

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS 1,3-OXAZOLINAS y
OXAZOLES: DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTITUBERCULOSA
Y CITOTÓXICA *IN VITRO***

POR

QFB SAÚL ALEJANDRO AGUIRRE RENTERÍA

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN
FARMACIA**

Agosto, 2019

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS 1,3-OXAZOLINAS Y
OXAZOLES: DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTITUBERCULOSA Y
CITOTÓXICA *IN VITRO***

Aprobación de la Tesis:

Dr. Francisco Guadalupe Avalos Alanís
Director de Tesis

Dr. Edgar Abraham García Zepeda
Comité Tutorial

Dra. María del Rosario González González
Comité Tutorial

Dra. Susana Thelma López Cortina
Comité Tutorial

Dra. Ma. Araceli Hernández Ramírez
Subdirectora de Estudios de Posgrado

RESUMEN

Saúl Alejandro Aguirre Rentería
Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Ciencias Químicas

Título del estudio: **SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NUEVAS 1,3-OXAZOLINAS Y OXAZOLES: DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTITUBERCULOSA Y CITOTÓXICA *IN VITRO***

Candidato para el grado de Maestría en Ciencias
con Orientación en Farmacia

Área de estudio: Farmacia

Propósito y método de estudio: La síntesis orgánica es un proceso esencial en el descubrimiento de nuevos fármacos que puedan ser empleados como terapias de distintas enfermedades, por tal motivo el presente estudio presenta la síntesis y la caracterización de nuevas 1,3-oxazolininas y oxazoles y su evaluación antituberculosa y citotóxica *in vitro* bajo la técnica de Alamar Azul y WST-1 (sales solubles de tetrazolio) respectivamente.

Contribuciones y conclusiones: Se llevó a cabo la síntesis de 4 oxazoles, 4 oxazolininas, 4 acrilamidas, 4 acrilatos y 3 anhídridos de DCC (*N,N'*-diciclohexilcarbodiimida) a partir del aminoácido L-serina y análogos de ácidos cinámicos *p*-sustituidos, formados mediante la reacción Horner Wadsworth Emmons en un sistema de sonicación, hidrólisis básica en rendimientos moderados a buenos, siendo esta una alternativa a su síntesis convencional.

Estos compuestos fueron evaluados ante la cepa de *M. tuberculosis* H37Rv y G122, donde las oxazolininas y oxazoles presentaron una alta actividad antifúngica con CMI de 0.7812-25 µg/ml, además de que estas últimas presentaron buena viabilidad celular (>96%) ante la línea celular de crecimiento normal VERO.

Firma del asesor: _____
Dr. Francisco G. Avalos Alanís

DEDICATORIA

Para mi familia

Para mi mundo (E.L.C.G).

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Gran Arquitecto del Universo, porque siempre me ha mostrado que todas las cosas tienen un por qué.

Agradezco enteramente a mi familia, tanto a mis padres como a mis hermanos, por siempre apoyarme en todo momento y bajo todas circunstancias, enseñándome que las decisiones que tomamos no son buenas ni malas, solo son decisiones con sus respectivas consecuencias y que siempre todo hay que hacerlo bien.

Agradezco al Dr. Francisco Avalos por su infinita paciencia, por todos los conocimientos compartidos, todo el tiempo dedicado y por abrirme las puertas a su equipo de investigación brindándome su confianza.

Agradezco a mi comité tutorial el Dr. Abraham, la Dra. Susana y la Dra. Rosario por sus puntuales observaciones que ayudaron al enriquecimiento de este proyecto.

Agradezco a la Dra. Rayito por sus conocimientos y su paciencia, así como por gran apoyo en el desarrollo de este proyecto en la parte analítica con RMN, EM-MS y la parte biológica con TB.

Agradezco al Dr. Eder por permitirme entrar al Laboratorio de INGEN y ahí desarrollar la parte de viabilidad celular. De igual manera agradezco a todas las grandes personas de ese laboratorio: Ely, Rorro, Jorge, Sonia, Evelyn, Dra. Moni.

Agradezco a mis compañeros de QPNS y posgrado por todas las experiencias vividas y conocimientos compartidos: Lolis, Juan, Gloria, Ana Laura, Jessé, Martha, Tere, Memo, Deyani, Tomasso, Fernando.

Agradezco nuevamente al MC Guillermo Núñez Mojica por su capacitación en el manejo de micobacterias e interpretación de resultados en la técnica de Alamar Azul en el Hospital Universitario UANL.

De igual manera agradezco al MC Juan José de Jesús Carrizales por su capacitación y apoyo en la obtención de resultados en la parte de cultivo y viabilidad celular.

Agradezco especialmente a Rafa, Alex y a Jorge ya que sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

Agradezco de manera muy especial a Erika, que sin su apoyo, consejos y conocimiento nada de esto hubiera sido posible, ni hubiera sucedido de la misma alegría con que la fue. Es una dicha habernos encontrado.

Agradezco a mis amigos que, aunque todos juntos no nos vemos sé que siempre están ahí. Todos somos un gremio.

Agradezco a CONACYT por la beca otorgada.

Esperando no olvidar a nadie, y si fuera así, me disculpo de antemano, agradezco también a todas aquellas personas que, de una u otra manera en lo laboral, académico o personal, participaron en la elaboración de este documento.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Tuberculosis.....	1
1.1.1 Problemática actual.....	1
1.1.2 Tratamiento.....	2
1.1.3 Multifármacorresistencia.....	3
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1 Oxazolinas y oxazoles.....	6
2.2 Oxazolinas.....	7
2.3 Oxazoles.....	11
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	15
3.1 Hipótesis.....	15
3.2 Objetivo General.....	15
3.3 Objetivos Específicos.....	15
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
4.1 Material y equipo.....	16
4.1.1 Síntesis de compuestos.....	16
4.1.2 Evaluación biológica.....	17
4.1.3 Manejo y disposición de residuos generados.....	18
4.2 Metodología sintética.....	18
4.2.1 Preparación de clorhidrato de (S)-2-amino-3-hidroxiopropanoato de metilo.....	20
4.2.2 Preparación de (E)-3-(4'-metoxifenil)acrilato de etilo.....	20
4.2.3 Preparación de (E)-3-(4-metilfenil)acrilato de etilo.....	21
4.2.4 Preparación de (E)-3-(4-fluorfenil)acrilato de etilo.....	22
4.2.5 Preparación de ácido (E)-3-(4-metoxifenil)acrílico.....	23

4.2.6 Preparación de ácido (<i>E</i>)-3-(4-metilfenil) acrílico	24
4.2.7 Preparación de ácido (<i>E</i>)-3-(4-fluorfenil)acrílico.....	24
4.2.8 Preparación de (<i>E</i>)-(3-(4-metoxifenil)acriloil)- <i>L</i> -serinato de metilo	25
4.2.9 Preparación de (<i>E</i>)-(3-(4-toluil)acriloil)- <i>L</i> -serinato de metilo.....	27
4.2.10 Preparación de (<i>E</i>)-(3-(4-fluorfenil)acriloil)- <i>L</i> -serinato de metilo.....	30
4.2.11 Preparación de cinamoil- <i>L</i> -serinato de metilo.	33
4.2.12 Preparación de (<i>S,E</i>)-2-(4-metoxiestiril)-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.	36
4.2.13 Preparación de (<i>S,E</i>)-2-(4-metilestiril)-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.	37
4.2.14 Preparación de (<i>S,E</i>)-2-(4-fluorestiril)-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.	38
4.2.15 Preparación de (<i>S,E</i>)-2-estiril-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.	39
4.2.16 Preparación de (<i>E</i>)-2-(4-metoxiestiril) oxazol-4-carboxilato de metilo.	40
4.2.17 Preparación de (<i>E</i>)-2-(4-metilestiril) oxazol-4-carboxilato de metilo.	41
4.2.18 Preparación de (<i>E</i>)-2-(4-fluorestiril) oxazol-4-carboxilato de metilo..	42
4.2.19 Preparación de (<i>E</i>)-2-estirioxazol-4-carboxilato de metilo.	43
4.3 Evaluaciones Biológicas.....	44
4.3.1 Evaluación de la Actividad Antituberculosa	44
4.3.2 Actividad Citotóxica	46
5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
5.1 Preparación del éster metílico de <i>L</i> -serina.	48
5.2 Preparación del sistema insaturado mediante la reacción Horner-Wadsworth-Emmons	48
5.2.1 Elucidación estructural de acrilato 5a.	49
5.2.2 Elucidación estructural de acrilato 5b.	51
5.2.3 Elucidación estructural de acrilato 5c.	55
5.3 Preparación de análogos de ácidos cinámicos mediante hidrólisis básica.....	56
5.3.1 Elucidación estructural de análogo de ácido cinámico 6a.....	57
5.3.2 Elucidación estructural de análogo de ácido cinámico 6b.....	58
5.3.3 Elucidación estructural de análogo de ácido cinámico 6c.	62

5.4 Preparación de acrilamidas 7a-d.....	63
5.4.1 Elucidación estructural de acrilamida de 7a.....	66
5.4.2 Elucidación estructural de acrilamida de 7b.....	67
5.4.3 Elucidación estructural de acrilamida de 7c.....	71
5.4.4 Elucidación estructural de acrilamida de 7d.....	72
5.4.5 Elucidación estructural del acrilato 8a.	73
5.4.6 Elucidación estructural del acrilato 8b.	75
5.4.7 Elucidación estructural del acrilato 8c.....	80
5.4.8 Elucidación estructural de 8d.....	82
5.4.9 Elucidación estructural del anhídrido 9b.	83
5.4.10 Elucidación estructural del anhídrido 9c.....	87
5.4.11 Elucidación estructural del anhídrido 9d.	88
5.5 Preparación de oxazolinas	89
5.5.1 Elucidación estructural de oxazolina de 10a.....	90
5.5.2 Elucidación estructural de oxazolina de 10b.....	92
5.5.3 Elucidación estructural de oxazolina de 10c.	97
5.5.4 Elucidación estructural de oxazolina 10d.....	98
5.6 Preparación de oxazoles	99
5.6.1 Elucidación estructural de oxazol 11a.	100
5.6.2 Elucidación estructural de oxazol 11b.	102
5.6.3 Elucidación estructural de oxazol 11c.....	106
5.6.4 Elucidación estructural de oxazol 11d.	107
5.7 Evaluación de la actividad antituberculosa mediante la técnica de MABA.....	108
5.8 Evaluación de la actividad citotóxica <i>in vitro</i> mediante la técnica WST-1	115
6. CONCLUSIONES	119
REFERENCIAS	121
APENDICE	123
APENDICE A:	123
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR	123

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Fármacos empleados para el tratamiento de TB.	2
Tabla 2. Actividad antituberculosa de compuestos derivados de ND-005859.....	9
Tabla 3. Actividad antituberculosa de oxazolinas derivadas de L-fenilalanina. ...	9
Tabla 4. Actividad antituberculosa de oxazolinas α,β -insaturadas.....	10
Tabla 5. Actividad antituberculosa de derivados de ácidos cinámicos.	11
Tabla 6. Comparativa de oxazolinas y oxazoles respecto a su CMI.	13
Tabla 7. Estructura de oxazoles sintetizados por Li y colaboradores.....	14
Tabla 8. Actividad antituberculosa de oxazoles sintetizados por Li y colaboradores.....	14
Tabla 9. Rendimientos empleando los distintos benzaldehídos.....	49
Tabla 10. Rendimientos de análogos de ácidos cinámicos.....	57
Tabla 11. Comparación de rendimientos con diferente relación de ácidos cinámicos.....	66
Tabla 12. Resultados de la actividad antimicobacteriana mediante MABA.	110
Tabla 13. Porcentaje de viabilidad mediante WST-1.	115

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Oxazolina y oxazol.....	6
Figura 2. Annulonina y Bengazol A, oxazoles provenientes de plantas.....	7
Figura 3. Metodologías para la síntesis de oxazolinas.....	8
Figura 4. Compuesto ND-005859.....	8
Figura 5. Molécula empleada por De Souza y colaboradores.....	9
Figura 6. Oxazolinas α,β -insaturadas.....	10
Figura 7. Derivados de ácidos cinámicos como agentes antituberculosos.....	11
Figura 8. Síntesis selectiva de oxazolinas y oxazoles mediada por catalizadores.....	12
Figura 9. Síntesis de oxazolinas y oxazoles a partir de β -hidroxiamidas.....	13
Figura 10. Síntesis de oxazoles a partir de oxazolinas.....	13
Figura 11. Análogos de oxazoles sintetizados por Li y colaboradores.....	14
Figura 12. Síntesis de análogos de ácido cinámico.....	19
Figura 13. Síntesis de oxazolinas y oxazoles α,β -insaturados.....	19
Figura 14. Preparación del éster del aminoácido.....	48
Figura 15. Preparación de acrilato 5a-d mediante HWE.....	49
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H para el acrilato 5b.....	53
Figura 17. Espectro de RMN de ^{13}C para el acrilato 5b.....	54
Figura 18. Preparación de análogos de ácidos cinámico.....	56
Figura 19. Espectro de RMN de ^1H para el ácido 6b.....	60
Figura 20. Espectro de RMN de ^{13}C para el ácido 6b.....	61
Figura 21. Síntesis de acrilamidas a partir de L-serina y ácidos cinámicos.....	63
Figura 22. Subproductos obtenidos de la formación de acrilamidas.....	64
Figura 23. Mecanismo de esterificación de Steglich.....	65
Figura 24. Espectro de RMN de ^1H para acrilamida 7b.....	69
Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C para acrilamida 7b.....	70
Figura 26. Espectro de RMN de ^1H para el acrilato 8b.....	78
Figura 27. Espectro de RMN de ^{13}C para el acrilato 8b.....	79
Figura 28. Espectro de RMN de ^1H para el anhídrido 9b.....	85
Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C para el anhídrido 9b.....	86
Figura 30. Síntesis de oxazolinas a partir de acrilamidas.....	89
Figura 31. Imagen ORTEP de la estructura de rayos X de la oxazolina 10b.....	93
Figura 32. Espectro de RMN de ^1H para la oxazolina 10b.....	94
Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C para la oxazolina 10b.....	95
Figura 34. Comparativa de HMBC de acrilamida 7b y oxazolina 10b.....	96
Figura 35. Preparación de oxazoles a partir de acrilamidas.....	100
Figura 36. Espectro de RMN de ^1H para oxazol 11b.....	104
Figura 37. Espectro de RMN de ^{13}C para oxazol 11b.....	105
Figura 38. Moléculas y controles evaluados en ensayos biológicos.....	109

ABREVIATURAS

°C	Grados Centígrados
AcOEt	Acetato de Etilo
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
DAST	Trifloruro de dietilaminosulfuro
DBU	1,8-diazabicyclo(5.4.0)undec-7-eno
DCC	<i>N, N'</i> -diciclocarbodimida
DMAP	Dimetilaminopiridina
DMSO	Dimetilsulfóxido
E	Etambutol
EM-AR	Espectrometría de Masas de Alta Resolución
EMEM	Medio Esencial Mínimo de Eagle's
Eq	Equivalente
ESI+	Ionización por Electrospray
Et ₃ N	Trietilamina
g	Gramos
GAS	Sales de Glicerol Alanina
GAST	Sales de Glicerol Alanina con Tween 80

HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons
I	Isoniacida
IC ₅₀	Concentración Inhibitoria 50
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
<i>J</i>	Constante de Acoplamiento
<i>M. tuberculosis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MABA	Ensayo de Alamar Azul en Microplaca
MDR-TB	Tuberculosis Multifármacoresistente
MeOH	Metanol
MHz	Mega Hertz
µg	Microgramo
µM	Micromolar
mL	Mililitro
NOESY	Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy
OADC	Ácido Oleico, Albúmina, Dextrosa y Catalasa
OMS	Organización Mundial de la Salud

ORTEP	Oak Ridge Thermal Ellipsoid Plot
p.f.	Punto de Fusión
PBS	Buffer de Fosfatos
PDR-TB	Tuberculosis Polirresistente a los Medicamentos
ppm	Partes por Millón
Pz	Pirazinamida
QNPS	Laboratorio de Química de Productos Naturales y Sintéticos
R	Rifampicina
R _f	Factor de Retención
RMN ¹³ C	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono
RMN ¹⁹ F	Resonancia Magnética Nuclear de Flúor
RMN ¹ H	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
RR-TB	Tuberculosis Resistente a Rifampicina
S	Streptomina
SAR	Relación Estructura Actividad
TB	Tuberculosis
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano

UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
WST-1	Water Salts of Tetrazolium 1
XDR-TB	Tuberculosis de Fármaco Resistencia Extensiva

CAPITULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Tuberculosis

1.1.1 Problemática actual

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, la cual se presenta de forma pulmonar en la mayoría de los casos. Esta es propagada cuando las personas enfermas con TB pulmonar expelen bacterias en el aire al toser¹. La mayoría de las personas expuestas a *M. tuberculosis* montan una vigorosa respuesta inmune mediada por células que arrestan el proceso de infección, limitándolo al sitio inicial de invasión (Complejo de Ghon). Sin embargo, la eliminación completa del patógeno es lenta y difícil de alcanzar².

Se estima que cerca del 23% de la población mundial presenta de forma latente la TB, teniendo el riesgo de desarrollar la enfermedad activa durante su vida.

Sin embargo, la probabilidad de desarrollar la enfermedad de TB es más alta en personas infectadas con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) debido a que se encuentran inmunosuprimidos y la TB participa como una infección oportunista. En 2017 hubo un estimado de 10 millones de nuevos casos de TB a nivel mundial, de los cuales 5.8 millones fueron hombres, 3.2 millones mujeres y 1 millón niños, siendo de estos el 90% adultos mayores de 15 años y 9%

personas con VIH. En este mismo año se reportaron 1.3 millones de muertes VIH negativo y 300,000 muertes VIH positivo, manteniéndose dentro de las 10 principales causas de mortalidad a nivel mundial¹.

1.1.2 Tratamiento

El tratamiento de la TB inicial o nunca tratada es de aproximadamente 6 meses de duración: 2 meses con rifampicina, isoniacida, pirazinamida y etambutol (primera línea de medicamentos o Grupo 1), seguidos de 4 meses con rifampicina e isoniacida que se pueden alargar de 7 a 10 meses. Este régimen terapéutico reúne las condiciones para curar el 95% de los pacientes y ocasionar menos del 5% de intolerancias graves que obliguen a su modificación^{1,3}. La segunda línea de medicamentos ante la TB la conforman los agentes inyectables del Grupo 2, fluoroquinolonas del Grupo 3, agentes bacteriostáticos del Grupo 4 y el Grupo 5 (**Tabla 1**). Este último grupo de medicamentos rara vez es usado en el esquema de tratamiento pues usualmente se usa una combinación entre los fármacos de los Grupos 1, 2 y 3⁴.

Tabla 1. Fármacos empleados para el tratamiento de TB⁴.

Grupos	Medicamentos
Grupo 1 – Agentes orales de primera línea	Isoniacida, rifampicina, etambutol, pirazinamida
Grupo 2 – Agentes inyectables	Amikacina, kanamicina, capreomicina
Grupo 3 – Fluoroquinolonas	Ofloxacina, moxifloxacina, levofloxacina
Grupo 4 – Agentes orales bacteriostáticos	Etionamida, protionamida, cicloserina
Grupo 5 – Agentes con eficacia poco clara	Clofazimina, linezolid, claritromicina, imipenem

Por ser un régimen de tratamiento prolongado, los efectos adversos más frecuentes son la intolerancia digestiva y toxicidad hepática y cutánea, causado principalmente por isoniacida, rifampicina y pirazinamida. La toxicidad leve se presenta con el aumento de las transaminasas y la fosfatasa alcalina, mismos que suelen normalizarse sin modificar el tratamiento. Sin embargo, en la toxicidad grave debe retirarse toda la medicación durante una semana o sustituirlo con fármacos no hepatotóxicos³.

Los pacientes que deben recibir tratamiento antirretroviral y antituberculoso de forma concomitante suponen una situación especial por las interacciones de la rifampicina y los fármacos antirretrovirales. La rifampicina es un potente inductor del citocromo P450 y acelera el metabolismo de muchos de los fármacos antirretrovirales, disminuyendo significativamente los valores plasmáticos de los mismos. Por este motivo, la rifampicina no puede coadministrarse con los inhibidores de la proteasa (excepto ritonavir)³.

1.1.3 Multifármacorresistencia

A pesar del progreso hacia nuevos fármacos, vacunas y diagnósticos, la investigación y desarrollo continúa siendo insuficiente. La limitada eficacia y tratamientos prolongados han provocado una pobre obediencia del paciente causando TB multifármacorresistente (MDR-TB por sus siglas en inglés) y de fármaco resistencia extensiva (XDR-TB por sus siglas en inglés). La MDR-TB define a la TB resistente por lo menos a dos de los medicamentos más potentes

para tratar esta enfermedad: isoniacida y rifampicina. La XDR-TB la causan cepas de la MDR-TB que también son resistentes a los medicamentos de segunda línea, incluido por lo menos uno de la clase de las fluoroquinolonas y por lo menos uno de los tres medicamentos de segunda línea inyectables. La expresión TB totalmente resistente a los medicamentos se utiliza desde finales de 2010, cuando un grupo de pacientes en India desarrollaron resistencia a todos los medicamentos que se les administraron, sin embargo, esta no es una terminología aceptada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y estos casos se definen oficialmente como XDR-TB. Todas las formas de resistencia a más de uno de los medicamentos de primera línea y que no son ni MDR-TB ni XDR-TB, se definen como casos de TB polirresistente a los medicamentos (PDR-TB por sus siglas en inglés). En 2017 558,000 personas desarrollaron TB resistente a rifampicina (RR-TB), siendo 82% de los casos MDR-TB y de estos últimos un 8.5% fueron XDR-TB^{1,4}.

En casos con TB multirresistente no existe ningún esquema recomendado y demostrado efectivo, por lo que en la medida de lo posible el tratamiento farmacológico debe ser individualizado, guiado por antibiograma y teniendo en cuenta el historial farmacológico del paciente³.

Como se ha visto hasta el momento, debido a la alta variabilidad genética (resistencia) de *Mycobacterium tuberculosis* y a su capacidad de aparecer como agente infeccioso oportunista, los tratamientos actuales no son del todo convenientes principalmente ante las cepas catalogadas como MDR y XDR, ya que de un inicio los tratamientos son mutlifármacos, periodos prolongados y

además estos medicamentos presentan un número considerable de efectos adversos importantes como es la citotoxicidad (isoniacida) e incluyen también las interacciones medicamentosas que estos presentan.

Dados los nuevos casos emergentes de TB, el incremento de cepas MDR y XDR, el uso de medicamentos anti-TB con alto perfil riesgo/beneficio y la alta incidencia de TB asociada con infecciones de VIH, es de vital importancia aportar nuevos fármacos con potencial anti TB. Por ello, a nivel mundial, en los últimos años, múltiples grupos de investigación se han dado a la tarea de buscar nuevas estructuras químicas que presenten una alta actividad antituberculosa, pero sobre todo que estas no generen efectos adversos de consideración los cuales se presentan con el uso de fármacos actualmente en el mercado. Las moléculas tipo acrilamidas y heterociclos como las oxazolininas y los oxazoles han demostrado exhibir una excelente actividad antimicobacteriana, pero sobre todo una muy marcada citotoxicidad⁵⁻⁷.

Por tal motivo, el presente estudio presenta la síntesis y la caracterización de nuevas 1,3-oxazolininas y oxazoles y su evaluación antituberculosa y citotóxica *in vitro* bajo la técnica de Alamar Azul y WST-1 respectivamente.

CAPÍTULO 2

2. ANTECEDENTES

2.1 Oxazolinas y oxazoles

Las oxazolinas y oxazoles (**Figura 1**) son compuestos heterocíclicos de cinco miembros que contienen oxígeno y nitrógeno presentando una y dos insaturaciones respectivamente. Para las oxazolinas el doble enlace puede estar localizado en una de las tres posiciones del heterociclo, dando la posibilidad de tres diferentes anillos en base a su acomodo, existiendo como 2-oxazolinas, 3-oxazolinas y 4-oxazolinas. El hidrógeno localizado en el carbono de un grupo alquilo en la posición 2 es activo, mientras que el nitrógeno de la oxazolina es básico y forma sales con ácidos y compuestos cuaternarios con haluros de alquilo. Además, el anillo 2-oxazolina tiene dos sitios en la posición 4 y dos en la posición 5 donde grupos reactivos pueden ser localizados.

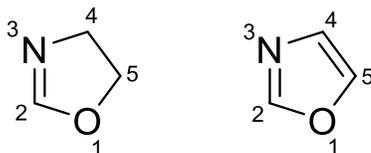


Figura 1. Oxazolina y oxazol.

Los oxazoles presentan una estructura similar a las oxazolinas con la excepción de estar doblemente insaturadas en el anillo de cinco miembros como se mencionó anteriormente. Estos eran considerados raros en la naturaleza hasta que a partir de 1980 han sido encontrados en diversas plantas siendo metabolitos primarios y secundarios, como en *Lolium multiflorum*, una gramínea donde de las

raíces se extrajo el oxazol Annulonina, o como Bengazol A, extraído de esponjas marinas del género *Jaspis* (**Figura 2**), presentando este último actividades antifúngicas, razón por la cual estas estructuras han llamado la atención de diversos equipos de investigación para lograr su síntesis⁷⁻⁹.

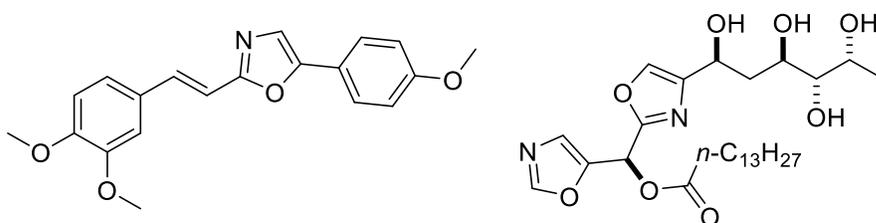


Figura 2. Annulonina y Bengazol A, oxazoles provenientes de plantas.

2.2 Oxazolinas

En los últimos años se han reportado múltiples metodologías para la obtención de oxazolinas, destacando el uso de materias primas como los ácidos carboxílicos, aldehídos, nitrilos y ésteres en reacción con aminoalcoholes, en presencia de reactivos como cloruro de tionilo (SOCl_2), tetracloruro de carbono y trifenilfosfina ($\text{CCl}_4/\text{PPh}_3$), bromato de sodio y bisulfito sódico ($\text{NaBrO}_3/\text{NaHSO}_3$), acetato de zinc ($\text{Zn}(\text{OAc})_2$)⁸.

Las 2-oxazolinas presentan muchas aplicaciones, desde químicas hasta terapéuticas, por ejemplo, son utilizadas como auxiliares quirales en síntesis asimétrica, como ligandos para atrapamiento de metales, como grupos protectores para ácidos carboxílicos y aminoalcoholes, mientras que en los efectos terapéuticos se reporta su aplicación como agentes antifúngicos, antivirales, antidiabéticos y antimicrobianos (**Figura 3**)¹⁰⁻¹³.

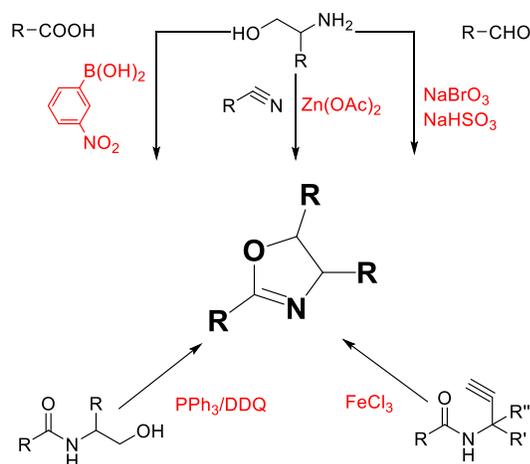


Figura 3. Metodologías para la síntesis de oxazolinas.

Uno de los grupos de investigación más importantes en esta área es el de Moraski y colaboradores (2010) quienes reportaron la relación estructura actividad (SAR) de bencil ésteres de oxazolinas y oxazoles derivadas del compuesto ND-005859 (**Figura 4**), el cual es una porción importante de la estructura de derivados de las micobactinas, demostrando que la actividad antituberculosa está influenciada por los distintos sustituyentes que se encuentren en su anillo fenílico, destacando la presencia de grupos electroattractores (F, Cl, NO₂) en posiciones 3 y 4 confiriéndoles una mayor actividad anti TB (**Tabla 2**). Los autores destacan que este tipo de moléculas presenta una baja citotoxicidad ante células VERO⁶.

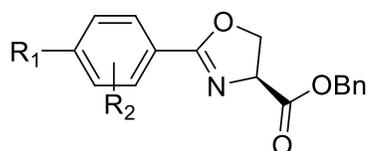


Figura 4. Compuesto ND-005859.

Tabla 2. Actividad antituberculosa de compuestos derivados de ND-005859.

Compuesto	R ₁	R ₂	GAS (μM)	GAST (μM)
A	4-OCH ₃	H	26.1	2.29
B	4-OCH ₃	3-Cl	60.7	7.58
C	4-OCH ₃	3-F	50.5	3.91
D	4-F	3-NO ₂	6.24	0.95
E	4-F	2-NO ₂	30.7	40.4

GAS: Sales de Glicerol Alanina; **GAST:** Sales de Glicerol Alanina con Tween 80

Por otro lado, De Souza y colaboradores (2014) evaluaron la actividad anti-TB de moléculas con núcleo de 2-oxazolininas (**Figura 5**) obtenidas a partir de *L*-aminoácidos (fenilalanina, etanolamina y valina). Los autores concluyen que la cadena aromática lateral hidrofóbica en el C4 del núcleo de oxazolinina es crítica para la actividad biológica. De igual manera la presencia de un grupo electroattractor (NO₂) en el anillo fenílico en el C2 lleva a la pérdida de actividad, mientras que en la posición *para* se potencia la actividad antituberculosa (**Tabla 3**). Cabe señalar que se destaca que estos compuestos presentan una muy baja citotoxicidad ante células de crecimiento normal¹⁴.

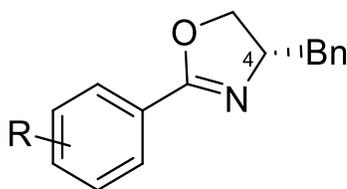


Figura 5. Molécula empleada por De Souza y colaboradores.

Tabla 3. Actividad antituberculosa de oxazolininas derivadas de *L*-fenilalanina.

Compuesto	R	CMI (μg/mL)
F	<i>p</i> -Cl	50
G	<i>p</i> -OCH ₃	25
H	<i>p</i> -NO ₂	>100

Por su parte Avalos-Alanís y colaboradores (2017) evaluaron derivados de moléculas con núcleo 2-oxazolininas (**Figura 6**) donde destacan aquellas con los sustituyentes *p*-F, *p*-Cl y *p*-OCH₃ en el anillo fenílico por su actividad antituberculosa ante la cepa sensible H37Rv (**Tabla 4**)¹⁵.

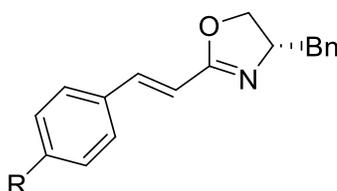


Figura 6. Oxazolininas α,β -insaturadas.

Tabla 4. Actividad antituberculosa de oxazolininas α,β -insaturadas.

Compuesto	R	CMI ($\mu\text{g/ml}$) H37Rv	CMI ($\mu\text{g/ml}$) Cepa resistente
I	<i>p</i> -F	14.2	56.9
J	<i>p</i> -OCH ₃	13.6	6.8
K	<i>p</i> -Cl	26.9	26.9

Podemos observar en la comparativa de moléculas de De Souza y de Avalos-Alanís que la molécula base de ambos es muy similar con excepción de la doble ligadura agregada entre los anillos, la cual aporta distancia entre el fenilo y la oxazolinina, planaridad a la molécula y una configuración definida (*trans*). La presencia de esta insaturación nos hace suponer que le otorga una mayor actividad antituberculosa, observada en la CMI donde comparten el sustituyente *p*-OCH₃ y *p*-Cl.

Al respecto, Prithwiraj y colaboradores (2011) demostraron la importancia de tener un doble enlace en configuración *trans* al realizar la síntesis de derivados de ácidos cinámicos *para* sustituidos empleados como agentes antituberculosos

(Figura 7). Los autores resaltan la disminución significativa de la concentración mínima inhibitoria de los derivados al sustituir el doble enlace por un ciclopropilo pues sugieren que este en posición *trans* podría actuar como un aceptor de Michael e inhibir enzimas presentes en *M. tuberculosis* mediante la adición a residuos de cisteína. Para comprobarlo, emplean grupos electroattractores (4-OCF₃) donde esperarían tener CMI menores que con sustituyentes alquílicos (OCH₃). Sin embargo, se observa una disminución en la actividad empleando los sustituyentes electroattractores, refutando que su mecanismo sea mediante adición de Michael pero resaltando la importancia de la presencia del doble enlace a comparación del ciclopropilo (Tabla 5)¹⁶.

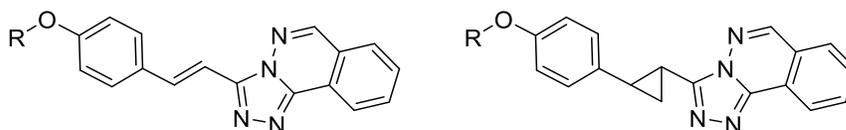


Figura 7. Derivados de ácidos cinámicos como agentes antituberculosos.

Tabla 5. Actividad antituberculosa de derivados de ácidos cinámicos.

Compuesto	R	CMI (μM) H37Rv	
		Insaturado	Ciclopropilo
L	CH ₃	53	395
M	CF ₃	702	170
N	CH ₃ CH ₂	39	378
O	CF ₃ CH ₂	170	1302
P	Isopentenilo	1.4	21

2.3 Oxazoles

Los oxazoles son moléculas heterocíclicas aromáticas con una estructura química muy fascinante, este tipo de compuestos inicialmente fueron

encontrados y reportados en algunos organismos marinos y terrestres⁹, mostrándose que estos compuestos eran de alto interés biológico, debido a su número amplio de actividades reportadas ya sea como unidad fundamental o como parte de macromoléculas, por ello varios autores han propuesto diversas metodologías para lograr su síntesis, como por ejemplo tenemos el trabajo de Senadi y colaboradores (2012) quienes propusieron la síntesis selectiva de oxazolininas y oxazoles a partir de la ciclación de una amida acetilénica en presencia de diferentes solventes orgánicos como 1,2-dicloroetano (DCE) y diclorometano (CH₂Cl₂) y catalizadores como yoduro de zinc (ZnI₂) y cloruro de hierro III (FeCl₃), respectivamente, obteniendo buen rendimiento para ambas moléculas (**Figura 8**)¹⁷.

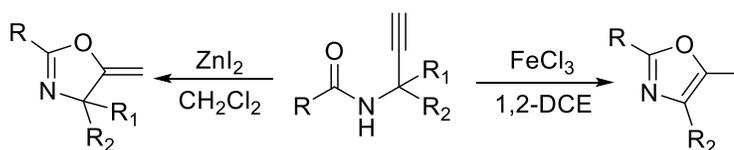


Figura 8. Síntesis selectiva de oxazolininas y oxazoles mediada por catalizadores.

Por su parte, Phillips y colaboradores en el año 2000 describieron la síntesis de oxazolininas y oxazoles a partir de β-hidroxiamidas, realizando primero una ciclodeshidratación con agentes fluorados como trifloruro de dietilaminosulfuro (DAST) y trifloruro de bis(2-metoxietil)aminosulfuro (Deoxo-Fluor®) para formar el heterociclo y posteriormente llevando a cabo una oxidación (**Figura 9**). Los autores destacan los buenos rendimientos obtenidos, los tiempos cortos para la formación de las oxazolininas así como la posibilidad de llevar a cabo en un solo

paso la reacción al formar el producto oxidado en lugar de realizarlo en dos etapas¹⁸.

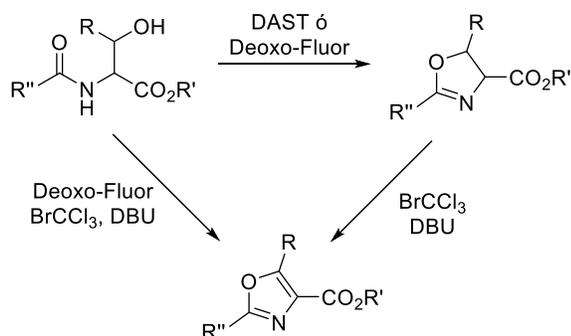


Figura 9. Síntesis de oxazolinas y oxazoles a partir de β-hidroxiamidas.

Moraski y colaboradores (2010) empleando bromotriclorometano (BrCCl₃) y 1,8-diazabicyclo(5.4.0)undec-7-eno (DBU) sintetizan oxazoles a partir de oxazolinas (**Figura 10**), realizando una comparativa de la concentración mínima inhibitoria antituberculosa de ambos heterociclos, destacando que los análogos oxidados muestran una mayor actividad (**Tabla 6**)⁶.

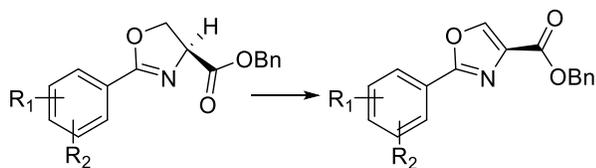


Figura 10. Síntesis de oxazoles a partir de oxazolinas.

Tabla 6. Comparativa de oxazolinas y oxazoles respecto a su CMI.

Compuesto	R ₁	R ₂	GAS (μM)	GAST (μM)
Oxazolinas	4-OMe	H	26.1	2.29
	4-OMe	3-Cl	60.7	7.58
Oxazoles	4-OMe	3-Cl	3.87	2.35
	4-OMe	H	3.49	1.72

GAS: Sales de Glicerol Alanina; **GAST:** Sales de Glicerol Alanina con Tween 80

Li y colaboradores (2015), sintetizaron análogos de oxazoles (**Figura 11**) y los evaluaron ante cepas de *M. tuberculosis* H37Rv, MDR-TB y XDR-TB, encontrando que estos compuestos son altamente eficaces al tener concentraciones mínimas inhibitorias comparadas con etambutol y estreptomycin, y mejores que rifampicina en las cepas multifármaco resistentes. También se resalta la importancia de que los heteroátomos del oxazol se encuentren en posición 1,3 en el anillo, pues una modificación o sustitución de estos conduce a una baja actividad (**Tablas 7 y 8**)¹⁹.

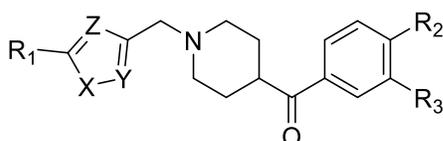


Figura 11. Análogos de oxazoles sintetizados por Li y colaboradores.

Tabla 7. Estructura de oxazoles sintetizados por Li y colaboradores.

Compuesto	R ₁	R ₂ , R ₃	X	Y	Z
Q	<i>p</i> -F-fenil	-OCH ₂ CH ₂ O-	O	C	N
R	<i>p</i> -Cl-fenil	-OCH ₂ CH ₂ O-	O	C	N
S	<i>p</i> -F-fenil	-OCH ₂ CH ₂ O-	O	N	C
T	<i>p</i> -Cl-fenil	-OCH ₂ CH ₂ O-	S	C	N

Tabla 8. Actividad antituberculosa de oxazoles sintetizados por Li y colaboradores.

Compuesto	CMI (µg/ml) H37Rv	CMI (µg/ml) MDR-TB	CMI (µg/ml) XDR-TB
Q	8	8	8
R	2	8	4
S	>128	>128	>128
T	>128	>128	>128
Rifampicina	<0.5	>256	>256
Estreptomycin	<0.5	<0.5	64
Etambutol	<0.5	1	8

CAPÍTULO 3

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Hipótesis

Los derivados de 1,3-oxazolininas y oxazoles presentan una mayor actividad antituberculosa *in vitro* y una menor citotoxicidad en comparación con los fármacos rifampicina y etambutol (cepa H37Rv) y levofloxacino (cepa MDR).

3.2 Objetivo General

Síntesis y caracterización de oxazolininas y oxazoles y su evaluación biológica ante *M. tuberculosis*, citotoxicidad ante línea celular VERO *in vitro*.

3.3 Objetivos Específicos

1. Síntesis de oxazolininas y oxazoles a partir de L-serina y análogos de ácido cinámico.
2. Caracterización de los compuestos sintetizados.
3. Evaluación del efecto antituberculoso en cepa sensible H37Rv y cepa resistente G122.
4. Evaluación del efecto citotóxico en línea celular VERO.

CAPÍTULO 4

4.MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Material y equipo

4.1.1 Síntesis de compuestos

La parte experimental correspondiente a la síntesis orgánica fue llevada a cabo en el Laboratorio de Química de Productos Naturales y Sintéticos (QPNS) ubicado en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL.

El material de vidrio, planchas de agitación y calentamiento, jeringas, agujas y tapones fueron correctamente lavados sin requerir algún requerimiento en especial. Todas las materias primas utilizadas fueron adquiridas en Sigma-Aldrich por diversos distribuidores de materiales y reactivos. Todos los solventes empleados en reacciones fueron de grado reactivo. Los puntos de fusión se determinaron en un equipo Fisher-Johns.

El curso de las reacciones se siguió por cromatografía en capa fina, empleando como fase estacionaria gel de sílice y como revelador se utilizó luz ultravioleta y vapores de yodo. La purificación de los productos obtenidos de las reacciones realizadas se llevó a cabo por cromatografía en columna utilizando sílice gel Sigma-Aldrich (60 Å) y solventes grado industrial destilados.

Los análisis de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H 400 MHz, ^{13}C 100 MHz, ^{19}F 376 MHz, NOESY, HSQC, HMBC se obtuvieron en un equipo de 400 MHz Bruker BioSpin en el Departamento de Química Analítica ubicado en la Facultad de Medicina de la UANL. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm) con respecto a la referencia interna de tetrametilsilano (TMS) para ^1H ; las constantes de acoplamiento (J) están dadas en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales se denota con las siguientes abreviaturas: **s** para indicar una señal simple, **d** para indicar una señal doble, **dd** para indicar una señal doble de dobles, **t** para indicar una señal triple, **dt** para indicar un doble de triples, **q** para indicar una señal cuádruple, **dc** para indicar una señal doble de cuartetos, **m** para indicar una señal múltiple, **a** para indicar una señal ancha, **Sistema AB**; empleando en ocasiones combinaciones de ellas. Los disolventes deuterados empleados en las determinaciones fueron CDCl_3 y CD_3OD .

La numeración presentada en la caracterización de los compuestos fue designada de manera arbitraria para la identificación de los protones y carbonos presentes en la molécula, siendo esta independiente a la numeración determinada en la nomenclatura según IUPAC.

4.1.2 Evaluación biológica

La evaluación antituberculosa fue llevada a cabo en el Departamento de Gastroenterología del Hospital Universitario de la UANL. Las placas ELISA, los

reactivos, medios, gasas, micropipetas, guantes y cubrebocas fueron proporcionados por este departamento.

La evaluación citotóxica fue llevada a cabo en el Laboratorio de Ingeniería Genética y Genómica ubicado en la División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL. Las líneas celulares, los buffers, medios de cultivo, puntillas, pipetas, canaletas, gasas y desinfectantes fueron provistos por el mismo laboratorio.

4.1.3 Manejo y disposición de residuos generados

La disposición de residuos se llevó a cabo de acuerdo con los lineamientos de la UANL y el Hospital Universitario.

4.2 Metodología sintética

Con base en antecedentes y estudios previos realizados en el grupo de investigación, se decidió realizar la siguiente ruta sintética para la obtención de oxazolinas y oxazoles partiendo de L-serina, trietilfosfonoacetato y benzaldehídos *p*-sustituidos. En el caso del R=H, el ácido cinámico se adquirió comercialmente en Sigma-Aldrich, por ende, se divide el esquema en la síntesis de los análogos del ácido (**Figura 12**) y el uso de estos en la ruta sintética empleada (**Figura 13**).

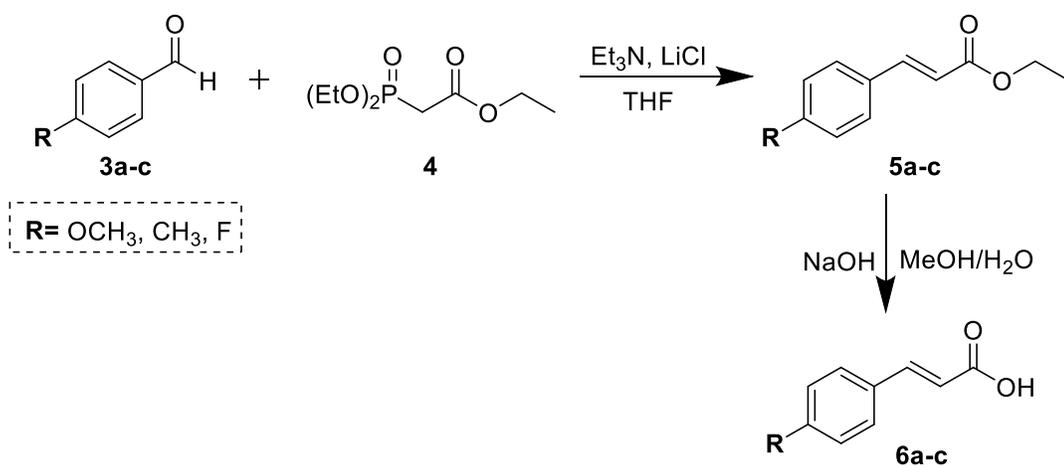


Figura 12. Síntesis de análogos de ácido cinámico.

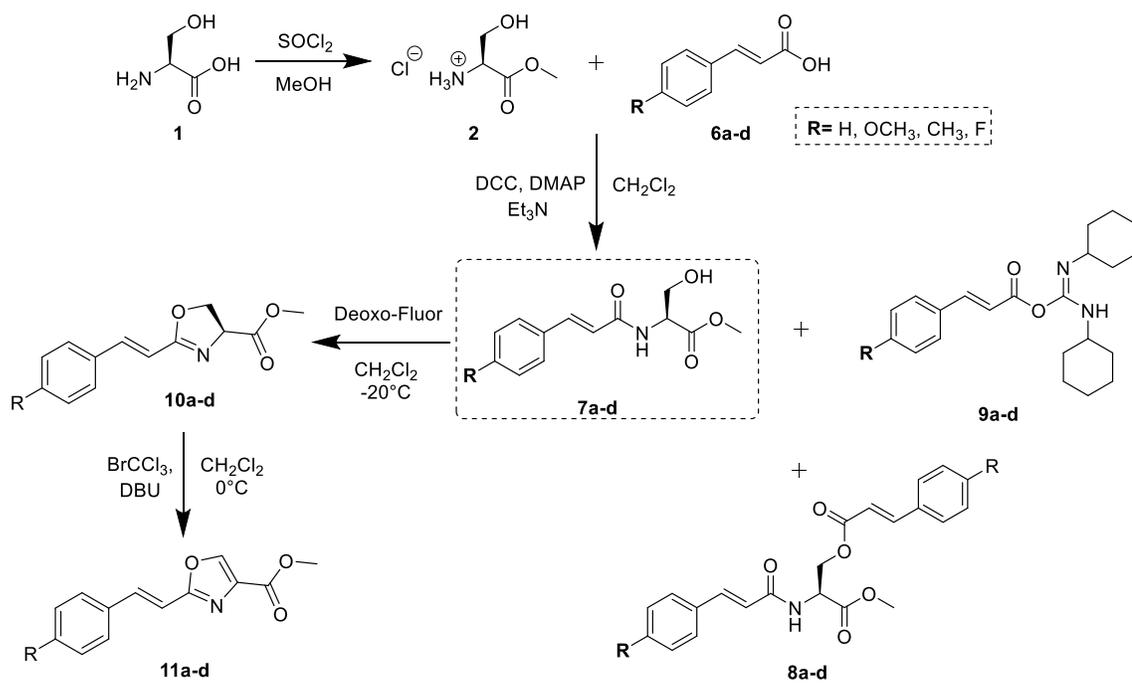
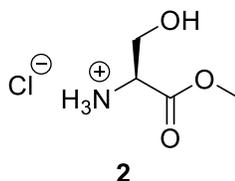


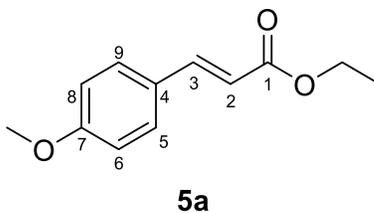
Figura 13. Síntesis de oxazolinas y oxazoles α,β -insaturados.

4.2.1 Preparación de clorhidrato de (*S*)-2-amino-3-hidroxiopropanoato de metilo



En un matraz fondo redondo de 250 ml con agitador magnético se colocaron 2 g (1.0 Eq) de L-serina y se adicionaron 50 ml de metanol grado reactivo (MeOH). Posteriormente se adicionaron 1.6567 ml (1.2 Eq) de cloruro de tionilo (SOCl₂) gota a gota. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo se llevó a cabo la evaporación al vacío del metanol observándose un sólido blanco. A este sólido se le realizaron tres lavados con 15 ml de tetrahidrofurano (THF) y se filtró al vacío, dejándose secar dentro de la campana de extracción, obteniéndose un sólido blanco, en un 99% de rendimiento y p.f. 163°C.

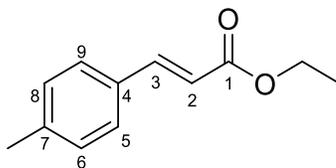
4.2.2 Preparación de (*E*)-3-(4'-metoxifenil)acrilato de etilo



En un matraz cilíndrico fondo plano de 50 ml se colocaron 20 ml de THF y se adicionaron 0.0566 g (1.2 Eq) de cloruro de litio (LiCl). En seguida se añadieron 0.2212 ml (1.0 Eq) de trietilfosfonoacetato seguido de 0.3730 ml (2.4 Eq) de

triethylamina (Et₃N) y 0.1084 ml (0.8 Eq) de *p*-anisaldehído. El matraz se sumergió en un baño de sonicación durante 40 min. Después de este tiempo se procedió a verificar el proceso de la reacción mediante cromatografía en capa fina. Se evaporó el solvente a vacío y se realizó una extracción líquido-líquido con acetato de etilo:agua (AcOEt:H₂O). La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄) y se evaporó a sequedad. Finalmente se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución Hexano:Acetato de etilo (7:3), obteniéndose un líquido viscoso amarillento, 92%, R_f: 0.67 (Hex:CH₂Cl₂:CH₃OH 65:30:5). **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, **CH₃CH₂**), 3.83 (s, 3H, **OCH₃**), 4.25 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, **CH₂CH₃**), 6.31 (d, *J*_{trans} = 16.0 Hz, 1H, H-2), 6.90 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H, H-6, H-8), 7.47 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-5, H-9), 7.64 (d, *J*_{trans} = 16.0 Hz, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 14.37 (**CH₃CH₂**), 55.36 (**OCH₃C₆H₄**), 60.33 (**CH₃CH₂**), 114.31 (C-6, C-8), 115.75 (C-2), 127.20 (C-4), 129.69 (C-5, C-9), 144.25 (C-3), 161.34 (C-7), 167.35 (C-1).

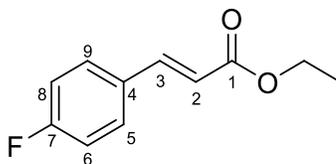
4.2.3 Preparación de (*E*)-3-(4-metilfenil)acrilato de etilo



Siguiendo el procedimiento en 4.2.2, se adicionaron en reacción 0.0566 g (1.2 Eq) de LiCl, 0.2212 ml (1.0 Eq) de trietilfosfonoacetato, 0.3730 ml (2.4 Eq) de Et₃N y 0.1051 ml (0.8 Eq) de *p*-tolualdehído, obteniéndose un líquido viscoso

transparente, 96%, R_f: 0.72 (Hex:AcOEt 8:2). **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.33 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, **CH₃CH₂**), 2.37 (s, 3H, **CH₃C₆H₄**), 4.26 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, **CH₂CH₃**), 6.39 (d, *J_{trans}* = 16.0 Hz, 1H, H-2), 7.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H-6, H-8), 7.42 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H-5, H-9), 7.66 (d, *J_{trans}* = 16.0 Hz, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 14.35 (**CH₃CH₂**), 21.47 (**CH₃C₆H₄**), 60.42 (CH₃**CH₂**), 117.19 (C-2), 128.06 (C-6, C-8), 129.62 (C-5, C-9), 131.75 (C-4), 140.63 (C-7), 144.60 (C-3), 167.21 (C-1).

4.2.4 Preparación de (*E*)-3-(4-fluorfenil)acrilato de etilo

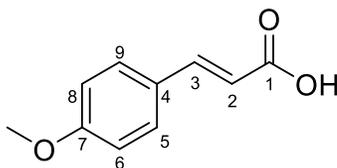


5c

Siguiendo el procedimiento en 4.2.2, se adicionaron en reacción 0.0566 g (1.2 Eq) de LiCl, 0.2212 ml (1.0 Eq) de trietilfosfonoacetato, 0.3730 ml (2.4 Eq) de Et₃N y 0.0956 ml (0.8 Eq) de *p*-fluorobenzaldehído, obteniéndose un líquido viscoso transparente, 95%, R_f: 0.65 (Hex:AcOEt 8:2). **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.34 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, **CH₃CH₂**), 4.27 (q, *J* = 7.1 Hz, 2H, **CH₂CH₃**), 6.36 (d, *J_{trans}* = 16.0 Hz, 1H, H-2), 7.08 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-6, H-8), 7.51 (dd, *J* = 8.7 Hz, 5.4 Hz, 2H, H-5, H-9), 7.65 (d, *J_{trans}* = 16.0 Hz, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 14.33 (**CH₃CH₂**), 60.57 (CH₃**CH₂**), 116.04 (d, *J* = 22.0 Hz, C-6, C-8), 118.05 (C-2), 129.91 (d, *J* = 8.6 Hz, C-5, C-9), 130.72 (d, *J* = 3.4 Hz, C-4), 143.29 (C-3),

163.87 (d, $J = 251.2$ Hz, C-7), 166.89 (C-1). **RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3):** -109.75 (s).

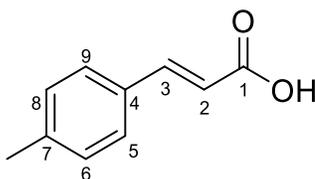
4.2.5 Preparación de ácido (*E*)-3-(4-metoxifenil)acrílico



6a

En un matraz bola fondo plano de 100 ml con agitador magnético se adicionaron 0.1127 g de hidróxido de sodio (NaOH) (2.0 Eq), 10 ml de MeOH/ H_2O en una relación 8/2 y 0.26 g (1.0 Eq) del éster **5a**. Se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas y posteriormente se llevó a pH = 2.0 con ácido clorhídrico concentrado (HCl) gota a gota. Se dejó en agitación 30 minutos más para después evaporar al vacío el MeOH y adicionar AcOEt para realizar extracciones líquido-líquido AcOEt: H_2O . La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se evaporó a sequedad obteniendo un sólido blanco. A este sólido se le realizaron tres lavados con 15 ml de hexano con una filtración al vacío, dejándose secar dentro de la campana de extracción, obteniéndose un sólido blanco, 75%, R_f: 0.17 (Hex:AcOEt 7:3). **RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD):** δ 3.85 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 6.35 (d, $J_{trans} = 15.9$ Hz, 1H, H-2), 6.97 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, H-6, H-8), 7.56 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H, H-5, H-9), 7.64 (d, $J_{trans} = 15.9$ Hz, 1H, H-3). **RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD):** δ 54.45 ($\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 114.01 (C-6, C-8), 115.18 (C-2), 127.01 (C-4), 129.51 (C-5, C-9), 144.81 (C-3), 161.70 (C-7), 169.41 (C-1).

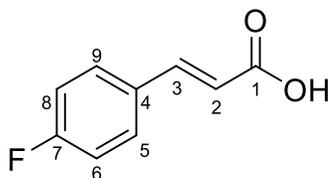
4.2.6 Preparación de ácido (*E*)-3-(4-metilfenil)acrílico



6b

Siguiendo el procedimiento en 4.2.5, se adicionaron en reacción 0.0987 g (2.0 Eq) de NaOH y 0.2347 g (1.0 Eq) del éster **5b**, obteniéndose un sólido blanco, 92%, R_f : 0.12 (Hex:AcOEt 8:2). **RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD):** δ 2.38 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 6.44 (d, $J_{trans} = 16.0$ Hz, 1H, H-2), 7.24 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H, H-6, H-8), 7.50 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H, H-5, H-9), 7.66 (d, $J_{trans} = 16.0$ Hz, 1H, H-3). **RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD):** δ 20.03 ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), 116.78 (C-2), 127.81 (C-6, C-8), 129.26 (C-5, C-9), 131.69 (C-4), 140.64 (C-7), 144.99 (C-3), 169.16 (C-1).

4.2.7 Preparación de ácido (*E*)-3-(4-fluorfenil)acrílico

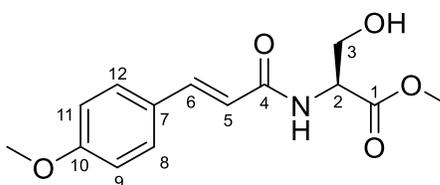


6c

Siguiendo el procedimiento en 4.2.5, se adicionaron en reacción 0.0950 g (2.0 Eq) de NaOH y 0.2306 g (1.0 Eq) del éster **5c**, obteniéndose un sólido blanco, 80%, R_f : 0.03 (Hex:AcOEt 8:2). **RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD):** δ 6.46 (d, $J_{trans} = 16.0$ Hz, 1H, H-2), 7.16 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H, H-6, H-8), 7.67 (m, 3H, H-3, H-5, H-9). **RMN ^{13}C (100 MHz, CD_3OD):** δ 115.50 (d, $J = 22.2$ Hz, C-6, C-8), 118.00 (C-2),

129.94 (d, $J = 8.6$ Hz, C-5, C-9), 130.95 (d, $J = 3.3$ Hz, C-4), 143.48 (C-3), 163.93 (d, $J = 249.4$ Hz, C-7), 168.88 (C-1).

4.2.8 Preparación de (*E*)-(3-(4-metoxifenil)acrililoil)-*L*-serinato de metilo

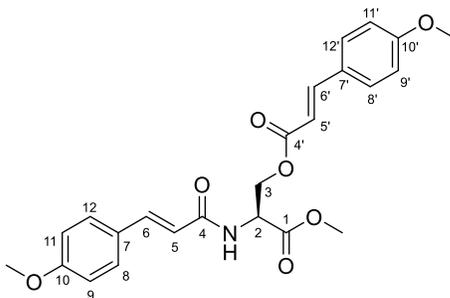


7a

En un matraz bola fondo plano de 250 ml con agitador magnético (Matraz #1) se adicionaron 0.3051 g (2.0 Eq) del compuesto **2** y 0.2743 ml (2.0 Eq) de Et₃N en 20 ml de diclorometano (CH₂Cl₂). Se dejó en agitación y reflujo a 40 °C durante 2 horas. Después de hora y media, en un matraz bola de 100 ml con agitador magnético (Matraz #2) se adicionaron 0.200 g (1.0 Eq) del compuesto **6a**, 0.2315 g (1.0 Eq) de *N, N'*-diciclocarbodimida (DCC) y 0.0274 g (0.2 Eq) de dimetilaminopiridina (DMAP) en 20 ml de CH₂Cl₂, dejándose en agitación durante 30 minutos. Cumplidas las dos horas del Matraz #1 se quitó de reflujo y el contenido del Matraz #2 se vertió a este, dejándose en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se refrigeró el matraz a 5 °C durante 1 hora y posteriormente se filtró al vacío. Se evaporó el solvente al vacío y se adicionaron 20 ml de AcOEt y agua para realizar una extracción líquido-líquido. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Finalmente se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución Hex:AcOEt (1:1), obteniéndose un sólido blanco, 82%, R_f: 0.17 (AcOEt),

p.f. 106-108 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD):** δ 3.79 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 3.85 (s, 3H, **OCH₃C₆H₄**), 3.87 (dd, *J* = 11.28 Hz, 4.16 Hz, 1H, H-3), 3.97 (dd, *J* = 11.2 Hz, 4.8 Hz, 1H, H-3), 4.67 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H, H-2), 6.63 (d, *J_{trans}* = 15.8 Hz, 1H, H-5), 6.97 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.54 (m, 3H, H-8, H-12, H-6). **RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD):** δ 51.43 (**OCH₃-C-1**), 54.44 (**OCH₃C₆H₄**), 55.01 (C-2), 61.59 (C-3), 113.96 (C-9, C-11), 117.33 (C-5), 127.39 (C-7), 129.18 (C-8, C-12), 140.92 (C-6), 161.34 (C-10), 167.59 (C-4), 171.01 (C-1). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₁₄H₁₇NO₅ [M+H]⁺: 280.1158; m/z observada: 280.1193.

4.2.8.1 Obtención de (S)-3-metoxi-2-((E)-3-(4-metoxifenil)acrilamido)-3-oxopropil-(E)-3-(4-metoxifenil)acrilato.

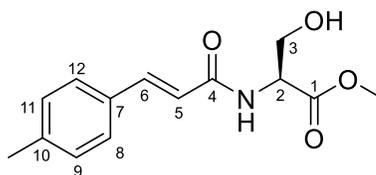


8a

Este producto fue purificado mediante cromatografía en columna obteniéndose un sólido blanco, 7%, R_f: 0.3 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 105-108 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 3.82 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 3.83 (s, 3H, **OCH₃-C-10**), 3.84 (s, 3H, **OCH₃-C-10'**), 4.55 (dd, *J* = 11.5 Hz, 3.4 Hz, 1H, H-3), 4.66 (dd, *J* = 11.4 Hz, 3.8 Hz, 1H, H-3), 5.07 (dt, *J* = 7.4 Hz, 3.5 Hz, 1H, H-2), 6.29 (d, *J_{trans}* = 15.9 Hz, 1H, H-5), 6.36 (d, *J_{trans}* = 15.6 Hz, 1H, H-5'), 6.47 (d, *J* = 7.8 Hz, 1H, **NH**), 6.90 (m, 4H, H-9, H-11, H-9', H-11'), 7.47 (m, 4H, H-8, H-12, H-8', H-12'), 7.63 (d, *J_{trans}* = 15.6 Hz, 1H, H-6'), 7.65 (d, *J_{trans}* = 15.9 Hz, 1H, H-6). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ

52.08 (**OCH₃-C-1**), 52.95 (C-2), 55.38 (**OCH₃-C-10**), 55.42 (**OCH₃-C-10'**), 64.06 (C-3), 114.28 (C-9, C-11), 114.32 (C-5), 114.39 (C-9', C-11'), 117.29 (C-5'), 126.84 (C-7), 127.30 (C-7'), 129.57 (C-8, C-12), 129.97 (C-8', C-12'), 141.89 (C-6), 145.72 (C-6'), 161.10 (C-10), 161.66 (C-10'), 165.91 (C-4), 166.94 (C-4'), 170.30 (C-1). **EM-AR (ESI+)**: m/z calculada para C₂₄H₂₅NO₇ [M+H]⁺: 440.1709; m/z observada: 440.1728.

4.2.9 Preparación de (*E*)-(3-(4-toluil)acriloil)-*L*-serinato de metilo.

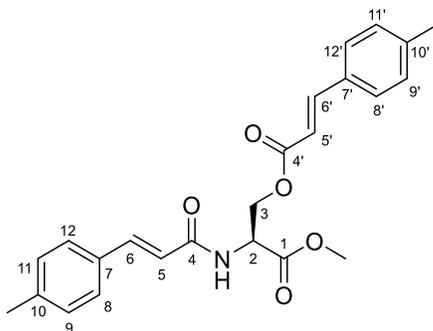


7b

Siguiendo el procedimiento en 4.2.8, se adicionaron en reacción 0.451 g (2.0 Eq) del compuesto **2**, 0.4054 ml (2.0 Eq) de Et₃N, 0.208 g (1.0 Eq) del compuesto **6b**, 0.2646 g (1.0 Eq) de DCC y 0.0313 g (0.2 Eq) de DMAP, obteniéndose un sólido blanco, 85%, R_f: 0.27 (AcOEt), p.f. 97-99 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD)**: δ 2.38 (s, 3H, **CH₃C₆H₄**), 3.79 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 3.87 (dd, *J* = 11.2 Hz, 4.2 Hz, 1H, H-3), 3.97 (dd, *J* = 11.2 Hz, 4.8 Hz, 1H, H-3), 4.68 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, H-2), 6.72 (d, *J_{trans}* = 15.8 Hz, 1H, H-5), 7.24 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.49 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H, H-8, H-12), 7.55 (d, *J_{trans}* = 15.8 Hz, 1H, H-6). **RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD)**: δ 20.00 (**CH₃C₆H₄**), 51.43 (**OCH₃-C-1**), 55.02 (C-2), 61.57 (C-3), 118.83 (C-5), 127.56 (C-9, C-11), 129.21 (C-8, C-12), 132.06 (C-7), 140.09 (C-10), 141.13 (C-

6), 167.39 (C-4), 170.96 (C-1). **EM-AR (ESI+)**: m/z calculada para C₁₄H₁₇NO₄ [M+H]⁺: 264.1236; m/z observada: 264.1239.

4.2.9.1 Obtención de (S)-3-metoxi-3-oxo-2-((E)-3-(4-toluil)acrilamido)propil-(E)-3-(p-tolil)acrilato.

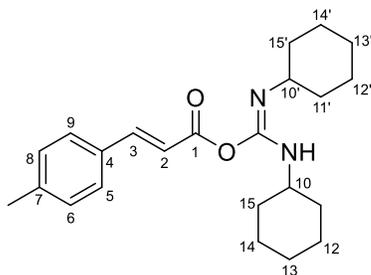


8b

Este producto fue purificado mediante cromatografía en columna obteniéndose un sólido blanco, 7%, R_f: 0.63 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 143-145 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 2.37 (s, 3H, **CH₃-C-10'**), 2.38 (s, 3H, **CH₃-C-10**), 3.82 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 4.56 (dd, *J* = 11.5 Hz, 3.4 Hz, 1H, H-3), 4.67 (dd, *J* = 11.5 Hz, 3.8 Hz, 1H, H-3), 5.07 (dt, *J* = 7.4 Hz, 3.5 Hz, 1H, H-2), 6.38 (d, *J*_{trans} = 16.0 Hz, 1H, H-5), 6.45 (d, *J*_{trans} = 15.6 Hz, 1H, H-5'), 6.49 (s, 1H, **NH**), 7.19 (t, *J* = 7.4 Hz, 4H, H-9, H-11, H-9', H-11'), 7.42 (dd, *J* = 8.1 Hz, 2.7 Hz, 4H, H-8, H-12, H-8', H-12'), 7.64 (d, *J*_{trans} = 15.6 Hz, 1H, H-6'), 7.67 (d, *J*_{trans} = 16.0 Hz, 1H, H-6). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃)**: δ 21.44 (**CH₃-C-10**), 21.51 (**CH₃-C-10'**), 52.07 (**OCH₃-C-1**), 52.96 (C-2), 64.10 (C-3), 115.78 (C-5), 118.63 (C-5'), 127.95 (C-9, C-11), 128.24 (C-9', C-11'), 129.58 (C-8, C-12), 129.68 (C-8', C-12'), 131.36 (C-7), 131.81 (C-7'), 140.30 (C-10), 141.15 (C-10'), 142.25 (C-6), 146.06 (C-6'), 165.75 (C-4), 166.77

(C-4'), 170.21 (C-1). **EM-AR (ESI+)**: m/z calculada para C₂₄H₂₅NO₅ [M+H]⁺: 408.1811; m/z observada: 408.1833.

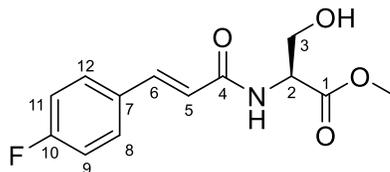
4.2.9.2 Preparación de anhídrido (*E*)-*N,N'*-diciclohexilcarbodimídico-(*E*)-3-(4-toluil) acrilato.



9b

Este producto fue purificado mediante cromatografía en columna obteniéndose un sólido blanco, 12%, R_f: 0.80 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 175-177 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 1.63 (m, 20H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-11', H-12', H-13', H-14', H-15'), 2.37 (s, 3H, CH₃C₆H₄), 3.75 (m, 1H, H-10'), 4.11 (m, 1H, H-10), 6.69 (d, *J*_{trans} = 15.4 Hz, 1H, H-2), 7.11 (s, 1H, NH), 7.18 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-6, H-8), 7.38 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H-5, H-9), 7.65 (d, *J*_{trans} = 15.4 Hz, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃)**: δ 21.47 (CH₃C₆H₄), 24.69 (C-12, C-14), 25.40 (C-12'), 25.49 (C-14'), 26.34 (C-13, C-13'), 30.98 (C-11, C-15), 32.82 (C-11', C-15'), 49.81 (C-10), 56.36 (C-10'), 118.40 (C-2), 127.69 (C-6, C-8), 129.65 (C-5, C-9), 132.00 (C-4), 140.51 (C-7), 143.57 (C-3), 154.14 (C=N) 167.20 (C-1). **EM-AR (ESI+)**: m/z calculada para C₂₃H₃₂N₂O₂ [M+H]⁺: 369.2542; m/z observada: 369.2551.

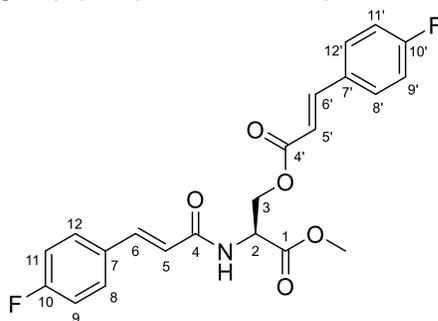
4.2.10 Preparación de (*E*)-(3-(4-fluorofenil)acriloil)-*L*-serinato de metilo.



7c

Siguiendo el procedimiento en 4.2.8, se adicionaron en reacción 0.408 g (2.0 Eq) del compuesto **2**, 0.3668 ml (2.0 Eq) de Et₃N, 0.070 g (1.0 Eq) del compuesto **6c**, 0.0869 g (1.0 Eq) de DCC y 0.0102 g (0.2 Eq) de DMAP, obteniéndose un sólido blanco, 82%, R_f: 0.22 (AcOEt), p.f. 84-86 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD):** δ 3.79 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 3.87 (dd, *J* = 11.2 Hz, 4.1 Hz, 1H, H-3), 3.97 (dd, *J* = 11.2 Hz, 4.8 Hz, 1H, H-3), 4.68 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H, H-2), 6.73 (d, *J_{trans}* = 15.8 Hz, 1H, H-5), 7.16 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.57 (d, *J_{trans}* = 15.8 Hz, 1H, H-6), 7.64 (dd, *J* = 8.8 Hz, 5.4 Hz, 2H, H-8, H-12). **RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD):** δ 51.44 (**OCH₃-C-1**), 55.03 (C-2), 61.54 (C-3), 115.45 (d, *J* = 22.1 Hz, C-9, C-11), 119.87 (C-5), 129.62 (d, *J* = 8.5 Hz, C-8, C-12), 131.30 (d, *J* = 3.3 Hz, C-7), 139.78 (C-6), 163.69 (d, *J* = 248.9 Hz, C-10), 167.02 (C-4), 170.90 (C-1). **RMN ¹⁹F (376 MHz, CD₃OD):** -112.95 (s). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₁₃H₁₄FNO₄ [M+H]⁺: 268.0985; m/z observada: 268.0988.

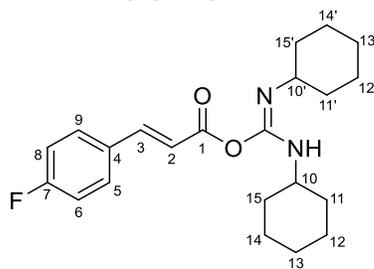
4.2.10.1 Preparación de (S)-2-((E)-3-(4-fluorfenil)acrilamido)-3-metoxi-3-oxopropil (E)-3-(4-fluorfenil)acrilato.



8c

Este producto fue purificado mediante cromatografía en columna, obteniéndose un sólido rosa, 8%, R_f : 0.57 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 134-136 °C. **RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3):** δ 3.83 (s, 3H, $\text{OCH}_3\text{-C-1}$), 4.58 (dd, $J = 11.5$ Hz, 3.4 Hz, 1H, H-3), 4.66 (dd, $J = 11.5$ Hz, 3.9 Hz, 1H, H-3), 5.07 (dt, $J = 7.5$ Hz, 3.6 Hz, 1H, H-2), 6.35 (d, $J_{trans} = 16.0$ Hz, 1H, H-5), 6.41 (d, $J_{trans} = 15.6$ Hz, 1H, H-5'), 6.52 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H, **NH**), 7.08 (m, 4H, H-9, H-11, H-9', H-11'), 7.51 (m, 4H, H-8, H-12, H-8', H-12'), 7.64 (d, $J_{trans} = 15.6$ Hz, 1H, H-6'), 7.66 (d, $J_{trans} = 16.0$ Hz, 1H, H-6). **RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3):** δ 52.11 ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$), 53.03 (C-2), 64.12 (C-3), 116.00 (d, $J = 21.9$ Hz, C-9, C-11), 116.16 (d, $J = 22.0$ Hz, C-9', C-11'), 116.62 (C-5), 119.40 (C-5'), 129.78 (d, $J = 8.5$ Hz, C-8, C-12), 130.15 (d, $J = 8.5$ Hz, C-8', C-12'), 130.33 (d, $J = 3.2$ Hz, C-7), 130.78 (d, $J = 3.4$ Hz, C-7'), 141.09 (C-6), 144.77 (C-6'), 163.72 (d, $J = 251$ Hz, C-10), 164.11 (d, $J = 252$ Hz, C-10'), 165.40 (C-4), 166.45 (C-4'), 170.13 (C-1). **RMN ^{19}F (376 MHz, CDCl_3):** -110.12 (s), -108.83 (s). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{F}_2\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 416.1310; m/z observada: 416.1329.

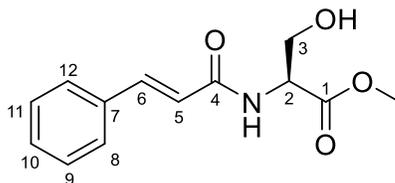
4.2.10.2 Preparación de anhídrido (*E*)-*N,N'*-diciclohexilcarbodimidico-(*E*)-3-(4-fluorfenil) acrilato.



9c

Este producto fue purificado mediante cromatografía en columna obteniéndose un sólido blanco, 13%, R_f: 0.80 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 175-177 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 1.62 (m, 20H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-11', H-12', H-13', H-14', H-15'), 3.76 (m, 1H, H-10'), 4.11 (m, 1H, H-10), 6.66 (d, *J*_{trans} = 15.4 Hz, 1H, H-2), 6.92 (s, 1H, **NH**), 7.07 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-6, H-8), 7.48 (dd, *J* = 8.6 Hz, 5.4 Hz, 2H, H-5, H-9), 7.64 (d, *J*_{trans} = 15.4 Hz, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 24.66 (C-12, C-14), 25.39 (C-12'), 25.47 (C-14'), 26.31 (C-13, C-13'), 31.03 (C-11, C-15), 32.83 (C-11', C-15'), 49.85 (C-10), 56.34 (C-10'), 116.09 (d, *J* = 21.9 Hz, C-6, C-8), 119.20 (C-2), 129.79 (d, *J* = 8.5 Hz, C-5, C-9), 131.02 (d, *J* = 3.4 Hz, C-4), 142.24 (C-3), 154.04 (C=N), 163.77 (d, *J* = 251.1 Hz, C-7), 166.70 (C-1). **¹⁹F (376 MHz, CDCl₃):** -109.82 (s). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₂₂H₂₉FN₂O₂ [M+H]⁺: 373.2291; m/z observada: 373.2251.

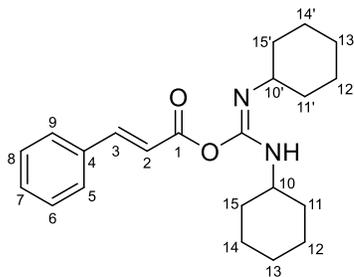
4.2.11 Preparación de cinamoil-L-serinato de metilo.



7d

Siguiendo el procedimiento en 4.2.8, se adicionaron en reacción 1.0 g (1.0 Eq) del compuesto **2**, 0.8990 ml (1.0 Eq) de Et₃N, 0.8051 g (1.0 Eq) de ácido cinámico (**6d**), 1.1212 g (1.0 Eq) de DCC y 0.0663 g (0.1 Eq) de DMAP, obteniéndose un sólido amarillo, 30%, R_f: 0.07 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 96-98 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD):** δ 3.79 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 3.88 (dd, *J* = 11.2 Hz, 4.2 Hz, 1H, H-3), 3.98 (dd, *J* = 11.2 Hz, 4.8 Hz, 1H, H-3), 4.69 (t, *J* = 4.5 Hz, 1H, H-2), 6.79 (d, *J*_{trans} = 15.9 Hz, 1H, H-5), 7.41 (m, 3H, H-9, H-10, H-11), 7.59 (m, 3H, H-6, H-8, H-12). **RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD):** δ 51.45 (**OCH₃-C-1**), 55.04 (C-2), 61.56 (C-3), 119.95 (C-5), 127.55 (C-9, C-11), 128.57 (C-8, C-12), 129.57 (C-10), 134.82 (C-7), 141.12 (C-6), 167.16 (C-4), 170.93 (C-1). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₁₃H₁₅NO₄ [M+H]⁺: 250.1079; m/z observada: 250.1083.

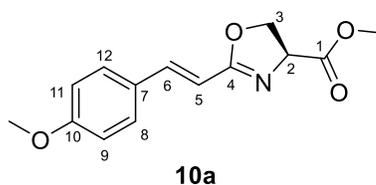
4.2.11.2 Preparación de anhídrido (*E*)-*N,N'*-diciclohexilcarbodimídico cinámico.



9d

Este producto fue purificado mediante cromatografía en columna obteniéndose un sólido blanco, 12%, R_f : 0.80 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 170-172 °C. **RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3):** δ 1.63 (m, 20H, H-11, H-12, H-13, H-14, H-15, H-11', H-12', H-13', H-14', H-15'), 3.76 (m, 1H, H-10'), 4.11 (m, 1H, H-10), 6.75 (d, $J_{trans} = 15.4$ Hz, 1H, H-2), 7.05 (s, 1H, **NH**), 7.38 (m, 3H, H-6, H-7, H-8), 7.48 (m, 2H, H-5, H-9), 7.68 (d, $J_{trans} = 15.4$ Hz, 1H, H-3). **RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3):** δ 24.68 (C-12, C-14), 25.40 (C-12'), 25.49 (C-14'), 26.33 (C-13, C-13'), 31.01 (C-11, C-15), 32.83 (C-11', C-15'), 49.83 (C-10), 56.42 (C-10'), 119.50 (C-2), 127.96 (C-6, C-8), 128.94 (C-5, C-9), 130.10 (C-4), 134.75 (C-7), 143.54 (C-3), 154.07 (C=N) 166.97 (C-1). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 355.2386; m/z observada: 355.2390.

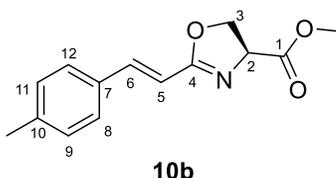
4.2.12 Preparación de (S,E)-2-(4-metoxiestiril)-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.



En un matraz fondo plano de 100 ml con agitador magnético se colocaron 0.060 g (1.0 Eq) del compuesto **7a** en 20 ml de CH₂Cl₂ grado reactivo. La mezcla de reacción se llevó a -20°C con un baño de MeOH y hielo seco (CO₂) dejándose en agitación durante 10 min. Posteriormente se adicionaron 0.1188 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor® gota a gota dejándose en agitación 30 min. Después de este tiempo se procedió a verificar el proceso de la reacción mediante cromatografía en capa fina. La reacción fue terminada adicionando 20 ml de una solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) en agua y se realizó una extracción líquido-líquido con CH₂Cl₂:H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Finalmente se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución Hex:AcOEt (7:3). Obteniéndose un sólido blanco, 43%, R_f: 0.21 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 105-107 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 3.82 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 3.83 (s, 3H, **OCH₃C₆H₄**), 4.51 (dd, *J* = 10.5 Hz, 8.7 Hz, 1H, H-3), 4.60 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3), 4.88 (dd, *J* = 10.5 Hz, 7.9 Hz, 1H, H-2), 6.53 (d, *J_{trans}* = 16.2 Hz, 1H, H-5), 6.90 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.38 (d, *J_{trans}* = 16.2 Hz, 1H, H-6), 7.43 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-8, H-12). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 52.73 (**OCH₃-C-1**), 55.38 (**OCH₃C₆H₄**), 68.44 (C-2), 69.10 (C-3), 111.94 (C-5), 114.34 (C-9, C-11), 127.68 (C-7), 129.18 (C-8, C-12), 140.97 (C-6), 161.00

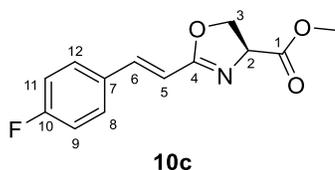
(C-10), 166.26 (C-4), 171.69 (C-1). **EM-AR (ESI+)**: m/z calculada para C₁₄H₁₅NO₄ [M+H]⁺: 262.1079; m/z observada: 262.1062.

4.2.13 Preparación de (S,E)-2-(4-metilestiril)-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.



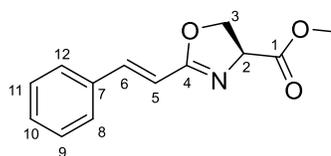
Seguendo el procedimiento en 4.2.18, se adicionaron en reacción 0.030 g (1.0 Eq) del compuesto **7b** y 0.063 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor®. Obteniéndose un sólido blanco, 60%, R_f: 0.34 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 93-95 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 2.37 (s, 3H, **CH₃C₆H₄**), 3.82 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 4.52 (dd, *J* = 10.5 Hz, 8.7 Hz, 1H, H-3), 4.61 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3), 4.89 (dd, *J* = 10.5 Hz, 7.9 Hz, 1H, H-2), 6.62 (d, *J_{trans}* = 16.3 Hz, 1H, H-5), 7.18 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.38 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H, H-8, H-12), 7.42 (d, *J_{trans}* = 16.2 Hz, 1H, H-6). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃)**: δ 21.44 (**CH₃C₆H₄**), 52.75 (**OCH₃-C-1**), 68.45 (C-2), 69.14 (C-3), 113.28 (C-5), 127.61 (C-8, C-12), 129.63 (C-9, C-11), 132.18 (C-7), 140.15 (C-10), 141.38 (C-6), 166.16 (C-4), 171.63 (C-1). **EM-AR (ESI+)**: m/z calculada para C₁₄H₁₅NO₃ [M+H]⁺: 246.1130; m/z observada: 246.1122.

4.2.14 Preparación de (S,E)-2-(4-fluorestiril)-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.



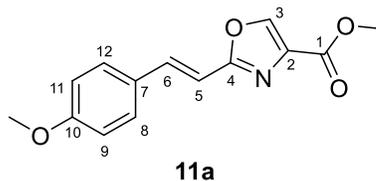
Siguiendo el procedimiento en 4.2.18, se adicionaron en reacción 0.060 g (1.0 Eq) del compuesto **7c** y 0.124 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor®. Obteniéndose un sólido blanco, 94%, R_f: 0.29 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 78-80 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 3.82 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 4.52 (dd, *J* = 10.5 Hz, 8.7 Hz, 1H, H-3), 4.62 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3), 4.90 (dd, *J* = 10.5 Hz, 7.9 Hz, 1H, H-2), 6.58 (d, *J_{trans}* = 16.3 Hz, 1H, H-5), 7.07 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.39 (d, *J_{trans}* = 16.3 Hz, 1H, H-6), 7.47 (dd, *J* = 8.6 Hz, 5.4 Hz, 2H, H-8, H-12). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 52.78 (**OCH₃-C-1**), 68.45 (C-2), 69.21 (C-3), 114.09 (C-5), 116.03 (d, *J* = 21.9 Hz, C-9, C-11), 129.42 (d, *J* = 8.4 Hz, C-8, C-12), 131.13 (d, *J* = 3.3 Hz, C-7), 140.10 (C-6), 163.62 (d, *J* = 250.7 Hz, C-10), 165.84 (C-4), 171.52 (C-1). **RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃):** -110.41 (s). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₁₃H₁₂FNO₃ [M+H]⁺: 250.0879; m/z observada: 250.0858.

4.2.15 Preparación de (S,E)-2-estiril-4,5-dihidrooxazol-4-carboxilato de metilo.



Siguiendo el procedimiento en 4.2.18, se adicionaron en reacción 0.060 g (1.0 Eq) del compuesto **7d** y 0.1331 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor®. Obteniéndose una resina amarilla, 14%, R_f: 0.31 (Hex:AcOEt 1:1). **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 3.82 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 4.53 (dd, *J* = 10.5 Hz, 8.8 Hz, 1H, H-3), 4.62 (t, *J* = 8.3 Hz, 1H, H-3), 4.90 (dd, *J* = 10.5 Hz, 8.0 Hz, 1H, H-2), 6.68 (d, *J*_{trans} = 16.3 Hz, 1H, H-5), 7.39 (m, 3H, H-9, H-10, H-11), 7.43 (d, *J*_{trans} = 16.3 Hz, 1H, H-6), 7.49 (m, 2H, H-8, H-12). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 52.77 (**OCH₃-C-1**), 68.39 (C-2), 69.21 (C-3), 114.30 (C-5), 127.65 (C-9, C-11), 128.90 (C-8, C-12), 129.83 (C-10), 134.89 (C-7), 141.47 (C-6), 166.05 (C-4), 171.54 (C-1). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₁₃H₁₃NO₃ [M+H]⁺: 232.0974; m/z observada: 232.0953.

4.2.16 Preparación de (*E*)-2-(4-metoxiestiril) oxazol-4-carboxilato de metilo.



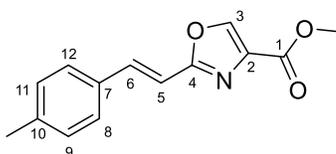
En un matraz fondo plano de 100 ml con agitador magnético se colocaron 0.030 g (1.0 Eq) del compuesto **7a** en 20 ml de CH₂Cl₂ grado reactivo. La mezcla de reacción se llevó a -20°C con un baño de MeOH y hielo seco (CO₂) dejándose en agitación durante 10 min. Posteriormente se adicionaron 0.0594 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor® gota a gota dejándose en agitación 30 min. Después de este tiempo se procedió a verificar el proceso de la reacción mediante cromatografía en capa fina. Al matraz se le adicionó 0.0317 ml (3.0 Eq) de BrCCl₃ y 0.0481 ml (3.0 Eq) de DBU gota a gota y se ajustó la temperatura del baño a 0 °C, manteniéndose en agitación durante 8 h. La reacción fue terminada adicionando 20 ml de una solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) en agua y se realizó una extracción líquido-líquido con CH₂Cl₂:H₂O. La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se evaporó a sequedad. Finalmente se purificó por cromatografía en columna utilizando un sistema de elución Hex:AcOEt (7:3). Obteniéndose un sólido blanco, 88%, R_f: 0.50 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 147-149 °C.

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 3.84 (s, 3H, OCH₃-C-1), 3.94 (s, 3H, OCH₃C₆H₄), 6.82 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-5), 6.92 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.48 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H, H-8, H-12), 7.59 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-6), 8.19 (s, 1H, H-3).

RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 52.21 (OCH₃-C-1), 55.40 (OCH₃C₆H₄), 110.51 (C-5), 114.42 (C-9, C-11), 127.73 (C-7), 128.95 (C-8, C-12), 134.22 (C-2), 138.04

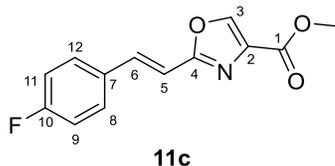
(C-6), 143.13 (C-3), 160.95 (C-10), 161.80 (C-4), 162.64 (C-1). **EM-AR (ESI+)**:
m/z calculada para C₁₄H₁₃NO₄ [M+H]⁺: 260.0923; m/z observada: 260.0910.

4.2.17 Preparación de (*E*)-2-(4-metilestilil) oxazol-4-carboxilato de metilo.



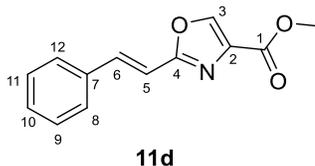
Siguiendo el procedimiento en 4.2.23, se adicionaron en reacción 0.100 g (1.0 Eq) del compuesto **7b**, 0.2102 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor®, 0.1123 ml (3.0 Eq) de BrCCl₃ y 0.1703 ml (3.0 Eq) de DBU. Obteniéndose un sólido blanco, 82%, R_f: 0.63 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 138-140 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 2.40 (s, 3H, CH₃C₆H₄), 3.96 (s, 3H, OCH₃-C-1), 6.92 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-5), 7.23 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.45 (d, *J* = 7.9 Hz, 2H, H-8, H-12), 7.63 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-6), 8.22 (s, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃)**: δ 21.44 (CH₃C₆H₄), 52.22 (OCH₃-C-1), 111.84 (C-5), 127.38 (C-8, C-12), 129.69 (C-9, C-11), 132.24 (C-7), 134.32 (C-2), 138.39 (C-6), 140.08 (C-10), 143.26 (C-3), 161.76 (C-1), 162.44 (C-4). **EM-AR (ESI+)**: m/z calculada para C₁₄H₁₃NO₃ [M+H]⁺: 244.0974; m/z observada: 244.0971.

4.2.18 Preparación de (*E*)-2-(4-fluorestiril) oxazol-4-carboxilato de metilo.



Siguiendo el procedimiento en 4.2.23, se adicionaron en reacción 0.016 g (1.0 Eq) del compuesto **7c**, 0.0331 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor®, 0.0176 ml (3.0 Eq) de BrCCl₃ y 0.0268 ml (3.0 Eq) de DBU. Obteniéndose un sólido blanco, 74%, R_f: 0.57 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 123-125 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 3.97 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 6.88 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-5), 7.11 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H, H-9, H-11), 7.53 (dd, *J* = 8.6 Hz, 5.4 Hz, 2H, H-8, H-12), 7.62 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-6), 8.23 (s, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 52.26 (**OCH₃-C-1**), 112.58 (C-5), 116.11 (d, *J* = 22.0 Hz, C-9, C-11), 129.18 (d, *J* = 8.4 Hz, C-8, C-12), 131.20 (d, *J* = 3.4 Hz, C-7), 134.38 (C-2), 137.11 (C-6), 143.38 (C-3), 161.68 (C-4), 162.07 (C-1), 163.55 (d, *J* = 250.7 Hz, C-10). **RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃):** -110.41 (s). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₁₃H₁₀FNO₃ [M+H]⁺: 248.0723; m/z observada: 248.0711.

4.2.19 Preparación de (*E*)-2-estiriloxazol-4-carboxilato de metilo.



Seguendo el procedimiento en 4.2.23, se adicionaron en reacción 0.050 g (1.0 Eq) del compuesto **7d**, 0.1109 ml (3.0 Eq) de Deoxo-Fluor®, 0.0593 ml (3.0 Eq) de BrCCl₃ y 0.0899 ml (3.0 Eq) de DBU. Obteniéndose un sólido blanco, 59%, R_f: 0.7 (Hex:AcOEt 1:1), p.f. 132-134 °C. **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃):** δ 3.97 (s, 3H, **OCH₃-C-1**), 6.98 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-5), 7.42 (m, 3H, H-9, H-10, H-11), 7.56 (d, *J* = 6.7 Hz, 2H, H-8, H-12), 7.66 (d, *J*_{trans} = 16.4 Hz, 1H, H-6), 8.24 (s, 1H, H-3). **RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃):** δ 52.26 (**OCH₃-C-1**), 112.84 (C-5), 127.42 (C-9, C-11), 128.98 (C-8, C-12), 129.75 (C-10), 134.37 (C-2), 134.96 (C-7), 138.42 (C-6), 143.36 (C-3), 161.72 (C-1), 162.23 (C-4). **EM-AR (ESI+):** m/z calculada para C₁₃H₁₁NO₃ [M+H]⁺: 230.0817; m/z observada: 230.0805.

4.3 Evaluaciones Biológicas

4.3.1 Evaluación de la Actividad Antituberculosa

Para llevar a cabo la actividad antituberculosa se realizó la técnica colorimétrica Alamar Azul empleando el protocolo descrito por Camacho Corona *et al.*, 2008. Esta técnica se fundamenta en las reacciones óxido-reducción bacterianas, siendo un indicador de viabilidad celular al reducir la resazurina de color azul y sin fluorescencia en su forma oxidada a resorufina que es de color rosa y fluorescente.

4.3.1.1 Selección de las Cepas

Las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* a estudiar procedieron de un aislado clínico con resistencia a fármacos de primera línea (G122; etambutol-rifampicina e isoniacida) y una cepa de referencia *M. tuberculosis* H37Rv sin resistencia.

4.3.1.2 Preparación del Medio Middlebrook 7H9

El medio Middlebrook 7H9 se preparó pesando 4.7 g de base caldo Middlebrook 7H9 y añadiendo 18 mL de glicerol al 10% v/v en 882 mL de agua. El medio se esterilizó a 121°C por 15 minutos a 15 psi para posteriormente llevar a temperatura ambiente y adicionar 100 mL de ácido oleico, albúmina, dextrosa y catalasa (OADC) para su enriquecimiento.

4.3.1.3 Preparación de Muestras

Se realizó un stock de cada compuesto a evaluar disolviendo 1 mg en 500 µL de DMSO en un tubo Eppendorf para tener una concentración de 2000 µg/mL. A partir de este stock se realizaron los cálculos necesarios para preparar la solución del compuesto usando Caldo Middlebrook 7H9 enriquecido con OADC y teniendo en cuenta que la concentración final en el pocillo estaría diluida dos veces (debido al medio e inóculo de trabajo presentes también en el pocillo).

El rango preparado partir de este stock fue desde 100 µg/mL hasta 0.0488 µg/mL.

4.3.1.4 Preparación de la Suspensión Bacteriana

La cepa fármaco resistente y de referencia (sensible) fueron sembradas en Medio Lowenstein-Jensen donde a posterior crecimiento fue tomado un inóculo y adicionado al Caldo Middlebrook 7H9 previamente preparado, incubándose a 37°C por 15 días hasta obtener una turbidez de #1 McFarland (correspondiente a 3×10^8 células). De este tubo se tomaron 0.5 mL y se adicionaron a 9.5 mL de medio para tener lista la suspensión bacteriana a emplear.

4.3.1.5 Ensayo en Microplaca de Alamar Azul

El ensayo se llevó a cabo en microplacas de 96 pocillos en donde se evaluaron seis compuestos por placa a seis concentraciones distintas por duplicado. Se colocaron 200 µl de agua estéril en los pocillos de la periferia (A 1-12, H 1-3 y 10-12) para evitar deshidratación, mientras que en los demás pocillos se adicionaron 100 µl de Medio Middlebrook 7H9. Posteriormente en la fila B se añadieron 100 µl de solución del compuesto por duplicado para realizarse una

serie de diluciones 1:2 a lo ancho de la placa para finalmente adicionar 100 µl de suspensión bacteriana. Simultáneamente se prepararon tres controles en los pocillos de la fila H sobrantes (H 4-9): a) 100:100, b) 20:100 y c) 1:100, los cuales representan el 100%, 20% y 1% de la población bacteriana a ensayar. Las microplacas se incubaron a 37°C durante 5 días para después adicionar 12 µl de Tween 80 al 10% y 20 µl de Alamar Azul a los controles para volver a incubar a 37°C durante 24 horas. Si los colores concuerdan de acuerdo a lo esperado en la fila control, se procede a adicionar el Tween 80 y Alamar Azul en los pocillos restantes, incubando a 24 horas y realizando una lectura posterior de manera visual, interpretándose como crecimiento si existió un cambio de color de azul a rosa. Se determinó la CMI de cada compuesto.

4.3.2 Actividad Citotóxica

4.3.2.1 Descongelamiento de Línea Celular VERO

Para el descongelamiento de las líneas celulares se siguió el protocolo establecido donde primeramente se realizó el descongelamiento del vial con la línea celular VERO en un baño de agua a 37°C. Posteriormente el vial se descontaminó por aspersion de etanol al 70% para luego suspender el sedimento celular con medio esencial mínimo de Eagle's (EMEM) atemperado en una caja de cultivo celular para incubarse a 37°C en una atmósfera al 5% de CO₂ hasta la formación de la monocapa. El medio EMEM fue previamente preparado, con suero fetal bovino al 10% y 1% de antibiótico y se esterilizó por filtración por membrana de 0.22.

4.3.2.2 Conteo Celular

Al observarse aproximadamente un 80% de confluencia en la monocapa, esta se lavó dos veces con 3 mL de solución de buffer de fosfatos (PBS) y posteriormente se adicionaron 500 µL de tripsina-EDTA al 0.25% dejando actuar durante 5 minutos en incubación en las condiciones antes mencionadas para desprender las células. Después se añadió 1 mL de medio para inactivar la tripsina y con este mismo resuspender para poder centrifugar a 1300 rpm durante 10 minutos. Se retiró el sobrenadante y al botón celular que quedó en el fondo se adicionaron 5 mL de medio. De esta suspensión se tomaron 10 µL para realizar un conteo en Cámara de Neubauer y realizar el cálculo correspondiente para generar una suspensión celular a una densidad de 5000 células en 1 mL.

4.3.2.3 Ensayo en microplaca WST-1

A cada pocillo de la microplaca se adicionaron 100 µL de la suspensión de células para tener 5000 células por pocillo, posteriormente la placa se incubó 24 horas a 37°C a 5% CO₂. Enseguida se adicionaron los compuestos a probar en concentraciones de 50 y 100 µg/mL en un volumen de 100 µL, se empleó Tritón X100 al 1% como control positivo y células sin tratamiento como control negativo y se volvió a incubar la caja a las mismas condiciones. Después de 24 horas se retiró el medio y se adicionaron 100 µL de medio con WST al 5% por pocillo, se incubó la placa por 2 horas y se leyó a 450 nm en un lector de ELISA. Como blanco se tomó al medio con WST-1 y con los datos obtenidos se determinó el porcentaje de viabilidad celular. El porcentaje de viabilidad obtenido es inversamente proporcional a la citotoxicidad, siendo este la resta del 100% menos el porcentaje de viabilidad.

$$\text{Viabilidad celular (\%)} = \frac{D.O. \text{ células tratadas}}{D.O. \text{ células control}} \times 100$$

CAPÍTULO 5

5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Preparación del éster metílico de *L*-serina.

A partir de *L*-serina se llevó a cabo la preparación de su éster metílico, haciendo reaccionar al aminoácido con cloruro de tionilo gota a gota en metanol, obteniéndose como un sólido blanco, 99% y un punto de fusión 163°C, mismo que coincide con la literatura.

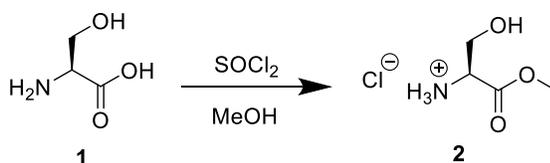


Figura 14. Preparación del éster del aminoácido.

5.2 Preparación del sistema insaturado mediante la reacción Horner-Wadsworth-Emmons

Para obtener el sistema insaturado, fue necesaria la preparación de acrilato de etilo mediante la reacción de HWE partiendo de trietilfosfonoacetato, empleando cloruro de litio, como base trietilamina y los benzaldehídos *p*-sustituidos en tetrahidrofurano en baño de sonicación. El uso de sonicación como fuente de activación permitió obtener los compuestos en buen rendimiento y en tiempos cortos en comparación con una metodología de síntesis convencional. Al monitorear la reacción en cromatografía en capa fina la materia prima (*p*-

benzaldehydos) y los acrilatos de etilo presentaron un R_f muy similar en un sistema de elución Hex:AcOEt 7:3, por tanto si no se consumía totalmente la materia prima, la purificación en cromatografía en columna representaría un problema. Por ello se duplicó el número de equivalentes de trietilfosonoacetato para propiciar la formación del producto y consumir en su totalidad la materia prima, facilitando el proceso de purificación.

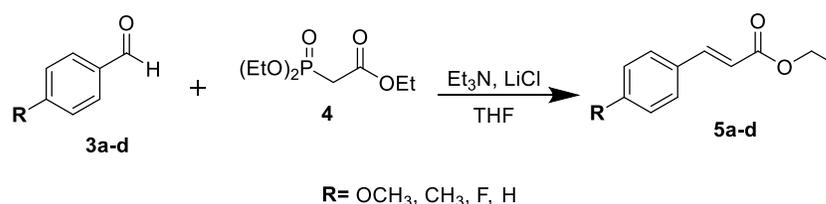


Figura 15. Preparación de acrilato 5a-d mediante HWE.

Los rendimientos obtenidos con estas condiciones fueron altos con valores mayores al 90%, siendo el más bajo aquel con el sustituyente *p*-OCH₃, el cual presenta un efecto de estabilización de carga en la reactividad del carbonilo del aldehído impidiendo un ataque más viable a diferencia de los otros sustituyentes empleados.

Tabla 9. Rendimientos empleando los distintos benzaldehídos.

Compuesto	R	Aspecto físico	Rendimiento
5a	<i>p</i> -anisaldehído	Resina amarilla	92
5b	<i>p</i> -tolualdehído	Resina transparente	96
5c	<i>p</i> -fluorbenzaldehído	Resina transparente	95

5.2.1 Elucidación estructural de acrilato 5a.

A continuación, se describen las señales de RMN de ¹H para el acrilato **5a**: en un desplazamiento químico de 1.33 ppm se observa un triplete, con una constante

de acoplamiento de $J=7.1$ Hz que integra para 3H, correspondientes al metilo del éster (**CH₃CH₂**); a un desplazamiento de 3.83 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo (**OCH₃**); en un desplazamiento químico de 4.25 ppm se observa un cuarteto, con una constante de acoplamiento de $J=7.1$ Hz que integra para 2H, correspondiente al metileno del éster (**CH₂CH₃**); a campo más bajo se observa a 6.31 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.90 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J= 8.8$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-6 y H-8 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.47 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J= 8.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-5 y H-9; a campo más bajo a 7.64 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3 del enlace vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 14.37 ppm correspondiente al metilo del éster (**CH₃CH₂**); a 55.36 ppm correspondiente al metoxilo del anillo aromático (**OCH₃C₆H₄**), a 60.33 ppm correspondiente al metileno del éster (**CH₃CH₂**); a 114.31 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos C-6 y C-8; a 115.75 ppm correspondiente al carbono vinílico C-2; a 127.20 ppm correspondiente al carbono aromático C-4; a 129.69 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-5 y C-9; a 144.25 ppm

correspondiente al carbono vinílico C-3; a 161.34 ppm correspondiente al C-7; a 167.35 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.2.2 Elucidación estructural de acrilato 5b.

A continuación se describen las señales de RMN de ^1H (**Figura 16**): en un desplazamiento químico de 1.33 ppm se observa un triplete, con una constante de acoplamiento de $J=7.1$ Hz que integra para 3H, correspondientes al metilo del éster (CH_3CH_2); en un desplazamiento químico de 2.37 se observa un singulete, que integra para 3H, correspondiente al metilo del anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); en un desplazamiento químico de 4.26 ppm se observa un cuarteto, con una constante de acoplamiento de $J=7.1$ Hz que integra para 2H, correspondiente al metileno del éster (CH_2CH_3); a campo más bajo se observa a 6.39 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.18 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J= 8.0$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-6 y H-8 del anillo *p*-sustituido: a un desplazamiento de 7.42 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J= 8.1$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-5 y H-9; a campo más bajo a 7.66 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3 del enlace vinílico.

Las constantes de acoplamiento de 16.0 Hz nos permiten corroborar que el acrilato obtenido se encuentra en geometría *trans* para su enlace vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono (**Figura 17**) mostró las siguientes señales: a 14.35 ppm correspondiente al metilo del éster (CH_3CH_2); a 21.47 ppm correspondiente al metilo del anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), a 60.42 ppm correspondiente al metileno del éster (CH_3CH_2); a 117.19 ppm correspondiente al carbono vinílico C-2; a 128.06 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos C-6 y C-8; a 129.62 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-5 y C-9; a 131.75 ppm correspondiente al carbono aromático C-4; a 140.63 ppm correspondiente al carbono vinílico C-7; a 144.60 ppm correspondiente al C-3; a 167.21 ppm correspondiente al carbono C-1 del éster.

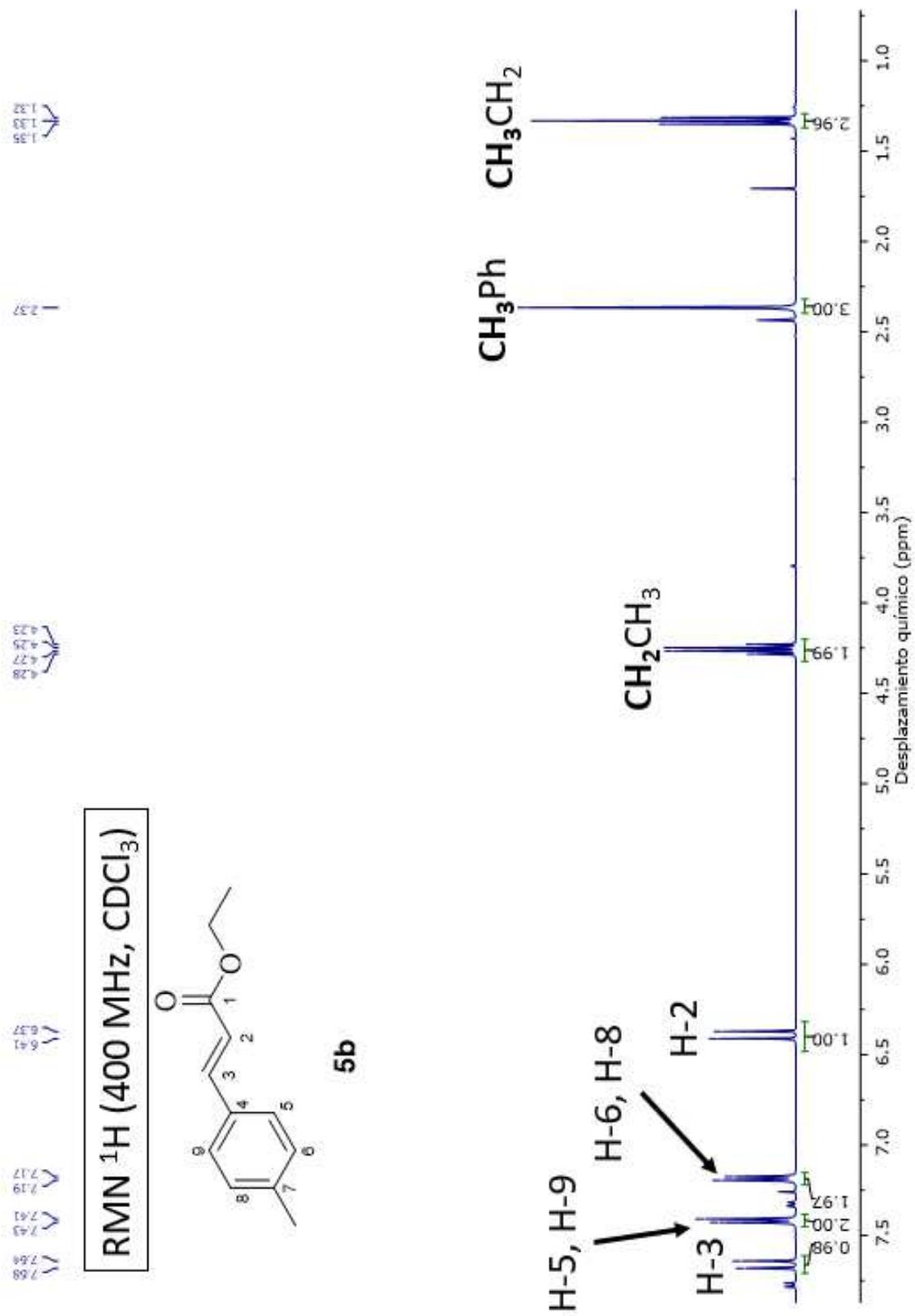


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H para el acrilato 5b.

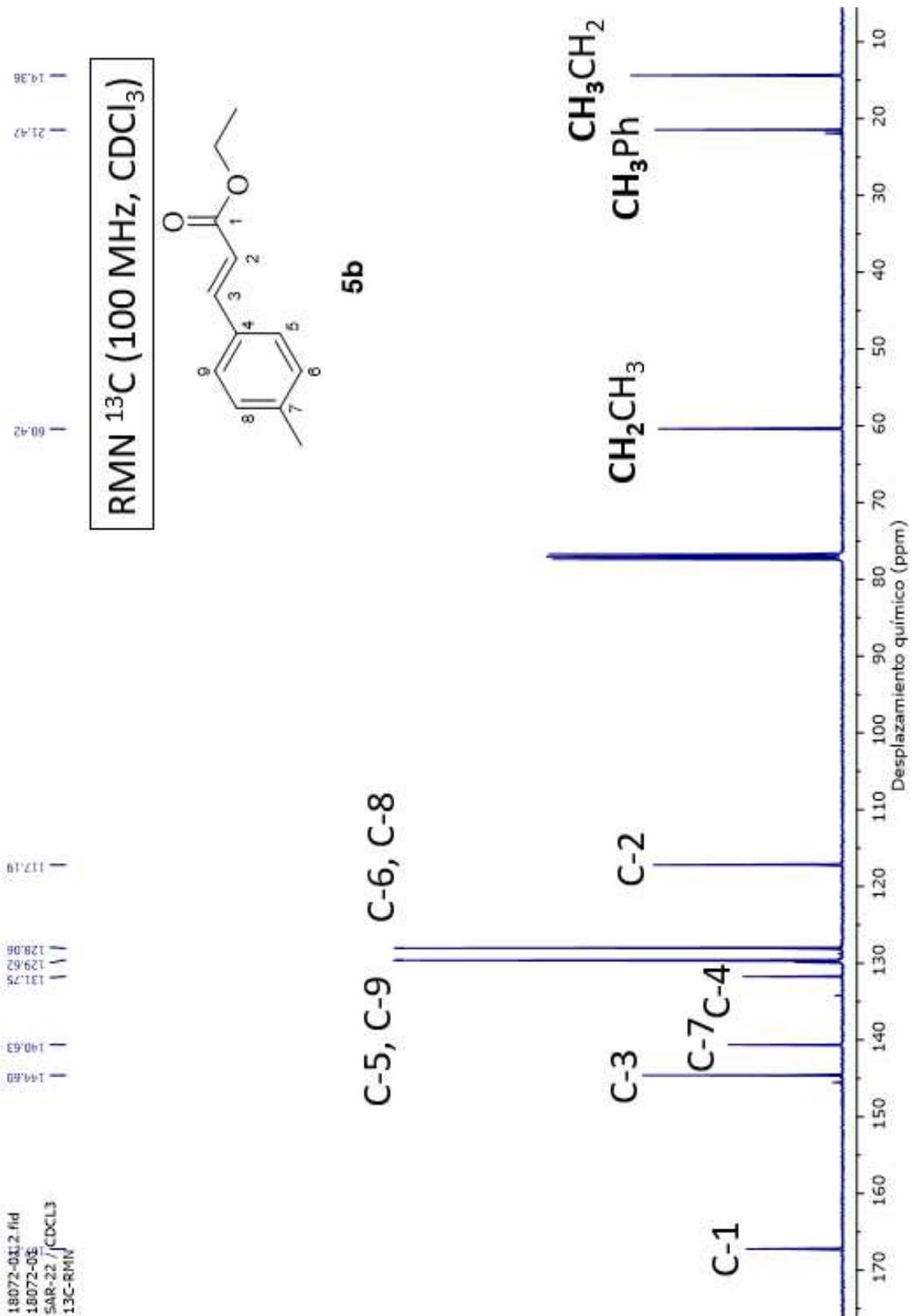


Figura 17. Espectro de RMN de ¹³C para el acrilato 5b.

5.2.3 Elucidación estructural de acrilato 5c.

A continuación se describen las señales de RMN de ^1H : en un desplazamiento químico de 1.34 ppm se observa un triplete, con una constante de acoplamiento de $J=7.1$ Hz que integra para 3H, correspondientes al metilo del éster (CH_3CH_2); en un desplazamiento químico de 4.27 ppm se observa un cuarteto, con una constante de acoplamiento de $J=7.1$ Hz que integra para 2H, correspondiente al metileno del éster (CH_2CH_3); a campo más bajo se observa a 6.36 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.08 ppm se observa un multiplete que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-6 y H-8 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.51 ppm se observa un multiplete que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-5 y H-9; a campo más bajo a 7.65 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3 del enlace vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 14.33 ppm correspondiente al metilo del éster (CH_3CH_2); a 60.57 ppm correspondiente al metileno del éster (CH_3CH_2); a 116.04 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J=22.0$ Hz correspondientes a los carbonos aromáticos C-6 y C-8; a 118.01 correspondiente al carbono vinílico C-2; a 129.91 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J=8.6$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-5 y C-9; a 130.72 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J=3.4$ Hz correspondiente al carbono aromático C-4; a 143.29 ppm

correspondiente al C-3; a 163.87 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 251.2$ Hz correspondiente al carbono vinílico C-7; a 166.89 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

En el espectro de flúor aparece un único singulete a -109.75 ppm, lo que nos indica la presencia de un solo átomo de este halógeno en la molécula.

Hay que resaltar que la presencia de las constantes de acoplamiento en el espectro de carbono es debido a que se presenta un acoplamiento con flúor, por tal motivo, estas señales se seguirán observando en los derivados posteriores.

5.3 Preparación de análogos de ácidos cinámicos mediante hidrólisis

básica.

Para la preparación de los ácidos cinámicos **6a-c**, se hicieron reaccionar los acrilatos **5a-c** en presencia de hidróxido de sodio en una mezcla de metanol/agua 8/2 a temperatura ambiente durante 24 horas, obteniendo sólidos blancos con rendimientos moderados (75-92%).

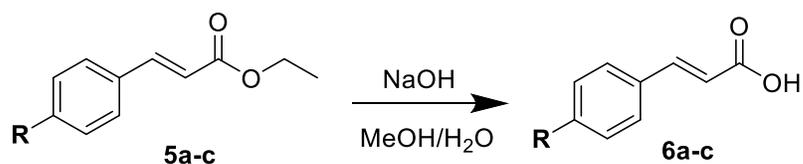


Figura 18. Preparación de análogos de ácidos cinámico.

Los rendimientos de estos ácidos se ilustran en la **Tabla 10**, donde nuevamente el compuesto con el sustituyente p -OCH₃ es el que presenta un menor rendimiento en comparación con los demás ácidos (efecto inductivo de polarización).

Tabla 10. Rendimientos de análogos de ácidos cinámicos.

Compuesto	Sustituyente	Aspecto físico	% Rendimiento
6a	p -OCH ₃	Sólido blanco	75
6b	p -CH ₃	Sólido blanco	92
6c	p -F	Sólido blanco	80

5.3.1 Elucidación estructural de análogo de ácido cinámico 6a.

A continuación, se describen las señales de RMN de ¹H para el análogo del ácido cinámico **6a**: a un desplazamiento de 3.85 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo (**OCH₃**); a campo más bajo se observa a 6.35 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.97 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J= 8.8$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-6 y H-8 del anillo p -sustituido: a un desplazamiento de 7.56 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J= 8.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-5 y H-9; a campo más bajo a 7.64 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}= 16.0$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3 del enlace vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 54.45 ppm correspondiente al metoxilo del anillo aromático ($\text{OCH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), a 114.01 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos C-6 y C-8; a 115.18 ppm correspondiente al carbono vinílico C-2; a 127.01 ppm correspondiente al carbono aromático C-4; a 129.51 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-5 y C-9; a 144.81 ppm correspondiente al carbono vinílico C-3; a 161.70 ppm correspondiente al C-7; a 169.41 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.3.2 Elucidación estructural de análogo de ácido cinámico 6b.

A continuación se describen las señales de RMN de ^1H (**Figura 19**): en un desplazamiento químico de 2.38 se observa un singulete, que integra para 3H, correspondiente al metilo del anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); a campo más bajo se observa a 6.44 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.24 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J=8.0$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-6 y H-8 del anillo *p*-sustituido: a un desplazamiento de 7.50 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J=8.1$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-5 y H-9; a campo más bajo a 7.66 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3 del enlace vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono (**Figura 20**) mostró las siguientes señales: a 20.03 ppm correspondiente al metilo del anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$), a 116.78 ppm correspondiente al carbono vinílico C-2; a 127.81 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos C-6 y C-8; a 129.26 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-5 y C-9; a 131.69 ppm correspondiente al carbono aromático C-4; a 140.64 ppm correspondiente al carbono vinílico C-7; a 144.99 ppm correspondiente al C-3; a 169.19 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

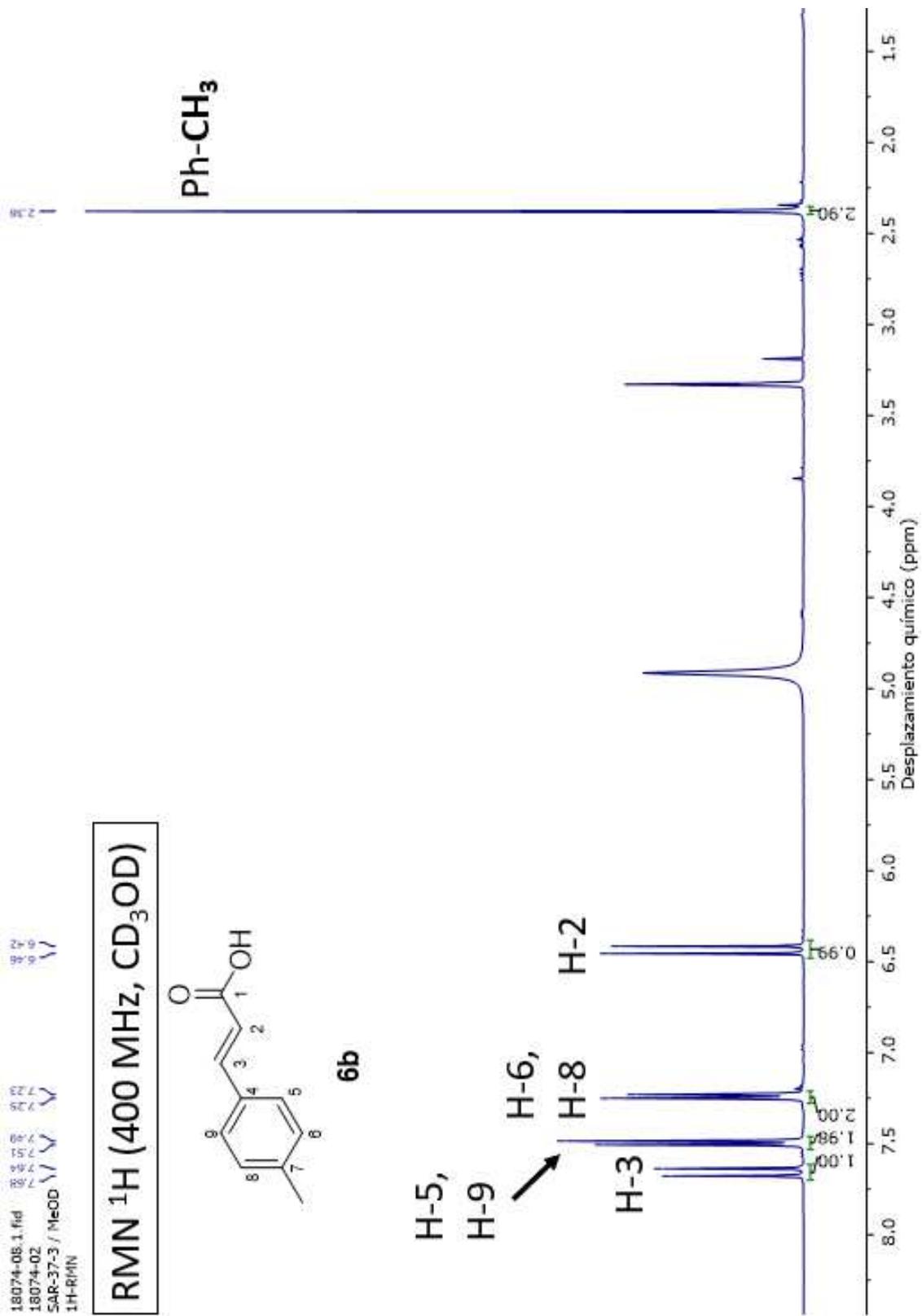


Figura 19. Espectro de RMN de ¹H para el ácido 6b.

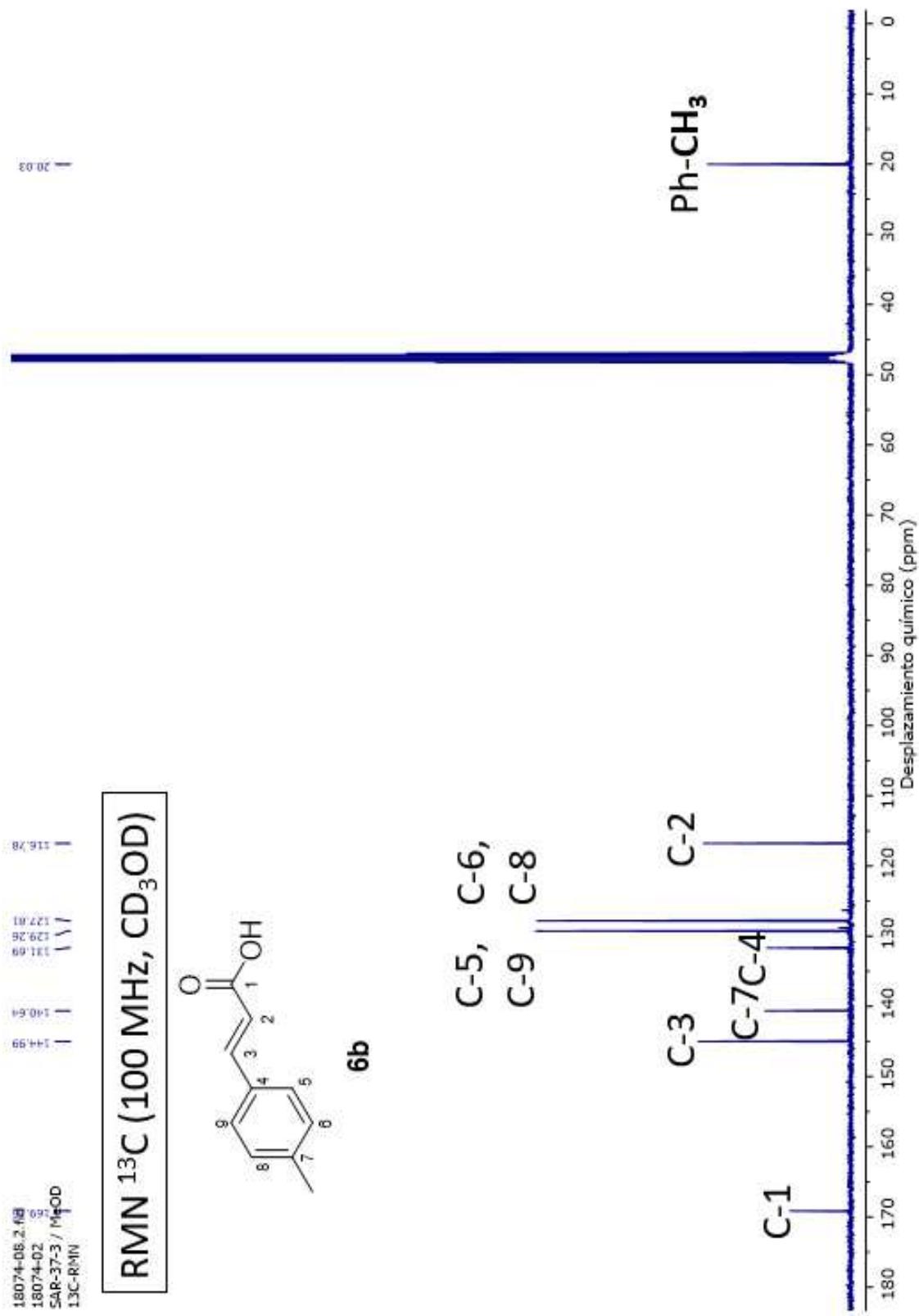


Figura 20. Espectro de RMN de ¹³C para el ácido 6b.

5.3.3 Elucidación estructural de análogo de ácido cinámico 6c.

A continuación se describen las señales de RMN de ^1H : a campo bajo se observa a 6.46 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.16 ppm se observa un multiplete que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-6 y H-8 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.67 ppm se observa un multiplete que integra para 3H, correspondientes a los protones aromáticos H-5 y H-9 y correspondiente al H-3 del enlace vinílico.

Cabe resaltar que el doblete del H-3 correspondiente a este enlace vinílico se empalma con los protones aromáticos H-5 y H-9, siendo posible la medición solamente de la constante de acoplamiento del protón H-2.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 115.50 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 22.2$ Hz correspondientes a los carbonos aromáticos C-6 y C-8; a 118.00 ppm correspondiente al carbono vinílico C-2; a 129.94 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.6$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-5 y C-9; a 130.93 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 3.3$ Hz correspondiente al carbono aromático C-4; a 143.48 ppm correspondiente al C-3; a 163.93 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 249.4$ Hz correspondiente al carbono vinílico C-7; a 166.89 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.4 Preparación de acrilamidas 7a-d

Teniendo los correspondientes ácidos cinámicos **6 a-d** y el clorhidrato del éster metílico de *L*-serina **2**, se procedió a realizar la reacción de acoplamiento para la obtención de las acrilamidas en presencia de los reactivos DCC y DMAP, sin embargo esta reacción no procedió, por lo que se revisó la literatura y esta sugiere la liberación del clorhidrato del éster metílico de la *L*-serina²⁰. Por tal motivo se hizo reaccionar el éster metílico **2** con trietilamina en relación 1:1 empleando diclorometano como solvente durante dos horas a reflujo a 40°C, esto con el fin de permitir la disponibilidad del grupo amino del clorhidrato y que se lleve a cabo el acoplamiento formando el enlace amida. Posteriormente, en otro matraz se disuelven el ácido cinámico con DCC y DMAP para incorporarlo al aminoácido liberado, obteniendo las acrilamidas **7 a-d** como sólidos con rendimientos moderados (30-35 %).

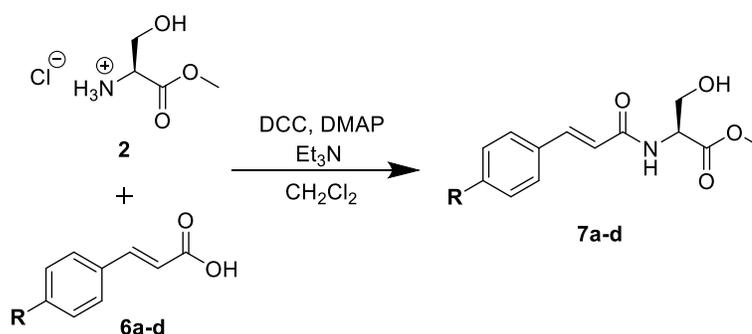


Figura 21. Síntesis de acrilamidas a partir de *L*-serina y ácidos cinámicos.

Si se excede la relación de base:aminoácido a favor de la base, se forman complejos de serina-trietilamina que no nos permitirían la viabilidad de la

molécula para reaccionar, tal y como lo reportan Sebai y colaboradores en 2017²⁰. Los autores también describen al compuesto **2** liberado como una cera amarilla que es muy inestable y tiende a polimerizarse. Al momento de llevar a cabo la liberación, obtuvimos esta cera en un rendimiento del 88%, sin embargo, se observó lo descrito en la literatura al ver su polimerización la cual imposibilitaba su solubilidad. Por tal motivo, se optó por realizar el acoplamiento inmediatamente después de terminado el reflujo de la reacción de liberación en busca de aumentar rendimientos.

Es importante señalar que las acrilamidas no fueron los únicos productos obtenidos, pues también fueron aislados y caracterizados acrilatos (**8a-d**) y anhídridos (**9a-d**).

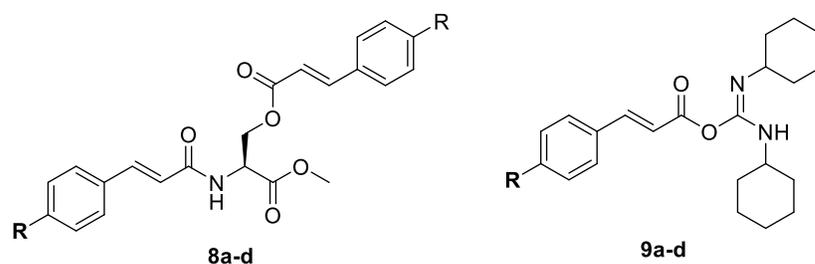


Figura 22. Subproductos obtenidos de la formación de acrilamidas.

La formación de estos subproductos puede explicarse mediante el mecanismo de la reacción (**Figura 23**). Los acrilatos **8 a-d** fueron ocasionados debido a la presencia de un exceso ácido cinámico en la reacción, el cual se acopló con DCC y el grupo hidroxilo del residuo de la serina fungió como nucleófilo para poderse llevar a cabo una esterificación. En tanto, los anhídridos **9 a-d** son los análogos

de ácido cinámico acoplado a DCC que ya no encontraron un nucleófilo disponible para el término de su adición, o que por falta de base no ocurrió el acoplamiento aun y cuando el nucleófilo si estuviera disponible. Los rendimientos de estos productos fueron bajos (**8 a-d**: 7-8%; **9 a-d**: 12-13%), pero significativos para poder ser caracterizados y disminuir el rendimiento de las acrilamidas de interés.

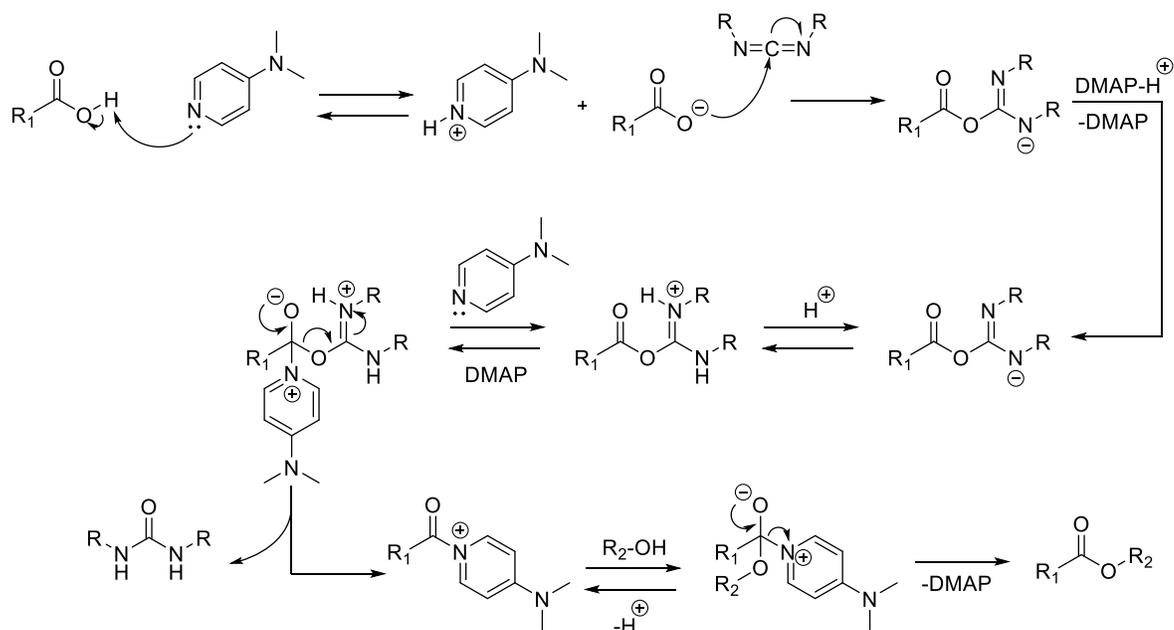


Figura 23. Mecanismo de esterificación de Steglich.

La relación aminoácido:ácido cinámico fue importante para obtener la acrilamida deseada, pues una relación de 2:1 incrementó los rendimientos de 30-35% hasta 82-85%, observándose una disminución en los rendimientos de los compuestos **9 a-d** (5-7%) y una nula presencia de **8 a-d** (Tabla 11).

Tabla 11. Comparación de rendimientos con diferente relación de ácidos cinámicos.

Compuesto	Sustituyente	Rendimiento Aa:Ácido 1:1	Rendimiento Aa:Ácido 2:1
7a	<i>p</i> -OCH ₃	35%	82%
7b	<i>p</i> -CH ₃	30%	85%
7c	<i>p</i> -F	33%	82%
7d	<i>p</i> -H	30%	NR

NR: No realizado.

5.4.1 Elucidación estructural de acrilamida de **7a**.

A continuación, se describen las señales de RMN de ¹H para la acrilamida **7a**: a un desplazamiento de 3.79 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a un desplazamiento de 3.85 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo (**OCH₃**); a 3.87 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.28$ Hz y 4.16 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 3.97 ppm se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.2$ Hz y 4.8 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.87 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 4.4$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.63 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.8$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.97 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido;

a un desplazamiento de 7.54 ppm se observa un multiplete que integra para 3H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12 y el protón H-6 vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 51.43 ppm correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 54.44 ppm correspondiente al metoxilo del anillo aromático (**OCH₃C₆H₄**); a 55.01 ppm correspondiente al C-2; a 61.59 ppm correspondiente al C-3; a 113.96 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 117.33 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 127.39 ppm correspondiente al carbono aromático C-7; a 129.18 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 140.92 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6; a 161.34 ppm correspondiente al C-10; a 167.59 ppm correspondiente al C-4; a 171.01 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.4.2 Elucidación estructural de acrilamida de 7b.

A continuación, se describen las señales de RMN de ¹H para la acrilamida **7b** (**Figura 23**): a 2.38 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al metilo unido al anillo aromático (**CH₃C₆H₄**); a un desplazamiento de 3.79 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**) ; a 3.87 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.2$ Hz y 4.2 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 3.97 ppm se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.2$ Hz y 4.8 Hz, que

integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.68 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 4.5$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.72 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.8$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.24 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.0$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.49 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.1$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12; a un desplazamiento de 7.55 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.8$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón H-6 vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono (**Figura 24**) mostró las siguientes señales: a 20.00 ppm correspondiente al metilo unido al anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); a 51.43 ppm correspondiente al metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 55.02 ppm correspondiente al C-2; a 61.57 ppm correspondiente al C-3; a 118.83 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 127.56 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 129.21 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 132.06 ppm correspondiente al carbono C-7; a 140.09 ppm correspondiente al carbono C-10; a 141.13 correspondiente al carbono vinílico C-6; a 167.39 ppm correspondiente al C-4; a 170.96 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

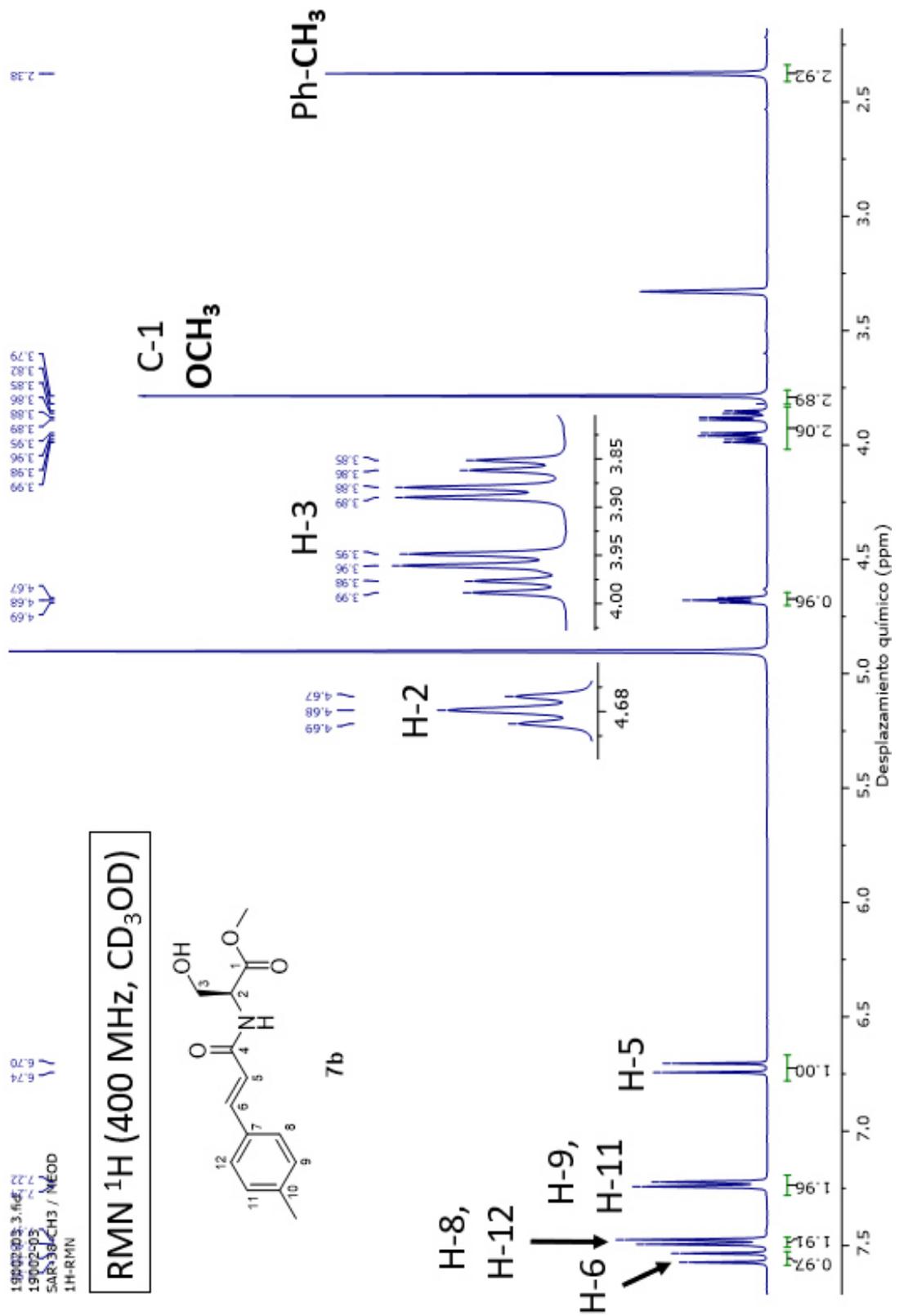


Figura 24. Espectro de RMN de ¹H para acrilamida 7b.

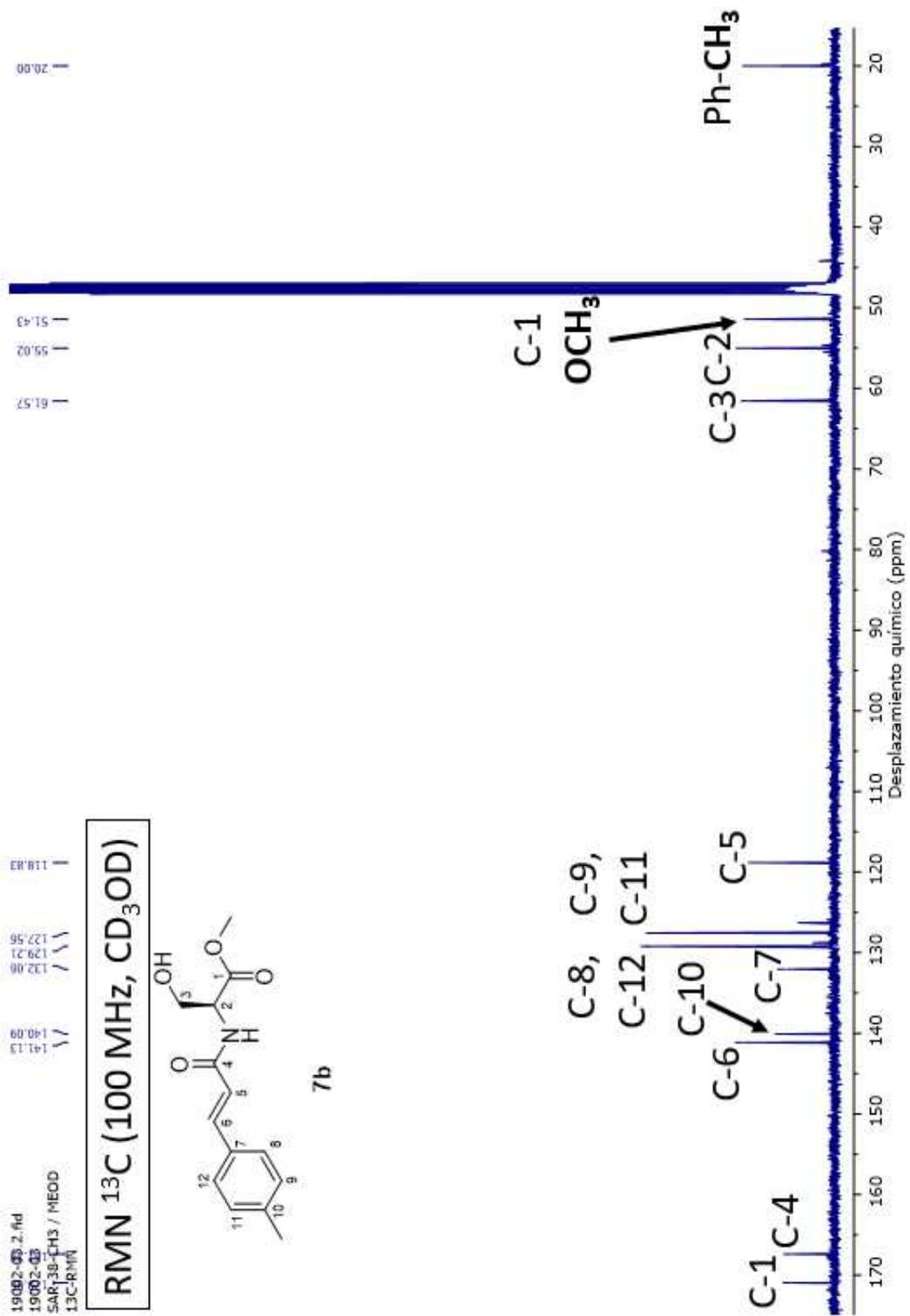


Figura 25. Espectro de RMN de ^{13}C para acrilamida 7b.

5.4.3 Elucidación estructural de acrilamida de 7c.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para la acrilamida **7c**: a un desplazamiento de 3.79 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 3.87 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.2$ Hz y 4.1 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 3.97 ppm se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.2$ Hz y 4.8 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.68 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 4.4$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.73 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.8$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.16 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 8.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.57 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.8$ Hz que integra para 1H, al protón vinílico H-6; a 7.64 ppm se observa un multiplete que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 51.44 ppm correspondiente al metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 55.03 ppm correspondiente al C-2; a 61.54 ppm correspondiente al C-3; a 115.45 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 22.1$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 119.86 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a

129.62 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.5$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 131.30 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 3.3$ Hz correspondiente a C-7; a 139.78 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6; a 163.69 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 248.9$ Hz, correspondiente al C-10; a 167.02 ppm correspondiente al C-4; a 170.90 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

En el espectro de flúor aparece un único singulete a -112.95 ppm, lo que nos indica la presencia de un solo átomo de este halógeno en la molécula.

5.4.4 Elucidación estructural de acrilamida de 7d.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para la acrilamida **7d**: a un desplazamiento de 3.79 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 3.88 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.2$ Hz y 4.2 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 3.98 ppm se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.2$ Hz y 4.8 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.69 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 4.5$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.79 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.9$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.41

ppm se observa un multiplete que integra para 3H, correspondientes a los protones aromáticos H-9, H-10 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.59 ppm se observa un multiplete que integra para 3H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12 y al protón vinílico H-6.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 51.45 ppm correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 55.04 ppm correspondiente al C-2; a 61.56 ppm correspondiente al C-3; a 119.95 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 127.55 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 128.57 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 129.57 ppm correspondiente al carbono C-10; a 134.82 ppm correspondiente al carbono C-7; a 141.12 correspondiente al carbono vinílico C-6; a 167.16 ppm correspondiente al C-4; a 170.93 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.4.5 Elucidación estructural del acrilato 8a.

A continuación, se describen las señales de RMN de ¹H para el compuesto **8a**: a un desplazamiento de 3.82 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a un desplazamiento de 3.83 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del anillo aromático (**OCH₃-C-10**); a un desplazamiento de 3.84 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del anillo aromático (**OCH₃-C-10'**); a 4.55 ppm se observa un doble de doble con dos

constantes de acoplamiento de $J = 11.5$ Hz y 3.4 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.66 ppm se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.4$ Hz y 3.8 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 5.07 ppm se observa un doble de triplete con constantes de acoplamiento de $J = 7.4$ Hz y 3.5 Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.29 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.9$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento químico de 6.36 ppm observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.6$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5' del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.47 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 7.8$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al NH; a un desplazamiento de 6.90 ppm se observa un multiplete que integra para 4H, correspondientes a los protones aromáticos H-9, H-9' y H-11, H-11' de los anillos *p*-sustituidos; a un desplazamiento de 7.47 ppm se observa un multiplete que integra para 4H, correspondientes a los protones aromáticos H-8, H-8' y H-12, H-12'; a un desplazamiento de 7.63 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.6$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-6'; a un desplazamiento de 7.65 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.9$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-6.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.08 ppm correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 52.95 ppm correspondiente a C-2; a 55.38 ppm correspondiente al metoxilo del anillo aromático (**OCH₃-C-**

10); a 55.42 ppm correspondiente al metoxilo del anillo aromático (**OCH₃-C-10'**); a 64.06 ppm correspondiente al C-3; a 114.28 ppm correspondientes a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 114.32 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 114.39 correspondiente a los carbonos C-9' y C-11'; a 117.29 ppm correspondiente al carbono C-5'; a 126.84 ppm correspondiente al carbono aromático C-7; a 127.30 ppm correspondiente al C-7'; a 129.57 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 129.97 ppm correspondiente a los carbonos C-8' y C-12'; a 141.89 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6; a 145.72 ppm correspondiente al C-6'; a 161.10 ppm correspondiente al C-10; a 161.66 ppm correspondiente al C-10'; a 165.91 correspondiente al carbono C-4; a 166.94 ppm correspondiente al C-4'; a 170.30 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.4.6 Elucidación estructural del acrilato 8b.

A continuación, se describen las señales de RMN de ¹H para el compuesto **8b** (**Figura 25**): a 2.37 ppm se observa un singlete que integra para 3H, correspondiente al metilo unido al anillo aromático (**CH₃-C-10'**); a 2.38 ppm se observa un singlete que integra para 3H, correspondiente al metilo unido al anillo aromático (**CH₃-C-10**); a un desplazamiento de 3.82 ppm se observa un singlete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 4.56 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.5$ Hz y 3.4 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.67 ppm

se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.5$ Hz y 3.8 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 5.07 ppm se observa un doble de triplete con constantes de acoplamiento de $J = 7.4$ Hz, 3.5 Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.38 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.45 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.6$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-5'; a 6.49 ppm se observa un singulete que integra para 1H, correspondiente al NH; a un desplazamiento de 7.19 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 7.4$ Hz que integra para 4H, correspondientes a los protones aromáticos H-9, H-9' y H-11, H-11' del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.42 ppm se observa un doble de doble con constantes de acoplamiento de $J = 8.1$ Hz, 2.7 Hz, que integra para 4H, correspondientes a los protones aromáticos H-8, H-8' y H-12, H-12'; a un desplazamiento de 7.64 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.6$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón H-6 vinílico; a un desplazamiento de 7.67 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón H-6' vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono (**Figura 26**) mostró las siguientes señales: a 21.44 ppm correspondiente al metilo unido al anillo aromático (**CH₃-C-10**); a 21.51 ppm correspondiente al metilo unido al anillo aromático (**CH₃-C-10'**); a 52.07 ppm

correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃**-C-1); a 52.96 ppm correspondiente al C-2; a 64.10 ppm correspondiente al C-3; a 115.78 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 118.63 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5'; a 127.95 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 128.24 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9' y C-11'; a 129.58 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 129.68 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8' y C-12'; a 131.36 ppm correspondiente al carbono C-7; a 131.81 ppm correspondiente al carbono C-7': a 140.30 ppm correspondiente al carbono C-10; a 141.15 correspondiente al carbono C-10'; a 142.25 ppm correspondiente al carbono C-6; a 146.06 ppm correspondiente al C-6', a 165.75 ppm correspondiente al C-4; a 166.77 correspondiente al carbono 4'; a 170.21 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.4.7 Elucidación estructural del acrilato 8c.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el compuesto **8c**: a un desplazamiento de 3.83 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 4.58 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.5$ Hz y 3.4 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.66 ppm se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.5$ Hz y 3.9 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 5.07 ppm se observa un doble de triplete con constantes de acoplamiento de $J = 7.5$ Hz, 3.6 Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.35 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.41 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=15.6$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5'; a un desplazamiento de 6.52 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de 7.7 Hz que integra para 1H, correspondiente al NH; a un desplazamiento de 7.08 ppm se observa un multiplete que integra para 4H, correspondientes a los protones aromáticos H-9, H-9' y H-11, H-11' del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.51 ppm se observa un multiplete que integra para 4H, correspondientes a los protones aromáticos H-8, H-8' y H-12, H-12'; a 7.64 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=15.6$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-6'; a un desplazamiento de

7.66 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.0$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-6.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.11 ppm correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 53.03 ppm correspondiente al C-2; a 64.12 ppm correspondiente al C-3; a 116.00 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 21.9$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 116.16 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 22.0$ Hz correspondientes a los carbonos aromáticos C-9' y C-11'; a 116.62 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 119.40 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5'; a 129.78 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.5$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 130.15 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.5$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-8' y C-12'; a 130.33 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 3.2$ Hz correspondiente a C-7; a 130.78 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 3.4$ Hz correspondiente a C-7'; a 141.09 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6; a 144.77 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6'; a 163.72 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 251$ Hz, correspondiente al C-10; a 164.11 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 252$ Hz, correspondiente al C-10'; a 165.40 ppm correspondiente al C-4; a 166.45 ppm correspondiente al C-4'; a 170.13 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

En el espectro de flúor aparecen dos singuletes a -110.12 ppm y -108.83 ppm, lo que nos indica la presencia de dos átomos de este halógeno en la molécula.

5.4.8 Elucidación estructural de 8d.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el compuesto **8d**: a un desplazamiento de 3.83 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 4.58 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.5$ Hz y 3.4 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.68 ppm se observa otro doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 11.5$ Hz y 3.8 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 5.08 ppm se observa un doble triplete con constantes de acoplamiento de $J = 7.3$ Hz y 3.5 Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.43 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.50 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.6$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-5'; a 6.54 ppm se observa un singulete que integra para 1H, correspondiente al NH; a un desplazamiento de 7.38 ppm se observa un multiplete que integra para 6H, correspondientes a los protones aromáticos H-9, H-9', H-10, H-10' y H-11, H-11' del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.52 ppm se observa un multiplete que integra para 4H, correspondientes a los protones aromáticos H-8, H-8' y H-12, H-12'; a 7.68 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.6$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-6'; a 7.70 ppm se observa un doblete, con constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.0$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al protón vinílico H-6.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.09 ppm correspondiente al metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 53.00 ppm correspondiente al C-2; a 64.14 ppm correspondiente al C-3; a 116.91 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 119.70 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5'; a 127.97 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 128.25 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9' y C-11'; a 128.86 ppm correspondiente al C-8, C-12; a 128.96 ppm correspondiente al C-8', C-12'; a 129.97 ppm correspondiente al carbono C-10; a 130.66 ppm correspondiente al carbono C-10'; a 134.09 ppm correspondiente al carbono C-7; a 134.56 ppm correspondiente al carbono C-7'; a 142.32 correspondiente al carbono vinílico C-6; a 146.09 correspondiente al carbono vinílico C-6'; a 165.56 ppm correspondiente al C-4; a 166.57 ppm correspondiente al C-4'; a 170.16 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.4.9 Elucidación estructural del anhídrido **9b**.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el compuesto **9b** (**Figura 27**): a un desplazamiento de 1.63 ppm se observa un multiplete que integra para 20H; a un 2.37 se observa un singulete, que integra para 3H, correspondiente al metilo del anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); a 3.75 se observa un multiplete que integra para 1H, correspondiente al H-10'; a 4.11 ppm se observa un multiplete que integra para 1H, correspondiente al H-10; a 6.69 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.4$ Hz, que

integra para 1H, correspondiente al H-2; a 7.11 ppm se observa un singulete, que integra para 1H, correspondiente al **NH**; a 7.18 ppm se observa un doblete, con constante de acoplamiento de $J = 7.9$ Hz, que integra para 2H, correspondiente a los protones H-6, H-8; a 7.38 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J = 8.0$ Hz, que integra para 2H, correspondiente a los protones H-5, H-9; a 7.65 ppm, se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.4$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3.

Así mismo, el espectro de carbono (**Figura 28**) mostró las siguientes señales: a 21.47 ppm correspondiente al metilo del anillo aromático (**CH₃C₆H₄**), a 24.69 ppm correspondiente a los C-12 y C-14, a 25.40 ppm, correspondiente al carbono C-12'; a 25.49 ppm correspondiente al C-14'; a 26.34 ppm correspondiente a los carbonos C-13, C-13'; a 30.98 ppm correspondiente a los C-11, C-15; a 32.82 ppm correspondiente a los C-11', C-15'; a 49.81 ppm correspondiente al C-10; a 56.36 ppm correspondiente al C-10', a 118.40 ppm correspondiente al C-2, a 127.69 ppm correspondiente a los carbonos C-6, C-8; a 129.65 ppm correspondientes a los carbonos C-5, C-9, a 132.00 ppm correspondiente al C-4, a 140.51 ppm correspondiente al C-7, a 143.57 ppm correspondiente al C-3, a 154.14 ppm correspondiente al C=N; a 167.20 ppm correspondiente al C-1.

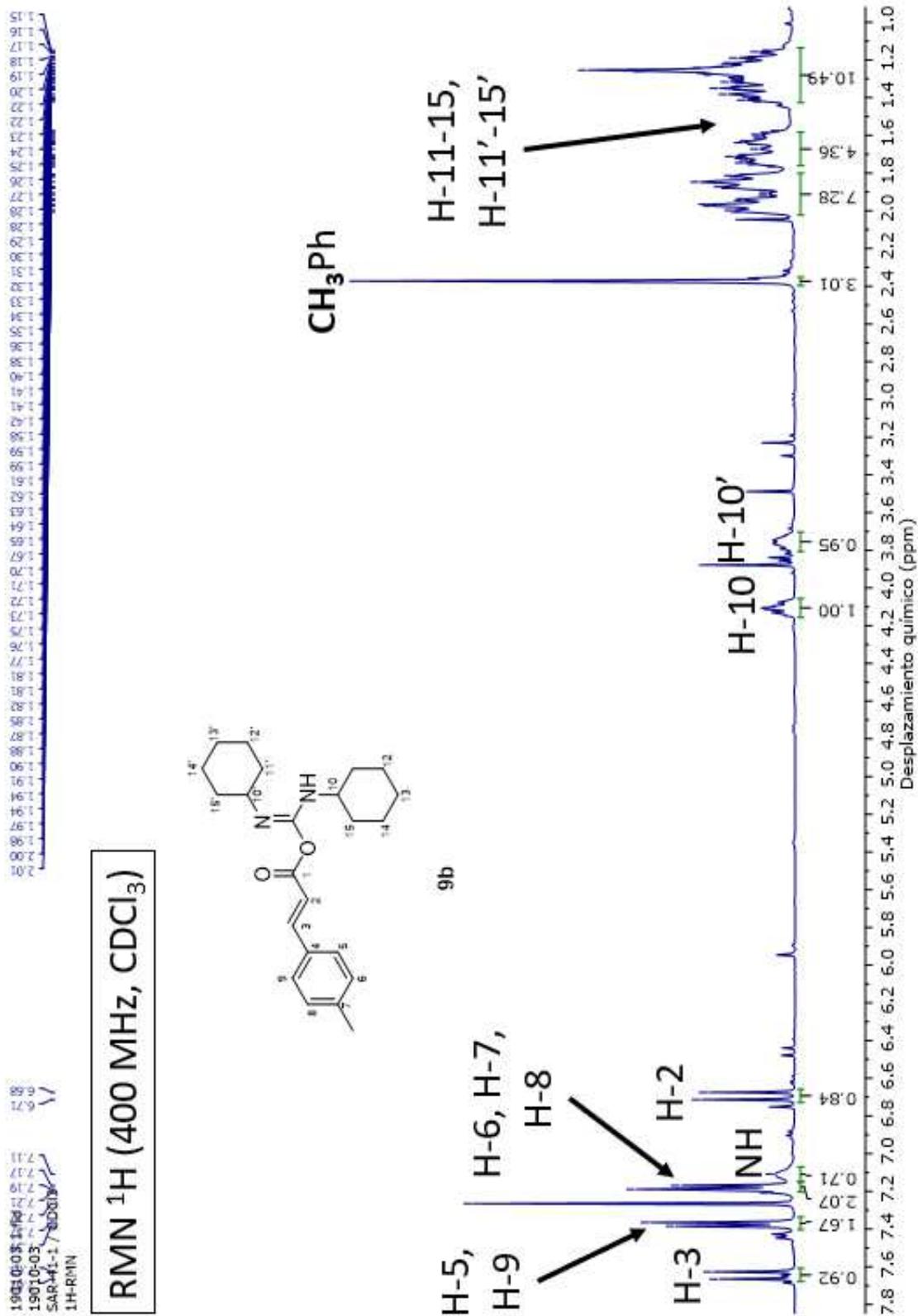


Figura 28. Espectro de RMN de ¹H para el anhídrido 9b.

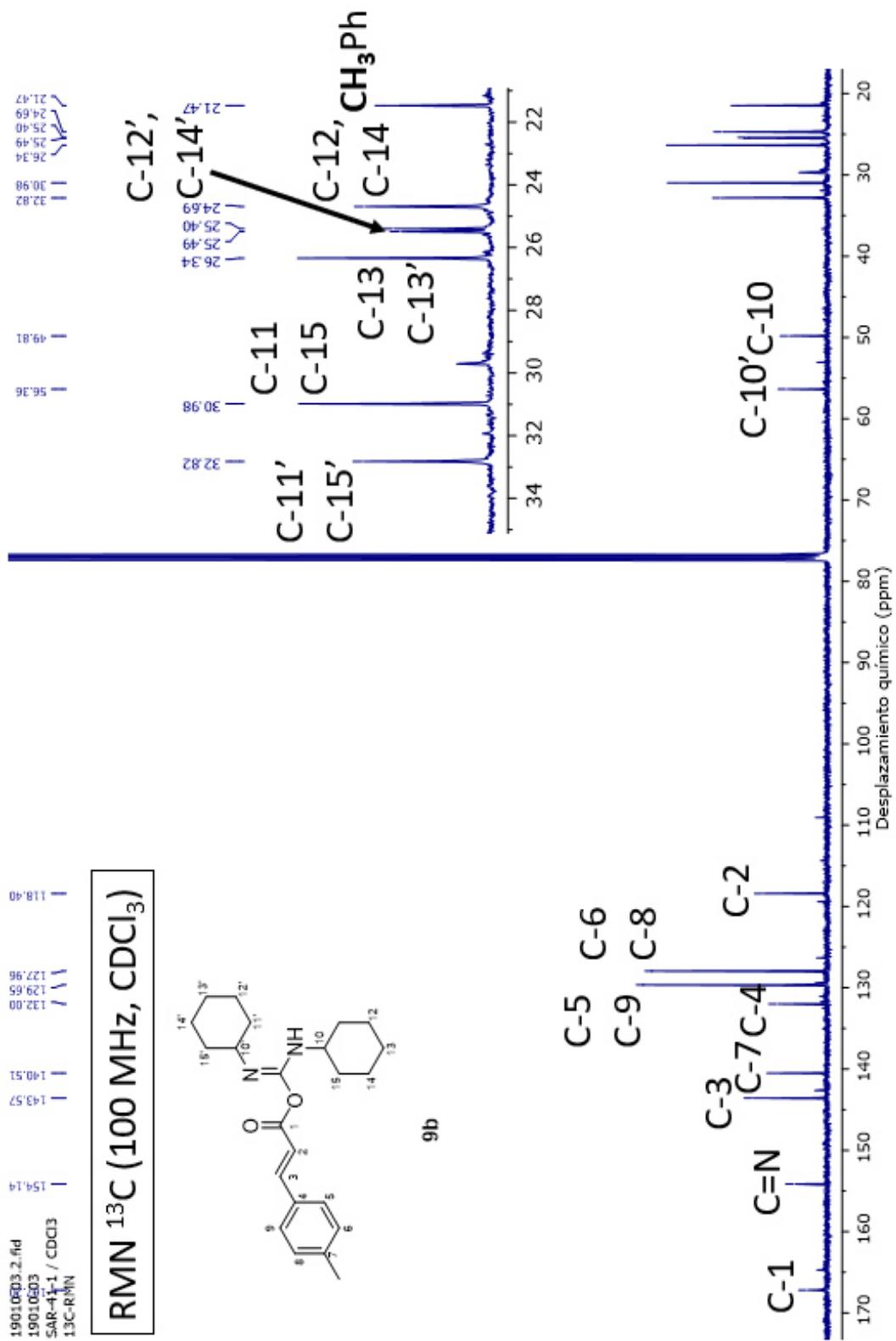


Figura 29. Espectro de RMN de ¹³C para el anhidrido 9b.

5.4.10 Elucidación estructural del anhídrido 9c.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el compuesto **9c**: a un desplazamiento de 1.62 ppm se observa un multiplete que integra para 20H; a 3.76 ppm se observa un multiplete que integra para 1H, correspondiente al H-10'; a 4.11 ppm se observa un multiplete que integra para 1H, correspondiente al H-10; a 6.66 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.4$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a 6.92 ppm se observa un singulete, que integra para 1H, correspondiente al **NH**; a 7.07 ppm se observa un doblete, con constante de acoplamiento de $J = 7.9$ Hz, que integra para 2H, correspondiente a los protones H-6, H-8; a 7.48 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J = 8.0$ Hz, que integra para 2H, correspondiente a los protones H-5, H-9; a 7.64 ppm, se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.4$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 24.66 ppm correspondiente a los C-12 y C-14; a 25.39 ppm, correspondiente al carbono C-12'; a 25.47 ppm correspondiente al C-14'; a 26.31 ppm correspondiente a los carbonos C-13, C-13'; a 31.03 ppm correspondiente a los C-11, C-15; a 32.83 ppm correspondiente a los C-11', C-15'; a 49.85 ppm correspondiente al C-10; a 56.34 ppm correspondiente al C-10', a 116.09 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 21.9$ Hz correspondiente a los carbonos C-6, C-8; a 119.20 ppm correspondiente al C-2, a 129.79 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.5$ Hz correspondientes a los carbonos C-5, C-9, a 131.02

ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 3.4$ Hz correspondiente al C-1', a 142.24 ppm correspondiente al C-3, a 154.04 ppm correspondiente al C=N; a 163.77 ppm un doblete, con constante de acoplamiento de $J = 251.1$ Hz, correspondiente al C-7; a 166.70 ppm correspondiente al C-1.

5.4.11 Elucidación estructural del anhídrido **9d**.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el compuesto **9d**: a un desplazamiento de 1.63 ppm se observa un multiplete que integra para 20H; a 3.76 ppm se observa un multiplete que integra para 1H, correspondiente al H-10'; a 4.11 ppm se observa un multiplete que integra para 1H, correspondiente al H-10; a 6.75 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.4$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a 6.92 ppm se observa un singulete, que integra para 1H, correspondiente al **NH**; a 7.05 ppm se observa un doblete, con constante de acoplamiento de $J = 7.9$ Hz, que integra para 2H, correspondiente a los protones H-6, H-8; a 7.38 ppm se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J = 8.0$ Hz, que integra para 2H, correspondiente a los protones H-5, H-9; a 7.68 ppm, se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 15.4$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 24.68 ppm correspondiente a los C-12 y C-14; a 25.40 ppm, correspondiente al carbono C-12'; a 25.49 ppm correspondiente al C-14'; a 26.33 ppm correspondiente a los

carbonos C-13, C-13'; a 31.03 ppm correspondiente a los C-11, C-15; a 32.83 ppm correspondiente a los C-11', C-15'; a 49.83 ppm correspondiente al C-10; a 56.42 ppm correspondiente al C-10', a 119.50 ppm correspondiente al carbono C-2; a 127.96 ppm correspondiente a los carbonos C-6, C-8; a 128.94 ppm correspondientes a los carbonos C-5, C-9, a 130.10 ppm correspondiente al C-4, a 134.75 ppm correspondiente al C-7, a 143.54 ppm correspondiente al C-3; a 154.07 correspondiente al C=N; a 166.97 ppm correspondiente al C-1.

5.5 Preparación de oxazolinas

Teniendo las correspondientes acrilamidas **7 a-d**, se llevó a cabo una reacción de *O*-alquilación con Deoxo-Fluor® en diclorometano a -20°C en baño de metanol y hielo seco durante 30 min, obteniéndose rendimientos variados (14-94%).

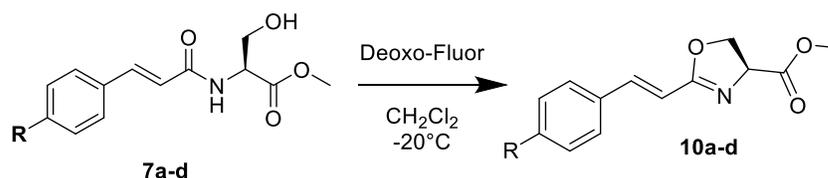


Figura 30. Síntesis de oxazolinas a partir de acrilamidas.

Los elementos que destacaron para poder confirmar mediante Resonancia Magnética Nuclear la presencia del heterociclo fueron los protones H-3 adyacentes al oxígeno y la interacción H-C a tres enlaces en el HMBC. En el sistema abierto, los hidrógenos H-3 presentan un comportamiento de sistema AB, donde se observan dos dobles de dobles donde las intensidades de ambos se

muestran como una pirámide: los dobles del centro se observan más grandes y los dobles de las orillas están más pequeños. Esta peculiaridad nos indica que existe cercanía entre dichos protones, por lo que sumado a la señal provista por el H-2, se observa un sistema ABX, por tener dos protones cercanos acoplándose y uno más lejano. En las moléculas que contienen el heterociclo, estos dobles de dobles pierden su peculiar disposición piramidal siendo más irregulares, pues ya no se encuentran espacialmente tan cercanos como en el sistema abierto y al mismo tiempo el protón H-2, que antes de observaba como un triplete, se alcanza a visualizar como un doble de dobles, lo que nos indicaría que el sistema que en un inicio era ABX, pasó a ser AMX.

Respecto a la interacción H-C a tres enlaces, en el espectro HMBC de nuestras acrilamidas es posible ver que solo existe una interacción entre los protones H-3 y el carbono del grupo éster a tres enlaces, mientras que en el espectro HMBC de las oxazolinas es posible ver la interacción de estos protones con el carbono de la amida a tres enlaces, confirmando de esta manera que el heterociclo pudo ser formado.

5.5.1 Elucidación estructural de oxazolina de 10a.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para la oxazolina **10a**: a un desplazamiento de 3.82 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a un desplazamiento de 3.83 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo

metoxilo (**OCH₃**); a 4.51 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 8.7 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.60 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 8.3$ Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.88 ppm se observa un doble de doble con constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 7.9 Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.53 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.2$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.90 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.38 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.2$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón H-6 vinílico; a un desplazamiento de 7.43 ppm, se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J = 8.7$ Hz, que integra para 2H, correspondiente a los protones H-8 y H-12.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.73 ppm correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 55.38 ppm correspondiente al metoxilo del anillo aromático (**OCH₃C₆H₄**); a 68.44 ppm correspondiente al C-2; a 69.10 ppm correspondiente al C-3; a 111.94 ppm correspondiente al carbono C-5; a 114.34 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 127.68 ppm correspondiente al carbono vinílico C-7; a 129.18 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 140.97 ppm

correspondiente al carbono vinílico C-6; a 161.00 ppm correspondiente al C-10; a 166.26 ppm correspondiente al C-4; a 171.69 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.5.2 Elucidación estructural de oxazolina de 10b.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para la oxazolina **10b** (**Figura 31**): a 2.37 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al metilo unido al anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); a un desplazamiento de 3.82 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 4.52 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 8.7 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.61 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 8.3$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.89 ppm se observa un doble de dobles con constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 7.9 Hz que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.62 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.3$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.18 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.0$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.38 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.2$ Hz que integra para 2H, correspondientes

a los protones aromáticos H-8 y H-12; a un desplazamiento de 7.42 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.2$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón H-6 vinílico.

Así mismo, el espectro de carbono (**Figura 32**) mostró las siguientes señales: a 21.44 ppm correspondiente al metilo unido al anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); a 52.75 ppm correspondiente al metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 68.45 ppm correspondiente al C-2; a 69.14 ppm correspondiente al C-3; a 113.28 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 127.61 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 129.63 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 132.18 ppm correspondiente al carbono C-7; a 140.15 ppm correspondiente al carbono C-10; a 141.38 correspondiente al carbono vinílico C-6; a 166.16 ppm correspondiente al C-4; a 171.63 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

Con esta oxazolina fue posible obtener cristales que pudieron ser mandados a Rayos X y que nos sirvieran para complementar su identidad, presentándose a continuación su modelo en la **Figura 30**.

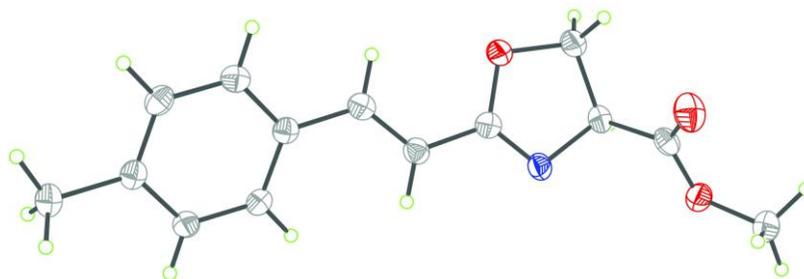


Figura 31. Imagen ORTEP de la estructura de rayos X de la oxazolina 10b.

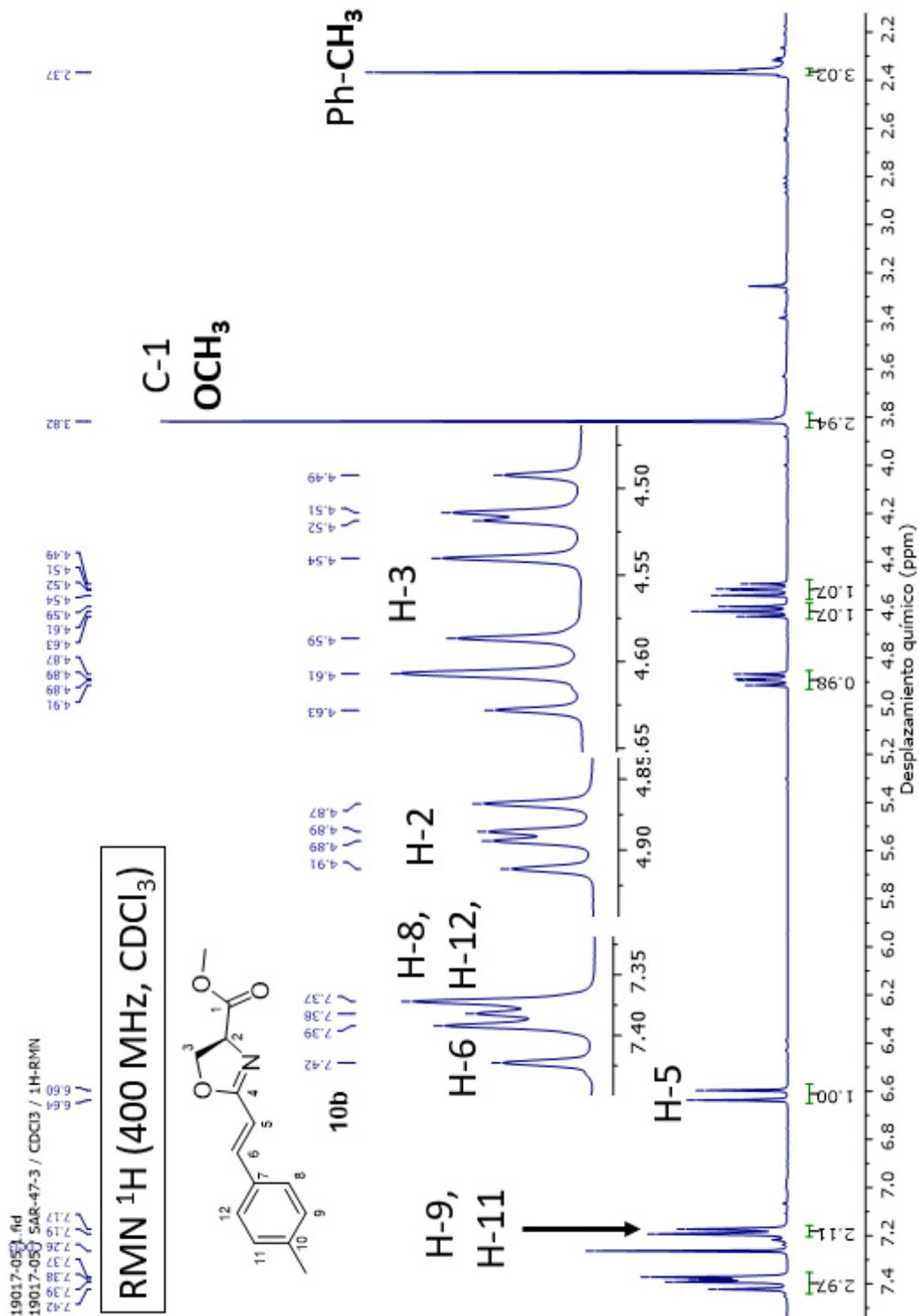


Figura 32. Espectro de RMN de ¹H para la oxazolina 10b.

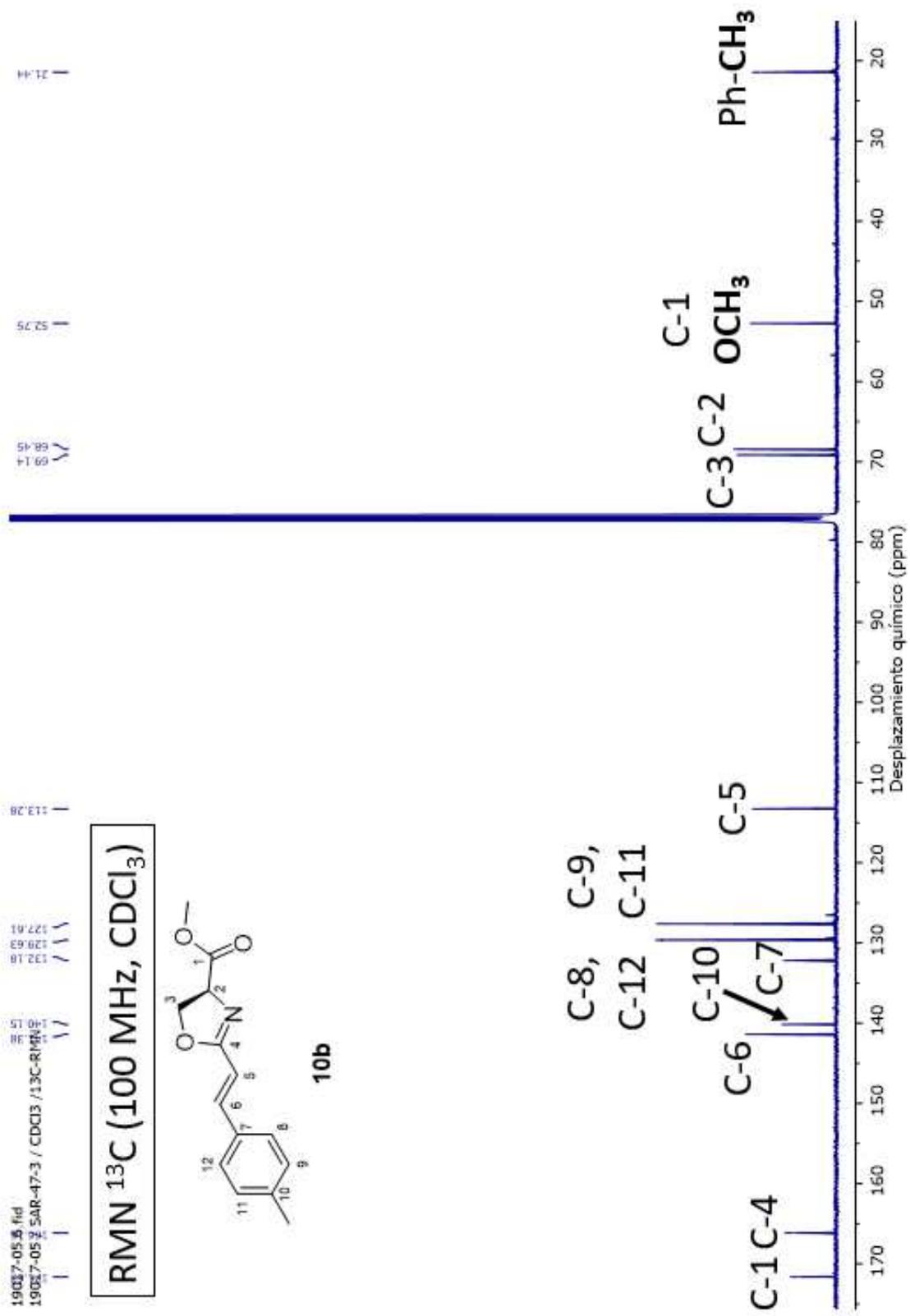


Figura 33. Espectro de RMN de ¹³C para la oxazolina 10b.

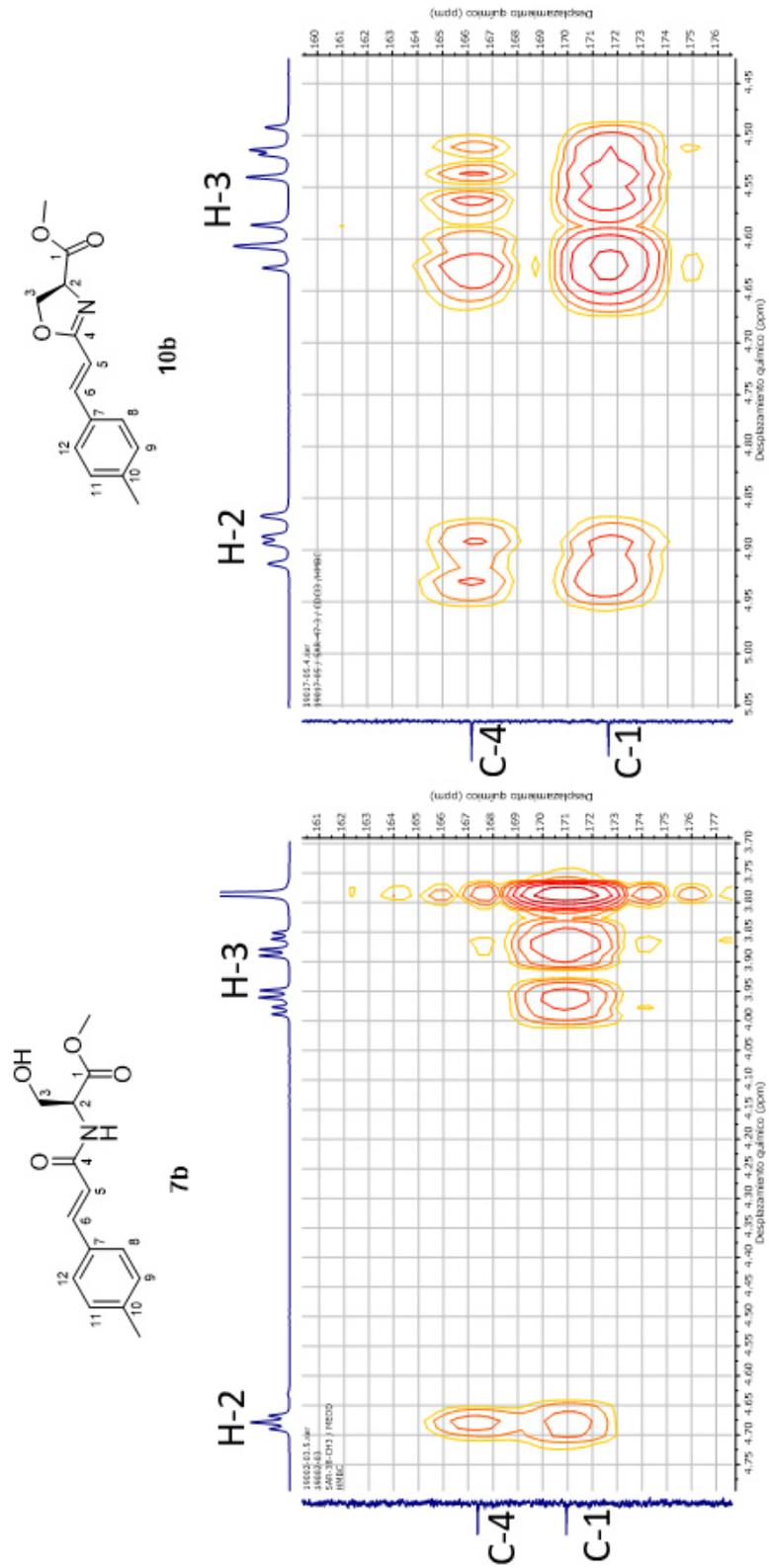


Figura 34. Comparativa de HMBC de acrilamida 7b y oxazolina 10b.

5.5.3 Elucidación estructural de oxazolina de 10c.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para la oxazolina **10c**: a un desplazamiento de 3.82 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 4.52 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 8.7 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.62 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 8.3$ Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.90 ppm se observa un doble de doble con constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 4.4 Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.58 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.3$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.07 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 8.6$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.39 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.3$ Hz que integra para 1H, al protón vinílico H-6; a 7.47 ppm se observa un multiplete que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.78 ppm correspondiente al metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 68.45 ppm correspondiente al C-2; a 69.21 ppm correspondiente al C-3; a 114.09 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 116.03 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 21.9$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 129.42 ppm

un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.4$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 131.13 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 3.3$ Hz correspondiente a C-7; a 140.10 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6; a 163.62 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 250.7$ Hz, correspondiente al C-10; a 165.84 ppm correspondiente al C-4; a 171.52 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

En el espectro de flúor aparece un único singulete a -110.41 ppm, lo que nos indica la presencia de un solo átomo de este halógeno en la molécula.

5.5.4 Elucidación estructural de oxazolina 10d.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para la oxazolina **10d**: a un desplazamiento de 3.82 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 4.53 ppm se observa un doble de doble con dos constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 8.8 Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a 4.62 ppm se observa un triplete con constante de acoplamiento de $J = 8.3$ Hz, que integran para 1H, correspondiente al H-3; a un desplazamiento químico de 4.90 ppm se observa un doble de doble con constantes de acoplamiento de $J = 10.5$ Hz y 8.0 Hz, que integra para 1H, correspondiente al H-2; a campo más bajo se observa a 6.68 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.3$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.39 ppm se observa un multiplete que integra para 3H, correspondientes a los

protones aromáticos H-9, H-10 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.43 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.3$ Hz, que integra para 1H, correspondiente al protón vinílico H-6; a un desplazamiento de 7.49 ppm se observa un multiplete que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.77 ppm correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 68.39 ppm correspondiente al C-2; a 69.21 ppm correspondiente al C-3; a 114.30 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 127.65 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 128.90 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 129.83 ppm correspondiente al carbono C-10; a 134.89 ppm correspondiente al carbono C-7; a 141.47 correspondiente al carbono vinílico C-6; a 166.05 ppm correspondiente al C-4; a 171.54 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.6 Preparación de oxazoles

Para la síntesis de oxazoles se realizó la *O*-alquilación de las acrilamidas **7 a-d** con Deoxo-Fluor® en diclorometano a -20°C en baño de metanol y hielo seco durante 30 min para formar la oxazolina. Pasado este tiempo la reacción fue monitoreada en cromatografía en capa fina para comprobar que el heterociclo se formó y posteriormente se llevó a cabo su oxidación adicionando BrCCl₃ y DBU, se elevó la temperatura del baño a 0°C y se dejó la reacción en agitación durante 8 horas, obteniendo rendimientos de moderados a buenos (59-88%).

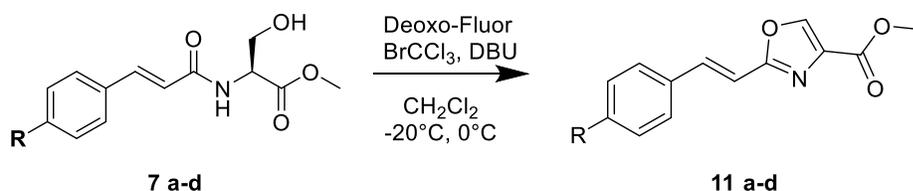


Figura 35. Preparación de oxazoles a partir de acrilamidas

El elemento clave para confirmar la formación de los oxazoles en Resonancia Magnética Nuclear fue la desaparición de nuestro sistema ABX. Esto es debido a que en las posiciones dos y tres de las oxazolinas se encontraban uno y dos protones respectivamente que observábamos como tres dobles de dobles, sin embargo, con la oxidación del heterociclo ahora ya no hay ningún hidrógeno en el carbono dos y en el carbono tres queda solo un protón, el cual es visto como un singulete que aparece a campo bajo por ser un protón aromático vecino al oxígeno. De igual manera en el espectro de carbono, las señales correspondientes a los carbonos dos y tres aparecen a campos más bajos en comparación con las oxazolinas. Para confirmar que estas señales pertenecen a las posiciones dos y tres en el heterociclo, fue necesario realizar un HSQC para obtener la interacción del carbono y su protón y HMBC para conocer la interacción H-C a tres enlaces y ubicarlos adecuadamente en la molécula.

5.6.1 Elucidación estructural de oxazol 11a.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el oxazol **11a**: a un desplazamiento de 3.84 ppm se observa un singulete que integra para 3H,

correspondiente al grupo metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**) ; a un desplazamiento de 3.94 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo (**OCH₃**); a campo más bajo se observa a 6.82 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 6.92 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.48 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones H-8 y H-12; a un desplazamiento de 7.59 ppm, se observa un doblete, con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-6 del enlace vinílico; a campo más bajo a un desplazamiento de 8.19 ppm se observa un singulete que integra para 1H, correspondiente al H-3.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.21 ppm correspondiente al metoxilo del éster (**OCH₃-C-1**); a 55.40 ppm correspondiente al metoxilo del anillo aromático (**OCH₃C₆H₄**); a 110.51 ppm correspondiente al carbono C-5; a 114.42 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 127.73 ppm correspondiente al carbono vinílico C-7; a 128.95 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 134.22 ppm correspondiente al carbono C-2; a 138.04 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6; a 143.13 ppm correspondiente al carbono C-3; a 160.95 ppm

correspondiente al C-10; a 161.80 ppm correspondiente al C-4; a 162.64 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster.

5.6.2 Elucidación estructural de oxazol 11b.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el oxazol **11b** (**Figura 35**): a 2.40 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al metilo unido al anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); a un desplazamiento de 3.96 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a campo más bajo se observa a 6.92 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.23 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J=7.9$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.45 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J=7.9$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12; a un desplazamiento de 7.63 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón H-6 vinílico; a campo más bajo se observa a 8.22 ppm un singulete que integra para 1H, correspondiente al H-3.

Así mismo, el espectro de carbono (**Figura 36**) mostró las siguientes señales: a 21.44 ppm correspondiente al metilo unido al anillo aromático ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$); a 52.22 ppm correspondiente al metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 111.84 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 127.38 ppm correspondiente a los

carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 129.69 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 132.24 ppm correspondiente al carbono C-7; a 132.32 ppm correspondiente al carbono C-2; a 138.39 ppm correspondiente al carbono C-6; a 140.08 ppm correspondiente al carbono C-10; a 143.26 correspondiente al carbono vinílico C-3; a 161.76 ppm correspondiente al C-1 del grupo éster; a 162.44 ppm correspondiente al carbono C-4.

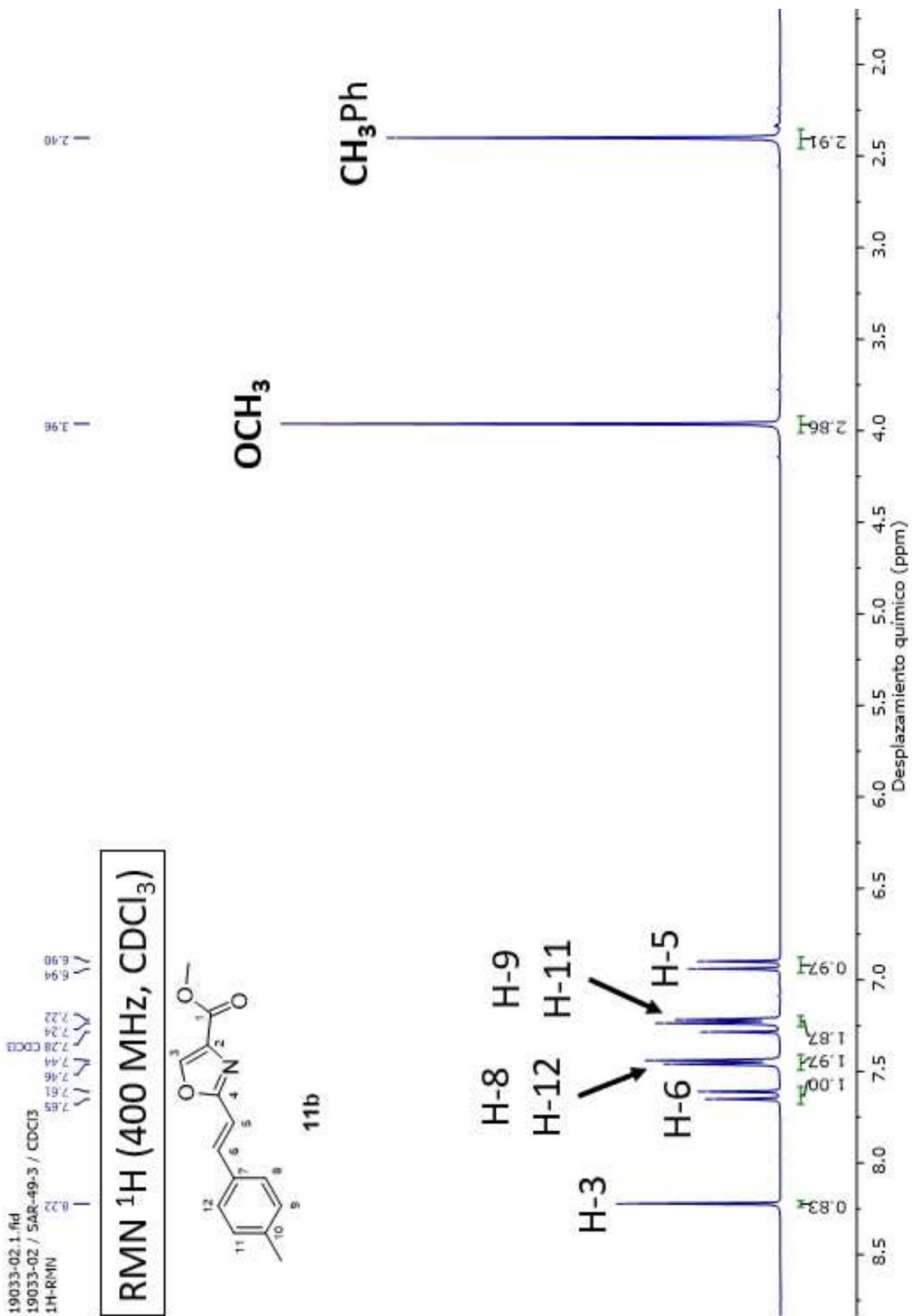


Figura 36. Espectro de RMN de ¹H para oxazol 11b.

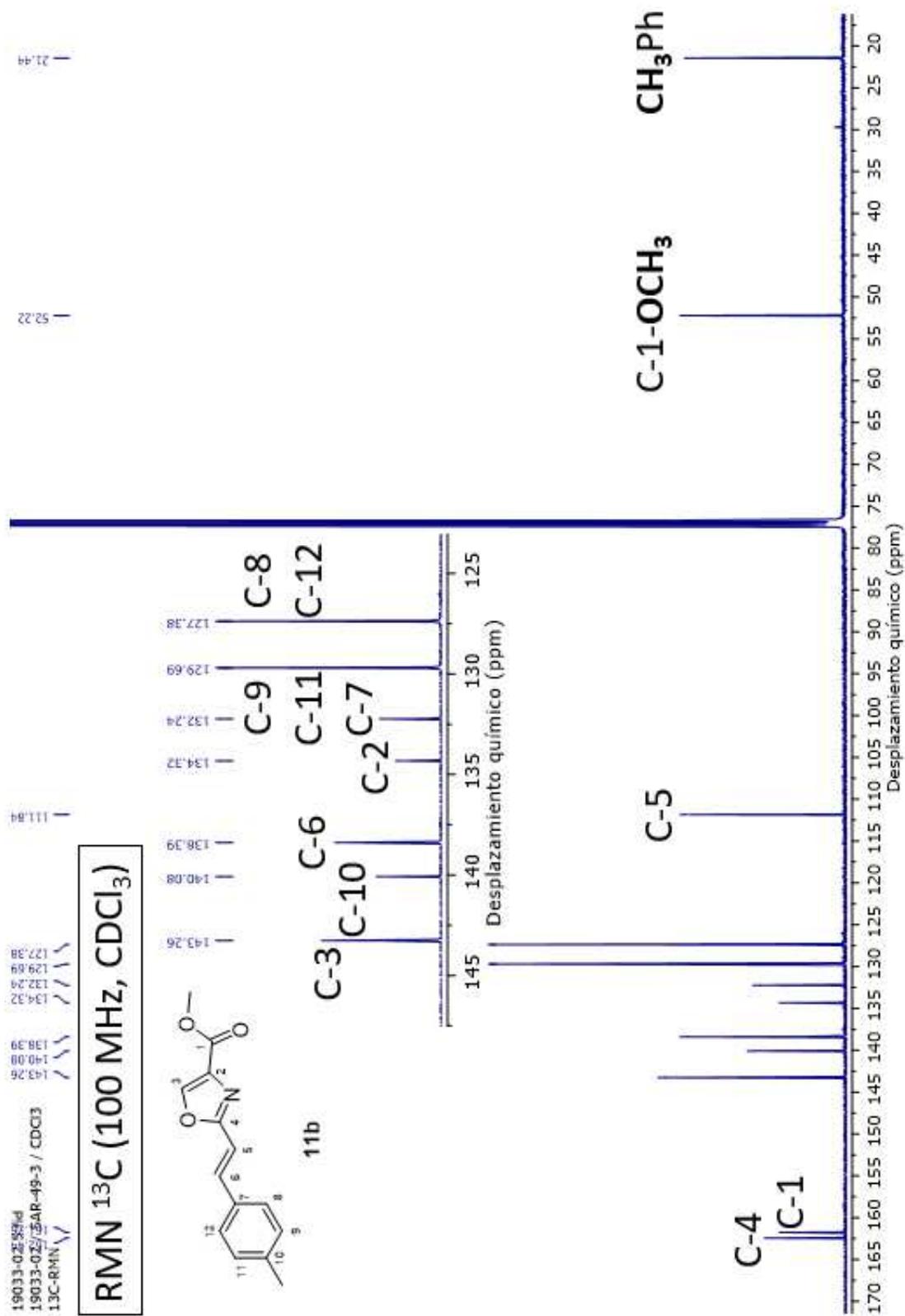


Figura 37. Espectro de RMN de ¹³C para oxazol 11b.

5.6.3 Elucidación estructural de oxazol 11c.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el oxazol **11c**: a un desplazamiento de 3.97 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a campo más bajo se observa a 6.88 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.11 ppm se observa un multiplete que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-9 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.53 ppm se observa un multiplete que integra para 2H correspondiente a los protones H-8 y H-12; a 7.62 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans} = 16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón vinílico H-6; a campo más bajo se observa a 8.23 ppm un singulete que integra para 1H, correspondiente al H-3.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.26 ppm correspondiente al metoxilo del grupo éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 112.58 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 116.11 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 22.0$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-9 y C-11; a 129.18 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 8.4$ Hz correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 131.20 ppm un doblete con constante de acoplamiento de $J = 3.4$ Hz correspondiente a C-7; a 134.38 ppm correspondiente al carbono vinílico C-2; a 137.11 ppm correspondiente al carbono vinílico C-6; a 143.38 ppm correspondiente al carbono vinílico C-3; a 161.68 ppm correspondiente al C-4; a 162.07 ppm correspondiente al carbono C-

1 del grupo éster; a 163.55 ppm se observa un doblete con una constante de acoplamiento de $J = 250.7$ Hz, correspondiente al C-10.

En el espectro de flúor aparece un único singulete a -110.41 ppm, lo que nos indica la presencia de un solo átomo de este halógeno en la molécula.

5.6.4 Elucidación estructural de oxazol 11d.

A continuación, se describen las señales de RMN de ^1H para el oxazol **11d**: a un desplazamiento de 3.97 ppm se observa un singulete que integra para 3H, correspondiente al grupo metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a campo más bajo se observa a 6.98 ppm un doblete con una constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al H-5 del enlace vinílico; a un desplazamiento de 7.42 ppm se observa un multiplete que integra para 3H, correspondientes a los protones aromáticos H-9, H-10 y H-11 del anillo *p*-sustituido; a un desplazamiento de 7.56 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J = 6.7$ Hz que integra para 2H, correspondientes a los protones aromáticos H-8 y H-12; a un desplazamiento de 7.66 ppm se observa un doblete con constante de acoplamiento de $J_{trans}=16.4$ Hz que integra para 1H, correspondiente al protón vinílico H-6; a campo más bajo se observa a 8.24 ppm un singulete que integra para 1H, correspondiente al H-3.

Así mismo, el espectro de carbono mostró las siguientes señales: a 52.26 ppm correspondiente al metoxilo del éster ($\text{OCH}_3\text{-C-1}$); a 112.84 ppm correspondiente al carbono vinílico C-5; a 127.42 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos

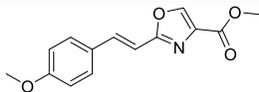
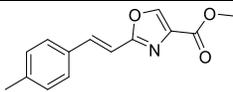
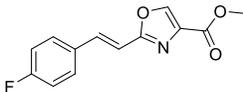
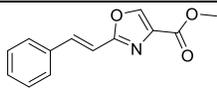
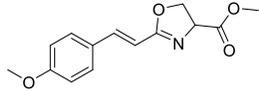
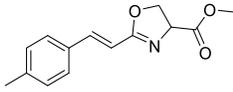
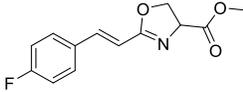
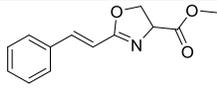
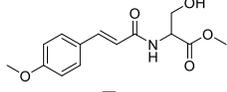
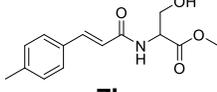
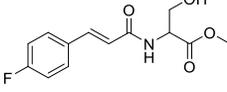
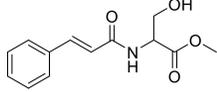
C-9 y C-11; a 128.98 ppm correspondiente a los carbonos aromáticos C-8 y C-12; a 129.75 ppm correspondiente al carbono C-10; a 134.37 ppm correspondiente al carbono C-2; a 134.96 ppm correspondiente al carbono C-7; a 138.42 correspondiente al carbono vinílico C-6; a 143.36 ppm correspondiente al carbono C-3; a 161.72 ppm correspondiente al carbono C-1 del grupo éster; a 162.23 ppm correspondiente al C-4.

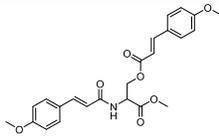
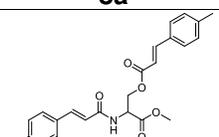
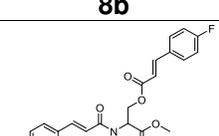
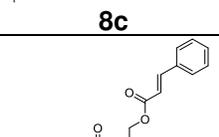
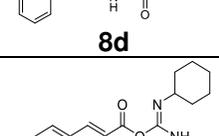
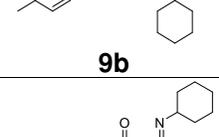
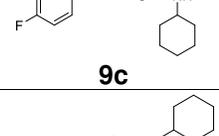
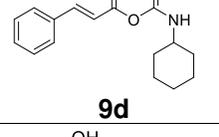
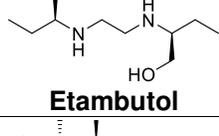
5.7 Evaluación de la actividad antituberculosa mediante la técnica de MABA

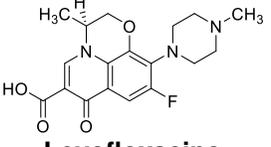
Los 19 compuestos obtenidos y tres fármacos de referencia, rifampicina, etambutol y levofloxacino (**Figura 37**) fueron evaluados inicialmente a seis concentraciones diferentes 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 $\mu\text{g/mL}$, bajo la técnica de MABA con la finalidad de determinar el efecto antifímico de las moléculas, así como analizar un posible efecto estructural en esta actividad.

Los experimentos fueron realizados dos veces y cada una de las concentraciones fueron evaluadas por duplicado, sobre una cepa de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ATCC 27294 (sensible a los fármacos antifímicos de primera línea S, I, R, E, Pz) y una cepa de aislado clínico multifármaco resistente de *M. tuberculosis* G122 (resistente a etambutol, rifampicina e isoniacida), obteniéndose los siguientes resultados mostrados en la tabla 12.

Tabla 12. Resultados de la actividad antimicobacteriana mediante MABA.

Compuesto	Peso molecular	LogP	<i>M. tuberculosis</i> CMI (µg/mL)- (µM)	
			H37Rv*	G122**
 11a	259.2610	2.36	6.25 (24.1 µM)	12.5 (48.2 µM)
 11b	243.2620	2.98	0.7812 (3.21 µM)	6.25 (25.7 µM)
 11c	247.2250	2.65	3.125 (12.6 µM)	12.5 (50.5 µM)
 11d	229.2350	2.49	12.5 (54.5 µM)	12.5 (54.5 µM)
 10a	261.2770	1.97	6.25 (23.9 µM)	12.5 (47.8 µM)
 10b	245.2780	2.58	6.25 (25.4 µM)	12.5 (50.9 µM)
 10c	249.2414	2.25	12.5 (50.1 µM)	25 (100.3 µM)
 10d	231.2510	2.09	12.5 (54.1 µM)	12.5 (54.1 µM)
 7a	279.2920	0.56	>100 (>358 µM)	>100 (>358 µM)
 7b	263.2930	1.17	>100 (>379.8 µM)	>100 (>379.8 µM)
 7c	267.2564	0.84	>100 (>374.1 µM)	>100 (>374.1 µM)
 7d	249.2660	0.68	>100 (>401.1 µM)	>100 (>401.1 µM)

 <p>8a</p>	439.4640	2.9	50 (113.7 μM)	>100 (>227.5 μM)
 <p>8b</p>	407.4660	4.13	50 (122.7 μM)	>100 (>245.4 μM)
 <p>8c</p>	415.3928	3.47	50 (120.3 μM)	>100 (>240.7 μM)
 <p>8d</p>	379.4120	3.15	>100 (>263.5 μM)	>100 (>263.5 μM)
 <p>9b</p>	368.5210	6.16	>100 (>271.3 μM)	>100 (>271.3 μM)
 <p>9c</p>	372.4844	5.83	>100 (>268.4 μM)	>100 (>268.4 μM)
 <p>9d</p>	354.4940	5.67	>100 (>282 μM)	>100 (>282 μM)
 <p>Etambutol</p>	204.3140	0.06	3.125 (15.2 μM)	>6.25 (>30.5 μM)
 <p>Rifampicina</p>	822.9530	3.71	0.0488 (0.06 μM)	0.1953 (0.23 μM)

 <p>Levofloxacin</p>	361.3734	1.35	0.1953 (0.54 μM)	0.1953 (0.54 μM)
--	----------	------	---------------------	---------------------

*Sensible a los fármacos de primera línea (S, I, R, E, Pz), **Resistente a los fármacos de primera línea (I, R, E). S= Estreptomina, I= isoniacida, R= rifampicina, E= etambutol, Pz= pirazinamida

Los compuestos que en el primer experimento mostraron valores de CMI de 3.125 μg/mL, incluyendo a los fármacos de referencia, se les realizó una subdilución (3.125, 1.5625, 0.7812, 0.3906, 0.1953, 0.0976, 0.0488 μg/mL), observándose que solo el compuesto nombrado como (**11b**) disminuyó su CMI a 0.7812 μg/mL.

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 12, se puede observar que tanto las oxazolinas y los oxazoles presentaron una concentración mínima inhibitoria (CMI), menor o igual a 12.5 μg/mL (excepto la oxazolina de flúor con 25 μg/mL), siendo estos últimos ligeramente más activos tanto para la cepa sensible como para la resistente. Mientras que los sistemas insaturados abiertos (acrilamidas y acrilatos) y acoplados con DCC (anhídridos), presentan baja actividad con valores de CMI mayores a 50 μg/mL.

Cabe destacar al compuesto **11b** (oxazol de metilo), el cual presenta un valor de 0.7812 y 6.25 μg/mL ante la cepa H37Rv y G122 respectivamente, siendo cuatro veces más activo que el fármaco etambutol ante la sepa sensible y manteniendo su actividad ante la cepa resistente de *M. tuberculosis* bajo nuestras condiciones de estudio.

La lipofilicidad y la planaridad en la molécula parecen jugar un papel importante para que se pueda llevar a cabo su actividad. En las acrilamidas es observable una nula actividad ante las cepas de *M. tuberculosis*, donde sustituyentes unidos al carbono quiral presentan libre rotación, sin embargo, al ciclar estas moléculas, se impide esta rotación, pues ahora el OH pasa a ser parte del heterociclo, quedando solo el grupo éster libre de giro, teniendo una planaridad mayor en las oxazolininas en comparación con las acrilamidas. De igual manera se observa un aumento en la lipofilicidad (pasando de valores de Log P 0-1 a valores de 1-2). La presencia de estos dos factores en el heterociclo formado se ven reflejados en los resultados de CMI, bajando considerablemente.

Avalos Alanís y colaboradores en el año 2017 sintetizaron acrilamidas y oxazolininas bencilsustituidas que evaluaron ante cepas sensibles y resistentes de *M. tuberculosis*. Ellos observaron que tanto las acrilamidas como los heterociclos presentaban actividad ante las micobacterias, teniendo una ligera mayor actividad las oxazolininas²¹. Esto contrasta con nuestros resultados, donde se observan valores de CMI de 100 µg/mL en acrilamidas y de 6.25 µg/mL en oxazolininas. El que las acrilamidas de Avalos Alanís y colaboradores sean bencilsustituidas hace que presenten un Log P mayor a las acrilamidas mostradas en este trabajo, las cuales cuentan con un éster metílico, característica que podría ser la determinante en la capacidad de entrada y diferencia de acción antifúngica entre ambas moléculas, sin embargo, el Log P no lo es todo, pues si exclusivamente esa fuera la característica responsable de la actividad, los acrilatos (**8a-d**) y anhídridos (**9a-d**) se esperaría una actividad

elevada en las micobacterias al ser las moléculas que presentan la lipofilicidad más alta, situación que no es observable en los resultados.

En el caso de los oxazoles, al estar aromatizado el heterociclo, la molécula tiene una mayor planaridad y lipofilicidad que las oxazolininas. Esto se refleja en la CMI, donde estas moléculas presentan los valores más bajos ante las micobacterias. Por tanto, podemos decir que la planaridad y la lipofilicidad son dos factores que en conjunto ayudan a que los oxazoles presenten una mejor actividad antimicobacteriana en comparación con las demás moléculas evaluadas. Los sustituyentes en la posición *para* de fenilo no parecen tener un efecto significativo en la actividad, aunque cabe señalar que en las cinco series estudiadas el derivado de ácido cinámico (H-fenilo) presentó los mayores valores de CMI, mientras que en el caso de las oxazolininas los compuestos con los valores menores de CMI fueron aquellos que presentaron el sustituyente *p*-OCH₃ y *p*-CH₃ característica que se mantiene en los oxazoles siendo el más activo el de *p*-CH₃ seguido de el de *p*-OCH₃ y *p*-F, sin embargo, de manera general no existe tendencia clara hacia alguno de los sustituyentes empleados.

Estos resultados son muy prometedores, ya que los valores de CMI obtenidos son muy competitivos con los fármacos utilizados en la actualidad, principalmente en el caso de las cepas resistentes a los antituberculosos de primera línea.

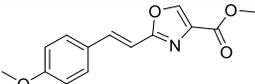
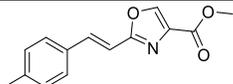
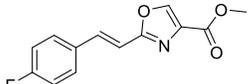
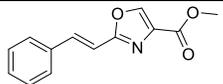
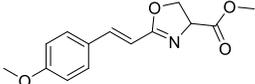
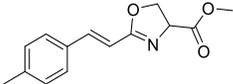
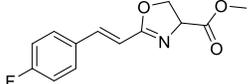
Como ya se mencionó anteriormente en el texto, otro punto importante a considerar es la citotoxicidad que los fármacos actuales presentan, por lo que en base a los resultados anteriores es que se procedió a evaluar la citotoxicidad de

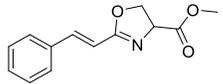
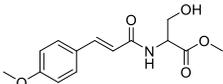
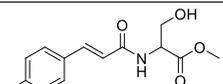
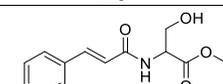
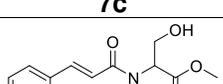
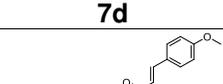
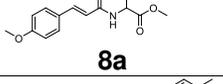
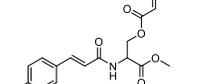
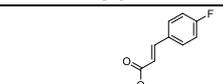
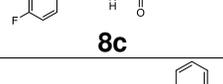
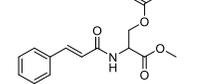
los compuestos sintetizados ante la línea celular VERO (Riñón de mono verde) *in vitro*, para adentrarnos al posible grado de seguridad de estas moléculas.

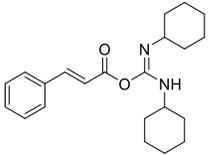
5.8 Evaluación de la actividad citotóxica *in vitro* mediante la técnica WST-1

La evaluación de la actividad citotóxica *in vitro* ante la línea celular VERO se realizó con 18 compuestos (excepto acrilamida **7c**) bajo la técnica WST-1, determinando su porcentaje de viabilidad celular a dos concentraciones: 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$ como se observa en la tabla 13.

Tabla 13. Porcentaje de viabilidad mediante WST-1.

Compuesto	LogP	% Viabilidad	
		50 ($\mu\text{g/mL}$)	100 ($\mu\text{g/mL}$)
 11a	2.49	99.60 \pm 3.85	96.82 \pm 2.48
 11b	2.36	102.25 \pm 3.02	100.32 \pm 2.41
 11c	2.98	102.12 \pm 3.44	98.96 \pm 5.12
 11d	2.65	99.57 \pm 4.54	101.68 \pm 2.40
 10a	2.09	94.83 \pm 4.01	20.85 \pm 7.25
 10b	1.97	85.11 \pm 2.80	16.97 \pm 1.41
 10c	2.58	91.61 \pm 3.44	18.56 \pm 1.12

 <p>10d</p>	2.25	68.61±7.78	12.42±1.54
 <p>7a</p>	0.68	100.27±2.33	103.32±2.46
 <p>7b</p>	0.56	100.21±2.60	101.16±2.72
 <p>7c</p>	1.17	ND	ND
 <p>7d</p>	0.84	97.08±5.67	99.40±7.16
 <p>8a</p>	3.15	39.07±2.52	11.45±0.72
 <p>8b</p>	2.9	28.78±3.71	18.66±0.80
 <p>8c</p>	4.13	21.10±7.44	8.65±0.32
 <p>8d</p>	3.47	16.76±4.04	10.66±1.21
 <p>9b</p>	5.67	79.28±2.59	95.54±5.49
 <p>9c</p>	6.16	82.49±4.46	85.48±7.96

 <p>9d</p>	5.83	83.86±7.82	83.78±4.95
--	------	------------	------------

Los compuestos evaluados presentan una muy variada actividad citotóxica, siendo los acrilatos (**8 a-d**) las moléculas con las viabilidades más bajas mostrando valores de porcentaje de viabilidad por debajo del 20% para la concentración de 100 µg/mL al igual que las oxazolininas, sin embargo, estas últimas a la concentración de 50 µg/mL presentan un aumento considerable en la viabilidad quedando entre un 68-99% lo cual es un buen resultado, ya que las oxazolininas que tuvieron mejor actividad antituberculosa (**10a** y **10b**) presentaron una CMI de 6.25 µg/mL, lo cual es una concentración ocho veces menor a la necesaria para lograr la actividad antifúngica.

Con respecto a los oxazoles (**11a-d**), estos presentaron resultados muy interesantes ya que muestran IC₅₀ por arriba de los 100 µg/mL, indicando un rango de seguridad amplio para su uso, al igual que las acrilamidas (**7a-d**) y los anhídridos (**9a-d**).

En base a estos resultados el compuesto más prometedor es el oxazol **11b**, el cual presenta una alta actividad antituberculosa (0.7812 µg/mL) y una muy baja citotoxicidad (>100 µg/mL) ante la línea de crecimiento normal, lo que aumenta su valor, pues este es uno de los grandes problemas de los fármacos actualmente utilizados, convirtiéndola en una gran candidata a tener aplicabilidad a corto plazo.

Los fármacos actualmente usados ante *M. tuberculosis* muestran IC₅₀ mayores a 100 µg/mL, como el etambutol con un IC₅₀: >150 µg/mL²² o la rifampicina con IC₅₀: 125 µg/mL⁶. Dentro de nuestras moléculas sintetizadas podemos observar que los compuestos que se asemejan a tales viabilidades son las acrilamidas y los oxazoles, siendo estos últimos los destacables por tener una importante actividad antimicobacteriana. De hecho, si realizamos la comparativa del compuesto **11b** con etambutol, podemos ver que nuestro oxazol tiene una actividad comparable a este fármaco, pues en la actividad antimicobacteriana tiene una CMI cuatro veces mayor que este fármaco de referencia y una viabilidad celular arriba de 100 µg/mL.

Por otra parte, llama la atención la actividad mostrada por las oxazolininas lo que motiva a que en trabajos posteriores se puedan evaluar como posibles agentes anti-cáncer.

CAPÍTULO 6

6. CONCLUSIONES

1. Se diseñó una metodología de síntesis de oxazolinas y oxazoles α,β -insaturados partiendo del aminoácido *L*-serina y análogos de ácidos cinámicos *p*-sustituidos, involucrando 6 pasos de reacción, logrando la obtención de las moléculas propuestas.
2. Se lograron sintetizar 4 oxazoles, 4 oxazolinas, 4 acrilamidas, 4 acrilatos y 3 anhídridos de DCC, dando un total de 19 moléculas.
3. Se logró realizar en un tiempo corto y de manera sencilla la reacción de HWE en un sistema de sonicación, siendo una buena alternativa a su síntesis convencional.
4. La formación del sistema α,β -insaturado del acrilato de etilo presentó buenos rendimientos (92-96%), mientras que para la hidrólisis estos fueron de moderados a buenos (75-92%).
5. Se establecieron condiciones de acoplamiento para la formación exclusiva de acrilamidas con buenos rendimientos, evitando la formación de subproductos.
6. La reacción de *O*-alquilación permite la obtención de oxazolinas en corto tiempo (30 min) pero en rendimientos bajos (14-60%), excepto para el sustituyente *p*-flúor (94%).

7. La *O*-alquilación y oxidación *in situ* para la formación de oxazoles a 0°C presentó rendimientos del 59-88%, valores similares a los reportados en literatura.
8. Las oxazolininas presentan una alta actividad antifúngica (6.25-25 µg/mL) y citotóxica (12-94%) ante la línea celular VERO.
9. Los oxazoles presentan una alta actividad antifúngica (0.7812-12.5 µg/mL) y una baja citotoxicidad (>96%) ante la línea celular VERO.
10. Las acrilamidas, acrilatos y anhídridos presentan una baja actividad antituberculosa con valores mayores a 100 µg/mL.
11. El oxazol **11b** es un excelente candidato para su posterior análisis *in vivo* debido a su alta actividad antituberculosa y baja citotoxicidad.
12. La oxazolinina **10a** es un excelente candidato para su posterior análisis antineoplásico *in vitro* por su alta citotoxicidad.
13. Las moléculas heterocíclicas α,β -insaturadas son más activas que las acrilamidas α,β -insaturadas.
14. El sustituyente en posición *para* no es determinante en la actividad antifúngica.
15. La lipofilia y la planaridad molecular son determinantes en la actividad antifúngica.

REFERENCIAS

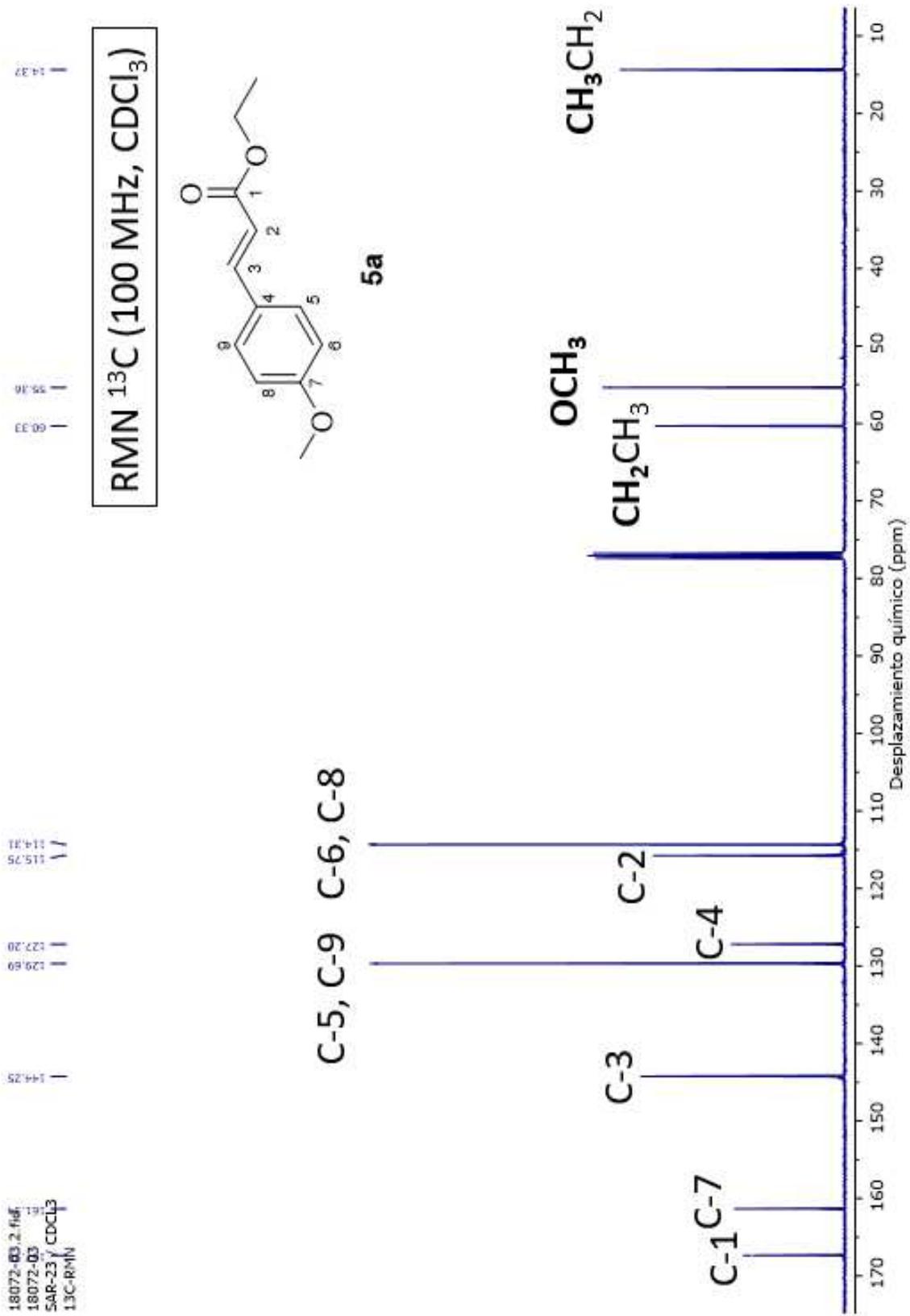
- (1) World Health Organization. *Global Tuberculosis Report 2018*; World Health Organization, 2018.
- (2) Gomez, J. E.; McKinney, J. D. M. Tuberculosis Persistence, Latency, and Drug Tolerance. *Tuberculosis* **2004**, *84* (1), 29–44.
- (3) González-Martín, J.; García-García, J. M.; Anibarro, L.; Vidal, R.; Esteban, J.; Blanquer, R.; Moreno, S.; Ruiz-Manzano, J. Documento de Consenso Sobre Diagnóstico, Tratamiento y Prevención de La Tuberculosis. *Arch. Bronconeumol.* **2010**, *46* (5), 255–274.
- (4) Medicos Sin Fronteras. Medicamentos Para La Tuberculosis Resistente: Bajo El Microscopio. *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*. 2012, p 48.
- (5) Hadda, T. B.; Bendaha, H.; Sheikh, J.; Ahmad, M.; Warad, I. Computational POM Evaluation of Experimental in Vitro Trypanosoma Cruzi and Mycobacterium Tuberculosis Inhibition of Heterocyclic-2-Carboxylic Acid (3-Cyano-1, 4-Di-Noxidequinoxalin-2-Yl) Amide Derivatives. *Med. Chem. Res.* **2014**, *23* (4), 1956–1965.
- (6) Moraski, G. C.; Chang, M.; Villegas-Estrada, A.; Franzblau, S. G.; Mollmann, U.; Miller, M. J. Structure-Activity Relationship of New Anti-Tuberculosis Agents Derived from Oxazoline and Oxazole Benzyl Esters. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45* (5), 1703–1716.
- (7) Turchi, I. J. Oxazoles. In *Chemistry of Heterocyclic Compounds*; John Wiley & Sons, Inc., 2008; pp 1–341.
- (8) Bansal, S.; Halve, A. K. Oxazolines: Their Synthesis and Biological Activity. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2014**, *5* (11), 4601.
- (9) Yeh, V. S. C. Recent Advances in the Total Syntheses of Oxazole-Containing Natural Products. *Tetrahedron* **2004**, *60* (52), 11995–12042.
- (10) Meyers, A. I.; Mihelich, E. D. The Synthetic Utility of 2-Oxazolines. *Angew. Chemie Int. Ed. English* **1976**, *15* (5), 270–281.
- (11) Ghosh, A. K.; Mathivanan, P.; Cappiello, J. C₂-Symmetric Chiral Bis (Oxazoline)–Metal Complexes in Catalytic Asymmetric Synthesis. *Tetrahedron. Asymmetry* **1998**, *9* (1), 1.
- (12) Glaied, O.; Delaite, C.; Hurtrez, G.; Joubert, M.; Dumas, P. Oxazoline-Terminated Macromonomers by the Alkylation of 2-Methyl-2-Oxazoline. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* **2005**, *43* (11), 2440–2447.
- (13) He, Z.; Miao, L.; Jordan, R.; S-Manickam, D.; Luxenhofer, R.; Kabanov, A. V. A Low Protein Binding Cationic Poly(2-Oxazoline) as Non-Viral Vector. *Macromol. Biosci.* **2015**, *15* (7), 1004–1020.

- (14) de Souza, L. A.; da Silva, E. T.; Lourenço, M. C. S.; de Souza, M. V. N. Synthesis and Antitubercular Evaluation of Aryl Substituted 2-Oxazolines from L-Amino Acids. *Mediterr. J. Chem.* **2014**, *2* (5), 648–657.
- (15) Avalos-Alanis, F. G.; Hernandez-Fernandez, E.; Carranza-Rosales, P.; Lopez-Cortina, S.; Hernandez-Fernandez, J.; Ordonez, M.; Guzman-Delgado, N. E.; Morales-Vargas, A.; Velazquez-Moreno, V. M.; Santiago-Mauricio, M. G. Synthesis, Antimycobacterial and Cytotoxic Activity of Alpha,Beta-Unsaturated Amides and 2,4-Disubstituted Oxazoline Derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27* (4), 821–825.
- (16) De, P.; Koumba Yoya, G.; Constant, P.; Bedos-Belval, F.; Duran, H.; Saffon, N.; Daffé, M.; Baltas, M. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of New Cinnamic Derivatives as Antituberculosis Agents. *J. Med. Chem.* **2011**, *54* (5), 1449–1461.
- (17) Senadi, G. C.; Hu, W.-P.; Hsiao, J.-S.; Vandavasi, J. K.; Chen, C.-Y.; Wang, J.-J. Facile, Selective, and Regiocontrolled Synthesis of Oxazolines and Oxazoles Mediated by ZnI₂ and FeCl₃. *Org. Lett.* **2012**, *14* (17), 4478–4481.
- (18) Phillips, A. J.; Uto, Y.; Wipf, P.; Reno, M. J.; Williams, D. R. Synthesis of Functionalized Oxazolines and Oxazoles with DAST and Deoxo-Fluor. *Org. Lett.* **2000**, *2* (8), 1165–1168.
- (19) Li, D.; Gao, N.; Zhu, N.; Lin, Y.; Li, Y.; Chen, M.; You, X.; Lu, Y.; Wan, K.; Jiang, J.-D.; Jiang, W.; Si, S. Discovery of the Disubstituted Oxazole Analogues as a Novel Class Anti-Tuberculotic Agents against MDR- and XDR-MTB. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25* (22), 5178–5181.
- (20) Sebai, A.; Gadomska-Gajadhur, A.; Ruśkowski, P.; Konopka, M.; Synoradzki, L. *Preparation of Methyl Ester of L-Serine*; 2017.
- (21) Avalos-Alanís, F. G.; Hernández-Fernández, E.; Carranza-Rosales, P.; López-Cortina, S.; Hernández-Fernández, J.; Ordóñez, M.; Guzmán-Delgado, N. E.; Morales-Vargas, A.; Velázquez-Moreno, V. M.; Santiago-Mauricio, M. G. Synthesis, Antimycobacterial and Cytotoxic Activity of α,β -Unsaturated Amides and 2,4-Disubstituted Oxazoline Derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27* (4), 821–825.
- (22) Lall, N.; Meyer, J. J. M.; Wang, Y.; Bapela, N. B.; van Rensburg, C. E. J.; Fourie, B.; Franzblau, S. G. Characterization of Intracellular Activity of Antitubercular Constituents the Roots of *Euclea Natalensis*. *Pharm. Biol.* **2005**, *43* (4), 353–357.

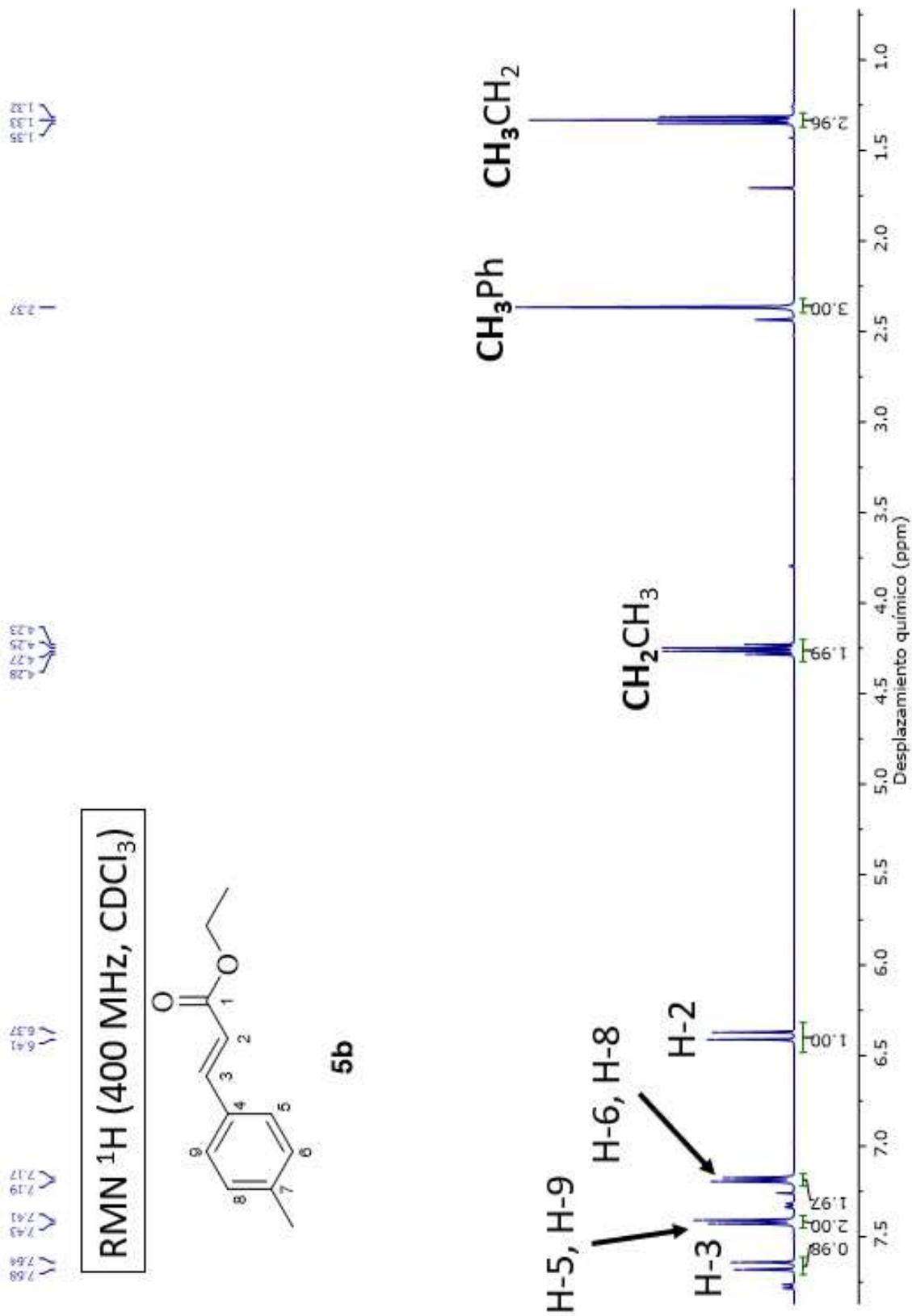
APENDICE

APENDICE A:

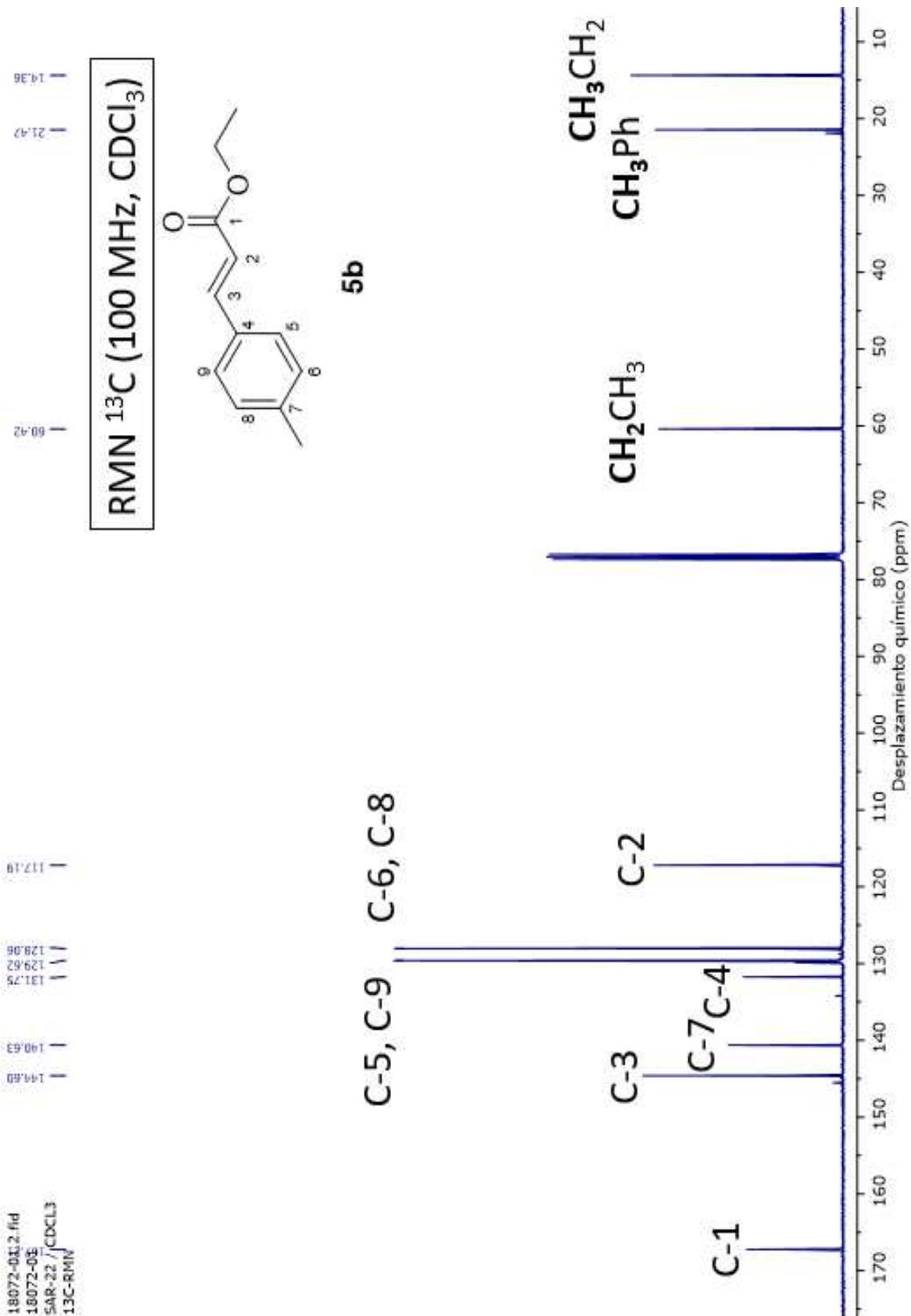
ESPECTROS DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR



Espectro 2. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de acrilato de etilo 5a.



Espectro 3. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de acrilato de etilo 5b.



Espectro 4. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de acrilato de etilo 5b.

18072-0461718
18072-04
SAR-23Y 00CL3
1H-RMN

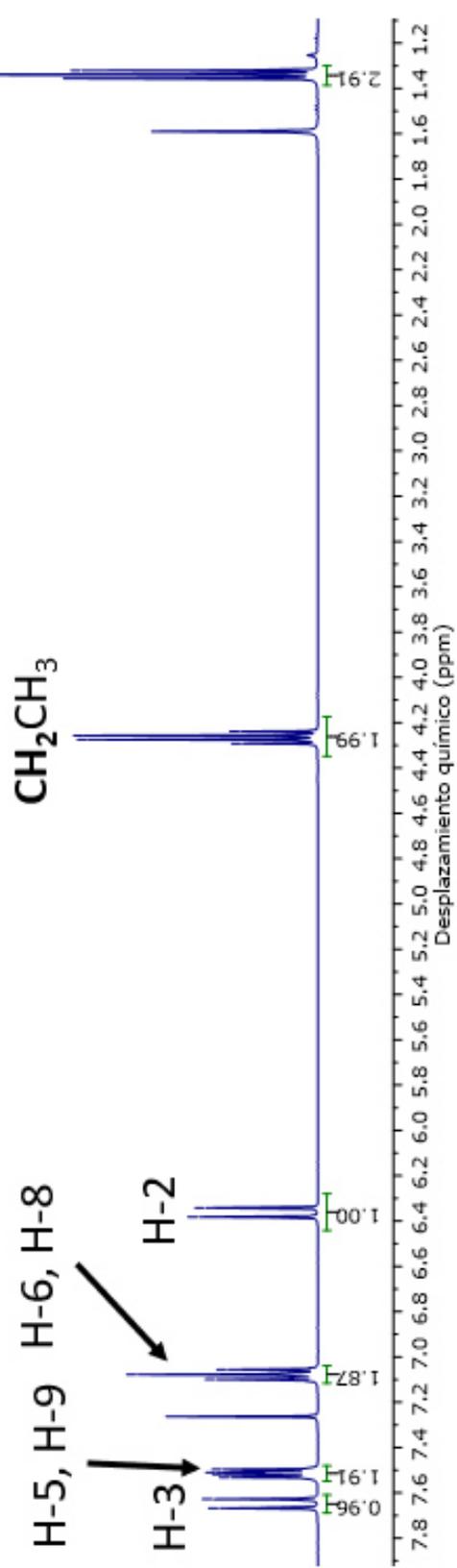
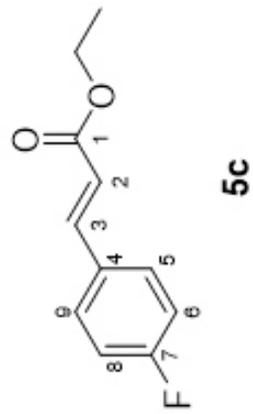
7.10
7.08

6.94
6.92

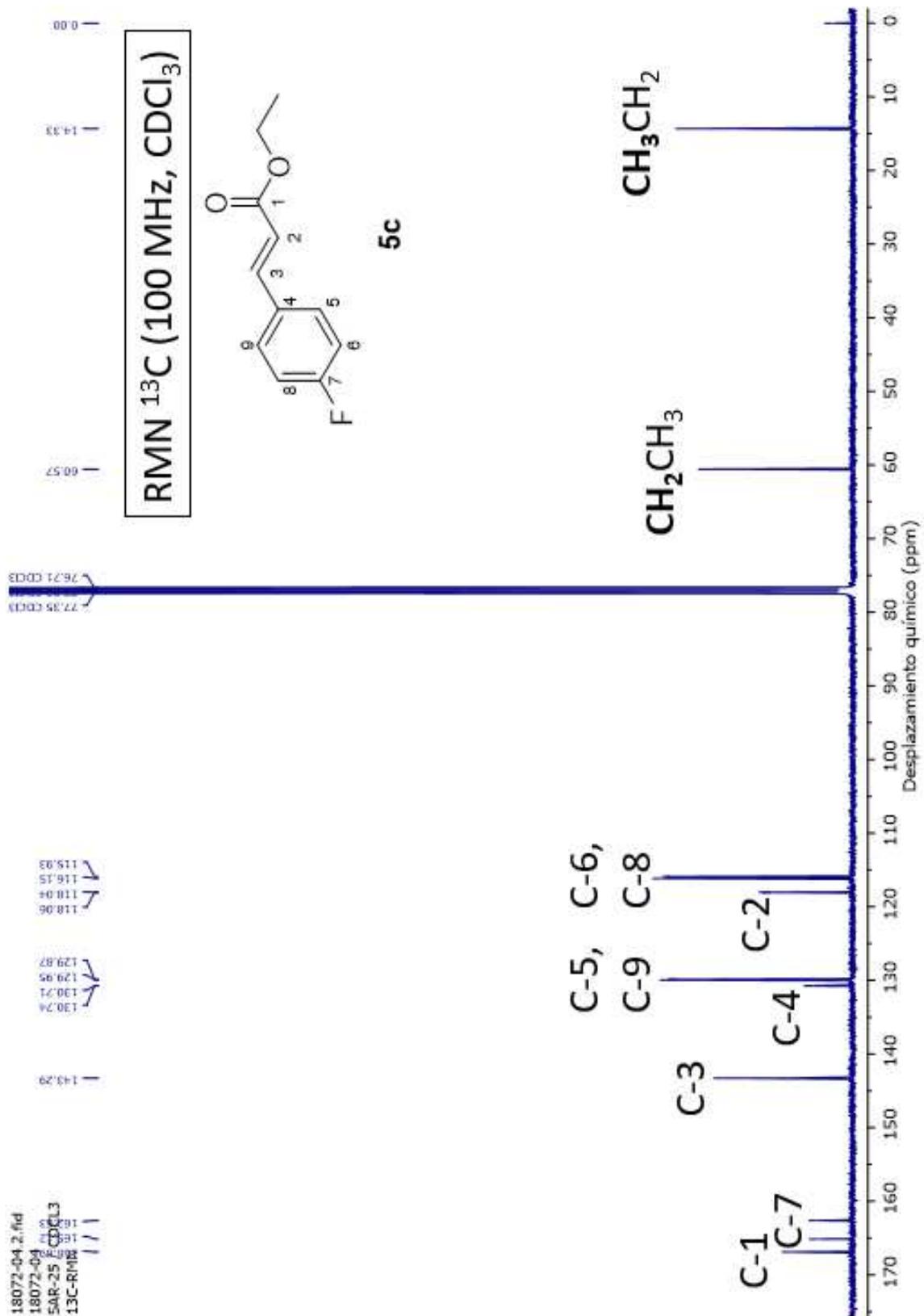
4.29
4.27
4.26

1.36
1.34
1.32

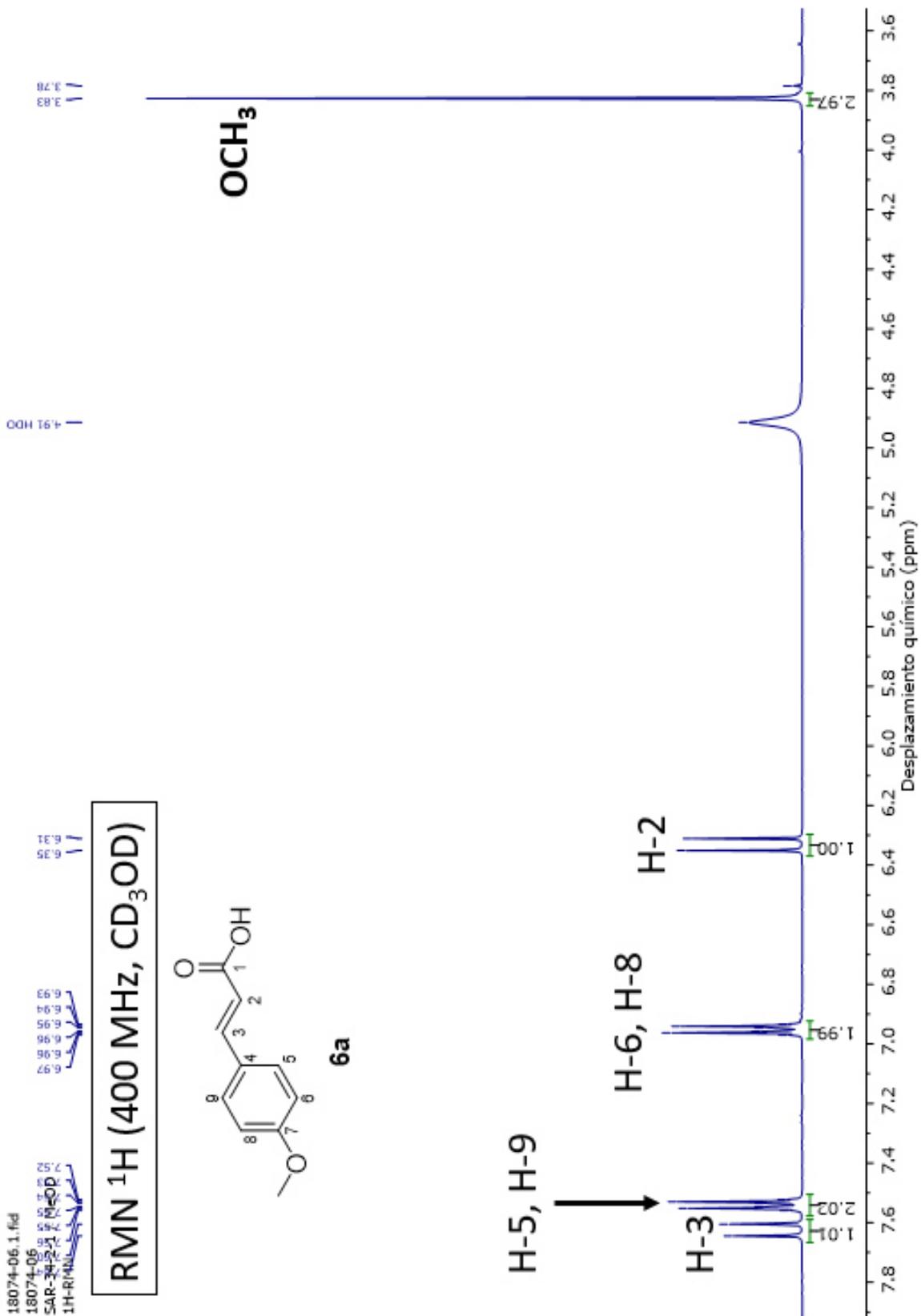
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3)



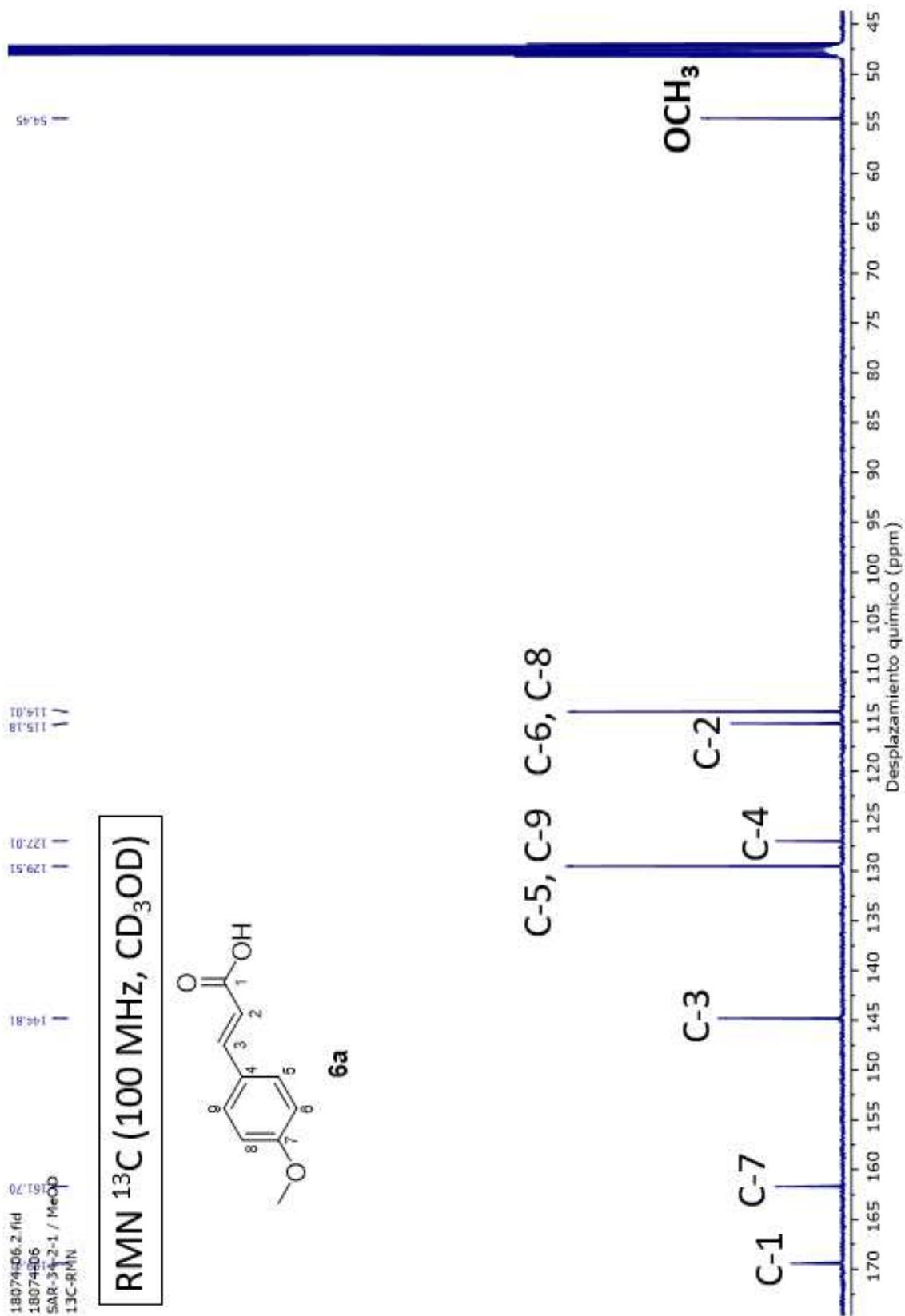
Espectro 5. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de acrilato de etilo **5c**.



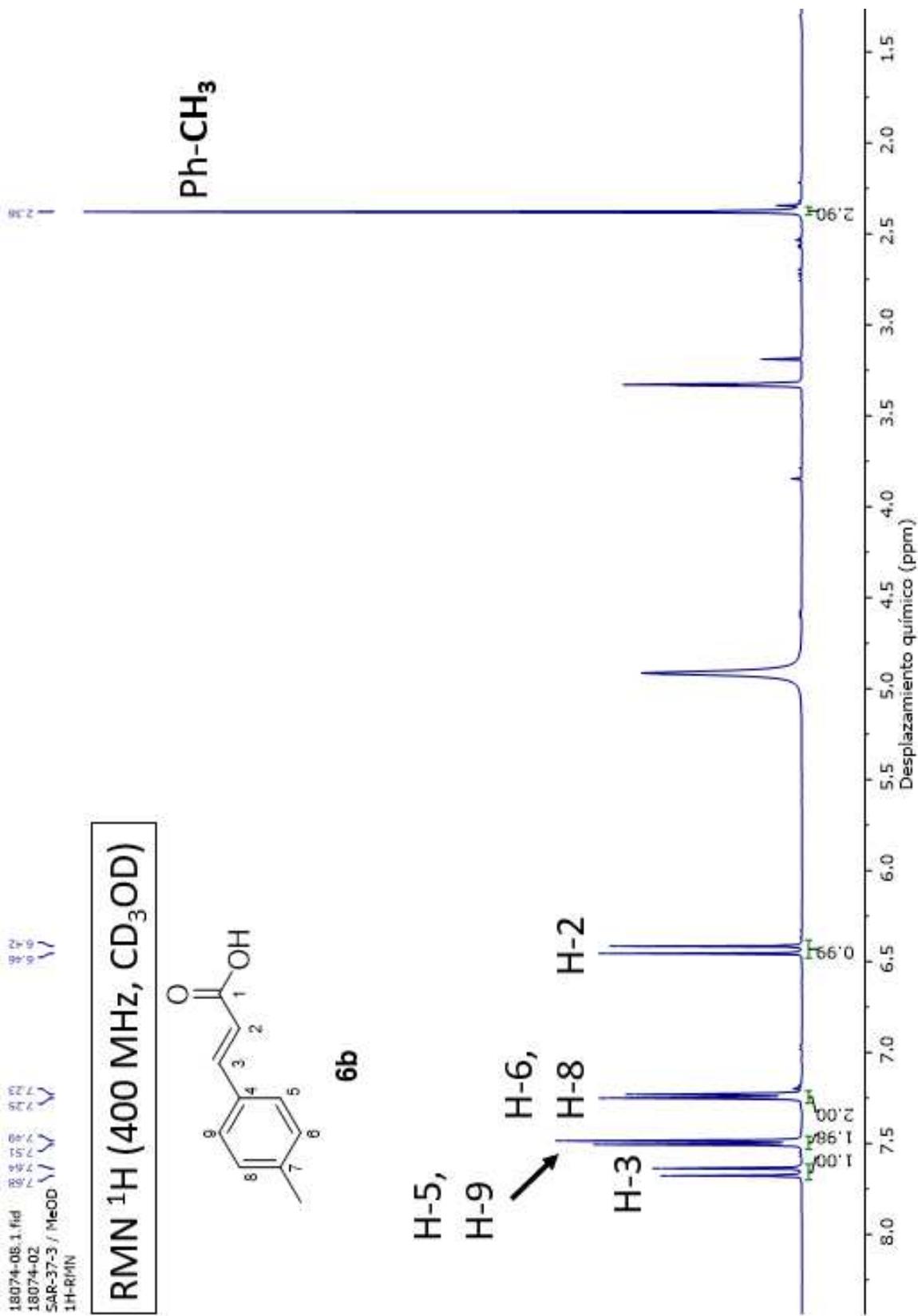
Espectro 6. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de acrilato de etilo 5c.



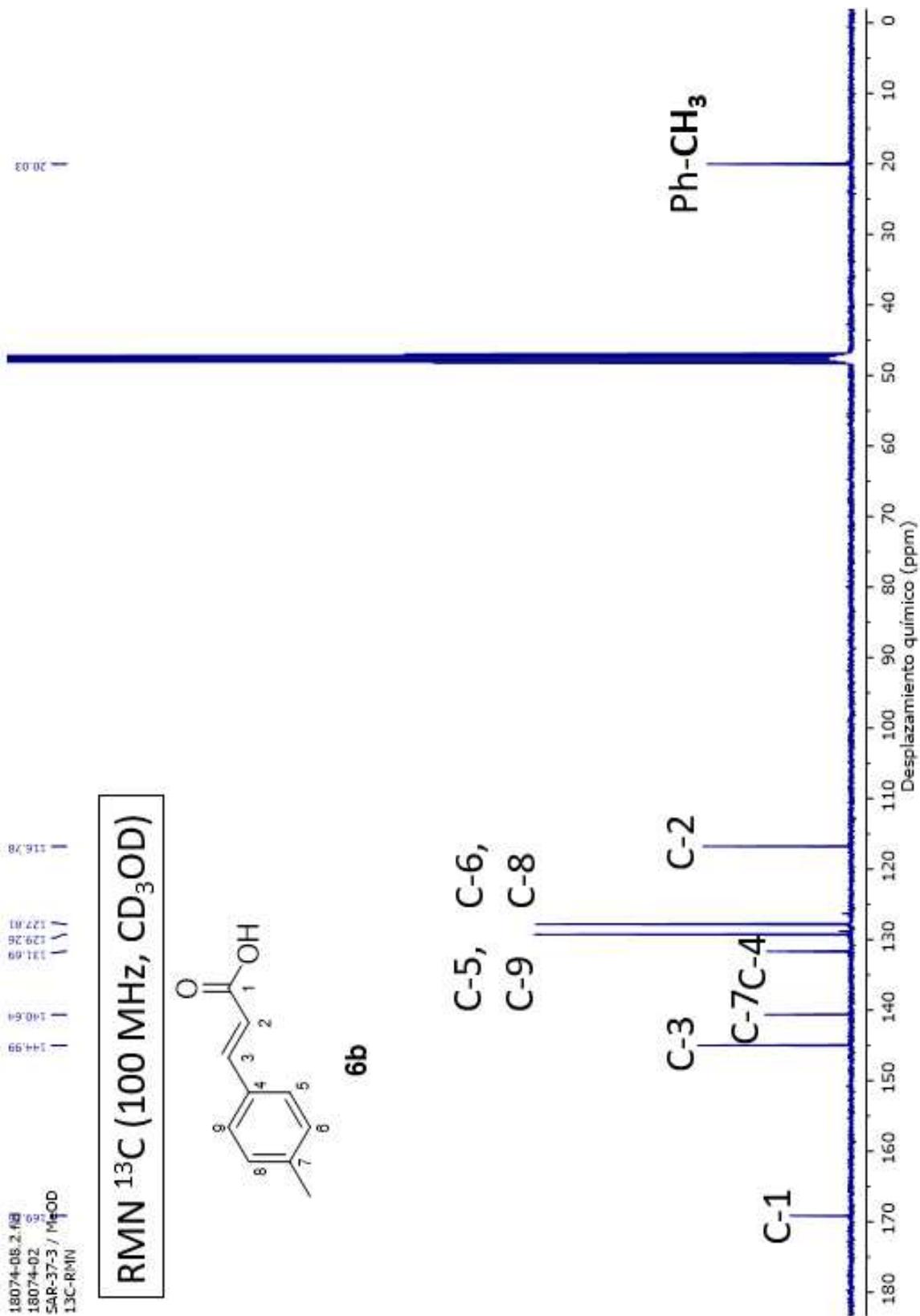
Espectro 7. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de ácido 6a.



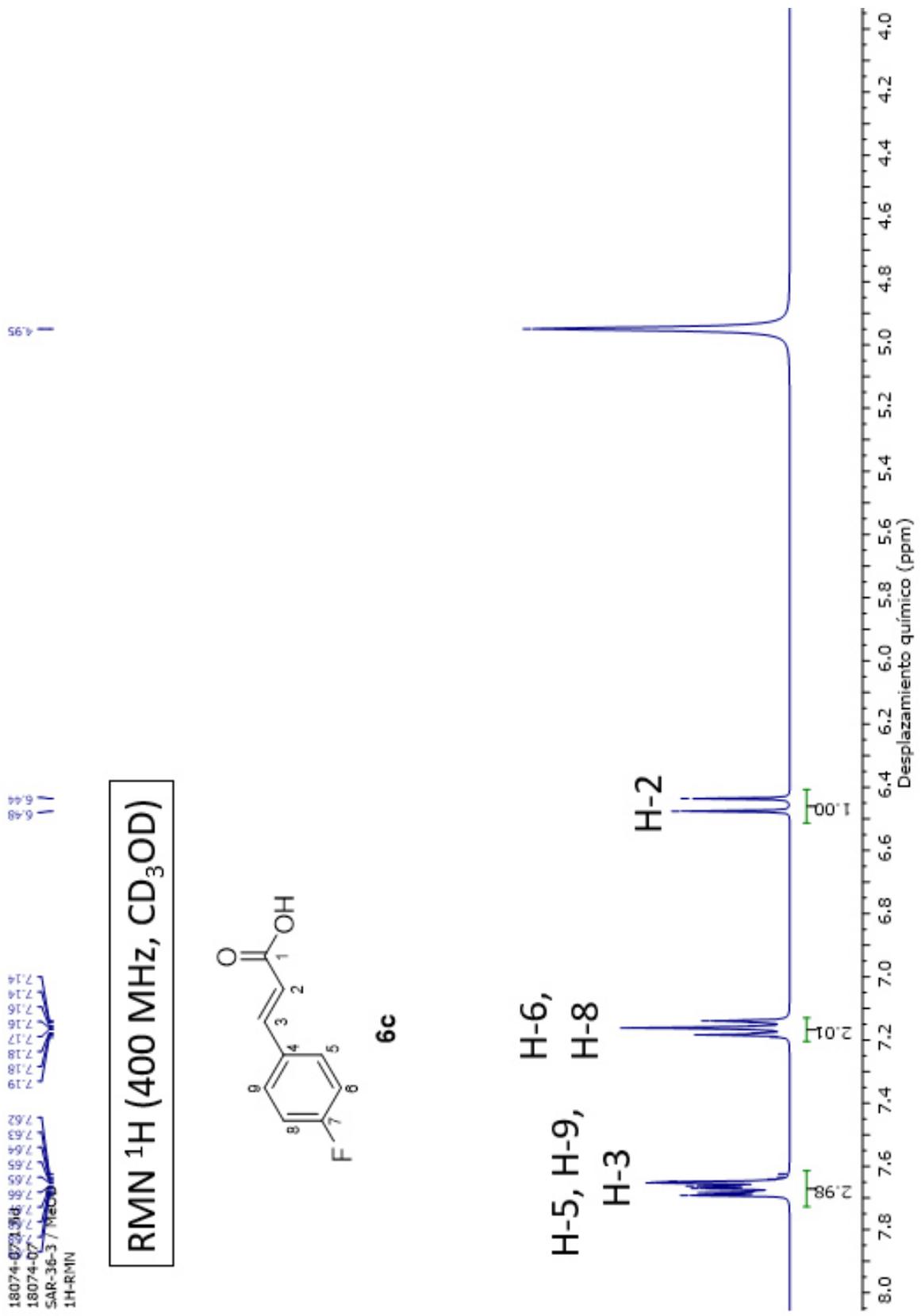
Espectro 8. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de ácido 6a.



Espectro 9. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de ácido 6b.



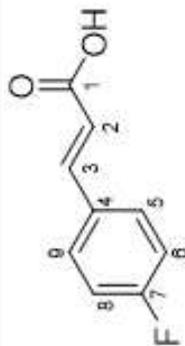
Espectro 10. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de ácido 6b.



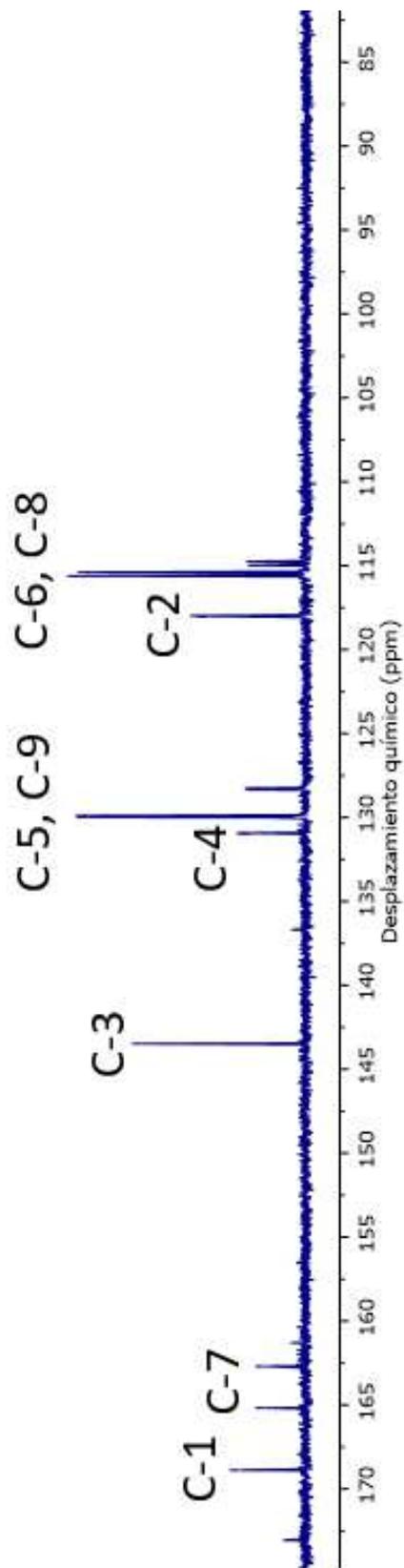
Espectro 11. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de ácido 6c.

18074-07 25fid 165.17 | 143.48 | 129.96
18074-07 89 129.99 | 129.99 | 129.99
SAR-36-3 /MeOD 118.81 | 117.99 | 117.99
13C-RMN 101.39 | 101.39 | 101.39

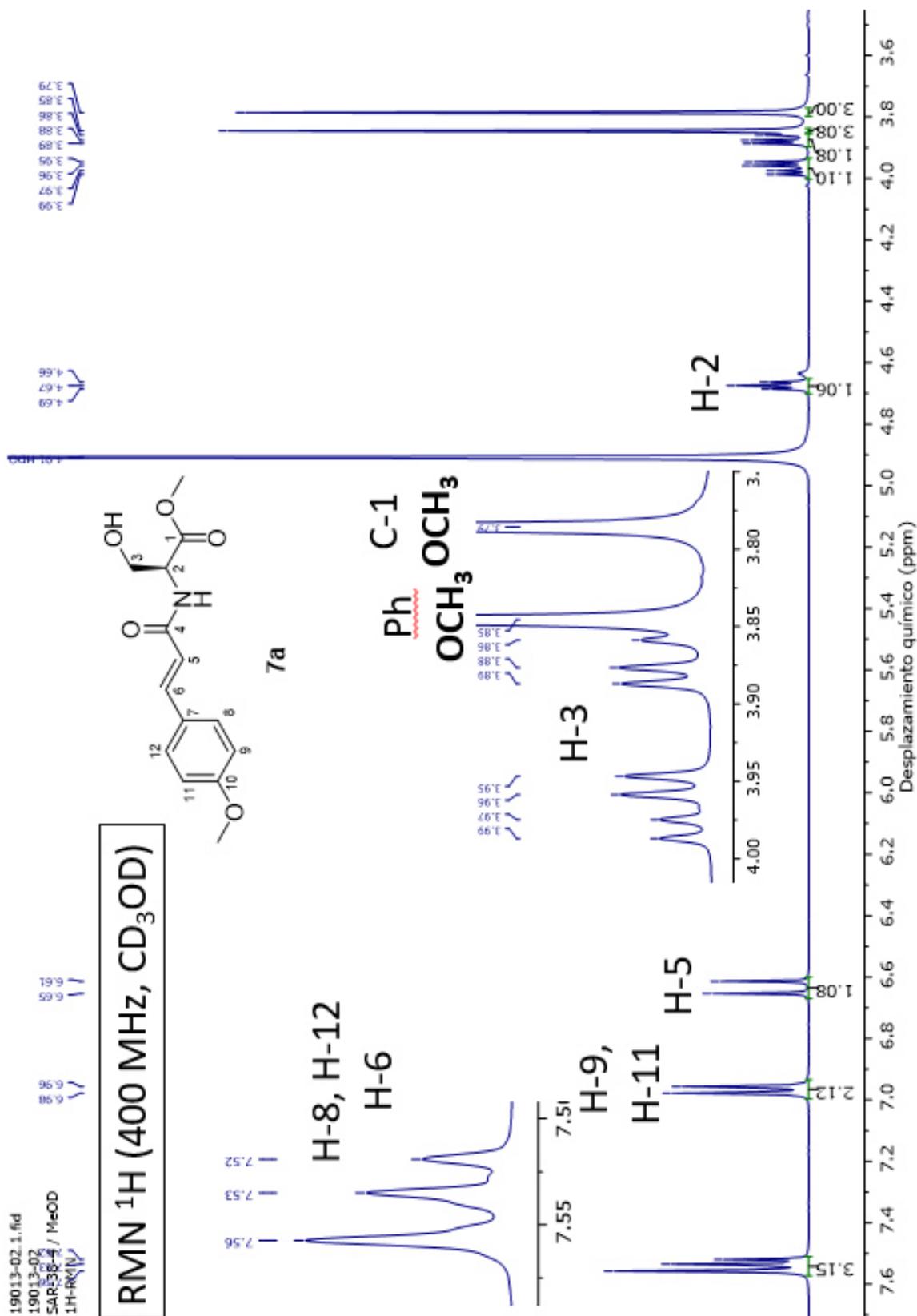
RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD)



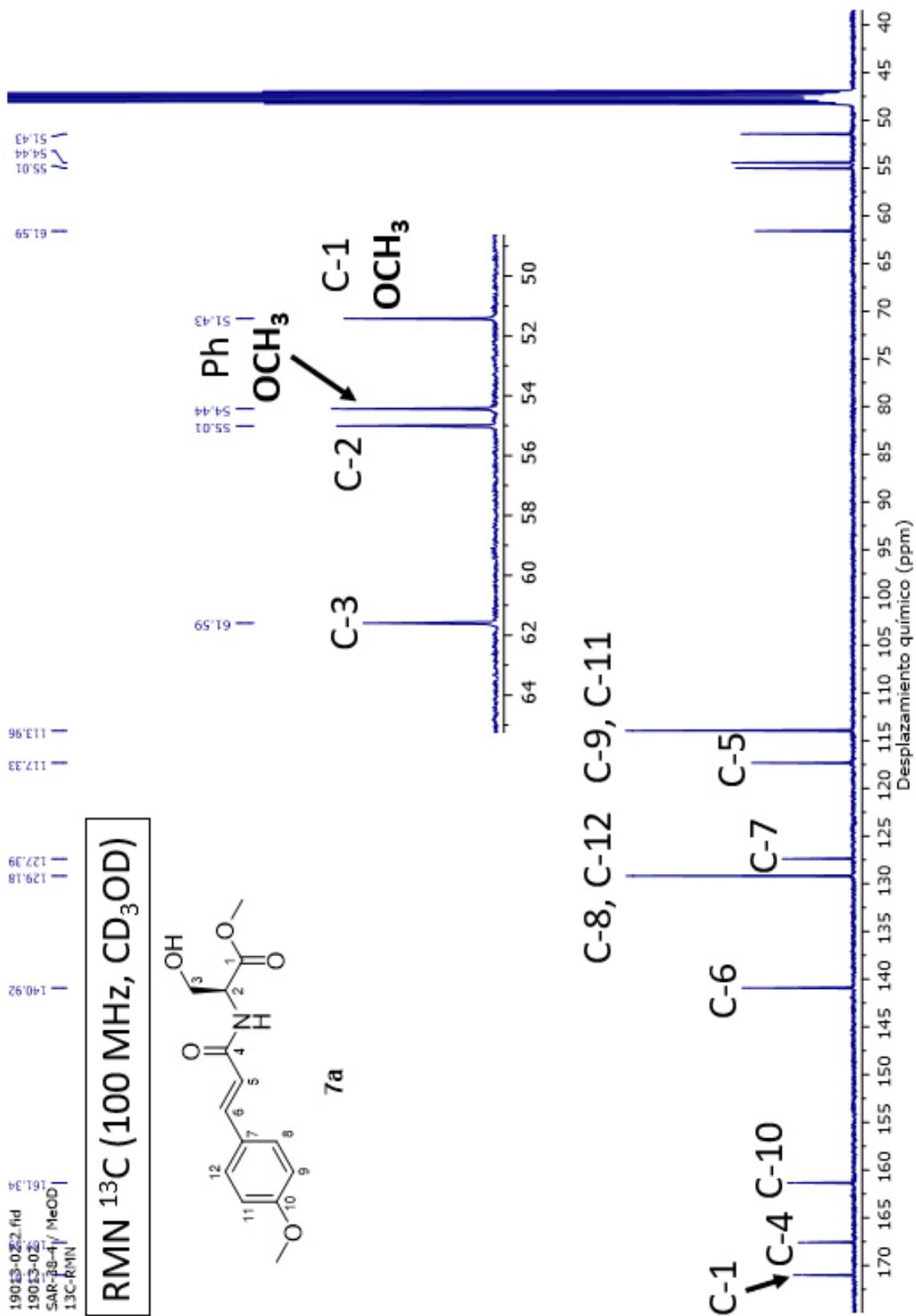
6c



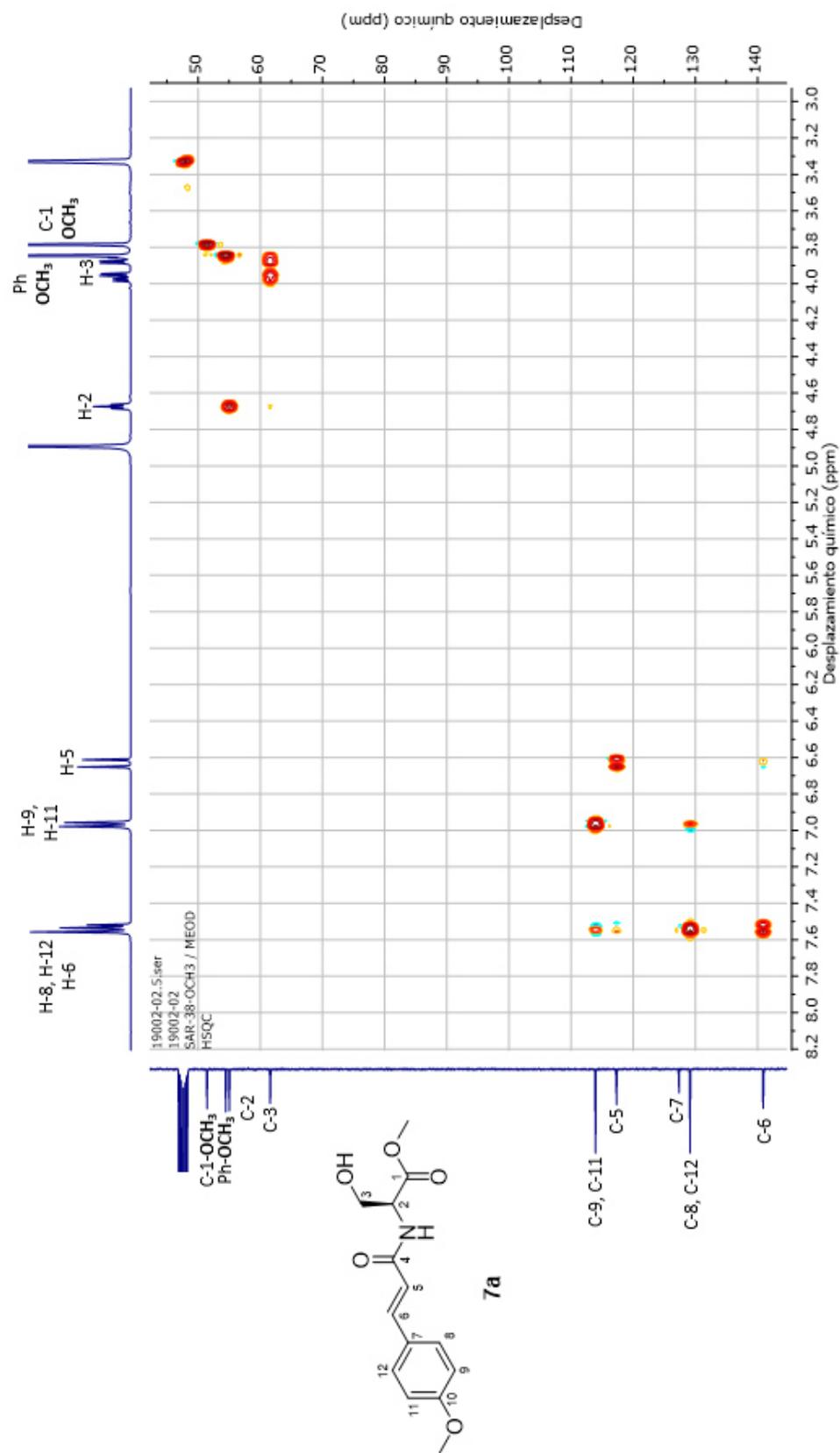
Espectro 12. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de ácido 6c.



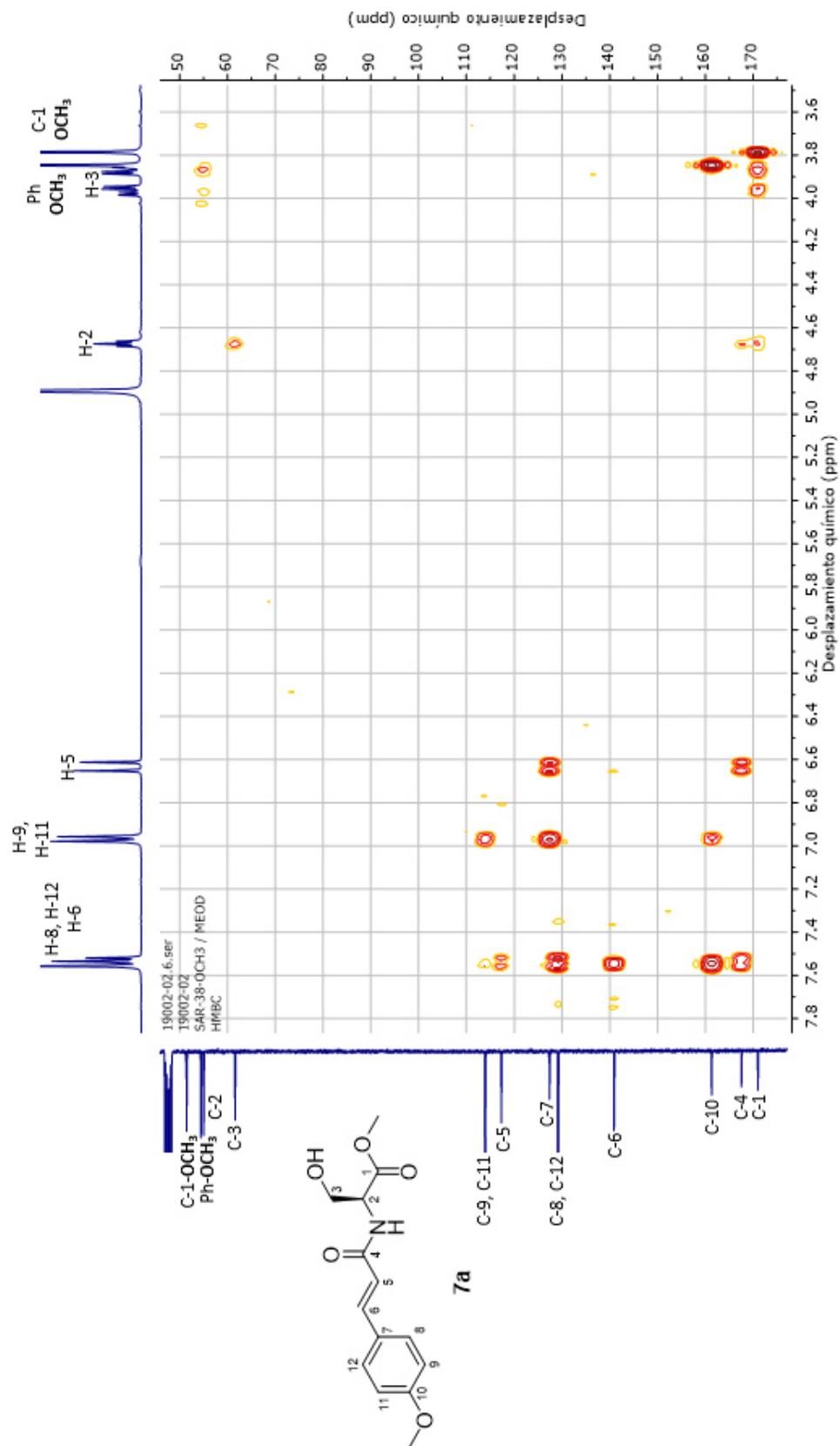
Espectro 13. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de acrilamida 7a.



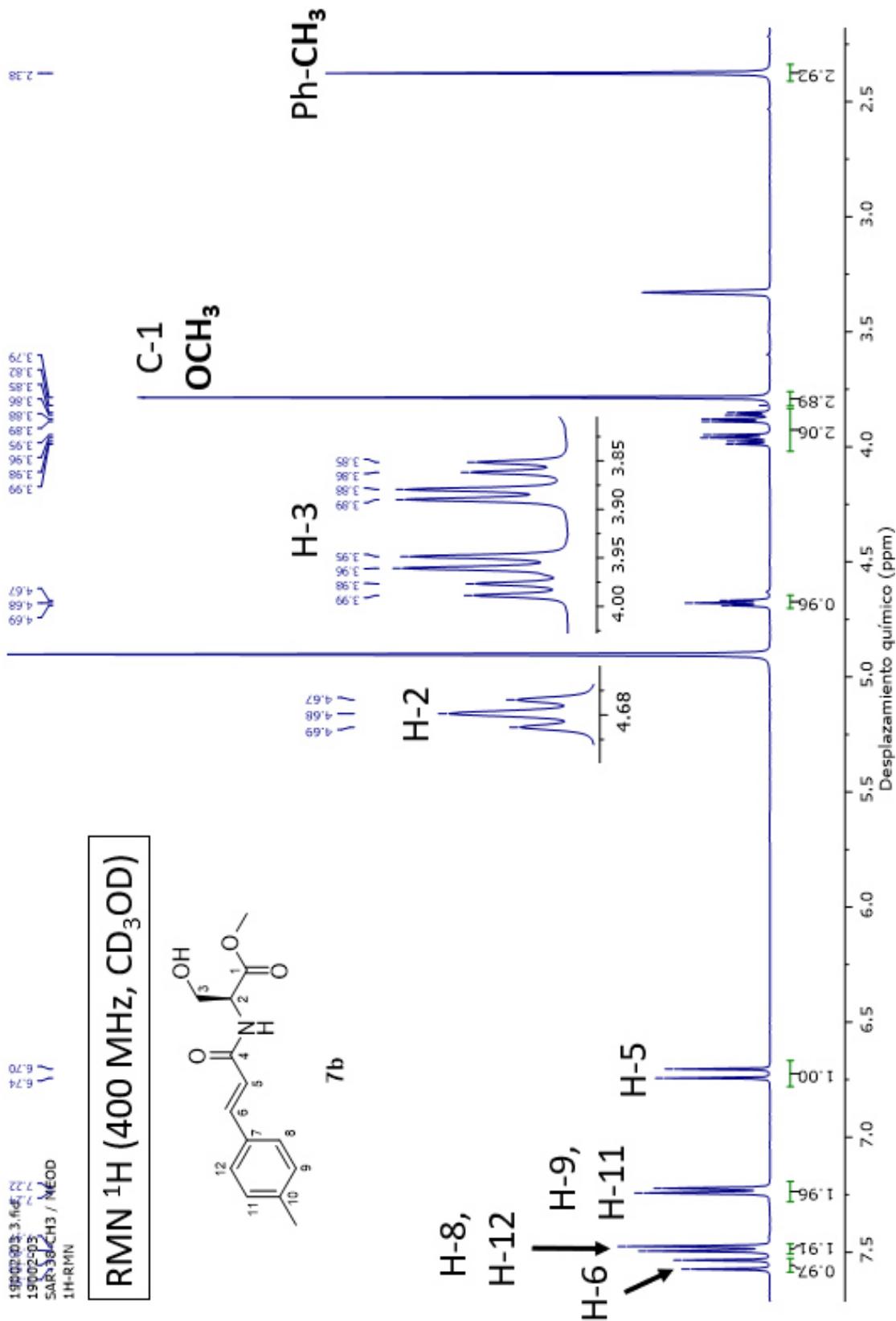
Espectro 14. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de acrilamida 7a.



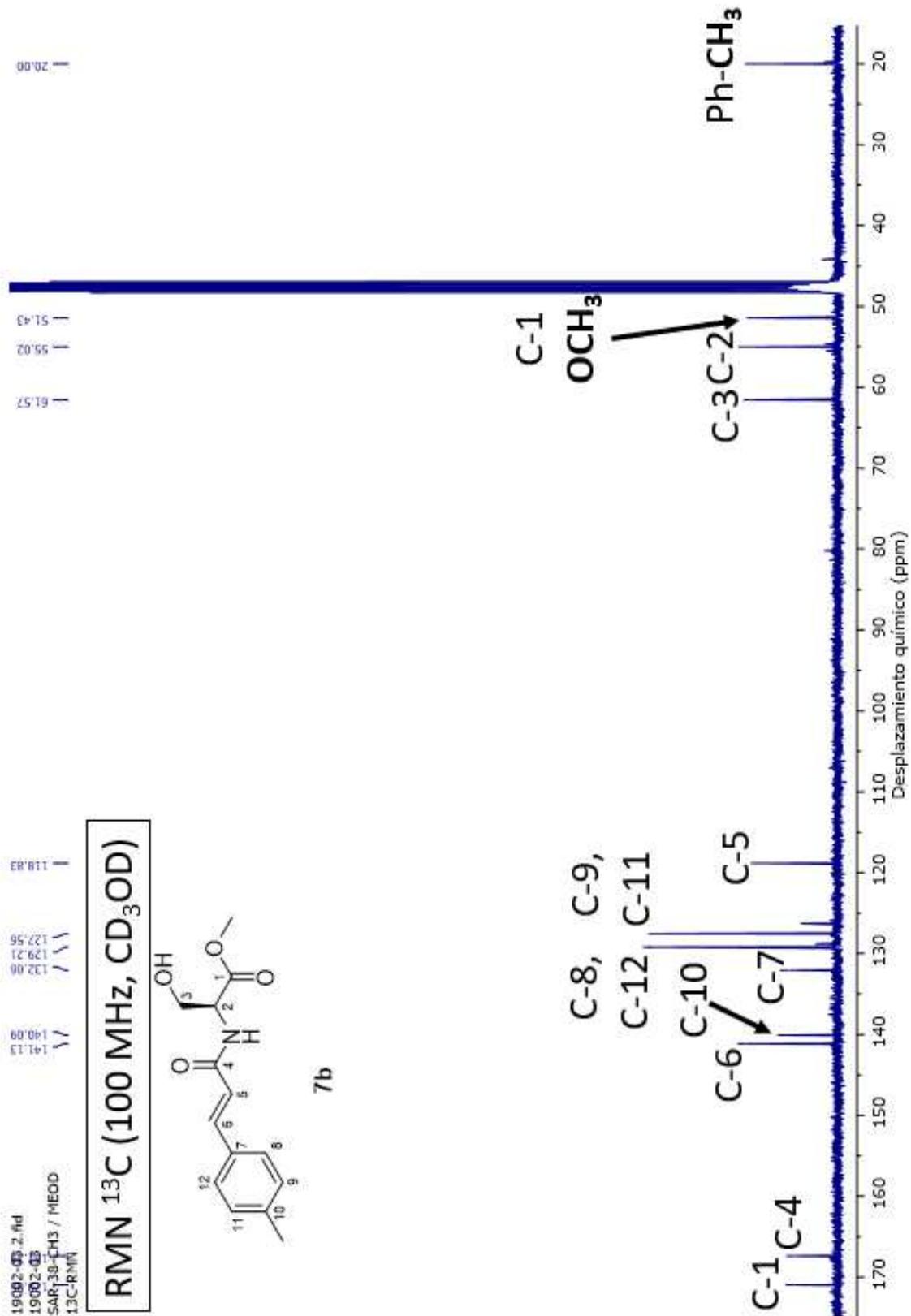
Espectro 15. RMN HSQC (CD₃OD) de acrilamida 7a.



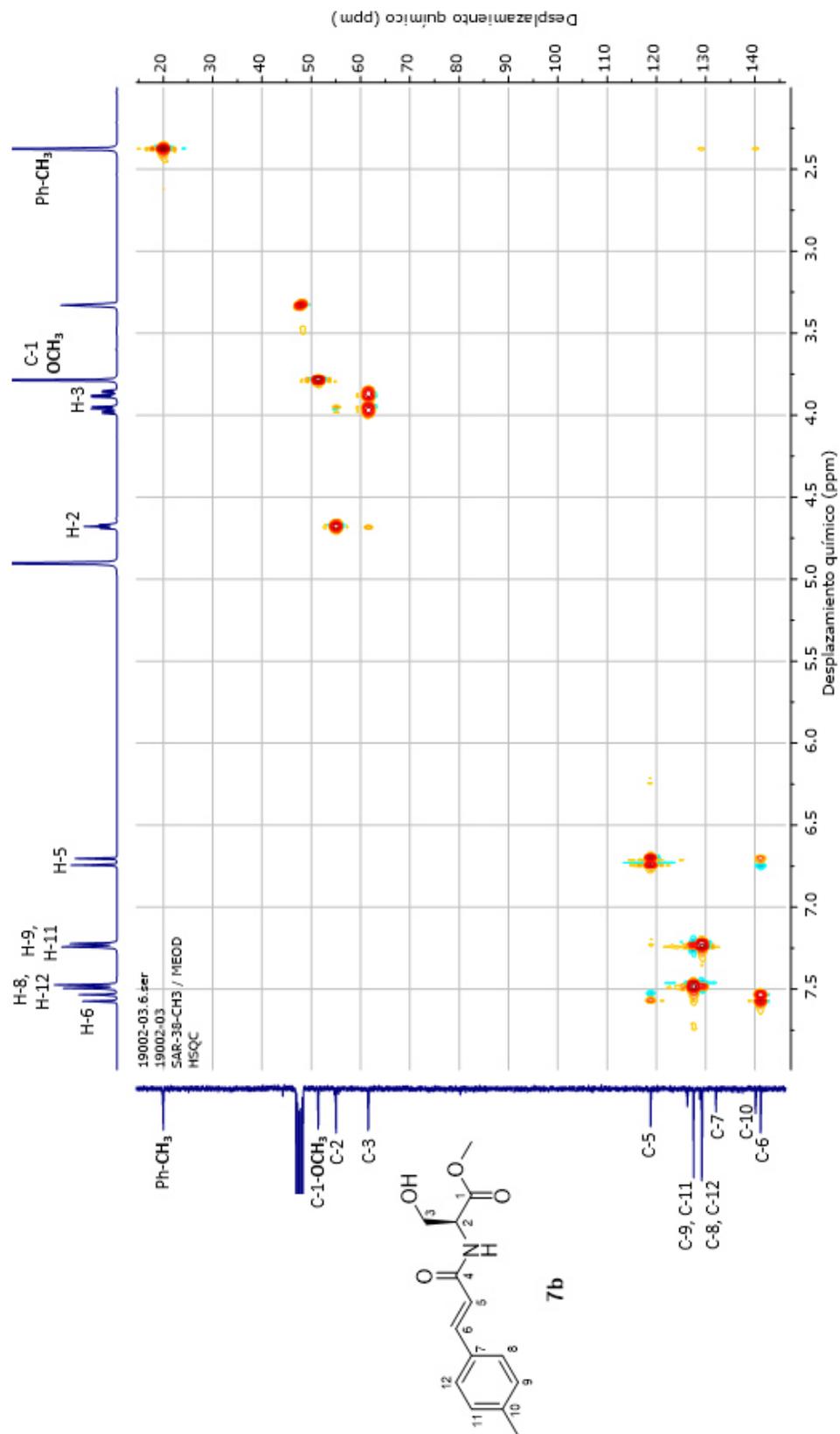
Espectro 16. RMN HMBC (CD₃OD) de acrilamida 7a.



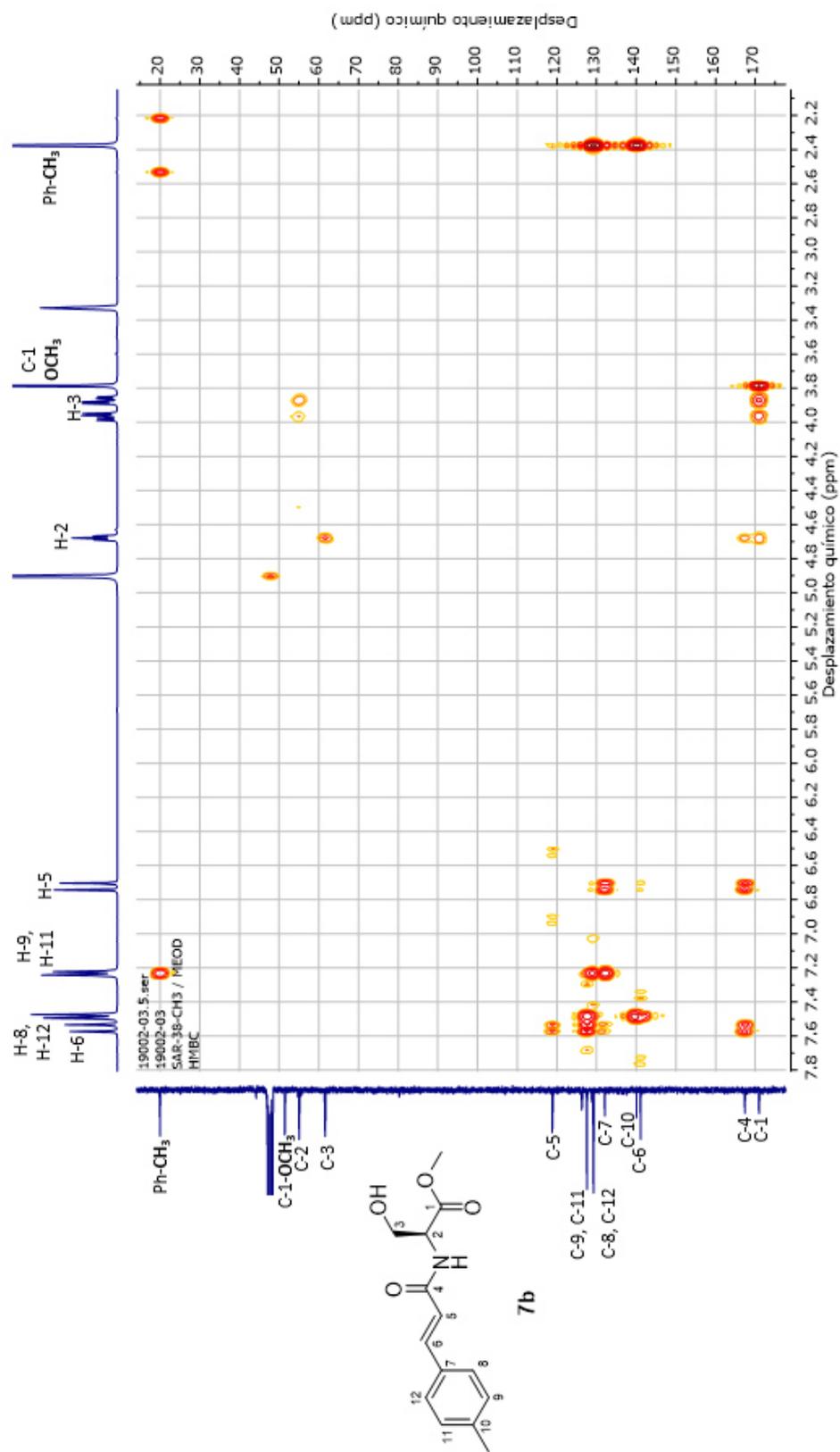
Espectro 17. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de acrilamida 7b.



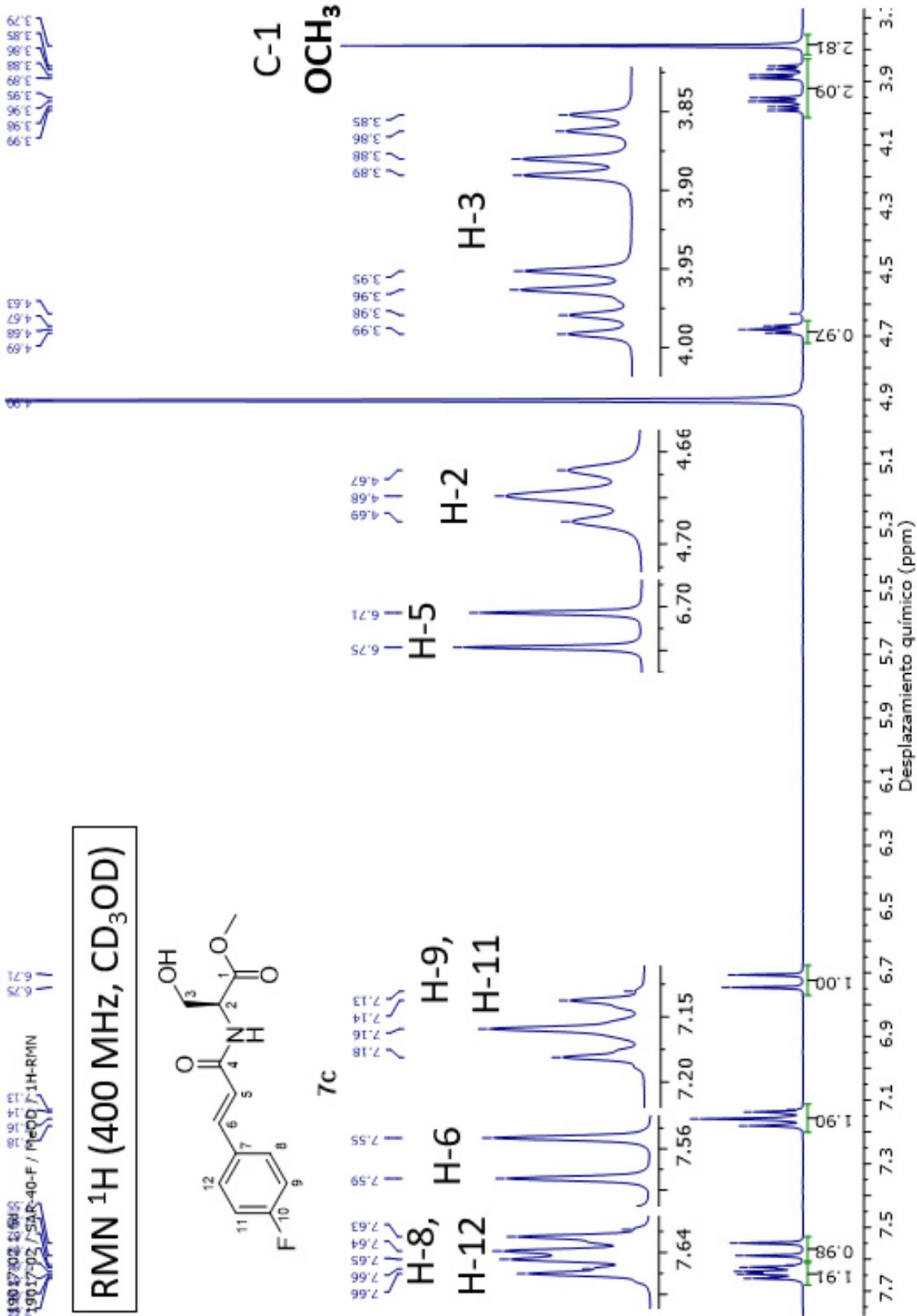
Espectro 18. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de acrilamida 7b.



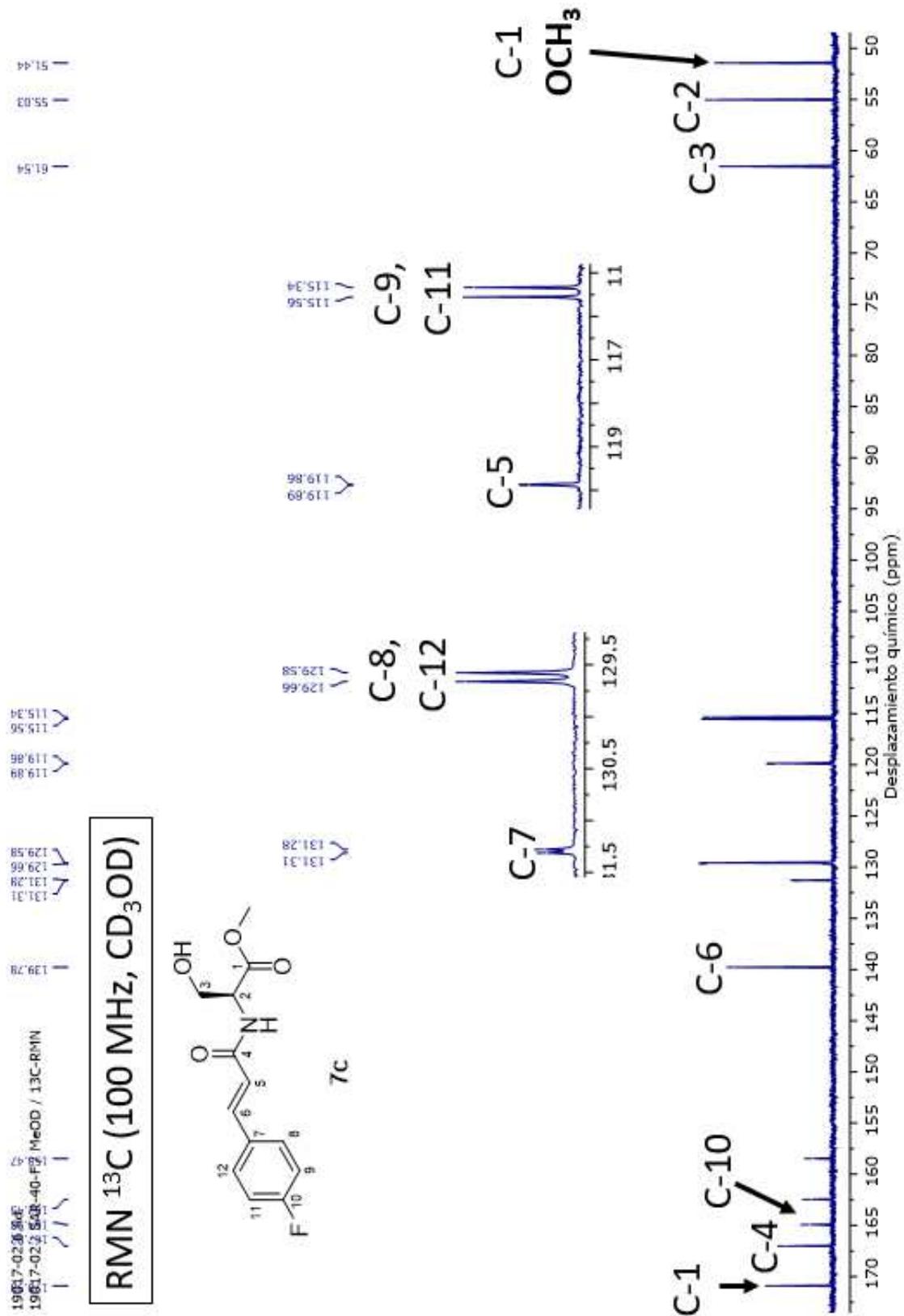
Espectro 19. RMN HSQC (CD₃OD) de acrilamida 7b.



Espectro 20. RMN HMBC (CD₃OD) de acrilamida 7b.



Espectro 21. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de acrilamida 7c.

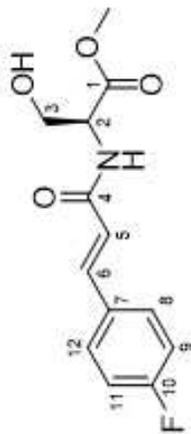


Espectro 22. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de acrilamida 7c.

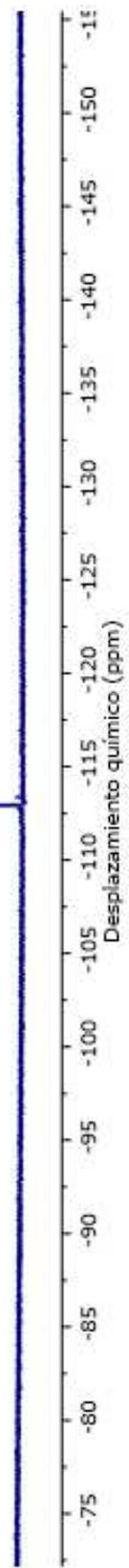
19017-02.8 f1d
19017-02
SAR-40-F / MeOD
19F-RMN DESACOPILADO

1 - 212.95

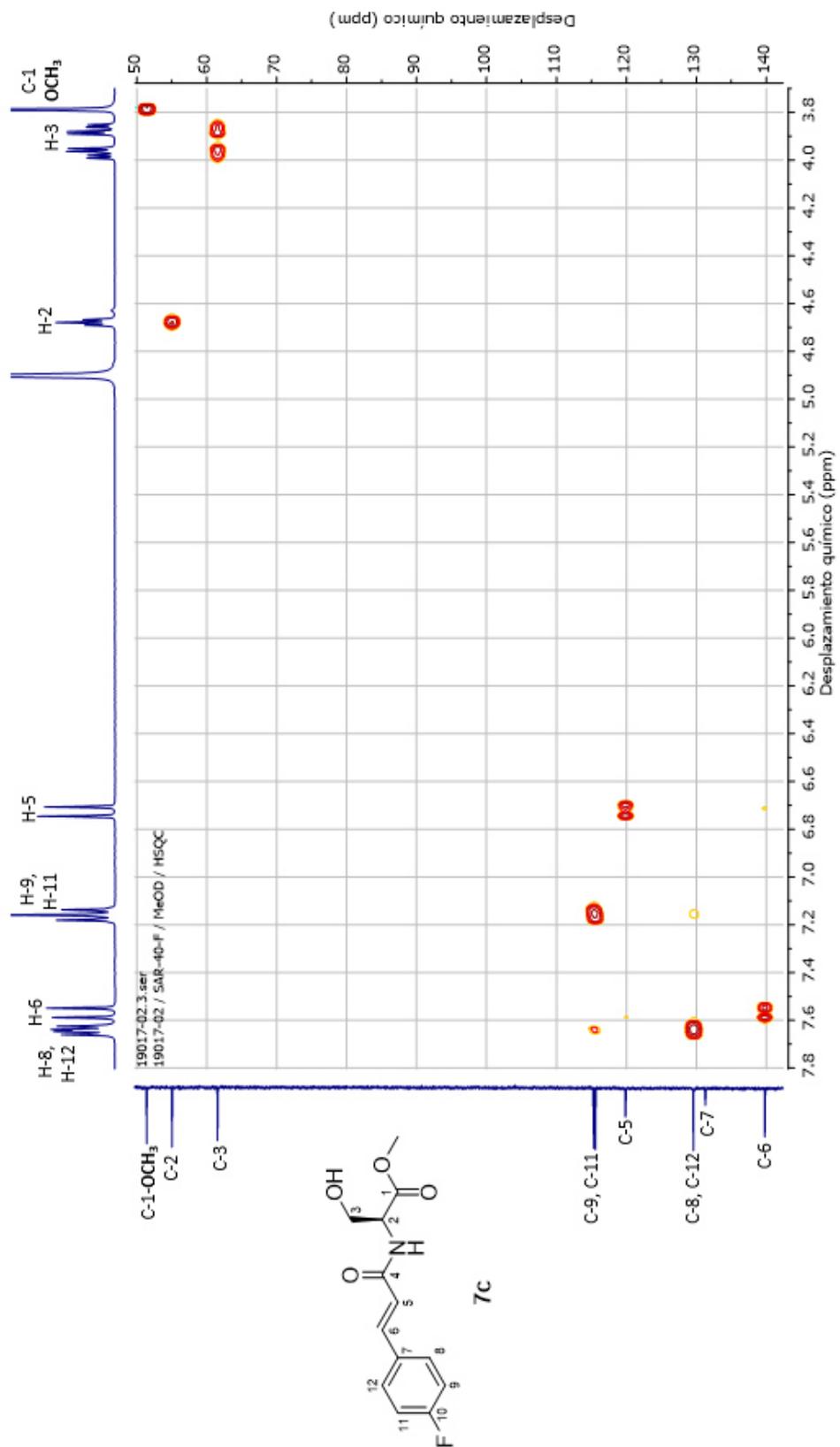
RMN ^{19}F (376 MHz, CD_3OD)



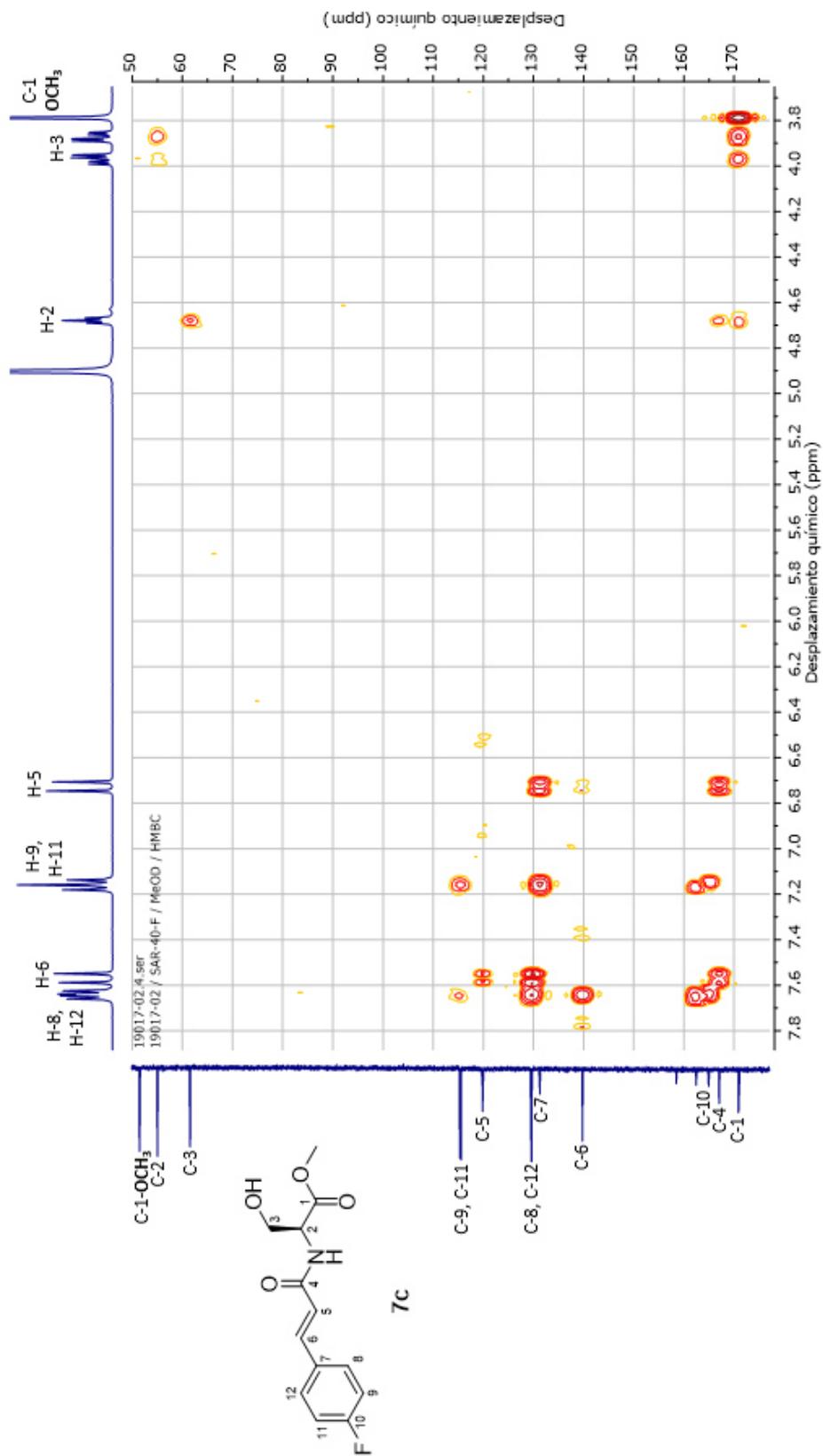
7c



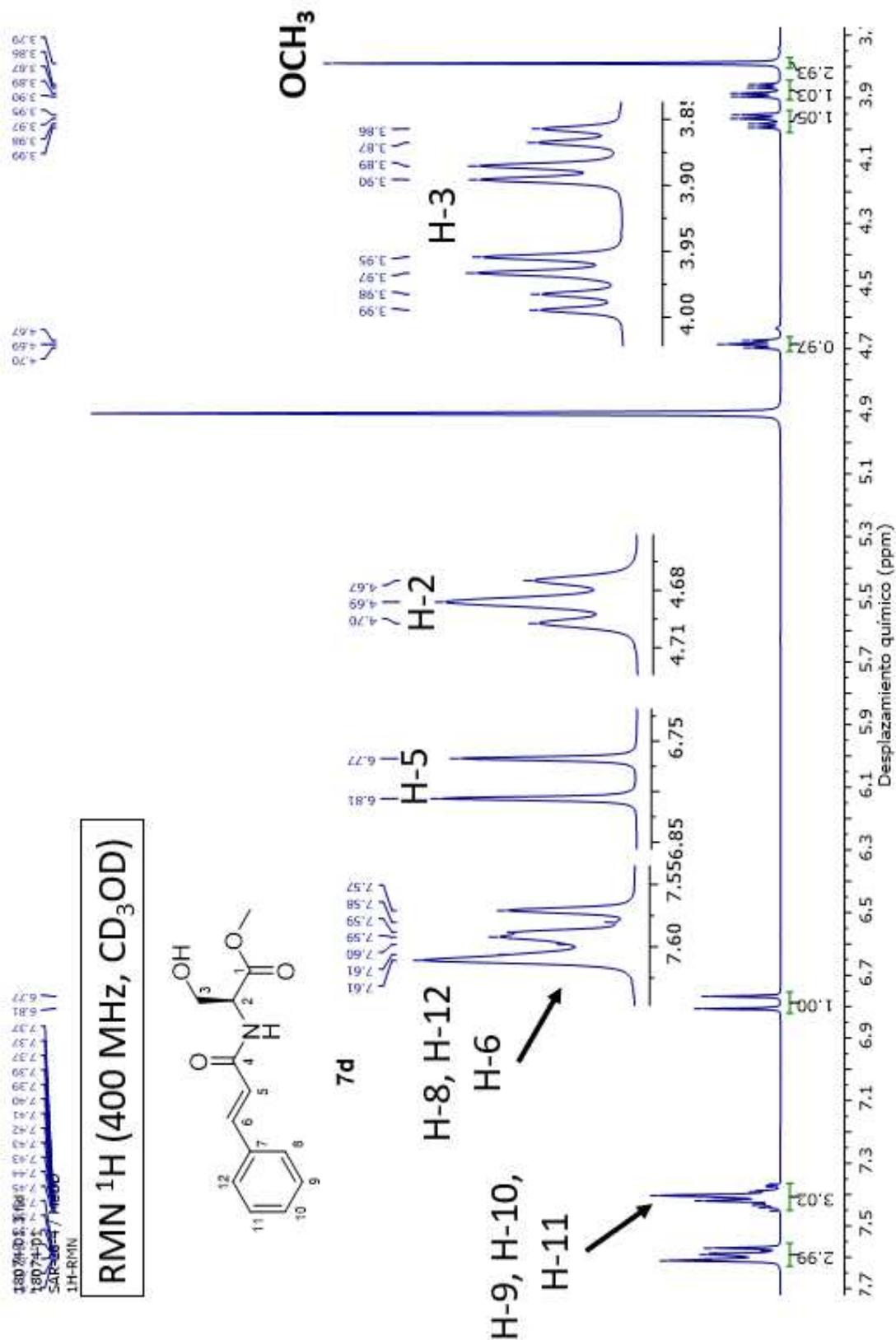
Espectro 23. RMN ^{19}F (376 MHz, CD_3OD) de acrilamida 7c.



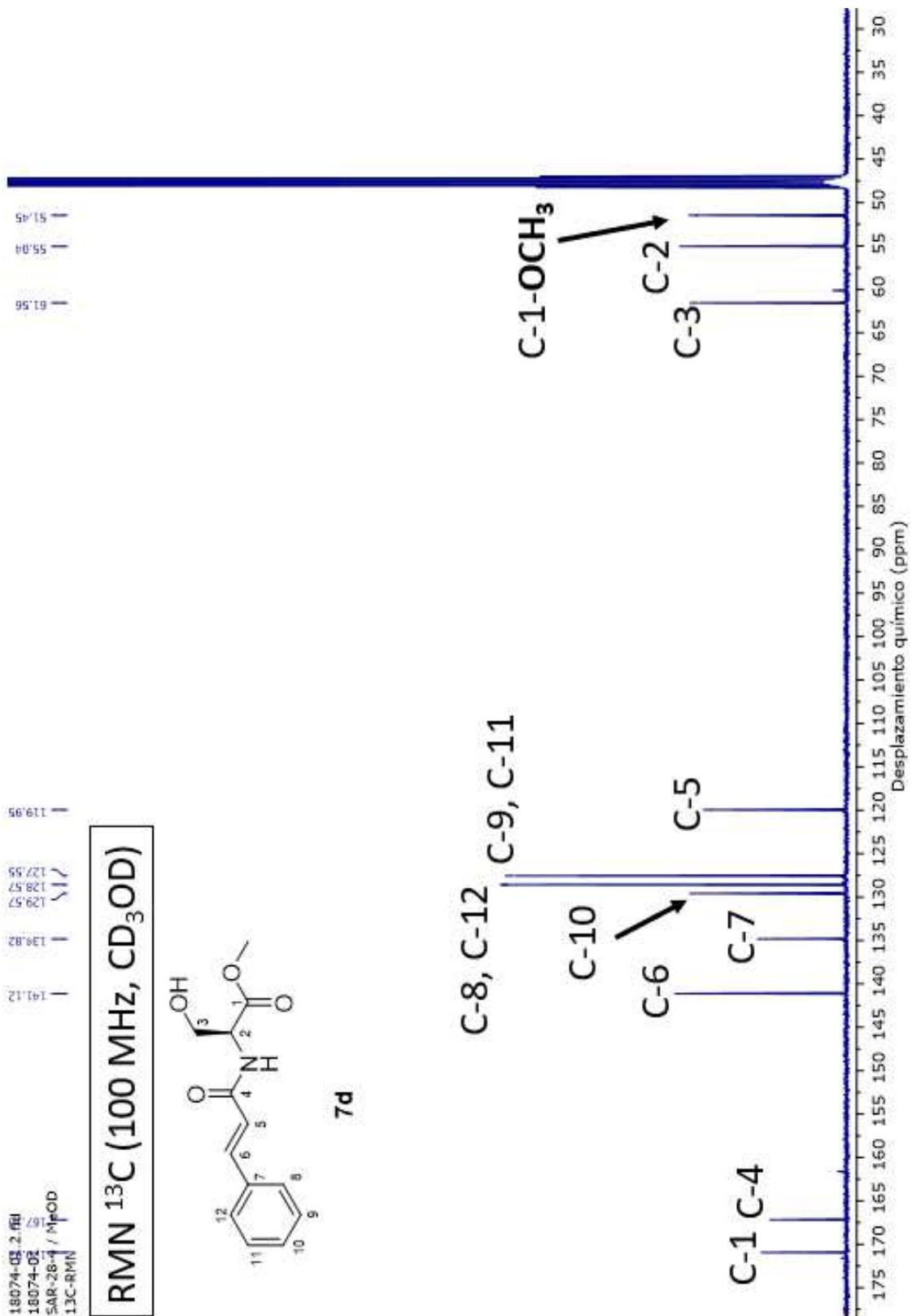
Espectro 24. RMN HSQC (CD₃OD) de acrilamida 7c.



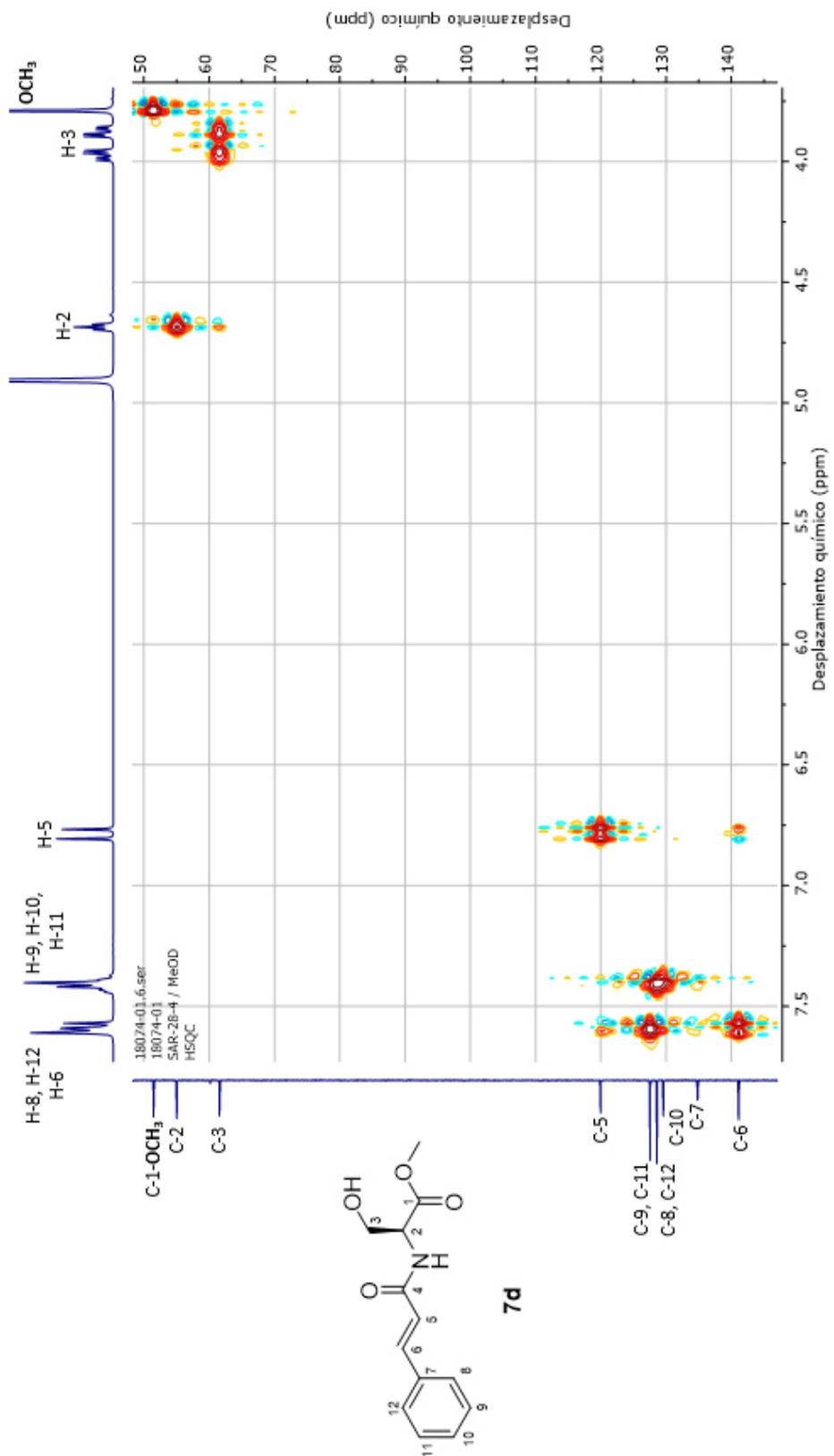
Espectro 25. RMN HMBC (CD₃OD) de acrilamida 7c.



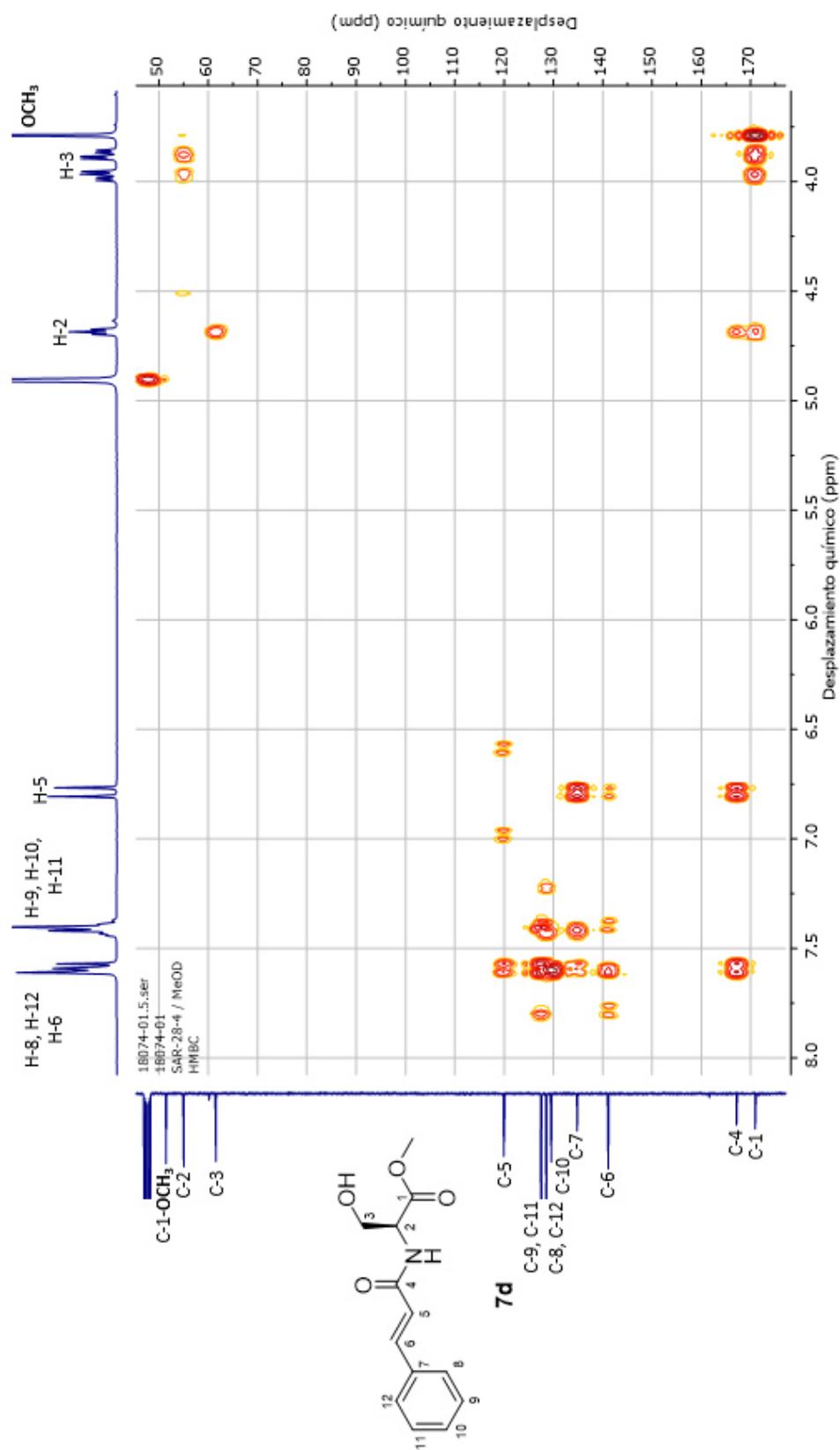
Espectro 26. RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de acrilamida 7d.



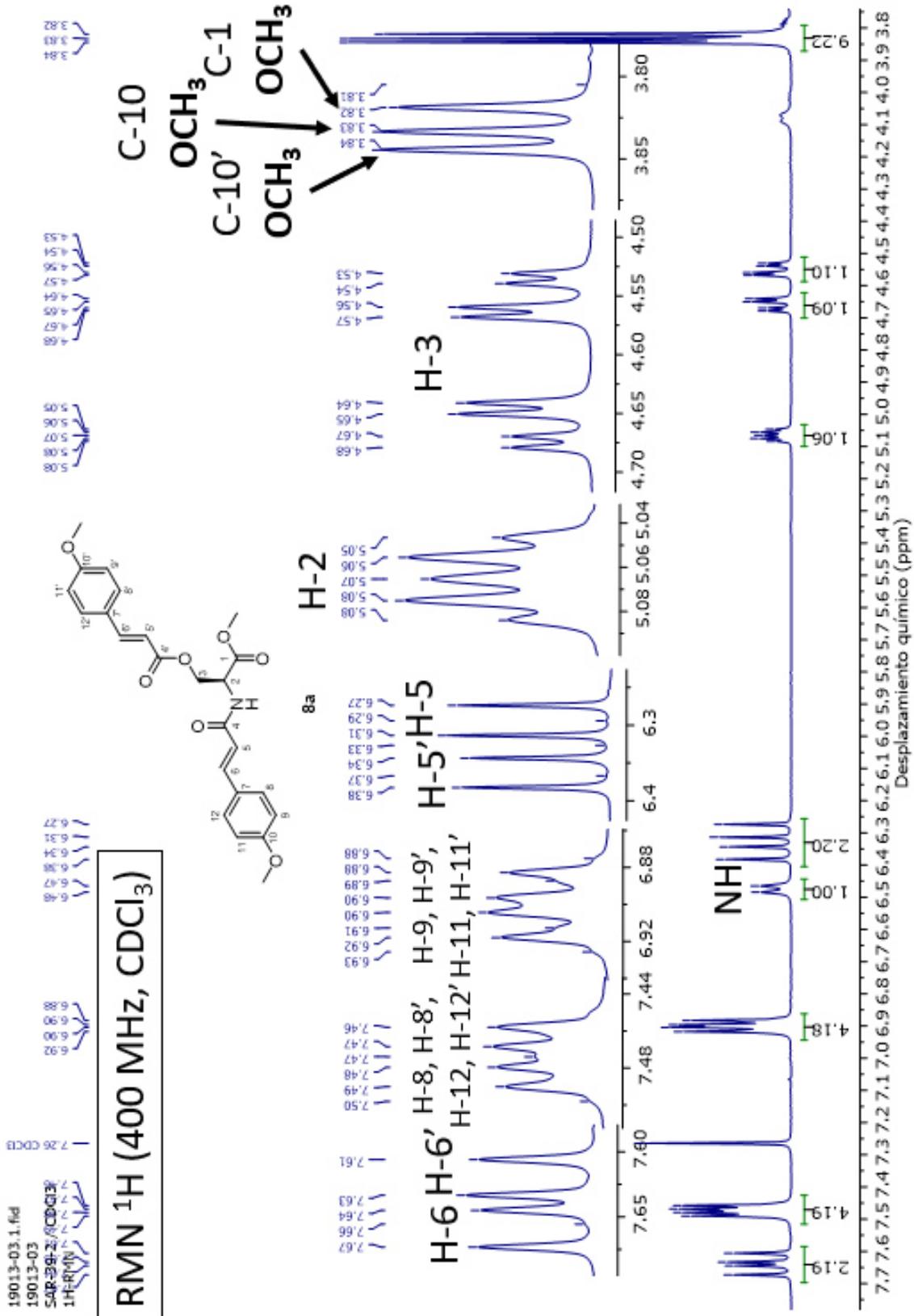
Espectro 27. RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) de acrilamida 7d.



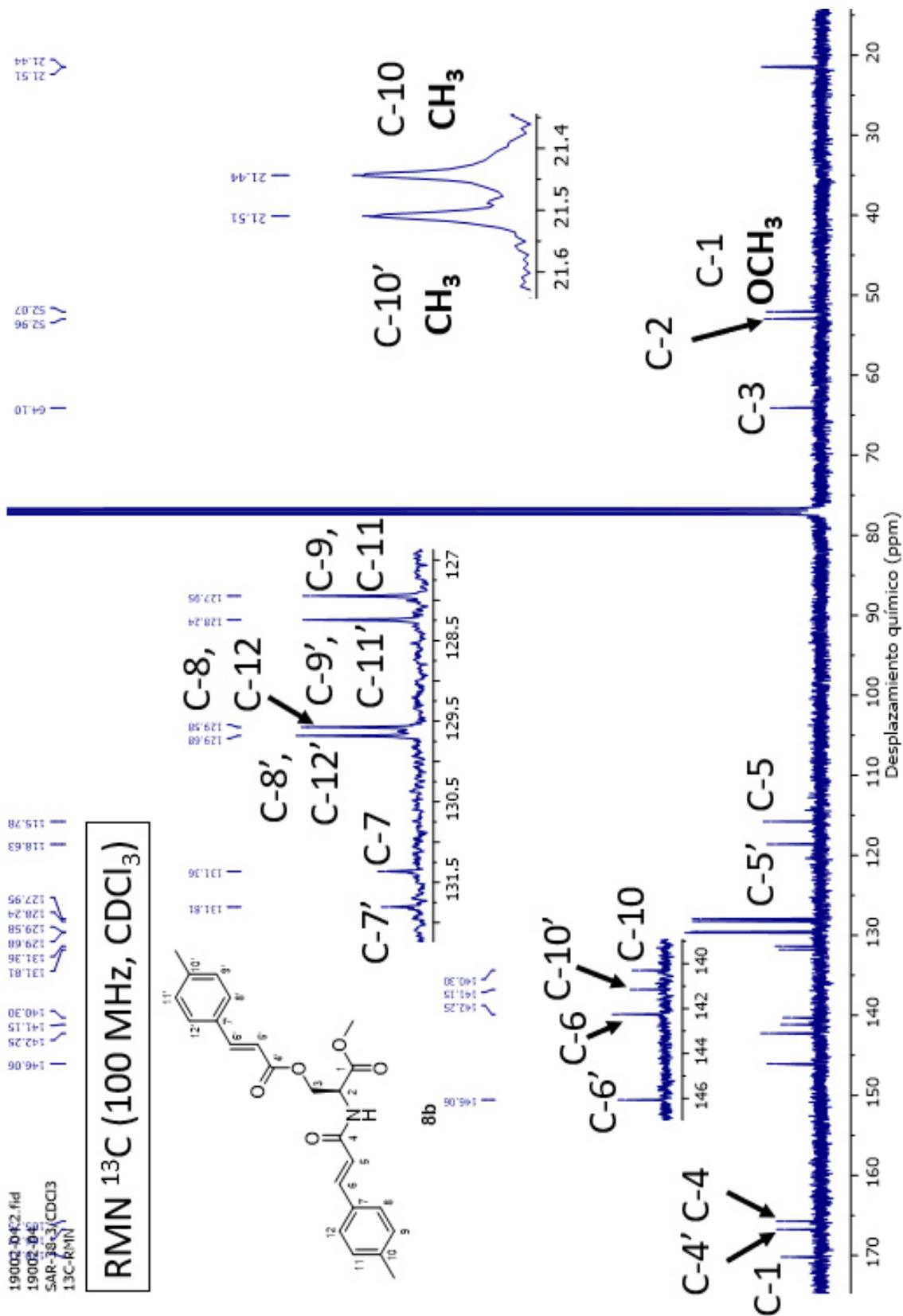
Espectro 28. RMN HSQC (CD₃OD) de acrilamida 7d.



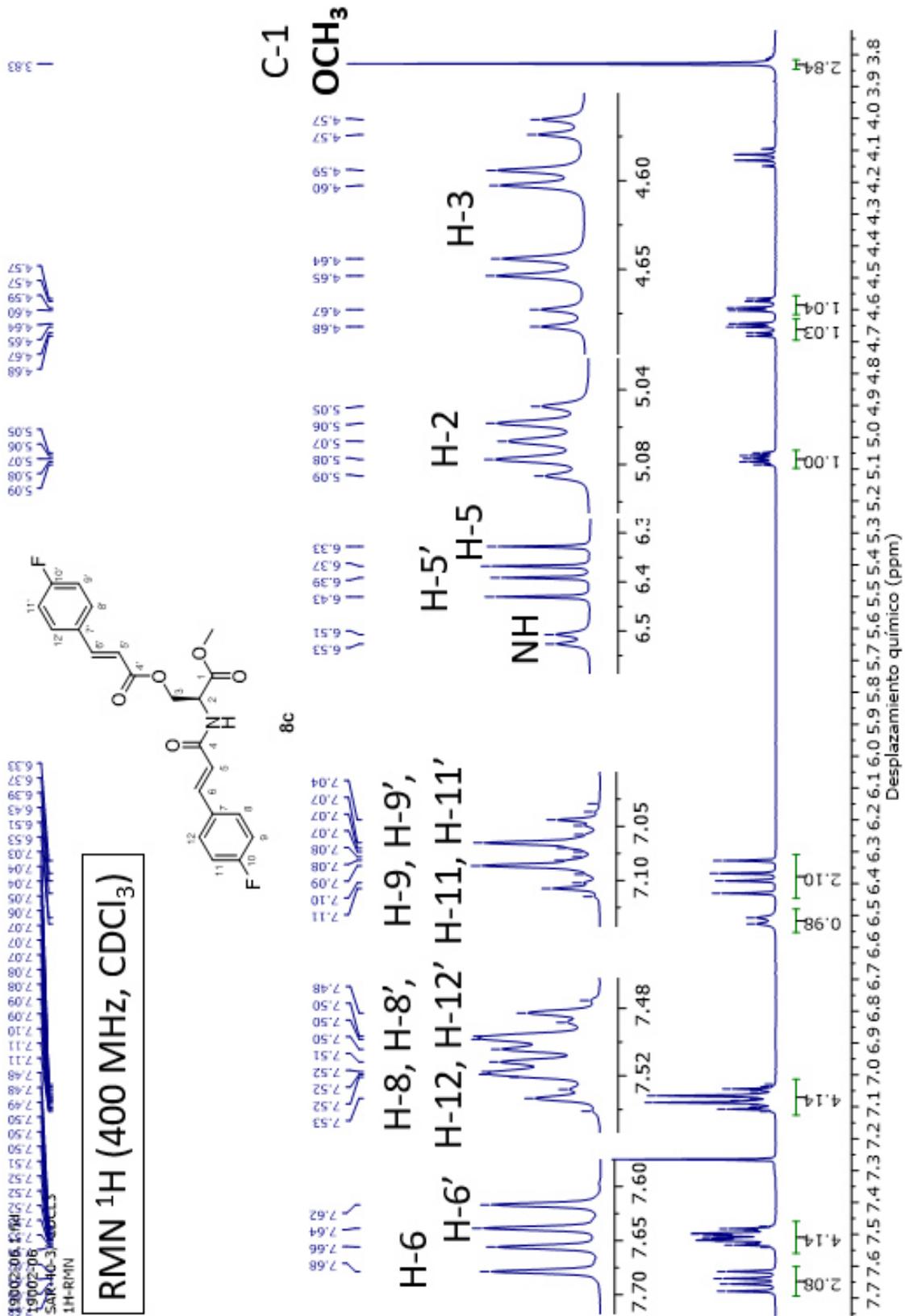
Espectro 29. RMN HMBC (CD₃OD) de acrilamida 7d.



Espectro 30. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de acrilato 8a.



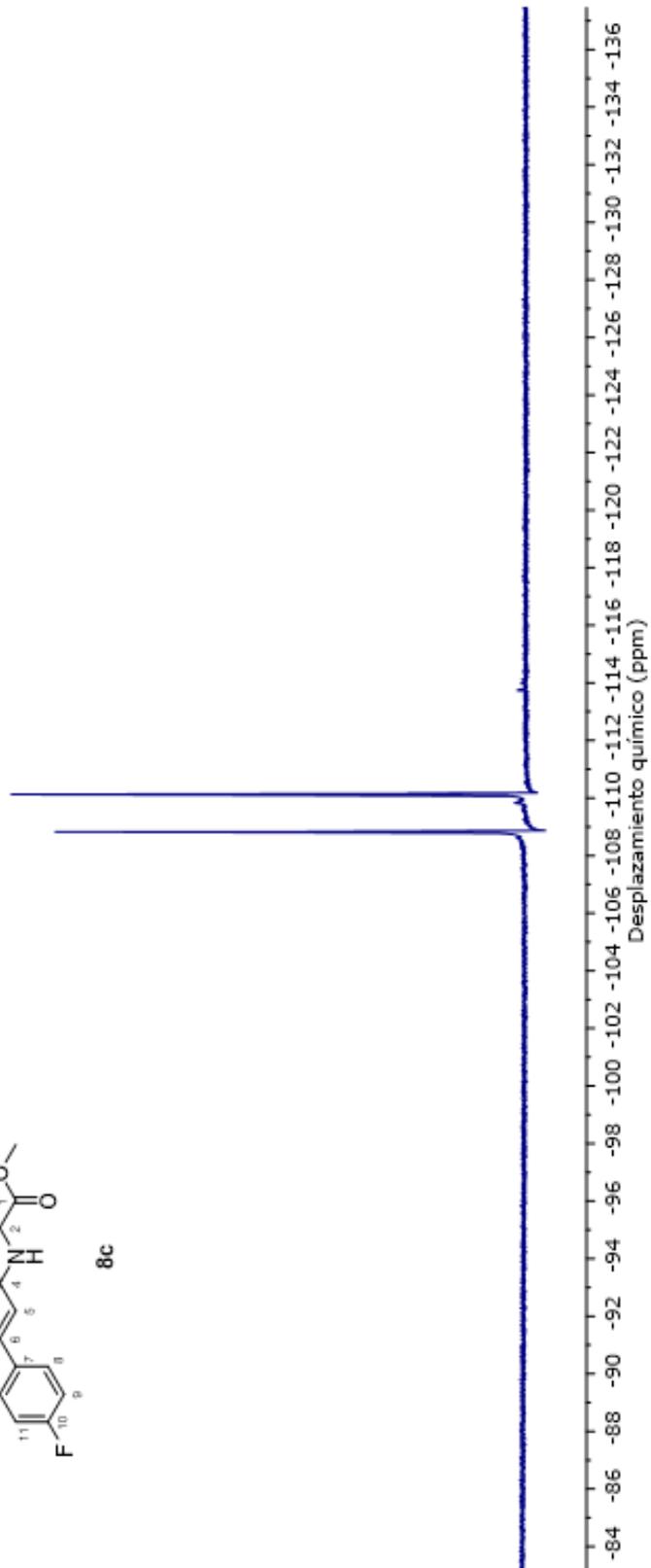
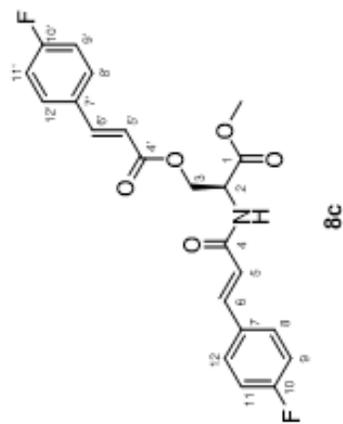
Espectro 33. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de acrilato 8b.



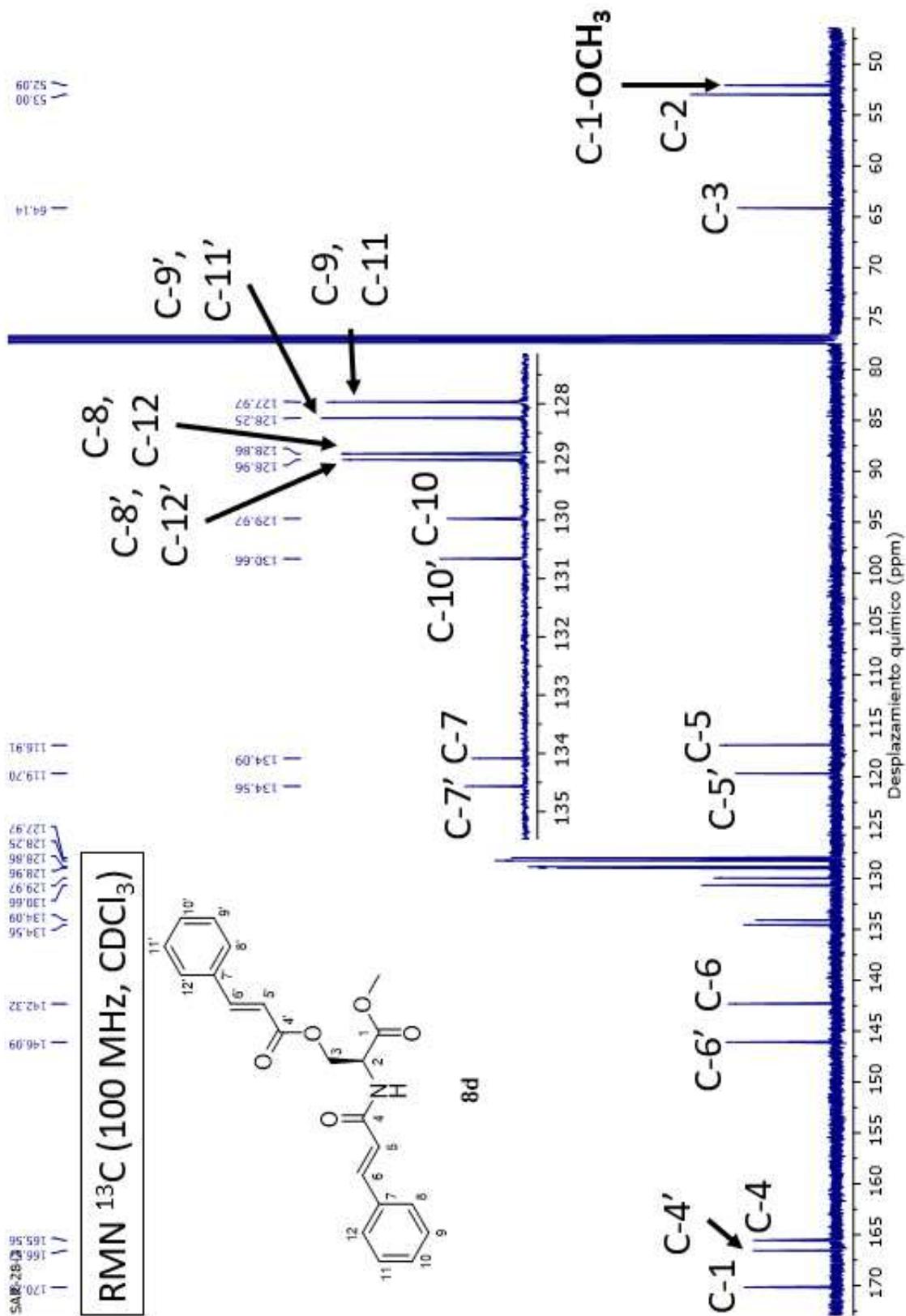
Espectro 34. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de acrilato 8c.

19002-06_3.fid
19002-06
SAR-40-3 / CDCL3
19F-RMN

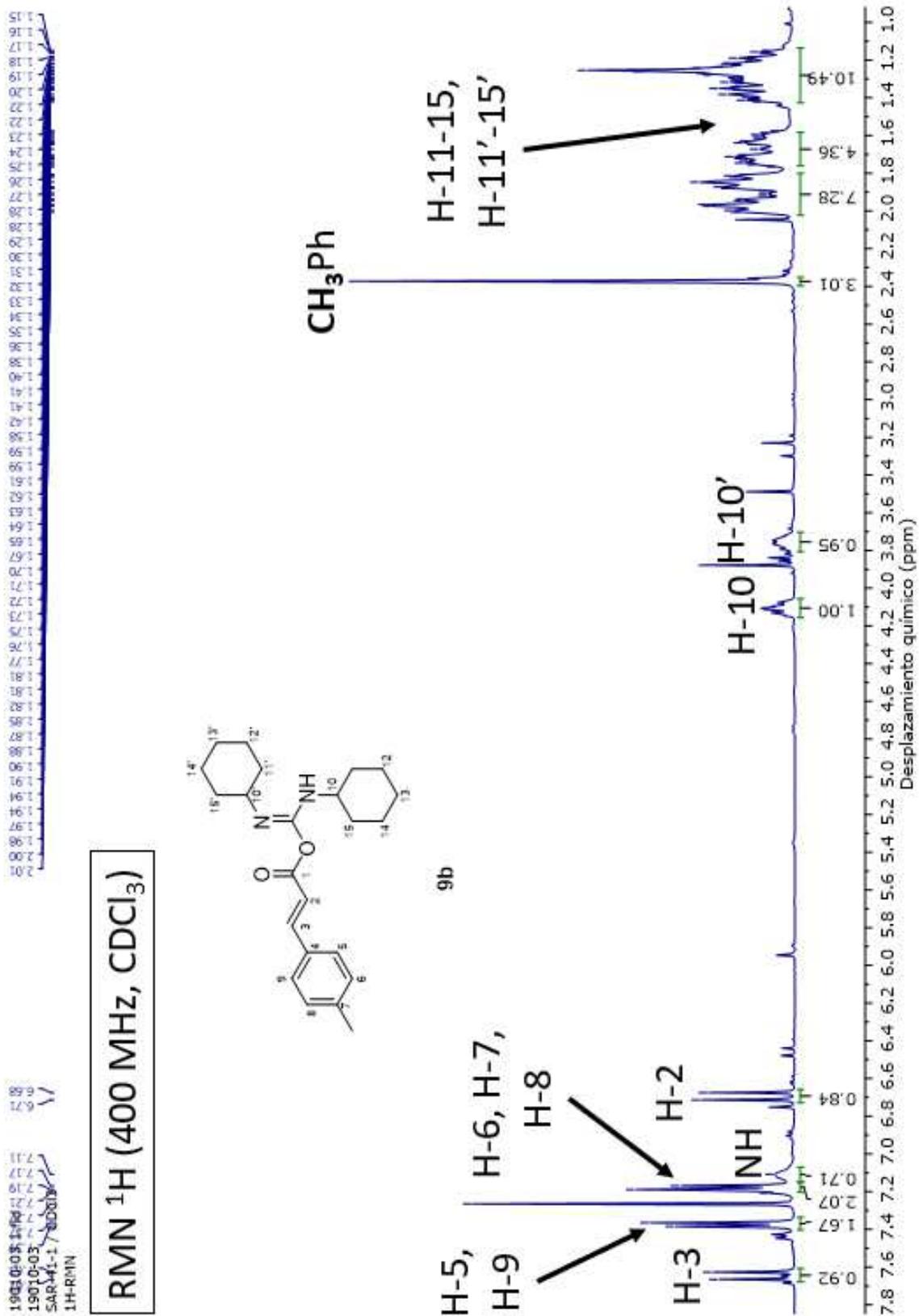
RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃)



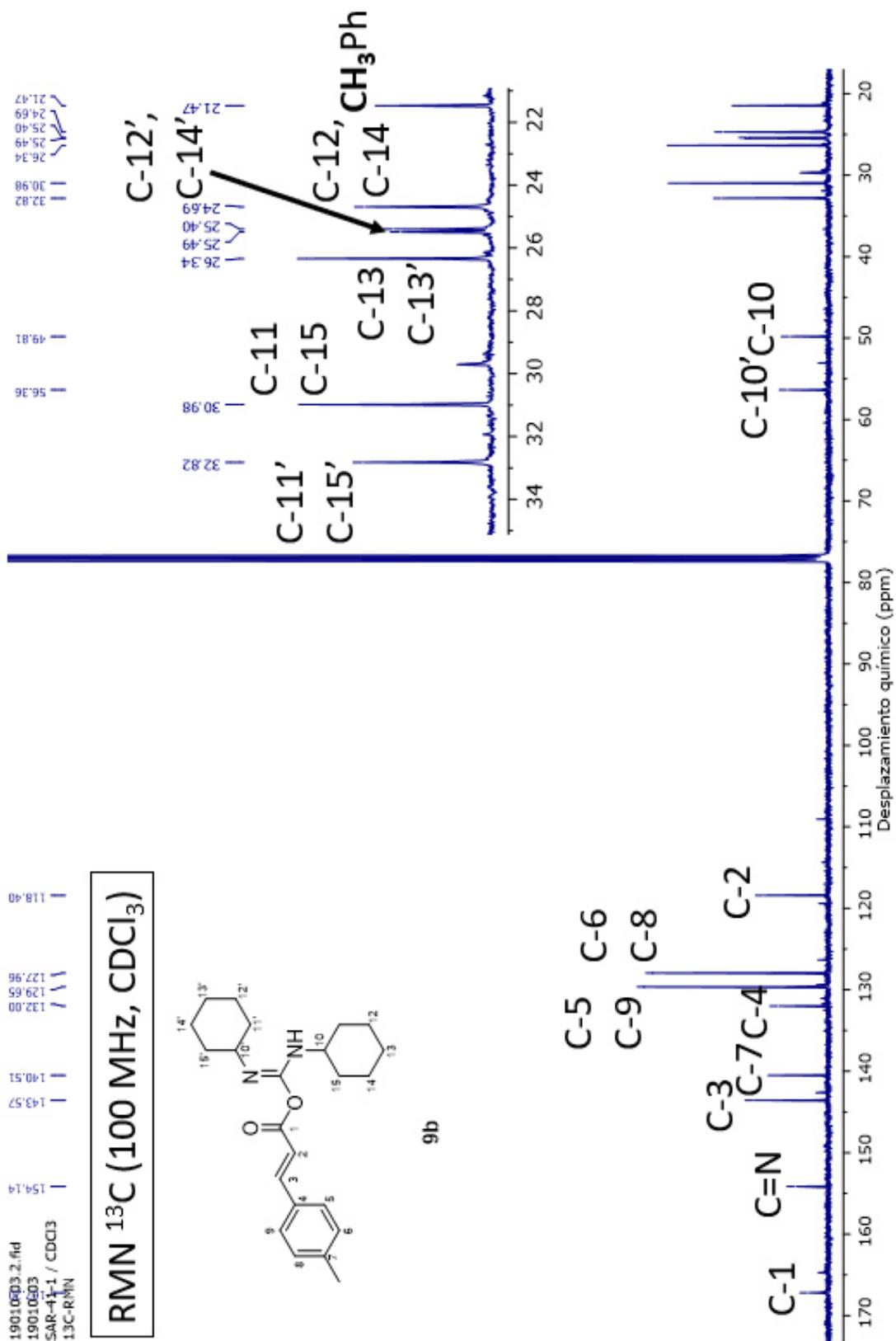
Espectro 36. RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) de acrilato 8c.



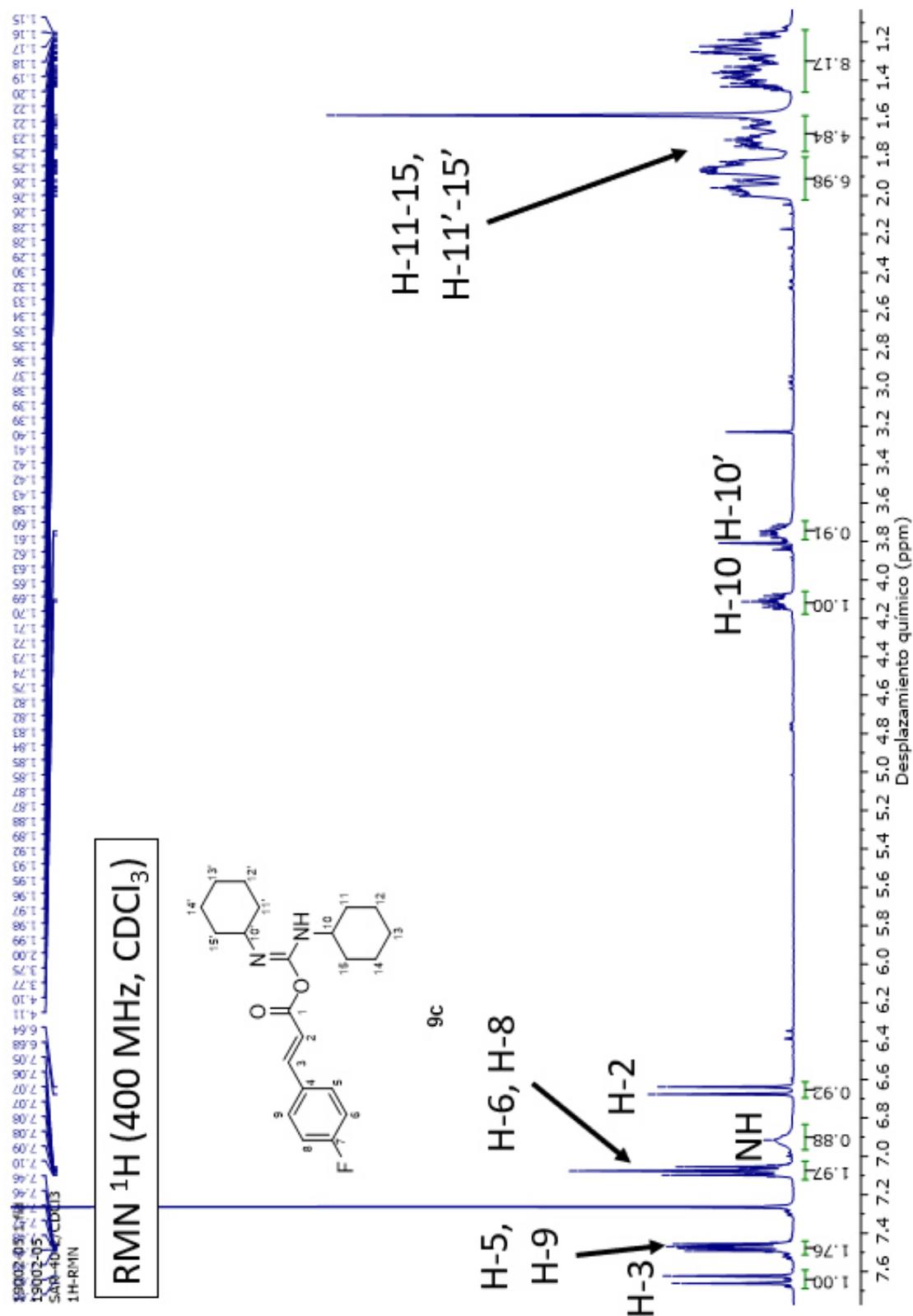
Espectro 38. RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) de acrilato 8d.



Espectro 39. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de anhidrido 9b.



Espectro 40. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de anhidrido 9b.



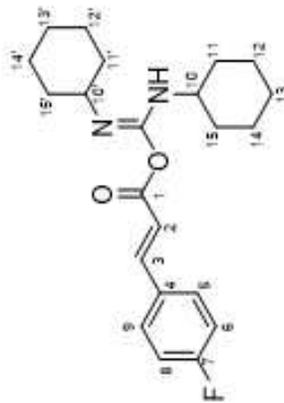
Espectro 41. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de anhidrido **9c**.



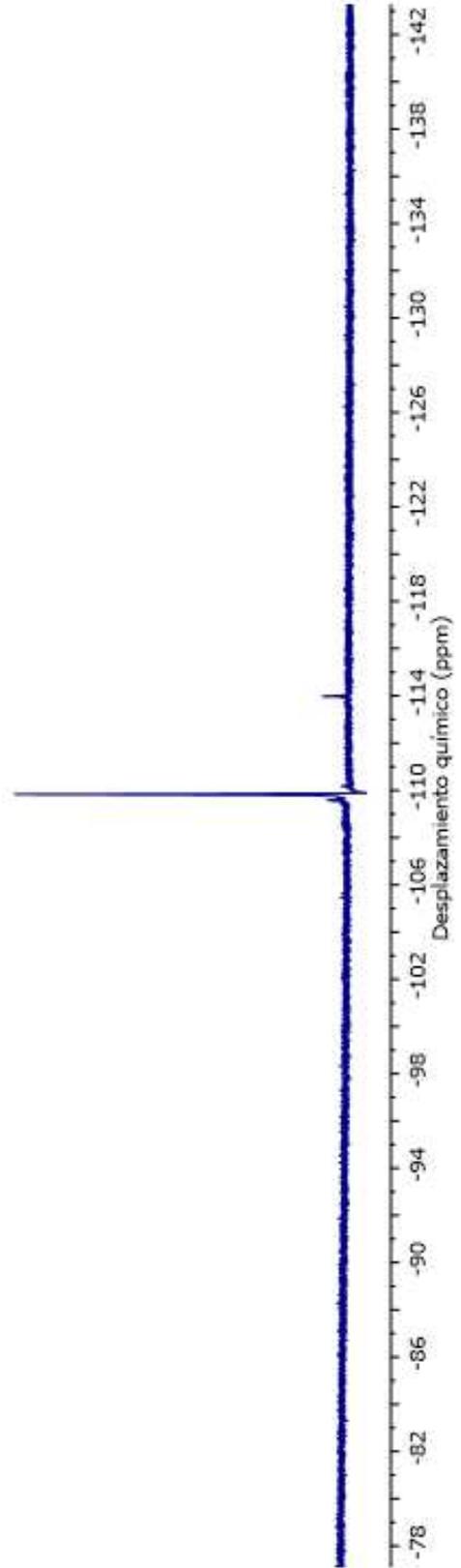
Espectro 42. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de anhidrido 9c.

19002-05.3.fid
19002-05
SAR-40-2 / CDCL3
19F-RMN

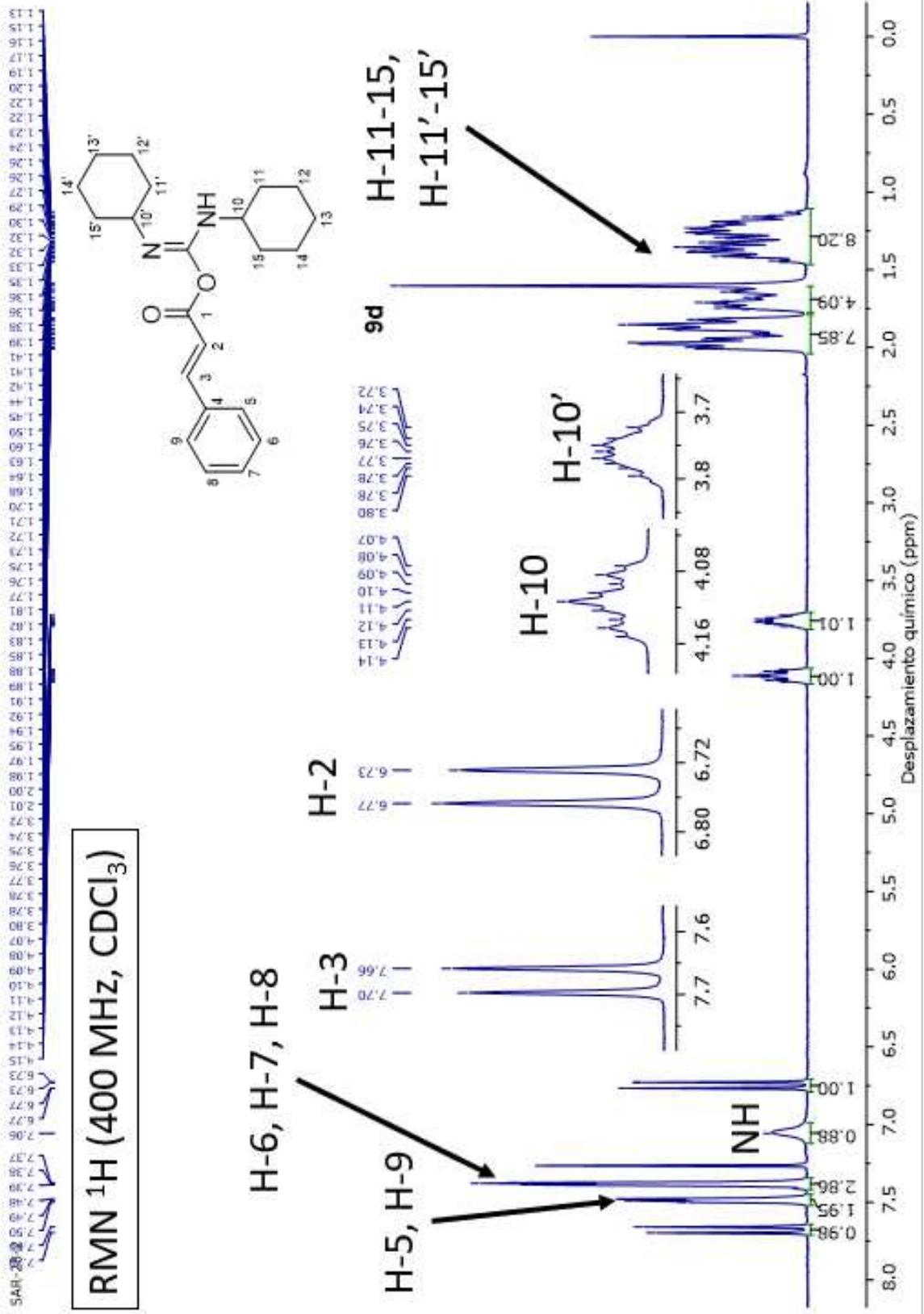
RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃)



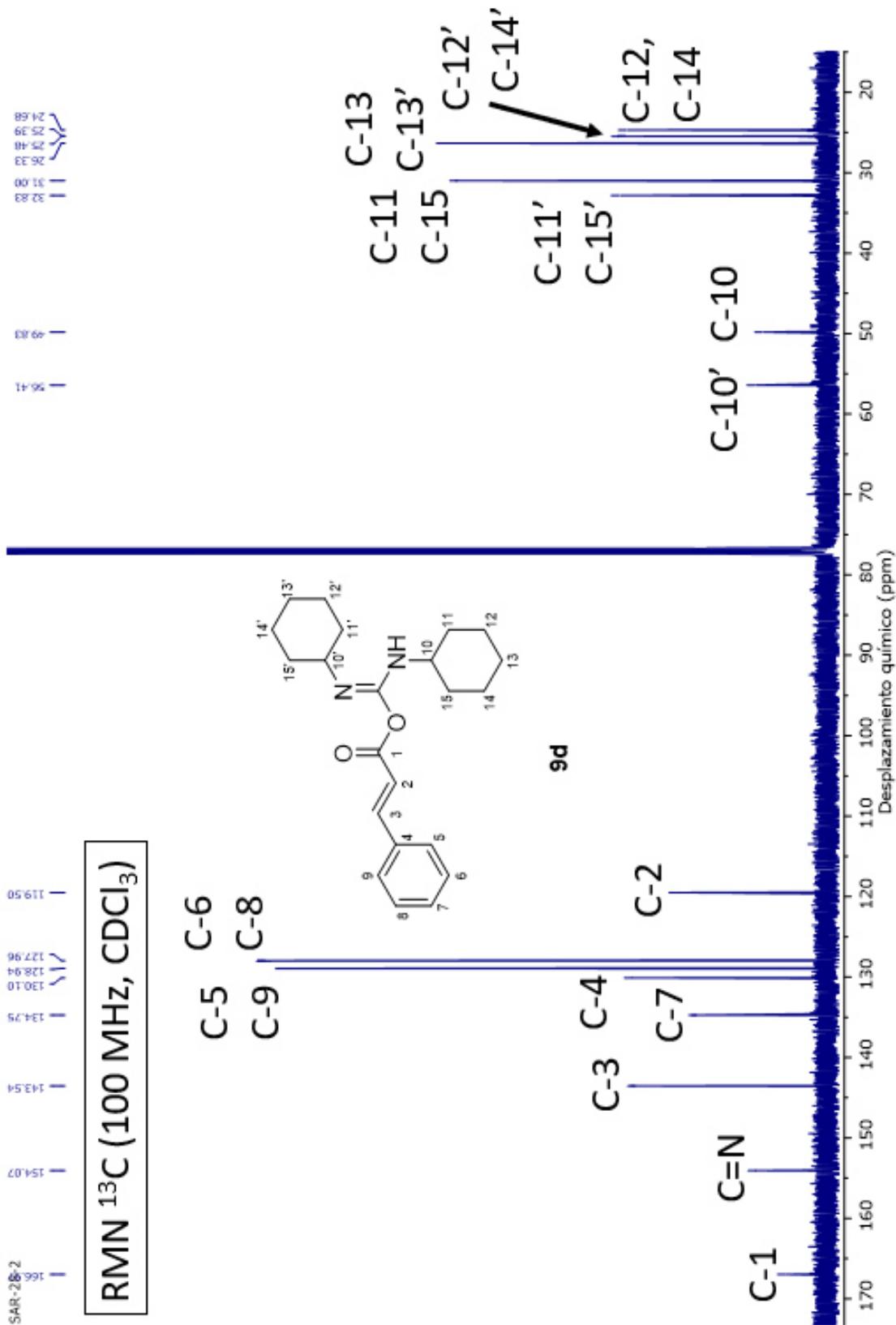
9c



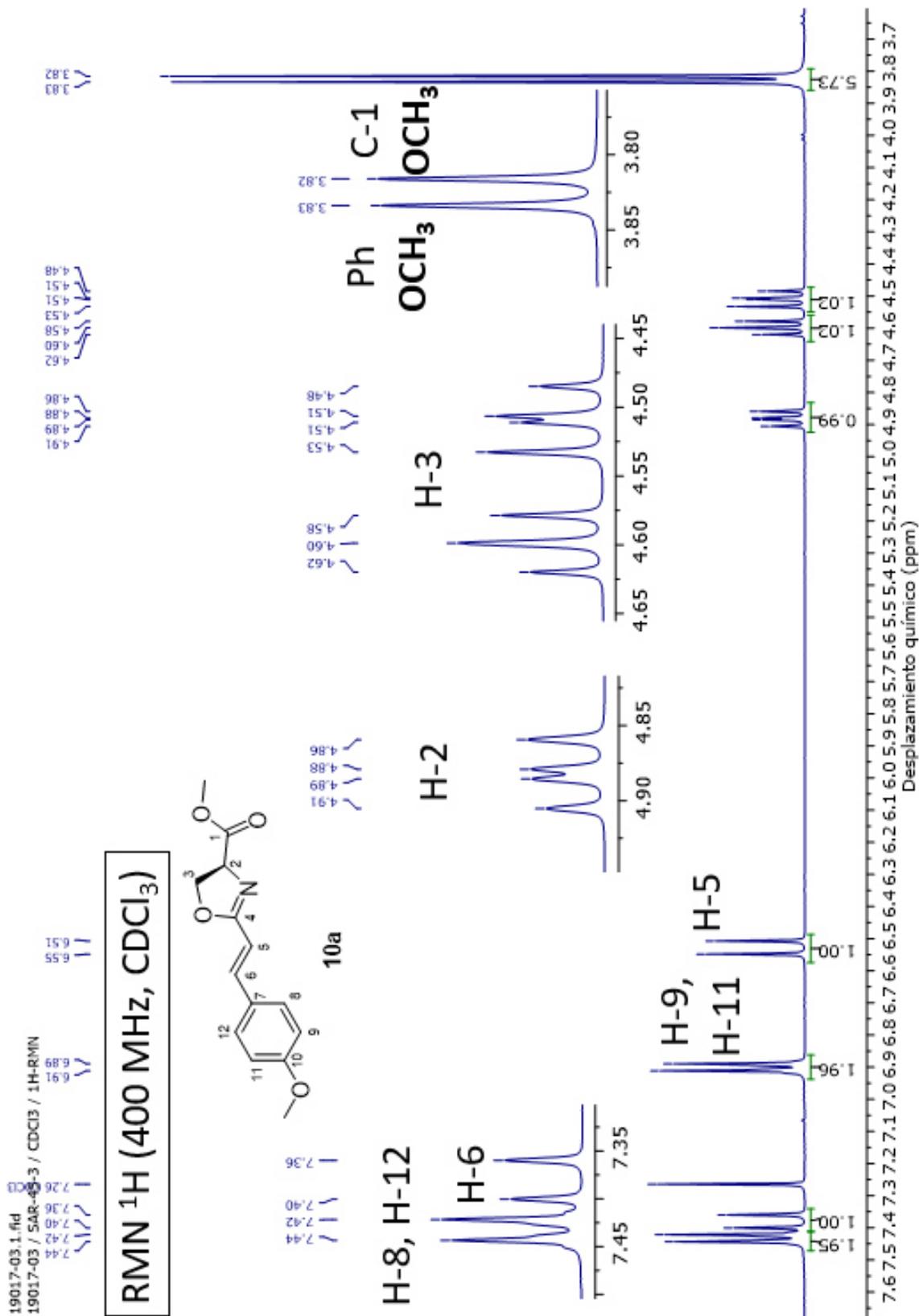
Espectro 43. RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) de anhidrido 9c.



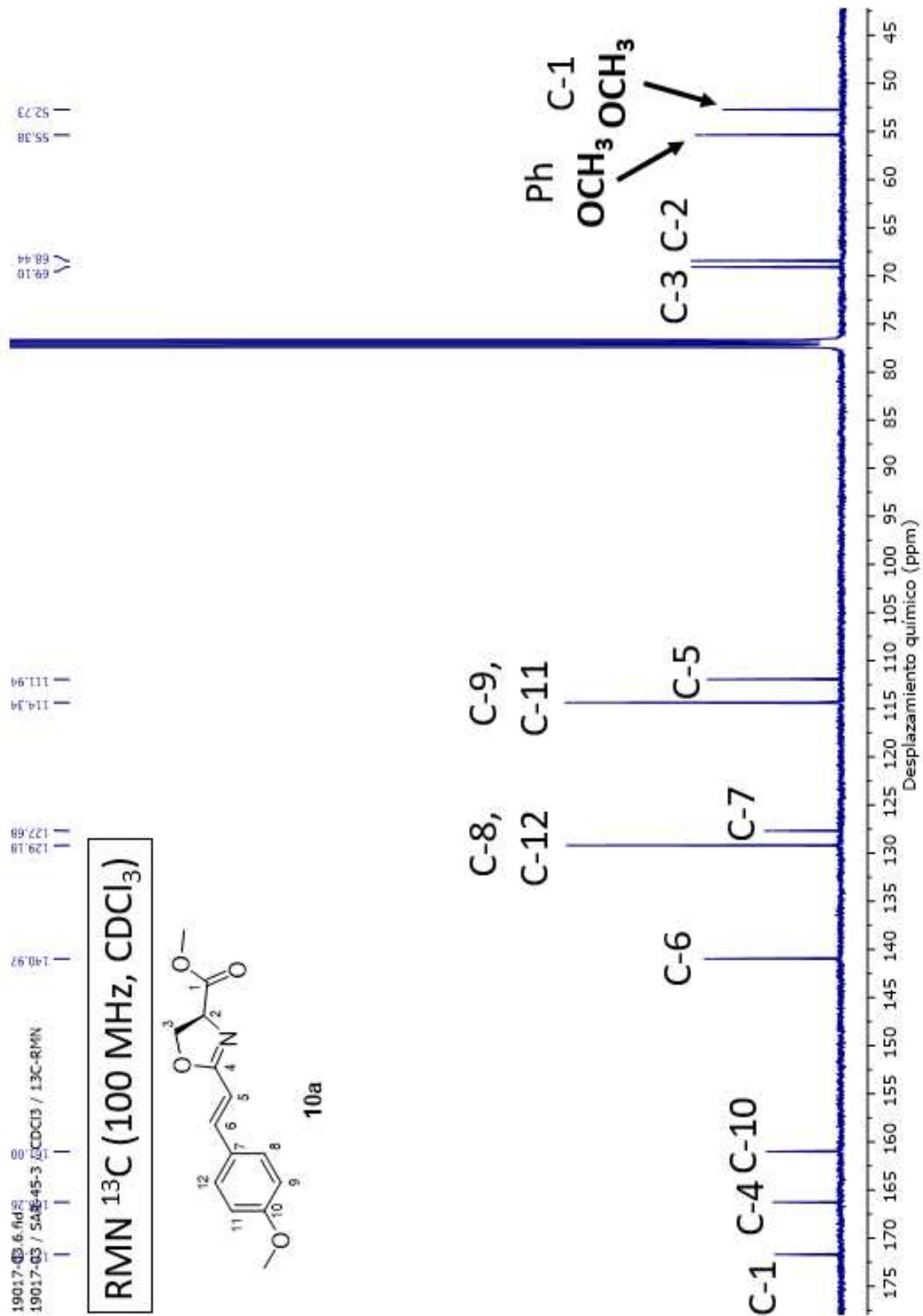
Espectro 44. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de anhidrido 9d.



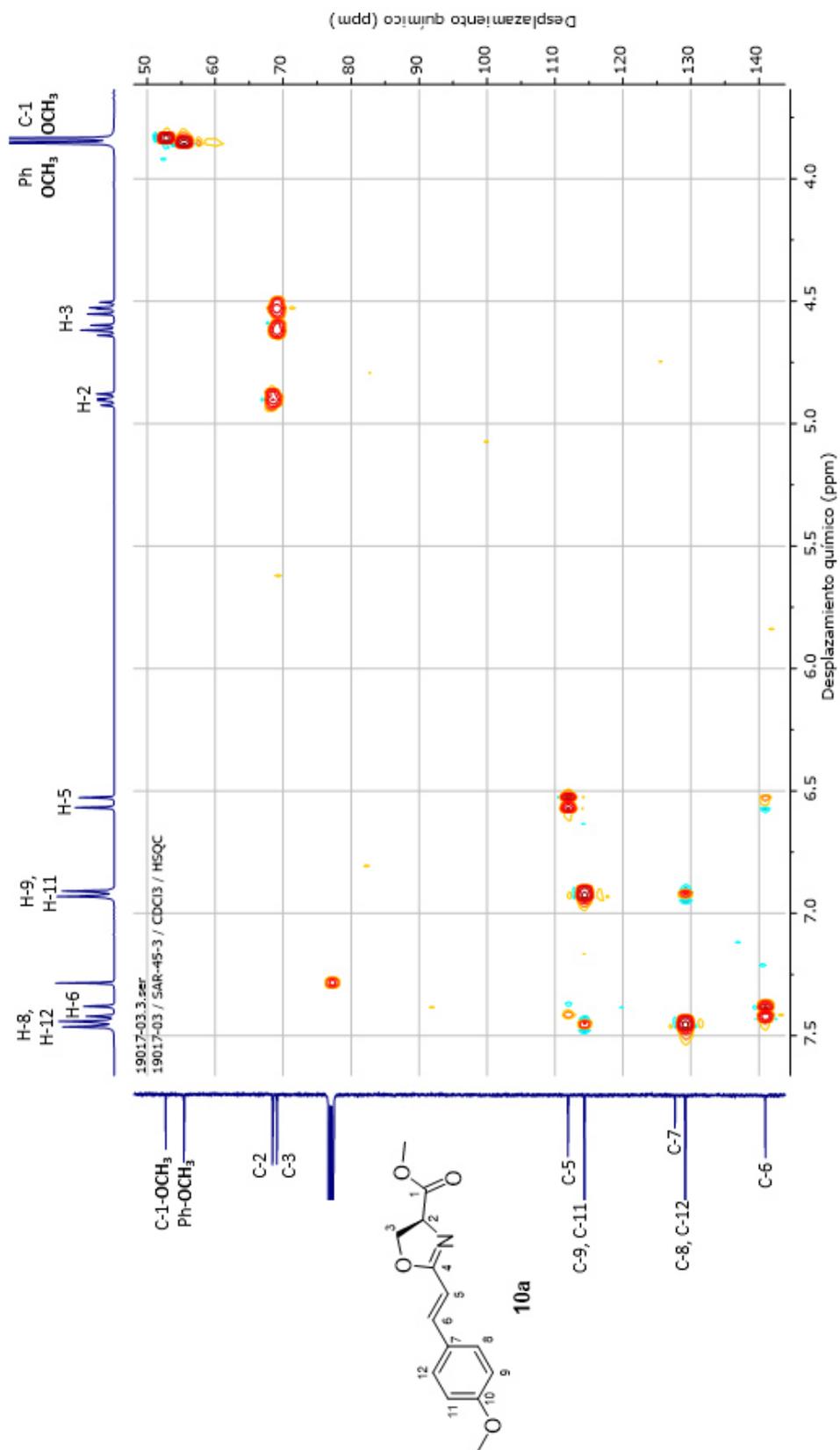
Espectro 45. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de anhidrido 9d.



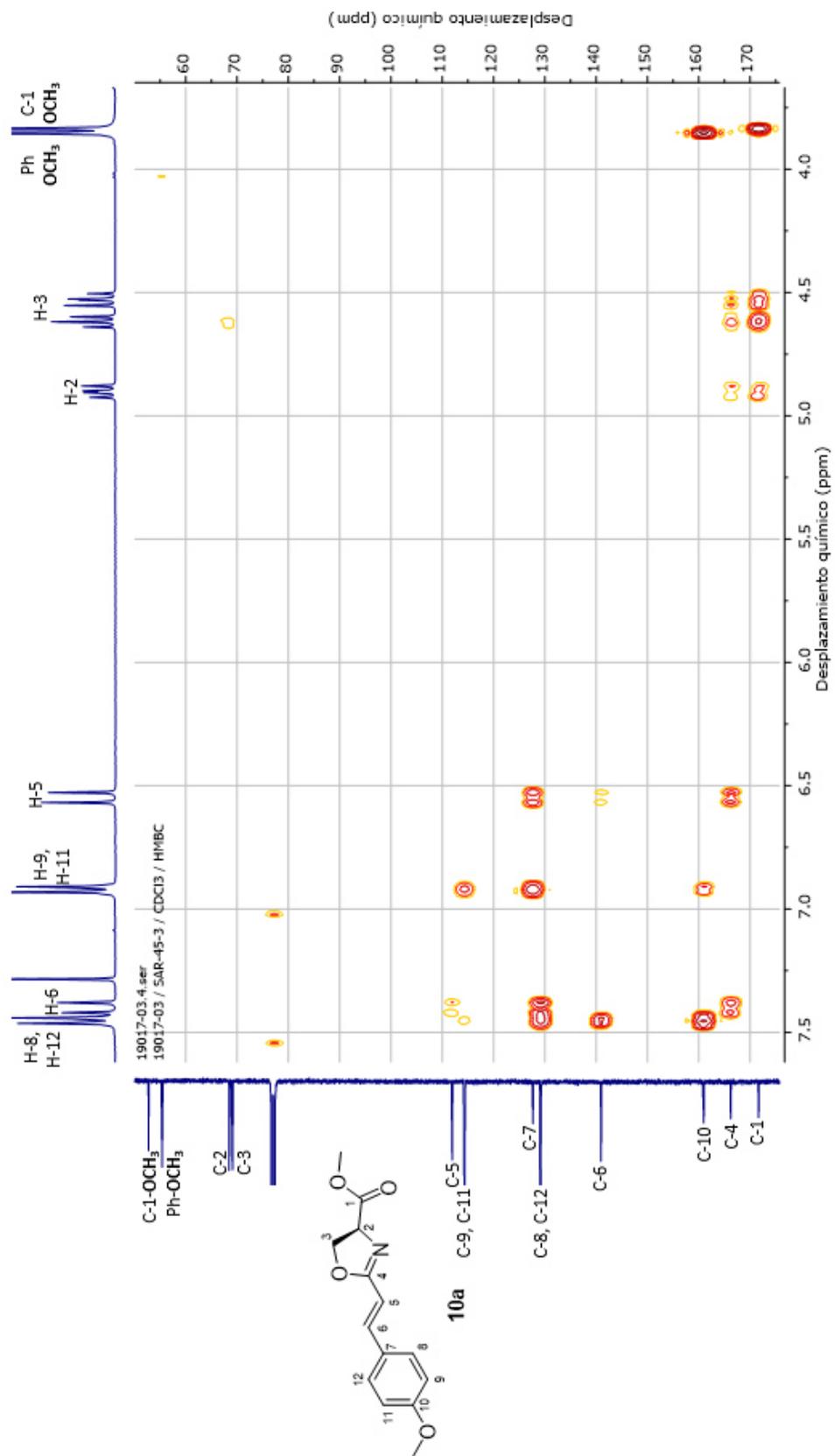
Espectro 46. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10a.



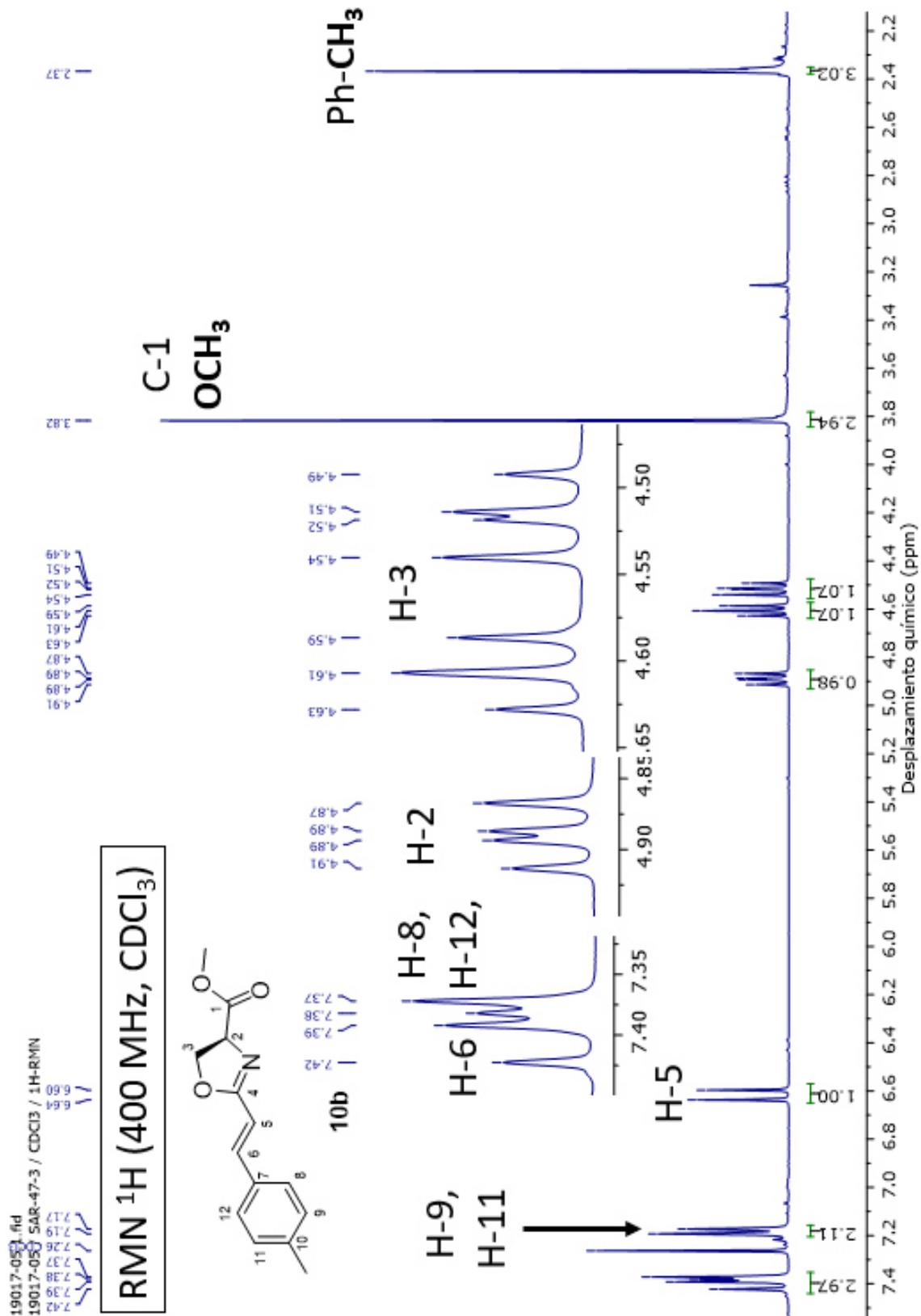
Espectro 47. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10a.



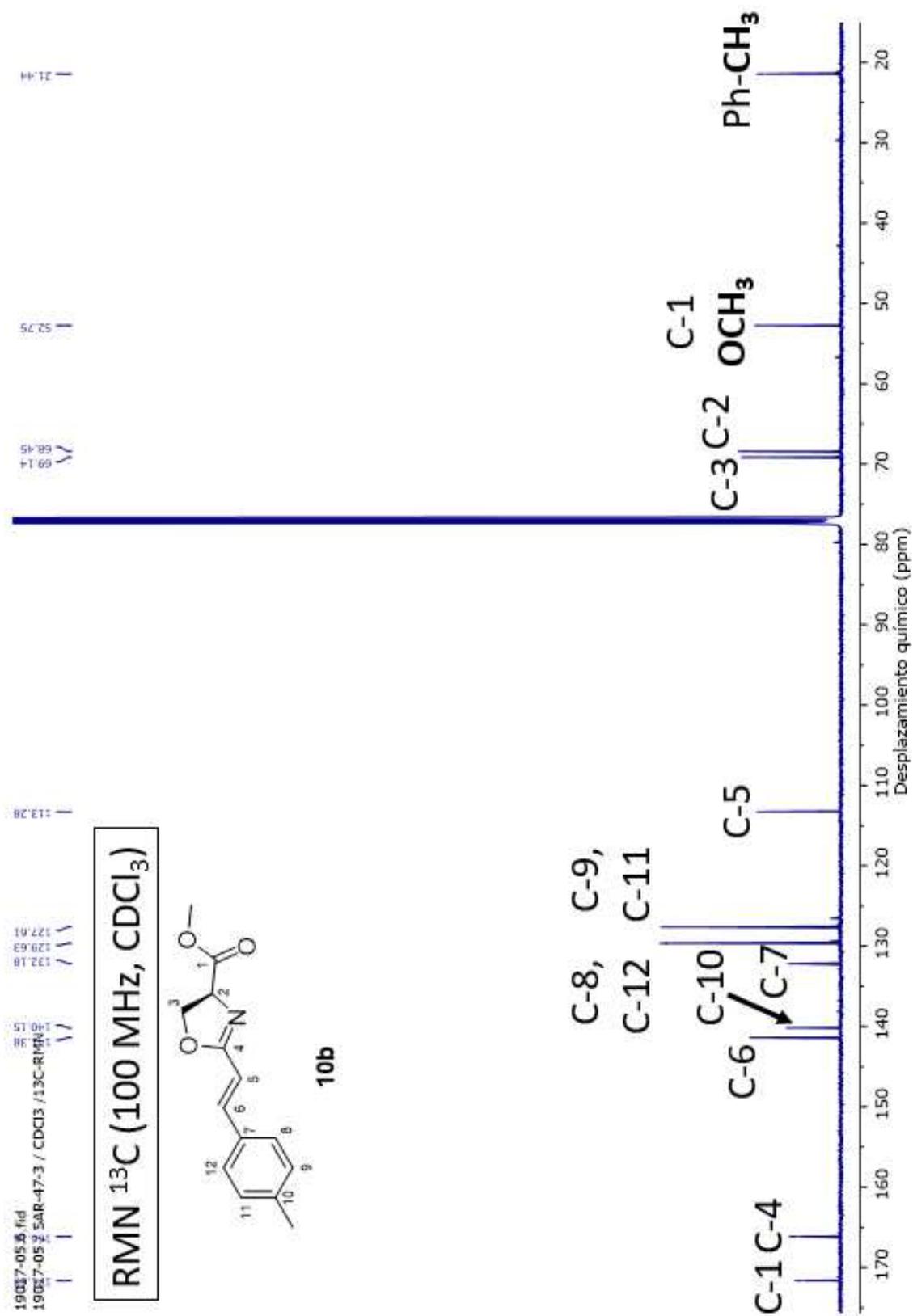
Espectro 48. RMN HSQC (CDCl₃) de oxazolina 10a.



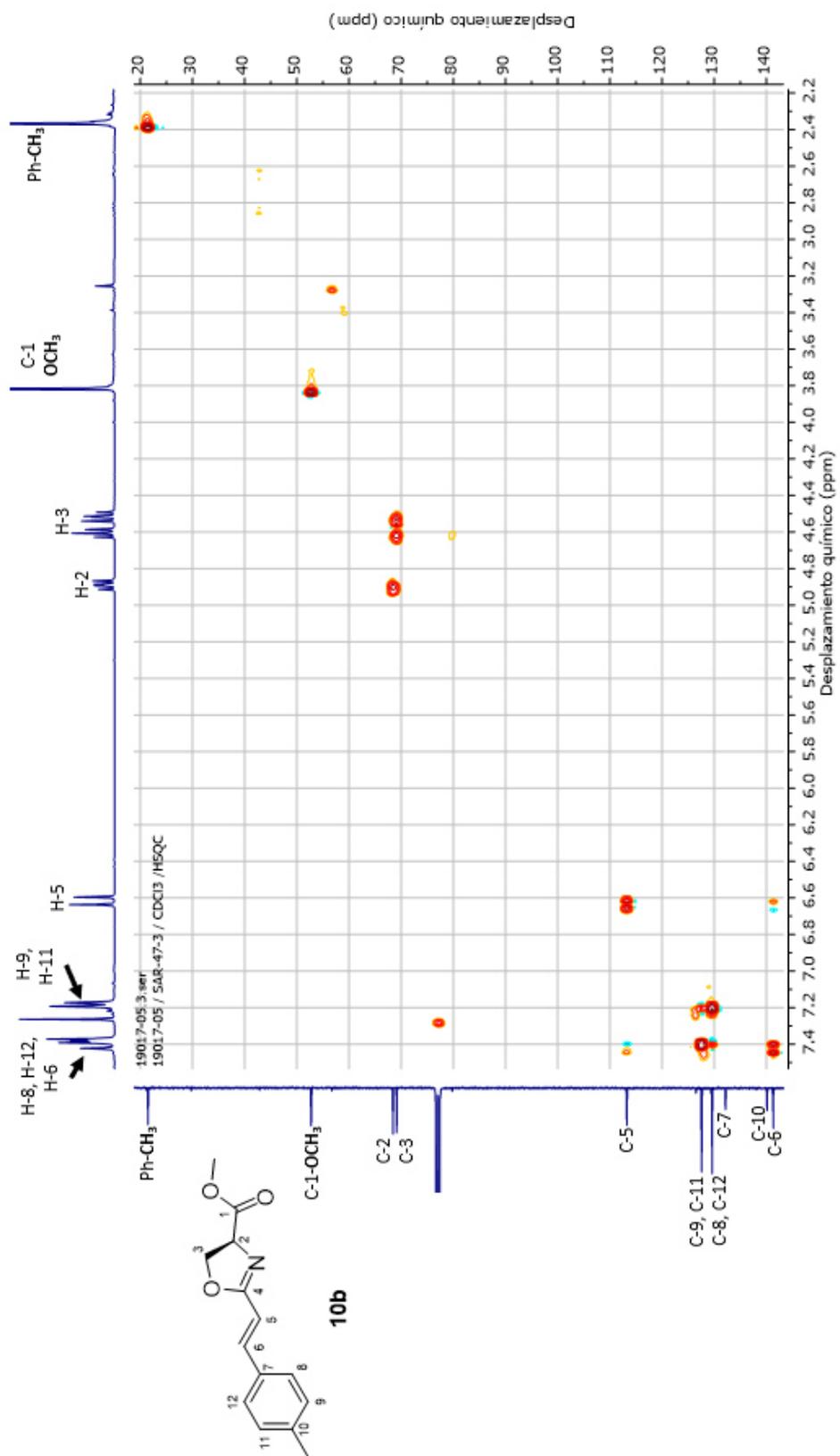
Espectro 49. RMN HMBC (CDCl₃) de oxazolina 10a.



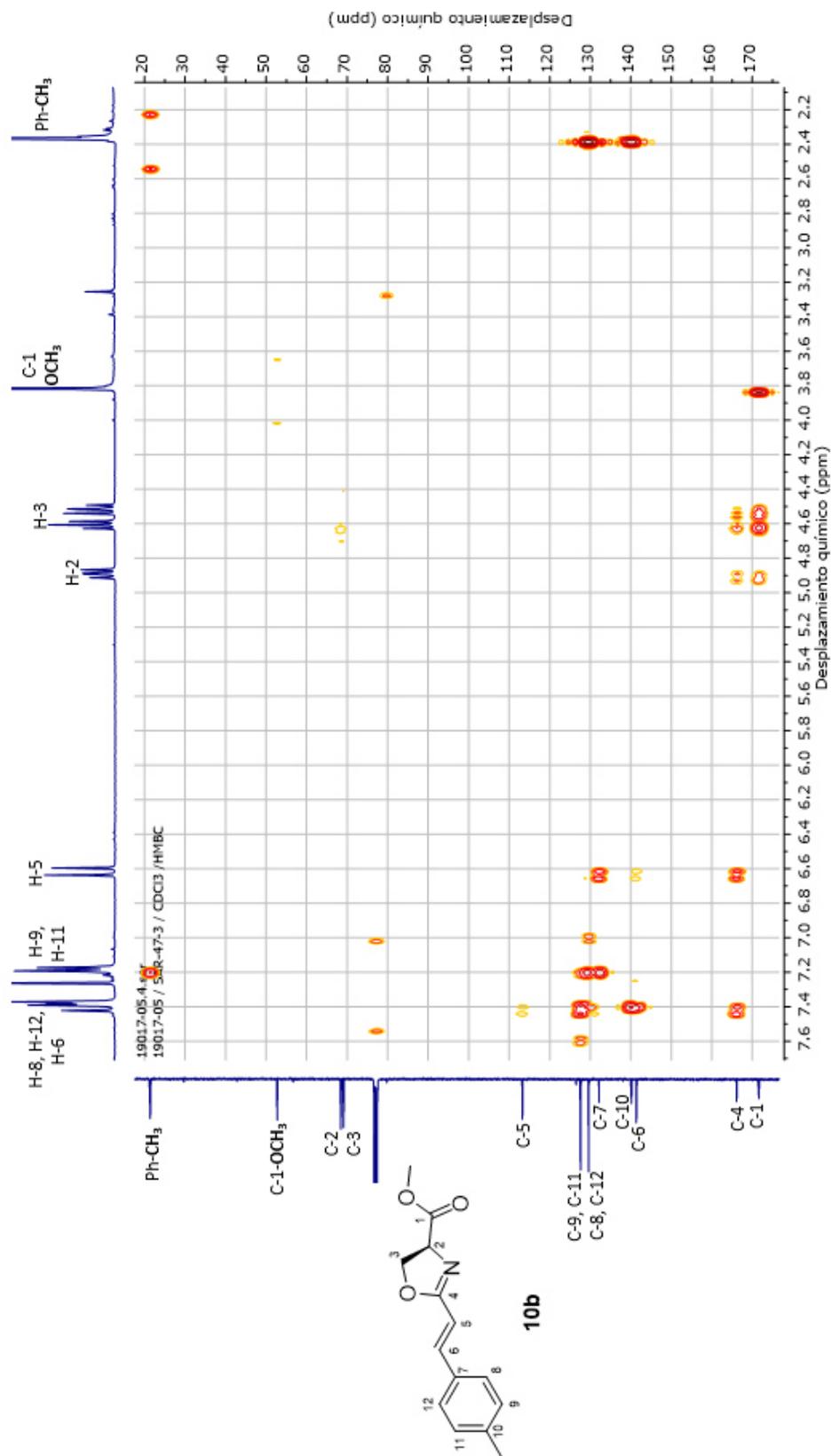
Espectro 50. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10b.



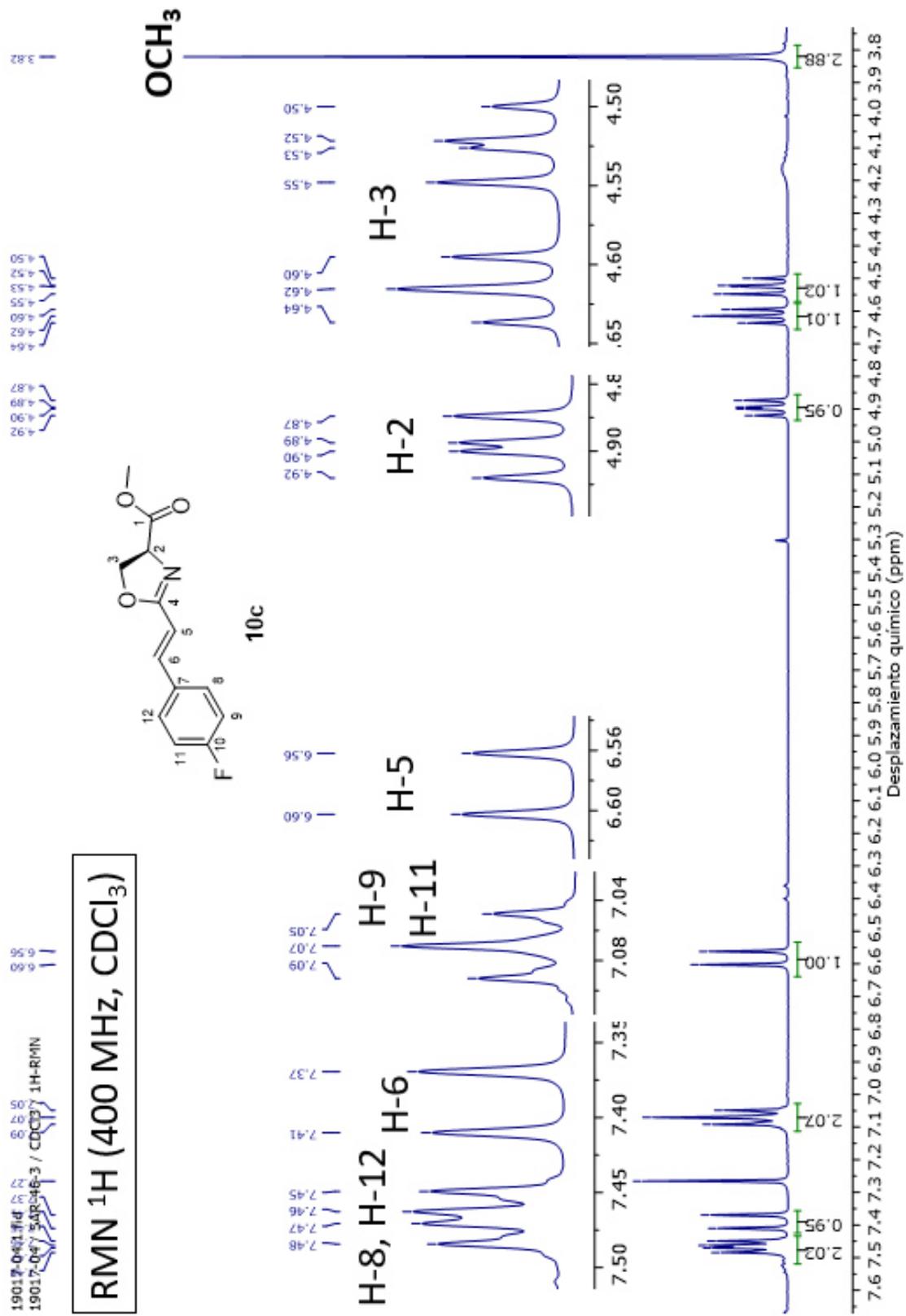
Espectro 51. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10b.



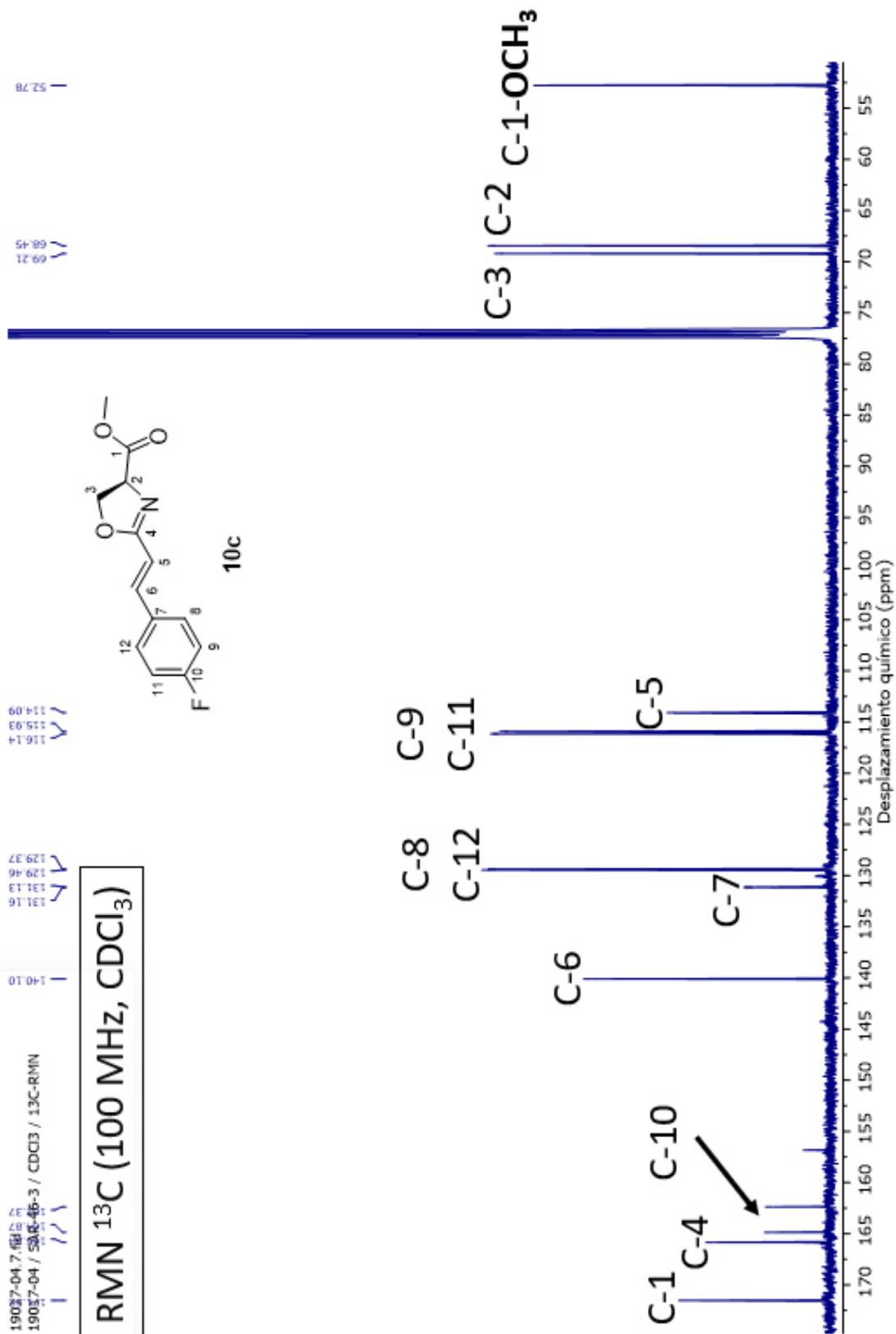
Espectro 52. RMN HSQC (CDCl₃) de oxazolina 10b.



Espectro 53. RMN HMBC (CDCl₃) de oxazolina 10b.



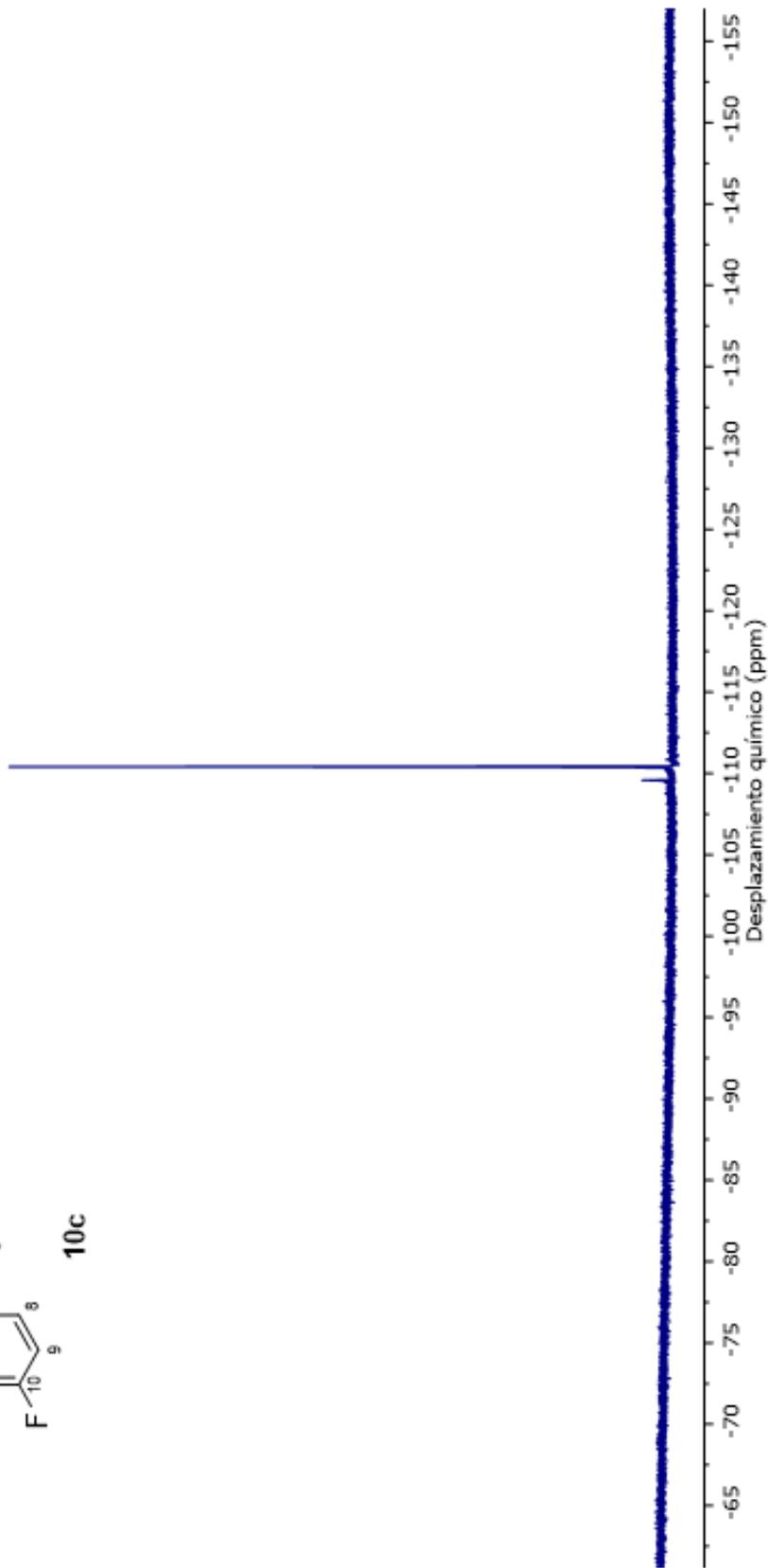
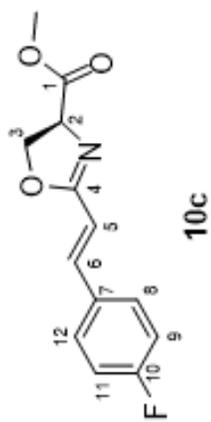
Espectro 54. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10c.



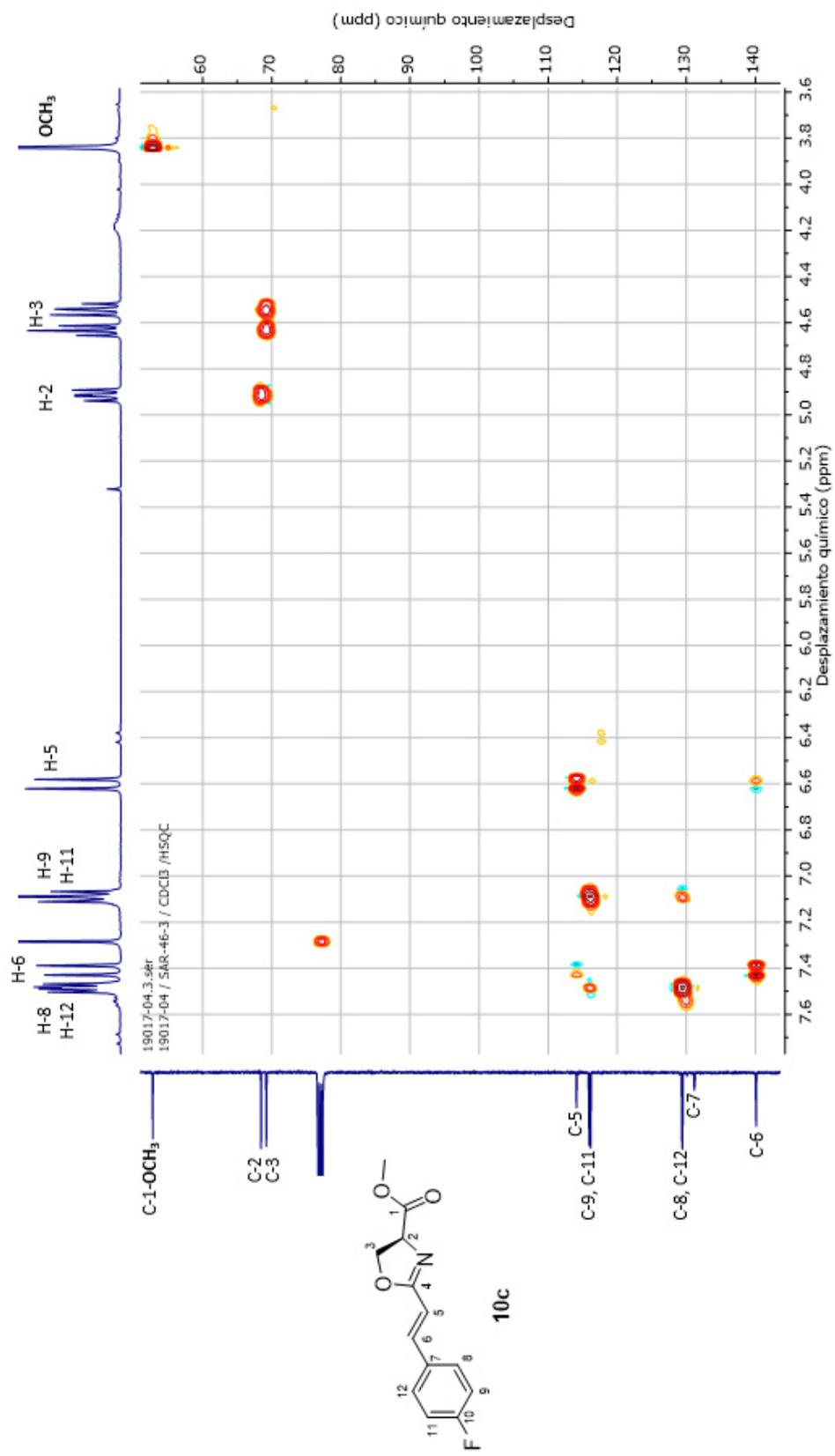
Espectro 55. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10c.

19017-04.8.fid
19017-04
SAR-46-3 / CDCl3
19F-RMN

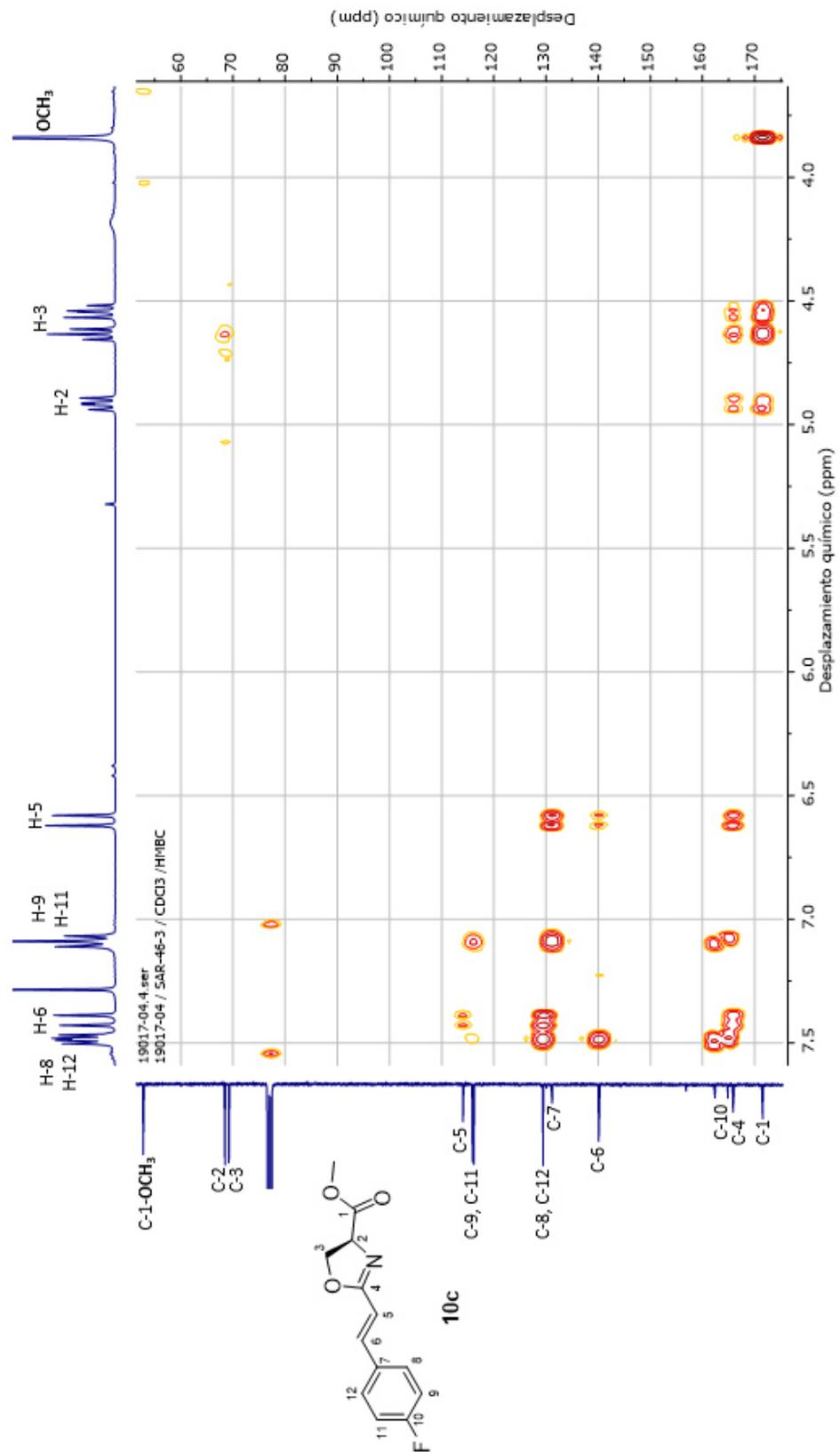
RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃)



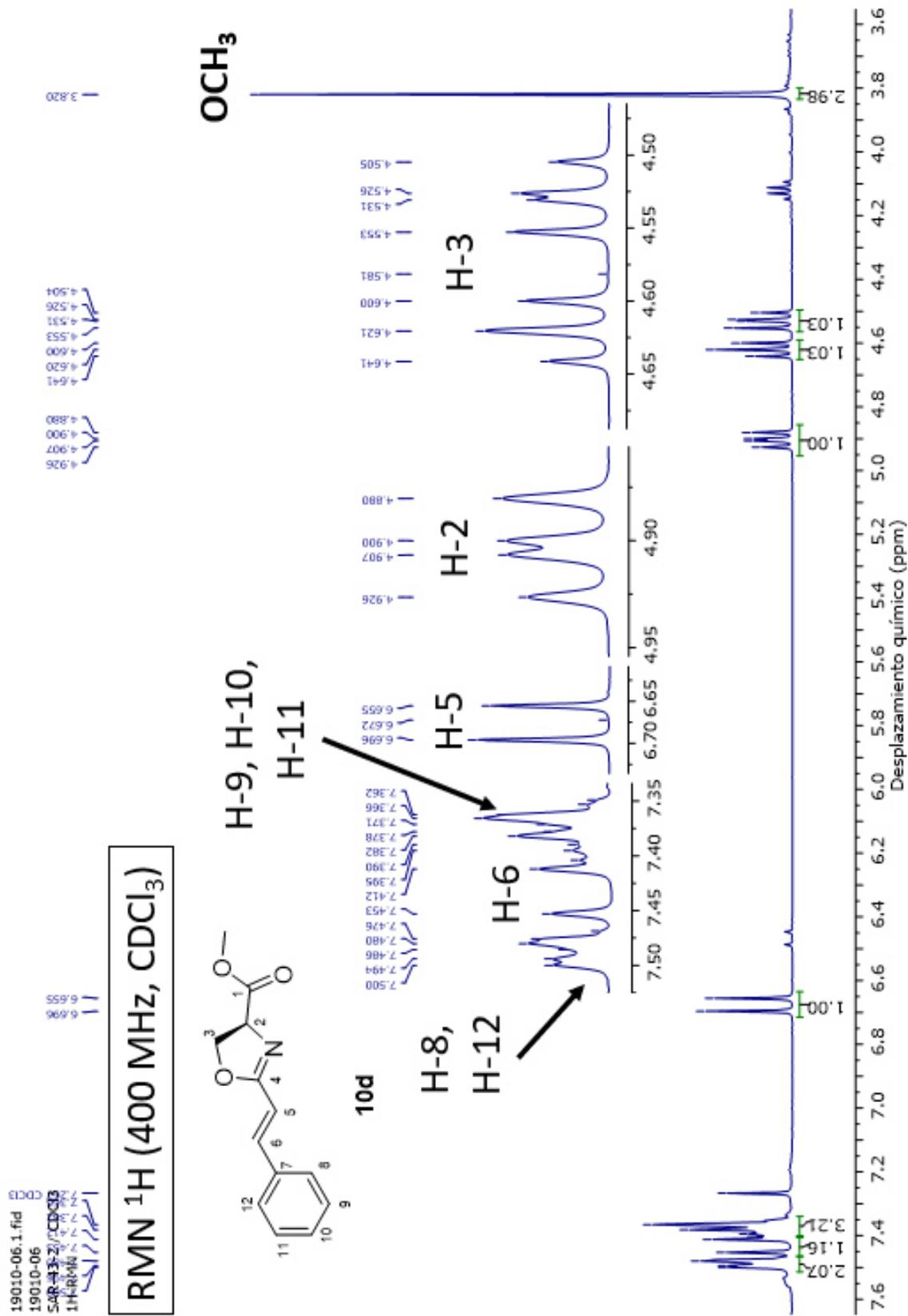
Espectro 56. RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10c.



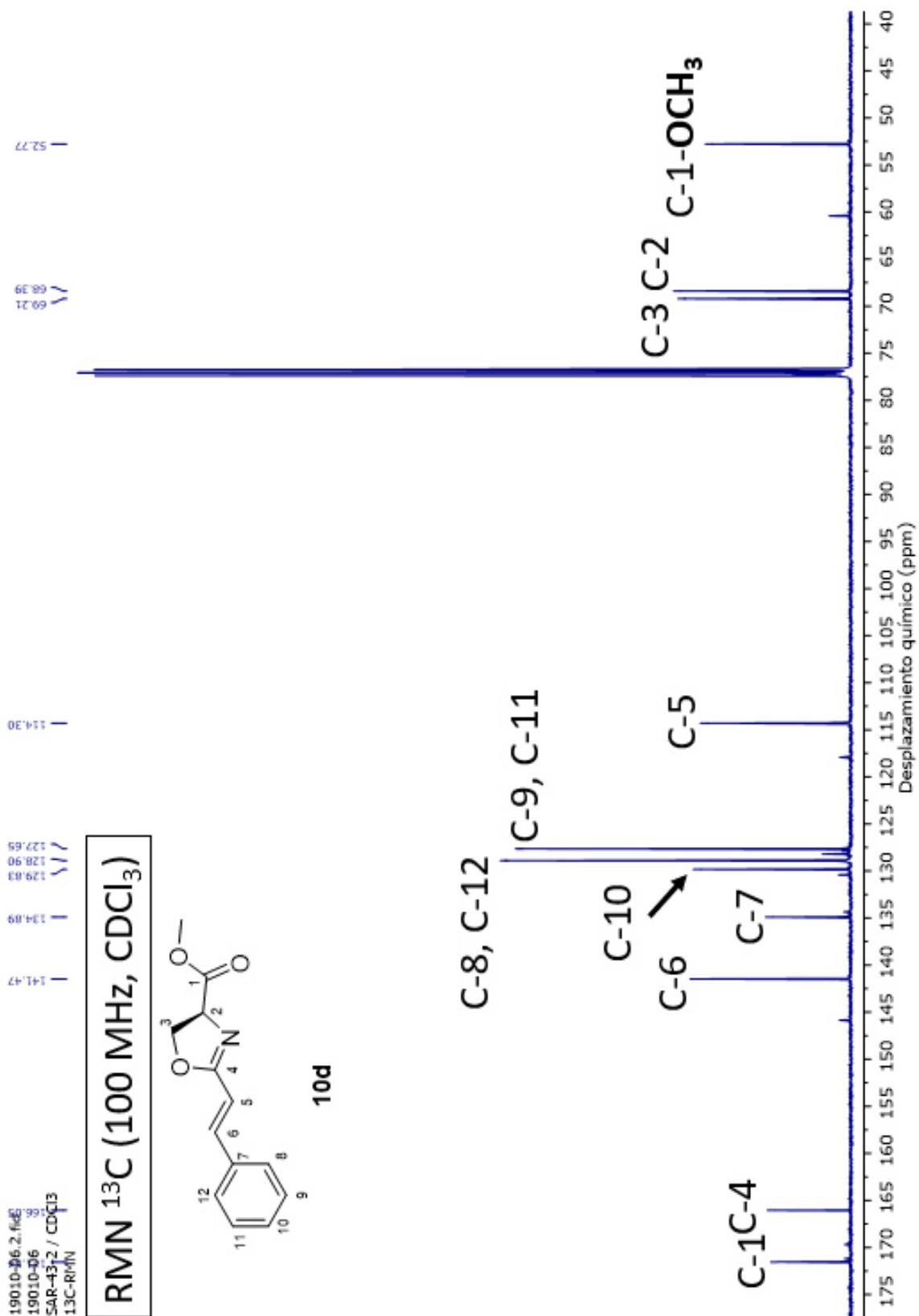
Espectro 57. RMN HSQC (CDCl₃) de oxazolina 10c.



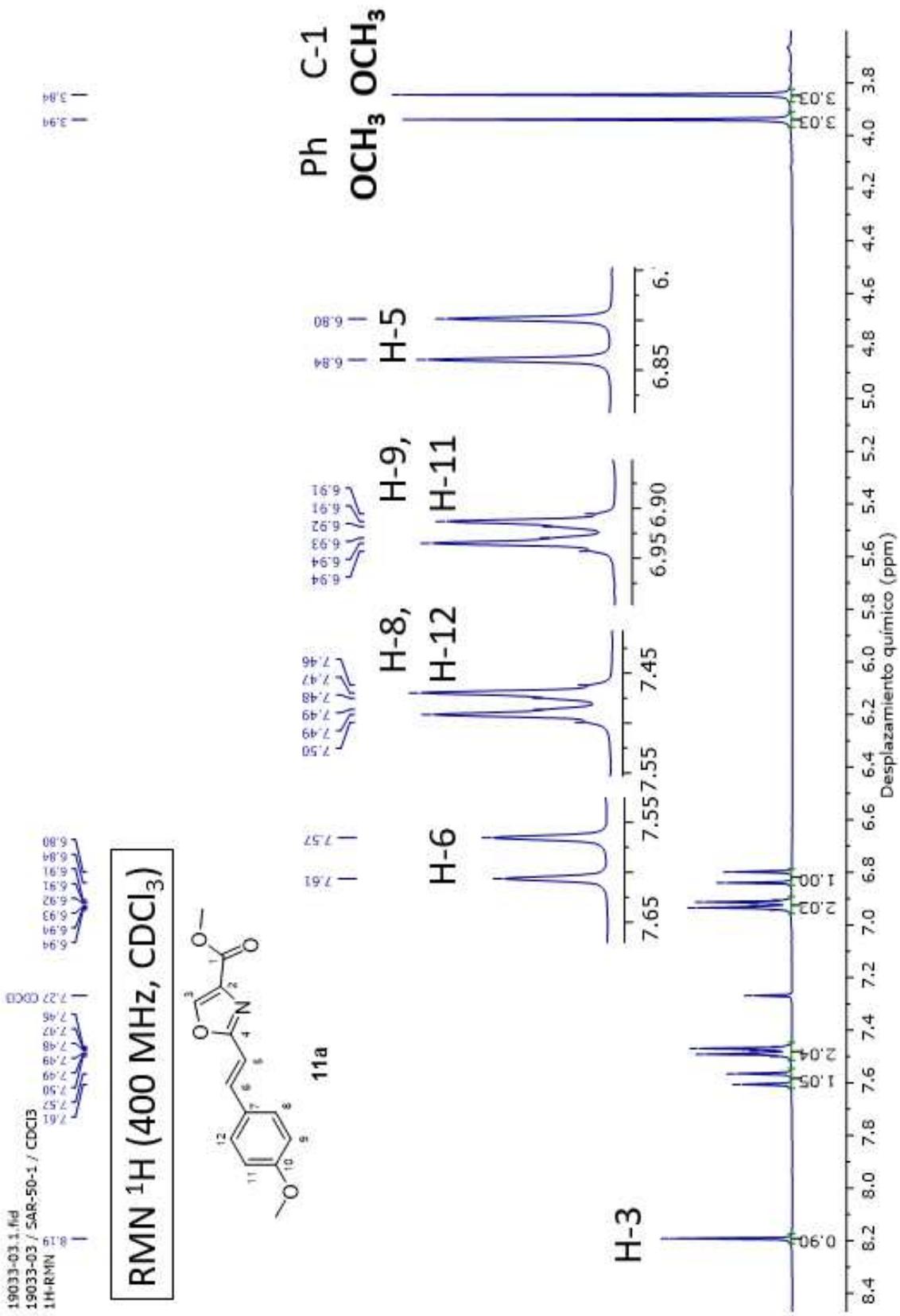
Espectro 58. RMN HMBC (CDCl₃) de oxazolina 10c.



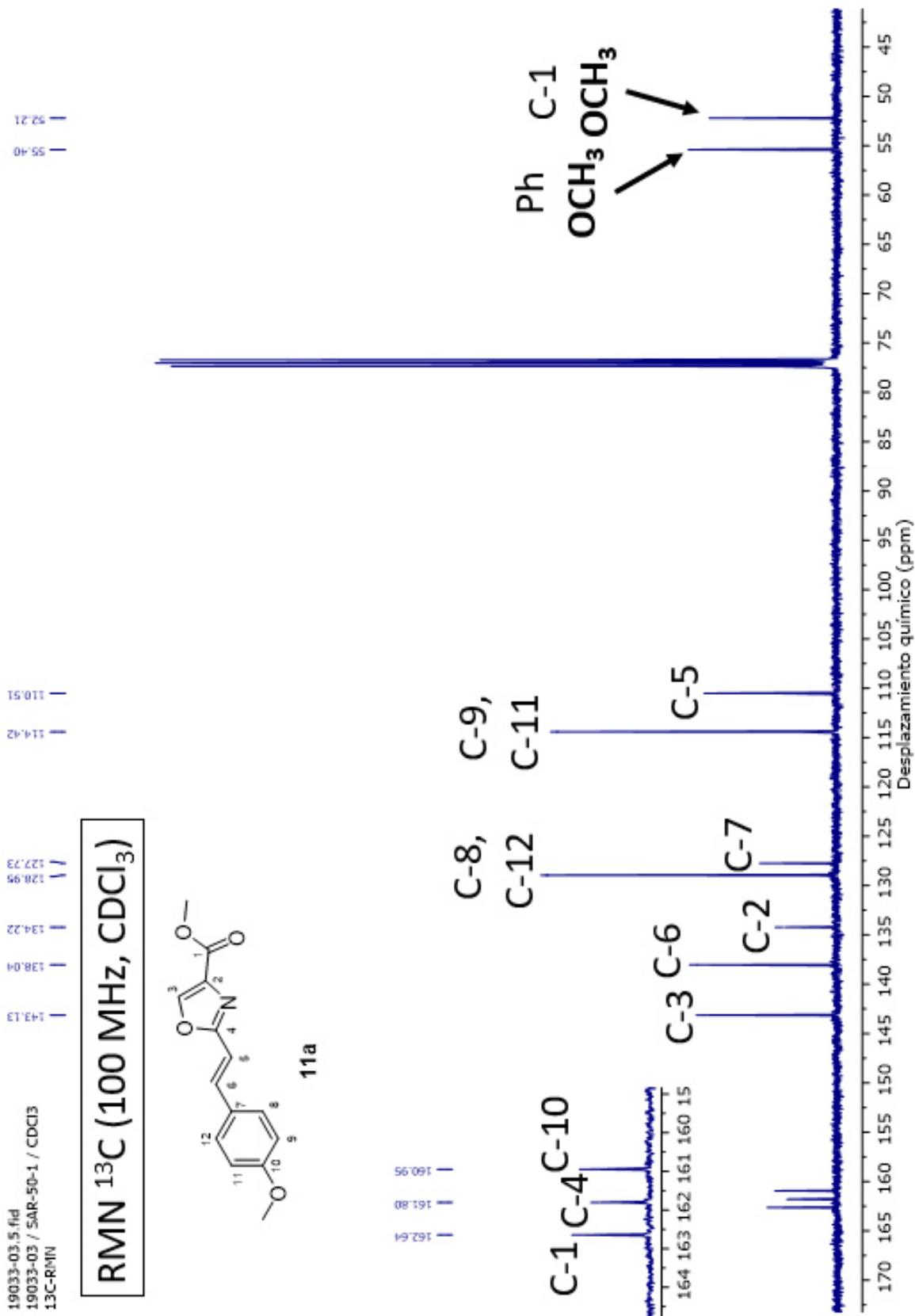
Espectro 59. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10d.



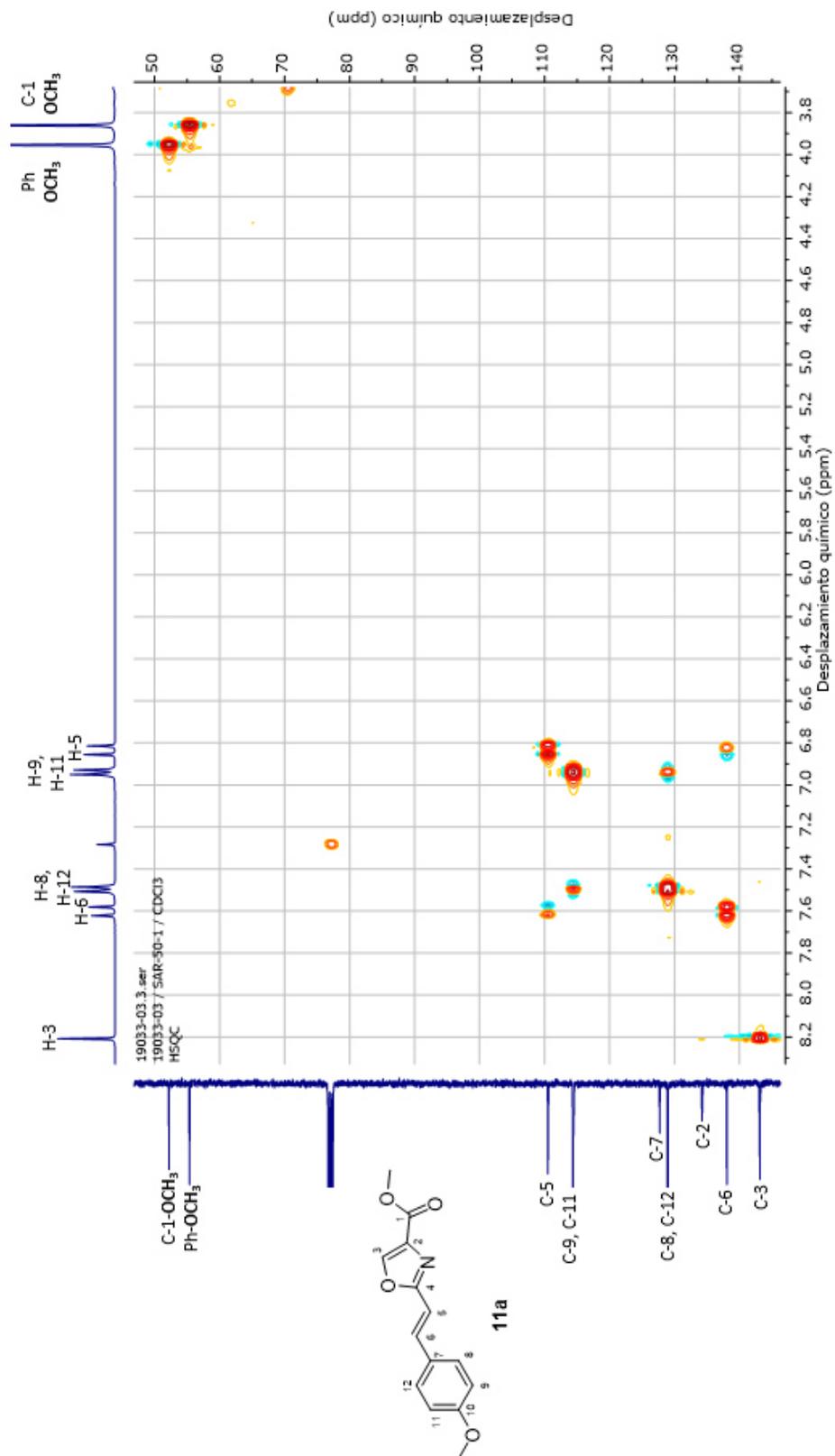
Espectro 60. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazolina 10d.



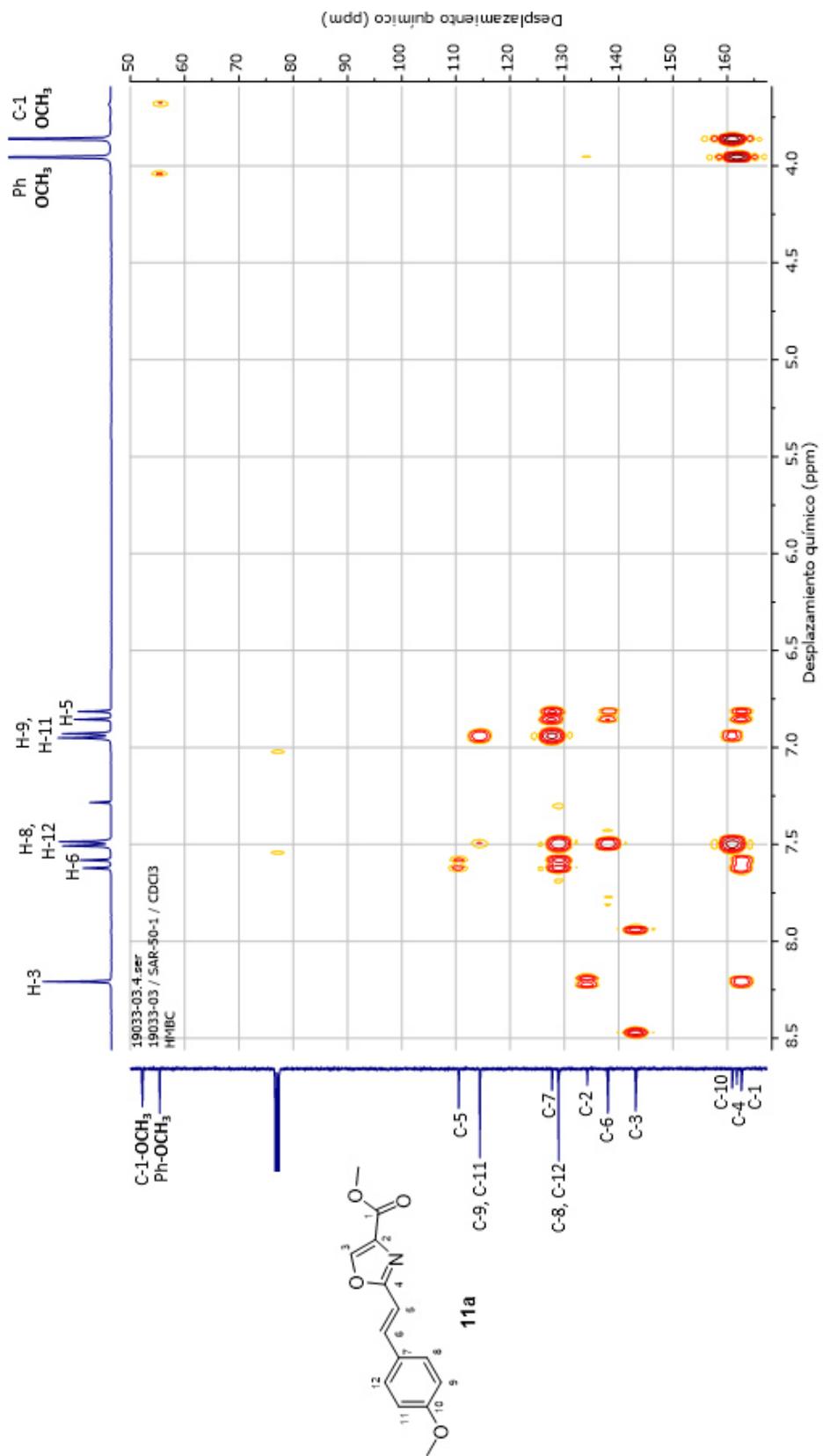
Espectro 61. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazol 11a.



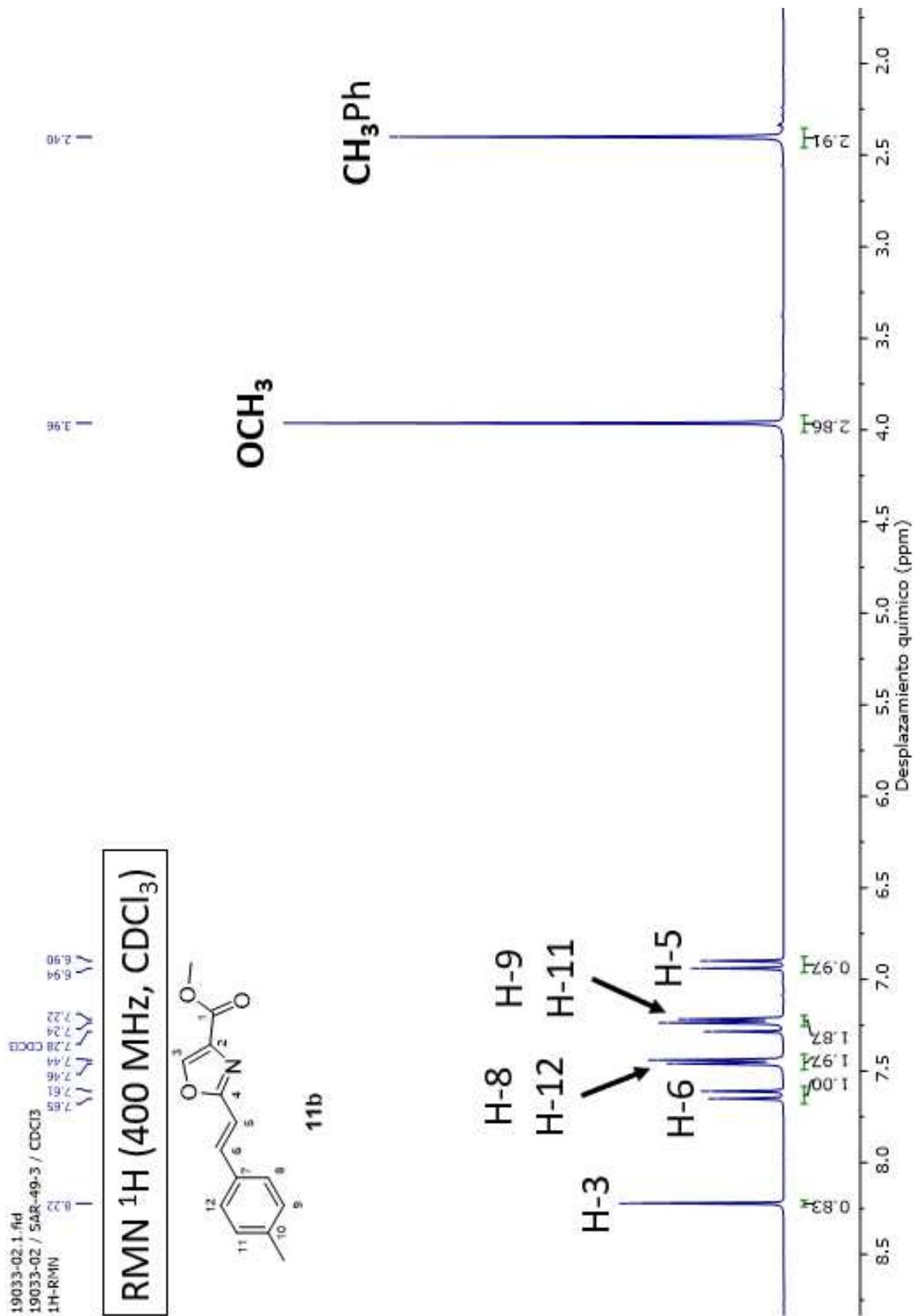
Espectro 62. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazol 11a.



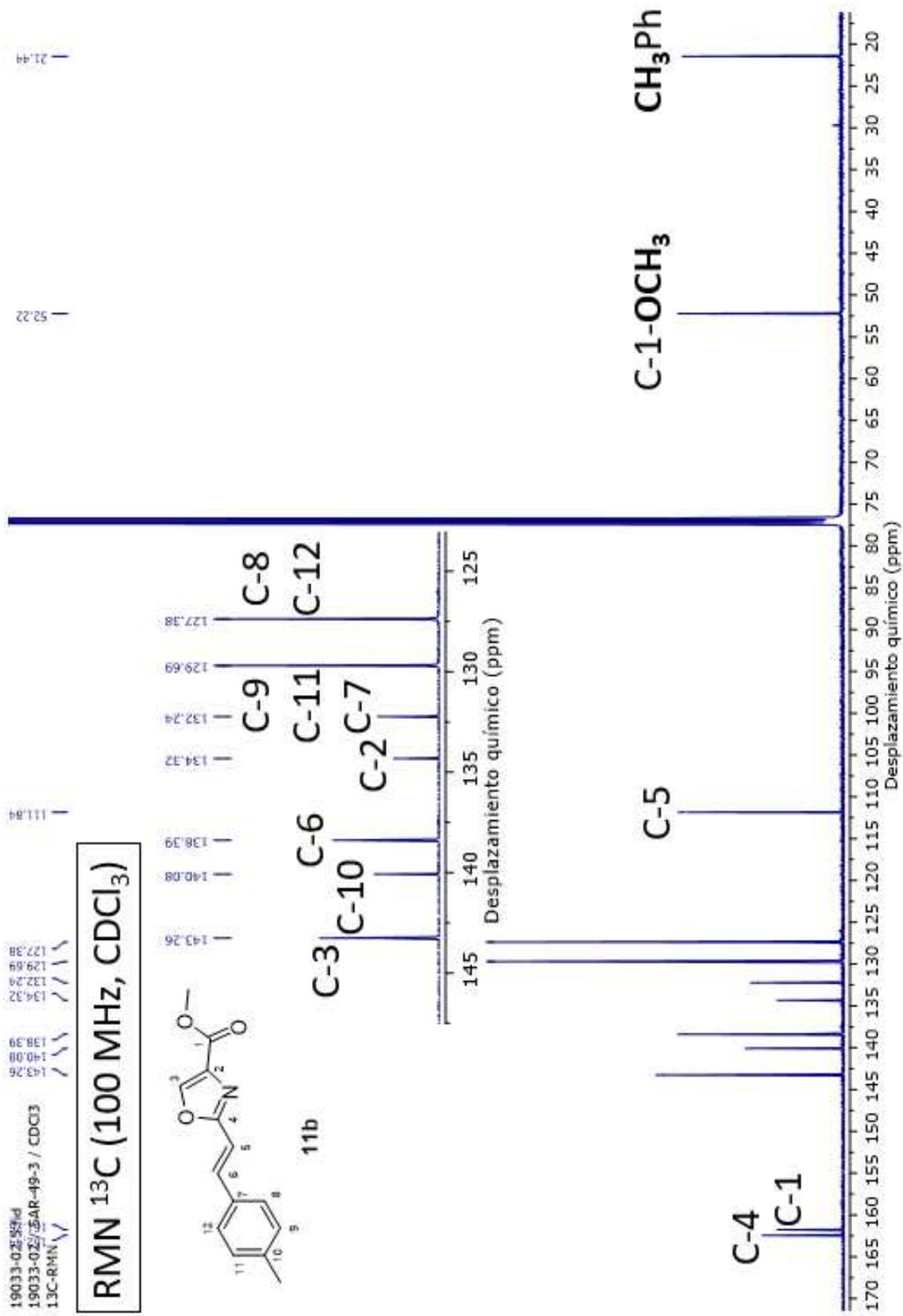
Espectro 63. RMN HSQC (CDCl₃) de oxazol 11a.



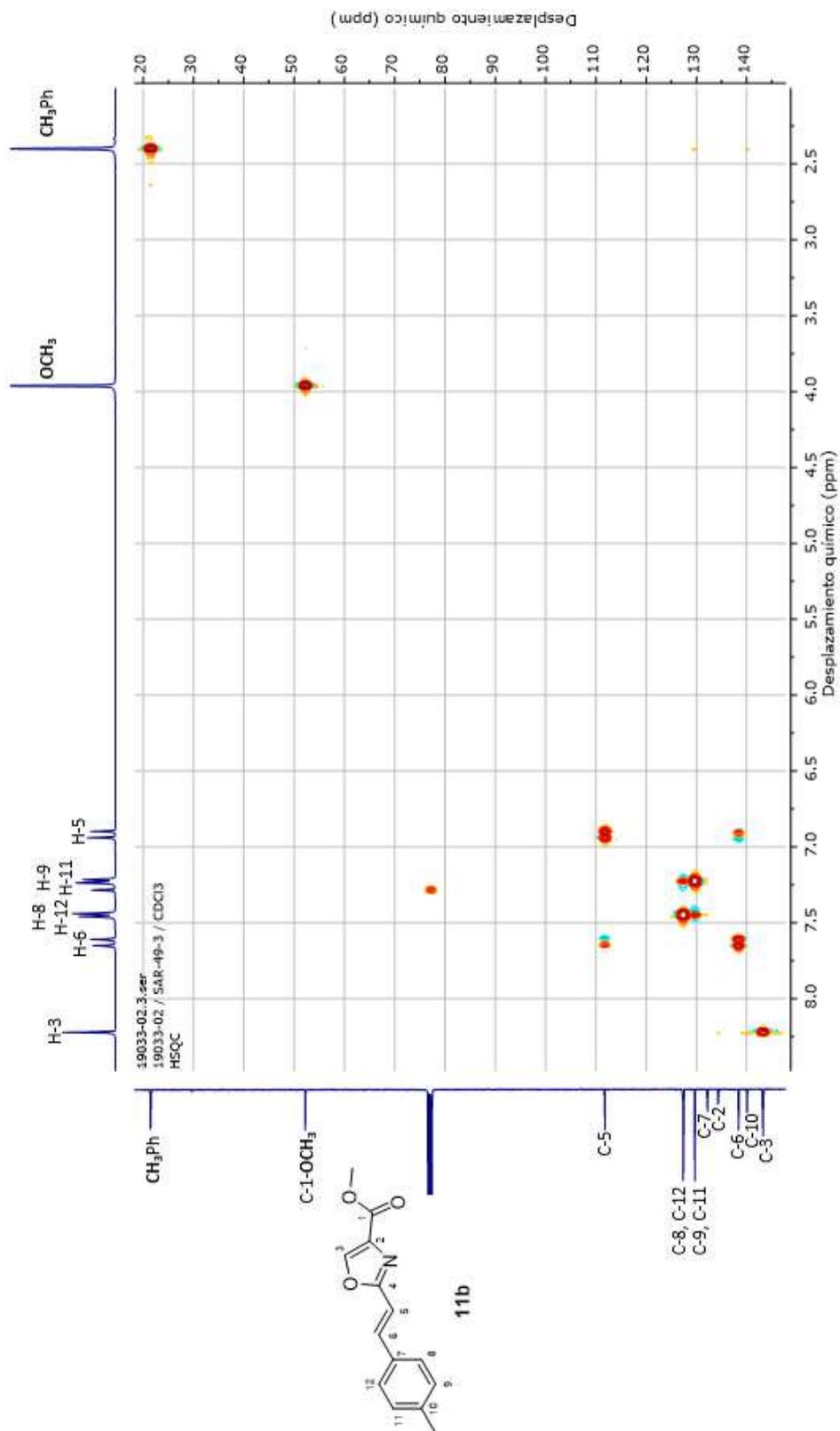
Espectro 64. RMN HMBC (CDCl₃) de oxazol 11a.



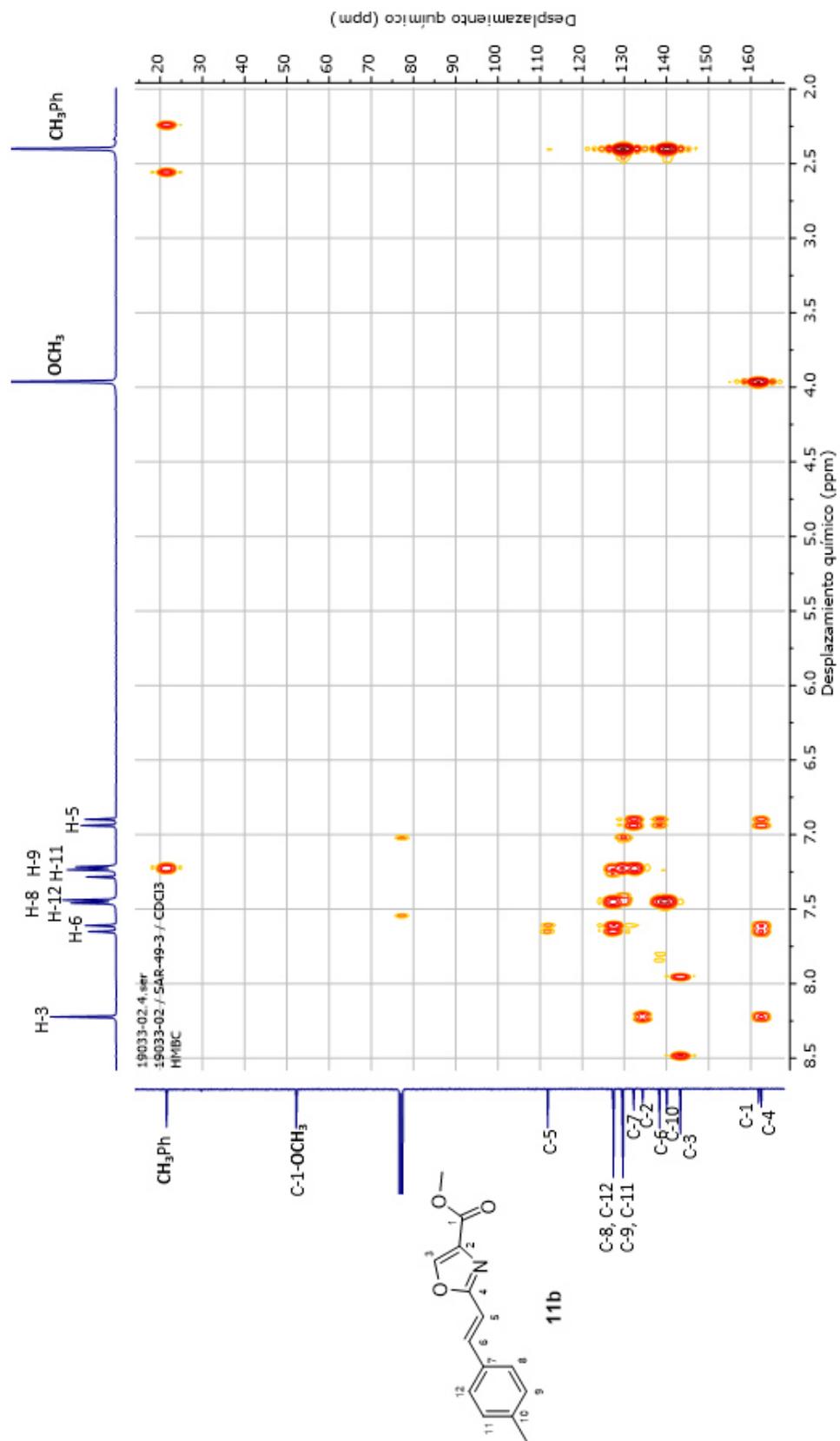
Espectro 65. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazol 11b.



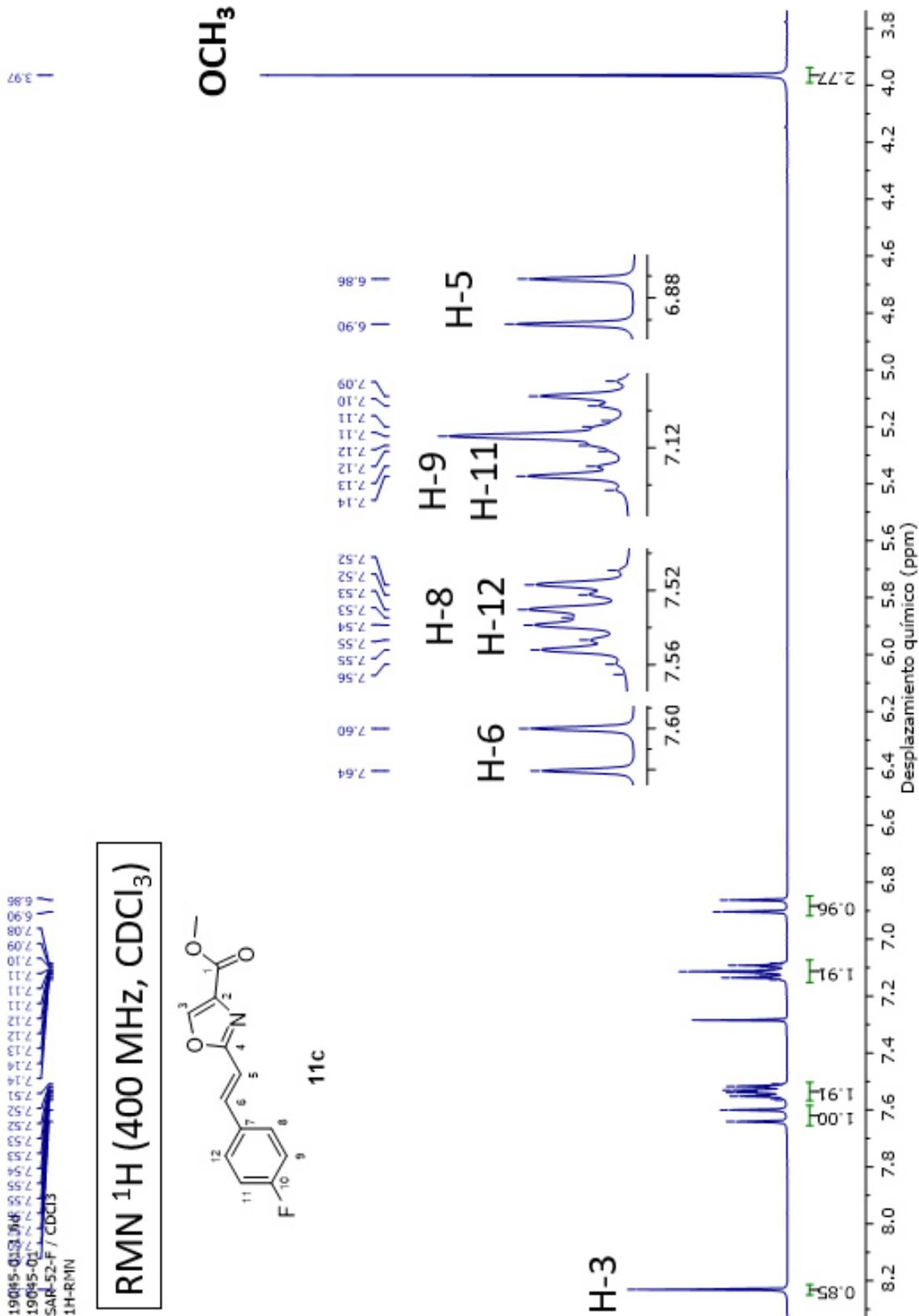
Espectro 66. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazol 11b.



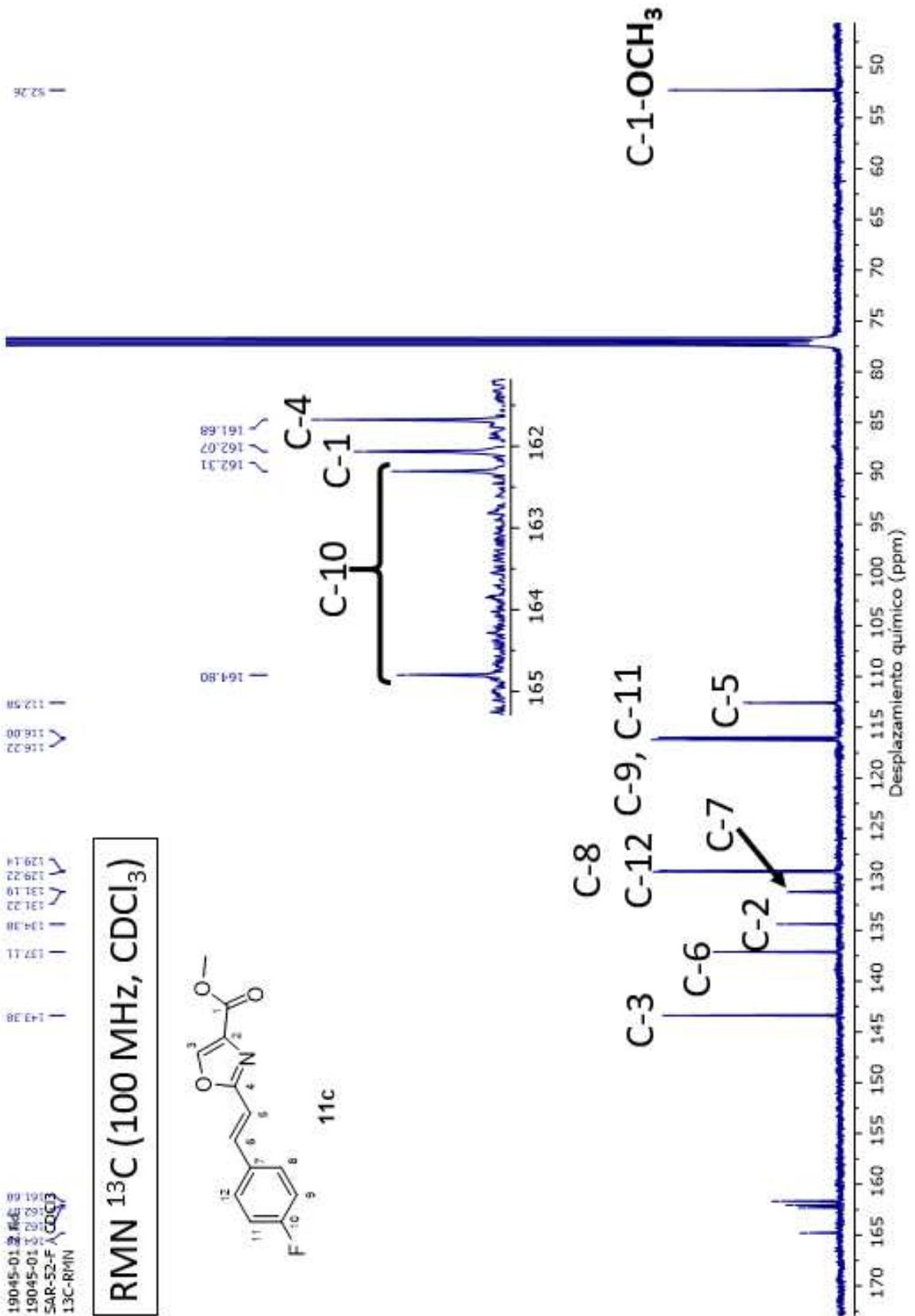
Espectro 67. RMN HSQC (CDCl₃) de oxazol 11b.



Espectro 68. RMN HMBC (CDCl₃) de oxazol 11b.



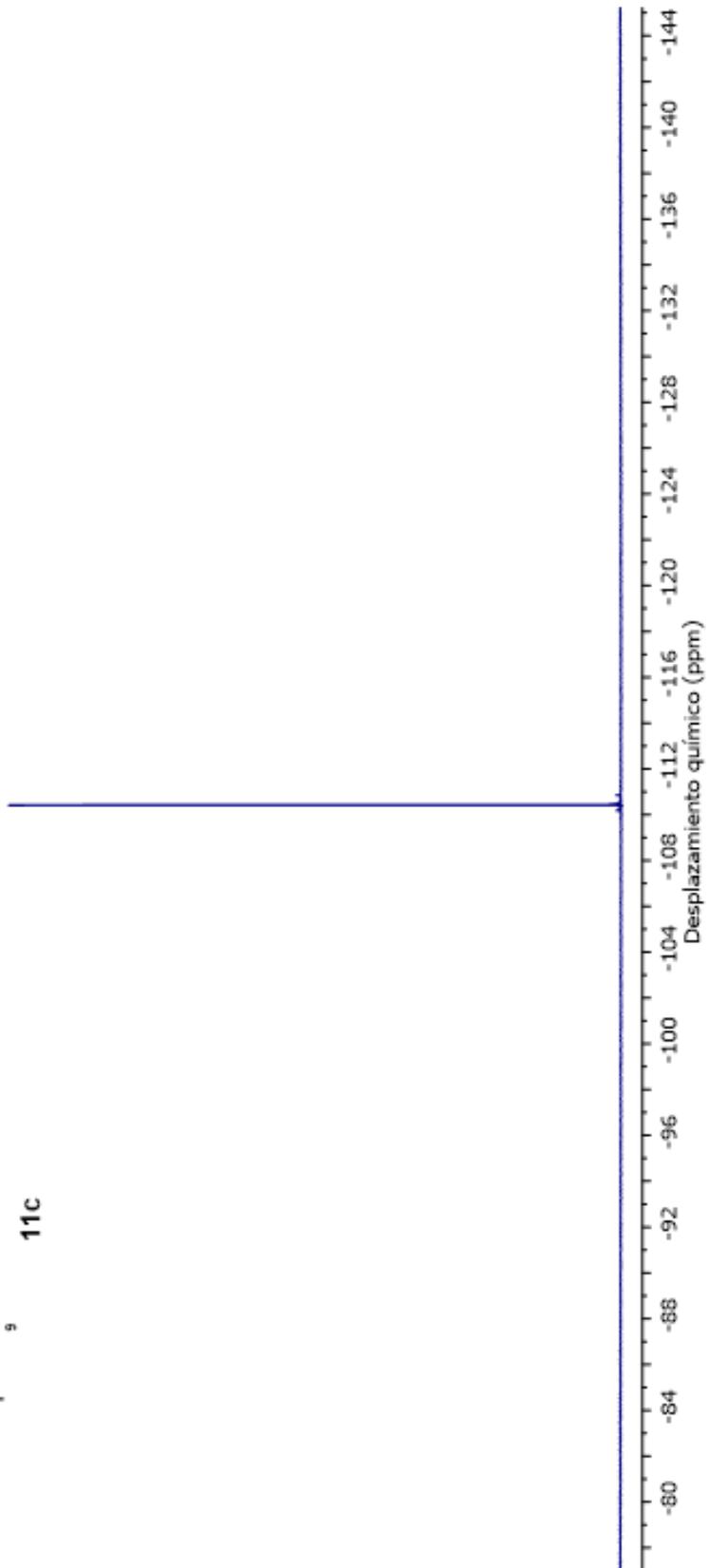
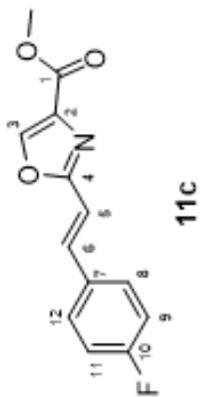
Espectro 69. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazol 11c.



Espectro 70. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazol 11c.

19045-01_4.fid
19045-01
SAR-52-F / CDCl3
19F-RMN DESACOPILADO

RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃)



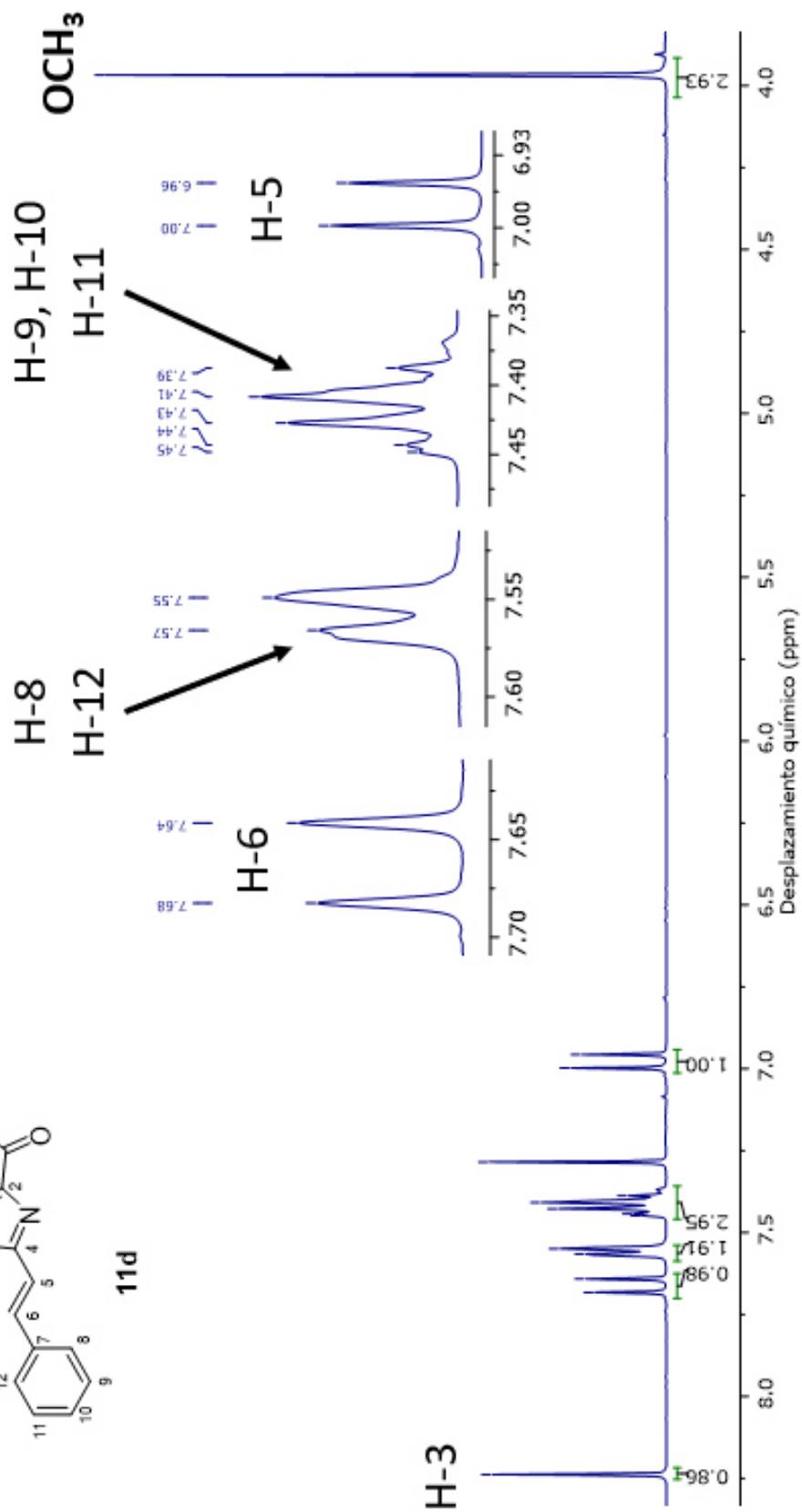
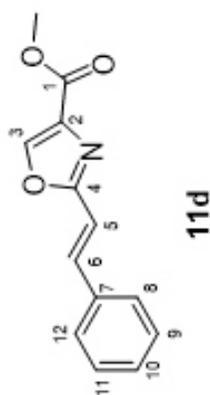
Espectro 71. RMN ¹⁹F (376 MHz, CDCl₃) de oxazol 11c.

19033-01.1.fid
19033-01
SAR-46-2 / CDCl3
1H-RMN

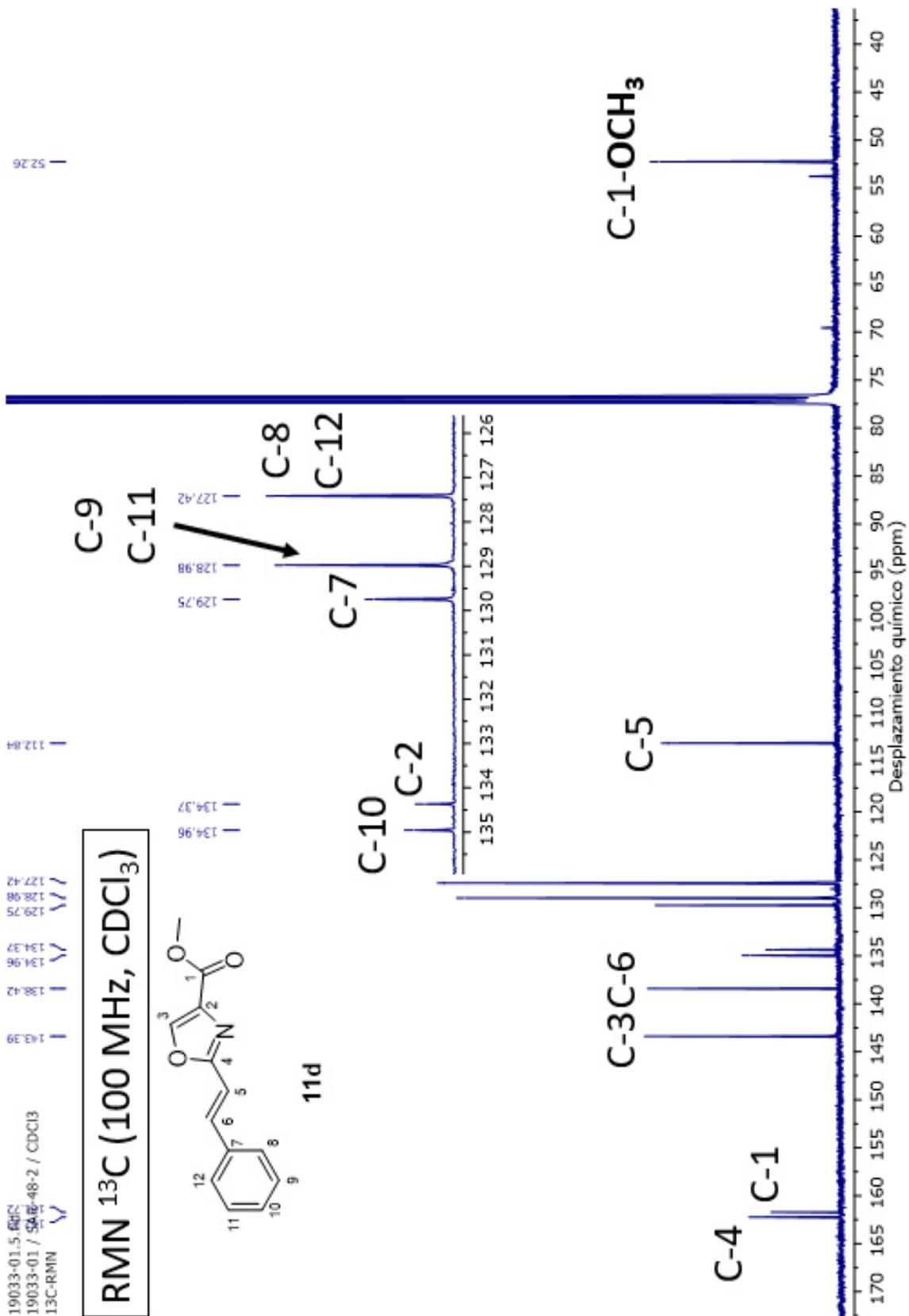
7.68
7.64
7.57
7.55
7.44
7.43
7.41
7.39
7.28
7.00
6.96

3.93

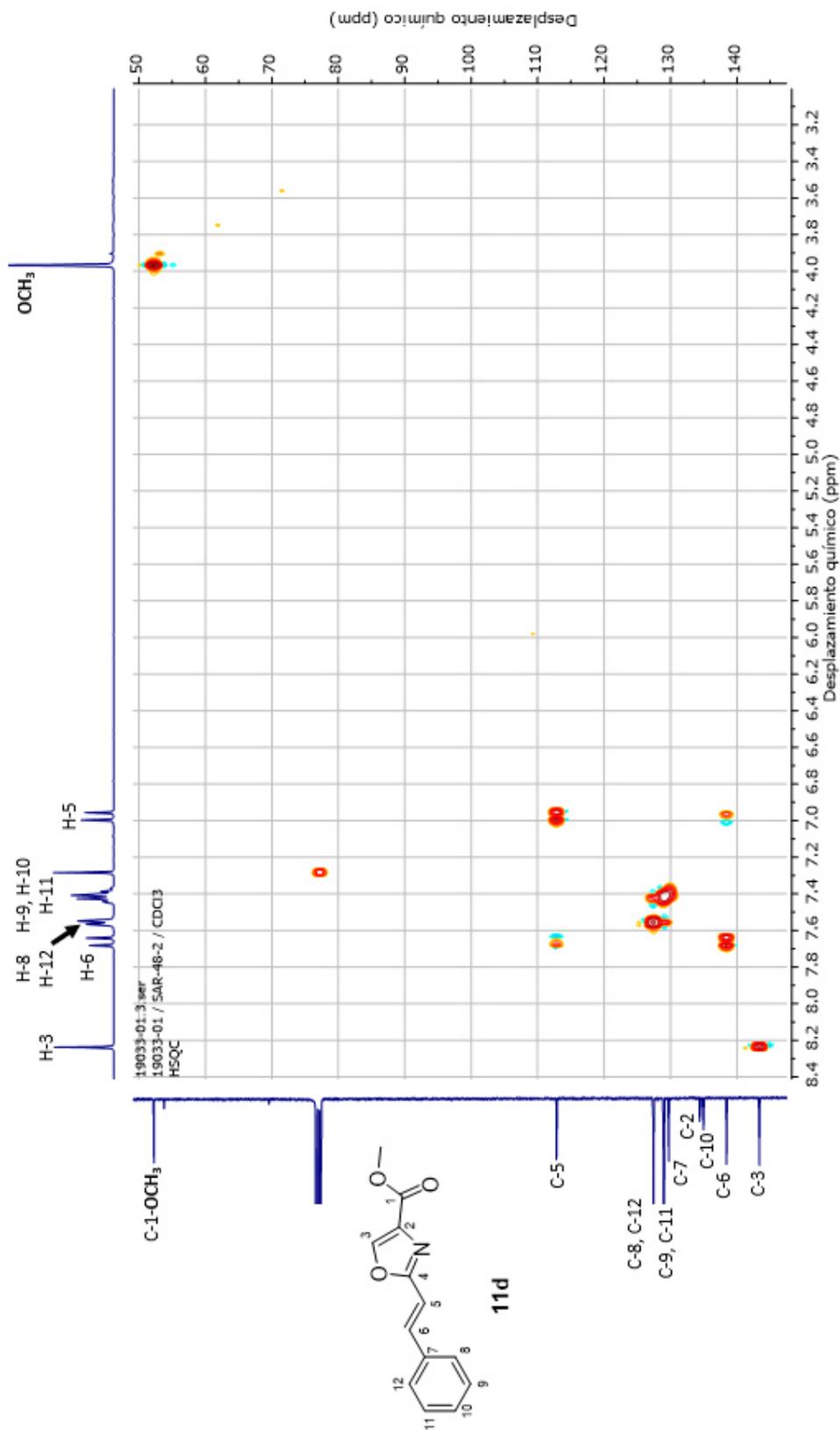
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)



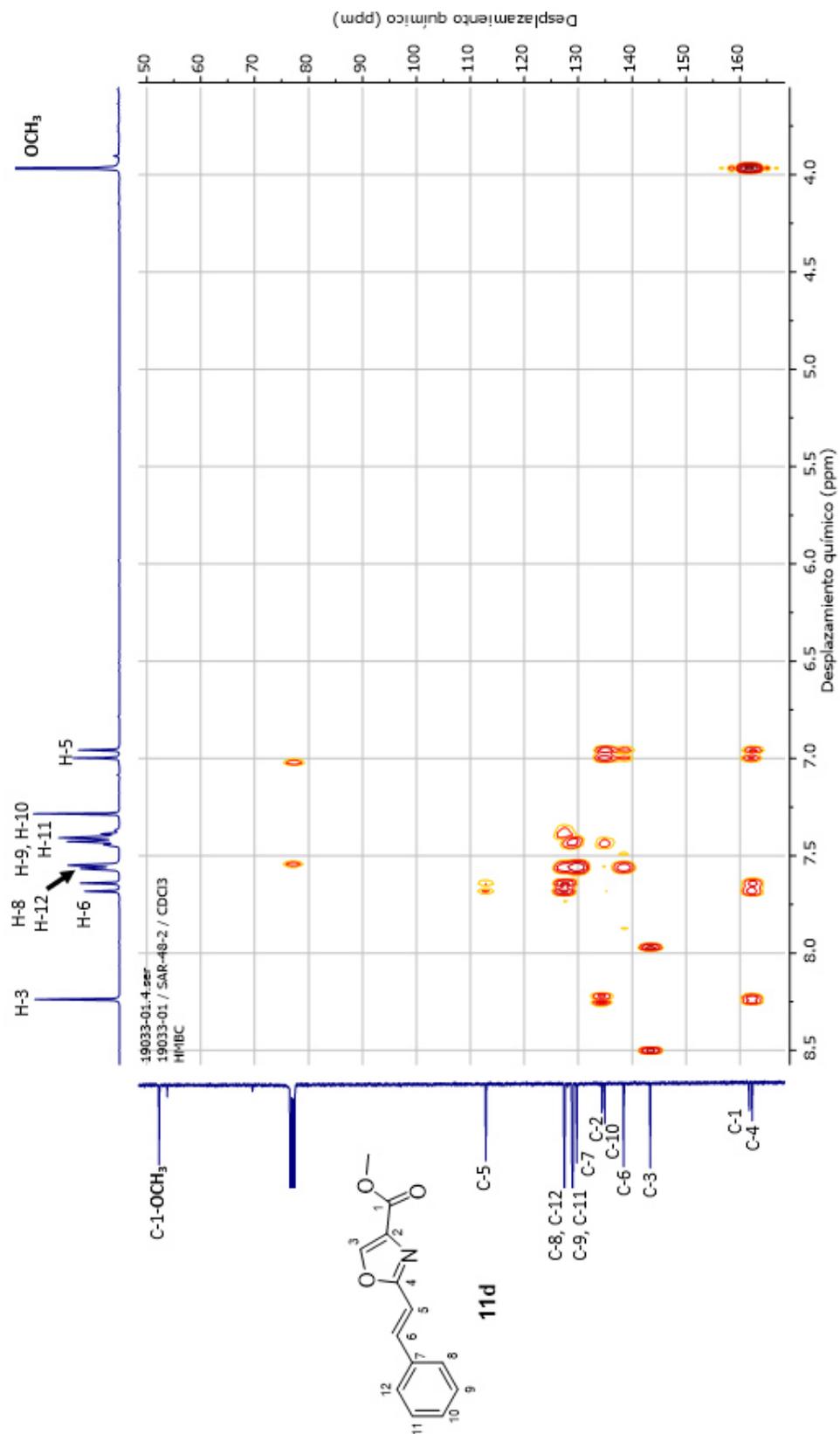
Espectro 72. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de oxazol 11d.



Espectro 73. RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) de oxazol 11d.



Espectro 74. RMN HSQC (CDCl₃) de oxazol 11d.



Espectro 75. RMN HMBC (CDCl₃) de oxazol 11d.