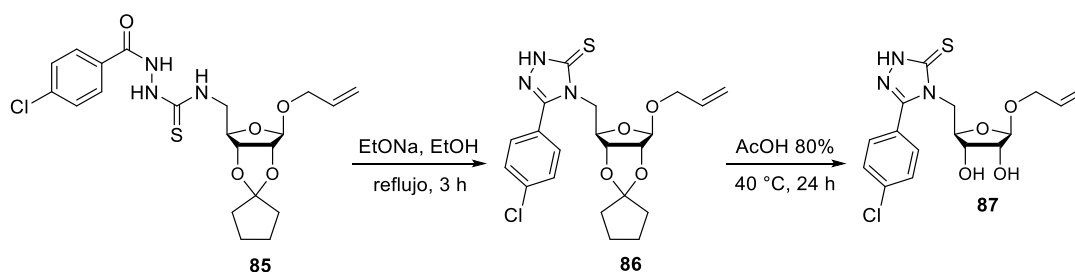


Figura 4.16 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto **85**.

Finalmente, para lograr la ciclación intramolecular de la tiosemicarbazida **85** (Esquema 4.9) se probaron varias condiciones de reacción: a) tratamiento térmico a reflujo de *N,N*-dimetilformamida en un medio básico de carbonato de potasio anhidro

(con una relación entre la tiosemicarbacida y el carbonato de potasio de 1:2), en este caso no se observó ningún cambio en la reacción, que se siguió por CCD; b) calentamiento a reflujo en presencia de una solución de NaOH 2N³⁵, observándose en este caso la formación de varios productos de degradación por CCD; c) tratamiento con etóxido de sodio en etanol y calentamiento a reflujo durante 24 horas³⁶, en este caso se observó la formación de un producto mayoritario por CCD. Dicho producto, luego de neutralizar con ácido clorhídrico 1N se purificó por cromatografía en columna de sílica gel, obteniéndose la 5-(4-clorofenil)-1,2,4-triazol-3-tiona derivada **86** con un rendimiento del 81%. Por último, se desprotegió el compuesto **86** por el procedimiento ya descrito obteniéndose el derivado desprotegido **87** con un 62 % de rendimiento. Ambos compuestos **86** y **87** fueron caracterizados por espectroscopía de RMN-¹H y RMN-¹³C.



Esquema 4.9 Reacciones para la obtención de las 1,2,4-triazolil-3-tiona **86** y **87**.

En el espectro protónico del compuesto **86** que se muestra en la Figura 4.17, las señales diagnósticas que confirman la formación del producto corresponden a los hidrógenos H-5a y H-5b del residuo glicosídico a desplazamientos químicos de 4,05 ppm y 4,68 ppm, respectivamente. Éstas señales presentan un corrimiento respecto de su precursor **85** (δ_{H-5a} 3,63 ppm y δ_{H-5b} 4,11 ppm) debido a la formación del anillo heterocíclico. Además, se encuentra presente una única señal correspondiente al hidrógeno unido al nitrógeno en el anillo triazólico a desplazamientos químicos de 12,3 ppm. La asignación de las señales se realizó a partir del espectro bidimensional COSY.

En el espectro de carbono del derivado **86** (Figura 4.18) pudieron asignarse los carbonos del heterociclo a desplazamientos químicos de 151,0 ppm para el tiocarbonilo y 168,5 ppm para el C=N. La señal del carbono C-5 de la β -D-ribofuranosa se desplaza a δ 46,9 ppm. La asignación de las señales fue posible en base a la realización del espectro HSQC.

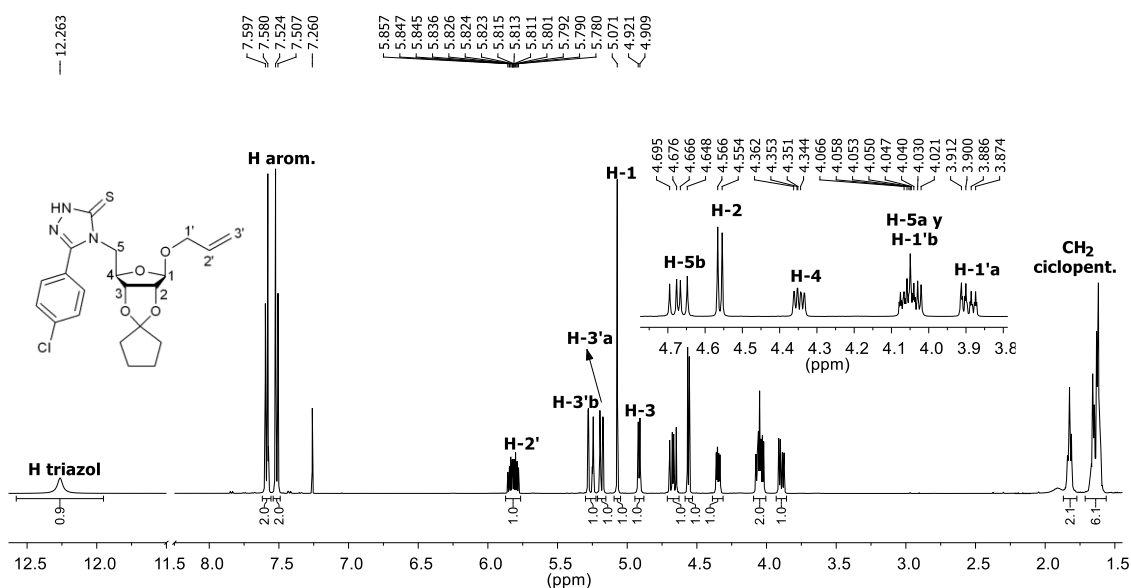


Figura 4.17 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para el compuesto **86**.

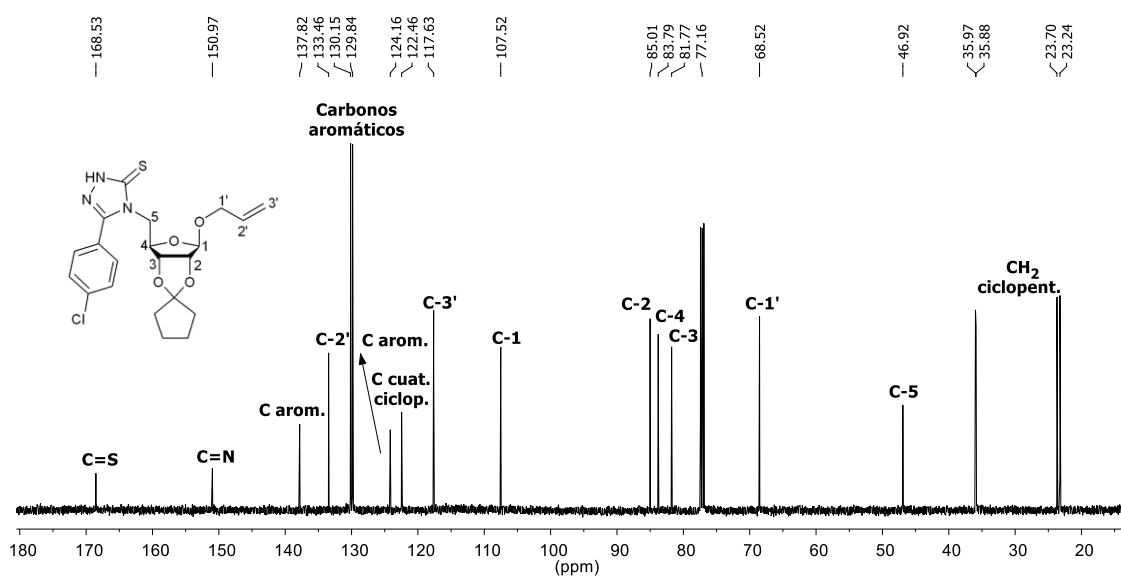


Figura 4.18 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para el compuesto **86**.

El análisis de los espectros tanto protónico como carbono del mono-heterociclo desprotegido **87** es similar al de sus análogos libres **80** y **82**. En el espectro de RMN-¹H, las señales del H-2 e H-3 se desplazan a δ 3,81 y 4,07 ppm respectivamente y se observa la ausencia del grupo protector (Figura 4.19). En el espectro de carbono (Figura 4.20) las señales correspondientes a los carbonos C-2 y C-3 presentan corrimientos a δ 74,2 ppm y 76,0 ppm, respectivamente, respecto de su precursor **86**.

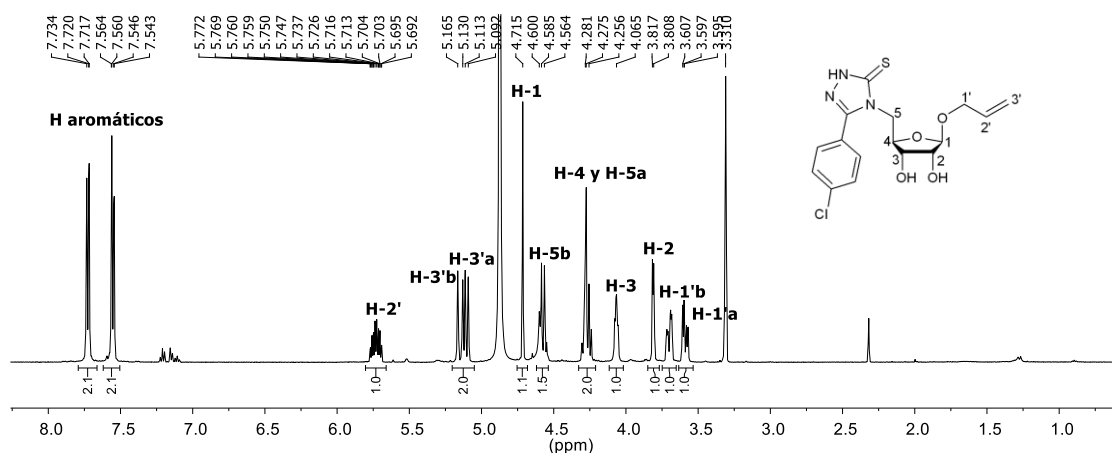


Figura 4.19 Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CD₃OD) para el compuesto **87**.

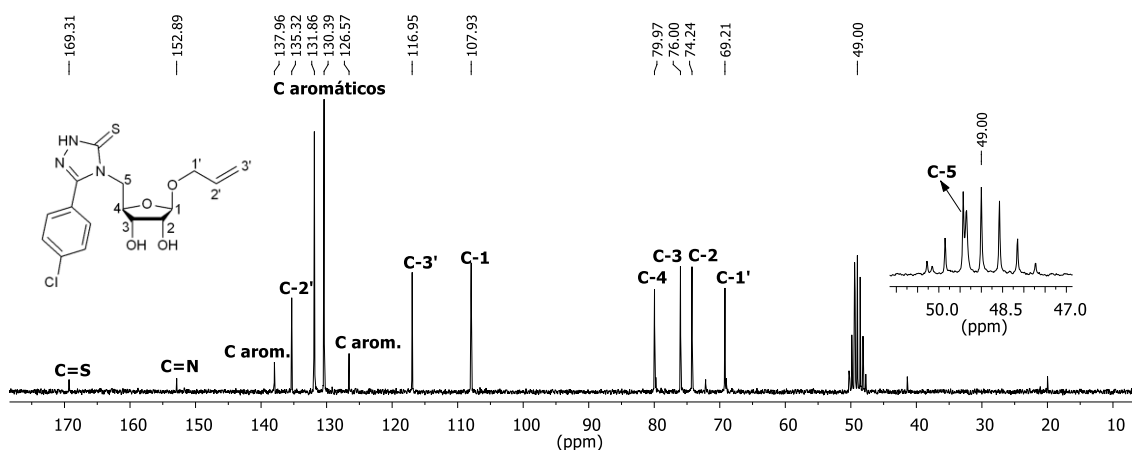


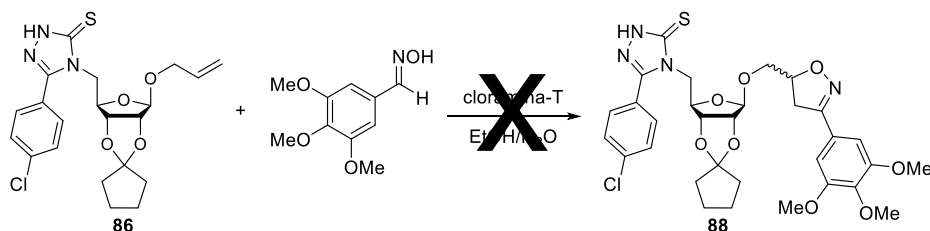
Figura 4.20 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CD₃OD) para el compuesto **87**.

2.5. Síntesis de derivados di-heterocíclicos β-D-ribofuranósidos conteniendo isoxazolinas y 5-(4-clorofenil)-1,2,4-triazol-3- tionas.

Con el objetivo de obtener una estructura di-heterocíclica a partir de la 5-(4-clorofenil)-1,2,4-triazol-3- tiona derivada **86**, se utilizó el procedimiento descrito anteriormente para el compuesto **79** (Sección 2.3). El compuesto **86** se trató con el N-óxido generado a partir de 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima y cloramina-T para obtener el derivado di-heterocíclico **88**. Desafortunadamente, en este caso la reacción produjo diferentes sub-productos y el compuesto esperado no pudo ser aislado del crudo de reacción (Esquema 4.10).

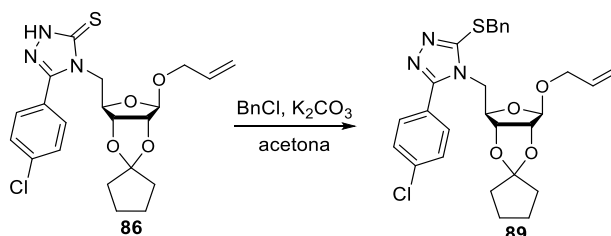
Para comprobar si la presencia del heterociclo en posición 5 afectaba la reacción de cicloadición 1,3-dipolar, se disolvió la triazolil-3- tiona **86** y cloramina-T en una mezcla de etanol/agua 1:1 y se calentó a 45 °C durante 1 h. Se observó que se generaban varias

manchas por CCD, comprobando así la degradación del sustrato con el reactivo. Este resultado nos llevó a comprobar si lo mismo ocurría cuando el derivado monoheterocíclico **79** se calentaba en presencia de cloramina-T. En este caso se observó también degradación de **79** aunque en menor proporción. Esto explicaba los bajos rendimientos obtenidos en la síntesis de **81**.



Esquema 4.10 Reacción propuesta para la obtención de derivados di-heterocíclicos de 1,2,4-triazolil-3-tionas.

Para evitar este problema, inicialmente se decidió proteger el grupo tiocarbonilo del derivado **86** con un grupo bencilo, antes de realizar la reacción de cicloadición 1,3-dipolar (Esquema 4.11). El compuesto **86** se trató con cloruro de bencilo y carbonato de potasio anhidro en acetona³⁷ para obtener el derivado tiobencilico **89** con un rendimiento del 94 %. El derivado **89** fue purificado por cromatografía en columna de sílica gel y se caracterizó a partir de sus espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C.



Esquema 4.11 Protección del grupo tiocarbonilo para la obtención del derivado **89**.

En el espectro protónico del compuesto **89** de la Figura 4.21, se observaron las señales aromáticas a δ entre 7,21-7,25 ppm que integran para cinco hidrógenos y dos dobletes a desplazamientos químicos de 4,37 ppm y 4,40 ppm con constante de acoplamiento de 12,8 Hz, correspondientes al metileno bencilico, que comprueban la protección del grupo tiocarbonilo. Tampoco se observó el hidrógeno unido a un nitrógeno del anillo triazólico, y las señales correspondientes a los hidrógenos H-5a y H-5b del residuo glicosídico se desplazaron a δ 3,74 ppm y 3,92 ppm, respectivamente ($\delta_{\text{H-5a}}$ 4,05 ppm y $\delta_{\text{H-5b}}$ 4,68 ppm en el precursor **86**). La asignación de los hidrógenos se realizó a partir del espectro COSY.

En el espectro de RMN- ^{13}C (Figura 4.22) se observan dos señales correspondientes a los carbonos unidos a nitrógeno del anillo triazólico a δ 151,3 ppm y 154,6 ppm, que comprueba el cambio producido en el heterociclo. La aparición de una señal a desplazamientos químicos de 39,0 ppm (que comprueba la unión del mismo a un átomo de azufre) se asignó al metileno del grupo tiobencílico. Adicionalmente aumentó la cantidad de señales en la zona aromática a δ entre 125,7-136,8 ppm. Se asignaron las señales fehacientemente mediante la realización del espectro bidimensional HSQC.

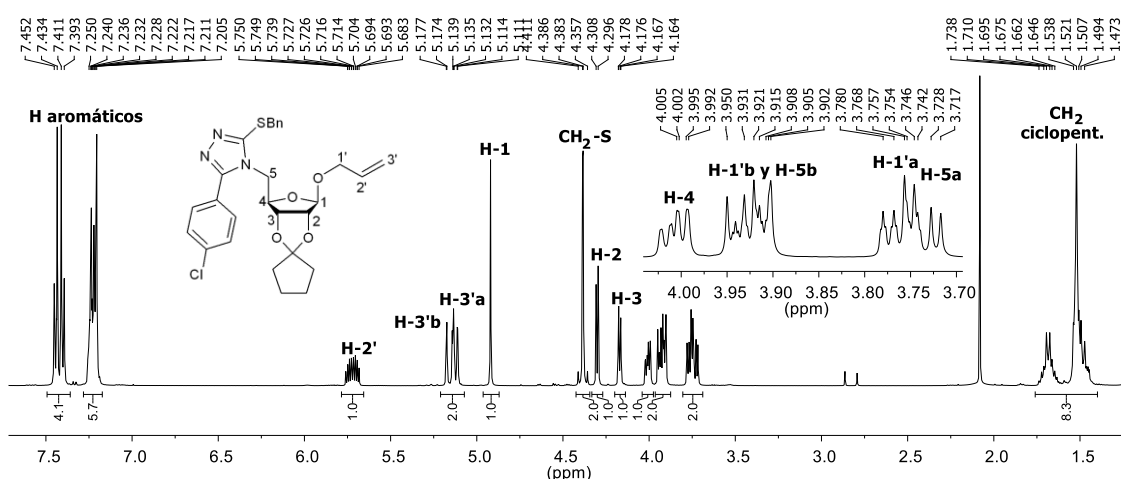


Figura 4.21 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **89**.

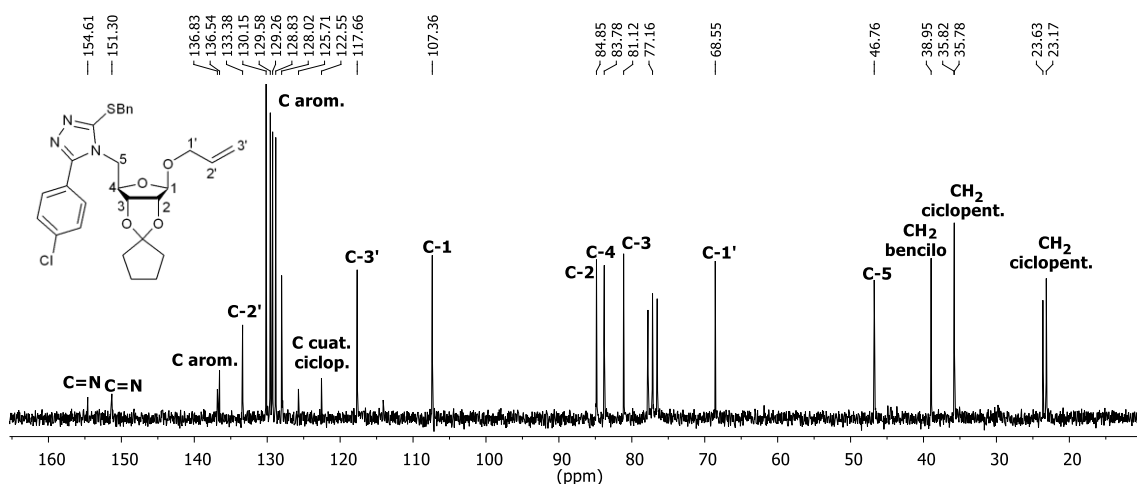
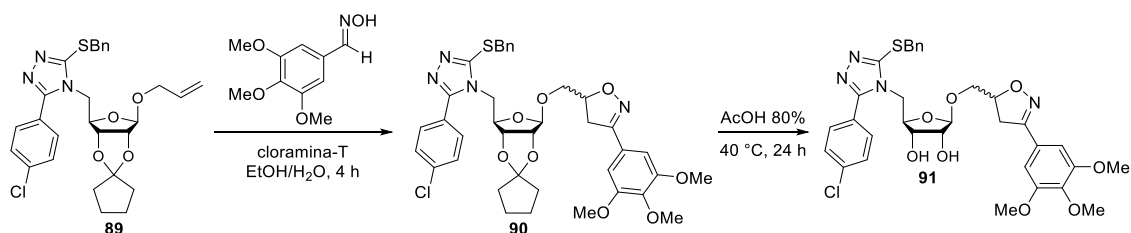


Figura 4.22 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto **89**.

A partir de **89** se realizó la cicloadición 1,3-dipolar utilizando el *N*-óxido de la 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima como dipolo, tal como se describió anteriormente en este Capítulo (Esquema 4.12). El compuesto di-heterocíclico **90** fue obtenido satisfactoriamente con un rendimiento del 78 %, luego de ser purificado por

cromatografía en columna de sílica gel. La proporción de cada uno de los diastereómeros fue calculada a partir de las integraciones en el espectro de RMN-¹H obteniéndose en una relación 1:1. A partir del di-heterociclo **90** fue posible desproteger las posiciones dos y tres del residuo glicosídico con ácido acético al 80 % en agua, obteniéndose el compuesto di-heterocíclico libre **91** con un rendimiento del 59 %. Los compuestos **90** y **91** fueron caracterizados espectroscópicamente mediante sus espectros de protónico y de carbono.



Esquema 4.12 Reacciones para la obtención de derivados di-heterocíclicos de 1,2,4-triazolil-3-iona.

En el espectro protónico del di-heterociclo **90** (Figura 4.23) se observan las señales correspondientes a los hidrógenos del anillo isoxazolinico: H-5' como un multiplete a δ 4,72 ppm; dos dobles dobles a δ 3,25 ppm y 3,32 ppm para el H-4'b y otros dos dobles dobles a δ 2,95 ppm y 3,17 ppm para el hidrógeno H-4'a. Las señales aromáticas a desplazamientos químicos de 6,82 y 6,85 ppm y los metoxilos a δ 3,81; 3,82 y 3,83 ppm que comprueban la incorporación del anillo 3,4,5-trimetoxibenceno. En el residuo de D-ribosa, son diagnósticas las señales de los hidrógenos H-1'a δ 3,39 ppm y 3,42 ppm; y H-1'b como un doble doblete a δ 3,61 ppm y como un multiplete a δ entre 3,85-3,88 ppm.

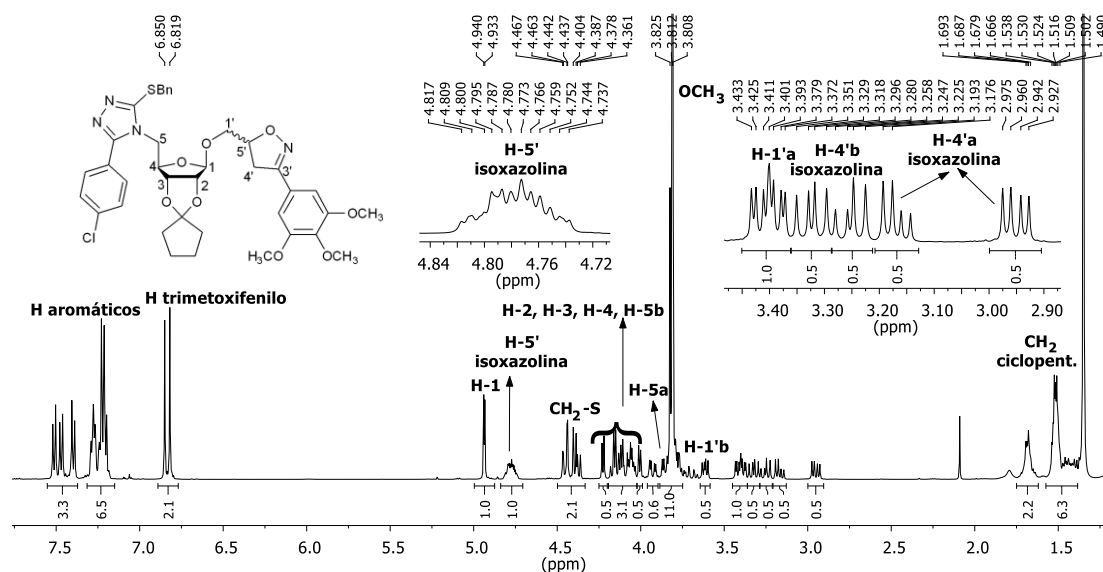


Figura 4.23 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para el compuesto **90**.

En el espectro de carbono del compuesto **90** (Figura 4.24) se muestran las señales diagnósticas del anillo isoxazolinico: los carbonos C-3' (δ 156,1; 156,4 ppm), C-4' (δ 36,3; 37,4 ppm) y C-5' (δ 79,4; 79,6 ppm); y los metoxilos a δ 56,4; 56,5 y 61,1 ppm (dos).

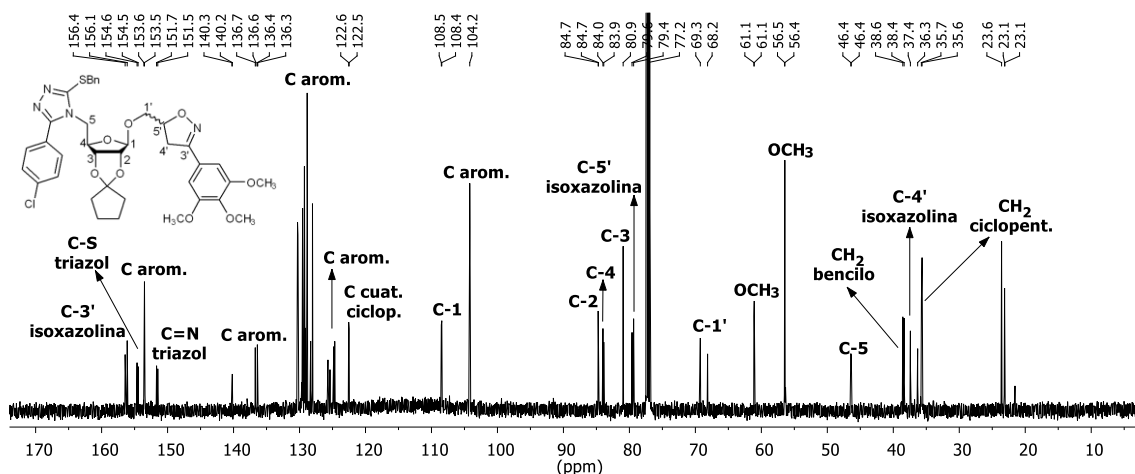


Figura 4.24 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para el compuesto **90**.

Por último, en el espectro protónico del di-heterociclo libre **91** (Figura 4.25) se observó el corrimiento de las señales diagnósticas de los H-2 (que sale junto al H-4 como un multiplete a δ 3,96-4,00 ppm) e H-3 a δ 3,78; 3,83 ppm. En el espectro de carbono (Figura 4.26) los carbonos C-2 y C-3 presentaron desplazamientos químicos a 73,6 ppm y 75,4 ppm, respectivamente (presentando corrimientos a campos más altos que su precursor protegido **90**).

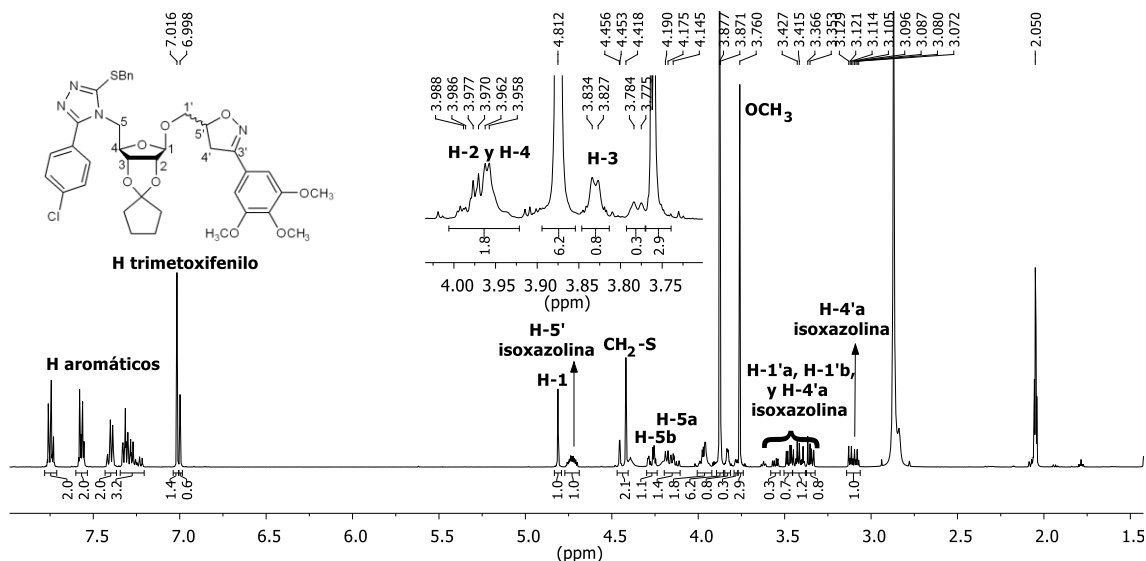


Figura 4.25 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO) para el compuesto **91**.

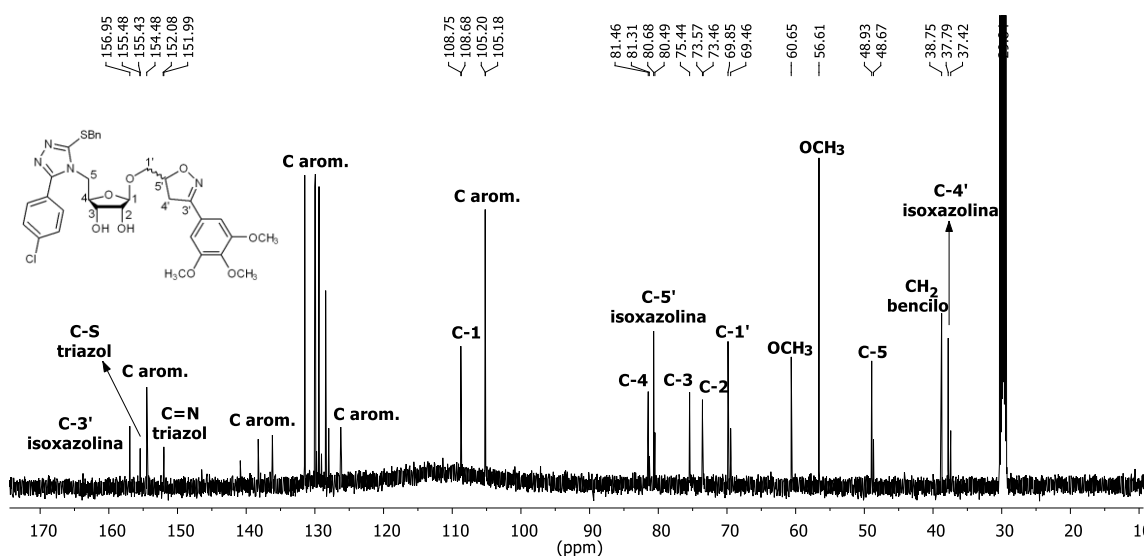


Figura 4.26 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) para el compuesto **91**.

3. Estudios de actividad antiproliferativa.

Los compuestos sintetizados fueron sometidos a ensayos de actividad antiproliferativa sobre la línea celular BW 5147 de linfoma T. Estos estudios estuvieron a cargo de la Dra. Claudia Anesini y se realizaron en el Instituto de Química y Metabolismo del Fármaco de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires.

Se analizó la acción antiproliferativa de los compuestos **79-82**, **86**, **87**, **89-91** sobre dicha línea celular. Dado que el objetivo de este trabajo era realizar un screening antitumoral preliminar, las isoxazolininas se probaron como mezclas epiméricas.

La bioactividad de los compuestos analizados sobre la línea celular BW 5147 se resume en la Tabla 4.2, así como también sus parámetros lipofílicos. Los valores de ClogP se calcularon utilizando ChemBio3D Ultra 11,0 y los datos de logP fueron medidos experimentalmente tal como se describe en el Capítulo 8 de Técnicas Experimentales.

		Concentración (µg/mL)				logP	ClogP
Compuesto		1	10	50	100		
79	%	-7 ± 0,8	-9 ± 1	-29 ± 2*	-43 ± 4**	1,95	0,78
	c	2,9	29,5	147,5	295,0		
80	%	-2,4 ± 0,2	-3 ± 0,2	-14 ± 1**	-38 ± 3**	-2,45	-0,95
	c	3,7	36,6	183,2	366,3		
81	%	-5 ± 0,5	-21 ± 2	-24 ± 1*	-45 ± 4**	0,90	1,60
	c	1,8	18,2	91,2	182,1		
82	%	93 ± 5**	51 ± 3**	43 ± 4*	29 ± 2	-0,52	-0,13
	c	2,1	20,7	103,7	207,0		
86	%	49 ± 4*	44 ± 4*	70 ± 5**	123 ± 10**	1,91	1,80
	c	2,2	22,2	111,2	222,2		
87	%	-1,5 ± 0,1	6 ± 0,5	4,4 ± 0,3	2 ± 0,2	0,18	-0,25
	c	2,6	26,1	130,4	260,8		
89	%	37 ± 3*	0	-13 ± 1	n/d	1,63	5,13
	c	1,85	18,5	92,7	184,8		
90	%	215 ± 2**	60 ± 6*	-18 ± 1,9	-45 ± 4**	1,97	5,96
	c	1,3	13,4	66,8	134,0		
91	%	143 ± 15**	210 ± 20**	-52 ± 2,6**	-67 ± 4,5**	1,17	3,91
	c	1,5	14,6	73,3	146,0		

Tabla 4.2 Efecto de los diferentes compuestos sobre la proliferación de la línea celular de linfoma.

Los resultados se expresaron como porcentaje de proliferación celular respecto del basal (%). Las concentraciones se expresaron en µM (c). * p<0,05 y ** p<0,01 diferencias significativas respecto del basal de acuerdo a test de ANOVA + Test de Dunnett's. n/d: no determinado.

A partir de los datos obtenidos en la Tabla 4.2, se pueden inferir algunas observaciones en cuanto a la estructura de los compuestos y las diferencias en la actividad antiproliferativa sobre la línea celular testada. Se puede observar que:

- Los compuestos que presentan un anillo 1,2,4-triazólico unido por azufre al carbono cinco del β-D-ribofuranosido **79**, **80** y **81** mostraron actividades inhibitorias en el intervalo de concentraciones medidas.
- El di-heterociclo libre **82** mostró un incremento en la proliferación celular, que disminuyó a mayores concentraciones. Este efecto estimulante podría estar relacionado a un incremento en la polaridad (logP: -0,52) con respecto al análogo protegido **81** (logP: 0,90) o a un cambio conformacional del carbohidrato.

- El compuesto libre que tiene un anillo de 1,2,4-triazolil-3-tiona **87** no mostró diferencias significativas respecto al basal en todas las concentraciones.
- Los compuestos que presentan un anillo 5-(4-clorofenil)-3-tiobencil-1,2,4-triazólico **89-91** (mono- y di-heterocíclicos) ejercieron un comportamiento bifásico, estimulando la proliferación celular a bajas concentraciones e inhibiéndola a concentraciones más altas. Este comportamiento podría interpretarse como una evidencia de la existencia de diferentes sitios de unión moduladores a fármacos.
- Es importante destacar que el compuesto mono-heterocíclico con un anillo de 1,2,4-triazolil-3-tiona **86** aumentó la proliferación celular (estimulación) a medida que aumentaba la concentración. Este compuesto tuvo un comportamiento completamente diferente a su derivado protegido **89**, probablemente debido a la protección del grupo tiol que inhibe el equilibrio tautomérico entre el tiol y la tiona.

Con respecto a estas observaciones, se puede resumir que los compuestos tanto mono- como di-heterocíclicos que presentan un anillo 1,2,4-triazólico unido al carbono cinco del residuo glicosídico (compuestos **79** y **81**) mostraron una actividad moderada contra la línea celular de linfoma ensayada. El patrón inhibitorio fue similar entre ellos y no se observó actividad de estimulación (Figura 4.27). La acción inhibitoria puede atribuirse mayoritariamente al anillo 1,2,4-triazólico unido a través de azufre al carbono cinco de la D-ribosa.

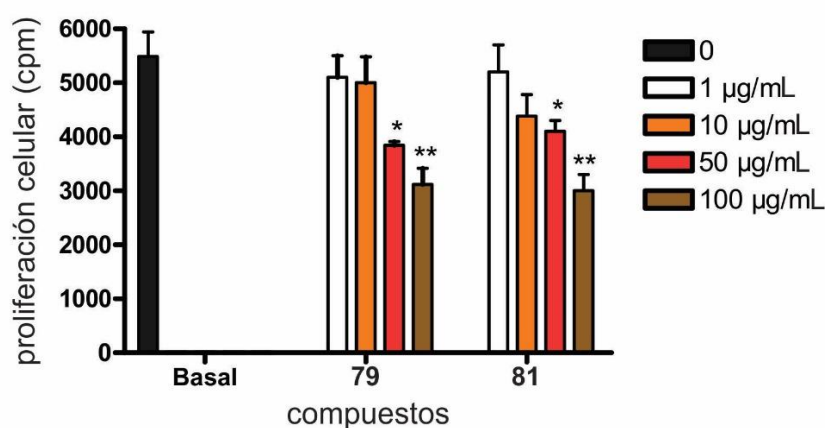


Figura 4.27 Efecto de los diferentes compuestos en la proliferación de la línea celular de linfoma. Los resultados se expresaron como proliferación celular (cpm).

Columna negra: basal; columna blanca: 1 µg/mL, columna naranja: 10 µg/mL; columna roja: 50 µg/mL y columna marrón: 100 µg/mL. * $p < 0,05$ y ** $p < 0,01$ diferencias significativas respecto al basal de acuerdo con ANOVA + Test de Dunnett's.

La desprotección de **79** (logP 1,95) redujo su actividad antiproliferativa (Tabla 3.3, compuesto **80**), la cual puede deberse al incremento de la hidrofiliidad (logP -2,45).

Los cambios en la hidrofiliidad también podrían justificar las diferencias en el comportamiento observado para los análogos desprotegidos **80** y **82**, así como también para los derivados que presentan un anillo de 1,2,4-triazolil-3-ona **86** y **87**.

4. Conclusiones.

En este primer Capítulo experimental de la Tesis se diseñó una ruta sintética para la obtención de novedosos derivados triazólicos, alguno de los cuales contenían en su estructura un anillo isoxazolinico unido a la D-ribosa. Se sintetizaron **13** nuevos compuestos entre productos finales y precursores. Los derivados **79**, **81**, **89**, **90** y **91** presentaron actividad inhibitoria moderada contra la línea celular de linfoma BW 5147 a altas concentraciones, pero sólo los compuestos **79** y **81** tuvieron un comportamiento inhibitorio en el rango de concentraciones medidas. Estos resultados sugirieron que este tipo de compuestos pueden ser considerados como moléculas líderes para continuar con el estudio sintético y biológico.

Referencias

- ¹ D. Kumar, M. Kumar Narayanam, K.-H. Chang, K. Shah, *Chem. Biol. Drug Des.* **2011**, *77*, 182–188.
- ² B.S. Holla, B. Veerendra, M.K. Shivananda, B. Poojary, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *38*, 759–767.
- ³ O. Bekircan, H. Bektas, *Molecules* **2006**, *11*, 469–477.
- ⁴ J. Wan, Y. Xia, Y. Liu, M. Wang, P. Rocchi, J. Yao, F. Qu, J. Neyts, J. L. Iovanna, L. Peng, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 1144–1155.
- ⁵ M. Whiting, J. Muldoon, Y.C. Lin, S.M. Silverman, W. Lindstrom, A.J. Olson, H.C. Kolb, M.G. Finn, K.B. Sharpless, J.H. Elder, V.V. Fokin, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 1435–1439.
- ⁶ M. Soral, I. Bouillon, V. Krchňák, *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 923–933.
- ⁷ Z. Liu, G. Yang, X. Qin, *J. Chem. Technol. Biot.* **2001**, *76*, 1154–1158.
- ⁸ P.J. Edwards, *Drug Discov. Today* **2011**, *16*, 278–279.
- ⁹ H. Verschuere, I. Van der Taelen, J. Dewit, J. De Braekeleer, P. De Baetselier, *J. Leukocyte Biol.* **1994**, *55*, 552–556.
- ¹⁰ G.F. Busscher, S.A.M.W. van den Broek, F.P.J.T. Rutjes, F.L. van Delft, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 3183–3188.
- ¹¹ O.V. Shitikova, N.A. Ivanova, Z.R. Valiullina, M.S. Miftakhov, L.V. Spirikhin, *Russian J. Org. Chem.* **2007**, *43*, 812–816.
- ¹² Y.H. Jin, C.K. Chu, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4141–4143.
- ¹³ A.K. Ghosh, W. Lui, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6175–6182.
- ¹⁴ L.A. Paquette, S. Bailey, *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 7849–7856.
- ¹⁵ P. Sairam, R. Puranic, B.S. Rao, P.V. Swamy, S. Chandra, *Carbohydr. Res.* **2003**, *338*, 303–306.
- ¹⁶ R.F. Butterworth, S. Hanessian, *Can. J. Chem.* **1971**, *49*, 2755–2759.
- ¹⁷ M.A. Martins Alho, N.B. D'Accorso, I.M.E. Thiel, *J. Heterocyclic Chem.* **1996**, *33*, 1339–1343.
- ¹⁸ T.W. Greene, P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, Wiley, 1999, 211–215.
- ¹⁹ K.S. Kim, Y.H. Song, B.H. Lee, C.S. Hahn, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 404–407.
- ²⁰ D. Phillips, A.R. Chamberlin, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3194–3204.
- ²¹ W.A.R. van Heeswijk, J.B. Goedhart, J.F.G. Vliegthart, *Carbohydr. Res.* **1977**, *58*, 337–344.
- ²² A.K. Ghosh, W. Liu, *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6175–6182.
- ²³ S. Kubota, M. Uda, *Chem. Pharm. Bull.* **1975**, *23*, 955–966.
- ²⁴ R.M. Balabin, *J. Chem. Phys.* **2009**, *131*, 154307.
- ²⁵ M.L. Fascio, V.J. Montesano, N.B. D'Accorso, *J. Heterocyclic Chem.* **1998**, *35*, 103–107.
- ²⁶ M. Zhang, Y.-R. Liang, H. Li, M.-M. Liu, Y. Wang, *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 6623–6634.
- ²⁷ R. Romagnoli, M. Kimatrai Salvador, S. Schiaffino Ortega, P.G. Baraldi, P. Oliva, S. Baraldi, L.C. Lopez-Cara, A. Brancale, S. Ferla, E. Hamel, J. Balzarini, S. Liekens, E. Mattiuzzo, G. Basso, G. Viola, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *143*, 683–698.
- ²⁸ Q. Li, P. Zou, J. Sun, L. Chen, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *143*, 732–744.
- ²⁹ I.Y.a.M.S. Tsujiaki Hata, *Chemistry Letters* **1975**, *4*, 977–980.
- ³⁰ J. Jiménez Blanco, J. García Fernández, A. Gadelle, J. Defaye, *Carbohydr. Res.* **1997**, *303*, 367–372.
- ³¹ M.I. García-Moreno, P. Díaz-Perez, J.M. Benito, C. Ortiz Mellet, J. Defaye, J.M. García Fernández, *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 2329–2334.
- ³² J.S. Barradas, M.I. Errea, N.B. D'Accorso, C.S. Sepúlveda, L.B. Talarico, E.B. Damonte, *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 2468–2474.
- ³³ E. Lieber, C.N.R. Rao, J. Ramachandran, *Spectrochimica Acta* **1959**, *13*, 296–299.
- ³⁴ M. Wos, M. Miazga-Karska, A.A. Kaczor, K. Klimek, Z. Karczmarzyk, D. Kowalczyk, W. Wysocki, G. Ginalska, Z. Urbanczyk-Lipkowska, M. Morawiak, M. Pitucha, *Biomed. Pharmacother.* **2017**, *93*, 1269–1276.
- ³⁵ A. Duran, H.N. Dogan, S. Rollas, *Il Farmaco* **2002**, *57*, 559–564.
- ³⁶ F.H. Havaladar, A.R. Patil, *E.-J. Chem.* **2008**, *5*, 347–354.
- ³⁷ G. Turan-Zitouni, Z.A. Kaplancikli, M.T. Yildiz, P. Chevallet, D. Kaya, *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*, 607–613.

Capítulo 5

Síntesis de derivados di-heterocíclicos de D-ribofuranosa conteniendo isoxazoles y 1,2,3-triazoles

1. Introducción.

En el Capítulo anterior se discutió la síntesis de 1,2,4-triazoles a partir del derivado alil D-ribofuranósido (**77**) que contenían en algunos casos un anillo isoxazolinico como segundo farmacóforo. Dos compuestos (Figura 5.1) mostraron un considerable comportamiento inhibitorio en el rango de las concentraciones medidas frente a una línea celular de linfoma, mientras que los demás compuestos sintetizados mostraron una actividad moderada, dual o bien no mostraron actividad alguna.

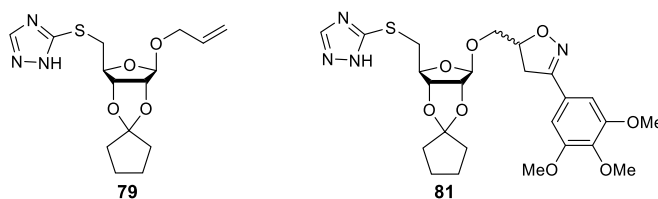


Figura 5.1 Estructura de los compuestos **79** y **81**.

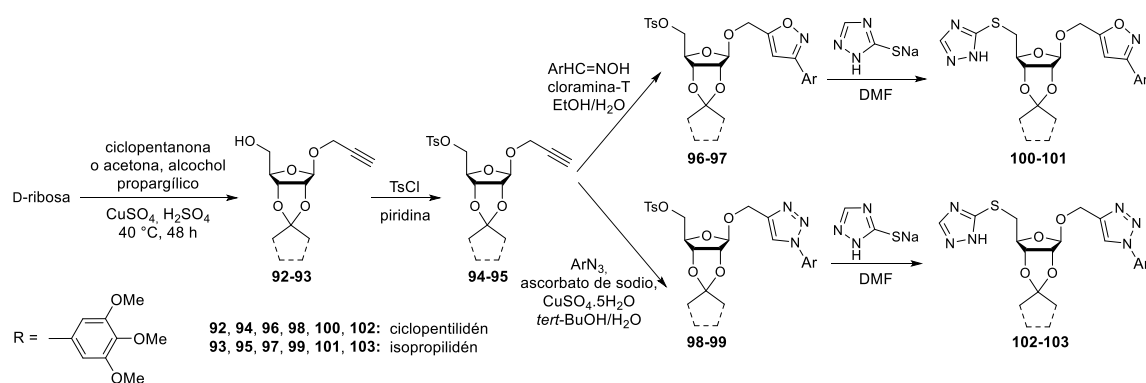
Teniendo en cuenta la actividad antiproliferativa mostrada por los compuestos sintetizados, se pudo concluir que la protección de las posiciones dos y tres del carbohidrato era necesaria para su actividad y que el anillo triazólico unido por azufre mejoraba la actividad antiproliferativa.

En este Capítulo de la Tesis se propone analizar si la introducción de un heterociclo aromático en lugar del anillo isoxazolinico produce una mejora en la actividad biológica en este tipo de compuestos. Este anillo heterocíclico fue seleccionado debido a la conocida mejora que propicia la presencia de anillos heterocíclicos aromáticos de cinco miembros cuando se introducen en compuestos con actividad biológica (ver Capítulo 1).

La elección de estos anillos de cinco miembros, se realizó teniendo en cuenta las siguientes consideraciones: a) previamente se había sintetizado un alil glicósido derivado y por lo tanto sería igualmente posible obtener un propargil glicósido; b) la actividad biológica comprobada del anillo isoxazólico¹⁻³ tal como se argumentó en el Capítulo 1 y teniendo en cuenta que de esta manera podríamos analizar si la aromaticidad del anillo era más propicia para la actividad y c) la influencia de la cantidad y tipo de heteroátomos sobre el heterociclo por lo cual se propuso obtener además 1,2,3-triazoles⁴⁻⁶, otro anillo de comprobada acción terapéutica (ver Capítulo 1).

Dado que en el Capítulo anterior la reacción de la cicloadición con el grupo alilo en el derivado de β -D-ribofuranosa con un anillo 1,2,4-triazólico unido por azufre al C-5 (compuesto **79**) daba bajos rendimientos; y en el caso de tener un grupo triazolil-3-iona como sustituyente del C-5 (compuesto **86**) esta reacción no ocurría, se decidió invertir el orden de las reacciones.

Teniendo en cuenta los factores enunciados, el esquema sintético se modificará de manera tal de realizar primero la cicloadición 1,3-dipolar utilizando el alquino en la posición anomérica y luego la sustitución por el tiolato en el carbono C-5 de la D-ribosa (Esquema 5.1). Además de los ciclopentilidén, se sintetizarán isopropilidén derivados.



Esquema 5.1 Camino sintético para la obtención de di-heterocíclidos derivados de D-ribofuranosa conteniendo isoxazoles y 1,2,3-triazoles.

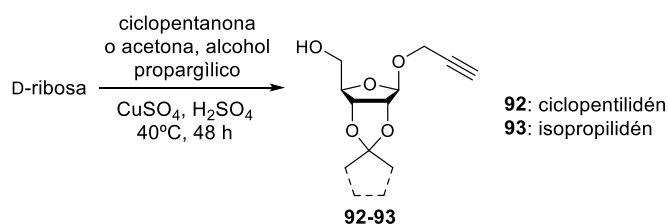
En el presente Capítulo, se discutirá el desarrollo del camino sintético propuesto y se analizará la actividad antiproliferativa de los nuevos derivados y algunos de los anteriormente sintetizados frente a la línea celular de cáncer de próstata PC3.

2. Resultados y discusión.

Una importante conclusión con relación a la estructura-actividad de los primeros compuestos sintetizados fue que debían protegerse los hidroxilos en posición dos y tres del hidrato de carbono. Por este motivo y para comprobar si la naturaleza del grupo protector podría influir en la actividad de los compuestos, se propuso además utilizar un segundo grupo protector, el isopropilideno, en esta nueva serie de derivados.

2.1. Síntesis de derivados propargílicos de D-ribosa debidamente protegidos.

El primer paso sintético es la protección de la D-ribosa utilizando alcohol propargílico y ciclopentanona o acetona (Esquema 5.2), metodología similar a la descrita por Busscher y col.⁷ Se obtuvieron así los compuestos **92-93**.



Esquema 5.2 Reacción para la obtención de propargil 2,3-O-ciclopentilidén/isopropilidén β -D-ribofuranósidos (**92-93**).

Los derivados **92** y **93** fueron purificados por cromatografía en columna de sílica gel obteniéndose puros con rendimientos moderados, pero en un único paso de reacción (57 % para el compuesto **92** y 53 % para el compuesto **93**).

En el espectro protónico del compuesto **92** pueden observarse las señales diagnósticas correspondientes a los protones del metileno del grupo propargílico a desplazamientos químicos de 4,27 ppm y el protón acetilénico a δ 2,48 ppm con una constante de acoplamiento de 2,4 Hz (Figura 5.2). También se observan las señales correspondientes a los metilenos del ciclopentilidén como un multiplete a δ entre 1,63-1,95 ppm y una señal a δ 2,86 ppm del hidroxilo terminal del carbono cinco. Los hidrógenos que forman parte de la β -D-ribofuranosa presentan desplazamientos

químicos y multiplicidades similares a los observados para el compuesto **78** analizado en el Capítulo 4.

En el espectro de carbono del compuesto **92** de la Figura 5.3 se observaron las tres señales características de los carbonos del grupo propargílico: el metileno a δ 55,3 ppm, el carbono del $C\equiv H$ a δ 75,4 ppm y el carbono cuaternario a δ 78,5 ppm. Además, se encuentran las señales correspondientes al hidrato de carbono y al grupo ciclopentilidén a desplazamientos químicos similares al precursor **78** analizado en el Capítulo anterior.

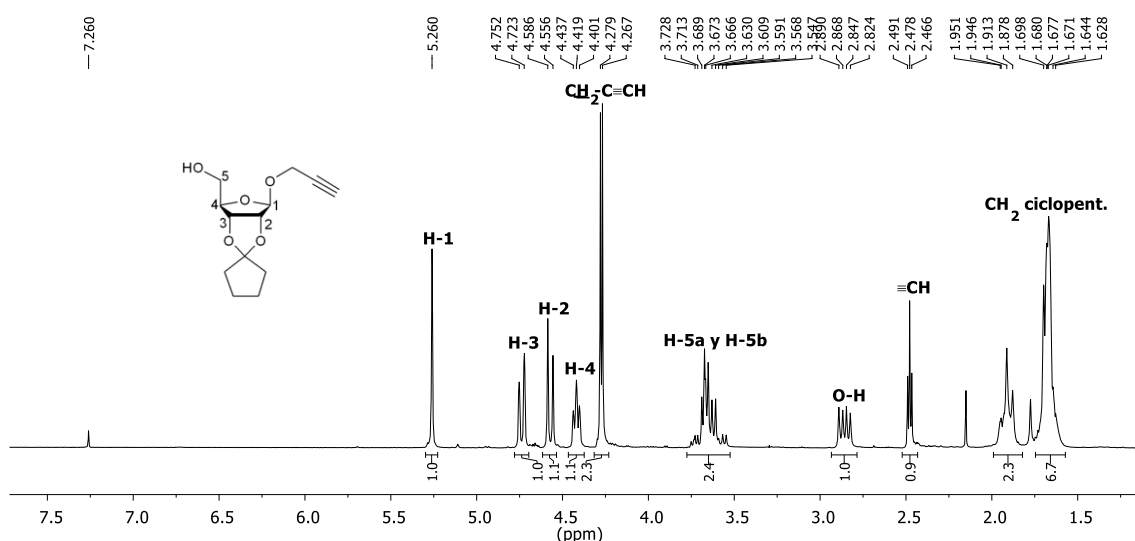


Figura 5.2 Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) para el compuesto **92**.

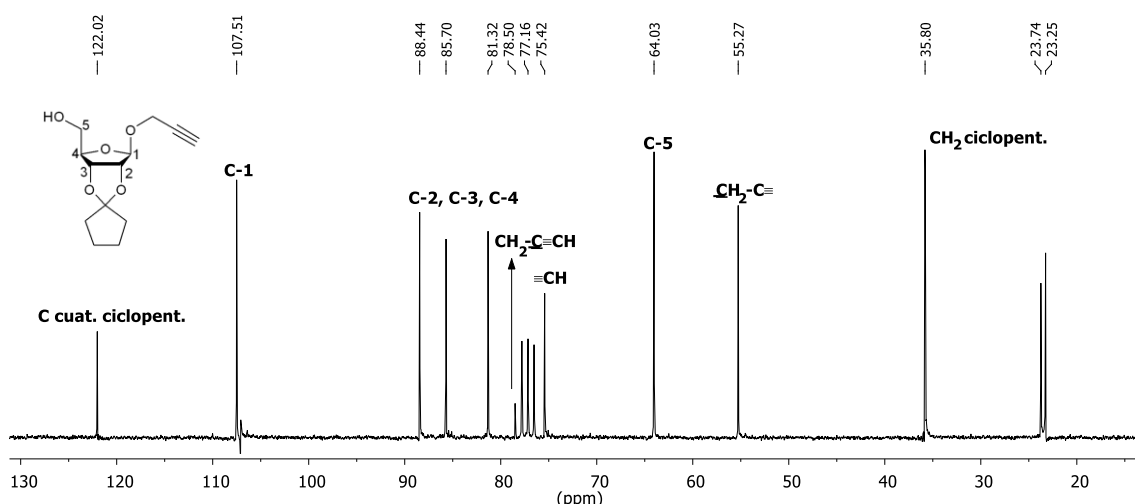
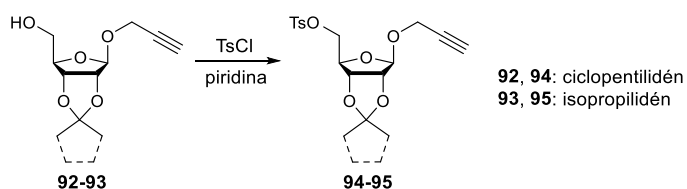


Figura 5.3 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para el compuesto **92**.

Por otro lado, el compuesto **93** ya se encontraba descrito en literatura por G. Sureshkumar *et. al.*⁸ Los autores obtuvieron el compuesto **93** a partir de D-ribose en dos pasos de reacción. Luego de una purificación por cromatografía en columna de sílica

gel, obtuvieron el producto puro con un rendimiento de 43 %. Es importante destacar que la metodología propuesta en esta Tesis (y que se encuentra descripta en el Capítulo 8 de Técnicas Experimentales) propone la obtención del propargil 2,3-*O*-isopropilidén β -D-ribofuranósido (**93**) en un único paso de multiprotección y con un mejor rendimiento (53 %). La caracterización física y espectroscópica del compuesto **93** obtenido de esta manera coincide con la reportada por G. Sureshkumar *et. al.*

El paso siguiente consistió en el tratamiento de los derivados propargílicos (**92-93**) con cloruro de tosilo en piridina a temperatura ambiente durante 18 h con el objetivo de incorporar un buen grupo saliente (Esquema 5.3). Se obtuvieron así los tosíl derivados **94** y **95**.



Esquema 5.3 Reacción para la obtención de tosíl derivados de propargil β -D-ribofuranosa (**94-95**).

Los derivados **94** y **95** se purificaron por cromatografía en columna de sílica gel y los compuestos puros se obtuvieron con rendimientos del 77 % para ambos derivados.

En el espectro protónico del derivado tosilado **94** (Figura 5.4) pueden observarse las señales diagnósticas del grupo tosilo: los dos dobletes a desplazamientos químicos de 7,78 ppm y 7,34 ppm correspondientes al anillo aromático *p*-sustituido con *J* de 8,0 Hz y la señal del metilo que se encuentra a δ 2,44 ppm. Las señales correspondientes al grupo propargílico se encuentra a desplazamientos químicos de 2,40 ppm para el hidrógeno acetilénico y otra a δ 4,07 ppm para el metileno con una constante de acoplamiento de 2,5 Hz.

En el espectro RMN- ^{13}C del derivado propargílico tosilado **94** (Figura 5.5) pueden observarse las señales diagnósticas características que forman parte de anillo aromático a δ entre 128-146 ppm y también la señal correspondiente al metilo del grupo tosilo a δ 21,8 ppm. Además, se encuentran las señales que forman parte del propargilo a 54,4 ppm, 75,1 ppm y 78,5 ppm.

El análogo tosilado **95** se analizó de manera similar y su espectro se encuentra en la sección de Espectros Adicionales en la Figura 1.1 y 1.2.

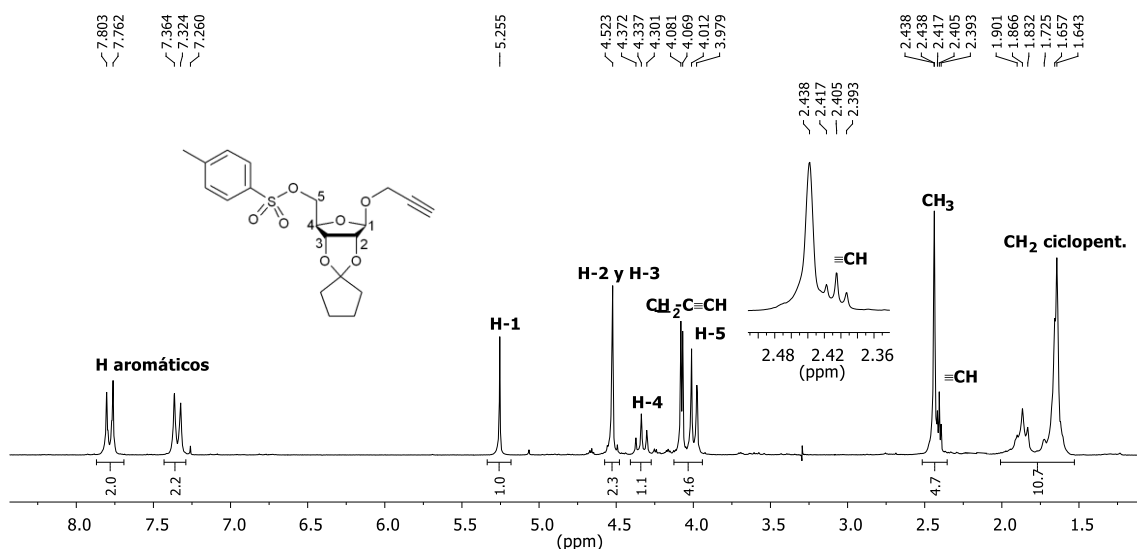


Figura 5.4 Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) para el compuesto **94**.

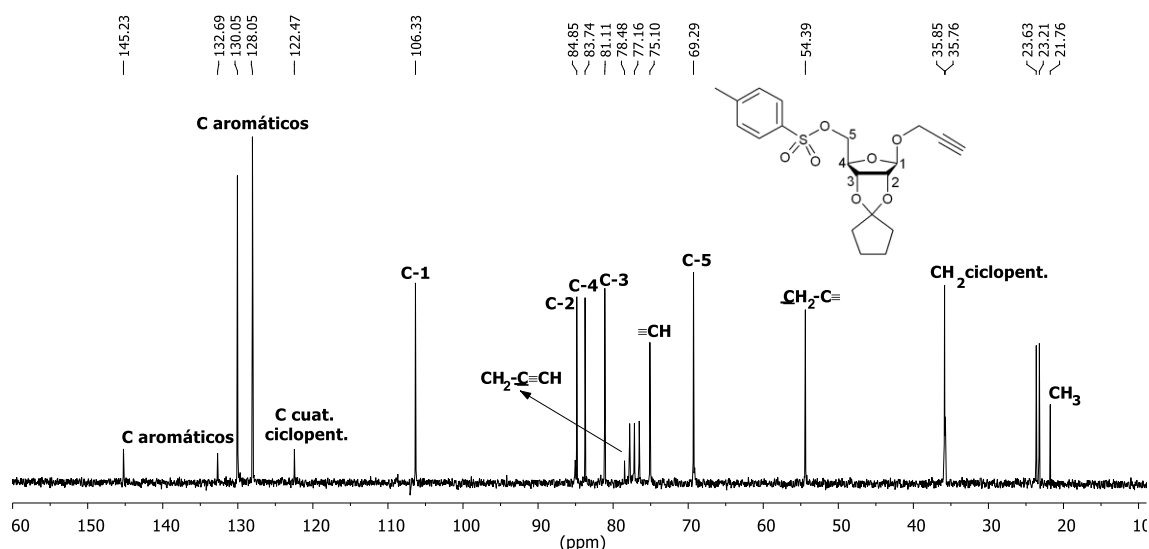
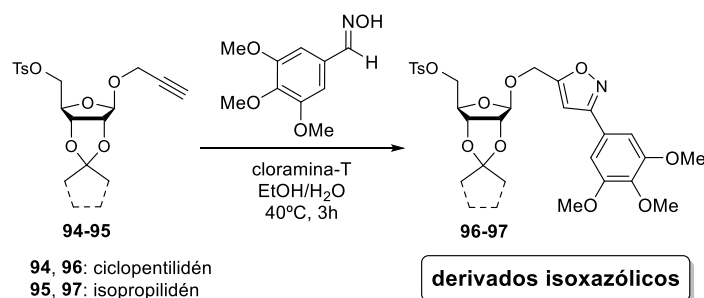


Figura 5.5 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para el compuesto **94**.

2.2. Síntesis de derivados isoxazólicos de β-D-ribofuranosa.

Los derivados isoxazólicos **96-97** (Esquema 5.4) pudieron obtenerse por cicloadición 1,3-dipolar a partir de los precursores propargílicos tosilados **94** y **95** como dipolarófilos y 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima, como precursor del dipolo con moderados rendimientos (67 % y 64 %, respectivamente).⁹ El *N*-óxido se generó a partir de 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima en presencia de cloramina-T. Los crudos de reacción se purificaron por cromatografía en columna de sílica gel y se analizaron los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C de los productos puros.



Esquema 5.4 Reacción de cicloadición para la obtención de derivados isoxazólicos de β -D-ribofuranosa.

En el espectro protónico del compuesto **96** (Figura 5.6) se observa que la señal diagnóstica del anillo isoxazólico, el hidrógeno H-4' (correspondiente al anillo formado) aparece a δ 6,60 ppm (valores de literatura entre 6,12-6,95 ppm)¹⁰⁻¹³. También pueden observarse las señales en la zona aromática de los hidrógenos del grupo trimetoxifenilo a δ 7,05 ppm así como las señales de los metoxilos en la zona entre δ 3,89-3,92 ppm.

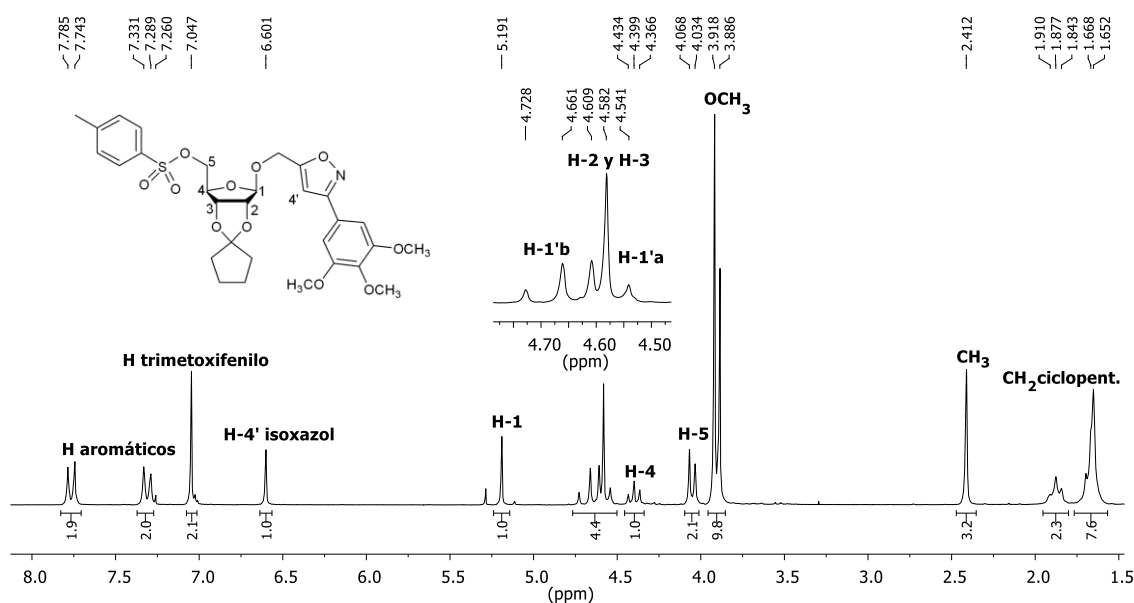


Figura 5.6 Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) para el compuesto **96**.

En la Figura 5.7 se muestra el espectro de RMN-¹³C del compuesto **96** donde se observan las señales del isoxazol correspondientes a los carbonos C-3' y C-5' a desplazamientos químicos de 162,5 ppm y 168,5 ppm; así como también la señal a δ 101,9 ppm del C-4'. También, como en el caso del espectro de protón, se pueden asignar las señales aromáticas del anillo 3,4,5-trimetoxifenilo a δ 104,2; 124,3; 139,8 y

153,7 ppm y los metoxilos a desplazamientos químicos de 56,4 ppm y 61,0 ppm, confirmando la formación de compuesto deseado.

El análisis de los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C del compuesto **97** es similar al del análogo **96** (Figura 1.3 y 1.4 en la sección de Espectros Adicionales).

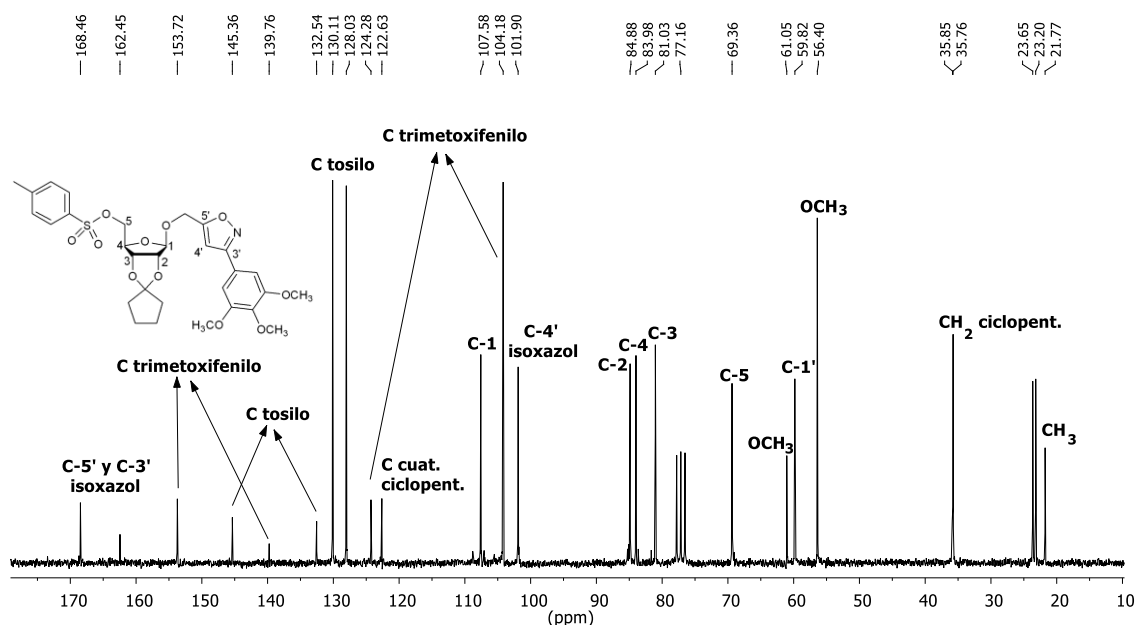
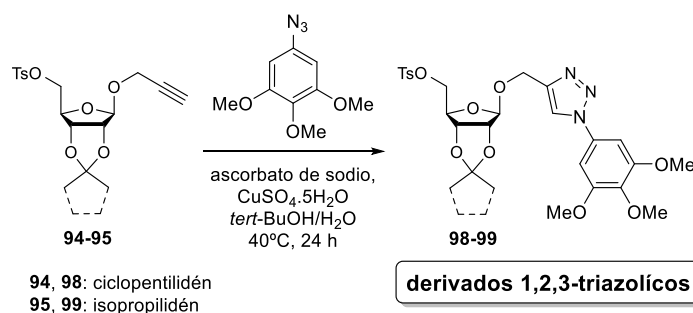


Figura 5.7 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para el compuesto **96**.

2.3. Síntesis de derivados triazólicos de β-D-ribofuranosa.

La reacción de Cu-AAC (Sección 2.2 del Capítulo 2) permitió sintetizar los derivados 1,2,3-triazólicos. Para poder llevar a cabo esta reacción se sintetizó previamente 5-azido-1,2,3-trimetoxibenceno por diazotación de 3,4,5-trimetoxianilina y posterior sustitución con NaN₃ (ver Capítulo 8 de Técnicas Experimentales).¹⁴ Los derivados propargílicos tosilados **94-95** se trataron con sulfato de cobre en presencia de ascorbato de sodio, y posteriormente se agregó la azida aromática.¹⁵ La reacción se llevó a cabo por tratamiento térmico a 40 °C durante 24 h y se obtuvieron los derivados 1,2,3-triazólicos **98** o **99** con rendimientos 89 % y 92 % respectivamente (Esquema 5.5). Los compuestos fueron purificados por cromatografía en columna de sílica gel y los productos puros fueron caracterizados física y espectroscópicamente.



Esquema 5.5 Reacción de Cu-AAC para la obtención de derivados triazólicos de β -D-ribofuranosa.

En el espectro protónico del compuesto **98** (Figura 5.8) se observa la señal diagnóstica que indica la formación del anillo 1,2,3-triazólico: el hidrógeno H-5' que se observa a δ 8,13 ppm (valores de literatura entre 7,69-8,05 ppm)¹⁶⁻²⁰. También pueden observarse las señales en la zona aromática de los hidrógenos del grupo trimetoxifenilo a desplazamientos químicos de 7,05 ppm, así como también las señales de los metoxilos en la zona entre δ 3,88-3,92 confirmando la formación del compuesto deseado.

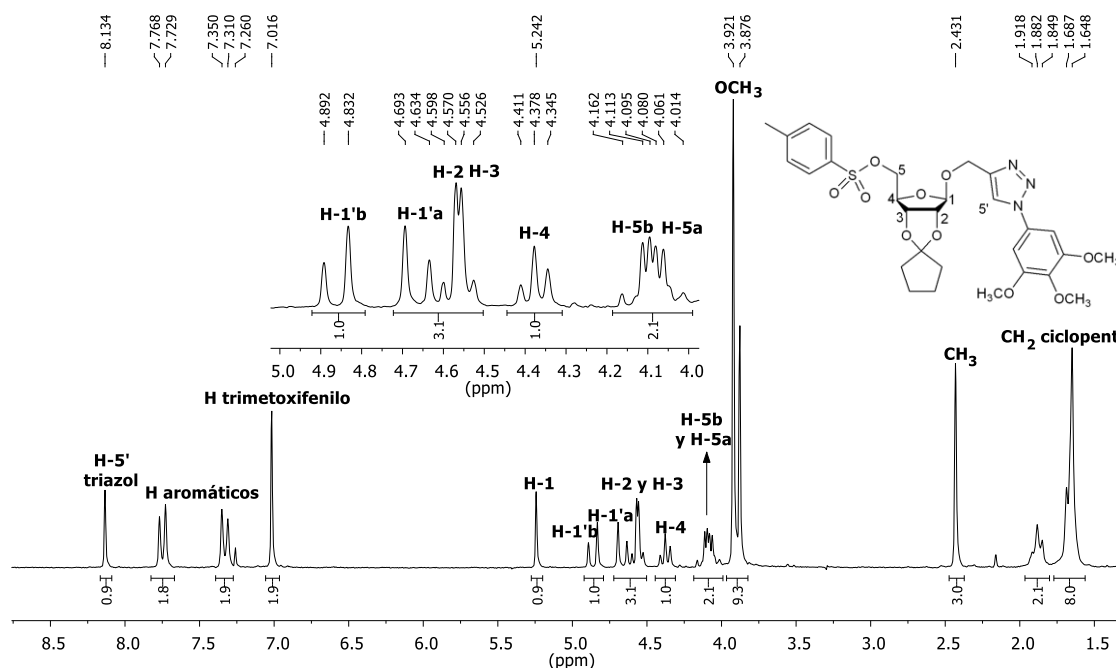


Figura 5.8 Espectro de RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) para el compuesto **98**.

En el espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **98** (Figura 5.9) se observan las señales del 1,2,3-triazol correspondientes a los carbonos C-4' y C-5' a desplazamientos químicos de 144,5 ppm y 121,8 ppm. También, como en el caso del espectro de protón, se pueden asignar las señales del anillo 3,4,5-trimetoxifenilo a δ 154,0, 138,3, 133,0 y

98,4 ppm mientras que los hidrógenos de los grupos metoxilos se observan a δ 61,2 ppm y 56,6 ppm.

Señales similares se observan tanto en el espectro de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C del compuesto **99** (sección de espectros adicionales, Figura 1.5 y 1.6).

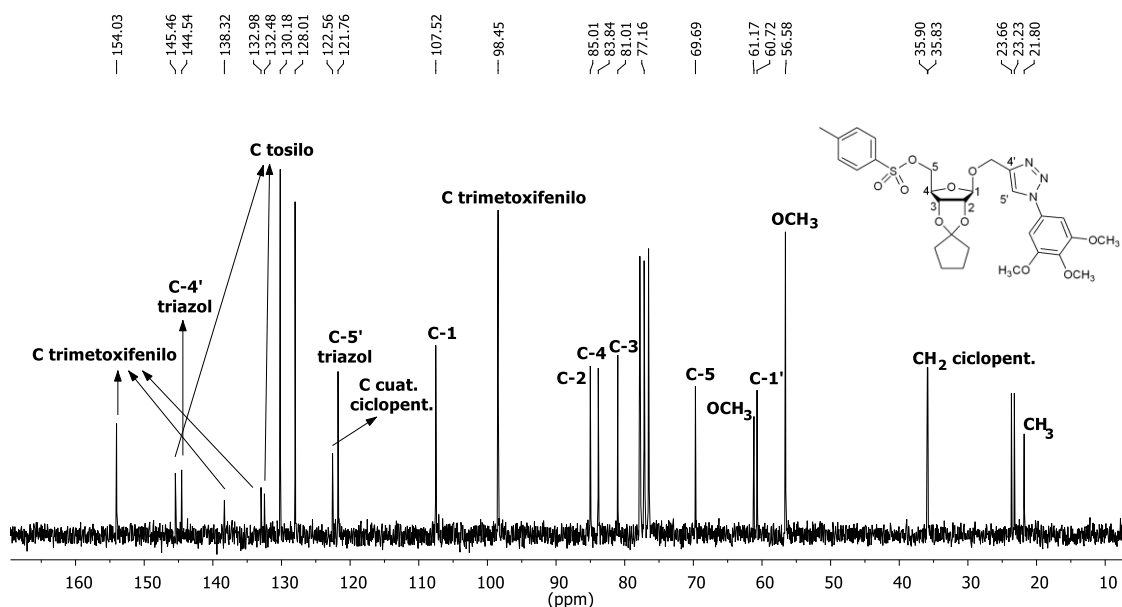
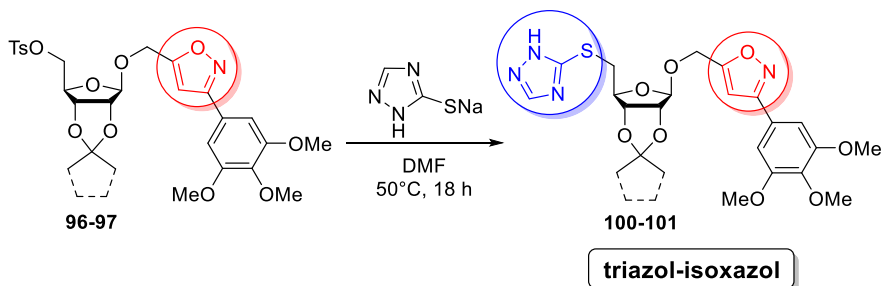
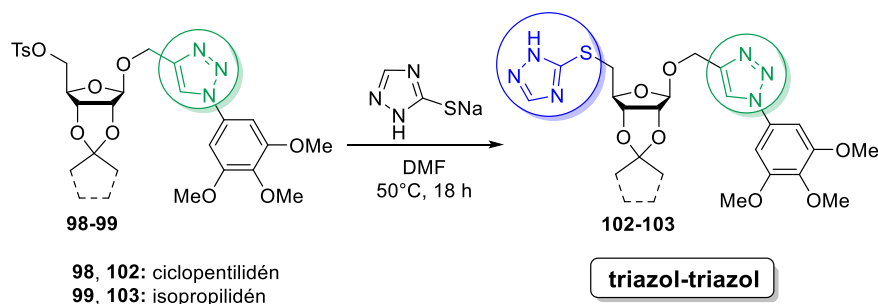


Figura 5.9 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto **98**.

2.4. Síntesis de derivados di-heterocíclicos de β -D-ribofuranosa: triazólicos/isoxazólicos y triazólicos/triazólicos.

Para obtener los productos di-heterocíclicos, los derivados mono-heterocíclicos **96-97** o **98-99** se trataron con el 1,2,4-triazolil-5-tiolato de sodio 50 °C durante 18 h para obtener los derivados **100-101** y **102-103** por sustitución nucleofílica del grupo tosilato (Esquema 5.6). Así, fue posible obtener cuatro nuevos derivados di-heterocíclicos los cuales presentan en su estructura un isoxazol y un anillo 1,2,4-triazólico o dos anillos triazólicos.





Esquema 5.6 Síntesis de derivados di-heterocíclicos de D-ribofuranosa.

2.4.1. Derivados triazólicos/isoxazólicos.

Los derivados isoxazólicos fueron purificados por cromatografía en columna de sílica gel y los compuestos puros se obtuvieron con rendimientos del 70 % para el derivado **100** y 67 % para el **101**.

Se analizaron los espectros protónicos y de carbono de los derivados **100-101**, en donde puede verse la desaparición de las señales correspondientes al grupo tosilo y la aparición de las señales diagnósticas características que indican la incorporación de un anillo 1,2,4-triazólico. Por ejemplo, en el espectro de RMN-¹H del compuesto **100** (Figura 5.10) se observa la señal del hidrógeno H-5'' del triazol a 8,20 ppm como un singlete ancho y además un corrimiento de las señales correspondientes al hidrógeno H-5 que se desplazan a δ más bajos respecto de su precursor (δ 3,28 ppm y 3,43 ppm).

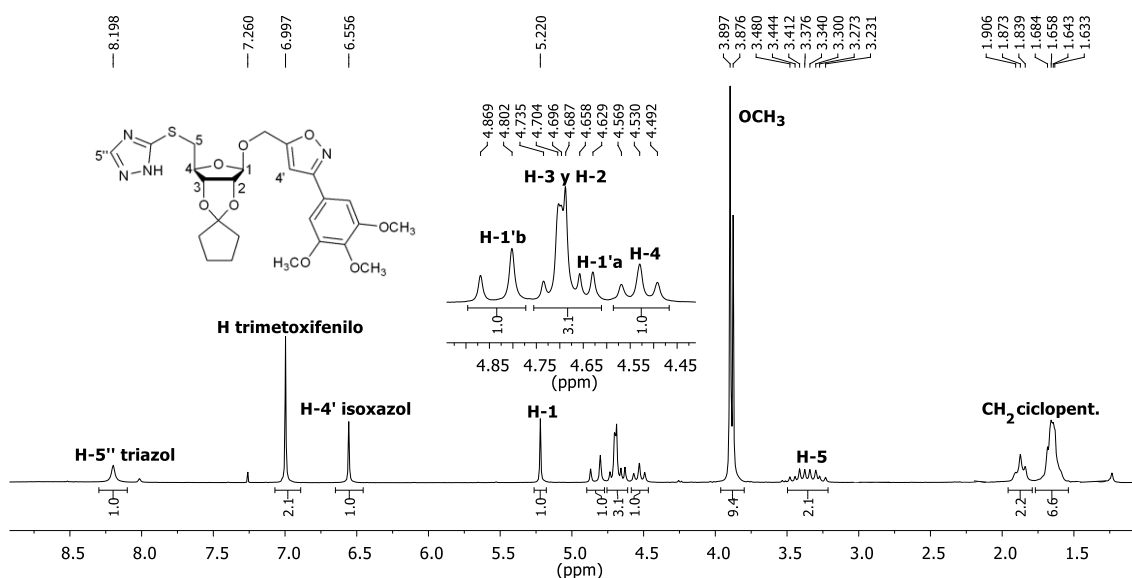


Figura 5.10 Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) para el compuesto **100**.

Por otro lado, en el espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **100** (Figura 5.11) se observa la señal del carbono C-5'' del triazol a δ 146,5 ppm que confirman la formación del di-heterociclo. El carbono cinco de la β -D-ribofuranosa también presenta un corrimiento a campos más altos, $\delta_{\text{C-5}}$ a 35,7 ppm, consecuencia de la sustitución de un derivado oxigenado por un azufrado.

Los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C del compuesto **101** son similares a los de su análogo **100** y se encuentran en la sección de Espectros Adicionales en las Figuras 1.7 y 1.8.

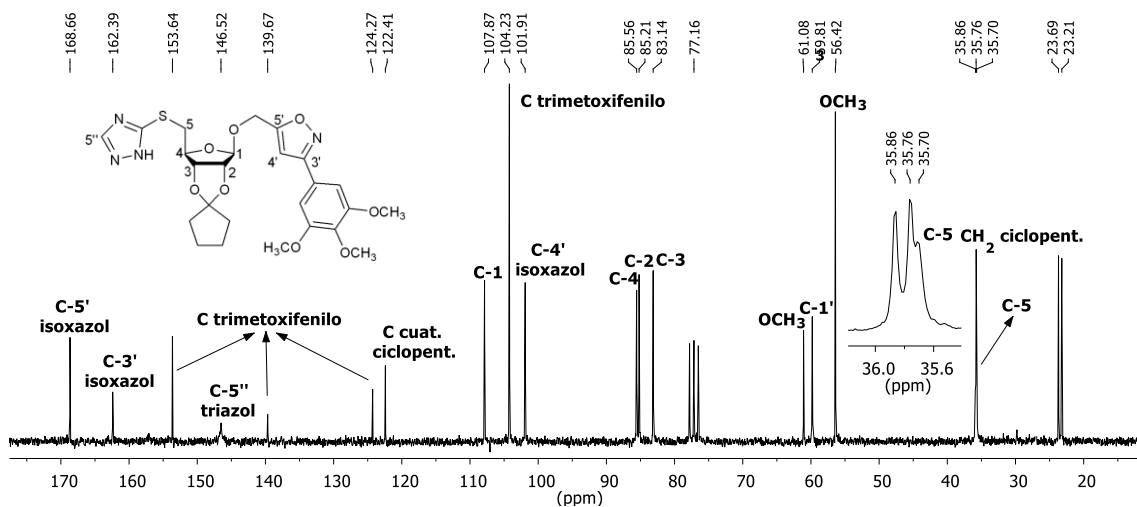


Figura 5.11 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto **100**.

2.4.2. Derivados triazólicos/triazólicos.

La otra serie de di-heterociclos que se sintetizaron en este Capítulo de la Tesis son los derivados **102-103** que tienen en su estructura dos heterociclos triazólicos. Los productos purificados se obtuvieron con rendimientos del 61 % y 63 % para los compuestos **102** y **103** respectivamente. Ambos compuestos fueron caracterizados por sus espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C , y las señales pudieron asignarse a partir de los espectros bidimensionales de COSY y HSQC.

En el espectro protónico del compuesto **102** (Figura 5.12) pueden observarse dos señales a desplazamientos químicos de 8,02 ppm y 8,09 ppm (para los hidrógenos H-5' y H-5'' triazólicos) que comprueban la presencia de ambos triazoles en la estructura del compuesto deseado. Los hidrógenos H-5a (δ 3,36 ppm) y H-5b (δ 3,48 ppm) presentan

un corrimiento a campos más altos al igual que en el compuesto **100**, encontrándose ausentes las señales del grupo tosilo.

Por otro lado, en el espectro de RMN-¹³C del di-heterociclo **102** (Figura 5.13) se observa una de las señales diagnósticas que confirma la incorporación del anillo 1,2,4-triazólico a δ 147,4 ppm correspondiente al carbono C-5'' del heterociclo, así como el corrimiento de C-5 de la D-ribofuranosa a δ 36,3 ppm.

El análisis del derivado di-heterocíclico **103** se realizó de manera similar y los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C se encuentran en la sección de Espectros Adicionales en las Figuras 1.9 y 1.10.

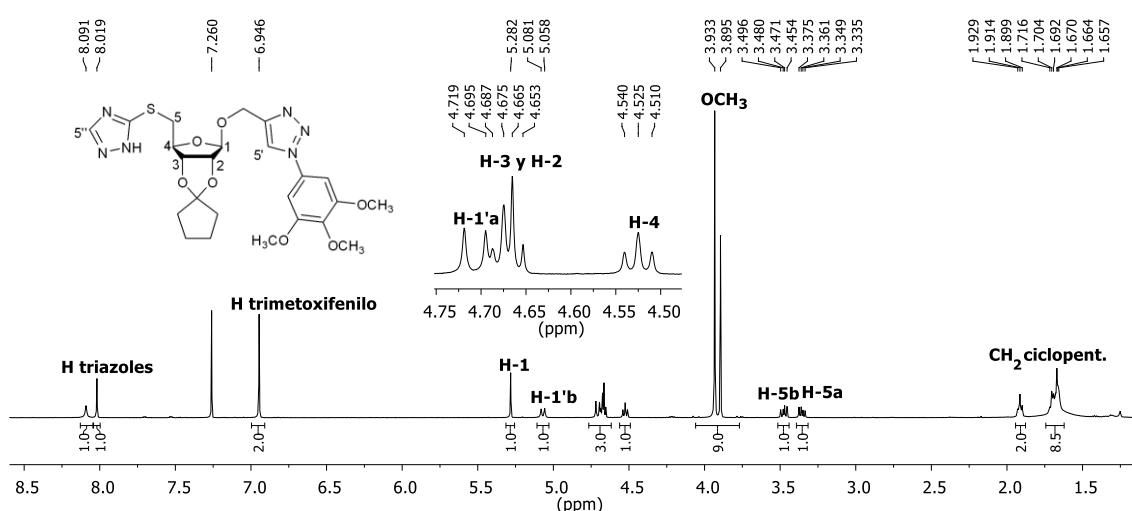


Figura 5.12 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para el compuesto **102**.

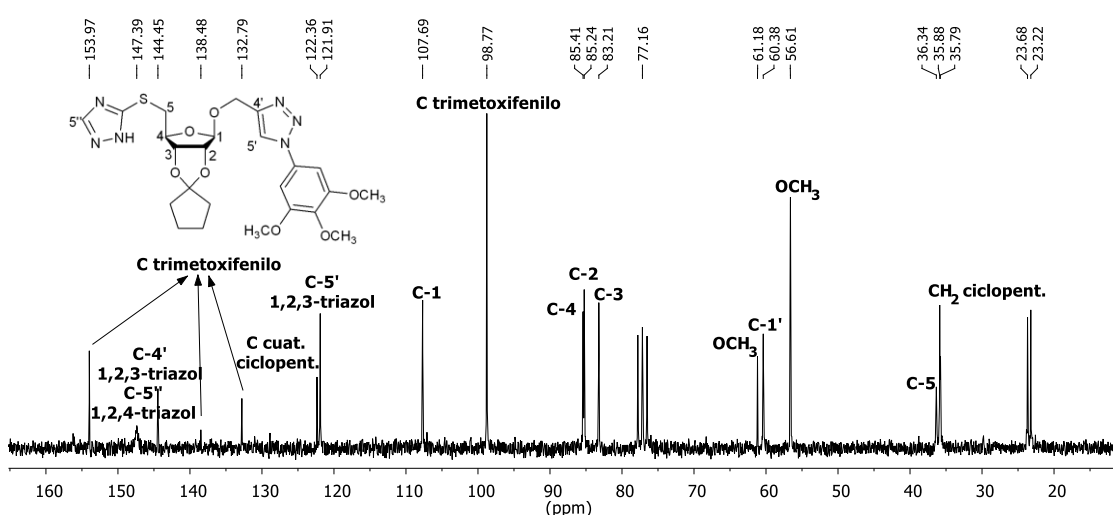
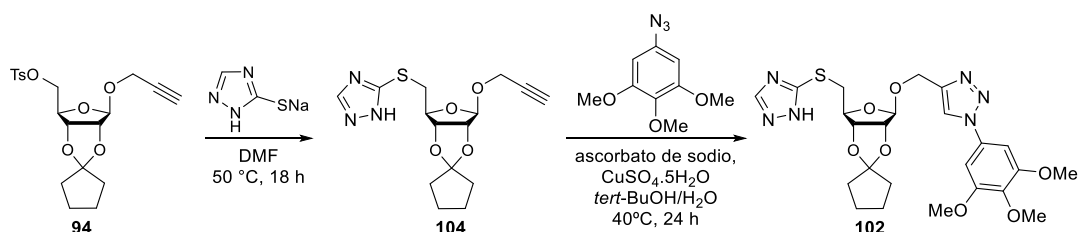


Figura 5.13 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para el compuesto **102**.

2.5. Ruta alternativa para la síntesis de derivados di-heterocíclicos de β -D-ribofuranosa triazólicos/triazólicos.

El cambio en el orden de las reacciones de cicloadición y sustitución se realizó en base a los resultados obtenidos en el Capítulo anterior con respecto al bajo rendimiento o la imposibilidad de obtener los productos deseados, cuando en la estructura del compuesto ya había presente un anillo triazólico. Sin embargo, la reacción de Cu-AAC podría no tener estos inconvenientes. Para poder comprobarlo, se planteó el siguiente camino sintético (Esquema 5.7) en el cual se invirtió el orden en las reacciones: primero se realiza la sustitución por el tiolato del 1,2,4-triazol para obtener el derivado **104** y luego la cicloadición para obtener el di-heterociclo **102**.



Esquema 5.7 Camino sintético para la obtención de **102** invirtiendo el orden de las reacciones.

A partir del derivado tosilado **94** se procedió a realizar la sustitución por la sal sódica del 1,2,4-triazol-3-tiol en *N,N*-dimetilformamida a 50 °C durante 18 h para obtener el derivado mono-heterocíclico **104** (Esquema 5.4). El compuesto **104** se purificó por cromatografía en columna de sílica gel y se obtuvo como un sólido blanco con un rendimiento del 74 %.

El compuesto **104** fue caracterizado a partir de sus espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C . En el espectro protónico del compuesto **104** (Figura 5.14) se consideró como diagnóstica la señal correspondiente al hidrógeno triazólico a desplazamientos químicos de 8,23 ppm. En la estructura del compuesto están presentes las señales del grupo propargílico a δ 4,45 ppm y 4,26 ppm, y se observó la desaparición de las señales aromáticas y el metilo que formaban parte del grupo tosilo, comprobando la sustitución por el heterociclo.

En el espectro de carbono del compuesto **104** (Figura 5.15) se observan como señales diagnósticas que confirman la formación de la estructura propuesta, una señal a desplazamientos químicos de 146,8 ppm que corresponde al carbono C-5'' del anillo triazólico y otra señal a campos altos en δ 35,7 ppm que se asignó al C-5 de la β -D-

ribofuranosa. Además, se comprueba la desaparición de los carbonos que formaban parte del anillo aromático y el metilo del grupo tosilo.

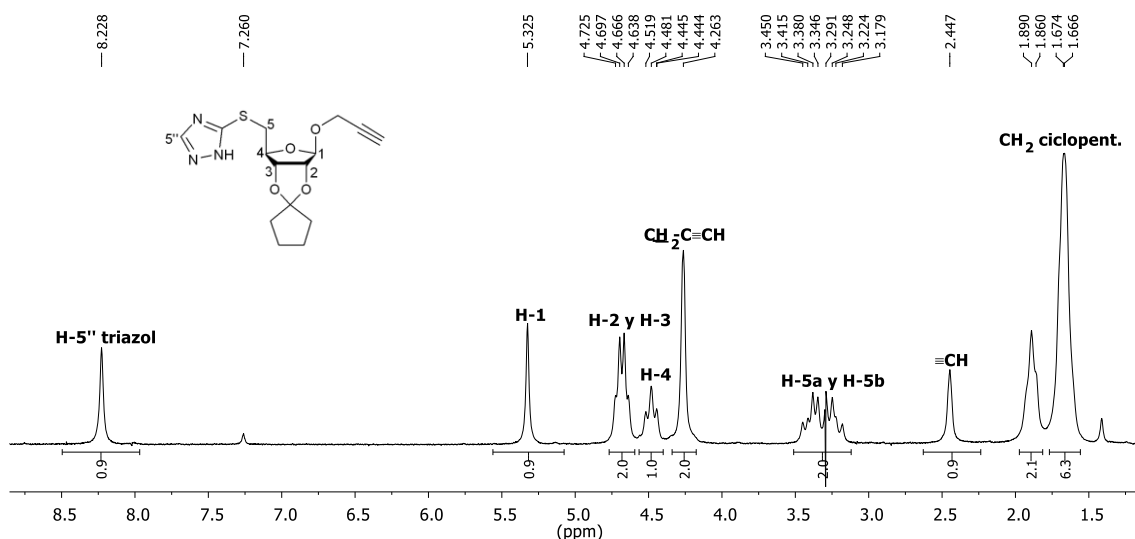


Figura 5.14 Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) para el compuesto **104**.

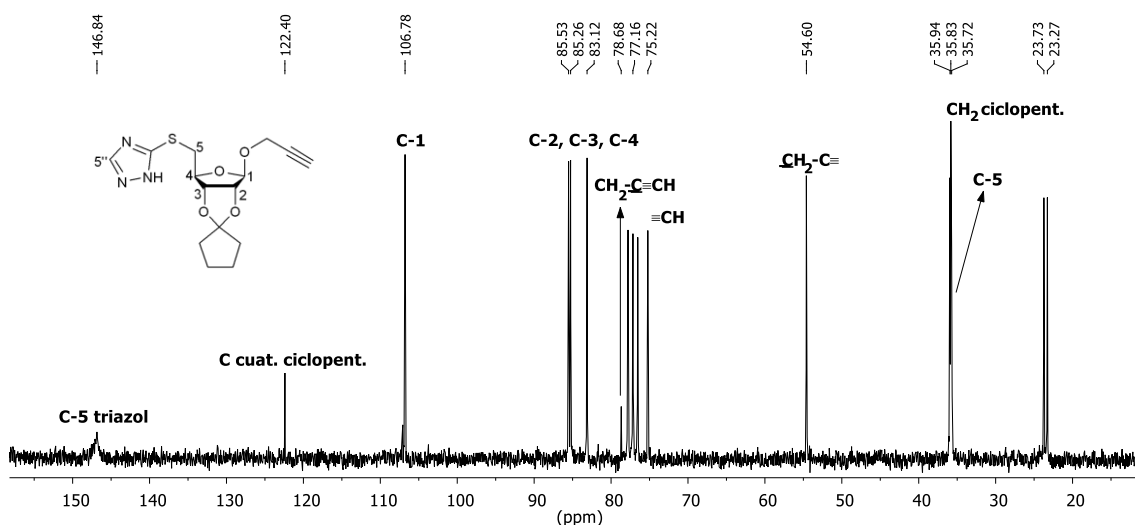
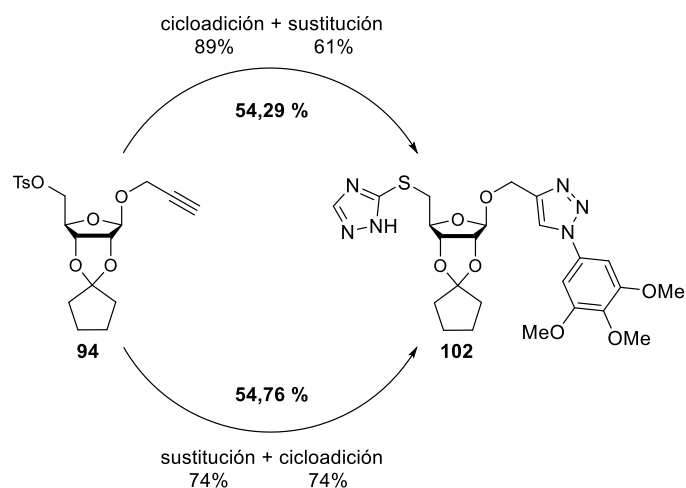


Figura 5.15 Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para el compuesto **104**.

Posteriormente, a partir del triazol derivado **104** se realizó la reacción de Cu-AAC siguiendo el mismo procedimiento que en la Sección 2.3. Se purificó por cromatografía en columna se sílica gel y se obtuvo un compuesto puro con un rendimiento del 74% cuya caracterización coincidió con la descrita para compuesto **102**.

Si comparamos los rendimientos globales en la obtención del compuesto **102** por los dos caminos sintéticos (Esquema 5.8) observamos que no existen diferencias significativas, ya que el rendimiento en ambos casos es del 54%.



Esquema 5.7 Comparación de los rendimientos globales en la obtención del di-heterociclo **102**.

3. Estudios de actividad antiproliferativa.

Los ensayos de actividad antiproliferativa se realizaron sobre la línea celular de cáncer de próstata PC3. En este caso se estudió la influencia de algunos de los compuestos sintetizados sobre las alteraciones del ciclo celular. Estas evaluaciones biológicas estuvieron a cargo de la Dra. Elba Vazquez y de la Dra. Geraldine Guerón.

Ensayos de viabilidad celular

Se evaluó el efecto farmacológico de los nuevos compuestos sintetizados **100**, **101**, **102**, **103** junto con los derivados que habían resultado más activos del Capítulo anterior **79**, **81** y **82** (Figura 5.16) sobre el crecimiento celular y sobre la progresión del CC en líneas celulares de cáncer de próstata PC3. Las células se probaron con diferentes concentraciones de los compuestos sintetizados (1, 2, 10, 50, 100, 200 and 400 μ M) y se incubaron durante 24 horas. El efecto inhibitorio sobre el crecimiento celular y los valores de ClogP se muestran en la Tabla 5.1 y en la Figura 5.17.

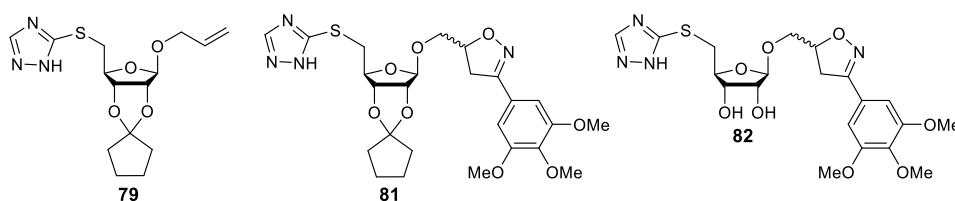


Figura 5.16 Estructura de los compuestos **79**, **81**, **82** sintetizados en el Capítulo 4.

c (μM)	Viabilidad Celular						
	Compuestos						
	79	81	82	100	101	102	103
1	91,65 ± 7	100,16 ± 17,62	90,86 ± 4,89	108,98 ± 6,36	116,35 ± 5,45	85,64 ± 2,49	79,06 ± 4,62
2	84,93 ± 2,38	93,44 ± 4,2	97,12 ± 7,38	113,73 ± 7,81	103,73 ± 5,94	89,85 ± 2,01	89,85 ± 2,01
10	87,29 ± 2,29	85,8 ± 4,47	89,4 ± 5,54	65,86 ± 3,40	134,46 ± 13,6	80,84 ± 3,16	110,82 ± 4,73
50	77,1 ± 7,28	75,61 ± 3,32	83,17 ± 2,09	67,39 ± 2,91	114,54 ± 2,65	71,68 ± 1,46	111,52 ± 4,18
100	86,38 ± 2,07	75,48 ± 7,84	94,18 ± 4,06	82,80 ± 5,24	133,0 ± 11,2	59,71 ± 3,72	94,46 ± 4,94
200	72,55 ± 2,85	40,95 ± 5,63	83,41 ± 1,16	102,43 ± 4,03	101,36 ± 7,51	49,83 ± 6,21	98,08 ± 7,04
400	54,66 ± 3,19	13,77 ± 2,05	84,87 ± 3,61	124,84 ± 7,89	111,95 ± 2,08	43,24 ± 1,16	98,28 ± 4,32
CI ₅₀	400	200	> 400	ND	> 400	200	> 400
ClogP	0,78	1,60	-0,13	1,22	1,09	0,87	0,84

Tabla 5.1 Efecto inhibitorio de los compuestos **79**, **81**, **82**, **100**, **101**, **102** y **103** sobre la viabilidad de las células PC3.

Los resultados de viabilidad celular se expresaron en porcentaje (%) respecto de la viabilidad de las células que no fueron tratadas consideradas como el 100%. Las concentraciones (c) de los compuestos se expresaron en μM. Los valores de ClogP se calcularon utilizando ChemBio3D Ultra 11.0. *p<0,05 diferencias significativas respecto del basal de acuerdo a test de ANOVA + Dunnett's.

ND: no determinado.

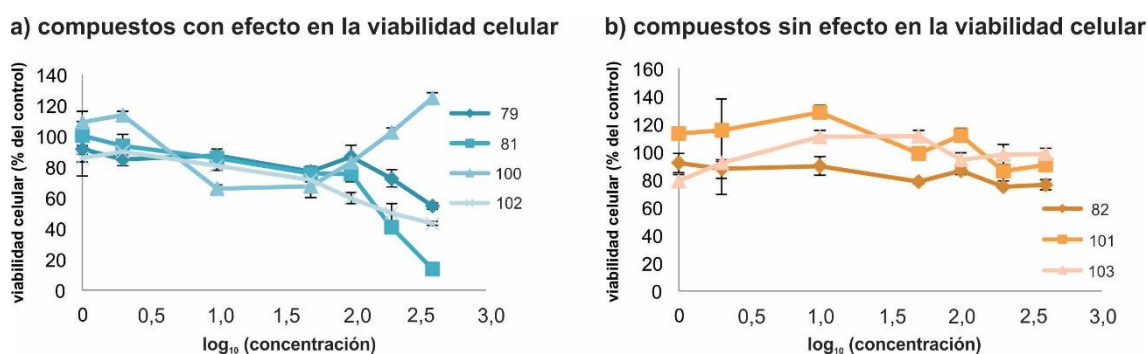


Figura 5.17 Efecto de los compuestos **79**, **81**, **82**, **100**, **101**, **102** y **103** sobre la viabilidad de células PC3.

Los cultivos celulares se expusieron a diferentes concentraciones (1- 400 μM) durante 24h. La viabilidad celular se determinó por MTS y se expresó como porcentaje de las células control no tratadas (vehículo) consideradas como el 100 %. Todos los datos son medias ± SD. *Diferencias significativas, p<0,05.

Mientras que los compuestos **82**, **101** y **103** casi no mostraron variación del crecimiento celular (Figura 5.17b), la exposición de las células PC3 a los compuestos **79**, **81**, **100** y **102** tuvo un efecto inhibitorio sobre la viabilidad celular (Figura 5.17a). Es notable que estos compuestos tengan un efecto diferencial a distintas concentraciones. El compuesto **79** produce una inhibición del 45,34 % ($P < 0,05$) a 400 μM; el compuesto **81** produce una inhibición del 59,05 % ($P < 0,05$) a 200 μM; el compuesto **100** produce una inhibición del 34,14 % ($P < 0,05$) a 10 μM y el compuesto **102** produce una inhibición del 50,17 % ($P < 0,05$) a 200 μM. Cabe mencionar que los

compuestos con un ciclopentilidén como grupo protector mostraron un efecto inhibitorio mayor que sus análogos que contienen el grupo isopropilidén.

Progresión del ciclo celular

La inhibición de la progresión del ciclo celular en células cancerígenas es una estrategia efectiva para detener el crecimiento celular y la supervivencia.²¹ Para analizar los efectos de los compuestos **79**, **81**, **100** y **102** sobre la progresión del ciclo celular, se utilizó la técnica de clasificación de células activadas por fluorescencia (FACS). El tratamiento de células PC3 con **79**, **100** y **102** durante 24 horas produjeron una detención del CC en la fase G₀/G₁ (72,0 %, 54,5 %, 63,5 %, respectivamente; $P < 0,05$) (Figura 5.18a-b).

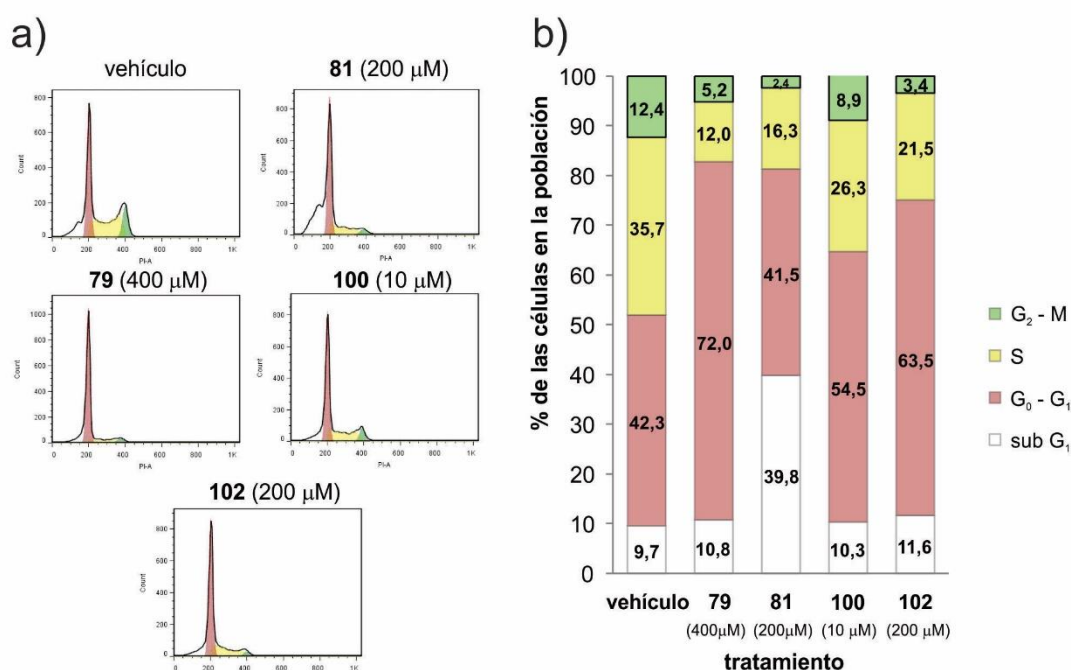


Figura 5.18 Efecto de los compuestos **79**, **81**, **100** y **102** en la progresión del ciclo celular en células PC3.

Las células fueron tratadas con **79** (400 μM), **81** (200 μM), **100** (10 μM) y **102** (200 μM) durante 24 h. Luego del tratamiento, las células fueron colectadas, lavadas con PBs, digeridas con RNasa y luego el ADN celular se tiñó con yoduro de propidio, como se detalla en el Capítulo 8 de Materiales y Métodos. Para el análisis de la distribución del ciclo celular se realizó citometría de flujo. a) Patrón de fluorescencia de yoduro de propidio para la distribución del ciclo celular con diferentes tratamientos. b) Porcentaje de células en diferentes fases del ciclo celular se determinó por el software de análisis de ciclo celular FlowJo 7.6.2. Los datos representan una media de cinco experimentos independientes $\pm$ SD. *Diferencias significativas, $P < 0,05$.

El incremento en la población celular G₀/G₁ fue principalmente a expensas de las células en fase S con una disminución mínima en la población celular G₂/M bajo el tratamiento con el compuesto **100**, mientras que las células expuestas a los compuestos **79** o **102** produjeron un incremento en la población G₀/G₁, principalmente a expensas de

la población celular en S y G₂/M (Figura 5.18a-b). Curiosamente, cuando las células se trataron con el compuesto **81** se observó un pico en la fase subG₁, indicando apoptosis (Figura 5.18a-b).

Expresión de reguladores de la progresión del CC

A lo largo de las diferentes fases de la progresión del ciclo celular, moléculas regulatorias, entre ellas ciclinas y quinasas dependientes de ciclinas (CDK) e inhibidores, son críticos en la decisión del destino celular. Por lo tanto, el siguiente paso fue evaluar si las alteraciones observadas en la progresión del CC se correlacionaban con las variaciones en la expresión de Ciclina B1 (CycB1, involucrada en los primeros eventos de la mitosis), CDK 4 y CDK 2 (actúan en la fase G₁ de CC) (Figura 5.19-b). La expresión de CycB1, CDK 4 y CDK2 disminuyó en células PC3 tratadas con los compuestos **79** (400 µM), **81** (200 µM) y **100** (10 µM) durante 24 h. Aunque el compuesto **102** (200 µM) produjo una regulación negativa de CycB1 y CDK2, no se detectaron alteraciones en los niveles de CDK4.

La técnica de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa con transcriptasa reversa (RT-qPCR) reveló una inducción significativa del mRNA de p21, cuando las células PC3 se trataron con los compuestos seleccionados (3,6; 16,1; 22,7; 24,9-veces más que el vehículo, para los compuestos **79**, **81**, **100** y **102**, respectivamente, Figura 5.19c). El gen p21 codifica a una proteína que es inhibidora de una ciclina dependiente de quinasa, uniéndose e inhibiendo los complejos CDK2 y CDK4. Por eso funciona como un regulador del progreso del ciclo celular a nivel de la fase G₁. P21 puede también inhibir la replicación de las células en la fase S. Por lo tanto, la inducción del mRNA de p21 promueve la detención del CC.

Curiosamente, los niveles de mRNA de las isoformas de células B de linfoma extra-large (Bcl-xl), miembros de la familia de proteínas Bcl-2, se redujeron significativamente 32 %, 45 %, 60 %, 76 % para **79**, **81**, **100** y **102** respectivamente (Figura 5.19c). Bcl-xl actúa como una proteína pro-supervivencia o antiapoptótica, cuya función es la de proteger a la célula de diversas alteraciones citotóxicas. Es un concepto bien establecido en el campo de la apoptosis que la conservación cruzada la familia de proteínas Bcl-2 de pro- y anti-supervivencia, definen si la célula sufrirá muerte celular.

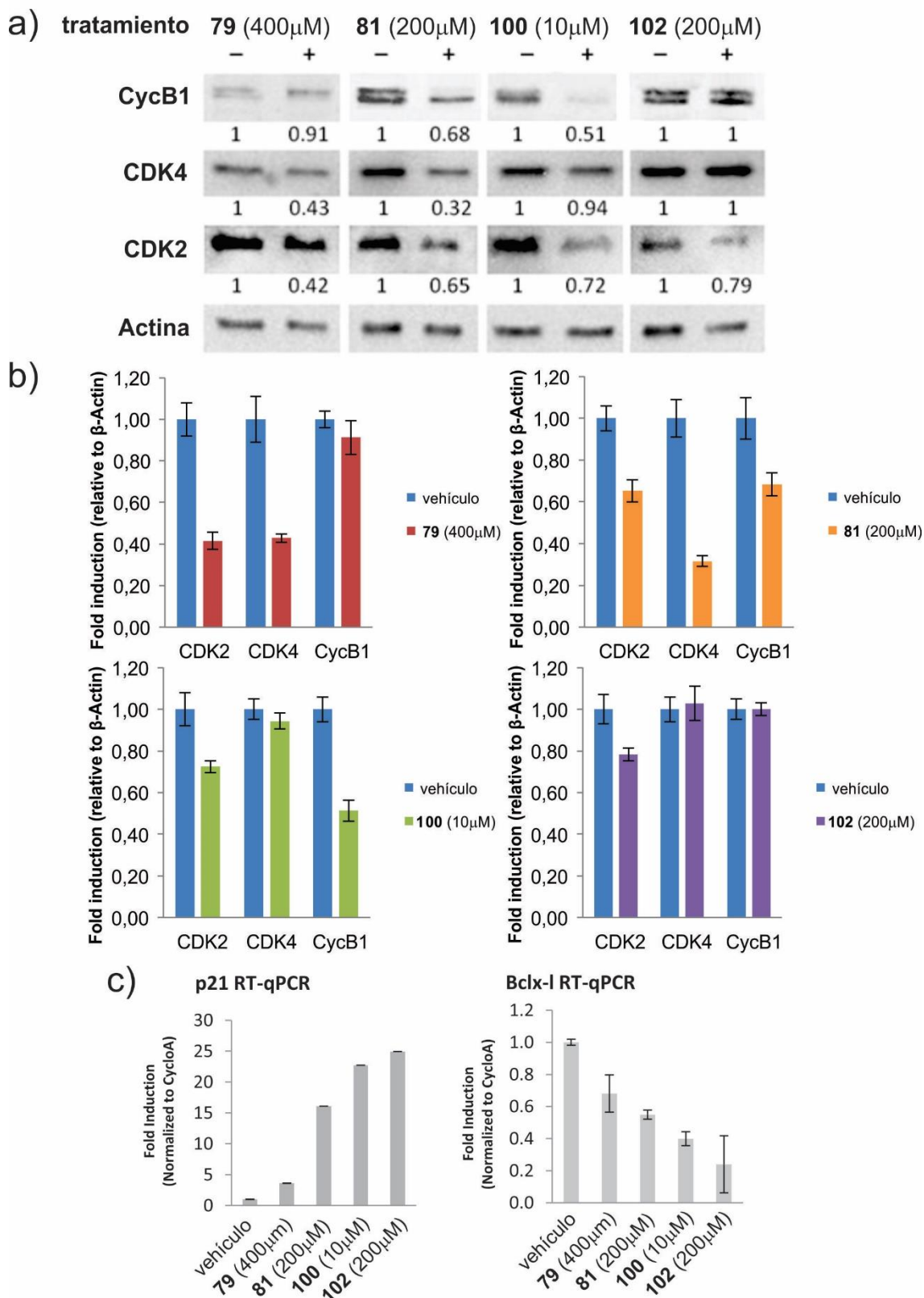


Figura 5.19 Efecto de los compuestos **79**, **81**, **100** y **102** sobre la expresión de reguladores de la progresión del ciclo celular en células PC3.

Las células fueron tratadas con **79** (400 μ M), **81** (200 μ M), **100** (10 μ M) y **102** (200 μ M) durante 24 h. Se expusieron los análisis por western blot que mostraron una expresión diferencial en los niveles de CycB1, CDK4, CDK2 y β -Actina p21 para una carga igual. Los números debajo de las bandas indican cuantificación (ImageJ software).

En conjunto, estos resultados mostraron que la exposición de células de cáncer de próstata PC3 a derivados 5-desoxi-5-S-(1,2,4-triazol-3-il)-2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósidos pueden correlacionarse con alteraciones diferenciales del ciclo celular y sugieren que la inhibición de la progresión del ciclo celular desregulado por éstos compuestos puede ser uno de los eventos moleculares asociados con la eficacia anticancerígena de estos derivados D-ribósidos en la carcinogénesis de próstata.

4. Conclusiones.

En este Capítulo, se mostró la síntesis y la caracterización física y espectroscópica de novedosos derivados di-heterocíclicos de D-ribofuranosa. Se obtuvieron **12** compuestos nuevos donde la diferencia con los obtenidos en el Capítulo anterior es la introducción de heterocícllos aromáticos (isoxazoles y triazoles) unidos a la posición anomérica del azúcar. Éstos compuestos, junto con algunos derivados previamente sintetizados fueron evaluados por su acción biológica sobre la línea celular de cáncer de próstata PC3. Cuatro de estos compuestos mostraron actividad inhibitoria, con valores de CI_{50} en el rango micromolar, induciendo en forma diferenciada la detención del ciclo celular. Curiosamente dos de ellos fueron también activos en los ensayos sobre la línea celular de linfoma T. Los derivados protegidos con ciclopentilidén resultaron más activos que los análogos con un grupo isopropilidén.

Referencias

- ¹ M. Baulac, *Epilepsy Res.* **2006**, 68S, S3–S9.
- ² M.L. Chavez, C.J. DeKorte, *Clin. Ther.* **2003**, 25, 817–851.
- ³ J.S. Smolen, J.R. Kalden, D.L. Scott, B. Rozman, T.K. Kvien, A. Larsen, I. Loew-Friedrich, C. Oed, R. Rosenburg, *Lancet* **1999**, 353, 259–266.
- ⁴ E.N. Da Silva Jr., B.C. Cavalcanti, T.T. Guimarães, M.C.F.R. Pinto, I.O. Cabral, C. Pessoa, L.V. Costa-Lotufo, M.O. de Moraes, C.K.Z. de Andrade, M.R. dos Santos, C.A. de Simone, M.O.F. Goulart, A.V. Pinto, *Eur. J. Med. Chem.* **2011**, 46, 399–410.
- ⁵ Ø.W. Akselsen, K. Odlo, J.-J. Cheng, G. Maccari, M. Botta, T.V. Hansen, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 234–242.
- ⁶ T.M. Beale, P.J. Bond, J.D. Brenton, D.S. Charnock-Jones, S.V. Ley, R.M. Myers, *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, 20, 1749–1759.
- ⁷ G.F. Busscher, S.A.M.W. van den Broek, F.P.J.T. Rutjes, F.L. van Delft, *Tetrahedron* **2007**, 63, 3183–3188.
- ⁸ G. Sureshkumar, S. Hotha, *Chem. Commun.* **2008**, 4282–4284.
- ⁹ M.L. Fascio, V.J. Montesano, N.B. D'Accorso, *J. Carbohydr. Chem.* **2000**, 19, 393–398.
- ¹⁰ T.V. Hansen, P. Wu, V.V. Fokin, *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 7761–7764.
- ¹¹ S. Tang, J. He, Y. Sun, L. He, X. She, *Org. Lett.* **2009**, 11, 3982–3985.
- ¹² F. Himo, T. Lovell, R. Hilgraf, V.V. Rostovtsev, L. Noodleman, K.B. Sharpless, V.V. Fokin, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 210–216.
- ¹³ L. Wang, X. Yu, X. Feng, M. Bao, *Org. Lett.* **2012**, 14, 2418–2421.
- ¹⁴ M. Hu, J. Li, S.Q. Yao, *Org. Lett.* **2008**, 10, 5529–5531.
- ¹⁵ S. Van Poecke, A. Negri, F. Gago, I. Van Daele, N. Solaroli, A. Karlsson, J. Balzarini, S. Van Calenbergh, *J. Med. Chem.* **2010**, 53, 2902–2912.
- ¹⁶ M.V. Yermolina, J. Wang, M. Caffrey, L.L. Rong, D.J. Wardrop, *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 765–781.
- ¹⁷ J.M. Pérez, P. Crosbie, S. Lal, S. Díez-González, *Chem. Cat. Chem.* **2016**, 8, 2222–2226.
- ¹⁸ R. Srinivasan, A.G. Coyne, C. Abell, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 11680–11684.
- ¹⁹ S. Park, S. Oh, T. Kim, J. Ham, S. Lee, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2016**, 37, 1364–1367.
- ²⁰ C. Sall, L. Dombrowsky, O. Bottzeck, A. Praud-Tabaries, Y. Blache, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, 21, 1493–1497.
- ²¹ D. Hanahan, R.A. Weinberg, *Cell* **2011**, 144, 646–674.

Capítulo 6

Síntesis de 5-aryl-1,2,4-oxadiazoles derivados de β -D-ribofuranósidos

1. Introducción.

En los Capítulos anteriores se demostró que ciertos requisitos deberían ser tenidos en cuenta para que este tipo de estructuras presenten actividad antiproliferativa. Por un lado, los ensayos sobre una línea celular de linfoma indicaron que la presencia del triazol unido por un azufre al carbono C-5 del anillo β -D-ribofuranósido había resultado más activo que el anillo de triazol-3-iona, cuando un mismo anillo isoxazolílico se unía a la porción anomérica del carbohidrato. Así, en este primer estudio se seleccionaron los compuestos **79** y **81** como posibles compuestos líderes (Figura 6.1).¹

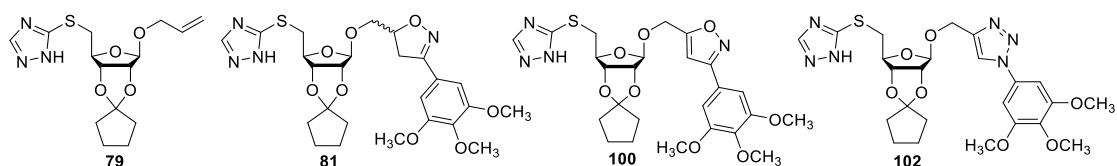


Figura 6.1 Estructura de los compuestos sintetizados que resultaron activos (**79**, **81**, **100** y **102**).

Por otra parte, se pudo comprobar que la presencia de un grupo protector de los hidroxilos en C-2 y C-3 resultaba esencial en la búsqueda de derivados activos. Es por eso que cuando se incorporaron anillos heterocíclicos aromáticos, tales como triazoles o isoxazoles, de reconocida importancia medicinal en lugar del anillo isoxazolílico unido al carbono anomérico, se probó un segundo grupo protector. En este caso, la actividad antiproliferativa fue testada frente a una línea celular de cáncer de próstata observando que los compuestos que previamente habían resultado eficientes para linfoma también resultaban activos contra esta nueva línea celular. Dos nuevos derivados **100** y **102** (Figura 6.1) presentaron actividad antiproliferativa. Sin embargo, la forma de acción de los compuestos resultó ser diferente tal como se evidenció en el estudio del ciclo celular. Por un lado, los compuestos **79**, **100** y **102** resultaron detener las células en la

fase G₀/G₁ del ciclo celular, mientras que el compuesto **81** indujo apoptosis.² El estudio del efecto que causan los compuestos sintetizados en el ciclo celular resulta interesante ya que el cáncer está relacionado con alteraciones y desregulaciones en alguna de las fases de este ciclo,³ tal como se describió en el Capítulo 1.

Intentado mejorar tanto la actividad como la selectividad de esta serie de compuestos, se propuso cambiar el anillo heterocíclico unido al carbono anomérico por un anillo 1,2,4-oxadiazólico, donde varían el tipo y cantidad de heteroátomos con respecto a los productos que presentaron actividad. Los oxadiazoles también forman parte de la estructura de medicamentos comerciales de comprobada actividad, tal como se discutió en la Sección 4.4 del Capítulo 1.

La Phidianidine B es un alcaloide indólico citotóxico aislado del molusco opistobranquio marino *Phidiana militaris* en 2011 y se cree que son los primeros productos naturales en contener un anillo de 1,2,4-oxadiazol.⁴ Aunque no resulta tóxico para las células normales del riñón epitelial humano (HEK293), es un potente inhibidor del crecimiento de la línea celular HeLa de cáncer cervico-uterino humano y de las líneas celulares tumorales de glioma de rata C6 (CI₅₀ de 0,4 a 1,5 μ M). Si se compara el producto natural con el compuesto a sintetizar, la posición de algunos de los heteroátomos podría asemejarse al producto natural Phidianidina B (Figura 6.2) y por lo tanto podría interactuar de manera similar con los sitios de unión.

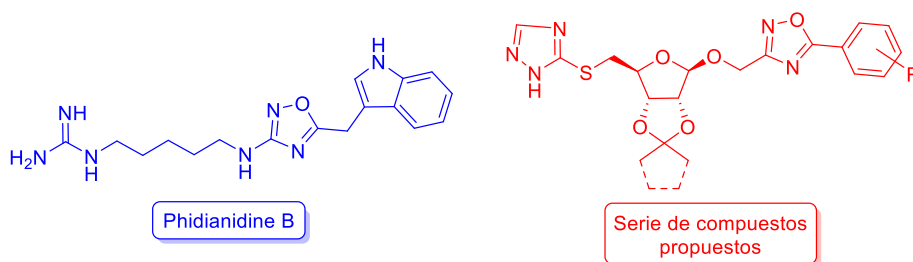


Figura 6.2 Similitud de las estructuras de la Phidianidine B y de los compuestos a sintetizar.

En el presente Capítulo se discutirá el desarrollo sintético propuesto para obtener dos series de derivados con anillos 1,2,4-oxadiazólicos: la Serie 1, en donde el cambio se centra en el anillo oxadiazólico y además se incorporan otros grupos sustituyentes del anillo aromático (como NO₂ y Cl); y la Serie 2 donde además de los cambios mencionados en la Serie 1, se modifica también el heterociclo en la posición cinco por

un anillo tiadiazólico, llevando un grupo hidrofílico unido al heterociclo (Figura 6.3). En ambos casos se sintetizaron los isopropilidén y ciclopentilidén derivados.

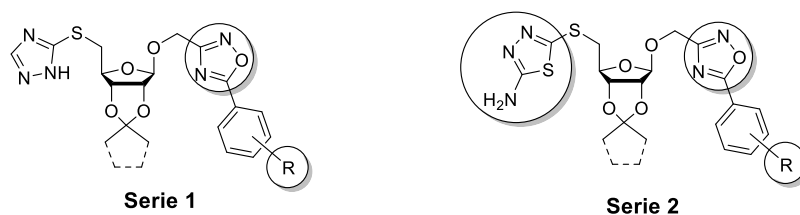


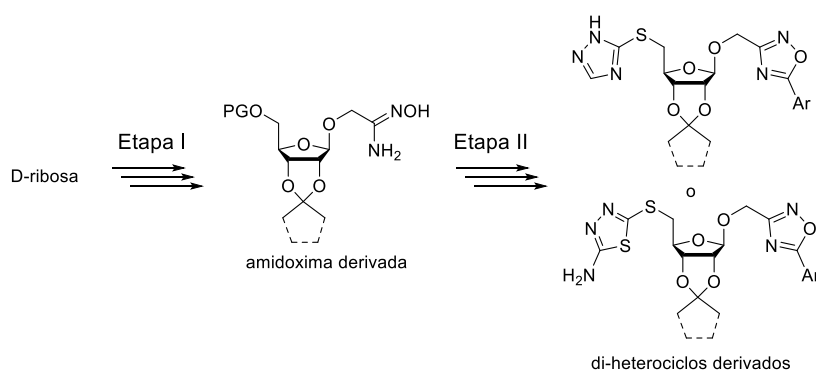
Figura 6.3 Estructura de las dos Series de compuestos sintetizados en el presente Capítulo.

Los compuestos de las Series 1 y 2 serán evaluados sobre un panel de seis líneas celulares, donde además se incluirán algunos de los compuestos sintetizados previamente.

2. Resultados y discusión.

Se diseñó una nueva ruta sintética para incorporar un anillo 1,2,4-oxadiazólico a la unidad de β -D-ribofuranosa. Este nuevo heterociclo se obtendrá a partir de la condensación de una amidoxima con un haluro de ácido, tal como se discutió en la Sección 4.2 del Capítulo 2.

Por este motivo, se dividirá la ruta sintética en dos etapas. La primera comprende la transformación de la D-ribosa comercial para generar el precursor (amidoxima) del anillo 1,2,4-oxadiazólico, mientras que la segunda está relacionada con la síntesis del anillo 1,2,4-oxadiazólico y posterior introducción del segundo anillo heterocíclico seleccionado para cada serie (Esquema 6.1).



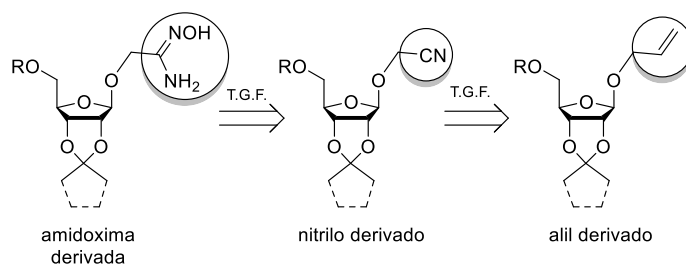
Esquema 6.1 Dos etapas propuestas para la síntesis de las series di-heterocíclicas con 1,2,4-oxadiazoles.

La primera etapa es común a todos los derivados de la librería propuesta. La segunda etapa, utiliza los diferentes haluros de ácido (que se sintetizarán previamente) para la obtención de los 1,2,4-oxadiazoles y la posterior sustitución por los dos tioheterociclos seleccionados.

Describiremos primero el análisis desarrollado para la síntesis de la amidoxima unida a la posición anomérica de la D-ribosa.

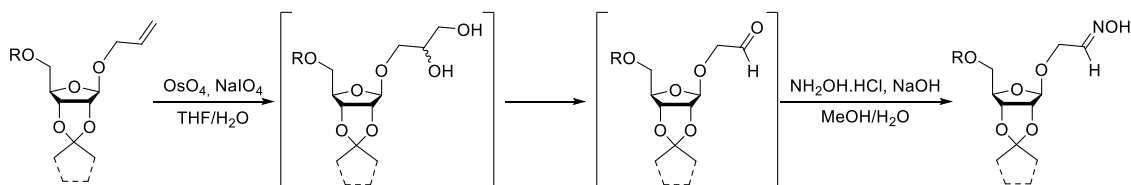
2.1. Etapa I: Síntesis de la amidoxima precursora derivada de D-ribosa.

Dado que la metodología elegida para obtener 1,2,4-oxadiazoles implica partir de un grupo amidoxima y un cloruro de ácido, se plantea como análisis retrosintético el Esquema 6.2, donde la amidoxima derivada puede obtenerse a partir un nitrilo precursor, y éste a su vez sintetizarse a partir de un alil derivado (como fue descripto en el Capítulo 4) mediante reacciones de transformación de grupos funcionales.



Esquema 6.2 Camino retrosintético para la obtención de la amidoxima derivada.

El primer paso del camino sintético propone entonces la síntesis de la oxima a partir del alil derivado (Esquema 6.3).



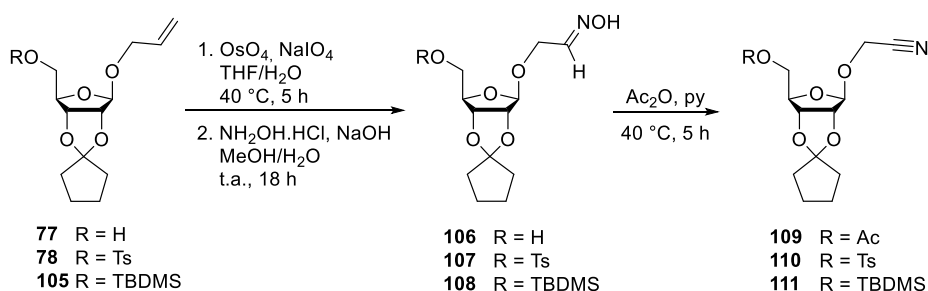
Esquema 6.3 Camino sintético para la obtención de la oxima derivada a partir del alil derivado.

La oxidación del doble enlace del alil β -D-ribofuranósido de partida con tetróxido de osmio y periodato de sodio permite obtener el aldehído derivado, en un único paso sintético. En primera instancia se genera el diol con el tetróxido de osmio, que reacciona con el periodato de sodio para dar el aldehído respectivo. El periodato cumple la doble

función de regenerar el tetróxido de osmio utilizado en cantidades catalíticas y oxidar el diol formado en el medio de reacción. El crudo de reacción sin purificar se trata con hidroxilamina en una mezcla de metanol/agua para dar la oxima derivada.

2.1.1. Grupo protector en la posición cinco de la β -D-ribofuranosa.

El hidroxilo en posición cinco de la β -D-ribofuranosa podría estar protegido o no (Esquema 6.4). Para poder evaluar qué sustituyente es mejor a lo largo del camino sintético, se probaron los siguientes alil derivados: a) con el hidroxilo en su forma libre (compuesto **77**, ver Capítulo 4); b) como tosil derivado (compuesto **78**, ver Capítulo 4); y como *tert*-butildimitilsilil (TBDMS)⁵ derivado (compuesto **105**, cuya síntesis se encuentra descrita en el Capítulo 8 de Técnicas Experimentales).



Esquema 6.4 Evaluación del grupo protector en posición cinco de la β -D-ribofuranosa.

A partir de los alil derivados (**77**, **78** y **105**) se realizó la síntesis de las oximas derivadas **106**, **107** o **108** bajo las mismas condiciones de reacción (ver Esquema 6.4). El segundo paso en el camino sintético es la formación del nitrilo derivado **109**, **110** y **111** por tratamiento de la oxima derivada correspondiente con anhídrido acético en piridina. La deshidratación se realizó bajo las mismas condiciones de calentamiento a 50°C durante 5 horas. En el caso del derivado **109**, el hidroxilo de C-5 del hidrato de carbono queda protegido con un grupo acetato.

La caracterización física y espectroscópica de los compuestos **106-111** se encuentra detallada en el Capítulo 8. Aquí solo se analizarán los resultados obtenidos en base a rendimientos, con el objetivo de definir el sustituyente en la posición cinco de la β -D-ribofuranosa. En la Tabla 6.1 se encuentran detallados los rendimientos de estos dos pasos de reacción para los tres derivados con los diferentes sustituyentes.

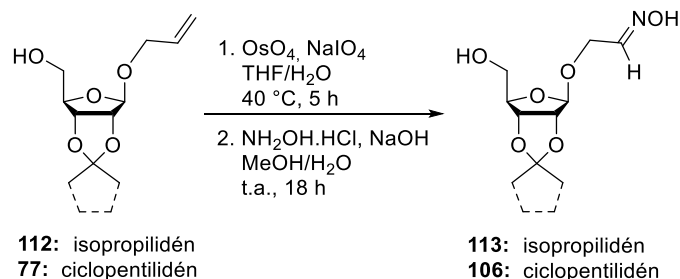
R	Rendimiento (%)	
	oxima derivada	nitrilo derivado
H	60	56
Ts	62	17
TBDMS	59	21

Tabla 6.1 Comparación de los rendimientos en la obtención de oxima y nitrilo derivados.

La obtención de la oxima presentó rendimientos bastante similares para todos los derivados, pero existen diferencias para el nitrilo. Los mejores resultados se obtuvieron cuando el sustituyente es un hidrógeno (56%), es decir, partiendo del alil derivado sin proteger (**77**). Teniendo en cuenta estos resultados, se continuó con el camino sintético como se muestra a continuación.

2.1.2. Síntesis de 2'-(hidroxiimino)etil derivados de β -D-ribofuranosa.

Los 2'-(hidroxiimino)etil derivados **113** y **106** se obtuvieron a partir de los alil derivados correspondientes (**112** y **77**) con rendimientos moderados (57 % y 60 % respectivamente) y utilizando un único paso de purificación (Esquema 6.5).



Esquema 6.5 Reacción de obtención de las oximas derivadas **113** y **106**.

Los espectros de resonancia magnética nuclear de los derivados **113** y **106**, mostraron las señales correspondientes a la unidad de D-ribofuranosa y sus desplazamientos químicos resultaron similares a los ya analizados en Capítulos anteriores.

A modo de ejemplo, en el espectro protónico del compuesto **113** (Figura 6.4) pueden observarse las señales diagnósticas del hidrógeno de la oxima *anti* a 6,90 ppm y *syn* a 7,49 ppm (H-2'), siendo ésta última la mayoritaria en concordancia con lo descrito en bibliografía.⁶ También pueden asignarse el protón del hidroxilo del grupo oxima a desplazamientos químicos de 8,71 ppm (oxima *anti*) y 8,85 ppm (oxima *syn*).

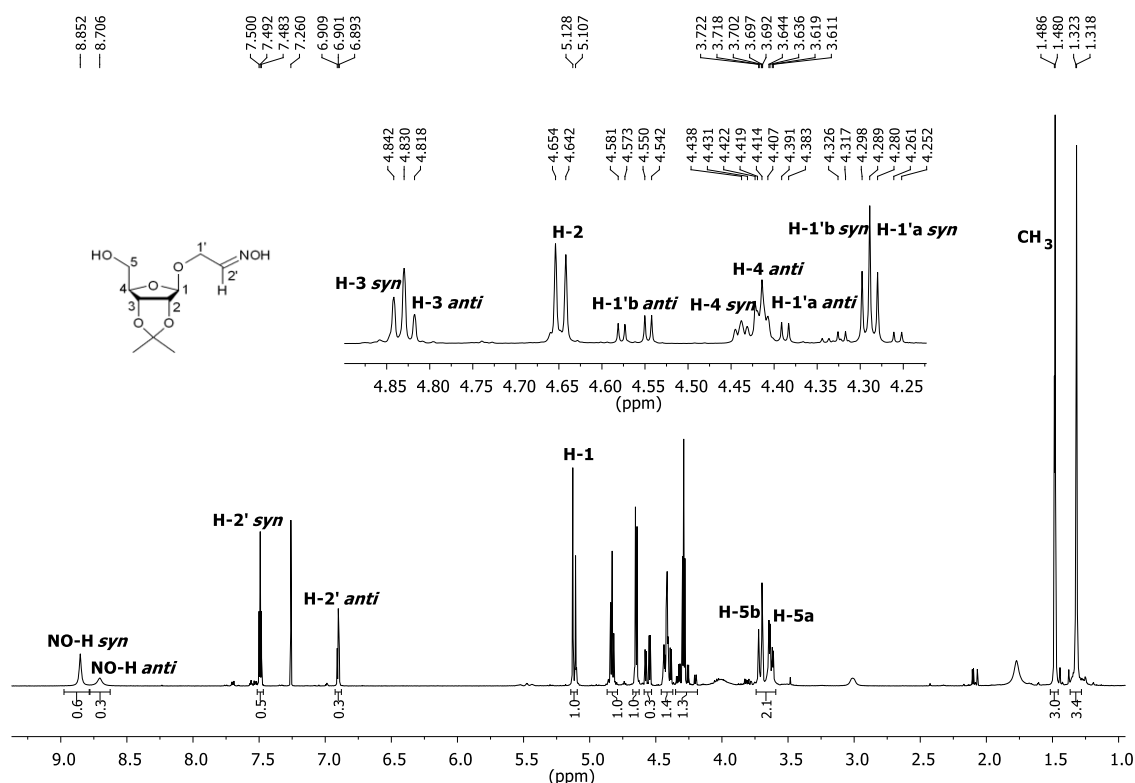


Figura 6.4 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para el compuesto **113**.

La formación de las oximas *syn* y *anti* también se puede corroborar en los espectros de RMN-¹³C. En la Figura 6.5 se observan las señales a δ 147,3 ppm para la oxima *syn* y δ 149,2 ppm para la *anti*.⁷

La asignación de los protones y los carbonos fue posible a partir de los espectros bidimensionales de COSY y HSQC, respectivamente (ver Figura 6.6).

En el espectro COSY pueden observarse cuatro señales características de los acoplamiento: dos de ellas correspondientes para el hidrógeno H-2'_{syn} (a δ 7,49 ppm) con los hidrógenos H-1'a_{syn} y H-1'b_{syn} (a δ 7,28 ppm y 7,29 ppm, respectivamente); y otros dos acoplamiento para el H-2'_{anti} (a δ 6,90 ppm) con los correspondientes H-1'a_{anti} y H-1'b_{anti} (a δ 4,40 ppm y 4,56 ppm, respectivamente).

En el espectro HSQC las señales diagnósticas fueron las correspondientes al acoplamiento entre el hidrógeno H-2' y la señal de carbono C=N. En el caso del isómero *syn* la señal se observa a δ 7,49 ppm en protón y a δ 147,3 ppm para carbono y en el isómero *anti* a δ 6,90 ppm en protón y δ 149, 1 ppm para carbono.

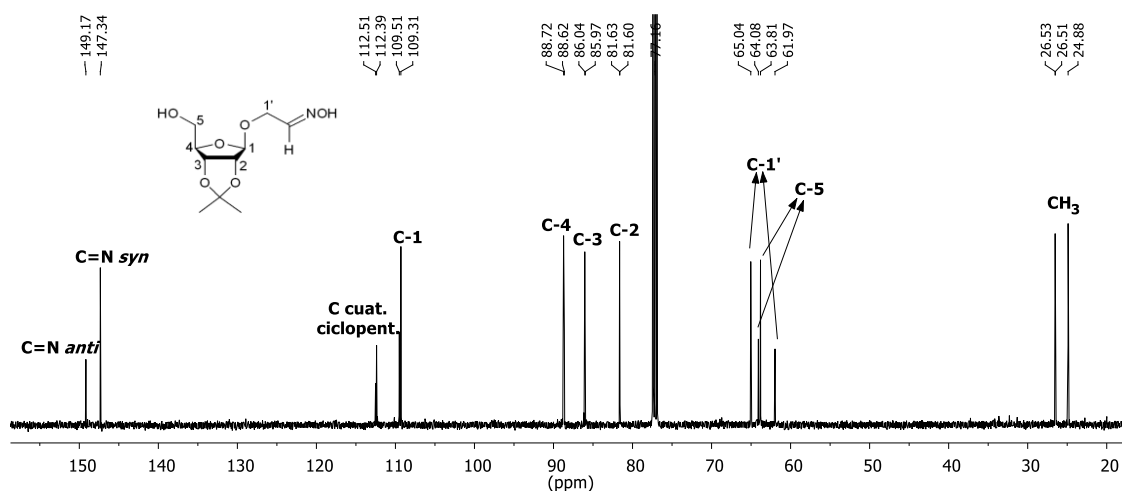


Figura 6.5 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **113**.

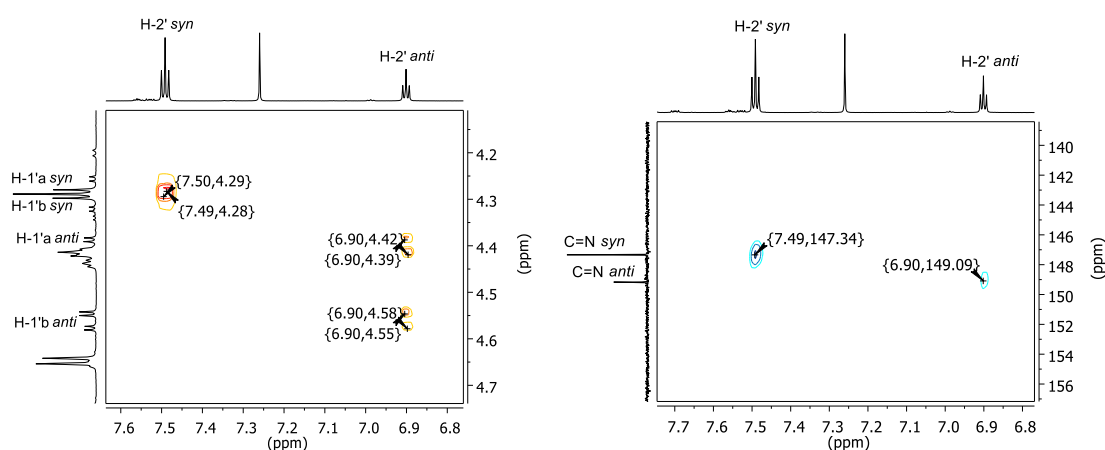


Figura 6.6 Espectro de COSY (izquierda) y HSQC (derecha) para el compuesto **113**.

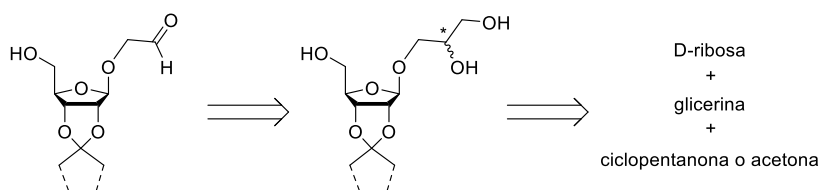
Los espectros correspondientes al compuesto **106** se encuentran en las Figura 2.1 y 2.2 en la Sección de Espectros Adicionales y se adjudica en forma similar al compuesto **113**. En la Tabla 6.2 se encuentran resumidos los valores para las señales diagnósticas de los compuestos **113** y **106**.

Compuesto	RMN- ^1H (ppm)				RMN- ^{13}C (ppm)	
	NO-H <i>syn</i>	NO-H <i>anti</i>	H-2' <i>syn</i>	H-2' <i>anti</i>	C=N <i>syn</i>	C=N <i>anti</i>
113	8,85	8,76	7,49 ($J_{2'1'} = 4,5$ Hz)	6,90 ($J_{2'1'} = 4,0$ Hz)	147,3	149,2
106	9,45	9,39	7,47 ($J_{2'1'} = 4,4$ Hz)	6,89 ($J_{2'1'} = 4,0$ Hz)	147,3	149,1

Tabla 6.2 Desplazamientos químicos para las señales de oxima en los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C para los compuestos **113** y **106**.

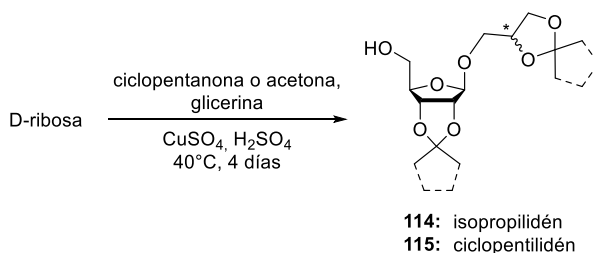
2.1.3. Otra forma de obtención de 2'-(hidroxiimino)etil derivados.

Debido a que el camino sintético planteado hasta el momento implica el uso y manejo de reactivos tóxicos, caros y no siempre accesibles como el tetróxido de osmio, se pensó en una nueva ruta sintética alternativa con el uso de reactivos que sean más amigables con el medio ambiente. Así, se propuso un camino retrosintético donde el aldehído pueda provenir de un diol derivado, el cual podría obtenerse de reactivos sencillos y más inocuos tales como D-ribosa, glicerina y ciclopentanona o acetona (Esquema 6.6).



Esquema 6.6 Camino retrosintético para la obtención del derivado aldehídico.

El primer paso sintético en la preparación del diol intermediario, es una triple protección de D-ribosa. Cuando se deja reaccionar la D-ribosa en presencia de glicerina y una cetona (acetona o ciclopentanona) en medio ácido, se produce simultáneamente la protección de los hidroxilos 2 y 3 de la ribosa y de dos hidroxilos de la glicerina con la cetona elegida, mientras que se genera el cetal correspondiente en posición 1 con el hidroxilo restante de la glicerina para dar los compuestos **114** o **115** en una única etapa. Aunque el ribósido derivado se obtiene casi con exclusividad en la configuración β (ver Esquema 6.7), se genera un par de diastereoisómeros debido al centro asimétrico incorporado en el fragmento del glicerol.



Esquema 6.7 Síntesis del derivado diprotegido de D-ribosa.

Si bien los rendimientos de este primer paso de reacción resultaron ser bajos, 25 % y 34 % para el derivado protegido con acetona (**114**) y con ciclopentanona (**115**) respectivamente, la reacción es limpia y no utiliza reactivos difíciles de manipular.

Los compuestos **114** y **115** fueron aislados por cromatografía en columna y caracterizados mediante espectroscopía de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C .

En el espectro protónico del compuesto **114** (Figura 6.7), puede observarse que los hidrógenos correspondientes a la D-ribose presentan desplazamientos químicos similares a los analizados en Capítulos anteriores. En este caso, además, las señales de dichos hidrógenos se encuentran duplicadas debido a la mezcla de dos diastereoisómeros dados por el nuevo centro asimétrico del C-2'. Las señales diagnósticas que comprueban la formación de este compuesto están dadas por los H-1', H-2' e H-3' que forman parte del fragmento derivado del glicerol. Para cada uno de los diastereoisómeros se calculó un porcentaje teniendo en cuenta las integraciones de los hidrógenos homólogos de cada diastereoisómero.

Los desplazamientos químicos asociados a estos hidrógenos se encuentran detallados en la Tabla 6.3. Las asignaciones se realizaron mediante correlaciones a partir del espectro bidimensional COSY. Como se mencionó anteriormente, los dos diastereoisómeros corresponden a la configuración β de la D-ribose determinado tanto por los desplazamientos químicos como por la ausencia de constante de acoplamiento entre en H-1 y el H-2.

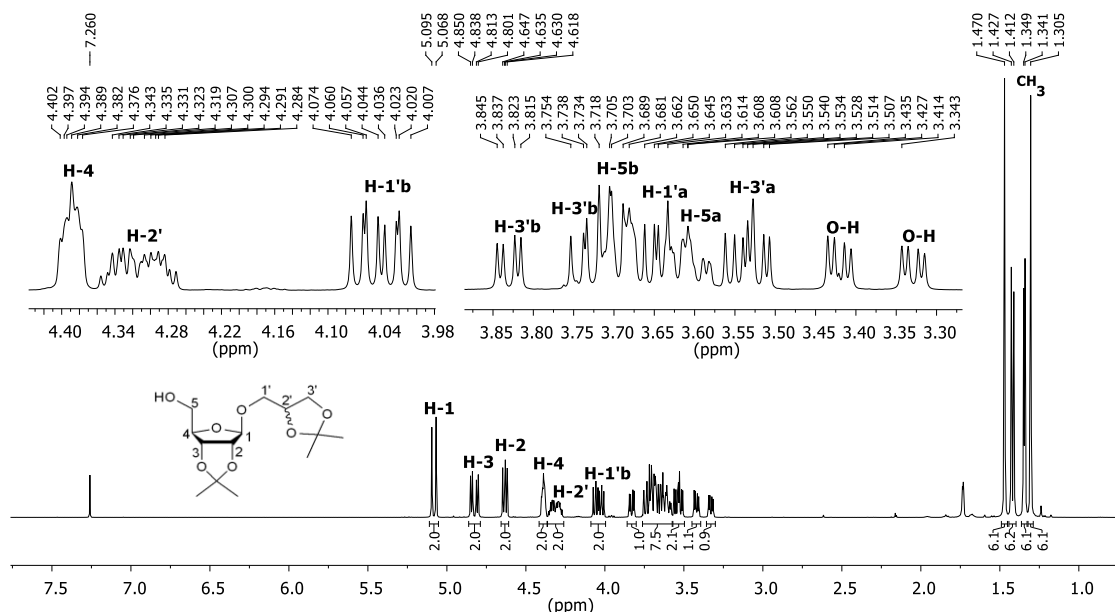


Figura 6.7 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **114**.

Si se analizan las señales correspondientes a los metilos de los grupos isopropilidenos (Figura 6.7), los hidrógenos de los metilos que forman parte del isopropilidén que protege las posiciones 2 y 3 del azúcar aparecen como dos singuletes a δ 1,30 ppm y δ 1,47 ppm, mientras que los hidrógenos de los metilos pertenecientes a la porción proveniente del glicerol se encuentran duplicados a δ 1,43; 1,41; 1,35 y 1,34 ppm debido al centro asimétrico en el C-2'.

El análisis del espectro de RMN-¹H del derivado **115** es manera similar al análogo **114**. (ver Figura 2.3 en Espectros Adicionales) y algunos valores están detallados en la Tabla 6.3. Dado que los hidrógenos correspondientes a los metilenos del anillo ciclopentilideno aparecen a δ entre 1,65 ppm y 1,93 ppm y no se distinguen como en **114**, la integración de dicha señal confirmó la protección de los dos dioles vecinales.

compuesto	%	RMN- ¹ H (ppm)						RMN- ¹³ C (ppm)		
		H-1'a	H-1'b	H-2'	H-3'a	H-3'b	O-H	C-1'	C-2'	C-3'
114 may.	53	3,65	4,06	4,30	3,52	3,74	3,42	66,2	74,3	69,3
114 min.	47	3,71-3,67	4,02	4,33	3,55	3,83	3,33	66,0	74,4	68,7
115 may.	63	3,68	3,96	4,33	3,56	3,82	3,35	65,9	74,1	69,0
115 min.	37	3,62	3,99	4,30	3,52	3,75	3,44	66,1	74,0	69,2

Tabla 6.3 Desplazamientos químicos para las señales de la porción derivada del glicerol en los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C para los compuestos **114** y **115**.

En el espectro de RMN-¹³C del compuesto **114** se observa que la mayoría de las señales están duplicadas excepto para los carbonos C-2 y C-3 (Figura 6.8). Las señales diagnósticas que confirman la formación del compuesto son las correspondientes a los C-1', C-2' y C-3', que se resumen en la Tabla 6.3. Por el espectro de HSQC se pudieron asignar las señales de los carbonos de los metilos de los grupos isopropilidén que forman parte del hidrato de carbono a δ 24,8; 24,9 y 26,5 ppm, así como las que forman parte del resto del glicerol a δ 25,3; 25,4; 26,6 y 26,8 ppm.

Con respecto al espectro de RMN-¹³C del compuesto **115** protegido con ciclopentilidén, se realizó un análisis similar y las señales diagnósticas correspondientes al glicerol se encuentran en la Tabla 6.3. Los carbonos del anillo ciclopentilideno se observan a desplazamientos químicos entre 23,3 y 36,5 ppm (ver Figura 2.4 en la Sección de Espectros Adicionales).

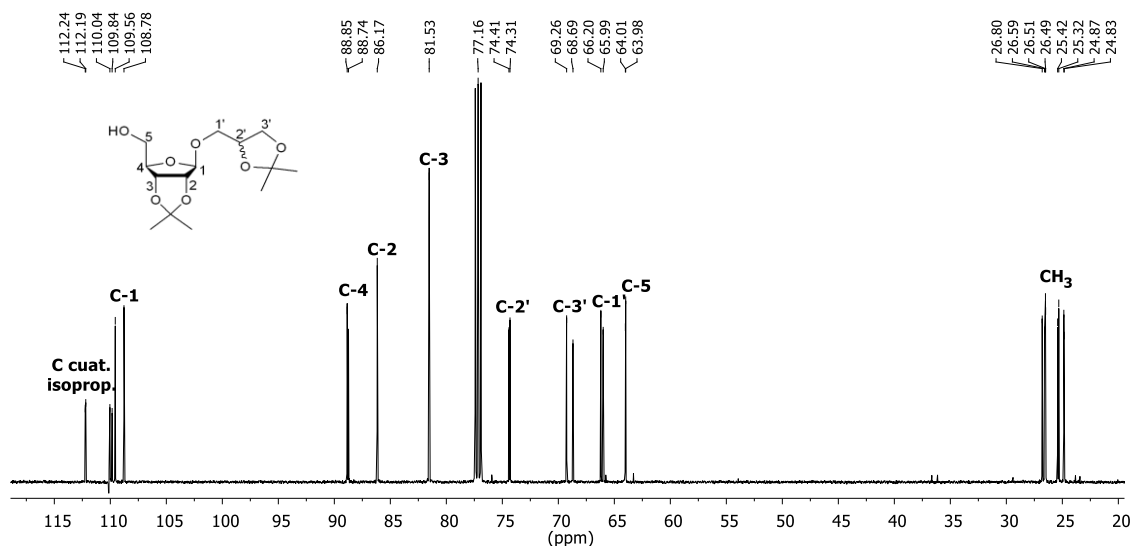
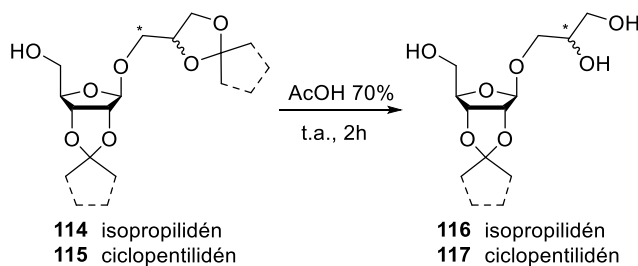


Figura 6.8 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **114**.

El siguiente paso de reacción consistió en la desprotección selectiva del grupo isopropilideno o ciclopentilideno del residuo del glicerol. La reacción se llevó a cabo utilizando ácido acético 70 % a temperatura ambiente durante 2 horas (ver Esquema 6.8), obteniéndose el diol derivado con altos rendimientos (90 % y 89 % para los compuestos **116** y **117** respectivamente).



Esquema 6.8 Reacción para la obtención de los dioles derivados.

Los compuestos desprotegidos fueron caracterizados mediante sus espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C . Nuevamente, en los espectros tanto protónicos como de carbono de los derivados **116** y **117** pueden observarse la mayoría de las señales duplicadas debido a la presencia del centro asimétrico (ver Figura 6.9).

En el espectro protónico del diol derivado (**116**) se observan las señales correspondientes a la D-ribofuranosa a desplazamientos químicos similares a su precursor doblemente protegido. De las integraciones de los hidrógenos puede calcularse el porcentaje de cada uno de los isómeros en la mezcla, el cual coincide con

el porcentaje calculado para el precursor (**114**), 54 % y 46 % para los isómeros mayoritario y minoritario respectivamente.

Sin embargo, las señales correspondientes a la porción del glicerol presentan un corrimiento hacia campos más altos. La señal correspondiente al H-2' aparece a desplazamientos químicos entre 3,91-3,96 ppm (4,30 y 4,33 ppm para **114**), los hidrógenos H-1'a a δ 3,57 y 3,58 ppm (3,65 y 3,67-3,71 ppm para **114**) y los hidrógenos H-1'b a δ 3,74 y 3,83 ppm (4,02 y 4,06 ppm para **114**). Sólo dos singuletes asignados a los hidrógenos de los metilos del grupo isopropilidén unido a la D-ribosa se observan en el espectro (δ 1,31 y 1,48 ppm) comprobándose la ausencia de un segundo grupo protector. La asignación de los carbonos fue confirmada por la realización del espectro HSQC.

El análisis del espectro de RMN- ^1H del análogo derivado con ciclopentilidén (**117**) es similar al del diol **116**. La eliminación de un grupo ciclopentilideno se comprobó a partir de la integración de los hidrógenos (8H) y se corroboró que corresponde a la unidad de glicerol debido a los desplazamientos a campos altos del hidrógeno H-2' (δ 3,87 ppm) respecto de su precursor **115** (δ 4,30 ppm y 4,33 ppm para los isómeros mayoritario y minoritario respectivamente). El análisis de los hidrógenos H-3' no fue posible dado que no pudo calcularse correctamente su desplazamiento químico (ver Figura 2.5 en la Sección de Espectros Adicionales).

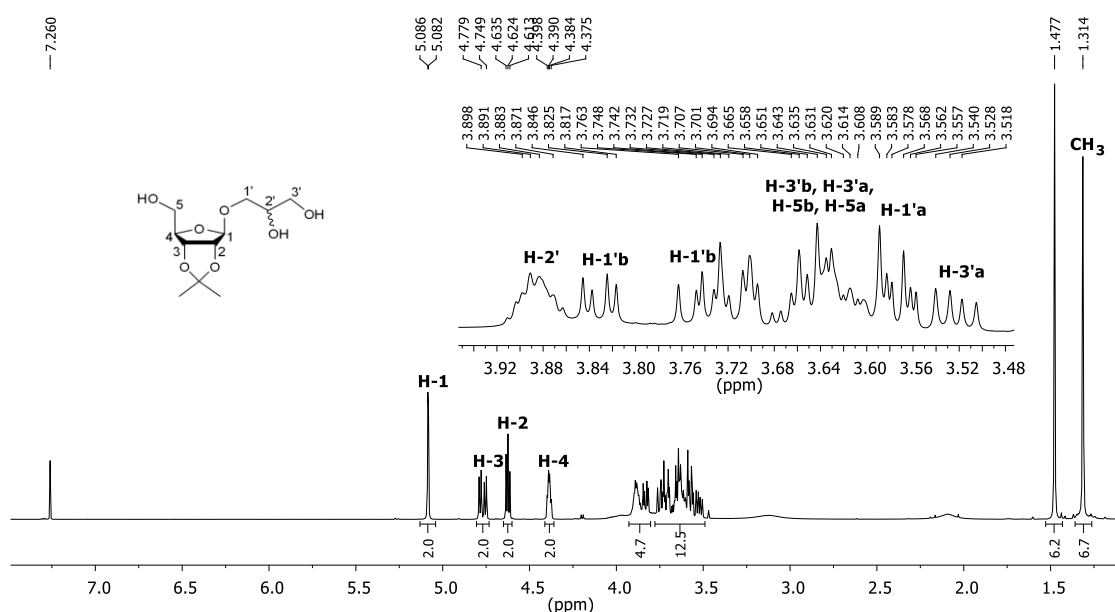


Figura 6.9 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **116**.

En el espectro de carbono del diol **116** que se muestra en la Figura 6.10 se muestran las adjudicaciones de las señales realizadas y confirmadas por el espectro HSQC. Las señales de los carbonos de la porción del glicerol presentan corrimientos de las señales de los carbonos C-2' y C-3' a campos más altos y del C-1' a campos más bajos, respecto del derivado diprotegido (ver valores en la Tabla 6.4). Nuevamente sólo se observan dos señales correspondientes a los metilos del grupo protector del D-ribósido (δ 24,9 y 26,5) ppm y una única señal duplicada del carbono cuaternario del grupo isopropilideno a δ 112,4 ppm.

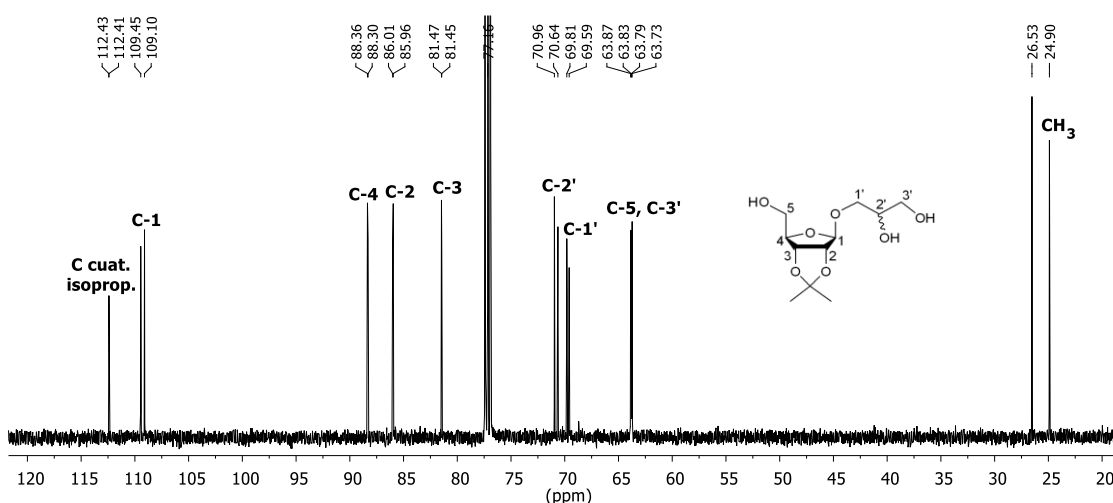


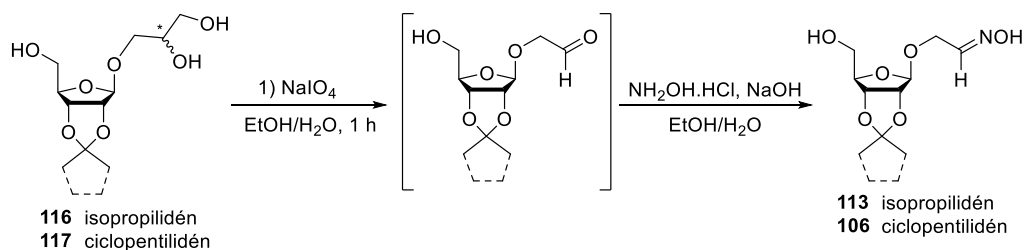
Figura 6.10 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para el compuesto **116**.

compuesto	RMN- ¹³ C (ppm)				
	C-1'	C-2'	C-3'	C cuat. isoprop./ciclop.	CH ₃ /CH ₂
116	69,6 y 69,8	70,6 y 71,0	63,7-63,9	112,4 (2)	24,9 y 26,5
114	66,0 y 66,2	74,3 y 74,4	68,7 y 69,3	109,8; 110,0 y 112,2 (2)	24,8; 24,9; 25,3; 25,4; 26,5 (2); 26,6 y 26,8
117	69,5 y 69,6	70,0 y 70,7	63,8-63,7	122,0 (2)	23,3 (2); 23,4 (2); 23,7 (2); 23,8 (2); 35,8 (2); 36,1 (2); 36,4 y 36,5
115	65,9 y 66,1	74,0 y 74,1	69,0 y 69,2	119,7; 119,9; 121,8 y 121,9	23,2; 23,7; 35,8 (2)

Tabla 6.4 Desplazamientos químicos para las señales características en los espectros RMN-¹³C para los compuestos **116** y **117**.

El análogo protegido con ciclopentilidén (**117**) se analizó de manera similar y las señales diagnósticas correspondientes a los C-1', C-2' y C-3' presentan corrimientos similares a los del compuesto **116**, como puede observarse en la Tabla 6.4. También se corrobora la ausencia de las señales correspondientes al grupo ciclopentilidén que protegía la porción del glicerol. El espectro del compuesto **117** se encuentra en la Figura 2.6 de la Sección de Espectros Adicionales.

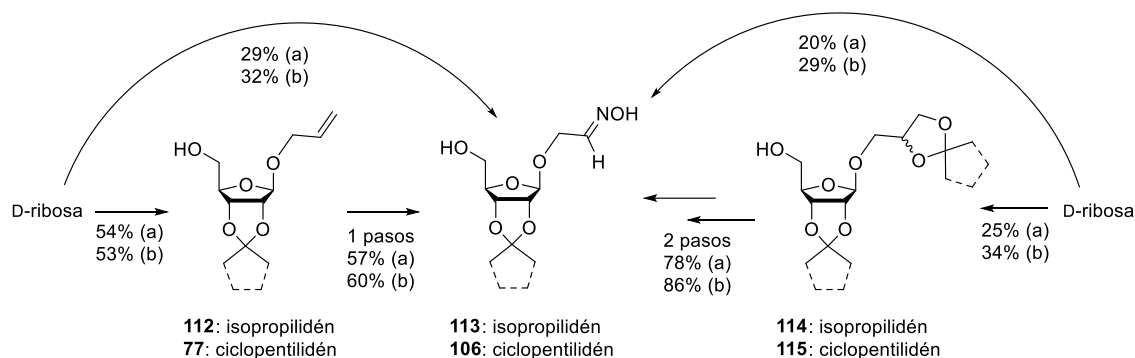
Para obtener el aldehído derivado se oxidó el diol correspondiente con periodato de sodio en una mezcla de etanol/agua (Esquema 6.9). Este producto se intentó purificar, pero resultó ser inestable ya que se recuperaba una menor cantidad de masa probablemente debido a degradaciones dentro de la columna. Por este motivo, se realizaron los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C del producto de reacción sin purificar donde pudieron observarse la señal característica del grupo aldehído.



Esquema 6.9 Camino sintético para la obtención de la oxima derivada a partir del diol derivado.

Se decidió entonces continuar la ruta sintética sin purificación previa del aldehído obtenido. Dicho compuesto se disolvió en una mezcla de etanol/agua 1:1 y luego se agregó la hidroxilamina disuelta en la misma mezcla de solventes. La reacción se dejó agitando a temperatura ambiente hasta comprobar la ausencia del reactivo de partida (ver Esquema 6.9). Las oximas **113** y **106** se obtuvieron con buenos rendimientos (87% y 97% respectivamente, en los dos pasos de reacción). La caracterización espectroscópica de las oximas derivadas obtenidas por esta metodología coincidió con los datos obtenidos previamente utilizando un único paso de reacción.

En este punto del camino sintético es interesante analizar las diferentes metodologías utilizadas en la obtención de las oximas derivadas **113** y **106**. En el Esquema 6.10 puede observarse los rendimientos globales partiendo de la D-ribosa para ambas síntesis realizadas.

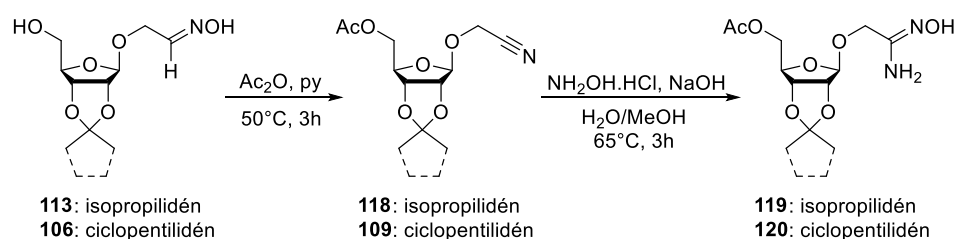


Esquema 6.10 Comparación de los rendimientos en la obtención de las oximas derivadas **113** y **106**.

Si bien el rendimiento global del primer camino sintético es algo superior al desarrollado posteriormente, es importante destacar que de esta manera se evita el uso de reactivos tóxicos como el tetróxido de osmio por lo que resulta una vía algo más amigable con el medio ambiente. Además, el paso de diprotección que baja el rendimiento del segundo esquema sintético, genera productos reutilizables por lo que el rendimiento podría considerarse superior a lo informado.

2.1.4. Síntesis de nitrilo y amidoxima derivados de β -D-ribofuranósidos.

La amidoxima, el objetivo de la etapa I, puede obtenerse fácilmente a partir de la oxima (Esquema 6.11).



Esquema 6.11 Camino sintético para la obtención de los derivados 2-amino-2-(hidroxiimino)etil a partir de las oximas.

En primera instancia se sintetizaron los cianometil derivados **118** y **109** por tratamiento de las oximas correspondientes con anhídrido acético en piridina a 50 °C durante 3 horas. Dado que en la deshidratación de la oxima para obtener el nitrilo se utiliza anhídrido acético, el hidroxilo de C-5 del hidrato de carbono queda protegido con un grupo acetato. Los compuestos **118** y **109** se obtuvieron con rendimientos de buenos a moderados, 73 % y 57 % respectivamente.

Los nitrilos derivados fueron purificados por cromatografía en columna de sílica gel y fueron caracterizados espectroscópicamente por RMN- ^1H y RMN- ^{13}C .

El espectro protónico correspondiente al cianometil **118** muestra las señales correspondientes a los hidrógenos H-1' como un doblete a δ 4,26 ppm y 4,30 ppm con una constante de acoplamiento geminal de 16,0 Hz. También podemos observar la aparición de una señal a δ 2,09 ppm para los hidrógenos del metilo del acetilo (Figura 6.11).

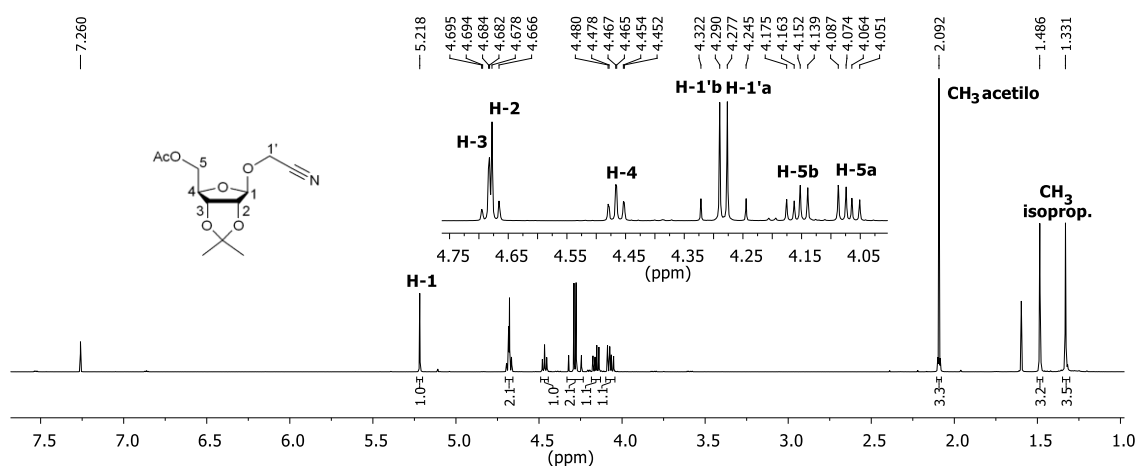


Figura 6.11 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **118**.

En los espectros de RMN- ^{13}C pueden observarse las señales características diagnósticas del carbono del $\text{C}\equiv\text{N}$ a δ 115,5 ppm y la correspondiente al $\text{C}=\text{O}$ del grupo acetilo a δ 170,6 ppm (Figura 6.12). La señal correspondiente al C-1' se desplaza a campos más altos (δ 52,2 ppm) debido a los efectos anisotrópicos del grupo ciano.

Los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C del compuesto **109** son similares y se encuentran en las Figuras 2.7 y 2.8 de la Sección de Espectros Adicionales.

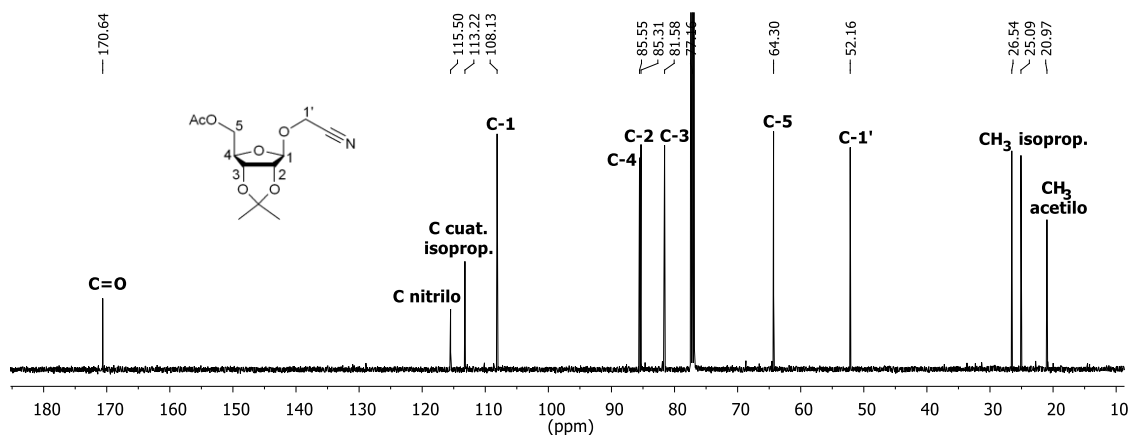


Figura 6.12 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **118**.

Finalmente, se obtuvieron los derivados 2-amino-2-(hidroxiimino)etil refluendo una solución metanólica del cianometil correspondiente durante 3 horas en presencia de hidroxilamina. Los rendimientos de este paso de reacción fueron muy buenos (89 % para **119** y 87 % para **120**) pudiendo acceder a uno de los precursores necesarios para la síntesis de los 1,2,4-oxadiazoles en 5 pasos de síntesis y con un rendimiento global del 11 % y 17 % para los derivados **119** y **120** respectivamente.

La formación del derivado 2-amino-2-(hidroxiimino)etil **119** se pudo verificar mediante el espectro de resonancia magnética nuclear protónica (Figuras 6.13), en donde puede observarse la señal ancha correspondiente a los hidrógenos del N-H a 4,84 ppm. Las señales correspondientes a los hidrógenos H-1'a y H-1'b presentan desplazamientos químicos a δ 3,95 ppm y δ 4,10 ppm, más bajos que el precursor **118** (4,26 ppm y 4,30 ppm respectivamente). Por otro lado, en el espectro de RMN- ^{13}C (Figuras 6.14) se observa la señal característica de la amidoxima a δ 150,6 ppm, observándose que la señal correspondiente al C-1' se encuentra a desplazamientos químicos más altos ($\delta_{\text{C-1'}}$ 65,2 ppm) respecto de su precursor.

De manera similar, los espectros protónico y de carbono del compuesto **120** (Figuras 2.9 y 2.10 de la Sección de Espectros Adicionales) presentan modificaciones similares a las descritas para **119**.

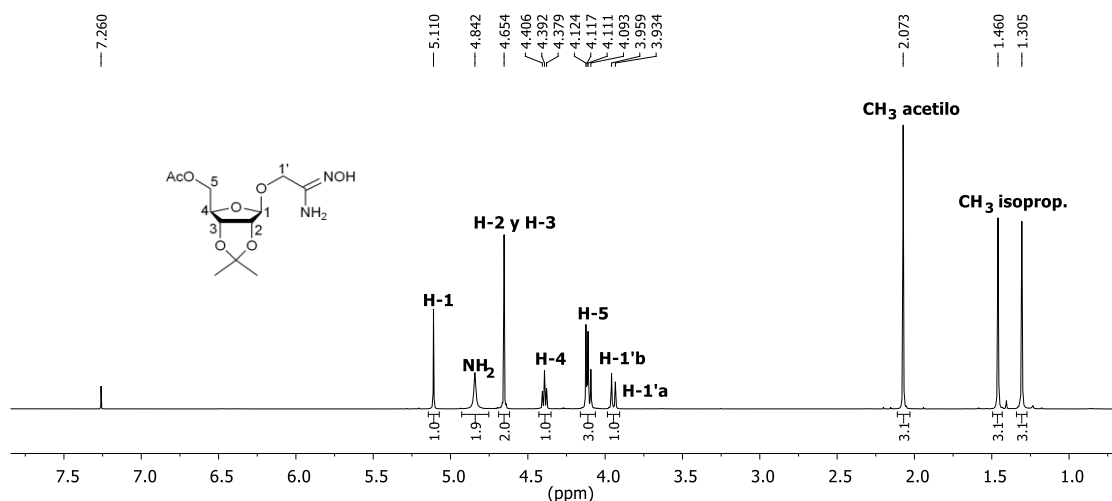


Figura 6.13 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **119**.

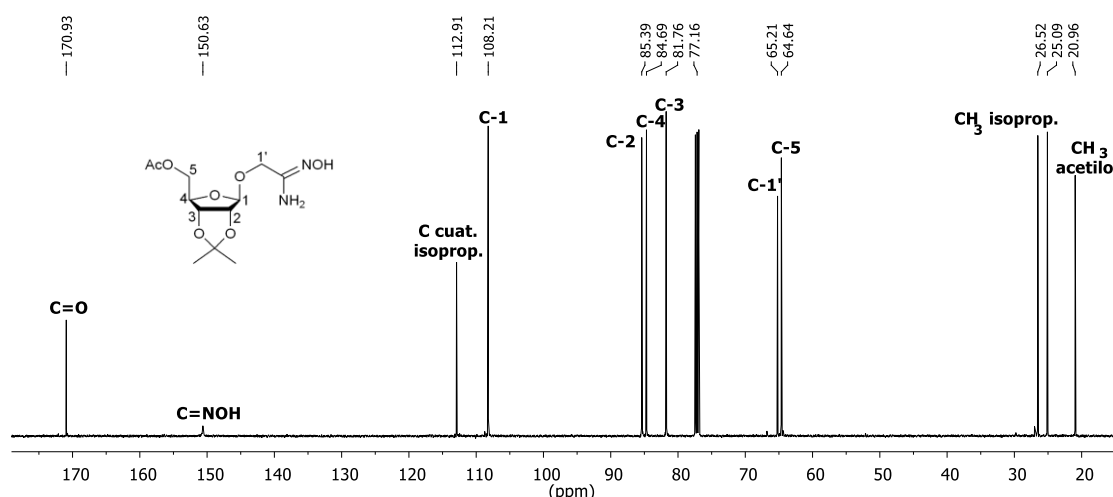
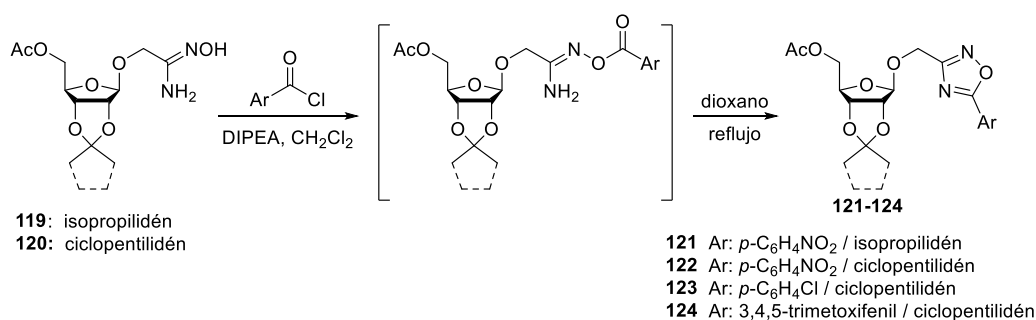


Figura 6.14 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para el compuesto **119**.

2.2. Etapa II: Síntesis de los derivados 1,2,4-oxadiazólicos de D-ribosa y transformación del sustituyente en posición cinco para la posterior sustitución.

Una de las metodologías más comunes para obtener 1,2,4-oxadiazoles utiliza como precursores amidoximas y cloruros de ácido. Esta reacción ocurre mediante un primer paso de acilación y posteriormente una condensación para generar el heterociclo aromático.⁸ En particular, para obtener los derivados 1,2,4-oxadiazólicos **121-124** (Esquema 6.12) se partió del derivado 2-amino-2-(hidroxiimino)etil correspondiente y se lo hizo reaccionar con diferentes de cloruros de ácidos aromáticos⁹ (ver síntesis en el Capítulo 8 de Técnicas Experimentales) en diclorometano y utilizando DIPEA como base. Este paso de reacción se realizó a temperatura ambiente, durante una noche y en ausencia de luz para generar el intermediario de la reacción. Dicho intermediario, sin previa purificación, se reflujo en dioxano bajo atmósfera de argón hasta observar la desaparición total del material de partida. Los derivados 1,2,4-oxadiazólicos fueron purificados por cromatografía en columna de sílica gel obteniéndose los compuestos puros **121-124**.

Los sustituyentes en el anillo aromático fueron seleccionados con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes grupos donores y atractores de electrones en la actividad antiproliferativa de los compuestos finales. Se seleccionaron grupos Cl y NO₂ como sustituyentes de la posición 4 de un anillo de benceno dado que se mencionaba en literatura que dichos grupos mejoraban la actividad citotóxica en algunos casos.¹⁰



Esquema 6.12 Camino sintético para la obtención de los derivados 1,2,4-oxadiazólicos de D-ribosa.

La formación de los compuestos **121-124** se corroboró por métodos espectroscópicos. En los espectros de RMN-¹H se pudieron observar las señales correspondientes a la incorporación de un anillo aromático p -sustituido, para los compuestos **121-123** (ver Tabla 6.5), y las señales de los grupos metoxilos a δ 3,94 ppm y δ 3,96 ppm para el compuesto **124**. Por otro lado, las señales correspondientes a la formación del anillo 1,2,4-oxadiazólico puede observarse en los espectros de RMN-¹³C donde aparecen los carbonos C-3' y C-5' del heterociclo, las cuales se resumen en la Tabla 6.5.

compuesto	RMN- ¹ H (ppm)		RMN- ¹³ C (ppm)		
	H aromático	OCH ₃	C-5'	C-3'	C aromáticos
121	8,40 (d, J 9,1 Hz) y 8,36 (d, J 9,1 Hz)	-	174,4	168,2	124,5; 129,3; 129,5 y 150,5
122	8,40 (d, J 9,1 Hz) y 8,36 (d, J 9,0 Hz)	-	174,4	168,2	124,5; 129,3; 129,5 y 150,5
123	8,09 (d, J 8,7 Hz) y 7,51 (d, J 8,7 Hz)	-	175,5	167,8	122,5; 129,7; 129,7 y 139,6
124	7,38 (s)	3,96 y 3,94	176,3	167,6	105,6; 119,0; 142,3 y 153,8

Tabla 6.5 Desplazamientos químicos para las señales del 1,2,4-oxadiazol aromático en los espectros de RMN-¹H y RMN-¹³C para los compuestos **121-124**.

En la Figura 6.15 se muestra el espectro protónico del derivado **121** donde además de las señales correspondientes al anillo aromático p -sustituído, dos dobletes a δ 8,40 (d, J 9,1 Hz) y δ 8,36 (d, J 9,1 Hz), se observan las señales de los hidrógenos H-1'a y H-1'b más desprotegidas respecto de la amidoxima derivada **119** a desplazamientos químicos de 4,73 ppm y 4,85 ppm, respectivamente, producto de cambio producido.

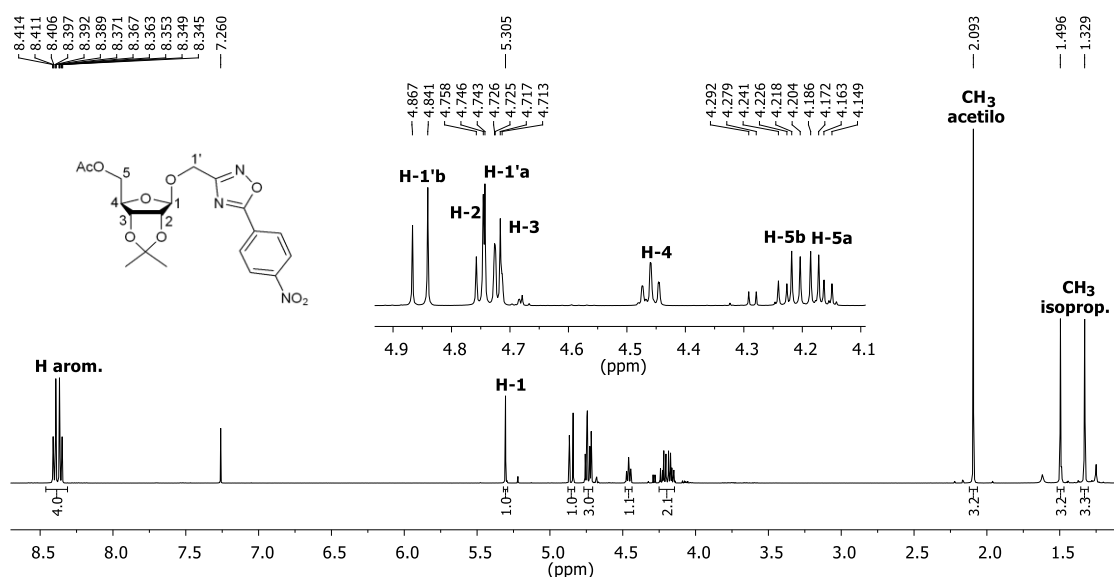


Figura 6.15 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **121**.

En el espectro de RMN- ^{13}C del compuesto **121** (ver Figura 6.16) se pueden observar las señales que comprueban la formación del anillo heterocíclico y la incorporación del anillo aromático, datos que se resumen en la Tabla 6.5. También se puede observar el corrimiento de la señal del C-1' a campos más altos que en la amidoxima precursora ($\delta_{\text{C-1'}}$ 59,7 ppm y 65,2 ppm respectivamente). El análisis de los derivados 1,2,4-oxadiazólicos **122-124** es similar al presentado para **121** y los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C se encuentran en la Sección de Espectros Adicionales en las Figuras 2.11 y 2.12.

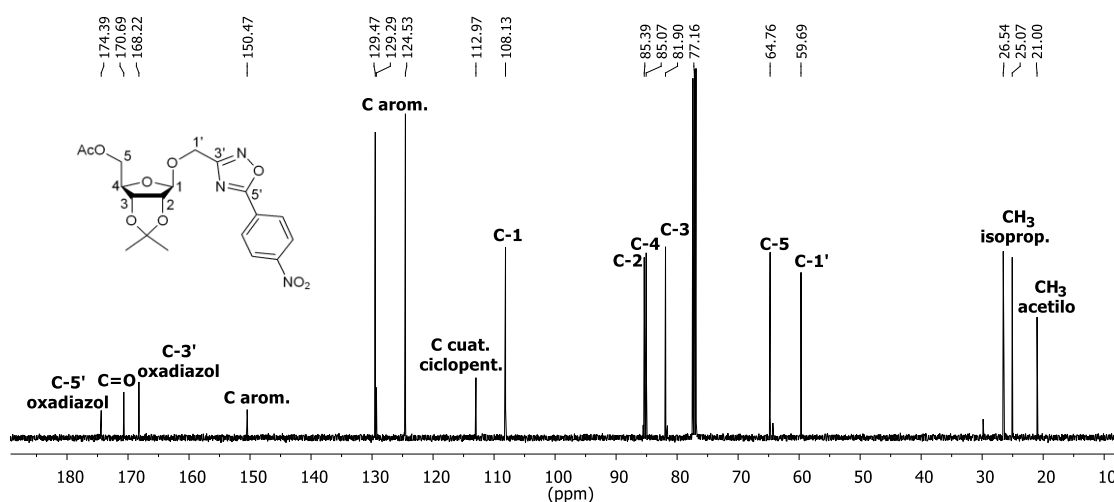
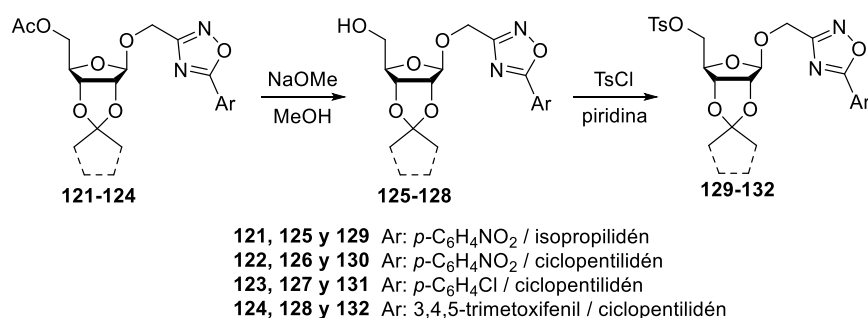


Figura 6.16 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **121**.

Los derivados 1,2,4-oxadiazólicos **121-124** se tosilaron para dar los compuestos **129-132**, previo paso de desprotección del grupo acetilo (Esquema 6.13). La desprotección se realiza medio básico utilizando NaOMe/MeOH (1,3 M) para obtener el hidroxilo libre en la posición C-5.¹¹ El grupo hidroxilo formado se tosiloó utilizando cloruro de tosilato en piridina para generar un grupo saliente en dicha posición.



Esquema 6.13 Camino sintético para la obtención de los tosil derivados 1,2,4-oxadiazólicos de D-ribosa.

Los derivados **125-128** y **129-132** fueron purificados por cromatografía en columna de sílica gel y se obtuvieron con muy buenos rendimientos (ver Tabla 6.6).

compuesto	rendimiento	compuesto	rendimiento
125	96 %	129	87 %
126	87 %	130	80 %
127	96 %	131	92 %
128	74 %	132	95 %

Tabla 6.6 Rendimientos de la obtención de los compuestos **125-132**.

Los compuestos puros se analizaron espectroscópicamente a partir de los espectros de RMN-¹H y de RMN-¹³C. Nuevamente a modo de ejemplo, en la Figura 6.17 se encuentra el espectro protónico de uno de ellos, el compuesto **125**. En el espectro protónico puede observarse la desaparición de la señal correspondiente a los hidrógenos de los metilos del acetilo y el desplazamiento a campos más altos de los hidrógenos en posición 5, que se encuentran a $\delta_{\text{H-5a}}$ 3,68 ppm y $\delta_{\text{H-5b}}$ 3,73 ppm para el compuesto **125** (mientras que en el precursor **121** se observaban a $\delta_{\text{H-5a}}$ 4,17 ppm y $\delta_{\text{H-5b}}$ 4,22 ppm).

En los espectros de carbono para los compuestos **125-128** también se comprobó la desaparición de las señales del carbonilo y del metilo correspondiente al grupo acetilo (ver Figura 6.18 para el compuesto **125**).

Los espectros de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C para los compuestos **126-128** se encuentran en la Sección de Espectros Adicionales en las Figuras 2.13 y 2.14.

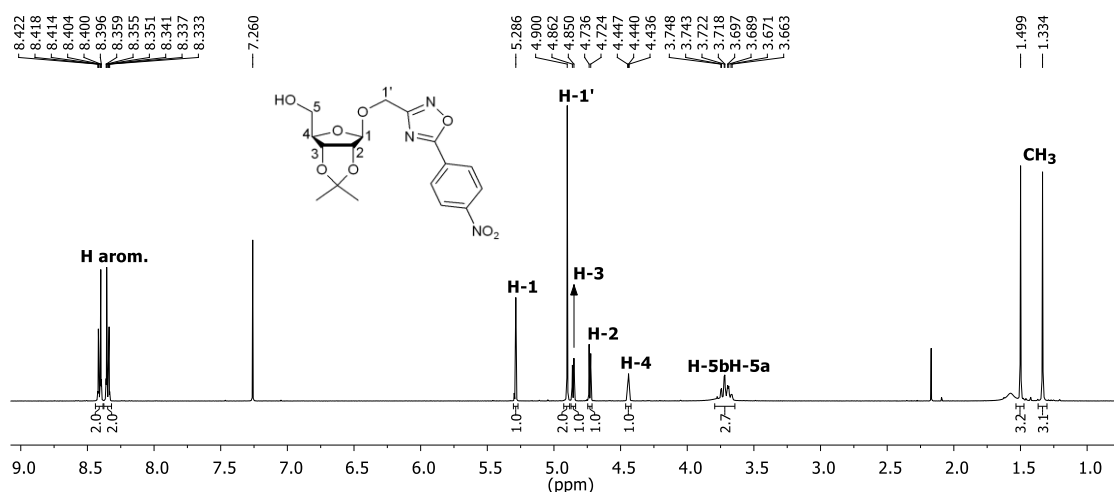


Figura 6.17 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **125**.

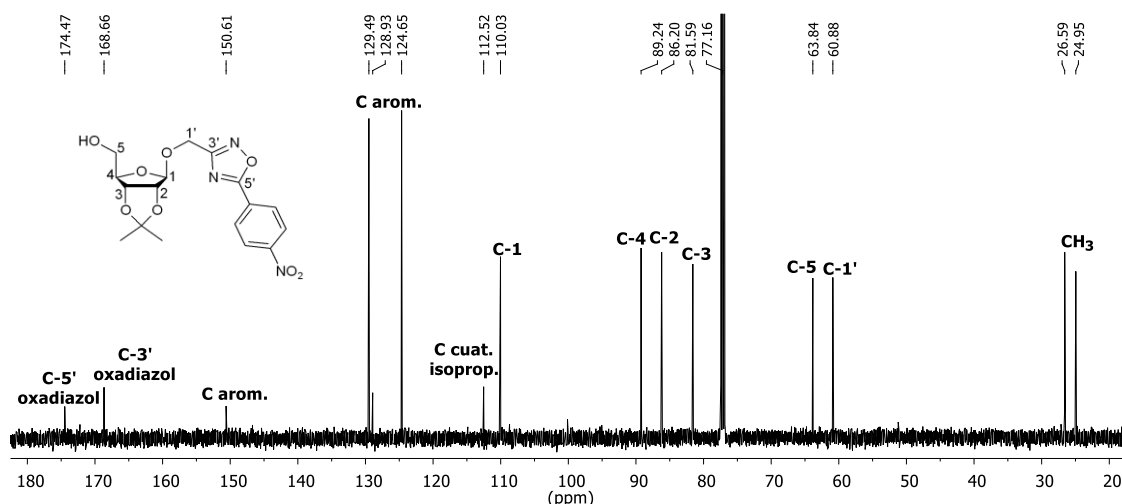


Figura 6.18 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **125**.

En los espectros de RMN- ^1H y de RMN- ^{13}C de los compuestos **129-132** se observan las señales diagnósticas que indican la incorporación del grupo tosilo. En el espectro protónico del compuesto **129** que se muestra en la Figura 6.19 pueden observarse dos dobletes a 7,34 ppm y 7,81 ppm que corresponden al anillo aromático *p*-sustituido del grupo tosilo. Las señales del anillo aromático en la posición cinco del 1,2,4-oxadiazol se encuentran a desplazamientos químicos de 8,37 ppm y 8,41 ppm influenciados en este caso por la presencia del grupo nitro. Además, puede verse un

singulete a δ 2,44 ppm que integra para tres hidrógenos perteneciente al metilo del grupo tosilo.

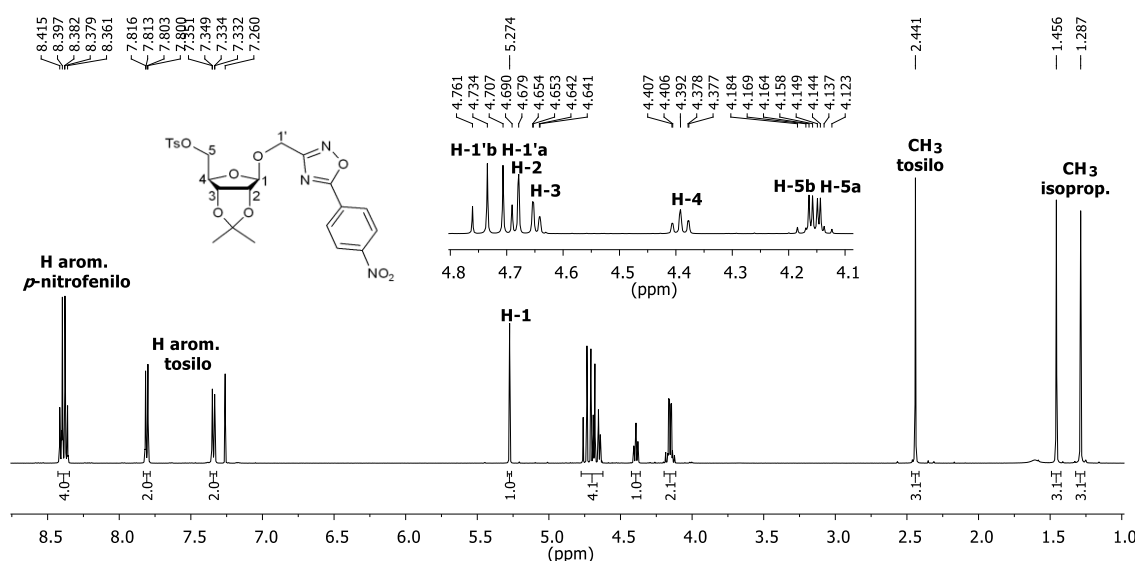


Figura 6.19 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **129**.

En el espectro RMN- ^{13}C del compuesto **129** se evidencia la aparición de las señales aromáticas del tosilo a 128,1; 130,1; 132,9 y 145,3 ppm, así como también una señal a 21,8 ppm para el metilo de dicho grupo (Figura 6.20).

De la misma manera se analizaron los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C de los derivados **130-132** que se encuentran en la Sección de Espectros Adicionales (Figura 2.15 y 2.16).

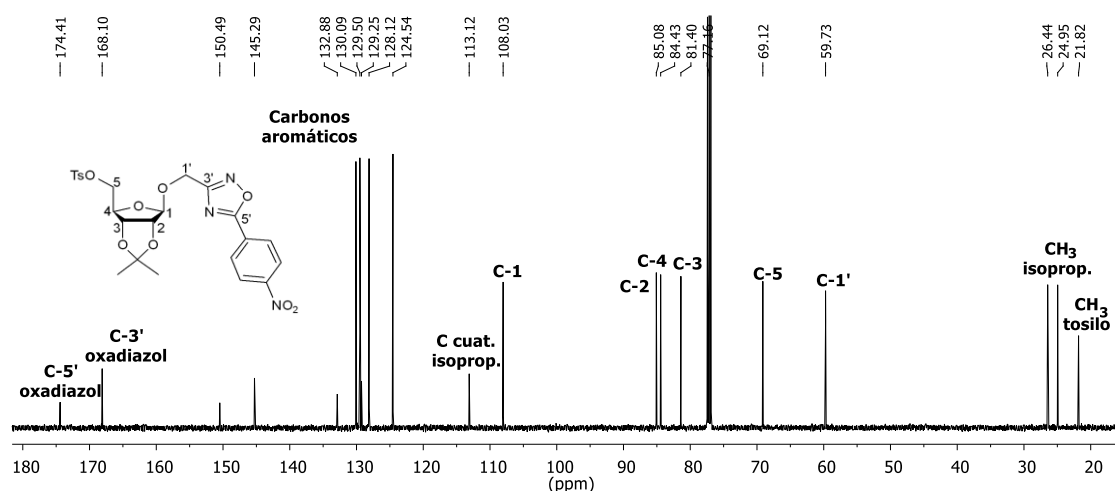
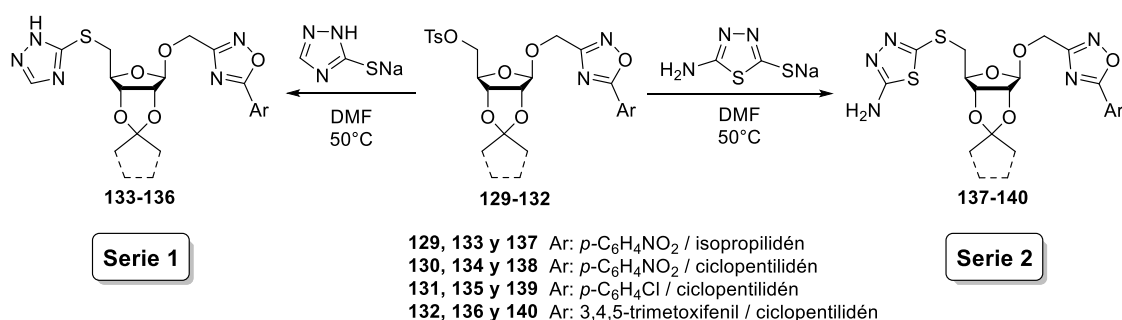


Figura 6.20 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **129**.

2.3. Síntesis de compuestos di-heterocíclicos de D-ribosa con 5-aril-1,2,4-oxadiazoles.

Al igual que en los Capítulos anteriores, el objetivo final era obtener los derivados di-heterocíclicos a partir de los productos tosilados. Por lo tanto, el nuevo heterociclo se incorporó por desplazamiento nucleofílico del grupo tosilato utilizando un tiolato de sodio como nucleófilo, el cual provenía de un segundo anillo heterocíclico que tuviera un grupo tiol como sustituyente (Esquema 6.14).



Esquema 6.14 Camino sintético para la obtención de derivados di-heterocíclicos de la Serie 1 y 2.

Además del 1,2,4-triazol-3-tiolato de sodio (que ya había sido utilizado para sintetizar derivados similares en los Capítulos 4 y 5) se utilizó el 1,3,4-tiadiazol-5-amino-2-tiolato de sodio. Éste último heterociclo se seleccionó según los antecedentes bibliográficos (tal como se discutió en el Capítulo 1).

2.3.1. Serie 1: Di-heterociclos sustituidos con un anillo 1,2,4-triazol-3-tiol.

Los derivados di-heterocíclicos **133-136** se obtuvieron a partir de los tosil derivados correspondientes **129-132** y el 1,2,4-triazol-3-tiolato de sodio (obtenido a partir de 1,2,4-triazol-3-tiol con etóxido de sodio) en una reacción de sustitución que se realizó en DMF a 50 °C durante toda una noche en atmósfera de argón. El producto obtenido se purificó por cromatografía en columna de sílica gel y se obtuvieron los compuestos puros con buenos rendimientos: 73 % (**133**), 77 % (**134**), 60 % (**135**) y 73 % (**136**).

Los compuestos **133-136** fueron caracterizados espectroscópicamente y se realizaron los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C . A modo de ejemplo, en el espectro protónico del compuesto **133**, que se muestra en la Figura 6.21, se observa la señal

correspondiente al hidrógeno H-5'' del triazol a δ 8,38 ppm. También se evidencia la sustitución por el desplazamiento a campos más altos de los hidrógenos H-5a (δ 3,36 ppm) y H-5b (δ 3,51 ppm) concordante con la sustitución de un oxígeno por un átomo de azufre sobre el C-5. Se comprueba la ausencia de un anillo aromático *p*-sustituido y del metilo que pertenecían al tosilo.

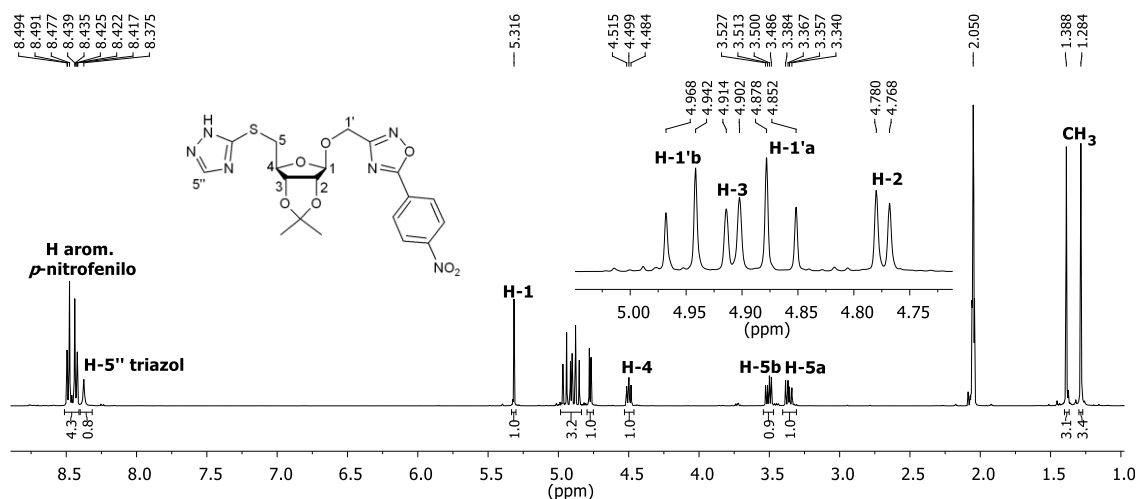


Figura 6.21 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) para el compuesto **133**.

Por otro lado, en el espectro RMN- ^{13}C de **133** se observa la señal del C-5'' del anillo 1,2,4-triazólico a 146,7 ppm y se comprueba el desplazamiento a campos más altos del C-5 (35,7 ppm). Igualmente puede verse la ausencia de las señales correspondientes al grupo tosilo (Figura 6.22).

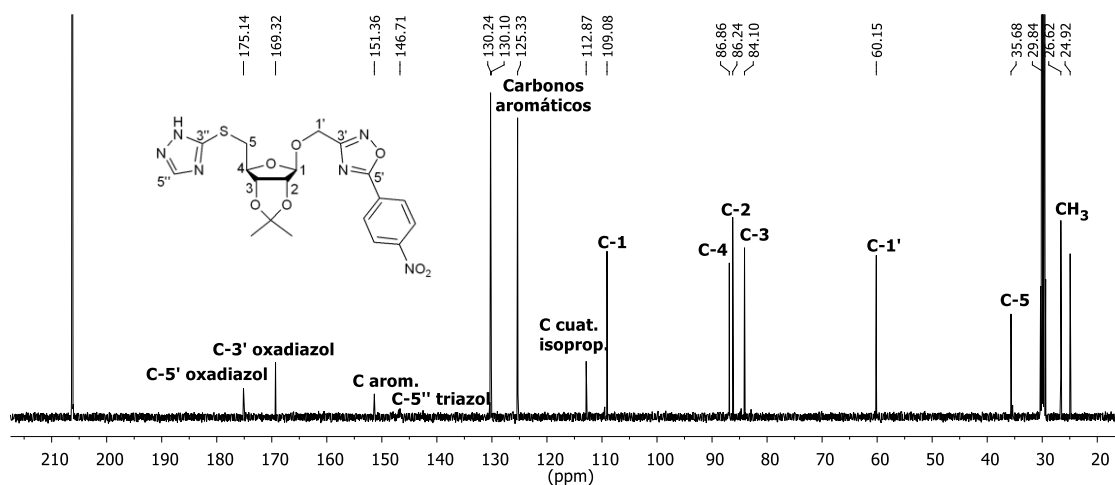


Figura 6.22 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) para el compuesto **133**.

Los derivados di-heterocíclicos **134-136** se analizaron de igual manera y los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C se encuentran en las Figuras 2.17 y 2.18 en la Sección de Espectros Adicionales.

2.3.2. Serie 1: Di-heterociclos sustituidos con un anillo 1,3,4-tiadiazol-5-amino-2-tiol.

Para la obtención de los derivados di-heterocíclicos que contienen 1,3,4-tiadiazoles (**137-140**), se utilizó como nucleófilo el 1,3,4-tiadiazol-5-amino-2-tiolato de sodio (obtenido de manera similar al descrito en la Sección 2.3.1). En este caso, se obtuvieron los compuestos puros con rendimientos variables: 56 % (**137**), 70 % (**138**), 86 % (**139**) y 59 % (**140**). Los derivados **137-140** se caracterizaron por espectroscopía de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C y se analizará a modo de ejemplo los espectros de **137**.

En el espectro protónico de **137** (Figura 6.23) puede observarse un singlete ancho a δ 8,61 ppm correspondiente a los hidrógenos del grupo amino sustituyente del 1,3,4-tiadiazol. Otra de las señales diagnósticas son los hidrógenos H-5a (3,69 ppm) y H-5b (3,86 ppm) que presentan desplazamientos químicos a campos más altos que su precursor tosilado **129**. Igualmente, no se observan las señales correspondientes al grupo tosilo del precursor.

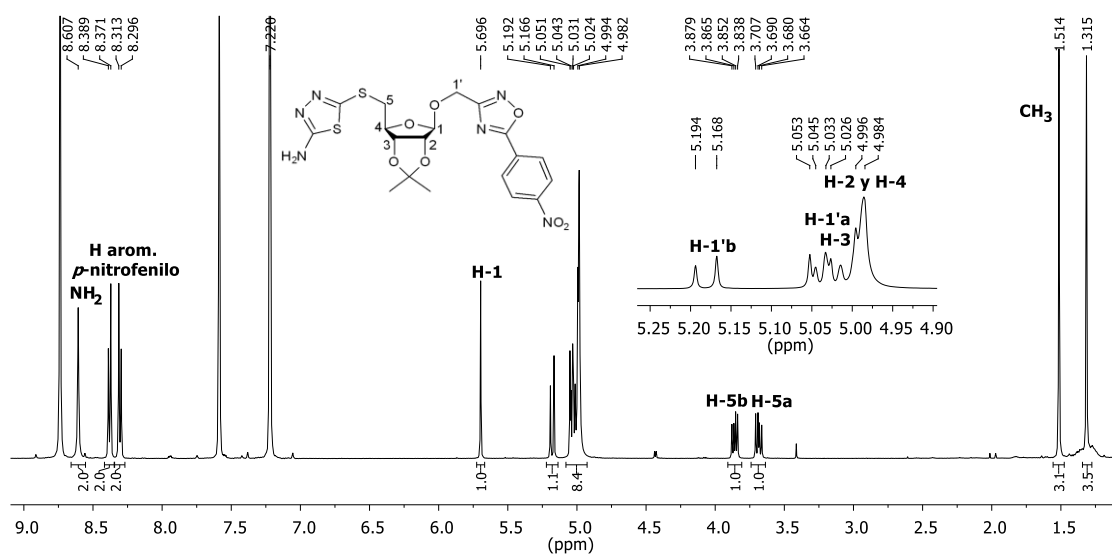


Figura 6.23 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, py-d_5) para el compuesto **137**.

En el espectro de carbono de **137** (Figura 6.24) se observaron las señales correspondientes al heterociclo 1,3,4-tiadiazólico a δ 150,95 ppm para el C-2'' y 171,2 ppm para el C-5'', mientras que la señal para el carbono C-5 se encuentra a δ 38,4 ppm (comprobando así la unión a un átomo de azufre). Además, puede verse que se encuentran ausentes las señales del grupo tosilo del precursor **129**.

Los análogos di-heterocíclicos **138-140** se analizaron de manera similar y los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C se encuentran en la Sección de Espectros Adicionales (Figuras 2.19 y 2.20).

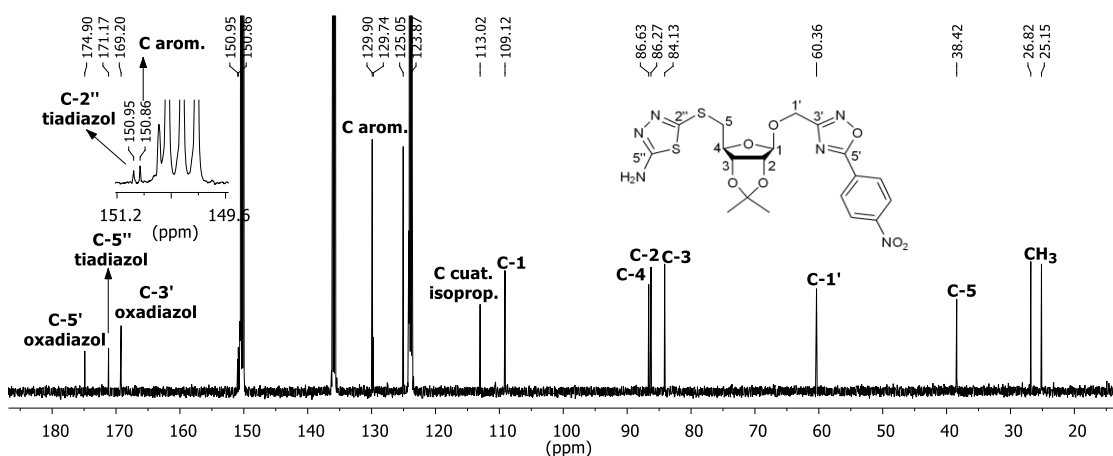


Figura 6.24 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, py- d_5) para el compuesto **137**.

3. Estudios de actividad antiproliferativa.

La actividad antiproliferativa *in vitro* de los compuestos di-heterocíclicos **133-140** fue evaluada en seis líneas celulares de cáncer humano diferentes: A549 (pulmón), HeLa (cervico-uterino), HBL-100 (mama), SW1573 (pulmón), T-47D (mama) y WiDr (colon).¹² Además, se probaron los compuestos **81**, **100** y **102** previamente sintetizados, y algunos intermediarios seleccionados con propósitos comparativos.

Los ensayos biológicos fueron realizados por el Dr. José M. Padrón en el Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González” (IUBO-AG), Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias (CIBICAN) de la Universidad de La Laguna de España.

Los resultados, expresados como GI_{50} , se muestran en la Tabla 6.7.

compuesto	A549	HBL-100	HeLa	SW1573	T-47D	WiDr
81	37 ± 4,9	43 ± 3,0	38 ± 3,0	>100	55 ± 8,9	53 ± 8,2
100	59 ± 8,6	87 ± 15	67 ± 2,2	97 ± 4,8	94 ± 1,3	74 ± 9,7
102	33 ± 4,0	84 ± 13	30 ± 9,6	>100	41 ± 8,8	26 ± 2,3
122	29 ± 6,0	23 ± 6,4	17 ± 2,0	29 ± 0,4	52 ± 3,6	36 ± 2,8
125	99 ± 1,7	99 ± 2,3	99 ± 0,8	60 ± 11	>100	>100
126	32 ± 4,1	17 ± 2,6	15 ± 2,0	27 ± 2,4	50 ± 9,4	41 ± 5,4
130	>100	>100	>100	>100	>100	>100
133	90 ± 14	>100	89 ± 15	>100	>100	>100
134	10 ± 2,4	24 ± 1,1	20 ± 0,5	15 ± 5,0	20 ± 3,5	20 ± 5,0
135	13 ± 0,4	24 ± 3,3	14 ± 7,2	10 ± 4,9	10 ± 1,5	4,5 ± 1,6
136	28 ± 0,8	34 ± 3,8	37 ± 12	36 ± 2,4	44 ± 17	42 ± 6,0
137	>100	>100	>100	>100	>100	>100
138	14 ± 2,5	26 ± 1,6	28 ± 3,1	16 ± 4,0	19 ± 4,0	26 ± 4,2
139	15 ± 2,1	30 ± 1,4	16 ± 2,6	17 ± 3,1	18 ± 2,5	15 ± 4,1
140	36 ± 13	33 ± 4,3	31 ± 6,8	38 ± 0,5	42 ± 2,6	41 ± 1,1

Tabla 6.7 Actividad antiproliferativa (GI_{50}) contra líneas celulares tumorales humanas.^a

^a Los valores están expresados en μM y son medias de dos o tres experimentos $\pm$ la desviación estándar.

A partir de los resultados de actividad biológica se puede inferir que algunos grupos son necesarios para que los compuestos presenten citotoxicidad. Cuando se comparó los derivados 1,2,4-oxadiazólicos con los compuestos **81**, **100** y **102**, el análogo 1,2,4-oxadiazólico **136** mostró, en la mayoría de los casos, una mejor actividad antiproliferativa (Figura 6.25).

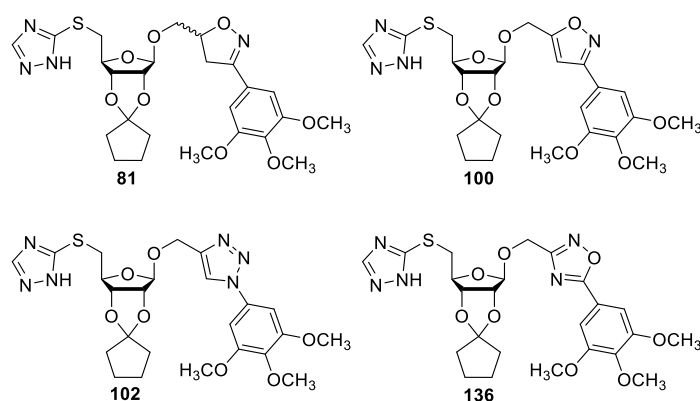


Figura 6.25 Estructura de los compuestos **81**, **100**, **102** y **136**.

Se observó además que el reemplazo del anillo triazólico unido al C-5 del carbociclo (compuestos **134-136**) por un 5-amino-1,3,4-tiadiazol (compuestos **138-140**) no modificó sustancialmente la citotoxicidad de los compuestos. Tal como fue observado por otros autores,¹⁰ los compuestos que contienen grupos atractores de electrones en el anillo bencénico (**134**, **135**, **138** y **139**) fueron los que presentaron una mejor actividad antiproliferativa, basándose en los valores de GI₅₀. De toda la nueva serie, el compuesto **135** resultó el más citotóxico, con valores de GI₅₀ en el rango de 4,5-24 μ M para todas las líneas celulares. Otro aspecto importante a destacar es que el reemplazo del grupo ciclopentilideno (**134**, **138**) por el sustituyente isopropilideno (**133**, **137** respectivamente) redujo notablemente la actividad, dato concordante con lo que se había observado en el Capítulo 5. Finalmente, cuando se evaluaron los intermediarios sintéticos **122**, **125**, **126** y **130**, se observó que de los derivados ciclopentilidénicos, sólo el derivado tosilado resultó inactivo (GI₅₀ > 100 μ M) confirmando que la presencia de dicho grupo protector es esencial para la actividad citotóxica.

4. Conclusiones.

Para concluir, en este capítulo se sintetizaron una serie de derivados diheterocíclicos de D-ribosa conteniendo una unidad de 5-aril-1,2,4-oxadiazol. Se evaluaron dos posibles rutas sintéticas para la obtención de los precursores, teniendo en cuenta el uso o no de reactivos tóxicos y más costosos. Se sintetizaron ocho productos finales y se describieron **33** compuestos nuevos no descritos en bibliografía. Los productos finales, así como también algunos de sus precursores, fueron evaluados como inhibidores de la proliferación celular contra seis líneas celulares de cáncer humano. El cambio del heterociclo en posición 5 de la ribosa manteniendo la unión por medio de un átomo de azufre mantuvo la actividad antiproliferativa. La presencia del anillo oxadiazólico resultó ser algo más activo que los heterociclos sintetizados en capítulos anteriores (isoxazolinas, isoxazoles, 1,2,3-triazoles) sobre todo frente a la línea celular SW1573. El grupo *p*-clorofenilo como sustituyente de oxadiazol resultó ser el más efectivo de todos. El compuesto **135** presentó una actividad moderada general con una buena selectividad hacia la línea celular de cáncer de colon WiDr (GI₅₀ = 4,5 μ M).

Referencias

- ¹ R.E. Avanzo, C. Anesini, M.L. Fascio, M.I. Errea, N.B. D'Accorso, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *47*, 104–110.
- ² G. Gueron, R.E. Avanzo, F. Schuster, M.N. Carabelos, E. Vazquez, M.L. Fascio, N.B. D'Accorso, *Biomed. Pharmacother.* **2014**, *68*, 847–854.
- ³ C.H. Golias, A. Charalabopoulos, K. Charalabopoulos, *Int. J. Clin. Pract.* **2004**, *58*, 1134–1141.
- ⁴ J.C. Buchanan, B.P. Petersen, S. Chamberland, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 6002–6004.
- ⁵ E.J. Corey, A. Venkateswarlu, *J. Am. Soc. Chem.* **1972**, *94*:17, 6190–6191.
- ⁶ G.J. Karabatsos, R.A. Taller, *Tetrahedron* **1968**, *24*, 3347–3360.
- ⁷ G.E. Hawkes, K. Herwig, J.D. Roberts, *J. Org. Chem.* **1974**, *37*, 1017–1028.
- ⁸ J. Zablocki, R. Kalla, T. Perry, V. Palle, V. Varkhedkar, D. Xiao, A. Piscopio, T. Maa, A. Gimbel, J. Hao, N. Chu, K. Leung, D. Zeng, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 609–612.
- ⁹ M. Wijnmans, D. Maussang, F. Sirici, D.J. Scholten, M. Canals, A. Mujic-Delic, M. Chong, K.L.S. Chatalic, H. Custers, E. Janssen, C. de Graaf, M.J. Smit, I.J.P. de Esch, R. Leurs, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *51*, 184–192.
- ¹⁰ W. Shi, J. Hu, N. Bao, D. Li, L. Chen, J. Sun, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 147–151.
- ¹¹ L. Baldoni, C. Marino, *Carbohydr. Res.* **2013**, *374*, 75–81.
- ¹² D. Nieto, S. Bruña, A.M. González-Vadillo, J. Perles, F. Carrillo-Hermosilla, A. Antiñolo, J.M. Padrón, G.B. Plata, I. Cuadrado, *Organometallics* **2015**, *34*, 5407–5417.

Capítulo 7

Síntesis de derivados de D-ribono-1,4-lactona

1. Introducción.

En el siguiente Capítulo de la Tesis se propuso obtener derivados D-ribofuranósidos en donde la unión entre el heterociclo y el carbono anomérico no sea a través de oxígeno, sino que se encuentre directamente unido por un átomo de carbono (ya sea como espaciador o formado parte del mismo heterociclo). Este tipo de compuestos son conocidos como *C*-nucleósidos y a diferencia de los nucleósidos o los *N*-nucleósidos, presentan una mayor estabilidad hacia el metabolismo catalizado por enzimas.¹

En la búsqueda de compuestos capaces de interferir con el funcionamiento de las enzimas es importante tener en cuenta la conexión entre la nucleobase y el carbohidrato. El desarrollo reciente en la obtención de homo-*C*-nucleósidos, donde ambos fragmentos se conectan entre sí por un grupo metilénico ha permitido el descubrimiento de nuevas drogas. Podemos mencionar, entre ellas, la DADMe-immucillina-H **141** que es activa en el rango de picomolar en varios sistemas biológicos.^{2,3}

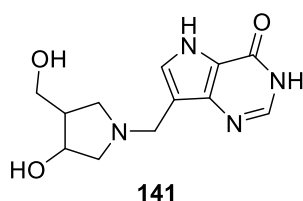
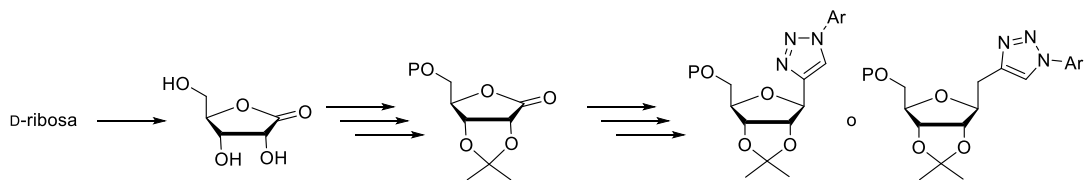


Figura 7.1 Estructura del compuesto **141**.

Con el propósito de obtener análogos de *C*-glicósidos comparables a los sintetizados en los Capítulos anteriores se propuso como compuesto de partida la D-ribono-1,4-lactona (Esquema 7.1) ya que esto permitiría poder realizar reacciones de adición de un carbono nucleofílico sobre el C-1 del ribósido.

Para realizar estas reacciones era imprescindible la protección de las posiciones dos y tres del hidrato de carbono (se propuso grupos isopropilidenos o ciclopentilidenos) y

la posición cinco con un grupo protector adecuado. Posteriormente, se verán las distintas estrategias utilizadas para introducir un heterociclo aromático (1,2,3-triazol o isoxazol) ya sea directamente unido a la posición anomérica del hidrato de carbono o por medio de un metileno.

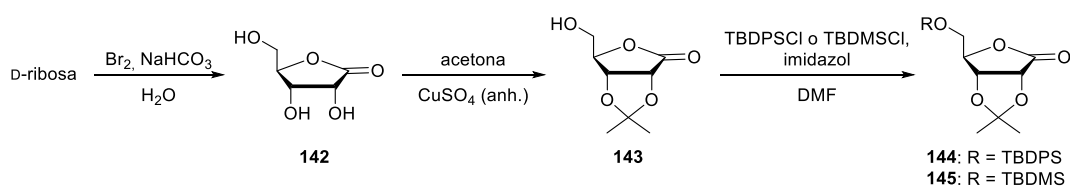


Esquema 7.1 Estrategia sintética para la obtención de C-ribósidos.

2. Resultados y discusión.

2.1. Síntesis de derivados protegidos de D-ribono-1,4-lactona.

Como primer objetivo se sintetizó la D-ribono-1,4-lactona (**142**), que puede obtenerse de D-ribosa comercial por oxidación con bromo, tal como se describe en literatura (ver Capítulo 8 de Técnicas Experimentales).⁴ Posteriormente se protegieron las posiciones dos y tres con un grupo isopropilidén para obtener el acetónido **143**, y finalmente el hidroxilo de la posición cinco con un agente sililante (compuestos **144** y **145**).



Esquema 7.2 Camino sintético para la obtención de una D-ribono-1,4-lactona debidamente protegida.

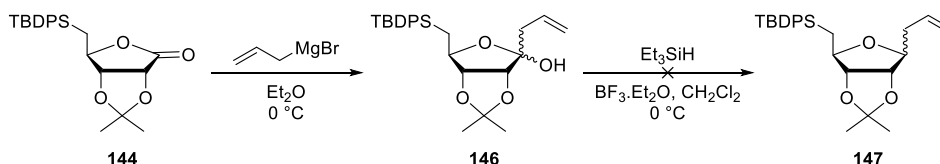
Los derivados **143**,⁵ **144**⁶ y **145**⁷ ya se encontraban descriptos en bibliografía y la caracterización física y espectroscópica de los compuestos obtenidos coincidió con los datos de literatura.

2.2. Síntesis de aductos de Grignard derivados de D-ribono-1,4-lactona.

2.2.1. Reacción de la lactona **144** con bromuro de alilmagnesio.

El derivado **144** puede adicionar sobre el carbono de la lactona un reactivo organometálico, como por ejemplo un reactivo de Grignard (Esquema 7.3). La reacción de **144** con bromuro de alilmagnesio⁸ en éter etílico anhidro a 0 °C durante 90 minutos, lleva a la formación del lactol **146** como una mezcla de anómeros $\alpha:\beta$, y se obtuvo con un rendimiento del 66 % luego de ser purificado por cromatografía en columna. La relación $\alpha:\beta$ es de 1:2,7 y fue estimada por las áreas en el espectro de RMN-¹H. El derivado **146** fue descrito por Jiang *et al.*⁹ y la caracterización física y espectroscópica del derivado obtenido coincidió con lo informado por los autores.

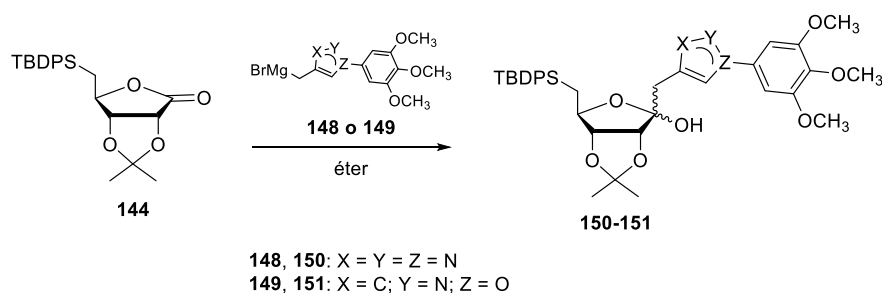
Posteriormente, se intentó eliminar el hidroxilo remanente en el carbono anomérico del lactol **146** por tratamiento con trietilsilano y BF₃.Et₂O en diclorometano anhidro y a 0 °C durante 10 minutos.¹⁰ Se observó el consumo total del material de partida y la formación de varios productos por CCD, pero el producto deseado **147** no pudo ser aislado del crudo de reacción.



Esquema 7.3 Camino sintético para la obtención del alil C-ribósido **147**.

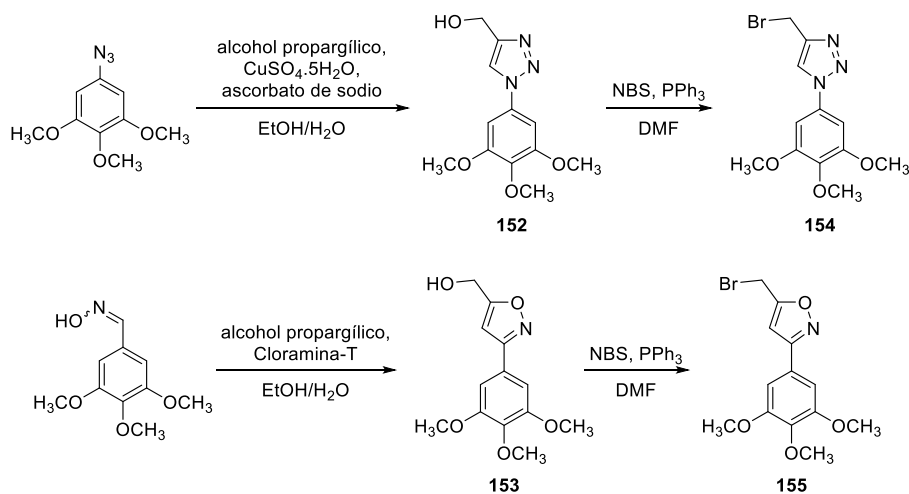
2.2.2. Reacción de la lactona **144** con bromuros triazólicos/isoxazólicos.

Dado que pudo obtenerse el lactol derivado **146** a partir de la adición de un reactivo de Grignard como el bromuro de alilmagnesio, se pensó una estrategia diferente. La obtención de los C-ribósidos podría ser a partir de un reactivo de Grignard que ya contuviera a los heterociclos aromáticos formados. De esta manera se podrían introducir anillos triazólicos o isoxazólicos directamente al residuo glicosídico (Esquema 7.4).



Esquema 7.4 Reacción para la obtención de derivados triazólicos/isoxazólicos de D-ribofuranosa.

Para lograr esto fue necesario sintetizar los bromuros correspondientes. Por tratamiento de 5-azido-1,2,3-trimetoxibenceno con alcohol propargílico en presencia de sulfato de cobre y ascorbato de sodio, fue posible obtener el derivado triazólico **152** como un sólido blanco con un 88 % de rendimiento (Esquema 7.5). Por otro lado, a partir de 3,4,5-trimetoxibenzaloxima y alcohol propargílico en presencia de cloramina-T fue posible obtener el isoxazol derivado **153** con un rendimiento de 72 % utilizando una metodología similar a las descritas en los Capítulos 4 y 5.

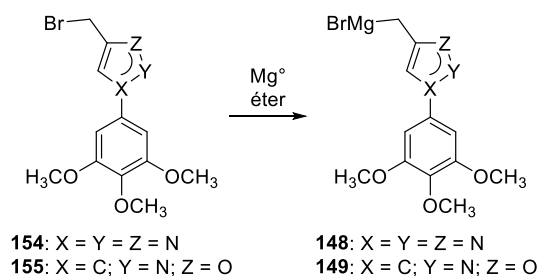


Esquema 7.5 Síntesis de bromuros conteniendo heterociclos aromáticos.

El hidroxilo libre en los compuestos **152** y **153** se bromó utilizando *N*-bromosuccinimida y trifetilfosfina en DMF anhidra para obtener los derivados halogenados **154** y **155**. Los productos fueron purificados por cromatografía en columna de sílica gel obteniéndose con rendimientos del 71 % (para **154**) y 68 % (para **155**).

Los compuestos **152**, **154** y **155** no se encontraban descritos en literatura y su caracterización espectroscópica está detallada en el Capítulo 8 de Técnicas Experimentales.

A partir de los bromuros **154** y **155** podría ser posible la obtención de los halogenuros de alquilmagnesio correspondientes (**148** y **149**) por tratamiento con virutas de magnesio en éter anhidro (Esquema 7.6). Se probaron como solvente de reacción: THF, éter etílico y mezclas de ambos. La reacción se realizó a diferentes temperaturas (ambiente, calentamiento a 40 °C) pero tanto el bromuro **154** como el **155** quedaban sin reaccionar y fueron recuperados por purificación en columna.

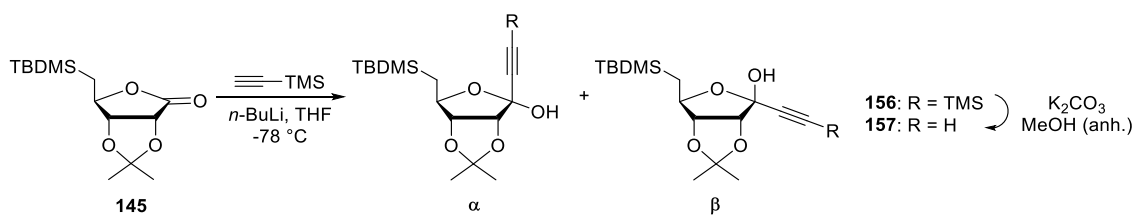


Esquema 7.6 Obtención de reactivos de Grignard de bromuros de alquilmagnesio conteniendo heterociclos.

Para lograr una mayor activación del magnesio, se utilizó cloruro de isopropilmagnesio (obtenido a partir del alcohol isopropílico¹¹), el cual por intercambio halógeno-magnesio llevarían a la formación del reactivo de Grignard “*in situ*”.¹² Se probó entonces dicha reacción con los bromuros **154** y **155** pero en este caso tampoco fue posible la activación del halogenuro.

2.3. Síntesis de etinil derivados de D-ribono-1,4-lactona.

Continuando con los intentos en obtener derivados heterocíclicos de C-ribósidos, se decidió introducir un triple enlace por adición de un acetiluro de litio al carbono de la lactona. A una solución de etiniltrimetilsilano en THF anhidro se le agregó una solución de *n*-BuLi bajo atmósfera de argón a -78 °C para generar el acetiluro de litio. Posteriormente se adicionó una solución de la lactona **145** en THF a -78 °C¹³ y la reacción se completó a los 30 minutos. El lactol **156** se obtuvo con un rendimiento del 45 % y adicionalmente se generó un 6 % del lactol **157** (Esquema 7.7). Este último compuesto puede obtenerse también por tratamiento de **156** con carbonato de potasio en metanol anhidro a temperatura ambiente (ver Capítulo 8 de Técnicas Experimentales).



Esquema 7.7 Reacción con *n*-BuLi para la obtención del etinil C-ribósido **147**.

Los derivados **156** y **157** fueron caracterizados a partir de sus espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C . Se obtuvieron como mezclas de isómeros. La relación entre los isómeros A:B es 3,5:1 (para el compuesto **156**) y 5,2:1 (para el compuesto **157**), siendo (A) el isómero mayoritario y (B) el minoritario. La proporción de cada uno de ellos pudo ser estimada a partir de la integración en el espectro protónico. El espectro NOESY no permitió asignar fehacientemente cada uno de los isómeros, por lo que no se pudo asignar la configuración del carbono anomérico.

En el espectro protónico de **156** (Figura 7.2) pueden observarse un singulete ancho correspondiente al hidrógeno del hidroxilo a δ 5,31 ppm. Las señales características del residuo glicosídico se encuentran duplicadas: la constante de acoplamiento para los hidrógenos H-2 y H-3 es de 5,7 Hz para el isómero mayoritario, mientras que en el caso del minoritario la *J* es de 6,7 Hz. La constante de acoplamiento entre los hidrógenos H-3 y H-4 es de 2,3 Hz en el caso del isómero mayoritario y más chica en el caso del minoritario (*J*_{3,4} 1,1 Hz).

También se observan las señales correspondientes a los metilos del isopropilidén a desplazamientos químicos entre 1,36-1,58 ppm; y a campos altos los metilos del *tert*-butilo (δ 0,91 ppm y 0,90 ppm) y los que se encuentran unidos directamente a silicio (δ 0,07-0,20 ppm). La asignación de los hidrógenos se realizó a partir del espectro bidimensional COSY.

En el espectro de carbono de **156** (Figura 7.3) se observan las señales correspondientes a los carbonos C-2, C-3 y C-4 de la D-ribosa a desplazamientos químicos entre 81,6 y 89,0 ppm. El carbono C-5 presenta un δ de 62,6 ppm y 64,7 ppm para los isómeros B y A, respectivamente. Se consideraron diagnósticas las señales de los carbonos C-1 a δ 101,9 ppm (A) y 96,4 ppm (B); así como también las que forman parte del triple enlace $\delta_{\text{C}=\text{CSi}}$ 103,5 ppm (B) y 100,0 ppm (A); $\delta_{\text{C}=\text{CSi}}$ 91,4 ppm (A) y

89,3 ppm (B), en concordancia con datos de literatura.¹³ También se observan las señales del isopropilo a δ 225,1-26,8 ppm y el carbono cuaternario a δ 113,3 y 115,1 ppm; los carbonos de los metilos del *tert*-butilo a 25,9 y 26,1 ppm y el carbono cuaternario a 18,5 y 18,4 ppm; y los metilos unidos al silicio del grupo trimetilsililo (entre -0,7 y -0,2) y del *tert*-butildimetilsililo (entre -5,6 y -5,1). La asignación de los carbonos se realizó a partir del espectro bidimensional HSQC y HMBC.

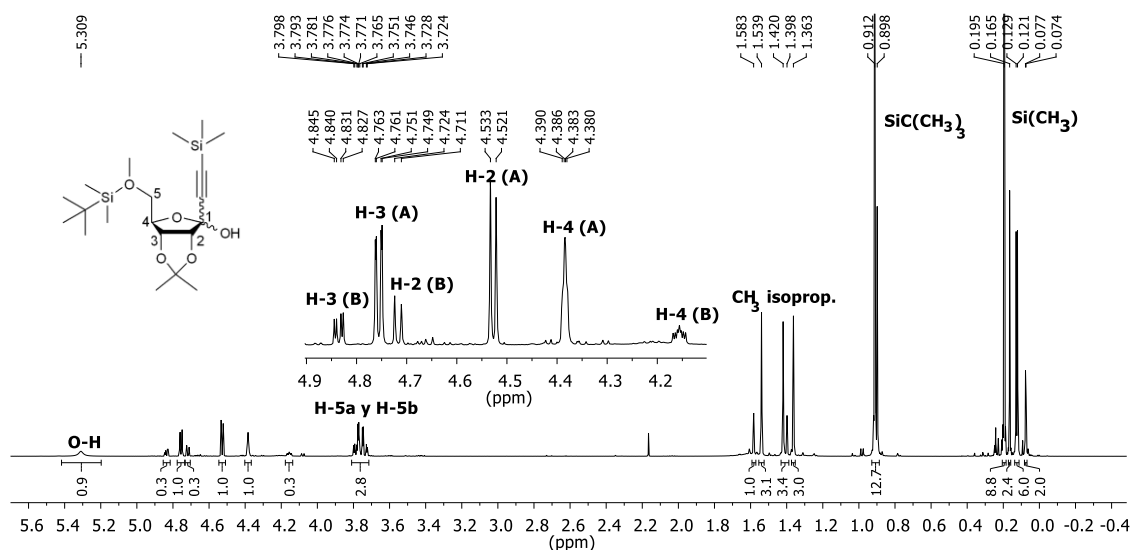


Figura 7.2 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para el compuesto 156.

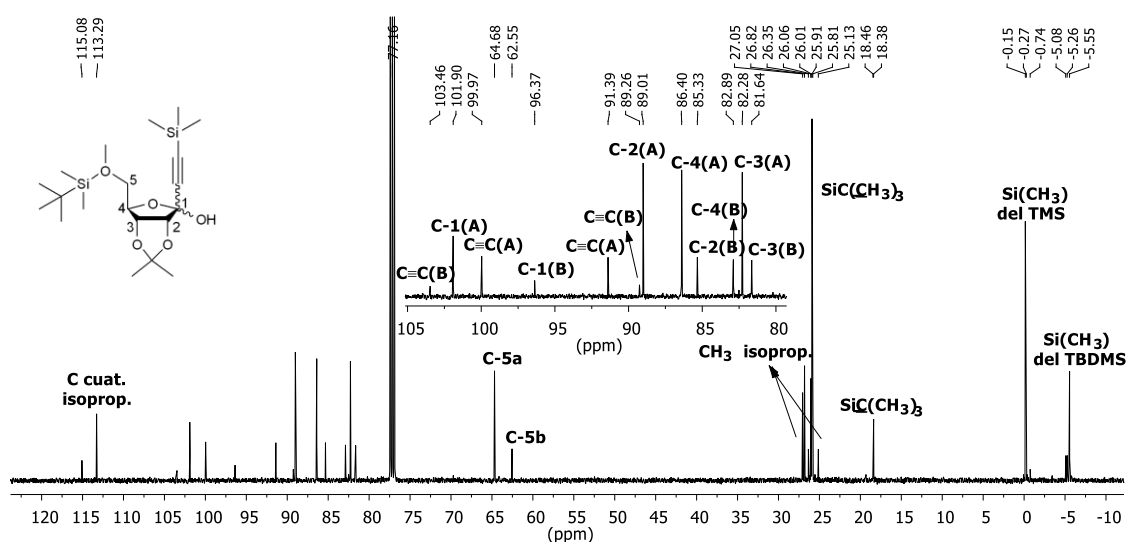


Figura 7.3 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para el compuesto 156.

El lactol **157** también fue caracterizado a partir de sus espectros protónico y de ^{13}C . En el espectro de RMN- ^1H (Figura 7.4) las señales diagnósticas que confirman la estructura del compuesto es el hidrógeno del alquino terminal que aparece como un singulete a desplazamientos químicos de 2,57 ppm (B) y 2,70 ppm (A). Además, se verifica la desaparición de los hidrógenos de los metilos del grupo TMS a δ cercanos a cero. El espectro de carbono (Figura 7.5) también muestra la ausencia de estas señales (δ cercano a -0,2 ppm) y el corrimiento de los carbonos del triple enlace que ahora se encuentran a desplazamientos químicos de 79,4 ppm (A) y 83,1 ppm (B) para el carbono $\text{C}=\text{CH}$; 72,4 ppm (B) y 74,1 ppm (A) para el carbono unido al hidrógeno acetilénico.

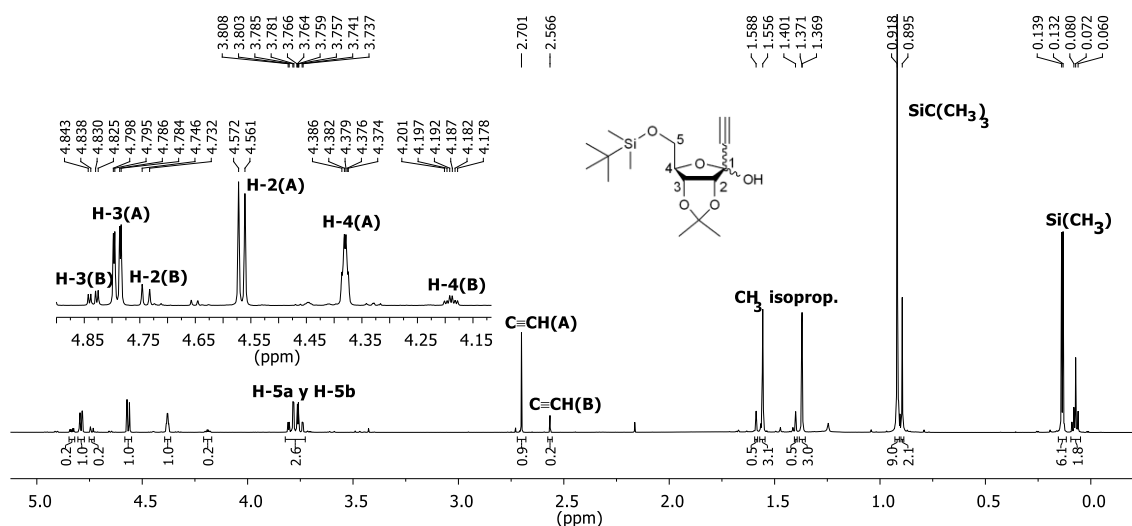


Figura 7.4 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto **157**.

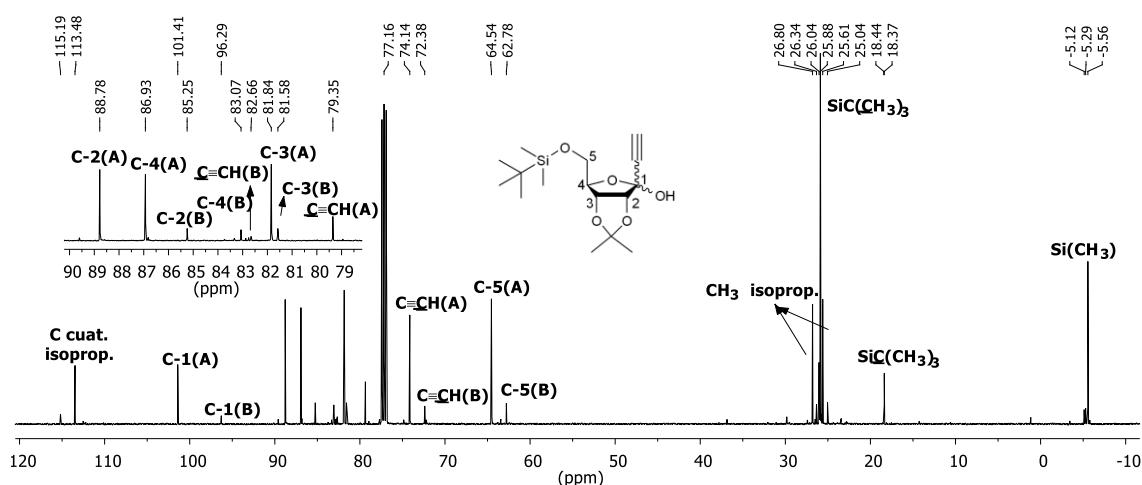
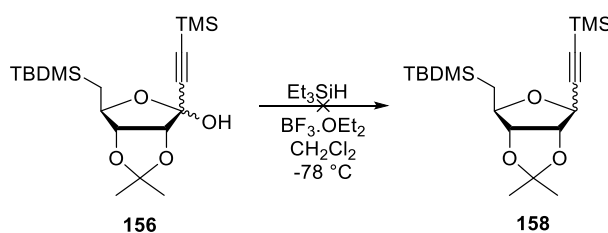


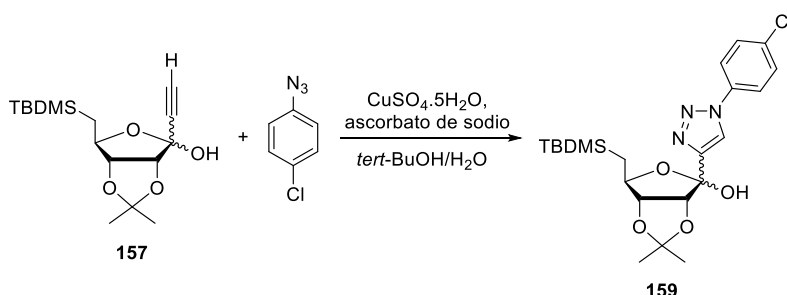
Figura 7.5 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto **157**.

A partir del lactol derivado **156** se podría obtener el desoxi derivado **158** bajo condiciones típicas de reducción¹⁴ utilizando trietilsilano y trifluoruro de boroeterato en THF anhidro a -78 °C (Esquema 7.8). La reacción se probó a diferentes temperaturas entre -78 °C y -25 °C. Una vez consumido el material de partida, se agregó trietilamina y el producto crudo se purificó por cromatografía en columna. Sin embargo, luego del análisis de las fracciones aisladas, ninguna de ellas pudo ser caracterizada como el producto deseado **158**.



Esquema 7.8 Reacción con trietilsilano y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ para la obtención del desoxi derivado **158**.

Teniendo en cuenta estos resultados, se pensó en variar la estrategia sintética realizando primero la cicloadición 1,3-dipolar sobre el triple enlace del lactol **157** y luego la reducción del hidroxilo. El tratamiento de **157** con sulfato de cobre y ascorbato de sodio y posterior agregado de 5-azido-1,2,3-trimetoxibenceno permitió obtener el triazol derivado **159** (Esquema 7.8). El compuesto **159** se purificó por cromatografía en columna de sílica gel y se obtuvo con un rendimiento del 68 % como una mezcla de anómeros. La relación entre los isómeros A:B. Es de 1:4 estimado por las áreas en el espectro de RMN protónico (Figura 7.6).



Esquema 7.8 Reacción de Cu-AAC entre el lactol **157** y una azida aromática.

El triazol derivado **159** fue caracterizado a partir de su espectro de RMN-¹H (Figura 7.6). Las señales diagnósticas son los singuletes anchos a desplazamientos químicos de 8,05 ppm y 8,07 ppm para los isómeros mayoritario (A) y minoritario (B),

respectivamente. Las señales aromáticas del *p*-clorofenilo se observan como dobletes a δ 7,69 ppm y 7,48 ppm para el isómero A y 7,66 ppm y 7,49 ppm para el isómero B todas ellas con constantes de acoplamiento de 8,8 Hz.

Por otro lado, el espectro de carbono de **159** (Figura 7.7) presenta con mayor intensidad las señales correspondientes al isómero A. Los carbonos de la D-ribofuranosa presentan desplazamientos químicos similares a otros precursores: δ 81,7-88,2 ppm para los carbonos C-2, C-3 y C-4 y δ 63,2-64,9 ppm para el carbono C-5. Se observa la incorporación de las señales aromáticas del anillo *p*-sustituído a δ 121,1-136,5 ppm y un corrimiento de la señal del carbono anomérico a δ 107,1 ppm.

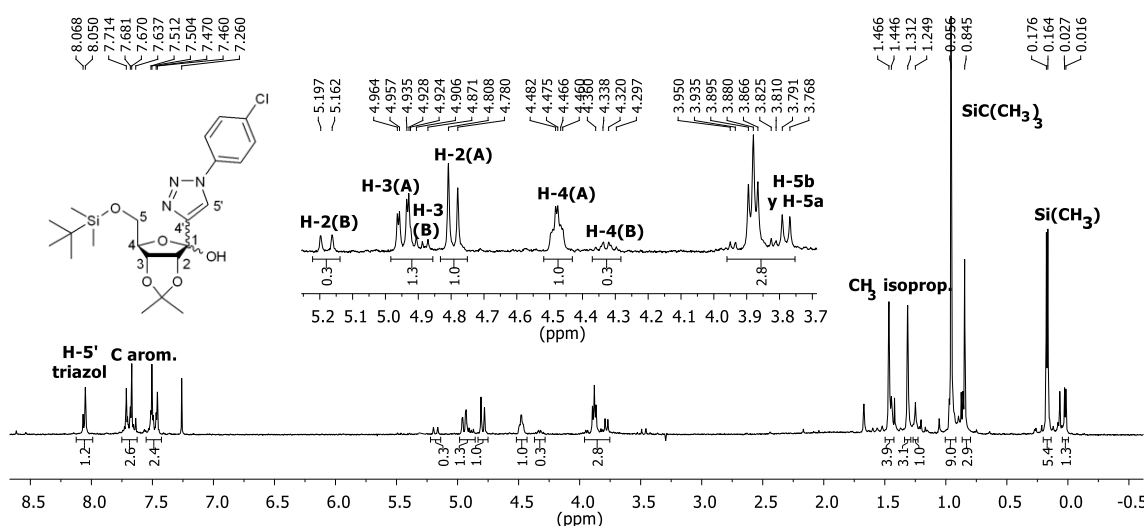


Figura 7.6 Espectro de RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) para el compuesto **159**.

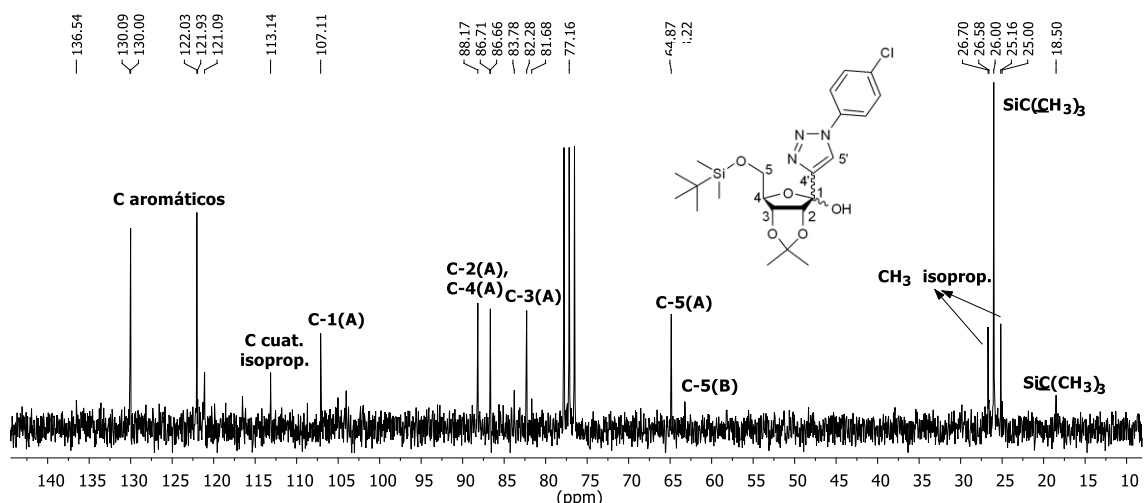


Figura 7.7 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto **159**.

Posteriormente se intentó la reducción del lactol **159** con trietilsilano y trifluoruro de boro utilizando la misma metodología que en el caso del derivado **156**. Se comenzó la reacción a -78 °C y se fue aumentando paulatinamente hasta temperatura ambiente. La reacción se siguió por CCD, pero no se observó la conversión, quedando sin reaccionar el sustrato de partida.

3. Conclusiones.

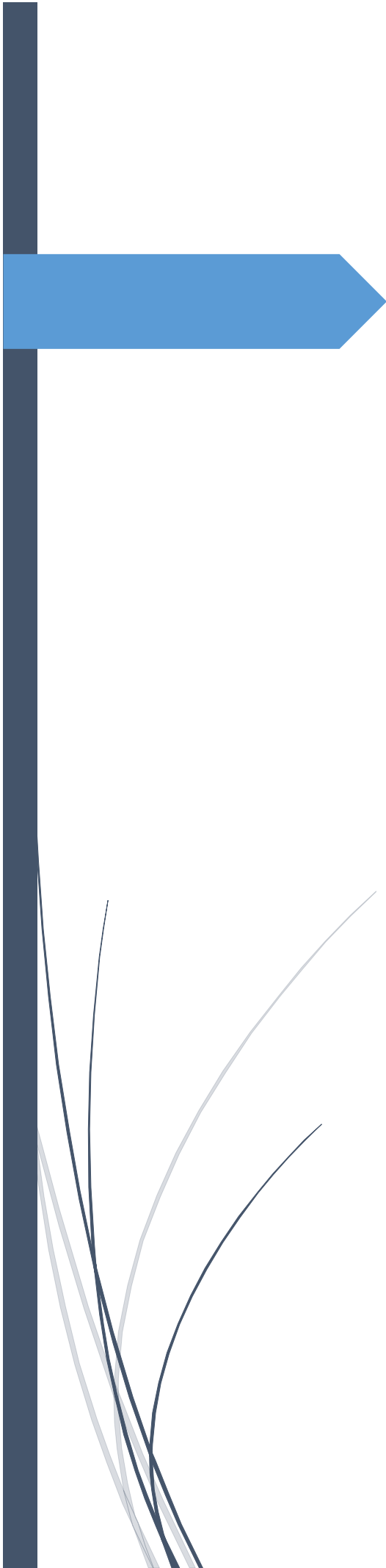
En este Capítulo de la Tesis se propuso obtener anillos heterocíclicos derivados de *C*-ribósidos. Para ello se comenzó con la síntesis de una lactona debidamente protegida, que pudiera incorporar un sustituyente por adición nucleofílica sobre el carbonilo de la lactona, generando así un lactol. Existe una metodología que permite la remoción selectiva del hidroxilo por reducción, pero al aplicarse sobre los lactoles obtenidos no fue posible aislar los productos deseados. A partir de los resultados obtenidos pueden plantearse modificaciones sobre la lactona de partida; por ejemplo, cambiando los grupos protectores, o bien partir de otros precursores de *D*-ribosa y mediante otras técnicas poder llegar a los productos deseados.

Las metodologías utilizadas en esta parte del trabajo requirieron la adecuación de las reacciones en condiciones extremadamente anhidras, trabajar a bajas temperaturas y la manipulación de reactivos organometálicos, y por medio de las cuales se pudo obtener intermediarios interesantes, algunos de ellos no descriptos antes en bibliografía.

Estos intentos son el puntapié inicial para obtener *C*-ribósidos análogos a los sintetizados a lo largo de los Capítulos de esta Tesis, e incluso explorar la posible incorporación otros anillos heterocíclicos de importante relevancia biológica.

Referencias

- ¹ H. Otero Martinez, H. Reinke, D. Michalik, C. Vogel, *Synthesis* **2009**, 11, 1834–1840.
- ² G.B. Evans, R.H. Furneaux, A. Lewandowicz, V.L. Schramm, P.C. Tyler, *J. Med. Chem.* **2003**, 46, 5271–5276.
- ³ K. Clinch, G.B. Evans, G.W.J. Fleet, R.H. Furneaux, S.W. Johnson, K.H. Lenz, S.P.H. Mee, P.R. Rands, V.L. Schramm, E.A. Taylor Ryngia, P.C. Tyler, *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 1131–1139.
- ⁴ J.D. Williams, V.P. Kamath, P.E. Morris, L.B. Townsend, *Org. Synth.* **2005**, 82, 75–79.
- ⁵ M.D. Elend, J. Fray, D. Pryde, *ARKIVOC* **2006**, xi, 114–127.
- ⁶ J.A. Piccirilli, T. Krauch, L.J. MacPherson, S.A. Benner, *Helv. Chim. Acta* **1991**, 74, 397–406.
- ⁷ N.A. Jones, S.F. Jenkinson, R. Soengas, M. Fanefjord, M.R. Wormald, R.A. Dwek, G.P. Kiran, R. Devendar, G. Takata, K. Morimoto, K. Izumori, G.W.J. Fleet, *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, 18, 774–786.
- ⁸ P. Mazerolles, P. Boussaguet, V. Huc, *Org. Synth.* **1999**, 76, 221.
- ⁹ S. Jiang, K.J. McCullough, B. Mekki, G. Singh, R.H. Wightman, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1997**, 1805–1814.
- ¹⁰ T. Kubelka, L. Slavětínská, M. Hocek, *Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 4969–4981.
- ¹¹ J.E. Copenhaver, A.M. Whaley, *Org. Synth.* **1925**, 5, 27.
- ¹² A.B. Smith, K.P. Minbiole, P.R. Verhoest, M. Schelhaas, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 10942–10953.
- ¹³ A. Cordero-Vargas, B. Quiclet-Sire S.Z. Zard, *Org. Biomol. Chem.* **2005**, 3, 4432–4443.
- ¹⁴ O. Cortezano-Arellano, C.A. Meléndez-Becerra, F. Cortés, F. Sartillo-Piscil, A. Cordero-Vargas, *Carbohydr. Res.* **2014**, 393, 51–59.



Experimental

Capítulo 8 – Técnicas
Experimentales

Espectros Adicionales

Capítulo 8

Técnicas Experimentales

1. Instrumentos y métodos generales.

Todas las síntesis se llevaron a cabo utilizando reactivos comerciales de grado analítico sin previa purificación o bien purificados por recrystalización. Los solventes utilizados fueron de grado pro análisis o anhidros y, en la mayoría de los casos, fueron secados y destilados antes de su uso según procedimientos estándares de laboratorio.¹ Los solventes anhidros se utilizaron sin purificación previa manipulándolos con jeringa y bajo atmosfera de argón.

Las reacciones a bajas temperaturas se realizaron utilizando una sonda criostática programable Thermo NESLAB CC100.

Las cromatografías en capa delgada (CCD) se realizaron utilizando placas comerciales de silicagel Merck 60 F₂₅₄ soportadas sobre aluminio utilizando los sistemas de solvente de desarrollo que se indican para cada caso. Los compuestos desarrollados por CCD se revelaron por exposición a luz ultravioleta con un $\lambda = 254$ nm o bien por rociado con una solución al 5 % (v/v) de ácido sulfúrico en etanol o revelador de cerio-molibdato (Hanessian blue) y posterior calentamiento. Las cromatografías en columna se llevaron a cabo utilizando sílicagel 60G Merck (mesh 240-400) eluyendo con los sistemas de solventes descriptos para cada caso. Las soluciones en solventes orgánicos se secaron con Na₂SO₄ anhidro y se concentraron en rotavapor.

Los puntos de fusión se determinaron con un equipo de método capilar Thomas-Hoover o un equipo Fisher-Johns y se informan sin corregir. Los poderes rotatorios se midieron utilizando un polarímetro Perkin-Elmer 343 digital utilizando la longitud de onda de la línea D de emisión de sodio en modo de apertura normal y una cuba polarimétrica de 10 cm de longitud y utilizando como solvente CHCl₃, MeOH, Acetona o DMSO según corresponda.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) fueron registrados utilizando un espectrómetro Bruker AC-200 (¹H 200 MHz, ¹³C 50 MHz) con una consola Tecmag o en un espectrómetro Bruker AMX-500 (¹H 500 MHz, ¹³C 125 MHz)

con una consola Bruker Advance II. Las asignaciones de los espectros ^1H y ^{13}C se confirmaron con la ayuda de experimentos bidimensionales ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^{13}C HSQC-DEPT y ^1H - ^{13}C HMBC, ^1H - ^1H NOESY. Los desplazamientos químicos (δ) se informan en partes por millón utilizando como estándar interno la señal de tetrametilsilano o la señal residual del solvente deuterado utilizado en cada caso.

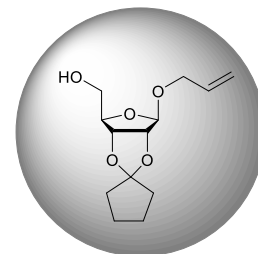
Los espectros infrarrojos (FT-IR) fueron realizados en un espectrómetro FT-IR Nicolet 510P. Para ello se prepararon en una prensa manual, pastillas de bromuro de potasio junto con la muestra sólida a analizar.

El análisis de la composición elemental fue realizado por espectrometría de masa de alta resolución y microanálisis en el UMYMFOR. Los espectros de masa de alta resolución se realizaron utilizando un espectrómetro de masa acoplado a cromatógrafo líquido Bruker micrOTOF-Q II con ionización por electrospray (ESI) y analizador de alta resolución Q-TOF. Los microanálisis se realizaron en un analizador elemental (CHNS) Exeter Analytical 440.

2. Metodologías y resultados.

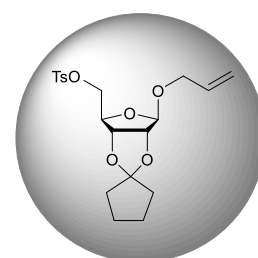
Alil 2,3-*O*-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (**77**).

D-ribosa en polvo (5,86 g; 39,0 mmol) y sulfato de cobre anhidro (12,4 g) se suspendieron en una mezcla de ciclopentanona (110 mL) y alcohol alílico (32 mL) conteniendo una cantidad catalítica de ácido sulfúrico (0,2 mL). La mezcla resultante se agitó a 40 °C durante 48 h y luego se neutralizó con NaHCO₃, se filtró y se evaporó el solvente. El crudo de reacción se extrajo con AcOEt y se lavó con solución saturada de cloruro de sodio, se secó con Na₂SO₄ (anh.) y el solvente se evaporó para dar un producto crudo. Éste se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como solvente de elución una mezcla de ciclohexano: acetona 95:5. Se obtuvieron 5,76 g (22,5 mmol) de un aceite transparente con un rendimiento del 58 %. Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura.²



Alil 2,3-*O*-ciclopentilidén-5-*O*-tosil- β -D-ribofuranósido (**78**).

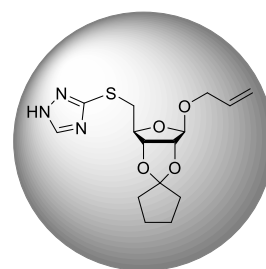
A una solución de 5,76 g (22,5 mmol) de alil 2,3-*O*-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (**77**) disuelto en piridina anhidra (10 mL), se agregó 5,14 g (26,7 mmol) de cloruro de *p*-toluénsulfonilo con agitación continua bajo atmósfera de argón. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante 18 h. Al producto crudo de reacción se agregó cloruro de metileno y se extrajo con agua, ácido clorhídrico (5 %), bicarbonato de sodio (5 %) y finalmente con agua. Luego se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 90:10, obteniéndose el compuesto **78** como un sólido blanco (8,10 g, 19,7 mmol, 88 %); R_f = 0,44 (ciclohexano: acetona 8:2); pf: 55-56°C; $[\alpha]_D^{20}$ -44,4 (*c* 1,1, cloroformo). Anal. calculado para C₂₀H₂₆O₇S: C, 58,52; H, 6,38. Encontrado: C, 58,37; H, 6,54. RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 7,78 (d, 2H, *J* 8,4 Hz, protones aromáticos), 7,34 (d, 2H, *J* 8,0 Hz, protones aromáticos), 5,77 (dddd, 1H, $J_{2',3'b}$ 17,2 Hz, $J_{2',3'a}$ 10,4 Hz, $J_{2',1'a}$ 6,2 Hz, $J_{2',1'b}$ 5,2 Hz, H-2'), 5,21 (dc, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,2 Hz, $J_{3'b,3'a} = J_{3'b,1'b} = J_{3'b,1'a}$ 1,6 Hz, H-3'b), 5,16 (dc, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,4 Hz, $J_{3'a,3'b} = J_{3'a,1'b} = J_{3'a,1'a}$ 1,4 Hz, H-3'a), 5,08 (s, 1H, H-1), 4,55 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 0,7 Hz, H-3), 4,51 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,31 (ddd, 1H, $J_{4,5b}$ 7,7 Hz, $J_{4,5a}$ 6,7 Hz, $J_{4,3}$ 0,9 Hz, H-4),



4,03 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 10,0 Hz, $J_{5b,4}$ 7,8 Hz, H-5b), 4,03 (m, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,9 Hz, $J_{1'b,2'}$ 5,2 Hz, $J_{1'b,3'b} = J_{1'b,3'a}$ 1,6 Hz, H-1'b), 3,99 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,0 Hz, $J_{5a,4}$ 6,7 Hz, H-5a), 3,87 (ddt, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,9 Hz, $J_{1'a,2'}$ 6,2 Hz, $J_{1'a,3'b} = J_{1'a,3'a}$ 1,3 Hz, H-1'a), 2,44 (s, 3H, CH₃), 1,92-1,62 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ : 145,2 (carbono aromático), 133,4 (C-2'), 132,8, 130,0, 128,1 (carbonos aromáticos), 122,4 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 117,8 (C-3'), 107,1 (C-1), 84,9 (C-2), 83,4 (C-4), 81,3 (C-3), 69,4 (C-5), 68,2 (C-1'), 35,9, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH₃).

Alil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)- β -D-ribofuranósido (79).

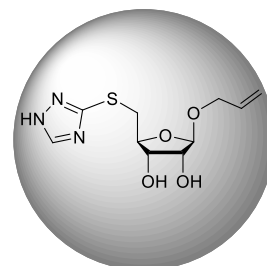
A una solución de etóxido de sodio en etanol, preparada agregando sodio metálico (250 mg, 10,9 mmol) a etanol (20 mL), se agregó 1,2,4-triazol-3-tiol (1,03 g, 10,2 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 10 minutos y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El sólido resultante se agregó a una solución del compuesto **78** (1,04 g, 2,53 mmol) en DMF (7 mL) y se calentó a 50 °C bajo atmósfera de Argón por 18 h. La solución se evaporó a presión reducida, se agregó diclorometano y se extrajo con una solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 90:10 a 80:20. El compuesto **79** se obtuvo como un sólido cristalino blanco (679,4 mg, 2,00 mmol, 79 %); R_f = 0,60 (ciclohexano: acetona 1:1); pf: 149-151 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -73,0 (c 3,0 acetona). Anal. calculado para C₁₅H₂₁N₃O₄S: C, 53,08; H, 6,24; N, 12,38. Encontrado: C, 53,05; H, 6,42; N, 12,23. RMN-¹H (500 MHz, (CD₃)₂CO) δ : 8,45 (s, 0,1H, H-5'' del anillo triazólico), 8,37 (s, 0,9H, H-5'' del anillo triazólico), 5,93 (dddd, 1H, $J_{2',3'b}$ 16,7 Hz, $J_{2',3'a}$ 11,3 Hz, $J_{2',1'b}$ 5,6 Hz, $J_{2',1'a}$ 5,6 Hz, H-2'), 5,30 (d, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,2 Hz, H-3'b), 5,15 (d, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,6 Hz, H-3'a), 5,10 (s, 1H, H-1), 4,80 (d, 1H, $J_{3,2}$ 5,9 Hz, H-3), 4,64 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,9 Hz, H-2), 4,43 (t ancho, 1H, J 7,6 Hz, H-4), 4,25 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,1 Hz, $J_{1'b,2'}$ 4,9 Hz, H-1'b), 4,01 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,8 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5,6 Hz, H-1'a), 3,38 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,7 Hz, $J_{5b,4}$ 6,7 Hz, H-5b), 3,27 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,9 Hz, $J_{5a,4}$ 9,1 Hz, H-5a), 1,84-1,62 (m, 8H, protones de ciclopentilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 157,1 (C-3'' del anillo heterocíclico), 146,5 (C-5'' del anillo heterocíclico), 133,5 (C-2'), 122,2 (carbono



cuaternario del ciclopentilidén), 117,8 (C-3'), 107,5 (C-1), 85,2 (C-2), 85,1 (C-4), 83,1 (C-3), 68,3 (C-1'), 35,8 (carbono del ciclopentilidén), 35,7 (C-5 y carbono del ciclopentilidén), 23,7 y 23,2 (carbonos del ciclopentilidén).

Alil 5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)-β-D-ribofuranósido (80).

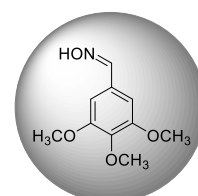
El compuesto **79** (251,4 mg, 0,74 mmol) se disolvió en ácido acético 80 % y se calentó a 55 °C durante 24 h. Luego, la solución se evaporó y el residuo se purificó por columna cromatográfica en sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 70:30 a 50:50. Finalmente, el compuesto **79** se recuperó en un 16 % (40,8 mg, 0,12 mmol) y el



compuesto **80** se obtuvo como un sólido blanco (80,0 mg, 0,29 mmol, 40 %); $R_f = 0,16$ (ciclohexano: acetona 1:1); pf: 122-123°C, $[\alpha]_D^{20} -36,6$ (c 1,0, metanol). Anal. calculado para $C_{10}H_{15}N_3O_4S$: C, 43,95; H, 5,53; N, 15,37. Encontrado: C, 44,31; H, 5,32; N, 15,23. RMN- 1H (500 MHz, CD_3OD) δ : 8,27 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 5,87 (dddd, 1H, $J_{2',3'b} 17,3$ Hz, $J_{2',3'a} 10,5$ Hz, $J_{2',1'a} 5,8$ Hz, $J_{2',1'b} 5,1$ Hz, H-2'), 5,23 (dc, 1H, $J_{3'b,2'} 17,3$ Hz, $J_{3'b,3'a} = J_{3'b,1'b} = J_{3'b,1'a} 1,8$ Hz, H-3'b), 5,12 (dc, 1H, $J_{3'a,2'} 10,5$ Hz, $J_{3'a,3'b} = J_{3'a,1'b} = J_{3'a,1'a} 1,4$ Hz, H-3'a), 4,85 (s, 1H, H-1), 4,16-4,10 (m, 3H, H-2, H-4, H-1'b), 3,93 (dd, 1H, $J_{3,2} 4,7$ Hz, $J_{3,4} 0,7$ Hz, H-3), 3,88 (ddt, 1H, $J_{1'a,1'b} 13,1$ Hz, $J_{1'a,2'} 5,9$ Hz, $J_{1'a,3'b} = J_{1'a,3'a} 1,5$ Hz, H-1'a), 3,48 (dd, 1H, $J_{5b,5a} 13,5$ Hz, $J_{5b,4} 5,2$ Hz, H-5b), 3,31-3,27 (m, 1H, H-5a); RMN- ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) δ : 158,3 (C-3'' del anillo heterocíclico), 147,8 (C-5'' del anillo heterocíclico), 135,5 (C-2'), 117,3 (C-3'), 107,9 (C-1), 82,7 (C-4), 76,5 (C-3), 75,3 (C-2), 69,2 (C-1'), 37,5 (C-5).

3,4,5-trimetoxibenzaldoxima.

Se disolvió clorhidrato de hidroxilamina (868,9 mg, 12,5 mmol) en la mínima cantidad de agua y se agregó una solución de hidróxido de sodio (471,5 mg, 11,8 mmol) en metanol (15 mL). Se comprobó que el pH fuera básico (pH = 8). Posteriormente, se agregó 3,4,5-

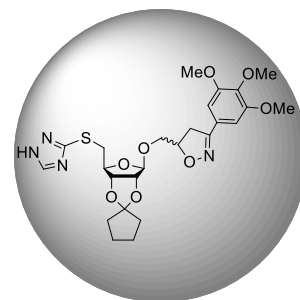


trimetoxibenzaldehído (2,20 g, 11,2 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Se agregó cloruro de metileno, se extrajo primero con agua luego con NaCl (solución saturada). Se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el solvente a

presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna utilizando como eluyente mezclas de tolueno: AcOEt 95:5 a 90:10, obteniéndose 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima (1,92 g, 8,69 mmol, 77 %). Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura.³

[(4R,S)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazolin-5-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)-β-D-ribofuranósido (81).

A una solución de 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima (194,3 mg; 0,879 mmol) en *tert*-butanol: agua 1:1, se agregó cloramina-T (195,1 mg; 0,857 mmol) en porciones pequeñas. Esta solución se agregó lentamente al compuesto **80** (191,6 mg, 0,56 mmol) previamente disuelto en *tert*-butanol: agua 1:1 y la mezcla de reacción se calentó a 45 °C durante 2 h. Luego, se evaporó y el

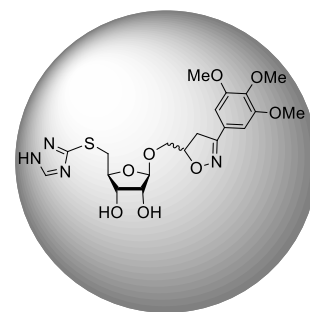


residuo se purificó por cromatografía en columna utilizando sílica gel como adsorbente y mezclas de tolueno: AcOEt 80:20 a 60:40 como solvente de elución. El compuesto **81** se obtuvo como un par de diastereoisómeros sin resolver 1:1 (129,3 mg, 0,24 mmol, 42 %); $R_f = 0,46$ (AcOEt). RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 8,14 y 8,12 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 6,89 (s, 2H, protones aromáticos del trimetoxifenilo), 5,17 y 5,16 (s, 1H, H-1), 4,92 (m, 1H, H-5' del anillo isoxazolinico), 4,67 y 4,66 (d, 1H, $J_{3,2}$ 5,8 Hz, H-3), 4,64 y 4,61 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,47 (m, 1H, H-4), 4,00 y 3,93 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 10,8, 10,7 Hz, $J_{1'b,5'}$ 3,5, 6,0 Hz, H-1'b), 3,88, 3,87, 3,87 (s, 9H, OCH₃), 3,59 y 3,58 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 10,8, 10,7 Hz, $J_{1'a,5'}$ 3,9, 3,0 Hz, H-1'a), 3,43 y 3,41 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,3, 13,2 Hz, $J_{5b,4}$ 7,0, 7,4 Hz, H-5b), 3,41 y 3,39 (dd, 1H, $J_{4'b,4'a}$ 16,5, 16,6, $J_{4'b,5'}$ 6,7, 6,9 Hz, H-4'b del anillo isoxazolinico), 3,28 y 3,26 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,3, 13,3 Hz, $J_{5b,4}$ 10,9, 11,3 Hz, H-5a), 3,23 y 3,15 (dd, 1H, $J_{4'a,4'b}$ 16,6, 16,6 Hz, $J_{4'a,5'}$ 7,6, 7,0 Hz, H-4'a del anillo isoxazolinico), 1,90-1,63 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 156,6 y 156,5 (C-3' del anillo isoxazolinico), 153,4, 140,0, 124,7, 104,2 (carbonos del trimetoxifenilo), 147,5 y 147,3 (C-5'' del anillo triazólico), 122,3 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,7 y 108,7 (C-1), 85,3, 85,2, 85,0 (C-2, C-4), 83,1 (C-3), 79,6 y 79,4 (C-5' del anillo isoxazolinico), 68,7 (C-1'), 61,0, 56,4 (OCH₃), 37,4, 37,1 (C-4' del anillo isoxazolinico), 36,0, 35,8, 35,7, 35,6 (C-5 y carbonos del ciclopentilidén), 23,7 y 23,2 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI)

m/z (M+Na) calculado para $C_{25}H_{32}N_4NaO_8S$ 571,1833, encontrado 571,1839; m/z (M+H) calculado para $C_{25}H_{33}N_4O_8S$ 549,2014, encontrado 549,2026.

[(4R,S)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazolin-5-il]metil 5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)-β-D-ribofuranósido (82).

El compuesto **81** (230,0 mg, 0,42 mmol) se disolvió en ácido acético 80 % y se calentó a 40 °C durante 48 h. Luego, la solución se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 70:30 a 40:60, obteniéndose

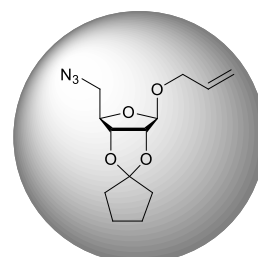


82 como un sólido blanco (114,3 mg, 0,24 mmol, 57 %); R_f = 0,36 (ciclohexano: acetona 2:8). Anal. calculado para $C_{20}H_{26}N_4O_8S$: C, 49,78; H, 5,43; N, 11,61. Encontrado: C, 49,39; H, 5,59; N, 11,26. RMN- 1H (500 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 8,31 (s ancho, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 7,01 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 4,96 (s, 1H, H-1), 4,94-4,87 (m, 1H, H-5' del anillo isoxazolinico), 4,22-4,17 (m, 2H, H-2, H-4), 4,00 y 3,98 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 4,2 Hz, $J_{3,4}$ 0,8 Hz, H-3), 3,88, 3,87, 3,77 (s, 9H, OCH_3), 3,83 y 3,80 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 10,9 y 10,6 Hz, $J_{1'b,5'}$ 4,8 y 4,6 Hz, H-1'b), 3,62-3,57 (m, 1H, H-1'a), 3,55 y 3,54 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,7 y 13,6 Hz, $J_{5b,4}$ 4,9 y 4,7 Hz, H-5b), 3,51 y 3,49 (dd, 1H, $J_{4'b,4'a}$ 16,9 y 16,8, $J_{4'b,5'}$ 4,4 y 4,5 Hz, H-4'b del anillo isoxazolinico), 3,44-3,39 (m, 1H, H-5a), 3,35 y 3,29 (dd, 1H, $J_{4'a,4'b}$ 16,8 y 16,9 Hz, $J_{4'a,5'}$ 7,6 y 7,4 Hz, H-4'a del anillo isoxazolinico); RMN- ^{13}C (125 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ : 157,0, 157,0 (C-3 del anillo triazólico), 154,4, 142,4, 140,8, 126,4, 126,3 (carbonos del trimetoxifenilo), 147,2 (C-5 del anillo triazólico), 108,6 (C-1), 105,1 (carbono del trimetoxifenilo), 83,1 y 83,0 (C-4), 80,7 y 80,6 (C-5'' del anillo isoxazolinico), 76,3 (C-3), 75,0 y 74,9 (C-2), 69,6 y 69,1 (C-1'), 60,6 y 56,6 (OCH_3), 38,0 y 37,7 (C-4'' del anillo isoxazolinico), 36,7 y 36,7 (C-5).

Alil 5-azido-2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-β-D-ribofuranósido (83).

Método de azidación directa:

Se preparó una mezcla de trifenilfosfina (463,8 mg, 1,77 mmol) y azida de sodio (522,5 mg, 8,04 mmol) en DMF (5 mL) y se agitó a 0 °C. Se agregó gota a gota una solución de tetrabromuro de carbono (586,4 mg, 1,77 mmol) en DMF (5 mL) evitando que la



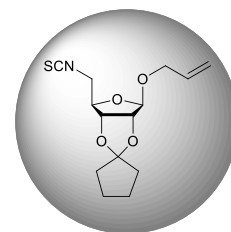
solución se caliente. Se dejó reaccionar durante 30 minutos y se agregó 412,0 mg (1,61 mmol) de alil 2,3-O-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (**77**) disuelto en DMF (5 mL) y la solución resultante se agitó a 100 °C durante 5 h. Posteriormente, se agregó metanol y se dejó a temperatura ambiente durante 18 h. Se evaporó el solvente a presión reducida, el producto crudo se disolvió en éter etílico y se extrajo con agua. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 99:1. El compuesto **83** se obtuvo como un aceite transparente (45,4 mg, 0,16 mmol, 10 %); R_f = 0,67 (ciclohexano: acetona 7:3); $[\alpha]_D^{25}$ -5,4 (c 1,7, cloroformo). Anal. calculado para $C_{13}H_{19}N_3O_4$: C, 55,50; H, 6,81. Encontrado: C, 55,53; H, 6,74. RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5,88 (dddd, 1H, $J_{2',3'b}$ 17,2 Hz, $J_{2',3'a}$ 10,4 Hz, $J_{2',1'a}$ 6,0 Hz, $J_{2',1'b}$ 5,3 Hz, H-2'), 5,29 (dc, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,2 Hz, $J_{3'b,3'a} = J_{3'b,1'b} = J_{3'b,1'a}$ 1,6 Hz, H-3'b), 5,21 (dc, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,4 Hz, $J_{3'a,3'b} = J_{3'a,1'b} = J_{3'a,1'a}$ 1,4 Hz, H-3'a), 5,15 (s, 1H, H-1), 4,60 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,56 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 1,1 Hz, H-3), 4,31 (ddd, 1H, $J_{4,5b}$ 7,8 Hz, $J_{4,5a}$ 6,8 Hz, $J_{4,3}$ 1,1 Hz, H-4), 4,21 (ddt, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,8 Hz, $J_{1'b,2'}$ 5,3 Hz, $J_{1'b,3'b} = J_{1'b,3'a}$ 1,5 Hz, H-1'b), 3,99 (ddt, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,9 Hz, $J_{1'a,2'}$ 6,0 Hz, $J_{1'a,3'b} = J_{1'a,3'a}$ 1,4 Hz, H-1'a), 3,47 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,6 Hz, $J_{5b,4}$ 7,9 Hz, H-5b), 3,28 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 12,5 Hz, $J_{5a,4}$ 6,7 Hz, H-5a), 1,94-1,70 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 133,6 (C-2'), 122,4 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 117,8 (C-3'), 107,6 (C-1), 85,3 (C-2), 85,2 (C-4), 82,0 (C-3), 68,2 (C-1'), 53,9 (C-5), 36,0, 35,9, 23,7 y 23,3 (carbonos del ciclopentilidén).

Método por sustitución del grupo tosilo:

A una solución del compuesto **78** (318,5 mg, 1,13 mmol) en DMF (8 mL) se agregó azida de sodio (312,5 mg, 4,81 mmol). La mezcla de reacción se calentó bajo atmósfera de argón a 80 °C durante 3 h. Luego se filtró y se lavó con éter etílico. El producto de evaporó a presión reducida, se suspendió en agua y se extrajo con éter etílico. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 99:1. El compuesto **83** se obtuvo como un aceite transparente (161,9 mg, 0,58 mmol, 74 %). La caracterización física y espectroscópica de **83** coincidió con la descrita en el Método de azidación directa.

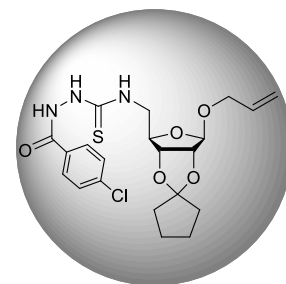
Alil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-isotiocianato-β-D-ribofuranósido (84).

A una solución del compuesto **83** (158,2 mg, 0,532 mmol) y disulfuro de carbono (0,4 mL, 6,64 mmol) en dioxano anhidro (5 mL) se agregó 169,0 mg (0,644 mmol) de trifenilfosfina. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 h, bajo atmósfera de argón. Luego el solvente se evaporó y el producto crudo se extrajo con éter etílico. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró el desecante, se evaporó el éter etílico, se disolvió en ciclohexano y se separó por filtración. Finalmente, el ciclohexano se evaporó y el residuo fue purificado por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 99:1. El compuesto **84** se obtuvo como un aceite transparente (131,6 mg, 0,44 mmol, 79 %); $R_f = 0,55$ (ciclohexano: acetona 9:1); $[\alpha]_D^{25} -21,6$ (c 1,0, cloroformo). Anal. calculado para $C_{14}H_{19}NO_4S$: C, 56,55; H, 6,44; N, 4,70. Encontrado: C, 56,47; H, 6,51; N, 4,86. IR (KBr, cm^{-1}): 2207 y 2089 ($N=C=S$). RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5,86 (dddd, 1H, $J_{2',3'b}$ 17,2 Hz, $J_{2',3'a}$ 10,4 Hz, $J_{2',1'a}$ 6,0 Hz, $J_{2',1'b}$ 5,4 Hz, H-2'), 5,29 (dc, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,2 Hz, $J_{3'b,3'a} = J_{3'b,1'b} = J_{3'b,1'a}$ 1,6 Hz, H-3'b), 5,20 (dc, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,4 Hz, $J_{3'a,3'b} = J_{3'a,1'b} = J_{3'a,1'a}$ 1,4 Hz, H-3'a), 5,15 (s, 1H, H-1), 4,60 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,55 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 0,7 Hz, H-3), 4,37 (ddd, 1H, $J_{4,5b}$ 7,8 Hz, $J_{4,5a}$ 7,0 Hz, $J_{4,3}$ 0,9 Hz, H-4), 4,20 (dddd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,7 Hz, $J_{1'b,2'}$ 5,4 Hz, $J_{1'b,3'b}$ 1,5 Hz, $J_{1'b,3'a}$ 1,5 Hz, H-1'b), 3,99 (ddt, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,8 Hz, $J_{1'a,2'}$ 6,0 Hz, $J_{1'a,3'b} = J_{1'a,3'a}$ 1,4 Hz, H-1'a), 3,68 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 14,3 Hz, $J_{5b,4}$ 7,9 Hz, H-5b), 3,55 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 14,3 Hz, $J_{5a,4}$ 7,0 Hz, H-5a), 1,92-1,65 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 133,4 (C-2'), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 118,0 (C-3'), 107,5 (C-1), 85,1 (C-2), 84,5 (C-4), 81,7 (C-3), 68,5 (C-1'), 48,1 (C-5), 35,9, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén).



Alil 2,3-O-ciclopentilidén-5-[(4-clorobenzohidrazino-carbotionil)amino]-5-desoxi-β-D-ribofuranósido (85).

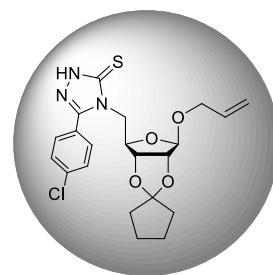
Se calentaron 78,7 mg (0,46 mmol) de *p*-clorobenzoilhidracida en dioxano anhidro hasta disolución y luego se agregaron 119,1 mg (0,40 mmol) del compuesto **84**. La solución resultante se reflujo durante 2 h bajo atmósfera de argón. El solvente se evaporó y el producto crudo se purificó por cromatografía en



columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 80:20. La 4-clorotiosemicarbazida sustituida (**85**) se obtuvo como cristales blancos (188,4 mg, 0,40 mmol, 100 %); $R_f = 0,46$ (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 119-121 °C, $[\alpha]_D^{25} -49,2$ (c 1,0, cloroformo). Anal. calculado para $C_{21}H_{26}ClN_3O_5S$: C, 53,90; H, 5,60; N, 8,98. Encontrado: C, 53,68; H, 5,64; N, 8,95. RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 9,10 (NH), 8,72 (NH), 7,82 (d, 2H, J 8,6 Hz, protones aromáticos), 7,59 (NH), 7,45 (d, 2H, J 8,6 Hz, protones aromáticos), 5,62 (dddd, 1H, $J_{2',3'b}$ 16,5 Hz, $J_{2',3'a}$ 10,4 Hz, $J_{2',1'b}$ 5,8 Hz, $J_{2',1'a}$ 5,1 Hz, H-2'), 5,14 (dd, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,2 Hz, $J_{3'b,3'a}$ 1,3 Hz, H-3'b), 5,10 (dd, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,3 Hz, $J_{3'a,3'b}$ 1,2 Hz, H-3'a), 5,07 (s, 1H, H-1), 4,62 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,4 Hz, H-3), 4,53 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,2 Hz, H-2), 4,37 (dd ancho, 1H, $J_{4,5b}$ 5,8 Hz, $J_{4,5a}$ 4,6 Hz, H-4), 4,11 (s ancho, 1H, H-5b), 4,04 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,8 Hz, $J_{1'b,2'}$ 5,4 Hz, H-1'b), 3,88 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,9 Hz, $J_{1'a,2'}$ 6,4 Hz, H-1'a), 3,63 (d ancha, 1H, $J_{5b,5a}$ 14,2 Hz, H-5a), 1,88-1,63 (m, 8H, protones ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 182,6 ($\underline{C}=\underline{S}$), 166,2 ($\underline{C}=\underline{O}$), 139,2, 129,4, 129,3 y 129,1 (carbonos aromáticos), 133,0 (C-2'), 122,1 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 118,5 (C-3'), 107,3 (C-1), 85,3 (C-2), 85,0 (C-4), 81,6 (C-3), 68,6 (C-1'), 47,7 (C-5), 35,8, 35,7, 23,6, 23,1 (carbonos del ciclopentilidén).

*Alil 2,3-O-ciclopentilidén-5-[5-(4-clorofenil)-3-tionil-1,2,4-triazolin-4-il]-5-desoxi- β -D-ribofuranósido (**86**).*

La tiosemicarbazida (**85**) (401,3 mg, 0,86 mmol) se disolvió en etanol y se agregó sodio metálico (79,8 mg, 3,47 mmol). La mezcla de reacción se refluxó durante 24 h con agitación continua. La solución se neutralizó con HCl 1N, se evaporó y el residuo crudo se purificó adicionalmente por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas

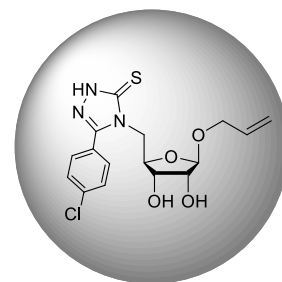


de ciclohexano: acetona 85:15, dando el compuesto **86** en forma de cristales blancos (312,9 mg, 0,70 mmol, 81 %); $R_f = 0,56$ (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 53-54 °C, $[\alpha]_D^{25} -54,0$ (c 1,0, cloroformo). Anal. calculado para $C_{21}H_{24}ClN_3O_4S$: C, 56,06; H, 5,38. Encontrado: C, 56,07; H, 5,69. RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,60 (d, 2H, J 8,8 Hz, protones aromáticos), 7,53 (d, 2H, J 8,7 Hz, protones aromáticos), 5,83 (dddd, 1H, $J_{2',3'b}$ 17,2 Hz, $J_{2',3'a}$ 10,5 Hz, $J_{2',1'a}$ 5,9 Hz, $J_{2',1'b}$ 5,0 Hz, H-2'), 5,27 (dc, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,2 Hz, $J_{3'b,3'a} = J_{3'b,1'b} = J_{3'b,1'a} = 1,7$ Hz, H-3'b), 5,19 (dc, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,5 Hz, $J_{3'a,3'b} = J_{3'a,1'b} =$

$J_{3'a,1'a}$ 1,4 Hz, H-3'a), 5,08 (s, 1H, H-1), 4,93 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 0,7 Hz, H-3), 4,68 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 14,3 Hz, $J_{5b,4}$ 9,3 Hz, H-5b), 4,57 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,36 (ddd, 1H, $J_{4,5b}$ 9,3 Hz, $J_{4,5a}$ 4,6 Hz, $J_{4,3}$ 0,8 Hz, H-4), 4,07 (ddt, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,1 Hz, $J_{1'b,2'}$ 5,0 Hz, $J_{1'b,3'b} = J_{1'b,3'a}$ 1,6 Hz, H-1'b), 4,05 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 14,4 Hz, $J_{5a,4}$ 4,5 Hz, H-5a), 3,90 (ddt, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,1 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5,9 Hz, $J_{1'a,3'b} = J_{1'a,3'a}$ 1,4 Hz, H-1'a), 1,85-1,61 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 168,4 ($\text{C}=\text{S}$) y 150,9 ($\text{C}=\text{N}$) (carbonos heterocíclicos), 137,7 (carbonos aromáticos), 133,4 (C-2'), 130,1, 129,8 y 124,1 (carbonos aromáticos), 122,4 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 117,5 (C-3'), 107,4 (C-1), 84,9 (C-2), 83,7 (C-4), 81,7 (C-3), 68,4 (C-1'), 46,8 (C-5), 35,9, 35,8, 23,6, 23,1 (carbonos del ciclopentilidén).

Alil 5-[5-(4-clorofenil)-3-tionil-1,2,4-triazolin-4-il]-5-desoxi- β -D-ribofuranósido (**87**).

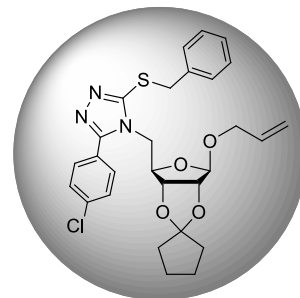
El compuesto **86** (95,9 mg, 0,21 mmol) se disolvió en ácido acético 80 % y se calentó a 40 °C durante 24 h. Luego, la solución se evaporó (tal como se describe para el compuesto **80**) y el residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 70:30 a 60:40, obteniéndose **87** como un sólido blanco



(50,8 mg, 0,13 mmol, 62 %); R_f = 0,43 (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 149-152 °C (descomposición), $[\alpha]_D^{25}$ -15,3 (c 1,0, metanol). Anal. calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{O}_4\text{S}$: C, 50,06; H, 4,73; N, 10,95. Encontrado: C, 50,00; H, 5,07; N, 10,63. RMN- ^1H (200 MHz, CD_3OD) δ : 7,73 (d, 2H, J 8,6 Hz, protones aromáticos), 7,54 (d, 2H, J 8,6 Hz, protones aromáticos), 5,73 (dddd, 1H, $J_{2',3'b}$ 17,2 Hz, $J_{2',3'a}$ 10,5 Hz, $J_{2',1'a}$ 5,6 Hz, $J_{2',1'b}$ 4,9 Hz, H-2'), 5,14 (dc, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,3 Hz, $J_{3'b,3'a} = J_{3'b,1'b} = J_{3'b,1'a}$ 1,7 Hz, H-3'b), 5,10 (dc, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,3 Hz, $J_{3'a,3'b} = J_{3'a,1'b} = J_{3'a,1'a}$ 1,6 Hz, H-3'a), 4,72 (s, 1H, H-1), 4,58 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 17,4 Hz, $J_{5b,4}$ 7,3 Hz, H-5b), 4,34-4,20 (m, 2H, H-4 y H-5a), 4,07 (dd, 1H, $J_{3,4}$ 7,0 Hz, $J_{3,2}$ 4,6 Hz, H-3), 3,81 (d, 1H, $J_{2,3}$ 4,6 Hz, H-2), 3,70 (ddt, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,2 Hz, $J_{1'b,2'}$ 4,8 Hz, $J_{1'b,3'b} = J_{1'b,3'a}$ 1,6 Hz, H-1'b), 3,58 (dddd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,0 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5,8 Hz, $J_{1'a,3'a}$ 1,4 Hz, $J_{1'a,3'b}$ 1,3 Hz, H-1'a); RMN- ^{13}C (50 MHz, CD_3OD) δ : 169,7 ($\text{C}=\text{S}$) y 153,2 ($\text{C}=\text{N}$) (carbonos heterocíclicos), 138,3 (carbono aromático), 135,7 (C-2'), 132,2, 130,7 y 126,9 (carbonos aromáticos), 117,3 (C-3'), 108,3 (C-1), 80,3 (C-4), 76,3 (C-3), 74,6 (C-2), 69,6 (C-1'), 49,7 (C-5).

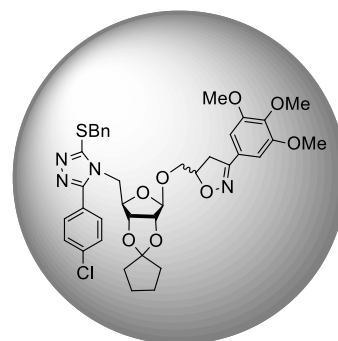
Alil 2,3-*O*-ciclopentilidén-5-[5-(4-clorofenil)-3-tiobencil-1,2,4-triazol-4-il]-5-desoxi- β -*D*-ribofuranósido (**89**).

Una mezcla del compuesto **86** (501,3 mg, 1,10 mmol), cloruro de bencilo (0,2 mL, 1,74 mmol) y carbonato de potasio anhidro (153,6 mg, 1,11 mmol) en acetona se agitó a temperatura ambiente durante 17 h. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se evaporó. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de tolueno: AcOEt 90:10 a 80:20, obteniéndose el compuesto **89** como un aceite incoloro (567,6 mg, 1,05 mmol, 94 %); $R_f = 0,47$ (tolueno: AcOEt 1:1); $[\alpha]_D^{25} -55,7$ (c 1,0, metanol). Anal. calculado para $C_{28}H_{30}ClN_3O_4S$: C, 62,27; H 5,60; N, 7,78. Encontrado: C, 61,89; H, 6,00; N, 7,93. RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,44 (d, 2H, J 8,7 Hz, protones del *p*-clorofenilo), 7,40 (d, 2H, J 8,7 Hz, protones del *p*-clorofenilo), 7,45-7,20 (m, 5H, protones aromáticos del tiobencilo), 5,72 (dddd, 1H, $J_{2',3'b} 17,2$ Hz, $J_{2',3'a} 10,6$ Hz, $J_{2',1'a} 5,8$ Hz, $J_{2',1'b} 5,1$ Hz, H-2'), 5,16 (dc, 1H, $J_{3'b,2'} 17,2$ Hz, $J_{3'b,3'a} = J_{3'b,1'b} = J_{3'b,1'a} 1,6$ Hz, H-3'b), 5,12 (dc, 1H, $J_{3'a,2'} 10,5$ Hz, $J_{3'a,3'b} = J_{3'a,1'b} = J_{3'a,1'a} 1,4$ Hz, H-3'a), 4,92 (s, 1H, H-1), 4,40 (d, 1H, J 12,8 Hz, protón del tiobencilo), 4,37 (d, 1H, J 12,8 Hz, protón del tiobencilo), 4,30 (d, 1H, $J_{2,3} 6,0$ Hz, H-2), 4,17 (dd, 1H, $J_{3,2} 6,0$ Hz, $J_{3,4} 0,9$ Hz, H-3), 4,01 (ddd, 1H, $J_{4,5b} 9,2$ Hz, $J_{4,5a} 5,3$ Hz, $J_{4,3} 0,8$ Hz, H-4), 3,92 (dd, 1H, $J_{5b,5a} 14,5$ Hz, $J_{5b,4} 9,3$ Hz, H-5b), 3,92 (m, 1H, $J_{1'b,1'a} 13,0$ Hz, $J_{1'b,2'} 5,0$ Hz, $J_{1'b,3'b} = J_{1'b,3'a} 1,5$ Hz, H-1'b), 3,76 (m, 1H, $J_{1'a,1'b} 13,0$ Hz, $J_{1'a,2'} 5,9$ Hz, $J_{1'a,3'a} = J_{1'a,3'b} 1,4$ Hz, H-1'a), 3,74 (dd, 1H, $J_{5a,5b} 14,5$ Hz, $J_{5a,4} 5,3$ Hz, H-5a), 1,74-1,44 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 154,6 y 151,3 (CN), 136,8 y 136,5 (carbonos aromáticos), 133,4 (C-2'), 130,2, 129,6, 129,3, 128,8, 128,0 y 125,7 (carbonos aromáticos), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 117,7 (C-3'), 107,4 (C-1), 84,9 (C-2), 83,8 (C-4), 81,1 (C-3), 68,6 (C-1'), 46,8 (C-5), 39,0 (CH_2 carbono bencílico), 35,8, 35,8, 23,6, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén).



[(5*R,S*)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazolin-5-il]metil 2,3-*O*-ciclopentilidén-5-[5-(4-clorofenil)-3-tiobencil-1,2,4-triazol-4-il]-5-desoxi- β -*D*-ribofuranósido (**90**).

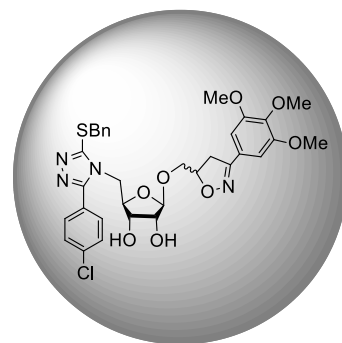
A una solución homogénea del compuesto **89** (393,2 mg, 0,73 mmol) y 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima (320,0 mg, 1,45



mmol) en etanol/agua, se le agregó lentamente cloramina-T (665,9 mg, 2,93 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 5 h. Luego, la solución se evaporó, el crudo de reacción se disolvió en acetona y se filtró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de tolueno: AcOEt 90:10 a 70:30. El compuesto **90** se obtuvo como un par diastereoisomérico con una relación epimérica 1:1 (425,3 mg, 0,57 mmol, 78 %); $R_f = 0,25$ (tolueno: AcOEt 1:1). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,51 (d, 1H, J 8,4 Hz, protones del *p*-clorofenilo), 7,47 (d, 1H, J 8,5 Hz, protones del *p*-clorofenilo), 7,40 (d, 1H, J 8,5 Hz, protones del *p*-clorofenilo), 7,29-7,20 (m, 6H, protones aromáticos), 6,85, 6,82 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 4,94, 4,93 (s, 1H, H-1) 4,82-4,74 (m, 1H, H-5' del anillo isoxazolinico), 4,45, 4,45 (d, 1H, J 12,7 Hz, protón del tiobencilo), 4,39, 4,37 (d, 1H, J 12,7 Hz, protón del tiobencilo), 4,23-4,00 (m, 4H, H-2, H-3, H-4, H-5b), 3,83, 3,82, 3,81 (s, 9H, OMe), 3,94, 3,85 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 14,2 y 14,7 Hz, $J_{5b,4}$ 4,0 y 4,8 Hz, H-5a), 3,85-3,88 (m, $\frac{1}{2}\text{H}$, H-1'b), 3,61 (dd, $\frac{1}{2}\text{H}$, $J_{1'b,1'a}$ 10,6 Hz, $J_{1'b,5'}$ 6,8 Hz, H-1'b), 3,42, 3,39 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 11,1 y 10,7 Hz, $J_{1'a,5'}$ 4,2 y 3,6 Hz, H-1'a), 3,32, 3,25 (dd, 1H, $J_{4'b,4'a}$ 16,5 y 16,4, $J_{4'b,5'}$ 10,8 y 11,0 Hz, H-4'b del anillo isoxazolinico), 3,17, 2,95 (dd, 1H, $J_{4'a,4'b}$ 16,4 y 16,5 $J_{4'a,5'}$ 8,5 y 7,4 Hz, H-4'a del anillo isoxazolinico), 1,69-1,49 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 156,4, 156,1 (C-3' del anillo isoxazolinico), 154,6, 154,5, 151,7, 151,5 (carbonos del anillo triazólico), 153,5, 153,4, 140,3, 140,2, 136,7 136,6, 136,4, 136,3, 130,3, 130,2, 129,5, 129,5, 129,3, 129,2, 129,1, 128,8, 128,3, 128,0, 125,8, 125,7, 125,4, 124,8, 124,7 (carbonos aromáticos) 122,6, 122,5 (carbonos cuaternarios del ciclopentilidén), 108,5, 108,4 (C-1), 104,2 (carbono aromático), 84,7, 84,7 (C-2), 84,0, 83,9 (C-4), 81,0 (C-3), 79,6, 79,4 (C-5' del anillo isoxazolinico), 69,3, 68,2 (C-1'), 61,1, 61,1, 56,5, 56,4 (OCH₃), 46,4, 46,4 (C-5), 38,6, 38,4 (carbono tiobencilico), 37,4, 36,3 (C-4' del anillo isoxazolinico), 35,7, 35,6, 23,6, 23,1, 23,1 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{41}\text{ClN}_4\text{NaO}_8\text{S}$ 771,2226, encontrado 771,2235.

*[(5R,S)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)-isoxazolin-5-il]metil 5-[5-(4-clorofenil)-3-tiobencil)-1,2,4-triazol-4-il]-5-desoxi- β -D-ribofuranósido (**91**).*

El compuesto **90** (138,6 mg, 0,18 mmol) se disolvió en ácido acético 80 % y se calentó a 40 °C durante 48 h. La



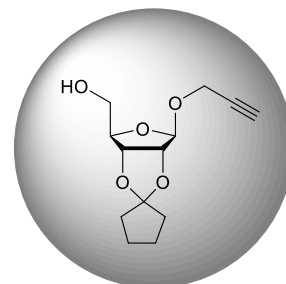
solución se evaporó y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 70:30 a 55:45, dando **91** como un sólido blanco (74,6 mg, 0,11 mmol, 59 %); $R_f = 0,48$ (ciclohexano: acetona 4:6). RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)\text{CO}$) δ : 7,76-7,13 (m, 9H, protones aromáticos), 7,02, 7,00 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 4,81 (s, 1H, H-1), 4,76-4,70 (m, 1H, H-5' del anillo isoxazolinico), 4,46-4,42 (m, 2H, protones del tiobencilo), 4,29-4,25 (m, 1H, H-5b), 4,17, 4,13 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 15,0 y 15,1 Hz, $J_{5b,4}$ 7,7 y 7,8 Hz, H-5a), 4,00-3,96 (m, 2H, H-2, H-4), 3,88, 3,87 (s, 6H, OCH_3), 3,83, 3,78 (d, 1H, $J_{3,2}$ 3,5 y 4,5 Hz, H-3), 3,76, 3,76 (s, 3H, OCH_3), 3,55, 3,48 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 10,9 y 10,7 Hz, $J_{1'b,5'}$ 4,8 y 4,1 Hz, H-1'b), 3,42, 3,35 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 11,9 y 10,6 Hz, $J_{1'a,5'}$ 3,7 y 6,4 Hz, H-1'a), 3,42, 3,39 (dd, 1H, $J_{4'b,4'a}$ 16,9 y 16,8 Hz, $J_{4'b,5'}$ 10,9 y 11,0 Hz, H-4'b del anillo isoxazolinico), 3,10, 3,09 (dd, 1H, $J_{4'a,4'b}$ 16,9 y 16,8 Hz, $J_{4'a,5'}$ 7,7 y 7,9 Hz, H-4'a del anillo isoxazolinico); RMN- ^{13}C (125 MHz, $(\text{CD}_3)\text{CO}$) δ : 157,0 (C-3'' del anillo isoxazolinico), 155,5, 155,4, 152,1, 152,0 (carbono del anillo triazólico), 154,5, 140,9, 138,4, 138,3, 136,2, 136,1, 131,6, 131,5, 130,0, 130,0, 129,9, 129,8, 129,4, 128,5, 128,0, 126,3, 126,1 (carbonos aromáticos), 108,8, 108,7 (C-1), 105,2, 105,2 (carbonos aromáticos), 81,5, 81,3 (C-4), 80,7, 80,5 (C-5'' del anillo isoxazolinico), 75,5 (C-3), 73,6, 73,5 (C-2), 69,9, 69,5 (C-1'), 60,7, 56,6 (OCH_3), 49,0, 48,7 (C-5), 38,8 (carbono del tiobencilo), 37,8, 37,5 (C-4'' del anillo isoxazolinico). HRMS (ESI) m/z [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$ calculado para $\text{C}_{33}\text{H}_{35}\text{ClN}_4\text{NaO}_8\text{S}$ 705,1756, encontrado 705,1770.

Procedimiento general 1 para la síntesis de derivados propargílicos (92-93).

D-ribosa en polvo (6,05 g, 40,30 mmol) y sulfato de sodio anhidro (12,9 g) se suspendieron en una mezcla de ciclopentanona (110 mL) o acetona (96 mL) y alcohol propargílico (28 mL) conteniendo una cantidad catalítica de H_2SO_4 (0,3 mL). La mezcla resultante se agitó a 40 °C durante 48 h y luego se neutralizó con NaHCO_3 , se filtró y los solventes se evaporaron. El producto crudo se extrajo con acetato de etilo y se lavó con NaCl (s.s.), se secó (Na_2SO_4), y el solvente se evaporó para dar un producto crudo, el cual se purificó por cromatografía flash en columna de sílica gel (ciclohexano: acetona 100:0 a 95:5) para obtener el compuesto **92** o **93**.

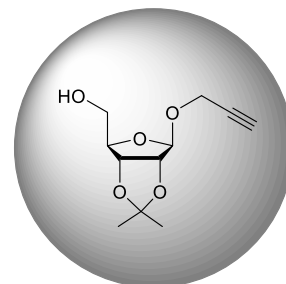
Propargil 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (92).

El compuesto **92** se obtuvo como un aceite incoloro (22,77 mmol, 57 %); $R_f = 0,37$ (ciclohexano: acetona 7:3); $[\alpha]_D^{20} -100,2$ (c 1,1, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 3474 (ν O-H), 3284 (ν C_{sp}-H), 2957 (ν C_{sp3}-H), 2125 (ν C_{sp}-C_{sp}), cm⁻¹; RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 5,26 (s, 1H, H-1), 4,74 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 0,5 Hz, H-3), 4,57 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,42 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,6 Hz, H-4), 4,27 (d, 2H, J 2,3 Hz, CH₂-C≡CH), 3,70 (ddd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,3 Hz, $J_{5b,OH}$ 4,4 Hz, $J_{5b,4}$ 3,2 Hz, H-5b), 3,61 (ddd, 1H, $J_{5a,5b}$ 12,6 Hz, $J_{5a,OH}$ 8,6 Hz, $J_{5a,4}$ 4,2 Hz, H-5a), 2,86 (dd, 1H, $J_{OH,5a}$ 8,9 Hz, $J_{OH,5b}$ 4,6 Hz, OH), 2,48 (t, 1H, J 2,4 Hz, ≡CH), 1,95-1,63 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 122,0 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,5 (C-1), 88,4, 85,7, 81,3 (C-2, C-3, C-4), 78,5 (CH₂-C≡CH), 75,4 (≡CH), 64,0 (C-5), 55,3 (CH₂-C≡), 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén). EMIE m/z 254 [M]⁺ (16), 253 (11), 225 (100), 199 (75), 169 (93). Anal. Calculado para C₁₃H₁₈O₅: C, 61,40; H, 7,14. Encontrado: C, 61,54; H, 7,29.



Propargil 2,3-O-isopropylidén-β-D-ribofuranósido (93).

El compuesto **10b** se obtuvo como un aceite incoloro (21,36 mmol, 53 %). La caracterización física y espectroscópica coincidió con los datos de literatura.⁴

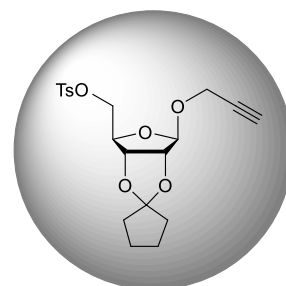


Procedimiento general 2 para la síntesis de tosil derivados (94-95).

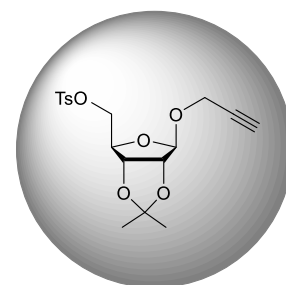
A una solución del derivado propargílico **92** o **93** (21,40 mmol) disuelta en piridina anhidra (10 mL), se agregó cloruro de tosilo (26,2 mmol) con agitación continua. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante una noche. Luego la mezcla de reacción se disolvió en cloruro de metileno y se extrajo con agua, ácido clorhídrico (5 %), bicarbonato de sodio (5 %) y finalmente con agua. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio (anhidro) y el solvente se evaporó. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna flash (ciclohexano: acetona 100:0 a 90:10) obteniéndose el compuesto **94** o **95**.

Propargil 2,3-O-ciclopentilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (94).

El compuesto **94** se obtuvo como un aceite transparente (16,40 mmol, 77 %); $R_f = 0,47$ (ciclohexano: acetona 7:3); $[\alpha]_D^{20} -68,1$ (c 1,1, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 3286 ($\nu_{C_{sp}-H}$), 2964 ($\nu_{C_{sp^3}-H}$), 2121 ($\nu_{C_{sp}-C_{sp}}$), 1599 ($\nu_{C_{sp^2}-C_{sp^2}}$), 1362 ($\nu_{S=O}$), 1182 ($\nu_{S=O}$) cm^{-1} ; RMN- 1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,78 (d, 2H, J 8,2 Hz, protones aromáticos), 7,34 (d, 2H, J 8,0 Hz, protones aromáticos), 5,25 (s, 1H, H-1), 4,52 (s, 2H, H-2, H-3), 4,34 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,1 Hz, H-4), 4,07 (d, 2H, J 2,4 Hz, $\underline{CH_2-C\equiv CH}$), 3,99 (d, 2H, $J_{5,4}$ 7,1 Hz, H-5), 2,44 (s, 3H, CH_3), 2,40 (t, 1H, J 2,5 Hz, $\equiv CH$), 1,90-1,62 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 145,2, 132,7, 130,1 y 128,1 (carbonos aromáticos), 122,5 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 106,3 (C-1), 84,8 (C-2), 83,7 (C-4), 81,1 (C-3), 78,5 ($\underline{CH_2-C\equiv CH}$), 75,1 ($\equiv CH$), 69,3 (C-5), 54,4 ($\underline{CH_2-C\equiv}$), 35,8, 35,7, 23,6, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH_3). EMIE m/z 408 $[M]^+$ (19), 379 (100), 353 (50), 155 (18), 91 (37). Anal. Calculado para $C_{20}H_{24}O_7S$: C, 58,81; H, 5,92. Encontrado: C, 58,71; H, 6,16.

**Propargil 2,3-O-isopropilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (95).**

El compuesto **95** se obtuvo como un sólido blanco (16,50 mmol, 77 %); $R_f = 0,56$ (ciclohexano: acetona 7:3); pf: 47-48 °C, $[\alpha]_D^{20} -73,3$ (c 1,1, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 3284 ($\nu_{C_{sp}-H}$), 2942 ($\nu_{C_{sp^3}-H}$), 2120 ($\nu_{C_{sp}-C_{sp}}$), 1595 ($\nu_{C_{sp^2}-C_{sp^2}}$), 1362 ($\nu_{S=O}$), 1178 ($\nu_{S=O}$) cm^{-1} ; RMN- 1H (200 MHz, $CDCl_3$) δ : 7,80 (d, 2H, J 8,5 Hz, protones aromáticos), 7,35 (d, 2H, J 8,0 Hz, protones aromáticos), 5,26 (s, 1H, H-1), 4,60 (s, 2H, H-2, H-3), 4,34 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,2 Hz, H-4), 4,09 (d, 2H, J 2,6 Hz, $\underline{CH_2-C\equiv CH}$), 4,01 (d, 2H, $J_{5,4}$ 7,3 Hz, H-5), 2,45 (s, 3H, CH_3), 2,41 (t, 1H, J 2,6 Hz, $\equiv CH$), 1,45 (s, 3H, protones del isopropilidén), 1,28 (s, 3H, protones del isopropilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 145,3, 132,8, 130,1 y 128,1 (carbonos aromáticos), 113,0 (carbono cuaternario del isopropilidén), 106,6 (C-1), 85,1 (C-2), 84,1 (C-4), 81,4 (C-3), 78,5 ($\underline{CH_2-C\equiv CH}$), 75,1 ($\equiv CH$), 69,3 (C-5), 54,5 ($\underline{CH_2-C\equiv}$), 26,4, 25,0 (CH_3 del isopropilidén), 21,8 (CH_3 del tosilato). EMIE m/z 172 (68), 108 (46), 107 (70), 91 (100). Anal. Calculado para $C_{18}H_{22}O_7S$: C, 56,53; H, 5,80. Encontrado: C, 56,64; H, 6,02.

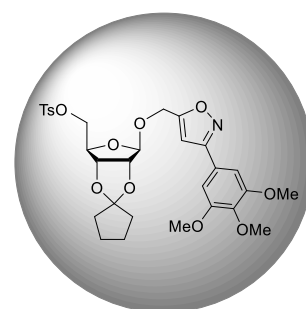


Procedimiento general 3 para la síntesis de isoxazol derivados (96-97).

A una solución de 3,4,5-trimetoxi benzaldoxima (8,00 mmol) en una mezcla de etanol: agua (1:1), se agregó cloramina-T (16,00 mmol) en pequeñas porciones. Esta solución así preparada se agregó lentamente y en pequeñas porciones al compuesto **96** o **97** (4,00 mmol) disuelto en etanol: agua (1:1). Luego, la mezcla de reacción se calentó a 40 °C durante 4 h. Luego, la solución se evaporó y el residuo se purificó.

[3-(3,4,5-Trimetoxifenil)-isoxazol-5-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (96).

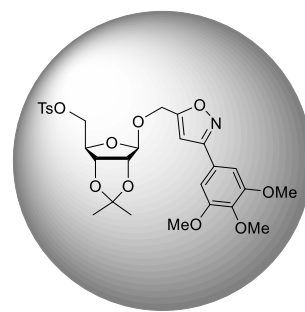
El compuesto **96** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 95:5, obteniéndose un sólido blanco (2,68 mmol, 67 %); pf: 31-33 °C; R_f = 0,47 (tolueno: AcOEt 8:2); $[\alpha]_D^{20}$ -27,1 (c 1,2, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 2938 (ν C_{sp3}-H), 1588 (ν C_{sp2}-C_{sp2}), 1468 (ν C_{sp2}-C_{sp2}), 1361 (ν S=O), 1180 (ν S=O), 1122



(ν C-O), 978 (ν S-C-O), 816 (δ C-H) cm^{-1} ; RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 7,76 (d, 2H, J 8,6 Hz, protones aromáticos), 7,31 (d, 2H, J 8,6 Hz, protones aromáticos), 7,05 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 6,60 (s, 1H, H-4 del anillo isoxazólico), 5,19 (s, 1H, H-1), 4,69 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,4 Hz, H-1'b), 4,58 (s, 2H, H-2, H-3), 4,57 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,4 Hz, H-1'a), 4,40 (t, 1H, $J_{4,5}$ 6,9 Hz, H-4), 4,05 (d, 2H, $J_{5,4}$ 6,6 Hz, H-5), 3,92 (s, 6H, OCH₃), 3,89 (s, 3H, OCH₃), 2,41 (s, 3H, CH₃), 1,91-1,65 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 168,5, 162,5 (C-5', C-3' del anillo isoxazólico), 153,7, 139,8, 124,3, 104,2 (carbonos del trimetoxifenilo), 145,4, 132,5, 130,1, 128,0 (carbonos del tosilo), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,6 (C-1), 101,9 (C-4' del anillo isoxazólico), 84,9 (C-2), 84,0 (C-4), 81,0 (C-3), 69,4 (C-5), 61,0 (OCH₃), 59,8 (C-1'), 56,4 (OCH₃), 35,8, 35,8, 23,6, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH₃). EMIE m/z 617 [M]⁺ (7), 361 (42), 249 (19), 248 (18), 234 (24), 172 (61), 91 (100). Anal. Calculado para C₃₀H₃₅NO₁₁S: C, 58,34; H, 5,71; N, 2,27. Encontrado: C, 58,29; H, 6,11; N, 2,60.

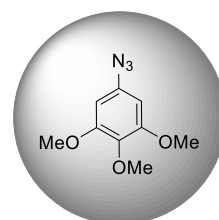
[3-(3,4,5-Trimetoxifenil)-isoxazol-5-il]metil 2,3-O-isopropilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (97).

El compuesto **97** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 85:15, obteniéndose un sólido blanco (2,56 mmol, 64 %); $R_f = 0,25$ (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 30 °C; $[\alpha]_D^{20} -40,0$ (c 1,1, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 2940 (ν C_{sp3}-H), 1591 (ν C_{sp2}- C_{sp2}), 1467 (ν C_{sp2}- C_{sp2}), 1366 (ν S=O), 1183 (ν S=O), 1124 (ν C-O), 982 (ν S-C-O), 814 (δ C-H) cm^{-1} ; RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 7,73 (d, 2H, J 8,2 Hz, protones aromáticos), 7,27 (d, 2H, J 7,9 Hz, protones aromáticos), 7,02 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 6,58 (s, 1H, H-4' del anillo isoxazólico), 5,15 (s, 1H, H-1), 4,66 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,4 Hz, H-1'b), 4,61 (s, 2H, H-2, H-3), 4,54 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,6 Hz, H-1'a), 4,35 (t, 1H, $J_{4,5}$ 6,9 Hz, H-4), 4,02 (d, 2H, $J_{5,4}$ 7,0 Hz, H-5), 3,88 (s, 6H, OCH₃), 3,85 (s, 3H, OCH₃), 2,37 (s, 3H, CH₃ del tosilo), 1,41 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén), 1,24 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 168,4, 162,3 (C-5', C-3' del anillo isoxazólico), 153,6, 139,7, 124,2, 104,1 (carbonos del trimetoxifenilo), 145,2, 132,5, 130,0, 127,9 (carbonos del tosilo), 112,9 (carbono cuaternario del isopropilidén), 107,7 (C-1), 101,7 (C-4' del anillo isoxazólico), 85,0 (C-2), 84,2 (C-4), 81,1 (C-3), 69,3 (C-5), 60,9 (OCH₃), 59,7 (C-1'), 56,2 (OCH₃), 26,3, 24,8 (CH₃ del isopropilidén), 21,5 (CH₃ del tosilo). EMIE m/z 591 [M]⁺ (100), 576 (11), 293 (32), 248 (66), 155 (44), 91 (85). Anal. Calculado para C₂₈H₃₃NO₁₁S: C, 56,84; H, 5,62; N, 2,37. Encontrado: C, 57,04; H, 6,01; N, 2,56.



5-azido-1,2,3-trimetoxibenceno.

3,4,5-Trimetoxianilina (1,01 g, 5,50 mmol) se disuelve en una solución de HCl 0,4 M (50 mL) a temperatura ambiente. Luego de enfriar la solución a 0 °C, se agrega una solución de NaNO₂ (379,7 mg, 5,51 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 10 minutos a 0-5 °C. Se agrega azida de sodio (432,8 mg, 6,66 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se diluye con AcOEt. La fase orgánica se lava con solución saturada de NaCl y se seca con sulfato de sodio anhidro. Luego de evaporar el solvente, se obtuvieron 1,19 g (5,70 mmol) del producto crudo con un rendimiento del 100 %, el cual se encontraba lo suficientemente puro como para continuar con el siguiente paso sintético. La caracterización a partir del espectro de RMN-¹H coincidió con los datos bibliográficos.⁵

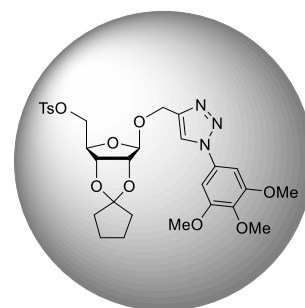


Procedimiento general 4 para la síntesis de derivados triazólicos (98-99).

Una mezcla del compuesto **94** o **95** (4,00 mmol), ascorbato de sodio (0,61 mmol), y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,48 mmol) se suspenden en 10 mL de una solución de *tert*-BuOH: H_2O (1:1). Luego de 15 minutos, se agrega 5-azido-1,2,3-trimetoxibenceno (5,00 mmol), y la mezcla se agita a 40 °C durante 24 h. Posteriormente, la mezcla de reacción se extrae con CH_2Cl_2 , y las fases orgánicas combinadas se lavan con agua, se secan con Na_2SO_4 (anhidro), y se evaporan a sequedad. El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna para obtener el derivado triazólico (**98** o **99**).

*[1-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (**98**).*

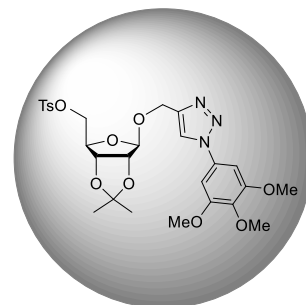
El compuesto **98** se purifica por cromatografía en columna utilizando como eluyente mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 80:20, obteniéndose un sólido blanco (3,58 mmol, 89 %); $R_f = 0,22$ (tolueno: AcOEt 8:2); pf: 49 °C; $[\alpha]_D^{20} -40,8$ (*c* 1,0, cloroformo). IR ν_{max} 2946 (ν $\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H}$), 1603 (ν $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-C}_{\text{sp}2}$), 1470 (ν $\text{C}_{\text{sp}2}\text{-C}_{\text{sp}2}$), 1360 (ν S=O), 1183 (ν S=O), 1126 (ν C-



O), 976 (ν S-C-O), 820 (δ C-H) cm^{-1} ; RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 8,13 (s, 1H, H-5' del anillo triazólico), 7,75 (d, 2H, *J* 8,1 Hz, protones del tosilo), 7,33 (d, 2H, *J* 8,1 Hz, protones del tosilo), 7,02 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 5,24 (s, 1H, H-1), 4,86 (d, 1H, *J*_{1'b,1'a} 11,9 Hz, H-1'b), 4,66 (d, 1H, *J*_{1'a,1'b} 11,9 Hz, H-1'a), 4,58 (d, 1H, *J*_{2,3} 6,1 Hz, H-2), 4,54 (d, 1H, *J*_{3,2} 6,1 Hz, *J*_{3,4} 0,7 Hz, H-3), 4,38 (dt, 1H, *J*_{4,5} 6,6 Hz, *J*_{4,3} 0,7 Hz, H-4), 4,12 (dd, 1H, *J*_{5b,5a} 10,1 Hz, *J*_{5b,4} 6,3 Hz, H-5b), 4,05 (dd, 1H, *J*_{5a,5b} 9,7 Hz, *J*_{5a,4} 6,7 Hz, H-5a), 3,92 (s, 6H, OCH_3), 3,88 (s, 6H, OCH_3), 2,43 (s, 3H, CH_3), 1,92-1,65 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ : 154,0, 138,3, 133,0, 98,4 (carbonos del trimetoxifenilo), 145,5, 132,5, 130,2, 128,0 (carbonos del tosilo), 144,5 (C-4' del anillo triazólico), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 121,8 (C-5' del anillo triazólico), 107,5 (C-1), 85,0 (C-2), 83,8 (C-4), 81,0 (C-3), 69,7 (C-5), 61,2 (OCH_3), 60,7 (C-1'), 56,6 (OCH_3), 35,9, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH_3). EMIE *m/z* 617 [*M*]⁺ (9), 589 (2), 220 (40), 186 (24), 172 (25), 91 (100). Anal. Calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_{10}\text{S}$: C, 56,39; H, 5,71; N, 6,80. Encontrado: C, 56,79; H, 6,06; N, 6,98.

[1-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil 2,3-O-isopropilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (**99**).

El compuesto **99** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 70:30, obteniéndose un sólido blanco (3,68 mmol, 92 %); R_f = 0,39 (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 40-41 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -38,7 (c 1,0, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 2942 (ν C_{sp3}-H), 1603 (ν C_{sp2}- C_{sp2}), 1467 (ν C_{sp2}- C_{sp2}), 1365 (ν S=O), 1178 (ν S=O), 1124 (ν C-O), 978 (ν S-C-O), 818 (δ C-H) cm⁻¹; RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 8,13 (s, 1H, H-5' del anillo triazólico), 7,74 (d, 2H, J 8,4 Hz, protones del tosilo), 7,32 (d, 2H, J 8,1 Hz, protones del tosilo), 7,01 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 5,22 (s, 1H, H-1), 4,85 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 11,9 Hz, H-1'b), 4,65 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 11,7 Hz, H-1'a), 4,64 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,59 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 0,9 Hz, H-3), 4,35 (dt, 1H, $J_{4,5}$ 6,6 Hz, $J_{4,3}$ 0,7 Hz, H-4), 4,11 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 9,9 Hz, $J_{5b,4}$ 6,6 Hz, H-5b), 4,04 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,1 Hz, $J_{5a,4}$ 6,8 Hz, H-5a), 3,91 (s, 6H, OCH₃), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 2,42 (s, 3H, CH₃ del tosilo), 1,44 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén), 1,26 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 154,0, 138,3, 133,0, 98,4 (carbonos del trimetoxifenilo), 145,5, 132,5, 130,2, 128,0 (carbonos del tosilo), 144,5 (C-4' del anillo triazólico), 121,7 (C-5' del anillo triazólico), 113,0 (carbono cuaternario del isopropilidén), 107,7 (C-1), 85,2 (C-4), 84,1 (C-2), 81,2 (C-3), 69,7 (C-5), 61,2 (OCH₃), 60,7 (C-1'), 56,6 (OCH₃), 26,5, 25,0 (CH₃ del isopropilidén), 21,8 (CH₃ del tosilo). EMIE m/z 591 [M]⁺• (2), 576 (4), 563 (6), 548 (3), 220 (67), 172 (53), 91 (100). Anal. Calculado para C₂₇H₃₃N₃O₁₀S: C, 54,81; H, 5,62; N, 7,10. Encontrado: C, 54,53; H, 5,93; N, 6,98.



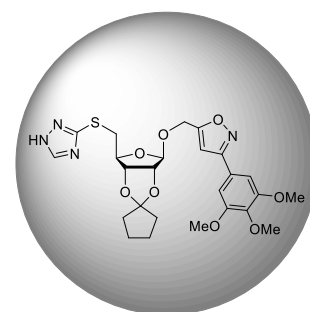
Procedimiento general 5 para la síntesis de derivados di-heterocíclicos (**100**, **101**, **102**, **103**)

A una solución de etóxido de sodio en etanol, preparada a partir del agregado de sodio metálico (aproximadamente 30 mg, 1,30 mmol) a etanol (15mL), se agrega 1,2,4-triazolil-5-tiol (120,4 mg, 1,19 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 50 °C durante 10 minutos y luego el solvente se evapora a presión reducida. El sólido resultante se agrega a una solución del compuesto **96**, **97**, **98** o **99** (0,39 mmol) en DMF (2 mL) y se agita durante una noche bajo atmósfera de argón a 50 °C. La solución se

evapora y el residuo se disuelve en diclorometano y se lava con solución saturada de NaCl, se seca con Na₂SO₄ (anhidro), se filtra y se evapora el solvente. El producto crudo se purifica por cromatografía en columna flash (ciclohexano: acetona).

[3-(3,4,5-Trimetoxifenil)-isoxazol-5-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)-β-D-ribofuranósido (**100**).

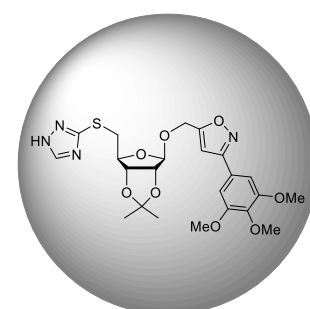
El compuesto **100** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 80:20, obteniéndose un sólido cristalino (0,27 mmol, 70 %); R_f = 0,29 (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 141-142 °C; [α]_D²⁰ -42,2 (c 1,0, cloroformo). IR ν_{max} 3281 (ν N-H), 2938 (ν C_{sp3}-H), 1587 (ν C_{sp2}-C_{sp2}), 1467 (ν C_{sp2}-C_{sp2}),



1125 (ν C-O) cm⁻¹; RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 8,20 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 6,99 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 6,55 (s, 1H, H-4' del anillo isoxazólico), 5,22 (s, 1H, H-1), 4,83 (d, 1H, J_{1'b,1'a} 13,2 Hz, H-1'b), 4,71 (d, 1H, J_{3,2} 6,6 Hz, H-3), 4,67 (d, 1H, J_{2,3} 5,9 Hz, H-2), 4,66 (d, 1H, J_{1'a,1'b} 13,6 Hz, H-1'a), 4,53 (t, 1H, J_{4,5} 7,7 Hz, H-4), 3,90 (s, 6H, OCH₃), 3,87 (s, 3H, OCH₃), 3,42 (dd, 1H, J_{5b,5a} 13,6 Hz, J_{5b,4} 7,3 Hz, H-5b), 3,28 (dd, 1H, J_{5a,5b} 13,6 Hz, J_{5a,4} 8,4 Hz, H-5a), 1,90-1,63 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 168,7 (C-5' del anillo isoxazólico), 162,4 (C-3' del anillo isoxazólico), 153,6, 139,7, 124,3, 104,2 (carbonos del trimetoxifenilo), 146,5 (C-5'' del anillo triazólico), 122,4 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,9 (C-1), 101,9 (C-4' del anillo isoxazólico), 85,6 (C-4), 85,2 (C-2), 83,1 (C-3), 61,1 (OCH₃), 59,8 (C-1'), 56,4 (OCH₃), 35,9, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos el ciclopentilidén), 35,7 (C-5). EMIE m/z 546 [M]⁺ (2), 281 (18), 252 (100), 209 (41), 194 (28), 101 (15). Anal. Calculado para C₂₅H₃₀N₄O₈S: C, 54,93; H, 5,53; N, 10,25. Encontrado: C, 55,33; H, 5,86; N, 10,07.

[3-(3,4,5-Trimetoxifenil)-isoxazol-5-il]metil 5-desoxi-2,3-O-isopropilidén-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)-β-D-ribofuranósido (**101**).

El compuesto **101** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 70:30, obteniéndose un sólido cristalino (0,26 mmol, 67 %); R_f = 0,23 (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 127-

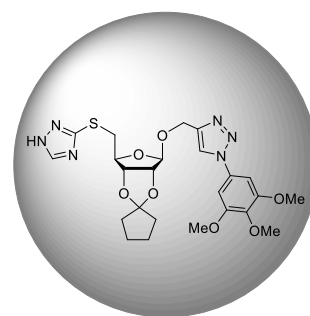


128 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -40,8 (*c* 0,7, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 3282 (ν N-H), 2934 (ν C_{sp3}-H), 1591 (ν C_{sp2}-C_{sp2}), 1468 (ν C_{sp2}-C_{sp2}), 1126 (ν C-O) cm⁻¹; RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ : 8,16 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 7,00 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 6,56 (s, 1H, H-4' del anillo isoxazólico), 5,22 (s, 1H, H-1), 4,85 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,4 Hz, H-1'b), 4,79 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,2 Hz, H-3), 4,73 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,67 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,4 Hz, H-1'a), 4,52 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,7 Hz, H-4), 3,91 (s, 6H, OCH₃), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 3,43 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,5 Hz, $J_{5b,4}$ 7,2 Hz, H-5b), 3,28 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,7 Hz, $J_{5a,4}$ 8,2 Hz, H-5a), 1,45 (s, 3H, CH₃), 1,30 (s, 3H, CH₃); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 168,7 (C-5' del anillo isoxazólico), 162,4 (C-3' del anillo isoxazólico), 153,7, 139,8, 124,3, 104,3 (carbonos del trimetoxifenilo), 146,7 (C-5'' del anillo triazólico), 112,9 (carbono cuaternario del isopropilidén), 108,2 (C-1), 101,9 (C-4' del anillo isoxazólico), 85,9 (C-4), 85,5 (C-2), 83,3 (C-3), 61,1 (OCH₃), 59,9 (C-1'), 56,5 (OCH₃), 35,7 (C-5), 26,5, 25,0 (CH₃). EMIE *m/z* 520 [M]⁺ (100), 505 (14), 293 (73), 256 (39), 248 (80), 101 (42). Anal. Calculado para C₂₃H₂₈N₄O₈S: C, 53,07; H, 5,42; N, 10,76. Encontrado: C, 53,29; H, 5,74, N, 10,36.

[1-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)- β -D-ribofuranósido (**102**).

A partir de **98**:

El compuesto **102** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 80:20 a 70:30, obteniéndose un sólido cristalino (0,24 mmol, 61 %); *R_f* = 0,27 (ciclohexano: acetona 6:4); *pf*: 145-147 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -28,8 (*c* 1,0, cloroformo). IR $\nu_{\max}$ 3279 (ν N-H), 2930 (ν C_{sp3}-H), 1603 (ν C_{sp2}-C_{sp2}), 1468 (ν C_{sp2}-C_{sp2}),



1120 (ν C-O) cm⁻¹; RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 8,09 (s, 1H, protón triazólico), 8,02 (s, 1H, protón triazólico), 6,95 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 5,28 (s, 1H, H-1), 5,07 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 11,9 Hz, H-1'b), 4,71 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 11,9 Hz, H-1'a), 4,68 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,3 Hz, H-3), 4,65 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,53 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,6 Hz, H-4), 3,93 (s, 6H, OCH₃), 3,90 (s, 3H, OCH₃), 3,48 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,9 Hz, $J_{5b,4}$ 8,2 Hz, H-5b), 3,36 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,0 Hz, $J_{5a,4}$ 7,2 Hz, H-5a), 1,93-1,66 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ : 154,0, 138,5, 132,8, 98,8 (carbonos del trimetoxifenilo), 147,4 (C-5'' del anillo 1,2,4-triazólico), 144,4 (C-4' del anillo 1,2,3-

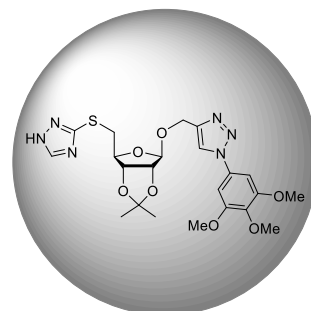
triazólico), 122,4 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 121,9 (C-5' del anillo 1,2,3-triazólico), 107,7 (C-1), 85,4 (C-4), 85,2 (C-2), 83,2 (C-3), 61,2 (OCH₃), 60,4 (C-1'), 56,6 (OCH₃), 36,3 (C-5), 35,9, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén). EMIE m/z 445 (4), 220 (100), 189 (22), 101 (26). Anal. Calculado para C₂₄H₃₀N₆O₇S: C, 52,74; H, 5,53; N, 15,38. Encontrado: C, 52,79; H, 5,70; N, 14,98.

A partir de **104**:

El compuesto **102** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 90:10 a 70:30, obteniéndose un sólido cristalino (0,29 mmol, 74 %). La caracterización física y espectroscópica coincidió con la obtenida por a partir de **98**.

[1-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metil 5-desoxi-2,3-O-isopropilidén-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)-β-D-ribofuranósido (**103**).

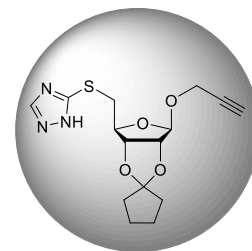
El compuesto **103** se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 70:30, obteniéndose un sólido cristalino (0,25 mmol, 63 %); R_f = 0,16 (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 159-161 °C; [α]_D²⁰ -25,5 (*c* 1,0, cloroformo). IR ν_{max} 3290 (ν N-H), 2940 (ν C_{sp3}-H), 1603 (ν C_{sp2}-C_{sp2}), 1468 (ν C_{sp2}-C_{sp2}),



1128 (ν C-O) cm⁻¹; RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 8,07 (s, 1H, protón triazólico), 8,02 (s, 1H, protón triazólico), 6,95 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 5,28 (s, 1H, H-1), 5,09 (d, 1H, *J*_{1'b,1'a} 11,8 Hz, H-1'b), 4,74 (d, 1H, *J*_{3,2} 6,0 Hz, H-3), 4,72 (d, 1H, *J*_{2,3} 6,9 Hz, H-2), 4,70 (d, 1H, *J*_{1'a,1'b} 12,0 Hz, H-1'a), 4,51 (t, 1H, *J*_{4,5} 7,6 Hz, H-4), 3,94 (s, 6H, OCH₃), 3,90 (s, 3H, OCH₃), 3,48 (dd, 1H, *J*_{5b,5a} 12,9 Hz, *J*_{5b,4} 8,2 Hz, H-5b), 3,35 (dd, 1H, *J*_{5a,5b} 12,9 Hz, *J*_{5a,4} 7,1 Hz, H-5a), 1,48 (s, 3H, CH₃), 1,31 (s, 3H, CH₃); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 154,0, 138,6, 132,8, 98,9 (carbonos del trimetoxifenilo), 147,6 (C-5'' del anillo 1,2,4-triazólico), 144,5 (C-4' del anillo 1,2,3-triazólico), 121,9 (C-5' del anillo 1,2,3-triazólico), 112,8 (carbono cuaternario de isopropilidén), 108,0 (C-1), 85,8 (C-4), 85,5 (C-2), 83,5 (C-3), 61,2 (OCH₃), 60,5 (C-1'), 56,6 (OCH₃), 36,5 (C-5), 26,5, 25,0 (CH₃). EMIE m/z 520 [M]⁺ (2), 505 (10), 270 (24), 256 (45), 237 (65), 220 (100), 101 (39). Anal. Calculado para C₂₂H₂₈N₆O₇S: C, 50,08; H, 5,64; N, 15,03. Encontrado: C, 50,25; H, 5,90; N, 15,22.

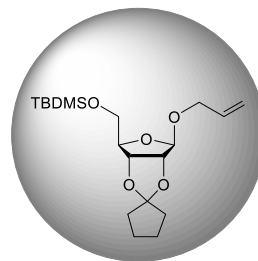
Propargil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)-β-D-ribofuranósido (104).

A una solución de etóxido de sodio en etanol, preparada agregando sodio metálico (418,0 mg, 18,2 mmol) a etanol (30 mL), se agregó 1,2,4-triazol-3-tiol (1,68 g, 13,6 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C durante 10 minutos y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El sólido resultante se agregó a una solución del compuesto **94** (3,32 g, 8,13 mmol) en DMF (35 mL) y se calentó a 50 °C bajo atmósfera de argón por 18 h. La solución se evaporó a presión reducida, se agregó diclorometano y se extrajo con una solución saturada de cloruro de sodio. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel usando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 90:10 a 80:15. El compuesto **104** se obtuvo como un sólido blanco (2,04 g, 6,05 mmol, 74 %); $R_f = 0,37$ (ciclohexano: acetona 6:4). RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 8,23 (s, 1H, H-5 del anillo triazólico), 5,33 (s, 1H, H-1), 4,71 (d, 1H, $J_{3,2}$ 5,7 Hz, H-3), 4,65 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,7 Hz, H-2), 4,48 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,4 Hz, H-4), 4,26 (s, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}\equiv\text{CH}$), 3,40 (d, 2H, $J_{5b,5a}$ 13,9 Hz, $J_{5b,4}$ 6,8 Hz, H-5b), 3,24 (d, 2H, $J_{5a,5b}$ 13,8 Hz, $J_{5a,4}$ 8,8 Hz, H-5a), 2,45 (s, 1H, $\equiv\text{CH}$), 1,92-1,61 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ : 146,8 (C-5 del anillo triazólico), 122,4 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 106,8 (C-1), 85,5, 85,3 (C-2 y C-4), 83,1 (C-3), 78,7 ($\text{CH}_2\text{-C}\equiv\text{CH}$), 75,2 ($\equiv\text{CH}$), 54,6 ($\text{CH}_2\text{-C}\equiv$), 35,9, 35,8, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén), 35,7 (C-5).



5-O-tert-Butildimetilsilil-2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranosa (105)

A una solución del alil derivado **77** (3,01 g, 11,7 mmol) en 8 mL de *N,N*-dimetilformamida a 0 °C bajo atmósfera de argón, se agregan rápidamente cloruro de *tert*-butildimetilsililo (2,29 g, 15,2 mmol) y luego imidazol (1,20 g, 17,6 mmol). A la mezcla resultante se le permite llegar a temperatura ambiente y se agita hasta que se observa por CCD la desaparición del producto de partida (24 h). La mezcla se diluye con igual volumen de cloruro de metileno y la fase orgánica se extrae tres veces con agua y una vez con NaCl (s.s.). La fase orgánica se seca con sulfato de sodio anhidro y se evapora el solvente bajo presión reducida. El residuo resultante se purifica



por cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente una mezcla de ciclohexano: acetona 100:0 a 98:2. El compuesto **105** se obtuvo como un sólido blanco (3,56 g, 9,6 mmol, 82%). $R_f = 0,38$ (ciclohexano: acetona 95:5). RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 5,86 (m, 1H, $J_{2',3'b}$ 17,2 Hz, $J_{2',3'a}$ 10,3 Hz, $J_{2',1'a}$ 6,0 Hz, $J_{2',1'b}$ 5,1 Hz, H-2'), 5,25 (dq, 1H, $J_{3'b,2'}$ 17,2 Hz, $J_{3'b,3'a}$, $J_{3'b,1'b}$, $J_{3'b,1'a} \approx 1,7$ Hz, H-3'b), 5,17 (m, 1H, $J_{3'a,2'}$ 10,3 Hz, $J_{3'a,3'b}$, $J_{3'a,1'b}$, $J_{3'a,1'a} \approx 1,4$ Hz, H-3'a), 5,09 (s, 1H, H-1), 4,65 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 1,0 Hz, H-3), 4,55 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,21 (ddd, 1H, $J_{4,5b}$ 8,8 Hz, $J_{4,5a}$ 6,0 Hz, $J_{4,3}$ 1,0 Hz, H-4), 4,14 (ddt, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,8 Hz, $J_{1'b,2'}$ 5,1 Hz, $J_{1'b,3'b}$ 1,5 Hz, $J_{1'b,3'a}$ 1,5 Hz, H-1'b), 3,87 (ddt, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,8 Hz, $J_{1'a,2'}$ 6,0 Hz, $J_{1'a,3'b}$ 1,4 Hz, $J_{1'a,3'a}$ 1,4 Hz, H-1'a) 3,63 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 10,1 Hz, $J_{5b,4}$ 6,0 Hz, H-5b), 3,55 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,1 Hz, $J_{5a,4}$ 8,8 Hz, H-5a), 1,95-1,63 (m, 8H, protones del ciclopentilidén), 0,89 (Si-C(CH₃)₃), 0,05 (Si-CH₃); RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ : 133,9 (C-2'), 121,9 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 117,4 (C-3'), 107,1 (C-1), 86,9, 85,2, 81,9 (C-2, C-3, C-4), 68,0 (C-1'), 64,0 (C-5), 36,0, 35,9, 23,8, 23,4 (carbonos del ciclopentilidén), 26,0 (Si-C(CH₃)₃), 18,5 (Si-CH₃), -5,2 (2) (Si-CH₃).

Procedimiento general 6 para la síntesis de hidroxiiiminoetil derivados a partir de alil 2,3-O-ciclopentilidén/isopropilidén- β -D-ribofuranósido.

A una solución del alil derivado (3,37 mmol) y tetróxido de osmio (0,067 mmol) en THF (27 mL) y agua (27 mL) se agrega periodato de sodio (13,5 mmol) a 23 °C bajo atmósfera de Argón. La mezcla de reacción se agita por 5 h a 40 °C. Luego se agrega solución saturada de Na₂S₂O₃ a 23 °C y la fase acuosa se extrae tres veces con éter etílico. Las fases orgánicas combinadas se lavan con NaCl (solución saturada) y se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra bajo presión reducida. El crudo de reacción se utiliza sin previa purificación.

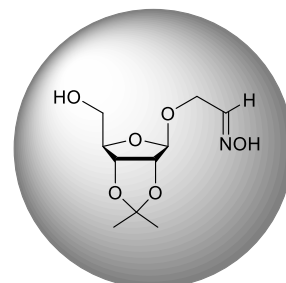
Por otro lado, se disuelve clorhidrato de hidroxilamina (3,71 mmol) en la mínima cantidad de agua y se agrega una solución de hidróxido de sodio (3,54 mmol) en 10 mL de metanol. A la solución resultante se le agrega el crudo de reacción obtenido anteriormente disuelto en 10 mL de metanol. La mezcla resultante se agita a temperatura ambiente durante 18 h. Posteriormente, se evapora el solvente a presión reducida, el producto obtenido se disuelve en acetona y se filtra al vacío. La solución se evapora a presión reducida y el crudo de reacción se purifica por cromatografía en

columna flash utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 80:20 como solvente de elución obteniéndose los (hidroxiimino)etil derivados.

2'-(Hidroxiimino)etil 2,3-O-isopropilidén-β-D-ribofuranósido (113).

Se aplicó el procedimiento general **6** al compuesto **112** (832,1 mg, 3,61 mmol) obteniéndose el compuesto **113** como un aceite transparente (509,3 mg, 2,06 mmol, 57 %); $R_f = 0,48$ (ciclohexano: acetona 1:1); $[\alpha]_D^{20} -70,5$ (c 1,0, cloroformo).

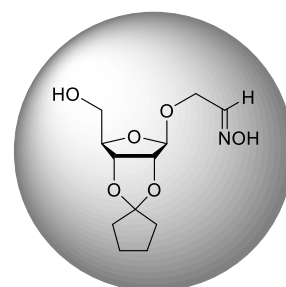
RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : oxima *syn*: 8,85 (sa, 1H, protón de la oxima), 7,49 (t, 1H, $J_{2',1'}$ 4,5 Hz, H-2'), 5,13 (s, 1H, H-1), 4,84 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,65 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,9 Hz, H-2), 4,41 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,0 Hz, H-4), 4,31 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 14,0 Hz, $J_{1'b,2'}$ 4,4 Hz, H-1'b), 4,27 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 14,0 Hz, $J_{1'a,2'}$ 4,6 Hz, H-1'a), 3,71 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,4 Hz, $J_{5b,4}$ 2,2 Hz, H-5b), 3,63 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,7 Hz, $J_{5a,4}$ 4,0 Hz, H-5a), 1,49 (s, 3H, CH_3), 1,32 (s, 3H, CH_3); oxima *anti*: 8,76 (sa, 1H, protón de la oxima), 6,90 (t, 1H, $J_{2',1'}$ 4,0 Hz, H-2'), 5,11 (s, 1H, H-1), 4,82 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, H-3), 4,65 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,9 Hz, H-2), 4,56 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 15,5 Hz, $J_{1'b,2'}$ 3,9 Hz, H-1'b), 4,44 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,5 Hz, H-4), 4,40 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 15,5 Hz, $J_{1'a,2'}$ 4,0 Hz, H-1'a), 3,71 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,7 Hz, $J_{5b,4}$ 2,4 Hz, H-5b), 3,63 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 12,7 Hz, $J_{5a,4}$ 4,0 Hz, H-5a), 1,48 (s, 3H, CH_3), 1,32 (s, 3H, CH_3); RMN- ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ : oxima *syn*: 147,3 (C=N), 112,4 (carbono cuaternario del isopropilidén), 109,4 (C-1), 88,7 (C-4), 86,0 (C-2), 81,6 (C-3), 65,0 (C-1'), 63,8 (C-5), 26,5, 24,9 (CH_3), oxima *anti*: 149,2 (C=N), 112,5 (carbono cuaternario del isopropilidén), 109,5 (C-1), 88,6 (C-4), 86,0 (C-2), 81,6 (C-3), 64,1 (C-5), 62,0 (C-1'), 26,5, 24,9 (CH_3). HRMS (ESI) m/z $[M + Na]^+$ calculado para $C_{10}H_{17}NNaO_6$ 270,09481, encontrado 270,09571.



2'-(Hidroxiimino)etil 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (106).

Se aplicó el procedimiento general **6** al compuesto **77** (858,6 mg, 3,37 mmol) obteniéndose el compuesto **106** como un aceite transparente (556,6 mg, 3,62 mmol, 60 %); $R_f = 0,41$ (ciclohexano: acetona 6:4); $[\alpha]_D^{20} -62,7$ (c 1,0, cloroformo).

RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : oxima *syn*: 9,45 (sa, 1H, protón de la oxima), 7,47 (t, 1H, $J_{2',1'}$ 4,4 Hz, H-2'), 5,13 (s, 1H, H-1), 4,75 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,5 Hz, H-3), 4,58 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,41 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,4 Hz, H-



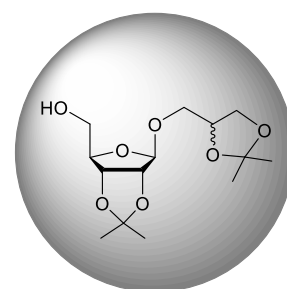
4), 4,29 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,9 Hz, $J_{1'b,2'}$ 4,1 Hz, H-1'b), 4,26 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 14,0 Hz, $J_{1'a,2'}$ 4,3 Hz, H-1'a), 3,70 (dd, 1H, $J_{5b,4}$ 2,7 Hz, $J_{5b,5a}$ 12,6 Hz, H-5b), 3,62 (dd, 1H, $J_{5a,4}$ 4,1 Hz, $J_{5a,5b}$ 12,5 Hz, H-5a), 2,74 (sa, 1H, OH), 1,92-1,65 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); oxima *anti*: 9,39 (sa, 1H, protones de la oxima), 6,89 (t, 1H, $J_{2',1'}$ 4,0 Hz, H-2'), 5,11 (s, 1H, H-1), 4,74 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,9 Hz, H-3), 4,58 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,55 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 15,5 Hz, $J_{1'b,2'}$ 4,0 Hz, H-1'b), 4,43 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,7 Hz, H-4), 4,38 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 15,5 Hz, $J_{1'a,2'}$ 4,1 Hz, H-1'a), 3,70 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,6 Hz, $J_{5b,4}$ 2,7 Hz, H-5b), 3,62 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 12,5 Hz, $J_{5a,4}$ 4,1 Hz, H-5a), 3,19 (sa, 1H, OH), 1,92-1,65 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : oxima *syn*: 147,3 (C=N), 122,0 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 109,0 (C-1), 88,4 (C-4), 85,7 (C-2), 81,5 (C-3), 65,0 (C-1'), 63,7 (C-5), 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), oxima *anti*: 149,1 (C=N), 122,1 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 109,1 (C-1), 88,3 (C-4), 85,6 (C-2), 81,4 (C-3), 64,0 (C-5), 62,0 (C-1'), 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{NNaO}_6$ 296,11046, encontrado 296,10884; m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{NO}_6$ 274,12851, encontrado 274,12717.

Procedimiento general 7 para la síntesis de di-ciclopentilidén y di-isopropilidén derivados (114-115)

D-ribosa en polvo (40,00 mmol) y sulfato de cobre anhidro (12,4 g) se suspendieron en una mezcla de ciclopentanona (110 mL) o acetona (96 mL) y glicerina (9 mL) con una cantidad catalítica de H_2SO_4 (0,2 mL). La mezcla resultante se agitó a 50°C durante 4 días y luego se neutralizó con NaHCO_3 , se filtró, y el solvente se evaporó. El residuo se extrajo con acetato de etilo y se lavó con solución saturada de NaCl, se secó con Na_2SO_4 anhidro, y se evaporó el solvente obteniéndose un producto crudo, que se purificó por cromatografía en columna flash utilizando ciclohexano: acetona 100:0 a 95:5 como solvente de elución obteniéndose los compuestos **114** o **115**.

2',3'-Isopropilidén-gliceril 2,3-O-isopropilidén- β -D-ribofuranósido (114).

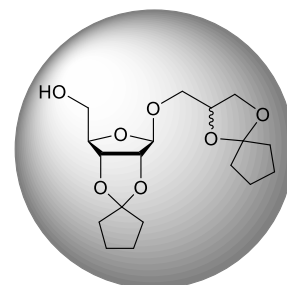
Se aplicó el procedimiento general 7 para la obtención del compuesto **114** partiendo de D-ribosa (5,87 g, 39,10 mmol) y acetona dando un aceite transparente (3,00 g, 9,86 mmol, 25



%); $R_f = 0,37$ (ciclohexano: acetona 7:3). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 5,10 (s, 1H, H-1), 5,07 (s, 1H, H-1), 4,85 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,81 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,64 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,9 Hz, H-2), 4,62 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,39 (m, 2H, H-4), 4,33 (m, 1H, H-2'), 4,30 (m, 1H, H-2'), 4,06 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 8,4 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6,6 Hz, H-1'b), 4,02 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 8,2 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6,5 Hz, H-1'b), 3,83 (dd, 1H, $J_{3'b,3'a}$ 11,0 Hz, $J_{3'b,2'}$ 3,7 Hz, H-3'b), 3,74 (dd, 1H, $J_{3'b,3'a}$ 9,8 Hz, $J_{3'b,2'}$ 7,7 Hz, H-3'b), 3,71-3,67 (m, 3H, H-1'a, H-5b), 3,65 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 8,4 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6,0 Hz, H-1'a), 3,63-3,58 (m, 2H, H-5a), 3,55 (dd, 1H, $J_{3'a,3'b}$ 11,2 Hz, $J_{3'a,2'}$ 5,6 Hz, H-3'a), 3,52 (dd, 1H, $J_{3'a,3'b}$ 10,1 Hz, $J_{3'a,2'}$ 3,4 Hz, H-3'a), 3,42 (dd, 1H, $J_{\text{OH},5}$ 10,4 and 4,1 Hz, -OH), 3,33 (dd, 1H, $J_{\text{OH},5}$ 10,2 and 3,9 Hz, -OH), 1,47 (2), 1,43, 1,41, 1,35, 1,34, 1,30 (2) (s, 24H, CH_3); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 112,2, 112,2, 110,0, 109,8 (carbonos cuaternarios del isopropilidén), 109,6, 108,8 (C-1), 88,9, 88,7 (C-4), 86,2 (C-2), 81,5 (C-3), 74,4, 74,3 (C-2'), 69,3, 68,7 (C-3'), 66,2, 66,0 (C-1'), 64,0, 64,0 (C-5), 26,8, 26,6, 26,5, 26,5, 25,4, 25,3, 24,9, 24,8 (CH_3). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{NaO}_7$ 327,14142, encontrado 327,14207.

2',3'-Ciclopentilidéngliceril 2,3-O-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (**115**).

Se aplicó el procedimiento general **7** a una mezcla de D-ribosa (5,97 g, 39,77 mmol) y ciclopentanona para obtener el compuesto **115** como un aceite transparente (4,79 g, 13,44 mmol, 34 %); $R_f = 0,47$ (ciclohexano: acetona 7:3). RMN- ^1H



(500 MHz, CDCl_3) δ : 5,12 (s, 1H, H-1), 5,09 (s, 1H, H-1), 4,79 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, H-3), 4,75 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,59 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,57 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,41 (m, 2H, H-4), 4,33 (m, 1H, H-2'), 4,30 (m, 1H, H-2'), 3,99 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 8,4 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6,8 Hz, H-1'b), 3,96 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 8,2 Hz, $J_{1'b,2'}$ 6,8 Hz, H-1'b), 3,82 (dd, 1H, $J_{3'b,3'a}$ 11,0 Hz, $J_{3'b,2'}$ 3,7 Hz, H-3'b), 3,75 (dd, 1H, $J_{3'b,3'a}$ 9,9 Hz, $J_{3'b,2'}$ 8,1 Hz, H-3'b), 3,72-3,68 (m, 2H, H-5b), 3,65-3,59 (m, 2H, H-5a), 3,62 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 8,2 Hz, $J_{1'a,2'}$ 2,6 Hz, H-1'a), 3,68 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 8,2 Hz, $J_{1'a,2'}$ 6,3 Hz, H-1'a), 3,56 (dd, 1H, $J_{3'a,3'b}$ 11,0 Hz, $J_{3'a,2'}$ 6,0 Hz, H-3'a), 3,52 (dd, 1H, $J_{3'a,3'b}$ 9,9 Hz, $J_{3'a,2'}$ 3,6 Hz, H-3'a), 3,44 (dd, 1H, $J_{\text{OH},5}$ 10,4 and 4,0 Hz, -OH), 3,35 (dd, 1H, $J_{\text{OH},5}$ 10,2 and 3,9 Hz, -OH), 1,95-1,63 (m, 32H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 121,9, 121,8, 119,9, 119,7 (carbonos cuaternarios del ciclopentilidén), 109,4, 108,5 (C-1), 88,6, 88,5 (C-4), 86,0, 85,9 (C-2),

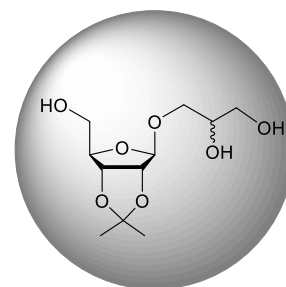
81,4, 81,4 (C-3), 74,1, 74,0 (C-2'), 69,2, 69,0 (C-3'), 66,1, 65,9 (C-1'), 64,1, 64,0 (C-5), 36,5, 36,4, 36,1, 36,1, 35,8, 35,8, 23,8, 23,8, 23,7, 23,7, 23,4, 23,4, 23,3, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[M + Na]^+$ calculado para $C_{18}H_{28}NaO_7$ 379,17272, encontrado 379,17165.

Procedimiento general 8 para la síntesis de gliceril derivados (116-117)

Se disolvió el compuesto diprotectado (10,80 mmol) en 100 mL de una mezcla de ácido acético:agua (70:30) y se mantuvo a temperatura ambiente hasta que se comprobó por CCD que se consumió el material de partida. Luego, la solución se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 70:30 a 50:50.

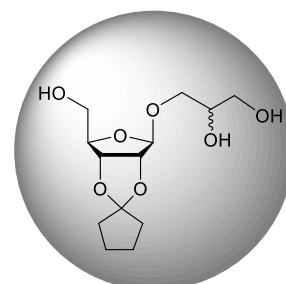
Gliceril 2,3-O-isopropilidén-β-D-ribofuranósido (116).

Se aplicó el procedimiento general 8 al compuesto 114 (2,85 g, 9,37 mmol) obteniéndose el compuesto 116 como un aceite transparente (2,24 g, 8,46 mmol, 90 %); R_f = 0,24 (ciclohexano: acetona 1:1). RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 5,09 (s, 1H, H-1), 5,08 (s, 1H, H-1), 4,78 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,75 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,63 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,5 Hz, H-2), 4,62 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,5 Hz, H-2), 4,40-4,38 (m, 2H, H-4), 3,91-3,96 (m, 2H, H-2'), 3,83 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 10,5 Hz, $J_{1'b,2'}$ 4,0 Hz, H-1'b), 3,74 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 10,4 Hz, $J_{1'b,2'}$ 7,8 Hz, H-1'b), 3,73-3,60 (m, 7H, H-3'b, H-3'a, H-5b, H-5a), 3,58 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 10,3 Hz, $J_{1'a,2'}$ 3,1 Hz, H-1'a), 3,57 (dd, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 10,5 Hz, $J_{1'a,2'}$ 5,4 Hz, H-1'a), 3,52 (dd, 1H, $J_{3'a,3'b}$ 11,4 Hz, $J_{3'a,2'}$ 6,2 Hz, H-3'a), 1,48, 1,31 (s, 12H, CH_3); RMN- ^{13}C (125 MHz, $CDCl_3$) δ : 112,4, 112,4 (carbonos cuaternarios del isopropilidén), 109,4, 109,1 (C-1), 88,4, 88,3 (C-4), 86,0, 85,9 (C-2), 81,5, 81,4 (C-3), 71,0, 70,6 (C-2'), 69,8, 69,6 (C-1'), 63,9, 63,8, 63,8, 63,7 (C-5, C-3'), 26,5, 24,9 (CH_3). HRMS (ESI) m/z $[M + Na]^+$ calculado para $C_{11}H_{20}NaO_7$ 287,11012, encontrado 287,10891.



Gliceril 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (117).

Se aplicó el procedimiento general 8 al compuesto 115 (4,39 g, 12,31 mmol) obteniéndose el compuesto 117 como un aceite transparente (3,18 g, 10,95 mmol, 89 %); R_f = 0,37



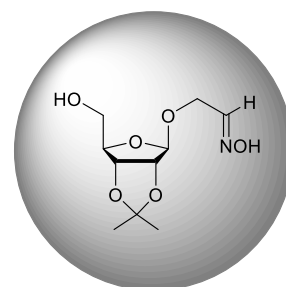
(ciclohexano: acetona 1:1). RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 5,09 (s, 2H, H-1), 4,70 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 0,5 Hz, H-3), 4,67 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 1,0 Hz, H-3), 4,56 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,55 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,38 (m, 2H, H-4), 4,19-4,07 (m, 4H, OH), 3,87 (m, 2H, H-2'), 3,81 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 10,5 Hz, $J_{1'b,2'}$ 4,0 Hz, H-1'b), 3,72 (dd, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 10,2 Hz, $J_{1'b,2'}$ 7,8 Hz, H-1'b), 3,68-3,49 (m, 10H, H-3'b, H-3'a, H-5b, H-5a, H-1'a), 1,90-1,64 (m, 16H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 122,0, 122,0 (carbonos cuaternarios del ciclopentilidén), 109,1, 108,7 (C-1), 88,0, 87,9 (C-4), 85,7, 85,6 (C-2), 81,3, 81,3 (C-3), 71,0, 70,7 (C-2'), 69,6, 69,5 (C-1'), 63,8, 63,8, 63,7, 63,7 (C-5, C-3'), 35,8, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₁₃H₂₂NaO₇ 313,12577, encontrado 313,12602.

Procedimiento general 9 para la síntesis de (hidroxiimino)etil derivados.

A una solución del gliceril derivado **116** o **117** (4,16 mmol) en etanol a 0°C, se le agregó de a pequeñas porciones una solución acuosa de periodato de potasio (4,28 mmol en 8 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Luego, se agregó etanol, se filtró la solución y el solvente se evaporó para obtener el aldehído que sin purificación adicional, se disolvió en una mezcla de etanol: agua 1:1. Finalmente, se agregó lentamente una mezcla de clorhidrato de hidroxilamina (6,44 mmol) e hidróxido de sodio (6,24 mmol) en etanol: agua 1:1. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante toda una noche. Posteriormente, la solución se evaporó y el residuo se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 80:20.

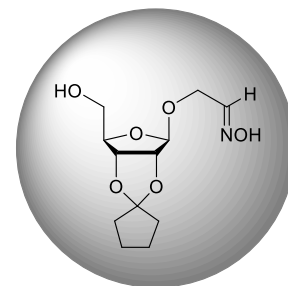
*2'-(Hidroxiimino)etil 2,3-O-isopropilidén-β-D-ribofuranósido (**113**).*

Se aplicó el procedimiento general **9** al compuesto **116** (1,08 g, 4,08 mmol) obteniéndose el compuesto **113** como un aceite transparente (0,97 g, 3,94 mmol, 97 %). La caracterización física y espectroscópica coincide con los datos obtenidos mediante el procedimiento **6**.



2'-(Hidroxiimino)etil 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (106).

Se aplicó el procedimiento general **9** al compuesto **117** (1,21 g, 4,16 mmol) obteniéndose el compuesto **106** como un aceite transparente (0,99 g, 3,62 mmol, 87 %). La caracterización física y espectroscópica coincide con los datos obtenidos mediante el procedimiento **6**.

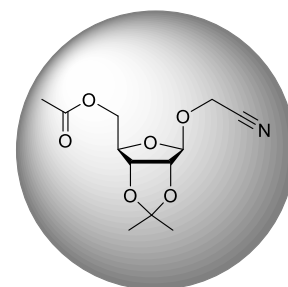


Procedimiento general 10 para la síntesis de cianometil derivados (118-119)

Se disolvió el 2'-(Hidroxiimino)etil derivado **113** o **106** (2,63 mmol) en 9 mL de piridina a 0°C y se agregó anhídrido acético (9 mL). La mezcla de reacción se calentó a 50°C hasta observar por CCD la desaparición total del material de partida (aproximadamente 3 h). Luego, se evaporó el solvente y el crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna flash.

Cianometil 5-O-acetil-2,3-O-isopropilidén-β-D-ribofuranósido (118).

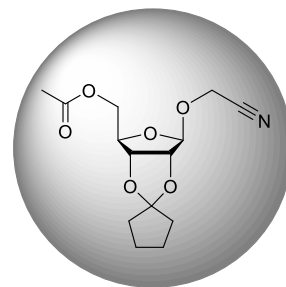
Se aplicó el procedimiento general **10** al compuesto **113** (921,1 mg, 3,73 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 90:10. Se obtuvo el compuesto **118** como un aceite transparente (581,0 mg, 2,14 mmol, 57 %); $R_f = 0,52$ (ciclohexano: acetona 6:4); $[\alpha]_D^{20} -101,7$ (c 1,0 cloroformo). RMN-¹H (500 MHz,



CDCl₃) δ: 5,22 (s, 1H, H-1), 4,69 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5,9 Hz, $J_{3,4}$ 0,9 Hz, H-3), 4,67 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,47 (dt, 1H, $J_{4,5}$ 6,5 Hz, $J_{4,3}$ 0,9 Hz, H-4), 4,31 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 16,0 Hz, H-1'b), 4,26 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 16,0 Hz, H-1'a), 4,16 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,6 Hz, $J_{5,4}$ 6,4 Hz, H-5b), 4,07 (dd, 1H, $J_{5a,4}$ 6,7 Hz, $J_{5a,5b}$ 11,6 Hz, H-5a), 2,09 (s, 3H, CH₃ del acetilo), 1,49 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén), 1,33 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 170,6 (C=O), 115,5 (C≡N), 113,2 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,1 (C-1), 85,5 (C-4), 85,3 (C-2), 81,6 (C-3), 64,3 (C-5), 52,2 (C-1'), 26,5, 25,1 (CH₃ del isopropilidén), 21,0 (CH₃ del acetilo). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₁₂H₁₇NNaO₆ 294,09481, encontrado 294,09540.

Cianometil 5-O-acetil-2,3-O-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (109).

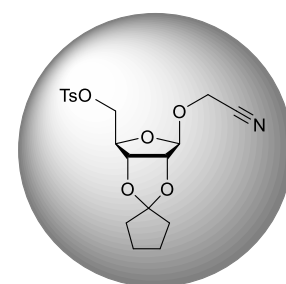
Se aplicó el procedimiento general **10** al compuesto **106** (717,5 mg, 2,63 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 95:5. Se obtuvo el compuesto **109** como un aceite transparente (569,5 mg, 1,92 mmol, 73 %); $R_f = 0,55$ (ciclohexano: acetona 6:4); $[\alpha]_D^{20} -81,3$ (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz,



CDCl_3) δ : 5,23 (s, 1H, H-1), 4,63 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,2 Hz, H-3), 4,61 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,47 (t, 1H, $J_{4,5}$ 6,5 Hz, H-4), 4,30 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 16,0 Hz, H-1'b), 4,26 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 16,0 Hz, H-1'a), 4,16 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,6 Hz, $J_{5,4}$ 6,4 Hz, H-5b), 4,07 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 11,6 Hz, $J_{5a,4}$ 6,7 Hz, H-5a), 2,09 (s, 3H, CH_3 del acetilo), 1,93-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 170,6 (C=O), 122,7 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 115,5 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 107,9 (C-1), 85,3 (C-4), 85,1 (C-2), 81,4 (C-3), 64,3 (C-5), 52,1 (C-1'), 36,0, 35,9, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén), 21,0 (CH_3 del acetilo). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NNaO}_6$ 320,11046, encontrado 320,10891; m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_6$ 298,12851, encontrado 298,12696.

Cianometil 2,3-O-ciclopentilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (110).

Se aplicó el procedimiento general **10** al compuesto **107** (305,2 mg, 0,714 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 90:10. Se obtuvo el compuesto **110** como un aceite transparente (50,5 mg, 0,123 mmol, 17 %); $R_f = 0,66$ (tolueno: AcOEt 8:2). RMN-

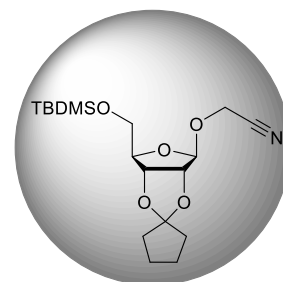


^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 7,79 (d, 2H, J 8,1 Hz, H aromáticos), 7,37 (d, 2H, J 8,0 Hz, H aromático), 5,21 (s, 1H, H-1), 4,57 (s, 2H, H-2, H-3), 4,43 (t, 1H, $J_{4,5}$ 6,6 Hz, H-4), 4,29 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 16,2 Hz, H-1'b), 4,17 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 16,1 Hz, H-1'a), 4,00 (d, 2H, $J_{5,4}$ 6,6 Hz, H-5), 2,46 (s, 3H, CH_3), 1,91-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ : 145,5, 132,6, 130,2, 128,0 (carbonos aromáticos), 122,8 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 115,4 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 107,4 (C-1), 84,8, 84,5 (C-2, C-4), 80,8 (C-3), 69,1 (C-5), 52,1 (C-1'), 35,9, 35,8, 23,6, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH_3).

Cianometil 5-O-tert-butildimetilsilil-2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (111).

Se aplicó el procedimiento general **10** al compuesto **108** (523,2 mg, 1,35 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 90:10.

Se obtuvo el compuesto **111** como un aceite transparente (104,5 mg, 0,28 mmol, 21%); $R_f = 0,67$ (tolueno: AcOEt 9:1). RMN-



^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 5,16 (s, 1H, H-1), 4,62 (dd, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 0,6 Hz, H-3), 4,55 (d, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, H-2), 4,32-4,25 (m, 1H, H-4), 4,30 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 15,9 Hz, H-1'b), 4,20 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 15,9 Hz, H-1'a), 3,62 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 10,5 Hz, $J_{5b,4}$ 6,0 Hz, H-5b), 4,52 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,5 Hz, $J_{5a,4}$ 7,7 Hz, H-5a), 1,91-1,63 (m, 8H, protones del ciclopentilidén), 0,88 (Si-C(CH₃)₃), 0,05 (Si-CH₃); RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ : 122,3 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 115,7 (C≡N), 107,8 (C-1), 87,9, 85,0 (C-2, C-4), 81,5 (C-3), 63,7 (C-5), 51,8 (C-1'), 36,0, 23,6, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén), 25,9 (Si-C(CH₃)₃), 18,3 (Si-C(CH₃)₃), -5,3 (2) (Si-CH₃).

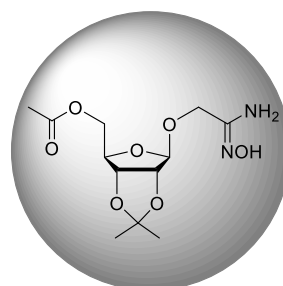
Procedimiento general 11 para la síntesis de 2-amino-2-hidroxiiminoetil derivados (119-120).

A una solución de clorhidrato de hidroxilamina (3,81 mmol) e hidróxido de sodio (3,66 mmol) disueltos en una mezcla de metanol: agua 1:1 se agregó lentamente a una solución del cianometil derivado **118** o **109** (2,47 mmol) en metanol. La mezcla de reacción se calentó a 50°C hasta observar por CCD la desaparición total del material de partida (aproximadamente 3h). Luego, el solvente se evaporó y el producto crudo se purificó por cromatografía en columna flash utilizando como solvente se elución mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 70:30.

2'-Amino-2'-hidroxiiminoetil 5-O-acetil-2,3-O-isopropilidén-β-D-ribofuranósido (119).

Se aplicó el procedimiento general **11** al compuesto **118** (555,2 mg, 2,05 mmol) obteniéndose el compuesto **119** como un aceite transparente (544,4 mg, 1,79 mmol, 87 %); $R_f = 0,32$ (ciclohexano: acetona 6:4); $[\alpha]_D^{20} -72,9$ (c 1,0, cloroformo).

RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 5,11 (s, 1H, H-1), 4,84 (s, 2H, NH₂), 4,65 (s, 2H, H-2, H-3), 4,39 (t, 1H, $J_{4,5}$ 6,8 Hz, H-4),



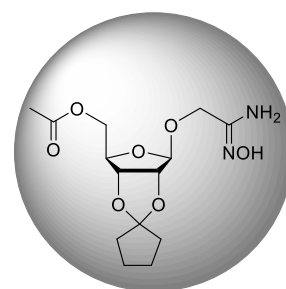
4,12 (d, 2H, $J_{5,4}$ 6,8 Hz, H-5), 4,10 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,4 Hz, H-1'b), 3,95 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$

12,3 Hz, H-1'a), 2,07 (s, 3H, CH₃ del acetilo), 1,46 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén), 1,31 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 170,9 (C=O), 150,6 (C-de la amidoxima), 112,9 (carbono cuaternario del isopropilidén), 108,2 (C-1), 85,4 (C-2), 84,7 (C-4), 81,8 (C-3), 65,2 (C-1'), 64,6 (C-5), 26,5, 25,1 (CH₃ carbonos del isopropilidén), 21,0 (CH₃ del acetilo). HRMS (ESI) *m/z* [M + H]⁺ calculado para C₁₂H₂₁N₂O₇ 305,13433, encontrado 305,13305.

2'-Amino-2'-hidroxiiminoetil 5-O-acetil-2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (120).

Se aplicó el procedimiento general **11** al compuesto **109** (735,3 mg, 2,47 mmol) obteniéndose el compuesto **120** como un aceite transparente (730,2 mg, 2,21 mmol, 89 %); R_f = 0,35 (ciclohexano: acetona 6:4); [α]_D²⁰ -69,1 (c 0,9, cloroformo).

RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ: 5,12 (s, 1H, H-1), 4,84 (s, 2H, NH₂), 4,60 (d, 1H, J_{3,2} 6,9 Hz, H-3), 4,59 (d, 1H, J_{2,3} 6,2 Hz, H-2), 4,41 (t, 1H, J_{4,5} 6,8 Hz, H-4), 4,12 (d, 2H, J_{5,4} 6,7 Hz, H-5), 4,10 (d, 1H, J_{1'b,1'a} 12,1 Hz, H-1'b), 3,95 (d, 1H, J_{1'a,1'b} 12,3 Hz, H-1'a), 2,08 (s, 3H, CH₃ del acetilo), 1,91-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ: 170,9 (C=O), 150,6 (C-de la amidoxima), 122,5 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,0 (C-1), 85,2 (C-2), 84,4 (C-4), 81,6 (C-3), 65,2 (C-1'), 64,7 (C-5), 36,0, 35,9, 23,6, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén), 21,0 (CH₃ del acetilo). HRMS (ESI) *m/z* [M + Na]⁺ calculado para C₁₄H₂₂N₂NaO₇ 353,13192, encontrado 353,13071; *m/z* [M + H]⁺ calculado para C₁₄H₂₃N₂O₇ 331,14998, encontrado 331,14912.



Procedimiento general 12 para la síntesis de cloruros de ácido.

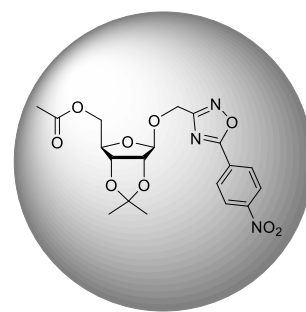
El ácido benzoico (2,36 mmol) se mezcló con cloruro de tionilo (3,5 mL). La mezcla se calentó a reflujo durante 2 h. El solvente se evaporó *in vacuo*. El sólido remanente se disolvió en cloruro de metileno (20 mL) y se concentró *in vacuo*. El cloruro de ácido obtenido se utilizó inmediatamente en su forma cruda. Este procedimiento se realizó tal cual lo descrito en bibliografía.⁶ Mediante esta técnica se sintetizó el cloruro de 3,4,5-trimetoxibenzoilo y el cloruro de *p*-nitrobenzoilo.

Procedimiento general 13 para la síntesis de derivados 1,2,4-oxadiazólicos.

Se disolvió el 2'-Amino-2'-(hidroxiimino)etil derivado **119** o **120** (1,10 mmol) y diisopropiletilamina (0,2 mL) en 5 mL de diclorometano anhidro bajo atmósfera de argón y se agregó el cloruro de ácido aromático (1,15 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda una noche en la oscuridad. Luego, se evaporó el solvente y el residuo se disolvió en dioxano (5 mL) y se reflujo en atmósfera de argón y al resguardo de la luz hasta observar por CCD la desaparición total del material de partida (de 1 a 4 h). Posteriormente, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se concentró en vacío y se purificó por cromatografía en columna flash.

*[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-O-acetil-2,3-O-isopropilidén-β-D-ribofuranósido (**121**).*

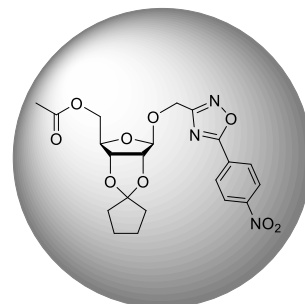
Se aplicó el procedimiento general **13** al compuesto **119** (504,1 mg, 1,78 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 95:5. Se obtuvo el compuesto **121** como un aceite incoloro (353,9 mg, 0,81 mmol, 46 %); $R_f = 0,56$ (ciclohexano: acetona



6:4); $[\alpha]_D^{20} -53,2$ (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 8,40 (d, 2H, J_{arom} 9.1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,36 (d, 2H, J_{arom} 9,1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 5,31 (s, 1H, H-1), 4,85 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,1 Hz, H-1'b), 4,75 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,73 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,1 Hz, H-1'a), 4,72 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5,9 Hz, $J_{3,4}$ 0,6 Hz, H-3), 4,46 (td, 1H, $J_{4,5}$ 7,0 Hz, $J_{4,3}$ 0,7 Hz, H-4), 4,22 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,4 Hz, $J_{5b,4}$ 7,2 Hz, H-5b), 4,17 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 11,4 Hz, $J_{5a,4}$ 6,9 Hz, H-5a), 2,09 (s, 3H, CH_3 del acetilo), 1,50 (s, 3H, CH_3 del isopropilidén), 1,33 (s, 3H, CH_3 del isopropilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 174,4 (C-5' del anillo oxadiazólico), 170,7 (C=O), 168,2 (C-3' del anillo oxadiazólico), 150,5, 129,5, 129,3, 124,5 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 113,0 (carbono cuaternario de isopropilidén), 108,1 (C-1), 85,4 (C-2), 85,1 (C-4), 81,9 (C-3), 64,8 (C-5), 59,7 (C-1'), 26,5, 25,1 (CH_3 carbonos del isopropilidén), 21,0 (CH_3 del acetilo). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_9$ 458,11700, encontrado 458,11576.

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-O-acetil-2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (122).

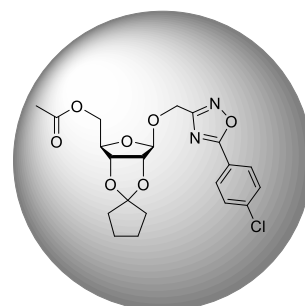
Se aplicó el procedimiento general **13** al compuesto **120** (361,8 mg, 0,24 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 98:2. Se obtuvo el compuesto **122** como un aceite incoloro (110,9 mg, 3,58 mmol, 22 %); $R_f = 0,41$ (tolueno: AcOEt 9:1); $[\alpha]_D^{20} -54,2$ (c 0,7, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3)



δ : 8,40 (d, 2H, J_{arom} 9,1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,36 (d, 2H, J_{arom} 9,0 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 5,32 (s, 1H, H-1), 4,85 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,4 Hz, H-1'b), 4,73 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,1 Hz, H-1'a), 4,69 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,66 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 1,0 Hz, H-3), 4,48 (dt, 1H, $J_{4,5}$ 7,0 Hz, $J_{4,3}$ 1,0 Hz, H-4), 4,23 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,4 Hz, $J_{5b,4}$ 7,2 Hz, H-5b), 4,17 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 11,4 Hz, $J_{5a,4}$ 6,8 Hz, H-5a), 2,10 (s, 3H, CH_3), 1,95-1,66 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 174,4 (C-5' del anillo oxadiazólico), 170,7 (C=O), 168,2 (C-3' del anillo oxadiazólico), 150,5, 129,5, 129,3, 124,5 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 122,5 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,9 (C-1), 85,2 (C-2), 84,8 (C-4), 81,7 (C-3), 64,8 (C-5), 59,7 (C-1'), 36,0, 36,0, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén), 21,0 (CH_3). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{NaO}_9$ 484,13265, encontrado 484,13063.

[5-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-O-acetil-2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido (123).

Se aplicó el procedimiento general **13** al compuesto **120** (358,1 mg, 1,08 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 98:2. Se obtuvo el compuesto **123** como un aceite incoloro (88,8 mg, 0,20 mmol, 18 %); $R_f = 0,50$ (tolueno: AcOEt 9:1); $[\alpha]_D^{20} -55,9$ (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3)

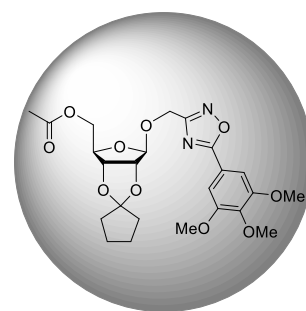


δ : 8,09 (d, 2H, J_{arom} 8,7 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 7,51 (d, 2H, J_{arom} 8,7 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 5,31 (s, 1H, H-1), 4,82 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,0 Hz, H-1'b), 4,69 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,0 Hz, H-1'a), 4,69 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,65 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 0,7 Hz, H-3), 4,46 (td, 1H, $J_{4,5}$ 7,0 Hz, $J_{4,3}$ 0,8 Hz, H-4), 4,22 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,3

Hz, $J_{5b,4}$ 7,1 Hz, H-5b), 4,16 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 11,4 Hz, $J_{5a,4}$ 6,9 Hz, H-5a), 2,09 (s, 3H, CH₃), 1,94-1,65 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ : 175,5 (C-5' del anillo oxadiazólico), 170,7 (C=O), 167,8 (C-3' del anillo oxadiazólico), 139,6, 129,7, 129,7, 122,5 (carbonos del anillo *p*-clorofenilo), 122,5 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,8 (C-1), 85,2 (C-2), 84,7 (C-4), 81,7 (C-3), 64,8 (C-5), 59,8 (C-1'), 36,0, 35,9, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén), 21,0 (CH₃). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₂₁H₂₃ClN₂NaO₇ 473,10860, encontrado 473,10740.

[5-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-O-acetil-2,3-O-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (**124**).

El procedimiento general **13** se aplicó al compuesto **120** (203,0 mg, 0,61 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 93:7. Se obtuvo el compuesto **124** como un aceite incoloro (80,6 mg, 0,16 mmol, 26 %); R_f = 0,61 (tolueno: AcOEt 7:3); $[\alpha]_D^{20}$ -32,0 (c 0,8, cloroformo). RMN-¹H (500



MHz, CDCl₃) δ : 7,38 (s, 2H, protones aromáticos del anillo trimetoxifenilo), 5,30 (s, 1H, H-1), 4,82 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,9 Hz, H-1'b), 4,70 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,68 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,9 Hz, H-1'a), 4,66 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 0,6 Hz, H-3), 4,47 (td, 1H, $J_{4,5}$ 7,0 Hz, $J_{4,3}$ 0,7 Hz, H-4), 4,23 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,4 Hz, $J_{5b,4}$ 7,1 Hz, H-5b), 4,17 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 11,4 Hz, $J_{5a,4}$ 6,9 Hz, H-5a), 3,96 (s, 6H, OCH₃), 3,94 (s, 3H, OCH₃), 2,09 (s, 3H, CH₃), 1,95-1,66 (m, 8H, protones del anillo ciclopentilideno); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ : 176,3 (C-5' del anillo oxadiazólico), 170,7 (C=O), 167,6 (C-3' del anillo oxadiazólico), 153,8, 142,3, 119,0, 105,6 (carbonos aromáticos del anillo trimetoxifenilo), 122,5 (carbono cuaternario del anillo ciclopentilideno), 107,8 (C-1), 85,2 (C-2), 84,7 (C-4), 81,7 (C-3), 64,8 (C-5), 61,2 (OCH₃), 59,9 (C-1'), 56,6 (OCH₃), 36,0, 36,0, 23,7, 23,3 (carbonos del anillo ciclopentilideno), 21,0 (CH₃). HRMS (ESI) m/z [M + H]⁺ calculado para C₂₄H₃₁N₂O₁₀ 507,19732, encontrado 507,19926.

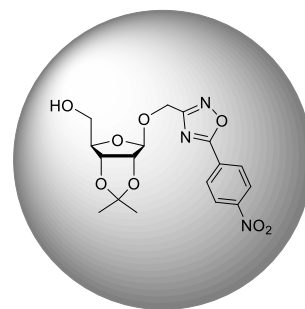
Procedimiento general 14 para la síntesis de derivados 1,2,4-oxadiazólicos.

A una solución del derivado oxadiazólico acetilado (0,30 mmol) en una mezcla de CH₂Cl₂/MeOH anhidro 2:1 (30 mL) a 0 °C, se agregó 1,3 M NaOMe/MeOH (1,5 mL).

Luego de 1 h de agitación a 0 °C, la mezcla se neutralizó con ácido acético y el solvente se evaporó bajo presión reducida. El crudo de reacción se purificó por cromatografía en columna flash.

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-isopropilidén-β-D-ribofuranósido
(125).

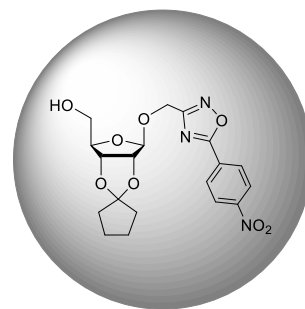
Se aplicó el procedimiento general **14** al compuesto **121** (163,2 mg, 0,375 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 95:5 a 85:15. Se obtuvo el compuesto **125** como un sólido blanco (141,7 mg, 0,360 mmol, 96 %); $R_f = 0,43$ (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 89-90 °C; $[\alpha]_D^{20} -22,3$ (c 1,0,



cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 8,41 (d, 2H, J_{arom} 9,1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,35 (d, 2H, J_{arom} 9,1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 5,29 (s, 1H, H-1), 4,90 (s, 2H, H-1' b, H-1'), 4,87 (da, 1H, $J_{3,2}$ 5,8 Hz, H-3), 4,73 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,44 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,0 Hz, H-4), 3,73 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,7 Hz, $J_{5b,4}$ 2,4 Hz, H-5b), 3,68 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 12,7 Hz, $J_{5a,4}$ 4,1 Hz, H-5a), 1,50 (s, 3H, CH_3), 1,33 (s, 3H, CH_3); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 174,5 (C-5' del anillo oxadiazólico), 168,7 (C-3' del anillo oxadiazólico), 150,6, 129,5, 128,9, 124,7 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 112,5 (carbono cuaternario del isopropilidén), 110,0 (C-1), 89,2 (C-4), 86,2 (C-2), 81,6 (C-3), 63,8 (C-5), 60,9 (C-1'), 26,6, 25,0 (CH_3). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{NaO}_8$ 416,10644, encontrado 416,10764.

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3''-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido.
(126).

Se aplicó el procedimiento general **14** para el compuesto **122** (149,6 mg, 0,32 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 85:15. Se obtuvo el compuesto **126** como un aceite incoloro (117,6 mg, 0,28 mmol, 87 %); $R_f = 0,51$ (tolueno: AcOEt 7:3); $[\alpha]_D^{20} -17,6$ (c 1,0, cloroformo). RMN-

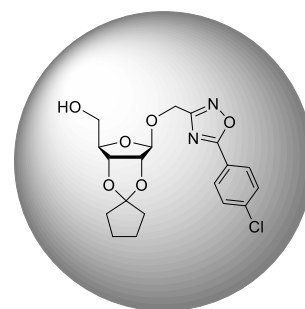


^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 8,41 (d, 2H, J_{arom} 8,3 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,34 (d, 2H, J_{arom} 9,0 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 5,30 (s, 1H, H-1), 4,90 (s,

2H, H-1'b, H-1'), 4,79 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 0,4 Hz, H-3), 4,67 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,45 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,3 Hz, H-4), 3,73 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 12,8 Hz, $J_{5b,4}$ 2,6 Hz, H-5b), 3,68 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 12,8 Hz, $J_{5a,4}$ 4,3 Hz, H-5a), 1,95-1,67 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 174,5 (C-5' del anillo oxadiazólico), 168,7 (C-3' del anillo oxadiazólico), 150,6, 129,5, 128,9, 124,7 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 122,1 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 109,8 (C-1), 89,0 (C-4), 85,9 (C-2), 81,4 (C-3), 63,8 (C-5), 60,9 (C-1'), 35,9, 23,8, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{NaO}_8$ 442,12209, encontrado 442,12265.

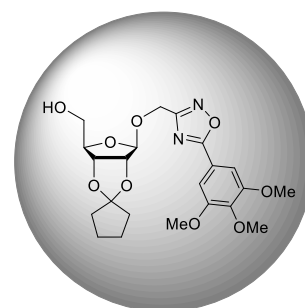
[5-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (127).

Se aplicó el procedimiento general **14** al compuesto **123** (88,8 mg, 0,197 mmol) y se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 90:10. Se obtuvo el compuesto **127** como un aceite incoloro (77,2 mg, 0,189 mmol, 96 %); R_f = 0,38 (ciclohexano: acetona 7:3); $[\alpha]_D^{20}$ -12,1 (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ : 8,06 (d, 2H, J_{arom} 8,8 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 7,51 (d, 2H, J_{arom} 8,8 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 5,27 (s, 1H, H-1), 4,85 (s, 2H, H-1'b, H-1'), 4,77 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, H-3), 4,65 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,1 Hz, H-2), 4,42 (t, 1H, $J_{4,5}$ 3,4 Hz, H-4), 4,05 (s_a , 1H, OH), 3,69 (m, 2H, H-5b, H-5a), 1,95-1,67 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ : 175,5 (C-5' del anillo oxadiazólico), 168,2 (C-3' del anillo oxadiazólico), 139,9, 129,8, 129,6, 122,0 (carbonos del anillo *p*-clorofenilo), 122,1 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 109,6 (C-1), 88,9 (C-4), 85,9 (C-2), 81,4 (C-3), 63,7 (C-5), 60,9 (C-1'), 35,9, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{NaO}_6$ 431,09804, encontrado 431,09957.



[5-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido (128).

El procedimiento general **14** aplicado al compuesto **124** (106,0 mg, 0,209 mmol) se purificó por cromatografía en



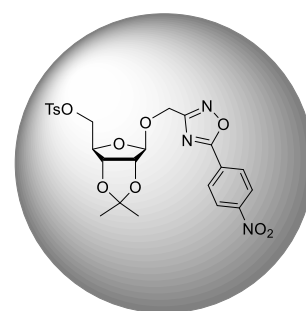
columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 90:10. Se obtuvo el compuesto **128** como un aceite incoloro (71,7 mg, 0,154 mmol, 74 %); $R_f = 0,33$ (ciclohexano: acetona 7:3); $[\alpha]_D^{20} -7,0$ (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,39 (s, 2H, protones aromáticos del anillo trimetoxifenilo), 5,28 (s, 1H, H-1), 4,88 (d, 1H, $J_{1'b,1'a} 13,4$ Hz, H-1'b), 4,83 (d, 1H, $J_{1'a,1'b} 13,4$ Hz, H-1'a), 4,77 (d, 1H, $J_{3,2} 6,1$ Hz, H-3), 4,67 (d, 1H, $J_{2,3} 6,1$ Hz, H-2), 4,42 (ta, 1H, $J_{4,5} 3,8$ Hz, H-4), 3,94 (s, 6H, OCH_3), 3,93 (s, 3H, OCH_3), 3,72 (dd, 1H, $J_{5b,5a} 12,8$ Hz, $J_{5b,4} 2,6$ Hz, H-5b), 3,66 (dd, 1H, $J_{5a,5b} 12,8$ Hz, $J_{5a,4} 4,6$ Hz, H-5a), 1,94-1,66 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 176,3 (C-5' del anillo oxadiazólico), 168,2 (C-3' del anillo oxadiazólico), 153,8, 142,5, 118,5, 105,6 (carbonos aromáticos del trimetoxifenilo), 122,0 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 109,9 (C-1), 89,0 (C-4), 86,0 (C-2), 81,5 (C-3), 63,7 (C-5), 61,2 (OCH_3), 61,1 (C-1'), 56,5 (OCH_3), 35,9, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{NaO}_9$ 487,16870, encontrado 487,16942.

Procedimiento general 15 para la síntesis de derivados 1,2,4-oxadiazólicos tosilados.

A una solución del derivado 1,2,4-oxadiazólico desacetilado (0,64 mmol) disuelto en piridina anhidra (5 mL), se agregó cloruro de tosilo (1,92 mmol) con agitación continua. La mezcla se mantuvo a temperatura ambiente durante toda una noche. Luego, la mezcla de reacción se disolvió en cloruro de metileno y se extrajo con agua, ácido clorhídrico (5 %), y bicarbonato de sodio (5 %) y finalmente se lavó con agua. La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 (anhidro) y el solvente se evaporó. El producto crudo purificó por cromatografía en columna flash.

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-isopropilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido (129).

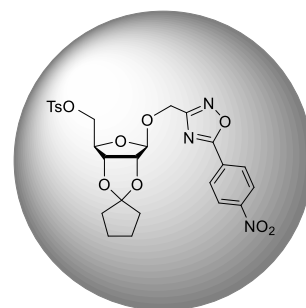
El procedimiento general **15** aplicado al compuesto **125** (250,5 mg, 0,64 mmol), que fue purificado por columna cromatografía flash utilizando mezclas tolueno: AcOEt 100:0 a 98:2 como solvente, permitió obtener el compuesto **129** como un sólido blanco (304,0 mg, 0,56 mmol, 87 %); $R_f = 0,40$ (tolueno: AcOEt 9:1); pf: 116-117 °C; $[\alpha]_D^{20} -43,3$ (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 8,41 (d, 2H, $J_{\text{arom}} 9,1$ Hz, protones del



anillo *p*-nitrofenilo), 8,37 (d, 2H, J_{arom} 9,1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 7,81 (d, 2H, J 8,3 Hz, protones aromáticos del grupo tosilo), 7,34 (d, 2H, J 8,5 Hz, protones aromáticos del grupo tosilo), 5,27 (s, 1H, H-1), 4,75 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,2 Hz, H-1'b), 4,69 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,9 Hz, H-1'a), 4,68 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,8 Hz, H-2), 4,65 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, $J_{3,4}$ 0,6 Hz, H-3), 4,39 (dt, 1H, $J_{4,5}$ 7,2 Hz, $J_{4,3}$ 0,7 Hz, H-4), 4,17 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 10,2 Hz, $J_{5b,4}$ 7,4 Hz, H-5b), 4,14 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,2 Hz, $J_{5a,4}$ 6,9 Hz, H-5a), 2,44 (s, 3H, CH₃ del tosilo), 1,46 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén), 1,29 (s, 3H, CH₃ del isopropilidén); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ : 174,4 (C-5' del anillo oxadiazólico), 168,1 (C-3' del anillo oxadiazólico), 150,5, 129,5, 129,3, 124,6 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 145,3, 132,9, 130,1, 128,1 (carbonos aromáticos del grupo tosilo), 113,1 (carbono cuaternario del isopropilidén), 108,0 (C-1), 85,1 (C-2), 84,4 (C-4), 81,4 (C-3), 69,1 (C-5), 59,7 (C-1'), 26,4, 24,9 (CH₃ del isopropilidén), 21,8 (CH₃ del tosilo). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₂₄H₂₅N₃NaO₁₀S 570,11529, encontrado 570,11590; m/z [M + K]⁺ calculado para C₂₄H₂₅KN₃O₁₀S 586,08922, encontrado 586,08975.

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-O-tosil- β -D-ribofuranósido. (**130**).

El procedimiento general **15** aplicado al compuesto **126** (98,5 mg, 0,24 mmol), que fue purificado por columna cromatografía flash utilizando mezclas tolueno: AcOEt 100:0 a 97:3 como solvente, permitió obtener el compuesto **130** como un sólido blanco (107,6 mg, 0,19 mmol, 80 %); R_f = 0,55 (tolueno: AcOEt 9:1); pf: 96-98 °C; $[\alpha]_D^{20}$ -44,2 (c 1,0, cloroformo).

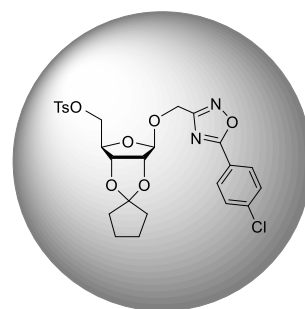


RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) δ : 8,41 (d, 2H, J_{arom} 9,1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,37 (d, 2H, J_{arom} 9,1 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 7,81 (d, 2H, J 8,3 Hz, protones aromáticos del grupo tosilo), 7,34 (d, 2H, J 8,0 Hz, protones aromáticos del grupo tosilo), 5,28 (s, 1H, H-1), 4,75 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,2 Hz, H-1'b), 4,69 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,2 Hz, H-1'a), 4,62 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,59 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, $J_{3,4}$ 0,7 Hz, H-3), 4,40 (dt, 1H, $J_{4,5}$ 7,1 Hz, $J_{4,3}$ 1,0 Hz, H-4), 4,17 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 10,2 Hz, $J_{5b,4}$ 7,4 Hz, H-5b), 4,14 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,2 Hz, $J_{5a,4}$ 7,0 Hz, H-5a), 2,44 (s, 3H, CH₃), 1,90-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ : 174,4 (C-5' del anillo oxadiazólico), 168,1 (C-3' del anillo oxadiazólico), 150,5, 129,5, 129,2, 124,5 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 145,3, 132,9, 130,1, 128,1 (carbonos

aromáticos del grupo tosilo), 122,7 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,8 (C-1), 84,9 (C-2), 84,1 (C-4), 81,2 (C-3), 69,2 (C-5), 59,7 (C-1'), 35,9, 35,8, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH₃). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₂₆H₂₇N₃NaO₁₀S 596,13094, encontrado 596,13102; m/z [M + H]⁺ calculado para C₂₆H₂₈N₃O₁₀S 574,14899, encontrado 574,14947.

[5-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-O-tosil-β-D-ribofuranósido (131).

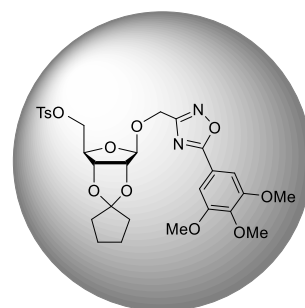
El procedimiento general **15** aplicado al compuesto **127** (77,2 mg, 0,189 mmol), que fue purificado por columna cromatografía flash utilizando mezclas tolueno: AcOEt 100:0 a 98:2 como solvente, permitió obtener el compuesto **131** como un aceite transparente (98,4 mg, 0,174 mmol, 92 %); R_f = 0,63 (tolueno: AcOEt 9:1); $[\alpha]_D^{20}$ -37,2 (c 1,0, cloroformo).



RMN-¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ: 8,10 (d, 2H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 7,80 (d, 2H, J 8,3 Hz, protones aromáticos del grupo tosilo), 7,52 (d, 2H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 7,32 (d, 2H, J 8,2 Hz, protones aromáticos del grupo tosilo), 5,26 (s, 1H, H-1), 4,68 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,2 Hz, H-1'b), 4,63 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,2 Hz, H-1'a), 4,61 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,58 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, H-3), 4,40 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,2 Hz, H-4), 4,15 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 9,9 Hz, $J_{5b,4}$ 7,5 Hz, H-5b), 4,11 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,0 Hz, $J_{5a,4}$ 6,5 Hz, H-5a), 2,42 (s, 3H, CH₃), 1,90-1,63 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: 175,5 (C-5' del anillo oxadiazólico), 167,6 (C-3' del anillo oxadiazólico), 139,6, 129,7, 129,6, 122,4 (carbonos del anillo *p*-clorofenilo), 145,2, 132,8, 130,0, 128,1 (carbonos aromáticos del grupo tosilo), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,7 (C-1), 84,8 (C-2), 84,0 (C-4), 81,2 (C-3), 69,2 (C-5), 59,8 (C-1'), 35,9, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH₃). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado parar C₂₆H₂₇ClN₂NaO₈S 585,10689, encontrado 585,10881.

[5-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-O-tosil-β-D-ribofuranósido (132).

El procedimiento general **15** aplicado al compuesto **128** (24,3 mg, 0,0523 mmol), que fue purificado por columna



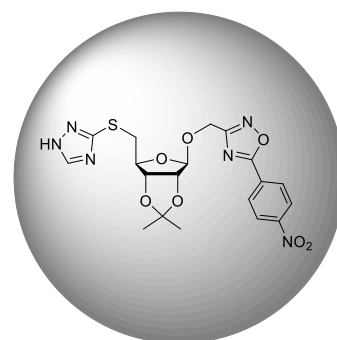
cromatografía flash utilizando mezclas tolueno: AcOEt 100:0 a 95:5 como solvente, permitió obtener el compuesto **132** como un aceite transparente (30,6 mg, 0,0495 mmol, 95 %); $R_f = 0,56$ (tolueno: AcOEt 8:2); $[\alpha]_D^{20} -35,3$ (c 1,1, cloroformo). RMN- ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ : 7,80 (d, 2H, J 8,3 Hz protones aromáticos del grupo tosilo), 7,39 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 7,31 (d, 2H, J 7,9 Hz, protones aromáticos del grupo tosilo), 5,25 (s, 1H, H-1), 4,68 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,0 Hz, H-1'b), 4,62 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,0 Hz, H-1'a), 4,61 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,58 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,1 Hz, H-3), 4,39 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,2 Hz, H-4), 4,15 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 10,2 Hz, $J_{5b,4}$ 7,9 Hz, H-5b), 4,11 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 10,3 Hz, $J_{5a,4}$ 6,7 Hz, H-5a), 3,95 (s, 6H, OCH_3), 3,94 (s, 3H, OCH_3), 2,42 (s, 3H, CH_3), 1,89-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 176,3 (C-5' del anillo oxadiazólico), 167,5 (C-3' del anillo oxadiazólico), 153,8, 142,4, 118,9, 105,6 (carbonos del trimetoxifenilo), 145,2, 132,8, 130,1, 128,1 (carbonos aromáticos del grupo tosilo), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 107,7 (C-1), 84,9 (C-2), 84,0 (C-4), 81,2 (C-3), 69,2 (C-5), 61,2 (OCH_3), 59,9 (C-1'), 56,6 (OCH_3), 35,9, 35,8, 23,7, 23,2 (carbonos del ciclopentilidén), 21,8 (CH_3). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{NaO}_{11}\text{S}$ 641,17755, encontrado 641,17813; m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{235}\text{N}_2\text{O}_{11}\text{S}$ 619,19561, encontrado 619,19727.

Procedimiento general 16 para la síntesis de derivados di-heterocíclicos.

A una solución de etóxido de sodio, preparada a partir del agregado de sodio metálico (30,0 mg, 1,30 mmol) a etanol (15 mL), se le agregó 1,2,4-triazolil-5-tiol (120,4 mg, 1,19 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50°C durante 10 minutos y luego se evaporó el solvente a presión reducida. El sólido resultante se agregó a una solución del oxadiazol tosilado (0,39 mmol) en DMF (2 mL) y se calentó a 50°C toda una noche bajo atmósfera de argón. La solución se evaporó y el residuo se disolvió en diclorometano y se lavó con sal muera, se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna flash.

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-desoxi-2,3-O-isopropilidén-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)- β -D-ribofuranósido (**133**).

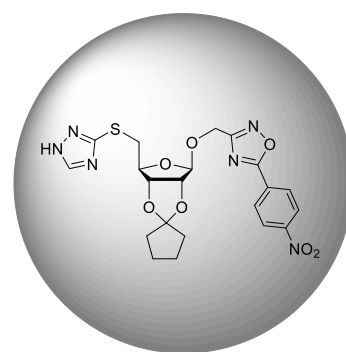
Cuando se aplicó el procedimiento general **16** al compuesto **129** (51,1 mg, 0,0933 mmol) y se purificó por



cromatografía en columna flash utilizando ciclohexano: acetona 100:0 a 85:15 como mezcla de solventes, se obtuvo el compuesto **133** como un sólido amarillo pálido (32,3 mg, 0,0678 mmol, 73 %); $R_f = 0,40$ (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 145-147 °C; $[\alpha]_D^{20} -14,7$ (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$) δ : 8,49 (d, 2H, J_{arom} 8,9 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,43 (d, 2H, J_{arom} 8,9 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,38 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 5,32 (s, 1H, H-1), 4,95 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,2 Hz, H-1'b), 4,91 (d, 1H, $J_{3,2}$ 5,9 Hz, H-3), 4,86 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,2 Hz, H-1'a), 4,77 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,9 Hz, H-2), 4,50 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,7 Hz, H-4), 3,51 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,7 Hz, $J_{5b,4}$ 7,0 Hz, H-5b), 3,36 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,7 Hz, $J_{5a,4}$ 8,6 Hz, H-5a), 1,39 (s, 3H, CH_3), 1,28 (s, 3H, CH_3); RMN- ^{13}C (125 MHz, $\text{CO}(\text{CD}_3)_2$) δ : 175,1 (C-5' del anillo oxadiazólico), 169,3 (C-3' del anillo oxadiazólico), 151,4, 130,2, 130,1, 125,3 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 146,7 (C-5'' del anillo triazólico), 112,9 (carbono cuaternario del isopropilidén), 109,1 (C-1), 86,9 (C-4), 86,2 (C-2), 84,1 (C-3), 60,1 (C-1'), 35,7 (C-5), 26,6, 24,9 (CH_3). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{NaO}_7\text{S}$ 499,10064; encontrado 499,09829; m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_6\text{O}_7\text{S}$ 477,11869; encontrado 477,11642.

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)- β -D-ribofuranósido (**134**).

Cuando se aplicó el procedimiento general **16** al compuesto **130** (84,2 mg, 0,147 mmol) y se purificó por cromatografía en columna flash utilizando ciclohexano: acetona 100:0 a 85:15 como mezcla de solventes, se obtuvo el compuesto **134** como un sólido blanco (56,6 mg, 0,113 mmol, 77 %); $R_f = 0,40$ (ciclohexano: acetona 6:4); pf: 119-120 °C; $[\alpha]_D^{20} -24,7$ (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H



(500 MHz, CDCl_3) δ : 8,39 (d, 2H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,33 (d, 1H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,18 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 5,33 (s, 1H, H-1), 4,95 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,1 Hz, H-1'b), 4,79 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,0 Hz, H-1'a), 4,73 (s, 2H, H-3, H-2), 4,54 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,8 Hz, H-4), 3,49 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,7 Hz, $J_{5b,4}$ 7,4 Hz, H-5b), 3,53 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,7 Hz, $J_{5a,4}$ 8,1 Hz, H-5a), 1,91-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 174,4 (C-5' del anillo oxadiazólico), 168,2 (C-3' del anillo oxadiazólico), 150,5, 129,5, 129,2, 124,5

(carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 147,1 (C-5'' del anillo triazólico), 122,5 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,3 (C-1), 85,8 (C-4), 85,2 (C-2), 83,2 (C-3), 59,9 (C-1'), 35,8 (C-5), 35,9, 35,8, 23,7, 23,3 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[M + Na]^+$ calculado para $C_{21}H_{22}N_6NaO_7S$ 525,11629; encontrado 525,11807; m/z $[M + H]^+$ calculado para $C_{21}H_{23}N_6O_7S$ 503,13434; encontrado 503,13654.

[5-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)- β -D-ribofuranósido (**135**).

Se aplicó el procedimiento general **16** al compuesto **131** (20,0 mg, 0,0355 mmol) y se purificó por cromatografía en

columna flash utilizando tolueno: AcOEt 80:20 a 70:30 como mezcla de solventes. Se obtuvo el compuesto **135**

como un sólido blanco (10,5 mg, 0,0213 mmol, 60 %); R_f = 0,30 (tolueno: AcOEt 1:1); pf: 68-69 °C. RMN- 1H (500

MHz, $CDCl_3$) δ : 8,15 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico),

8,07 (d, 2H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 7,51 (d, 2H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 5,33 (s, 1H, H-1), 4,94 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,9 Hz, H-1'b),

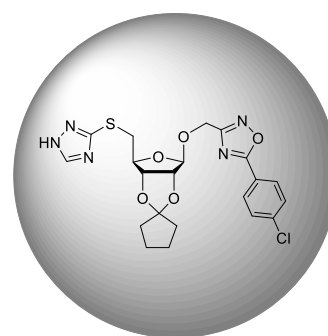
4,75 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,0 Hz, H-1'a), 4,72 (s, 2H, H-3, H-2), 4,55 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,7 Hz, H-4), 3,50 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,6 Hz, $J_{5b,4}$ 7,4 Hz, H-5b), 3,36 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,6 Hz, $J_{5a,4}$ 8,0

Hz, H-5a), 1,92-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (50 MHz, $CDCl_3$) δ : 173,1 (C-5' del anillo oxadiazólico), 167,7 (C-3' del anillo oxadiazólico), 139,7,

129,7, 129,6, 122,3 (carbonos de anillo *p*-clorofenilo), 147,3 (C-5'' del anillo triazólico), 122,4 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,2 (C-1), 85,7 (C-4),

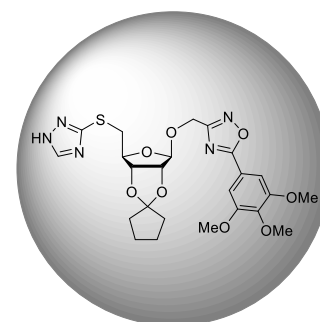
85,2 (C-2), 83,1 (C-3), 60,0 (C-1'), 35,9, 35,8, 23,7, 23,3 (C-5 y carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[M + Na]^+$ calculado para $C_{21}H_{22}ClN_5NaO_5S$ 514,09224, encontrado 514,09177; m/z $[M + H]^+$ calculado para $C_{21}H_{23}ClN_5O_5S$

492,11029, encontrado 492,11026.



[5-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi-5-S-(1H-1,2,4-triazol-3-il)- β -D-ribofuranósido (**136**).

Se aplicó el procedimiento general **16** al compuesto **132** (54,1 mg, 0,0874 mmol) y se purificó por cromatografía en



columna flash utilizando ciclohexano: acetona 100:0 a 85:15 como mezcla de solventes. Se obtuvo el compuesto **136** como un sólido blanco (35,0 mg, 0,0639 mmol, 73 %); R_f = 0,34 (ciclohexano: acetona 6:4). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ : 8,14 (s, 1H, H-5'' del anillo triazólico), 7,37 (s, 2H, protones aromáticos del anillo trimetoxifenilo), 5,32 (s, 1H, H-1), 4,93 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,9 Hz, H-1'b), 4,74 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,9 Hz, H-1'a), 4,72 (s, 2H, H-2, H-3), 4,54 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,7 Hz, H-4), 3,50 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,6 Hz, $J_{5b,4}$ 7,2 Hz, H-5b), 3,35 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,6 Hz, $J_{5a,4}$ 8,2 Hz, H-5a), 1,91-1,64 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) δ : 176,3 (C-5' del anillo oxadiazólico), 167,6 (C-3' del anillo oxadiazólico), 153,7, 142,4, 118,8, 105,6 (carbonos aromáticos del anillo trimetoxifenilo), 147,5 (C-5'' del anillo triazólico), 122,5 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,3 (C-1), 85,8 (C-4), 85,2 (C-2), 83,2 (C-3), 61,2 (OCH_3), 60,1 (C-1'), 56,6 (OCH_3), 36,0, 36,0, 35,9, 23,7, 23,3 (C-5 y carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_5\text{NaO}_8\text{S}$ 570,16290, encontrado 570,16285; m/z $[\text{M} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_8\text{S}$ 548,18096, encontrado 548,18280.

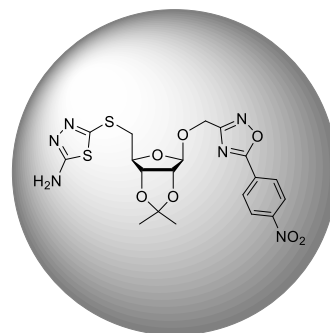
Procedimiento general 17 para la síntesis de derivados di-heterocíclicos (137-140).

Para obtener los derivados di-heterocíclicos **137-140** se utilizó el mismo procedimiento empleado para la obtención de los derivados **133-136** reemplazando el 1,2,4-triazolil-5-tiol por 5-amino-1,3,4-tiadiazol-3-tiol (1,19 mmol).

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-S-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-5-desoxi-2,3-O-isopropilidén- β -D-ribofuranósido (137).

El procedimiento general **17** se aplicó al compuesto **129** (91,2 mg, 0,167 mmol) y se purificó por columna cromatográfica utilizando como eluyente mezclas de tolueno: AcOEt 100:0 a 70:30. Se obtuvo el compuesto **137** como un sólido amarillo (47,6 mg, 0,0936 mmol, 56 %); R_f = 0,36 (tolueno: acetato de etilo 1:1 (x2)); pf: 181-183 °C

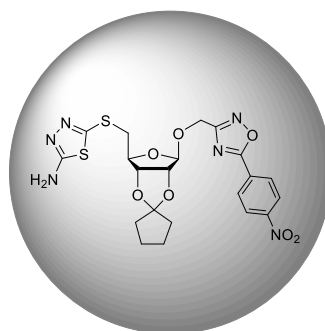
(descomposición), $[\alpha]_D^{20}$ -4,0 (c 1,0, cloroformo). RMN- ^1H (500 MHz, Py-d_5) δ : 8,61 (s, 2H, NH_2 del grupo tiadiazol), 8,38 (d, 2H, J_{arom} 8,8 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,31 (d, 2H, J_{arom} 8,8 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 5,0 (s, 1H, H-1),



5,18 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,1 Hz, H-1'b), 5,04 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,1 Hz, H-1'a), 5,04 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,3 Hz, H-3), 5,03-4,98 (m, 2H, H-2, H-4), 3,86 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,5 Hz, $J_{5b,4}$ 7,1 Hz, H-5b), 3,69 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,4 Hz, $J_{5a,4}$ 8,4 Hz, H-5a), 1,52 (s, 3H, CH₃), 1,32 (s, 3H, CH₃); RMN-¹³C (125 MHz, Py-d₅) δ : 174,9 (C-5' del anillo oxadiazólico), 171,2 (C-5'' del anillo tiadiazólico), 169,2 (C-3' del anillo oxadiazólico), 151,0 (C-2'' del anillo tiadiazólico), 150,9, 129,9, 129,7, 125,1 (carbono del *p*-nitrofenilo), 113,0 (carbono cuaternario del isopropilidén), 109,1 (C-1), 86,6 (C-4), 86,3 (C-2), 84,1 (C-3), 60,4 (C-1'), 38,4 (C-5), 26,8, 25,2 (CH₃). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₁₉H₂₀N₆NaO₇S₂ 531,07271, encontrado 531,07230

[5-(4-Nitrofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-S-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi- β -D-ribofuranósido (**138**).

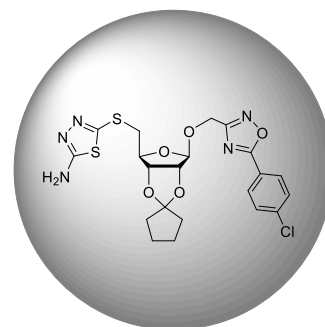
El procedimiento general **17** se aplicó al compuesto **130** (49,4 mg, 0,0861 mmol) y se purificó por columna cromatográfica utilizando tolueno: AcOEt 95:5 a 80:20 como mezcla de solvente. Se obtuvo el compuesto **138** como un sólido amarillo (32,1 mg, 0,0600 mmol, 70 %); R_f = 0,28 (tolueno: AcOEt 1:1 (x2)); pf: 180-181 °C



(descomposición); $[\alpha]_D^{20}$ -4,7 (c 1,0, DMSO). RMN-¹H (500 MHz, Py-d₅) δ : 8,61 (s, 2H, NH₂ del grupo tiadiazol), 8,38 (d, 2H, J_{arom} 8,5 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 8,31 (d, 2H, J_{arom} 8,8 Hz, protones del anillo *p*-nitrofenilo), 5,71 (s, 1H, H-1), 5,19 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,1 Hz, H-1'b), 5,05 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,1 Hz, H-1'a), 5,04 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,6 Hz, H-4), 4,99 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,3 Hz, H-3), 4,93 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,6 Hz, H-2), 3,86 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,4 Hz, $J_{5b,4}$ 7,1 Hz, H-5b), 3,70 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,4 Hz, $J_{5a,4}$ 8,4 Hz, H-5a), 2,02-1,55 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (125 MHz, Py-d₅) δ : 174,9 (C-5' del anillo oxadiazólico), 171,2 (C-5'' del anillo tiadiazólico), 169,2 (C-3' del anillo oxadiazólico), 151,0 (C-2'' del anillo tiadiazólico), 150,9, 129,9, 129,7, 125,1 (carbonos del anillo *p*-nitrofenilo), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,9 (C-1), 86,4 (C-4), 86,1 (C-2), 83,9 (C-3), 60,3 (C-1'), 38,4 (C-5), 36,3, 36,3, 24,2, 23,7 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₂₁H₂₂N₆NaO₇S₂ 557,08836, encontrado 557,09044; m/z [M + H]⁺ calculado para C₂₁H₂₃N₆O₇S₂ 535,10641, encontrado 535,10843.

[5-(4-Clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-S-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi- β -D-ribofuranósido (**139**).

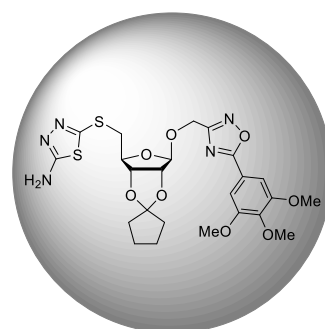
El procedimiento general **17** aplicado al compuesto **131** (50,0 mg, 0,0888 mmol) y se purificó por columna cromatográfica utilizando tolueno: AcOEt 95:5 a 80:20 como solvente de elución. Se obtuvo el compuesto **139** como un sólido blanco (39,8 mg, 0,0760 mmol, 86 %); R_f = 0,27 (tolueno: AcOEt 1:1); pf: 162-163 °C



(descomposición). RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ : 8,16 (d, 2H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 7,69 (d, 2H, J_{arom} 8,6 Hz, protones del anillo *p*-clorofenilo), 6,64 (s, 1,3H, NH_2 del anillo tiadiazólico), 5,32 (s, 1H, H-1), 4,90 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 13,0 Hz, H-1'b), 4,83 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,81 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 13,0 Hz, H-1'a), 4,69 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,50 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,6 Hz, H-4), 3,49 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,6 Hz, $J_{5b,4}$ 7,5 Hz, H-5b), 3,42 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,6 Hz, $J_{5a,4}$ 8,0 Hz, H-5a), 1,86-1,62 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN- ^{13}C (125 MHz, Py-d_5) δ : 175,8 (C-5' del anillo oxadiazólico), 171,2 (C-5'' del anillo tiadiazólico), 168,9 (C-3' del anillo oxadiazólico), 151,0 (C-2'' del anillo tiadiazólico), 139,6, 130,3, 130,2, 123,3 (carbonos del anillo *p*-clorofenilo), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,8 (C-1), 86,4 (C-4), 86,1 (C-2), 83,9 (C-3), 60,4 (C-1'), 38,4 (C-5), 36,3, 36,3, 24,2, 23,7 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z $[\text{M} + \text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{ClN}_5\text{NaO}_5\text{S}_2$ 546,06431, encontrado 546,06425.

[5-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]metil 5-S-(5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-il)-2,3-O-ciclopentilidén-5-desoxi- β -D-ribofuranósido (**140**).

Se aplicó el procedimiento general **17** al compuesto **132** (45,4 mg, 0,0783 mmol) y se fue purificó por cromatografía en columna flash utilizando como eluyente mezclas de tolueno: AcOEt 95:5 a 60:40. Se obtuvo el compuesto **140** como un sólido blanco (28,4 mg, 0,0459 mmol, 59 %); R_f = 0,27 (tolueno: AcOEt 1:1 (x2)); pf: 127-129 °C. RMN- ^1H (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ : 7,42 (s, 2H, protones aromáticos

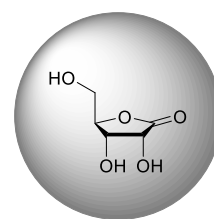


del trimetoxifenilo), 6,62 (bs, 1,3H, NH_2 del anillo tiadiazólico), 5,31 (s, 1H, H-1), 4,89 (d, 1H, $J_{1'b,1'a}$ 12,9 Hz, H-1'b), 4,83 (d, 1H, $J_{3,2}$ 6,0 Hz, H-3), 4,79 (d, 1H, $J_{1'a,1'b}$ 12,9

Hz, H-1'a), 4,70 (d, 1H, $J_{2,3}$ 6,0 Hz, H-2), 4,51 (t, 1H, $J_{4,5}$ 7,7 Hz, H-4), 3,96 (s, 6H, OCH₃), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 3,50 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 13,7 Hz, $J_{5b,4}$ 7,4 Hz, H-5b), 3,43 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 13,7 Hz, $J_{5a,4}$ 8,0 Hz, H-5a), 1,86-1,62 (m, 8H, protones del ciclopentilidén); RMN-¹³C (125 MHz, (CD₃)₂CO) δ : 176,7 (C-5' del anillo oxadiazólico), 170,0 (C-5'' del anillo tiadiazólico), 168,8 (C-3' del anillo oxadiazólico), 151,6 (C-2'' del anillo tiadiazólico), 154,9, 143,4, 119,7, 106,3 (carbonos aromáticos del trimetoxifenilo), 122,6 (carbono cuaternario del ciclopentilidén), 108,9 (C-1), 86,3 (C-4), 86,0 (C-2), 83,9 (C-3), 60,8 (OCH₃), 60,3 (C-1'), 56,8 (OCH₃), 38,2 (C-5), 36,3, 24,2, 23,7 (carbonos del ciclopentilidén). HRMS (ESI) m/z [M + Na]⁺ calculado para C₂₄H₂₉N₅NaO₈S₂ 602,13498, encontrado 602,13529; m/z [M + H]⁺ calculado para C₂₄H₃₀N₅O₈S₂ 580,15303, encontrado 580,15477.

D-Ribono-1,4-lactona (142).

A un balón de tres bocas de 1L equipado con un agitador magnético, una ampolla compensadora y un termómetro, se le agregó D-ribosa (20 g, 0,13 mol); bicarbonato de sodio (22,4 g, 0,26 mol; 2 equiv.) y agua (120 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante



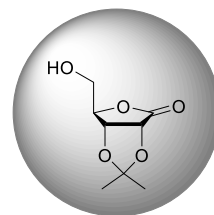
15 minutos, tiempo durante el cual la mayor parte de los sólidos se disolvió. Luego, el balón se sumergió en un baño de agua-hielo. La ampolla compensadora se llenó con bromo (7,2 mL, 0,14 mol, 1,08 equiv.) y se añadió bromo a la solución acuosa con agitación vigorosa, a una velocidad de 2 gotas/seg. de manera tal que la temperatura de reacción no superó los 5 °C. Cuando la adición fue completa, la ampolla compensadora se sustituyó por un tapón y la solución resultante de color naranja se agitó durante 50 minutos. Posteriormente, se agregó bisulfito de sodio (1,3 g, 12,5 mmol) con el fin de eliminar por completo el color naranja.

La solución acuosa transparente se transfirió a un balón de 2 L y se evaporó en un evaporador rotatorio (temperatura del baño 60-70 °C) hasta que se formó una suspensión húmeda. Luego se añadió etanol absoluto (80 mL) y tolueno (20 mL) para dar una suspensión turbia y se eliminó el disolvente por evaporación rotatoria (temperatura del baño 50 °C) hasta obtener un sólido húmedo. Se agregó etanol absoluto (80 mL) y la mezcla se calentó en un baño de vapor durante 30 minutos. La suspensión etanólica caliente se filtró y los sólidos se lavaron con etanol absoluto caliente (20 mL). El filtrado se enfrió a temperatura ambiente y luego se refrigeró durante 16 h. El producto cristalino se filtró, se enjuagó primero con etanol absoluto frío

(20 mL) y después con Et₂O (20 mL) y se secó al vacío a temperatura ambiente para dar 15,7 g de producto bruto. El filtrado se concentró (40 mL) y se refrigeró para obtener producto adicional, que se filtró, se lavó con etanol frío (5 mL) y Et₂O (5 mL) y se secó al vacío a temperatura ambiente para proporcionar 3,9 g de producto crudo adicional. Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura.⁷

2,3-O-Isopropilidén D-ribono-1,4-lactona (**143**).

Una mezcla de **142** (783,9 mg, 5,29 mmol) y sulfato de cobre anhidro (1,13 g, 7,07 mmol) en acetona anhidra (6 mL) se agitó magnéticamente a temperatura ambiente durante 18 h. Luego se agregó celite (500 mg) y la mezcla se filtró. Se evaporó el solvente a presión reducida para obtener el acetónido **143** como un sólido color crema (846,5 g, 85 %). Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura.⁸

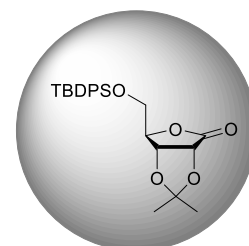


Procedimiento general **18** para la síntesis de derivados de D-ribono-1,4-lactona sililados.

A una solución del acetónido **143** (8,0 mmol) en 8 mL de DMF a 0 °C bajo atmósfera de argón se agregaron sucintamente cloruro de *tert*-butildifenilsililo⁹/*tert*-butildimetilsililo (8,8 mmol) e imidazol (17,6 mmol). La mezcla resultante se dejó llegar a temperatura ambiente y se agitó durante 5 h. La mezcla se disolvió con igual volumen de cloruro de metileno y se extrajo 3 veces con agua y una vez con NaCl (solución saturada). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando como solvente de elución mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 90:10.

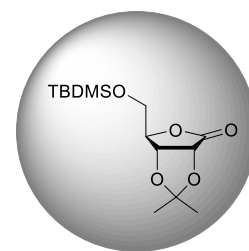
5-O-*tert*-Butildifenilsilil-2,3-O-isopropilidén-D-ribono-1,4-lactona (**144**).

Se aplicó el procedimiento general **18** al acetónido **143** (1,63 g, 6,13 mmol) obteniéndose el compuesto **144** como un sólido blanco (1,43 g, 4,36 mmol, 71 %). Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura.¹⁰



5-O-tert-Butildimetilsilil-2,3-O-isopropilidén-D-ribo-1,4-lactona (145).

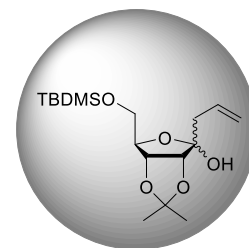
Se aplicó el procedimiento general **18** al acetónido **143** (789,0 mg, 4,19 mmol) obteniéndose el compuesto **145** como un sólido blanco (920,6 mg, 3,04 mmol, 73 %). Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura.¹¹

*Bromuro de alilmagnesio.*

A un balón de tres bocas se lo equipó con una barra magnética, una ampolla compensadora, un septum y un refrigerante, a la salida del cual se conectó un tubo con CaCl_2 (anh.) El balón se cargó con un exceso de virutas de magnesio (698,5 mg, 29 mmol) y 2 mL de éter etílico anhidro. A la mezcla en agitación se le agregó gota a gota una solución de bromuro de alilo (1,40 g, 1,0 mL, solución 80% en tolueno) en 12 mL de éter etílico anhidro. Al finalizar el agregado (30 minutos), la mezcla se agitó durante 1 h. El reactivo de Grignard así obtenido se lo utilizó inmediatamente.¹²

8-O-(tert-Butildimetilsilil)-1,2,3-tridesoxi-5,6-O-isopropilidén- α,β -D-ribo-oct-1-en-4-ulofuranosa (146).

En un balón se disolvió el compuesto **144** (199,8 mg, 0,468 mmol) en éter etílico bajo atmósfera de argón y se colocó en un baño de agua-hielo. A esta solución se le agregó bromuro de alilmagnesio (1,0 mL) gota a gota. La mezcla de reacción se dejó agitando 2h y se la mantuvo en un baño de agua-hielo. Luego se agregó una solución saturada de NaHCO_3 y la fase acuosa se extrajo con éter etílico y luego con cloruro de metileno. Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio (anh.), el solvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 99:1. Se recuperó un 20 % de la lactona **144** (40,4 mg) y se obtuvo el compuesto **146** (144,5 mg, 0,308 mmol, 66 %) como un aceite transparente. La mezcla de anómeros $\alpha:\beta$ se estimó a partir del espectro de RMN^1H en relación 1:2,7. Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura. Rendimiento bibliográfico: 87 % (considerado como rendimiento recuperado).¹³

*[1-(3,4,5-Trimetoxifenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]metanol (152).*

Alcohol propargílico (0,12 mL, 2,08 mmol), ácido ascórbico (13,6 mg, 0,077 mmol), bicarbonato de sodio (6,5 mg, 0,077 mmol) y $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (25,7 mg, 0,103 mmol) se

suspendieron en 15 mL de etanol: agua 1:1. Luego de 15 minutos, se agregó 5-azido-1,2,3-trimetoxibenceno (366,3 mg, 1,75 mmol) y la mezcla se agitó a 45 °C durante 3 h. Posteriormente, se evaporó el solvente a presión reducida. El residuo se extrajo con acetato de etilo tres veces y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y se secaron con sulfato de sodio anhidro. Se evaporó el solvente a presión reducida para obtener un sólido blanco (406,8 mg, 1,53 mmol, 88 %). RMN-¹H (200 MHz, CD₃OD) δ: 8,47 (s, 1H, H-5 del anillo triazólico), 7,15 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 4,66 (s, 2H, -CH₂OH), 3,93 (s, 6H, OCH₃), 3,81 (s, 6H, OCH₃).

[3-(3,4,5-Trimetoxifenil)isoxazol-5-il]metanol (153).

A una solución de 3,4,5-trimetoxibenzaldoxima (2,37g, 11,2 mmol) y alcohol propargílico (1,0 mL, 17,3 mmol) en etanol: agua 1:1 se agrega cloramina-T (4,36 g, 19,1 mmol) de a porciones. Se deja reaccionar a temperatura ambiente durante 3 h. Se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo se disolvió en acetona y se filtró al vacío. Luego se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 80:20. El producto puro se obtuvo como un aceite incoloro (2,15 g, 8,10 mmol, 72%). Los datos físicos y espectroscópicos coincidieron con los datos de literatura.¹⁴

Procedimiento general 19 para síntesis de derivados heterocíclicos bromados.

A una solución de trifenilfosfina (14,8 mmol) y el compuesto **152** o **153** (7,4 mmol) en 15 mL de DMF anhidro bajo atmósfera de argón se agregó gota a gota una solución de NBS (14,8 mmol) en DMF (5 mL). La mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente y luego se agregaron 12 mL de metanol dejándolo reaccionar por 12 h para dar por finalizada la reacción. Se evaporó el solvente a presión reducida y el residuo fue sometido a una extracción con Et₂O/agua y la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ (anh.). El producto crudo se purificó por cromatografía en columna sobre sílicagel utilizando mezclas ciclohexano: acetona 100:0 a 90:10 como eluyente.

4-(Bromometil)-1-(3,4,5-trimetoxifenil)-1H-1,2,3-triazol (154).

Se aplicó el procedimiento general **19** al compuesto **152** (1,63 g, 6,13 mmol) obteniéndose el compuesto **154** como un sólido blanco (1,43 g, 4,36 mmol, 71 %). RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: 7,98 (s, 1H, H-5 del anillo triazólico), 6,92 (s, 2H,

protones del trimetoxifenilo), 4,64 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{Br}$), 3,93 (s, 6H, OCH_3), 3,89 (s, 6H, OCH_3). EMIE m/z 329, 327, 220, 189.

5-(Bromometil)-3-(3,4,5-trimetoxifenil)isoxazol (155).

Se aplicó el procedimiento general **19** al compuesto **153** (1,97 g, 7,41 mmol) obteniéndose el compuesto **155** como un sólido blanco (1,65 g, 5,03 mmol, 68 %). RMN- ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ : 6,98 (s, 2H, protones del trimetoxifenilo), 6,59 (s, 1H, H-4 del anillo isoxazólico), 4,48 (s, 2H, $-\text{CH}_2\text{Br}$), 3,89 (s, 6H, OCH_3), 3,87 (s, 3H, OCH_3). EMIE m/z 329, 327, 314, 312, 286, 284, 234.

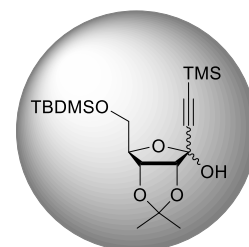
Procedimiento para la obtención de etinil lactol derivados.

A una solución de TMS-acetileno (46 μL , 32 mg, 0,327 mmol) en THF anhidro (2 mL) bajo atmósfera de argón a -78°C , se agregó una solución de *n*-BuLi (186 μL , 0,372 mmol, 2,0 mol/L). La mezcla de reacción se dejó que llegue a temperatura ambiente durante 15 minutos y luego se enfrió nuevamente a -78°C . Posteriormente, se añadió gota a gota una solución de la lactona **146** (80,6 mg, 0,266 mmol) en THF anhidro. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a -78°C y luego se agregó solución saturada de NH_4Cl hasta pH neutro. La mezcla resultante se extrajo con cloruro de metileno. Las fases orgánicas combinadas se secaron con MgSO_4 (anh.) y el solvente se evaporó a presión reducida. El producto crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 99:1. Se obtuvo **156** como un aceite transparente (48,1 mg, 0,120 mmol, 45 %) y **157** como un aceite transparente (5,2 mg, 0,0158 mmol, 6 %).

7-O-tert-Butildimetilsilil-1,2-didesoxi-4,5-O-isopropilidén-1-trimetilsilil- α,β -D-ribo-hept-1-in-3-ulofuranosa (156).

$R_f = 0,56$ (ciclohexano: acetona 7:3). RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3)

δ : isómero A: 5,31 (s ancho, 1H, O-H), 4,76 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5,7 Hz, $J_{3,4}$ 1,1 Hz, H-3), 4,53 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,7 Hz, H-2), 4,38 (dd ancho, 1H, $J_{4,5b}$ 3,0 Hz, $J_{4,5a}$ 2,4 Hz, H-4), 3,78 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,1 Hz, $J_{5b,4}$ 2,6 Hz, H-5b), 3,74 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 11,1 Hz, $J_{5a,4}$ 2,4 Hz, H-5a), 1,54 (s, 3H, CH_3 isopropilidén), 1,36 (s, 3H, CH_3 isopropilidén); 0,91 (s, 9H, $\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 0,20 (s, 9H, SiCH_3 del TMS), 0,13 (s, 3H, SiCH_3 del TBDMS), 0,12 (s, 3H,

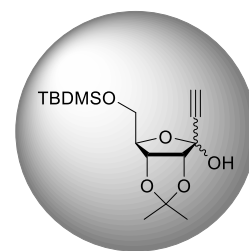


SiCH₃ del TBDMS); isómero B: 4,84 (dd, 0,3H, $J_{3,2}$ 6,7 Hz, $J_{3,4}$ 2,3 Hz H-3), 4,72 (d, 0,3H, $J_{2,3}$ 6,7 Hz, H-2), 4,16 (ddd, 0,3H, $J_{4,5}$ 6,2 Hz, $J_{4,5}$ 4,5 Hz, $J_{4,3}$ 2,3 Hz, H-4), 3,72-3,80 (m, 0,6H, H-5a y H-5b), 1,58 (s, 0,9H, CH₃ isopropilidén), 1,40 (s, 0,9H, CH₃ isopropilidén); 0,90 (s, 2,7H, SiC(CH₃)₃), 0,17 (s, 2,7H, SiCH₃ del TMS), 0,08 (s, 0,9H, SiCH₃ del TBDMS), 0,07 (s, 0,9H, SiCH₃ del TBDMS); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ : isómero A: 113,3 (carbono cuaternario del isopropilidén), 101,9 (C-1), 100,0 (C $\equiv$ CSi), 91,4 (C $\equiv$ C $\overline{\text{Si}}$), 89,0 (C-2), 86,4 (C-4), 82,3 (C-3), 64,7 (C-5), 26,8, 25,8 (CH₃ isopropilidén), 25,9 (SiC(CH₃)₃), 18,4 (SiC(CH₃)₃), -0,2 (SiCH₃ del TMS), -5,5, -5,6 (SiCH₃ del TBDMS); isómero B: 115,1 (carbono cuaternario del isopropilidén), 103,5 (C $\equiv$ CSi), 96,4 (C-1), 89,3 (C $\equiv$ C $\overline{\text{Si}}$), 85,3 (C-2), 82,9 (C-4), 81,6 (C-3), 62,5 (C-5), 26,4, 25,1 (CH₃ isopropilidén), 26,1 (SiC(CH₃)₃), 18,5 (SiC(CH₃)₃), -0,3 (SiCH₃ del TMS), -5,1, -5,3 (SiCH₃ del TBDMS).

7-O-tert-Butildimetilsilil-1,2-didesoxi-4,5-O-isopropilidén- α,β -D-ribo-hept-1-in-3-ulofuranosa (157).

R_f = 0,49 (ciclohexano: acetona 7:3). RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃)

δ : isómero A: 4,79 (dd, 1H, $J_{3,2}$ 5,7 Hz, $J_{3,4}$ 1,3 Hz, H-3), 4,57 (d, 1H, $J_{2,3}$ 5,7 Hz, H-2), 4,37 (dd ancho, 1H, $J_{4,5b}$ 3,6 Hz, $J_{4,5a}$ 2,2 Hz, H-4), 3,79 (dd, 1H, $J_{5b,5a}$ 11,2 Hz, $J_{5b,4}$ 2,5 Hz, H-5b), 3,75 (dd, 1H, $J_{5a,5b}$ 11,2 Hz, $J_{5a,4}$ 2,3 Hz, H-5a), 2,70 (s, 1H, C $\equiv$ CH), 1,56 (s, 3H, CH₃ isopropilidén), 1,37 (s, 3H, CH₃ isopropilidén); 0,92 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,14 (s, 3H, SiCH₃ del TBDMS), 0,13 (s, 3H, SiCH₃ del TBDMS); isómero B: 4,83 (dd, 0,2H, $J_{3,2}$ 6,7 Hz, $J_{3,4}$ 2,3 Hz H-3), 4,74 (d, 0,2H, $J_{2,3}$ 6,7 Hz, H-2), 4,19 (td, 0,2H, $J_{4,3}$ 2,3 Hz, $J_{4,5}$ 4,8 Hz, H-4), 3,76-3,77 (m, 0,4H, H-5a y H-5b), 2,57 (s, 0,2H, C $\equiv$ CH), 1,59 (s, 0,6H, CH₃ isopropilidén), 1,40 (s, 0,6H, CH₃ isopropilidén), 0,90 (s, 1,8H, SiC(CH₃)₃), 0,09 (s, 0,6H, SiCH₃ del TBDMS), 0,08 (s, 0,6H, SiCH₃ del TBDMS); RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) δ : isómero A: 113,5 (carbono cuaternario del isopropilidén), 101,4 (C-1), 88,8 (C-2), 86,9 (C-4), 81,8 (C-3), 79,4 (C $\equiv$ CH), 74,1 (C $\equiv$ C $\overline{\text{H}}$), 64,5 (C-5), 26,8, 25,6 (CH₃ isopropilidén), 25,9 (SiC(CH₃)₃), 18,3 (SiC(CH₃)₃), -5,6 (SiCH₃); isómero B: 115,2 (carbono cuaternario del isopropilidén), 96,3 (C-1), 85,2 (C-2), 83,1 (C-4), 82,7 (C $\equiv$ CH), 81,6 (C-3), 72,4 (C $\equiv$ C $\overline{\text{H}}$), 62,8 (C-5), 26,3, 25,0 (CH₃ isopropilidén), 26,0 (SiC(CH₃)₃), 18,4 (SiC(CH₃)₃), -5,1, -5,3 (SiCH₃ del TBDMS).

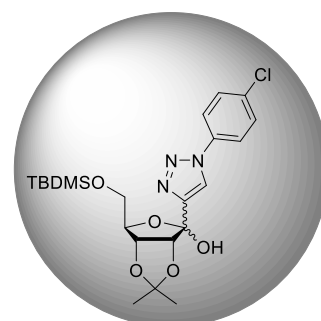


Obtención de 157 a partir de 156:

A una solución de **156** (35,5 mg, 0,0886 mmol) en MeOH anhidro (1 mL) a temperatura ambiente y bajo atmósfera de argón se agrega carbonato de potasio (anh.) y la mezcla se agita durante 1 h. Luego de evaporar el solvente, se agrega cloruro de metileno (5 mL) al residuo y la solución se filtra y se seca sobre MgSO₄ (anh.). El crudo de reacción se purifica por cromatografía en columna de sílica gel utilizando como eluyente mezclas ciclohexano: acetona 100:0 a 95:5 y se obtiene **157** como un aceite transparente (28,5 mg, 0,0868 mmol, 98 %).

5-O-tert-Butildimetilsilil-1-β,α-[1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il]-2,3-O-isopropilidén α,β-D-ribo-pent-1-ulofuranosa (159).

El compuesto **157** (15,0 mg, 0,0457 mmol), ascorbato de sodio (2,5 mg, 12,6 μmol), CuSO₄·5H₂O (2,4 mg, 9,62 μmol) se suspendieron en una mezcla de *tert*-BuOH/H₂O 1:1 (2 mL). Luego de 15 minutos se agregó 5-azido-1,2,3-trimetoxibenceno (27,2 mg, 0,177 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente por 24 h. Posteriormente, se extrajo con cloruro de metileno y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron con sulfato de sodio (anh.) y se evaporaron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílica gel utilizando mezclas de ciclohexano: acetona 100:0 a 90:10. Se obtuvo el compuesto **159** como un sólido blanco (14,9 mg, 0,0309 mmol, 68 %); *R_f* = 0,44 (ciclohexano: acetona 7:3). RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) δ: isómero A: 8,05 (s ancho, 1H, hidrógeno del triazol), 7,69 (d, 2H, *J* 8,8 Hz, hidrógenos aromáticos del *p*-clorofenilo), 7,48 (d, 2H, *J* 8,8 Hz, hidrógenos aromáticos del *p*-clorofenilo), 4,95 (dd, 1H, *J*_{3,2} 5,8 Hz, *J*_{3,4} 1,3 Hz, H-3), 4,79 (d, 1H, *J*_{2,3} 5,7 Hz, H-2), 4,48 (td, 1H, *J*_{4,5} 2,9 Hz, *J*_{4,3} 1,3 Hz, H-4), 3,91 (dd, 1H, *J*_{5b,5a} 11,0 Hz, *J*_{5b,4} 3,1 Hz, H-5b), 3,85 (dd, 1H, *J*_{5a,5b} 11,0 Hz, *J*_{5a,4} 2,9 Hz, H-5a), 1,47 (s, 3H, CH₃ isopropilidén), 1,31 (s, 3H, CH₃ isopropilidén); 0,96 (s, 9H, SiC(CH₃)₃), 0,18 (s, 3H, SiCH₃), 0,16 (s, 3H, SiCH₃); isómero B: 8,07 (s ancho, 0,2H, hidrógeno del triazol), 7,66 (d, 0,4H, *J* 8,8 Hz, hidrógenos aromáticos del *p*-clorofenilo), 7,49 (d, 0,4H, *J* 8,8 Hz, hidrógenos aromáticos del *p*-clorofenilo), 5,18 (d, 0,2H, *J*_{2,3} 7,0 Hz, H-2), 4,90 (dd, 0,2H, *J*_{3,2} 7,0 Hz, *J*_{3,4} 3,3 Hz, H-3), 4,33 (m, 0,2H, H-4), 3,77-3,79 (m, 0,4H, H-5a y H-5b), 1,45 (s, 0,6H, CH₃ isopropilidén), 1,25 (s, 0,6H, CH₃ isopropilidén); 0,85 (s, 1,8H, SiC(CH₃)₃),



0,03 (s, 0,6H, SiCH₃), 0,02 (s, 0,6H, SiCH₃); RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ: isómero A: 136,5, 130,0, 122,0, 121,1 (carbonos del anillo *p*-clorofenilo), 113,1 (carbono cuaternario del isopropilidén), 107,1 (C-1), 88,2, 86,7, 82,3 (C-2, C-3 y C-4), 64,9 (C-5), 26,7, 25,2 (CH₃ isopropilidén), 26,0 (SiC(CH₃)₃), 18,5 (SiC(CH₃)₃).

Mediciones de coeficientes de partición cloroformo-agua

Procedimiento para la preparación de las soluciones:

Para calcular el logP, las muestras se prepararon soluciones de concentración 1 mg/mL. Se pesó 5 mg de cada compuesto y se lo disolvió en 5 mL de solvente saturado (CHCl₃ saturado en agua). Se tomaron 2 mL de solución y se le agregó 2 mL de agua saturada en el solvente (agua saturada en cloroformo). Se colocó la mezcla en un tubo de extracción y se invirtió 100 veces en aproximadamente 5 minutos y luego se centrifugó a 3000 rpm durante 30 minutos. Para la curva de calibración, se realizaron diluciones de la solución inicial clorofórmica: 1/10; 1/20; 1/50; 1/100; 1/250.

Cálculo de logP:

Se midió la absorbancia a diferentes longitudes de onda dependiendo del compuesto $\lambda_{\text{máx}} = 244$ nm (compuestos **79** y **80**), $\lambda_{\text{máx}} = 284$ nm (compuestos **81**, **82**), $\lambda_{\text{máx}} = 264$ nm (compuestos **86**), $\lambda_{\text{máx}} = 260$ nm (compuestos **87**, **89**), $\lambda_{\text{máx}} = 276$ nm (compuestos **90**, **91**).

3. Ensayos de actividad biológica.

3.1. Estudios farmacológicos realizados en los compuestos 79, 80, 81, 82, 86, 87, 89, 90 y 91.

Condiciones de los cultivos celulares

La línea celular tumoral BW 5147 (Institute für Virologie und Immunobiologie der Universität Würzburg, Alemania) es una línea celular de células de linfoma T que expresa el haplotipo H-2k, es CD3⁺ y tiene un TCRαβ determinado para el análisis por citometría de flujo. Las células se cultivaron a concentraciones óptimas de 3x10⁵

células/mL en un medio RPMI 1640 (GIBCO) suplementado con suero fetal de ternera (FCS), 2 mM glutamina y antibióticos.¹⁵ Las células se cultivaron en un volumen final de 0,2 mL en placas de microtitulación de 96 celdas de fondo plano (Nunc).

Compuestos analizados

Se analizaron los compuestos **79-82**, **86-87**, **89-91**. El compuesto **91** se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) y el resto a diferentes concentraciones de mezclas etanol:agua. El compuesto **79** se disolvió en etanol al 12 %, el compuesto **81** en etanol al 15 % y los compuestos **80**, **82**, **86-87**, **89-91** en etanol al 10 %. La concentración final de las celdas en etanol fue de 0,5 % y en DMSO de 1 %.

Ensayos de proliferación

Se evaluó el efecto de los diferentes compuestos en la proliferación tumoral de los linfocitos mediante la captación de timidina tritiada [³H]TdR. Las células se cultivaron durante 24 h en presencia y ausencia (basal) de diferentes concentraciones de los compuestos **79-82**, **86-87**, **89-91** (1, 10, 50 y 100 µg/mL) y después se pulsaron con 0,75 µCi/celda de [³H]TdR (S = 25 Ci/mmol) durante las últimas 16 h antes del sacrificio del cultivo por congelación como se describió anteriormente.¹⁶ También se ensayaron los blancos correspondientes a etanol 0,5 % y DMSO 1 %.

Los resultados se expresaron como cpm o como proliferación celular (% respecto del basal): [cpm basal-cpm tratada/cpm basal x 100]. Los datos representan la media ± SEM de tres experimentos realizados por triplicado. Es importante destacar que los blancos no modifican la proliferación celular por sí mismos [cpm proliferación (media ± SEM): basal: 5487 ± 453, etanol 0,5 %: 5520 ± 400; DMSO 1 %: 5500 ± 500].

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando análisis de la varianza unidimensional y el test de Dunnett. Las diferencias significativas se determinaron cuando $P \leq 0.05$.

3.2. Estudios farmacológicos realizados en los compuestos 79, 81, 82, 100-103.

Cultivos celulares, tratamientos, reactivos y anticuerpos

Las células PC3 se obtuvieron de la American Type Culture Collection (Manassas, Virginia, Estados Unidos) y cultivaron rutinariamente en RPMI 1649 (Invitrogen)

suplementado con suero bovino fetal al 10 % (FBS). Para los tratamientos, las células se incubaron durante 24 h en un medio RPMI con un 10% de FBS y luego se expusieron a los diferentes compuestos como se especifica en cada caso durante 24 h. Los anticuerpos policlonales y monoclonales anti-CycB1, anti-CDK4, anti-CDK2 y anti- β -Actin se obtuvieron de Cell Signaling, Technology (Beverly, Massachusetts, Estados Unidos). Los anticuerpos secundarios anti-ratón y anti-conejo conjugados con HRP se obtuvieron de Amersham Ltd (UK).

Compuestos Analizados

Se analizaron los compuestos **79, 81, 82, 100-103**. Todos los compuestos se disolvieron en DMSO.

Viabilidad Celular

La viabilidad celular se analizó por MTS (Cell Titer 96 wells Aqueous non Radioactive Cell Proliferation Assay, Promega) siguiendo las instrucciones del fabricante. Cada muestra se analizó por triplicado en cinco experimentos diferentes.

Análisis del ciclo celular

Las líneas celulares estables de PC3 fueron tratadas con los derivados heterocíclicos de D-ribosa teñidos con ioduro de propidio (IP) y analizado por FACS. Luego de que la línea celular se expusiera al compuesto durante 24 h, las células se cosecharon por tripsonización y se sedimentaron suavemente por centrifugación a 3000 rpm durante 3 minutos. Las células se resuspendieron en un buffer de solución salina y fosfato (PBS) y se centrifugaron de nuevo (3000 rpm durante 3 minutos). El pellet se transfirió gota a gota sobre 1 mL de etanol al 70 % (v/v), se dejaron fijar durante 2 h a 4 °C y se mantuvieron en baño de hielo. Las células suspendidas en etanol se recogieron, se lavaron y se resuspendieron en 1 mL de PBS que contenía RNasa A libre de DNasa (0,2 mg/mL), Triton X-100 (0,1 % v/v), and ioduro de propidio (IP) (0,02 mg/mL). Posteriormente, cada muestra se incubó a 37 °C durante 15 minutos antes de analizar el ciclo celular con un citómetro de flujo BD y software FlowJo 7.6.2.

Immunoblotting

Las muestras se incubaron en un baño de hielo durante 20 minutos y luego se centrifugaron a 12000 rpm durante 3 minutos en una microcentrífuga y se recogió el

sobrenadante. La concentración de proteínas se determinó utilizando el kit del ensayo de ácido bicinonínico para proteínas de SIGMA. Luego, las muestras fueron resueltas por SDS-PAGE y transferidas a una membrana de nitrocelulosa (Invitrogen). Las membranas se bloquearon durante una hora en TBS-T (0,1 % Tween-20 en 10 mM de Tris-HCl, pH 7,4) con 5 % (m/v) de leche descremada, y luego se incubaron con los anticuerpos primarios específicos: CycB1 (1:500), CDK4 (1:500), CDK2 (1:250) o β -actin (1:5000) a 4°C. Después de los lavados con TBS-T, se realizaron incubaciones con los anticuerpos secundarios apropiados. Se detectaron bandas de proteínas específicas utilizando reactivos ECL (Amersham Ltd).

Análisis estadístico

Todos los resultados se expresaron como la media $\pm$ S.E.M de “n” experimentos independientes a menos que se indique lo contrario. Se utilizó el test t de Student para determinar la significación estadística con un umbral de $P < 0.05$.

3.3. Estudios farmacológicos realizados en los compuestos 81, 100, 102, 122, 125, 126, 130, 133-140.

Células, y cultivos

En los ensayos se utilizaron las líneas celulares de tumores sólidos humanos A549, HBL-100, HeLa, SW1573, T-47D y WiDr. Estas líneas celulares fueron un obsequio del Prof. G. J. Peters (VU Medical Center, Amsterdam, Países Bajos). Las células se mantuvieron en placas de cultivo de células tratadas (60 o 100 mm) en un medio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) suplementadas con un 5% de suero de ternera fetal inactivado por calor (Lonza, Suiza) y 2 mM de L-glutamina (Lonza, Suiza) en una incubadora a 37 °C con 5 % de CO₂ y 95 % de humedad. Las células que crecen exponencialmente se tripsinizaron (solución Trypsin-EDTA; Lonza, Suiza) y se resuspendieron en un medio con antibiótico (100 unidades de penicilina G y 0,1 mg de estreptomicina por mL; Lonza, Suiza). Las suspensiones celulares individuales se contaron con Moxi Z (Orflo Technologies, Estados Unidos). Luego del recuento, se realizaron diluciones para obtener las densidades celulares apropiadas para la inoculación dentro de microplacas de fondo plano de 96 celdas (día 0 o D0; VWR International, Estados Unidos). Las células se inocularon en un volumen de 100 μ L por

celda a densidades de 2500 (A549, HBL-100, HeLa y SW1573) o 5000 (T-47D y WiDr) células por celda, en base a sus tiempos de duplicación.

Ensayos de quimiosensibilidad

Los compuestos se disolvieron inicialmente en DMSO (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) a 40 mM, 400 veces la concentración final máxima deseada (100 μ M). Los compuestos que resultaron insolubles o parcialmente solubles se descartaron para el ensayo. Las células control se expusieron a una concentración equivalente de DMSO (0,25 % v/v, control negativo). Cada agente se ensayó a diferentes diluciones en un rango de 1-100 μ M. Los tratamientos con fármaco comenzaron el día 1 (D1), cuando las células se organizaron como cultivos subconfluentes en monocapa. Las células se expusieron a los compuestos durante 48 h. Una vez transcurrido ese tiempo, las células se precipitaron con 25 μ L de ácido tricloroacético helado (50 % m/v; Sigma-Aldrich, Estados Unidos) y se fijaron durante 60 minutos a 4 °C. A continuación, se realizó el ensayo de sulforhodamina B¹⁷ (SRB; Sigma-Aldrich, Estados Unidos) con ligeras modificaciones. Brevemente, las células fijadas se tiñeron con 25 μ L de solución de SRB (0,4 % m/v en 1 % v/v ácido acético) a temperatura ambiente durante 15 minutos, luego se eliminó el exceso de colorante lavando repetidamente con ácido acético al 1 % (v/v). El colorante ligado a proteína se disolvió en 150 μ L de solución de base Tris 10 mM (Sigma-Aldrich, Estados Unidos) para la determinación de la densidad óptica (DO).

La DO de cada celda se midió usando espectrofotometría¹⁸ de doble longitud de onda a 530 nm (longitud de onda analítica) y 620 nm (longitud de onda de referencia) para reducir la interferencia óptica, utilizando BioTek's PowerWave XS Absorbance Microplate Reader. Los valores obtenidos se corrigieron teniendo en cuenta el blanco de la DO a partir de las celdas que contienen solo medio. El porcentaje de crecimiento (PC) se calculó con respecto a las células control sin tratar (C) a cada una de las concentraciones del fármaco basadas en la diferencia de la DO al comienzo (T_0) y al final (T) de la exposición al fármaco, se acuerdo a las fórmulas NCI.¹⁹ Brevemente, si T es mayor o igual a T_0 el cálculo es $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)]$. Si T es menor que T_0 indicando la muerte celular el cálculo es $100 \times [(T-T_0)/(T_0)]$. Con estos cálculos un valor de PC de 0 corresponde a la cantidad de células presentes al comienzo de la exposición al fármaco, mientras que valores negativos de PC denotan la muerte celular neta. La inhibición celular del 50 % (GI_{50}), que es la concentración de fármaco que da

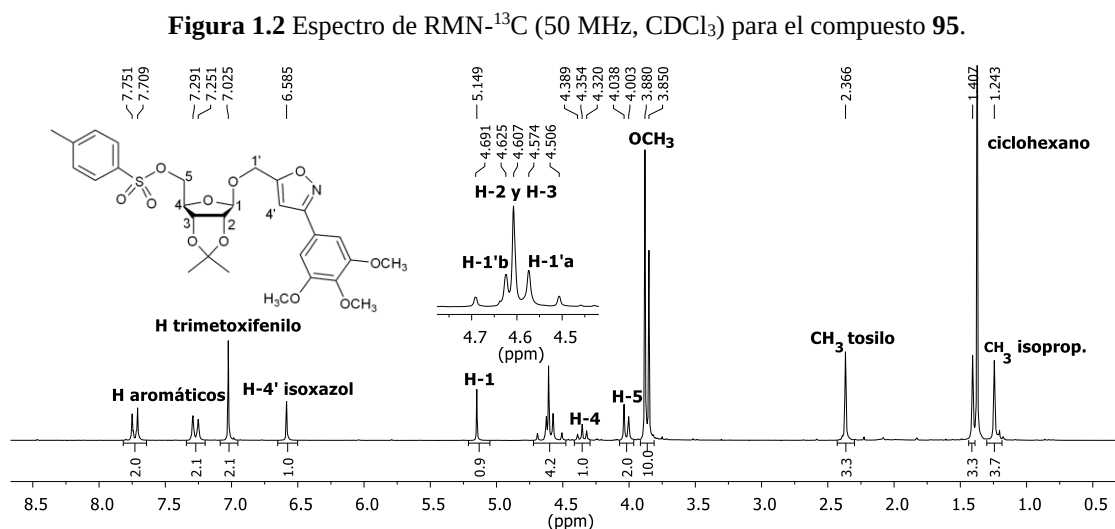
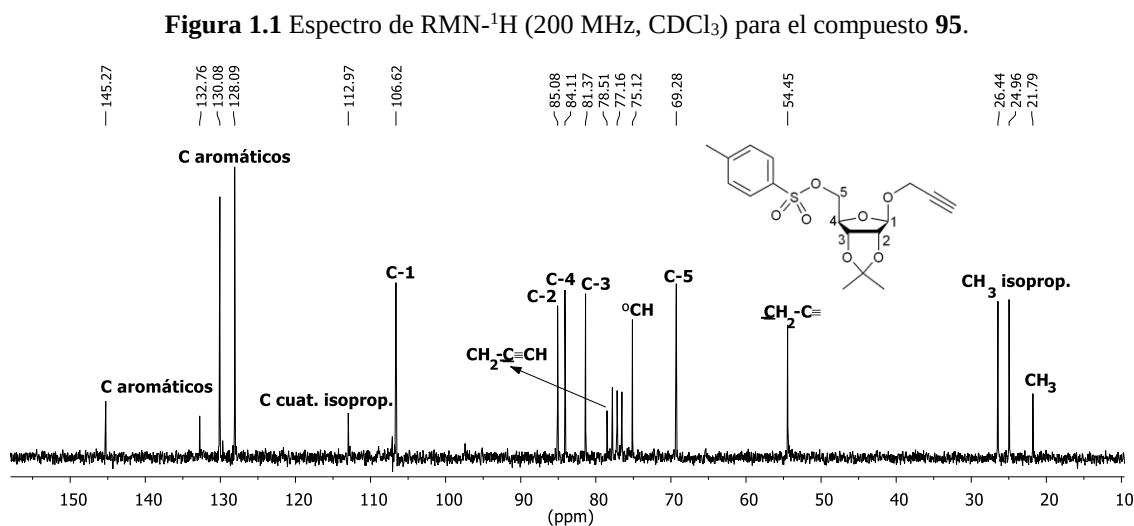
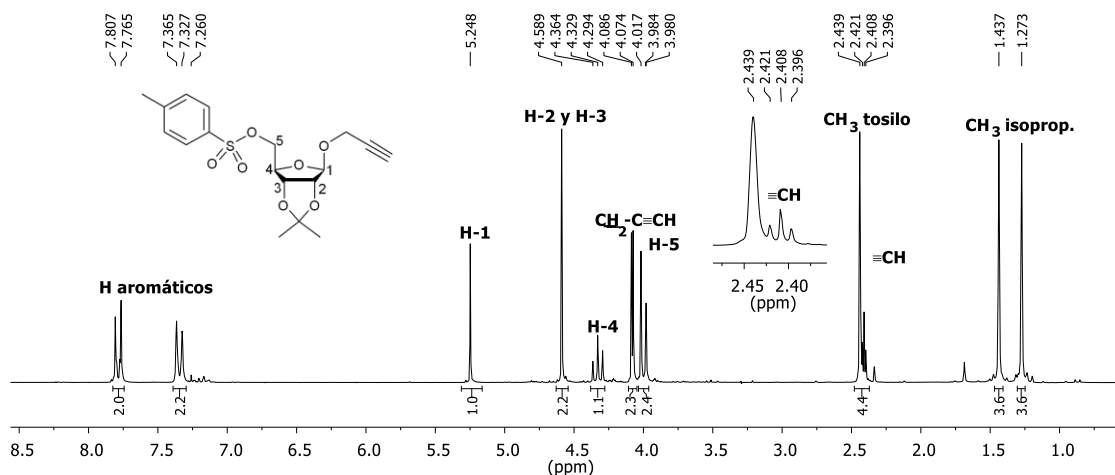
como resultado una reducción del 50 % del crecimiento celular neto cuando se lo compara con los valores de las células control sin tratar, se calculó como $100 \times [(T-T_0)/(C-T_0)] = 50$ para cada combinación de fármaco-línea celular.

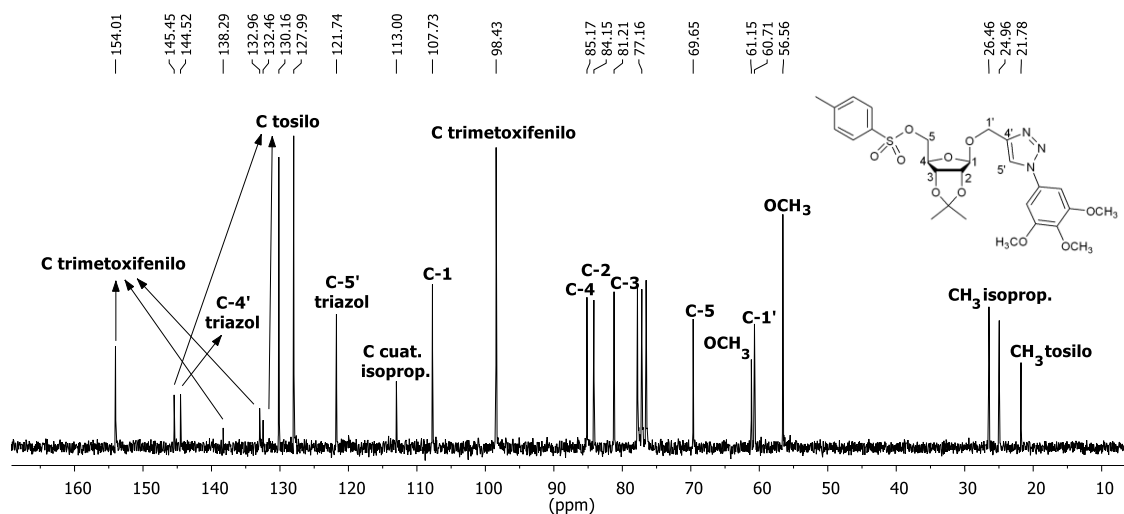
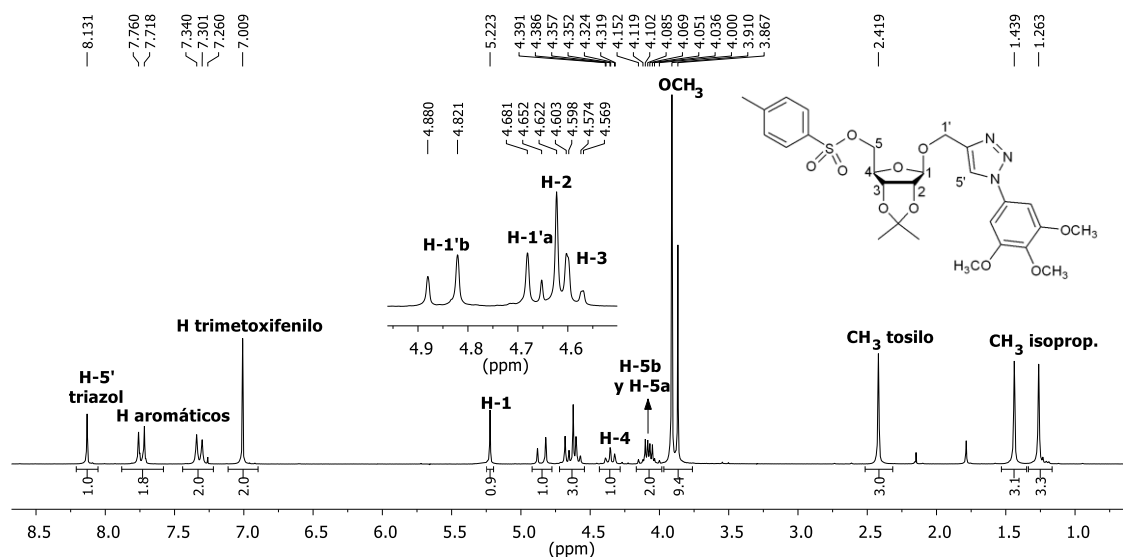
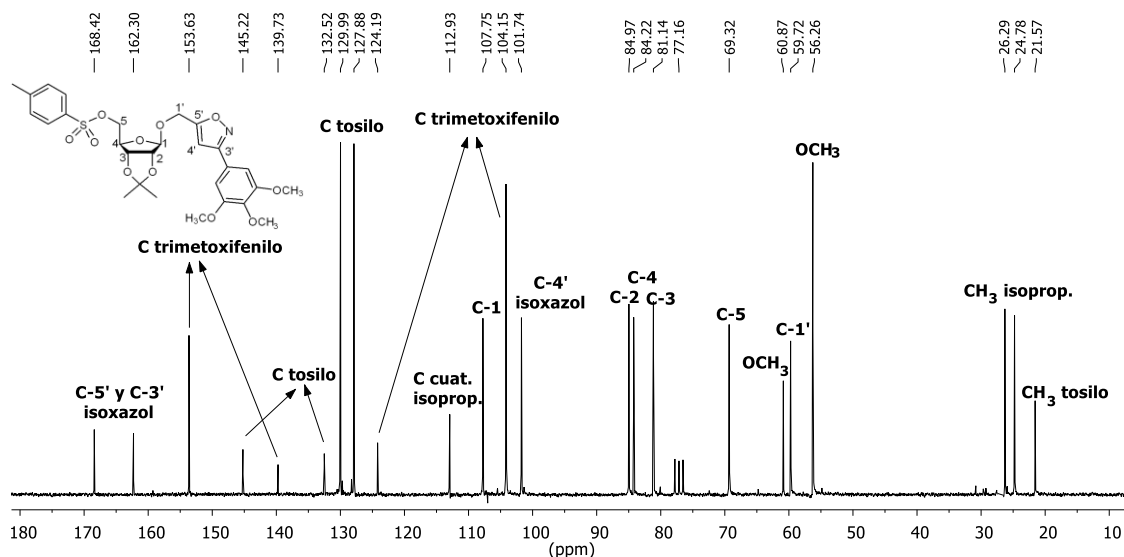
Referencias

- ¹ C. Chai, W.L.F. Armarego, *Purification of Laboratory Chemicals*, Elsevier Science, **2003**.
- ² G.F. Busscher, S.A.M.W. van den Broek, F.P.J.T. Rutjes, F.L. van Delft, *Tetrahedron* **2007**, 63, 3183–3188.
- ³ <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- ⁴ G. Sureshkumar, S. Hotha, *Chem. Commun.* **2008**, 4282–4284.
- ⁵ M. Hu, J. Li, S.Q. Yao, *Org. Lett.* **2008**, 10, 5529–5531.
- ⁶ M. Wijtmans, D. Maussang, F. Sirici, D.J. Scholten, M. Canals, A. Mujic-Delic, M. Chong, K.L.S. Chatalic, H. Custers, E. Janssen, C. de Graaf, M.J. Smit, I.J.P. de Esch, R. Leurs, *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 51, 184–192.
- ⁷ J.D. Williams, V.P. Kamath, P.E. Morris, L.B. Townsend, *Org. Synth.* **2005**, 82, 75–79; **2009**, 11, 88–92.
- ⁸ M.D. Elend, J. Fray, D. Pryde, *ARKIVOC* **2006**, xi, 114–127.
- ⁹ S. Hanessian, P. Lavallee, *Can. J. Chem.* **1975**, 53, 2975–2977.
- ¹⁰ J.A. Piccirilli, T. Krauch, L.J. MacPherson, S.A. Benner, *Helv. Chim. Acta* **1991**, 74, 397–406.
- ¹¹ N.A. Jones, S.F. Jenkinson, R. Soengas, M. Fanefjord, M.R. Wormald, R.A. Dwek, G.P. Kiran, R. Devendar, G. Takata, K. Morimoto, K. Izumori, G.W.J. Fleet, *Tetrahedron Asymmetry* **2007**, 18, 774–786.
- ¹² P. Mazerolles, P. Boussaguet, V. Huc, *Org. Syntheses* **1999**, 76, 221.
- ¹³ S. Jiang, K.J. McCullough, B. Mekki, G. Singh, R.H. Wightman, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1997**, 1805–1814.
- ¹⁴ P. Suman, T.R. Murthy, K. Rajkumar, D. Srikanth, Ch. Dayakar, C. Kishor, A. Addlagatta, S.V. Kalivendi, B.C. Raju, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, 90, 603–619.
- ¹⁵ C. Anesini, A. Genaro, G. Cremaschi, L. Sterin Borda, C. Cazux, E. Borda, *Fitoterapia* **1996**, 67, 329–333.
- ¹⁶ G. Cremaschi, P. Fisher, F. Boege, *Immunopharmacology* **1991**, 22, 195–206.
- ¹⁷ V. Vichai, K. Kirtikara, *Nat. Protocols* **2006**, 1, 1112–1116.
- ¹⁸ S. Shibata, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1976**, 15, 673–679.
- ¹⁹ P. Skehan, P. Storeng, D. Scudeiro, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J.T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney, M. R. Boyd, *J. Natl. Cancer Inst.* **1990**, 82, 1107–1112.

Espectros Adicionales

1. Espectros correspondientes al Capítulo 5.





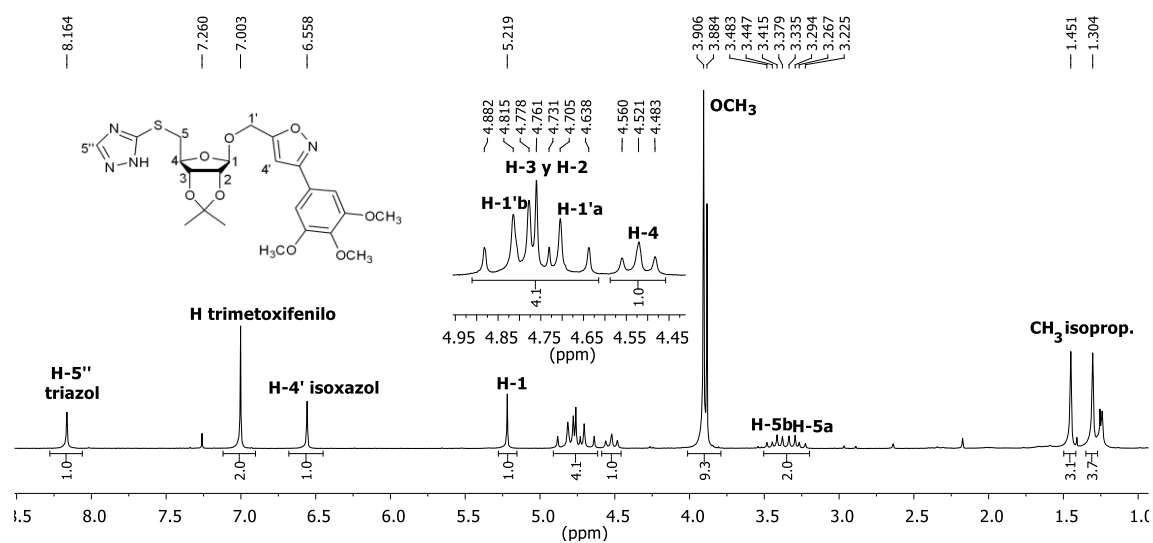


Figura 1.7 Espectro de RMN- ^1H (200 MHz, CDCl_3) para el compuesto 101.

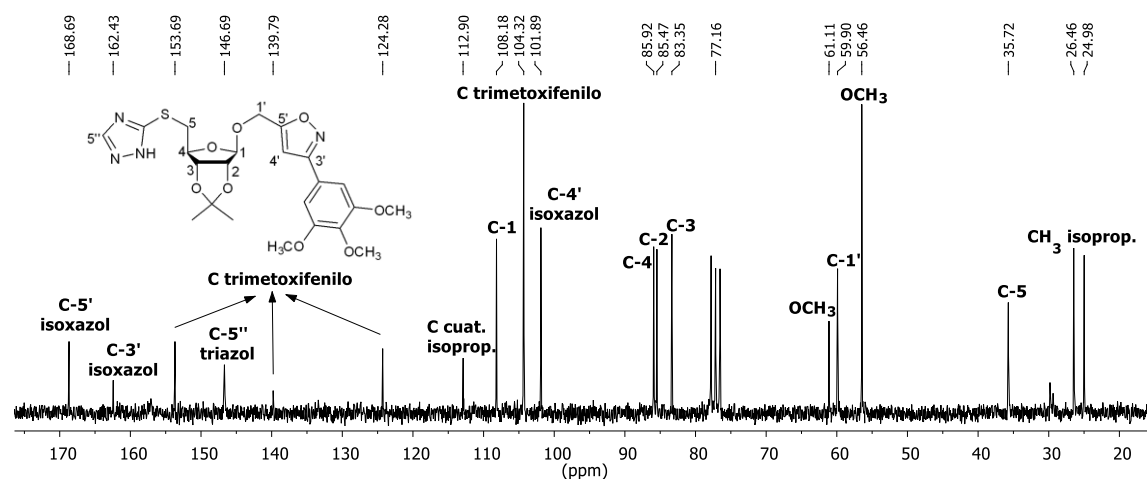


Figura 1.8 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto 101.

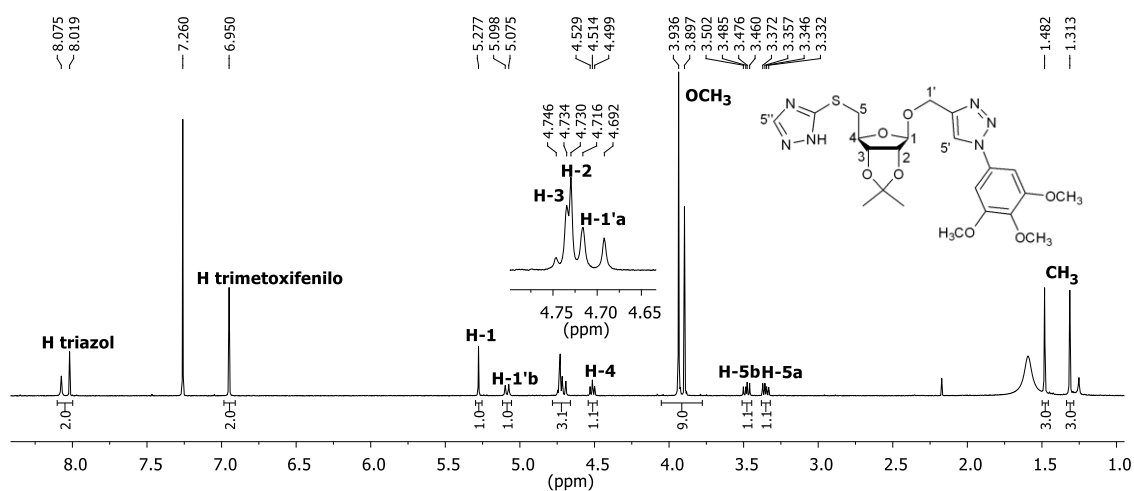


Figura 1.9 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto 103.

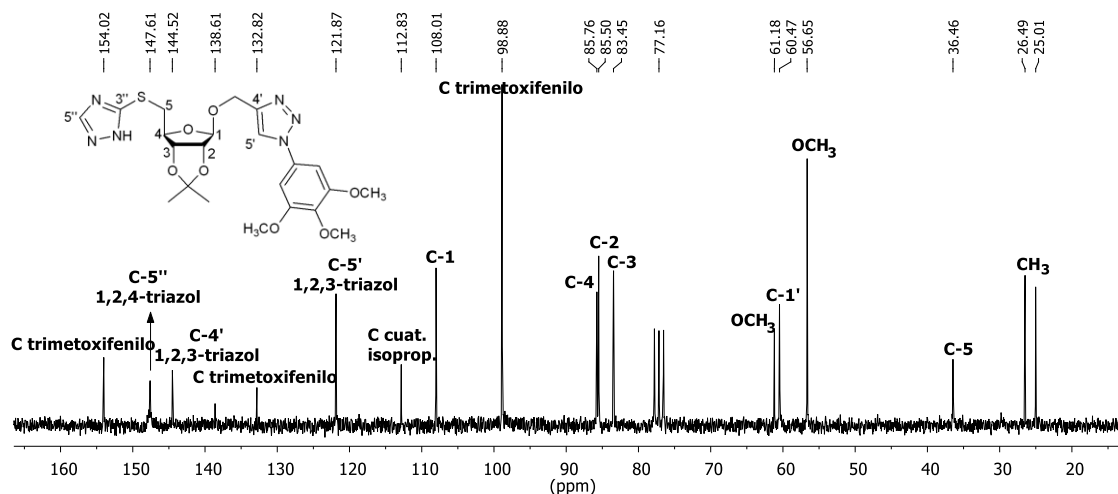


Figura 1.10 Espectro de RMN- ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) para el compuesto 103.

2. Espectros correspondientes al Capítulo 6.

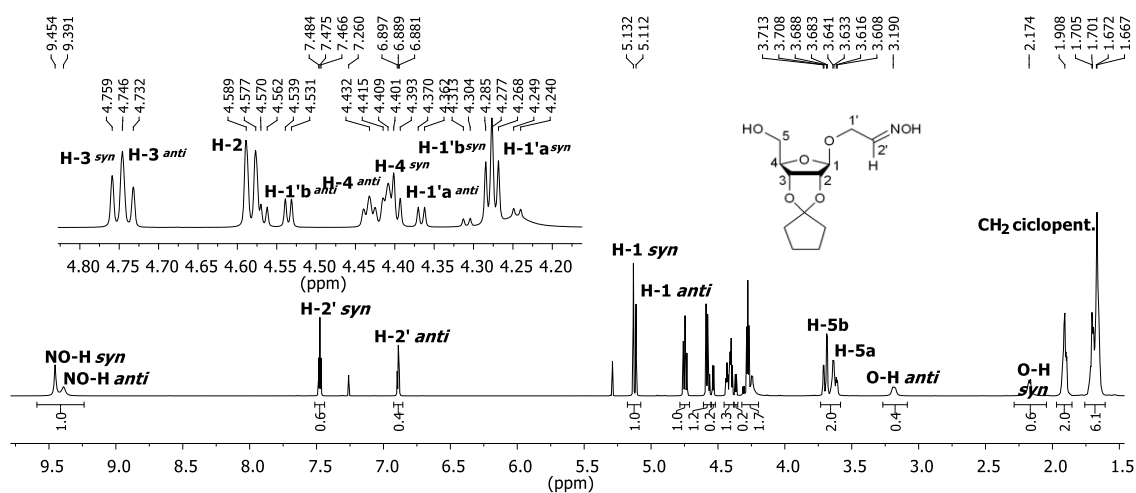


Figura 2.1 Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, CDCl_3) para el compuesto 106.

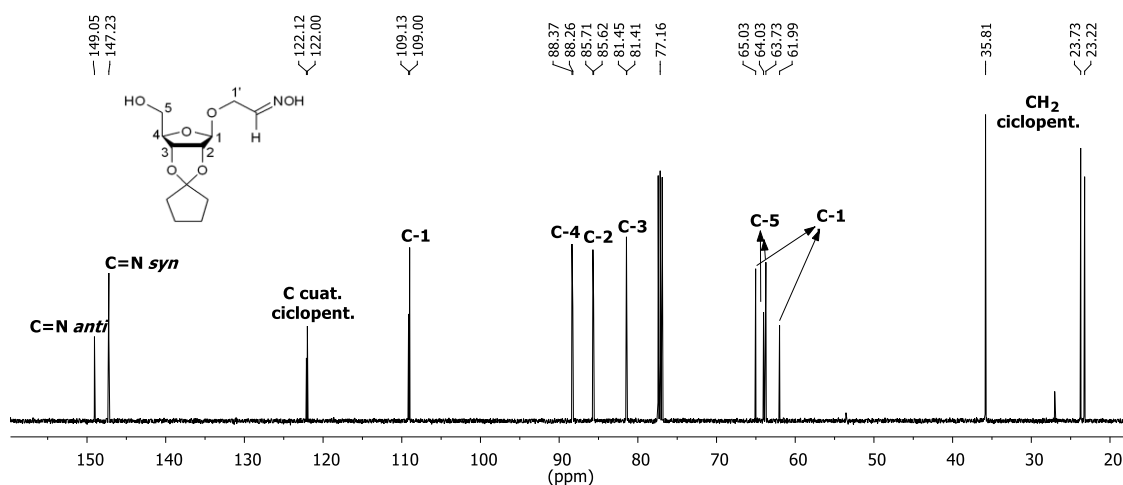
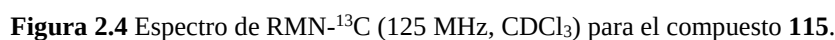
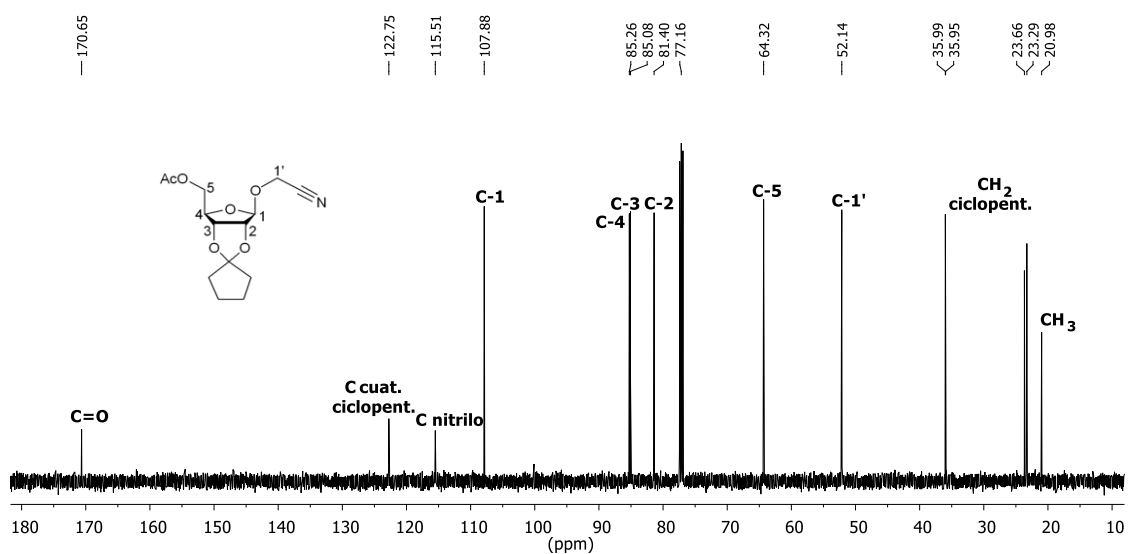
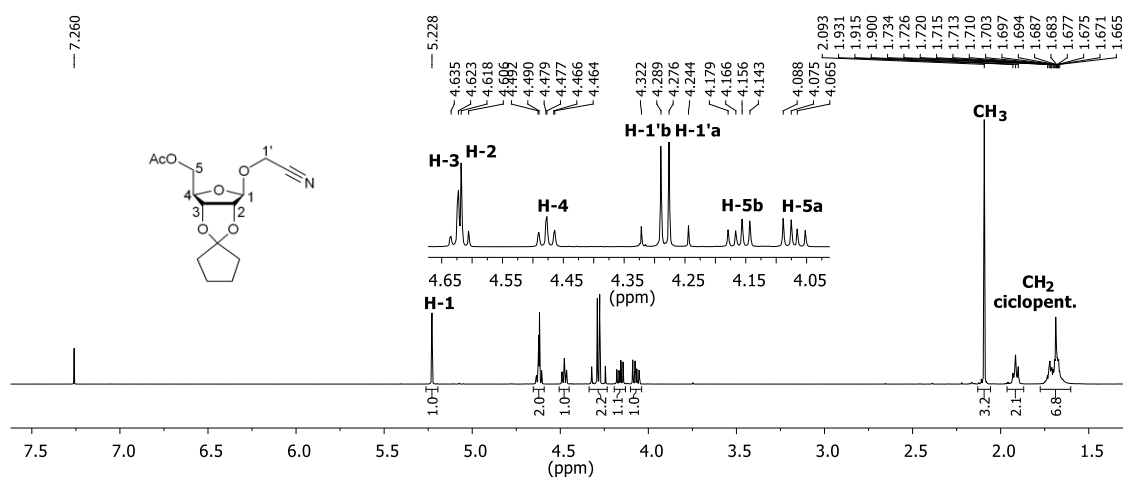
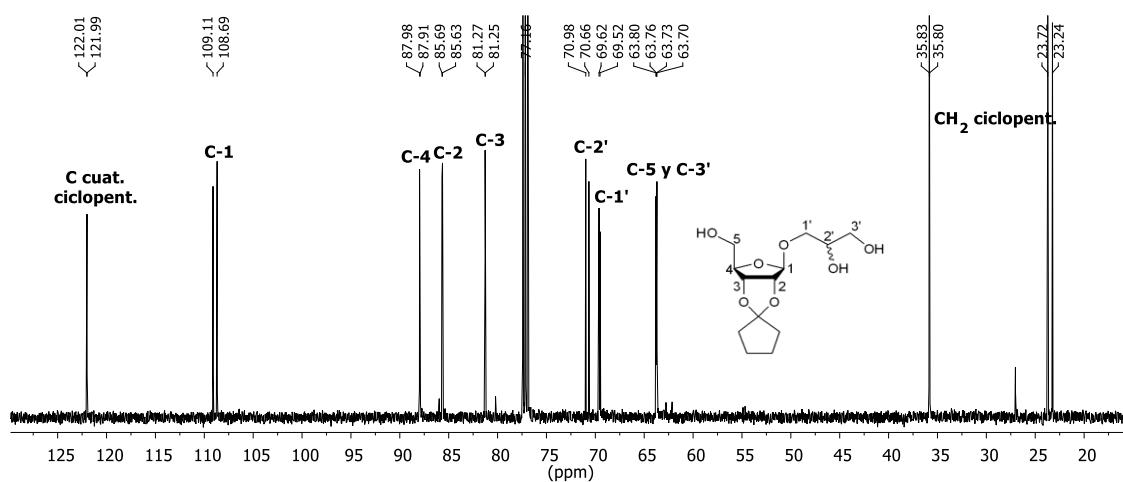


Figura 2.2 Espectro de RMN- ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) para el compuesto 106.





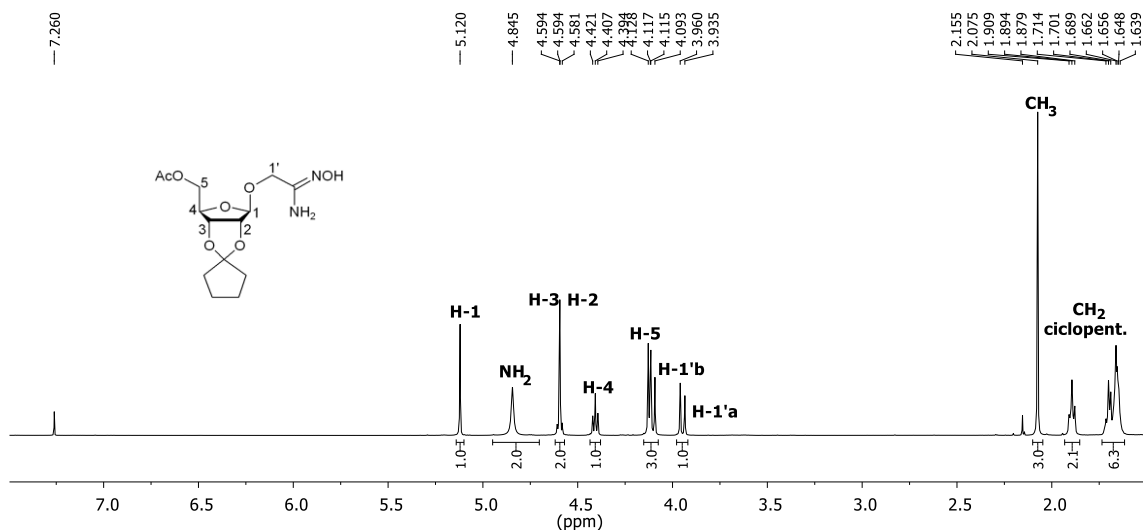


Figura 2.9 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para el compuesto **120**.

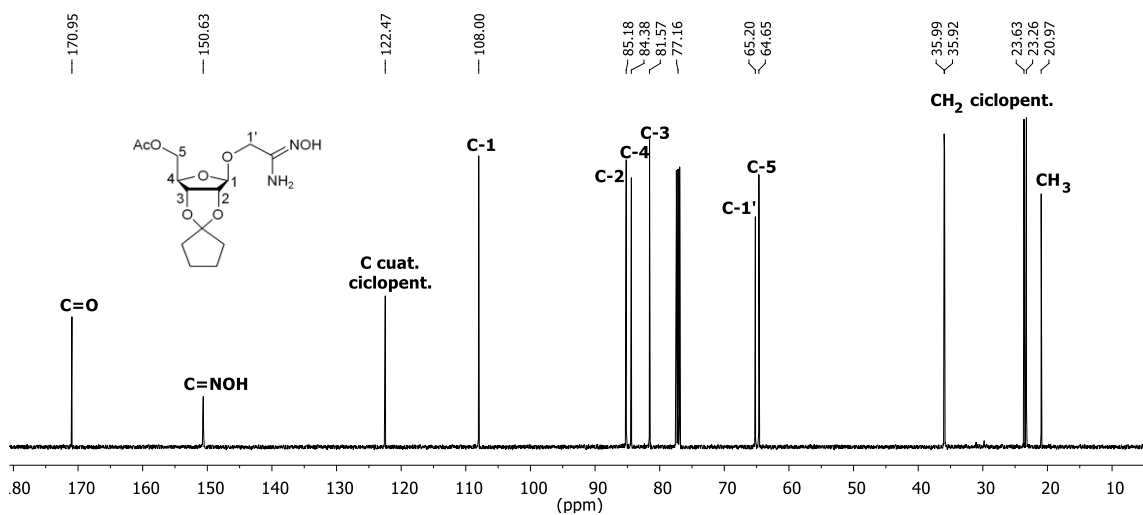


Figura 2.10 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para el compuesto **120**.

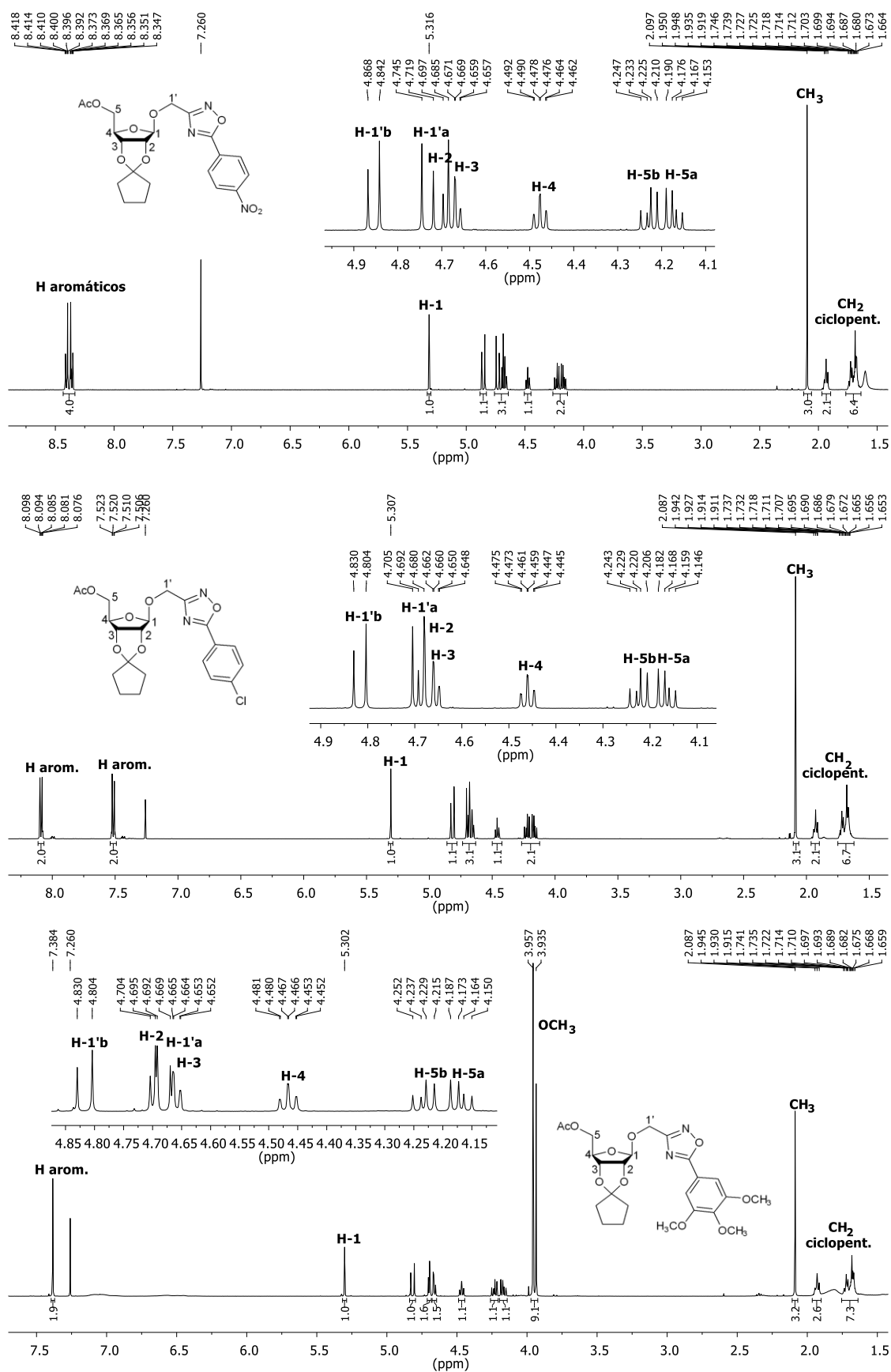


Figura 2.11 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para los compuestos 122-124.

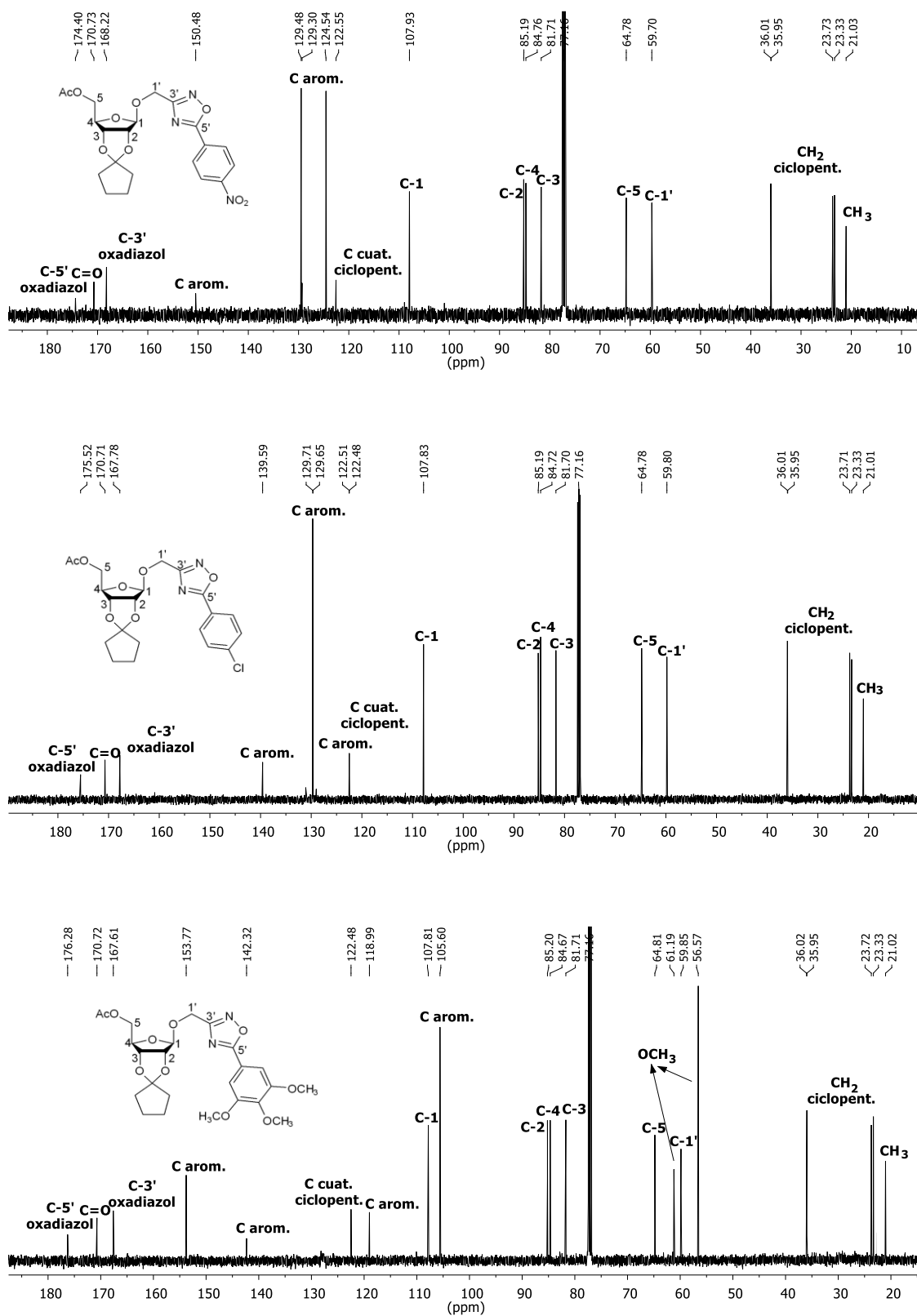


Figura 2.12 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para los compuestos 122-124.

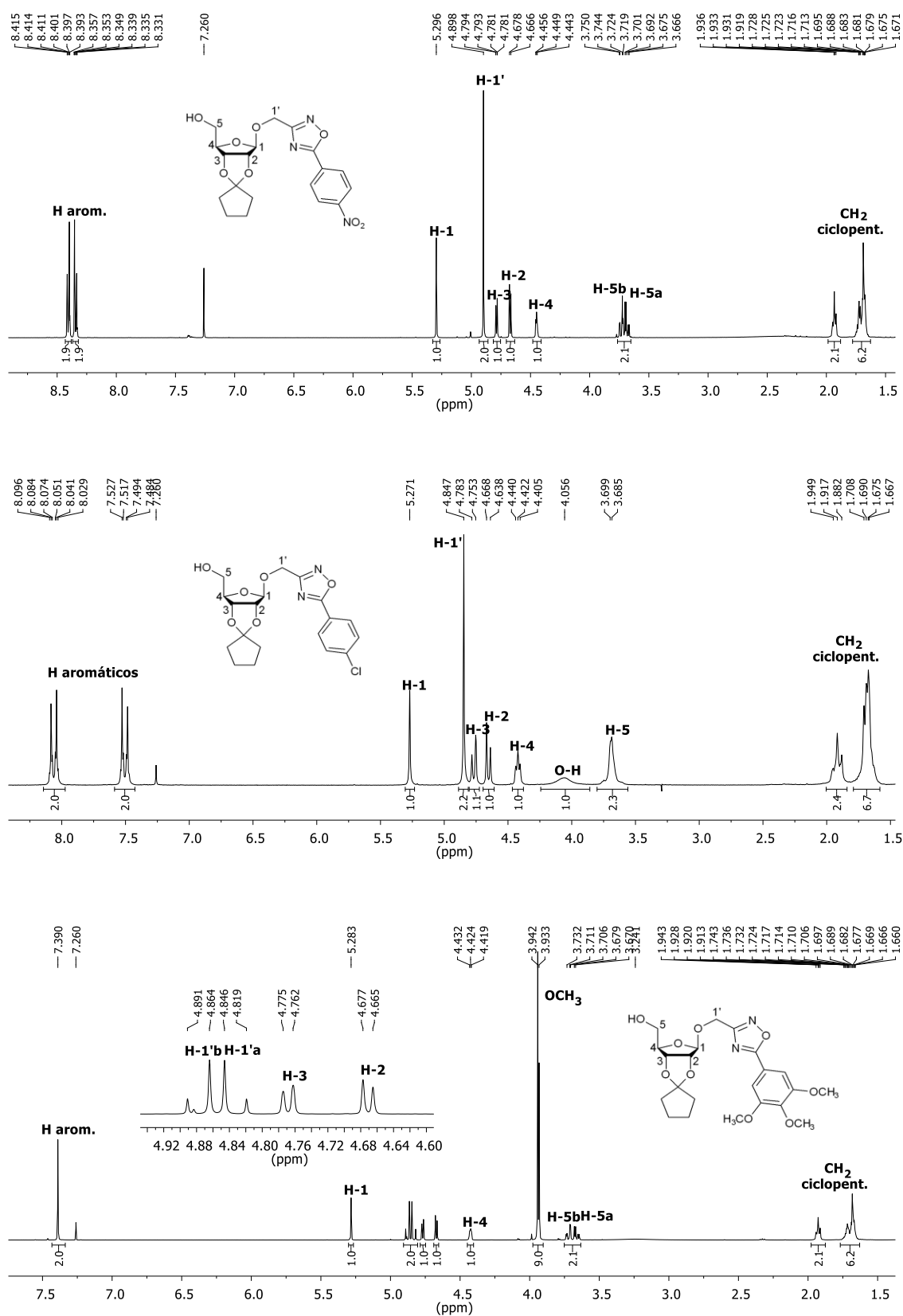


Figura 2.13 Espectro de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para los compuestos **126** y **128**. Espectro de RMN-¹H (200 MHz, CDCl₃) para el compuesto **127**.

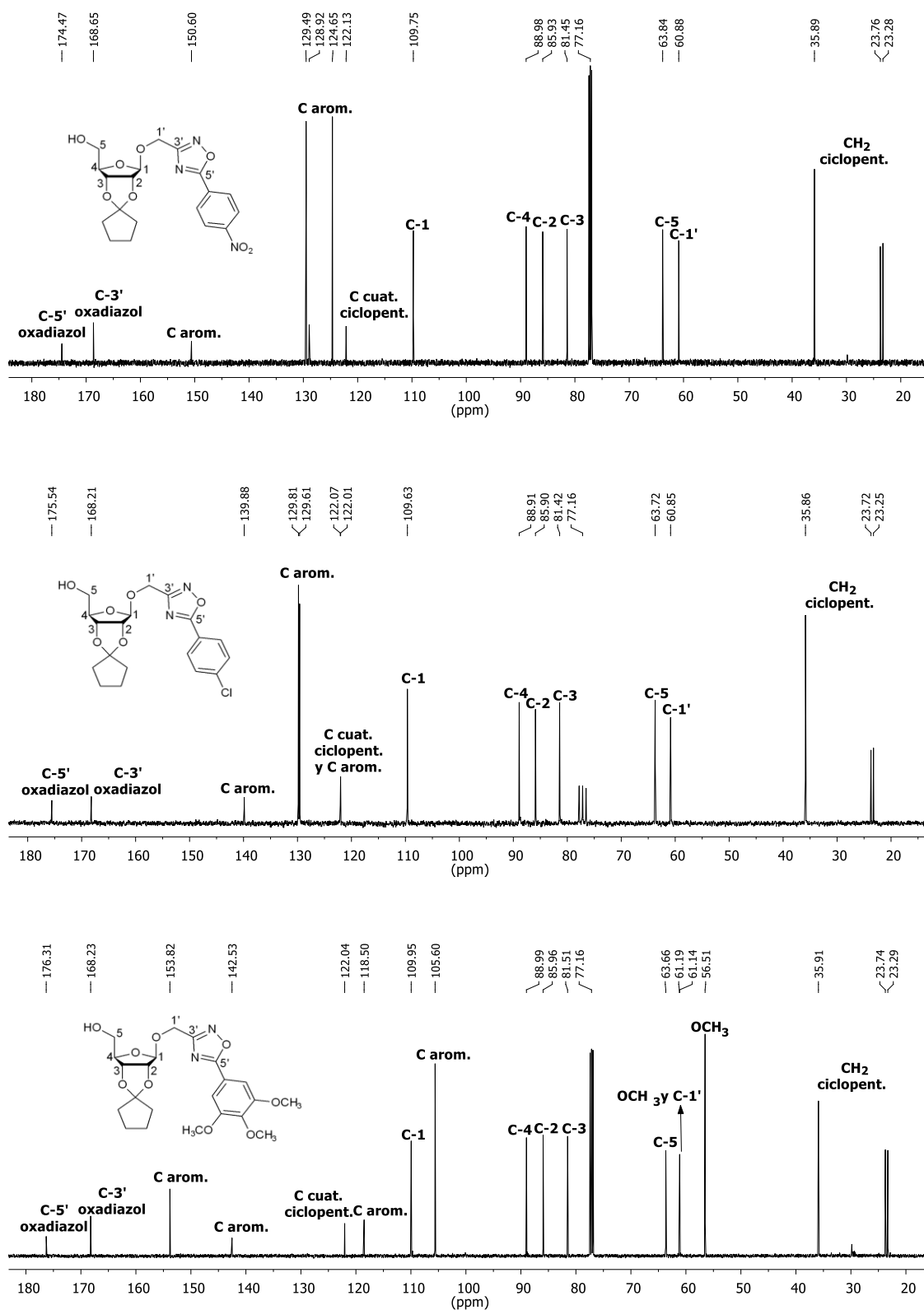


Figura 2.14 Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para los compuestos **126** y **128**. Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para los compuestos **127**.

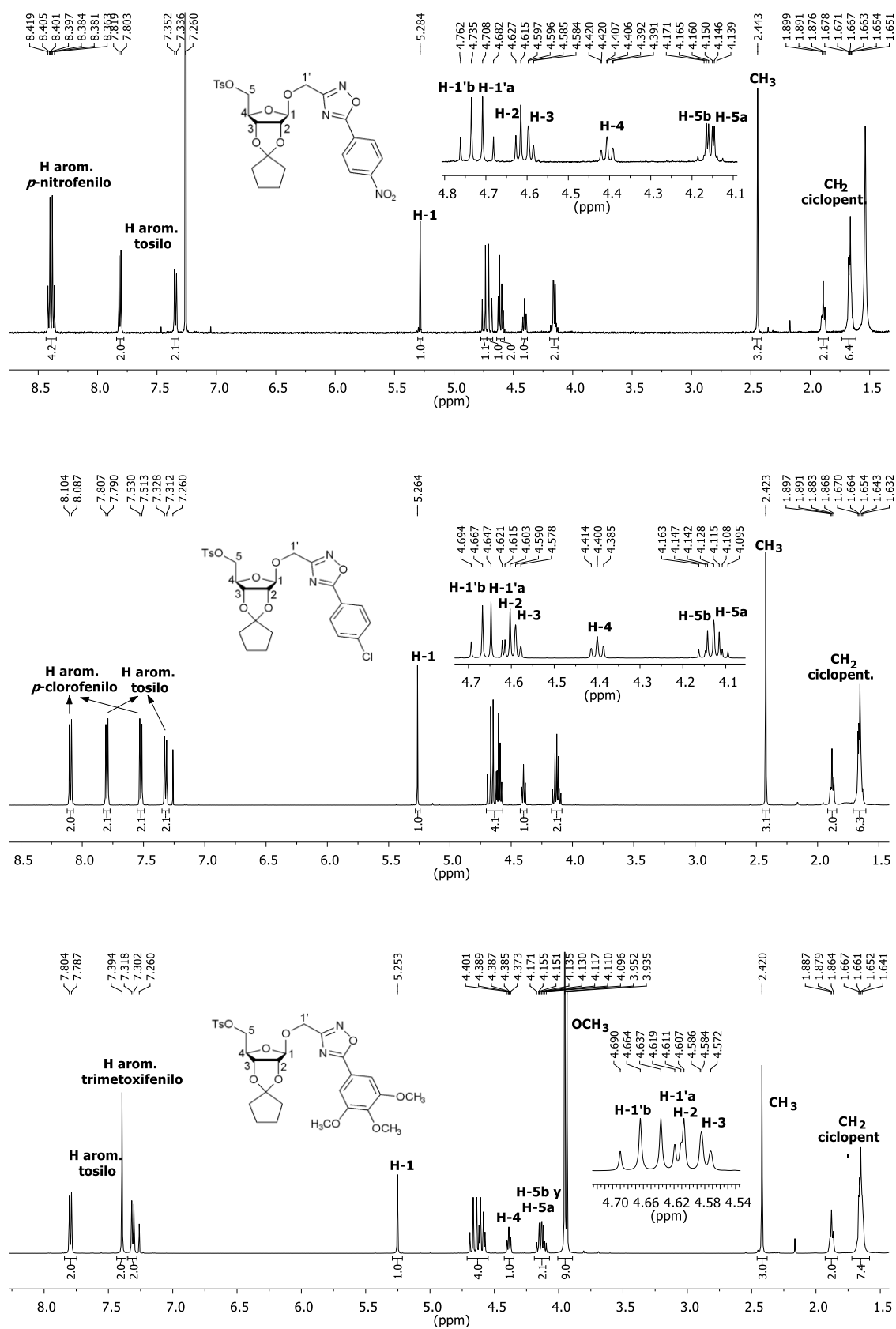


Figura 2.15 Espectros de RMN-¹H (500 MHz, CDCl₃) para los compuestos 130-132.

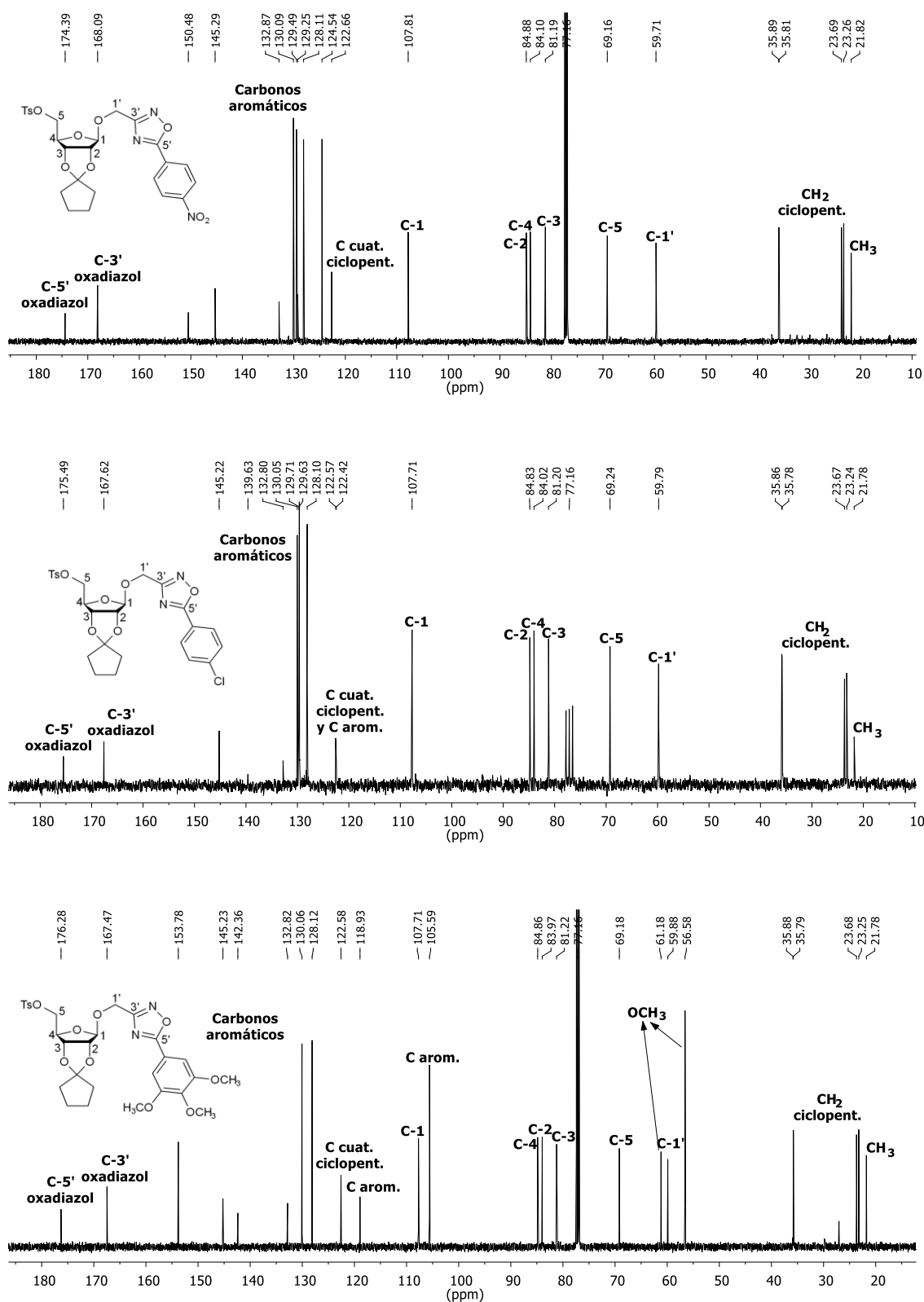


Figura 2.16 Espectros de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para los compuestos **130** y **132**. Espectro de RMN-¹³C (50 MHz, CDCl₃) para el compuesto **131**.

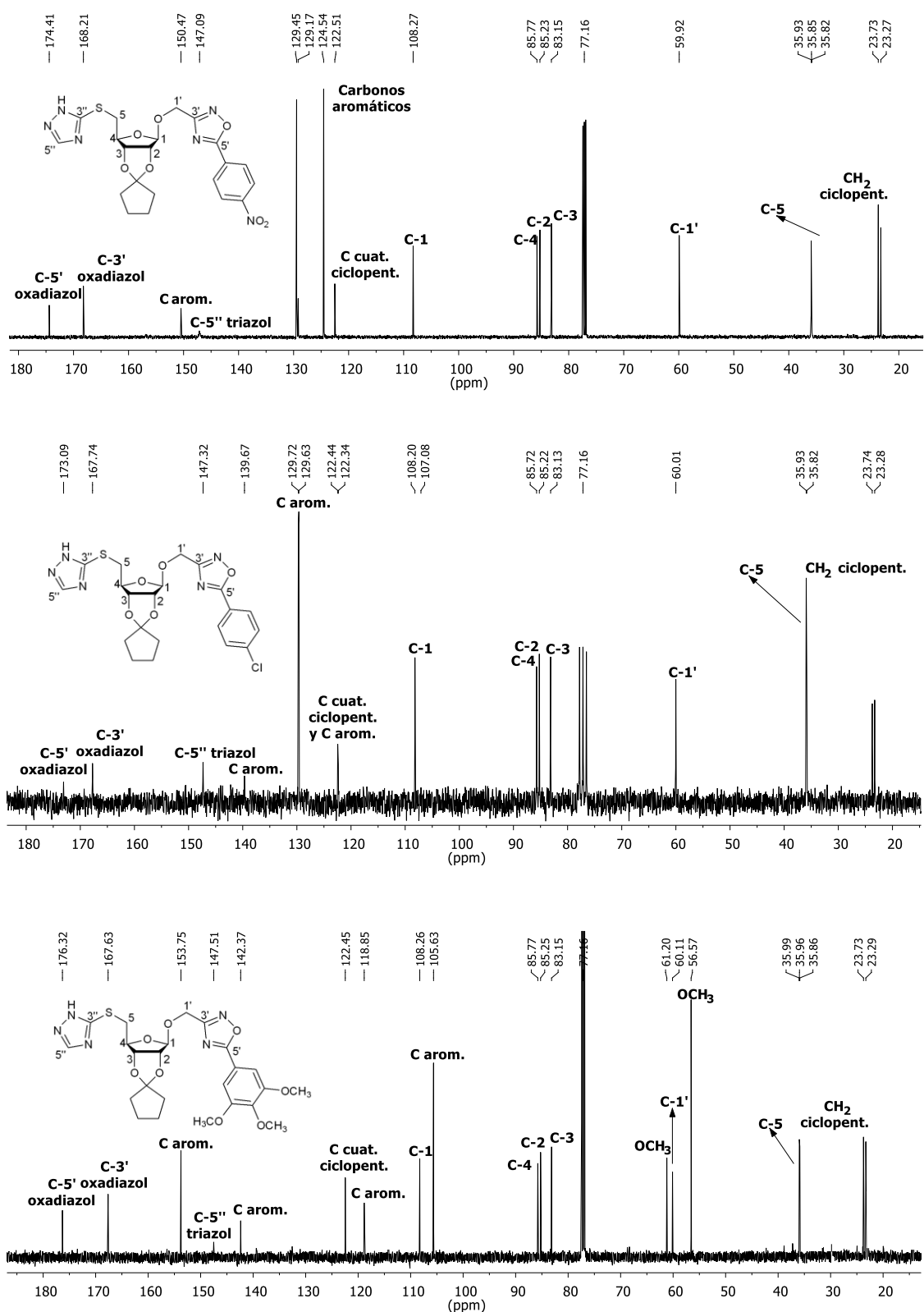


Figura 2.18 Espectros de RMN-¹³C (125 MHz, CDCl₃) para los compuestos **134** y **136**. Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CO(CD₃)₂) para el compuesto **135**.

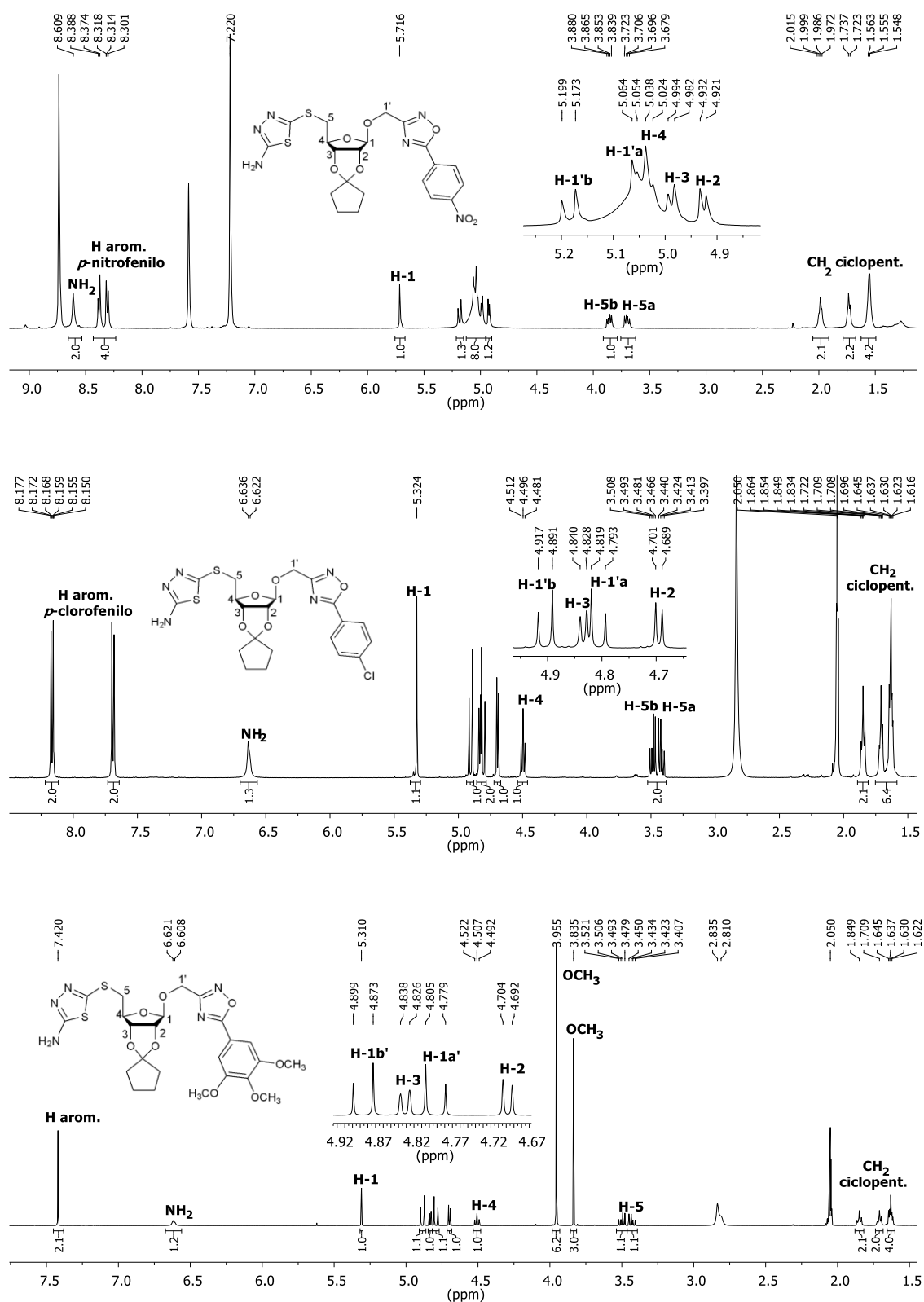


Figura 2.19 Espectros de RMN- ^1H (500 MHz, py-d_5) para el compuesto **138**. Espectro de RMN- ^1H (500 MHz, $\text{CO(CD}_3)_2$) para los compuestos **139** y **140**.

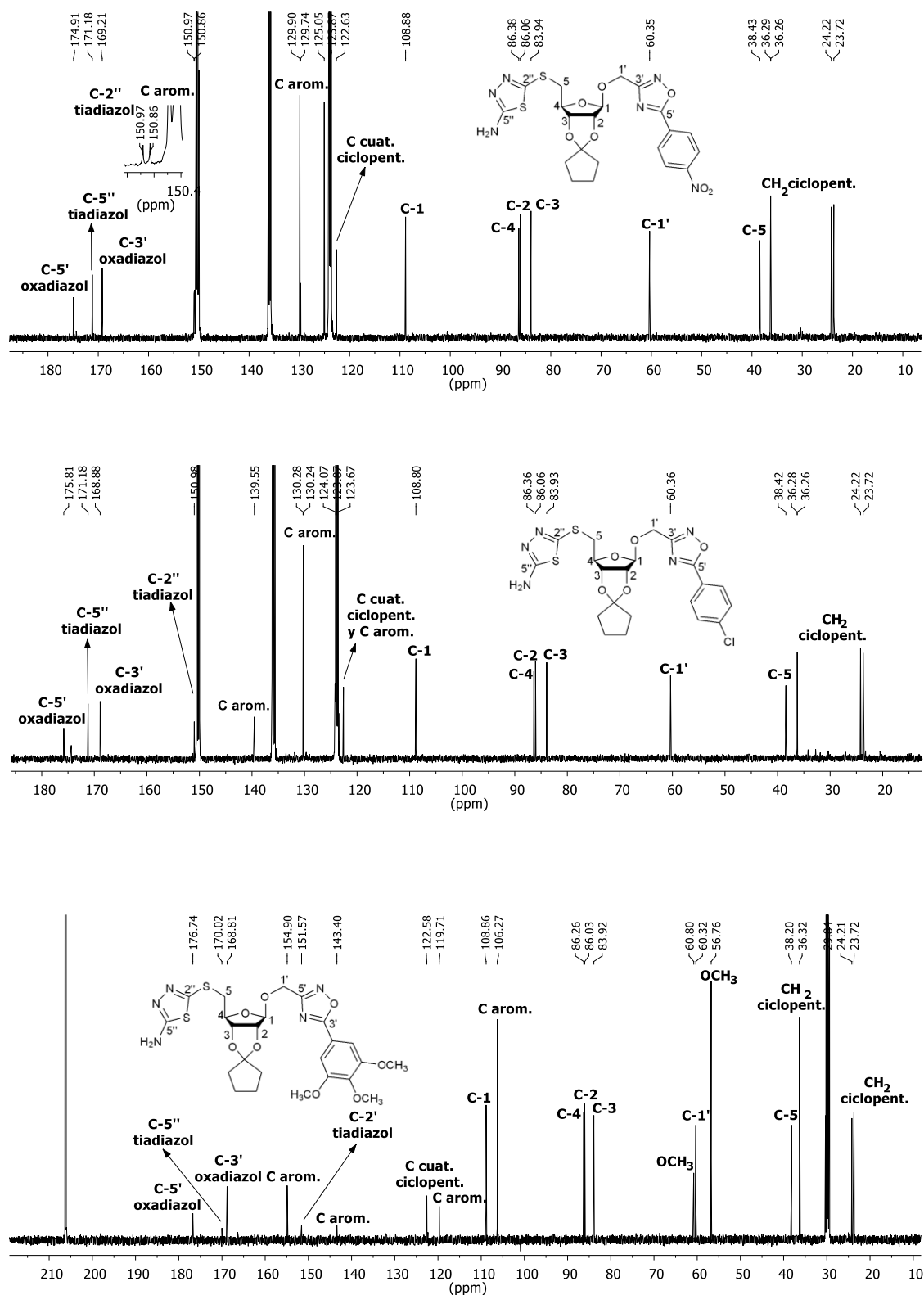


Figura 2.20 Espectros de RMN-¹³C (125 MHz, py-d₅) para los compuestos **138** y **139**. Espectro de RMN-¹³C (125 MHz, CO(CD₃)₂) para el compuesto **140**.

Abreviaturas.

5-Fu	5-Fluorouracilo
Ac	Acetato
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
Anal.	Análisis Elemental
Anh.	Anhidro
APC	Complejo promotor de la anafase
BF ₃ .OEt ₂	Trifluoruro de boroeterato
<i>c</i>	Concentración
CA4	Combretastatina A-4
CC	Ciclo celular
CCD	Cromatografía en capa delgada
CDKIs	Inhibidores de quinasas dependientes de ciclina
CDKs	Quinasas dependientes de ciclina
CI ₅₀	Concentración inhibitoria media
COSY	(CORrelation SpectroscopY) Espectroscopia de Correlación
Cp [*]	1,2,3,4,5-Pentametilciclopentadienil
Cu-AAC	Cicloadición azida-alquino catalizada por Cobre
δ	Desplazamiento químico
DCC	<i>N,N'</i> -Diciclohexilcarbodiimida
CDI	1,1'-carbonildiimidazol
DIPEA	<i>N,N</i> -Diisopropiletilamina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EMIE	Espectrometría de masa por Impacto Electrónico
Et ₂ O	Éter etílico
Et ₃ SiH	Trietilsilano

EtOH	Etanol
FACS	Técnica de clasificación de células activadas por fluorescencia
FDA	Food and Drug Administration
FT-IR	Espectroscopía Infrarroja con transformada de Fourier
GI ₅₀	Concentración del 50% de la máxima inhibición de la proliferación celular
HSQC	(Heteronuclear Simple Quantum Correlation) Correlación Heteronuclear cuántica simple
HRMS	Espectrometría de masa de alta resolución
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
Me	Metilo
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
MPF	Factor de maduración-promoción
<i>m/z</i>	relación masa/carga
NaOMe	Metóxido de sodio
NBS	<i>N</i> -Bromosuccinimida
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -ButilLitio
n/d	no determinado
pf.	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
pRb	Proteína del retinoblastoma
py	Piridina
<i>R_f</i>	Relación de frente de solvente
RMN	Resonancia magnética nuclear
Ru-AAC	Cicloadición azida-alquino catalizada por Rutenio
SD	Desviación estándar
s.s.	Solución saturada
t.a.	Temperatura ambiente
TBAF	Fluoruro de <i>tetra-n</i> -butilamonio
TBDMS	<i>tert</i> -Butildimetilsilil

TBDPS	<i>tert</i> -Butildifenilsilil
<i>tert</i> -BuOH	<i>tert</i> -Butanol
<i>tert</i> -BuOCl	Hipoclorito de <i>tert</i> -butilo
<i>tert</i> -BuOI	Hipoiodito de <i>tert</i> -butilo
THF	Tetrahidrofurano
TMS	<i>tri</i> -Metilsilil
Ts	<i>p</i> -Toluensulfonil

Líneas Celulares.

Línea celular cérvico-uterino: **HeLa**.

Línea celular de ameloblastos de ratón: **ALC**

Línea celular de cáncer de estómago: **NUGC-3**.

Línea celular de cáncer de hígado: **HepG-2**.

Línea celular de cáncer de leucemia ratas: **P-388**.

Línea celular de cáncer de neuroblastoma: **IMR-32**.

Línea celular de cáncer de ovario: **SK-OV-3**.

Línea celular de cáncer de próstata: **PC-3**.

Línea celular de cáncer de renal: **HEK-293**.

Línea celular de carcinoma oral: **KB**.

Línea celular de linfoma: **BW 5147**

Línea celular de melanoma: **A375**.

Líneas celulares de cáncer de colon: **CaCo-2, DLD-1, HCT 116, HT-29, LoVo, WiDr**.

Líneas celulares de cáncer de mama: **HL-100, MCF7, MDA-MB-231, MX-1, SKBR-3, T-47D**.

Líneas celulares de cáncer de páncreas: **Capan-2, MIA PaCa-2**.

Líneas celulares de cáncer de pulmón: **A549, NCI-H661, NCI-H1299, SW1573**.

Líneas celulares de leucemias humanas: **IMS-M2, K562, Karpas299, Kasumi-1, MV4-11, NB4, OCI-AML2, OCI-AML3, U-937**.

Líneas celulares normales: **HMEC, HUVEC, RWPE-1**.

Resumen

El objetivo general de esta Tesis de Doctorado fue la síntesis de derivados mono- y di-heterocíclicos de D-ribofuranosa, con la finalidad de obtener compuestos con posible actividad biológica, en particular antitumorales. Se eligieron distintos heterociclos, en todos los casos con probada actividad biológica y se fue variando la cantidad y tipo de heteroátomos constituyentes de los mismos con el fin de encontrar un compuesto líder. También se varió el tipo de enlace del heterociclo con el carbohidrato y el grupo protector de las posiciones no derivatizadas. A lo largo del trabajo se fue testeando la actividad antiproliferativa de los productos sintetizados frente a diferentes líneas celulares tumorales humanas.

El primer Capítulo de la Tesis es una reseña de los posibles mecanismos que estarían involucrados en el proceso de generación de un tumor, así como las posibles puntos de ataque para detener la enfermedad. Así mismo, se presenta una reseña de la importancia de los heterocíclos de cinco miembros seleccionados dada su presencia en diferentes drogas farmacológicas. Particularmente, se demuestra que estos heterociclos son parte importante de compuestos de probada eficiencia antiproliferativa. Se destacarán individualmente cada uno de los heterociclos que se utilizarán posteriormente para la obtención de los compuestos a saber: 1,2,3-triazoles, 1,2,4-triazoles, isoxazolinas, isoxazoles, 1,2,4-oxadiazoles y 1,3,4-tiadiazoles.

En el segundo Capítulo se detallan brevemente las características y los métodos de síntesis más comunes y recientes descritos en literatura de los heterociclos sintetizados a saber: 1,2,3-triazoles, 1,2,4-triazoles-3-tiol, isoxazolinas, isoxazoles, 1,2,4-oxadiazoles. Se especifican los mecanismos más aceptados involucrados en dichas síntesis así como las diferentes condiciones para obtener los heterociclos regioselectivamente.

En el tercer Capítulo se presentan los objetivos del trabajo y el fundamento utilizado para la elección de las estructuras a sintetizar teniendo siempre como objetivo

la posible actividad antitumoral. También se discuten las estrategias particulares que se utilizarán para los desarrollos sintéticos.

En el Capítulo cuatro se desarrolla la ruta sintética para la obtención de mono- y di-heterociclos partiendo del alil 2,3-*O*-ciclopentilidén- β -D-ribofuranósido. Por un lado se introdujo un primer heterociclo, un triazol o una triazoliltionina, sobre la posición cinco del carbohidrato y luego un segundo heterociclo, una isoxazolina, por reacción de cicloadición 1,3-dipolar con el grupo alilo. Se desprotegió el azúcar para obtener los derivados hidroxilados. Se evaluó la actividad antiproliferativa de los compuestos sintetizados contra una línea celular de linfoma (BW 5147) concluyendo que los compuestos hidrofílicos disminuían la actividad. Los compuestos con un anillo triazólico mostraban una actividad moderada y se utilizaron como compuestos líderes para desarrollos posteriores.

En el Capítulo cinco se describe el camino sintético utilizado para reemplazar el anillo isoxazolinico no aromático por heterocíclicos aromáticos de cinco miembros. En este capítulo también se exporó la influencia del grupo protector sintetizando isopropilidén y ciclopentilidén derivados. Los anillos aromáticos seleccionados en este caso fueron el isoxazol, donde sólo se adicionaba aromaticidad al anillo, y tiazoles, donde se evaluó el cambio del tipo y cantidad de heteroátomos en el anillo heterocíclico. Se evaluó la actividad antiproliferativa de los nuevos compuestos y los compuestos más prometedores del capítulo anterior frente a la línea celular PC3 de cáncer de próstata. Se analizó el efecto de los compuestos sobre las distintas fases del ciclo celular. Llamativamente los compuestos previamente seleccionados y dos nuevos derivados resultaron ser moderadamente activos pero alterando diferentes fases del ciclo celular.

En el Capítulo seis se presenta el esquema sintético desarrollado para introducir un anillo 1,2,4-oxadiazólico en lugar del isoxazol o el 1,2,3-triazol. En este caso se quiso evaluar la cantidad, tipo y posición de los heteroátomos en el anillo sobre la actividad antitumoral. Se plantearon dos posibles estrategias sintéticas y se seleccionó aquella que utilizaba reactivos más amigables con el medio ambiente. Además se indagó sobre el uso de distintos grupos protectores y su influencia en los rendimientos del camino propuesto. Se obtuvieron dos series de derivados (5-aril-1,2,4-oxadiazol-3-il)metil D-

ribofuranósidos donde la diferencia radicó en el segundo anillo heterocíclico: un 1,2,4-triazol utilizado en los capítulos anteriores o un anillo 1,3,4-tiadiazólico ambos enlazados por un átomo de azufre al carbono terminal del hidrato de carbono. Para ver el efecto del sustituyente del grupo arilo, se seleccionaron tanto grupos atractores como donores de electrones (NO₂, Cl, OCH₃). Al igual que el capítulo anterior, se sintetizaron ciclopentilén e isopropilidén derivados. En este caso la actividad antiproliferativa se testeó frente a seis líneas tumorales humanas a saber: A549 (pulmón), HeLa (cervical), HBL-100 (mama), SW1573 (pulmón), T-47D (mama), y WiDr (colon). Varios de los compuestos sintetizados presentaron actividad frente a las seis líneas testeadas en el rango de micromolar. Sin embargo, cabe señalar que el (5''-(4-clorofenil)-1,2,4-oxadiazol-3''-il)metil 5-desoxi-5-S-(1,2,4-triazol-3'-il)-2,3-O-ciclopentilidén-β-D-ribofuranósido resultó ser el más potente de la serie con una buena selectividad hacia la línea celular WiDr (4,5 μM).

En el Capítulo siete se discuten los ensayos realizados para la obtención de C-ribósidos. En este caso se partió de la 2,3-O-isopropilidén-D-ribonolactona protegiendo el hidroxilo en posición cinco con diferentes grupos sililados. La lactona se trató con reactivos organometálicos para la introducción de un grupo alilo o etinilo, grupos susceptibles para ser utilizados como dipolarófilos en reacciones de cicloadición 1,3-dipolares. Se evaluó la estereoquímica de la reacción y se obtuvo el derivado monoheterocíclico a partir de una reacción “click” con el etinil derivado.

Finalmente, en el Capítulo ocho se presenta la parte experimental con las metodologías utilizadas para la síntesis de los compuestos obtenidos en el presente trabajo de Tesis. En un apéndice adicional se presentan los espectros de todos los compuestos nuevos sintetizados.

El presente trabajo de tesis dio origen a las siguientes publicaciones:

- 1,2,4-Triazole D-ribose derivatives: Design, synthesis and antitumoral evaluation”. Romina E. Avanzo, Claudia Anesini, Mirta L. Fascio, María I. Errea, Norma B. D’Accorso.

European Journal of Medicinal Chemistry, **47**, 104-110 (2012).

- “Differential effect of heterocyclic D-ribofuranoside derivatives on human prostate cancer cell viability and cell cycle progression”.
Geraldine Guerón, Romina E. Avanzo, Federico Shuster, Maria N. Carabelos, Elba Vazquez, Mirta L. Fascio, Norma B. D’Accorso.
Biomedicine & Pharmacotherapy, **68**, 847-854 (2014).
- “Synthesis and in vitro antiproliferative activities of (5-aryl-1,2,4-oxadiazole-3-yl) methyl D-ribofuranosides”.
Romina E. Avanzo, José M. Padrón, Norma B. D’Accorso, Mirta L. Fascio.
Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, **27**, 3674-3677 (2017).

Dra. Mirta Liliana Fascio
Directora de Tesis

Lic. Romina Edith Avanzo
Tesisista