



FACULTAD DE FARMACIA  
ESCUELA DE QUÍMICA Y FARMACIA  
LABORATORIO DE SÍNTESIS Y PRODUCTOS NATURALES

SÍNTESIS DE DIENOS A PARTIR DE (-)-ÁCIDO SHIKÍMICO, CON APLICACIÓN  
EN REACCIONES DE CICLOADICIÓN DIELS-ALDER

Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico

**VIVIANA ESTER VERA DÍAZ**

Director de tesis: Dr. Mauricio Cuellar Fritis

2014

***A mis padres Álvaro y Emilia,  
por su infinito e incondicional amor***

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a mi director de tesis Dr. Mauricio Cuellar, por su tiempo, paciencia y dedicación durante el desarrollo y finalización de este trabajo, pero sobre todo por su confianza, por darme la oportunidad de llevar a cabo y culminar exitosamente este desafío, por soportar mis presiones y siempre responder a ellas de buena forma. Gracias por los momentos compartidos, por el cariño y la buena onda.

A mi querida Naty, por tu infinita ayuda, enseñanzas y tiempo entregados, pero sobre todo por creer en mí, por acompañarme y guiarme durante cada día de este proceso, por el cariño, las risas y momentos compartidos.

A mi Cinthya Belén, por ser una maravillosa persona y amiga, y convertirme en la mejor compañera de laboratorio, gracias por tu enorme ayuda y compañía durante este proceso.

A Marco, por tu buena acogida, enseñanzas y risas compartidas.

A mis amigos de la U, Kicha, Vale, Fabi, Carla, Marcelo, Moralito y Miguel, gracias por hacer que mi paso por la universidad se convierta en un cúmulo de hermosos e inolvidables momentos, nada hubiera sido igual sin ustedes.

A mi hermana Marcela, por ser mi apoyo y compañía incondicional y permanente durante todos estos años lejos de casa y por regalarme al sobrino más bello, mi Tomás.

A mis padres, por todo lo que soy, tengo y he logrado hasta ahora, los amo infinitamente.



## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	
1.1. Características generales de (-)-ácido shikímico	2
1.2. Generalidades de compuestos policíclicos	3
1.2.1. Características generales de anguciclinas y su actividad biológica	4
1.3. Síntesis de anguciclinonas	7
1.3.1. Cicloadición Diels-Alder	8
1.3.2. Síntesis de aza-anguciclinonas mediante reacciones de cicloadición Diels-Alder	10
2. HIPÓTESIS	15
3. OBJETIVOS	17
4. METODOLOGÍA	20
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6. CONCLUSIONES	40
7. EXPERIMENTAL	
7.1. Síntesis del compuesto 40	44
7.2. Síntesis del compuesto 41	45
7.3. Síntesis del compuesto 42	46
7.4. Síntesis del compuesto 43	47
7.5. Síntesis del compuesto 44	48
7.6. Síntesis del aza-dieno 45	49
7.7. Síntesis del carba-dieno 46	50
7.8. Reacción entre aza-dieno 45 y 2-bromonaftoquinona (47)	51
7.9. Reacción entre carba-dieno 46 y 2-bromonaftoquinona (47)	54
8. BIBLIOGRAFÍA	55
9. GLOSARIO	59
10. ANEXOS	62

## RESUMEN

Entre la gran variedad de compuestos aislados desde productos naturales, presentes en plantas, algas y esponjas marinas, se encuentran compuestos que poseen en su estructura un fragmento benz[*a*]antraquinona. Dentro de ellos se encuentran las anguciclinonas, que presentan importantes actividades biológicas.

Desde el fruto anís estrellado (*Illicium rerum*) es posible extraer (-)-ácido shikímico, un compuesto muy interesante desde el punto de vista sintético, debido a la presencia de sus tres centros estereogénicos, característica que lo convierte en un buen sustrato de partida para la síntesis de dienos que pueden ser utilizados en reacciones de acoplamiento con quinonas, vía reacción de cicloadición Diels-Alder, para la obtención de nuevos compuestos policíclicos.

En este trabajo se llevó a cabo, a partir de (-)-ácido shikímico, la síntesis de dos dienos, el aza-dieno **45** y el carba-dieno **46**, en una secuencia de seis pasos con un rendimiento total de 50% y 32%, respectivamente. Posteriormente se realizó el acoplamiento de estos con 2-bromonaftoquinona (**47**), vía reacción de cicloadición Diels-Alder.

Finalmente se evaluó la actividad anticáncer de las quinonas sintetizadas en cuatro líneas celulares, obteniendo un IC<sub>50</sub> de 26,8 ± 6,7 y 40,1 ± 7,4 en MCF-7, 3,7 ± 0,8 y 7,8 ± 0,9 en HT-29, 7,6 ± 1,2 y 5,7 ± 1,3 en PC-3 y 29,4 ± 2,4 y >100 en CoN para los compuestos **48** y **49**, respectivamente.

## SUMMARY

Among the wide variety of compounds isolated from natural products, present in plants, algae and sea sponges, there are compounds that have in its structure or a fragment of benz[a]anthraquinone. Among them are the angucyclinones, which have important biological properties.

It is possible to extract shikimic acid, in a safe manner, from star anise's fruit, a very interesting compound from a synthetic point of view, due to its three stereogenic centers, this feature makes it a good substrate starter for dienes' synthesis and can be used in quinones' coupling reactions through Diels-Alder cycloaddition reaction in order to obtain new polycyclic compounds.

During this study, two dienes' synthesis from (-)-shikimic acid was performed, azadiene **45** and carbo-diene **46**, in a six-steps sequence with a total yield of 50% and 32%, respectively. Afterwards, a coupling of these compounds and 2-bromonaphthoquinone (**47**) through Diels-Alder cycloaddition reaction was performed.

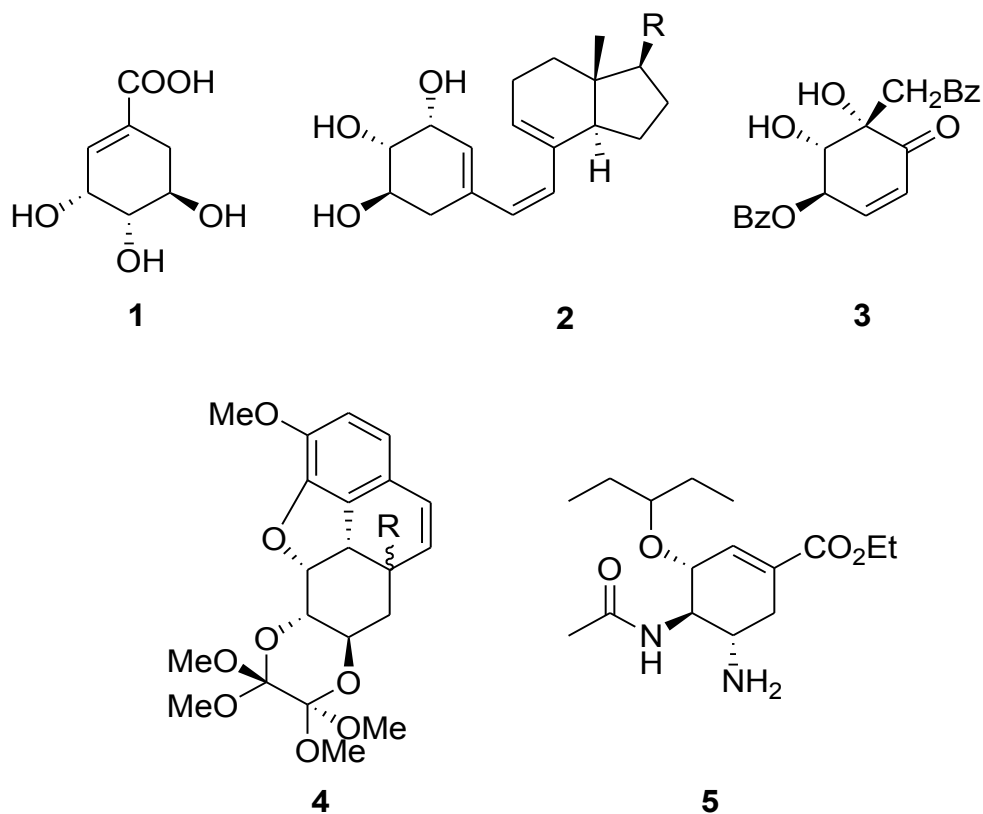
Finally, the anticancer activity of synthesized quinones was measured in four cellular lines, having as a result an  $IC_{50}$  of  $26.8 \pm 6.7$  and  $40.1 \pm 7.4$  in MCF-7,  $3.7 \pm 0.8$  and  $7.8 \pm 0.9$  in HT-29,  $7.6 \pm 1.2$  y  $5.7 \pm 1.3$  in PC-3 y  $29.4 \pm 2.4$  and  $>100$  in CoN for compounds **48** and **49**, respectively.

## **1. INTRODUCCIÓN.**

### 1.1. Características generales de (-)-ácido shikímico

El (-)-ácido shikímico (**1**) es un producto natural que fue aislado por primera vez por Eijkman, en el año 1885<sup>1</sup> y puede ser encontrado en diversas plantas y órganos de éstas<sup>2</sup>. Una buena fuente de (-)-ácido shikímico (**1**) son las plantas del género *Illicium*, pero existen más de cincuenta especies que contienen poderosas toxinas. La fuente natural más segura para el aislamiento de este producto natural es el fruto anís estrellado (*Illicium verum* Hook. f.)<sup>3</sup>.

El (-)-ácido shikímico (**1**) presenta tres centros estereogénicos en su estructura<sup>4</sup>, lo que lo convierte en un intermediario sintético interesante, debido a esto ha sido utilizado para la elaboración de diversas moléculas de implicancia terapéutica, como análogos de vitamina D3 (**2**)<sup>5</sup>, (-)-zeilenona (**3**)<sup>6</sup> y el esqueleto 14-*epi*-hidrofenantreno (**4**) de los alcaloides tipo morfina<sup>4</sup>. También ha sido utilizado como base para la síntesis de Oseltamivir (Tamiflú) (**5**)<sup>7-8</sup>, antiviral utilizado para el tratamiento de la influenza humana<sup>9</sup>.

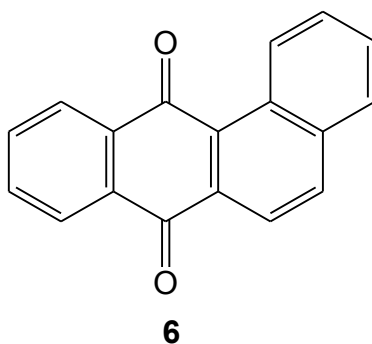


**Figura 1:** Estructura de (-)-ácido shikímico (1), análogo de vitamina D3 (2), (-)-zeilenona (3), 14-epi-hidrofenantreno (4) y oseltamivir (5).

## 1.2. Generalidades de compuestos policíclicos

En la actualidad, existe una gran variedad de compuestos policíclicos naturales, que han sido aislados desde plantas, esponjas y algunos organismos animales, los cuales presentan un amplio espectro de actividades biológicas, entre las cuales destacan su capacidad para actuar como agentes antitumorales, citotóxicos y antibióticos, entre otras. Algunos de estos compuestos policíclicos de origen natural, sintético o semi-sintético, incluso algunos obtenidos por

modificación genética de cepas bacterianas son utilizados actualmente como fármacos<sup>10</sup>. Dentro de estos compuestos destacan aquellos que presentan en su estructura un fragmento benz[*a*]antraquinona (**6**), el que se encuentra presente en la familia de las anguciclinonas.

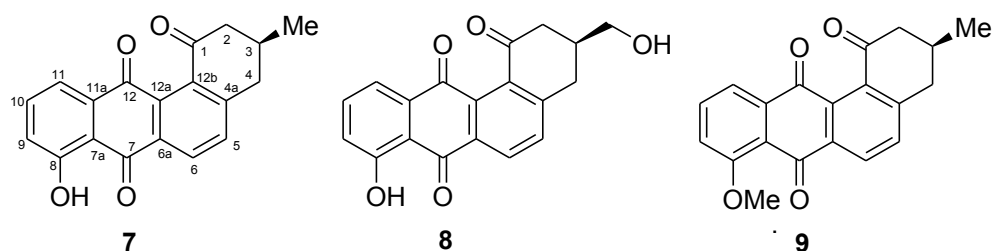


**Figura 2:** Estructura del fragmento benz[*a*]antraquinona (**6**).

### 1.2.1. Características generales de anguciclinas y su actividad biológica

Las anguciclinas son un extenso grupo de productos naturales glicósidos, que presentan un esqueleto benz[*a*]antraceno como aglicona<sup>11</sup>. Las anguciclinas y sus agliconas (anguciclinonas)<sup>12</sup> son metabolitos secundarios de microorganismos pertenecientes al grupo de bacterias *Actinomycetes* formadoras de esporas<sup>13</sup>. Algunos miembros de este grupo se comportan como agentes antitumorales, antivirales o inhibidores enzimáticos<sup>14</sup>.

Las anguciclinonas presentan distintos patrones de sustitución dentro de su esqueleto base. Algunas de sus características estructurales son la función oxigenada en C-1 y la quiralidad de C-3, como lo muestran la (+)-ocromicinona (**7**), YM-181741 (**8**) y rubiginona B2 (**9**), aisladas por primera vez por Bowie<sup>15</sup>, Taniguchi<sup>16</sup> y Oka<sup>17</sup>, respectivamente. Estos compuestos presentan importantes actividades biológicas: (+)-ocromicinona (**7**) e YM-181741 (**8**) muestran actividad antibiótica selectiva contra *Helicobacter pylori*, siendo (+)-ocromicinona (**7**) dos veces más activa que YM-181741 (**8**), sin perder su selectividad<sup>18</sup>, mientras que rubiginona B2 (**9**) potencia significativamente la citotoxicidad de vincristina contra células de leucemia P388 resistentes a vincristina<sup>19</sup>.

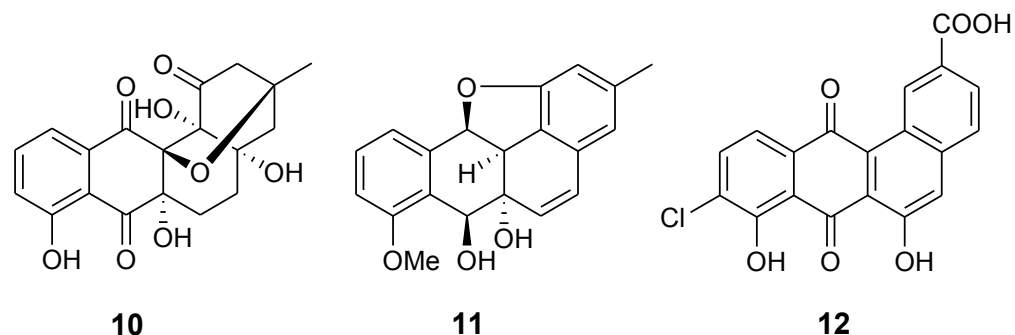


**Figura 3:** Estructura de (+)-ocromicinona (**7**), YM-181741 (**8**) y rubiginona B2 (**9**).

En el año 2005 Bringmann<sup>20</sup> reportó el descubrimiento de gefiromicina (**10**), primer representante de un nuevo tipo de anguciclinonas, caracterizadas por un puente éter intramolecular, que además, al ser estudiada en células neuronales presentaba actividad glutaminérgica. En el año 2012 Xie<sup>21</sup> reportó el aislamiento de kiamicina (**11**), que también presenta el puente éter dentro de su estructura y demostró actividad anticáncer frente a las líneas celulares humanas: HL-60

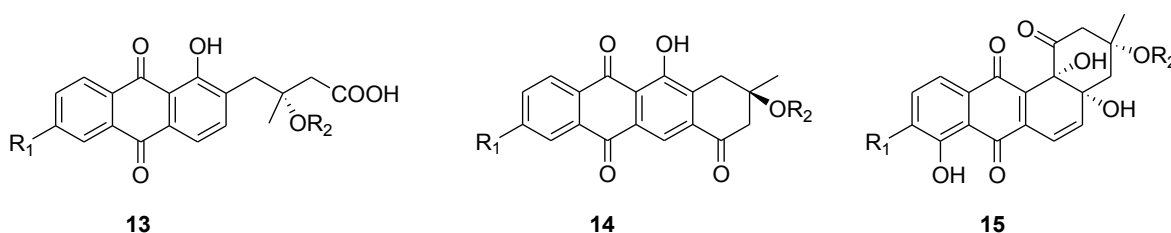
(leucemia), A549 (adenocarcinoma de pulmón), y BEL-7402 (carcinoma hepático), con porcentajes de inhibición de 68,2, 55,9 y 31,7, respectivamente, lo que representa además una mayor actividad que adriamicina (control positivo) en todas las líneas celulares estudiadas.

BE- 23254 (**12**), una anguciclinona inusual, fue aislada por Okabe<sup>22</sup>, ésta es la única representante que posee un átomo de cloro en C-9. Además se observa la ausencia del grupo metilo en C-3 y la presencia de un ácido carboxílico en C-2. BE-23254 presenta actividad contra la línea celular de cáncer de colon humano DLD-1<sup>23</sup>.



**Figura 4:** Estructura de gefiromicina (**10**), kiamicina (**11**), BE-23254 (**12**).

Las anguciclinas y anguciclinonas también difieren entre sí en cuanto a la angularidad de su esqueleto y el número de ciclos presentes, siendo el esqueleto de tipo angular el que más se repite. Huang<sup>24</sup> publicó el aislamiento y la actividad citotóxica de cinco nuevas anguciclinas, entre ellas grincamicina B (**13**) y grincamicina E (**14**), incluyendo en el estudio a grincamicina (**15**) que había sido reportada anteriormente.



**Figura 5:** Estructura de grincamicina B (**13**), grincamicina E (**14**) y grincamicina (**15**).

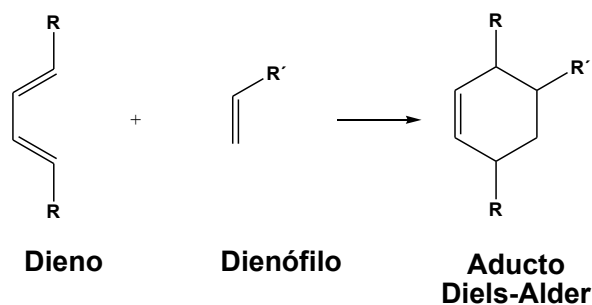
Siendo R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> iguales para los compuestos **13**, **14** y **15**, al evaluar su actividad frente a seis líneas celulares de cáncer, grincamicina (**15**), que posee esqueleto angular, resultó ser el compuesto más activo.

### 1.3. Síntesis de anguciclinonas

Debido a las interesantes propiedades biológicas que presentan este tipo de compuestos, en los últimos años ha sido de gran interés el desarrollo de la síntesis de estos metabolitos bioactivos y el desarrollo de sus series análogas, con el fin de poder evaluar su actividad, establecer una relación estructura actividad y obtener así nuevos compuestos de interés farmacológico. Se han utilizado múltiples estrategias para la síntesis de anguciclinonas, como por ejemplo, adición nucleofílica, adición electrofílica, acoplamiento catalizado por metales de transición y reacciones de ciclación intramolecular, pero la estrategia utilizada por excelencia para desarrollar la síntesis de anguciclinonas ha sido la reacción de cicloadición Diels-Alder.

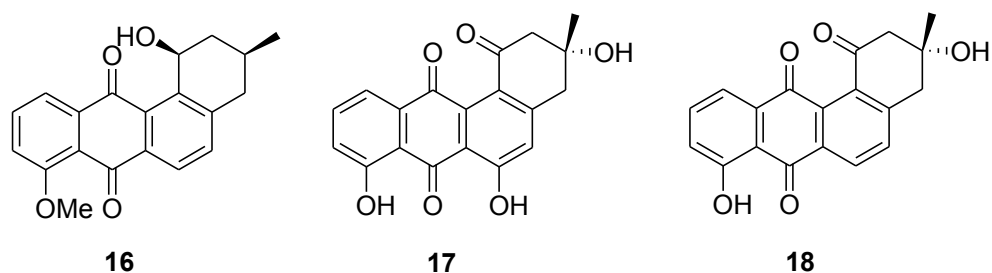
### 1.3.1. Cicloadición Diels-Alder

La reacción de cicloadición Diels-Alder es un tipo de cicloadición 4+2, de suma importancia en síntesis orgánica, ya que por esta vía se pueden formar en un solo paso, moléculas cíclicas. Esta reacción involucra a un dieno y a un alqueno, denominado dienófilo, que al reaccionar dan como producto ciclos de seis miembros (Figura 6).



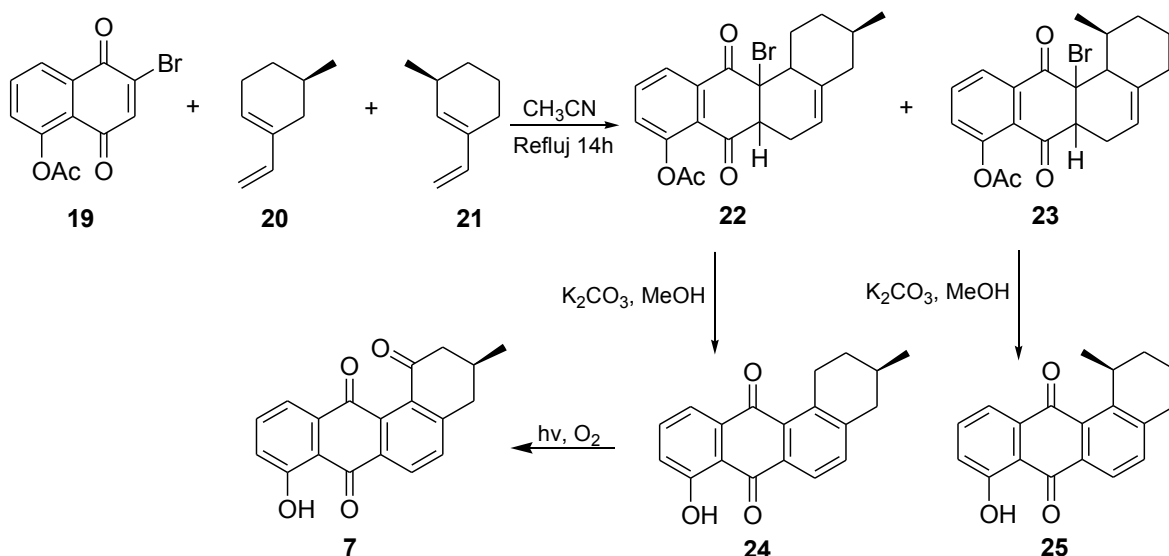
**Figura 6:** Reacción de cicloadición Diels-Alder.

La estrategia más ampliamente utilizada para la construcción de anguciclinonas ha sido la reacción de cicloadición Diels-Alder entre vinilciclohexeno y naftoquinonas, dicha estrategia fue utilizada para la síntesis total de (+)-ocromicinona (**7**)<sup>25</sup>, rubiginona B1 (**16**)<sup>26</sup>, rabelomicina (**17**)<sup>27</sup> y tetragomicina (**18**)<sup>28</sup>.



**Figura 7:** Estructura de rubiginona B1 (**16**), rabelomicina (**17**) y tetragomicina (**18**).

En el año 2003 Kronh y colaboradores reportaron una síntesis rápida y enantioespecífica (siete pasos, 99% exceso enantiomérico (ee)) para (+)-ocromicinona (**7**) (Esquema 1), con un 19% de rendimiento total. El paso clave en la síntesis, es la reacción regioselectiva Diels-Alder entre el derivado de juglona **19** y la mezcla de dienos **20** y **21** derivados de 3-metilciclohexanona (99% ee) y la foto oxidación del compuesto **24** hasta la anguciclinona natural **7**<sup>29</sup>.



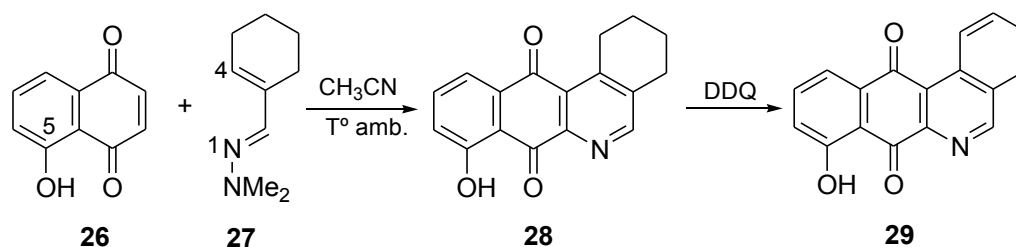
**Esquema 1:** Síntesis de (+)-ocromicinona (**7**).

La sustitución isostérica de uno o más átomos de carbono en el anillo de benceno por átomos de nitrógeno, da como resultado una molécula con propiedades geométricas similares a la molécula de origen, pero con un aumento de la afinidad de dicha estructura por el ADN debido a la presencia de sitios adecuados para la formación de puentes de hidrógeno o interacciones iónicas<sup>30</sup>. Las características básicas y de atractor de electrones de los N-heterociclos, aumentan la afinidad de éstos por las dianas biológicas, aumentando también la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) a través del ciclo redox<sup>31-32</sup>. Este tipo de sustitución isostérica se ha llevado a cabo en la síntesis de algunas drogas anticáncer<sup>33-35</sup>, en las que estas modificaciones han generado aza-análogos activos como compuestos antitumorales. Esto ha situado esta modificación como una estrategia efectiva para el diseño de nuevos compuestos con potencial actividad anticáncer<sup>36</sup>.

### **1.3.2. Síntesis de aza-anguciclinonas mediante reacciones de cicloadición Diels-Alder**

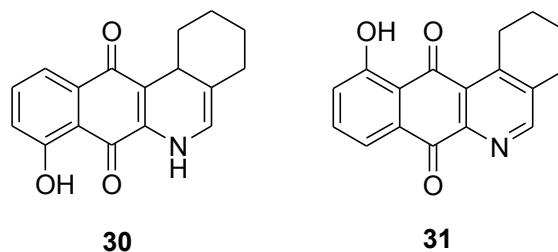
La utilización de aza-dienos en la reacción de cicloadición Diels-Alder es una buena estrategia para sintetizar compuestos policíclicos que incluyan nitrógeno en su estructura. Los aza-dienos se caracterizan por reaccionar de forma regioselectiva, debido a sus características de dieno push-pull (dieno polarizado) en reacciones Diels-Alder de demanda normal.

Valderrama y colaboradores<sup>37</sup> llevaron a cabo la síntesis regioselectiva de compuestos con esqueleto benz[*b*]fenantridina, la síntesis fue planteada como se indica en el Esquema 2:



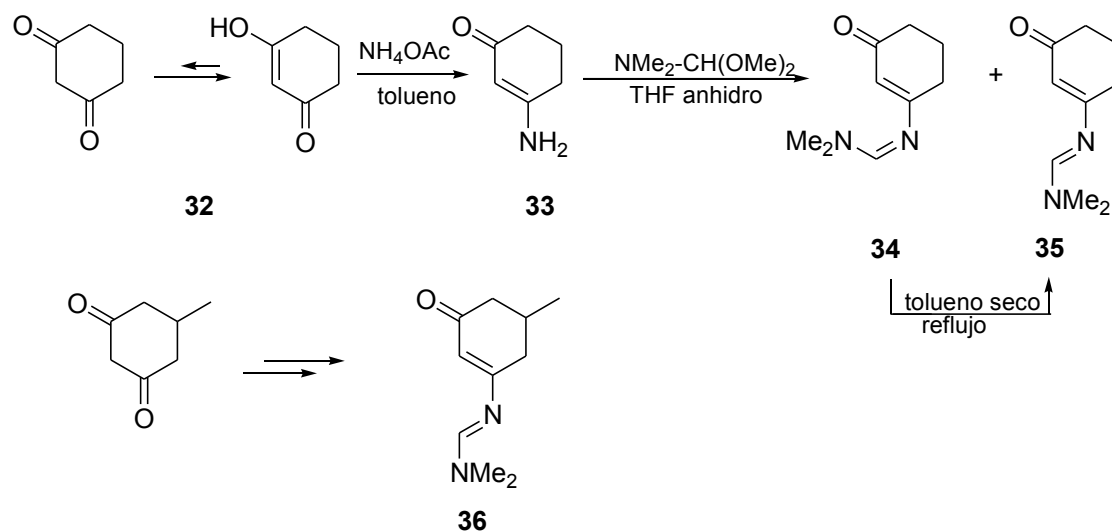
**Esquema 2:** Síntesis de aza-análogo **29**.

En esta síntesis, para obtener el compuesto clave **28**, se requiere de un regiocontrol de la reacción de cicloadición Diels- Alder entre la juglona **26** y el aza-dieno **27**. El elevado regiocontrol observado en esta reacción está dado por la alta polarización del aza-dieno y el efecto director del grupo hidroxilo en posición 5 del dienófilo. La reacción entre **26** y **27** genera el compuesto **30** (55% Rendimiento), **28** (27% Rendimiento) y **31** (2% Rendimiento).



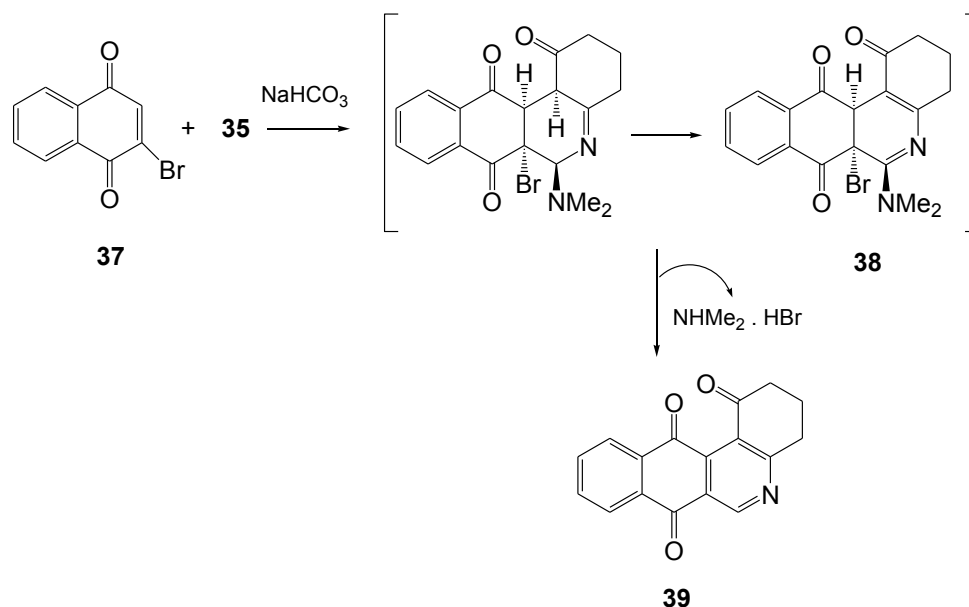
**Figura 8:** Estructura de aza-análogos **30** y **31**.

Collet y colaboradores llevaron a cabo la síntesis de 5-aza-análogos de anguciclinas y anguciclinonas<sup>38</sup>. En el paso previo a la reacción de cicloadición Diels-Alder, los dienos push-pull **35** y **36** fueron sintetizados a partir de ciclohexen-1,3-diona, como se muestra en el Esquema 3:



**Esquema 3:** Síntesis de aza-dienos **35** y **36**.

Finalmente, al tratar el aza-dieno **35** con naftoquinona y 2-bromonaftoquinona (**47**), se obtuvo el 5-aza-análogo **39**. El estado de transición del producto de cicloadición **39**, asume una conformación *endo*, el que luego de la posterior eliminación de *N,N*-dimetilamina y HBr lleva a la obtención del compuesto aromatzado **39** (Esquema 4). Además, los autores reportaron que la 2-bromonaftoquinona (**47**) resultó ser más reactiva, arrojando mejores rendimientos que la quinona no bromada.

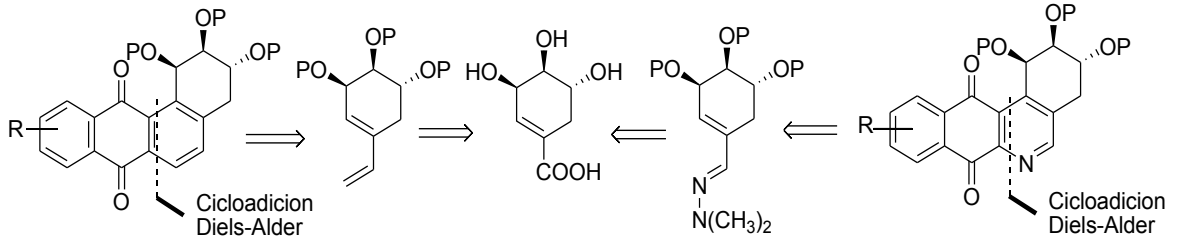


**Esquema 4:** Mecanismo de reacción propuesto para la formación del compuesto **39**.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, se ha observado que el diseño y la síntesis de quinonas heterocíclicas, relacionadas estructuralmente a compuestos naturales con actividad biológica, es un área de estudio muy interesante en síntesis orgánica, debido a la amplia gama de propiedades biológicas que presentan este tipo de compuestos.

Debido a que los derivados de quinonas heterocíclicas lineales y angulares presentan interesantes propiedades biológicas, y a que algunos productos naturales presentan dentro de su estructura fragmentos polihidroxilados. En este trabajo se llevó a cabo la síntesis de dienos (aza-dieno **45** y carba-dieno **46**), usando como material de partida el (-)-ácido shikímico (**1**), para luego utilizarlos en una reacción de acoplamiento con 2-bromonaftoquinona (**47**), vía reacción de

cicloadición Diels-Alder, para la obtención de nuevos análogos de anguciclinonas, tal como se muestra en el Esquema 5:



**Esquema 5:** Retrosíntesis para la obtención de derivados anguciclinonas.

**2. HIPÓTESIS.**

Basándose en antecedentes obtenidos de la literatura, se observa que distintas anguciclinonas (naturales y sintéticas) con estructura benz[a]antraquinona, han sido obtenidas utilizando la estrategia de cicloadición Diels-Alder como paso clave en su síntesis.

Adicionalmente, se observa que el (-)-ácido shikímico (**1**) posee una estructura adecuada para realizar la síntesis de aza-dienos y carba-dienos, y que estos dienos pueden ser utilizados en reacciones de acoplamiento con distintas quinonas para la obtención de nuevos compuestos, como por ejemplo anguciclinonas.

Por lo tanto, en esta investigación se propone la siguiente hipótesis:  
(-)-Ácido shikímico (**1**) es un sintón de partida eficiente para la obtención de dienos que pueden ser acoplados con quinonas en una reacción de cicloadición Diels-Alder.

**3. OBJETIVOS.**

## Objetivo general

A partir de (-)-ácido shikímico (**1**), llevar a cabo la síntesis de dienos que puedan ser utilizados en reacciones de acoplamiento con quinonas, por medio de la reacción de cicloadición Diels-Alder.

## Objetivos específicos

- Llevar a cabo la protección de los grupos hidroxilo presentes en (-)- ácido shikímico (**1**), según la secuencia sintética presentada en el Esquema 6.

- A partir de (-)-ácido shikímico (**1**) protegido, llevar a cabo la síntesis del aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44**, según la secuencia sintética presentada en el Esquema 6.

- A partir del aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44**, llevar a cabo la síntesis del aza-dieno **45** y carba-dieno **46**, según la secuencia sintética presentada en el Esquema 7.

- Realizar ensayos de desprotección de los grupos hidroxilo en los productos finales sintetizados.

- Realizar ensayos de acoplamiento por medio de la reacción de cicloadición Diels-Alder entre los dienos sintetizados y 2-bromonaftoquina (**47**).

- Realizar ensayo de actividad biológica de los nuevos derivados de anguciclinonas obtenidos a partir de la reacción de acoplamiento entre los dienos sintetizados y 2-bromonaftoquinona (**47**) en células MCF-7 (cáncer de mama), HT-29 (cáncer de colon), PC-3 (cáncer de próstata) y CoN (células epiteliales de colon).

#### **4. METODOLOGÍA.**

## **Materiales y equipos**

### **-Materiales de síntesis**

- >(-)-ácido shikímico (**1**) para síntesis Merck ®
- >Reactivos químicos Sigma-Aldrich ®
- >Cromatoplasmas de sílice gel Merck ® 60 F 254
- >Sílice gel Merck ® 60 G de 0,032- 0,063 mm
- >Papel filtro
- >Material de vidrio
- >Solventes orgánicos grado p.a.

### **Materiales de ensayos biológicos**

- >Línea celular MCF-7 (cáncer de mama)
- >Línea celular HT-29 (cáncer de colon)
- >Línea celular PC-3 (cáncer de próstata)
- >Línea celular CoN (células epiteliales de colon)
- >Medio de cultivo modificado (Dulbecco's Modified Eagle's)
- >Dimetilsulfóxido (DMSO)
- >Ácido tricloroacético (TCA) y ácido acético
- >Sulforrodamina B (SRB)
- >Solución trizma base
- >Placas de 96 pocillos Orange Scientific ®

**-Equipos**

>Balanza analítica RADWAG ® AS220/cC/2

>Rotavapor Buchi ® R210

>Lámpara UV (254 nm y 365 nm) Viber Loumat ®

>Espectrofotómetro (RMN) Bruker Spectrometer ® model AVANCE 400

>Placa calefactora/ agitador magnético Fargo ® HMS-102 Thermolyne (50-350°C)

>Punto de fusión STUART ® SMP30

>Lector de microplacas ELx808 BioTek ®

>Cámara de flujo laminar clase II ESCO ®

>Incubadora *Memmert* ®

>Baño termoregulado *Memmert* ®

## **Consideraciones generales**

### **-Espectros de resonancia magnética nuclear (RMN)**

Los espectros de resonancia magnética nuclear ( $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN), se registraron en un Espectrofotómetro Bruker Spectrometer ® model AVANCE 400;  $^1\text{H}$  a 400 MHz y  $^{13}\text{C}$  a 100,623 MHz. Las muestras fueron disueltas en cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ). Como referencia interna se utilizó tetrametilsilano (TMS). Los desplazamientos químicos se expresan en escala de ppm (partes por millón) y las constantes de acoplamiento  $J$ , en Hz.

### **-Cromatografía en capa fina (TLC)**

Se realizaron en cromatofolios de aluminio con gel de sílice Merck ® 60 F 254. La cromatografía se desarrolló con mezclas de acetato de etilo ( $\text{AcOEt}$ )/hexano, en las proporciones adecuadas para cada caso. Los cromatogramas se revelaron con luz ultravioleta (254 nm) y/o con mezcla Hanessian, calentando posteriormente a  $120^\circ\text{C}$ .

**-Cromatografía en columna**

Se realizó en gel de sílice Merck ® 60 G de 0,032- 0,063nm, eluídas con mezclas de AcOEt/ Hexano en polaridad creciente.

**-Condiciones para el cultivo celular**

Los cultivos celulares experimentales se obtuvieron del American Type Culture Collection (Rockville, MD, USA). Corresponden a células MCF-7 (cáncer de mama), HT-29 (adenocarcinoma de colon), PC-3 (cáncer de próstata) y CoN (células epiteliales de colon). Se cultivaron en medio Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM) conteniendo 10% de suero fetal bovino (FBS), 100UI/mL de penicilina, 100 ug/mL de estreptomycin y 1nM de glutamina. Para el experimento las células fueron sembradas en placas de 96 pocillos con densidades aproximadas de 3000 células/pocillo. Tras la siembra las placas se mantuvieron a 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% aire y 100% de humedad relativa durante las 24 horas previas al experimento.

**-Ensayo de viabilidad celular**

El ensayo de sulforrodamina B (SRB) fue usado de acuerdo al método de Skehan y colaboradores con alguna modificación. Las líneas celulares se cultivan en las condiciones normales anteriormente descritas. El compuesto a evaluar se solubiliza en dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 100-1000 veces la

concentración final deseada (0,1M) y se almacena a -20°C. En general, se prepararán cuatro concentraciones del compuesto más el control (células cultivadas solo en presencia del solvente). 10 uL de las diferentes diluciones del compuesto se añaden a los pocillos que tienen 100 uL de DMEM. Las células son fijadas in-situ por adición de 25 uL de ácido tricloroacético (TCA) frío 50% p/v (concentración final, 10% TCA) e incubadas durante 60 minutos a 4°C. El medio (sobrenadante) es descartado mediante el lavado de las placas (3-5 veces) con agua y luego son secadas al aire. Posteriormente se añaden 50 uL de solución de SRB al 0,1% en ácido acético 1% a cada pocillo, posteriormente las placas son incubadas durante 30 minutos a temperatura ambiente. Tras la tinción, se realizan tres lavados con ácido acético 1% y se secan al aire. Finalmente el material teñido es solubilizado en 100 uL de solución 10 mM trizma base. La densidad óptica (DO) se mide en un lector de placas de ELISA a 540 nm.

#### **-Cálculos de porcentaje de viabilidad**

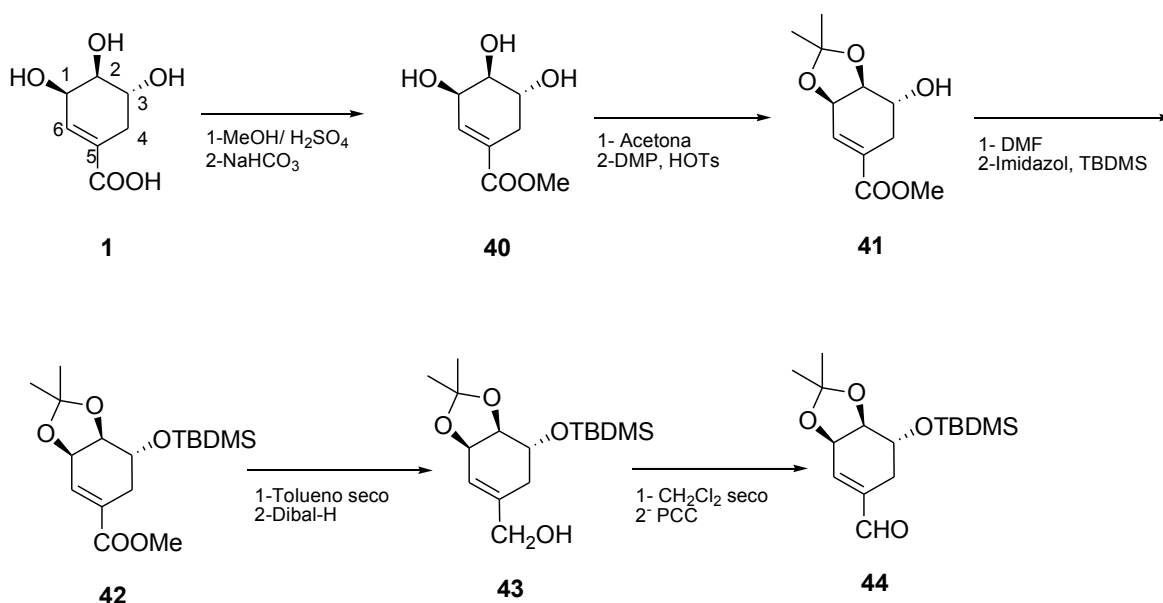
El análisis de los resultados se expresó como el promedio de los valores de densidad óptica y de los valores de desviación estándar (DS) calculados para cada concentración de compuesto evaluado, comparados con el control correspondiente (DMSO). El porcentaje de viabilidad se obtuvo de la siguiente forma:

$$\% \text{ viabilidad} = (\text{DO células tratadas} / \text{DO células control}) \times 100.$$

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## Síntesis del aldehído $\alpha,\beta$ -insaturado **44**

Como se planteó en el análisis retrosintético (Esquema 5), la obtención del aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44** es necesaria para la síntesis de los dienos **45** y **46**. Para realizar la síntesis de **44**, previamente fue necesario llevar a cabo la protección selectiva de los grupos hidroxilo presentes en el (-)-ácido shikímico (**1**), como se muestra en el Esquema 6.



**Esquema 6:** Síntesis de aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44**.

Mediante una esterificación de Fischer de (-)-ácido shikímico (**1**), se obtuvo el metiléster **40** como un sólido blanco, con un rendimiento cuantitativo. La protección selectiva de los alcoholes de las posiciones 1 y 2, con 2,2-dimetoxipropano, dio como resultado el cetal **41** con un 79% de rendimiento.

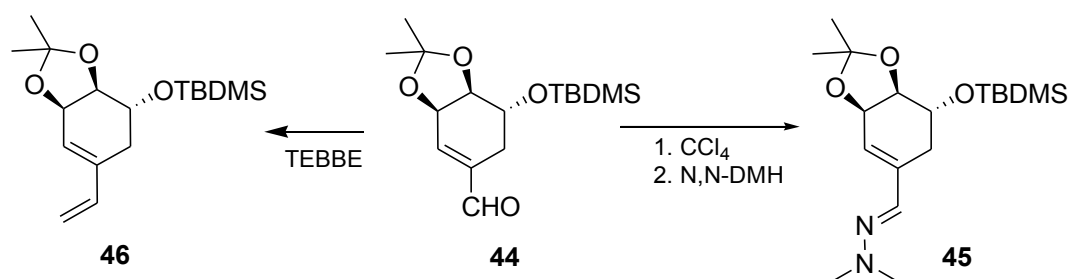
Luego, la protección del alcohol en posición 3 se llevó a cabo con el reactivo Cl-TBDMSi dando como resultado el compuesto sililado **42** con un 95% de rendimiento. La posterior reducción del metiléster con DIBAL-H produjo el alcohol **43** con un 95% de rendimiento. Por último, por oxidación del alcohol **43** con PCC se obtuvo el aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44** con un 91% de rendimiento. El porcentaje de rendimiento total del aldehído **44** desde (-)-ácido shikímico (**1**) fue de un 65%. Cabe mencionar que el aldehído **44** mostró ser muy inestable, esto se determinó ya que después de 15 minutos, por medio de cromatografía en capa fina se observó una descomposición del compuesto.

### Síntesis de los dienos **45** y **46**

La síntesis del aza-dieno **45** se logró por adición de *N,N*-dimetilhidracina sobre el aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44**. Esta reacción se llevo a cabo utilizando  $\text{CCl}_4$  como solvente y se agitó a temperatura ambiente por 24 horas. La reacción se monitorizó por cromatografía en capa fina y se observó la presencia de un solo producto mayoritario, el cual fue purificado por cromatografía en columna. El aza-dieno **45** se obtuvo como un sólido de color blanco, con un 77% de rendimiento. Cabe destacar que la reacción de síntesis se llevó a cabo en un solo paso desde el alcohol alílico **43**, hasta la obtención del aza-dieno **45**. Esto implicó, que luego de finalizar la reacción para la obtención del aldehído **44**, el crudo fue

filtrado e inmediatamente se hizo reaccionar con *N,N*-dimetilhidracina, sin purificación por cromatografía en columna del aldehído **44**.(Esquema 7)

Al igual que en la síntesis del aza-dieno **45**, el carba-dieno **46** se sintetizó en un solo paso desde el alcohol alílico **43**, esto se hizo adicionando reactivo de TEBBE a una solución del aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44**. La reacción se agitó por 24 horas a temperatura ambiente y luego se monitorizó por cromatografía en capa fina, observándose un solo producto de reacción. El crudo se purificó por cromatografía en columna, obteniéndose el carba-dieno **46** como un aceite amarillo pálido con un 50% de rendimiento.

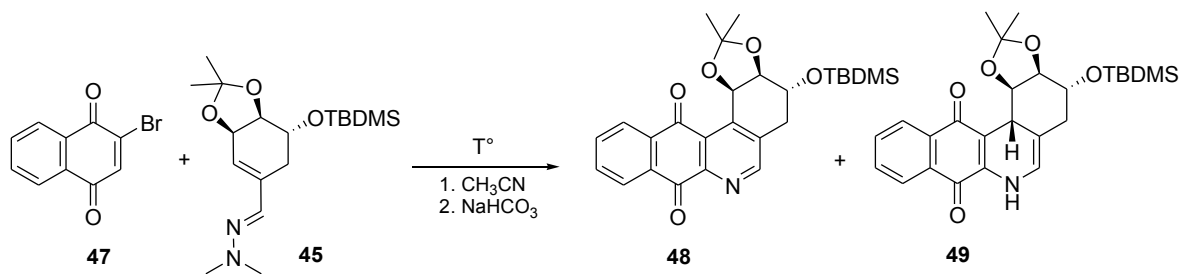


**Esquema 7:** Síntesis de aza-dieno **45** y carba-dieno **46**.

### Acoplamiento de aza-dieno (**45**) con 2-bromonaftoquinona (**47**)

La 2-bromonaftoquinona (**47**) ha sido reportada como una quinona altamente reactiva en las reacciones de cicloadición Diels-Alder, debido a que la presencia del bromo modula y dirige la reacción de cicloadición al polarizar el doble enlace no sustituido de la quinona para que reaccione con el dieno<sup>39</sup>. Por esta razón se escogió esta quinona para realizar el ensayo preliminar de acoplamiento.

La reacción de Diels-Alder entre el aza-dieno **45** y 2-bromonaftoquinona (**47**), utilizando CH<sub>3</sub>CN como solvente a temperatura de ebullición, produce los aza-análogos de anguciclina **48** y **49**, con un porcentaje de rendimiento de 8 y 15%, respectivamente. Para el compuesto **49**, se intentó realizar su aromatización, sin embargo, ensayos con DDQ y Ag<sub>2</sub>O fueron infructuosos, llevando a la descomposición del producto.



**Esquema 8:** Acoplamiento de aza-dieno (**45**) y 2-bromonaftoquinona (**47**).

La asignación estructural de los compuestos **48** y **49** se realizó mediante análisis espectroscópicos de RMN monodimensionales (1D de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ ) y bidimensionales (2D HMBC Y HSQC) mostrados en los anexos.

La asignación del fragmento aromático en el compuesto **48**, se determinó debido a que, en el espectro de  $^1\text{H}$ , aparecen tres señales aromáticas a  $\delta = 8,36\text{-}8,34$  ppm (1H, m),  $\delta = 8,32\text{-}8,31$  ppm (1H, m) y  $\delta = 7,84\text{-}7,80$  ppm (2H, m).

La señal a  $\delta = 8,36\text{-}8,34$  ppm fue asignada como H-11, correlacionada con C-11 ( $\delta_{\text{C}} = 127,3$  ppm) por 2D HSQC, esto fue comprobado indirectamente por 2D HMBC, el cual muestra acoplamiento a larga distancia  $^3J$  de H-11 con el carbono carbonílico C-12 ( $\delta_{\text{C}} = 181,7$  ppm).

La señal a  $\delta = 8,32\text{-}8,31$  ppm fue asignada como H-8 y correlacionada con C-8 ( $\delta_{\text{C}} = 127,6$  ppm) por 2D HSQC, esto fue comprobado indirectamente por correlación 2D HMBC, debido a que presenta acoplamiento a larga distancia  $^3J$  de H-8 con el carbono carbonílico C-7 ( $\delta_{\text{C}} = 184,5$  ppm).

La señal a  $\delta = 7,84\text{-}7,80$  ppm fue asignada como H-9 y H-10 y correlacionada con los carbonos C-9 ( $\delta_{\text{C}} = 134,5$  ppm) y C-10 ( $\delta_{\text{C}} = 134,2$  ppm) respectivamente, por 2D HSQC.

En el espectro  $^1\text{H}$  también se observa una señal singlete a  $\delta = 8,82$  ppm asignada como H-5 y correlacionada con C-5 ( $\delta_{\text{C}} = 155,3$  ppm) por 2D HSQC.

En el espectro de  $^1\text{H}$  se observan dos señales a  $\delta = 3,23$  ppm (1H, d,  $J = 16,0$  Hz) y  $\delta = 2,87$  ppm (1H, dd,  $J = 3,0, 16,0$  Hz) asignadas ambas como los hidrógenos H-4.

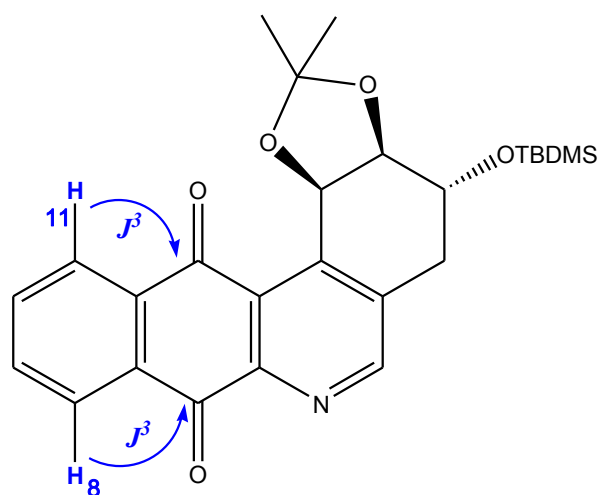
La señal a  $\delta_c = 144,7$  ppm fue asignada como C-12b, debido principalmente a la correlación heteronuclear a larga distancia  $^2J$  con H-1 y  $^3J$  con los H-4.

La señal a  $\delta_c = 128,0$  ppm fue designada como C-12a por su correlación heteronuclear  $^3J$  con H-1. La señal a  $\delta_c = 136,6$  ppm fue asignada como C-4a por su correlación  $^3J$  con H-1 y  $^2J$  con H-4.

La señal a  $\delta_c = 149,0$  ppm fue asignada como C-6a por su relación heteronuclear  $^3J$  con H-5.

La señal a  $\delta_c = 134,1$  ppm fue asignada como C-11a por su relación heteronuclear  $^2J$  con H-11.

Finalmente la señal a  $\delta_c = 132,4$  ppm fue asignada como C-7a por su correlación  $^2J$  con H-8.



**Figura 9:** Correlación  $J^3$  compuesto 48.

La determinación estructural del compuesto **49** se basó en la siguiente información, en el espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN se observan dos señales a  $\delta_{\text{c}} = 182,6$  ppm y  $\delta_{\text{c}} = 180,6$  ppm correspondientes a los grupos carbonilo de la quinona. El carbono carbonílico C-12 fue asignado a  $\delta_{\text{c}} = 182,6$  ppm, debido a que en el espectro 2D HMBC el hidrogeno H-12b ( $\delta = 3,87$  ppm) presenta un acoplamiento a larga distancia  $^3J$  con esta señal, quedando asignada indiscutiblemente el carbono C-12 y C-7 respectivamente. Por otra parte en el espectro de  $^1\text{H}$  del compuesto **49**, se observan cuatro señales aromáticas a  $\delta = 8,13$  ppm (1H, d,  $J = 7,6$  Hz),  $\delta = 7,98$  ppm (1H, d,  $J = 7,6$  Hz),  $\delta = 7,69$  ppm (1H, dd,  $J = 7,3, 7,6$ ) y  $\delta = 7,58$  ppm (1H, dd,  $J = 7,3, 7,6$ ).

La señal a  $\delta = 8,13$  ppm fue asignada como H-11 y correlacionada con C-11 ( $\delta_{\text{c}} = 126,5$  ppm) por 2D HSQC, esto fue comprobado indirectamente por correlación 2D HMBC  $^3J$  de H-11 con el carbono carbonílico C-12 ( $\delta_{\text{c}} = 182,6$  ppm). La señal a  $\delta = 7,98$  ppm fue asignada como H-8 y correlacionada con C-8 ( $\delta_{\text{c}} = 125,6$  ppm) por 2D HSQC, esto fue comprobado indirectamente por correlación 2D HMBC, debido principalmente a la correlación a larga distancia  $^3J$  de H-8 con el carbono carbonílico C-7 ( $\delta_{\text{c}} = 180,6$  ppm). Por otra parte el H-9 fue asignado a  $\delta = 7,69$  ppm y correlacionada con el carbono C-9 ( $\delta_{\text{c}} = 125,6$  ppm) por 2D HSQC, esto fue comprobado indirectamente por correlación 2D HMBC, con una correlación a larga distancia  $^3J$  entre H-11 y C-9. Por lo tanto, la señal a  $\delta = 7,58$  ppm fue asignada como H-10.

En el espectro  $^1\text{H}$  también se observa una señal singlete ancho a  $\delta = 6,85$  ppm que integra para  $^1\text{H}$ , la cual fue asignada como H-6. Por último, la señal doblete en  $\delta = 6,02$  ( $J = 3,84$  Hz) fue asignada como H-5.

La estereoquímica de H-12b del compuesto **49** (aducto) fue asignada por espectroscopía de  $^1\text{H}$ -RMN, en donde la señal de H-12b se observa como un doblete a  $\delta = 3,87$  ppm y presenta una constante de acoplamiento de 8,7 Hz con H-1.

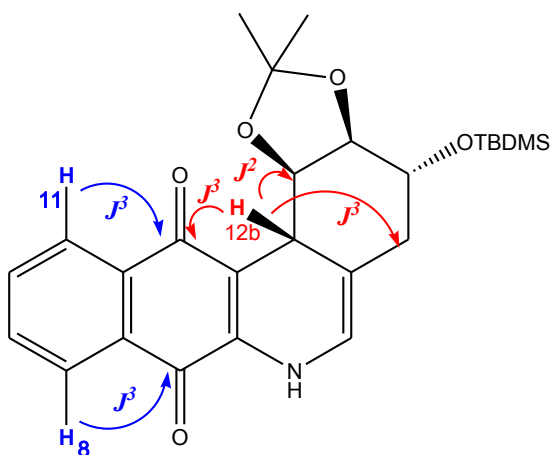
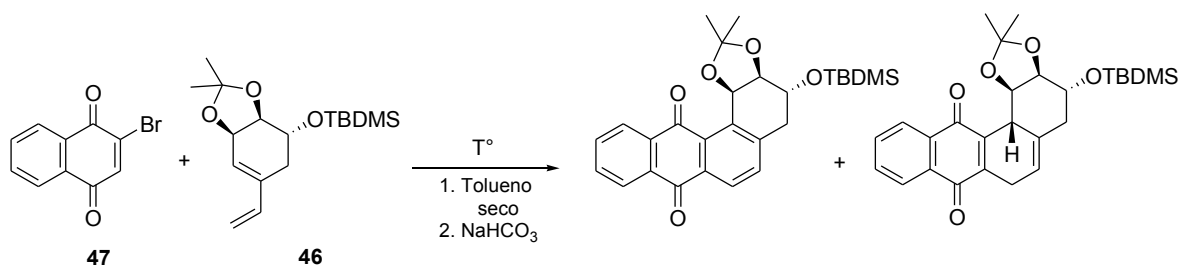


Figura 10: Correlación  $J^2$  y  $J^3$  compuesto **49**.

Una vez obtenidos los compuestos finales, se intentó realizar la desprotección de los grupos hidroxilos. Inicialmente al tratar de desproteger el grupo silil con reactivo TBAF, esto condujo a la descomposición de las quinonas obtenidas. De igual manera, al tratar las quinonas en medio ácido (HOTs), para desproteger el grupo cetal, se produjo la descomposición de los productos.

### Acoplamiento de carba-dieno (**46**) con 2-bromonaftoquinona (**47**)

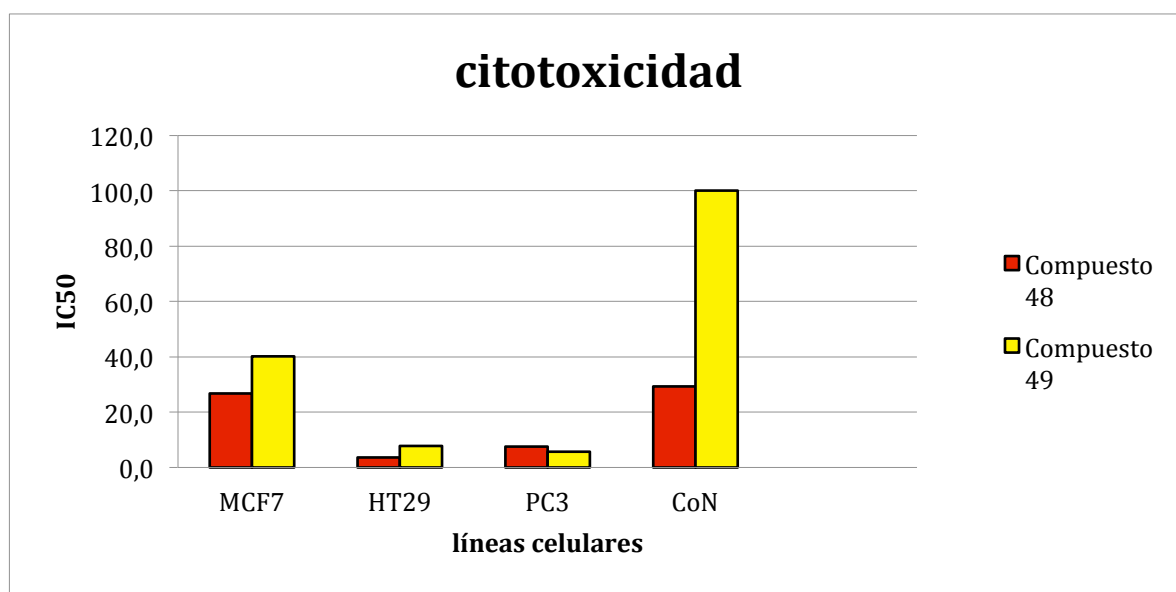
La reacción de Diels-Alder entre el carba-dieno (**46**) y 2-bromonaftoquinona (**47**), utilizando tolueno anhidro como solvente a temperatura de ebullición, no tuvo éxito ya que no se produjo el acoplamiento, pues solo se recuperaron los compuestos de partida luego de pasar el crudo por cromatografía en columna. Se cree que el acoplamiento no se produjo debido a que el carba-dieno **46** se encuentra impedido estéricamente y además está desactivado, condiciones que no favorecerían la reacción de cicloadición Diels-Alder. Sin embargo se cree que el factor que más influye en el fracaso de este acoplamiento es el impedimento estérico que presenta el carba-dieno sintetizado **46**, tomando en cuenta que en el año 2003 Karsten y colaboradores lograron acoplar exitosamente los dienos **20** y **21** con un derivado bromado de juglona (**19**) vía reacción de cicloadición Diels-Alder. En el caso reportado los dienos también se encontraban desactivados, pero a diferencia del carba-dieno **46**, los dienos **20** y **21** no se encontraban impedidos estéricamente, por esto se propone tomar en cuenta este factor a la hora de realizar acoplamientos con dienos desactivados por esta vía.



**Esquema 9:** Acoplamiento de carba-dieno (46) y 2-bromonaftoquinona (47).

## Actividad biológica de los compuestos 48 y 49

En el Gráfico 1 se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de actividad biológica para los compuestos **48** y **49** en cada una de las líneas celulares en que fueron estudiados. La citotoxicidad se representa a través del  $IC_{50}$  registrado para cada compuesto en una línea celular específica.



**Gráfico 1:**  $IC_{50}$  de los compuestos **48** y **49** frente a distintas líneas celulares estudiadas.

Al comparar la actividad citotóxica de los compuestos **48** y **49**, vemos claramente que el compuesto **48**, correspondiente al derivado aromático, presentó una mayor actividad citotóxica frente a todas las líneas celulares estudiadas, excepto en la línea celular PC-3 de cáncer de próstata, en que el compuesto **49** mostró una potencia citotóxica levemente superior al compuesto **48**. Sin embargo

también se observa que el compuesto **49** presenta un mayor índice de selectividad, ya que no afecta a la línea de células sanas ( $IC_{50} > 100 \mu M$ ).

En la tabla 1 se presentan los valores detallados de  $IC_{50}$  obtenidos para cada compuesto en cada línea celular estudiada.

**Tabla 1:**  $IC_{50}$  de los compuesto **48** y **49** en distintas líneas celulares.

Compuesto	$IC_{50} \pm DS (\mu M)$			
	MCF-7	HT-29	PC-3	CoN
<b>48</b>	$26,8 \pm 6,7$	$3,7 \pm 0,8$	$7,6 \pm 1,2$	$29,4 \pm 2,4$
<b>49</b>	$40,1 \pm 7,4$	$7,8 \pm 0,9$	$5,7 \pm 1,3$	>100

El compuesto **49** muestra un  $IC_{50}$  de  $40,1 \pm 7,4 \mu M$ , valor superior al obtenido para el compuesto **48** ( $26,8 \pm 6,7 \mu M$ ) en la línea celular MCF-7 de cáncer de mama, lo que representa un menor potencial citotóxico para el compuesto **49**.

El compuesto **49** muestra un  $IC_{50}$  de  $7,8 \pm 0,9 \mu M$ , valor superior al obtenido para el compuesto **48** ( $3,7 \pm 0,8 \mu M$ ) en la línea celular HT-29 de cáncer de próstata, lo que representa un menor potencial citotóxico para el compuesto **49**.

El compuesto **49** muestra un  $IC_{50}$  de  $5,7 \pm 1,3$   $\mu$ M, valor inferior al obtenido para el compuesto **48** ( $7,6 \pm 1,2$   $\mu$ M) en la línea celular PC-3 de cáncer de colon, lo que representa un mayor potencial citotóxico para el compuesto **49**.

El compuesto **49** muestra un  $IC_{50} > 100$   $\mu$ M, valor superior al obtenido para el compuesto **48** ( $29,4 \pm 2,4$   $\mu$ M) en la línea de células epiteliales de colon CoN, lo que representa un mayor índice de selectividad para el compuesto **49**.

**6. CONCLUSIONES.**

Se logró llevar a cabo la protección selectiva de los grupos hidroxilo presentes en (-)- ácido shikímico (**1**), según la secuencia sintética presentada en el Esquema 6.

Se logró sintetizar el aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44** a partir de (-)-ácido shikímico (**1**), en una secuencia de 5 pasos con un rendimiento total de 64% según la secuencia sintética presentada en el Esquema 6.

Se logró llevar a cabo la síntesis del aza-dieno **45** y el carba-dieno **46** a partir del aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **44**, según la secuencia sintética presentada en el Esquema 7.

El acoplamiento mediante la reacción de cicloadición Diels- Alder entre el aza-dieno **45** y 2-bromonaftoquinona (**47**) fue exitoso, obteniéndose dos productos mayoritarios, con un 15% y un 8% de rendimiento.

Los intentos de aromatización del compuesto **49** fueron infructuosos.

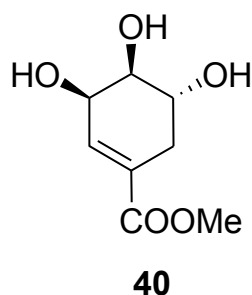
Los porcentajes de rendimiento en la reacción de cicloadición Diels-Alder fueron bajos, esto pudo deberse a la presencia de grupos protectores voluminosos en (-)-ácido shikímico (**1**), lo que llevó a una baja reactividad de los dienos sintetizados.

No se logró el acoplamiento entre el carba-dieno **46** y 2-bromonaftoquinona (**47**) mediante la reacción de cicloadición Diels-Alder.

En general, el potencial citotóxico del compuesto aromático **48** es mayor al presentado por el compuesto **49**, sin embargo, el compuesto **49** posee la ventaja de presentar un elevado índice de selectividad sobre células cancerígenas, sin disminuir drásticamente su potencial citotóxico, propiedad no mostrada por el compuesto **49**.

## **7. EXPERIMENTAL.**

### 7.1. Síntesis del compuesto 40

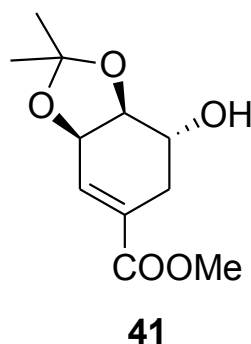


A una solución de (-)-ácido shikímico (**1**) (1 g, 5,75 mmol) en 50 mL de MeOH, se agregaron 5 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La solución resultante se agitó por 24 horas a 65 °C, transcurrido este tiempo se agregó NaHCO<sub>3</sub> (1 g, 11,90 mmol) y se agitó por otros 30 minutos. La suspensión resultante se filtró, se concentró y luego se purificó por cromatografía en columna y se obtuvo el compuesto **40** como un sólido de color blanco, con un punto de fusión de 114-115 °C, de forma cuantitativa. (1,1 g, Rendimiento cuantitativo).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 6,78 (1H, dt, *J*= 1,7; 3,2 Hz; H-6); 4,37-4,35 (1H, m, H-1); 3,98 (1H, dt, *J*= 5,2; 7,2 Hz; H-3); 3,73 (3H, s, O-CH<sub>3</sub>); 3,68 (1H, dd, *J*= 4,2; 7,2 Hz; H-2); 2,68 (1H, ddt, *J*= 1,7; 5,2; 18,2 Hz; H-4); 2,19 (1H, ddt, *J*= 1,7; 5,2; 18,2 Hz; H-4).

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 168,7 (C-7); 139,1 (C-6); 130,2 (C-5); 72,6 (C-2); 68,4 (C-1); 67,2 (C-3); 52,3 (C-8); 31,4 (C-4). Los datos espectrofotométricos de este compuesto concuerdan con los presentados en referencia bibliográfica<sup>40</sup>.

## 7.2. Síntesis del compuesto 41

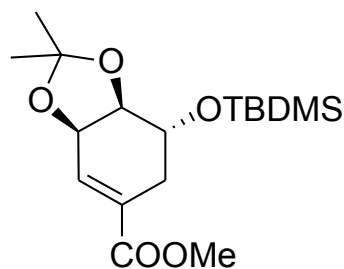


El compuesto **40** (1 g, 5,31 mmol) fue agregado lentamente en 20 mL de  $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ , la suspensión resultante se agitó por 15 minutos. Luego se agregó 2,2-dimetoxipropano (11 mL, 87,20 mmol) y HOTs (0,22 g, 0,93 mmol). La suspensión se agitó por 24 horas a temperatura ambiente, finalizado este tiempo el solvente se evaporó hasta sequedad. El crudo obtenido se separó por columna cromatográfica obteniéndose el compuesto **41**. (0,96 g, 79% Rendimiento).

$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6,85 (1H, d,  $J$ = 0,8 Hz; H-6); 4,70 (1H, dd,  $J$ = 4,3; 4,8 Hz; H-1); 4,05 (1H, dd,  $J$ = 6,8; 8,0 Hz; H-2); 3,87-3,82 (1H, m, H-3); 3,71 (3H, s, H-8); 2,71 (1H, dd,  $J$ = 17,6; 4,4 Hz; H-4); 2,20 (1H, dd,  $J$ = 16,0; 4,1 Hz; H-4); 1,38 (3H, s, H-10)\*; 1,34 (3H, s, H-11)\*. (\*) Señales intercambiables.

$^{13}\text{C}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166,6 (C-7); 133,9 (C-6); 130,3 (C-5); 109,6 (C-9); 77,7 (C-2); 72,1 (C-1); 68,5 (C-3); 52,1 (C-8); 29,2 (C-4); 27,8 (C-10)\*; 25,6 (C-11)\*. (\*) Señales intercambiables.

### 7.3. Síntesis del compuesto 42



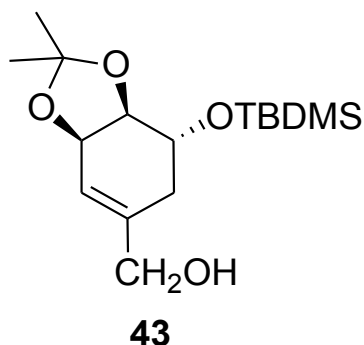
**42**

A una solución del compuesto **41** (1,05 g, 4,60 mmol) en 30 mL de DMF, se le adicionó imidazol (1,56 g, 22,91 mmol) y Cl- TBDMSi (1,47 g, 9,70 mmol), la mezcla de reacción se agitó por 24 horas a temperatura ambiente hasta la desaparición del compuesto **41**. Luego el solvente se evaporó a sequedad y el crudo resultante se purificó por cromatografía en columna, obteniendo el compuesto **42**. (1,51 g, 95% Rendimiento).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6,83 (1H, sa, H-6); 4,69 (1H, sa, H-1); 4,06-4,05 (2H, m, H-2 + H-3); 3,75 (3H, s, H-8); 2,55 (1H, d,  $J= 16,4$  Hz; H-4); 2,30 (1H, d,  $J= 16,8$  Hz; H-4); 1,37 (3H, s, H-10 + H-11)\*; 0,85 (9H, s, H-15 + H-16 + H-17); 0,08 (3H, s, H-12)\*; 0,06 (3H, s, H-13). (\*) Señales intercambiables.

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166,8 (C-7); 134,4 (C-6); 129,0 (C-5); 109,2 (C-9); 76,7 (C-2); 72,2 (C-1); 68,5 (C-3); 51,7 (C-8); 29,3 (C-4); 27,8 (C-10); 25,9 (C-11); 25,6 ( $(\text{C}_3\text{H}_7)_3\text{C}$ ); -4,9 (CH3-Si)\*; -5,0 (CH3-Si)\*. (\*) Señales intercambiables.

#### 7.4. Síntesis del compuesto 43

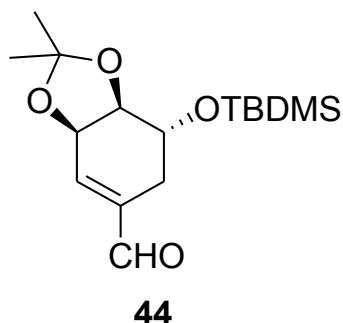


Se agregó gota a gota reactivo DIBAL-H (8,26 mL 1M en tolueno, 8,26 mmol) a una solución del compuesto **42** (0,94 g, 2,74 mmol) en 30 mL de tolueno anhidro, bajo ambiente de nitrógeno y a una temperatura de  $-76\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posterior a este paso, la solución se llevó a temperatura ambiente y se agitó por 2 horas. A la mezcla de reacción se agregó  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (acuoso) y se diluyó con  $\text{Et}_2\text{O}$ . La mezcla de reacción se extrajo con  $\text{Et}_2\text{O}$  y el crudo resultante se filtró por columna de sílice usando  $\text{Et}_2\text{O}$  como eluyente. El filtrado se concentró y se obtuvo el compuesto **43**. (0,82 g, 95% Rendimiento).

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 5,80 (1H, sa, OH-(C-7)); 4,65 (1H, sa, H-1); 4,06-4,01 (2H, m, H-2 + H-3); 2,24 (1H, d,  $J= 16,4$  Hz; H-4); 2,02 (1H, d,  $J= 16,8$  Hz; H-4); 1,45 (3H, s, H-10)\*; 1,38 (3H, s, H-11)\*; 0,88 (9H, s, H-15 + H-16 + H-17); 0,10 (3H, s, H-12)\*; 0,10 (3H, s, H-13)\*

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 140,1 (C-6); 118,7 (C-5); 108,9 (C-9); 78,7 (C-2); 72,9 (C-1); 69,9 (C-3); 66,2 (C-7); 30,3 (C-4); 28,3 (C-10); 26,2 (C-11); 25,9 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); 18,2 (C-14); -4,3 ( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )\*; -4,6( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )\*. (\*) Señales intercambiables.

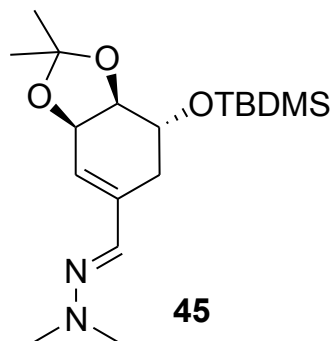
### 7.5. Síntesis del compuesto **44**



A una solución del compuesto **43** (0,60 g, 1,91 mmol) en 20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  p.a., se agregó el reactivo PCC (1,20 g, 5,38 mmol). La mezcla de reacción se agitó por 1 hora, pasado este tiempo se agregó  $\text{Et}_2\text{O}$  y el residuo gomoso se filtró en una columna corta de sílice, usando como eluyente AcOEt. El filtrado se concentró, obteniéndose el compuesto **44** suficientemente puro para continuar la síntesis (0,54 g, 91% Rendimiento)

No se ha obtenido un espectro limpio del compuesto **44**, debido a su rápida descomposición.

## 7.6. Síntesis del aza-dieno **45**

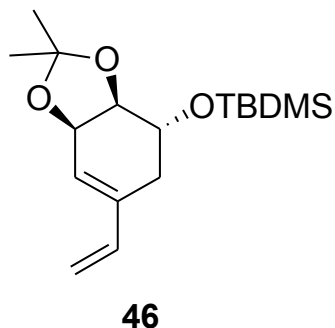


Se agregó gota a gota reactivo *N,N*-dimetilhidracina (0,20 mL, 2,66 mmol) a una solución del compuesto **44** (0,54 g, 1,73 mmol) en 30 mL de CCl<sub>4</sub> con MgSO<sub>4</sub>. La mezcla de reacción se agitó por 24 horas a temperatura ambiente, finalmente el crudo obtenido se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose el compuesto **45** como un sólido de color blanco, con un punto de fusión de 70,5-71,0 °C. (0,47 g, 77% Rendimiento).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 6,93 (1H, s, H-7); 5,75 (1H, d, *J*= 2,6 Hz; H-6); 4,75 (1H, t, *J*= 4,6 Hz; H-1); 4,04 (1H, t, *J*= 6,6 Hz; H-2); 3,93-3,88 (1H, m, H-3); 2,86 (6H, s, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>N); 2,71 (1H, dd, *J*= 4,4; 17,2 Hz; H-4); 2,21 (1H, dd, *J*= 7,9; 17,2 Hz; H-4); 1,44 (3H, s, H-9)<sup>#</sup>; 1,39 (3H, s, H-10)<sup>#</sup>; 0,88 (9H, s, H-13 + H-14 + H-15); 0,09 (3H, s, H-11)<sup>\*</sup>; 0,07 (3H, s, H-12)<sup>\*</sup>. (<sup>#</sup>) (<sup>\*</sup>) Señales intercambiables.

<sup>13</sup>C-RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ: 137,5 (C-5); 134,6 (C-7); 122,6 (C-6); 108,8 (C-8); 78,8 (C-2); 73,3 (C-1); 69,8 (C-3); 42,7 (C-11 + C-12); 29,8 (C-4); 28,2 (C-9); 26,1 (C-10); 25,8 ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C); 18,4 (C-15); -4,6 (CH<sub>3</sub>-Si)<sup>\*</sup>; -4,7 (CH<sub>3</sub>-Si)<sup>\*</sup>. (<sup>\*</sup>) Señales intercambiables.

### 7.7. Síntesis del carba-dieno **46**



Se agregó gota a gota reactivo de TEBBE (3,84 mL, 1,92 mmol) a una solución del compuesto **44** (0,60 g, 1,92 mmol) en 30 mL tolueno seco, bajo ambiente de nitrógeno y a una temperatura de -76 °C. Luego la mezcla de reacción fue llevada a temperatura ambiente, donde se agitó por 24 horas. Finalmente el crudo obtenido se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose el compuesto **46**. (0,29 g, 50% Rendimiento).

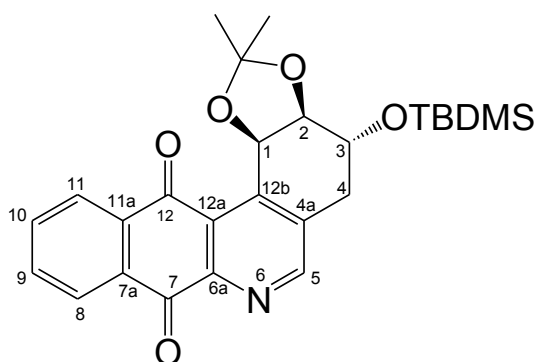
$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6,38 (1H, dd,  $J=17,4$ ; 10,7 Hz; H-7); 5,75 (1H, d,  $J= 2,6$  Hz; H-6); 5,24 (1H, d,  $J= 17,4$  Hz; H-8); 5,12 (1H, d,  $J= 10,7$  Hz; H-8); 4,70 (1H, t,  $J=4,8$  Hz; H-1); 4,02 (1H, t,  $J= 6,4$  Hz; H-2); 3,96-3,91 (1H, m, H-3); 2,42 (1H, dd,  $J= 7,7$ ; 16,6 Hz; H-4); 2,09 (1H, dd,  $J= 4,6$ ; 16,6 Hz; H-4); 1,43 (3H, s, H-11)<sup>#</sup>; 1,38 (3H, s, H-10)<sup>#</sup>; 0,89 (9H, s, H-15 + H-16 + H-17); 0,10 (3H, s, H-12)<sup>\*</sup>; 0,07 (3H, s, H-13)<sup>\*</sup>. (<sup>#</sup>) (<sup>\*</sup>) Señales intercambiables.

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 138,5 (C-7); 137,0 (C-5); 126,1 (C-6); 114,3 (C-8); 109,0 (C-9); 78,4 (C-2); 73,3 (C-1); 69,8 (C-3); 30,3 (C-4); 28,3 (C-10); 26,2 (C-11); 25,9 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); 18,2 (C-14); -4,36 ( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )<sup>\*</sup>; -4,61 ( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )<sup>\*</sup>. (<sup>\*</sup>) Señales intercambiables.

### 7.8. Reacción entre aza-dieno **45** y 2-bromonaftoquinona (**47**)

A una solución del compuesto **45** (0,10 g, 0,28 mmol) en 10 mL de CH<sub>3</sub>CN, se le agrega 2-bromonaftoquinona (**47**) (0,08 g, 0,51 mmol) y NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla de reacción se agitó a reflujo por 72 horas y luego se monitorizó por cromatografía en capa fina. El crudo resultante se llevó a sequedad y se purificó por columna cromatográfica, obteniéndose dos compuestos mayoritarios (**48** y **49**).

**Compuesto 48**, como un aceite anaranjado (0,01 g, 8% Rendimiento).

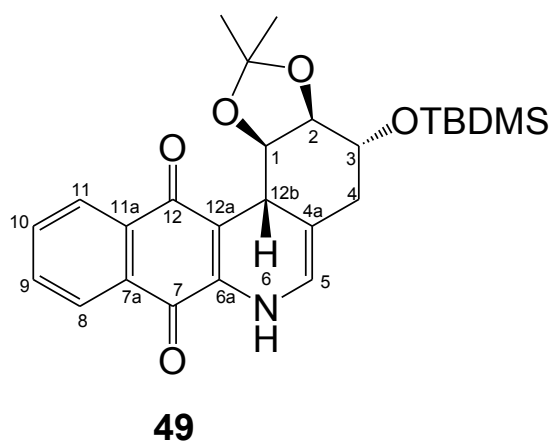


**48**

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8,82 (1H, s, H-5); 8,36-8,34 (1H, m, H-11); 8,32-8,31 (1H, m, H-8); 7,84-7,80 (2H, m, H-9 + H-10); 6,51 (1H, d,  $J= 6,1$  Hz; H-1); 4,40-4,37 (2H, m, H-2 + H-3); 3,23 (1H, d,  $J= 16,0$  Hz; H-4); 2,87 (1H, dd,  $J= 3,0; 16,0$  Hz; H-2); 1,55 (3H, s, H-14)\*; 1,27 (3H, s, H-15)\*; 0,71 (9H, s,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); 0,03 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-Si}$ ); -0,02 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-Si}$ ). (\*) Señales intercambiables

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 184,5 (C-7); 181,7 (C-12); 155,3 (C-5); 149,0 (C-6a); 144,7 (C-12b); 136,6 (C-4a); 134,5 (C-9)\*; 134,2 (C-10)\*; 134,1 (C-11a); 132,4 (C-7a); 128,0 (C-12a); 127,6 (C-8); 127,3 (C-11); 109,1 (C-13); 76,6 (C-2); 70,6 (C-1); 68,1 (C-3); 31,4 (C-4); 27,1 (C-15)<sup>^</sup>; 25,5 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); 25,0 (C-14)<sup>^</sup>; 17,8 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); -4,8 ( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )<sup>#</sup>; -4,9 ( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )<sup>#</sup>. (\*) (<sup>#</sup>) (<sup>^</sup>) Señales intercambiables.

**Compuesto 49**, como un sólido de color morado (0,02 g, 15% Rendimiento).



$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8,13 (1H, d,  $J = 7,6$  Hz; H-11) 7,98 (1H, d,  $J = 7,6$  Hz; H-8); 7,70 (1H, dd,  $J = 7,1$ ; 7,5 Hz; H-9); 7,60 (1H, dd,  $J = 7,4$ ; 7,5 Hz; H-10); 6,86 (1H, sa, H-6); 6,02 (1H, d,  $J = 3,8$  Hz; H-5); 4,23 (2H, m, H-3+ H-1); 4,00 (1H, dd,  $J = 4,5$ ; 4,7 Hz; H-2); 3,96 (1H, d,  $J = 8,7$ ; H-12b); 2,56 (1H, dd,  $J = 4,5$ ; 14,1; H-4); 2,07 (1H, dd,  $J = 4,0$ ; 14,1 Hz; H-4); 1,79 (3H, s, H-14)\*; 1,33 (3H, s, H-15)\*; 0,88 (9H, s,  $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); 0,08 (6H, s,  $(\text{CH}_3)_2\text{-Si}$ ). (\*) Señales intercambiables.

$^{13}\text{C-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 182,7 (C-12); 180,6 (C-7); 139,7 (C-6a); 134,5 (C-8); 133,5 (C-7a); 131,9 (C-10); 130,1 (C-11a); 126,6 (C-11); 125,6 (C-9); 119,8 (C-5); 112,7 (C-4a); 110,0 (C-12a); 109,1 (C-13); 79,9 (C-2); 79,8 (C-1); 68,9 (C-3); 36,7 (C-12b); 36,0 (C-4); 28,0 (C-15)\*; 26,2 (C-14)\*; 25,8 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); 18,1 ( $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ ); -4,75 ( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )#; -4,78 ( $\text{CH}_3\text{-Si}$ )#. (\*) (#) Señales intercambiables

### 7.9. Reacción entre carba-dieno **46** y 2-bromonaftoquinona (**47**)

A una solución del compuesto **46** (0,10 g, 0,32 mmol) en 10 mL de tolueno anhidro, se adicionó 2-bromonaftoquinona (**47**) (0,08 g, 0,51 mmol) y NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla de reacción se agitó a reflujo por 72 horas. El crudo resultante se llevó a sequedad y se purificó por cromatografía en columna, sin obtención de productos, sólo recuperando los compuestos de partida **46** y **47**.

**8. BIBLIOGRAFÍA**

1. Enrich, L.; Scheuermann, M.; Mohadjer, A.; Matthias, K.; Eller, C.; Newman, M.; Fujinaka, M.; Poon, T. *Tetrahedron Letters*, **2008**, 49, 2503-2505.
2. Bohm, B. A. *Chem. Rev.* **1965**, 65, 435-466.
3. Ohira, H.; Torii, N.; Aida, T.; Watanabe, M.; Smith, R. *Separation and Purification Technology* **2009**, 69, 102-108.
4. Dinh, T.; Chen, A.; Chai, C. *Tetrahedron* **2011**, 67, 3363-3368.
5. Sanchez-Abella, L.; Fernández, S.; Verstuyf, A.; Verlinden, L.; Ferrero, M.; Gotor, V. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, 15, 4193-4202.
6. Zhang, Y.; Liu, A.; Ye, Z.; Lin, J.; Xu, L.; Yang, S. *Chem. Pharm. Bull.* **2006**, 54 (10), 1459-1461.
7. Karpf, M.; Trussardi, R. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 5760-5762.
8. Nie, L.; Shi, X.; Ko, K.; Lu, W. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 3970-3973.
9. Kim, C. U. ; Lew, W. ; Williams, M. A.; Liu, H.; Zhang, L.; Swaminathan, S.; Bischofberger, N.; Chen, M. S.; Mendel, D. B.; Tai, C. Y.; Laver, W. G.; Stevens, R. C. *J. Am. Chem. Soc.* 1997, 119, 681.
10. Manzano, S.; Vicent, M. J.; Martín, M. J.; Salvador-Tormo, N.; Pérez, M. J.; Blanco, M.; Avendaño, C.; Menéndez, J. C.; De la fuente, J. A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, 12, 6505-6515.
11. Karsten, K.; Attils, A.; Christiane, B. *Jornal of Carbohydrate Chemistry* **2003**, 22(7), 579-592.
12. Quang Vu, N.; Dujardin, G.; Collet, S.; Raiben, E.; Guingant, A.; Evan, M. *Tetrahedron Letters* **2005**, 46, 7669-7673.
13. Valderrama, J. A. ; Colonelli, P. ; Vasquez, D.; Gonzalez, M. F.; Rodriguez, J. A.; Theoduloz, C. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2008**, 16, 10172-10181
14. Rohr, J.; Thiericke, R. *Nat. Prod. Rep.* **1992**, 103-137.
15. Bowie, J. H.; Johnson, A. W. *Tetrahedron Lett.* **1967**, 1449.
16. Tanaguchi, M.; Nagai, K.; Watanabe, M.; Nimura, N.; Suzuki, K. I.; Tanaka, A. *J. Antibiot.* **2002**, 55, 30-35.

17. Oka, M.; Karei, H.; Hamagishi, Y.; Tomita, K.; Mayahi, T.; Konishi, M.; Oki, T. *J. Antibiot.* **1990**, 43(8), 967-976.
18. Krohn, K.; Sohrab, H.; Flörke, U. *Tetrahedron Asymmetry* **2004**, 15, 713-718.
19. Oka, M.; Karei, H.; Hamagishi, Y.; Tomita, K.; Mayahi, T.; Konishi, M.; Oki, T. *J. Antibiot.* **1990**, 43(8), 967-976
20. Bringmann, G.; Lang, G.; Maksimenka, K.; Hamm, A.; Gulder, T.; Dieter, A.; Bull, A.; Stach, J.; Kocher, N.; Müller, W.; Fiedler, H. *Phytochemistry* **2005**, 66, 1366-1373.
21. Xie, Z.; Liu, B.; Wang, H.; Yang, S.; Zhang, H.; Wang, Y.; Ji, N.; Qin, S.; Laatsch, H. *Mar. Drugs* **2012**, 10, 551-558.
22. Okabe, T.; Ogino, H.; Okuyama, A.; Suda, H. Jpn. Kokai Tokkyo Koho 1992; CA 118: 167614v.
23. Mal, D.; Dey, S. *Tetrahedron* **2006**, 62, 9589-9602.
24. Huang, H.; Yang, T.; Ren, X.; Liu, J.; Song, Y.; Sun, A.; Ma, J.; Wang, B.; Zhang, Y.; Huang, C.; Zhang, C.; Ju, J. *J. Nat. Prod.* **2012**, 75, 202-208.
25. Guingant, A.; Barreto, M. M. *Tetrahedron* **1987**, 28, 3107-3110.
26. Larsen, D. L.; O'Shea, M. O. *Tetrahedron* **1993**, 34, 3769.
27. Krohn, K.; Khanbabaee, K.; Flörke, U.; Jones, P. G.; Chrapkowski, A. *Liebings Ann. Chem.* **1994**, 471.
28. Krohn, K.; Khanbabaee, K. *Liebings Ann. Chem.* **1994**, 1109-1112.
29. Krohn, K.; Sohrab, H.; Flörke, U. *Tetrahedron* **2004**, 15, 713-718.
30. Manzano, S.; Vicent, M. J.; Martín, M. J.; Salvador-Tormo, N.; Pérez, M. J.; Blanco, M.; Avendaño, C.; Menéndez, J. C.; De la fuente, J. A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2004**, 12, 6505-6515.
31. Lee, H.; Lee, S.-I.; Yang, S.-I. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, 8, 2991.
32. Tudor, G.; Gutierrez, P.; Aguilera-Gutierrez, A.; Sausville, E. A. *biochem. Pharmacol.* **2003**, 65, 1061.

33. Kraocho, A. P.; Petry, M. E.; Getahun, Z.; Landi, J. J.; Stallman, J.; Polsenberg, J. F.; Gallagher, C. E.; Maresch, M. J.; Hacker, M. P. *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 828.
34. Krapcho, A. P.; Menta, E.; Oliva, A.; Di Domenico, R.; Fiocchi, L.; Maresch, M. E.; Gallagher, C. E.; Hacker, M. P.; Beggiolin, G.; Giuliani, F. C.; Pezzoni, G.; Spinelli, S. *J. Med. Chem.* **1998**, 41, 5429.
35. Kita, Y.; Kirihana, M.; Fujii, Y.; Okunaka, R.; Akai, S.; Maeda, H.; Tamura, Y.; Shimooka, K.; Ohishi, H.; Ishida, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 857.
36. Valderrama, J. A.; Vásquez, D. *Tetrahedron Letters* **2008**, 49, 703-706.
37. Valderrama, J. A.; González, M. F.; Valderrama, C. *Tetrahedron* **1999**, 55, 6039-6050.
38. Collet, S. C.; Rémi, J. F.; Cariou, C.; Laiib, S.; Guingant, A. Y.; Quang Vu, N.; Dujardin, G. *Tetrahedron Letters* **2004**, 45, 4911-4915.
39. Cherkaoui O.; Nebois P.; Pautet F.; Fillion H. *Tetrahedron* **1996**, 52, 9499-9508.
40. Liu S.; Shi X.; Xu Y.; Xu W.; Dong J. *Tetrahedron Assymetry* **2009**, 20, 78-83.

**9. GLOSARIO.**

### Abreviaturas utilizadas en resultados y discusión

Cl-TBDMS : cloruro de *tert*-butildimetilsilano

DIBAL-H : di-*iso*-butilhidruroaluminio

PCC : clorocromato de piridinio

CCl<sub>4</sub> : tetracloruro de carbono

THF : tetrahidrofurano

CH<sub>3</sub>CN : acetonitrilo

TBAF : Fluoruro de *tert*-butilamonio

Ag<sub>2</sub>O : Óxido de plata (I)

IC<sub>50</sub> : Concentración inhibitoria 50

### Abreviaturas utilizadas en RMN

s : singlete

sa : singlete ancho

d : doblete

dd : doble doblete

ddd : doble doble doblete

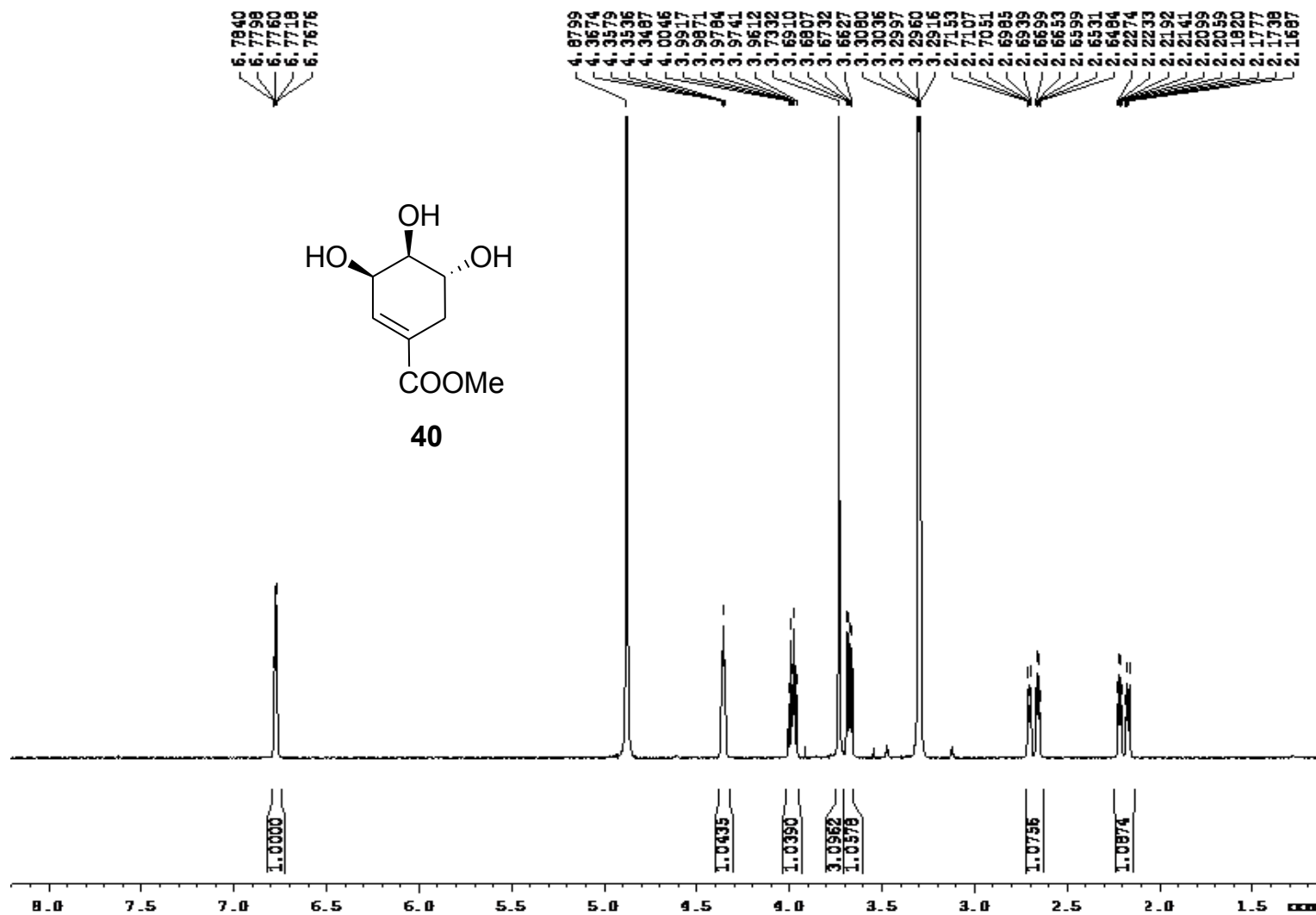
m : multiplete

*J* : constante de acoplamiento

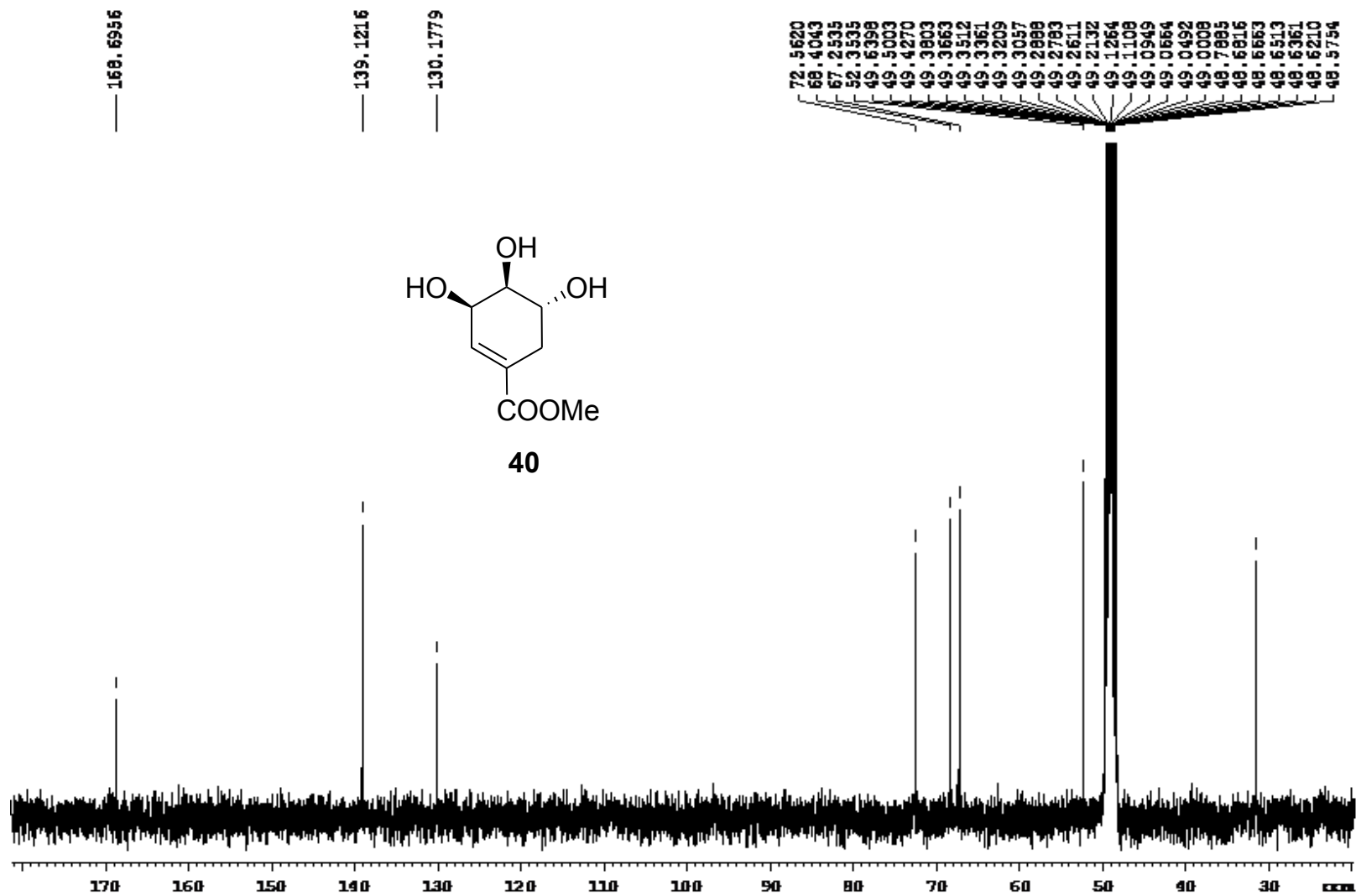
**Abreviaturas utilizadas en experimental**

MeOH	: metanol
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: ácido sulfúrico
NaHCO <sub>3</sub>	: bicarbonato de sodio
(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> CO	: acetona
HOTs	: ácido para-toluensulfónico
DMF	: dimetilformamida
Cl-TBDMS	: cloruro de <i>tert</i> -butildimetilsilano
DIBAL-H	: di- <i>iso</i> -butilhidruroaluminio
NH <sub>4</sub> Cl	: cloruro de amonio
Et <sub>2</sub> O	: dietiléter
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	: diclorometano
PCC	: clorocromato de piridinio
AcOEt	: acetato de etilo
CCl <sub>4</sub>	: tetracloruro de carbono
MgSO <sub>4</sub>	: sulfato de magnesio
CH <sub>3</sub> CN	: acetonitrilo

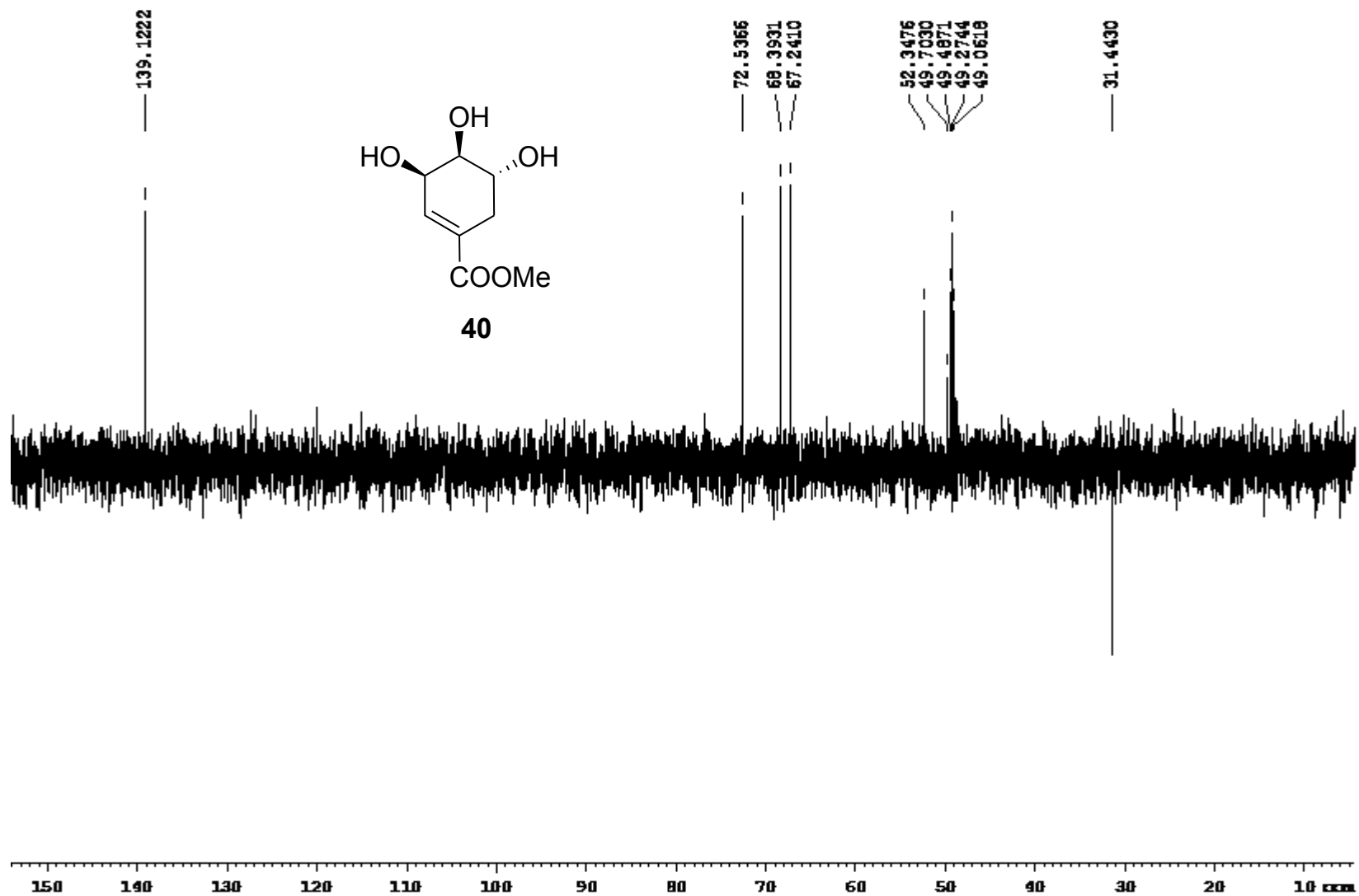
**10. ANEXOS.**



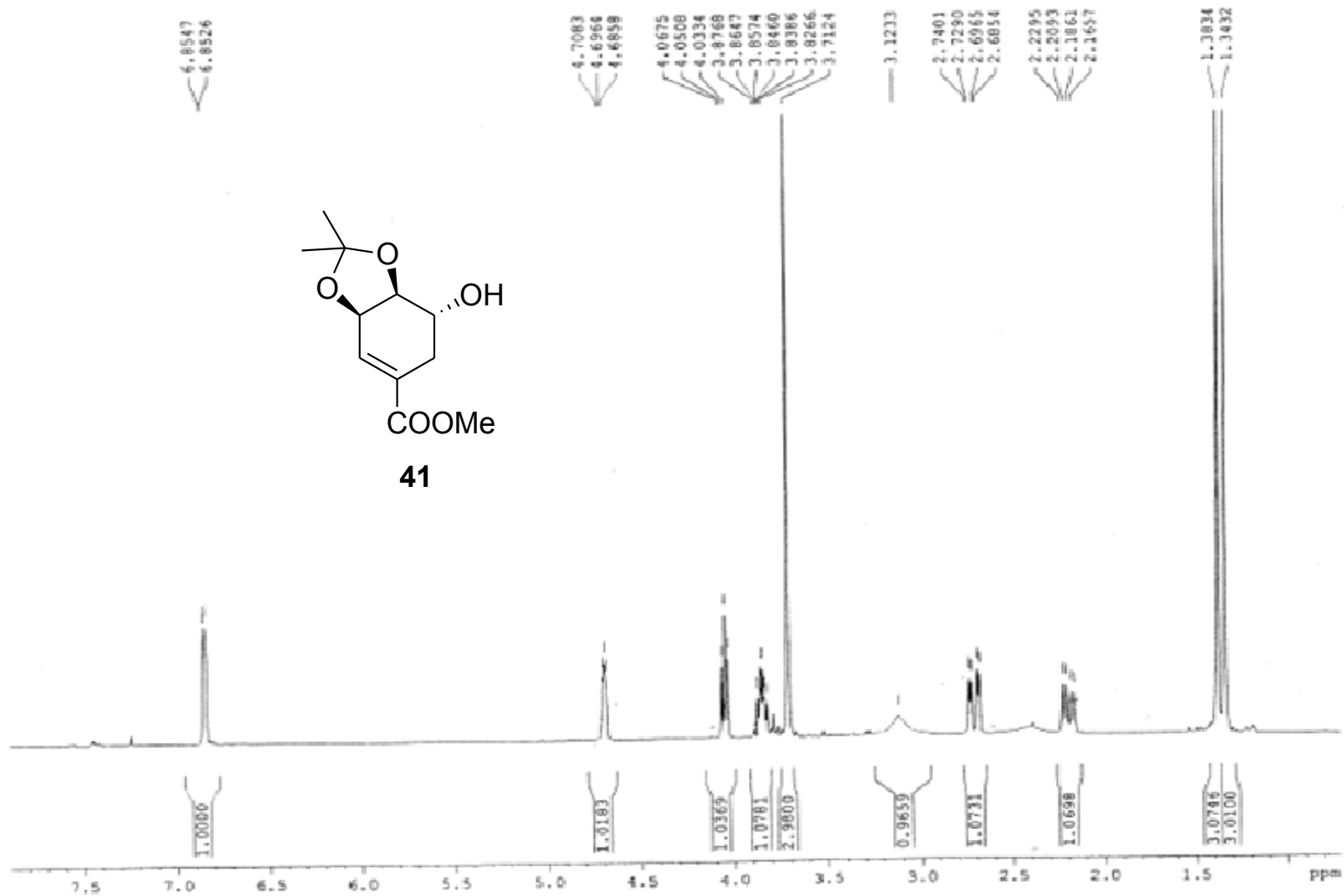
Espectro <sup>1</sup>H RMN compuesto 40.



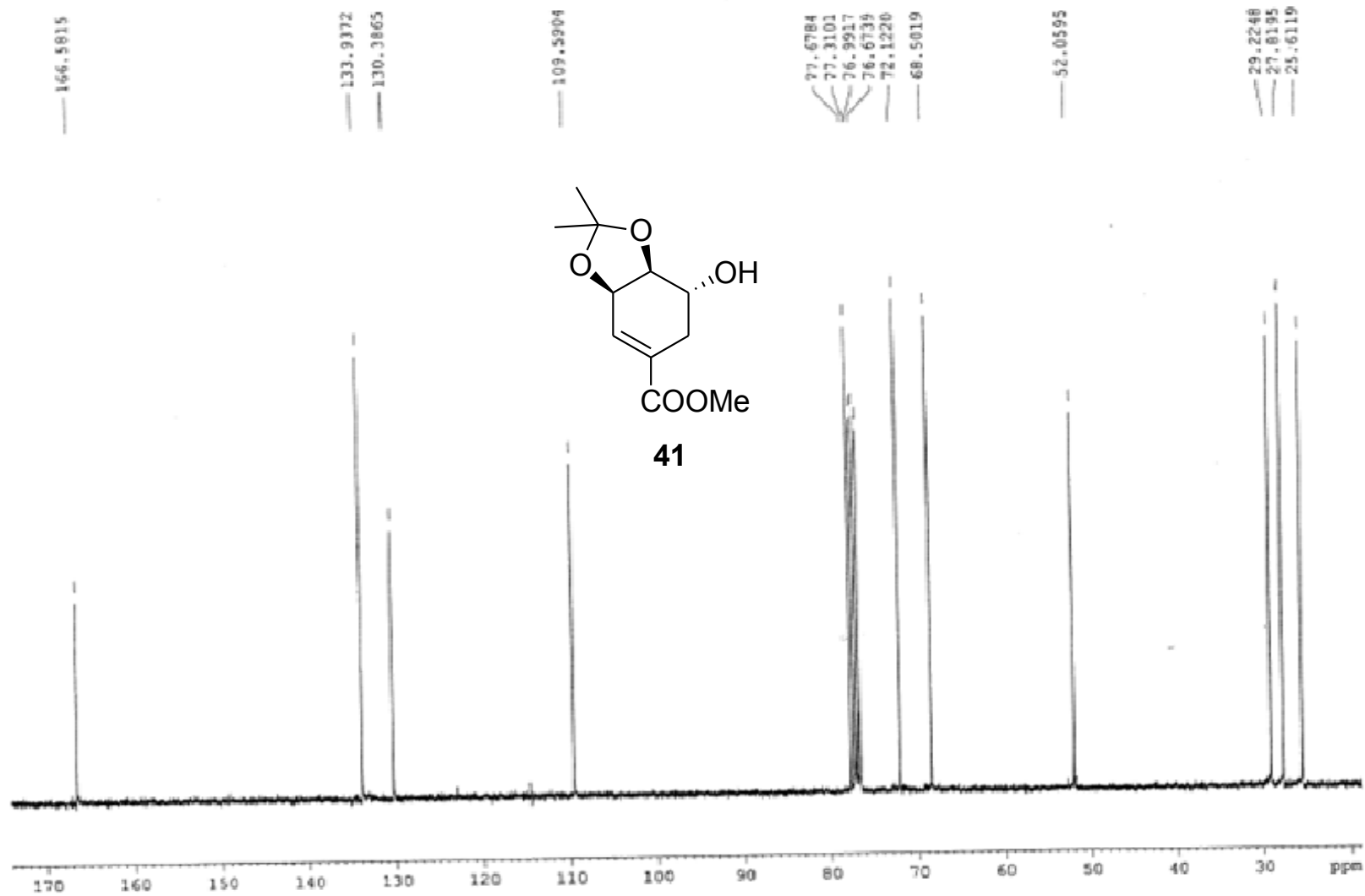
Espectro <sup>13</sup>CRMN compuesto 40.



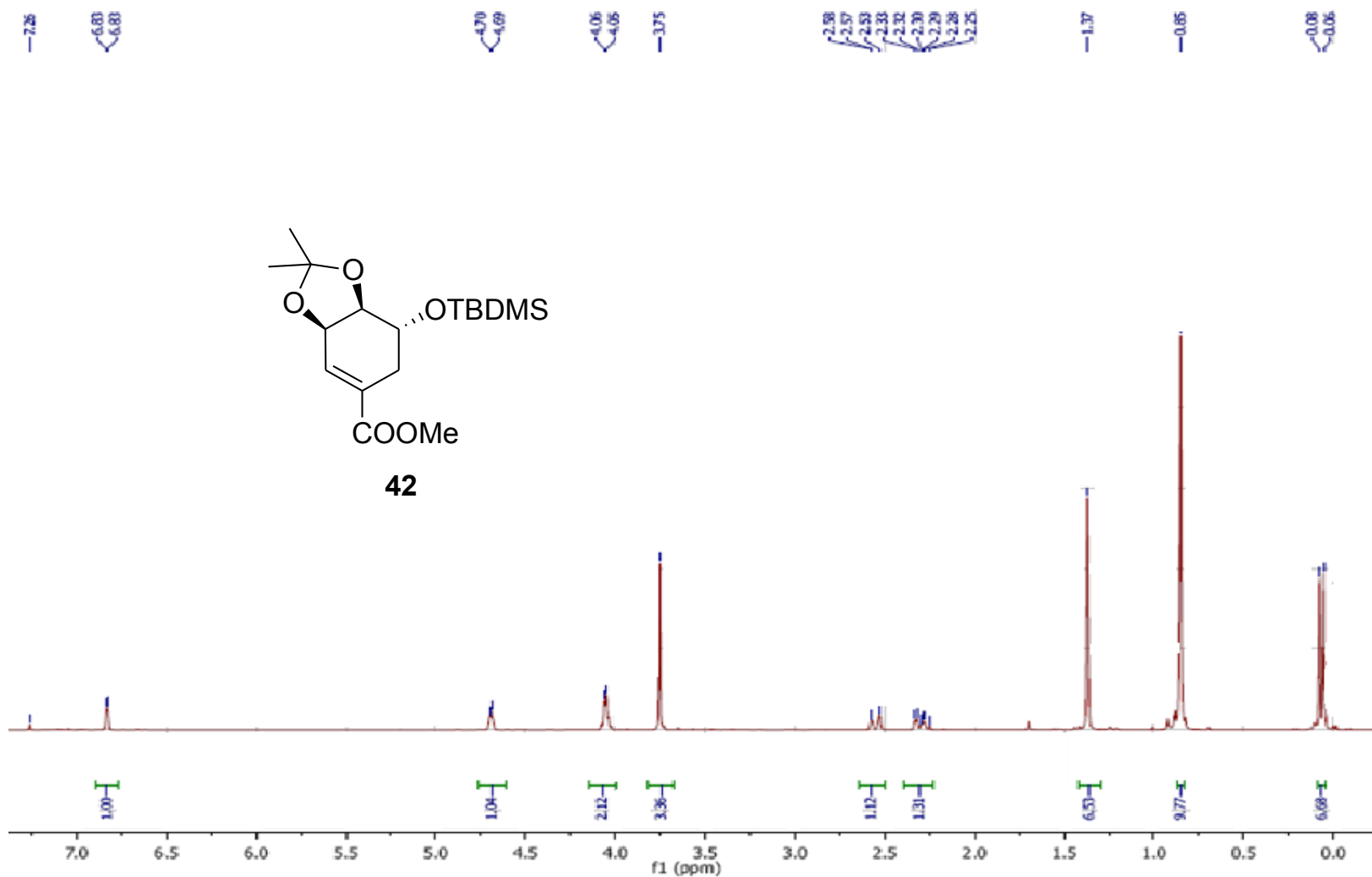
Espectro DEPT-135 compuesto 40.



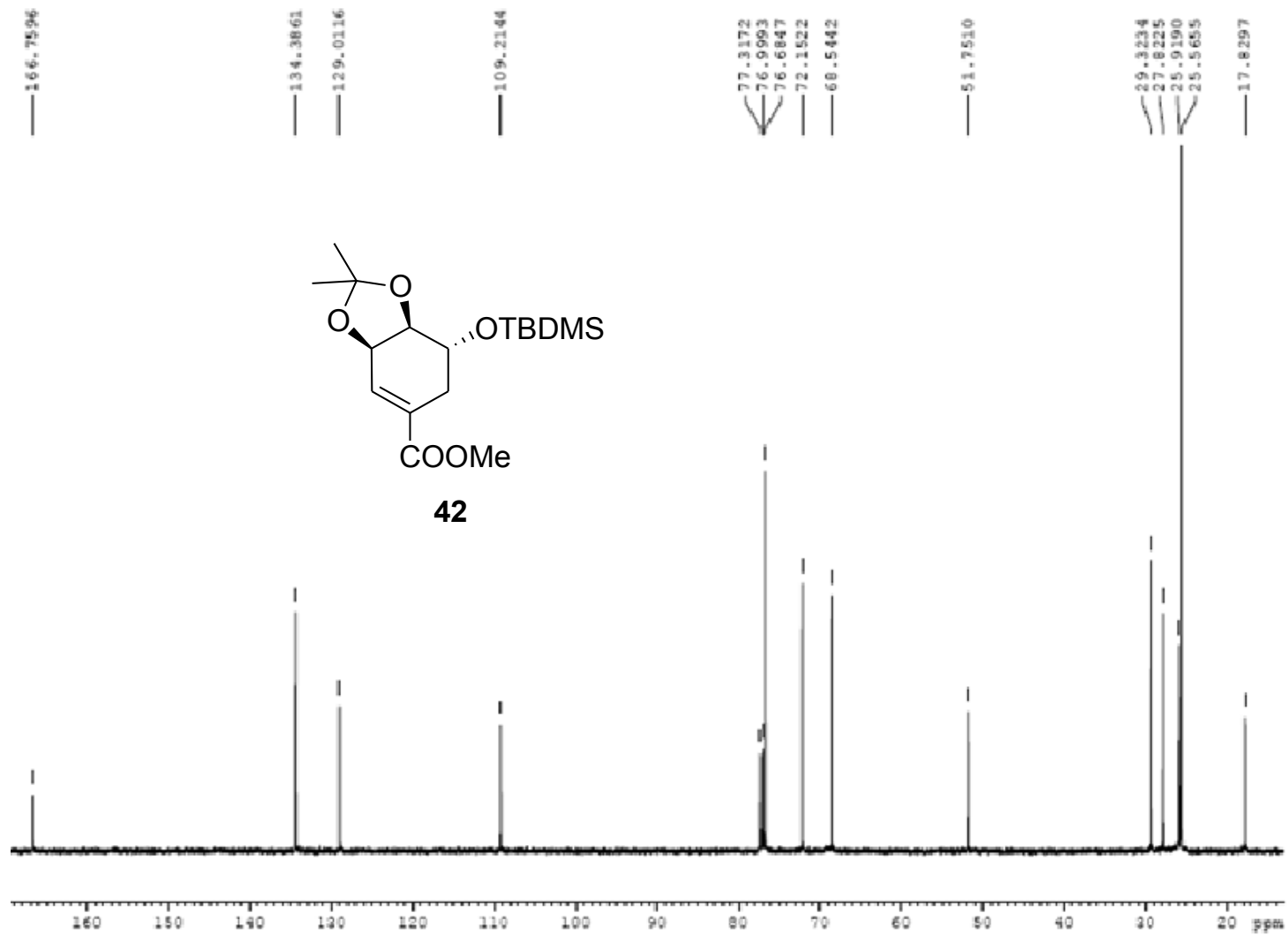
Espectro  $^1\text{H}$ RMN compuesto 41.



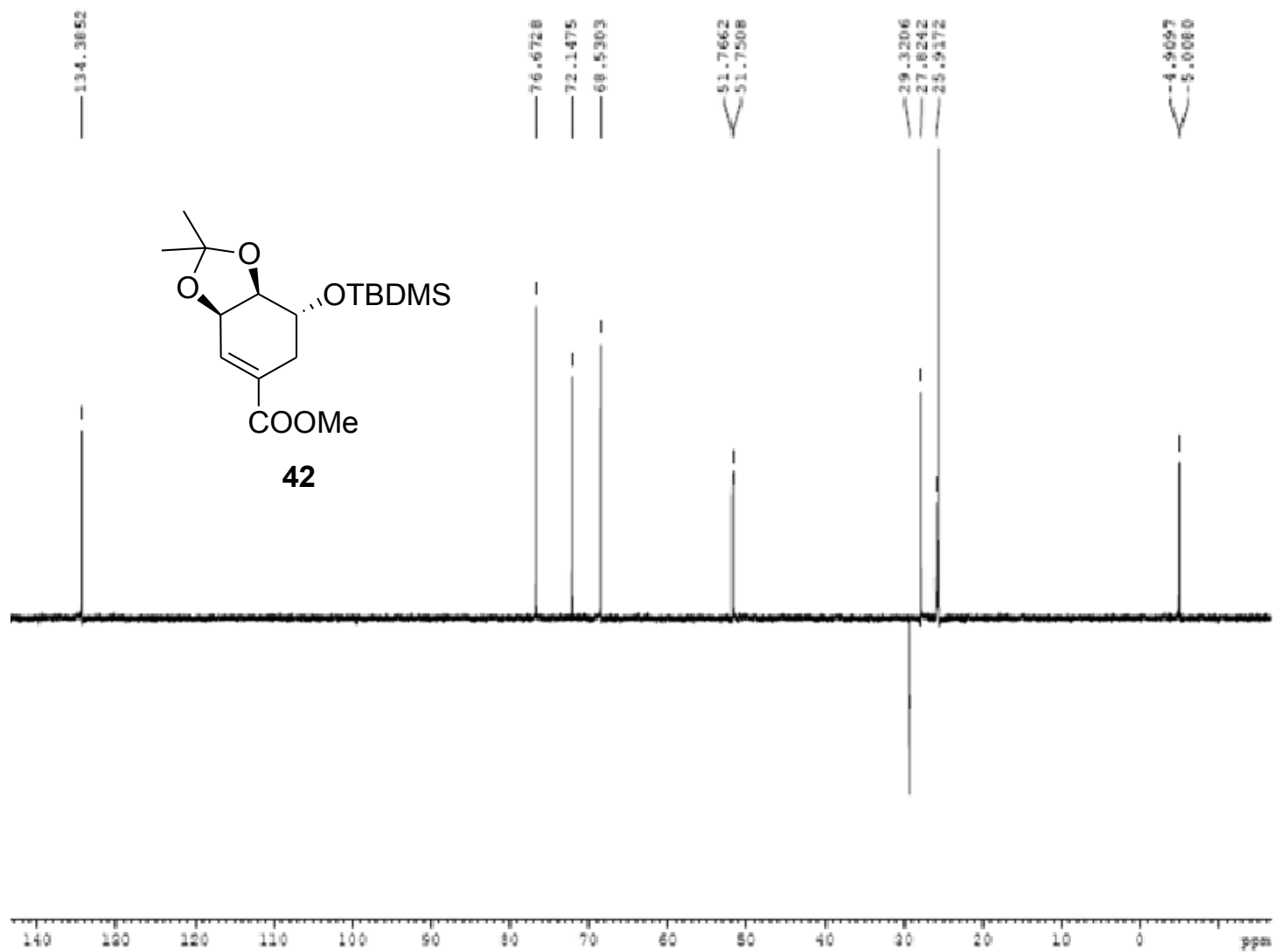
Espectro  $^{13}\text{C}$ RMN compuesto 41.



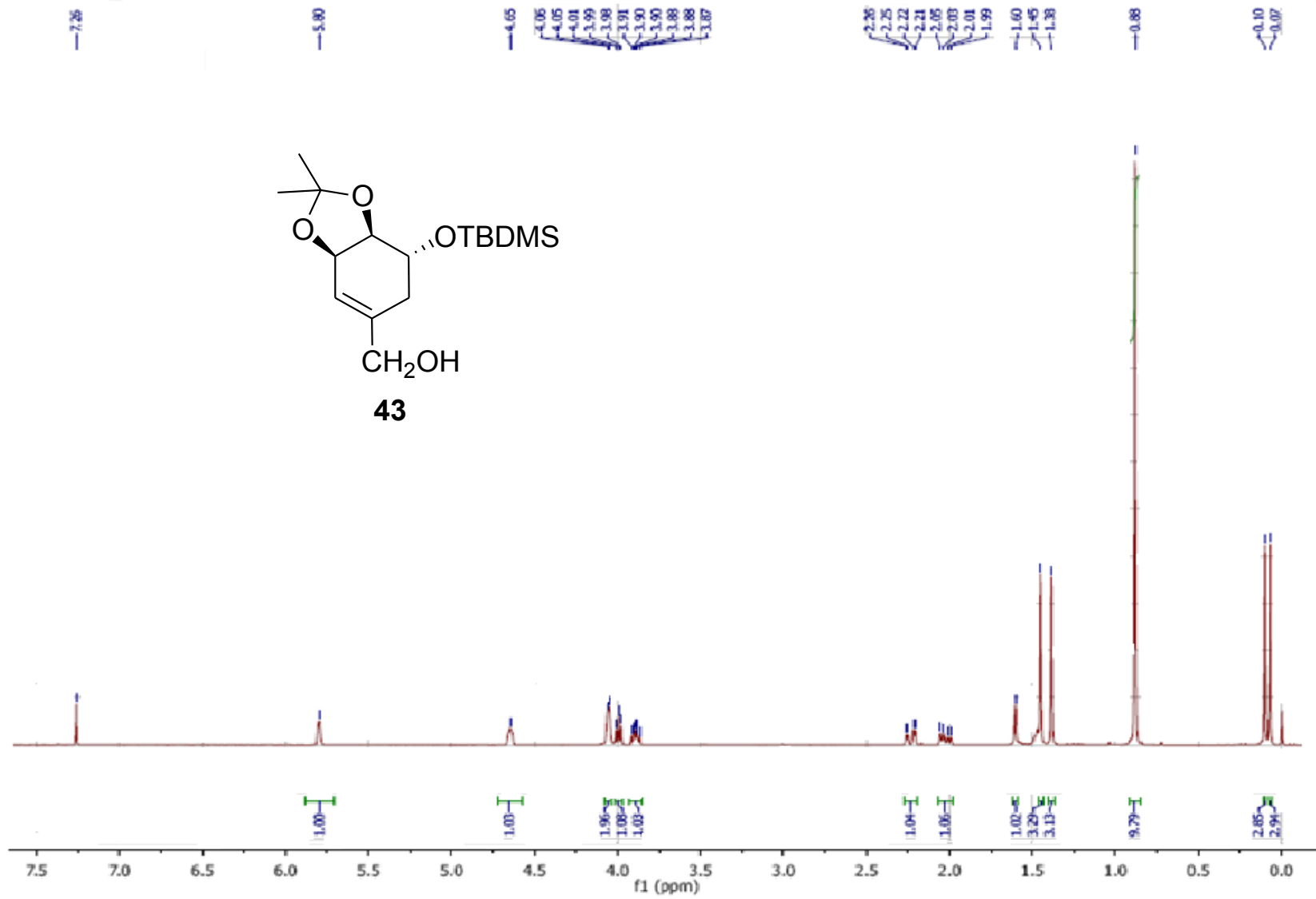
Espectro <sup>1</sup>HRMN compuesto **42**.



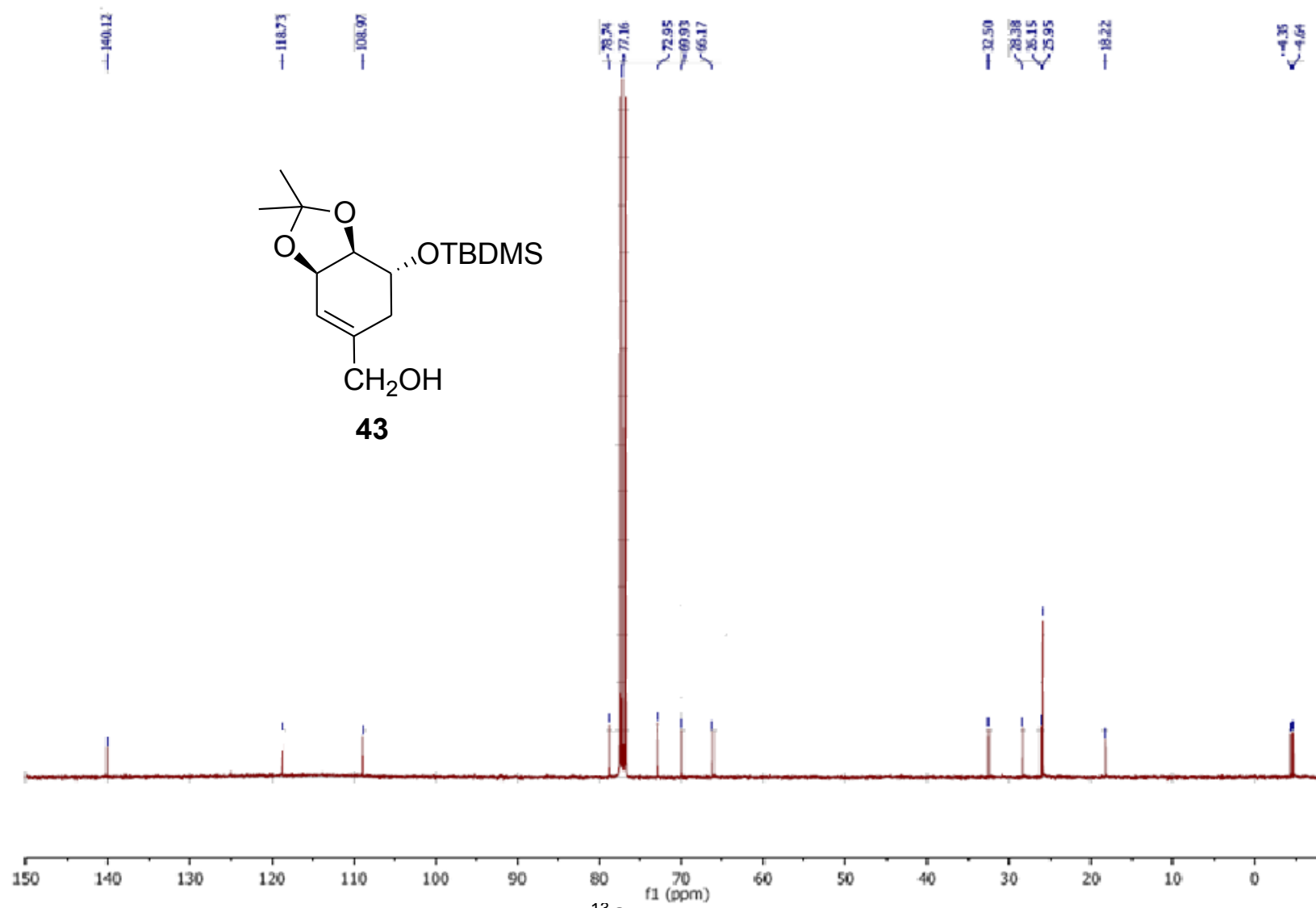
Espectro  $^{13}\text{C}$ RMN compuesto **42**.



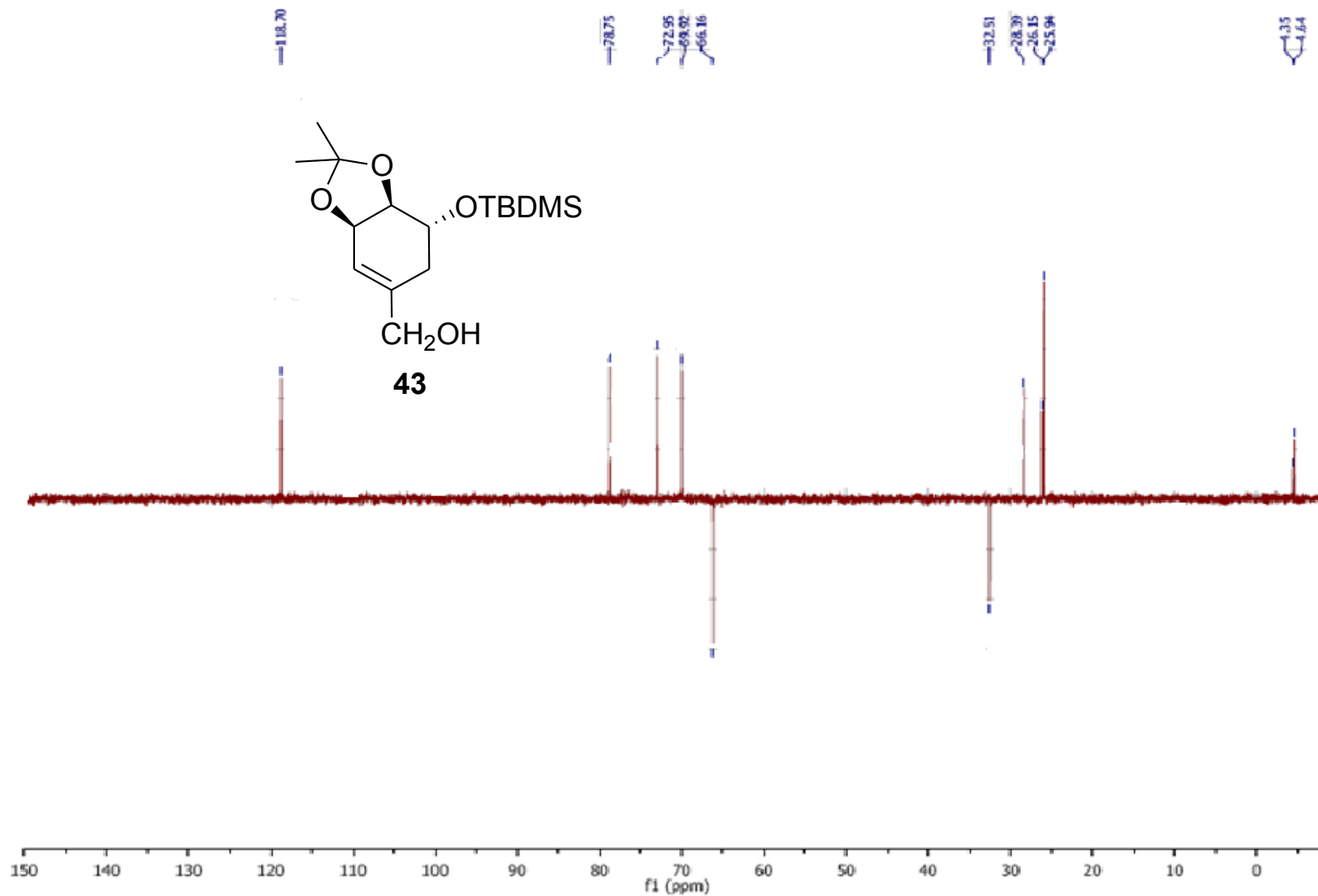
Espectro DEPT-135 compuesto **42**.



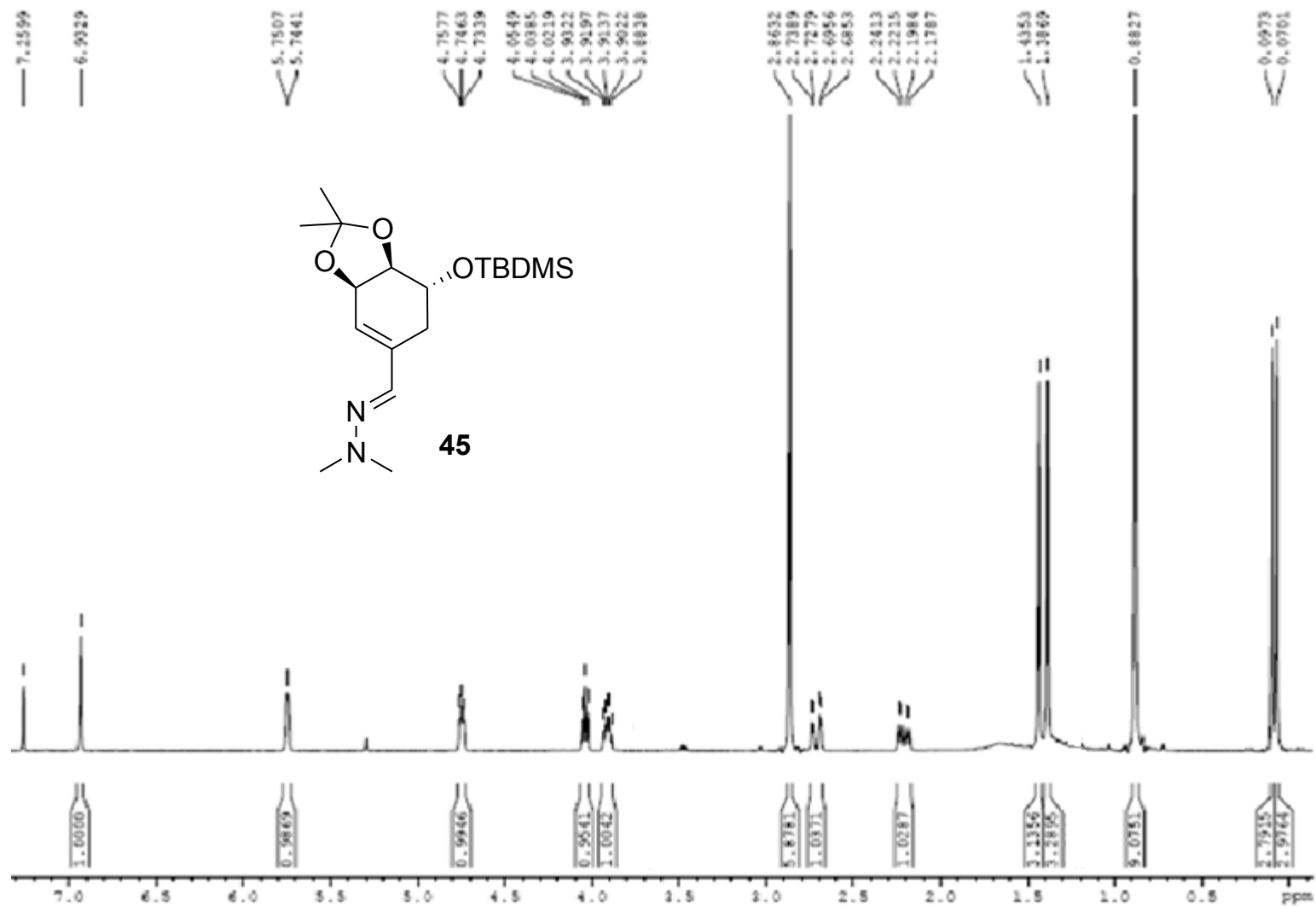
Espectro  $^1\text{H NMR}$  compuesto **43**.



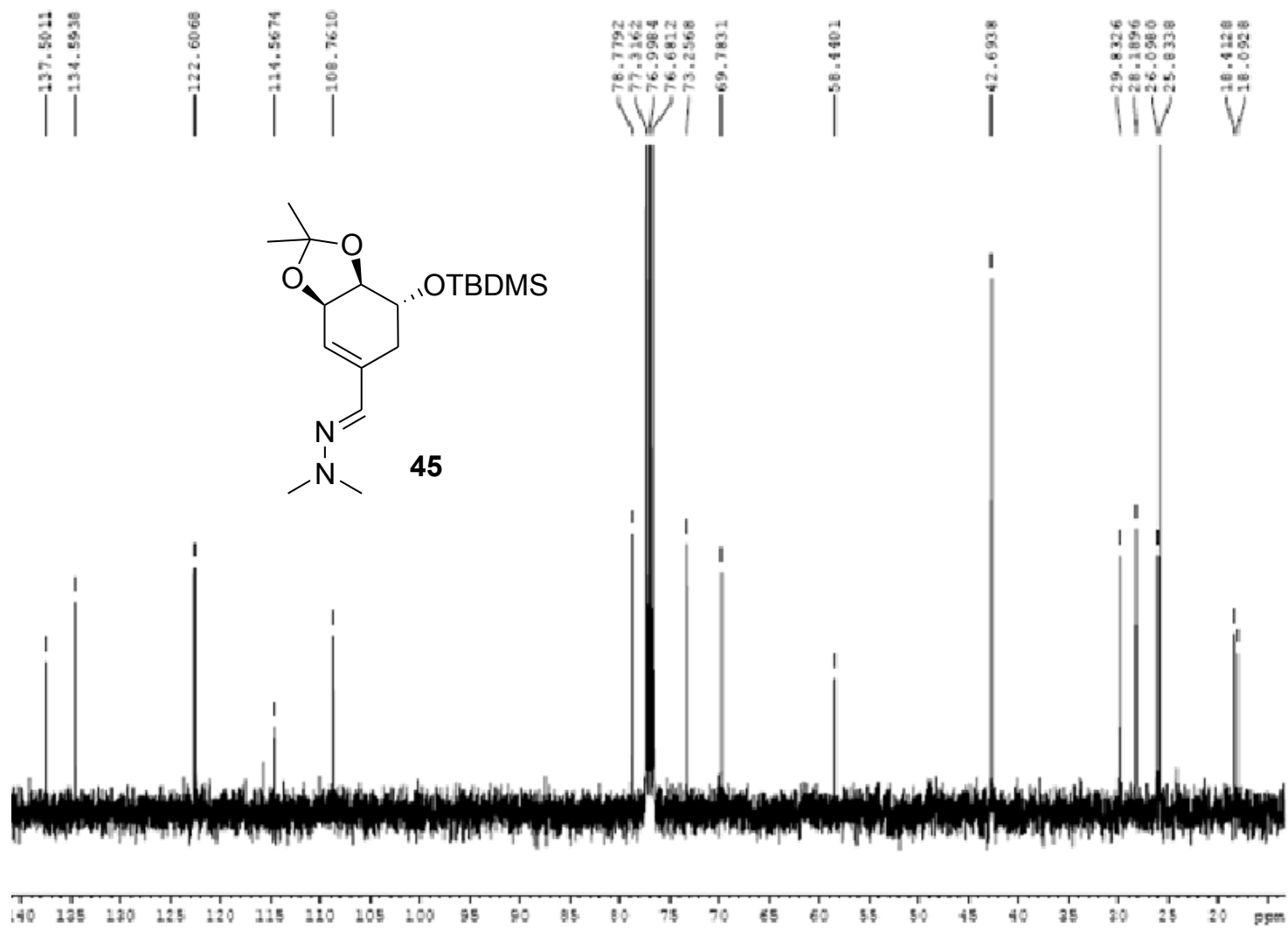
Especto <sup>13</sup>CRMN compuesto **43**.



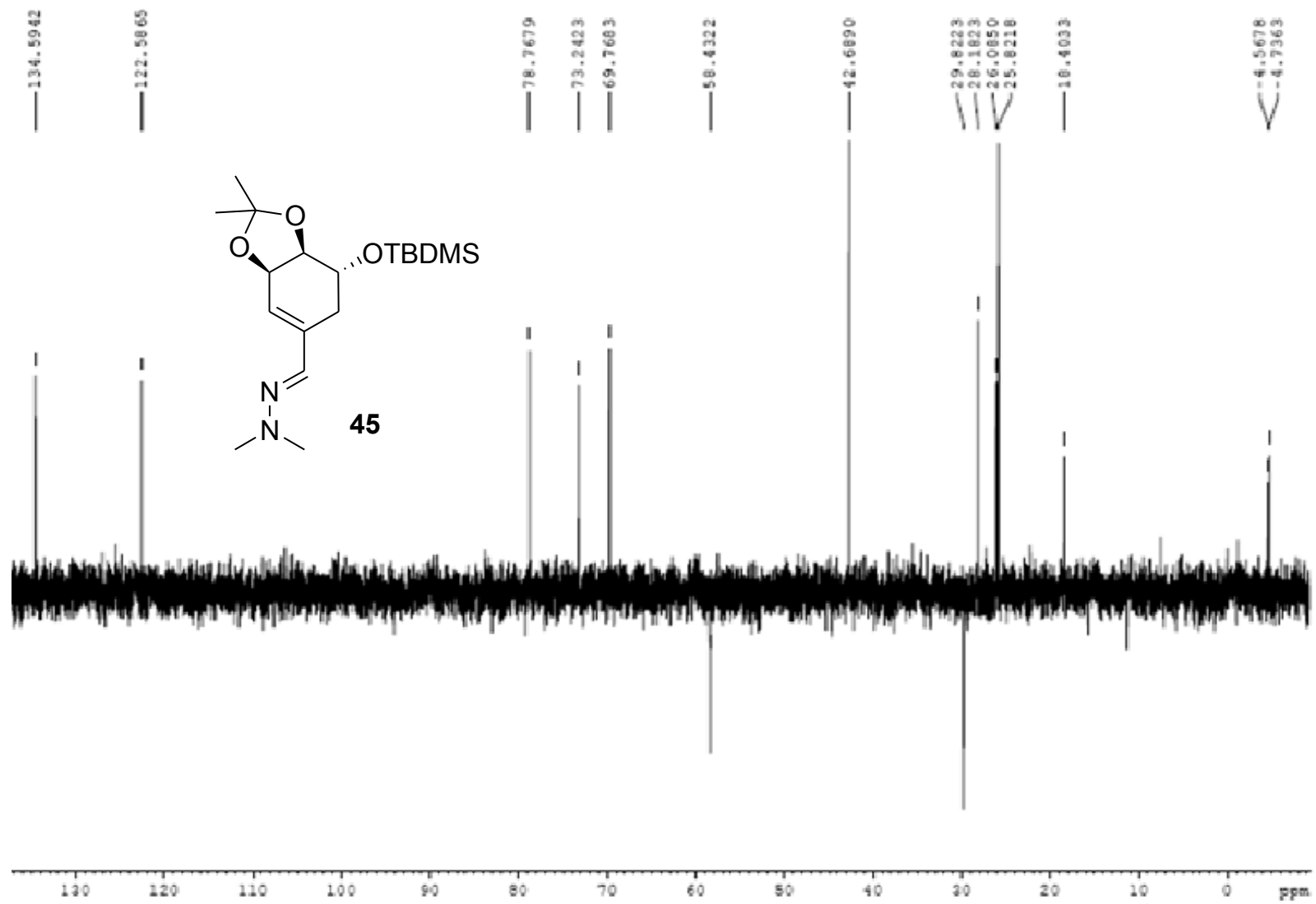
Espectro DEPT-135 compuesto **43**.



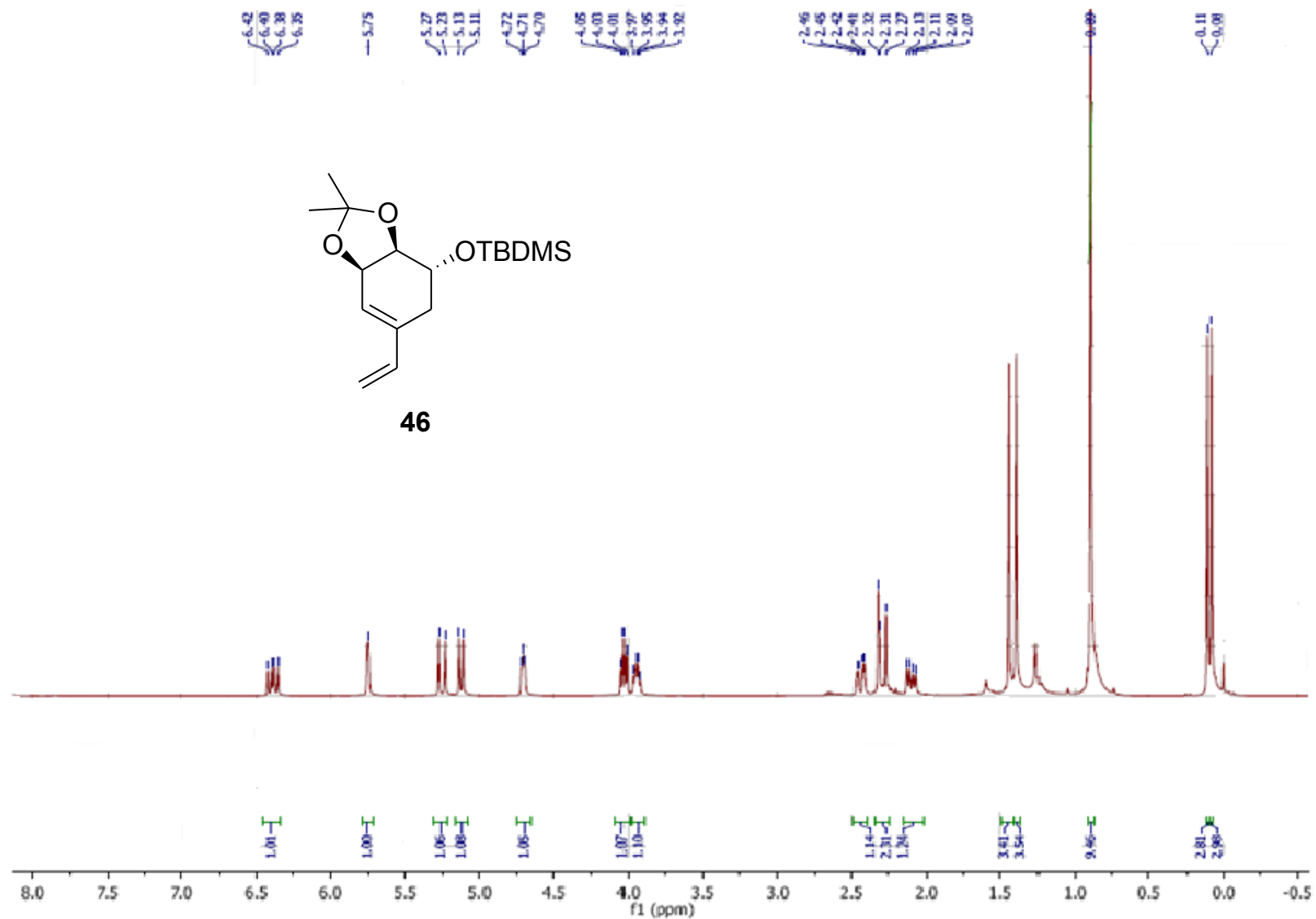
Espectro <sup>1</sup>H RMN compuesto aza-dieno **45**.



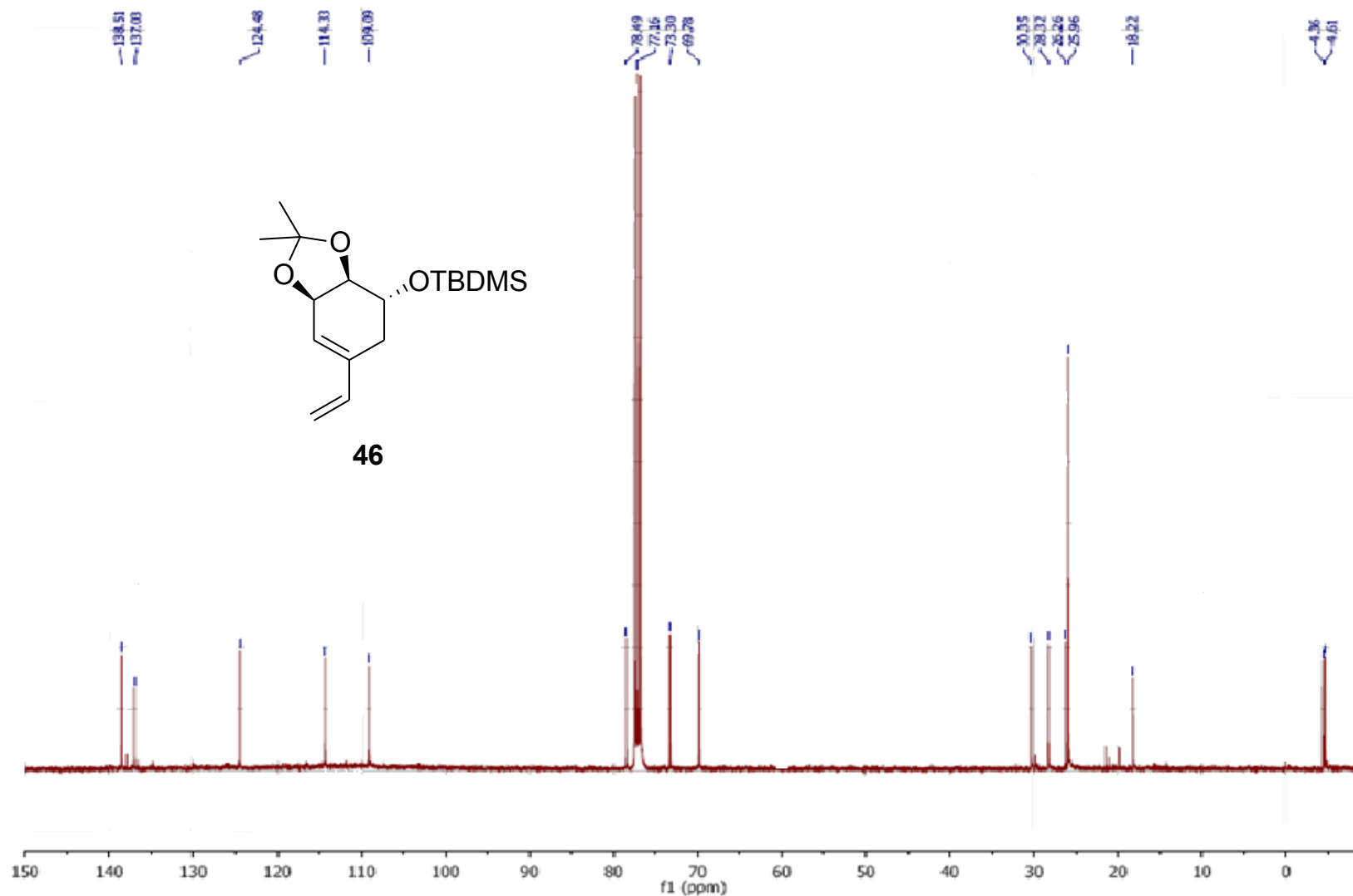
Espectro  $^{13}\text{C}$ RMN compuesto aza-dieno **45**.



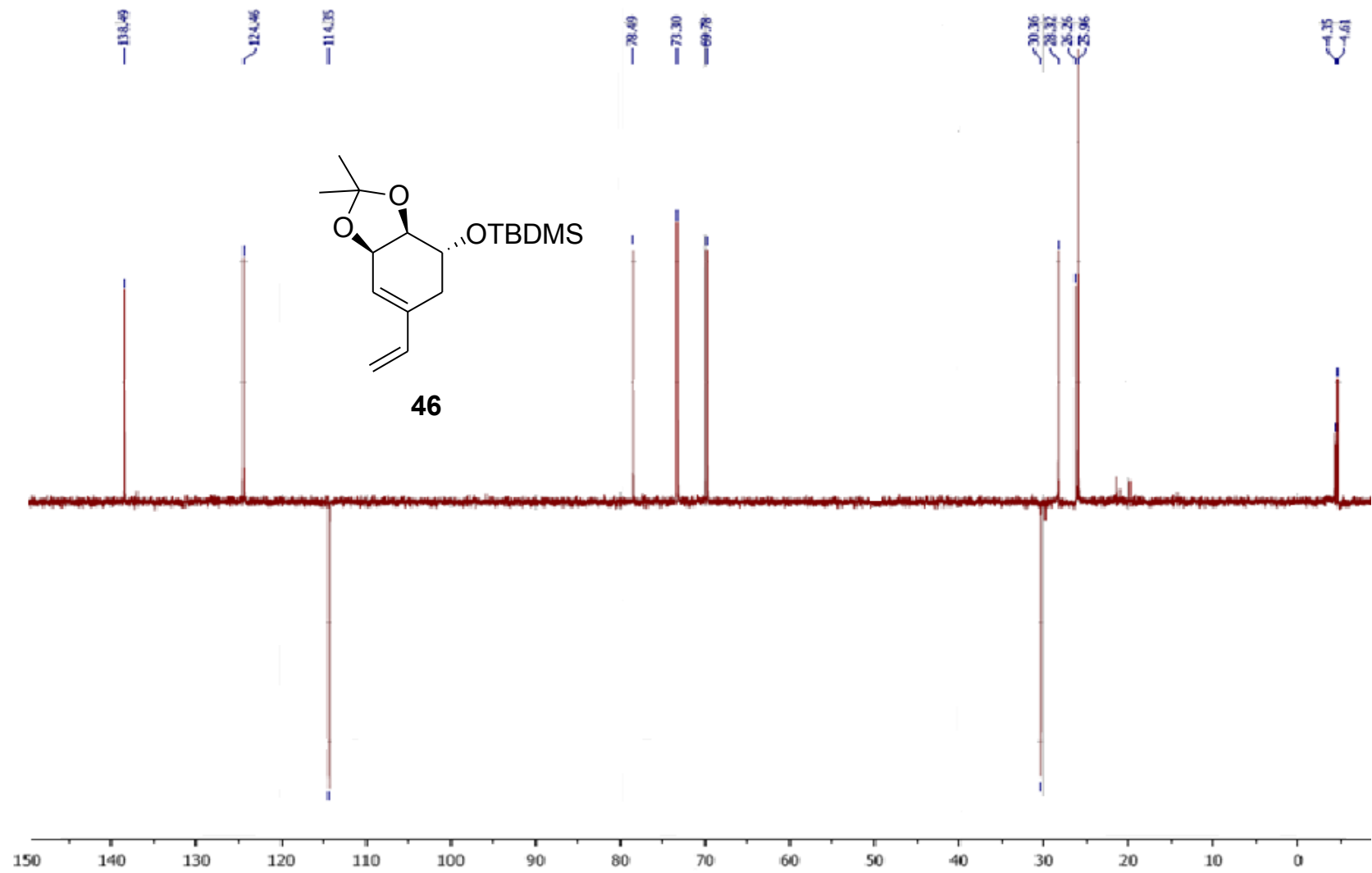
Espectro DEPT-135 compuesto aza-dieno **45**.



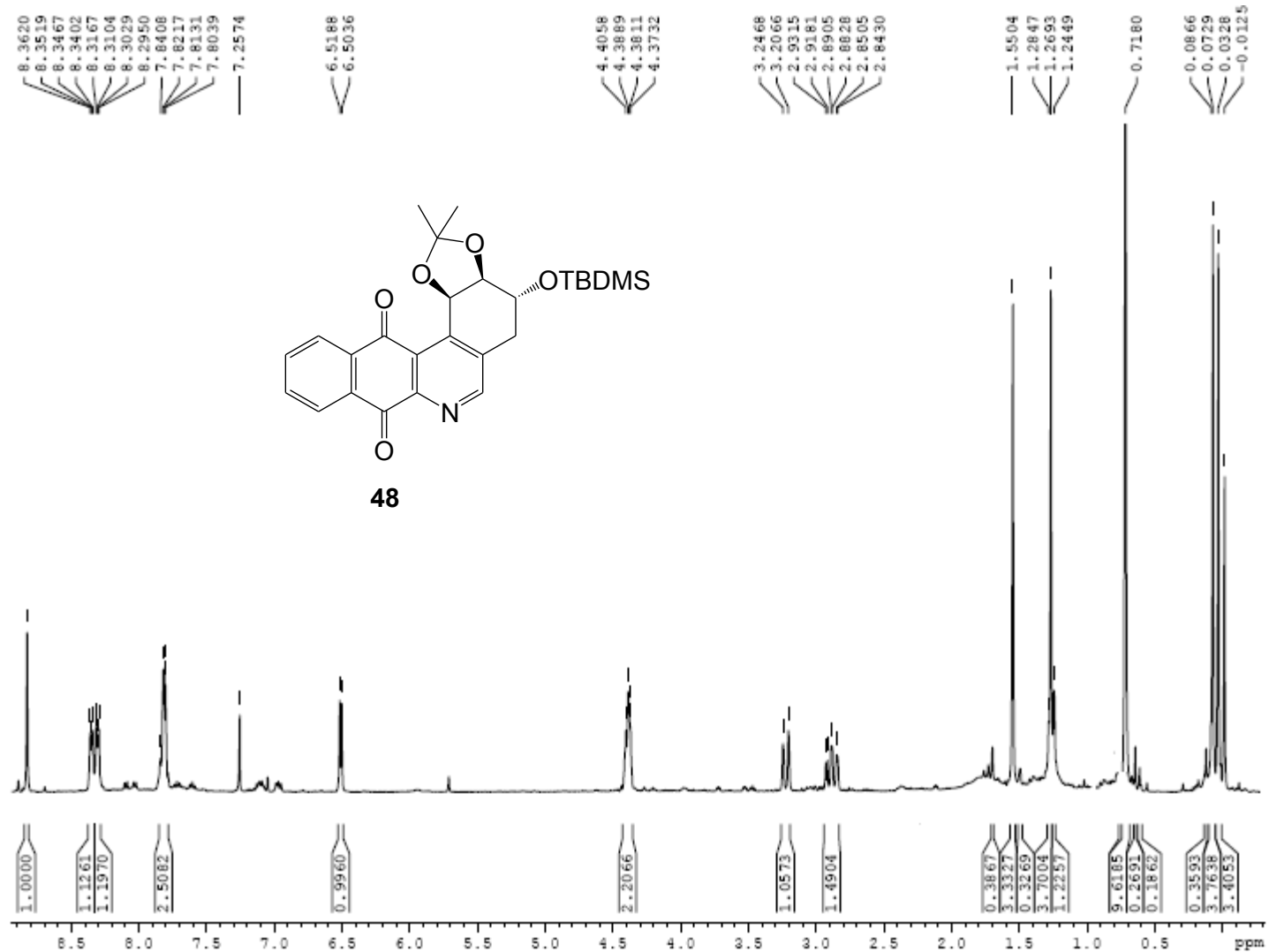
Espectro <sup>1</sup>HRMN compuesto carba-dieno **46**.



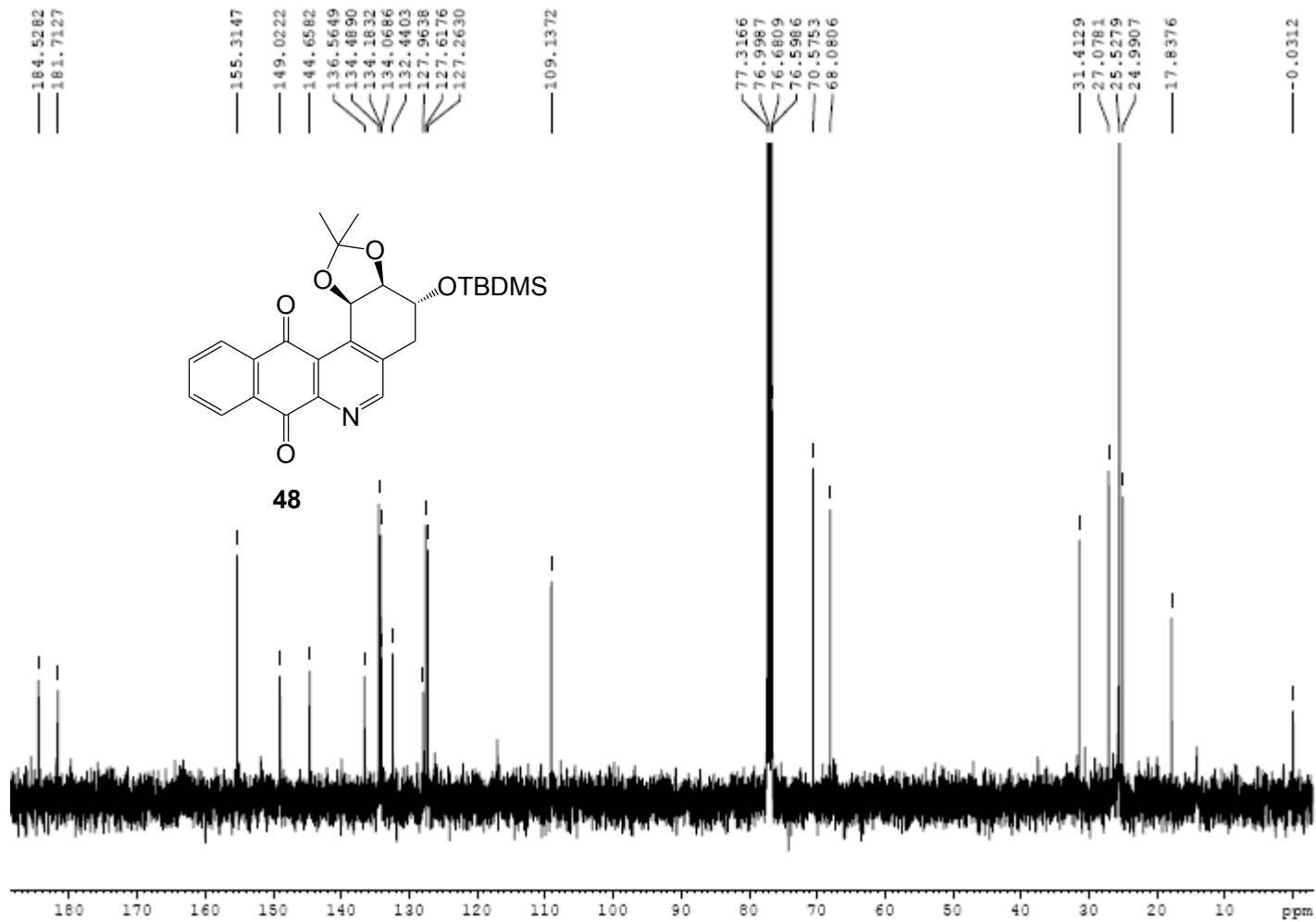
Espectro de  $^{13}\text{C}$ RMN compuesto carba-dieno **46**.



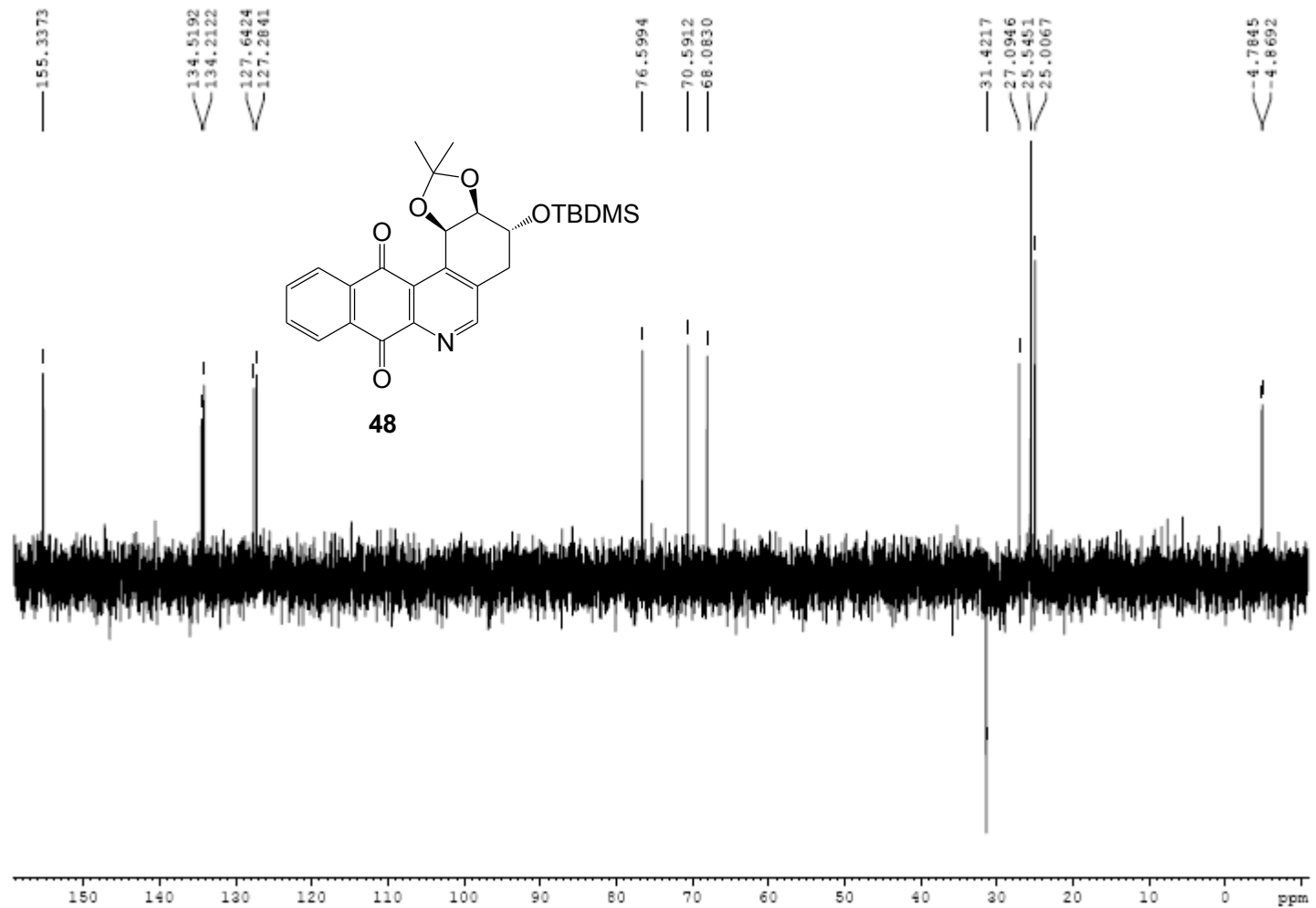
Espectro DEPT-135 compuesto carba-dieno **46**.



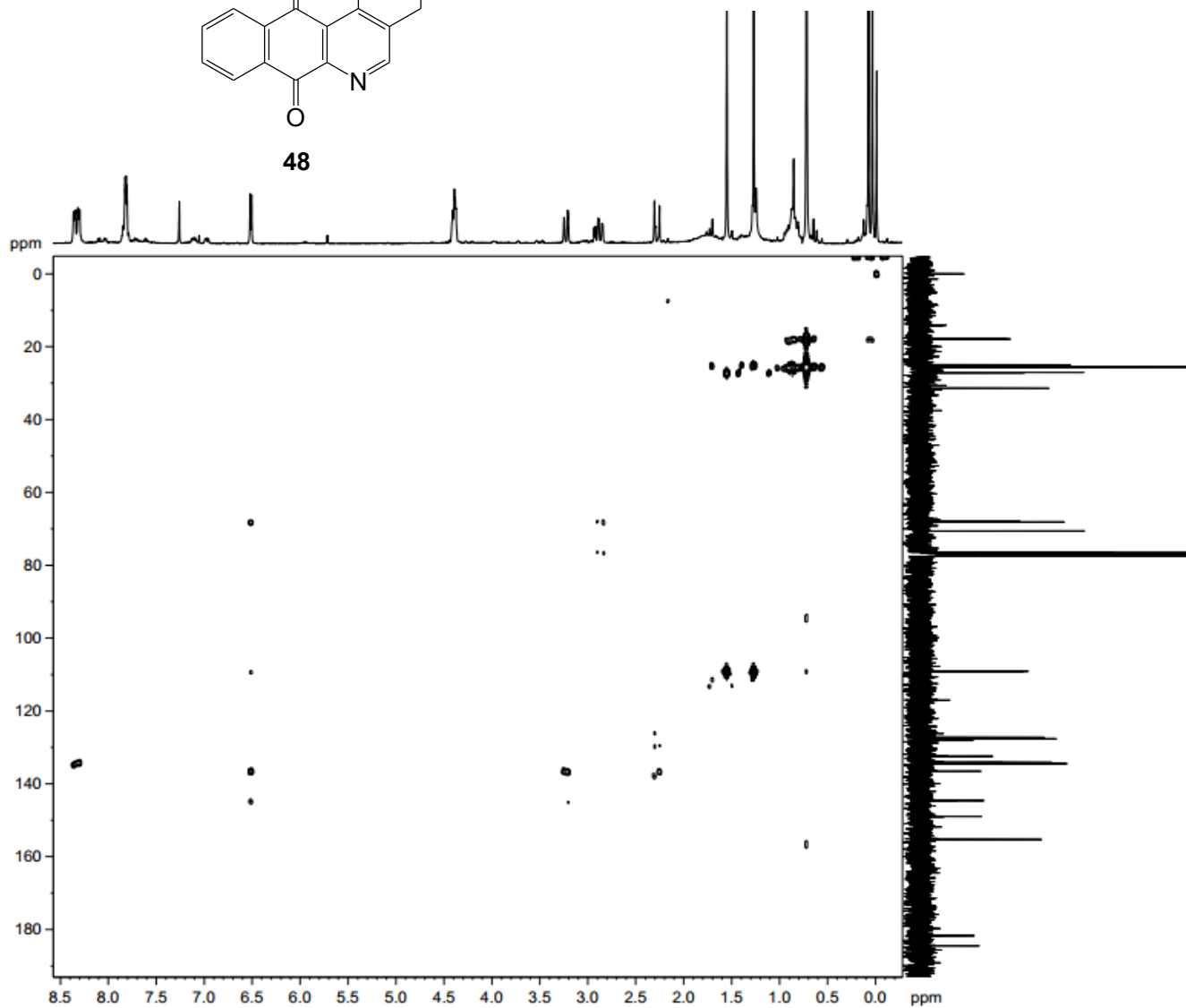
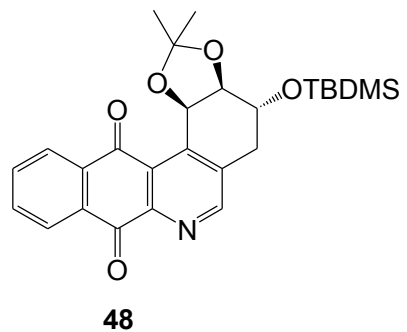
Espectro <sup>1</sup>HRMN compuesto 48.



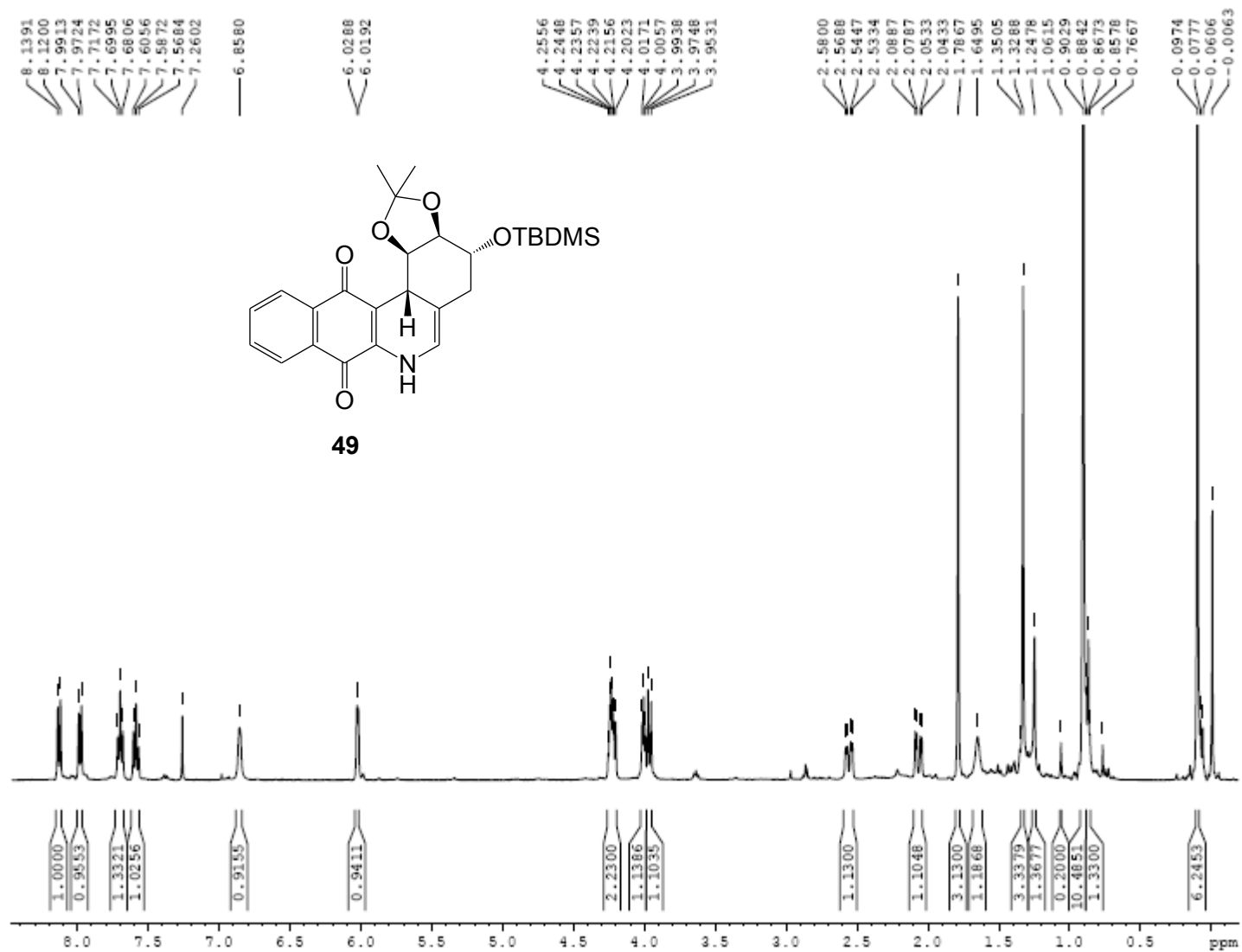
Espectro  $^{13}\text{C}$ RM compuesto **48**.



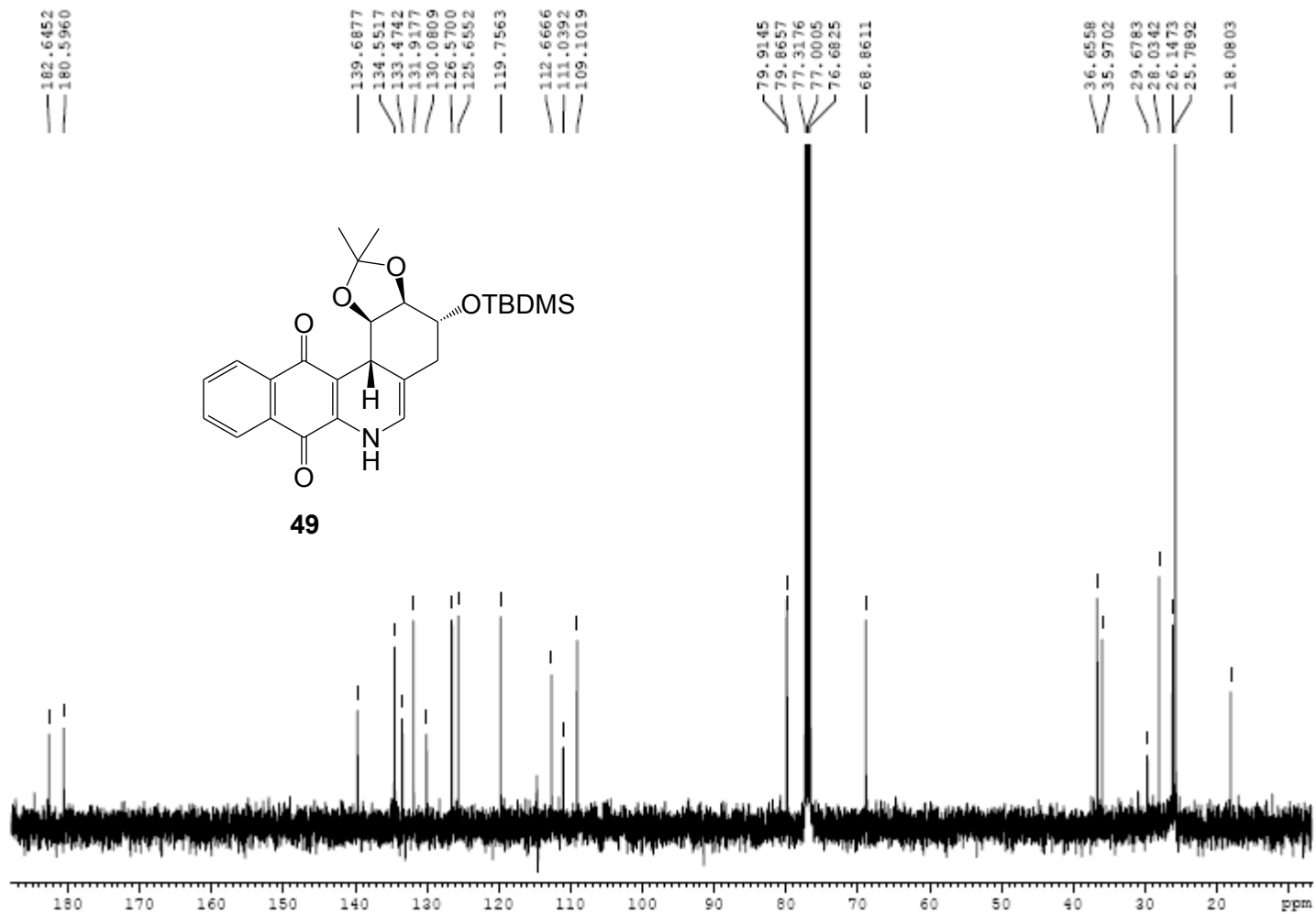
Espectro DEPT-135 compuesto 48.



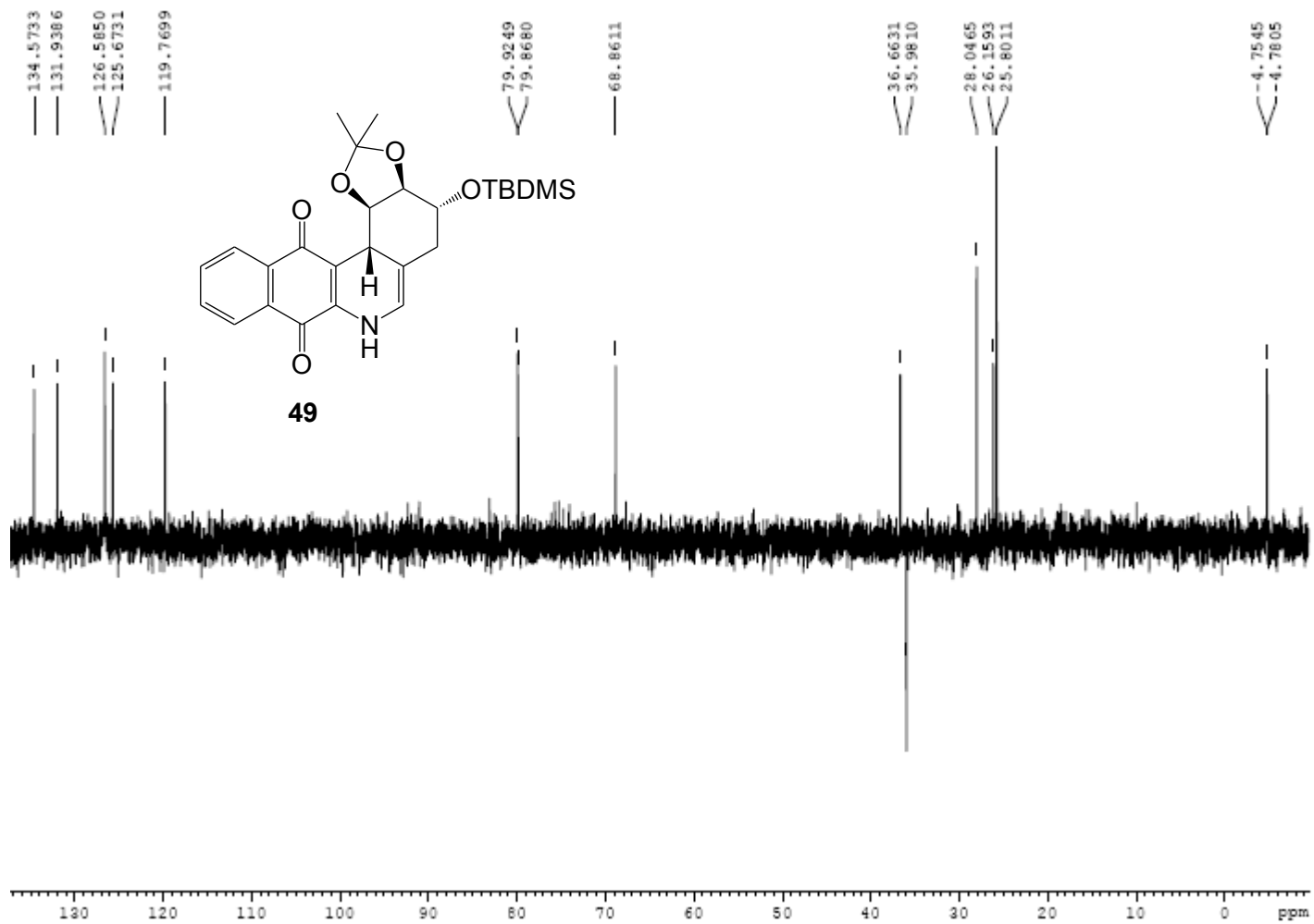
Espectro HMBC compuesto 48.



Espectro <sup>1</sup>H RMN compuesto 49.



Espectro <sup>13</sup>CRMN compuesto **49**.



Espectro DEPT-135 compuesto **49**.

