

**Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea**

**Facultad de Química/Kimika Fakultatea**

***Grado en Química***

TRABAJO FIN DE GRADO

**Síntesis de pirrolidinas con potencial actividad antiviral**

**Autora:** Alaitz Lecuona Isasa

**Directora:** Nerea Alberro Osa

**Co-Director externo DIPC:** Iván Rivilla de la Cruz

San Sebastián, julio de 2021

## Abreviaturas y acrónimos

<b>A</b>	Adenina
<b>ACN</b>	Acetonitrilo
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo
<b>AcOH</b>	Ácido acético
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ARNm</b>	Ácido ribonucleico mensajero
<b>atm</b>	Atmósfera
<b>Boc</b>	<i>tert</i> -butoxicarbonilo (grupo)
<b>BzCl</b>	Cloruro de benzoílo
<b>°C</b>	Grado Celsius
<b>C</b>	Citosina
<b>cat.</b>	Catalizador
<b>COSY</b>	Espectroscopía de correlación (de sus siglas en inglés COrelated Spectroscopy)
<b>DCM</b>	Diclorometano
<b>DBU</b>	1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-eno
<b>DEPT-135</b>	Mejora sin distorsión por transferencia de polarización (de sus siglas en inglés Distortionless Enhancement by Polarization Transfer)
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNP</b>	2,4-dinitrofenol
<b>eq.</b>	Equivalente
<b>G</b>	Guanina
<b>h</b>	Horas
<b>Hex</b>	Hexano
<b>HMBC</b>	Correlación de enlaces múltiples heteronucleares (de sus siglas en inglés Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

<b>HOMO</b>	Orbital molecular ocupado de mayor energía (de sus siglas en inglés Highest Occupied Molecular Orbital)
<b>HSQC</b>	Coherencia cuántica simple heteronuclear (de sus siglas en inglés Heteronuclear Single Quantum Coherence)
<b>J</b>	Constante de acoplamiento
<b>L</b>	Ligando
<b>LUMO</b>	Orbital molecular no ocupado de menor energía (de sus siglas en inglés Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
<b>M</b>	Molaridad
<b>Me</b>	Metilo (grupo)
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mmol</b>	Milimol
<b>min</b>	Minutos
<b>nm</b>	Nanómetro
<b>Ph</b>	Fenilo (grupo)
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>Py</b>	Piridina
<b>R</b>	Radical (grupo)
<b>Rdto.</b>	Rendimiento
<b>RMN</b>	Resonancia Magnética Nuclear
<b>T</b>	Timina
<b>t.amb.</b>	Temperatura ambiente
<b>THF</b>	Tetrahidrofurano
<b>TI</b>	Transcriptasa inversa
<b>TLC</b>	Cromatografía en capa fina (de sus siglas en inglés Thin Layer Chromatography)
<b>TMV</b>	Virus del mosaico de tabaco (de sus siglas en inglés Tabacco Mosaic Virus)
<b>U</b>	Uracilo

**VHS**

Virus del Herpes Simple

**VPH**

Virus del Papiloma Humano

## ÍNDICE

Abreviaturas y acrónimos.....	i
Resumen:.....	v
1. Introducción.....	1
1.1. Virus: definición y estructura .....	2
1.1.1. Clasificación de Baltimore.....	3
1.1.2. Composición química de los virus.....	4
1.1.3. Agentes Antivirales .....	6
1.2. Compuestos heterocíclicos .....	12
1.3. Reacciones 1,3-dipolares .....	13
1.3.1. Reacción 1,3-dipolar: iluros de azometino y alquenos.....	15
2. Objetivos.....	17
3. Resultados y discusión .....	18
3.1. Síntesis de los iminoésteres derivados de timina y uracilo .....	18
3.2. Reacciones de Cicloadición (3+2).....	34
4. Conclusiones.....	45
5. Desarrollo experimental .....	47
5.1 Materiales y técnicas generales.....	47
5.1.1 Materiales.....	47
5.1.2 Técnicas generales .....	47
5.2. Procedimiento de síntesis de $\alpha$ -iminoéster <b>10a-b</b> .....	49
5.3. Cicloadición (3+2) .....	55
6. Espectros representativos .....	58
7. Referencias bibliográficas.....	74

## Resumen:

El presente Trabajo de Fin de Grado se ha realizado en el centro de investigación Joxe Mari Korta en el grupo de investigación de Química Bioorgánica y Modelización Molecular (QBMM), dirigido y supervisado por la Dra. Nerea Alberro Osa y el Dr. Iván Rivilla de la Cruz. La actual pandemia provocada por el virus SARS-CoV-2 ha hecho resurgir el interés en la comunidad científica por la generación de medicamentos, previamente existentes para que puedan ser útiles para luchar contra el virus e intentar mitigar sus efectos, o bien mediante la síntesis de nuevos compuestos capaces de hacer frente a una situación como la que se vive en la actualidad. En los últimos años se han hecho grandes avances en el desarrollo de nuevos compuestos que puedan actuar sobre la ARN polimerasa de algunos virus (como el de la gripe) o bien, en la síntesis artificial de nucleótidos que puedan incorporarse al ácido ribonucleico (ARN) del virus dando lugar a un colapso en su reproducción. Es en este último campo en el cual se ha centrado este trabajo de investigación para la obtención del TFG. Para ello, se ha intentado sintetizar nuevos nucleósidos artificiales basados en la modificación del Uracilo y la Timina mediante reacciones de cicloadición (3+2) catalizadas por Cu (I) y Ag (I). La hipótesis de este TFG es que estas bases nitrogenadas de origen artificial se podrían incorporar a la cadena de ARN viral de una forma sencilla. De tal manera que impidan el mecanismo de replicación del virus incapacitando el sistema de reproducción para leer los nucleósidos modificados.

## Summary:

The present Final Degree Project has been carried out at the Joxe Mari Korta research centre in the Bioorganic Chemistry and Molecular Modelling (QBMM) research group, directed and supervised by PhD Nerea Alberro Osa and PhD Iván Rivilla de la Cruz. The current pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus has led to a resurgence of interest within the scientific community in the replacement of already existing drugs to reduce the spread of the virus and to try to mitigate its effects, as well as in the synthesis of new compounds capable of dealing with a situation such as the one we are currently experiencing. In recent years, great advances have been made to develop new compounds that can act on the RNA polymerase of modified some viruses (such as the influenza virus) or in the artificial synthesis of nucleotides that can be incorporated into the ribonucleic acid (RNA) of the virus, leading to a collapse in its reproduction. It is the latter field in which this research work has focused, in order to obtain the TFG. To this end, we have proceeded to synthesise new artificial nucleotides based on the modification of Uracil and Thymine by (3+2) cycloaddition reactions catalysed by Cu (I) and Ag (I). The hypothesis of this TFG is based on the fact that these artificial cycloadducts be readily incorporated into the viral RNA chain in such a way that they inhibit the virus replication mechanism due to the inability of the virus replication system to read these new nucleotides.

## 1. Introducción

Desde que el ser humano empezó a organizarse en sociedad y a crear núcleos de personas que convivían en un mismo espacio territorial, las enfermedades contagiosas han tomado especial protagonismo. A medida que la población mundial fue creciendo, las enfermedades se extendían y afectaban a varias regiones del planeta convirtiéndose en una amenaza para la población. Hasta la fecha, el coronavirus más conocido era el SARS-CoV, que fue identificado por primera vez en 2003 tras el brote del Síndrome Agudo Respiratorio Severo (SARS-CoV).<sup>1</sup> Posteriormente, en el año 2012, se detectó en Arabia Saudí un nuevo coronavirus que se denominó Síndrome Respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV). Sin embargo, actualmente nos enfrentamos a un nuevo coronavirus denominado SARS-CoV-2, patógeno causante de la actual pandemia COVID-19. En esta ocasión, tras un primer brote originado en la ciudad china de Wuhan a finales de diciembre de 2019, la pandemia ha alcanzado ya innumerables defunciones a nivel mundial.<sup>1</sup> Por lo que, esta devastadora situación conduce a una crisis mundial que acarrea cuantiosos daños económicos y políticos.

El SARS-CoV-2 se encuadra dentro de la familia *Orthocoronavirinae*. Este virus contiene una única cadena de ácido ribonucleico (ARN) de unos 30.000 pares de bases y posee una morfología esférica de aproximadamente 100-160 nm de diámetro.<sup>1</sup> A pesar de comprender estos datos, la poca información que hay acerca de las características de reproducción de este novedoso virus, ha aumentado la conciencia sobre la falta de tratamientos. En este contexto, existe un gran interés sobre moléculas análogas de nucleósidos debido a su actividad antiviral.<sup>2</sup> Los primeros análogos antivirales fueron desarrollados a finales de la década de 1960. Desde entonces, existen más de 25 nucleósidos terapéuticos aprobados para el tratamiento de infecciones virales de gran importancia como VIH/SIDA (Tenofovir) e infecciones por herpes (Aciclovir) entre otros. Es por ello que juegan un papel crucial en la investigación acerca de la búsqueda de futuras terapias efectivas.

---

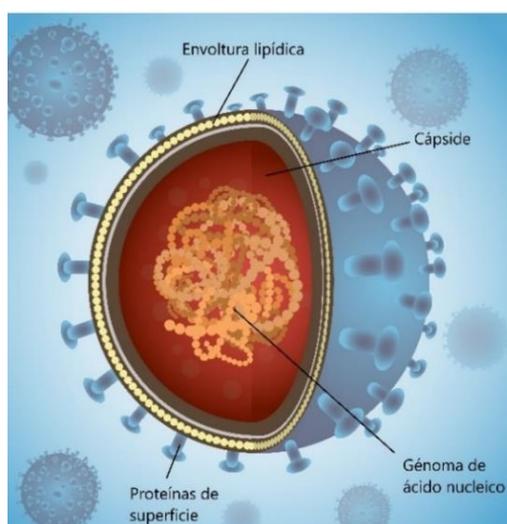
<sup>1</sup> Consejo General de Colegios Farmacéuticos. CORONAVIRUS: COVID-19 Informe Técnico. *Portalfarma* **2020**, 1–37.

<sup>2</sup> Borbone, N.; Piccialli, G.; Roviello, G. N.; Oliviero, G. Nucleoside Analogs and Nucleoside Precursors as Drugs in the Fight against SARS-CoV-2 and Other Coronaviruses. *Molecules* **2021**, *26*, 1–17.

### 1.1. Virus: definición y estructura

Se denomina virus (del latín “*venom*”, referente al veneno o ponzoña) a todo agente infeccioso microscópico capaz de infectar a todas las formas de vida. Los virus se diferencian según su morfología, composición química y tamaño, que oscila entre 7 y 250 nm aproximadamente. Solo pueden replicarse en el seno de un organismo huésped, considerándose así parásitos intracelulares.<sup>3</sup> Contienen un genoma de ácido desoxirribonucleico (ADN) o ARN rodeado por una capa protectora formada por proteínas. Una partícula de virus completa se denomina virión y su función principal consiste en proporcionar su genoma ADN o ARN a la célula huésped para que el genoma pueda ser expresado (transcrito y traducido) por dicha célula huésped.

Tal y como se observa en la Figura 1, los viriones están formados por una región central donde se sitúa el genoma de ácido nucleico. Dicho genoma está rodeado por una capa protectora de proteínas denominada cápside, que surge como consecuencia de la aglomeración de subunidades más pequeñas designadas capsómeros. El conjunto formado por el genoma y la cápside recibe el nombre de nucleocápside. Esta nucleocápside puede estar rodeada o no por una envoltura de bicapa lipoproteica; que a su vez se encuentra cubierta con una capa externa de glicoproteínas denominadas proteínas de superficie.<sup>4</sup>



**Figura 1.** Representación de una estructura de un virus.<sup>a</sup>

<sup>3</sup> Urcuqui, S.; Ossa, J. Historia de la virología y características de los virus. *Fondo Editorial Biogénesis* **2012**, 9-17.

<sup>4</sup> Peralta, R. *The Virology and Its Great Developments* **2019**, 3, 201–210.

<sup>a</sup> Derechos de reproducción de la Figura 1 adaptada de Depositphotos®. ID 22297100.

### 1.1.1. Clasificación de Baltimore

Los virus se pueden agrupar en siete familias según la clasificación de Baltimore (Figura 2).<sup>5</sup>

- **Clase I:** Virus con ADN bicatenario (ADNbc). En este tipo de virus, el ARNm se transcribe directamente a partir del genoma del virus, de doble cadena de ADN. Algunos ejemplos representativos de este grupo son la varicela, el virus del papiloma humano o el Virus Herpes Simple (VHS).
- **Clase II:** Virus de ADN monocatenario (ADNmc). El ADN viral pasa a ser bicatenario, utilizando la maquinaria de reparación de ADN del huésped. El Parvovirus V19 humano es un buen ejemplo de esta clase II.
- **Clase III:** Virus ARN bicatenario (virus ARNbc). En este caso, a partir del ARN bicatenario se obtiene la hebra de ARN monocatenario, que actúa como ARNm. Generalmente están integrados por Rotavirus, los cuales provocan diarreas en los vertebrados.
- **Clase IV:** Virus ARN monocatenario positivo (Virus ARNmc). En este caso la replicación del virus comienza con la traducción genética de la cadena de ARNmc en proteínas reguladoras. Entre ellos, podemos encontrar al virus de la hepatitis A, la fiebre amarilla y el resfriado común.
- **Clase V:** Virus ARN monocatenario negativo (Virus ARNmc-). La conversión de este ARNmc- en ARNm da lugar a la replicación del virus. En esta familia de virus encontramos virus tan letales como el ébola, el sarampión, la rabia o la gripe.
- **Clase VI:** Virus ARN monocatenario retrotranscrito (Virus ARNmcRT). Este tipo de virus actúan mediante la integración de una transcriptasa inversa, la cual a partir del genoma viral produce cadenas de ADN, que acaban introduciéndose en la célula huésped. El gran conocido de este grupo es el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), causante del SIDA y para el cual aún no existe vacuna.
- **Clase VII:** Virus ADN bicatenario retrotranscrito (Virus ADNbcRT). El ADN es introducido en el organismo huésped mediante la maquinaria de reparación de

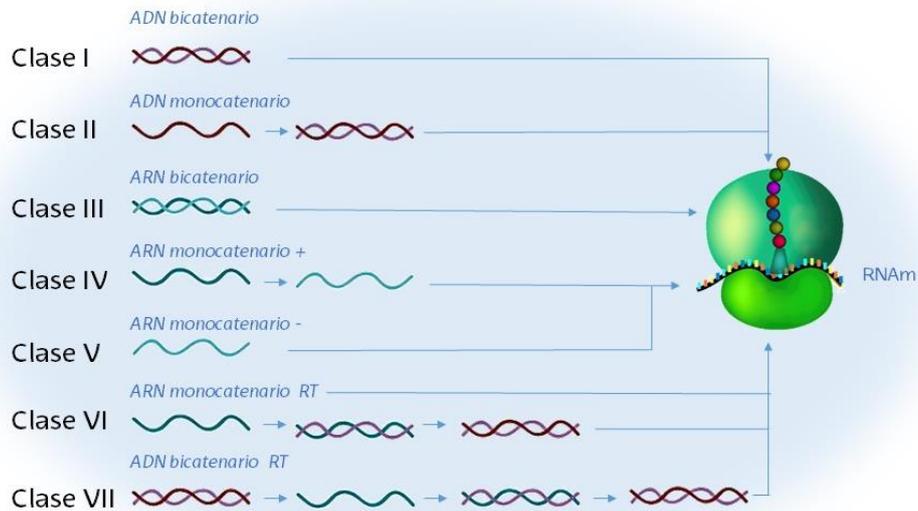
---

<sup>5</sup> a) Baltimore, D. Expression of Animal Virus Genomes. *Bacteriol. Rev.* **1971**, 35, 235–241.

b) Mahmoudabadi, G.; Phillips, R. A. Comprehensive and Quantitative Exploration of Thousands of Viral Genomes. *Elife* **2018**, 7, 1–26.

ADN, que integra el genoma en el huésped. El virus de la hepatitis B, es un integrante de esta clase VII.

Según esta clasificación el SARS-CoV-2 formaría parte del grupo IV.



**Figura 2.** Clasificación de Baltimore para los virus.

### 1.1.2. Composición química de los virus

Los virus están compuestos fundamentalmente por ácidos nucleicos y proteínas, aunque también pueden contener lípidos y glúcidos.

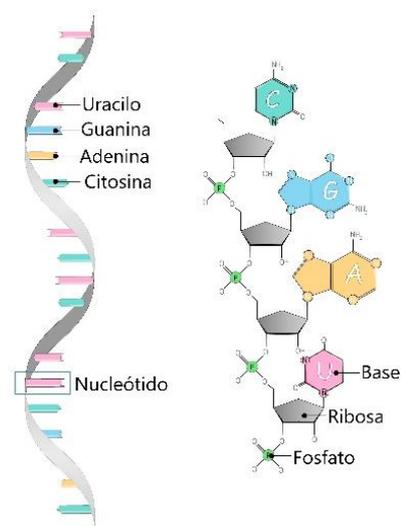
#### Proteínas

Son compuestos vitales en los componentes víricos y se encuentran entre un 50-90%.<sup>6</sup> Se dividen en proteínas estructurales y no estructurales; las primeras están presentes en el virión y se encargan de mantener la estructura del virus, mientras que las segundas son las enzimas requeridas para el ciclo de replicación.

<sup>6</sup> Howley, P.; Knipe, D. *Fields Virology*; **2013**.

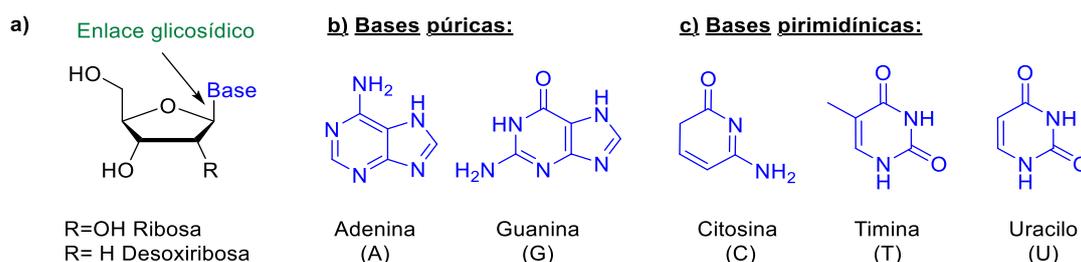
## Ácidos nucleicos

Son macromoléculas de elevado peso molecular que contienen toda la información genética de un virus. Los ácidos nucleicos están constituidos por cadenas de nucleótidos, moléculas orgánicas formadas por la unión entre una base nitrogenada, un monosacárido y un ácido fosfórico tal y como se recoge en la Figura 3. Dichas secuencias de nucleótidos constituyen los “eslabones” de los ácidos nucleicos dando lugar a un genoma del tipo ADN o ARN.



**Figura 3.** Representación de una secuencia de nucleótidos de una hebra ARN y/o ADN.<sup>b</sup>

La unión de la base nitrogenada a un azúcar de cinco carbonos (ya sea desoxirribosa para el ADN y ribosa para el ARN), mediante un enlace covalente  $\beta$ -glicosídico da lugar a los compuestos denominados nucleósidos (Figura 4). Cuando los nucleósidos presentan modificaciones estructurales, ya sea en su base nitrogenada o en el azúcar, son denominados análogos de nucleósidos.<sup>7</sup> Tal y como se ha indicado, estas últimas son de gran relevancia para el diseño de fármacos debido a su posible actividad antiviral.



**Figura 4.** a) Estructura general de un nucleósido. b) Las bases púricas del nucleósido. c) Las bases pirimidínicas de los nucleósidos.

De acuerdo con la composición química, los ácidos nucleicos se clasifican en dos grandes grupos dependiendo del azúcar y de las bases nitrogenadas que la componen:

<sup>7</sup> Hernández, D.; Boto, A. Nucleoside Analogues: Synthesis and Biological Properties of Azanucleoside Derivatives. *European J. Org. Chem.* **2014**, *11*, 2201–2220.

<sup>b</sup> Derechos de reproducción de la Figura 3 adaptada de Depositphotos®. ID 22297100.

- **ADN:** La mayoría de los virus presentan ADN bicatenario, es decir, están formados por dos cadenas dispuestas de manera antiparalela. El ADN posee bases nitrogenadas de naturaleza pirimidínica: Citosina (C) y Timina (T); y de naturaleza púrica: Adenina (A) y Guanina (G). Asimismo, dichas bases se unen a una pentosa cuyo nombre se conoce como desoxirribosa. La función del ADN es almacenar y transferir la información genética. Algunos de los virus que poseen ADN, cuya replicación se sitúa en el núcleo celular, son la varicela, el Virus de Papiloma Humano (VPH) y el VHS entre otros.<sup>8</sup>
- **ARN:** Las bases nitrogenadas púricas son la A y G; mientras que, las pirimidínicas son la C y el Uracilo (U). Es decir, en el ARN la T es reemplazada por U. Estas bases nitrogenadas se enlazan a una pentosa que recibe el nombre ribosa. El ARN interpreta el código genético del ADN para proceder a duplicarse y fabricar el nuevo ADN infectado. Alguno de los virus que poseen ARN monocatenario son la hepatitis A, el VIH, la fiebre amarilla, el Virus del Mosaico de Tabaco (TMV) y el coronavirus, recientemente detectado, SARS-CoV-2 entre otros.<sup>8</sup>

### 1.1.3. Agentes Antivirales

Los fármacos antivirales se emplean para tratar de combatir las infecciones provocadas por los virus anteriormente descritos, ya sean de ADN o ARN. Dichos compuestos son moléculas que se diseñan con el propósito de combatir los virus inhibiendo alguna de las etapas del ciclo de replicación y, por tanto, su propagación. Poseen diversos mecanismos de acción para inhibir dicha replicación. Sin embargo, cabe recalcar que los antivirales sólo son efectivos en aquellas infecciones que se desarrollan en presencia de replicación viral ya que los virus utilizan la maquinaria celular del huésped para la replicación y síntesis de su material genético.<sup>9</sup> Estos antivirales se pueden clasificar en función de su origen en naturales o sintéticos como se explica a continuación.

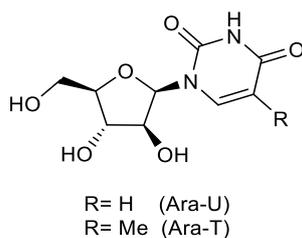
---

<sup>8</sup> De Clercq, E.; Li, G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29*, 695–747.

<sup>9</sup> Le Gall, A.; Albina, E.; Magar, R.; Gauthier, J. P. Antigenic Variability of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus Isolates. Influence of Virus Passage in Pig. *Vet. Res.* **1997**, *28*, 247–257.

### a) Naturales

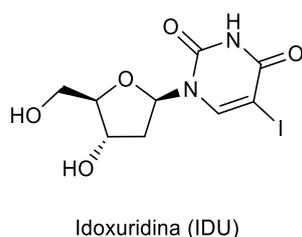
En 1950 se aislaron los primeros antivirales análogos a los nucleósidos con actividad anti-VHS, que fueron la espongouridina (Ara-U) y la espongotimidina (Ara-T) (Figura 5), provenientes de la esponja marina *Cryptotethya cripta*.<sup>10</sup> Además de la fuente marina, también existen plantas con actividad antiviral como es el ejemplo del cactus *Opuntia streptacantha*, que inhibe la replicación intracelular de ADN y ARN de varios virus como el VHS, el virus del herpes equino y el virus de la pseudorabia entre otros.<sup>11</sup>



**Figura 5.** Principio activo proveniente de esponjas marinas.

### b) Sintéticos

El primer fármaco antiviral sintético fue desarrollado por William H. Prusoff en la década de los 60, y aprobado para su uso en 1963.<sup>12</sup> La era de los antivirales sintéticos comenzó con la descripción de la Idoxuridina (IDU), un análogo de la timidina para el tratamiento del VHS y del virus herpes Zoster. Dicho principio activo actúa inhibiendo polimerasas específicas del ADN, vitales para la incorporación de la timidina en el ADN viral.



**Figura 6.** Estructura química del primer fármaco antiviral sintético, Idoxuridina (IDU).

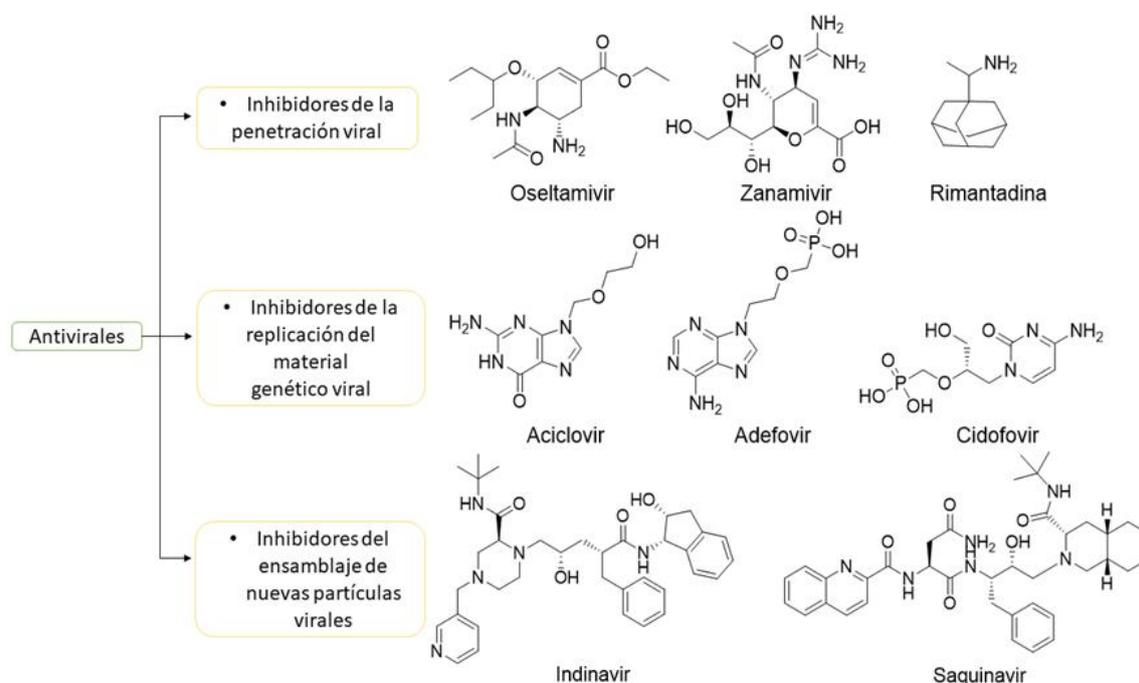
<sup>10</sup> Gómez-Archila, L. G.; Rugeles, M. T.; Zapata, W. Actividad Antiviral de Compuestos Aislados de Esponjas Marinas. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* **2014**, *49*, 401–412.

<sup>11</sup> Ahmad, A.; Davies, J.; Randall, S.; Skinner, G. R. B. Antiviral Properties of Extract of *Opuntia Streptacantha*. *Antiviral Res.* **1996**, *30*, 75–85.

<sup>12</sup> De Clercq, E.; Li, G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29*, 695–747.

### b.1) Clasificación de los antivirales sintéticos

Los antivirales de origen sintético se pueden clasificar en función del mecanismo de acción que emplean para inhibir la acción replicante del virus. De modo que tal y como se observa en la Figura 7, los antivirales interfieren en distintas etapas de la replicación viral:



**Figura 7.** Clasificación de los fármacos antivirales según el mecanismo de acción que emplean.

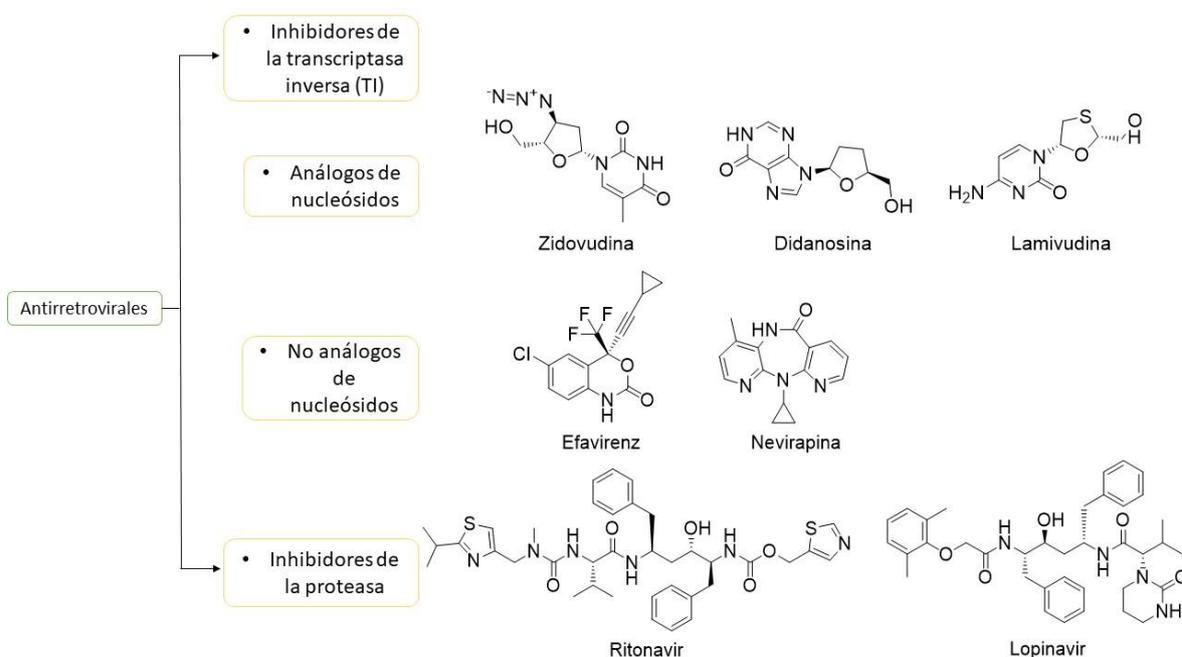
**Inhibidores de la penetración viral.** Son aquellas sustancias que están dirigidas a impedir que el virus penetre en las células huésped.<sup>13a</sup>

**Inhibidores de la replicación del material genético viral.** Estos principios activos actúan inhibiendo aquellas enzimas que estén implicadas en la replicación viral que son esenciales para sintetizar material genético.

**Inhibidores del ensamblaje de nuevas partículas virales.** Estas sustancias se encargan de impedir la generación de nuevas partículas proteicas. De modo que estas proteínas no estarán disponibles en la versión funcional y consecuentemente no podrán ser utilizadas.<sup>13a</sup>

<sup>13</sup> a) Laurence, B. L. *Las Bases de La Farmacología Terapéutica*, MCGRAW-HILL, **2019**, 1105-1113.  
b) Laurence, B. L. *Las Bases de La Farmacología Terapéutica*, MCGRAW-HILL, **2019**, 1137-1157.

Por otro lado, se encuentran los antirretrovirales,<sup>13b</sup> fármacos antivirales específicos para el tratamiento de infecciones producidas por un retrovirus. Cuando un retrovirus infecta una célula produce una molécula de ADN a partir de su ARN. Estos medicamentos se dividen en dos grandes grupos como se muestra en la Figura 8:

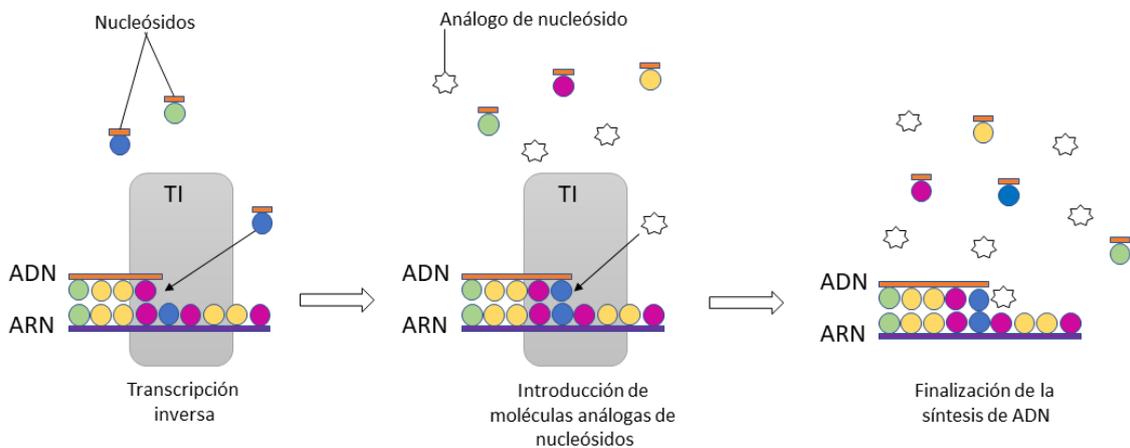


**Figura 8.** Clasificación de los fármacos antirretrovirales.

- **Inhibidores de la transcriptasa inversa (TI).** Interfieren en la síntesis de ácidos nucleicos bloqueando la enzima ADN polimerasa o la enzima TI en el caso de los virus de ARN. La transcriptasa inversa es una enzima cuya función consiste en convertir su ARN monocatenario en ADN de doble hebra.<sup>13b</sup> Los fármacos para poder inhibir la transcriptasa inversa se clasifican en dos grandes grupos:
  - Inhibidores de la TI análogos de nucleósidos. Presentan similitud estructural con los 2-desoxinucleosidos naturales (Figura 4). Debido a dicha similitud, compiten en la incorporación a la cadena de ADN, proceso mediado por la enzima TI.<sup>13b</sup> De este modo, estos análogos de nucleósidos se incorporan en el ADN viral bloqueando la cadena de replicación. Tal y como se recoge en la Figura 9, si el análogo del nucleósido permite completar la biosíntesis del ácido nucleico, éste

dará lugar a la formación de proteínas defectuosas o enzimas no funcionales, provocando la inhibición de la replicación viral y por tanto, la muerte del virus.

Este trabajo de fin de grado se centrará en sintetizar este tipo de moléculas.



**Figura 9.** Mecanismo de acción de un análogo de nucleósido

- **Inhibidores de la TI no análogos de nucleósidos.** Actúan inhibiendo la enzima TI mediante una unión directa al centro activo. Es así que no se incorporan a la cadena de ADN en formación, sino que actúan por unión no competitiva en un lugar cercano al centro catalítico de la enzima.<sup>13b</sup>
- **Inhibidores de la proteasa.** Las proteasas son enzimas que se encargan de fraccionar, en sitios específicos, los enlaces peptídicos de la proteína. De modo que estos compuestos inhiben dichas enzimas clave para completar la maduración viral.<sup>13b</sup>

Tal y como se ha mencionado anteriormente, el diseño general de los fármacos presentados en este trabajo se basa en pequeñas alteraciones en el azúcar y/o en la base nitrogenada con el objetivo de sintetizar un compuesto muy similar pero no idéntico a los nucleósidos que posee un ser humano.<sup>14</sup> Estas pequeñas modificaciones podrían imitar la estructura original de modo que serían reconocidos por las enzimas TI

<sup>14</sup> Seley-Radtke, K. L.; Yates, M. K. The Evolution of Nucleoside Analogue Antivirals: A Review for Chemists and Non-Chemists. Part 1: Early Structural Modifications to the Nucleoside Scaffold. *Antiviral Res.* **2018**, *154*, 66–86.

para su posterior replicación. El objetivo de esta pequeña modificación en la estructura del nucleósido es provocar la interrupción y posterior terminación de los procesos biológicos. Así, se inhabilita el proceso de replicación dando lugar a la muerte del virus. En la búsqueda de estos nuevos antivirales, los azanucleósidos poseen un gran interés. Se trata de análogos de nucleósidos en los que el anillo de furanosa es sustituido por una cadena o un anillo que contiene un nitrógeno (Figura 10).



**Figura 10.** Diferencia estructural entre nucleósidos y azanucleósidos.

Muchos de los derivados de azanucleósidos presentan una actividad biológica interesante. Por ejemplo, algunos de ellos son inhibidores de la enzima fosforilasa de nucleósidos de purina (PNPR)<sup>15</sup> resultando ser un tratamiento potencial en enfermedades tales como linfomas, enfermedad de Crohn, psoriasis, artritis reumática, etc. En cuanto a su actividad antiviral, varios análogos de azanucleósidos son inhibidores de la TI, por lo que presentan actividad anti-VIH. Otra tipología de estos derivados presenta una importante actividad contra los virus de la vacuna o más conocido como Vaccinia virus, que está estrechamente relacionada con el virus de la viruela o el herpes.<sup>16</sup> Por último, también existe una familia de estos azanucleósidos con capacidad para promover la inhibición de la replicación del ARN vírico de algunos virus, como por ejemplo el de la Hepatitis C.<sup>17</sup>

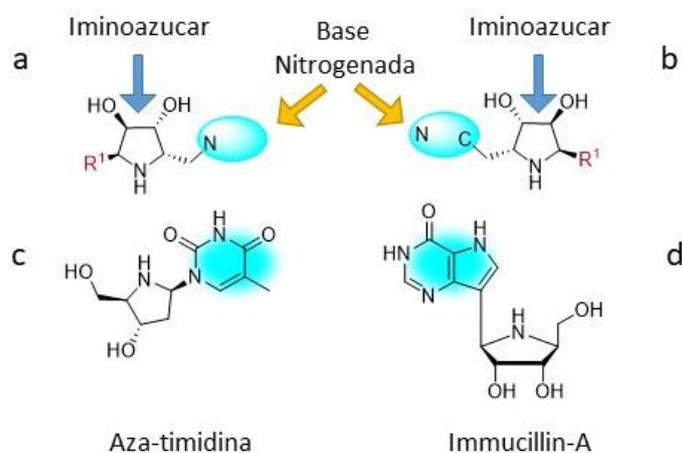
Dentro de los azanucleósidos, podemos encontrar dos tipos en función de cómo se unen a la base nitrogenada y al iminoazúcar mediante el enlace glicosídico. Esta unión se puede llevar a cabo mediante el átomo de nitrógeno, con lo que estaríamos hablando

<sup>15</sup> El Bissati, K.; Zufferey, R.; Witola, W. H.; Carter, N. S.; Ullman, B.; Ben Mamoun, C. The Plasma Membrane Permease PfNT1 Is Essential for Purine Salvage in the Human Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 9286–9291.

<sup>16</sup> Zhou, D.; Lagoja, I. M.; Van Aerschot, A.; Herdewijn, P. Synthesis of Aminopropyl Phosphonate Nucleosides with Purine and Pyrimidine Bases. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2006**, *71*, 15-34.

<sup>17</sup> Chiacchio, U.; Borrello, L.; Crispino, L.; Rescifina, A.; Merino, P.; Macchi, B.; Balestrieri, E.; Mastino, A.; Piperno, A.; Romeo, G. Stereoselective Synthesis and Biological Evaluations of Novel 3'-Deoxy-4'-Azaribonucleosides as Inhibitors of Hepatitis C Virus RNA Replication. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 4054–4057.

de N-azanucleósidos o mediante uno de los átomos de carbonos entre el iminoazúcar y el anillo heteroaromático por uno de los átomos de carbono, se denominan C-azanucleósidos (Figura 11).<sup>18</sup>



**Figura 11.** Estructura general para los derivados N-azanucleosidos (a) y C-azanucleosidos (b) Aza-timidina con actividad anti PNP (Purine Nucleoside Phosphorylases, de sus siglas en inglés) (c). Immucillin-A empleado como antiviral que actúa contra la RNAPolimerasa (d).

## 1.2. Compuestos heterocíclicos

Como se ha podido observar a lo largo de la introducción anterior, todos los compuestos descritos en las Figuras 7 y 8, poseen heterociclos en su estructura química. Los heterociclos constituyen una de las familias más grandes de los compuestos orgánicos. Son aquellos compuestos que además de hidrógeno y carbono poseen un heteroátomo formando un anillo. Los más comunes son los heterociclos con anillos de cinco o seis átomos, donde uno o varios átomos de carbono están sustituidos por átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre. En los últimos años ha aumentado el interés por estas moléculas debido a sus propiedades antivirales y antibióticas, hecho que ha provocado la necesidad de nuevas estrategias sintéticas para la obtención de dichas moléculas.<sup>19</sup>

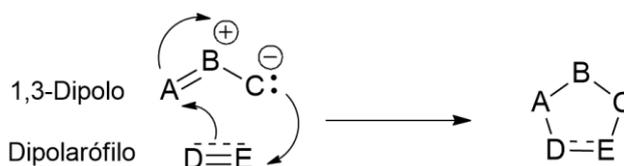
<sup>18</sup> Salunke, R. V.; Mishra, P. K.; Sanghvi, Y. S.; Ramesh, N. G. Synthesis of Novel Homoazanucleosides and Their Peptidyl Analogs. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5639–5651.

<sup>19</sup> Al-Mulla, A. A Review: Biological Importance of Heterocyclic Compounds. *Der Pharma Chem.* **2017**, *9*, 141–147.

Este trabajo de investigación se basará en desarrollar y sintetizar un compuesto N-azanucleósido cuyo heterociclo sea una pirrolidina. Estas pirrolidinas poseen una potencial actividad antiviral por lo que su uso es frecuente en la industria farmacéutica.<sup>19</sup> Actualmente, existe una gran variedad de vías y métodos para su obtención, pero uno de los más empleados formalmente consiste en la reacción pericíclica 1,3-dipolar también conocida como cicloadición (3+2) o ciclocondensación (3+2).

### 1.3. Reacciones 1,3-dipolares

Estas reacciones pericíclicas, constituyen uno de los métodos más efectivos para obtener compuestos heterociclos de cinco eslabones. Son reacciones  $[\pi 4s+\pi 2s]$  entre un compuesto dipolar (generalmente formada *in situ*) y un compuesto dipolarófilo (Figura 12). Así, el 1,3-dipolo, reacciona con el dipolarófilo mediante un estado de transición de 6 electrones  $\pi$ ; conduciendo a la formación de ciclos de cinco eslabones.<sup>20</sup>



**Figura 12.** Esquema general de la reacción 1,3-dipolar mediante el dipolo y el dipolarófilo.

Según se observa en la figura anterior, el componente que aporta cuatro electrones  $\pi$  es formalmente conocido como 1,3-dipolo, formado generalmente por tres átomos presentando una carga positiva en el átomo central y una carga negativa distribuida en los átomos terminales. El otro componente que aporta dos electrones  $\pi$  se denomina dipolarófilo. A pesar de que los dipolarófilos más habituales sean un alqueno o un alquino, cualquier compuesto insaturado sería válido para llevar a cabo dicha reacción.<sup>20</sup> Estas reacciones de cicloadición (3+2) son también conocidas como “reacción de Huisgen”. Este nombre se debe a que fue Rolf Huisgen quien describió el proceso de esta reacción en 1963.<sup>21</sup> Huisgen determinó que esta reacción de

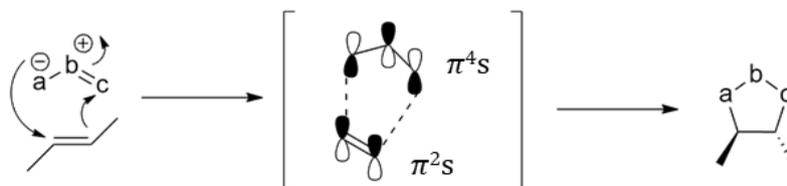
<sup>20</sup> Kuznetsov, M. L. Theoretical Studies on [3+2]-Cycloaddition Reactions. *Russ. Chem. Rev.* **2006**, 75, 935–960.

<sup>21</sup> Cossío, F. P.; Morao, I.; Jiao, H.; Von Ragué Schleyer, P. In-Plane Aromaticity in 1,3-Dipolar Cycloadditions. Solvent Effects, Selectivity, and Nucleus-Independent Chemical Shifts. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 6737–6746.

cicloadición transcurriría a través de un mecanismo basado en una interacción supra-supra, sugiriendo así que la reacción ocurre de manera concertada a través de un único estado de transición. Sin embargo, Firestone, a diferencia de Huisgen, propuso que el mecanismo sucedía por etapas, lo que implicaba un intermediario en la reacción. Estudios posteriores demuestran que esta hipótesis, en general, era incorrecta.

Los 1,3 dipolos se pueden clasificar en dos grupos dependiendo de su estructura:

- **Dipolo de tipo alílico:** Posee un único doble enlace, por lo que su estructura es angular (Figura 13). Entre los más destacables tenemos las nitronas, los iluros de azometino, los iluros de amina y los iluros de carbonilo, entre otros. Su átomo central puede ser O, N o S.



**Figura 13.** Reacción entre anión alílico y alqueno.

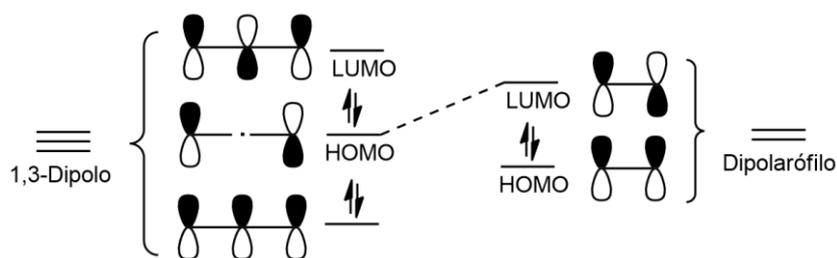
- **Dipolo de tipo propargílico:** Posee estructura lineal debido a que presentan un doble enlace ortogonal al sistema  $\pi$  deslocalizado (Figura 14). Se presenta en dos formas resonantes de tipo propargilo y de tipo cumuleno (alenilo). Entre los más destacables se sitúan los óxidos de nitrilos, los iluros de nitrilo, las azidas y las iminas de nitrilo, entre otros. Su átomo central está generalmente limitado al nitrógeno.



**Figura 14.** Reacción entre anión propargílico y alqueno.

Estas reacciones pericíclicas transcurren mediante un mecanismo concertado en el que el estado de transición es controlado por la Teoría de Orbitales Moleculares Frontera (TOF) de los sustratos.<sup>21</sup> Es decir, las reacciones están controladas por las

energías del HOMO (orbital molecular ocupado de mayor energía)-LUMO (orbital molecular vacío de menor energía). Así, El  $LUMO_{\text{dipolo}}$  puede interactuar con el  $HOMO_{\text{dipolarófilo}}$  o bien el  $HOMO_{\text{dipolo}}$  con el  $LUMO_{\text{dipolarófilo}}$  como se observa en la figura 16. De manera que cuanto menor sea la diferencia de energía de los orbitales HOMO-LUMO, más favorable será la reacción.

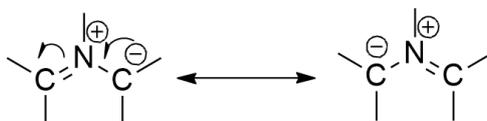


**Figura 15.** Estructura e interacción de los orbitales HOMO-LUMO.

Otro aspecto de estas reacciones de cicloadición es la disposición relativa de los sustituyentes provenientes del dipolo y del dipolarófilo, razón por la cual la disposición de los sustratos a la hora de realizar la aproximación es de vital importancia por la posible generación de los diastereoisómeros *endo* y *exo*. La estereoquímica *endo* proviene de la interacción del grupo electroattractor del dipolarófilo y el sistema  $\pi$  formado por un sustituyente del dipolo. No obstante, existe la posibilidad de formación de los diastereoisómeros *exo* por efectos estéricos y/o interacciones electrostáticas. Para poder tener un control de la configuración absoluta de los nuevos estereocentros formados a raíz de la cicloadición, se debe bloquear una de las caras enantiotópicas de alguno de los componentes de la reacción. Para ello, se hace uso de dipolarófilos quirales o catalizadores quirales, dando lugar a procesos estereoselectivos y enantioselectivos.

### 1.3.1. Reacción 1,3-dipolar: iluros de azometino y alquenos

Existen diversas vías para la formación de la pirrolidina, pero una de las más empleadas consiste en la reacción entre un iluro de azometino (Figura 16) y un alqueno.



**Figura 16.** Estructuras de resonancia de los iluros de azometino.

El iluro de azometino es una estructura química formada por los átomos C-N-C, los cuales tienen 4 electrones  $\pi$  distribuidos sobre los tres átomos. Son estructuras resonantes, siendo las más comunes las que poseen la carga positiva sobre el nitrógeno y la negativa sobre uno de los carbonos. La reacción se da predominantemente por la interacción HOMO<sub>dipolo</sub> (iluro de azometino)-LUMO<sub>dipolafilo</sub> (alqueno, dipolo nucleofílico). Estos iluros de azometino generados surgen a partir de precursores imínicos, que a su vez se generan por condensación del aldehído con aminas.



**Figura 17.** Reacción entre el alqueno y el iluro de azometino para la formación de la pirrolidina.

Es importante recalcar que la formación de estas pirrolidinas da la posibilidad de generar hasta 4 nuevos centros estereogénicos pudiéndose formar hasta 16 isómeros. Aunque si se tienen en cuenta los regioisómeros posibles, esa cifra se eleva a 32. Idealmente, es necesario preparar compuestos ópticamente puros. Es decir, uno de los dos enantiómeros posibles para un regio- y diastereoisómero dado. Para obtener un compuesto enantioméricamente puro existen diferentes vías y estrategias.

## 2. Objetivos

Los objetivos de este Trabajo de Fin de Grado son:

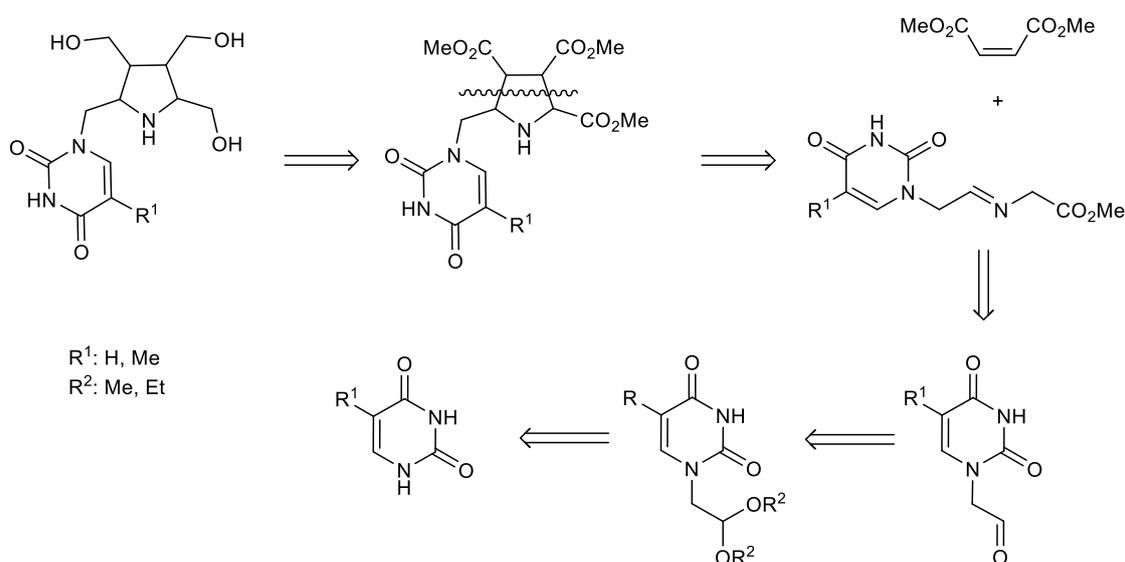
1. Primera toma de contacto con las técnicas básicas de síntesis orgánica utilizadas en un laboratorio de química orgánica. Algunas de éstas pueden ser el manejo de diferentes compuestos químicos y de técnicas de purificación, entre otras. Además del buen uso del material de trabajo, desde el material de vidrio hasta equipos más complejos de técnicas de caracterización estructural como Resonancia Magnética nuclear (RMN), Infrarrojo (IR) y síntesis asistida por microondas entre otros.

2. El objetivo científico, sin embargo, se basa en el diseño y síntesis de análogos de nucleósidos, basados en la timina y el uracilo, con potencial actividad antiviral mediante un mecanismo de acción sobre el ARN. Estas nuevas entidades químicas podrían actuar intercalándose entre las otras bases del ARN del virus, impidiendo así la replicación del mismo. La generación de estas nuevas moléculas se basará en reacciones de cicloadición (3+2) entre la imina derivada de la base nitrogenada (precursor del dipolo correspondiente) y diferentes dipolarófilos catalizadas por metales como Cu (I) y Ag (I).

### 3. Resultados y discusión

Para poder llevar a cabo correctamente los objetivos propuestos, el trabajo se dividirá en varias secciones. Por un lado, se detallan las etapas de síntesis del compuesto iminoéster partiendo de uracilo (U) y timina (T) como reactivos de partida. Por otro lado, se describirán las reacciones de cicloadición (3+2) entre los iminoésteres anteriormente citados y diferentes dipolarófilos, catalizadas por Cu (I) y Ag (I).

La estrategia para la síntesis de pirrolidinas polihidroxiladas se fundamenta en la desconexión del anillo heterociclo a través de los enlaces carbono-carbono. Dicha desconexión implica la cicloadición entre el alqueno y la imina. Esta última se obtiene mediante una condensación entre el éster de glicina y el aldehído correspondiente como se muestra en el Esquema 1. Esta secuencia de reacciones permite la utilización de materiales de partida muy accesibles como son el uracilo (R=H) y la timina (R=Me).

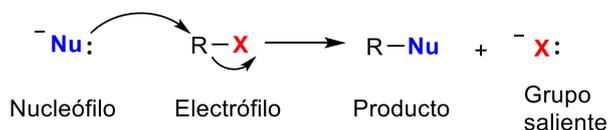


**Esquema 1.** Esquema retrosintético para la obtención de la pirrolidina.

#### 3.1. Síntesis de los iminoésteres derivados de timina y uracilo

Uno de los métodos más empleados para obtener aminas sustituidas consiste en una reacción de alquilación mediante una sustitución nucleofílica de haluros o alcoholes. Las reacciones de sustitución nucleofílica son aquellas reacciones en las cuales una base de Lewis actúa como un nucleófilo reemplazando el sustituyente que actúa como grupo saliente. De este modo genera un nuevo enlace carbono-nucleófilo tal y como se

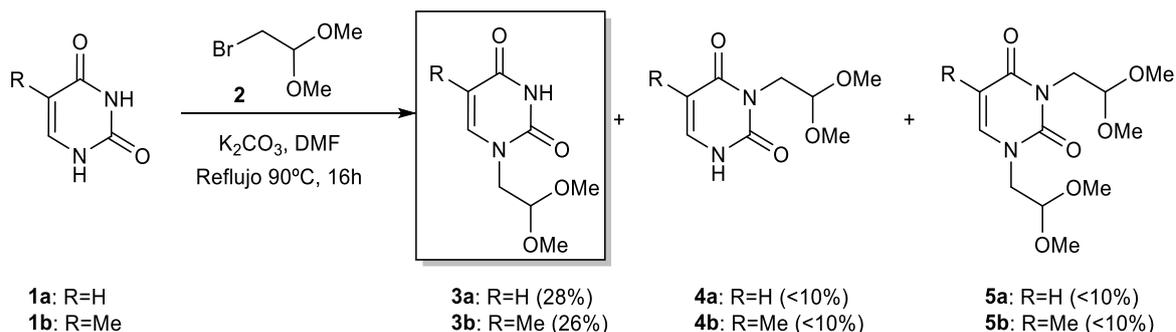
describe en el Esquema 2. Dichas reacciones se clasifican de acuerdo al mecanismo de acción que ejercen, siendo de tipo S<sub>N</sub>1 o S<sub>N</sub>2. Debido a que la reacción de alquilación que se plantea en el presente trabajo se lleva a cabo mediante un mecanismo de una única etapa, se considera una reacción S<sub>N</sub>2.



**Esquema 2.** Esquema general de una reacción de sustitución nucleofílica S<sub>N</sub>2.

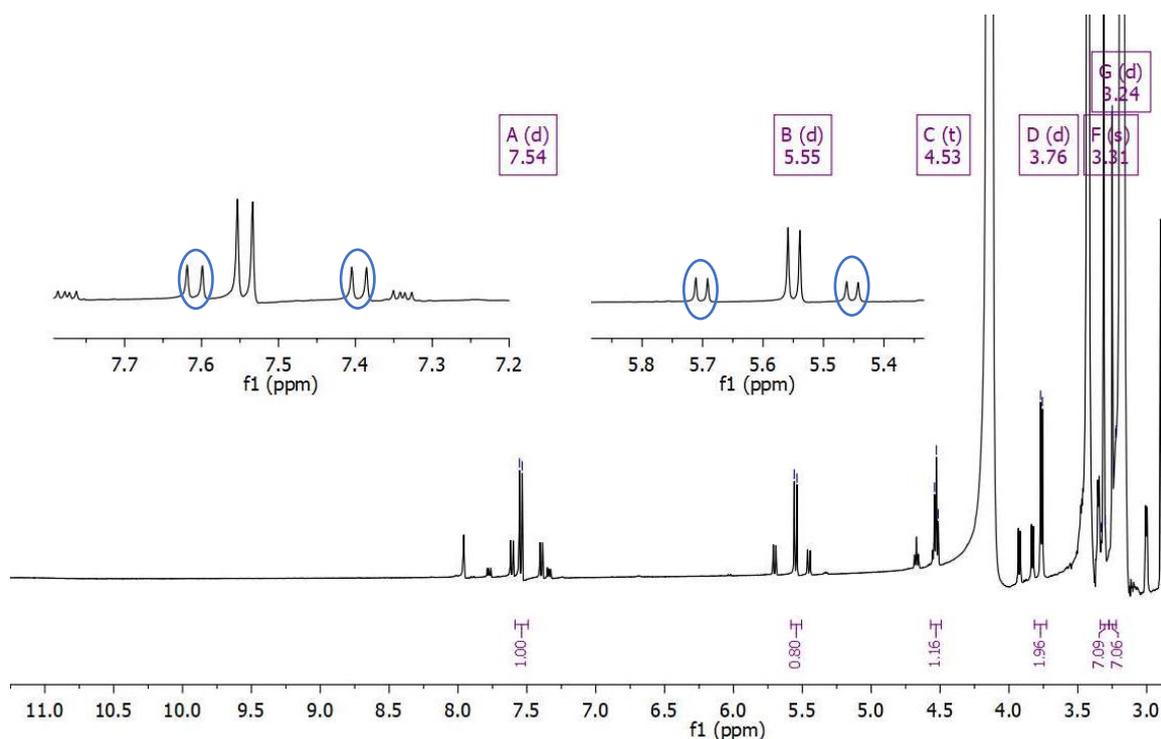
Para la síntesis de los derivados **3a-b** (Esquema 3) se siguió el procedimiento experimental descrito por Palazzolo, M. A. et al.<sup>22</sup> Para ello, se hizo reaccionar las bases nitrogenadas **1a-b** en DMF a 50°C en presencia de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> durante 1h. Transcurrido este tiempo, se incrementó la temperatura hasta los 90°C y se adicionó el agente alquilante **2**, 2-Bromo-1,1-dimetoxietano. Una vez finalizada la adición, la reacción se mantuvo a reflujo durante 16h y, pasado el tiempo de reacción, se dejó que la reacción alcanzara la temperatura ambiente. La reacción fue seguida por cromatografía en capa fina (TLC), observándose la completa desaparición de los reactivos de partida. La mezcla de reacción resultante fue purificada mediante cromatografía en columna, observándose mediante un análisis de <sup>1</sup>H-RMN la aparición de otros dos compuestos además de los productos deseados (**3a-b**). Se pudo determinar que los otros dos compuestos aislados se correspondían con la monoalquilación del grupo NH que se encuentra entre los dos grupos C=O de los correspondientes anillos de timina y uracilo, y con los productos de dialquilación **5a-b** (Esquema 3).

<sup>22</sup> Palazzolo, M. A.; Nigro, M. J.; Iribarren, A. M.; Lewkowicz, E. S. A Chemoenzymatic Route to Prepare Acyclic Nucleoside Analogues. *European J. Org. Chem.* **2016**, 2016, 921–924.



**Esquema 3.** Síntesis de los productos **3a-b** partiendo de las bases nitrogenadas **1a-b**.

Además de la caracterización de los compuestos anteriormente descritos, se pudo determinar su presencia directamente en la mezcla de reacción. En la ampliación del espectro  $^1H$ -RMN recogido en la Figura 18, se puede observar la ausencia de la señal correspondiente al grupo NH alrededor de 11.3 ppm. Esto puede ser debido al pH del medio de reacción y al efecto del disolvente deuterado, aunque también puede indicar que los grupos NH estén sustituidos parcial o totalmente. Por otro lado, se observó que las señales propias del doble enlace del anillo de la base nitrogenada estaban triplicadas como consecuencia de la obtención de una mezcla de tres compuestos. Asimismo, el valor de las integrales para los grupos metoxi (OMe) a 3.24 y 3.31 ppm, integraban para más del doble de protones. Por todo ello, es posible concluir que la reacción dio lugar a una mezcla de los compuestos ya mencionados. La existencia de estos subproductos, junto con los bajos rendimientos obtenidos, obligó a cambiar la estrategia sintética.

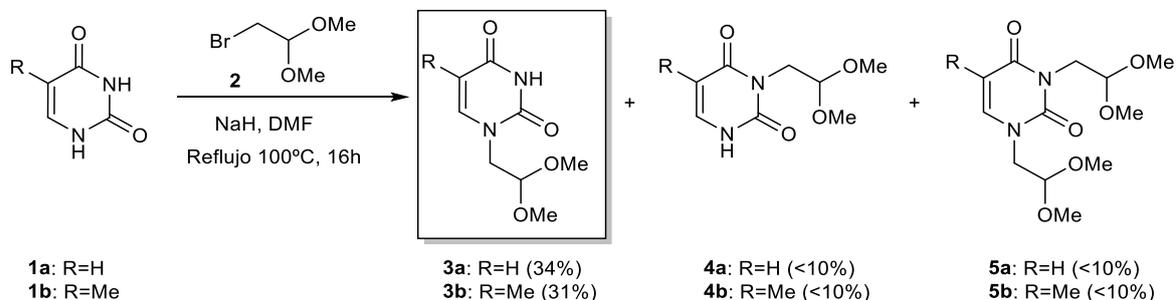


**Figura 18.** Ampliación del espectro  $^1\text{H}$ -RMN del producto **3a**.

Otra posible ruta para la obtención de los derivados **3a-b** es la descrita por Martínez, A. P. et al.<sup>23</sup> En este caso, se emplea NaH en lugar de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ . Este hidruro metálico de carácter básico se utiliza para procesos de alquilación, ya que funciona como un agente desprotonante. Para ello, en una disolución de las bases nitrogenadas **1a-b** en DMF se añadió el hidruro de sodio al 60% en aceite mineral (lavado previamente con hexano con el fin de eliminar el aceite de base mineral que lo protege de la reacción con el agua y el oxígeno del entorno). Tras 2h de agitación bajo atmósfera inerte, se añadió el agente alquilante **2** disuelto en DMF. La reacción se calentó a  $90^\circ\text{C}$  y se dejó con agitación a reflujo durante 14h. Una vez transcurrido dicho tiempo, se adicionó una porción adicional de **2**, incrementando la temperatura hasta  $150^\circ\text{C}$  y se mantuvo hasta que empezaron a precipitar finos cristales de bromuro de sodio (alrededor de 30 minutos). La reacción fue seguida por TLC, confirmando la desaparición de los reactivos de partida. Dicha disolución se purificó mediante cromatografía en columna dando como resultado, una vez más, una mezcla de tres compuestos. Los rendimientos obtenidos fueron 34% para **3a** y 31% para **3b**. Los datos espectroscópicos obtenidos del

<sup>23</sup> Martínez, A. P.; Lee, W. W. An Improved Synthesis of Willardiine and L-(2',2'-Diethoxyethyl) Uracil. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 317–318.

análisis de esta mezcla de reacción mediante  $^1\text{H}$ -RMN, era totalmente compatible con los resultados obtenidos del procedimiento descrito anteriormente en la primera ruta sintética empleada.



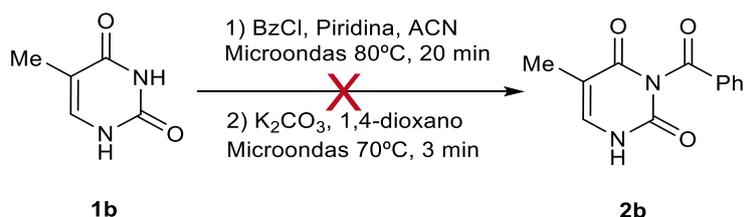
**Esquema 4.** Síntesis de los productos **3a-b** partiendo de las bases nitrogenadas **1a-b**.

Para intentar evitar la mezcla de los productos *N*-1 y *N*-3 monoalquilado y dialquilado, se llevó a cabo la protección del grupo el NH de interés (*N*-3). Para ello, se decidió seguir dos rutas sintéticas, las cuales se describen a continuación.

#### a) Irradiación por microondas

Una de las metodologías empleadas para la protección se basó en una benzoilación selectiva catalizada por la irradiación por microondas. Dicha reacción, descrita por Frieden, M. et al<sup>24</sup> se fundamenta en una benzoilación selectiva de la amina seguida de una hidrolisis básica. Para ello, se introdujeron en un tubo de microondas la timina **1b**, el cloruro de benzoílo, la piridina y el acetonitrilo. La mezcla de reacción fue sometida durante 20 minutos a la irradiación de microondas a  $80^\circ\text{C}$ . A continuación, se eliminó el disolvente y se adicionó agua. Para extraer el producto, se utilizó acetato de etilo (AcOEt). La fase orgánica se volvió a lavar con agua, se secó con  $\text{MgSO}_4$ , se filtró y finalmente se eliminó el disolvente, dando lugar a un sólido de color blanco. Éste sólido fue disuelto en una disolución acuosa de  $\text{K}_2\text{CO}_3$  0,5M y 1,4-dioxano; y se volvió a irradiar a  $70^\circ\text{C}$  durante 3 minutos. La mezcla final de reacción fue analizada por TLC y por  $^1\text{H}$ -RMN pudiéndose observar, en ambos casos, material de partida sin reaccionar y no el producto *N*-benzoilado **2b**.

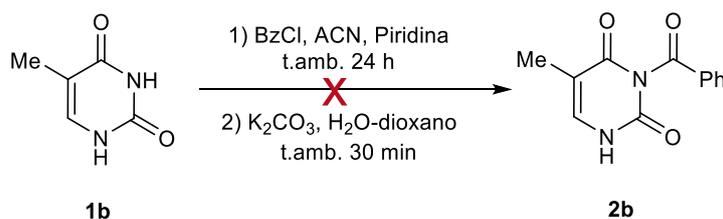
<sup>24</sup> Frieden, M.; Giraud, M.; Reese, C. B.; Song, Q. Synthesis of 1-[cis-3-(hydroxymethyl)cyclobutyl]-uracil, -thymine and -cytosine. **1998**, *1*, 2827–2832.



**Esquema 5.** Protección del grupo NH utilizando la metodología de microondas.

### b) Reacción a temperatura ambiente

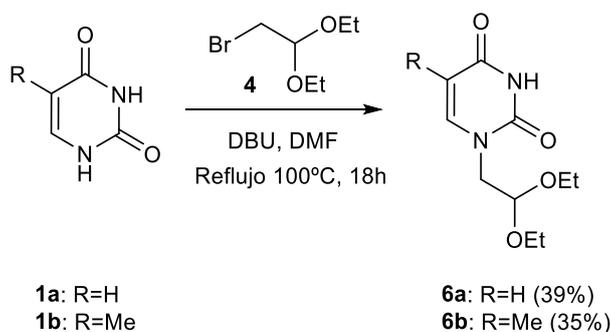
Este método consiste en una serie de reacciones basadas en las condiciones descritas por Bessières, M. et al.<sup>25</sup> Para ello, se hizo reaccionar un exceso de cloruro de benzoilo con la base nitrogenada **1b** en piridina y acetonitrilo bajo atmosfera inerte. La reacción se mantuvo con una agitación en atmosfera de argón a temperatura ambiente durante 24h. Al cabo de dicho tiempo, la mezcla de reacción se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y agua. El disolvente fue evaporado a presión reducida. A la mezcla de reacción resultante se añadió K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, dioxano, agua y, se dejó reaccionando durante 0,5h. Transcurrido este tiempo, se acidificó el medio de reacción adicionando ácido acético (AcOH). Finalmente, se añadió NaHCO<sub>3</sub> sat. para neutralizar el medio de reacción y se dejó reaccionar durante 1,5h más. La mezcla de reacción final fue filtrada y lavada con agua fría. El producto resultante fue analizado por TLC y por <sup>1</sup>H-RMN. Desafortunadamente el análisis de los datos por ambas técnicas determinó que la reacción no había tenido lugar, obteniéndose de nuevo el reactivo de partida.



**Esquema 6.** Protección del grupo NH utilizando la metodología de temperatura ambiente.

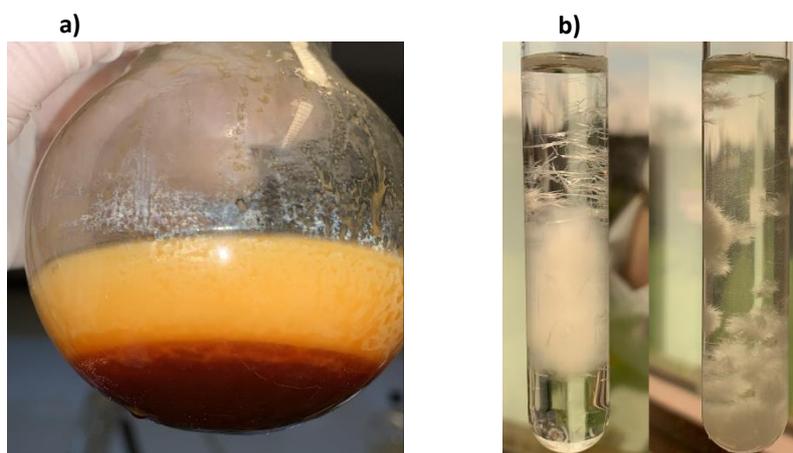
<sup>25</sup> Bessières, M.; Sari, O.; Roy, V.; Warszycki, D.; Bojarski, A. J.; Nolan, S. P.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Sonication-Assisted Synthesis of (E)-2-Methyl-but-2-Enyl Nucleoside Phosphonate Prodrugs. *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 3108–3113.

En este punto, se decidió volver a la ruta original, pero en esta ocasión, cambiando el agente alquilante.<sup>26</sup> Para llevar a cabo dicho procedimiento, se disolvió la base nitrogenada **1a-b** en DMF. Al mismo tiempo, se hizo reaccionar el agente alquilante, en este caso 2-bromo-1,1-dietoxietano, **4**, con DBU en DMF a temperatura ambiente durante 15 min. A continuación, se mezclaron ambas disoluciones y se calentaron a 90-100°C durante 18h. Transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a presión reducida para dar lugar a un sólido de color marrón (Figura 19a). A dicho residuo se le adicionó agua y el pH se ajustó a 6-7 empleando HCl 1M. Seguidamente, se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas se secaron con MgSO<sub>4</sub>. Posteriormente, la mezcla se filtró y se eliminó el disolvente dando lugar a un sólido de color naranja oscuro (Figura 19a). El producto fue purificado utilizando una mezcla 10:1 de hexano y EtOAc. Los productos **6a** y **6b** fueron aislados como sólidos blancos (Figura 19b), y se obtuvieron con rendimientos aceptables de 39% y 35% respectivamente. A pesar de los moderados rendimientos de esta reacción, en la mezcla de reacción no se observó la presencia de productos de dialquilación o de la N-alquilación en la posición N-3 de los anillos de uracilo y timina. Además, esta reacción se pudo realizar en escala de multigramo.



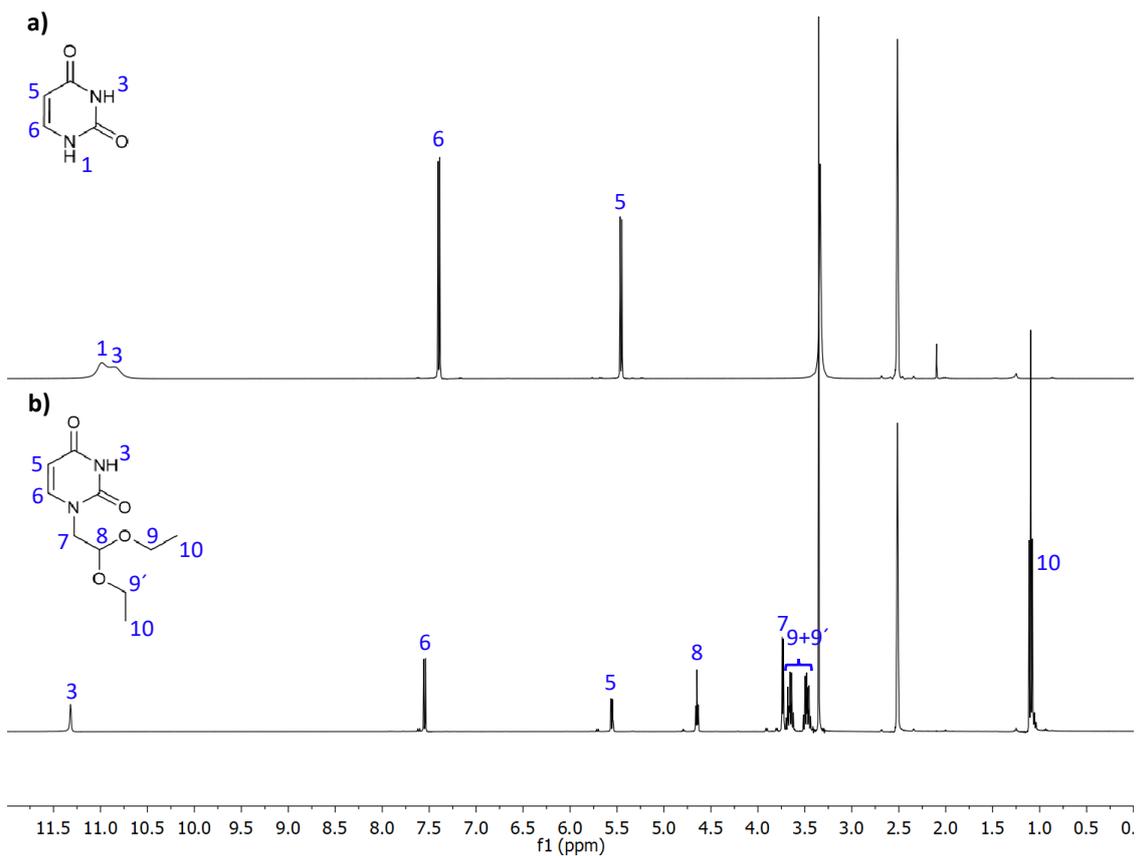
**Esquema 7.** Síntesis de los productos **6a-b** partiendo de las bases nitrogenadas **1a-b**.

<sup>26</sup> Meanwell, M.; Silverman, S. M.; Lehmann, J.; Adluri, B.; Wang, Y.; Cohen, R.; Campeau, L. C.; Britton, R. A Short de Novo Synthesis of Nucleoside Analogs. *Science* **2020**, *369*, 725–730.

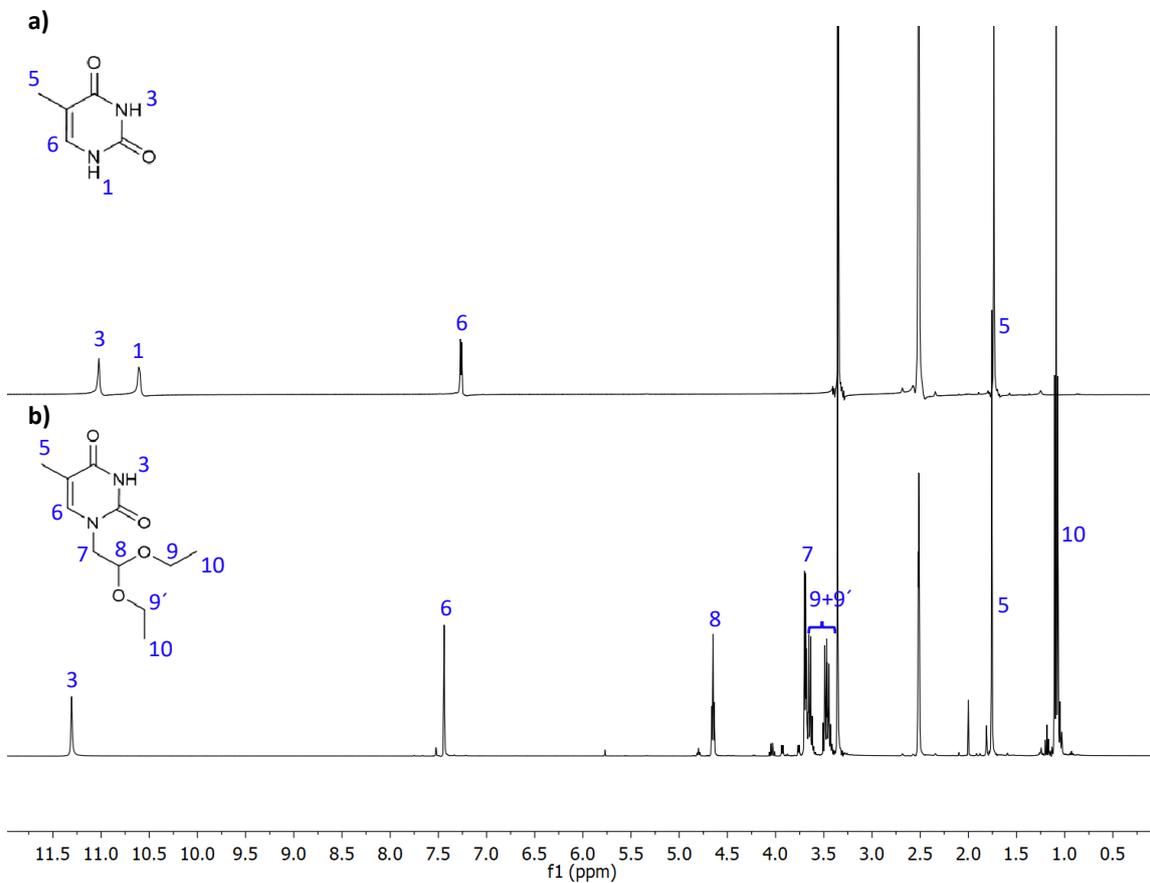


**Figura 19.** a) Crudo de la reacción **6a** disuelto en DMF. b) Cristales del producto purificado **6a**.

La obtención de los compuestos **6a-b** fue determinada por diferentes técnicas de caracterización tales como espectroscopía Infrarroja (IR) y RMN (ver anexo). En los espectros  $^1\text{H}$ -RMN adjuntados en las Figuras 20 y 21, se verificó que se hallaban todas las señales correspondientes a los compuestos **6a-b** según lo descrito en la literatura. A continuación, se describen brevemente las diferencias, mediante un experimento de  $^1\text{H}$ -RMN, entre el producto de partida **1a** y el producto final **6a**. La resonancia correspondiente al protón del grupo NH se puede observar como un singlete sobre 11.3 ppm. Asimismo, los protones del grupo  $-\text{CH}_2-$  del grupo etoxi aparecen como dos cuádrupletes a 3.48 y 3.66 ppm, que a diferencia de los  $-\text{CH}_3$  de la cadena etoxi, dan una única señal, por lo que la integral es la suma de todos los hidrógenos, concretamente 6 (ver anexo). Además, las señales correspondientes al anillo de uracilo ( $n^\circ$  5 y 6) aparecen como sendos dobletes a 5.55 y 7.55 ppm, respectivamente. Todas las señales integran para el número de protones correspondientes y con la debida multiplicidad. Como consecuencia de todo lo mencionado, se decidió utilizar dicha vía para las sucesivas reacciones.

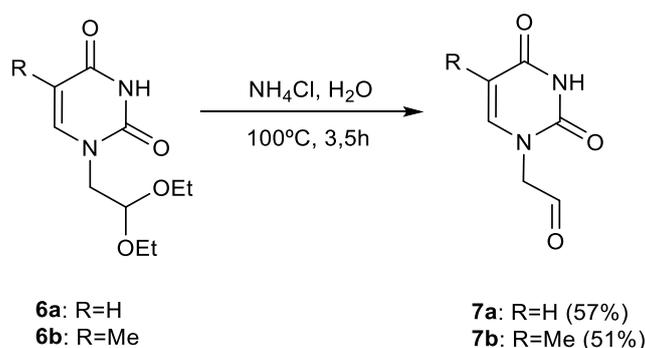


**Figura 20.** a) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto de partida **1a**. b) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del producto **6a**.



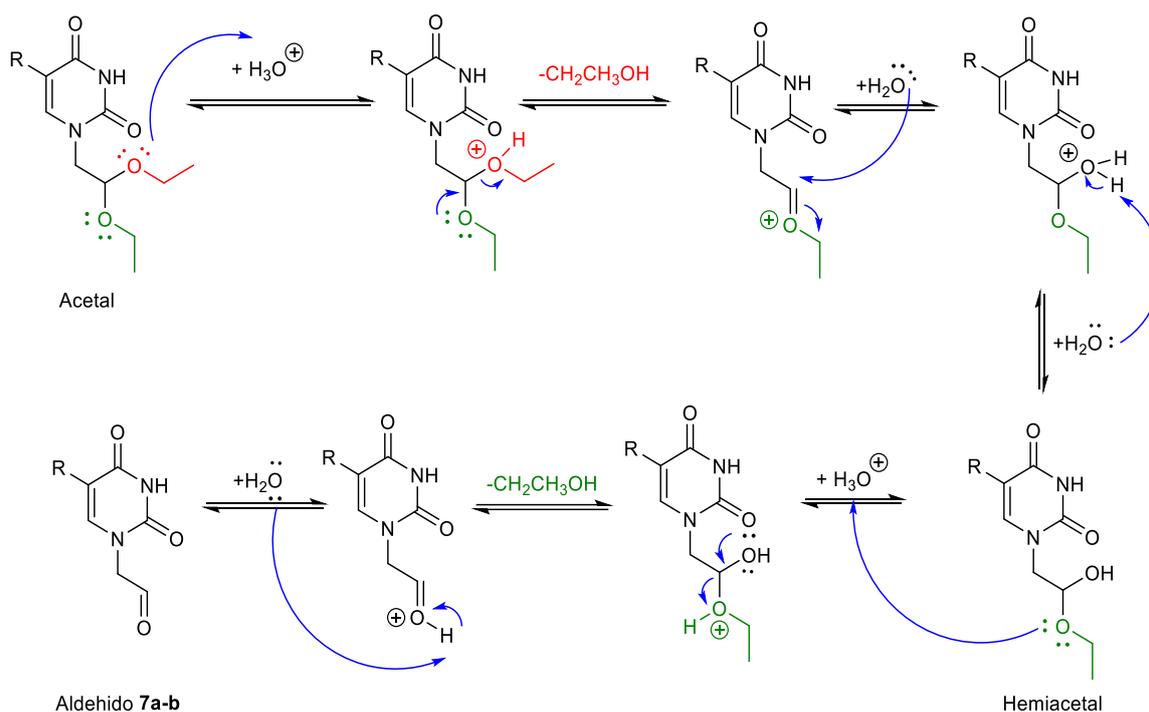
**Figura 21.** a) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto de partida **1b**. b) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del producto **6b**.

Una vez obtenidos los productos **6a-b**, se procedió a la obtención de los aldehídos **7a-b**. Para ello, se siguió el procedimiento anteriormente descrito por Martínez, A. P. et al.<sup>23</sup> Dicha reacción consistió en la adición de cloruro de amonio y agua calentando a 100°C durante 3,5h. A continuación, la reacción se enfrió a 0°C durante 30 minutos manteniendo la agitación. Durante este tiempo de reacción comenzó a observarse la aparición de un precipitado en el medio de reacción. Dicho precipitado se filtró y el sólido blanco formado por **7a-b** fue secado a vacío. Mediante la purificación en cromatográfica de sílica gel se pudieron obtener los productos **7a-b**. Los rendimientos obtenidos de dichos compuestos **7a-b** fueron del 57% y 51% respectivamente. Estos compuestos fueron determinados por RMN, observándose una pequeña conversión de la reacción. Por tanto, a pesar de proporcionar rendimientos apreciables, se optó por buscar otras estrategias.



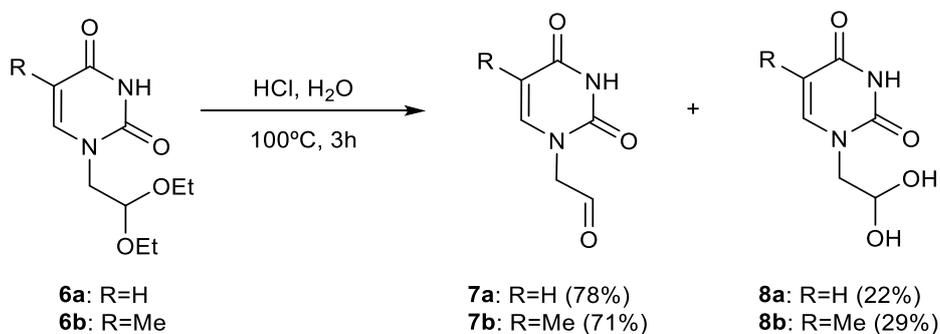
**Esquema 8.** Síntesis de los acetaldehídos **6a-b** partiendo del **5a-b**.

El cloruro de amonio es una sal que proviene de un ácido fuerte (HCl) y una base débil (NH<sub>3</sub>), dando lugar a un medio ácido. El resultado de esta reacción, una vez purificado, consistió en un sólido amarillento de los aldehídos **7a-b**. En cuanto al mecanismo de reacción, primeramente, se da una protonación de uno de los grupos alcoxi, convirtiéndose en un buen grupo saliente. A continuación, el grupo CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH sale, formando un catión de tipo O-etilcarbonilo que resulta ser muy electrofílico. Así, el compuesto es atacado por el agua dando como resultado la formación de un hemiacetal. El grupo alcoxi se protona, el grupo hidroxilo se elimina y consecuentemente se forma un nuevo catión carbonilo O-protonado. Por último, el aldehído del producto final se forma tras una reacción de transferencia de protones.



**Esquema 9.** Mecanismo de acción de un acetal a un aldehído.

La alternativa propuesta consistió en una hidrólisis ácida mediante HCl.<sup>26</sup> Para ello, se utilizó un exceso de HCl 1M y se calentó la mezcla de reacción a 90-100°C. La reacción fue monitorizada mediante TLC observándose al cabo de 3h, la completa consunción del material de partida. Seguidamente, la mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se agitó durante 30 minutos más. La suspensión resultante se filtró y se secó a vacío; y el producto formado se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional, consiguiendo un sólido blanco (Figura 22) en ambos casos, con un rendimiento de **7a-b** del 78% y 71%, respectivamente. Sin embargo, un análisis más exhaustivo de la reacción de protonación reveló la presencia de un segundo compuesto en la mezcla final que se identificó como el hidrato de dicho aldehído.



**Esquema 10.** Hidrólisis ácida para la obtención del acetaldehído.

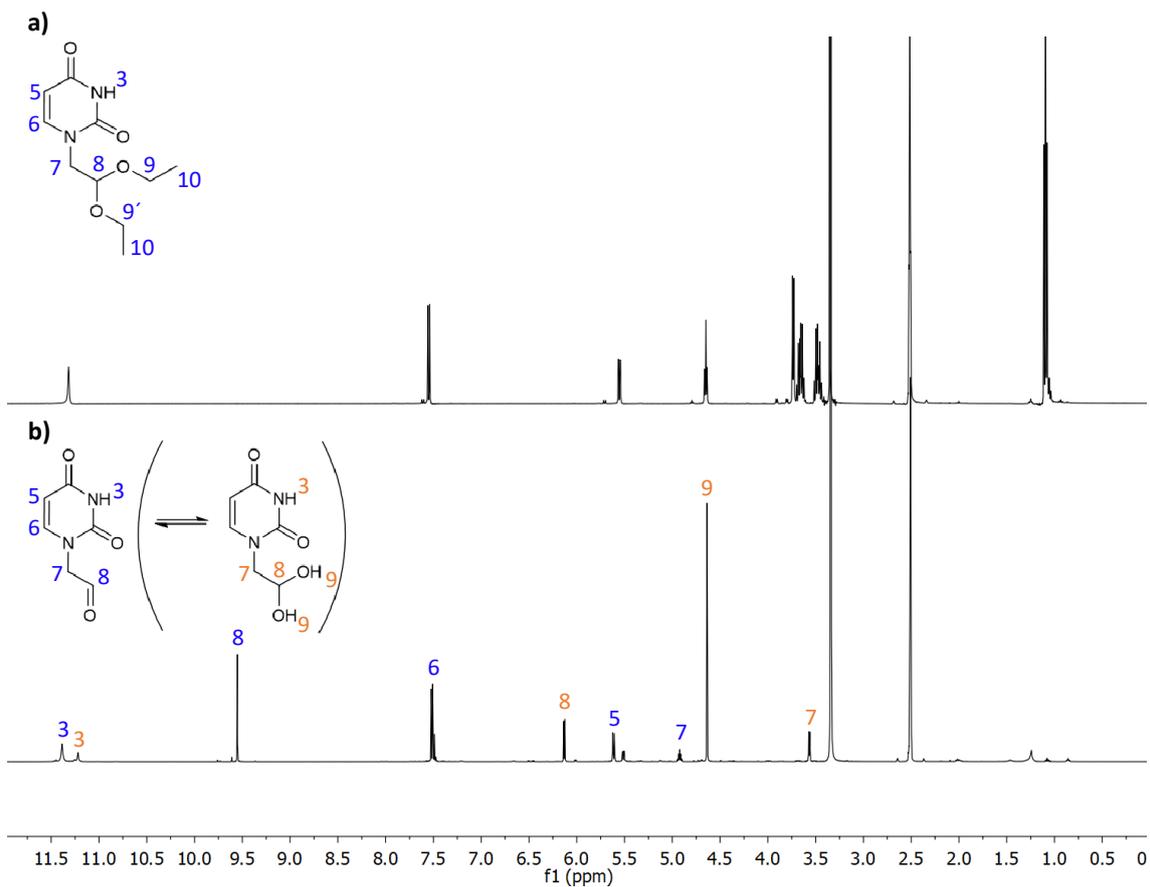


**Figura 22.** Resultado del producto sólido blanco **7a**.

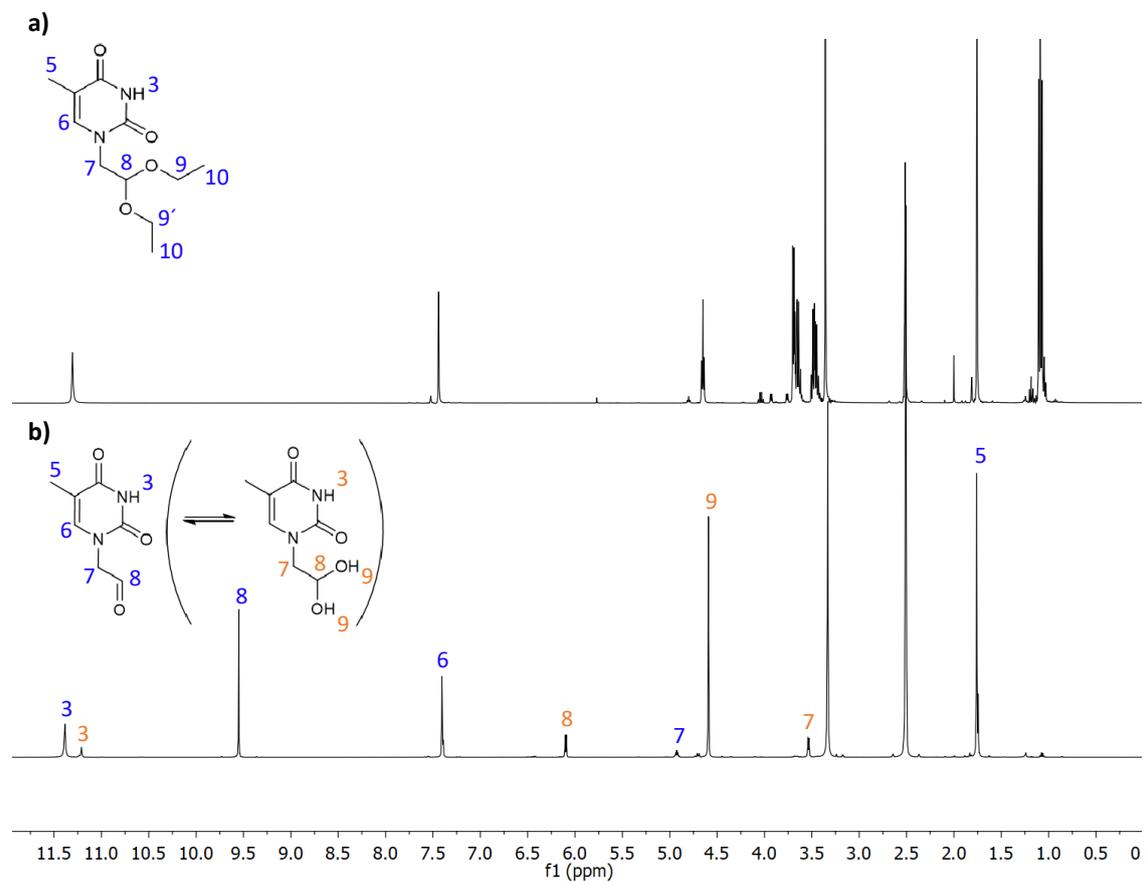
Para poder verificar que la reacción transcurría la manera deseada, se siguió por  $^1\text{H}$ -RMN, siendo posible determinar así el tiempo final de la reacción debido a la desaparición de la señal correspondiente a los grupos etoxi (OEt) del compuesto **6a-b**, y por la aparición de un singlete muy característico referente a los protones del aldehído (CHO). Tal y como se puede observar en las Figuras 23 y 24, como se ha mencionado con anterioridad, además de la formación del aldehído, se forma el hidrato. Las señales de color naranja en las Figuras 23 y 24 corresponden al compuesto hidratado donde el singlete a 6.15 ppm hace referencia al sistema -CH- (número 8). Mientras que, el singlete a 4,60 ppm indica la existencia de los grupos hidroxilo (número 9) y el singlete a 3.57 ppm demuestra la presencia del -CH<sub>2</sub>- (número 7). Se ha de mencionar que, debido a la presencia de los dos compuestos, se observan dos señales de NH a 11-11.5 ppm aproximadamente. La hipótesis del equilibrio entre el aldehído junto con el hidrato del aldehído se pudo confirmar con el artículo descrito por Nigro, M. J. et al.<sup>27</sup>

---

<sup>27</sup> Nigro, M. J.; Brardinelli, J. I.; Lewkowicz, E. S.; Iribarren, A. M.; Laurella, S. L. Aldehyde-Hydrate Equilibrium in Nucleobase 2-Oxoethyl Derivatives: An NMR, ESI-MS and Theoretical Study. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1144*, 49–57.

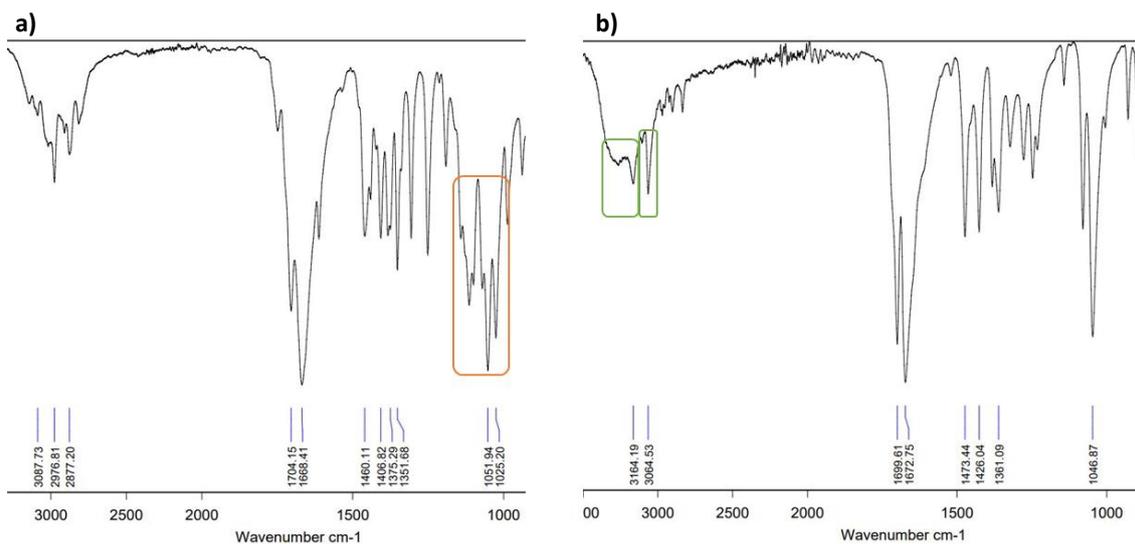


**Figura 23.** a) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto de partida **6a**. b) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del producto **7a**.

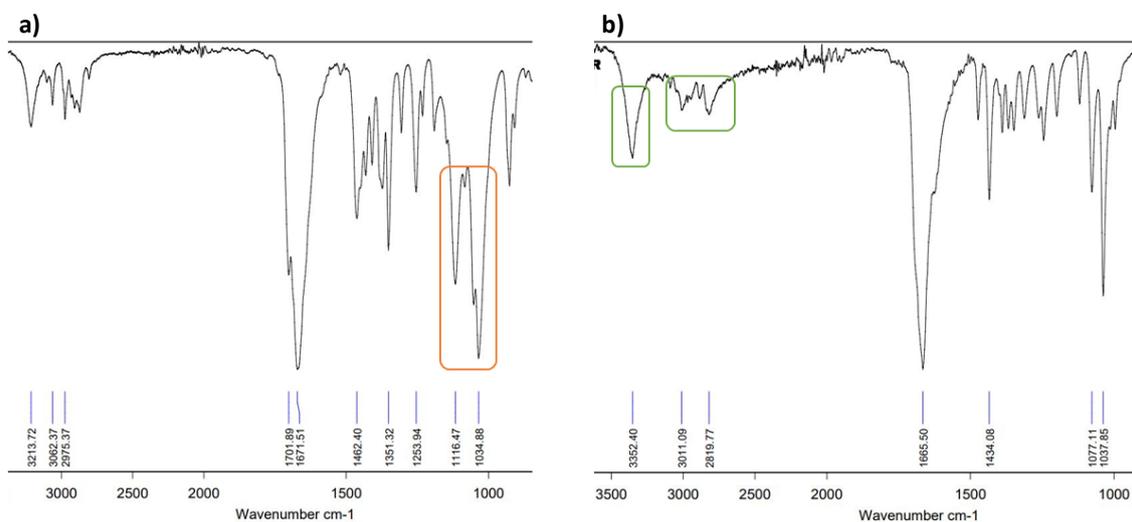


**Figura 24.** a) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto de partida **6b**. b) Espectro  $^1\text{H}$ -RMN del producto **7b**.

También se analizaron los compuestos obtenidos **7a-b** mediante espectroscopía IR. En las Figuras 25 y 26, se observa que la señal correspondiente al grupo  $\text{EtO}^-$  desaparece dando lugar a la formación del aldehído y/o al hidrato. La formación del aldehído se pudo determinar por una señal de tensión característica a  $1725\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C}=\text{O}$ ) y por la banda de tensión a  $2850\text{-}2750\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al enlace  $\text{H-C}$  del aldehído. Por otra parte, el hidrato da una señal en torno a  $3650$  o  $3400\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ .

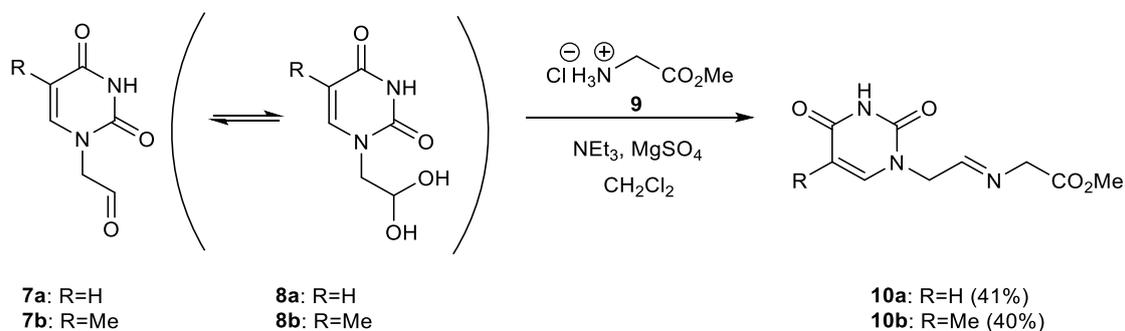


**Figura 25.** a) Espectro IR correspondiente al compuesto **6a**. b) Espectro IR correspondiente al compuesto **7a**.

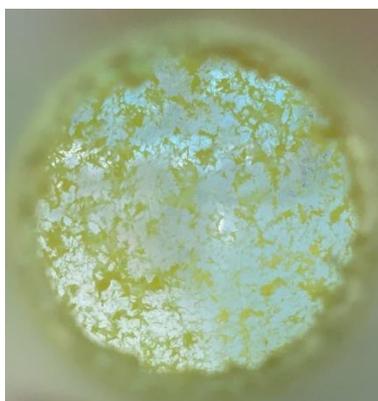


**Figura 26.** a) Espectro IR correspondiente al compuesto **6b**. b) Espectro IR correspondiente al compuesto **7b**.

Los  $\alpha$ -iminoésteres sintetizados se prepararon basándose en el procedimiento descrito por Conde, E. et al.<sup>28</sup> Los iminioésteres, son el producto de condensación de una aminoéster con una cetona o un aldehído. Siguiendo la metodología descrita, se hizo reaccionar el clorhidrato del éster de glicina **9** en presencia de MgSO<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y Et<sub>3</sub>N a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1h y se añadió el aldehído **7a-b**, dejándolo reaccionar durante 18h. A continuación, se filtró y se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. El producto resultante, de carácter sólido y color amarillento (Figura 27), se utilizó en el siguiente paso de reacción sin purificación previa, debido a la inestabilidad que se observó en estos nuevos iminioésteres sintetizados.

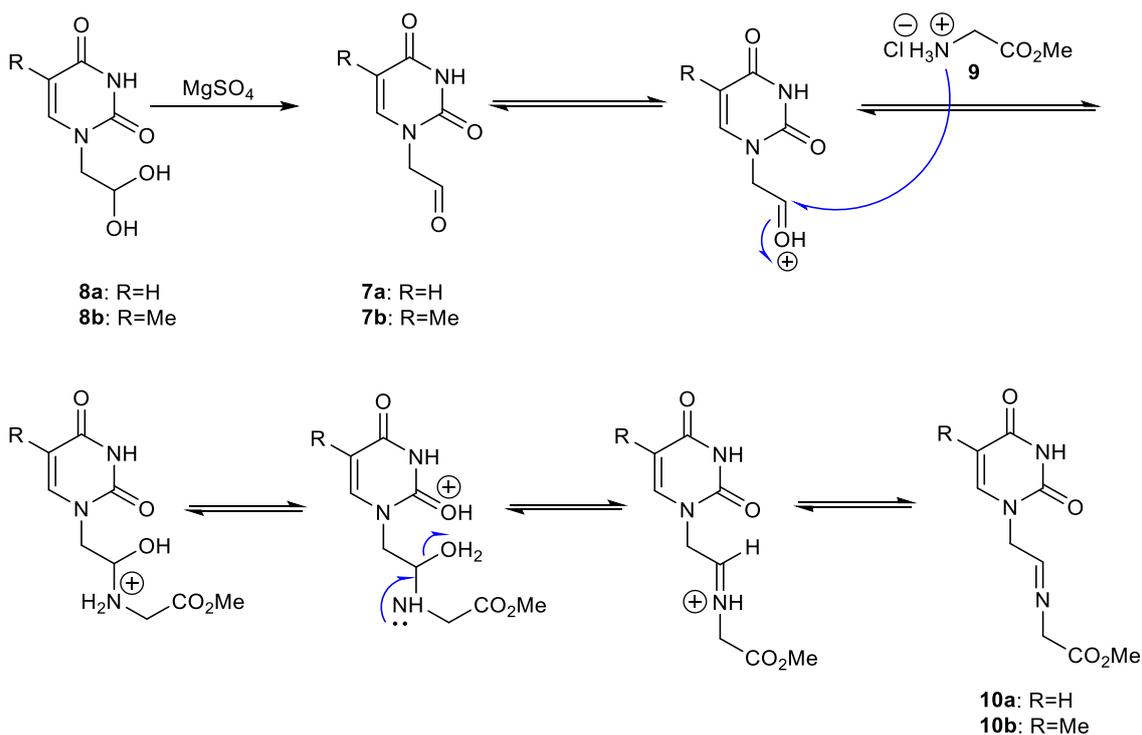


**Esquema 11.** Síntesis de los  $\alpha$ -iminoésteres **10a-b**.



**Figura 27.** Resultado del producto sólido amarillento **10a**.

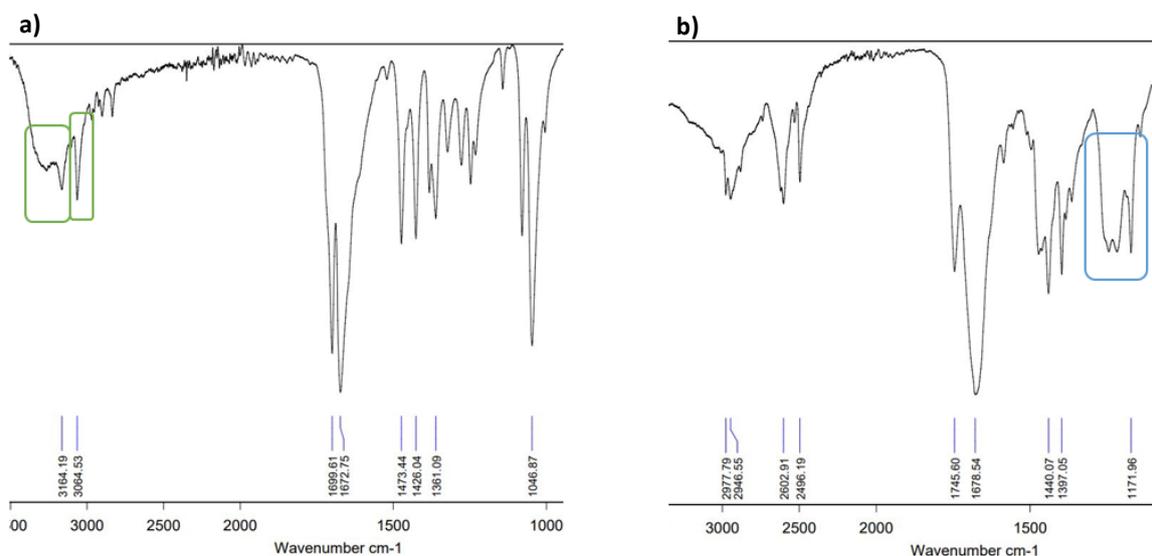
<sup>28</sup> Conde, E.; Rivilla, I.; Larumbe, A.; Cossío, F. P. Enantiodivergent Synthesis of Bis-Spiropyrrolidines via Sequential Interrupted and Completed (3 + 2) Cycloadditions. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 11762.



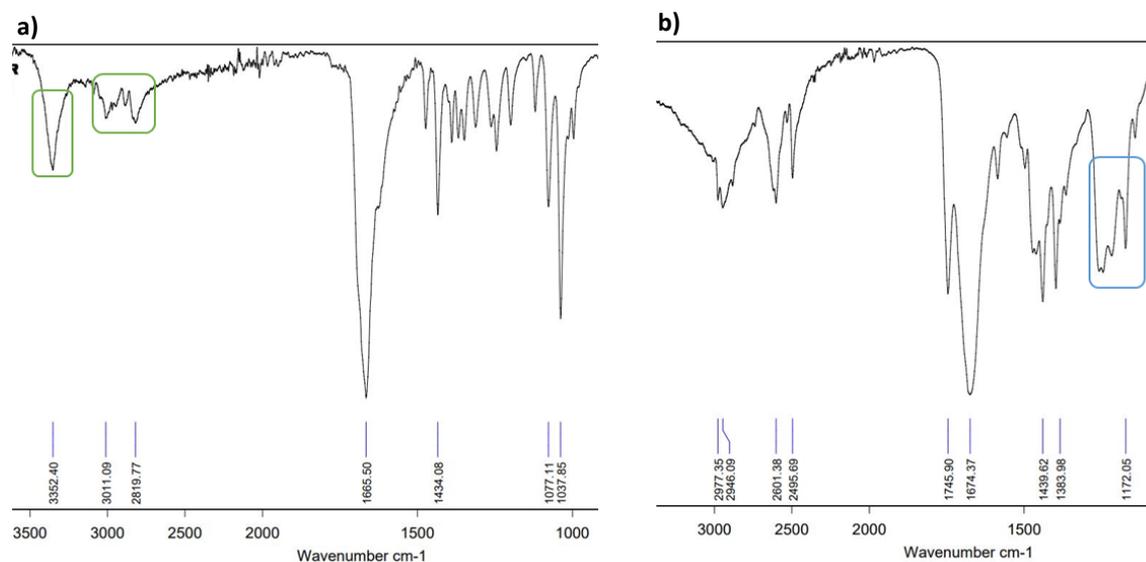
**Esquema 12.** Síntesis de los  $\alpha$ -iminoésteres **10a-b**.

El producto de reacción fue analizado mediante  $^1\text{H}$ -RMN. En dicho espectro se puede observar la desaparición de la señal correspondiente al H del grupo -CHO a 9.56 ppm y la aparición de nuevas señales correspondientes al H del grupo NH del nuevo iminoéster sintetizado a 7.76 ppm y 7.96 ppm para **10a-b**, respectivamente.

Dichos compuestos **10a-b** se analizaron también mediante espectroscopía IR. Tal y como se recoge en las Figuras 28 y 29, la señal que corresponde al aldehído desaparece dando lugar a la formación de la imina, que se pudo determinar por la observación de una señal característica de la banda de tensión del enlace C-N a  $1360\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$ . Por otro lado, también se pudo observar la presencia del grupo éster que dio una señal en torno a  $1260\text{-}1230\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 28.** a) Espectro IR correspondiente al compuesto **7a**. b) Espectro IR correspondiente al compuesto **10a**.

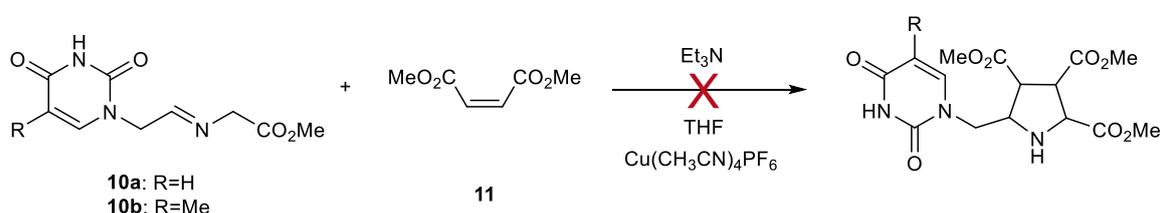


**Figura 29.** a) Espectro IR correspondiente al compuesto **7b**. b) Espectro IR correspondiente al compuesto **10b**.

### 3.2. Reacciones de Cicloadición (3+2)

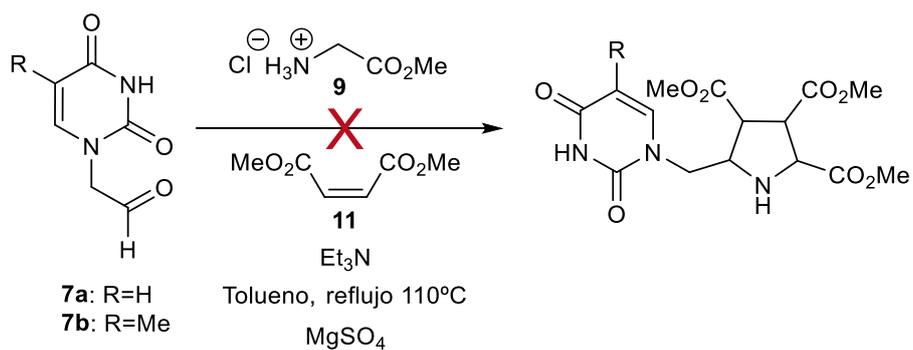
Para la obtención de los productos de la cicloadición se siguió el procedimiento descrito ampliamente por nuestro grupo de investigación.<sup>28</sup> En una primera aproximación, se decidió llevar a cabo la reacción en ausencia de los ligandos quirales *D-NH-EhuPhos* y *L-NMe-EhuPhos*.<sup>28</sup> Para ello, se preparó una disolución en  $\text{CH}_3\text{CN}$  de maleato de dimetilo (**11**) y los correspondientes iminoésteres (**10a-b**). Posteriormente, se adicionó la sal metálica de Cu (I),  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ , seguido de  $\text{Et}_3\text{N}$  como base. Una

vez terminada la adición, se dejó la reacción a temperatura ambiente durante 24h. La mezcla de reacción fue seguida por TLC observándose la desaparición parcial de los reactivos de partida, por lo que se dejó progresar la reacción durante 24h más. Transcurrido este tiempo, se decidió parar la reacción. La mezcla de reacción se filtró a través de una capa de celita, para eliminar los restos metálicos. Una vez filtrada, se eliminó el disolvente a vacío dando lugar a un aceite de color marrón, el cual fue analizado directamente por  $^1\text{H-RMN}$ . Lamentablemente, el análisis de los datos determinó que la reacción no había tenido lugar, observándose productos de descomposición de los iminoésteres correspondientes (**10a-b**).



**Esquema 13.** Reacción de cicloadición para la obtención de la pirrolidina.

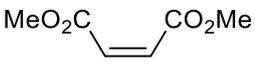
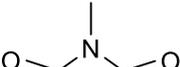
Tras los resultados obtenidos en la anterior reacción, se optó por emplear la misma ruta sintética descrita por el grupo de investigación, pero llevando a cabo la reacción con los aldehídos **7a-b** como producto de partida. De esta manera, la reacción de cicloadición se produce en una única etapa “one-pot”. Para ello, se preparó una disolución en tolueno de **7a-b**, el clorhidrato del éster **9** y el desecante  $\text{MgSO}_4$ . A continuación, se dejó durante 1h reaccionado y se adicionó el alqueno **11** y por último la base  $\text{Et}_3\text{N}$ . La reacción se puso bajo reflujo a  $110^\circ\text{C}$  y se dejó reaccionado toda la noche. A la mañana siguiente, el producto de la reacción fue analizado por TLC, observándose la presencia de más de un producto. La mezcla de reacción resultante fue purificada mediante cromatografía en columna. Desgraciadamente, un análisis de los datos espectroscópicos demostró la existencia de los compuestos de partida sin reaccionar.



**Esquema 14.** Reacción de cicloadición utilizando el aldehído **7b** como reactivo de partida.

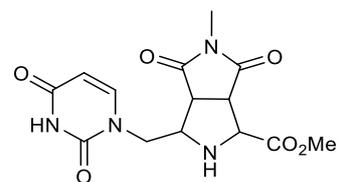
A la vista de los resultados obtenidos con Cu (I) y por la vía térmica en un paso, se optó por llevar a cabo un barrido múltiple de las condiciones de reacción. Para ello se utilizaron diferentes dipolarófilos, metales y disolventes. Como disolventes se seleccionaron THF y  $\text{CH}_3\text{CN}$  y como fuentes metálicas  $\text{AgOAc}$  y  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$ . En cuanto a los dipolarófilos, se emplearon el maleato de dimetilo (**11a**), anhídrido maleico (**11b**) y N-Metil maleimida (**11c**). El tiempo de reacción fue de 48 horas a temperatura ambiente y como base se adicionó  $\text{Et}_3\text{N}$  a la mezcla de reacción. Los resultados de estos experimentos se recogen en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos para la reacción de cicloadición partiendo de los iminoésteres **10a-b** como reactivo de partida.

Iminoéster (10)	Dipolarófilo (11)	Metal	Disolvente	Rdto. (%) (12)
a	 a	Cu (I)	THF	n.r.
			CH <sub>3</sub> CN	n.r.
b		Ag (I)	THF	n.r.
			CH <sub>3</sub> CN	n.r.
a	 b	Cu (I)	THF	n.r.
			CH <sub>3</sub> CN	n.r.
b		Ag (I)	THF	<5
			CH <sub>3</sub> CN	n.r.
a	 c	Cu (I)	THF	n.r.
			CH <sub>3</sub> CN	n.r.
b		Ag (I)	THF	n.r.
			CH <sub>3</sub> CN	18

La única combinación que rindió el producto deseado (**12ac**) con un rendimiento muy bajo, fue aquella en la que la reacción tuvo lugar entre el iminoéster **10a** (derivado del uracilo) y el dipolarófilo **11c** con CH<sub>3</sub>CN como disolvente y Ag(I) como catalizador.

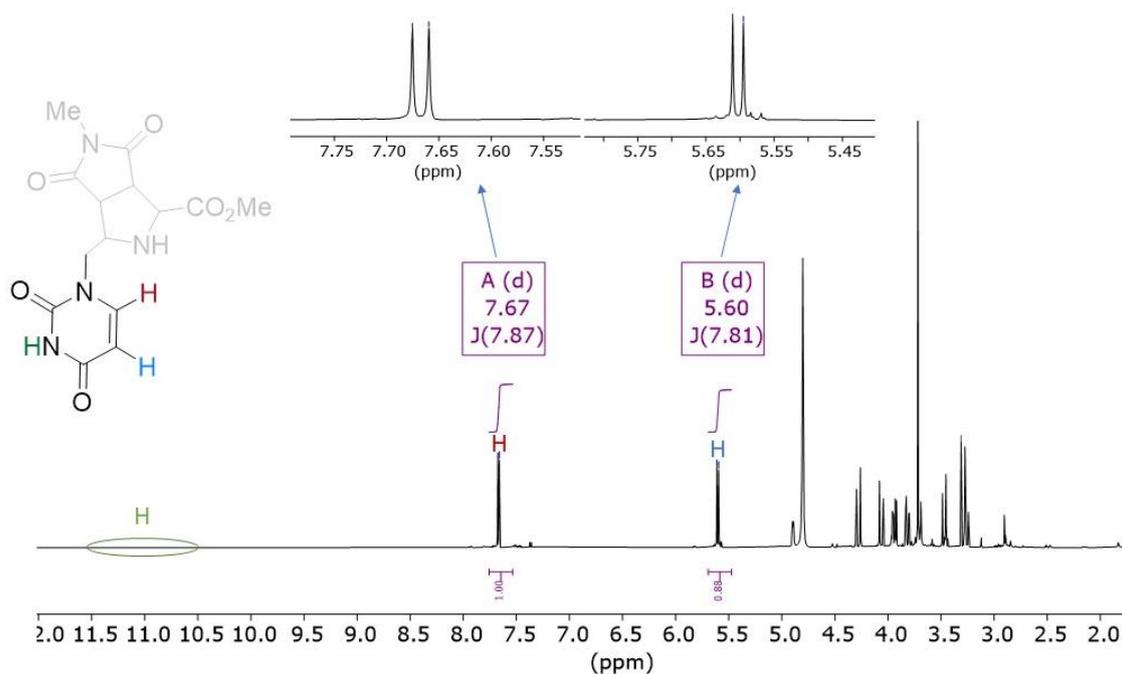
El análisis del producto **12ac** por RMN determinó que la estructura final para el compuesto no se correspondía con la esperada (Figura 30). Para elucidar la correcta estructura del compuesto **12ac** se llevaron a cabo experimentos monodimensionales, tales como <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, dept-135, y bidimensionales, tanto homo- como heteronucleares, *g*-COSY, *g*-HSQC y HMBC.



**Figura 30.** Estructura química esperada para el compuesto **12ac**.

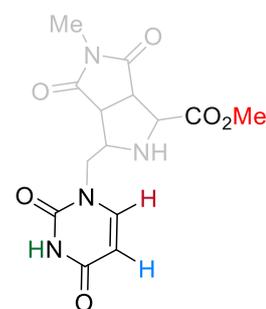
En la Figura 31 se muestra el espectro de <sup>1</sup>H-RMN obtenido para el compuesto **12ac**. Como se puede observar, a un desplazamiento en torno a 11.3 ppm no aparece la resonancia característica para el H del grupo NH del anillo de uracilo. Esto puede ser

debido a que en esta ocasión el experimento está hecho en MeOD y se puede producir un intercambio con este disolvente. De manera que el proceso sería tan rápido que el espectrómetro de RMN no sería capaz de detectarlo.

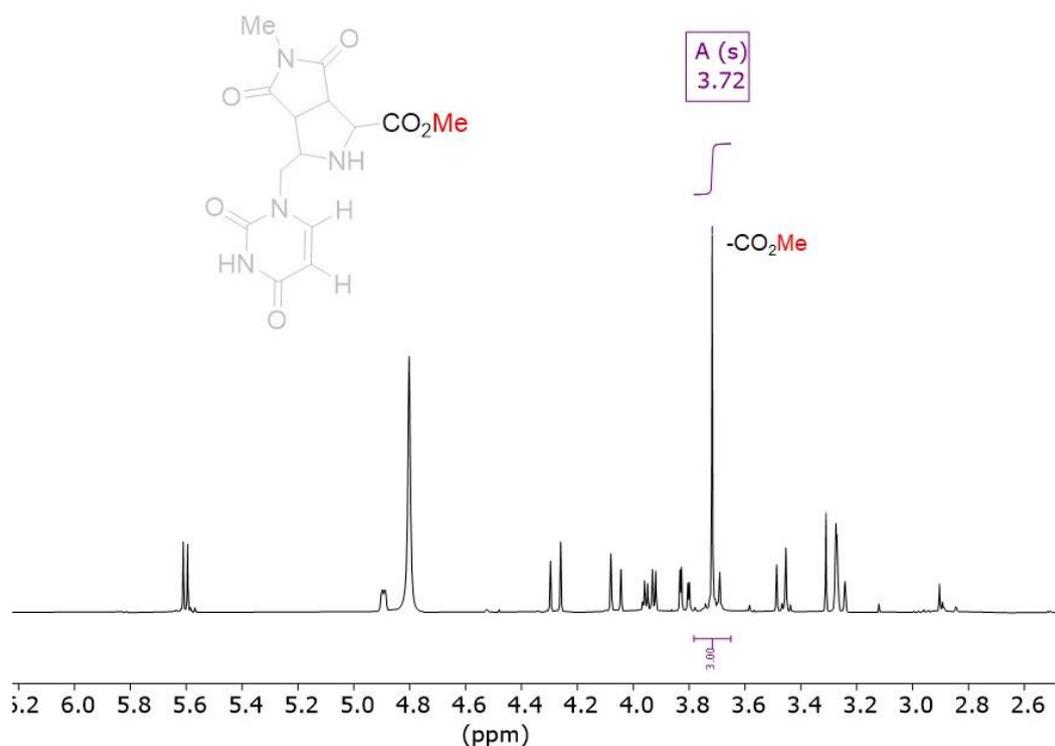


**Figura 31.** Ampliación del espectro  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto **12ac**.

Si nos desplazamos hacia campo más alto, podemos observar dos dobletes (7.67 y 5.60 ppm) integrando cada uno de ellos para un protón. Este sistema es característico de los protones del doble enlace del anillo de uracilo. Otra señal muy característica de este tipo de sistemas es la correspondiente a los protones del grupo metilo del  $-\text{CO}_2\text{Me}$ . Esta señal es un singlete que posee un desplazamiento químico de 3.72 ppm (Figura 33). De esta manera ya hemos identificado dos partes de la estructura inicialmente propuesta como se muestra en la Figura 32.

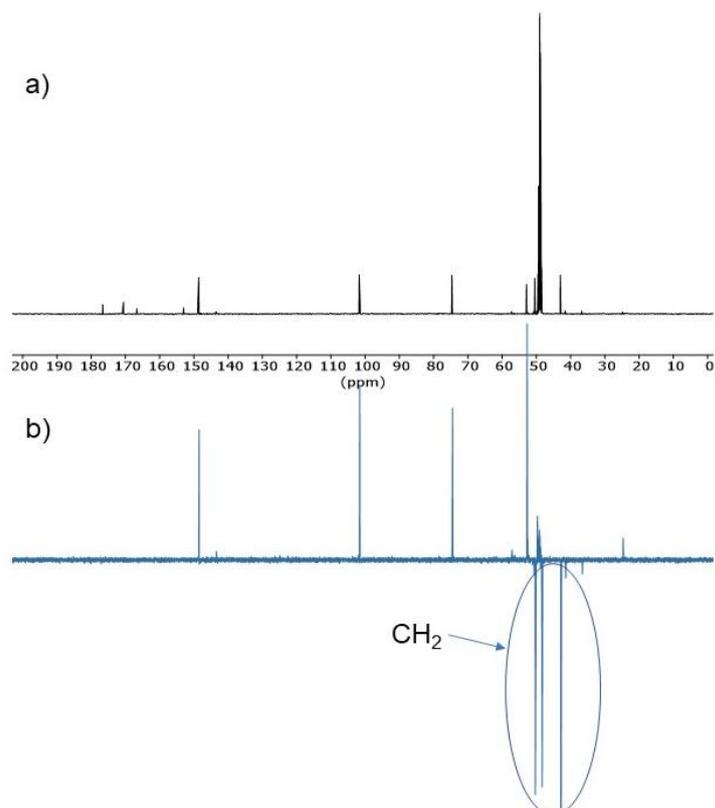


**Figura 32.** Desplazamientos químicos asignados para la estructura propuesta para **12ac**.



**Figura 33.** Ampliación del espectro <sup>1</sup>H-RMN del compuesto **12ac**.

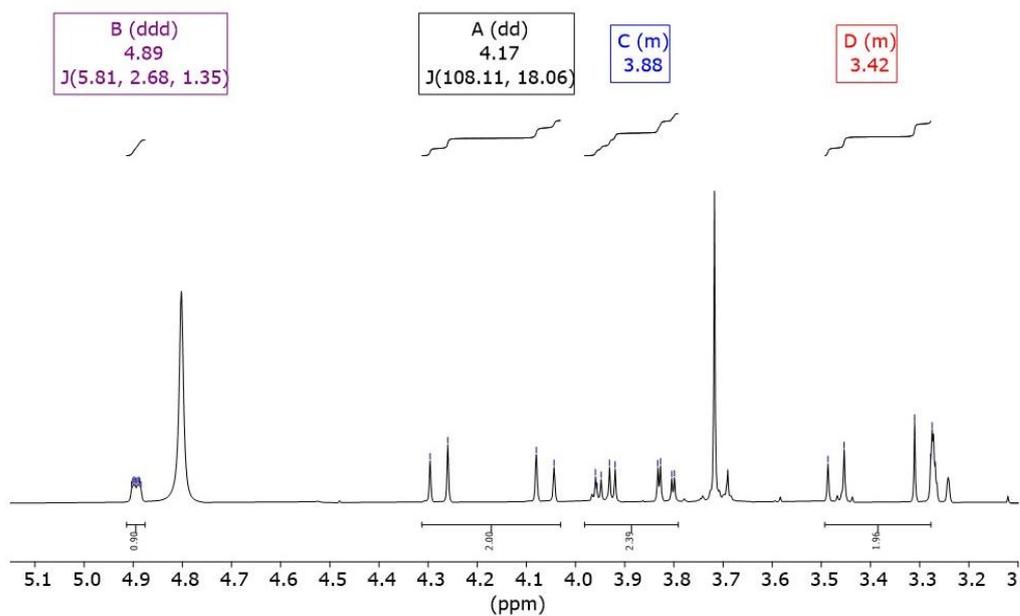
Otra de las señales más representativas de este tipo de cicloaductos es la correspondiente al grupo metilo del sistema -NMe. En el espectro adquirido para el compuesto **12ac**, no observamos esta señal, que suele resonar en torno a 2,50-3,00 ppm. Para continuar con este análisis se realizaron dos experimentos de <sup>13</sup>C-RMN. El primero de ellos (Figura 34a) se corresponde con un experimento de <sup>13</sup>C desacoplado de H. Mientras que, en la Figura 34b se muestra un experimento denominado dept-135. Este último consiste en un experimento de <sup>13</sup>C desacoplado de H en el cual, los grupos CH<sub>3</sub> y CH, aparecen hacia la parte positiva del eje y del espectro; en cambio los CH<sub>2</sub>, lo hacen hacia la parte negativa.



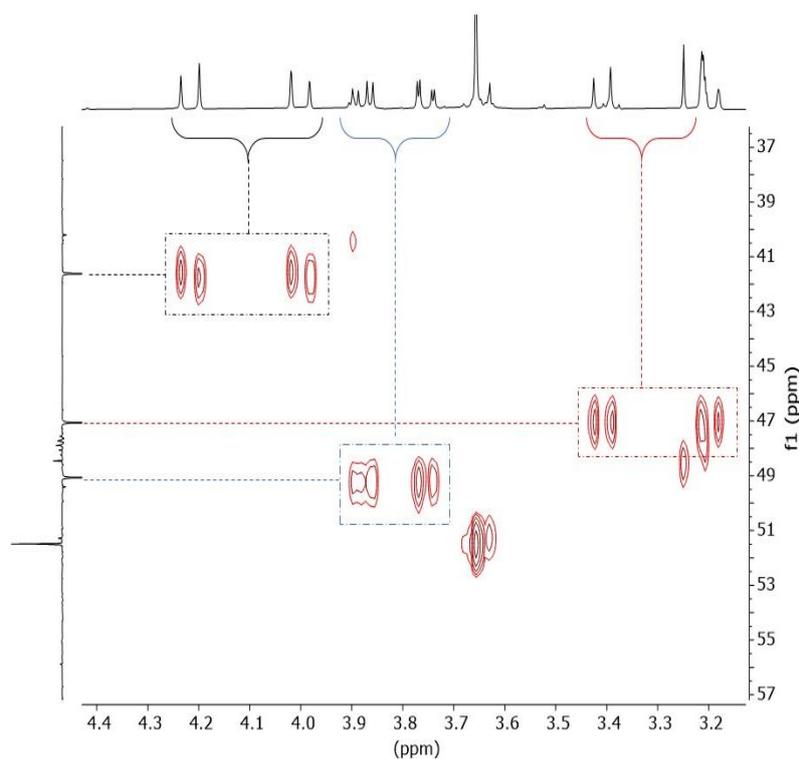
**Figura 34.** a) Experimento de  $^{13}\text{C}$  del compuesto **12ab**. b) Experimento DEPT-135 del compuesto **12ac**.

En la Figura 34b, se pueden observar tres señales a 41.6, 47.1 y 49.4 ppm, que están en fase negativa del espectro de  $^{13}\text{C}$ -RMN. Esto significa que en nuestra molécula, tenemos tres grupos  $\text{CH}_2$ .

En la estructura propuesta para **12ac**, solo tenemos dos grupos  $-\text{CH}_2-$ . Este resultado está de acuerdo con los tres sistemas de grupos metileno presentes en la molécula **12ac** con comportamiento diastereotópico (sistema  $\text{H}_\text{A}-\text{H}_\text{B}$ ), que se pueden observar en el espectro de  $^1\text{H}$ -RMN a 4.2 y 3.4 ppm como doblete de dobletes y una última a 3.9 ppm como multiplete (Figura 35). Esta situación fue confirmada mediante un experimento bidimensional de correlación heteronuclear  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (Figura 36).



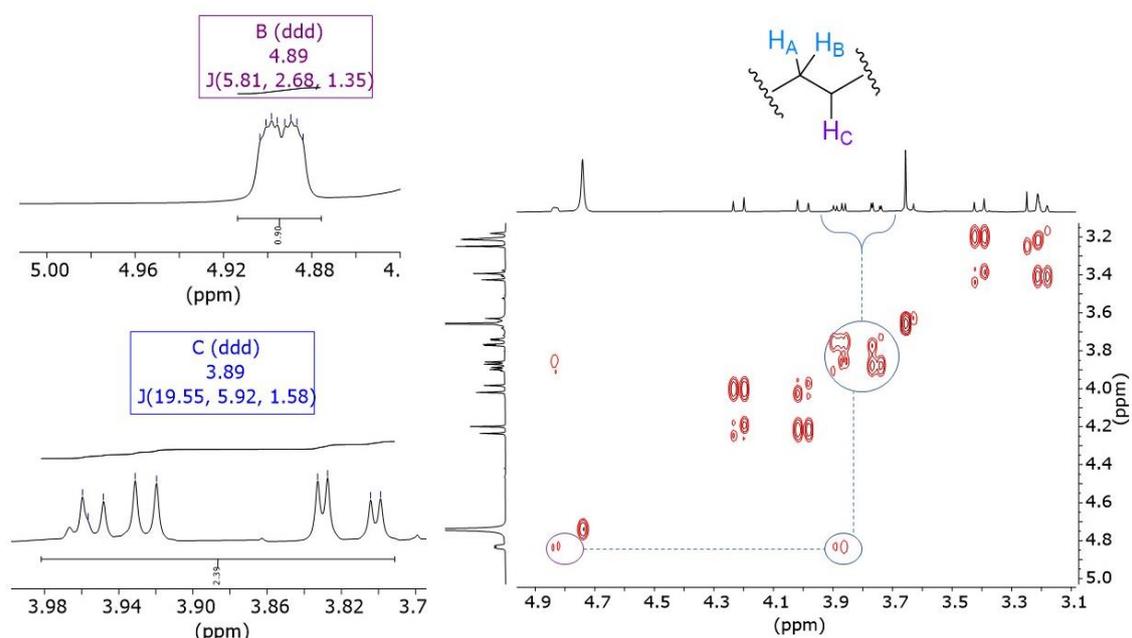
**Figura 35.** Ampliación del espectro  $^1\text{H}$ -RMN del compuesto **12ac**.



**Figura 36.** Experimento bidimensional de correlación heteronuclear  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ . (Completo en anexo.)

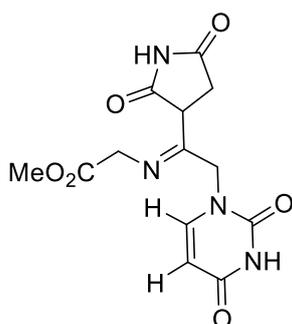
Además, mediante un experimento bidimensional, *g*-COSY, H-H, se pudo determinar la relación entre el multiplete a 3.8 ppm, para dos protones, y la resonancia a 4.9 ppm que integra para un protón. Esta situación se corresponde con una estructura

en la que podemos encontrar un grupo CH, acoplado a un CH<sub>2</sub>, donde los dos protones forman un sistema AB de protones diasterotópicos (Figura 37). Con estos experimentos y junto con la correlación <sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C a más de dos enlaces HMBC (ver anexo), se pudo determinar la secuencia de los átomos de carbono con relación a los protones. De este modo, se pudo establecer que el singlete ancho a 3.3 ppm, se podría corresponder con un grupo NH. La presencia de este NH se pudo corroborar mediante IR, obteniendo una señal muy característica a 1686 cm<sup>-1</sup> que es compatible con el espectro infrarrojo correspondiente al de la maleimida (ver anexo). Este hecho se corroboró al comprobar un fallo en el número CAS de los reactivos empleados.



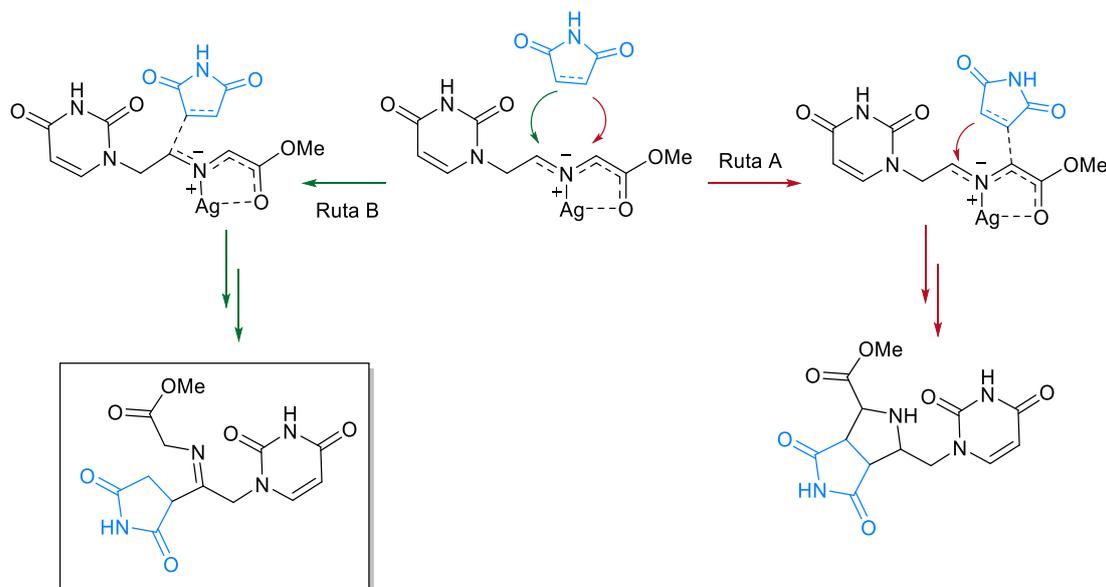
**Figura 37.** Ampliación del espectro g-COSY del compuesto **12ac**. (Completo en anexo).

Según estos datos, la estructura propuesta para **12ac** sería la siguiente (Figura 38).



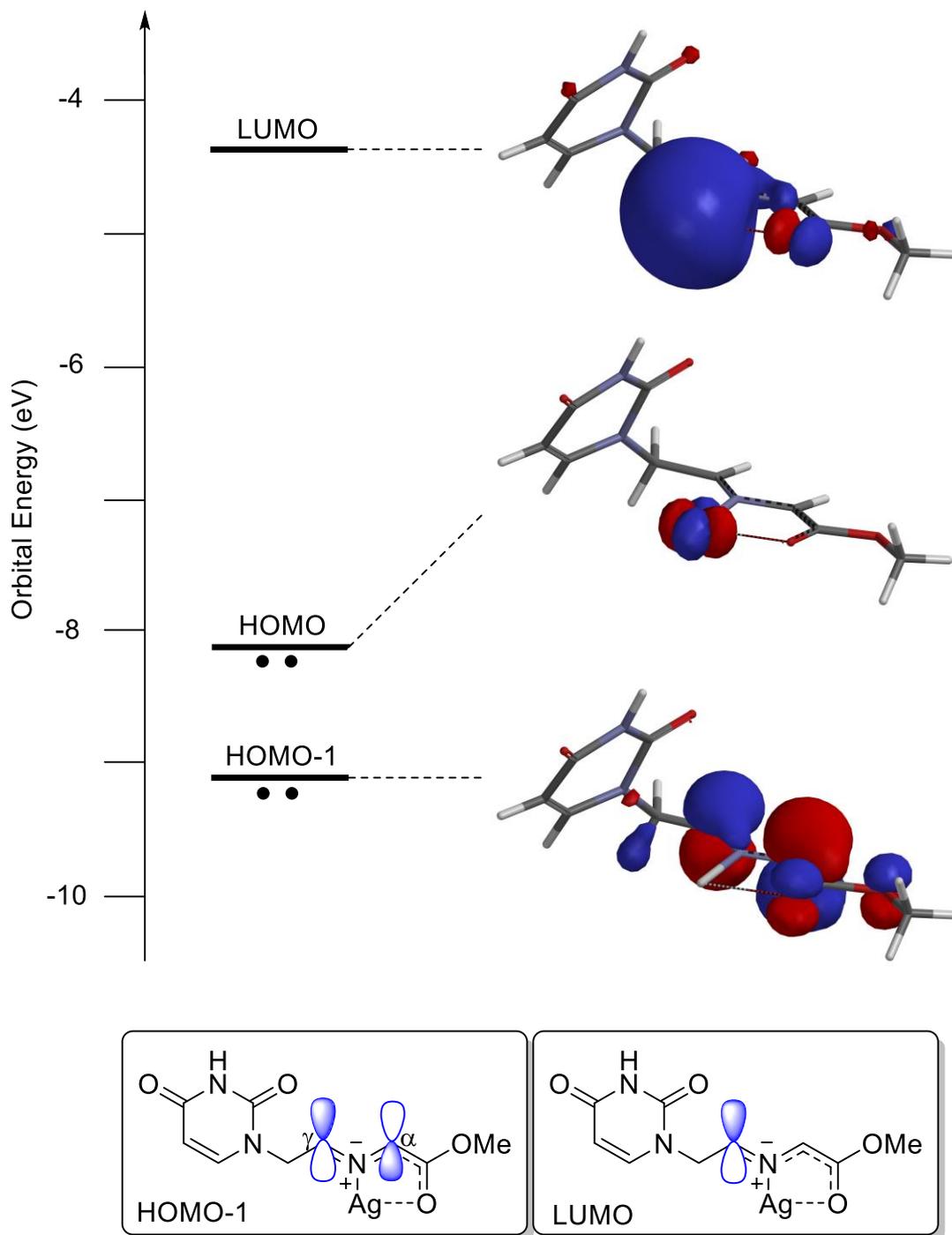
**Figura 38.** Estructura propuesta para el compuesto **12ac**. (Completo en anexo)

Desde un punto de vista mecanístico, se podría explicar la formación este producto teniendo en cuenta que el primer ataque no ha tenido lugar sobre el  $C_{\alpha}$  al grupo -OMe como sucede en la ruta A, que correspondería con el mecanismo tradicional de una cicloadición (3+2), sino sobre el grupo -CH- del sistema imínico (Figura 39). Una vez que se produce este ataque, ya no podría tener lugar un segundo ataque, y tras el tratamiento y purificación por cromatografía en columna, obtendríamos el producto **12ac**, con la estructura propuesta.



**Figura 39.** Mecanismo de acción del compuesto **12ac**.

Para intentar comprender el resultado obtenido experimentalmente, se llevó a cabo un estudio computacional preliminar de orbitales moleculares. Como se ha indicado en la introducción, la reacción debería de tener lugar entre el  $HOMO_{dipolo}$  con el  $LUMO_{dipolarófilo}$ . Pese a ello, como se puede observar en la Figura 40, el orbital HOMO está localizado sobre la plata ( $dx^2-y^2$  (Ag)). Por lo que la reacción, en vez de tener lugar con el orbital HOMO, tiene lugar con el orbital HOMO-1. De esta manera, la diferencia de energía entre el HOMO-1 y LUMO es mayor, aumentando así la energía de activación. En esta situación los orbitales de los  $C_{\alpha}$  y  $C_{\gamma}$  del compuesto iminoéster **10a** al ser aproximadamente equivalentes, tienen probabilidades comparables de participar en la reacción. Por otra parte, el LUMO del 1,3-dipolo está completamente dominado por el carbono  $C_{\gamma}$ , que será el que interactúe con el dipolarófilo sintético. Estos hechos explicarían por tanto la obtención del producto **12ac** (Ruta B de la Figura 39).



**Figura 40.** Diagrama de orbitales moleculares del compuesto **10a-b**. (Cálculos realizados por el Prof. Fernando P. Cossío)

Con el fin de esclarecer y comprobar la estructura del compuesto **12ac**, estamos esperando los resultados de la espectroscopía de masas. Además, se está intentado obtener monocristales del producto para obtener cristales y así poder analizarlo mediante otras técnicas tales como difracción de Rayos X.

## 4. Conclusiones

Las principales conclusiones tras la realización de las anteriores reacciones son las siguientes:

1. Se determinó la ruta óptima para la obtención de los compuestos **6a-b** con rendimientos moderados.
2. Los aldehídos **7a-b** se obtuvieron con buenos resultados, utilizando HCl 1M para llevar a cabo la hidrólisis de los grupos OEt.
3. Los iminoésteres **10a-b** se prepararon y se utilizaron sin purificar en el siguiente paso de reacción.
4. Se llevó a cabo un barrido múltiple de las condiciones de reacción de cicloadición para determinar cuáles eran las óptimas. Lamentablemente, solo una de las combinaciones posibles, la que comprende la reacción entre el iminoéster **10a** con la maleimida **11c** en CH<sub>3</sub>CN, catalizada por Ag (I), a temperatura ambiente, dio lugar al producto **12ac**.
5. Se ha propuesto una estructura química para el aducto **12ac** mediante el uso de experimentos mono- y bidimensionales de RMN.
6. Estudios computacionales muy preliminares permiten proponer tentativamente el mecanismo de reacción para la obtención de **12ac**.

## 4. Conclusions

The main conclusions after carrying out the above reactions are as follows:

1. The optimal route for obtaining compounds **6a-b** with moderate yields was determined.
2. The aldehydes **7a-b** were obtained with good results, using 1M HCl to carry out the hydrolysis of the ethoxy groups.
3. The iminoesters **10a-b** were prepared and used without further purification in the next reaction step.
4. A screening of the reaction conditions was carried out to determine the optimal reaction conditions. Unfortunately, only one of the possible combinations, namely the reaction between the iminoester **10a** with the maleimide **11c** in CH<sub>3</sub>CN, catalysed by Ag(I), at room temperature, gave rise to the product **12ac**.
5. A tentative chemical structure for **12ac** could be determined by using one- and two-dimensional NMR experiments.
6. Very preliminary computational studies have permitted to propose a possible reaction mechanism for obtaining **12ac**.

## 5. Desarrollo experimental

### 5.1 Materiales y técnicas generales

#### 5.1.1 Materiales

##### Reactivos

Los reactivos químicos comerciales se obtuvieron de diferentes proveedores como Sigma-Aldrich Fluorochem y abcr. Se almacenaron según las respectivas indicaciones de las casas comerciales y se utilizaron sin previa purificación.

##### Disolventes

Los diferentes disolventes empleados para las distintas síntesis han sido: DCM, THF, acetona, dioxano, EtOAc, hexano, MeOH, ACN, DMF y tolueno. Se adquieren con calidad de grado de reactivo y se emplearon directamente sin previo secado.

El DMSO-d<sub>6</sub> y el metanol-d<sub>4</sub> se emplearon con una pureza analítica de la casa comercial Sigma-Aldrich (≥99%).

#### 5.1.2 Técnicas generales

##### Eliminación de disolventes

Los disolventes que se obtienen en mezclas de reacción, extracción, cristalización y columnas cromatográficas se eliminaron mediante el uso de rotavapores IKA RV-HB10Basic, IKA RV-HB10 Digital y Büchi FT902.

##### Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de <sup>1</sup>H-RMN fueron registrados en el equipo Buker Avance Ultrashiels 400 MHz. El disolvente empleado para dichos espectros fue DMSO-d<sub>6</sub>, salvo que se especifique lo contrario. Los desplazamientos químicos,  $\delta$ , son expresados mediante unidades en partes por millón (ppm) respecto a la referencia interna. En cuanto al DMSO-d<sub>6</sub>, fue utilizado como referencia ( $\delta=2,52$  ppm). Para la multiplicidad de cada señal se han utilizado las siguientes abreviaturas: s (singlete), d (doblete), dd (doble doblete), m (multiplete). Las constantes de acoplamiento, *J*, se expresan en Hz. El

procesado junto con la edición de los espectros se realizó mediante el programa *MestReNova* 5.1.0.

### Cromatografía

El seguimiento de las reacciones junto con las purificaciones de columnas cromatográficas fue observado mediante cromatografía en capa fina (TLC) utilizando un gel de sílica (*Merck, Kiesegel 60 F-254*) que está soportada sobre placas de aluminio. El revelado de dichas TLCs se realizaron principalmente con la lámpara de luz ultravioleta ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ). No obstante, en algunos casos se hizo uso de reveladores por calefacción tras el contacto previo con una disolución reveladora como es el DNP, la vainillina o el permanganato potásico.

La purificación mediante el empleo de columnas cromatográficas se hizo sobre gel de sílice, (*Merck Rocc 60Å* de poro, 0.040-0.063 mm de partícula) como fase estacionaria. Como eluyente se emplearon dos mezclas en proporciones adecuadas de disolvente, una mezcla entre acetato de etilo/hexano y otra de diclorometano/metanol.

### Espectroscopia de Infrarrojo (IR)

Los espectros de infrarrojo se registraron en un espectrofotómetro FT-IR Alpha de Buker.

### Reacciones en atmósfera inerte

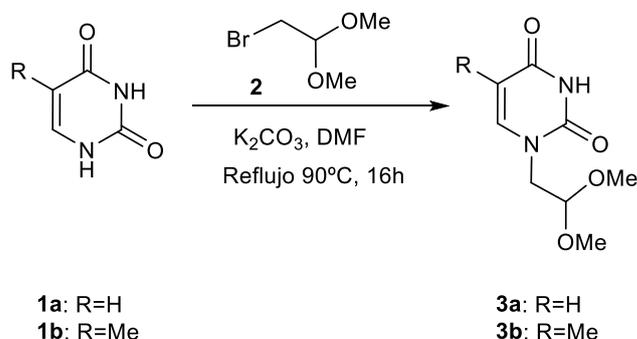
Las reacciones que requieren condiciones anhidras o eran susceptibles a la humedad del ambiente, se realizaron bajo atmósfera inerte. Para ello, se utilizó un matraz previamente secado en estufa a 110 °C. Se introducen los reactivos sólidos junto con el agitador magnético y se cierra con la ayuda de un septum. Se rellenó un globo de Argón y se introdujo una aguja en el septum para tener una vía de entrada de argón. Durante el transcurso de la reacción, se mantuvo el globo para garantizar las condiciones inertes de la reacción.

## Métodos generales

Las reacciones que necesitaban temperaturas elevadas se realizaron mediante una placa calefactora controlando la temperatura con un termopar. Estas placas, poseen un imán magnético que se puede regular para que la reacción mezcle de manera homogénea. En cambio, en las reacciones que implican el uso de 0°C se realizaron mediante baños de hielo.

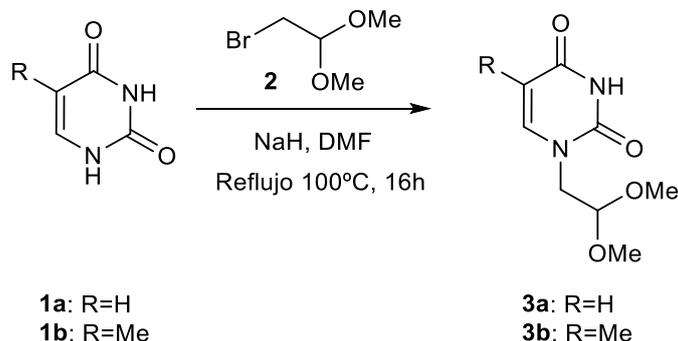
### 5.2. Procedimiento de síntesis de $\alpha$ -iminoésteres 10a-b

#### Procedimiento síntesis de 1-(2,2-dimetoxietil)-2,4 (1H,3H)-pirimidinadiona (3a) y 1-(2,2-dimetoxietil)-5-metil-2,4 (1H,3H)-pirimidinadiona (3b)



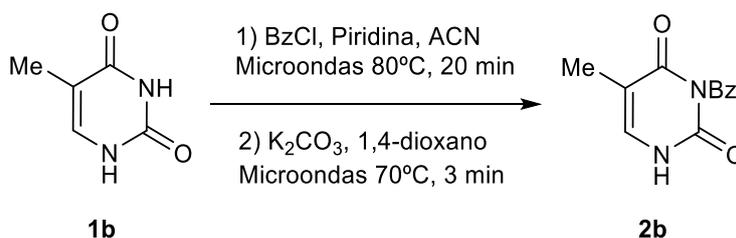
Se introdujeron en un matraz las bases nitrogenadas **1a-b** (1eq, 3mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2eq, 6mmol) y se añadió el disolvente DMF (30 mL). La reacción resultante se mantuvo con agitación magnética durante 1h a 50°C. Una vez transcurrido este tiempo, se incrementó la temperatura a 90°C y se adicionó 2-Bromo-1,1-dimetoxietano **2** (2eq, 6mmol). Al cabo de 16h, se procedió a filtrar a vacío la suspensión y el disolvente se evaporó a presión reducida logrando un aceite de color marrón oscuro. El crudo de la reacción al no encontrarse puro; se procedió a purificarlo mediante una columna cromatográfica de sílica gel con una mezcla de eluyentes EtOAc/hexano 7:1 para obtener el uracilo y MeOH:DCM 1:30 para la timina. **Rendimiento:** **3a:** 28% y **3b:** 26%. Ambos compuestos se determinaron con un <sup>1</sup>H-RMN en DMSO-d<sub>6</sub>.

Procedimiento síntesis de 1-(2,2-dimetoxietil)-2,4 (1H,3H)-pirimidinadiona (**3a**) y 1-(2,2-dimetoxietil)-5-metil-2,4 (1H,3H)-pirimidinadiona (**3b**)



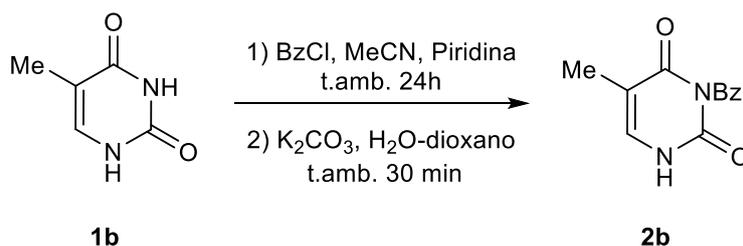
En el siguiente procedimiento, se introdujo en un matraz la base nitrogenada **1a-b** (8,92mmol; 1eq), 10-15mL de DMF y una suspensión en aceite 60% de NaH (11,3mmol; 1,3eq) con previo lavado mediante el uso de hexano (3x10mL) para deshacerse del aceite mineral. Después de estar durante 2h sometido a la agitación magnética bajo atmosfera inerte y a temperatura ambiente, se añadió una porción de **2** (17.84mmol, 2eq) disuelto en 2mL de DMF. Se dejó la reacción 14h a 90°C. Transcurrido dicho tiempo, se añadió una porción adicional de **2** (8.92mmol, 1eq) y se incrementó la temperatura a 150°C; que se mantuvo hasta que todo el sólido se disolviese y comenzase a formar unos cristales finos de bromuro de sodio, NaBr (aproximadamente 30 minutos). Se dejó atemperando la reacción y a continuación, se evaporó a presión reducida. Se añadieron 30mL de EtOAc, y el extracto se lavó con 2 porciones de 10mL de H<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se eliminó a presión reducida formándose un ligero aceite de color amarillo claro. El crudo de la reacción se purificó mediante una columna cromatográfica de sílica gel con una mezcla de eluyentes EtOAc:hexano 10:1. **Rendimiento: 3a: 34% y 3b:31%**. Ambos compuestos se determinaron realizando un <sup>1</sup>H-RMN en DMSO-d<sub>6</sub>.

Procedimiento síntesis de 3-benzoil-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (**2b**)



Antes de llevar a cabo el procedimiento, se debe mencionar que no se pueden introducir más de 100-150 mg de reactivo en el microondas. Se introdujo en un tubo de microondas **1b** (100 mg) y piridina (1,5mL) y se añadió BzCl (0,25mg; 3eq). La mezcla de reacción estuvo con una agitación magnética durante 20 minutos a 80°C bajo la irradiación por microondas. Una vez transcurrido el tiempo; se concentró a presión reducida y el residuo se fraccionó entre el EtOAc y H<sub>2</sub>O. La fase orgánica se separó, se añadió MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó a presión reducida. El sólido formado se disolvió en una disolución acuosa de carbonato potásico 0,5M (2,5mL) y 1,4-dioxano (4,3mL) y se volvió a irradiar bajo microondas durante 3 minutos a 70°C. La reacción resultante se purificó mediante una columna cromatográfica de sílica gel utilizando la mezcla de eluyentes EtOAc:Hexano 2:1. **Rendimiento:** No se obtuvo el compuesto deseado. Para poder determinar la estructura, se realizó un <sup>1</sup>H-RMN en DMSO-d<sub>6</sub>.

Procedimiento síntesis de 3-benzoil-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (**2b**)



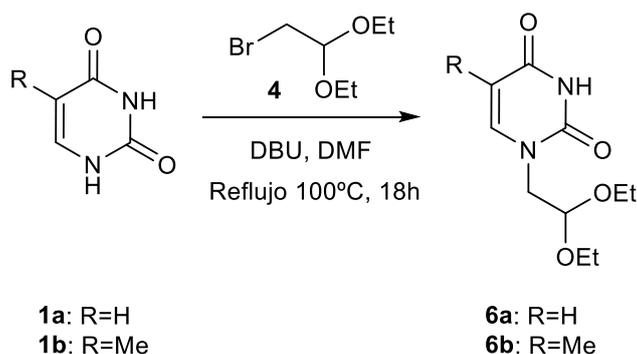
Se introducen en un matraz **1b** (3,17mmol; 1eq), BzCl (7,01mmol; 2,2eq), acetonitrilo (5mL) y piridina (2mL) y se dejó mezclando a temperatura ambiente. Al cabo de 24h, los productos se concentraron eliminando el disolvente a presión reducida. Al sólido resultante se le añadieron 50mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y 50mL de H<sub>2</sub>O para lavarlo. Se separó la fase orgánica, se añadió MgSO<sub>4</sub>, se filtró por gravedad para deshacerse del MgSO<sub>4</sub> y se evaporó a presión reducida. Al sólido formado se le añadió una disolución acuosa de carbonato potásico 0,5M (10mL) y 1,4-dioxano (20mL) y se dejó con agitación magnética a temperatura ambiente. Después de 30 minutos, se disminuyó el pH a 5 con la cuidadosa adición del ácido acético glacial. A continuación, los productos se concentraron a presión reducida y al residuo se le añadió, bajo agitación magnética, una disolución saturada de bicarbonato de sodio (20mL). Al cabo de 1,5h, la disolución se filtró a vacío y dicho sólido se lavó 3 veces con porciones de 10mL de H<sub>2</sub>O fría. La disolución resultante se cristalizó con acetona para dar el compuesto **2b**. **Rendimiento:**

No se obtuvo el compuesto deseado. Para poder determinar la estructura, se realiza un  $^1\text{H-RMN}$  en  $\text{DMSO-d}_6$ .

### Procedimiento alternativo de síntesis de 3-benzoil-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona (2b)

Se procedió a realizar el procedimiento anteriormente descrito con pequeñas modificaciones en cuanto a los equivalentes. Se introdujo en un matraz 1g de **1b** (1eq) junto con  $\text{BzCl}$  (1eq) y un agitador magnético. Esta reacción se llevó a cabo en una atmosfera inerte; utilizando argón como gas inerte. Con la ayuda de una jeringa, se añadió paulatinamente acetonitrilo (25mL) y piridina (1eq) y se dejó con agitación magnética a temperatura ambiente durante 24h. Posteriormente, la reacción se dividió al en 2 fases al añadirle  $\text{H}_2\text{O}$ ; así, la fase acuosa fue separada mediante la adición de tres porciones de 10mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . Por otro lado, se reunieron todas las fases orgánicas y se secaron con  $\text{MgSO}_4$  y se filtró a gravedad. El producto se concentró eliminando el disolvente a presión reducida. El sólido se disolvió en 1,4-dioxano (16mL) y se añadió  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (0,6g) disueltos en 8mL de  $\text{H}_2\text{O}$ . El crudo se dejó durante 1,5h agitando a temperatura ambiente. Se añadió paulatinamente  $\text{AcOH}$  hasta conseguir un pH 5. El crudo fue concentrado a presión reducida y a continuación, se añadió 20mL de una disolución saturada de sodio hidrogeno carbonato ( $\text{NaHCO}_3$ ) durante 1h. Se filtró con agua fría y el filtrado se dejó secando a temperatura ambiente dando como resultado un sólido blanco. **Rendimiento:** No se obtuvo el compuesto deseado. Para poder determinar la estructura, se realiza un  $^1\text{H-RMN}$  en  $\text{DMSO-d}_6$ .

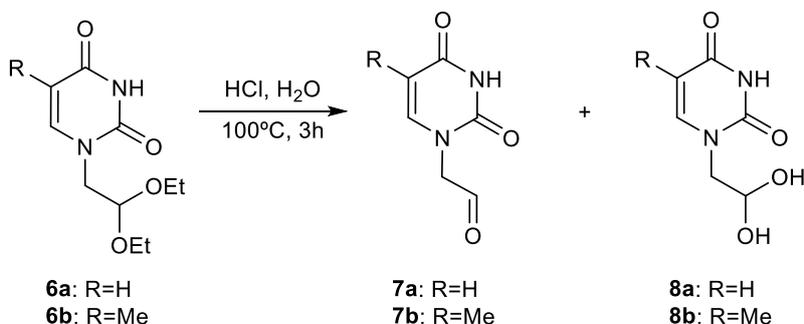
### Procedimiento síntesis de 1-(2,2-dietoxietil)piridin-2,4(1H,3H)-diona (6a) y 1-(2,2-dietoxietil)-5-metilpiridin-2,4(1H,3H)-diona (6b)





se purificó mediante una columna de sílice gel en DCM:MeOH 30:1. **Rendimiento:** **7a**: 57% y **7b**: 51%. Ambos compuestos se determinan realizando un  $^1\text{H}$ -RMN en DMSO- $d_6$ .

Procedimiento síntesis de 2-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-1(2H)-pirimidil) acetaldehído (**7a**) y 2-(5-Metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-1(2H)-pirimidil) acetaldehído (**7b**)

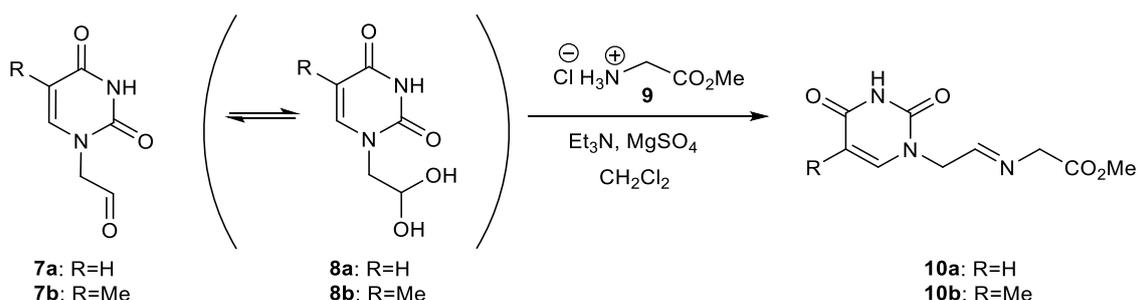


Los aldehídos **7a-b** fueron obtenidos mediante la hidrolisis de los correspondientes compuestos **6a-b** (1 eq) mediante 1M de HCl (1eq) a 90-100°C durante 3h con agitación. Una vez transcurrido el tiempo, la mezcla de reacción se enfrió a 0°C durante 30 minutos mientras se sometía agitación magnética. La mezcla resultante se filtró, se secó a presión reducida y el crudo de la reacción se utilizó en el siguiente paso sin purificar. **Rendimiento:** **7a**: 78% y **7b**: 71%. Ambos compuestos se determinaron mediante un  $^1\text{H}$ -RMN en DMSO- $d_6$ .

2-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-1(2H)-pirimidil) acetaldehído (**7a**):  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.41 (s, 1H), 11.25 (s,  $J = 2.2$  Hz, 3H), 9.56 (s, 1H), 7.51 (d,  $J = 7.8$  Hz, 4H), 6.15 (d,  $J = 6.1$  Hz, 6H), 5.52 (d,  $J = 7.8, 2.2$  Hz, 3H), 4.93 (d,  $J = 5.8$  Hz, 4H), 4.64 (s, 2H), 3.57 (d,  $J = 5.5$  Hz, 7H).

2-(5-Metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-1(2H)-pirimidil) acetaldehído (**7b**):  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  11.24 (s, 1H), 9.56 (s, 0H), 7.40 (s, 1H), 6.12 (d,  $J = 6.1$  Hz, 2H), 4.93 (t,  $J = 5.8$  Hz, 1H), 4.60 (s, 0H), 3.54 (d,  $J = 5.5$  Hz, 2H), 1.75 (s, 3H).

Procedimiento síntesis de metil(E)-2-((2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropiridin-1(2H)-il)etilideno)amino)acetato (**10a**) y metil(E)-2-((2-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropiridin-1(2H)-il)etilideno)amino)acetato (**10b**)



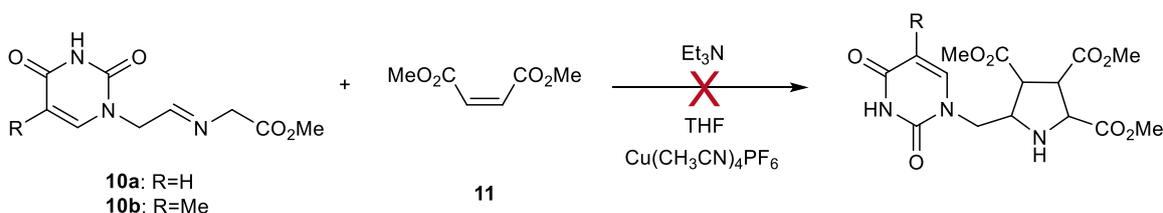
Se introdujo en un matraz el cloruro de éster de glicina **9** (1,3 eq) en 5-10 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , una cucharada de  $\text{MgSO}_4$  y  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,3 eq). La reacción se mantuvo durante 1h con agitación magnética a temperatura ambiente. Después, se introdujo **7a-b** (1eq) y se dejó la reacción con la agitación magnética durante 18h. Una vez transcurrido, se procedió a filtrarlo por gravedad y el filtrado se evaporó a presión reducida logrando un sólido de color amarillento. **Rendimiento:** **10a:** 41% y **10b:** 40%. Ambos compuestos se determinaron realizando un  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{DMSO}-d_6$ .

Metil(E)-2-((2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropiridin-1(2H)-il) etilideno)amino) acetato (**10a**):  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  11.15 (s, 1H), 7.82 – 7.72 (t, 1H), 7.55 (d,  $J = 7.9, 6.1$  Hz, 1H), 5.57 (d,  $J = 7.8$  Hz, 1H), 4.24 (d,  $J = 1.4$  Hz, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.17 (s, 2H).

Metil (E)-2-((2-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropiridin-1(2H)-il) etilideno)amino) acetato (**10b**):  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  11.27 (s, 1H), 7.76 (t,  $J = 2.5, 1.3$  Hz, 1H), 7.45 (s,  $J = 1.2$  Hz, 1H), 4.48 (d,  $J = 2.7, 1.3$  Hz, 1H), 3.70 (s, 1H), 3.63 (s,  $J = 4.0$  Hz, 3H), 1.79 – 1.73 (s, 3H).

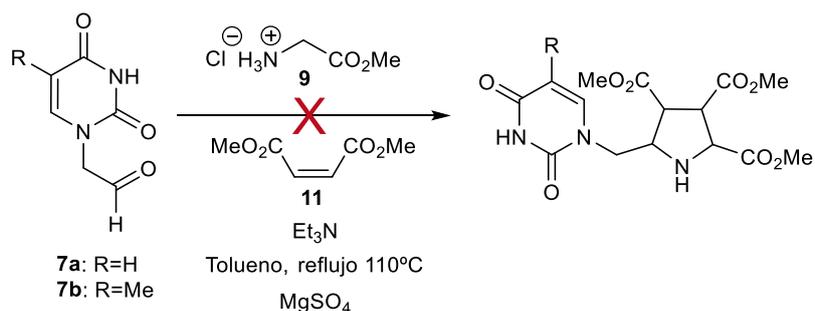
### 5.3. Cicloacidición (3+2)

Procedimiento síntesis de metil(4S,6R)-6-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-1,3-dioxohexahidro-1H-furo[3,4-c]pirrol-4-carboxilato y metil(4S,6R)-6-((5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)-1,3-dioxohexahidro-1H-furo[3,4-c]pirrol-4-carboxilato



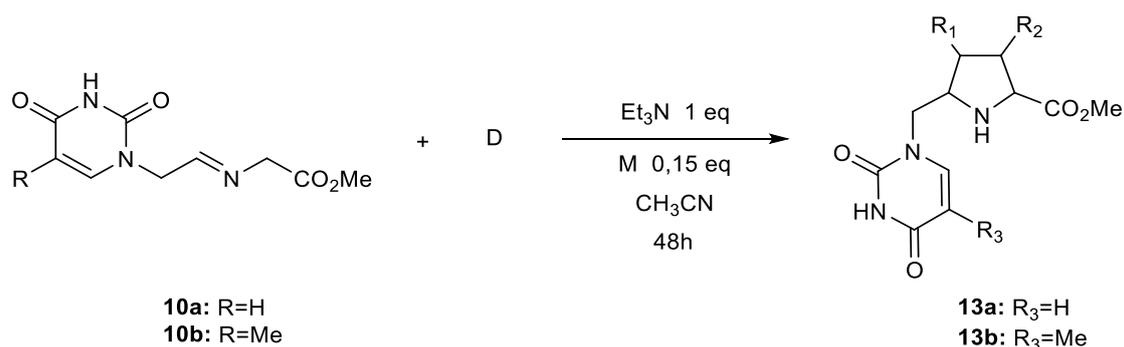
Se introdujeron en un matraz la sal de cobre  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{CN})_4\text{PF}_6$  (0,888mmol; 1eq) y 1mL de THF. Después de estar con agitación magnética durante 15 minutos se añadió el compuesto imínico **10a-b** (0,89mmol; 1eq) disuelto en 1mL de THF, el dipolarófilo **11** (0.99 mmol, 1,1eq) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (6,30 $\mu\text{L}$ ; 0,89mol; 1eq) y se dejó durante 24h con agitación magnética a temperatura ambiente. La reacción se controló mediante TLC. Una vez transcurrido el tiempo de reacción, el disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo de la reacción se purificó mediante una columna cromatográfica de sílica gel con una mezcla de eluyentes EtOAc:hexano 1:1. **Rendimiento:** No se obtuvieron los compuestos deseados. Para poder determinar la estructura, se realizó un  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{DMSO-d}_6$ .

Procedimiento síntesis de Trimetil 5-((2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)pirrolidina-2,3,4-tricarboxilato y Trimetil 5-((5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)metil)pirrolidina-2,3,4-tricarboxilato

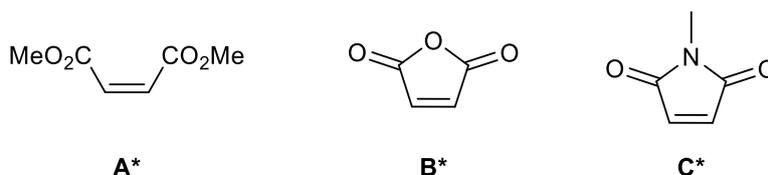


Se introdujo en un matraz el éster de glicina **9** (1,7 eq) y se añadió tolueno (20 mL), una cucharada de  $\text{MgSO}_4$ , el dipolarófilo **11** (1,7 eq) y  $\text{Et}_3\text{N}$  (1,7 eq). Se dejó el matraz con agitación magnética durante 1h a temperatura ambiente protegiéndolo de la humedad. Después, se introdujo el aldehído **7a-b** (1,3 eq) y se puso bajo reflujo a  $110^\circ\text{C}$  *overnight*. Una vez transcurrido el tiempo, se procedió a filtrarlo por gravedad. A continuación, se procedió a filtrarlo por celita y el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener un sólido de color marrón. **Rendimiento:** No se obtuvo el compuesto deseado. Para poder determinar la estructura, se realizó un  $^1\text{H}$ -RMN en  $\text{DMSO-d}_6$ .

### Barrido múltiple de las condiciones de reacción de cicloadición (3+2)



Dipolarófilo (D)	Metal (M)
A*	Ag(OAc)
B*	Ag(OAc)
B*	Cu(CH <sub>3</sub> CN) <sub>4</sub> PF <sub>6</sub>
C*	Ag(OAc)

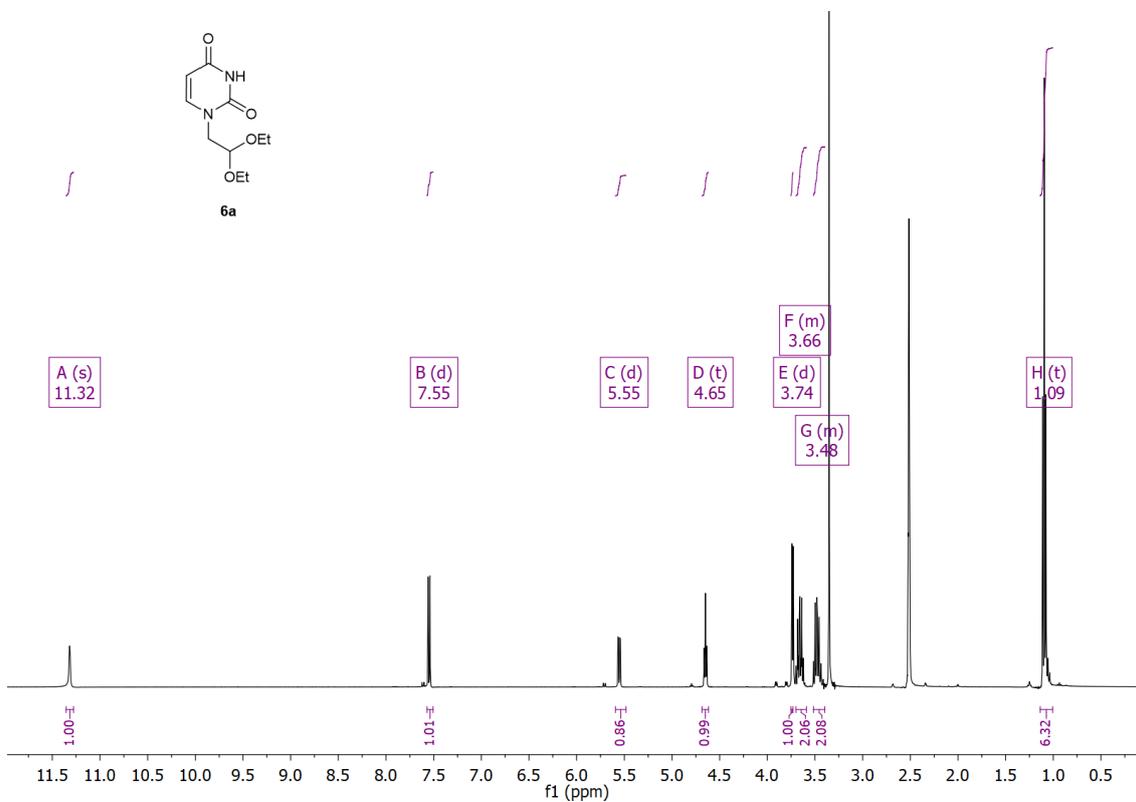


En primer lugar, se hizo reaccionar la fuente metálica (0,15eq) y el disolvente CH<sub>3</sub>CN. Después de estar durante 15 minutos sometido a agitación magnética, se adicionó la imina correspondiente **10a-b** (1eq) previamente disuelta en 2 mL de CH<sub>3</sub>CN, el dipolarófilo (1,1eq) y, por último, Et<sub>3</sub>N (1eq). La reacción se dejó durante 48h con agitación a temperatura ambiente. La reacción resultante fue purificada mediante una columna de gel de sílice con una mezcla de eluyentes EtOAc:hexano 1:4 a gravedad. Después, se cogieron las fracciones de interés y se precipitó con hexano. Debido a que no se pudo purificar correctamente, se optó por recristalizar. Para ello, se disolvió en metanol y a continuación, se le añadieron tolueno y hexano y se dejó a temperatura ambiente 1 semana. **Rendimiento:** No se pudo cuantificar debido a la poca cantidad de producto. Para poder determinar la estructura, se realizó un <sup>1</sup>H-RMN en metanol-d<sub>4</sub>.

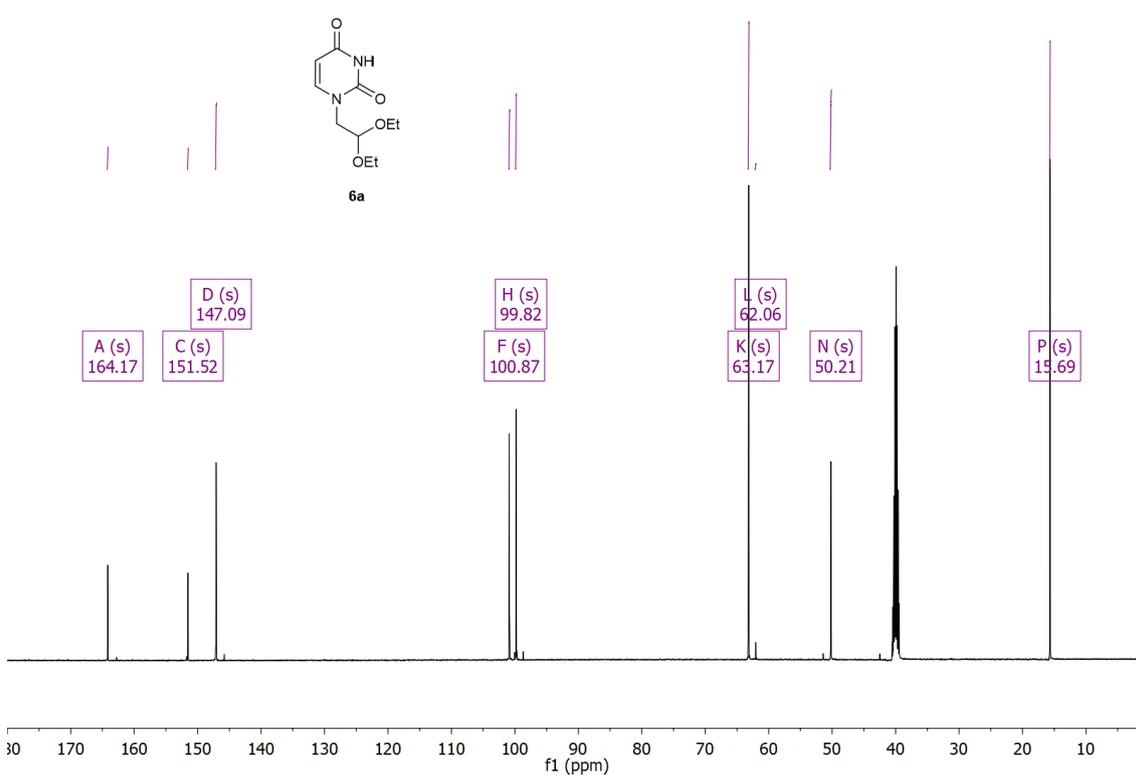
## 6. Espectros representativos

### 6a: 1-(2,2-dietoxietil)piridin-2,4(1H,3H)-diona

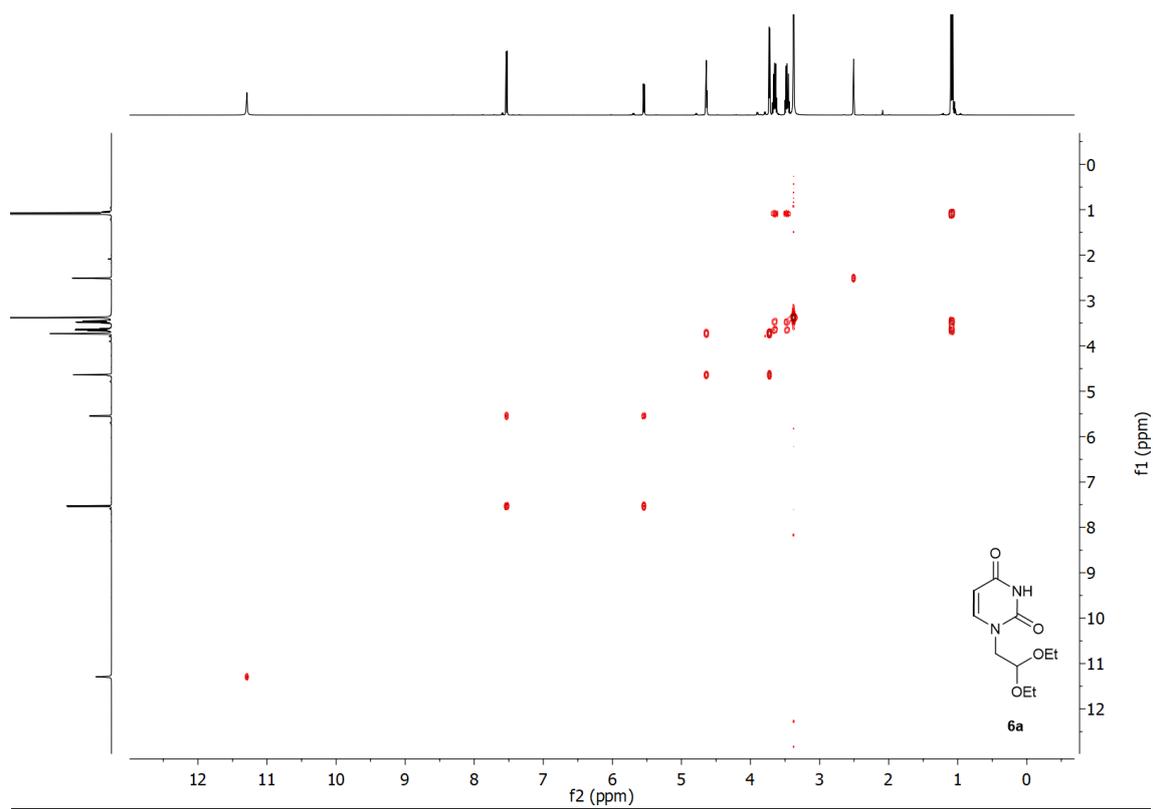
$^1\text{H}$ -RMN (DMSO- $d_6$ ):



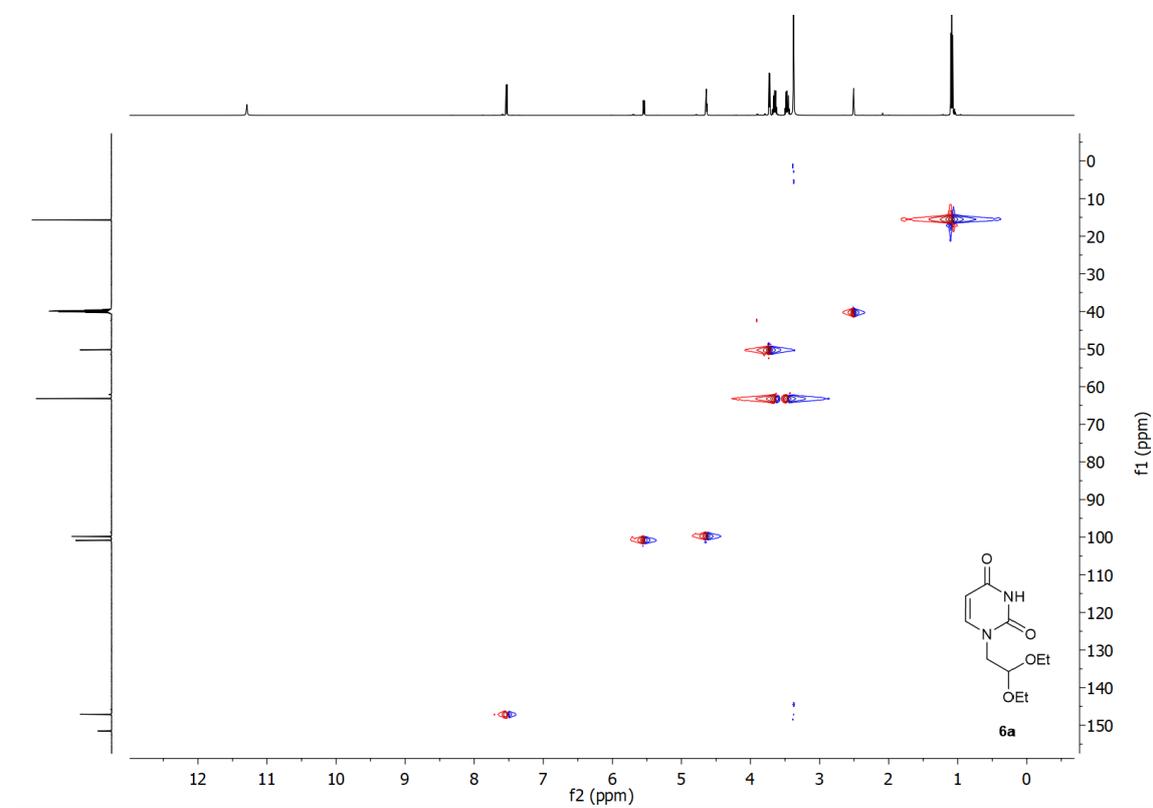
$^{13}\text{C}$ -RMN (DMSO- $d_6$ ):



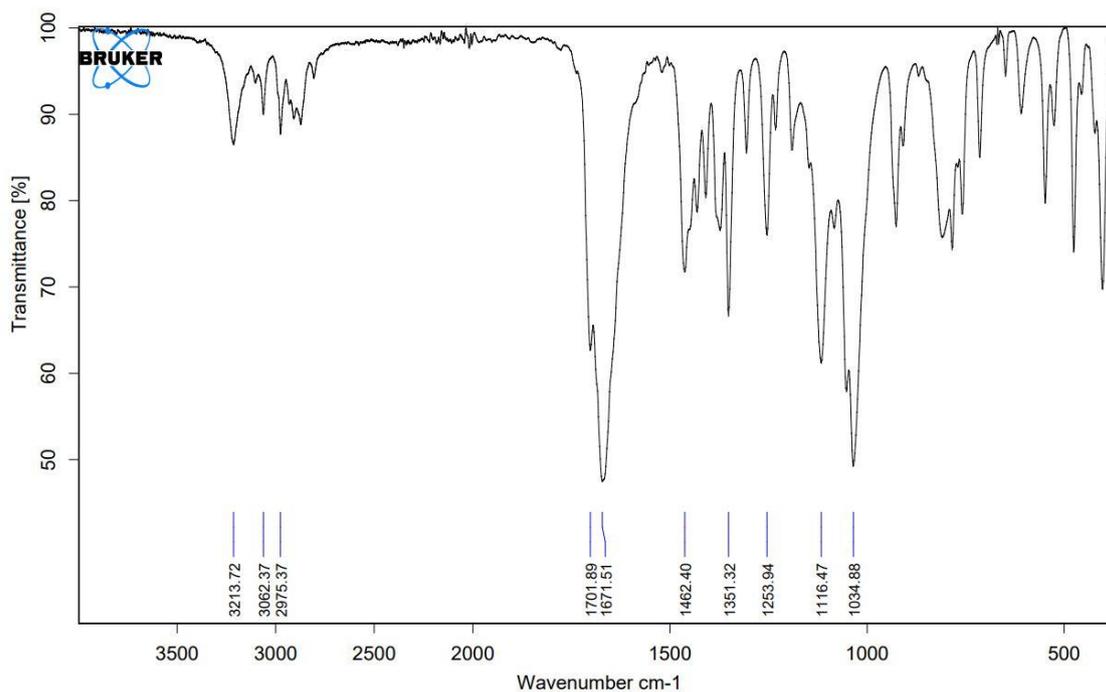
g-COSY (DMSO-d<sub>6</sub>):



g-HSQC (DMSO-d<sub>6</sub>):

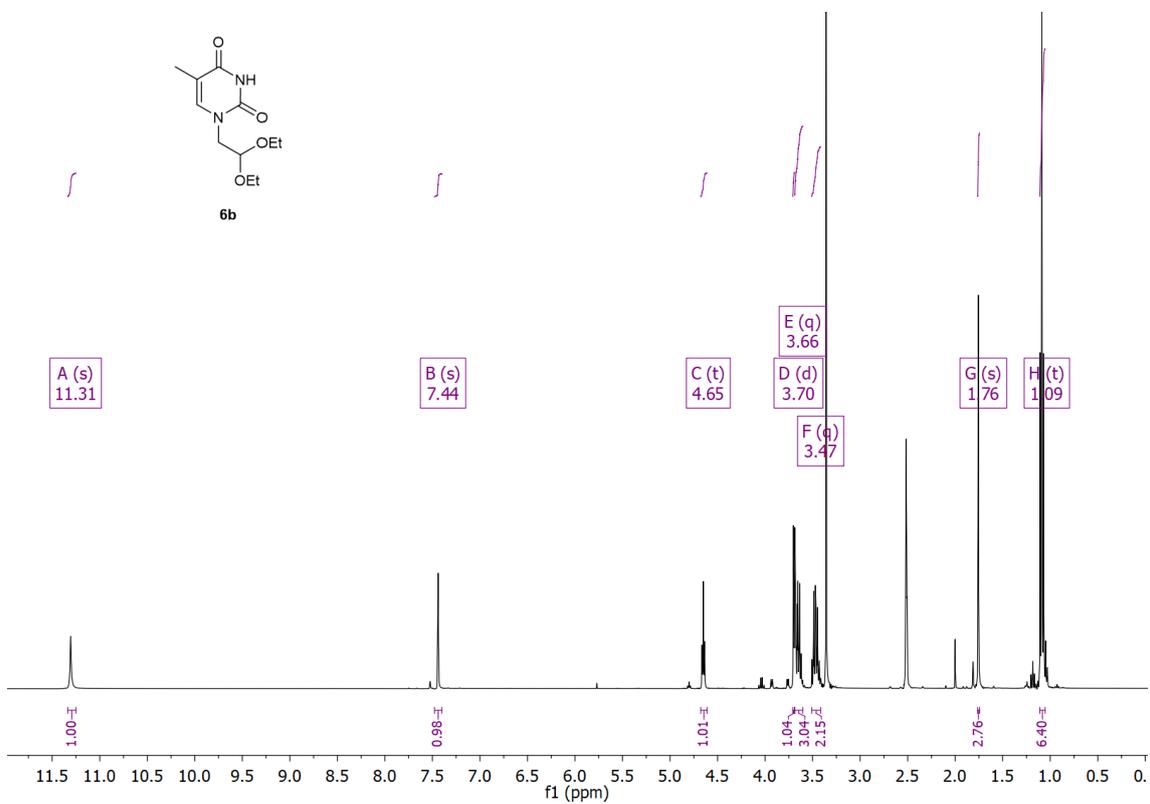


IR:

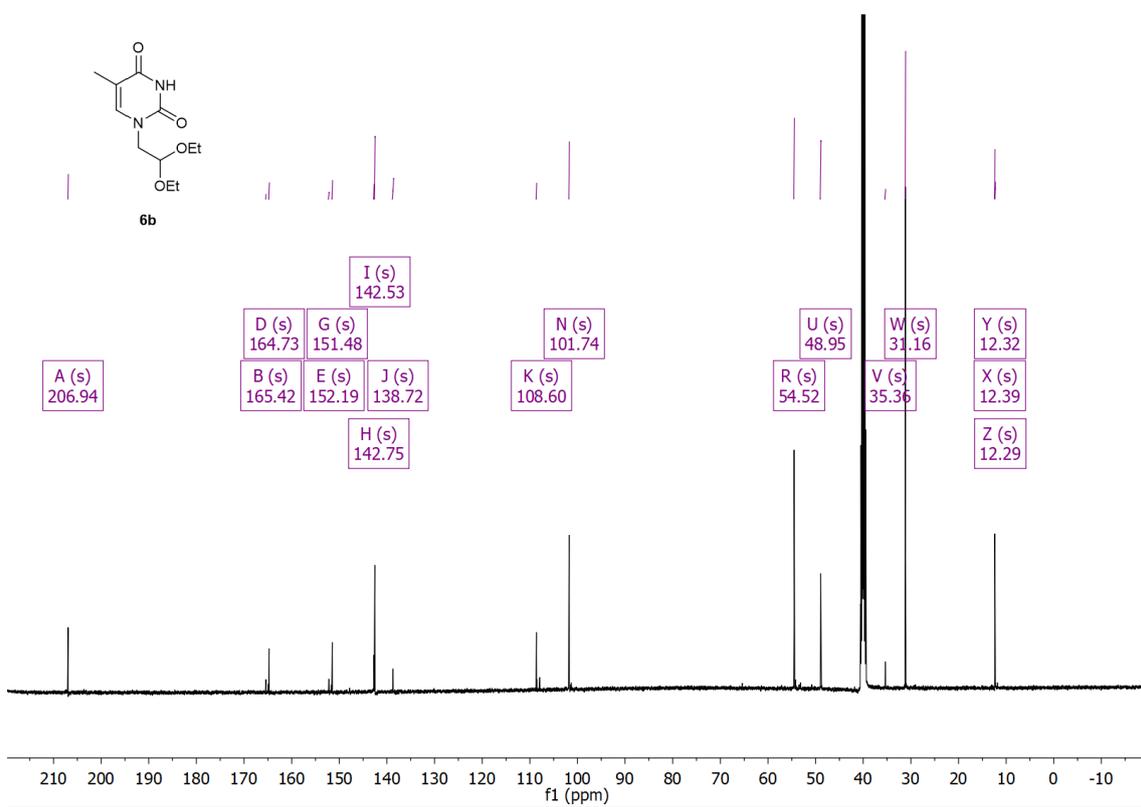


**6b:1-(2,2-dietoxietil)-5-metilpiridin-2,4(1H,3H)-diona**

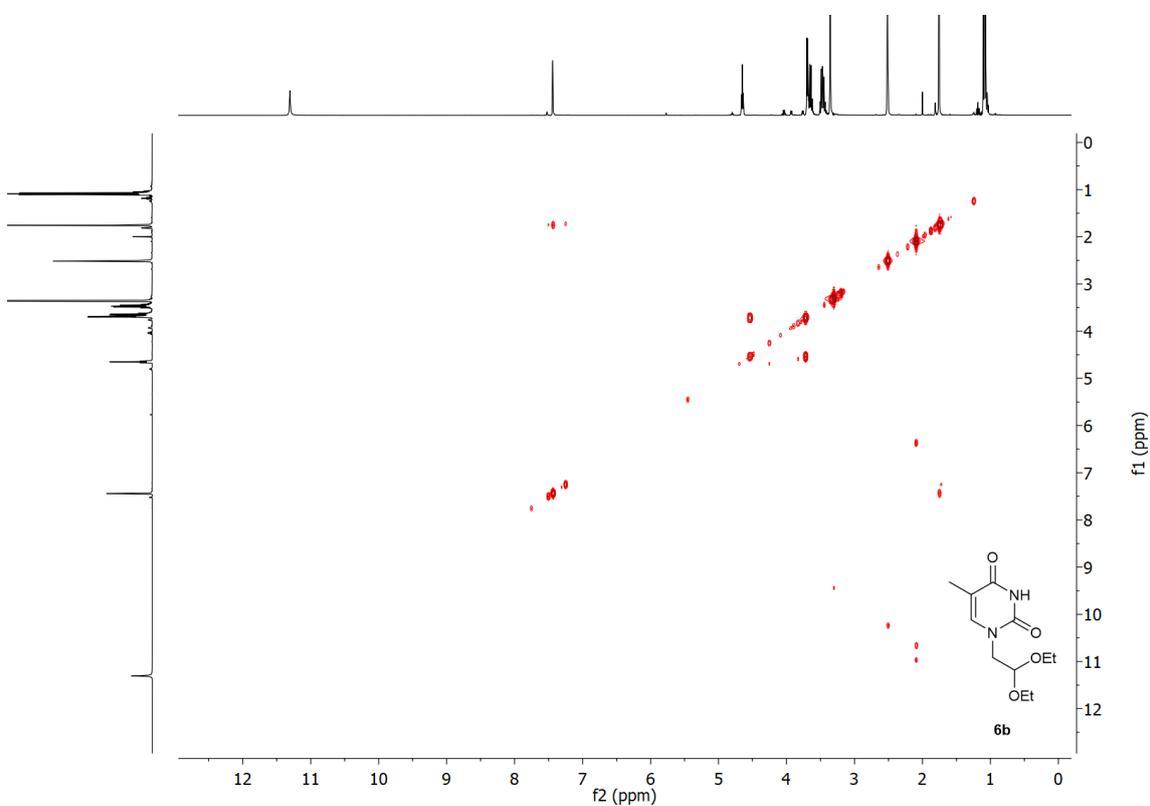
<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):



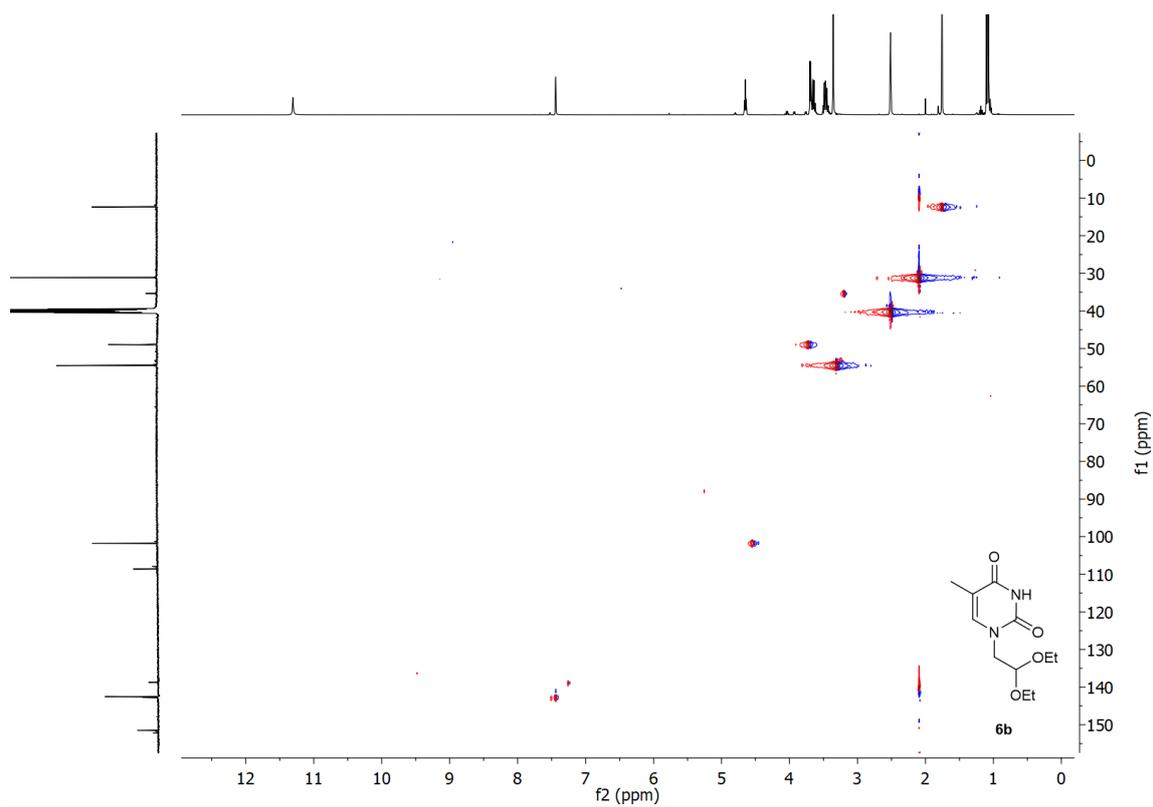
**<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):**



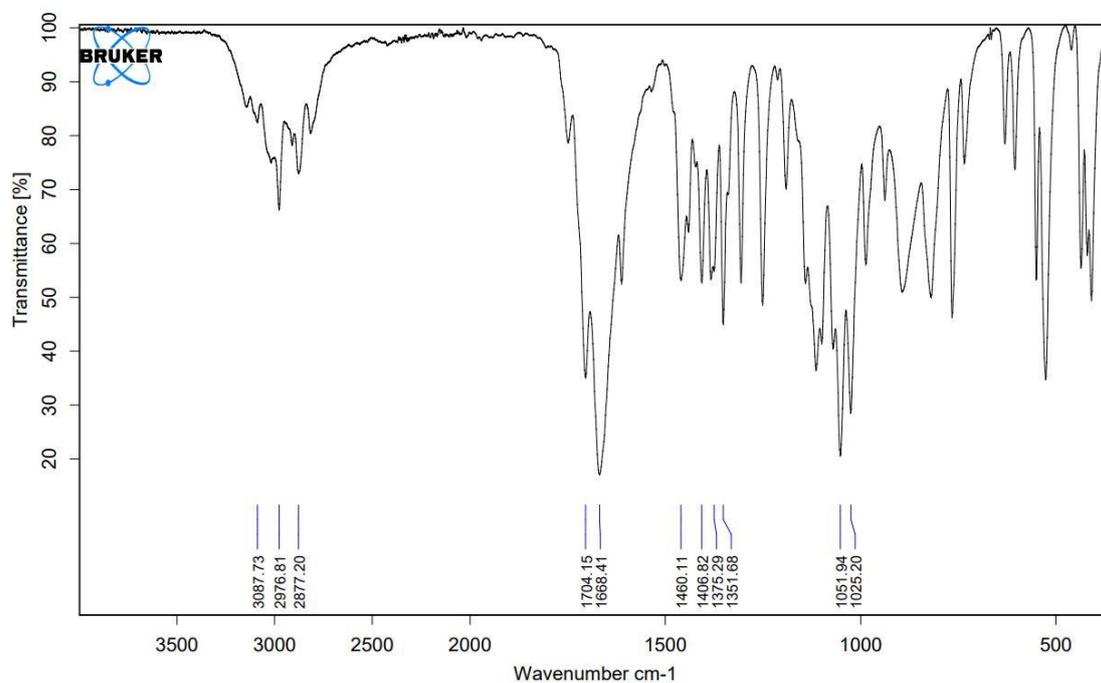
***g*-COSY (DMSO-d<sub>6</sub>):**



g-HSQC (DMSO-d<sub>6</sub>):

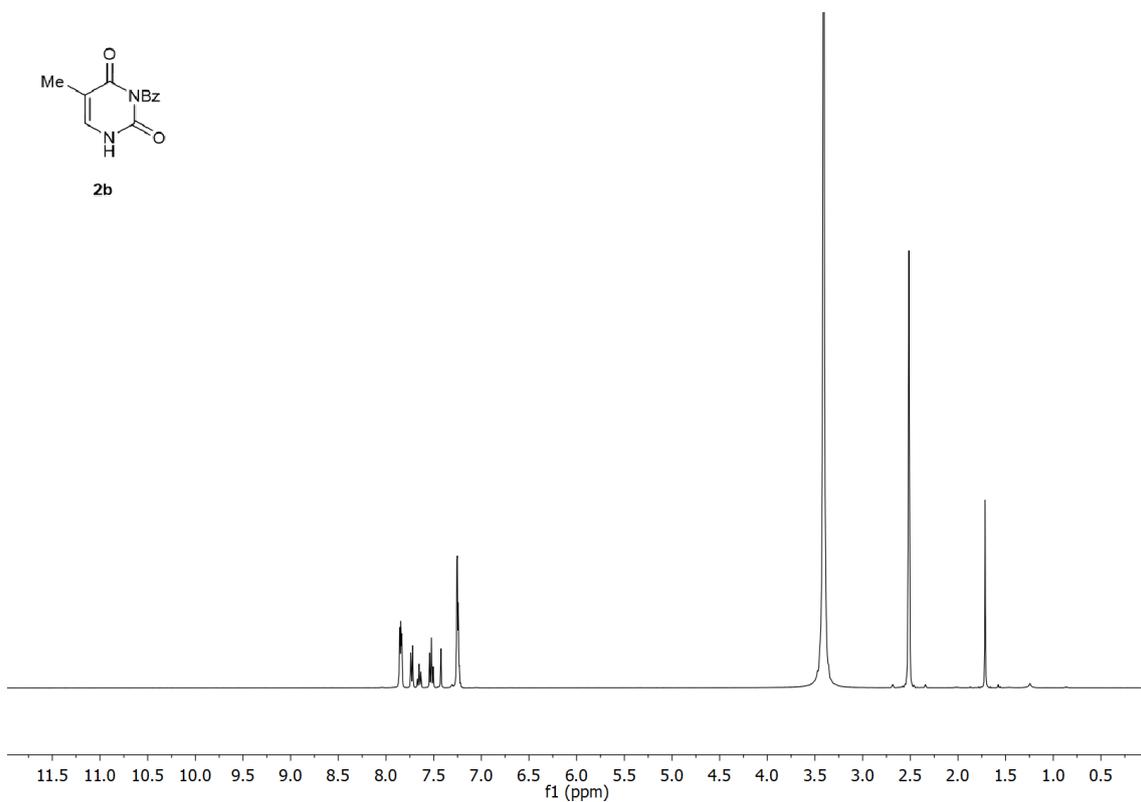


IR:



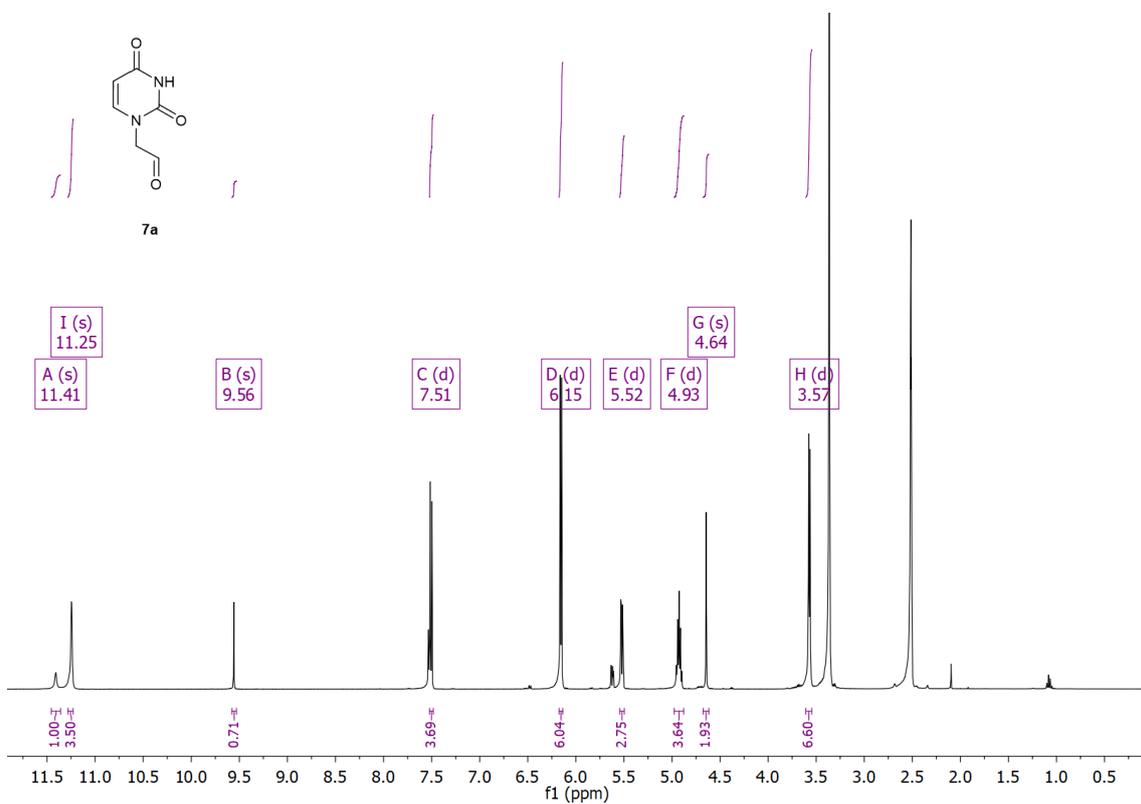
## **2b: 3-benzoil-5-metilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona**

$^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ):

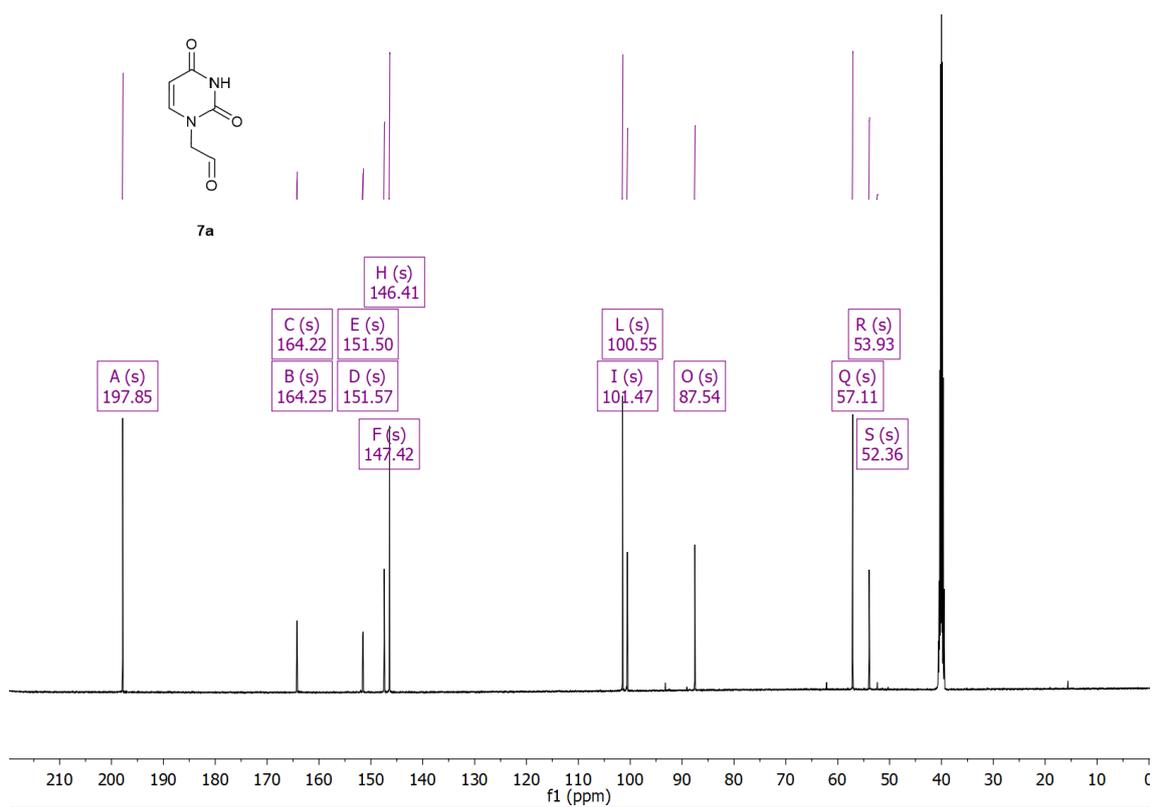


## **7a: 2-(2,4-dioxo-3,4-dihidro-1(2H)-pirimidil) acetaldehído**

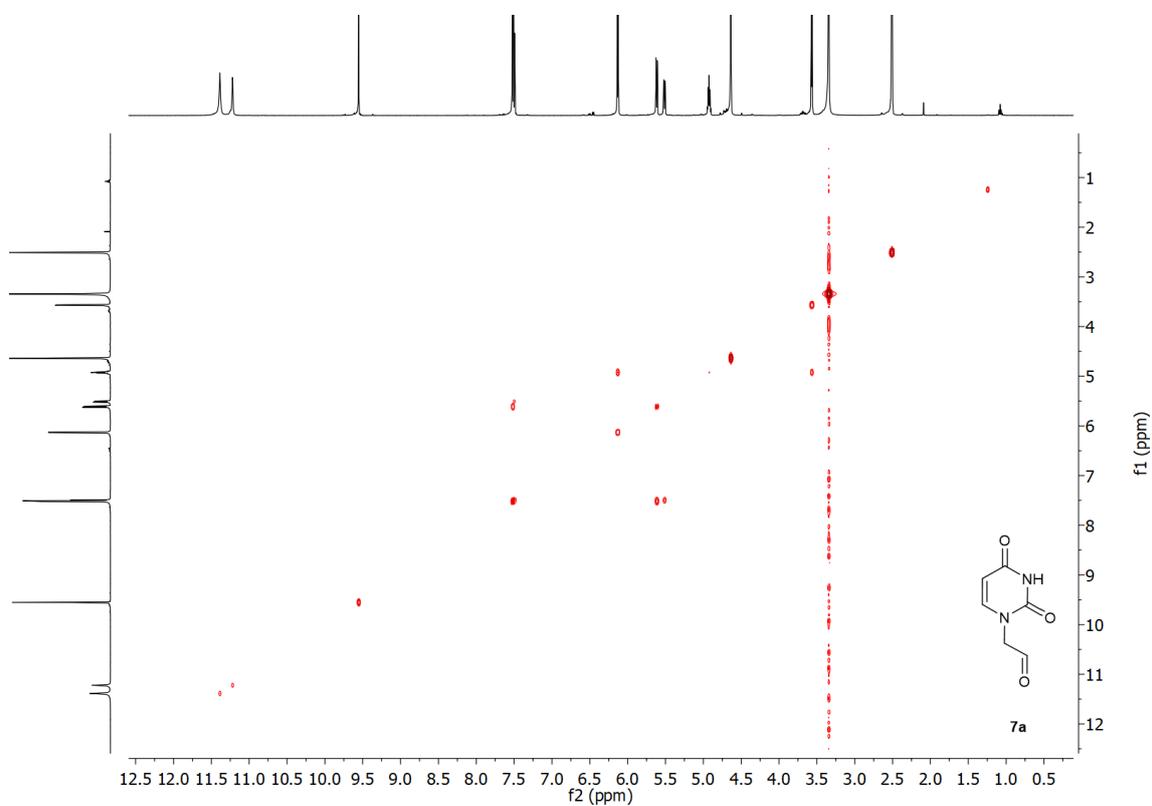
$^1\text{H-RMN}$  (DMSO- $d_6$ ):



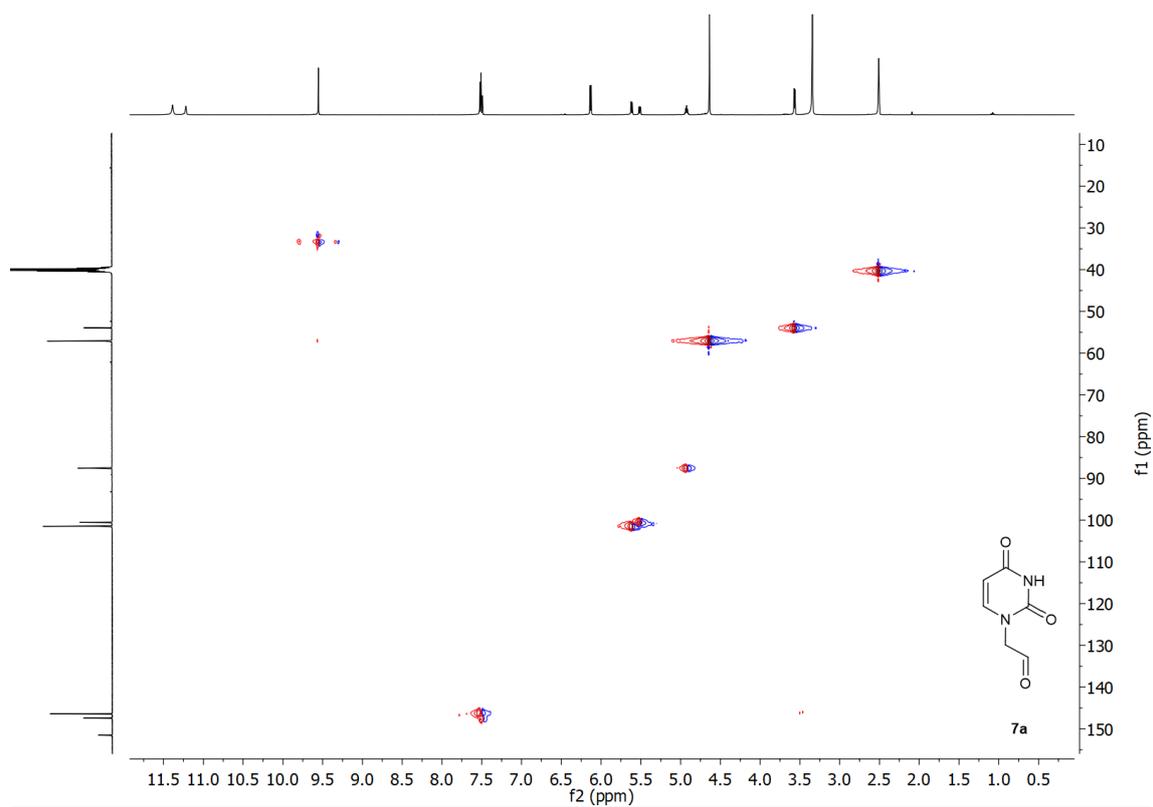
**<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):**



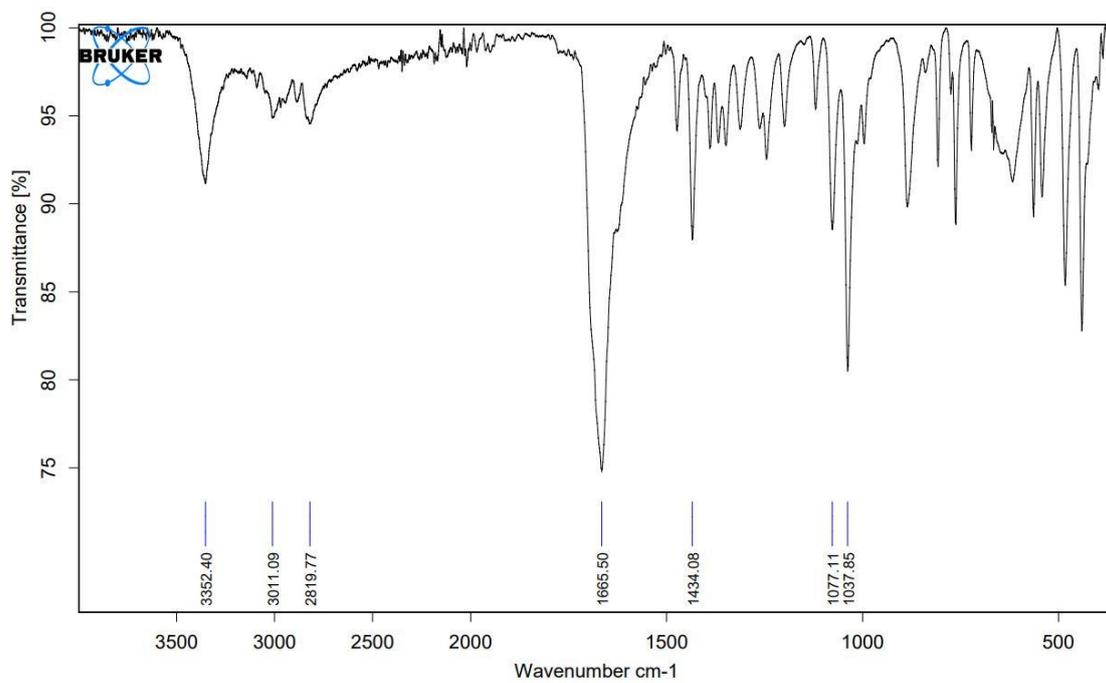
**g-COSY (DMSO-d<sub>6</sub>):**



g-HSQC (DMSO-d<sub>6</sub>):

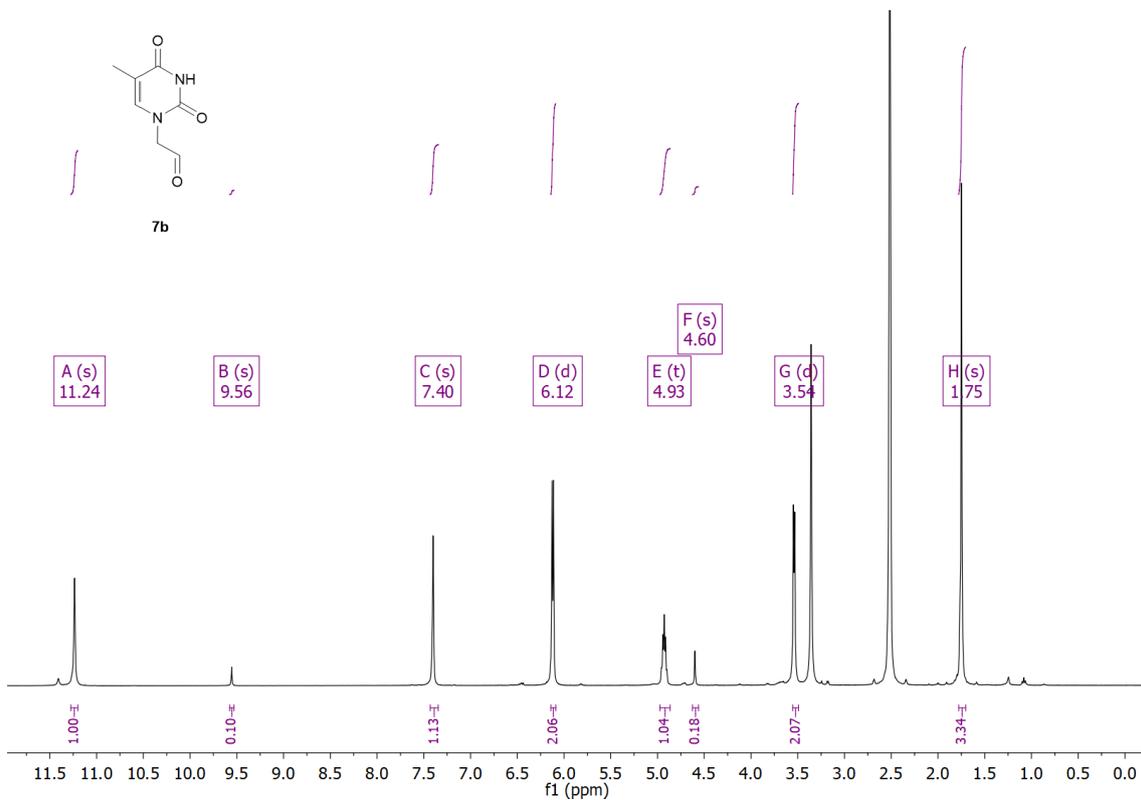


IR:

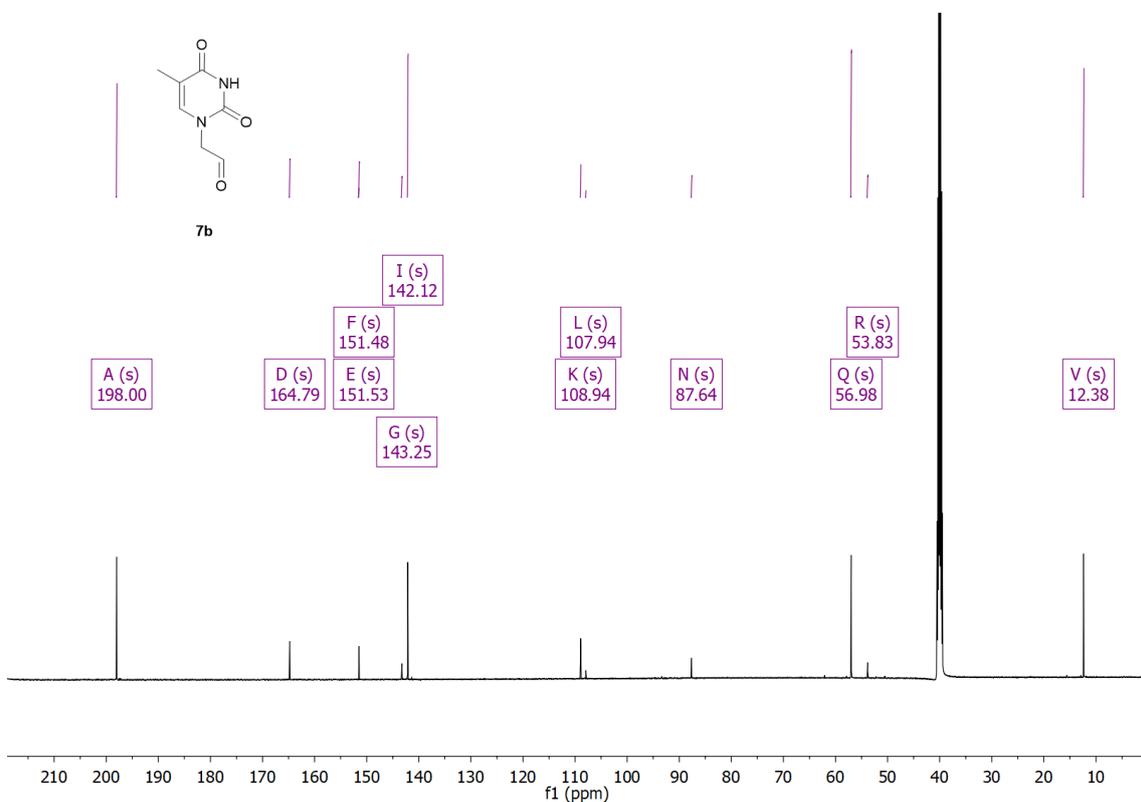


### 7b: 2-(5-Metil-2,4-dioxo-3,4-dihidro-1(2H)-pirimidil) acetaldérido

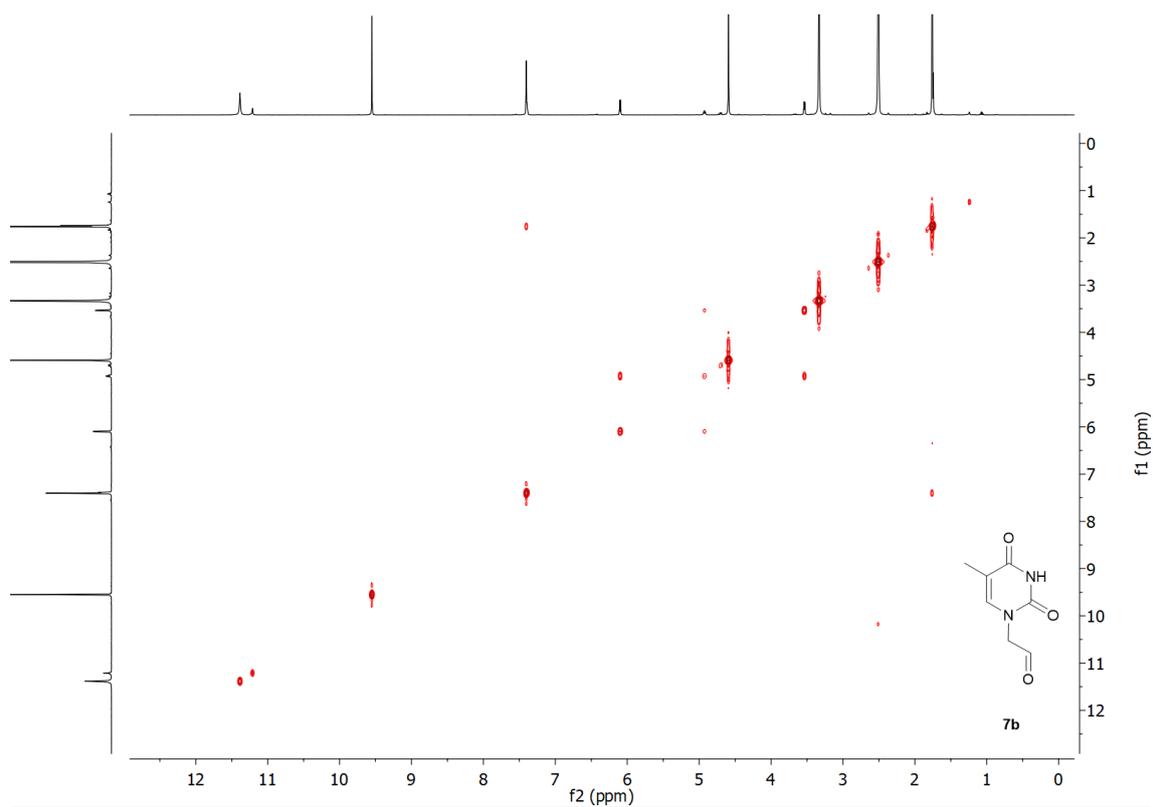
<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):



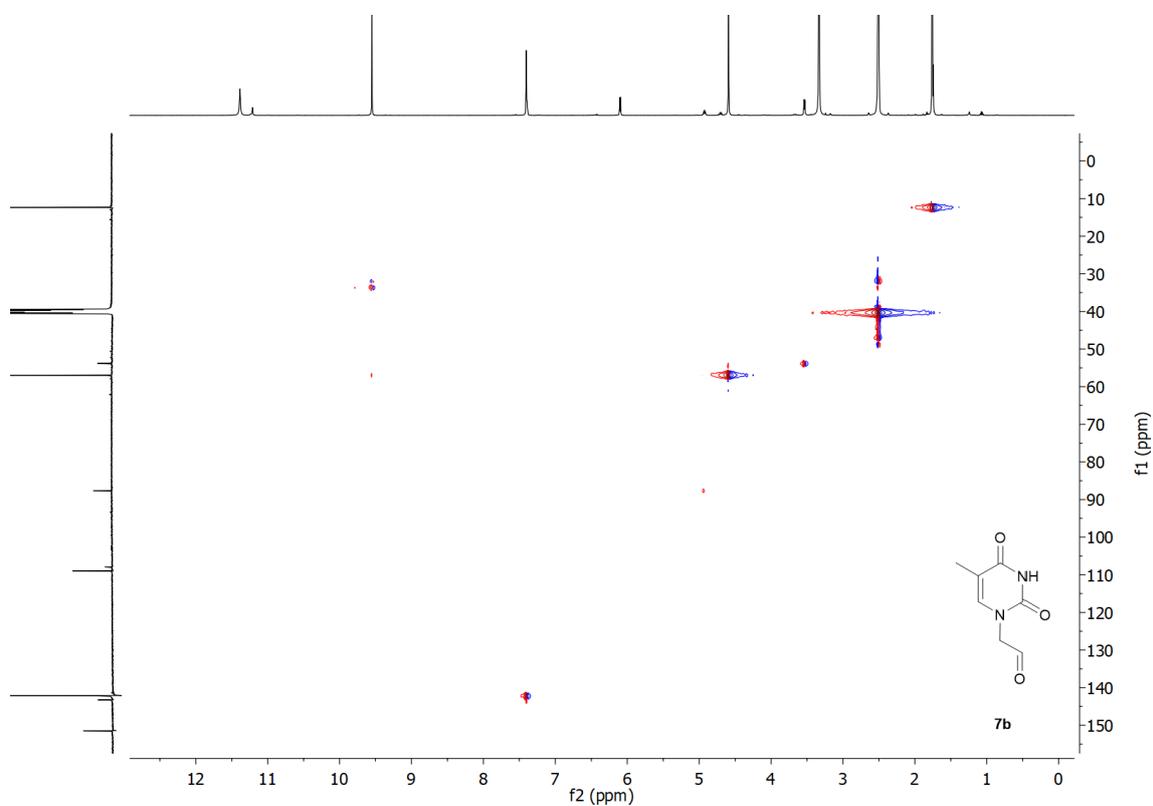
<sup>13</sup>C-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):



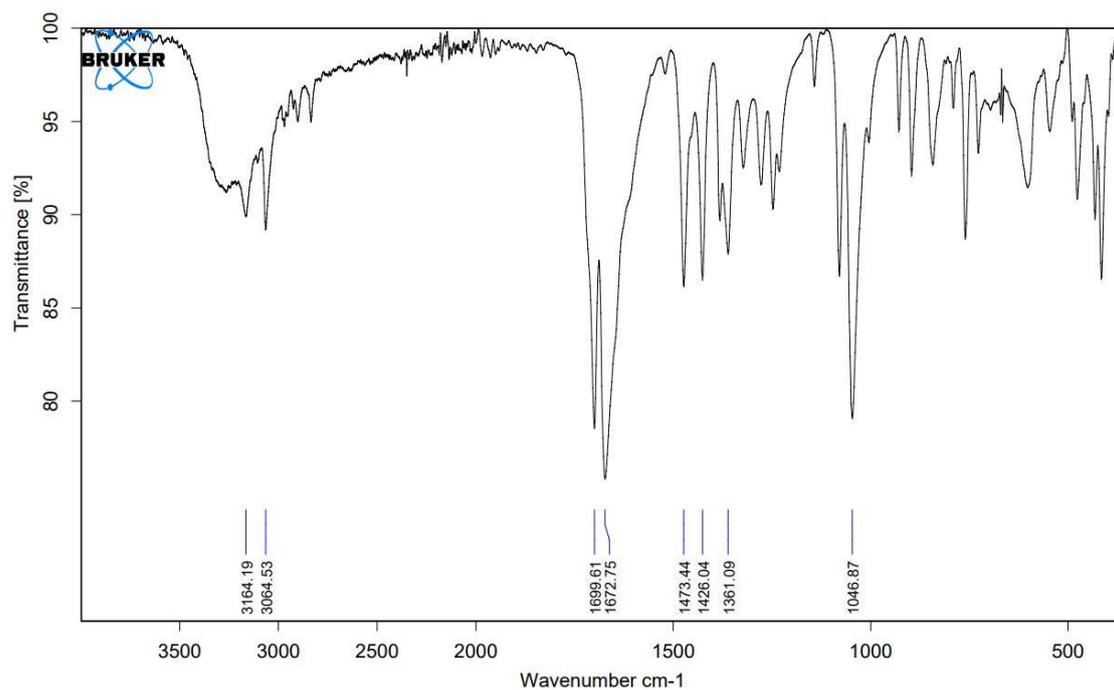
g-COSY (DMSO-d<sub>6</sub>):



g-HSQC (DMSO-d<sub>6</sub>):

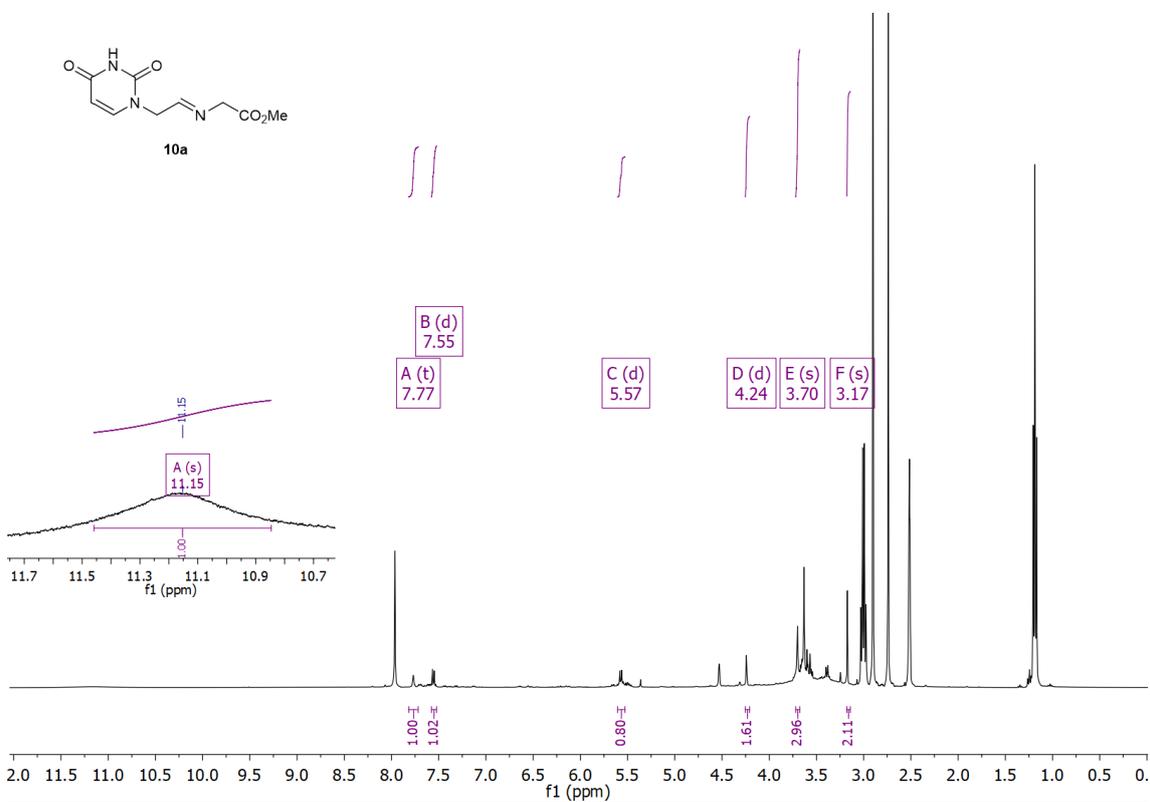


IR:

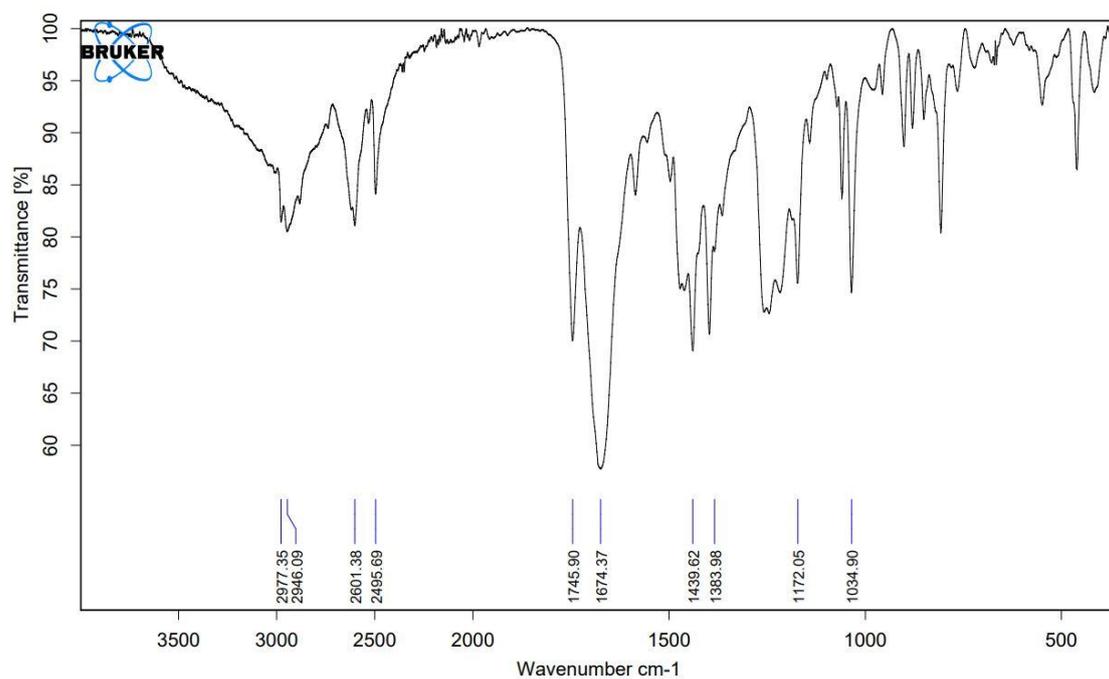


**10a: Metil(E)-2-((2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropiridin-1(2H)-il) etilideno)amino)acetato**

<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):



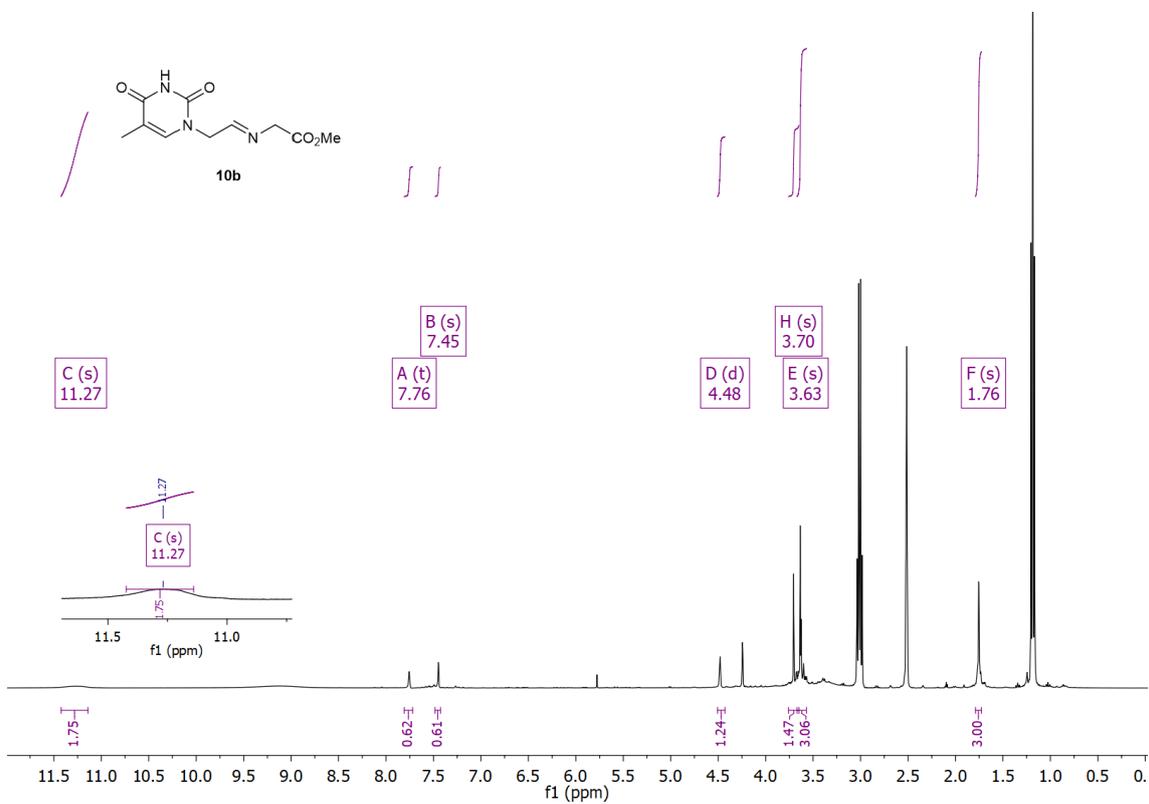
IR:



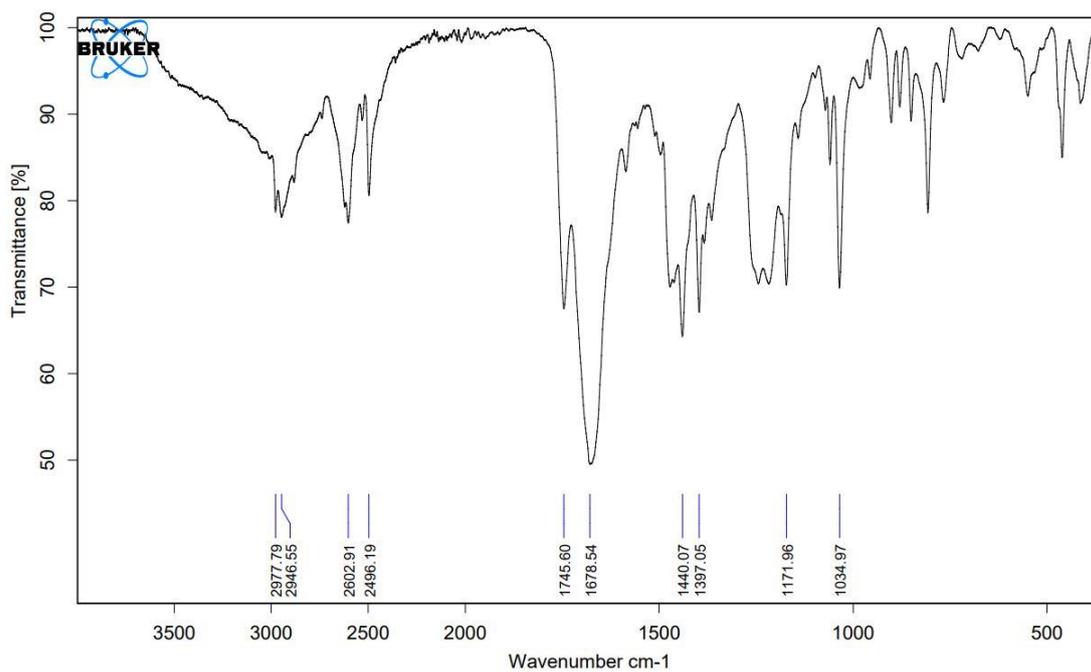
**10b: Metil (E)-2-((2-(5-metil-2,4-dioxo-3,4-dihidropiridin-1(2H)-il) etilideno)amino)**

**acetato**

**<sup>1</sup>H-RMN (DMSO-d<sub>6</sub>):**

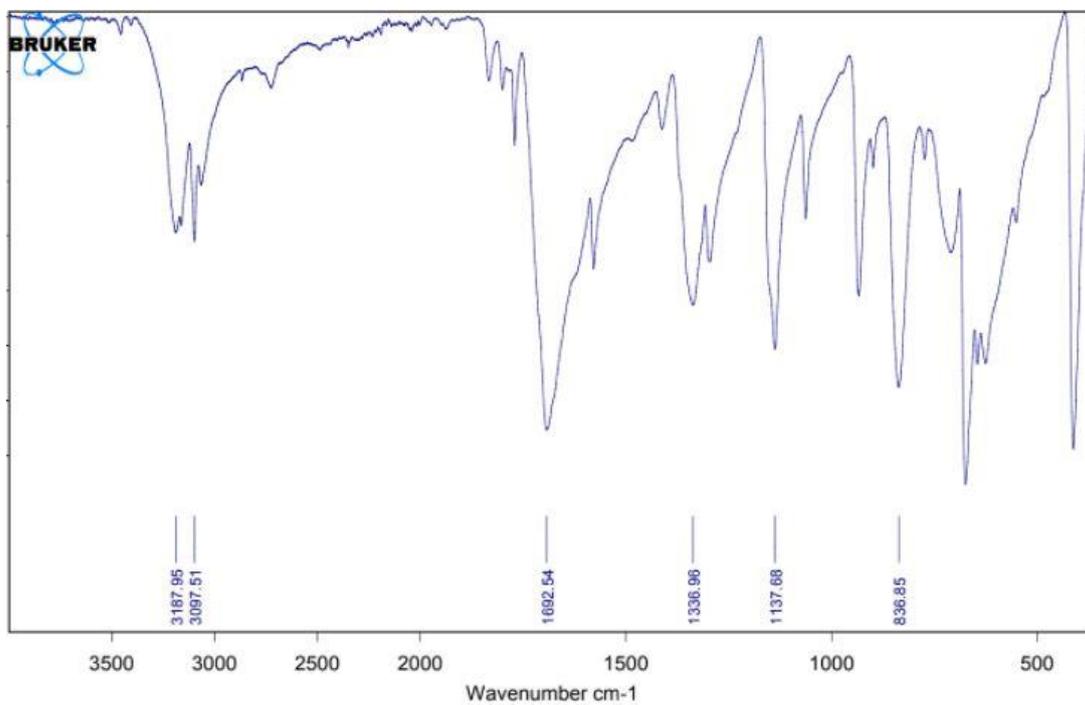


IR:



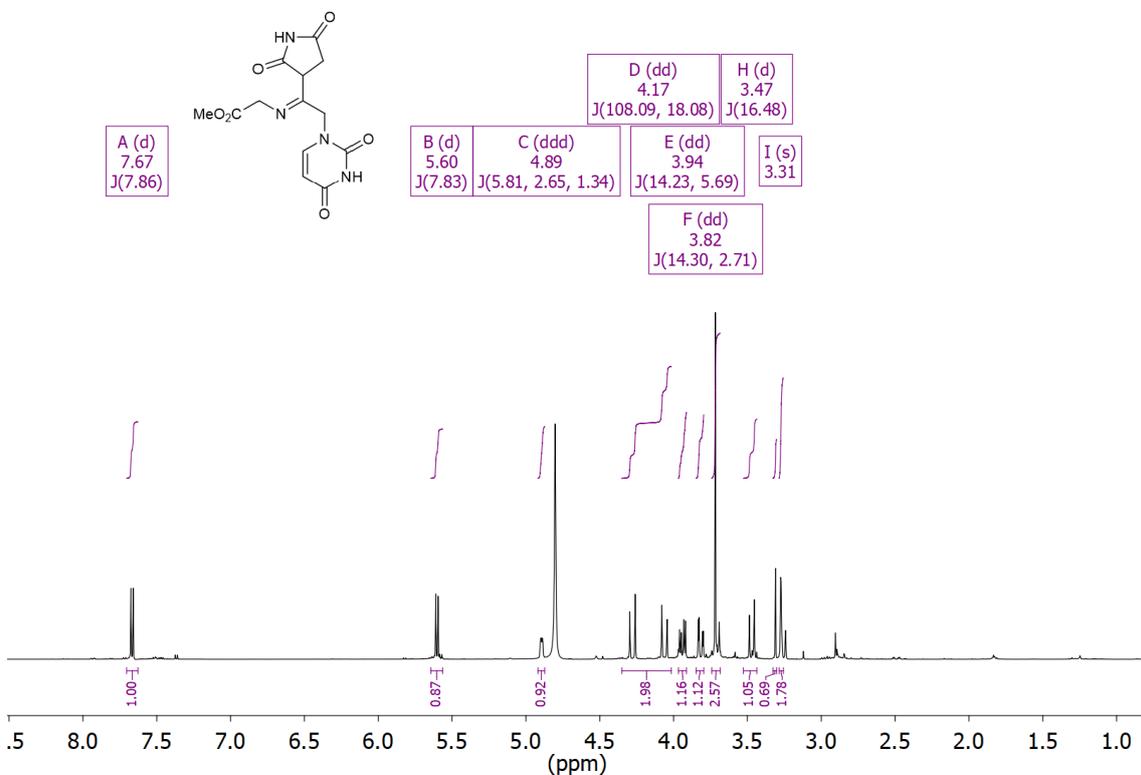
11c: Maleimida

IR:

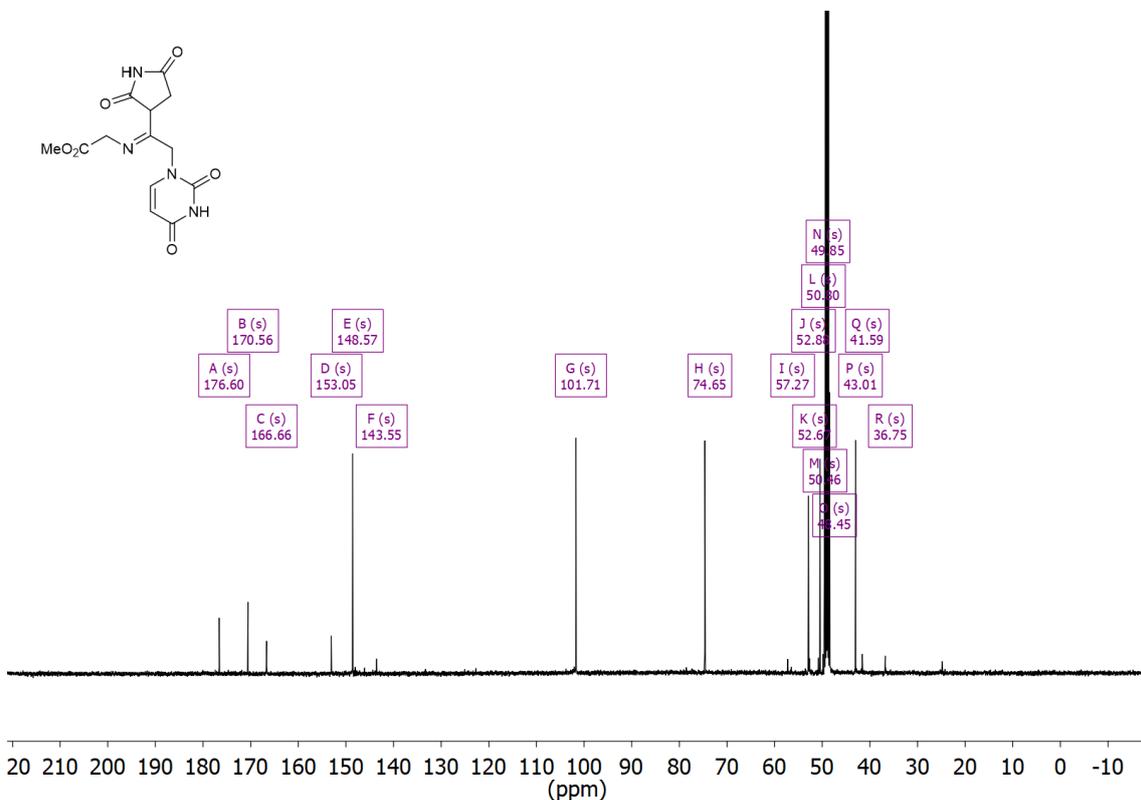


**12ac: Metil (E)-2-((2-(2,4-dioxo-3,4-dihidropirimidin-1(2H)-il)-1-(2,5-dioxopirrolidin-3-il)etiliden)amino)acetato**

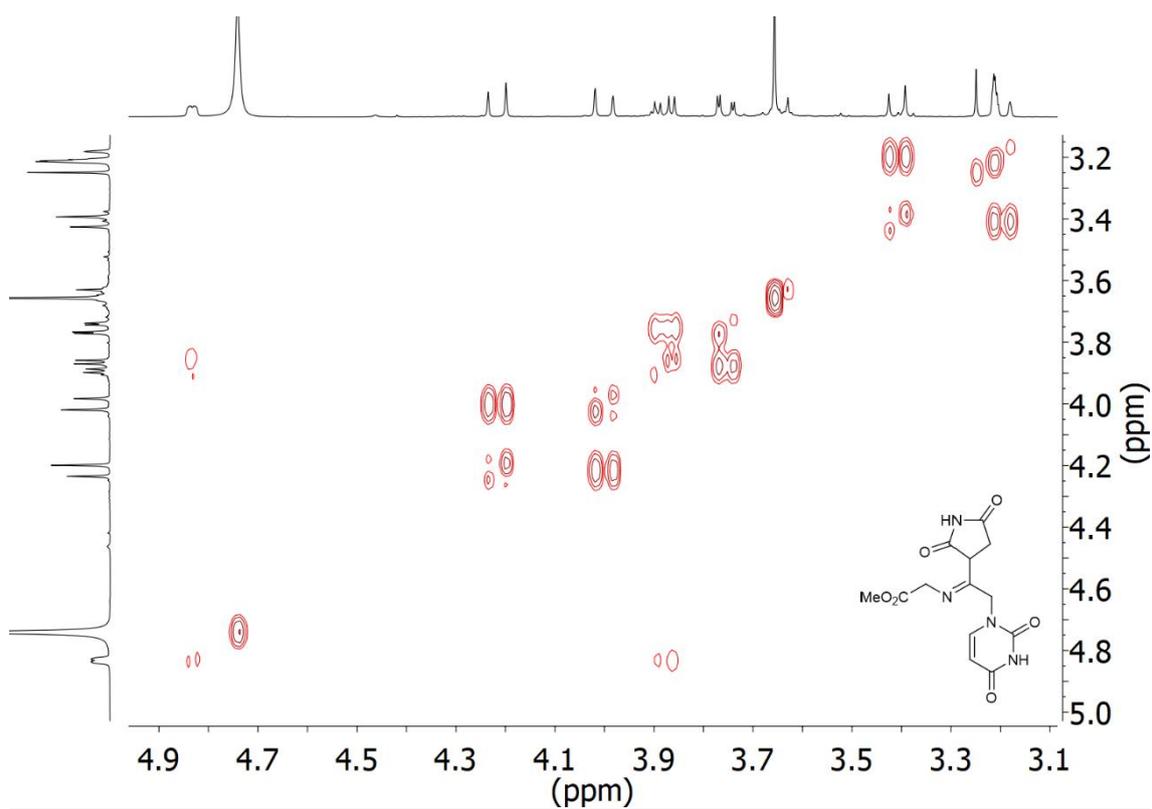
$^1\text{H}$ -RMN (MeOD- $d_4$ ):



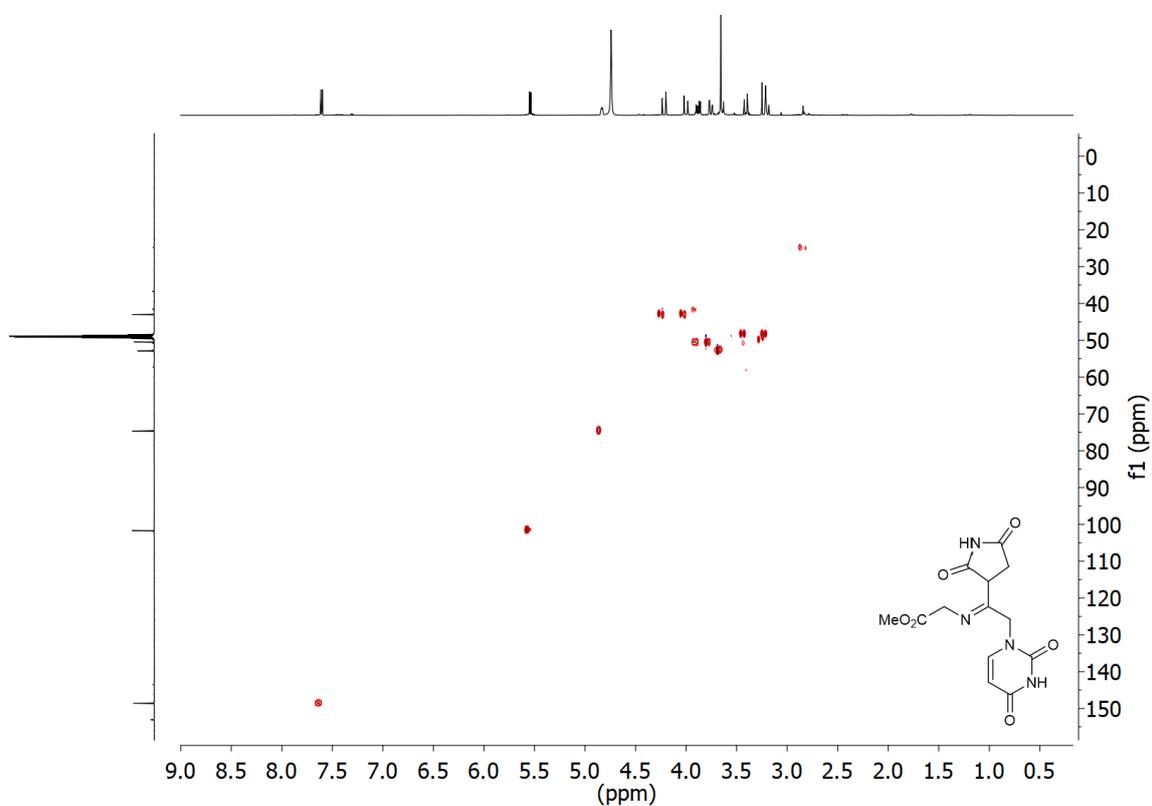
$^{13}\text{C}$ -RMN (MeOD- $d_4$ ):



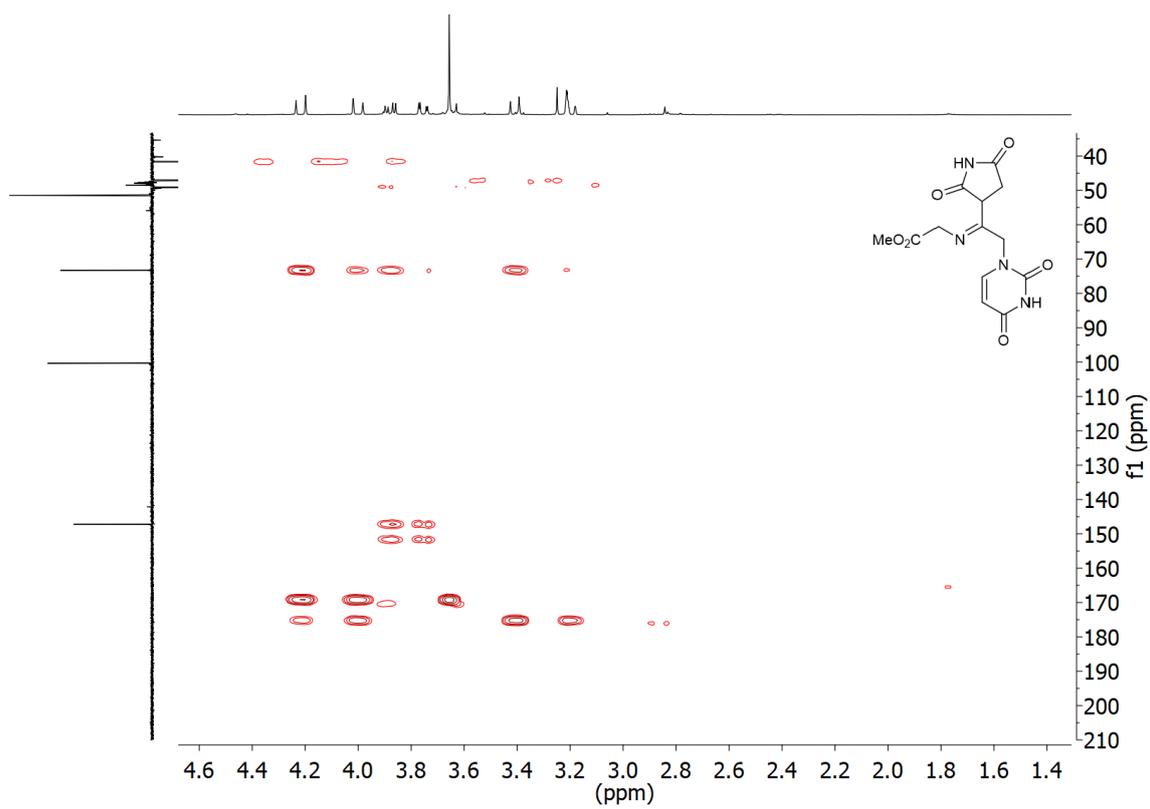
g-COSY (MeOD-d<sub>4</sub>):



g-HSQC (MeOD-d<sub>4</sub>):



g-HMBC (MeOD-d<sub>4</sub>):



## 7. Referencias bibliográficas

- 1 Consejo General de Colegios Farmacéuticos. CORONAVIRUS: COVID-19 Informe Técnico. *Portalfarma* **2020**, 1–37.
- 2 Borbone, N.; Piccialli, G.; Roviello, G. N.; Oliviero, G. Nucleoside Analogs and Nucleoside Precursors as Drugs in the Fight against SARS-CoV-2 and Other Coronaviruses. *Molecules* **2021**, *26*, 1–17.
- 3 Urcuqui, S.; Ossa, J. Historia de la virología y características de los virus. *Fondo Editorial Biogénesis* **2012**, 9-17.
- 4 Peralta, R. The Virology and Its Great Developments **2019**, *3* , 201–210.
- 5 a) Baltimore, D. Expression of Animal Virus Genomes. *Bacteriol. Rev.* **1971**, *35*, 235–241. b) Mahmoudabadi, G.; Phillips, R. A. Comprehensive and Quantitative Exploration of Thousands of Viral Genomes. *Elife* **2018**, *7*, 1–26.
- 6 Howley, P.; Knipe, D. *Fields Virology* **2013**.
- 7 Hernández, D.; Boto, A. Nucleoside Analogues: Synthesis and Biological Properties of Azanucleoside Derivatives. *European J. Org. Chem.* **2014**, *11*, 2201–2220.
- 8 De Clercq, E.; Li, G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29*, 695–747.
- 9 Le Gall, A.; Albina, E.; Magar, R.; Gauthier, J. P. Antigenic Variability of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) Virus Isolates. Influence of Virus Passage in Pig. *Vet. Res.* **1997**, *28* , 247–257.

- 10** Gómez-Archila, L. G.; Rugeles, M. T.; Zapata, W. Actividad Antiviral de Compuestos Aislados de Esponjas Marinas. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* **2014**, *49*, 401–412.
- 11** Ahmad, A.; Davies, J.; Randall, S.; Skinner, G. R. B. Antiviral Properties of Extract of *Opuntia Streptacantha*. *Antiviral Res.* **1996**, *30*, 75–85.
- 12** De Clercq, E.; Li, G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. *Clin. Microbiol. Rev.* **2016**, *29*, 695–747.
- 13** a) Laurence, B. L. *Las Bases de La Farmacología Terapéutica*, MCGRAW-HILL, **2019**, 1105-1113. b) Laurence, B. L. *Las Bases de La Farmacología Terapéutica*, MCGRAW-HILL, **2019**, 1137-1157.
- 14** Seley-Radtke, K. L.; Yates, M. K. The Evolution of Nucleoside Analogue Antivirals: A Review for Chemists and Non-Chemists. Part 1: Early Structural Modifications to the Nucleoside Scaffold. *Antiviral Res.* **2018**, *154*, 66–86.
- 15** El Bissati, K.; Zufferey, R.; Witola, W. H.; Carter, N. S.; Ullman, B.; Ben Mamoun, C. The Plasma Membrane Permease PfNT1 Is Essential for Purine Salvage in the Human Malaria Parasite *Plasmodium Falciparum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 9286–9291.
- 16** Zhou, D.; Lagoja, I. M.; Van Aerschot, A.; Herdewijn, P. Synthesis of Aminopropyl Phosphonate Nucleosides with Purine and Pyrimidine Bases. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2006**, *71*, 15-34.
- 17** Chiacchio, U.; Borrello, L.; Crispino, L.; Rescifina, A.; Merino, P.; Macchi, B.; Balestrieri, E.; Mastino, A.; Piperno, A.; Romeo, G. Stereoselective Synthesis and Biological Evaluations of Novel 3'-Deoxy-4'-Azaribonucleosides as Inhibitors of Hepatitis C Virus RNA Replication. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 4054–4057.

- 18** Salunke, R. V.; Mishra, P. K.; Sanghvi, Y. S.; Ramesh, N. G. Synthesis of Novel Homoazannucleosides and Their Peptidyl Analogs. *Org. Biomol. Chem.* **2020**, *18*, 5639–5651.
- 19** Al-Mulla, A. A Review: Biological Importance of Heterocyclic Compounds. *Der Pharma Chem.* **2017**, *9*, 141–147.
- 20** Kuznetsov, M. L. Theoretical Studies on [3+2]-Cycloaddition Reactions. *Russ. Chem. Rev.* **2006**, *75*, 935–960.
- 21** Cossío, F. P.; Morao, I.; Jiao, H.; Von Ragué Schleyer, P. In-Plane Aromaticity in 1,3-Dipolar Cycloadditions. Solvent Effects, Selectivity, and Nucleus-Independent Chemical Shifts. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6737–6746.
- 22** Palazzolo, M. A.; Nigro, M. J.; Iribarren, A. M.; Lewkowicz, E. S. A Chemoenzymatic Route to Prepare Acyclic Nucleoside Analogues. *European J. Org. Chem.* **2016**, *2016*, 921–924.
- 23** Martinez, A. P.; Lee, W. W. An Improved Synthesis of Willardiine and L-(2',2'-Diethoxyethyl) Uracil. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 317–318.
- 24** Frieden, M.; Giraud, M.; Reese, C. B.; Song, Q. Synthesis of 1-[cis-3-(hydroxymethyl)cyclobutyl]-uracil, -thymine and -cytosine **1998**, *1*, 2827–2832.
- 25** Bessières, M.; Sari, O.; Roy, V.; Warszycki, D.; Bojarski, A. J.; Nolan, S. P.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Schinazi, R. F.; Agrofoglio, L. A. Sonication-Assisted Synthesis of (E)-2-Methylbut-2-Enyl Nucleoside Phosphonate Prodrugs. *ChemistrySelect* **2016**, *1*, 3108–3113.
- 26** Meanwell, M.; Silverman, S. M.; Lehmann, J.; Adluri, B.; Wang, Y.; Cohen, R.; Campeau, L. C.; Britton, R. A Short de Novo Synthesis of Nucleoside Analogs. *Science* **2020**, *369*, 725–730.

**27** Nigro, M. J.; Brardinelli, J. I.; Lewkowicz, E. S.; Iribarren, A. M.; Laurella, S. L. Aldehyde-Hydrate Equilibrium in Nucleobase 2-Oxoethyl Derivatives: An NMR, ESI-MS and Theoretical Study. *J. Mol. Struct.* **2017**, *1144*, 49–57.

**28** Conde, E.; Rivilla, I.; Larumbe, A.; Cossío, F. P. Enantiodivergent Synthesis of Bis-Spiropyrrolidines via Sequential Interrupted and Completed (3 + 2) Cycloadditions. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 11762.