

Fernando Auría Luna

Desarrollo de metodologías organocatalíticas de síntesis de compuestos N- y O-heterocíclicos de seis miembros. Estudios dirigidos a la búsqueda de aplicaciones farmacológicas

Director/es

Marqués López, M<sup>a</sup> Eugenia  
Pérez Herrera, Raquel

**EXTRACTO**

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

El presente documento es un extracto de la tesis original depositada en el Archivo Universitario.

En cumplimiento del artículo 14.6 del Real Decreto 99/2011, de 28 de enero, por el que se regulan las enseñanzas oficiales de doctorado, los autores que puedan verse afectados por alguna de las excepciones contempladas en la normativa citada deberán solicitar explícitamente la no publicación del contenido íntegro de su tesis doctoral en el repositorio de la Universidad de Zaragoza. Las situaciones excepcionales contempladas son:

- Que la tesis se haya desarrollado en los términos de un convenio de confidencialidad con una o más empresas o instituciones.
- Que la tesis recoja resultados susceptibles de ser patentados.
- Alguna otra circunstancia legal que impida su difusión completa en abierto.

Tesis Doctoral [Extracto]

DESARROLLO DE METODOLOGÍAS  
ORGANOCATALÍTICAS DE SÍNTESIS DE  
COMPUESTOS N- Y O-HETEROCÍCLICOS DE SEIS  
MIEMBROS. ESTUDIOS DIRIGIDOS A LA  
BÚSQUEDA DE APLICACIONES  
FARMACOLÓGICAS

Autor

Fernando Auría Luna

Director/es

Marqués López, M<sup>a</sup> Eugenia  
Pérez Herrera, Raquel

**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**  
Escuela de Doctorado

2021





Universidad  
Zaragoza



Departamento de  
Química Orgánica  
Universidad Zaragoza

**DESARROLLO DE METODOLOGÍAS  
ORGANOCATALÍTICAS DE SÍNTESIS DE  
COMPUESTOS N- Y O-HETEROCÍCLICOS DE SEIS  
MIEMBROS. ESTUDIOS DIRIGIDOS A LA BÚSQUEDA  
DE APLICACIONES FARMACOLÓGICAS**

**TESIS DOCTORAL**

Directoras:

Dra. María Eugenia Marqués López

Dra. Raquel Pérez Herrera

Departamento de Química Orgánica

Facultad de Ciencias

Universidad de Zaragoza



OrganoCatálisis Asimétrica  
*Asymmetric OrganoCatalysis*

**Fernando Auria Luna**





La presente tesis doctoral se presenta en la modalidad de “compendio de publicaciones”. Los cuatro artículos de investigación que se incluyen están interrelacionados y se centran en el desarrollo de procedimientos organocatalíticos y en la síntesis de compuestos heterocíclicos de interés.

1. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. Heiran, S. Mohammadi, R. P. Herrera, Asymmetric Organocatalytic Synthesis of Substituted Chiral 1,4-Dihydropyridine Derivatives. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 5516-5523.

IF (2017) = 4.805. Q1 (9/57 en Chemistry, Organic).

*Capítulo 2.1*

2. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera, First Organocatalytic Asymmetric Synthesis of 1-Benzamido-1,4-Dihydropyridine Derivatives. *Molecules* **2018**, *23*, 2692.

IF (2018) = 3.060. Q2 (67/172 en Chemistry, Multidisciplinary).

*Capítulo 2.2*

3. F. Auria-Luna, V. Fernández-Moreira, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. P. Herrera, Ultrasound-Assisted Multicomponent Synthesis of 4H-pyrans in water and DNA binding studies. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 11594.

IF (2019) = 3.998. Q1 (17/71 en Sciences, Multidisciplinary).

*Capítulo 3*

4. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, V. Fernandez-Moreira, M. C. Gimeno, I. Marzo, R. P. Herrera, Novel ureido-dihydropyridine scaffolds as theranostic agents. *Bioorg. Chem.* **2020**, DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.104364.

IF (2019) = 4.831. Q1 (8/57 en Chemistry, Organic).

*Capítulo 4*

## Publicaciones relacionadas a los capítulos de esta tesis doctoral

1. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, S. Mohammadi, R. Heiran, R. P. Herrera, New Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Highly Substituted Chiral 2-Oxospiro-[indole-3,4'-(1',4'-dihydropyridine)] Derivatives *Molecules*, **2015**, *20*, 15807-15826.  
*Relacionada con el Capítulo 2*  
IF (2015) = 2.465. Q2 (24/59 en Chemistry, Organic).
2. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera, Organocatalytic Enantioselective Synthesis of 1,4-Dihydropyridines. *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359*, 2161-2175.  
IF (2017) = 5.123. Q1 (3/72 en Chemistry, Applied).  
*Relacionada con el Capítulo 2*
3. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. Heiran, S. Mohammadi, R. P. Herrera, Asymmetric Organocatalytic Synthesis of Substituted Chiral 1,4-Dihydropyridine Derivatives. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 5516-5523.  
IF (2017) = 4.805. Q1 (9/57 en Chemistry, Organic).  
*Relacionada con el Capítulo 2*
4. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera, First Organocatalytic Asymmetric Synthesis of 1-Benzamido-1,4-Dihydropyridine Derivatives. *Molecules*, **2018**, *23*, 2692.  
IF (2018) = 3.060. Q2 (67/172 en Chemistry, Multidisciplinary).  
*Relacionada con el Capítulo 2*
5. F. Auria-Luna, V. Fernández-Moreira, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. P. Herrera, Ultrasound-Assisted Multicomponent Synthesis of 4H-pyrans in water and DNA binding studies. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 11594.  
IF (2019) = 3.998. Q1 (17/71 en Sciences, Multidisciplinary).  
*Relacionada con el Capítulo 3*
6. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, V. Fernandez-Moreira, M. C. Gimeno, I. Marzo, R. P. Herrera, Novel ureido-dihydropyridine scaffolds as theranostic agents. *Bioorg. Chem.* **2020**, DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.104364.  
IF (2019) = 4.831. Q1 (8/57 en Chemistry, Organic).  
*Relacionada con el Capítulo 4*

## INFORME DE LAS DIRECTORAS

La Dra. María Eugenia Marqués López, Profesora Titular, y la Dra. Raquel Pérez Herrera, Investigador Científico, ambas del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Zaragoza y directoras de la presente Tesis Doctoral,

### **AUTORIZAN**

La presentación, en la modalidad de *Compendio de publicaciones*, de la memoria titulada:

***DESARROLLO DE METODOLOGÍAS ORGANOCATALÍTICAS DE SÍNTESIS  
DE COMPUESTOS N- Y O-HETEROCÍCLICOS DE SEIS MIEMBROS.  
ESTUDIOS DIRIGIDOS A LA BÚSQUEDA DE APLICACIONES  
FARMACOLÓGICAS***

presentada por D. Fernando Auria Luna para optar al grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza y certifican que ha sido realizada bajo su dirección en el Laboratorio de Organocatálisis Asimétrica del Departamento de Química Orgánica.

Y para que así conste, expiden la presente autorización

En Zaragoza, a 15 de Octubre de 2020

***Fdo. Dra. M<sup>a</sup> Eugenia Marqués López***

***Fdo. Dra. Raquel Pérez Herrera***



## JUSTIFICACIÓN DE LA CONTRIBUCIÓN DEL DOCTORANDO

La Dra. María Eugenia Marqués López, Profesora Titular, y la Dra. Raquel Pérez Herrera, Investigador Científico, ambas del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Zaragoza, y directoras de la presente Tesis Doctoral,

### **CERTIFICAN**

Que D. Fernando Auria Luna ha llevado a cabo la mayor parte del trabajo experimental en todos los trabajos. Asimismo, también ha realizado la caracterización e interpretación de resultados necesarias para finalizar con éxito los distintos estudios.

Por otra parte, el doctorando es primer autor en todas las publicaciones y no hay otros co-autores que hayan usado o vayan a usar en otras tesis los trabajos recogidos en esta Tesis Doctoral.

Y para que así conste, expiden el presente certificado,

En Zaragoza, a 15 de octubre de 2020

*Fdo. Dra. M<sup>a</sup> Eugenia Marqués López*

*Fdo. Dra. Raquel Pérez Herrera*



*Serenidad para aceptar las cosas que no se pueden cambiar,  
valor para cambiar las que se pueden cambiar  
y sabiduría para diferenciarlas.*

*Adaptación de The Serenity Prayer,  
atribuida a Reinhold Niebuhr (1892-1971)*



## **Agradecimientos**

*Debería empezar diciendo que la investigación presentada en esta tesis no hubiera sido posible sin las personas que me han ayudado, pero eso no sería preciso. La investigación y la tesis doctoral resultante son el proceso de aprendizaje y el resultado de mi desarrollo personal y académico. Por ello, lo que debo agradecer es haberme convertido en el científico y la persona que soy hoy en día, algo que no hubiera sido posible sin cada interacción con cada persona que me ha acompañado durante estos años.*

*Primero, a Remedios mi profesora de ciencias del instituto. Ella fue quien hizo que me interesara por la química. Como profetizaste, me ha dado muchas alegrías.*

*A mis “jefas” Raquel y Maru. Aún recuerdo cuando caí por azar en vuestras manos en el año 2013. Yo no tenía muy claro lo que quería hacer en ese momento. Sin embargo, la pasión y la dedicación que me transmitisteis entonces hizo que quisiera seguir en este mundo con vosotras todo el tiempo posible. Vinieron tiempos duros, en los que nació la HOCA, un grupo por el que os he visto llorar y sufrir, y también gritar de alegría como buenas “madres”. Todo lo que hemos pasado juntos ha hecho que vuestros “hijos” queramos este grupo como algo nuestro, y tened por seguro que hemos sufrido y disfrutado casi tanto como vosotras. Sin embargo, las dificultades nunca hicieron que escatimarais ni un esfuerzo por nosotros. Cada pregunta, discusión, charla, bronca y un largo etcétera nos han transformado en lo que somos hoy. Nunca podré agradecerlos lo suficiente por ello.*

*A la profesora M. Concepción Gimeno, que nos sostuvo cuando flaqueamos. Nada de esto hubiera sido posible sin ella. También a su magnífico grupo, que nos acogió y ayudó como a uno más siempre que lo necesitamos. A Vanesa, gracias por enseñarme e introducirme en la biología.*

*A mis compañeros y amigos Juanvi e Isaac. Las dos personas que estuvieron conmigo desde el principio en el laboratorio. Ambos únicos, pero con los mismos valores de trabajo infatigable que nos han transmitido. Cada café, discusión y broma nos han enriquecido a los tres. No os imagináis lo que he aprendido de vosotros y la influencia que habéis tenido sobre mí.*

*A Eugenio, gracias por las conversaciones y por aguantarnos en el barracón.*

*A todas las personas que han pasado por el laboratorio, con las que he aprendido y disfrutado mucho. En especial a los actuales miembros del grupo; Eduardo, Juan, Fanny, Sandra y Guillermo.*

*A la academia “ATU” y a su directora Yolanda. Gracias por confiar en mí y darme la oportunidad de trabajar con vosotros para poder seguir con mi doctorado.*

*A mis padres Alberto y Tere. Ellos siempre me animaron a estudiar y elegir el camino que quisiera. Sin su guía y su apoyo incondicional jamás podría haber soñado estar donde estoy hoy. También a mi hermana Teresa, que siempre ha estado dispuesta a prestarme un par de ojos críticos e inteligentes. A mi tío José Miguel, que ha apoyado a la familia siempre que lo hemos necesitado. Al resto de los Auria y de los Luna, que están y estarán para todo. A mis queridos abuelos Álvaro, Vicenta, José María y Mari, que me dejaron a mitad de camino y de los que me gusta pensar que porto un poquito de cada uno.*

*A mi novia Laura. La persona a la que le ha tocado soportarme en cada situación, siempre apoyándome y guiándome cuando lo necesito. No podría pedir nadie mejor con el que compartir mis días. También a su familia, que me acogió de manera espectacular.*

*A mis amigos de la facultad Carlos y Elena (enhorabuena por la pequeña Lucía), María, Gonzalo y Olivia. Gracias por tanta ayuda y tantas risas.*

*A mis amigos del barrio, a los que no puedo nombrar al completo porque necesitaría varias páginas. Toda una vida juntos, historias legendarias y risas cada tarde.*

*Por último, a todos los que me dejo. Porque cada contribución es imprescindible, no importa si es un consejo, un café servido como te gusta sin decir una palabra, una ayuda al presentar papeleo, con el ordenador o con un instrumento...*

*De nuevo, Muchísimas GRACIAS a todos.*

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

---

A	absorbancia
ABB	<i>Annexin Binding Buffer</i>
Ac	acetilo
AcOEt	acetato de etilo
ADN	ácido desoxiribonucleico
Adh.	aldehido
APT	<i>attached proton test</i>
AQN	antraquinona
Ar	arilo
ASR	incidencia estandarizada por edad
Binol	1,1'-bi-2-naftol
Bn	bencilo
BnMN	bencilidenmalononitrilo
Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
C	concentración
c	cuartete
Cat.	catalizador
CD	cinchonidina
col.	colaboradores
ctADN	<i>calif thymus</i> ácido desoxiribonucleico
d	doblete
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano
DBU	1,8-diazabicyclo(5.4.0)undec-7-eno
DC	dicroísmo circular
DEOA	dietiloxalacetato
desc.	descomposición
DHP	dihidropiridina
DHQ	dihidroquinina
DHQD	dihidroquinidina
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
Dis.	cantidad de disolvente

DMEM	<i>dulbecco's modified eagle's medium</i>
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
E	electrófilo
Eco.	economía atómica
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
EEUU	estados unidos
ee	exceso enantiomérico
Em	emisión
Equiv.	equivalentes
ESI	ionización por electrospray
Et	etilo
EtBr	bromuro de etidio
EtOH	etanol
Et <sub>2</sub> O	éter dietílico
Ex	excitación
FBS	suero fetal bovino
FITC	isotiocianato de fluoresceína
FSC-H	<i>forward scatter height</i>
GP	grupo protector
GS	grupo saliente
h	horas
HMBC	<i>heteronuclear multiple bond coherence</i>
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
HRMS	<i>high resolution mass spectrometry</i>
HSQC	<i>heteronuclear single quantum coherence</i>
IC <sub>50</sub>	concentración inhibitoria al 50 % de viabilidad celular
<i>i</i> Pr	<i>iso</i> -propilo
<i>i</i> PrOH	<i>iso</i> -propanol
IR	infrarrojo
<i>K</i> <sub>b</sub>	constante de interacción
M	metal

m	multiplete
Me	metilo
MeCN	acetonitrilo
MeOH	metanol
MeGr	verde de metilo
min.	minutos
MOF	<i>metal-organic framework</i>
MTT	bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol
NADH	nicotinamida adenina dinucleotido
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
Nu	nucleófilo
n.d.	no disponible
Organocat.	organocatalizador
PEG	polietilenglicol
Ph	fenilo
PHAL	1,4-ftalazinadiilo
<i>p</i> TSA	ácido <i>para</i> -toluensulfónico
Pyr	2,5-difenil-4,6-pirimidinadiilo
P.f.	punto de fusión
Q	quinina
R	grupo funcional
Rac.	mezcla racémica
Rdto.	rendimiento
RedOx	reducción/oxidación
RMN	resonancia magnética nuclear
RPMI	<i>roswell park memorial institute medium</i>
r.d.	ratio diastereomérico
s	singlete
s a	singlete ancho
t	triplete
t	tiempo
T <sup>a</sup>	temperatura

TBAB	bromuro de tetra- <i>n</i> butilamonio
TBAF	fluoruro de tetra- <i>n</i> butilamonio
TBDMS	<i>terc</i> -butildimetilsililo
<i>t</i> Bu	<i>terc</i> -butilo
Tf	trifluorometilsulfonilo
TFAA	anhídrido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TMS	trimetilsililo
Tol	tolueno
Tris	2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol
TS	estado de transición
t.a.	temperatura ambiente
US	ultrasonidos
UV-Vis	ultravioleta-visible
u.a.	unidades arbitrarias
VIH	virus de inmunodeficiencia humana
$\epsilon_a$	coeficiente de extinción molar aparente compuesto-ADN
$\epsilon_f$	coeficiente de extinción molar de un compuesto
$\lambda$	longitud de onda
$\tau$	tiempo de retención
(min)	isómero minoritario

## ÍNDICE

---

<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL</b>	<b>1</b>
1.1 Quiralidad	1
1.2 Síntesis asimétrica	4
1.3 Organocatálisis asimétrica	7
1.4 Organocatálisis en la industria farmacéutica	11
<b>2. SÍNTESIS ORGANOCATALÍTICA DE 1,4-DIHIROPYRIDINAS</b>	<b>15</b>
2.1 Introducción	15
2.2 Síntesis asimétrica organocatalítica de derivados sustituidos de 1,4-dihidropiridinas quirales	31
2.2.1 Objetivos	31
2.2.2 Discusión de los resultados	32
2.2.3 Conclusiones	44
2.2.4 Parte experimental	45
2.2.5 Información suplementaria	58
2.2.6 Artículo	96
2.3 Primera síntesis asimétrica organocatalítica de 1-benzamido-1,4-dihidropiridinas	105
2.3.1 Objetivos	105
2.3.2 Discusión de los resultados	106
2.3.3 Conclusiones	113
2.3.4 Parte experimental	114
2.3.5 Información suplementaria	126
2.3.6 Artículo	163
<b>3. SÍNTESIS MULTICOMPONENTE ASISTIDA POR ULTRASONIDOS DE 4H-PIRANOS EN AGUA Y ESTUDIOS SOBRE SU INTERACCIÓN CON EL ADN</b>	<b>179</b>
3.1 Introducción	179
3.2 Objetivos	189
3.3 Discusión de los resultados	190
3.3.1 Síntesis multicomponente asistida por ultrasonidos de 4H-piranos en agua	190
3.3.2 Interacción con el ADN	199
3.3.3 Determinación del Tipo de Interacción con el ADN	203

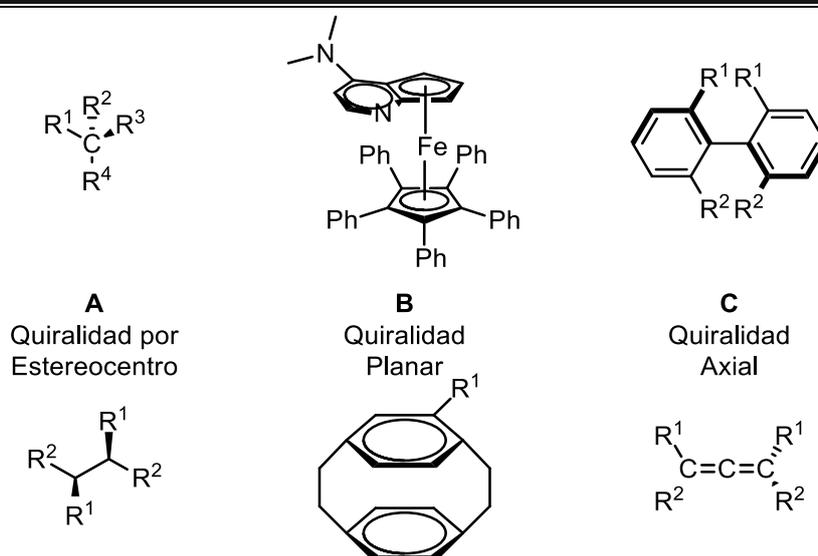
3.4	Conclusiones	211	
3.5	Parte experimental	212	
3.6	Información suplementaria	225	
3.7	Artículo	256	
<b>4.</b>	<b>1,4-DIHIDROPIRIDINAS Y SUS DERIVADOS UREA COMO AGENTES TERAGNÓSTICOS</b>		<b>273</b>
4.1	Introducción	273	
4.2	Objetivos	281	
4.3	Discusión de los resultados	282	
4.4	Conclusiones	302	
4.5	Parte experimental	303	
4.6	Información suplementaria	316	
4.7	Artículo	341	
<b>5.</b>	<b>CONCLUSIONES GENERALES</b>		<b>359</b>
	<b>Anexo 1. PUBLICACIONES Y CONFERENCIAS</b>		<b>361</b>
A1.1	Lista completa de publicaciones	361	
A1.2	Lista completa de conferencias	363	

## 1

## INTRODUCCIÓN GENERAL

## 1.1 Quiralidad

La quiralidad es la propiedad de un objeto rígido o un ordenamiento espacial de átomos, por la cual no es superponible con su imagen especular. Matemáticamente, esta estructura carece de elementos de simetría del segundo tipo (plano de simetría, centro de inversión o un eje de rotación-reflexión). En química existen tres tipos de quiralidad diferentes (Figura 1.1).

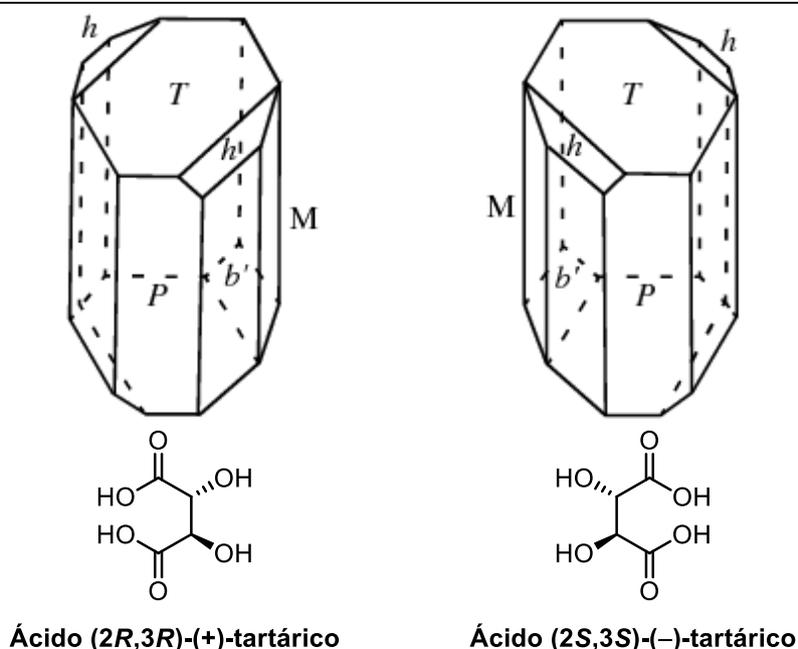


**Figura 1.1.** A, moléculas quirales con 1 y 2 estereocentros. B, moléculas quirales planares. C, moléculas con quiralidad axial.

La generada por un centro estereogénico es el tipo de quiralidad más clásico. En él, un átomo conectado a cuatro sustituyentes diferentes genera la quiralidad (Figura 1.1 A). En el segundo caso, llamado quiralidad planar, aparece para moléculas que carecen de un centro estereogénico, pero en el que existen dos ordenamientos de átomos no simétricos fuera de un plano de quiralidad y que no pueden moverse libremente sobre el enlace que los conecta (Figura 1.1 B). Por último, aparece la quiralidad axial, que es la ordenación no planar de un mínimo de 4 grupos funcionales en pareja alrededor de un eje quiral en torno al cual la rotación está restringida (Figura 1.1 C).<sup>1</sup>

<sup>1</sup> G. P. Moss, *Pure & Appl. Chem.* **1996**, 68, 2193-2222.

Los compuestos quirales presentan propiedades muy interesantes. Así, dos enantiómeros harán rotar la luz polarizada en ángulos opuestos. Por otro lado, en su cristalización puede ocurrir que cada enantiómero cristalice por separado, lo que hoy en día se conoce como cristalización en conglomerados.<sup>2</sup> Esta propiedad no es demasiado común pero facilita la separación de mezclas racémicas y está presente, por ejemplo, en las sales del ácido tartárico. Este hecho, de forma fortuita, propició el estudio de la quiralidad en química. Louis Pasteur es conocido por sus contribuciones en microbiología y enfermedades infecciosas, pero también descubrió la quiralidad molecular al estar realizando estudios de cristalografía en sales de ácido tartárico. Descubrió al microscopio imperfecciones en los cristales de la sal que se agrupaban perfectamente en dos tipos de cristales, los cuales eran imágenes especulares entre ellos (Figura 1.2).<sup>3</sup>



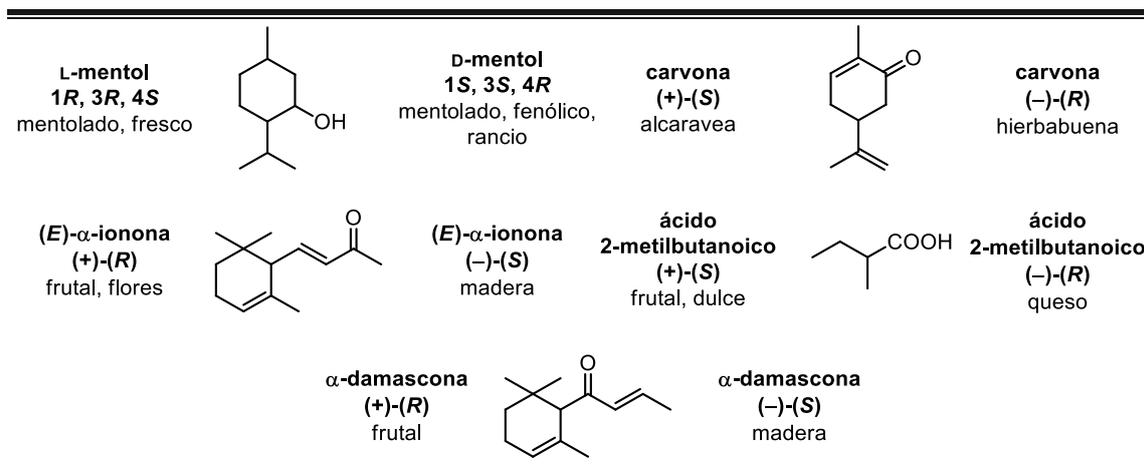
**Figura 1.2.** Formas cristalinas simplificadas de las sales de ácido tartárico según Pasteur.<sup>3c</sup>

La vida depende de la quiralidad, ya que muchas funciones fisiológicas dependen de moléculas asimétricas. Además, muchos procesos biológicos dependen de interacciones muy precisas en las que estructuras anfitrionas reconocen dos enantiómeros como huéspedes de diferente manera. Así, hay ejemplos de diferencias significativas en

<sup>2</sup> I. Bernal, *Inorg. Chim. Acta* **1985**, 96, 99-110.

<sup>3</sup> a) L. Pasteur, *Ann. Chim. Phys. Sér.* **1848**, 24, 442-459; b) J. Gal, *Nat. Chem.* **2017**, 9, 604-605; c) Y. Tobe, *Mendeleev Commun.* **2003**, 13, 93-94.

los efectos producidos por distintos enantiómeros. Uno de ellos es la diferencia en las propiedades organolépticas de dos enantiómeros (Figura 1.3).



**Figura 1.3.** Parejas de enantiómeros que exhiben diferentes propiedades organolépticas.<sup>4</sup>

La diferencia estructural entre enantiómeros ejemplificada anteriormente, se aplica también a los fármacos. Los receptores moleculares en el cuerpo humano interactúan únicamente con la molécula con la configuración absoluta adecuada, lo que resulta en diferencias en la actividad farmacológica de los enantiómeros.<sup>5</sup>

Dichas diferencias, deben ser estudiadas profundamente. Sin embargo, hasta principios de los años 90, en torno al 90 % de los fármacos quirales se administraban como mezclas racémicas, debido a las dificultades prácticas existentes en la síntesis de compuestos enantiopuros.<sup>6</sup>

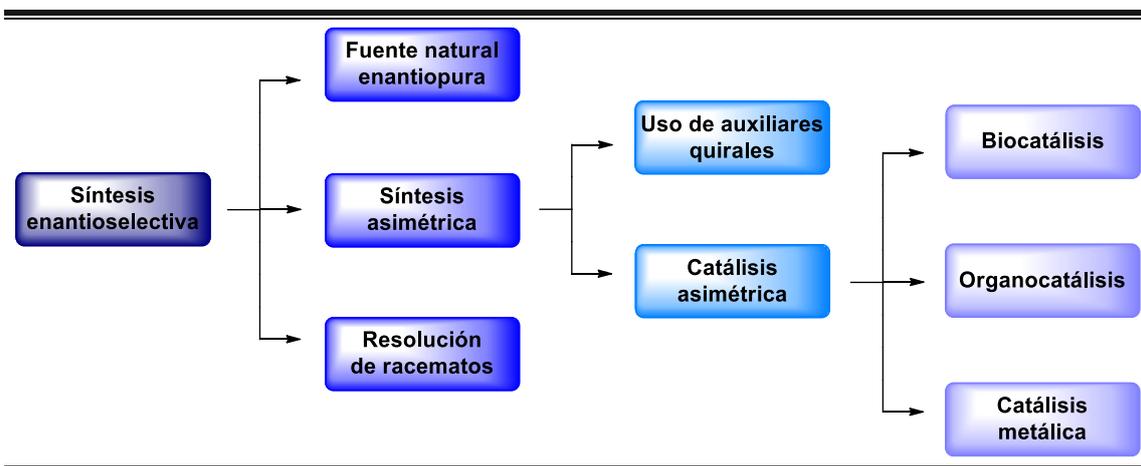
<sup>4</sup> P. Werkhoff, S. Brennecke, W. Bretschneider, M. Güntert, R. Hopp, H. Surburg, *Z. Lebensm Unters Forsch* **1993**, *196*, 307-328.

<sup>5</sup> R. Noyori, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2008-2022.

<sup>6</sup> a) *Chem. Eng. News Arch.* **1990**, *68*, 26-66, DOI: 10.1021/cen-v068n012.p026; b) S. Borman, *Chem. Eng. News Arch.* **1990**, *68*, 9-14, DOI: 10.1021/cen-v068n028.p009.

## 1.2 Síntesis asimétrica

Por todo esto, se han venido desarrollando métodos más eficaces para obtener muestras enantioméricamente enriquecidas de diferentes compuestos, los cuales se basan en tres estrategias generales: a) uso de fuentes naturales enantiopuras, b) resolución de mezclas racémicas y c) síntesis asimétrica (Figura 1.4).<sup>7</sup>



**Figura 1.4.** Estrategias para la síntesis de compuestos enantioméricamente enriquecidos.

a) El empleo de fuentes naturales enantiopuras (*chiral pool*): en esta estrategia se parte de compuestos naturales para realizar sobre ellos sucesivas transformaciones químicas hasta llegar a los compuestos deseados. Pero esto, nos limitaría a las moléculas que podamos obtener del medio natural. b) En la resolución de mezclas racémicas se utiliza un agente quiral para obtener una mezcla de diastereoisómeros separables. En la conocida como resolución cinética se lleva a cabo una reacción química con un compuesto quiral enantiopuro en el que la velocidad de reacción para uno de los enantiómeros supera al otro, obteniéndose de manera mayoritaria uno de los diastereoisómeros y el enantiómero deseado a partir de éste.<sup>8</sup> Por último, en la síntesis asimétrica, se obtienen compuestos enantiopuros mediante el empleo de auxiliares quirales o a través de procedimientos estereoselectivos catalíticos. En el primero de los casos, se utiliza un compuesto quiral en cantidades equimolares (o superiores) para unirlos covalentemente al sustrato y generar un nuevo centro quiral de manera selectiva, tras lo

<sup>7</sup> a) A. Alcaine, *Estudio y aplicación de organocatalizadores derivados de (tio)urea en transformaciones orgánicas enantioselectivas de interés*. Tesis doctoral, Universidad de Zaragoza, **2013**; b) G. Beck, *Synlett* **2002**, 837-850.

<sup>8</sup> a) H. B. Kagan, J. C. Fiaud, *Top. Stereochem.* **1998**, *18*, 249-330; b) N. G. Anderson, *Org. Proc. Res. Dep.* **2005**, *9*, 800-813.

cual se elimina el auxiliar.<sup>9</sup> Los procedimientos catalíticos,<sup>10</sup> generan hoy en día gran interés debido a su alta eficiencia, compatible con una química más sostenible. Dentro de estos, tradicionalmente se han venido utilizando dos estrategias diferentes. Por un lado, se han usado complejos de metales de transición como catalizadores, los cuales consiguen promover un amplio abanico de reacciones con muy buenos resultados. Por otro lado, el uso de enzimas ha generado también un gran interés, debido a su extraordinario desempeño en reacciones específicas. Sin embargo, hoy en día la industria farmacéutica exige la ausencia de restos metálicos en los fármacos, incluso en cantidades traza. Además, en algunos casos se requiere trabajar en atmósferas inertes.<sup>10a,11</sup> No obstante, la alta especificidad de las enzimas es, a la vez, su punto fuerte y su gran inconveniente, ya que no pueden usarse en todas las reacciones deseables y requieren condiciones muy específicas.<sup>12</sup> En este contexto nace la organocatálisis, como una herramienta complementaria a las técnicas anteriores ya existentes (Figura 1.5).



**Figura 1.5.** Estrategias más importantes dentro de la catálisis asimétrica.

<sup>9</sup> a) *Handbook of Reagents for Organic Synthesis: Chiral Reagents for Asymmetric Synthesis* (Ed.: L. A. Paquette), Wiley: Nueva York, **2003**; b) Y. Gnas, F. Glorius, *Synthesis* **2006**, 1899-1933.

<sup>10</sup> a) *Comprehensive Asymmetric Catalysis. 2ª edición* (Eds.: E. N. Jacobsen, A. Pfaltz, H. Yamamoto), Springer-Verlag: Berlín-Heidelberg, **2004**; b) *New frontiers in Asymmetric Catalysis* (Eds.: K. Mikami, M. Lautens), Wiley: Hoboken-Nueva Jersey, **2007**.

<sup>11</sup> J. A. Ma, D. Cahard, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 4566-4583.

<sup>12</sup> a) N. Ran, L. Zhao, Z. Chen, J. Tao, *Green Chem.* **2008**, *10*, 361-372; b) T. Matsuda, R. Yamanaka, K. Nakamura, *Tetrahedron: Asymmetry* **2009**, *20*, 513-557; c) *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis* (Eds.: K. Drauz, H. Gröger, O. May), Wiley-VCH: Weinheim, **2012**; d) C. M. Clouthier, J. N. Pelletier, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1585-1605.

En la Figura 1.5 pueden verse las tres estrategias principales dentro de la catálisis asimétrica, las cuales, a pesar de ser todas herramientas complementarias con sus ventajas e inconvenientes, han competido en mayor o menor medida entre ellas por tomar un lugar predominante en catálisis. Hoy en día, aparecen cada vez más trabajos que difuminan la frontera entre ellas, demostrando que dicha clasificación recoge una metodología más compleja y extensa. A modo de ejemplo, se han colocado en la Figura 1.5 tres secciones marcadas con letras. En la frontera entre la catálisis por complejos metálicos y la enzimática podemos encontrar desde enzimas que realizan la catálisis desde su centro metálico hasta acercamientos más complejos (A).<sup>13</sup> El nacimiento de la organocatálisis está relacionado con la catálisis metálica, ya que se conocían ejemplos en los que no era el centro metálico el que proporcionaba la actividad, sino los ligandos unidos a él, lo que se conoce como de esfera externa. Además, recientes publicaciones han seguido el enfoque inverso, coordinando a un organocatalizador de conocida eficiencia un centro metálico para mejorar su actividad (B).<sup>14</sup> La catálisis enzimática y la organocatálisis siempre han estado íntimamente relacionadas, ya que los organocatalizadores pretenden recrear los centros activos de las enzimas mediante el empleo de compuestos de bajo peso molecular. Actualmente, moléculas con actividad organocatalítica más complejas se acercan al funcionamiento de las enzimas al presentar grandes efectos estéricos de su macroestructura en sus resultados catalíticos, como en el ejemplo de las biscinchonas (C).<sup>15</sup>

---

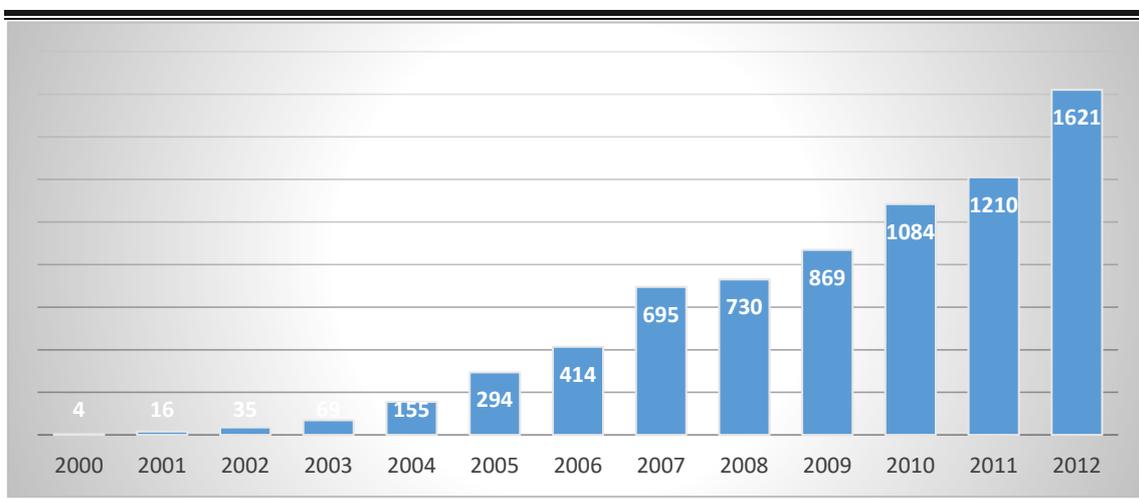
<sup>13</sup> a) R. D. Lewis, M. Garcia-Borrás, M. J. Chalkley, A. R. Buller, K. N. Houk, S. B. J. Kan, F. H. Arnold, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* **2018**, *115*, 7308-7313; b) Z. J. Wang, K. N. Clary, R. G. Bergman, K. N. Raymond, F. D. Toste, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 100-103.

<sup>14</sup> a) O. Eisenstein, R. H. Crabtree, *New J. Chem.* **2013**, *37*, 21-27; b) L. D. Zusman, *Chem. Phys.* **1980**, *49*, 295-304; c) A. Izaga, R. P. Herrera, M. C. Gimeno, *ChemCatChem* **2017**, *9*, 1313-1321; d) M. C. Gimeno, R. P. Herrera, *Eur. J. Org. Chem.* **2020**, 1057-1068.

<sup>15</sup> E. J. Corey, M. C. Noe, S. Sarshar, *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 2861-2864.

### 1.3 Organocatálisis asimétrica

La organocatálisis asimétrica puede definirse como el empleo de cantidades subestequiométricas de moléculas orgánicas quirales como catalizadores, en ausencia de un metal, para la síntesis estereoselectiva de compuestos de interés.<sup>16</sup> Antes del año 2000, ya existían procesos en la bibliografía que concordaban con esta definición, siendo tal vez el primero la descarboxilación de un ácido malónico propuesta por Marckwald en 1904, con la que obtuvo un exceso enantiomérico de un 10 %.<sup>17</sup> Existen otros ejemplos hasta la época actual,<sup>18</sup> pero fue en el año 2000 cuando se contextualizó este campo por primera vez y recibió su nombre.<sup>19</sup> Desde ese momento, surgió un gran interés por dicha metodología (Figura 1.6).



**Figura 1.6.** Número de publicaciones por año con el término *organocatalysis* en la colección de *SciFinder* en marzo de 2020. El número de publicaciones se vuelve asintótico tras 2012.

En la actualidad, es un campo consolidado y pueden clasificarse los procesos que engloba según el modo de activación de los sustratos por los catalizadores, según requiera

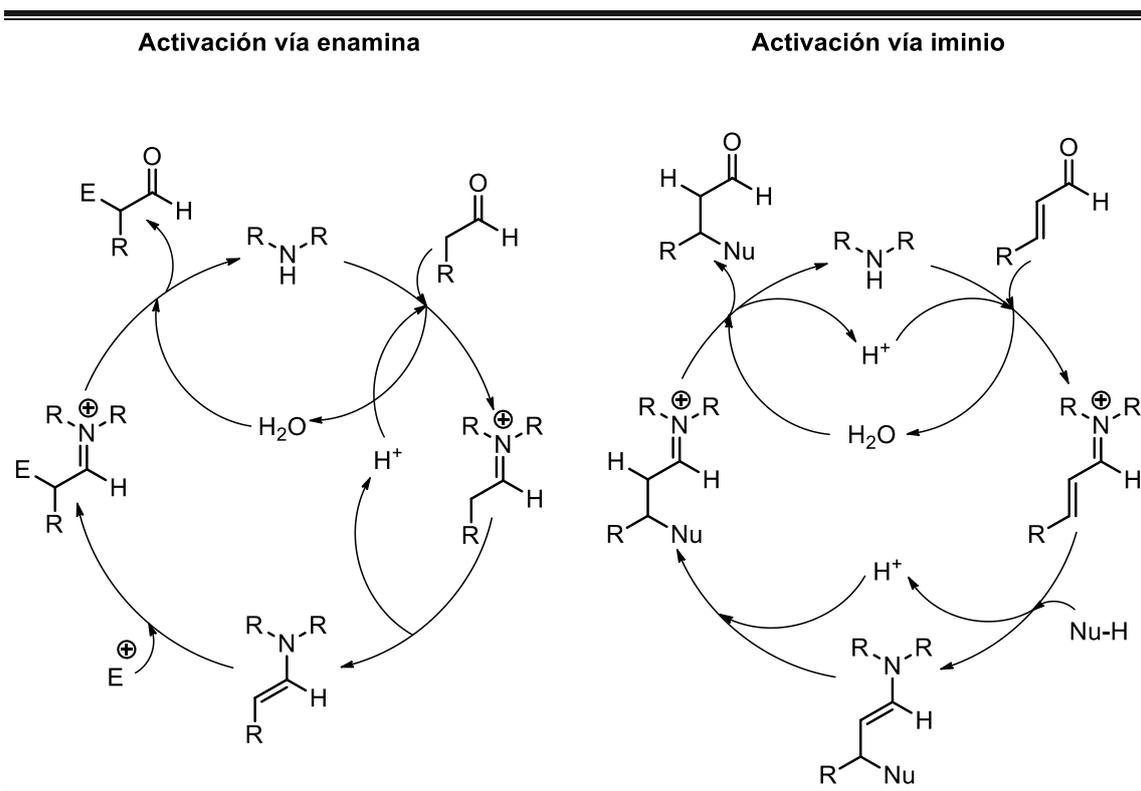
<sup>16</sup> a) *Organocatalysis* (Eds.: M. T. Reetz, B. List, S. Jaroch, H. Weinmann), Springer: Berlín-Heidelberg-Nueva York, **2007**; b) D. W. C. MacMillan, *Nature* **2008**, *455*, 304-308; c) B. R. Buckley, M. M. Farah, *Annu. Rep. Prog. Chem. Sect. B: Org. Chem.* **2011**, *107*, 102-117; c) A. Berkessel, H. Gröger, *Asymmetric Organocatalysis* Wiley-VCH: Weinheim, **2005**; d) *Enantioselective Organocatalysis* (Ed.: P. I. Dalko), Wiley-VCH: Nueva York, **2007**; e) *Comprehensive Enantioselective Organocatalysis* (Ed.: P. I. Dalko), Wiley-VCH: Weinheim, **2013**. f) J. M. Lassaletta, *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 3787.

<sup>17</sup> W. Marckwald, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1904**, *37*, 349-354.

<sup>18</sup> a) Z. G. Hajos, D. R. Parrish, Verfahren zur Herstellung optisch aktiver biologischer Verbindungen. Ger. Pat. DE2102623, 1971; b) Z. G. Hajos, D. R. Parrish, *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 1615-1621; c) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, Verfahren zur Herstellung optisch aktiver Bicycloalkan Derivate. Ger. Pat. DE2014757, 1971; d) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1971**, *10*, 496-497; e) U. Dolling, P. Davis, E. J. Grabowski, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 446-447; f) H. Pracejus, *Justus Liebigs, Ann. Chem.* **1960**, *634*, 9-22; g) J. Oku, N. Ito, S. Inoue, *Makromol. Chem.* **1979**, *180*, 1089-1091.

<sup>19</sup> a) B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2395-2396; b) K. A. Ahrendt, C. J. Borths, D. W. C. MacMillan, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4243-4244.

o no, del establecimiento de enlaces covalentes. En el modo de activación covalente, sin lugar a dudas, destaca la aminocatálisis.<sup>20</sup> Éste es, probablemente, el modo de activación más utilizado, ya que es muy eficiente a la hora de activar el carbono  $\alpha$  o  $\beta$  de compuestos carbonílicos (mayormente aldehídos) para formar enlaces C-C o C-heteroátomo. En dicha estrategia se utilizan aminas primarias o secundarias como catalizadores, estableciéndose enlaces covalentes fuertes con el sustrato, lo que dota de una gran rigidez al complejo activado, obteniéndose así excelentes resultados de selectividad. Existen dos mecanismos de acción mayoritarios, enamina e iminio (Esquema 1.1).



**Esquema 1.1.** Mecanismos enamina<sup>19a</sup> e iminio<sup>19b</sup> en aminocatálisis.

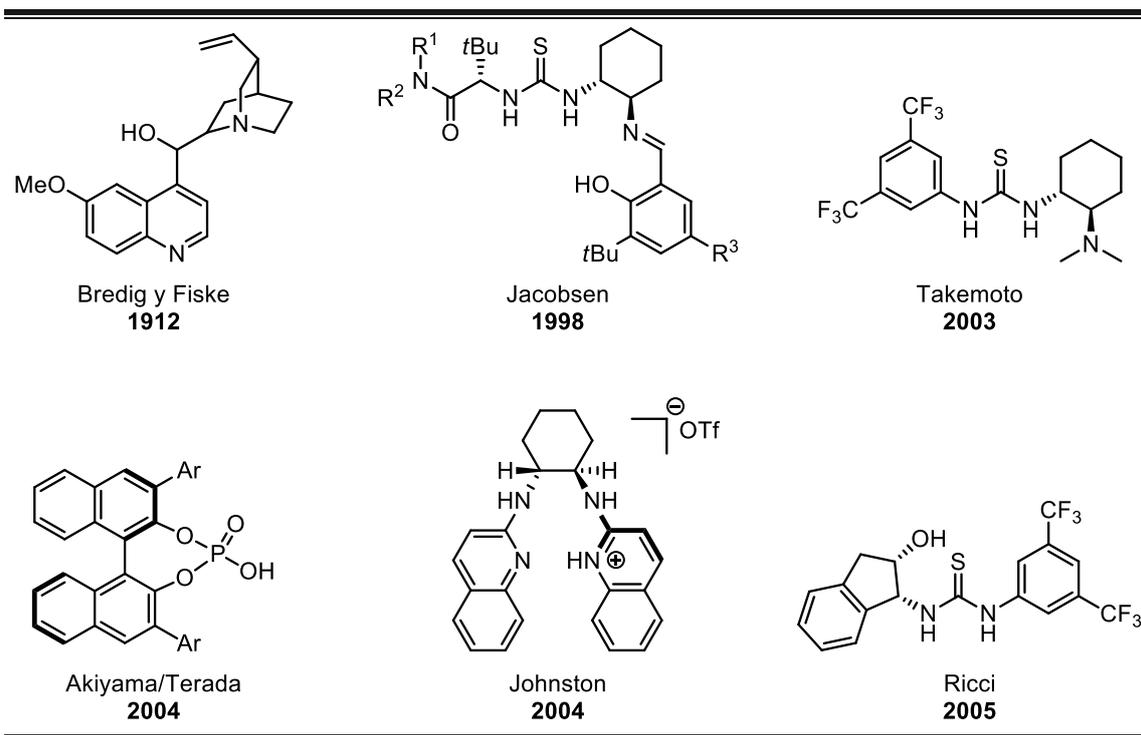
En ambos ciclos catalíticos puede observarse la simplicidad y la excelente economía atómica que convierte a la aminocatálisis en una alternativa tan eficiente y utilizada.

En cuanto a la catálisis no covalente, resulta menos efectiva que la covalente debido a que se basa en interacciones intermoleculares débiles para estabilizar los

<sup>20</sup> a) B. List, *Synlett* **2001**, 1675-1686; b) E. R. Jarvo, S. J. Miller, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 2481-2495; c) B. List, *Tetrahedron* **2002**, *58*, 5573-5590; d) B. List, *Chem. Commun.* **2006**, 819-824; e) A. Erkkilä, I. Majander, P. M. Pihko, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5416-5470; f) P. Melchiorre, M. Marigo, A. Carlone, G. Bartoli, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6138-6171; g) P. M. Pihko, I. Majander, A. Erkkilä, *Top. Curr. Chem.* **2010**, *291*, 29-75; h) M. Nielsen, D. Worgull, T. Zweifel, B. Gschwend, S. Bertelsen, K. A. Jørgensen, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 632-649.

complejos activados. Por ello, en dichos sistemas catalíticos, se suman varias interacciones débiles, incluso de distinta naturaleza, para equiparar su efectividad a los enlaces covalentes. Entre estas interacciones se encuentran las de Van der Waals, electrostáticas, enlace de hidrógeno y  $\pi$ -stacking. Entre los distintos campos de estudio pertenecientes a esta disciplina, los más prominentes serían la catálisis de transferencia de fase y la catálisis por enlace de hidrógeno. Debido a que la presente tesis doctoral se basa en la catálisis por enlace de hidrógeno se va a profundizar más en este campo.<sup>21</sup>

La catálisis por enlace de hidrógeno se basa en el establecimiento de una o varias interacciones de este tipo entre el catalizador y el sustrato. Por consiguiente, necesitamos funciones complementarias aceptoras y dadoras de enlace de hidrógeno entre ambos. En este sentido, existen una gran variedad de organocatalizadores básicos (como aceptores, para activar sustratos nucleofílicos) y ácidos (como dadores, para activar sustratos electrofílicos), incluso catalizadores que combinan ambos grupos dadores y aceptores en su estructura para la activación simultánea del nucleófilo y el electrófilo en estados de transición con activación bifuncional o multifuncional (Figura 1.7).



**Figura 1.7.** Ejemplos de organocatalizadores de enlace de hidrógeno pioneros.

<sup>21</sup> a) *Asymmetric Phase Transfer Catalysis* (Ed.: K. Maruoka), Wiley-VCH: Weinheim, **2008**; b) D. Enders, T. V. Nguyen, *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5327-5331.

Los compuestos representados en la Figura 1.7 pertenecen a algunas de las familias más prominentes en organocatálisis asimétrica. Las ureas son un ejemplo que engloba estructuras derivadas como las tioureas (Ricci, Takemoto y Jacobsen) y compuestos relacionados como las guanidinas.<sup>22</sup> En un inicio se comenzó estudiando como catalizadores los derivados de urea, pero tras comprobar los problemas de autoagregación de estas,<sup>23</sup> el campo fue evolucionando desde el estudio de las tioureas y guanidinas, hasta estructuras más eficientes como las escuaramidas<sup>24</sup> o, más recientemente, a otros análogos más exóticos y poco explorados.<sup>25</sup> Por otro lado, la familia de los ácidos binaftil fosfóricos (Akiyama/Terada) se ha mantenido más inalterada, cambiando los sustituyentes aromáticos o añadiendo unidades diméricas pero con la misma estructura esencial.<sup>26</sup> La familia de las cinchonas (Bredig y Fieske),<sup>18f,27</sup> es una de las más antiguas ya que procede del *chiral pool*. Estos catalizadores presentan varias funciones en su estructura y han evolucionado transformando una o varias de esas funciones e incluyendo más de una unidad a través de un espaciador (biscinchonas).<sup>28</sup> Finalmente, en otra familia de catalizadores como la empleada por Johnston, se transforma una de las funciones del catalizador de forma reversible para mejorar su efectividad.<sup>29</sup>

---

<sup>22</sup> a) R. P. Herrera, V. Sgarzani, L. Bernardi, A. Ricci, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6576-6579; b) T. Okino, H. Yasutaka, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12672-12673; c) S. M. Sigman, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4901-4902; d) R. Chinchilla, C. Nájera, P. Sánchez-Agulló, *Tetrahedron: Asymmetry* **1994**, *5*, 1393-1402.

<sup>23</sup> I. G. Sonsona, E. Marqués-López, M. Häring, D. Díaz Díaz, R. P. Herrera, *Catalysts* **2018**, *8*, 305.

<sup>24</sup> a) R. I. Storer, C. Aciro, L. H. Jones, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 2330-2346; b) J. Alemán, A. Parra, H. Jiang, K. A. Jørgensen, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 6890-6899; c) M. Tsakos, C. G. Kokotos, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 10199-10222; d) J. V. Alegre-Requena, *Synlett* **2014**, *25*, 298-299; e) P. Chauhan, S. Mahajan, U. Kaya, D. Hack, D. Enders, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, *357*, 253-281.

<sup>25</sup> Y. Kanada, H. Yuasa, K. Nakajima, M. Murahashi, N. Tada, A. Itoh, Y. Koseki, T. Miura, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 4896-4899.

<sup>26</sup> a) T. Akiyama, J. Itoh, K. Yokota, K. Fuchibe, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 1566-1568; b) D. Uraguchi, M. Terada, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 5356-5357; c) S. J. Connon, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 3909-3912.

<sup>27</sup> G. Bredig, P. S. Fiske, *Biochem. Z.* **1912**, *46*, 7-23.

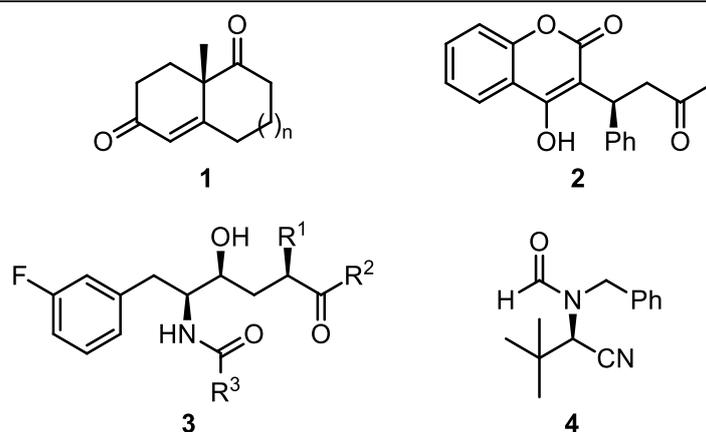
<sup>28</sup> a) L. Cheng, L. Liu, D. Wang, Y.-J. Chen, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3874-3877; b) H. Fujioka, K. Murai, *Heterocycles* **2013**, *87*, 763-805.

<sup>29</sup> B. M. Nugent, R. A. Yoder, J. N. Johnston, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3418-3419.

## 1.4 Organocatálisis en la industria farmacéutica

Dado que esta tesis doctoral se propone sintetizar compuestos de alto valor añadido para su uso como fármacos, es necesario preguntarse si los citados procedimientos pueden llevarse a cabo en escalas mayores para su uso en la industria.

En este sentido, existen muchos ejemplos de procedimientos organocatalíticos escalados a nivel industrial, donde se usan de forma preferente para la síntesis de fármacos (Figura 1.8).<sup>30</sup>



**Figura 1.8.** Ejemplos de fármacos sintetizados por medio de organocatálisis en la industria.

El ejemplo más importante de este tipo, fue desarrollado hace más de 40 años para catalizar por medio de L-prolina reacciones aldólicas intramoleculares para producir el compuesto **1**, el cual se usa como intermedio para producir esteroides en escala industrial. Esta reacción pasaría a hacerse famosa como la reacción de Hajos-Eder-Sauer-Wiechart.<sup>31</sup> Además, la aminocatálisis también ha sido usada para la síntesis asimétrica de Warfarina (Figura 1.8, **2**), un famoso anticoagulante usado mayormente en EEUU, consiguiendo excelentes resultados para la obtención de su enantiómero *S*, el cual es mucho más activo.<sup>32</sup> La empresa DSM, utilizó la oxidación de Shi como paso para la síntesis a gran escala del compuesto **3**, el cual se estaba desarrollando para el tratamiento

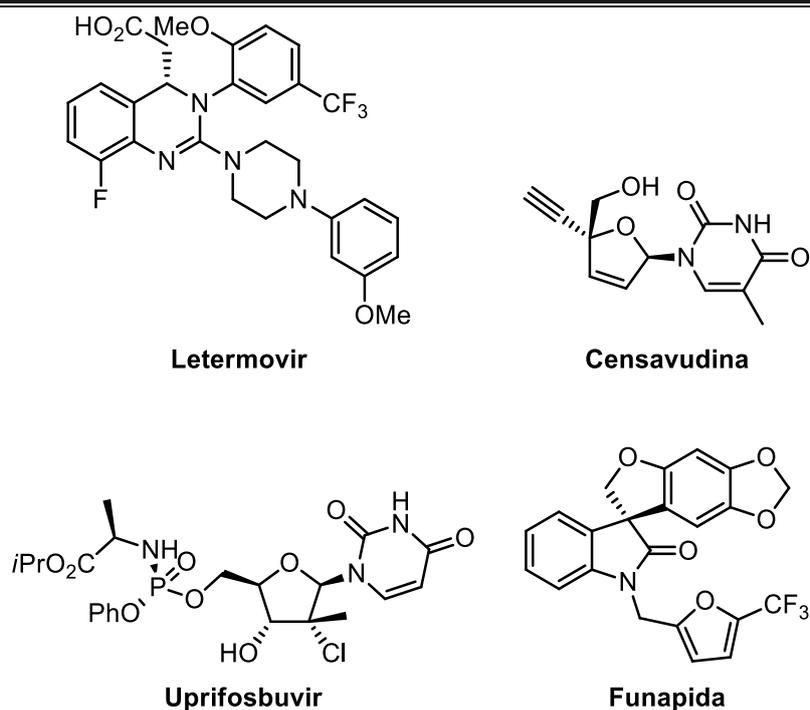
<sup>30</sup> C. A. Busacca, D. R. Fandrick, J. J. Song, C. H. Senanayake, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 1825-1864.

<sup>31</sup> a) Z. G. Hajos, D. R. Parrish, *J. Org. Chem.* **1974**, 39, 1615-1621; b) U. Eder, G. Sauer, R. Wiechert, *Angew. Chem.* **1971**, 83, 492-493; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1971**, 10, 496-497; c) C. Agami, N. Platzer, H. Sevestre, *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1987**, 2, 358-360.

<sup>32</sup> a) E. Bush, W. F. Trager, *J. Pharm. Sci.* **1983**, 72, 830-831; b) M. Ikawa, M. A. Stahmann, K. Paul, *J. Am. Chem. Soc.* **1944**, 66, 902-906; c) H. Kim, C. Yen, P. Preston, J. Chin, *Org. Lett.* **2006**, 8, 5239-5242; d) J.-W. Xie, L. Yue, W. Chen, W. Du, J. Zhu, J.-G. Deng, Y.-C. Chen, *Org. Lett.* **2007**, 9, 413-415.

del VIH y como agente antihipertensivo.<sup>33</sup> Como último ejemplo clásico, la empresa Chirex usó el catalizador de Jacobsen (Figura 1.7) inmovilizado en poliestireno para la síntesis de derivados del aminonitrilo **4** a gran escala.<sup>34</sup>

Siguiendo la línea de estos procesos más clásicos, actualmente también se están implementando pasos organocatalíticos para la síntesis de diferentes fármacos (Figura 1.9).<sup>35</sup>



**Figura 1.9.** Ejemplos de fármacos actuales sintetizados mediante pasos organocatalíticos.

El letermovir es el principio activo del antiviral Previmis. Recientemente, Merck ha estado impulsando su avance en fases de prueba clínica.<sup>36</sup> Esto ha hecho que se desarrollen procedimientos más eficientes para su síntesis, donde la organocatálisis ha tenido un papel crucial.<sup>37</sup> La censavudina es un inhibidor de la nucleósido transcriptasa reversa. Recientemente, se ha estado investigando su eficiencia para el tratamiento del VIH.<sup>38</sup> Se ha desarrollado un paso organocatalítico capaz de conducir a este fármaco en

<sup>33</sup> a) Y. Shi, *Modern Oxidation Methods*. 2<sup>a</sup> edición (Ed.: J.-E. Bäckvall), Wiley-VCH: Weinheim, **2010**;

b) D. J. Ager, K. Anderson, E. Oblinger, Y. Shi, J. VanderRoest, *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11*, 44-51.

<sup>34</sup> M. Sigman, P. Vachal, E. N. Jacobsen, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1336-1338; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1279-1281.

<sup>35</sup> A. Carlone, L. Bernardi, *Phys. Sci. Rev.* **2019**, *4*, 20180097.

<sup>36</sup> P. S. Verghese, M. R. Schleiss, *Drugs Fut.* **2013**, *38*, 291-298.

<sup>37</sup> C. K. Chung, Z. Liu, K. W. Lexa, T. Andreani, Y. Xu, Y. Ji, *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 10637-10640.

<sup>38</sup> a) G. E. Dutschman, S. P. Grill, E. A. Gullen, K. Haraguchi, S. Takeda, H. Tanaka, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 1640-1646; b) Y.-C. Cheng, H. Tanaka, M. Baba, Antiviral nucleosides analogs and

una escala de cientos de kilogramos.<sup>39</sup> El uprifosbuvir estaba siendo desarrollado por Merck para el tratamiento del virus de la Hepatitis C crónica. Perdió interés debido al coste económico frente al escenario de los tratamientos existentes.<sup>40</sup> No obstante, recientes avances han mejorado su preparación, lo que podría significar su relanzamiento.<sup>41</sup> Por último, la funapida es un fármaco que estaba en fase 2 de sus pruebas clínicas, para dar por terminado su desarrollo posteriormente por la empresa Teva.<sup>42</sup> El organocatalizador necesario para su síntesis no tenía una ruta escalable a altas producciones hasta hace poco.<sup>43</sup>

Para finalizar, los avances en la tecnología de las reacciones en flujo continuo podrían ayudar a adaptar muchos más procedimientos a escala industrial, mediante el anclaje de organocatalizadores a fases estacionarias.<sup>44</sup>

---

methods for treating viral infections, especially HIV. US20100048500, 2010;; c) L. Cotte, P. Dellamonica, F. Raffi, Y. Yazdanpanah, J.-M. M. Michel Molina, F. Boué, *Immune Defic. Syndr.* **2013**, *63*, 346-354.

<sup>39</sup> M. D. Eastgate, M. A. Schmidt, K. R. Fandrick, *Nature Rev.* **2017**, *1*, 1-16.

<sup>40</sup> a) B. A. Mayes, A. J. Stewart, A. M. Moussa, D-Amino acid compounds for liver disease. WO2013177219, 2013; b) G. Gosselin, C. C. Parsy, F.-R. Alexandre, H. Rahali, J.-F. Griffon, J. Milhau, 2'-Cloro nucleoside analogs for HCV infection. WO2014058801A1, 2014.

<sup>41</sup> D. A. DiRocco, Y. Ji, E. C. Sherer, A. Klapars, M. Reibarkh, J. Dropinski, *Science* **2017**, *356*, 426-430.

<sup>42</sup> a) J. A. Sclafani, J. Chen, D. V. Levy, H. Reese, M. Dimitri, P. Mudipalli, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 1616-1624; b) J.-J. Cadieux, M. Chafeev, S. Chowdhury, J. Fu, Q. Jia, S. Abel, E. El-Sayed, E. Huthmann, T. Isarno, Synthetic methods for spiro-oxindole compounds. U.S. Patent, US8445696B2, 2013.

<sup>43</sup> Y. Wang, K. L. Milkiewicz, M. L. Kaufman, L. He, N. G. Landmesser, D. V. Levy, *Org. Process Res. Dev.* **2017**, *21*, 408-413.

<sup>44</sup> I. Atodiresei, C. Vila, M. Rueping, *ACS Catal.* **2015**, *5*, 1972-1985.



---

---

# 2

---

---

## SÍNTESIS ORGANOCATALÍTICA DE 1,4-DIHIIDROPIRIDINAS

### 2.1 Introducción

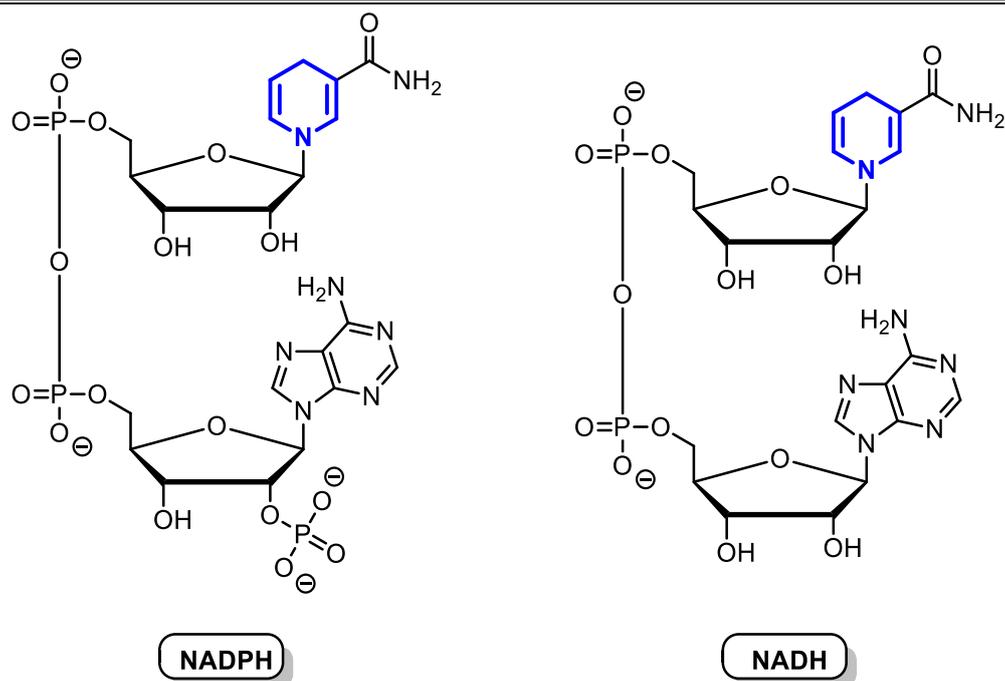
Entre los heterociclos, las dihidropiridinas destacan por ser una de las familias más interesantes.<sup>45</sup> Se trata de una molécula de 6 miembros mono-nitrogenada y doblemente insaturada con una amplia presencia en la naturaleza. Este hecho las convierte en estructuras privilegiadas con interesantes propiedades biológicas y químicas, ya que la materia viva ha evolucionado desde su inicio seleccionando y mejorando compuestos químicos para especializarlos en los procesos que necesitaba, muchos de ellos catalíticos.<sup>46</sup> Es especialmente relevante su presencia como parte de los cofactores NADH y NADPH (Figura 2.1).<sup>47</sup>

---

<sup>45</sup> *Reactivity of Six-membered Rings en Handbook of Heterocyclic Chemistry, 3ª edición* (Eds.: A. R. Katritzky, C. A. Ramsden, J. A. Joule, V. V. Zhdankin), Elsevier, **2010**, pp. 242-382.

<sup>46</sup> Para revisiones bibliográficas, ver: a) J.-P. Wan, Y. Liu, *RSC Adv.* **2012**, *2*, 9763-9777; b) H. T. Pham, I. Chataigner, J.-L. Renaud, *Curr. Org. Chem.* **2012**, *16*, 1754-1775; c) R. P. Herrera, *Top. Curr. Chem.* **2016**, *374*, 29; d) D. M. Stout, A. I. Meyers, *Chem. Rev.* **1982**, *82*, 223-243; e) U. Eisner, J. Kuthan, *Chem. Rev.* **1972**, *72*, 1-42; f) A. Sausins, G. Duburs, *Heterocycles* **1988**, *27*, 269-289; g) R. Lavilla, *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **2002**, *1*, 1141-1156. Para ejemplos seleccionados, ver: h) L.-J. Zhang, Q. Wu, J. Sun, C.-G. Yan, *Beilstein J. Org. Chem.* **2013**, *9*, 846-851; i) P. P. Ghosh, P. Mukherjee, A. R. Das, *RSC Adv.* **2013**, *3*, 8220-8226; j) S. Pal, L. H. Choudhury, T. Parvin, *Synth. Commun.* **2013**, *43*, 986-992; k) S. Pal, V. Singh, P. Das, L. H. Choudhury, *Bioorg. Chem.* **2013**, *48*, 8-15; l) H. S. P. Rao, A. Parthiban, *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 6223-6238; m) Y.-H. Jiang, C.-G. Yan, *Mol. Divers.* **2014**, *18*, 809-820; n) H.-S. Chen, R.-Y. Guo, *Monatsh. Chem.* **2015**, *146*, 1355-1362; o) N. Shabalala, S. Maddila, S. B. Jonnalagadda, *New J. Chem.* **2016**, *40*, 5107-5112; p) J. Sun, Y. Sun, E.-Y. Xia, C.-G. Yan, *ACS Comb. Sci.* **2011**, *13*, 436-441; q) S. E. Kiruthika, P. T. Perumal, *RSC Adv.* **2014**, *4*, 3758-3767.

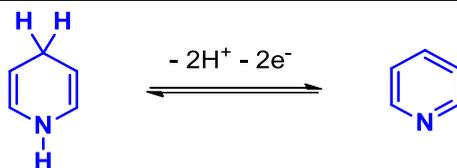
<sup>47</sup> a) N. Pollak, C. Dölle, M. Ziegler, *Biochem. J.* **2007**, *402*, 205-218; b) K. K. Griendling, C. A. Minieri, J. D. Ollerenshaw, R. W. Alexander, *Circ. Res.* **1994**, *74*, 1141-1148; c) Y. Liu, G. Fiskum, D. Schubert, *J. Neurochem.* **2002**, *80*, 780-787.



**Figura 2.1.** Estructura de los cofactores NADPH y NADH.

Ambos cofactores son dinucleótidos de adenina y nicotinamida y su función principal es la de ser transportadores de energía en las reacciones metabólicas mediante el intercambio de protones y electrones. Dado que estos compuestos están involucrados en un gran número de procesos biológicos, se han convertido en dianas terapéuticas de gran importancia.

Es precisamente la presencia del anillo dihidropiridina la que otorga a estas moléculas sus funciones, puesto que es éste el que soporta el proceso de oxidación y reducción (Esquema 2.1).<sup>48</sup>

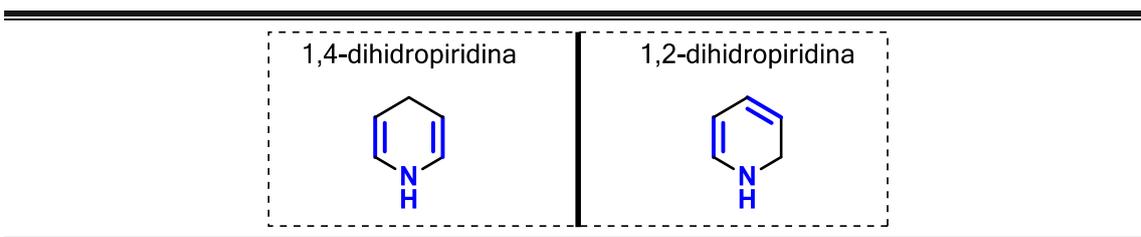


**Esquema 2.1.** Equilibrio RedOx dihidropiridina:piridina.

<sup>48</sup> A. Velena, N. Zarkovic, K. Gall Troselj, E. Bisenieks, A. Krauze, J. Poikans, G. Duburs, *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2016**, 1892412.

Dichas funciones metabólicas han inspirado el desarrollo de nuevos derivados sintéticos de 1,4-DHPs para su empleo como reductores suaves en una gran variedad de transformaciones químicas.<sup>49</sup>

Estos compuestos presentan dos isómeros estructurales diferentes, la 1,2-dihidropiridina y 1,4-dihidropiridina, cambiando únicamente la posición de las insaturaciones en el anillo (Figura 2.2).



**Figura 2.2.** Estructuras de los dos isómeros de las DHPs.

Generalmente las rutas sintéticas clásicas para la obtención de dihidropiridinas pueden dar lugar a mezclas de estos isómeros debido a su inespecificidad. Además, cuando los productos de interés no presentan simetría, pueden dar lugar a mezclas de isómeros adicionales, como se indicará más adelante.<sup>50</sup>

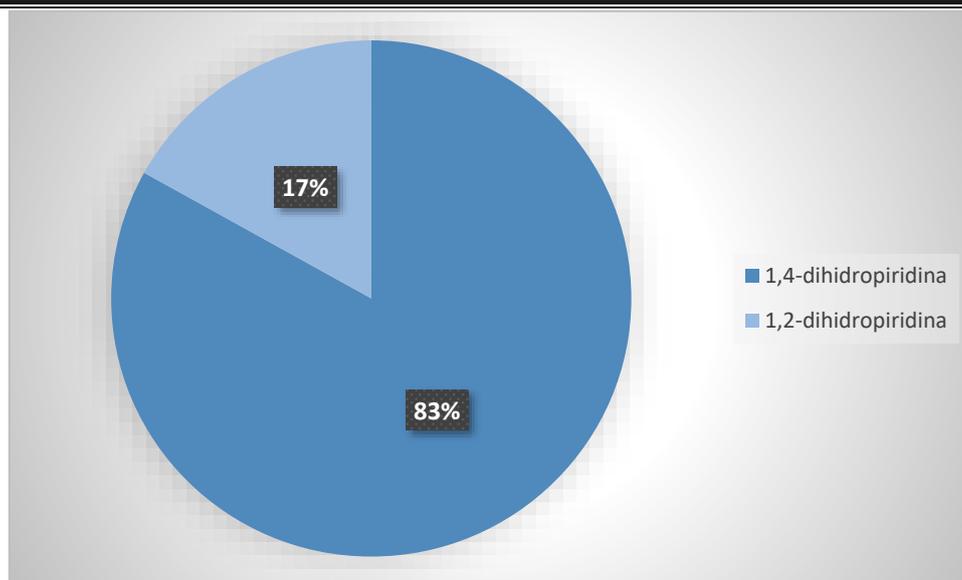
Existen muy pocas metodologías eficientes para la síntesis de los derivados de 1,2-DHP. Normalmente se trata de reacciones complicadas o con un rendimiento muy escaso, ya que generalmente la aparición de los correspondientes derivados 1,4-DHP está más favorecida, aunque se puede encontrar algún ejemplo de reacciones concretas o de optimización de condiciones de reacción que conducen a los compuestos 1,2-DHP.<sup>51</sup>

Debido a estas razones, la bibliografía referente a la síntesis de 1,4-dihidropiridinas supera ampliamente a la referente a sus otros isómeros, como puede verse en la Figura 2.3.

<sup>49</sup> a) S. G. Ouellet, A. M. Walji, D. W. C. Macmillan, *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1327-1339; b) C. Zheng, S.-L. You, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2498-2518.

<sup>50</sup> a) A. Silva, E. Silva, P. Varandas, *Synthesis* **2013**, *45*, 3053-3089; b) V. K. Sharma, S. K. Singh, *RSC Adv.* **2017**, *7*, 2682-2732.

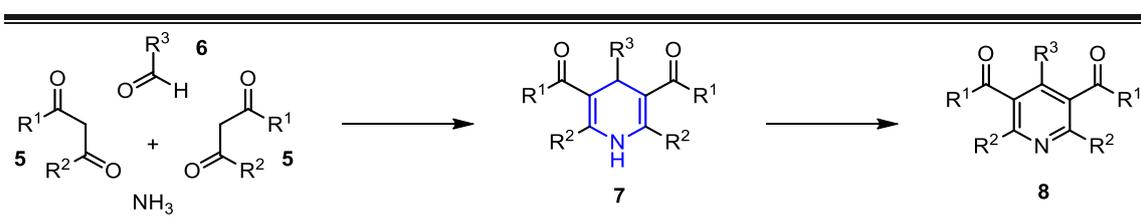
<sup>51</sup> A. Dudnik, V. Weidner, A. Motta, M. Delferro, T. J. Marks, *Nat. Chem.* **2014**, *6*, 1100-1107.



**Figura 2.3.** Número de referencias correspondientes al término *1,4-dihydropyridine* (azul oscuro) frente a *1,2-dihydropyridine* (azul claro) en la base de datos de *SciFinder* en marzo de 2020.

Para profundizar más en el tema, conviene centrarse en los derivados 1,4-DHPs, ya que la aparición y evolución de estos compuestos está perfectamente registrada.

Hay que remontarse hasta 1882, cuando Arthur Hantzsch publicó su síntesis de piridinas.<sup>52</sup> En este interesante procedimiento, las 1,4-DHPs son un intermedio aislable que se transforma por oxidación en una piridina. Se trata de una reacción multicomponente en la que se usan como reactivos de partida amoníaco, 2 equivalentes de un derivado  $\beta$ -cetocarbonílico **5** sustituido como sea necesario y un aldehído **6**. La reacción proporciona las 1,4-DHPs **7**, que posteriormente son oxidadas para dar lugar a las piridinas correspondientes **8** (Esquema 2.2).



**Esquema 2.2.** Síntesis multicomponente de Hantzsch.

Como se ha mencionado anteriormente, el equilibrio RedOx de estos productos combinado con la sencilla síntesis ideada por Hantzsch impulsó el desarrollo de una gran

<sup>52</sup> A. Hantzsch, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1881**, *14*, 1637-1638.

familia de estos compuestos para su uso como agentes reductores suaves. En la actualidad, aún se utilizan los “ésteres de Hantzsch” para este fin.<sup>49</sup>

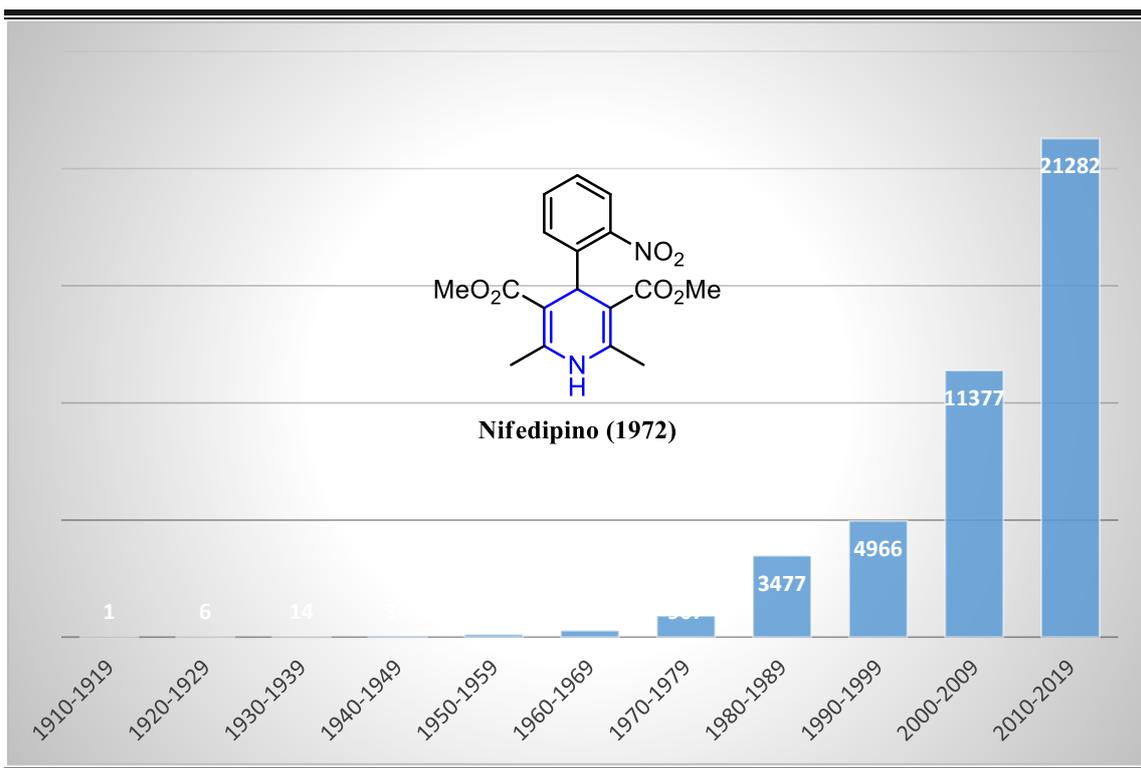
El estudio y empleo de las DHPs<sup>46</sup> creció de manera gradual hasta que se comenzó a estudiar sus propiedades biológicas, hecho que resultaría en descubrimientos de importancia y potenciaría aún más su interés, ya no sólo en el campo de la síntesis orgánica.<sup>53</sup>

En los años setenta, se descubrió la actividad del nifedipino como agente antihipertensivo (Figura 2.4). Se constató que, al llegar al medio biológico, estos derivados de 1,4-DHP eran capaces de interactuar en la membrana celular con los canales que regulan la entrada de iones como el  $\text{Ca}^{2+}$ , siendo la concentración de estos iones de importancia vital para la regulación del sistema vascular. Nació así toda una familia de fármacos capaces de bloquear los canales de calcio celulares y tratar desordenes cardíacos.<sup>54</sup> Esto condujo a una investigación más extensa de las propiedades biológicas de estos compuestos, descubriendo otras funciones interesantes, y a un rápido ascenso en el número de publicaciones relacionadas. Actualmente, constituye un campo de estudio activo y de gran relevancia (Figura 2.4).<sup>46,53</sup>

---

<sup>53</sup> a) G. M. Reddy, M. Shiradkar, A. K. Chakravarthy, *Curr. Org. Chem.* **2007**, *11*, 847-852; b) A. Mai, S. Valente, S. Meade, V. Carafa, M. Tardugno, A. Nebbioso, A. Galmozzi, N. Mitro, E. D. Fabiani, L. Altucci, A. Kazantsev, *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 5496-5504; c) P. Ioan, E. Carosati, M. Micucci, G. Cruciani, F. Broccatelli, B. S. Zhorov, A. Chiarini, R. Budriesi, *Curr. Med. Chem.* **2011**, *18*, 4901-4922; d) E. Carosati, P. Ioan, M. Micucci, F. Broccatelli, G. Cruciani, B. S. Zhorov, A. Chiarini, R. Budriesi, *Curr. Med. Chem.* **2012**, *19*, 4306-4323; e) N. Edraki, A. R. Mehdipour, M. Khoshneviszadeh, R. Miri, *Drug Discov. Today* **2009**, *14*, 1058-1066; f) K. K. Borowicz, M. Gasior, Z. Kleinrok, S. J. Czuczwar, *Eur. J. Pharmacol.* **1997**, *323*, 45-51; g) I. O. Donkor, X. Zhou, J. Schmidt, K. C. Agrawal, V. Kishore, *Bioorg. Med. Chem.* **1998**, *6*, 563-568; h) A.-H. Li, S. Moro, N. Forsyth, N. Melman, X.-d. Ji, K. A. Jacobson, *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 706-721; i) C. O. Kappe, *Eur. J. Med. Chem.* **2000**, *35*, 1043-1052.

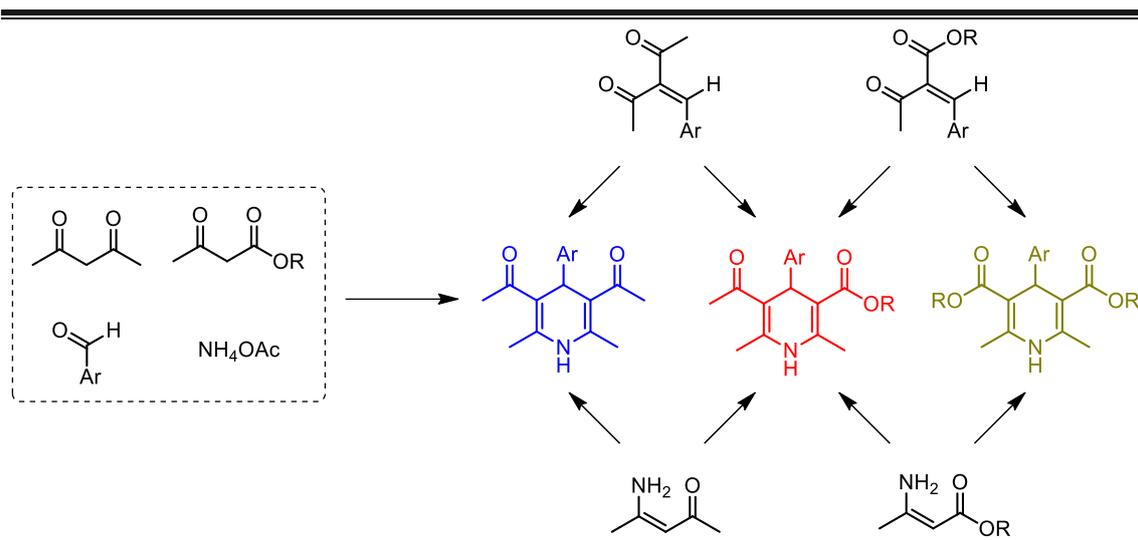
<sup>54</sup> a) B. Loev, M. Goodman, K. Snader, R. Tedeschi, E. Macko, *J. Med. Chem.* **1974**, *17*, 956-965; b) M. Bruncko, *Bioactive Heterocyclic Compound Classes: Pharmaceuticals* (Eds.: C. Lamberth, J. Dinges), Wiley-VCH: Weinheim, Alemania, **2012**, pp. 135-151; c) B. Z. Peterson, T. N. Tanada, W. A. Catterall, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 5293-5296; d) D. J. Triggle, *Cell. Mol. Neurobiol.* **2003**, *23*, 293-303; e) T. Godfraind, *Philos. T. R. Soc. B* **2005**, *360*, 2259-2272.



**Figura 2.4.** Número de publicaciones con el término *dihydropyridine* por décadas en la base de datos *Scifinder* en marzo de 2020.

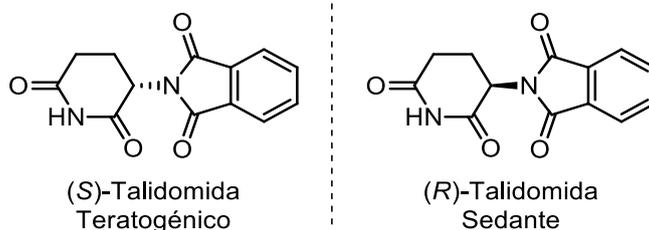
Dado el interés de los derivados de DHP, se hace necesario el desarrollo de nuevos procedimientos catalíticos que conduzcan a la obtención de estos compuestos de manera más eficiente.

La síntesis clásica de Hantzsch es una reacción multicomponente que puede conducir a diferentes isómeros. De manera adicional, si se pretende obtener productos no simétricos introduciendo derivados  $\beta$ -cetocarbónicos diferentes, las posibilidades de obtener mezclas más complejas aumentan, ya que las reacciones no son completamente ortogonales (Esquema 2.3).



**Esquema 2.3.** Comparativa de un modelo multicomponente y uno *one-pot*.

Además, es de vital importancia el control de la quiralidad inherente a estas moléculas en su posición 4.<sup>55</sup> Como se ha comentado anteriormente, la materia viva interactúa de manera diferente con las moléculas quirales, haciendo que distintos isómeros puedan presentar efectos farmacológicos diferentes e incluso contrarios.<sup>56</sup> Los ejemplos de este comportamiento son abundantes, tomando una importancia superlativa tras la crisis de la talidomida (Figura 2.5).<sup>57</sup>



**Figura 2.5.** Enantiómeros de la talidomida.

Este compuesto fue sintetizado en 1953 por Wilhem Kunz en los laboratorios Chemie Grünenthal en Alemania. Más adelante, se autorizó su venta como sedante para

<sup>55</sup> a) D. Vo, W. C. Matowe, M. Ramesh, N. Iqbal, M. W. Wolowyk, S. E. Howlett, E. E. Knaus, *J. Med. Chem.* **1995**, 38, 2851-2859; b) T. Sakai, T. Teramura, H. Okamiya, O. Inagaki, *Cardiovasc. Drug Rev.* **1997**, 15, 273-290.

<sup>56</sup> a) S. Goldmann, J. Stoltefuss, *Angew. Chem.* **1991**, 103, 1587-1605; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1991**, 30, 1559-1578; b) A. D. Hughes, S. Hering, T. B. Bolton, *Br. J. Pharmacol.* **1990**, 101, 3-5; c) W. A. Carroll, R. J. Altenbach, H. Bai, J. D. Brioni, M. E. Brune, S. A. Buckner, C. Cassidy, Y. Chen, M. J. Coghlan, A. V. Daza, I. Drizin, T. A. Fey, M. Fitzgerald, M. Gopalakrishnan, R. J. Gregg, R. F. Henry, M. W. Holladay, L. L. King, M. E. Kort, P. R. Kym, I. Milicic, R. Tang, S. C. Turner, K. L. Whiteaker, L. Yi, H. Zhang, J. P. Sullivan, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 3163-3179; d) R. Shan, C. Velazquez, E. E. Knaus, *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 254-261.

<sup>57</sup> T. Ito, H. Ando, T. Suzuki, T. Ogura, K. Hotta, Y. Imamura, H. Handa, *Science* **2010**, 327, 1345-1350.

tratar las náuseas de las mujeres durante el embarazo, comenzándose a comercializar en España en el año 1959. El medicamento se administraba en forma racémica y durante los años siguientes comenzaron a registrarse nacimientos con focomelia, un acortamiento de las extremidades en varios grados. El fármaco se retiró del mercado en España en 1963, aunque llegaron a registrarse en ese periodo más de 10,000 casos de afectación por todo el mundo. Este caso obligó a tomar conciencia de la importancia de la quiralidad en los fármacos y a endurecer las pruebas y controles de estos para evitar repetir una tragedia similar.

Por todo esto, la investigación en el campo de las 1,4-DHPs se ha centrado cada vez más en la obtención de mezclas enantioméricamente enriquecidas de estos compuestos.

Actualmente, los métodos predominantes para obtener selectivamente estereoisómeros derivados de las DHPs consisten en el uso de auxiliares quirales y técnicas de resolución quiral.<sup>58, 59</sup> Siguiendo una estrategia catalítica, existe un único ejemplo de catálisis metálica para producir estos compuestos, y el uso de la catálisis enzimática se reduce a procedimientos de resolución cinética.<sup>60</sup> Así, las síntesis organocatalíticas estereoselectivas dominan este campo, siendo, tal vez, uno de los pocos casos donde se imponen a otros tipos de catálisis. Sin embargo, sigue habiendo muy pocos ejemplos de procedimientos organocatalíticos enantioselectivos eficientes para la obtención de 1,4-DHPs.<sup>61</sup>

Las DHPs sintetizadas siguiendo el modelo del nifedipino por sus propiedades biológicas son, en su gran mayoría, heterociclos con la posición N libre (Figura 2.6).

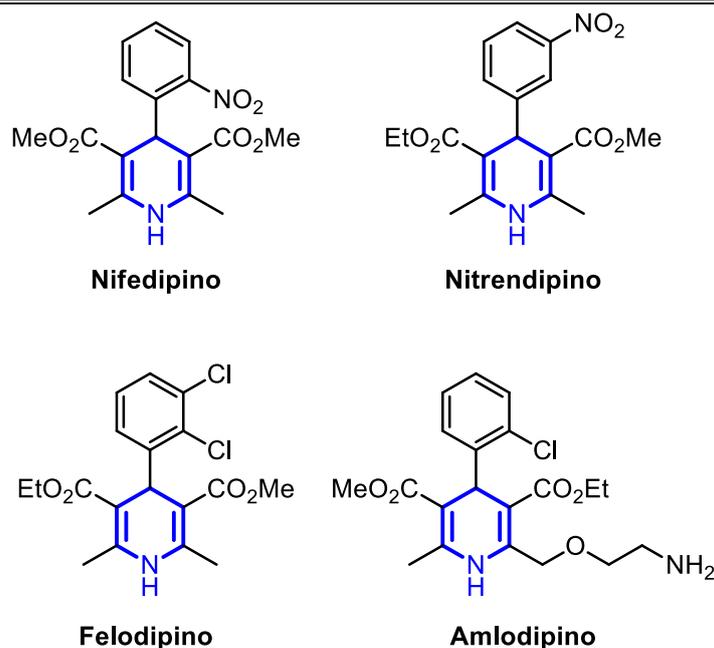
---

<sup>58</sup> a) I. Ashworth, P. Hopes, D. Levin, I. Patel, R. Salloo, *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4931-4933; b) A. Dondoni, A. Massi, E. Minghini, V. Bertolasi, *Tetrahedron* **2004**, *60*, 2311-2326; c) D. R. B. Ducatti, A. Massi, M. D. Nosedá, M. E. R. Duarte, A. Dondoni, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1980-1986; d) S. Fustero, S. Catalán, M. Sánchez-Roselló, A. Simón-Fuentes, C. del Pozo, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3484-3487.

<sup>59</sup> a) R. Peri, S. Padmanabhan, A. Rutledge, S. Singh, D. J. Trigg, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2906-2914; b) A. Sobolev, M. C. R. Franssen, B. Vigante, B. Cekavicus, R. Zhalubovskis, H. Kooijman, A. L. Spek, G. Duburs, A. de Groot, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 401-410; c) G. Boatto, M. Nieddu, M. V. Faedda, P. de Caprariis, *Chirality* **2003**, *15*, 494-497; d) A. B. Baranda, N. Etxebarria, R. M. Jiménez, R. M. Alonso, *J. Chromatogr. Sci.* **2005**, *43*, 505-512; e) B.-L. Zhang, W. He, X. Shi, M.-l. Huan, Q.-j. Huang, S.-y. Zhou, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 805-808; f) Z. Andzans, A. Krauze, I. Adlere, L. Krasnova, G. Duburs, *Chem. Heterocycl. Comp.* **2013**, *49*, 421-427; g) S. Y. Torres, Y. Verdecia, F. Rebolledo, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 3976-3984.

<sup>60</sup> Y. Deng, C. V. Karunaratne, E. Csatory, D. L. Tierney, K. Wheeler, H. Wang, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 7984-7993.

<sup>61</sup> F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera, *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359*, 2161-2175.

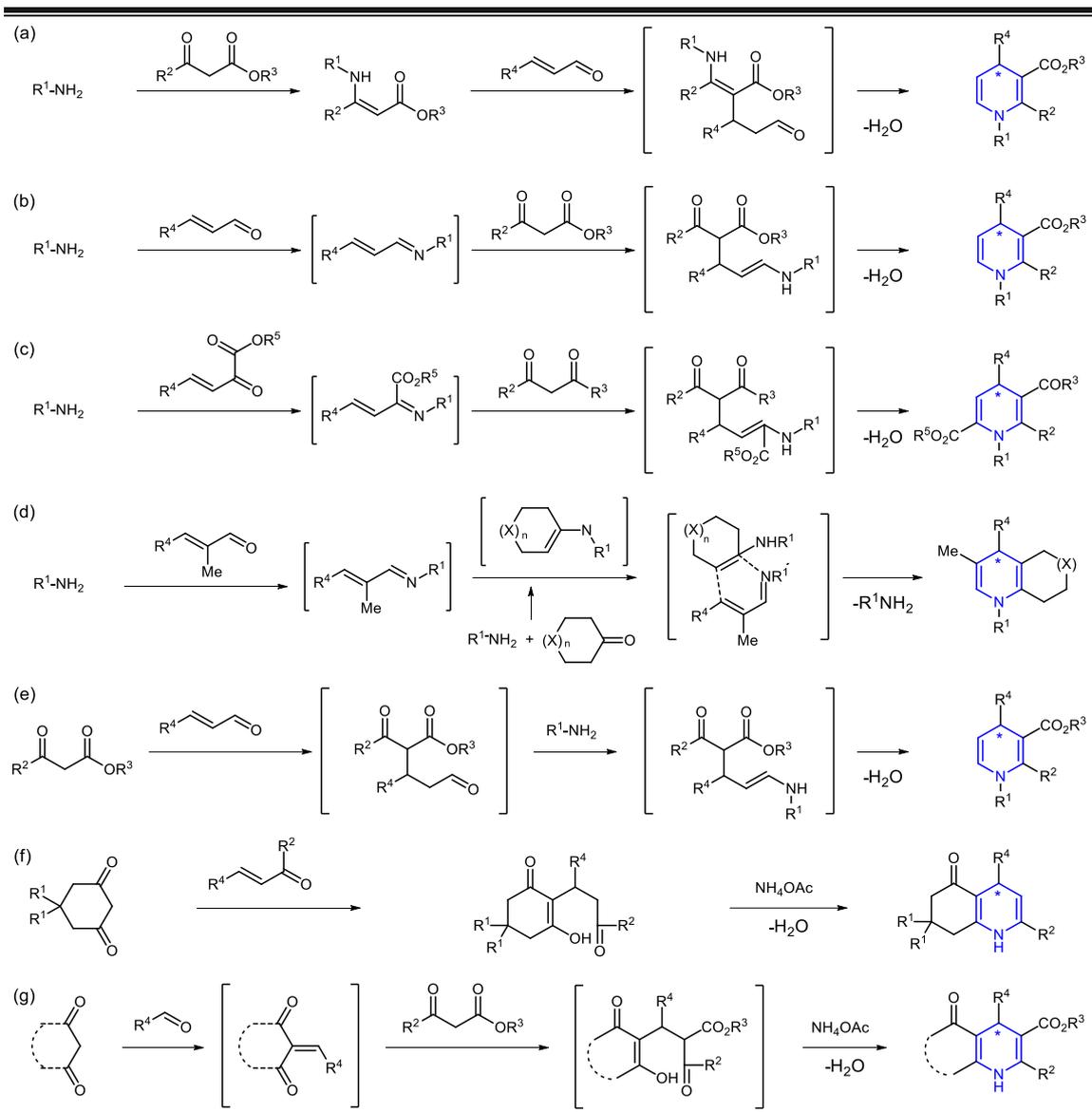


**Figura 2.6.** Fármacos derivados de 1,4-DHPs.

Sin embargo, existe la opción de utilizar aminas primarias durante la síntesis o de proteger la posición *N* a posteriori para producir compuestos *N*-protegidos. Este tipo de compuestos no han sido tan explorados dado que se pierde la capacidad RedOx de la molécula; sin embargo, hay estudios que indican que pueden tener excelentes propiedades biológicas.<sup>62</sup>

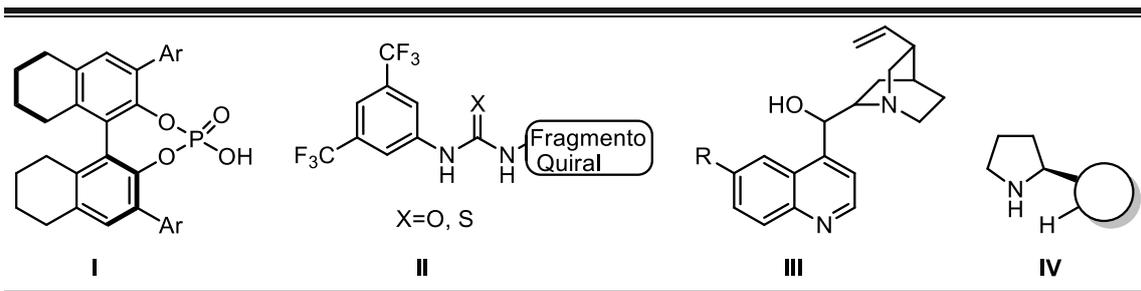
La síntesis organocatalítica enantioselectiva de 1,4-DHPs se basa en la de Hantzsch, pudiendo modificar el orden de reacción y los sustratos empleados para seguir diferentes rutas sintéticas y obtener gran variedad de derivados (Esquema 2.4).

<sup>62</sup> a) M.-L. Țiņaș, R. Azzouz, L. Peauger, V. Gembus, E. Petit, L. Bailly, C. Papamicaël, V. Levacher, *J. Org. Chem.* **2018**, *83*, 10231-10240; b) M. Rucins, D. Kaldre, K. Pajuste, M. A. S. Fernandes, J. A. F. Vicente, L. Klimaviciusa, E. Jaschenko, I. Kanep-Lapsa, I. Shestakova, M. Plotniece, M. Gosteva, A. Sobolev, B. Jansone, R. Muceniece, V. Klusa, A. Plotniece, *C. R. Chim.* **2014**, *17*, 69-80.



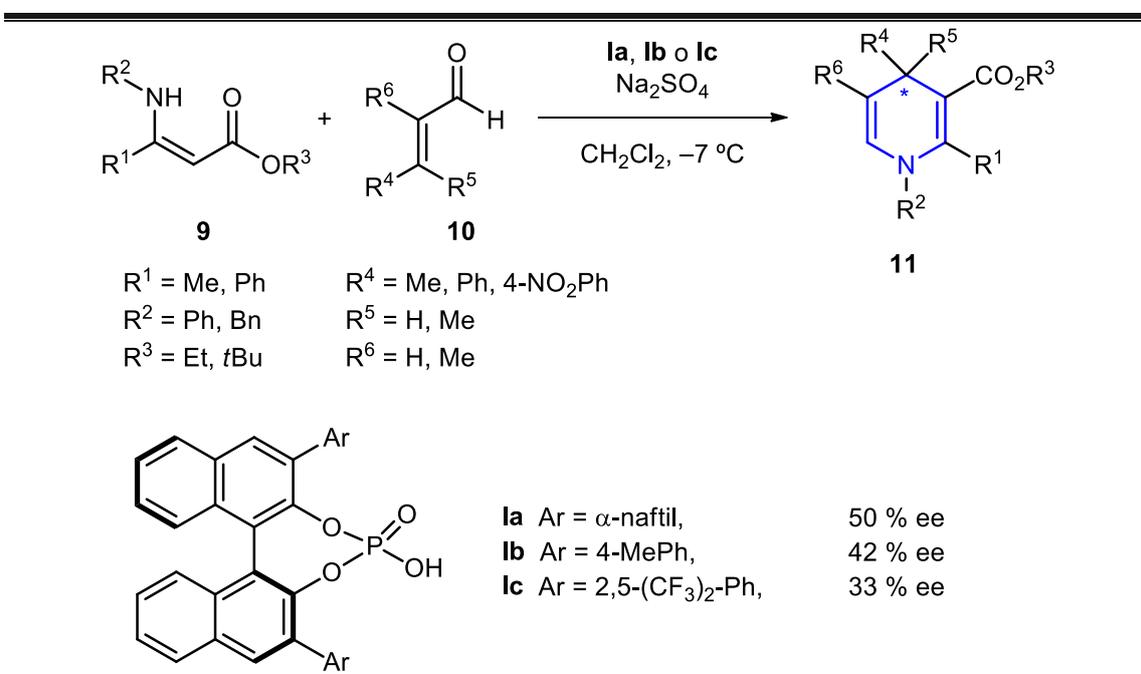
**Esquema 2.4.** Posibles mecanismos de reacción para la obtención de 1,4-DHPs.

Entre los diferentes tipos de organocatalizadores quirales usados para la reacción se encuentran ácidos fosfóricos derivados del binol **I**, derivados de tiourea **II**, de cinchona **III** y de las aminas **IV** (Figura 2.7). Dichos catalizadores presentan distintos modos de activación de los sustratos, pudiendo distinguir entre organocatálisis mediada por enlace de hidrógeno (ácidos y bases de Brønsted, **I-III**) u organocatálisis covalente (aminocatálisis, **IV**).



**Figura 2.7.** De izquierda a derecha: derivados de ácido binaftil fosfórico **I**, (tio)urea **II**, cinchona **III** y prolina **IV**.

Para conocer más sobre estos procedimientos, a continuación se presentan los ejemplos más significativos entre cada familia de catalizadores, comenzando por la familia de los ácidos binaftil fosfóricos **I** (Esquema 2.5).



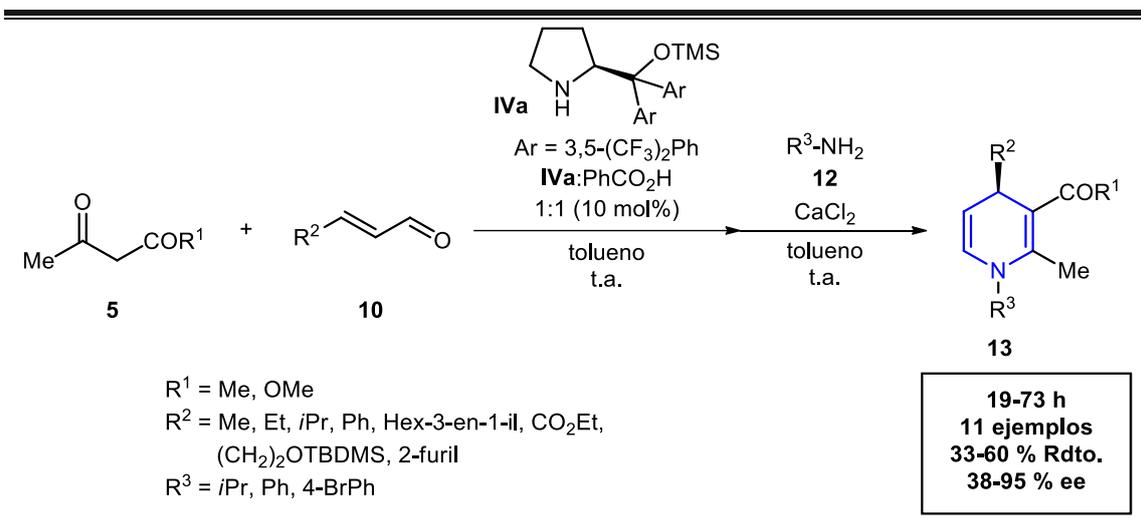
**Esquema 2.5.** Ejemplo de la síntesis de derivados de 1,4-DHP quirales mediante catálisis con ácidos binaftil fosfóricos.

En 2007 Renaud y col. desarrollaron una metodología en la que se sigue la ruta a) del Esquema 2.4, basada en la adición de Michael del derivado de enamina **9** sobre el aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **10** seguida de una ciclación.<sup>63</sup> En este trabajo, se pone a prueba la hipótesis de que un ácido de Brønsted podría promover la reacción vía activación de aldehídos  $\alpha,\beta$ -insaturados **10**. Renaud y col. consiguieron con éxito sintetizar un pequeño grupo de 1,4-DHPs **11** ensayando los tres catalizadores mostrados en la Esquema 2.5, y

<sup>63</sup> J. Moreau, A. Duboc, C. Hubert, J.-P. Hurvois, J.-L. Renaud, *Tetrahedron Lett.* **2007**, *48*, 8647-8650.

obteniendo enantioselectividades moderadas de hasta un 50 %. Este trabajo supuso el punto de partida para el desarrollo de nuevas metodologías para la síntesis de esta familia de compuestos.<sup>64</sup>

En cuanto al uso de la aminocatálisis, destaca el procedimiento desarrollado por Jørgensen en 2008 (Esquema 2.6).



**Esquema 2.6.** Ejemplo de la síntesis de derivados de 1,4-DHP quirales mediante aminocatálisis.

Jørgensen y col. investigaron el uso de la aminocatálisis para promover la síntesis de 1,4-DHPs en 2008.<sup>65</sup> Usaron un protocolo *one-pot* para hacer reaccionar aldehídos  $\alpha,\beta$ -insaturados **10**, derivados  $\beta$ -dicarbónicos **5** y aminas primarias **12** mediante la ruta e) del Esquema 2.4. Para ello utilizaron el catalizador derivado de prolinol **IVa**, el cual activaría el aldehído  $\alpha,\beta$ -insaturado **10** con ayuda de ácido benzoico como aditivo. Tras ello, el derivado  $\beta$ -dicarbónico **5** realizaría el ataque enantioselectivo sobre la posición  $\beta$  del ión iminio resultante para después hidrolizarse y dejar vía libre al ataque de la amina primaria **12**. Para finalizar se produciría una ciclación para producir los derivados de 1,4-DHP **13** deseados con enantioselectividades de moderadas a excelentes (38-95 % ee). Una vez más, este ejemplo pionero abrió la puerta a futuras investigaciones relacionadas.<sup>66</sup>

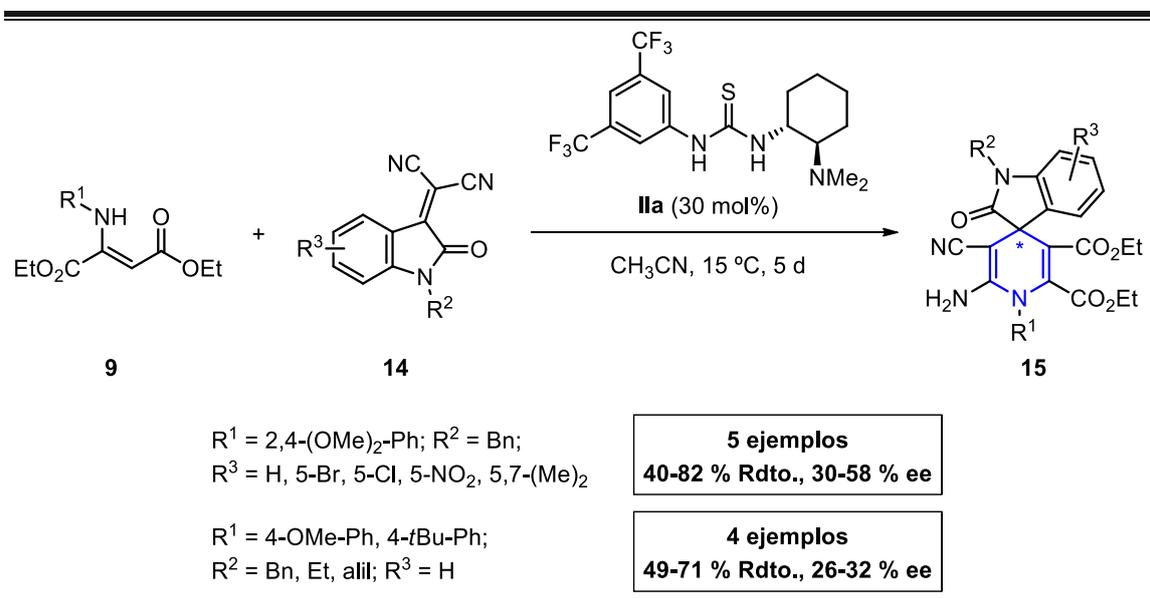
<sup>64</sup> a) J. Jian, J. Yu, X.-X. Sun, Q.-Q. Rao, L.-Z. Gong, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2458-2462; b) C. G. Evans, J. E. Gestwicki, *Org. Lett.* **2009**, *11*, 2957-2959; c) Y. Deng, S. Kumar, K. Wheeler, H. Wang, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 7874-7880; d) D. An, Z. Zhu, G. Zhang, Y. Gao, J. Gao, X. Han, L. Zheng, S. Zhang, *Tetrahedron: Asymmetry* **2015**, *26*, 897-906.

<sup>65</sup> P. T. Franke, R. L. Johansen, S. Bertelsen, K. A. Jørgensen, *Chem. Asian J.* **2008**, *3*, 216-224.

<sup>66</sup> A. Noole, M. Borissova, M. Lopp, T. Kanger, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 1538-1545.

Por último, un ejemplo organocatalítico enantioselectivo del uso de los derivados de tiourea **II** es la síntesis de espirociclos fusionando dos motivos estructurales diferentes, la 1,4-DHP y el oxindol. Este trabajo fue realizado en el marco de nuestra investigación con anterioridad al comienzo de la presente tesis doctoral.<sup>67</sup>

En él, se ensayan diferentes tipos de organocatalizadores pertenecientes a las familias anteriores, obteniéndose los mejores resultados en presencia del catalizador de Takemoto. En este sistema se sigue una variante de la ruta a) del Esquema 2.4, utilizando los derivados de enamina **9** como nucleófilos y los derivados de isatilidenmalononitrilo **14** como electrófilos, para llegar a los productos **15**, con unos resultados prometedores (40-82 % Rdto., 26-52 % ee) que impulsaron el comienzo de la presente tesis doctoral (Esquema 2.7).



**Esquema 2.7.** Procedimiento general para la síntesis de las 1,4-DHPs quirales **15** por medio de organocatálisis asimétrica, mediada por la tiourea de Takemoto **IIa**.

Este trabajo está precedido de otros ejemplos interesantes como los procedimientos desarrollados por Takemoto<sup>68</sup> y Singh.<sup>69</sup> Tras él apareció una metodología adicional llevada a cabo por Bressy, Bugaut y Rodríguez.<sup>70</sup>

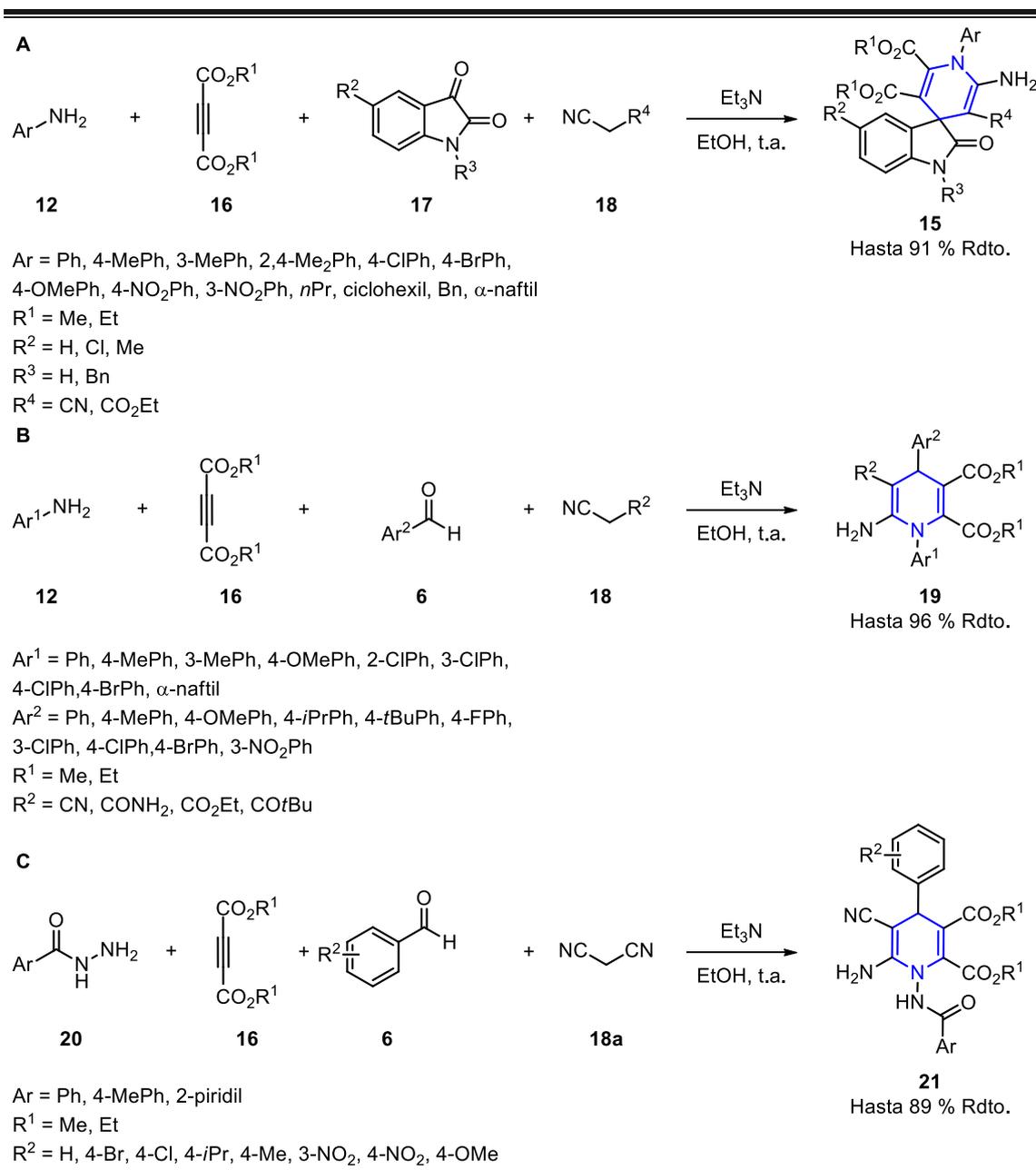
<sup>67</sup> F. Auria-Luna, E. Marqués-López, S. Mohammadi, R. Heiran, R. P. Herrera, *Molecules* **2015**, *20*, 15807-15826.

<sup>68</sup> a) K. Yoshida, T. Inokuma, K. Takasu, Y. Takemoto, *Synlett* **2010**, 1865-1869; b) K. Yoshida, T. Inokuma, K. Takasu, Y. Takemoto, *Molecules* **2010**, *15*, 8305-8326.

<sup>69</sup> N. Molleti, S. Allu, S. K. Ray, V. K. Singh, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 3241-3244.

<sup>70</sup> O. Quinero, M. Jean, N. Vanthuynne, C. Roussel, D. Bonne, T. Constantieux, C. Bressy, X. Bugaut, J. Rodríguez, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 1401-1405.

En la literatura se han encontrado varios ejemplos sobre síntesis racémicas de 1,4-DHPs con una gran diversidad estructural que pueden suponer un interesante punto de partida para nuestras investigaciones (Esquema 2.8).



**Esquema 2.8.** Resumen de los procedimientos de referencia de: A = Yan<sup>71</sup> y Perumal<sup>72</sup>; B = Yan;<sup>73</sup> C = Yan.<sup>74</sup>

<sup>71</sup> J. Sun, Q. Wu, L. Zhang, C.-G. Yan, *Chin. J. Chem.* **2012**, *30*, 1548-1554.

<sup>72</sup> S. E. Kiruthika, N. V. Lakshmi, B. R. Banu, P. T. Perumal, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 6508-6511.

<sup>73</sup> J. Sun, E.-Y. Xia, Q. Wu, C.-G. Yan, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3678-3681.

<sup>74</sup> J. Sun, G. Shen, Y. Xie, C.-G. Yan, *Chin. J. Chem.* **2014**, *32*, 1143-1150.

En estos trabajos, los derivados de 1,4-DHP (**15**, **19** y **21**) se obtienen mediante reacciones multicomponente con reactivos comunes en todas ellas como los derivados de malononitrilo **18** y de acetilendicarboxilato **16**, además de otros como las aminas primarias **12** o hidracidas **20** y los aldehídos **6** o los derivados de isatina **17**. En todos los casos, las reacciones se producen a temperatura ambiente con etanol como disolvente y son promovidas por trietilamina.



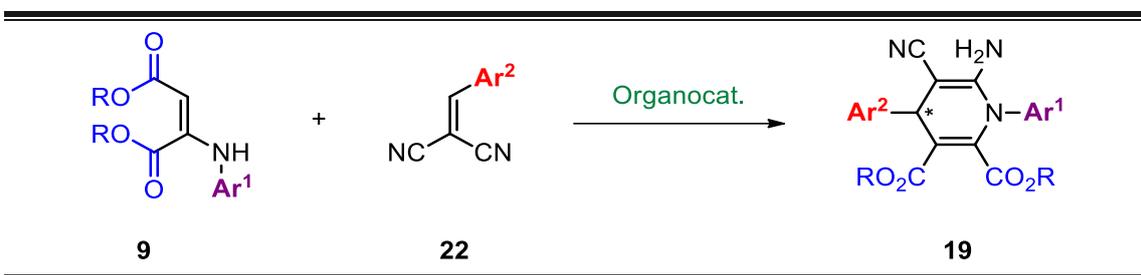
## 2.2 Síntesis asimétrica organocatalítica de derivados sustituidos de 1,4-dihidropiridina quirales<sup>75</sup>

### 2.2.1 Objetivos

El objetivo de la presente investigación es conseguir acceso de manera enantioselectiva, mediante organocatálisis, a unos productos de alto valor añadido, como son las 1,4-dihidropiridinas, buscando obtener excelentes resultados de selectividad y rendimiento. Además, se optimizará el procedimiento, teniendo presentes los principios de la química verde.

Tal y como se ha puesto de manifiesto en los antecedentes, se trata de un campo poco explorado, en el que con carácter previo al comienzo de la presente tesis en el seno del grupo de investigación se habían iniciado estudios. Así pues, el enfoque del trabajo actual parte de los resultados obtenidos anteriormente,<sup>67</sup> que a su vez se inspira en los ejemplos recogidos en la bibliografía de las síntesis racémicas de DHPs.<sup>71-74</sup> De los distintos mecanismos y aproximaciones sintéticas existentes, se optará por un procedimiento con reactivos preformados, listos para llevar a cabo el ataque enantioselectivo, utilizando organocatalizadores de activación no covalente, por medio de enlaces de hidrógeno.

Como sustratos, se utilizarán las enaminas **9** como nucleófilos y derivados de malononitrilo obtenidos por condensación con aldehídos aromáticos **22** como electrófilos (Esquema 2.9). El sistema es compatible con un mecanismo de adición de Michael y sensible a la activación por aceptores de enlace de hidrógeno, por lo que se probará un amplio rango de bases de Brønsted quirales como catalizadores.

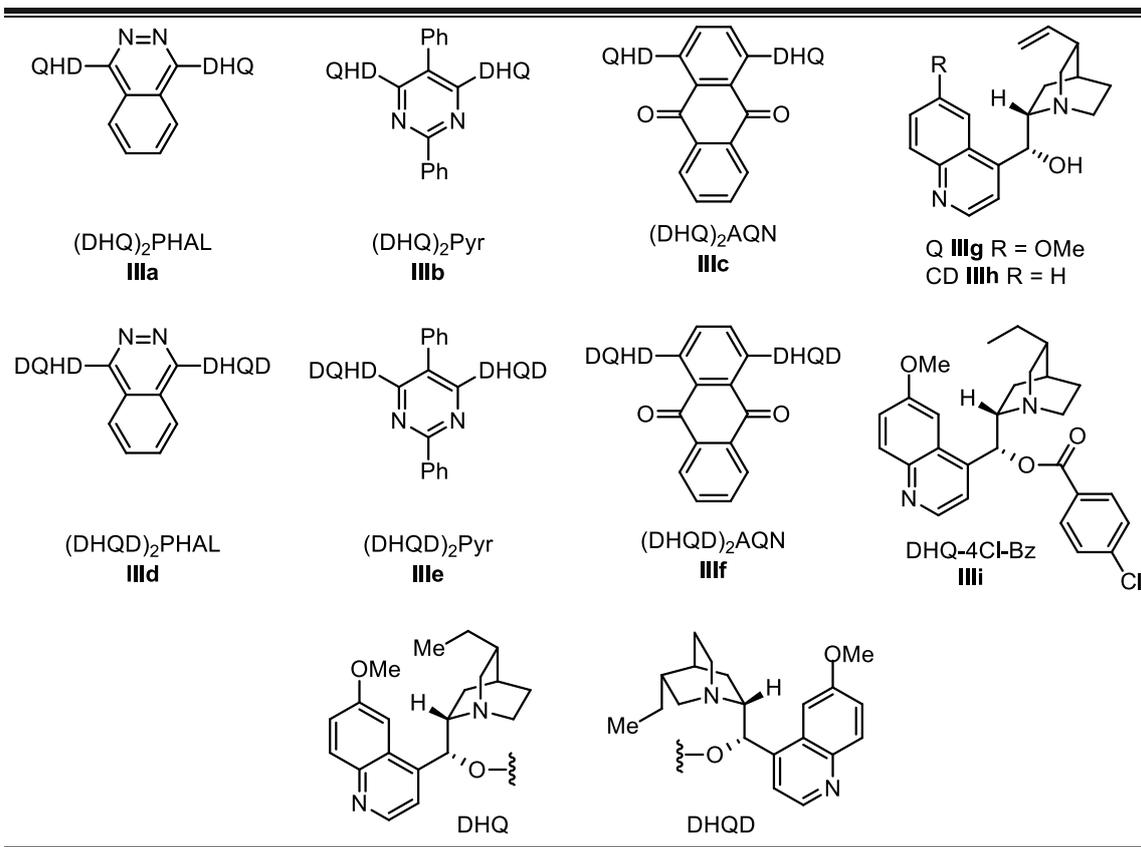


**Esquema 2.9.** Sistema a optimizar como objetivo principal de este trabajo.

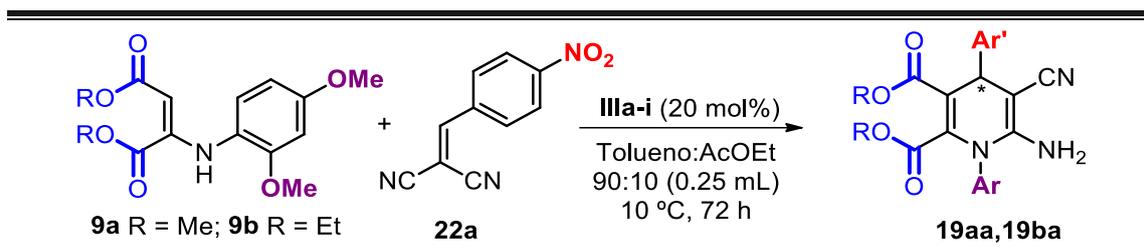
<sup>75</sup> F. Auria-Luna, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. Heiran, S. Mohammadi, R. P. Herrera, *J. Org. Chem.* **2017**, 82, 5516-5523.

## 2.2.2 Discusión de los resultados

Con idea de explorar si la hipótesis inicial de activación de la enamina mediante una base de Brønsted es posible, se ensayaron diferentes organocatalizadores básicos derivados de cinchona (Figura 2.8) en la reacción objeto de estudio, mostrada en la Tabla 2.1 y donde se recoge una selección de los resultados más importantes.



**Figura 2.8.** Organocatalizadores básicos de tipo cinchona **IIIa-i** utilizados en el estudio.

**Tabla 2.1.** Selección del catalizador para la síntesis de 1,4-DHPs **19aa** y **19ba**.<sup>a</sup>

Entrada	Catalizador	R	Rdto.	ee
			(%) <sup>b</sup>	(%) <sup>c</sup>
1	<b>IIIa</b>	Me	91	66
2	<b>IIIb</b>	Me	81	80
3	<b>IIIb</b>	Et	97	74
4	<b>IIIc</b>	Me	22	54
5	<b>III d</b>	Me	47	64
6	<b>III e</b>	Me	13	54
7	<b>III f</b>	Me	23	68
8	<b>III g</b>	Me	15	17
9	<b>III h</b>	Me	30	8
10	<b>III i</b>	Me	10	32

<sup>a</sup> Se añade el derivado de malononitrilo **22a** (0.1 mmol) a una mezcla del catalizador **IIIa-i** correspondiente (20 mol%) y la enamina **9** (0.3 mmol), en tolueno:AcOEt 90:10 (0.25 mL). <sup>b</sup> Rendimiento tras columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:AcOEt 70:30). <sup>c</sup> Determinado por HPLC quiral (Daicel Chiralpak IB, 70:30 *n*hexano:*i*PrOH, 1 mL/min).

Basados en trabajos anteriores y en la experiencia del grupo,<sup>67,71-74</sup> se inició el estudio de los diferentes catalizadores empleando una mezcla de tolueno y acetato de etilo como disolvente. El tolueno es un disolvente frecuentemente empleado en catálisis por

enlace de hidrógeno debido a que no interfiere en las interacciones catalizador:sustrato y por tanto, se espera que no disminuya los buenos valores de enantioselectividad que pueda proporcionar el catalizador; mientras que el acetato de etilo suele proporcionar buenos rendimientos por su buena capacidad de solvatación de compuestos orgánicos polares. Por otra parte, se había observado que el grupo éster de la enamina podía tener cierta influencia en los resultados, por lo que se emplearon para el estudio del catalizador dos enaminas: una con ésteres metílicos (**9a**) y otra con ésteres etílicos (**9b**). Además, conocíamos que era necesario un exceso de este sustrato para obtener buenos resultados, por lo que se comenzó añadiendo 3 equivalentes.<sup>67</sup>

Entre los catalizadores ensayados, podemos diferenciar entre derivados de cinchona clásicos **IIIg-i** y biscinchonas **IIIa-f**. Comparando datos de reactividad y enantioselectividad, las cinchonas clásicas proporcionan, en general, resultados no tan buenos como las biscinchonas (Tabla 2.1, entradas 1-7 frente a entradas 8-10). De entre estas últimas, el catalizador **IIIb** condujo a la obtención de mayores excesos enantioméricos, proporcionando además muy buenos rendimientos (Tabla 2.1, entrada 2). Comparando ahora las enaminas **9a** y **9b** puede observarse cómo, en presencia del catalizador **IIIb**, la enamina **9a** (con grupos metilo) proporciona una mejor enantioselectividad (Tabla 2.1, entrada 2), mientras que la enamina **9b** (con grupos etilo) produce un mejor rendimiento en las mismas condiciones (Tabla 2.1, entrada 3). Estos resultados parecen indicar que ambas enaminas podrían ser adecuadas para llevar a cabo el proceso catalítico y nos impide descartar una de las dos en este punto, por lo que se continuará el proceso de optimización con ambos sustratos y el catalizador **IIIb**, modificando diferentes parámetros del sistema, tales como temperatura, etc. (Tabla 2.2).

**Tabla 2.2.** Optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de 1,4-DHPs **19aa** y **19ba**.<sup>a</sup>

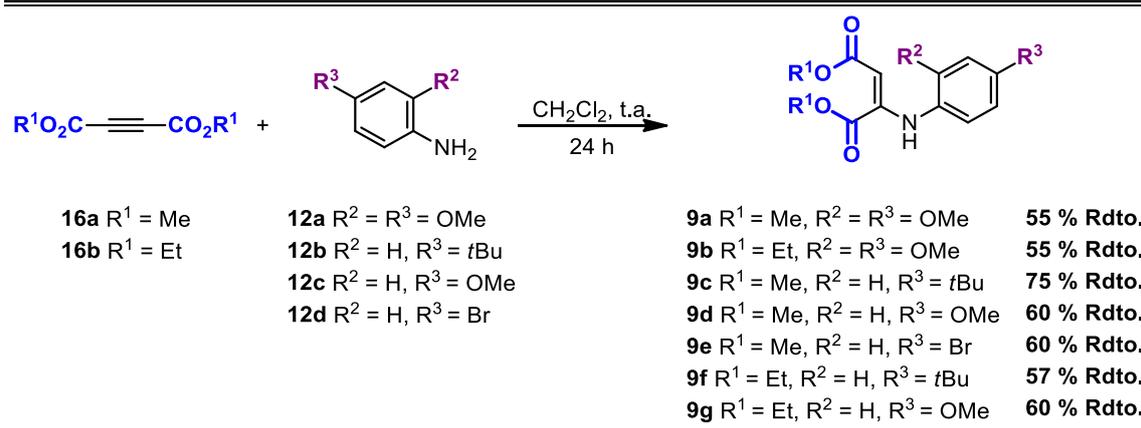
**9a** R = Me; **9b** R = Et      **22a**      **IIIb** (20 mol%)  
disolvente temperatura      **19aa, 19ba**

Entrada	Disolvente (mL)	Enamina (equiv.)	T (°C)	Tiempo (h)	Rdto. (%) <sup>b</sup>	ee (%) <sup>c</sup>
1	AcOEt (0.25)	<b>9a</b> (3)	10	72	89	64
2	Tol:AcOEt 90:10 (0.25)	<b>9a</b> (3)	10	72	81	80
3	Tol:AcOEt 95:5 (0.25)	<b>9a</b> (3)	10	72	70	80
4	Tolueno (0.25)	<b>9a</b> (3)	10	72	88	82
5	Tol:AcOEt 90:10 (0.25)	<b>9a</b> (3)	0	72	32	80
6	Tol:AcOEt 90:10 (0.25)	<b>9a</b> (3)	-18	120	<5	85
7	Tol:AcOEt 90:10 (0.5)	<b>9b</b> (2)	10	120	49	68
8	Tol:AcOEt 90:10 (0.5)	<b>9b</b> (3)	10	72	93	76
9	Tol:AcOEt 90:10 (0.5)	<b>9b</b> (4)	10	72	93	76
10	Tol:AcOEt 90:10 (0.5)	<b>9b</b> (5)	10	72	95	76
11	Tol:AcOEt 90:10 (0.25)	<b>9b</b> (3)	10	72	97	76
12	Tol:AcOEt 90:10 (0.25)	<b>9b</b> (3)	-18	72	>5	90

<sup>a</sup> Se añade el derivado de malononitrilo **22a** (0.1 mmol) a una mezcla del catalizador **IIIb** (20 mol%) y las enaminas **9** (0.3-0.5 mmol), en tolueno:AcOEt en la proporción indicada (0.25-0.5 mL). <sup>b</sup> Rendimiento tras columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:AcOEt 70:30). <sup>c</sup> Determinado por HPLC quiral (Daicel Chiralpak IB, 70:30 *n*hexano:*i*PrOH, 1 mL/min).

La sensibilidad del sistema a la polaridad del disolvente puede observarse al variar la relación tolueno:AcOEt en las entradas 1-4. Los resultados obtenidos parecen indicar que las dos opciones, tolueno:AcOEt 90:10 y tolueno puro (Tabla 2.2, entradas 2 y 4) son adecuadas para la reacción; el 10 % de acetato de etilo de la primera opción parece ayudar a obtener mejores rendimientos manteniendo la enantioselectividad, por lo que se prosiguió con ambas para comprobar el alcance del procedimiento. Al emplear temperaturas más bajas, 0 y  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  para tratar de mejorar la selectividad se observó que, efectivamente, se producía el efecto deseado, pero a costa una disminución de la reactividad (Tabla 2.2, entradas 5, 6 y 12), por lo que se mantuvo la temperatura óptima en  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Modificaciones en la concentración del sistema no pareció influir en los resultados obtenidos (Tabla 2.2, entradas 8 y 11), por lo que se continuó utilizando la mínima cantidad de disolvente posible 0.25 mL. Por otro lado, el uso de distintos equivalentes de enamina **9b** influyó significativamente en los resultados obtenidos, más allá de los 3 equivalentes (Tabla 2.2, entradas 8-10) no se obtuvo ninguna mejora. Por el contrario, al utilizar 2 equivalentes de **9b** (Tabla 2.2, entrada 7) se produjo una disminución de la velocidad de reacción y de la enantioselectividad, por lo que se mantuvo la relación 1:3 de derivado de malononitrilo con respecto a la enamina. En resumen, ni la concentración del sistema ni el aumento de la cantidad de enamina **9** por encima de 3 equivalentes parecen afectar a los resultados. Sin embargo, parece que es necesario saturar el catalizador con una cantidad suficiente de ésta para obtener los mejores resultados. Además, el límite al que podemos bajar la temperatura del sistema para mejorar la selectividad del proceso, sin comprometer la reactividad, es  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Por último, son dos las opciones en cuanto a los disolventes óptimos (Tol:AcOEt 90:10 y tolueno).

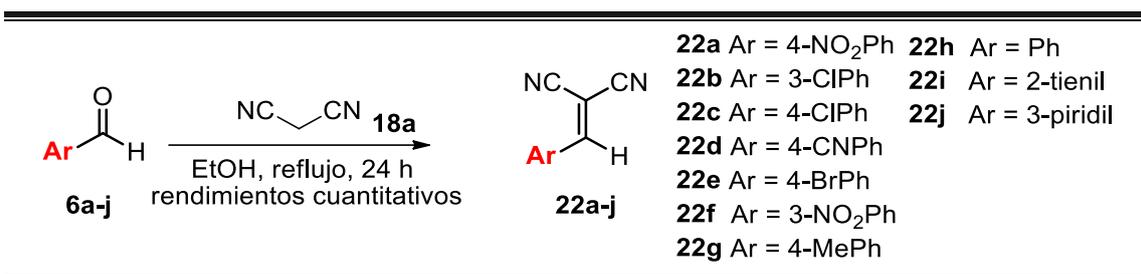
Así pues, con objeto de comprobar la validez y versatilidad de este sistema catalítico se llevó a cabo la preparación de una amplia variedad de sustratos. Inicialmente, se acometió la síntesis de las enaminas **9a-g** según el Esquema 2.10.



**Esquema 2.10.** Síntesis de los derivados de enamina **9**.

La reacción entre los derivados de acetilendicarboxilato **16** y las anilinas **12** produce los rendimientos moderados (55-75 %) mostrados en el Esquema 2.10.

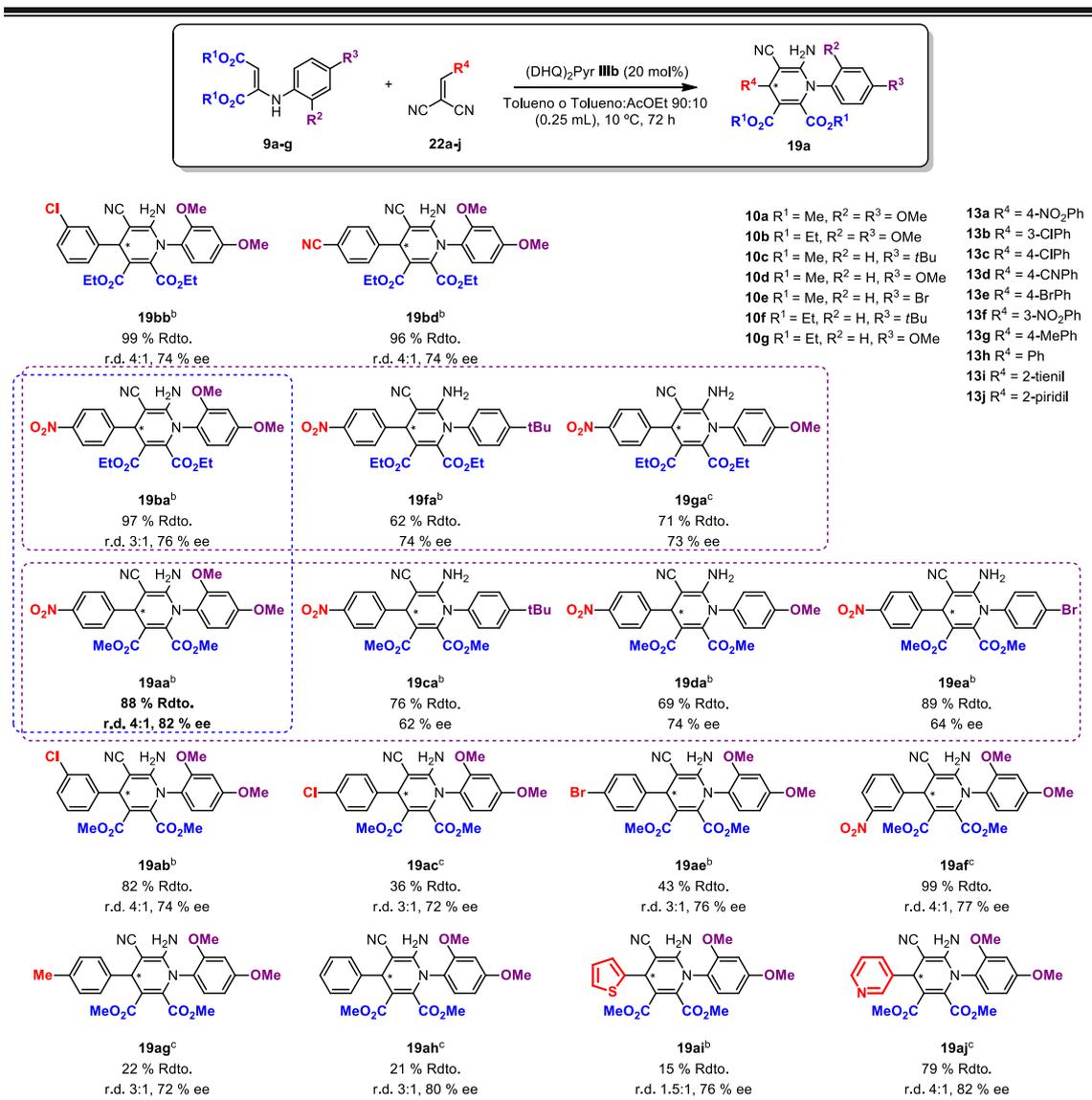
A continuación, se llevó a cabo la síntesis de los derivados de alquilidenmalononitrilo **22a-j** (Esquema 2.11).



**Esquema 2.11.** Síntesis de los derivados de alquilidenmalononitrilo **22**.

La síntesis de los derivados de alquilidenmalononitrilo **22** se produjo sin problema y con rendimientos cuantitativos en todos los casos, tras una filtración del sólido resultante.

Una vez se tuvieron los reactivos de partida listos, se estudió su empleo en la reacción bajo las condiciones optimizadas que se han descrito más arriba (Esquema 2.12).



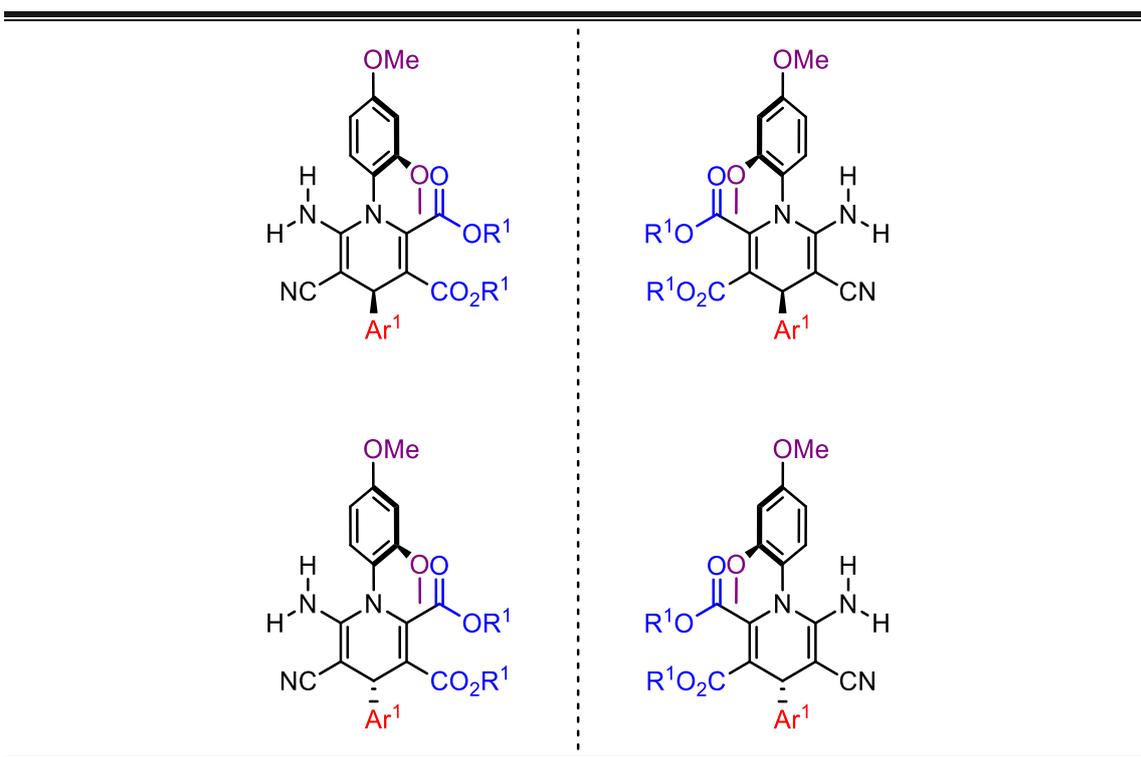
**Esquema 2.12.** Extensión y aplicabilidad del método para la síntesis de 1,4-DHPs **19**. <sup>a</sup> Reacciones purificadas mediante columna cromatográfica. <sup>b</sup> Reacciones en tolueno (0.25 mL) como disolvente. <sup>c</sup> Reacciones en tolueno:AcOEt 90:10 (0.25 mL) como disolvente.

En general, se obtuvieron excelentes rendimientos de hasta el 99 % y buenas enantioselectividades de hasta un 82 %. La influencia de las distintas enaminas puede darse como consecuencia de sus diferentes propiedades estereoelectrónicas al suponer éstas cambios en la fortaleza de las interacciones de enlace de hidrógeno con el catalizador y en la geometría que adoptan en el estado de transición. Aunque no se observa una correlación clara entre la electrónica de las moléculas y los resultados obtenidos, los mejores valores de exceso enantiomérico y rendimiento se producen al utilizar los derivados sustituidos en posición 2,4 con dos grupos metoxilo (comparar **19ba-19fa-19ga** y **19aa-19ca-19da-19ea**, Esquema 2.12). Como se comentó

anteriormente, existen pequeñas diferencias entre las enaminas con ésteres de metilo y etilo (comparar **19aa-19ba**; **19ca-19fa**; **19da-19ga** y **19ab-19bb**, Esquema 2.12).

En cuanto a los derivados de malononitrilo **22**, puede verse como, de manera general, los procedentes de aldehídos activados (con sustituyentes electroattractores) producen mejores rendimientos que aquellos procedentes de aldehídos desactivados (con sustituyentes electrodonores) (ver **19ag-ai**, Esquema 2.12). Además, entre aquellos con la misma sustitución, pero en diferente posición (*para* o *meta*), la sustitución en *meta* da lugar a mejores rendimientos (comparar **19af-19aa** y **19ab-19ac**, Esquema 2.12).

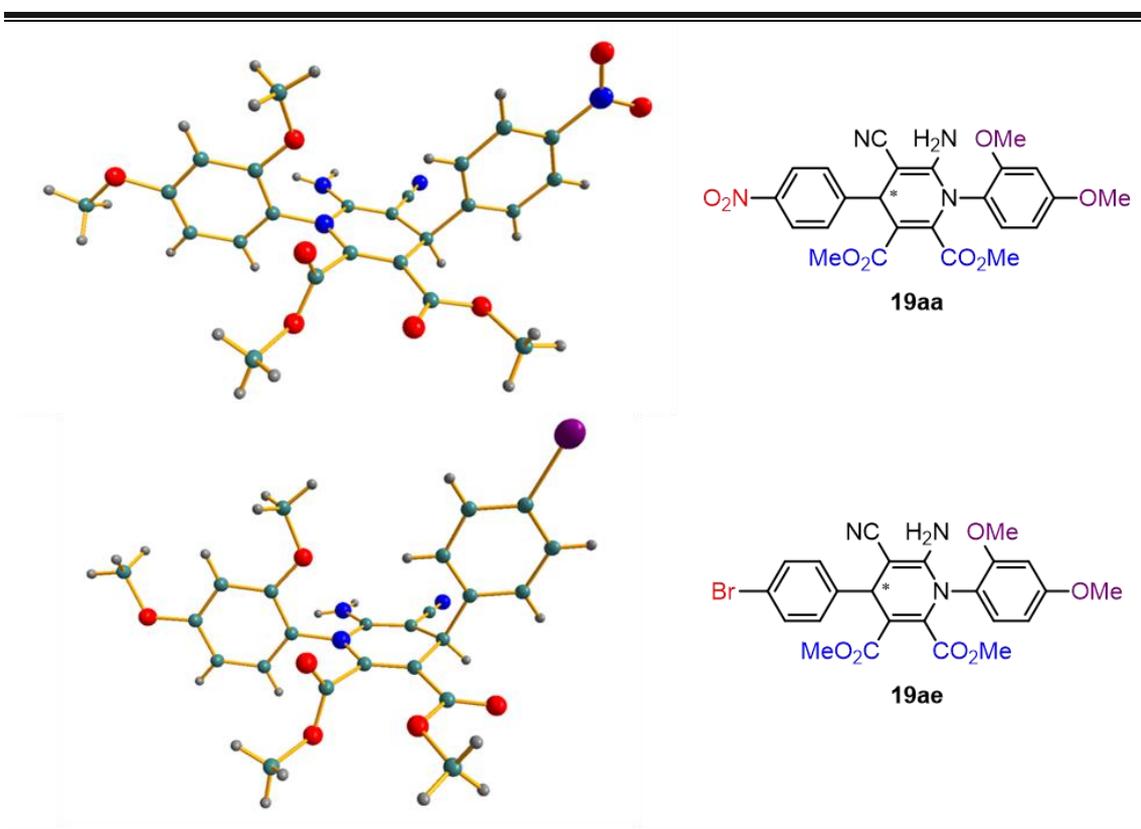
Puede observarse cómo en diversos productos se indica una relación diastereomérica (r.d.). Estos compuestos son los sintetizados a partir de las enaminas **9a** y **9b**. Estas enaminas presentan una sustitución 2,4-metoxilo en el anillo aromático. Este hecho produce una restricción estérica en su rotación dando lugar a quiralidad de tipo axial en el eje C-N y a la obtención de los correspondientes productos como mezclas de diastereómeros (Figura 2.9).<sup>76</sup>



**Figura 2.9.** Parejas de diastereoisómeros obtenidas por la restricción rotacional en los productos derivados de las enaminas doblemente sustituidas con grupos metoxilo en el anillo de fenilo.

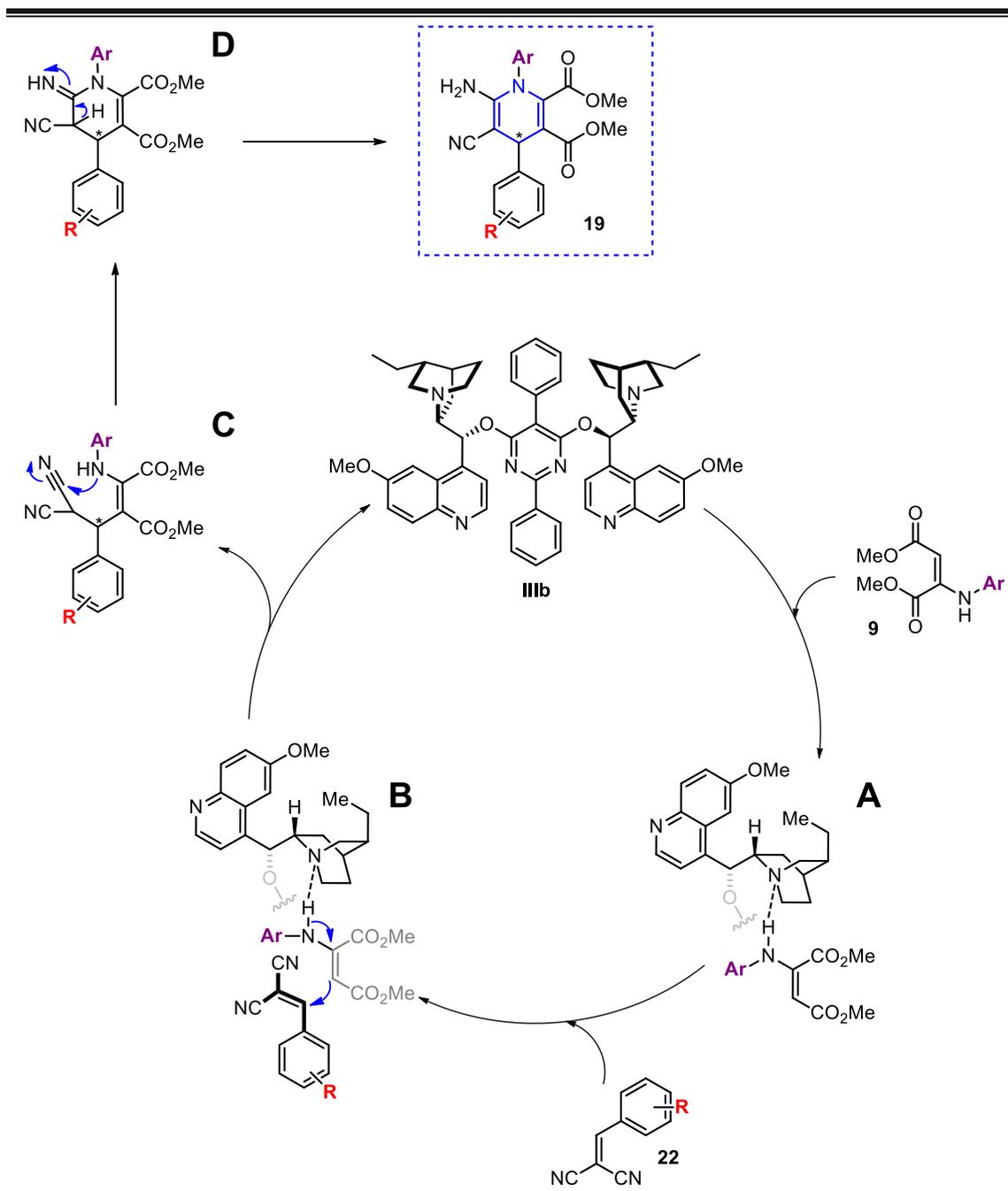
<sup>76</sup> Z. Yang, Y. Huo, Y. Liu, G. Du, W. Zhang, L. Zhou, L. Zhan, X. Ren, W. Duan, S. Gong, *RSC Adv.* **2019**, *9*, 32219-32225.

La gran complejidad estructural y la alta funcionalización de los productos pueden confirmarse mediante el análisis de rayos X de monocristal de los compuestos **19aa** y **19ae** (Figura 2.10). Además, puede verse con suma claridad la restricción en la rotación mencionada anteriormente e ilustrada en la Figura 2.9.



**Figura 2.10.** Estructuras de rayos X de estereoisómeros de los productos **19aa** y **19ae**.

Basados en la literatura existente sobre la síntesis de estos compuestos y en nuestro trabajo previo,<sup>67</sup> se propone el mecanismo de reacción representado en el Esquema 2.13.



**Esquema 2.13.** Propuesta sobre el mecanismo de reacción.

En dicha propuesta, el catalizador participaría activando la enamina y promoviendo el ataque nucleofílico al derivado de alquilidienmalononitrilo, basándonos en que la trietilamina es capaz de activar la reacción en su versión racémica. Debido a su mayor tamaño, los modos de activación por parte de los catalizadores de tipo bisquinona se alejan de aquellos propuestos para las cinchoninas convencionales. El mayor entorno estérico generado por los primeros cumple una función más relevante en la inducción de estereoselectividad, produciendo que se asemejen más al comportamiento de las

enzimas.<sup>77</sup> En este caso, una de las quinuclidinas acomodaría la enamina **9** y el otro brazo de la biscinchona **IIIb** se situaría ejerciendo el impedimento estérico, creando así un bolsillo catalítico y forzando el ataque selectivo de la enamina sobre una de las caras del derivado de malononitrilo **22** (Esquema 2.13, **B**). Tras tener lugar la adición sobre el sistema Michael del electrófilo, se produciría el cierre del anillo de dihidropiridina mediante una adición intramolecular del NH sobre uno de los grupos nitrilo (Esquema 2.13, **C**), seguido por una tautomerización imina-enamina (Esquema 2.13, **D**).

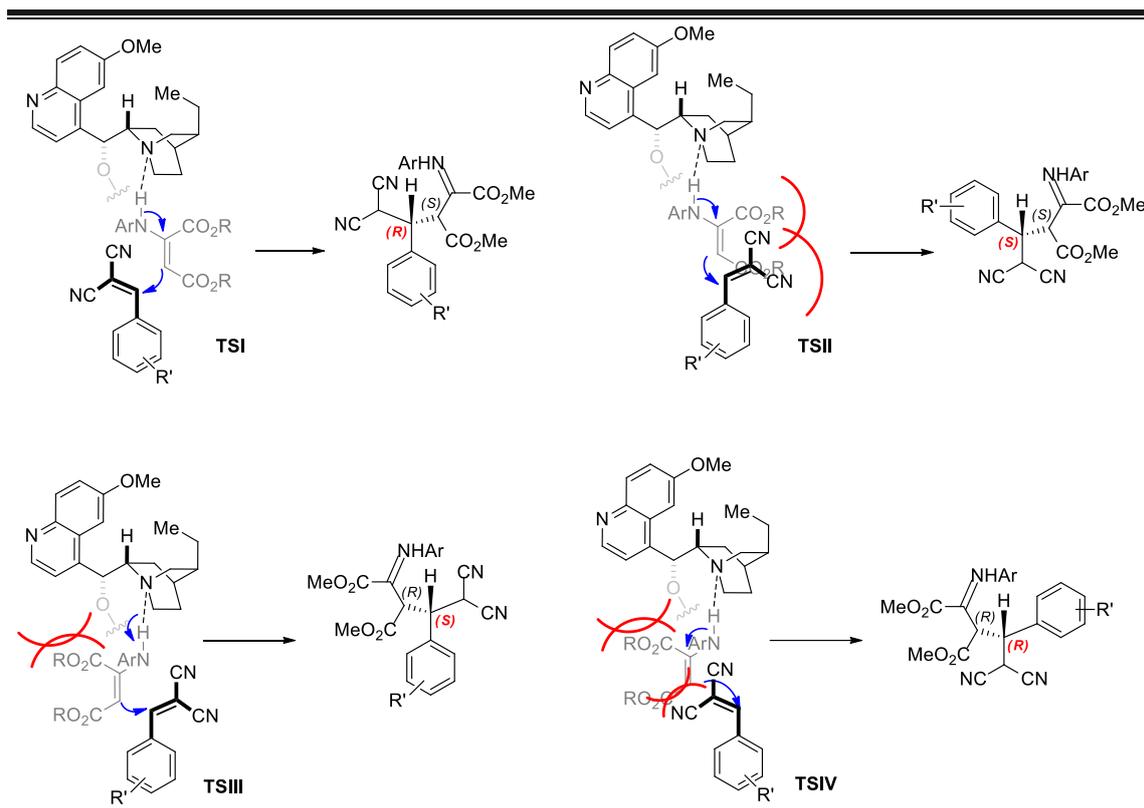
Hasta la fecha, no se ha conseguido un cristal viable para el cálculo de la configuración absoluta de los compuestos obtenidos. Este hecho, combinado con la dificultad para realizar cálculos computacionales sobre el sistema por el enorme tamaño del mismo, hace que por el momento no se haya podido apoyar con dichos estudios el mecanismo de reacción propuesto.

Una posible explicación a la configuración absoluta del estereocentro en los productos **19** se presenta en la Figura 2.11. Esta propuesta se basa en nuestra hipótesis sobre el mecanismo y en el modo de acción de los organocatalizadores derivados de cinchona.<sup>78</sup>

---

<sup>77</sup> a) E. J. Corey, M. C. Noe, S. Sarshar, *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 2861-2864; b) E. J. Corey, M. C. Noe, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 319-329.

<sup>78</sup> *Cinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis* (Ed. C. E. Song), Wiley-VCH: Weinheim, **2009**.



**Figura 2.11.** Propuesta de los **TSI-TSIV** para aportar la configuración absoluta.

La formación de estos cuatro estados de transición (Figura 2.11) es crucial para determinar la configuración absoluta de los productos finales **19**, ya que el centro quiral se genera en este paso. El segundo centro quiral se pierde posteriormente cuando se genera la enamina (Esquema 2.13). De esta manera, el estereocentro que termina apareciendo al final del ciclo es el marcado en rojo. Teniendo en cuenta las diferentes aproximaciones y el impedimento estérico en el momento del ataque, resulta razonable pensar que **TSI** sería el más estable. La biscinchona **IIIb** es una estructura compleja y el impedimento estérico es, probablemente, un factor importante para el control de la enantioselectividad en la reacción. El **TSI** tiene la disposición con menor impedimento entre los tres compuestos por lo que, el enantiómero mayoritario sería el *R*.

### 2.2.3 Conclusiones

El presente trabajo constituye uno de los escasos ejemplos para la síntesis asimétrica catalítica de 1,4-dihidropiridinas enantioméricamente enriquecidas. En resumen, se ha desarrollado una aproximación catalítica enantioselectiva pionera para la síntesis de una gran variedad de 1,4-dihidropiridinas **19**, bajo condiciones suaves y simples de reacción. La biscinchona **IIIb** usada como catalizador ha conducido a la obtención de muy buenos resultados de rendimiento y selectividad. En la actualidad se está trabajando en obtener más información para una mejor comprensión sobre el mecanismo de reacción y sobre las posibles propiedades de los productos finales.

## 2.2.4 Parte experimental

### Procedimientos experimentales generales e instrumentación

La purificación de los productos de reacción se realiza mediante columna cromatográfica usando silica gel (0.063-0.200 mm). La cromatografía de capa fina para el seguimiento de las reacciones se realizó en placas de silica gel 60-F de 0.25 mm. Las medidas de espectrometría de masas de alta resolución se realizaron con el método de ionización ESI, en un instrumento de tipo MicroTof-Q. Los cromatogramas de HPLC se recogieron en un HPLC analítico Waters (Delta 600, 2996 *Photodiode Array Detector*). Los espectros de IR se registraron en un espectrómetro PerkinElmer Spectrum 100 FT-IR. Las medidas de rotación óptica se tomaron en un polarímetro digital JASCO DIP-370. La espectroscopía de RMN se realizó en un espectrómetro Bruker AVANCE-II. Los espectros de <sup>1</sup>H-RMN se recogieron a 300 y 400 MHz y los de <sup>13</sup>C-APT-RMN a 75 MHz, usando CDCl<sub>3</sub> y DMSO-*d*<sub>6</sub> como disolventes. Los desplazamientos químicos se describen en la escala  $\delta$  relativa a los picos residuales de CHCl<sub>3</sub> (7.26 ppm) y DMSO (2.50 ppm) para <sup>1</sup>H-RMN y a la línea central de CDCl<sub>3</sub> (77 ppm) y DMSO-*d*<sub>6</sub> (39.43 ppm) para <sup>13</sup>C-APT-RMN. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Gallenkamp MDP350 sin corrección.

Todos los reactivos y disolventes de origen comercial se usaron como son suministrados.

### Datos

Los datos espectroscópicos de las enaminas **19**<sup>67, 79, 80</sup> y los derivados de malononitrilo **22**<sup>81</sup> son consistentes con los valores que aparecen en la literatura. Para ver los cromatogramas de HPLC de los productos **19**, consultar la información suplementaria.

<sup>79</sup> S. V. Efimova, A. B. Korzhenevskii, O. I. Koifman, *Russian J. Gen. Chem.* **2008**, *78*, 1614-1621.

<sup>80</sup> G. Choudhary, R. K. Peddinti, *Green Chem.* **2011**, *13*, 3290-3299.

<sup>81</sup> a) G. Postole, B. Chowdhury, B. Karmakar, K. Pinki, J. Banerji, A. Auroux, *J. Catal.* **2010**, *269*, 110-121; b) M. Hosseini-Sarvari, H. Sharghi, S. Etemad, *Chin. J. Chem.* **2007**, *25*, 1563-1567; c) G. B. Kharas, E. Hanawa, J. Lachenberg, B. Brozek, P. Miramon, A. C. Mojica, A. C. Colbert, B. T. Crowell, A. Madison, A. P. Martinez, *J. Macromol. Sci. A* **2008**, *45*, 420-424; d) K. Yamashita, T. Tanaka, M. Hayashi, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 7981-7985; e) A.-G. Ying, L.-M. Wang, L.-L. Wang, X.-Z. Chen, W.-D. Ye, *J. Chem. Res.* **2010**, *34*, 30-33.

### Procedimiento general para la síntesis de los derivados de alquilidenmalononitrilo 13

Se disuelve 1 mmol de malononitrilo **18a** (66.06 mg) en 5 mL de EtOH. A continuación, se adiciona 1 mmol del aldehído **6** correspondiente y se deja agitando a reflujo durante 24 h. Tras esto, aparece un precipitado. Se enfría la mezcla a temperatura ambiente y se filtra el sólido, lavándolo posteriormente con EtOH frío, para producir el correspondiente aducto **22**.

### Procedimiento general para la síntesis de las enaminas **9**

Se disuelven 10 mmol de la correspondiente anilina **12** en 40 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. A continuación, se adicionan 5 mmol del derivado de acetilendicarboxilato correspondiente **16** gota a gota debido a las características exotérmicas de la reacción. El matraz de reacción se cubre con papel de aluminio para prevenir la descomposición del derivado de acetilendicarboxilato **16** y se deja agitando a temperatura ambiente durante 24 h. Tras esto, se elimina el disolvente a vacío en un rotavapor y el crudo resultante se purifica por columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:AcOEt 95:5), obteniéndose así el correspondiente aducto **9**.

#### 2-(2,4-Dimetoxifenilamino)maleato de dimetilo (**9a**)

Siguiendo nuestro procedimiento desarrollado con anterioridad,<sup>67</sup> el compuesto **9a** se obtuvo como un aceite amarillo con un 55 % de rendimiento. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.69 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 5.30 (s, 1H), 6.38 (dd, *J* = 8.6 Hz, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.46 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.76 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 9.52 (s a, 1H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 50.9 (1C), 52.4 (1C), 55.3 (1C), 55.4 (1C), 90.5 (1C), 99.1 (1C), 103.7 (1C), 121.8 (1C), 122.6 (1C), 148.6 (1C), 152.1 (1C), 157.4 (1C), 164.5 (1C), 170.0 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3294, 3007, 2983, 2951, 2930, 2832, 1741, 1673, 1604, 1588, 1518, 1463, 1450, 1435, 1413, 1392, 1331, 1278, 1203, 1147, 1121, 1036, 1027, 977, 828, 798, 775, 635. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>NNaO<sub>6</sub> 318.0948; encontrado 318.0947 [M+Na].

### Procedimiento general para la síntesis de las 1,4-dihidropiridinas **19**

A una mezcla del catalizador **IIIb** (20 mol%, 18.17 mg) y la enamina **9** (0.3 mmol), en tolueno:AcOEt 90:10 o tolueno (0.25 mL), se adiciona el derivado de malononitrilo **22** (0.1 mmol). La reacción se deja agitando durante 3 días a 10 °C.

Después, el disolvente se evapora a vacío y el crudo de reacción se purifica por columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), obteniéndose así el correspondiente aducto quiral final **19**.

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19aa)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19aa** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 88 % de rendimiento (43.5 mg). P.f. >98 °C desc. El ee del producto resultó ser 82 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 254.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 24.0$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 13.1$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = +55.4$  ( $c = 0.27$ , CHCl<sub>3</sub>, 82 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.33 (s, 0.6H), 3.37 (s, 2.4H), 3.48 (s, 0.6H), 3.49 (s, 2.4H), 3.82 (s, 3.6H), 3.90 (s, 2.4H), 4.62 (s, 0.8H), 4.65 (s, 0.2H), 5.70 (s a, 2H), 6.54-6.57 (m, 0.8H), 6.57-6.59 (m, 0.2H), 6.69 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.2H), 6.72 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.8H), 7.14 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.8H), 7.24 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.2H), 7.53-7.59 (m, 0.4H), 7.64-7.70 (m, 1.6H), 8.25-8.30 (m, 0.4H), 8.29-8.34 (m, 1.6H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  39.0 (1C), 51.8 (1C), 52.3 (1C), 55.5 (1C), 56.2 (1C), 58.1 (1C), 99.1 (1C), 102.7 (1C), 105.0 (1C), 115.7 (1C), 120.6 (1C), 123.8 (2C), 128.2 (2C), 132.2 (1C), 143.4 (1C), 146.4 (1C), 151.2 (1C), 153.1 (1C), 157.7 (1C), 161.8 (1C), 162.6 (1C), 164.6 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3452, 3345, 3000, 2948, 2841, 2180, 1743, 1705, 1646, 1610, 1568, 1508, 1486, 1454, 1435, 1415, 1354, 1335, 1312, 1285, 1261, 1208, 1163, 1110, 1054, 1027, 1009, 973, 933, 865, 834, 804, 778, 764, 730. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>8</sub> 517.1330; encontrado 517.1302 [M+Na].

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (19ba)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ba** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 97 % de rendimiento (50.7 mg). P.f. 124-126 °C. El ee del producto resultó ser 76 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 276.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 27.2$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 16.5$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +52.5$  ( $c = 0.26$ , CHCl<sub>3</sub>, 76 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  0.88 (t,  $J = 7.2$  Hz, 0.75H), 0.89 (t,  $J = 7.2$  Hz, 2.25H),

1.02 (t,  $J = 7.1$  Hz, 0.75H), 1.03 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2.25H), 3.81 (s, 3.75H), 3.72-3.97 (m, 4H), 3.91 (s, 2.25H), 4.62 (s, 0.75H), 4.65 (s, 0.25H), 5.68 (s a, 2H), 6.54-6.58 (m, 0.75H), 6.58-6.62 (m, 0.25H), 6.68 (d,  $J = 2.5$  Hz, 0.25H), 6.71 (d,  $J = 2.1$  Hz, 0.75H), 7.14 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.75H), 7.25 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.25H), 7.55-7.60 (m, 0.5H), 7.65-7.72 (m, 1.5H), 8.24-8.30 (m, 0.5H), 8.29-8.35 (m, 1.5H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.2 (1C), 13.6 (1C), 39.1 (1C), 55.6 (1C), 56.2 (1C), 58.0 (1C), 60.3 (1C), 61.2 (1C), 99.1 (1C), 102.7 (1C), 105.0 (1C), 115.7 (1C), 120.7 (1C), 123.7 (2C), 128.4 (2C), 132.5 (1C), 143.2 (1C), 146.4 (1C), 151.3 (1C), 153.3 (1C), 157.8 (1C), 161.9 (1C), 162.0 (1C), 164.1 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3461, 3346, 3185, 2983, 2937, 2842, 2181, 1738, 1700, 1646, 1605, 1568, 1508, 1463, 1418, 1391, 1369, 1343, 1309, 1285, 1260, 1206, 1162, 1105, 1054, 1024, 935, 922, 858, 821, 729, 708. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{N}_4\text{O}_8$  521.1667; encontrado 521.1645 [M-H].

**6-Amino-1-(4-*terc*-butilfenil)-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ca)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ca** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 76 % de rendimiento (37.3 mg). P.f. >104 °C desc. El ee del producto resultó ser 62 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 10.0$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 7.7$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{27} = +75.3$  ( $c = 0.24$ ,  $\text{CHCl}_3$ , 62 % ee).  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1.31 (s, 9H), 3.31 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 4.67 (s, 1H), 5.75 (s a, 2H), 7.26 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.52 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.58 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.30 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  30.8 (3C), 34.5 (1C), 38.6 (1C), 51.9 (1C), 52.2 (1C), 58.5 (1C), 103.2 (1C), 109.4 (1C), 120.5 (1C), 124.2 (2C), 126.2 (2C), 127.8 (2C), 129.6 (2C), 132.3 (1C), 142.7 (1C), 146.4 (1C), 151.1 (1C), 152.5 (1C), 162.6 (1C), 164.6 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3471, 3357, 2953, 2850, 2183, 1746, 1708, 1648, 1605, 1569, 1519, 1461, 1417, 1344, 1222, 1108, 1054, 1014, 973, 931, 875, 860, 819, 728. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_6$  491.1925; encontrado 491.1898 [M+H].

**6-Amino-5-ciano-1-(4-metoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19da)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19da** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 69 % de rendimiento (32 mg). P.f. 153-155 °C. El ee del producto resultó ser 74 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 20.1$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 14.3$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +34.5$  ( $c = 0.26$ , CHCl<sub>3</sub>, 74 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.38 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 4.66 (s, 1H), 5.76 (s a, 2H), 7.03 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 7.28 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 7.58 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.29 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  38.6 (1C), 51.9 (1C), 52.3 (1C), 55.4 (1C), 58.1 (1C), 102.8 (1C), 114.6 (2C), 120.5 (1C), 124.1 (2C), 127.1 (1C), 127.9 (2C), 131.4 (2C), 142.9 (1C), 146.4 (1C), 151.3 (1C), 152.7 (1C), 159.9 (1C), 162.6 (1C), 164.6 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3458, 3354, 3215, 2954, 2841, 2181, 2120, 1742, 1707, 1648, 1605, 1567, 1508, 1457, 1432, 1414, 1345, 1302, 1246, 1221, 1181, 1106, 1056, 1024, 972, 930, 874, 860, 820, 806, 747, 728, 713. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 465.1405; encontrado 465.1391 [M+H].

**6-Amino-1-(4-bromofenil)-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ea)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ea** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 89 % de rendimiento (45.7 mg). P.f. >80 °C desc. El ee del producto resultó ser 64 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 17.0$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 13.4$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{27} = -4.3$  ( $c = 0.20$ , CHCl<sub>3</sub>, 64 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.40 (s, 3H), 3.52 (s, 3H), 4.67 (s, 1H), 5.94 (s a, 2H), 7.32 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.58 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 7.71 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 8.29 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  38.7 (1C), 52.0 (1C), 52.5 (1C), 58.4 (1C), 103.5 (1C), 120.4 (1C), 123.5 (1C), 124.2 (2C), 128.0 (2C), 132.4 (2C), 132.6 (2C), 134.4 (1C), 142.2 (1C), 146.5 (1C), 150.8 (1C), 152.5 (1C), 162.6 (1C), 164.6 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3336, 3110, 2955, 2918, 2849, 2217, 1731, 1592, 1560, 1521, 1488, 1436, 1398, 1346, 1240, 1160, 1106, 1071, 1010, 975, 851, 823, 785, 741, 720. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>BrN<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 513.0404; encontrado 513.0364 [M+H].

**6-Amino-1-(4-*tert*-butilfenil)-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (19fa)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19fa** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 62 % de rendimiento (32.2 mg). P.f. 137-140 °C. El ee del producto resultó ser 74 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 254.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 11.1$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 8.1$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{27} = +64.5$  ( $c = 0.24$ , CHCl<sub>3</sub>, 74 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  0.72 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.03 (t,  $J = 7.1$ , 3H), 1.3 (s, 9H), 3.67-3.88 (m, 2H), 3.96 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.68 (s, 1H), 5.73 (s a, 2H), 7.28 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.52 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.59 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.30 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.9 (1C), 13.6 (1C), 30.8 (3C), 34.5 (1C), 38.8 (1C), 58.3 (1C), 60.5 (1C), 61.3 (1C), 103.2 (1C), 120.5 (1C), 124.1 (2C), 126.2 (2C), 128.1 (2C), 129.9 (2C), 132.3 (1C), 142.5 (1C), 146.4 (1C), 151.1 (1C), 152.6 (1C), 152.7 (1C), 162.0 (1C), 164.1 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3476, 3313, 3213, 2961, 2937, 2905, 2866, 2185, 1741, 1699, 1650, 1595, 1569, 1520, 1504, 1477, 1464, 1447, 1392, 1369, 1344, 1269, 1244, 1217, 1200, 1173, 1149, 1103, 1057, 1034, 1011, 956, 905, 855, 843, 818, 743, 728. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>28</sub>H<sub>31</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 519.2238; encontrado 519.2235 [M+H].

**6-Amino-5-ciano-1-(4-metoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (19ga)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ga** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 71 % de rendimiento (35.0 mg). P.f. 138-141 °C. El ee del producto resultó ser 73 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 236.4$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 29.4$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 20.2$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +43.0$  ( $c = 0.26$ , CHCl<sub>3</sub>, 60 %). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  0.89 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.03 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.74-3.99 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 4.67 (s, 1H), 5.74 (s a, 2H), 7.03 (d,  $J = 9.0$  Hz, 2H), 7.29 (d,  $J = 8.9$  Hz, 2H), 7.58 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 8.29 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  13.1 (1C), 13.6 (1C), 38.8 (1C), 55.5 (1C), 58.0 (1C), 60.5 (1C), 61.4 (1C), 102.9 (1C), 114.6 (2C), 120.6 (1C), 124.1 (2C), 127.2 (1C), 128.1 (2C), 131.7 (2C), 142.7 (1C), 146.4 (1C), 151.3 (1C), 152.9 (1C), 160.1 (1C), 162.0 (1C), 164.1 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3452, 3314, 3214, 3076, 2958, 2919, 2850, 2178, 1741, 1706, 1693, 1648, 1596, 1568, 1522, 1506, 1462, 1424, 1390, 1370, 1345, 1298, 1253, 1217, 1200, 1170,

1151, 1104, 1058, 1011, 963, 907, 852, 821, 784, 763, 746, 728. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{25}H_{25}N_4O_7$  493.1718; encontrado 493.1703 [M+H].

**6-Amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ab)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ab** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 82 % de rendimiento (39.7 mg). P.f. 102-106 °C. El ee del producto resultó ser 74 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 19.0$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 9.3$  min.  $[\alpha]_D^{22} = -4.7$  ( $c = 0.21$ ,  $CHCl_3$ , 74 % ee).  $^1H$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.32 (s, 0.6H), 3.36 (s, 2.4H), 3.50 (s, 0.6H), 3.51 (s, 2.4H), 3.80 (s, 0.6H), 3.81 (s, 3H), 3.89 (s, 2.4 H), 4.46 (s, 0.8H), 4.50 (s, 0.2H), 5.62 (s a, 2H), 6.55-6.59 (m, 0.8H), 6.57-6.62 (m, 0.2H), 6.68 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.2H), 6.71 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.8H), 7.11 (d,  $J = 8.6$  Hz, 0.2H), 7.12 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.8H), 7.23-7.47 (m, 4H).  $^{13}C$ -APT-RMN (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  38.8 (1C), 51.7 (1C), 52.2 (1C), 55.5 (1C), 56.0 (1C), 58.7 (1C), 99.2 (1C), 103.0 (1C), 105.0 (1C), 115.7 (1C), 120.8 (1C), 126.0 (1C), 126.8 (1C), 127.0 (1C), 130.1 (1C), 132.2 (1C), 133.1 (1C), 142.9 (1C), 148.4 (1C), 151.0 (1C), 157.7 (1C), 161.7 (1C), 162.7 (1C), 164.8 (1C). IR (puro) ( $cm^{-1}$ )  $\nu$  3465, 3346, 3221, 3004, 2950, 2842, 2180, 1743, 1705, 1645, 1609, 1568, 1508, 1468, 1432, 1414, 1355, 1335, 1310, 1285, 1260, 1208, 1162, 1112, 1078, 1055, 1026, 972, 934, 829, 806, 777, 767, 730, 709. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{24}H_{21}ClN_3O_6$  482.1113; encontrado 482.1100 [M-H].

**6-Amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (19bb)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19bb** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 98 % de rendimiento (50.2 mg). P.f. 75-78 °C. El ee del producto resultó ser 74 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 254.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 24.8$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 11.5$  min.  $[\alpha]_D^{27} = -8.5$  ( $c = 0.29$ ,  $CHCl_3$ , 74 % ee).  $^1H$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.88 (t,  $J = 7.1$  Hz, 0.6H), 0.89 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2.4H), 1.03 (t,  $J = 7.0$  Hz, 0.6H), 1.05 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2.4H), 3.81 (s, 3.6H), 3.71-4.02 (m, 4H), 3.91 (s, 2.4H),

4.47 (s, 0.8H), 4.51 (s, 0.2H), 5.60 (s a, 2H), 6.55-6.59 (m, 0.8H), 6.57-6.62 (m, 0.2H), 6.68 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.2H), 6.72 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.8H), 7.12 (d,  $J = 8.6$  Hz, 0.2H), 7.13 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.8H), 7.27-7.47 (m, 4H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  13.2 (1C), 13.6 (1C), 38.9 (1C), 55.6 (1C), 56.0 (1C), 58.6 (1C), 60.3 (1C), 61.1 (1C), 99.2 (1C), 103.1 (1C), 104.9 (1C), 115.7 (1C), 120.9 (1C), 126.2 (1C), 126.8 (1C), 127.2 (1C), 130.1 (1C), 132.5 (1C), 133.0 (1C), 142.7 (1C), 148.6 (1C), 151.1 (1C), 157.9 (1C), 161.8 (1C), 162.2 (1C), 164.3 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3461, 3345, 2983, 2937, 2181, 1738, 1699, 1647, 1609, 1567, 1508, 1470, 1415, 1391, 1369, 1344, 1332, 1309, 1285, 1260, 1239, 1205, 1163, 1106, 1078, 1055, 1017, 937, 922, 888, 861, 828, 796, 777, 730, 716. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{ClN}_3\text{O}_6$  510.1426; encontrado 510.1416 [M-H].

**6-Amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ac)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ac** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 36 % de rendimiento (17.4 mg). P.f. 158-163 °C. El ee del producto resultó ser 72 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 17.6$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 9.1$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +10.1$  ( $c = 0.20$ ,  $\text{CHCl}_3$ , 72 % ee).  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.47 (s, 0.75H), 3.50 (s, 2.25H), 3.59 (s, 0.75H), 3.59 (s, 2.25H), 3.85 (s, 3H), 3.89 (s, 0.75H), 3.90 (s, 2.25H), 4.16 (s a, 1.5H), 4.19 (s a, 0.5H), 4.59 (s, 0.75H), 4.66 (s, 0.25H), 6.50 (dd,  $J = 8.6$  Hz, 2.6 Hz, 0.75H), 6.53-6.55 (m, 1.25H), 7.16 (d,  $J = 8.0$  Hz, 0.25H), 7.19 (d,  $J = 8.6$  Hz, 0.75H), 7.29-7.36 (m, 2.5H), 7.43-7.47 (m, 1.5H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (75 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  38.4 (1C), 51.7 (1C), 52.2 (1C), 55.5 (1C), 56.01 (1C), 58.9 (1C), 99.1 (1C), 103.3 (1C), 104.9 (1C), 115.8 (1C), 120.9 (1C), 128.3 (2C), 129.0 (2C), 131.4 (1C), 132.2 (1C), 142.8 (1C), 144.9 (1C), 151.0 (1C), 157.7 (1C), 161.7 (1C), 162.8 (1C), 164.9 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3313, 3216, 2947, 2923, 2852, 2175, 1752, 1707, 1649, 1610, 1568, 1508, 1492, 1417, 1357, 1312, 1285, 1265, 1243, 1207, 1160, 1115, 1089, 1024, 1016, 978, 934, 918, 840, 822, 804, 777, 754, 730. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{ClN}_3\text{O}_6$  482.1113; encontrado 482.1100 [M-H].

**6-Amino-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (19bd)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19bd** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 96 % de rendimiento (48.2 mg). P.f. >110 °C desc. El ee del producto resultó ser 74 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 254.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 31.3$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 17.3$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = +26.3$  ( $c = 0.20$ , CHCl<sub>3</sub>, 74 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  0.88 (t,  $J = 7.1$  Hz, 0.6H), 0.89 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2.4H), 1.00 (t,  $J = 7.0$  Hz, 0.6H), 1.02 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2.4H), 3.81 (s, 3.6H), 3.71-3.97 (m, 4H), 3.89 (s, 2.4H), 4.54 (s, 0.8H), 4.59 (s, 0.2H), 5.64 (s a, 2H), 6.57 (dd,  $J = 8.7$  Hz,  $J = 2.7$  Hz, 0.8H), 6.59 (dd,  $J = 8.7$  Hz,  $J = 2.7$  Hz, 0.2H), 6.67 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.2H), 6.72 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.8H), 7.13 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.8H), 7.20 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.2H), 7.48 (d,  $J = 8.3$  Hz, 0.4H), 7.62 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1.6H), 7.87 (d,  $J = 8.3$  Hz, 0.4H), 7.93 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1.6H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  13.2 (1C), 13.6 (1C), 39.2 (1C), 55.6 (1C), 56.0 (1C), 58.2 (1C), 60.3 (1C), 61.1 (1C), 99.1 (1C), 102.9 (1C), 104.9 (1C), 109.5 (1C), 115.7 (1C), 118.8 (1C), 120.7 (1C), 128.2 (2C), 132.4 (2C), 132.5 (1C), 143.1 (1C), 151.2 (1C), 151.3 (1C), 157.8 (1C), 161.9 (1C), 162.1 (1C), 164.1 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3458, 3341, 3219, 2980, 2936, 2227, 2181, 1739, 1704, 1645, 1606, 1508, 1463, 1454, 1440, 1416, 1392, 1369, 1327, 1309, 1286, 1261, 1207, 1162, 1105, 1054, 1025, 936, 922, 900, 856, 828, 803, 786, 770. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>27</sub>H<sub>25</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> 501.1769; encontrado 501.1744 [M-H].

#### **6-Amino-4-(4-bromofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ae)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ae** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 43 % de rendimiento (22.7 mg). P.f. >95 °C desc. El ee del producto resultó ser 76 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 237.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 18.6$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 9.4$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +8.7$  ( $c = 0.20$ , CHCl<sub>3</sub>, 76 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.32 (s, 0.75H), 3.36 (s, 2.25H), 3.50 (s, 3H), 3.80 (s, 0.75H), 3.81 (s, 3H), 3.86 (s, 2.25H), 4.42 (s, 0.75H), 4.47 (s, 0.25H), 5.57 (s a, 2H), 6.56 (dd,  $J = 8.7$  Hz,  $J = 2.7$  Hz, 0.75H), 6.60 (dd,  $J = 8.6$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 0.25H), 6.67 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.25H), 6.71 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.75H), 7.12 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.75H), 7.17 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.25H), 7.23-7.26 (m, 0.5H), 7.36-7.39 (m, 1.5H), 7.57-7.59 (m, 0.5H), 7.61-7.64 (m,

1.5H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  38.5 (1C), 51.7 (1C), 52.2 (1C), 55.5 (1C), 56.1 (1C), 58.9 (1C), 99.2 (1C), 103.3 (1C), 104.9 (1C), 115.8 (1C), 119.9 (1C), 121.0 (1C), 129.4 (2C), 131.2 (2C), 132.2 (1C), 142.8 (1C), 145.3 (1C), 151.0 (1C), 157.7 (1C), 161.7 (1C), 162.8 (1C), 164.9 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3451, 3353, 3219, 2950, 2920, 2849, 2180, 1744, 1706, 1646, 1605, 1568, 1508, 1455, 1416, 1344, 1313, 1285, 1261, 1208, 1163, 1108, 1053, 1026, 972, 934, 875, 860, 821, 730, 711. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{BrN}_3\text{O}_6$  526.0608; encontrado 526.0596 [M-H].

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19af)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19af** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 99 % de rendimiento (48.9 mg). P.f. >106 °C desc. El ee del producto resultó ser 77 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda$  = 238.0 nm):  $\tau_{\text{mayoritario}}$  = 23.9 min;  $\tau_{\text{minoritario}}$  = 12.4 min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  = -3.0 ( $c$  = 0.21,  $\text{CHCl}_3$ , 77 %).  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.33 (s, 0.6H), 3.37 (s, 2.4H), 3.50 (s, 3H), 3.82 (s, 3.6H), 3.85 (s, 2.4H), 4.67 (s, 0.8H), 4.68 (s, 0.2 H), 5.70 (s a, 2H), 6.54-6.59 (m, 0.8H), 6.58-6.63 (m, 0.2H), 6.69 (d,  $J$  = 2.6 Hz, 0.2H), 6.72 (d,  $J$  = 2.6 Hz, 0.8H), 7.14 (d,  $J$  = 8.6 Hz, 0.8H), 7.16 (d,  $J$  = 8.7 Hz, 0.2H), 7.75 (t,  $J$  = 7.9 Hz, 1H), 7.75-7.80 (m, 0.2H), 7.85-7.90 (m, Hz, 0.8H), 8.10-8.23 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  38.8 (1C), 51.8 (1C), 52.3 (1C), 55.5 (1C), 56.1 (1C), 58.2 (1C), 99.2 (1C), 102.6 (1C), 105.0 (1C), 115.6 (1C), 120.7 (1C), 121.5 (1C), 121.9 (1C), 130.0 (1C), 132.2 (1C), 134.1 (1C), 143.3 (1C), 148.0 (1C), 148.1 (1C), 151.2 (1C), 157.7 (1C), 161.8 (1C), 162.6 (1C), 164.7 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3461, 3361, 3094, 2947, 2180, 1744, 1704, 1649, 1608, 1567, 1527, 1506, 1470, 1415, 1348, 1314, 1284, 1262, 1206, 1164, 1112, 1057, 1022, 971, 934, 922, 906, 821, 805, 782, 766, 743, 730, 711. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{O}_8$  493.1354; encontrado 493.1351 [M-H].

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-p-tolil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ag)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ag** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 22 % de rendimiento (10.2 mg). P.f. 123-126 °C.

El ee del producto resultó ser 72 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 240.2$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 15.1$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 8.5$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = +7.6$  ( $c = 0.20$ , CHCl<sub>3</sub>, 72 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  2.30 (s, 3H), 3.32 (s, 0.9H), 3.36 (s, 2.1H), 3.50 (s, 3H), 3.82 (s, 3.9H), 3.86 (s, 2.1H), 4.38 (s, 0.7H), 4.42 (s, 0.3H), 5.38 (s a, 2H), 6.53-6.58 (m, 0.7H), 6.56-6.61 (m, 0.3H), 6.68 (d,  $J = 2.5$  Hz, 0.3H), 6.70 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.7H), 7.12 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 7.19 (d,  $J = 8.2$  Hz, 2.6H), 7.32 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1.4H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  20.4 (1C), 38.4 (1C), 51.4 (1C), 52.0 (1C), 55.4 (1C), 55.8 (1C), 59.6 (1C), 99.1 (1C), 103.8 (1C), 104.9 (1C), 116.0 (1C), 120.9 (1C), 127.0 (2C), 128.7 (2C), 132.0 (1C), 135.6 (1C), 142.3 (1C), 142.8 (1C), 150.7 (1C), 157.7 (1C), 161.6 (1C), 162.8 (1C), 164.9 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3445, 3343, 2947, 2840, 2180, 1743, 1705, 1646, 1609, 1569, 1508, 1459, 1435, 1415, 1389, 1353, 1329, 1314, 1285, 1261, 1208, 1163, 1110, 1054, 1024, 973, 933, 864, 835, 804, 788, 772, 735. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> 462.1660; encontrado 462.1662 [M-H].

#### **6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ah)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ah** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 21 % de rendimiento (9.4 mg). P.f. 90-94 °C. El ee del producto resultó ser 80 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 17.7$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 9.4$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{28} = -13.6$  ( $c = 0.17$ , CHCl<sub>3</sub>, 80 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.32 (s, 0.75H), 3.36 (s, 2.25H), 3.50 (s, 3H), 3.81 (s, 3.75H), 3.86 (s, 2.25H), 4.41 (s, 0.75H), 4.45 (s, 0.25H), 5.50 (s a, 2H), 6.53-6.59 (m, 0.75H), 6.55-6.60 (m, 0.25H), 6.68 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.25H), 6.70 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.75H), 7.12 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.75H), 7.14 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.25H), 7.22-7.29 (m, 1.25H), 7.36-7.45 (m, 3.75H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  38.9 (1C), 51.7 (1C), 52.2 (1C), 55.5 (1C), 56.0 (1C), 59.4 (1C), 99.2 (1C), 103.7 (1C), 104.9 (1C), 116.0 (1C), 121.1 (1C), 126.7 (1C), 127.2 (2C), 128.3 (2C), 132.2 (1C), 142.7 (1C), 145.9 (1C), 150.9 (1C), 157.7 (1C), 161.7 (1C), 162.9 (1C), 165.0 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3300, 3203, 3005, 2952, 2919, 2849, 2181, 1739, 1707, 1642, 1609, 1508, 1454, 1435, 1419, 1360, 1286, 1208, 1160, 1115, 1076, 1058, 1025, 974, 933, 861, 835, 793, 756, 728, 699. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> 448.1503; encontrado 448.1513 [M-H].

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(tiofen-2-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ai)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ai** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 15 % de rendimiento (6.8 mg). P.f. 139-141 °C. El ee del producto resultó ser 76 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 242.6$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 14.2$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 9.7$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{26} = -3.5$  ( $c = 0.17$ , CHCl<sub>3</sub>, 76 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.32 (s, 1.2H), 3.36 (s, 1.8H), 3.59 (s, 1.8H), 3.60 (s, 1.2H), 3.76 (s, 1.8H), 3.81 (s, 4.2H), 4.73 (s, 0.6H), 4.77 (s, 0.4H), 5.55 (s a, 1.2H), 5.58 (s a, 0.8H), 6.56 (td,  $J = 8.6$  Hz,  $J = 2.6$  Hz, 1H), 6.64-6.70 (m, 1H), 6.92 (d,  $J = 2.9$  Hz, 0.4H), 6.97-7.04 (m, 2H), 7.11 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.6H), 7.37-7.41 (m, 1H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  33.8 (1C), 51.5 (1C), 52.0 (1C), 55.4 (1C), 55.6 (1C), 58.9 (1C), 99.1 (1C), 103.6 (1C), 104.8 (1C), 115.9 (1C), 120.8 (1C), 123.1 (1C), 124.0 (1C), 126.6 (1C), 131.8 (1C), 142.0 (1C), 149.5 (1C), 151.2 (1C), 157.6 (1C), 161.6 (1C), 162.6 (1C), 164.7 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3433, 3330, 3000, 2947, 2842, 2182, 1745, 1710, 1647, 1609, 1574, 1508, 1462, 1434, 1413, 1351, 1332, 1313, 1284, 1210, 1163, 1105, 1054, 1029, 971, 933, 852, 825, 803, 791, 773, 752, 730, 704. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S 454.1067; encontrado 454.1075 [M-H].

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(piridin-3-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19aj)**

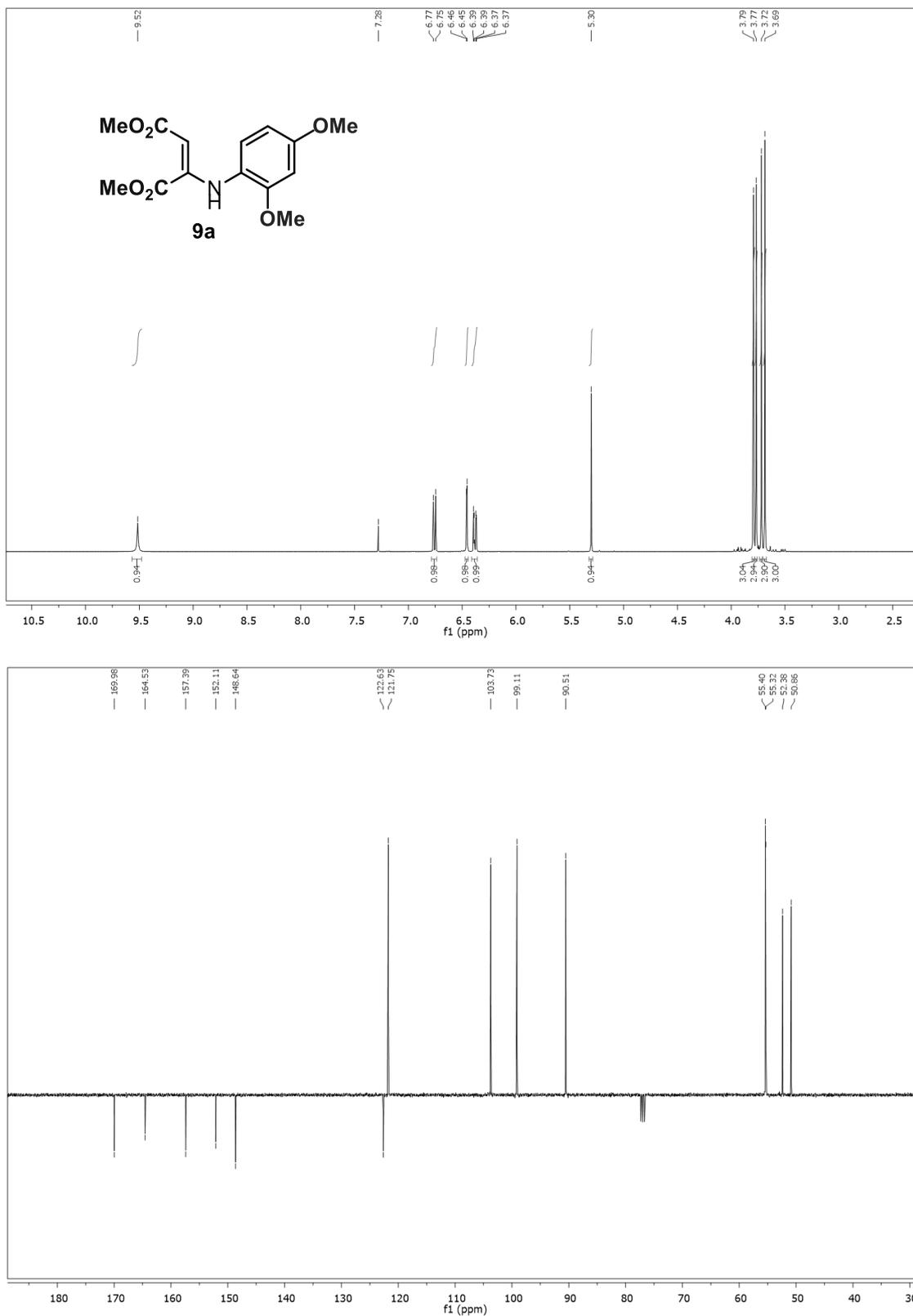
Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19aj** se obtuvo tras 72 h de reacción a 10 °C y se purificó por cromatografía en columna (*n*hexano:AcOEt 70:30 a 50:50), como un sólido amarillo con un 79 % de rendimiento (35.6 mg). P.f. >185 °C desc. El ee del producto resultó ser 82 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.7$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 28.1$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 20.6$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{22} = -6.9$  ( $c = 0.22$ , CHCl<sub>3</sub>, 82 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.32 (s, 0.6H), 3.36 (s, 2.4H), 3.49 (s, 0.6H), 3.51 (s, 2.4H), 3.81 (s, 3.6H), 3.87 (s, 2.4H), 4.47 (s, 0.8H), 4.53 (s, 0.2H), 5.67 (s a, 2H), 6.53-6.59 (m, 0.8H), 6.55-6.60 (m, 0.2H), 6.67 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.2H), 6.71 (d,  $J = 2.6$  Hz, 0.8H), 7.14 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.8H), 7.20 (d,  $J = 8.7$  Hz, 0.2H), 7.41-7.46 (m, 0.2H), 7.45-7.50 (m, 0.8H), 7.61 (dt,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, 0.2H), 7.82 (dt,  $J = 8.0$  Hz,  $J = 2.0$  Hz, 0.8H), 8.48 (dd,  $J = 4.8$  Hz,  $J = 1.6$  Hz, 1H), 8.48-8.50 (m, 0.2H), 8.62-8.65 (m, 0.8H). <sup>13</sup>C-APT-RMN

(75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  36.7 (1C), 51.8 (1C), 52.3 (1C), 55.6 (1C), 56.0 (1C), 58.4 (1C), 99.2 (1C), 103.1 (1C), 105.0 (1C), 115.8 (1C), 120.9 (1C), 123.8 (1C), 132.3 (1C), 134.7 (1C), 141.1 (1C), 143.1 (1C), 148.0 (1C), 148.6 (1C), 151.3 (1C), 157.6 (1C), 161.8 (1C), 162.8 (1C), 164.8, (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3454, 3346, 3095, 2947, 2838, 2178, 1743, 1698, 1652, 1611, 1568, 1529, 1507, 1478, 1469, 1452, 1423, 1353, 1335, 1314, 1289, 1261, 1244, 1219, 1208, 1163, 1108, 1052, 1041, 1026, 971, 921, 862, 844, 826, 824, 802, 795, 781, 728, 714. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{N}_4\text{O}_6$  451.1612; encontrado 451.1625 [M+H].

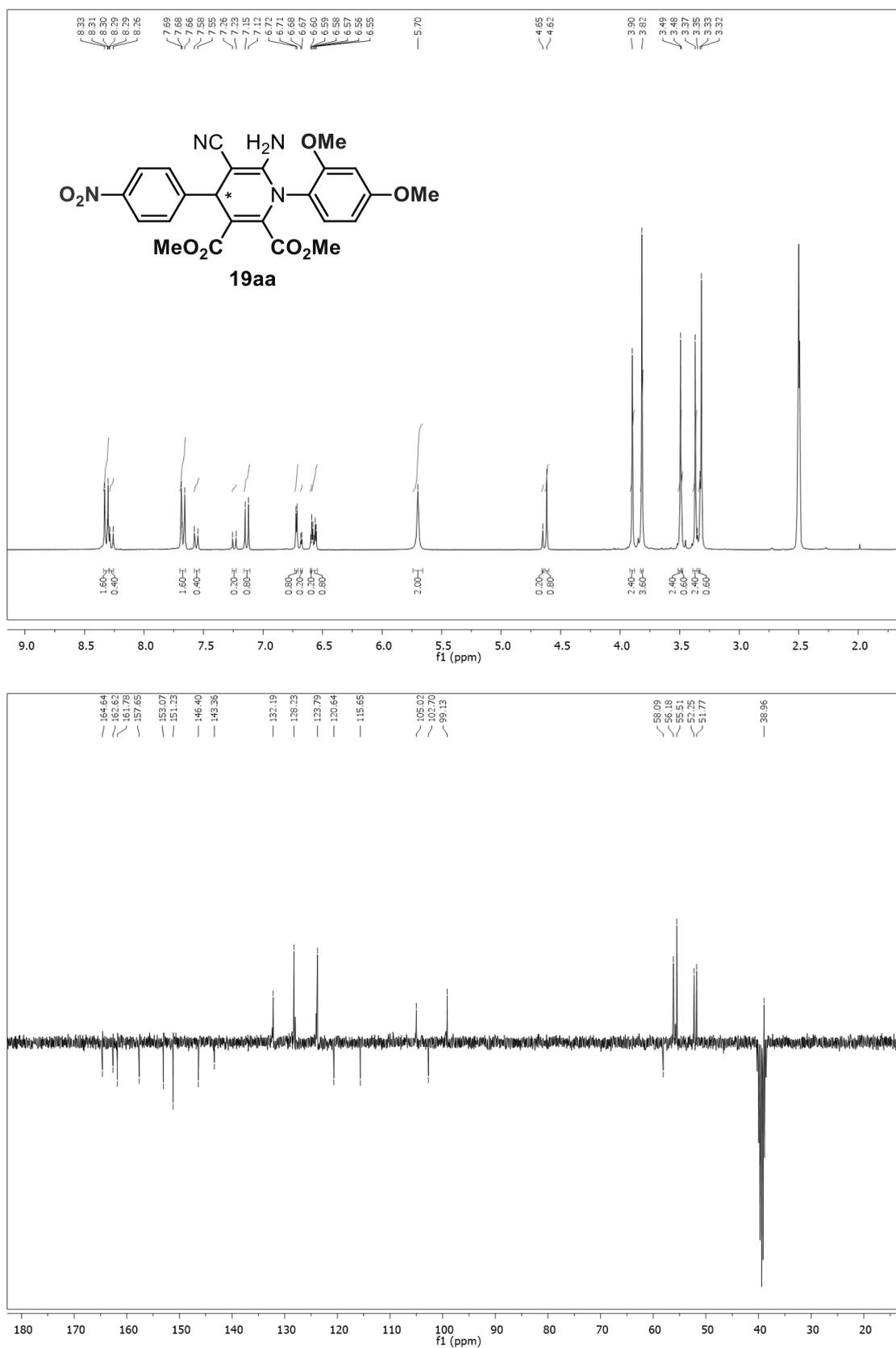
## 2.2.5 Información suplementaria

### Espectros de RMN de los compuestos 9 y 19

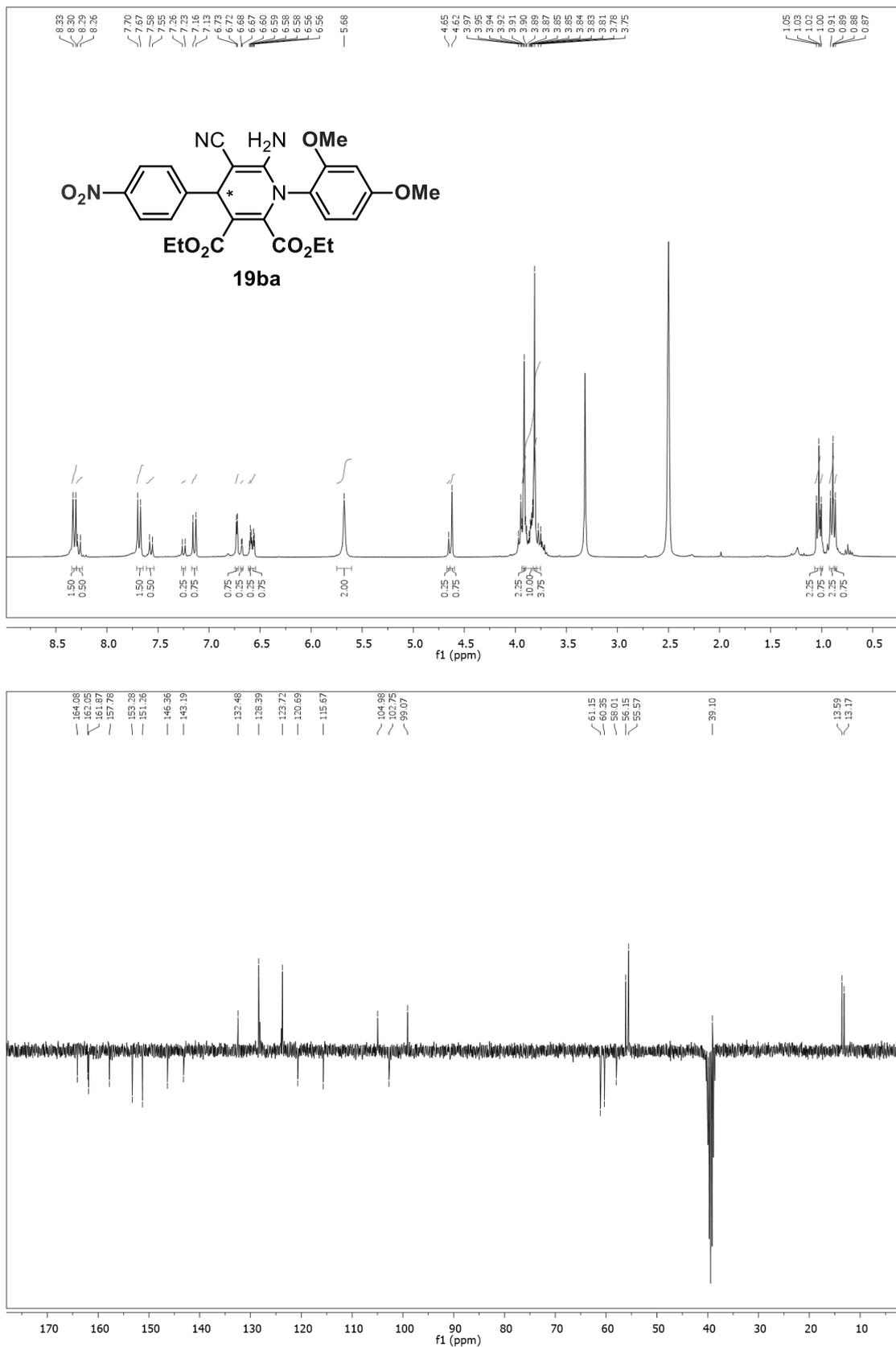
**Figura S2.1.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 2-(2,4-dimetoxifenilamino)maleato de dimetilo (**9a**)



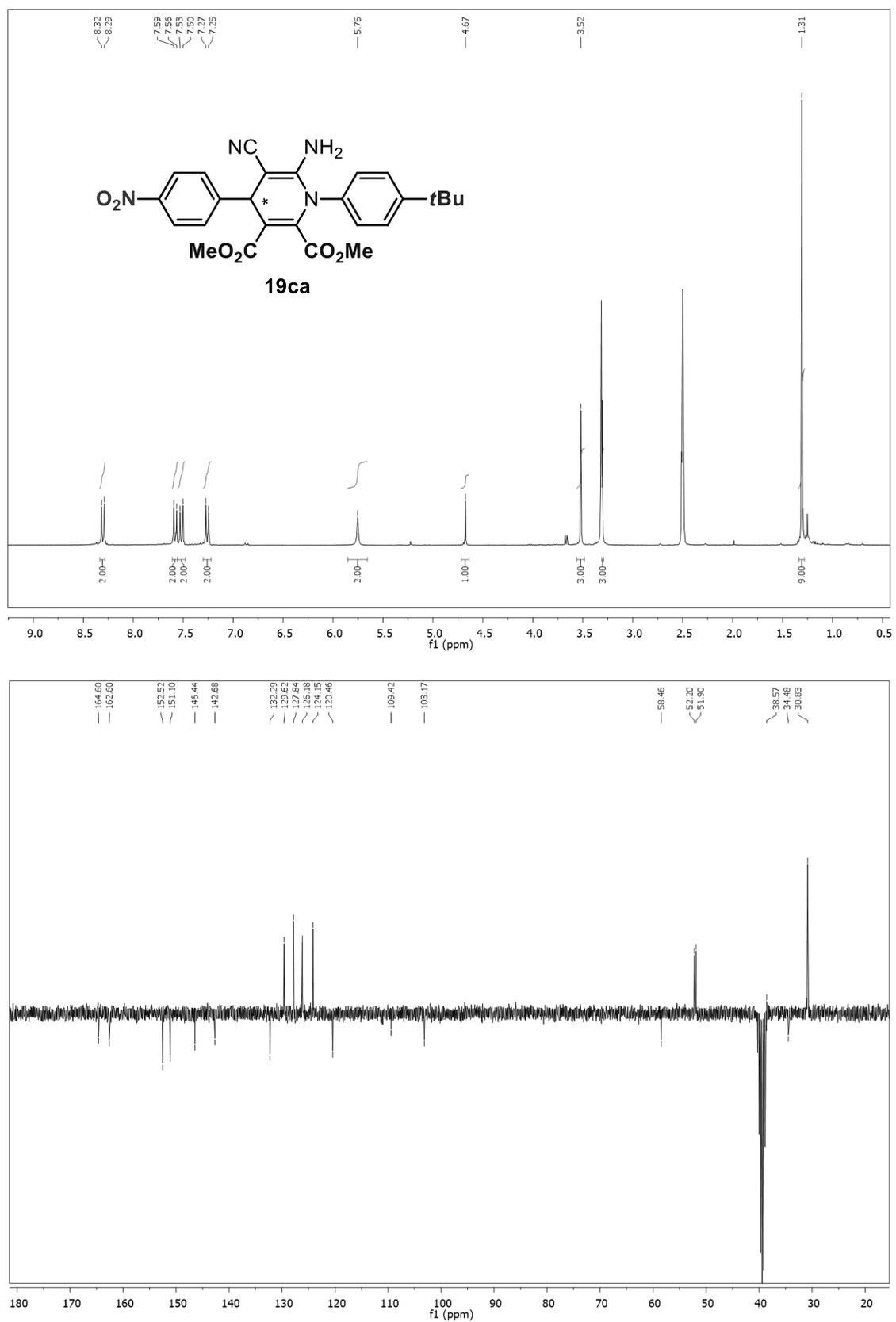
**Figura S2.2.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19aa**)



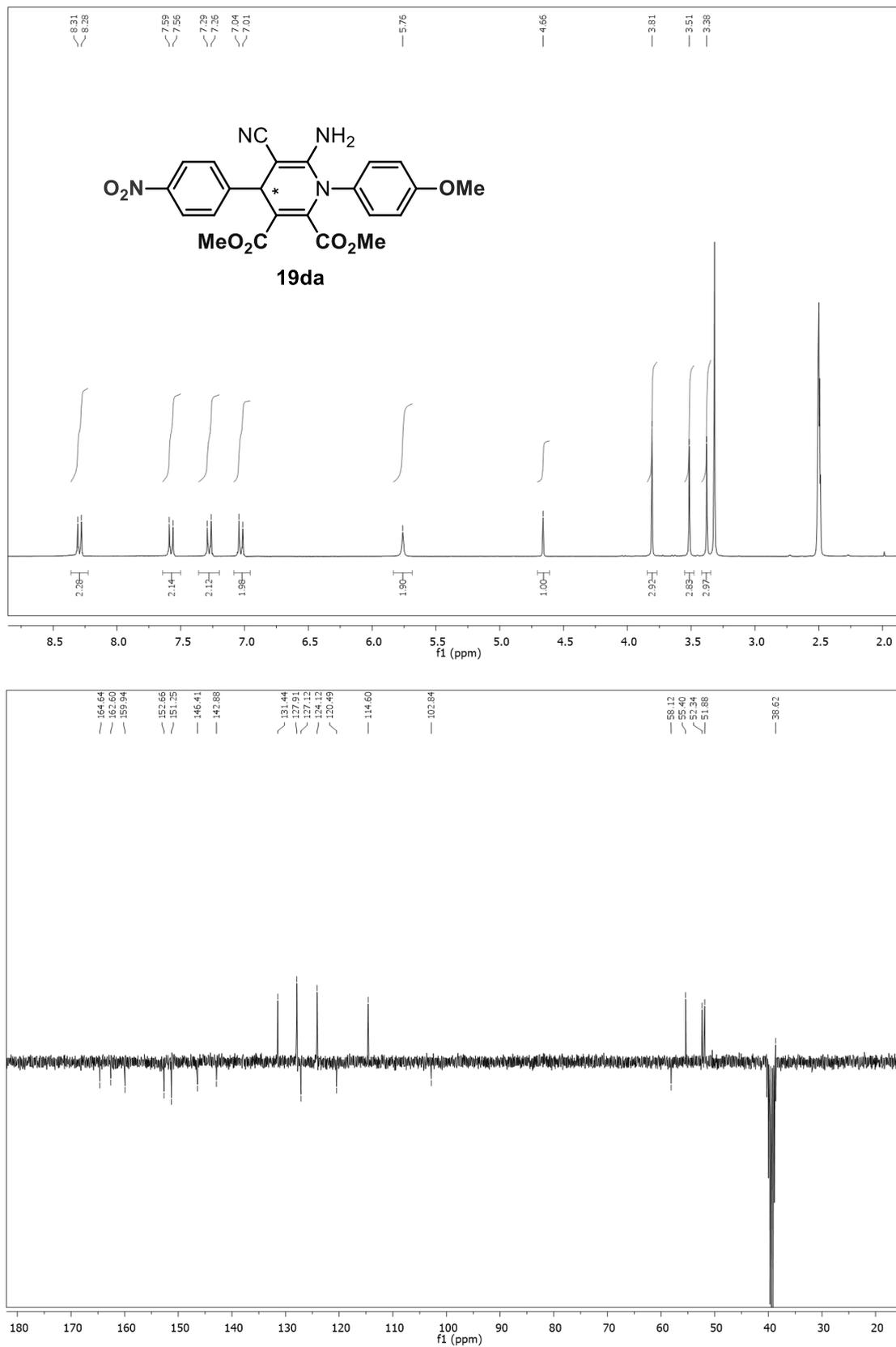
**Figura S2.3.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (**19ba**)



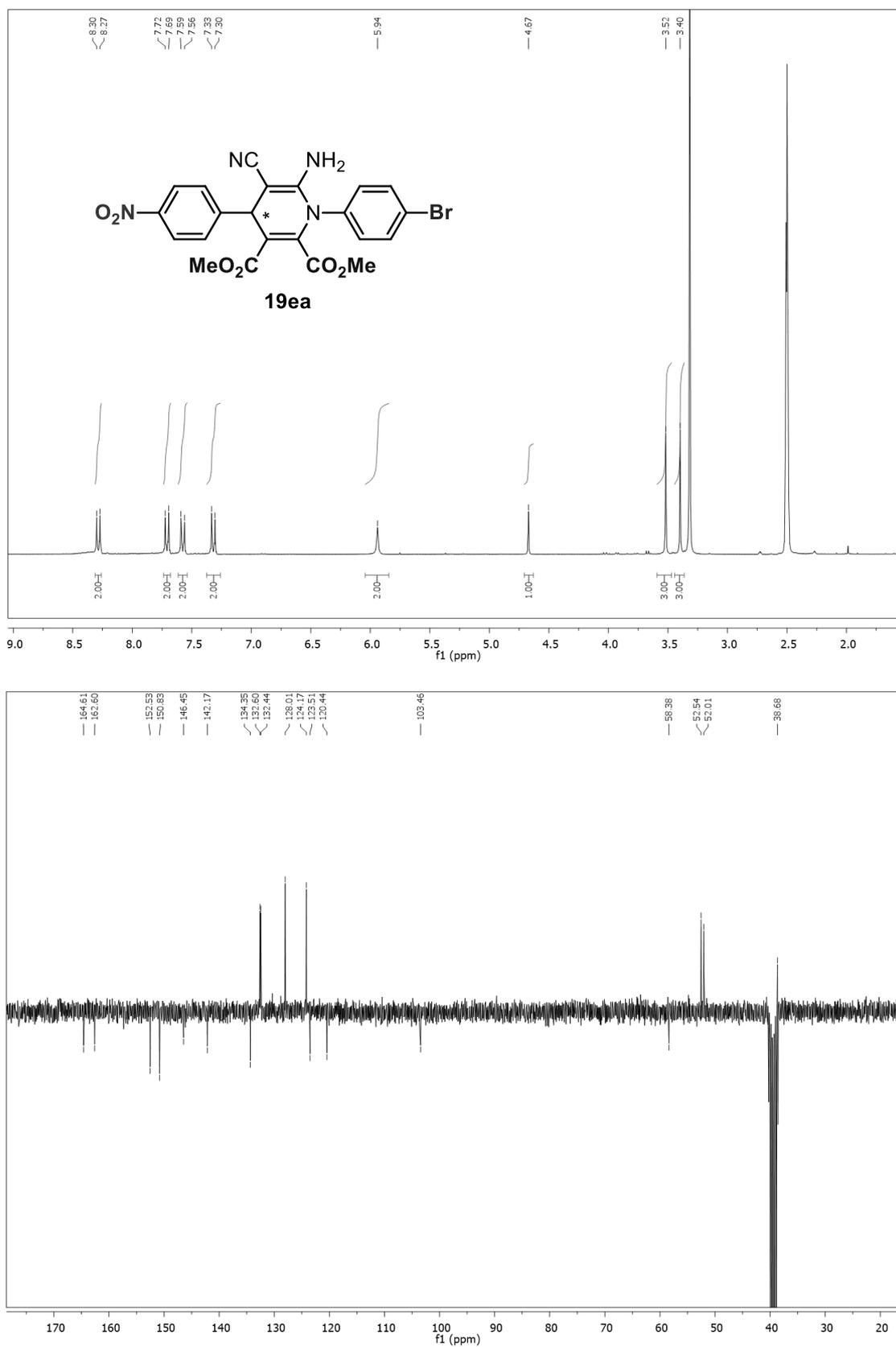
**Figura S2.4.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-(4-*tert*-butilfenil)-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ca**)



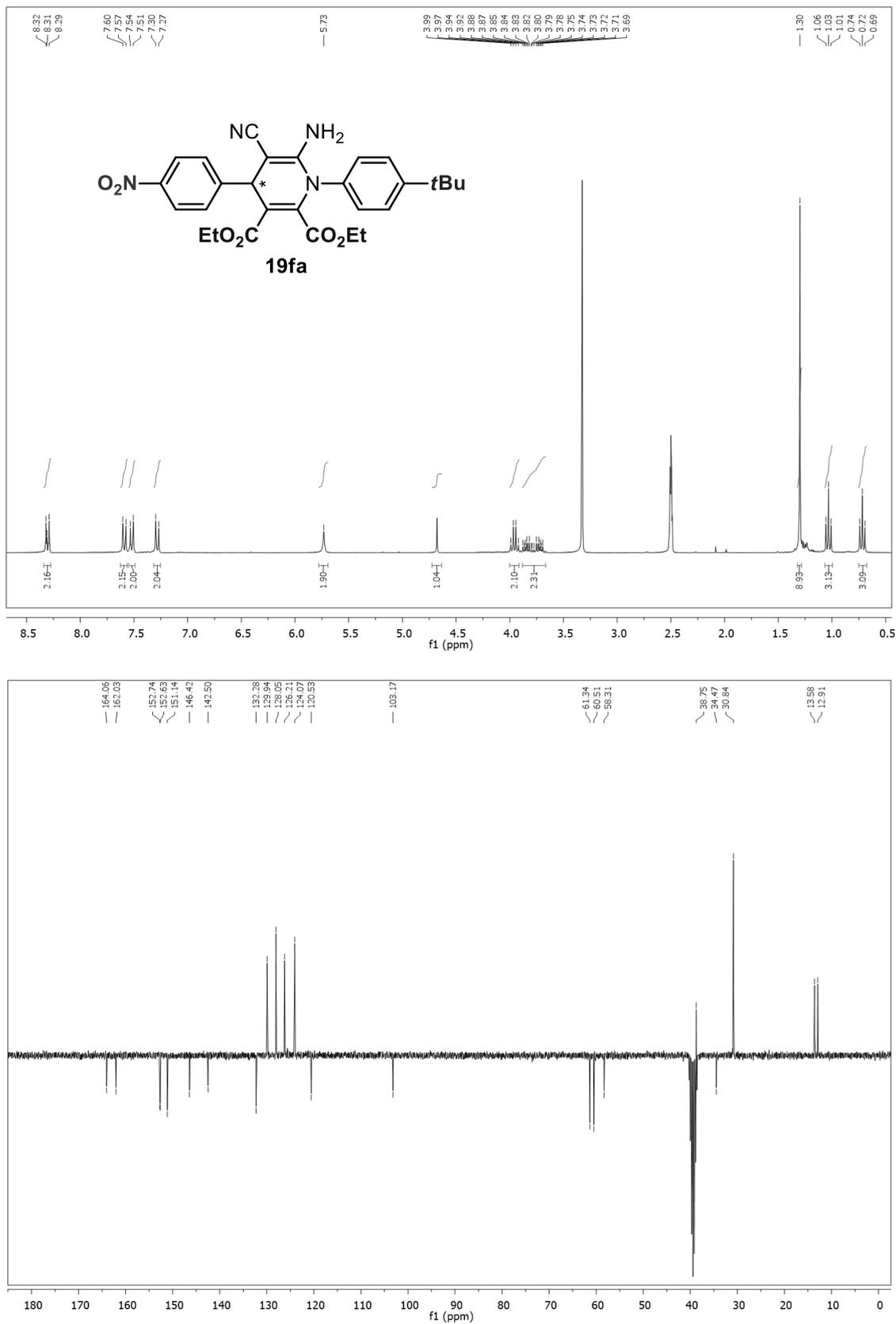
**Figura S2.5.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(4-metoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19da**)



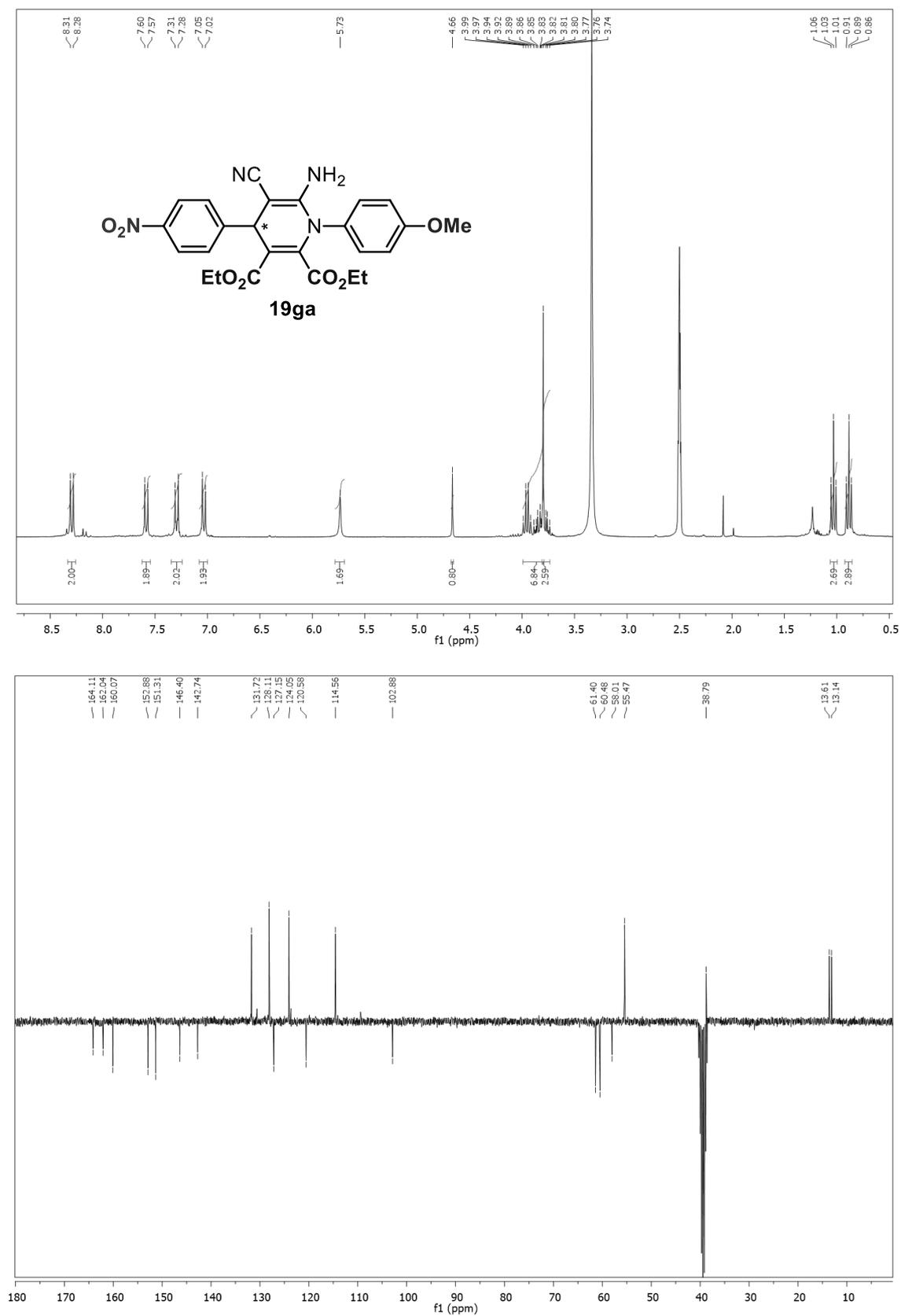
**Figura S2.6.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-(4-bromofenil)-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ea**)



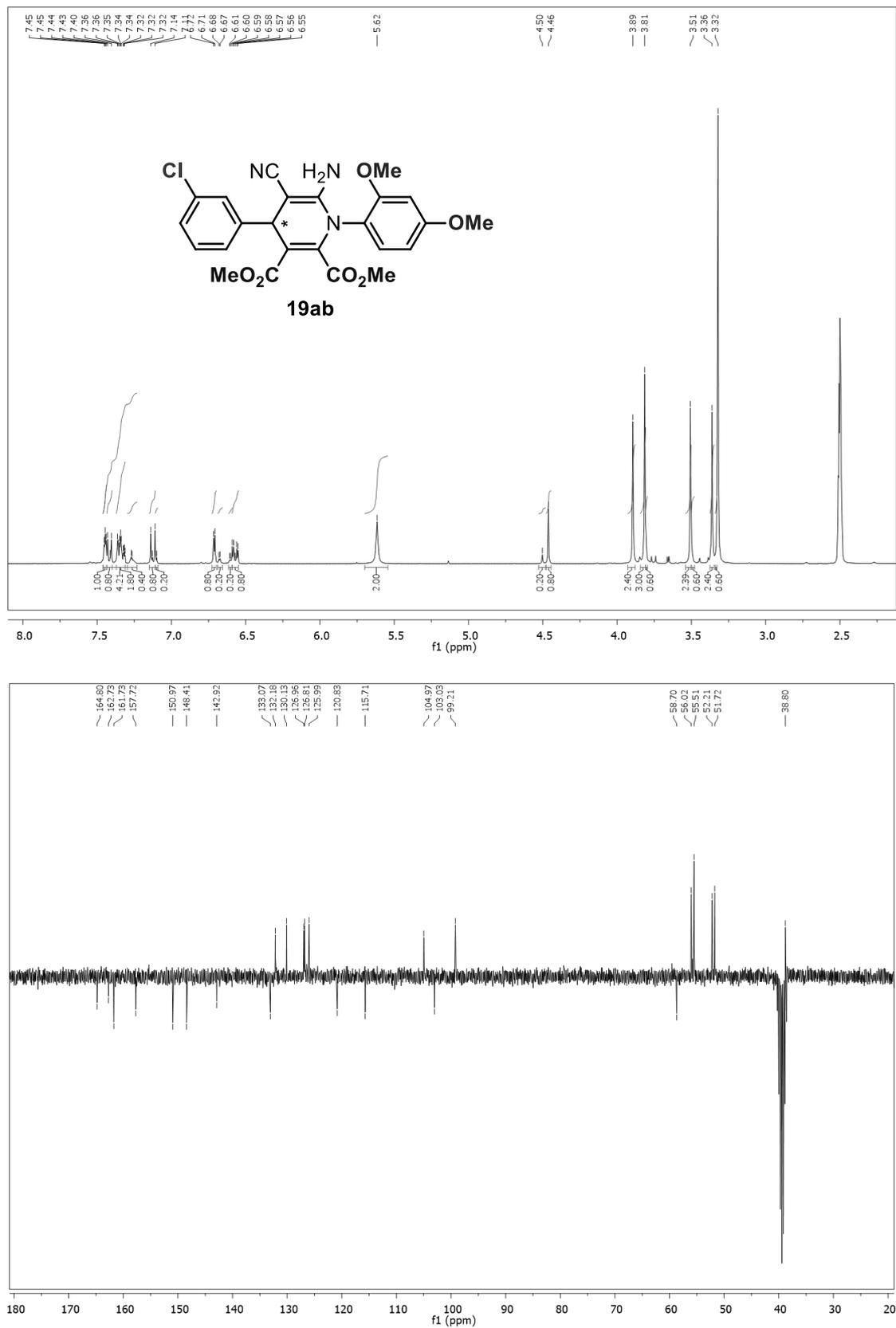
**Figura S2.7.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-(4-tert-butilfenil)-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (**19fa**)



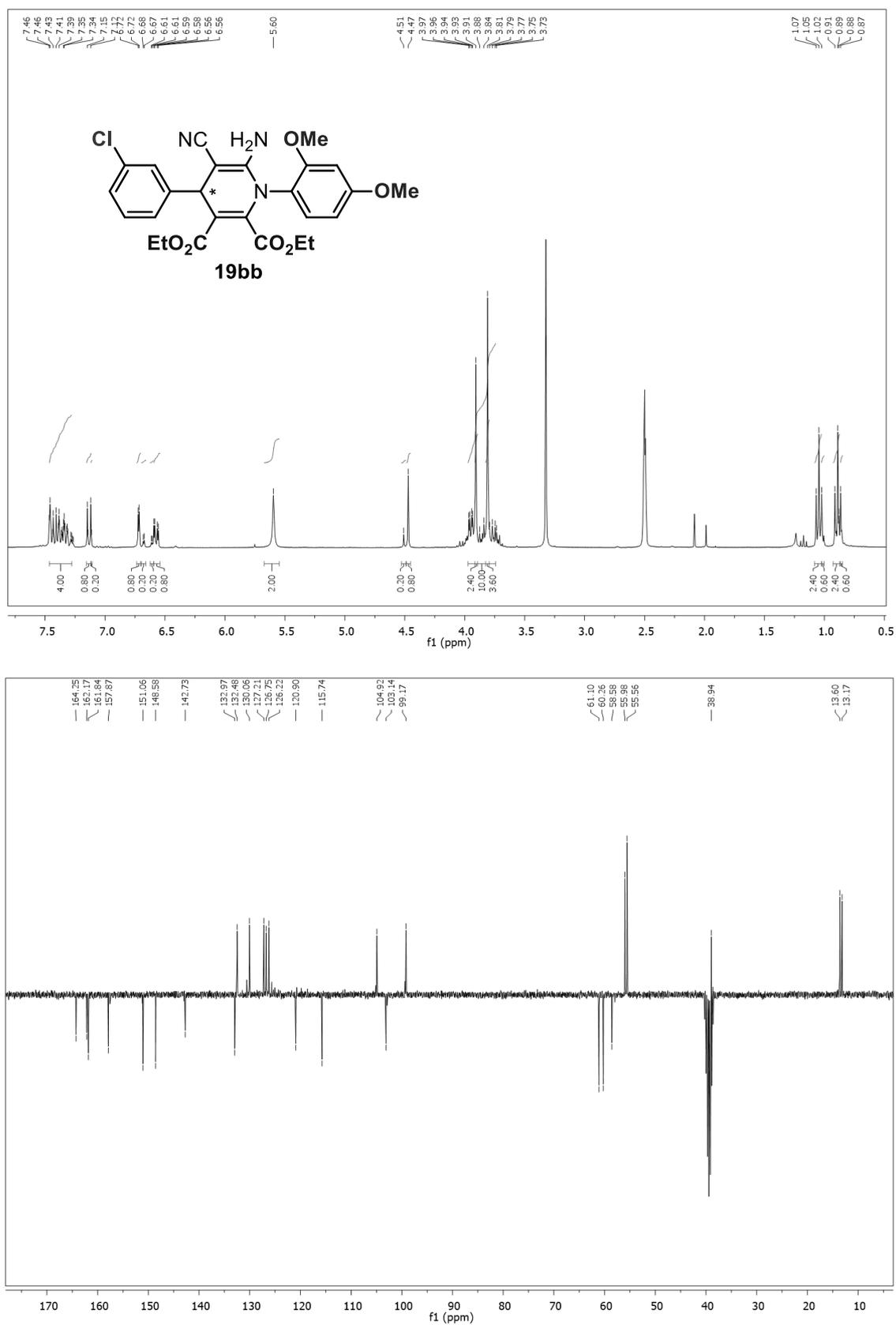
**Figura S2.8.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(4-metoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (**19ga**)



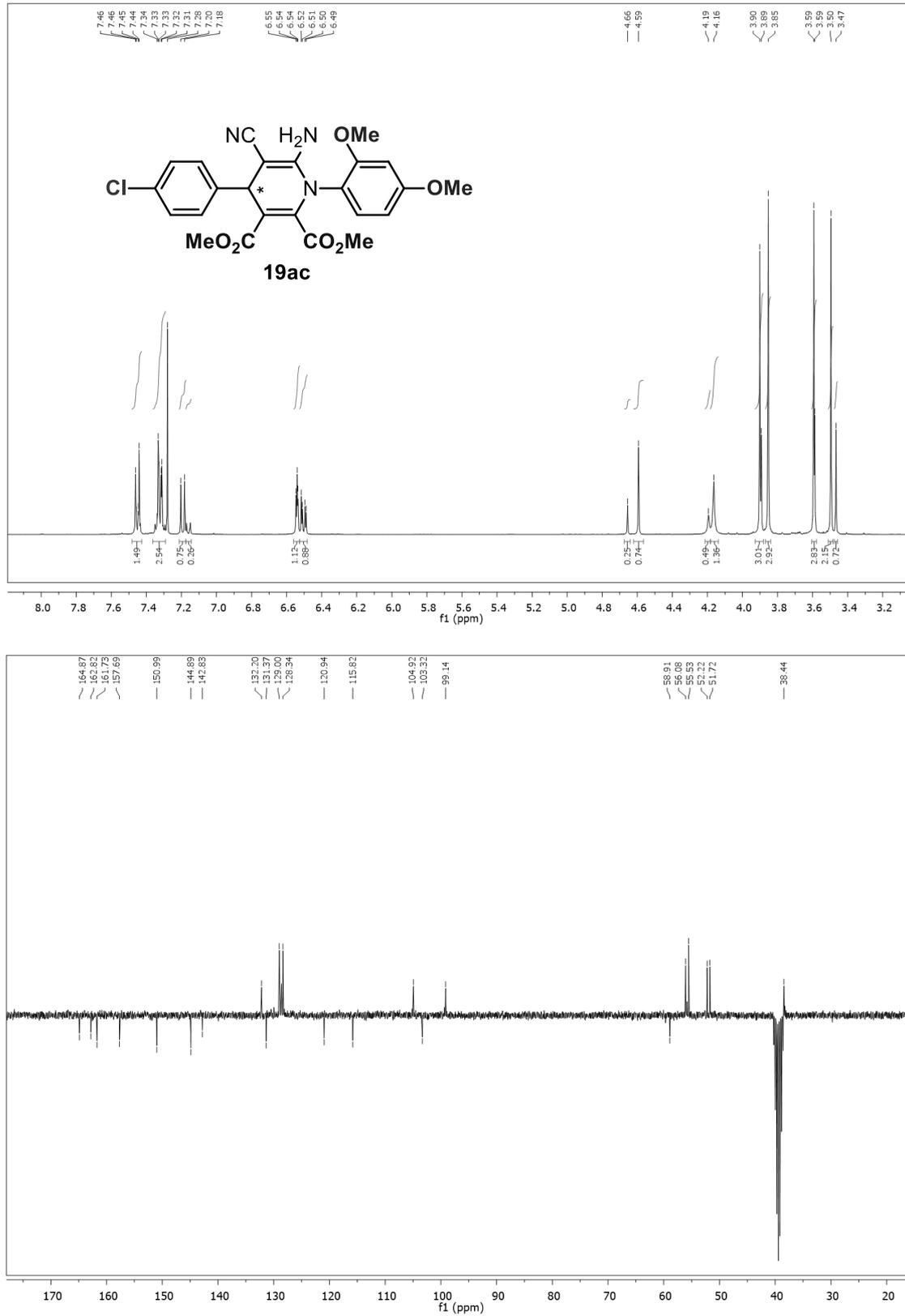
**Figura S2.9.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ab**)



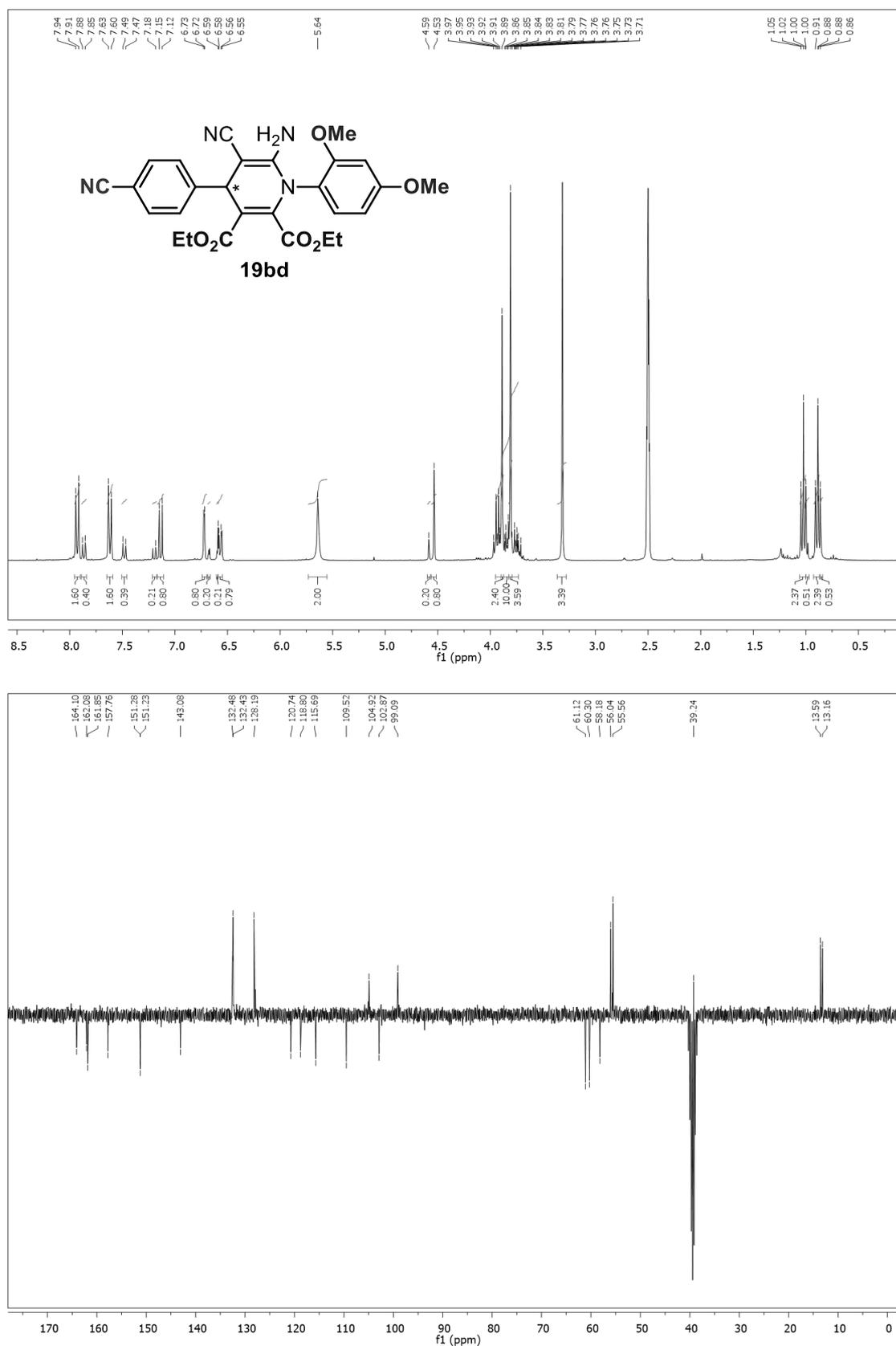
**Figura S2.10.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (**19bb**)



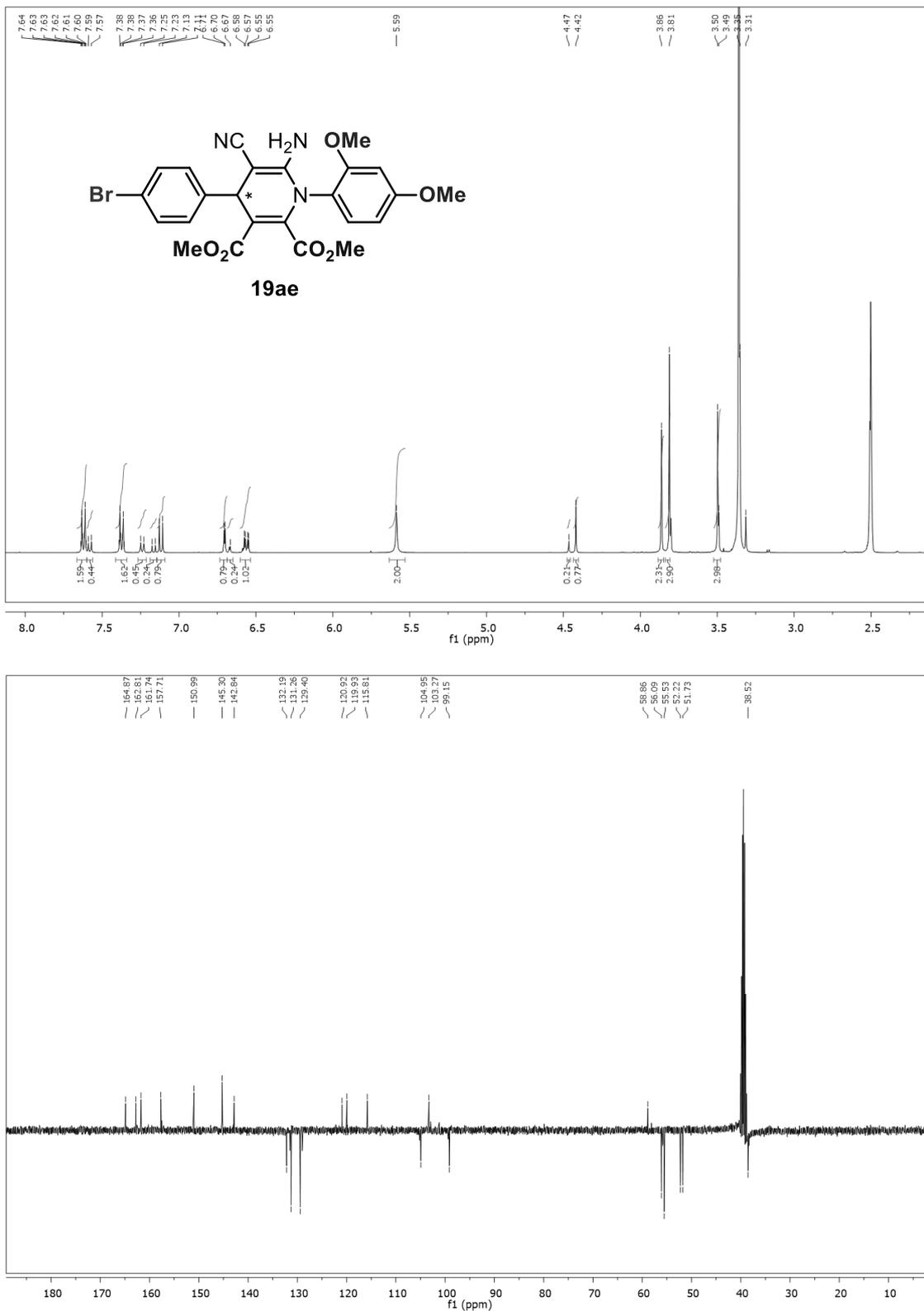
**Figura S2.11.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ac**)



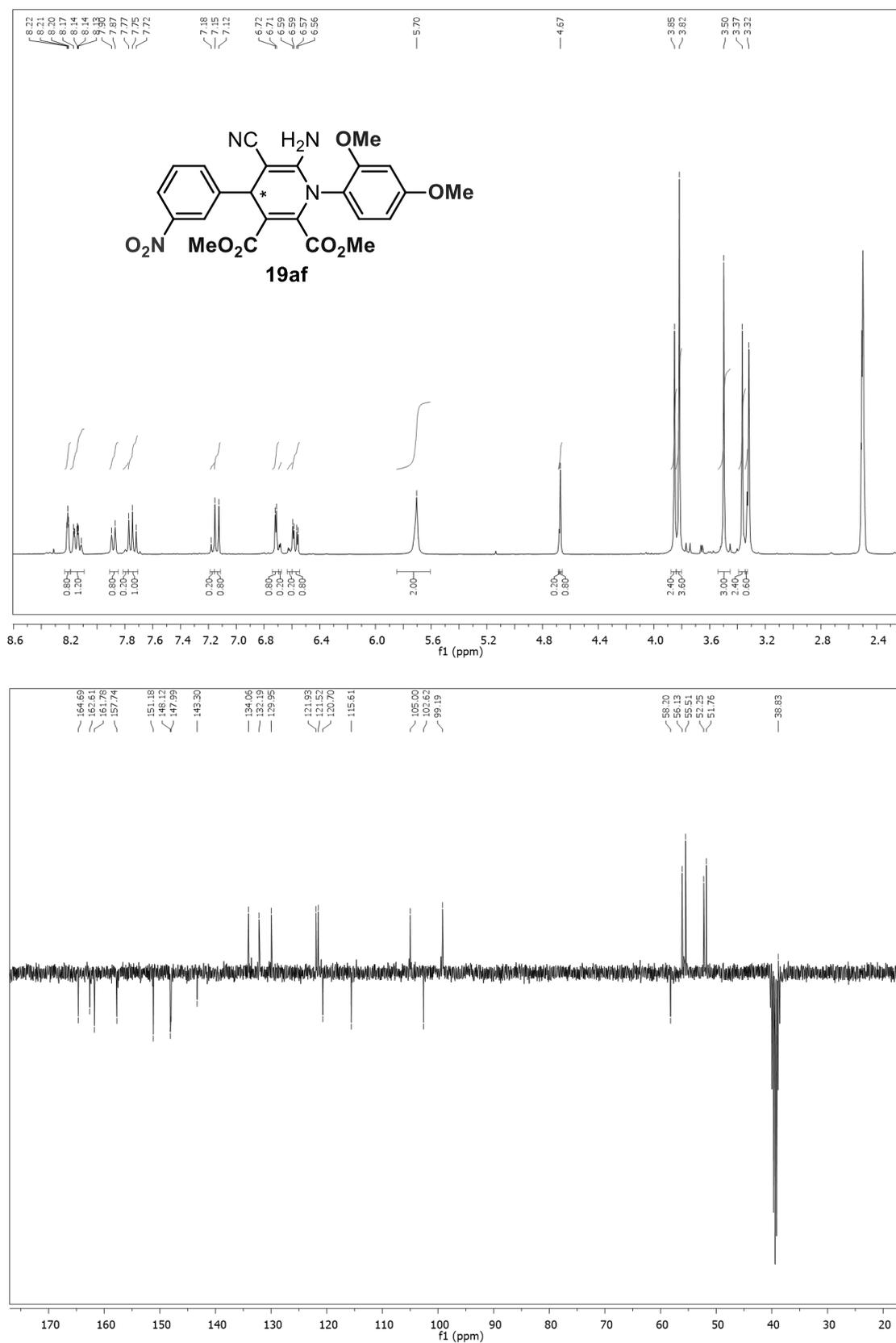
**Figura S2.12.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dietilo (**19bd**)



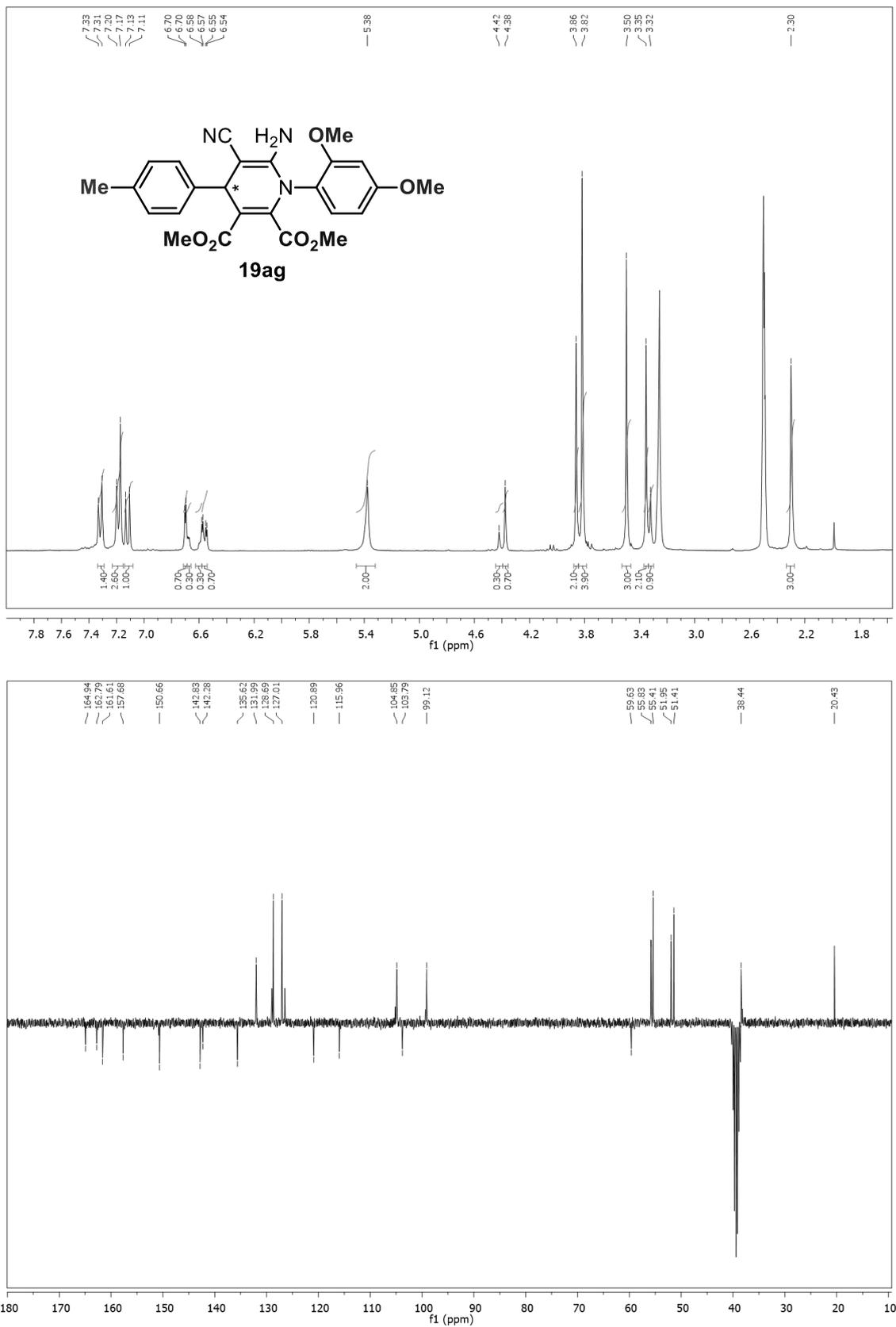
**Figura S2.13.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-4-(4-bromofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ae**)



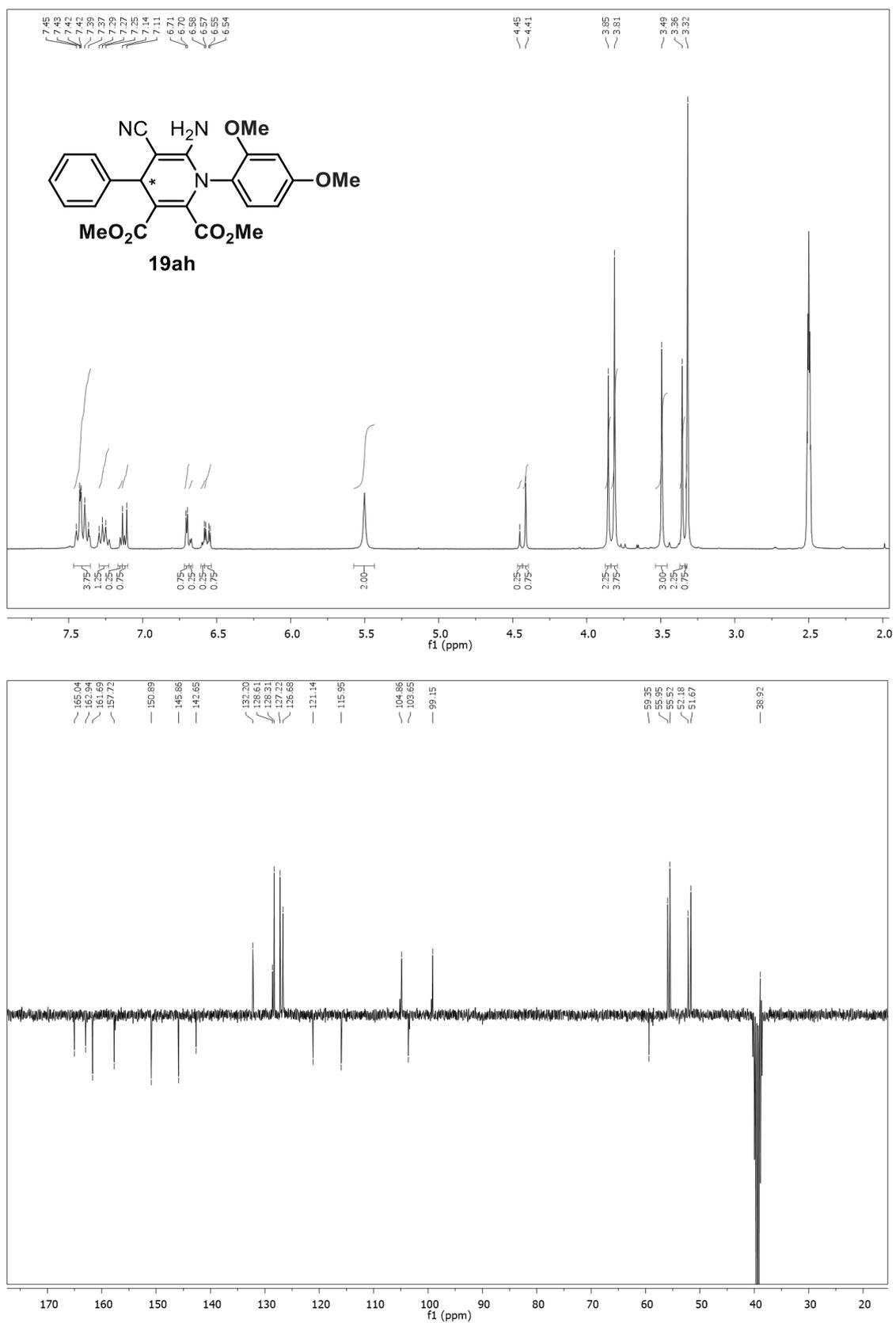
**Figura S2.14.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19af**)



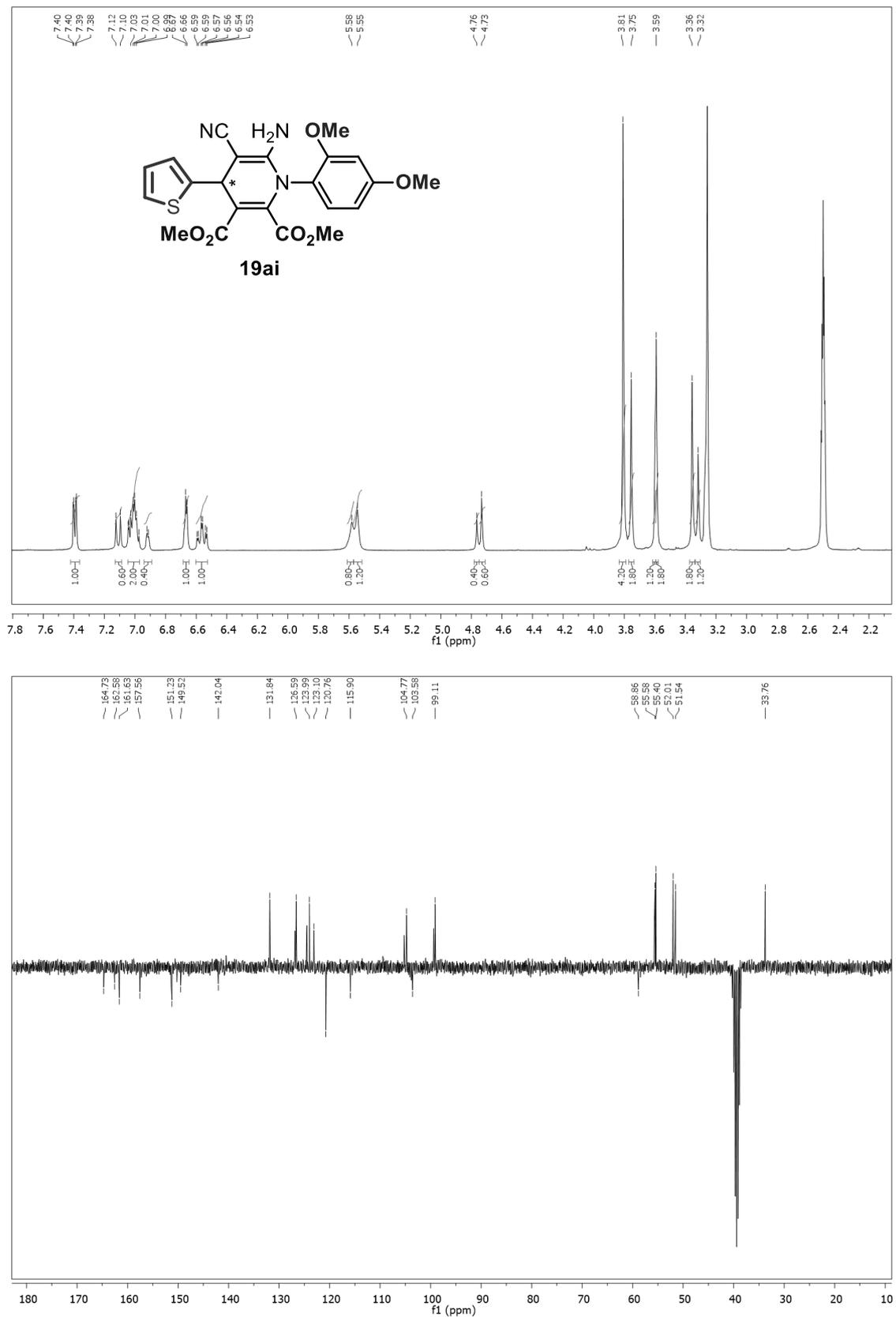
**Figura S2.15.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-p-tolil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ag**)



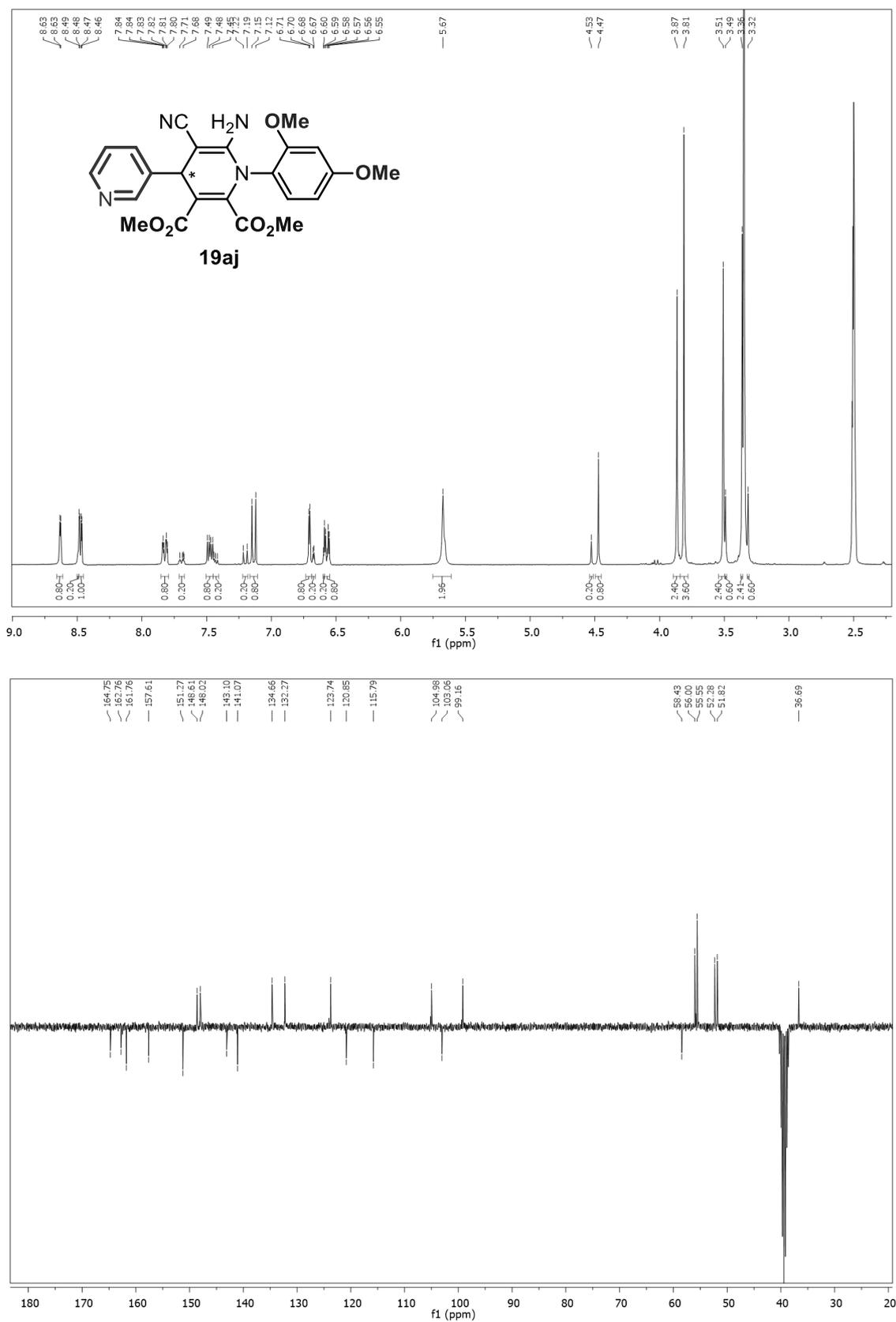
**Figura S2.16.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ah**)



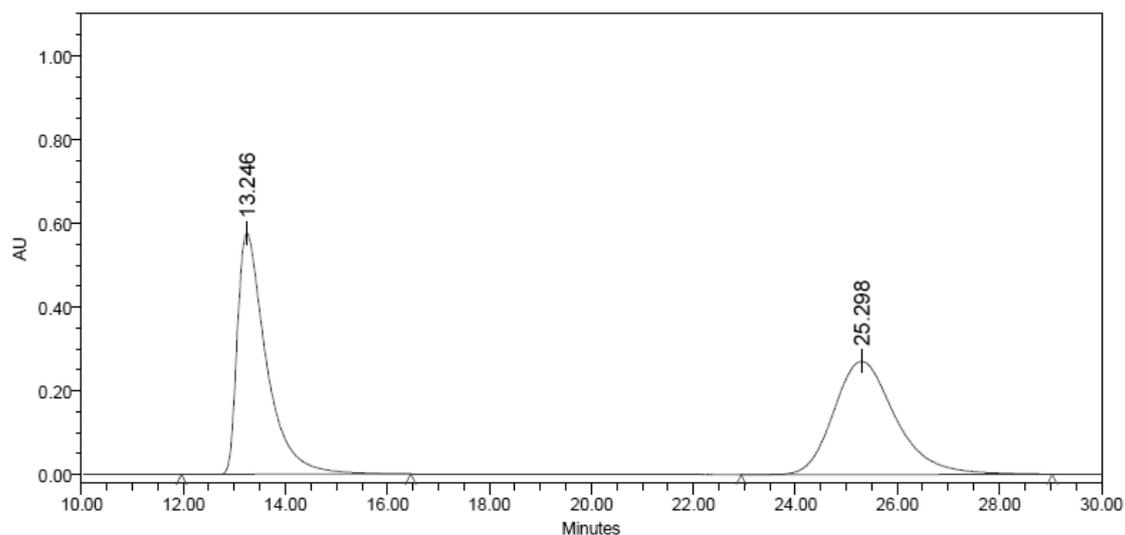
**Figura S2.17.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(tiofen-2-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ai**)



**Figura S2.18.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(piridin-3-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19aj**)



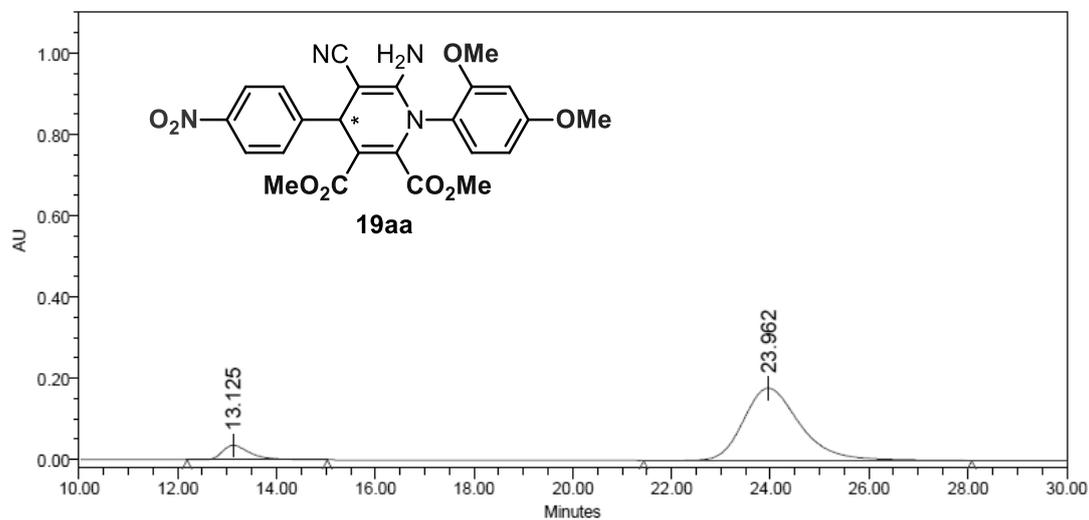
**Cromatogramas de HPLC de los compuestos 19**



Processed Channel: PDA 254.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 254.0 nm	13.246	22722310	49.92	576251
2	PDA 254.0 nm	25.298	22794547	50.08	270353

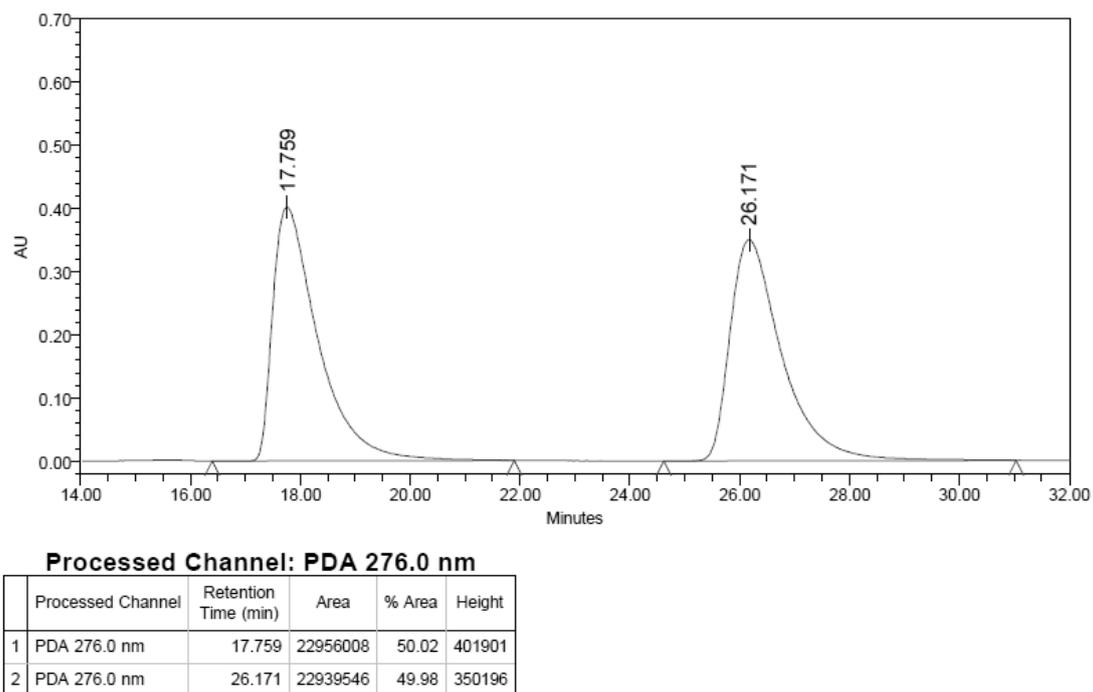
**Figura S2.19.** Muestra racémica de **19aa**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



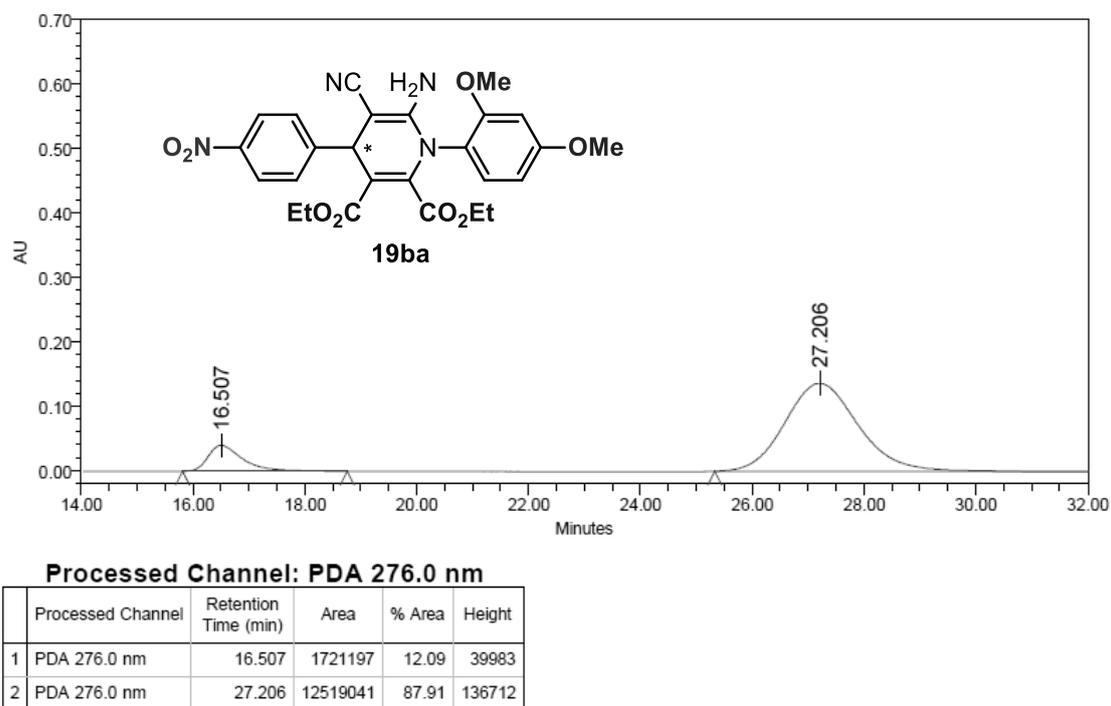
Processed Channel: PDA 254.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 254.0 nm	13.125	1431556	9.20	36022
2	PDA 254.0 nm	23.962	14134927	90.80	177901

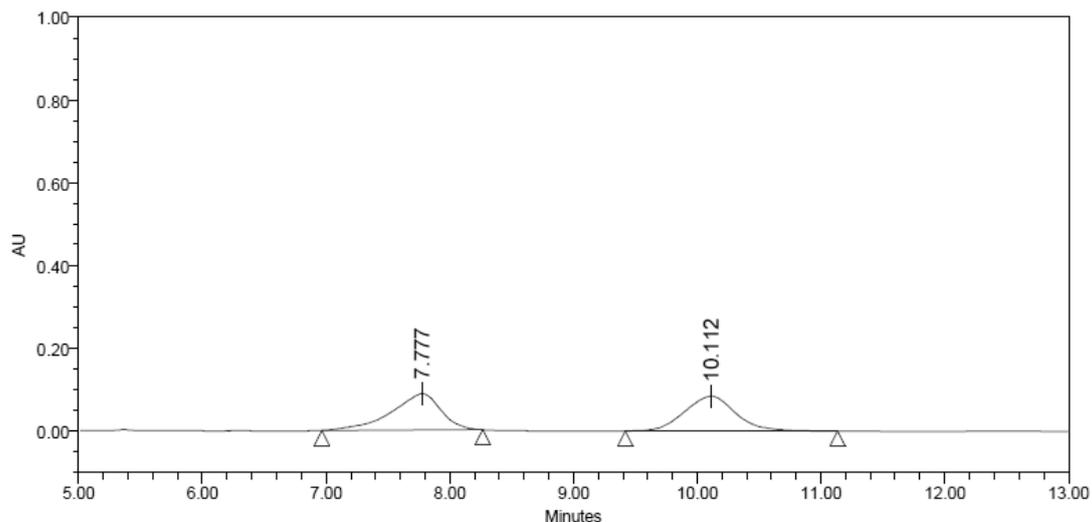
**Figura S2.20.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19aa**.



**Figura S2.21.** Muestra racémica de **19ba**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



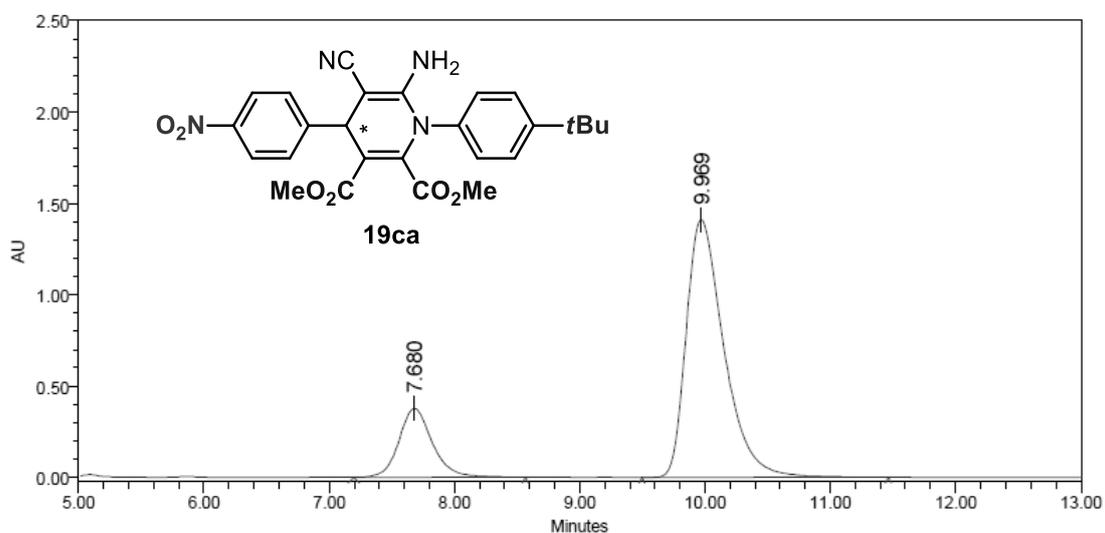
**Figura S2.22.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ba**.



Processed Channel: PDA 240.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 240.0 nm	7.777	2434520	50.06	87525
2	PDA 240.0 nm	10.112	2428216	49.94	84374

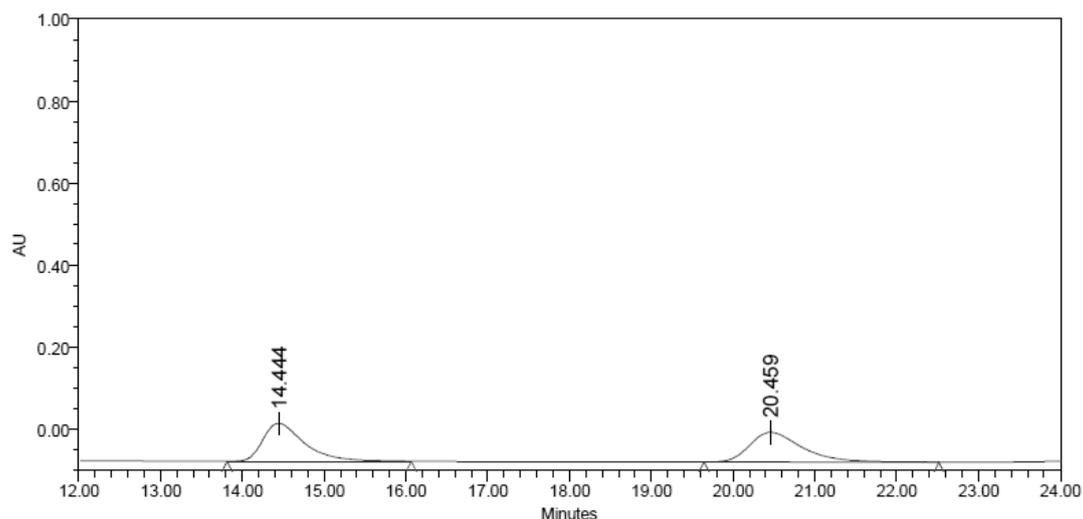
**Figura S2.23.** Muestra racémica de **19ca**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	7.680	6991534	19.15	377032
2	PDA 238.0 nm	9.969	29510600	80.85	1412424

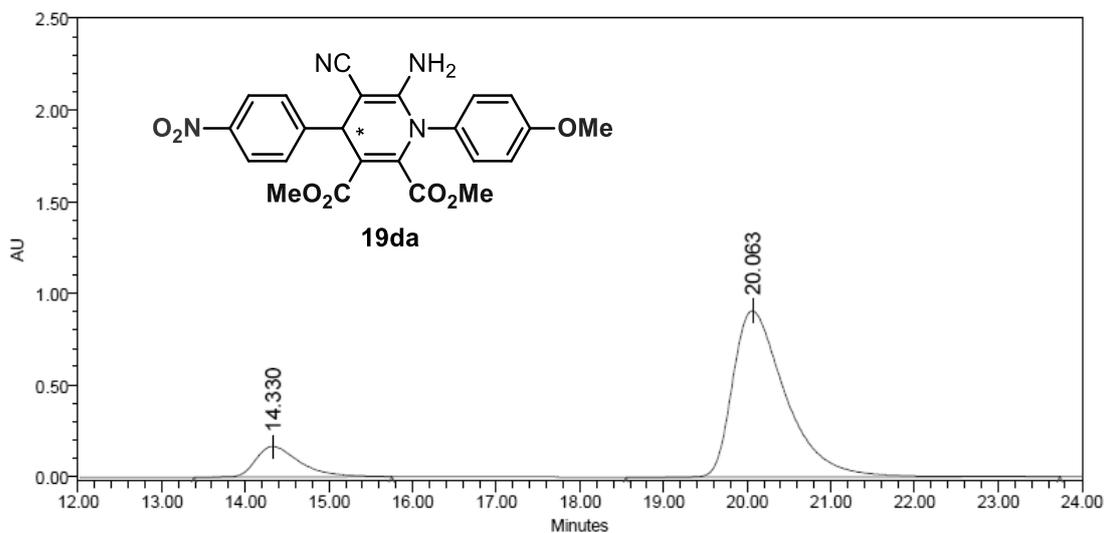
**Figura S2.24.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ca**.



Processed Channel: PDA 254.5 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 254.5 nm	14.444	3259119	49.96	92575
2	PDA 254.5 nm	20.459	3264968	50.04	72596

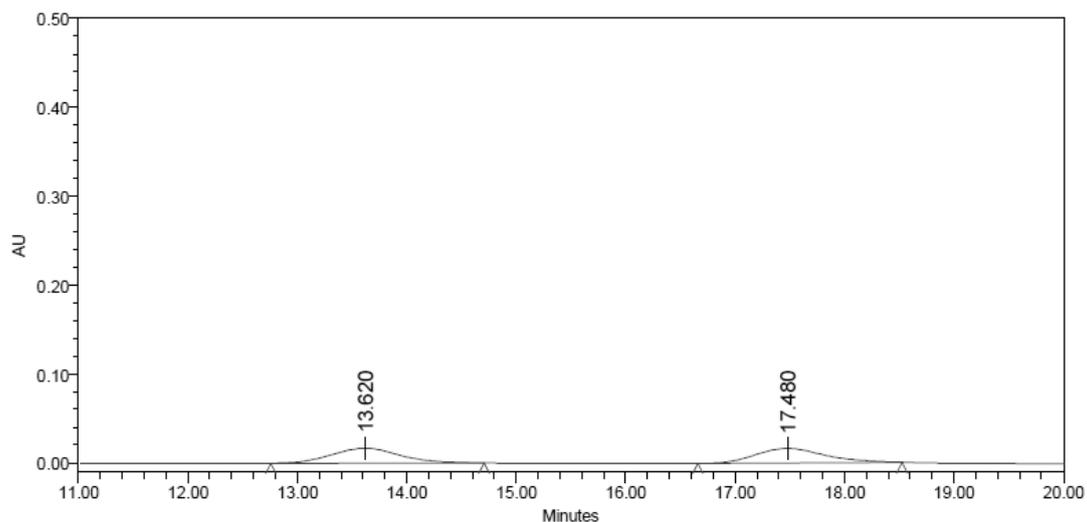
**Figura S2.25.** Muestra racémica de **19da**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	14.330	6032612	13.11	165957
2	PDA 238.0 nm	20.063	39967876	86.89	905739

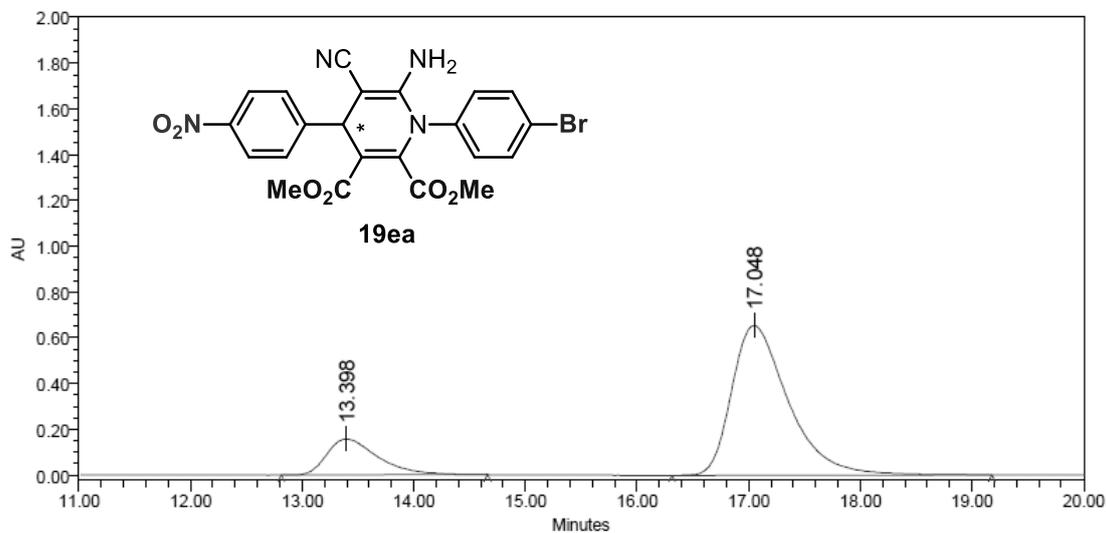
**Figura S2.26.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19da**.



Processed Channel: PDA 245.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 245.0 nm	13.620	731653	50.02	16697
2	PDA 245.0 nm	17.480	731124	49.98	16376

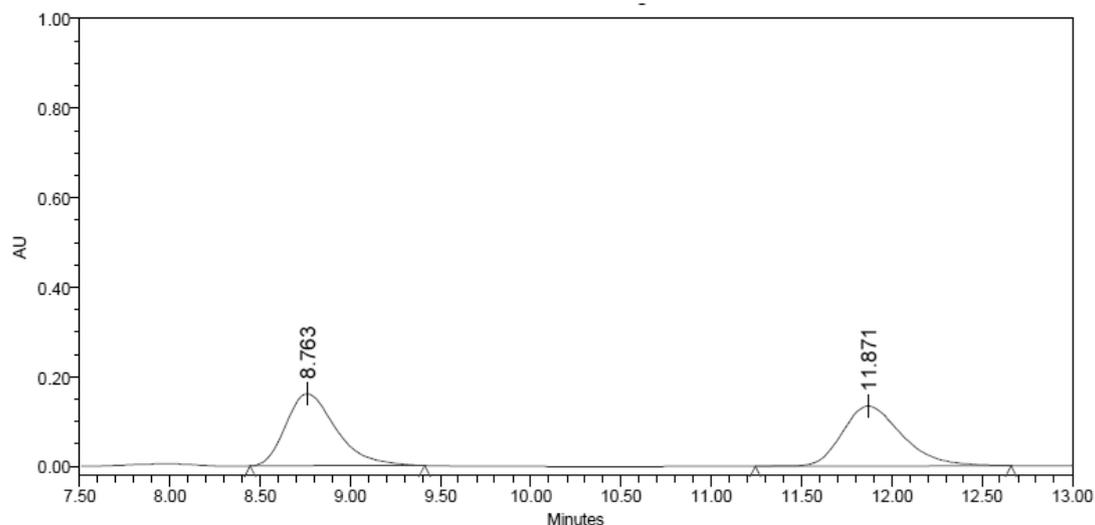
**Figura S2.27.** Muestra racémica de **19ea**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	13.398	5043575	17.96	157847
2	PDA 238.0 nm	17.048	23040667	82.04	653940

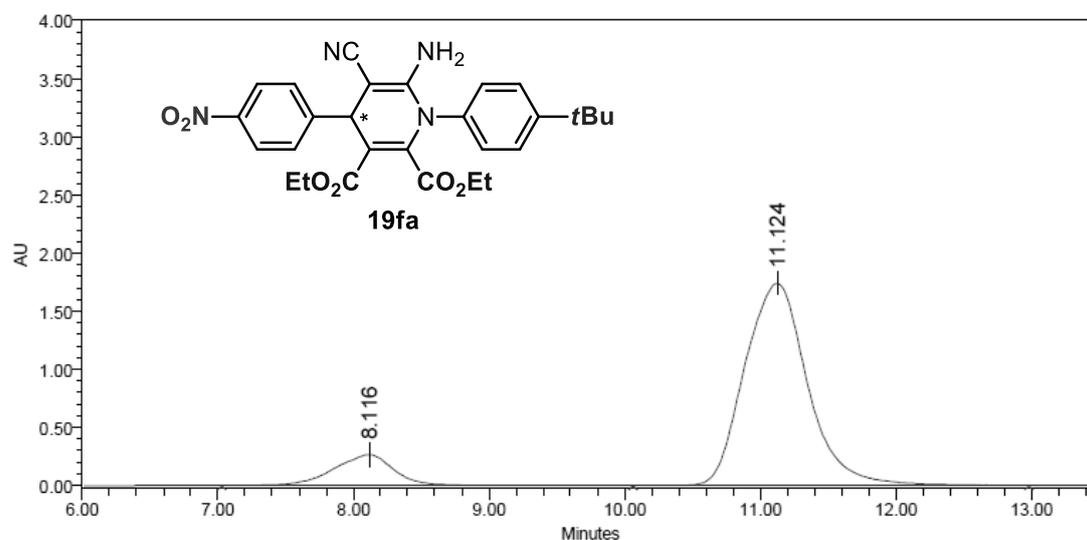
**Figura S2.28.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ea**.



Processed Channel: PDA 240.4 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 240.4 nm	8.763	3125752	50.47	160996
2	PDA 240.4 nm	11.871	3067491	49.53	133539

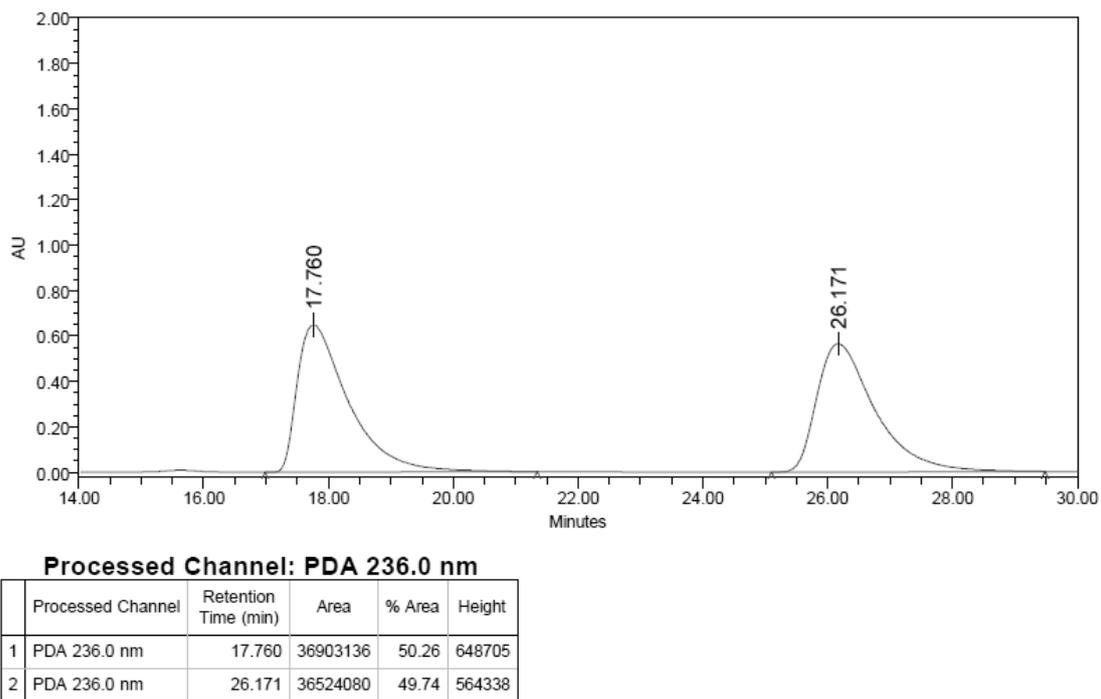
**Figura S2.29.** Muestra racémica de **19fa**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



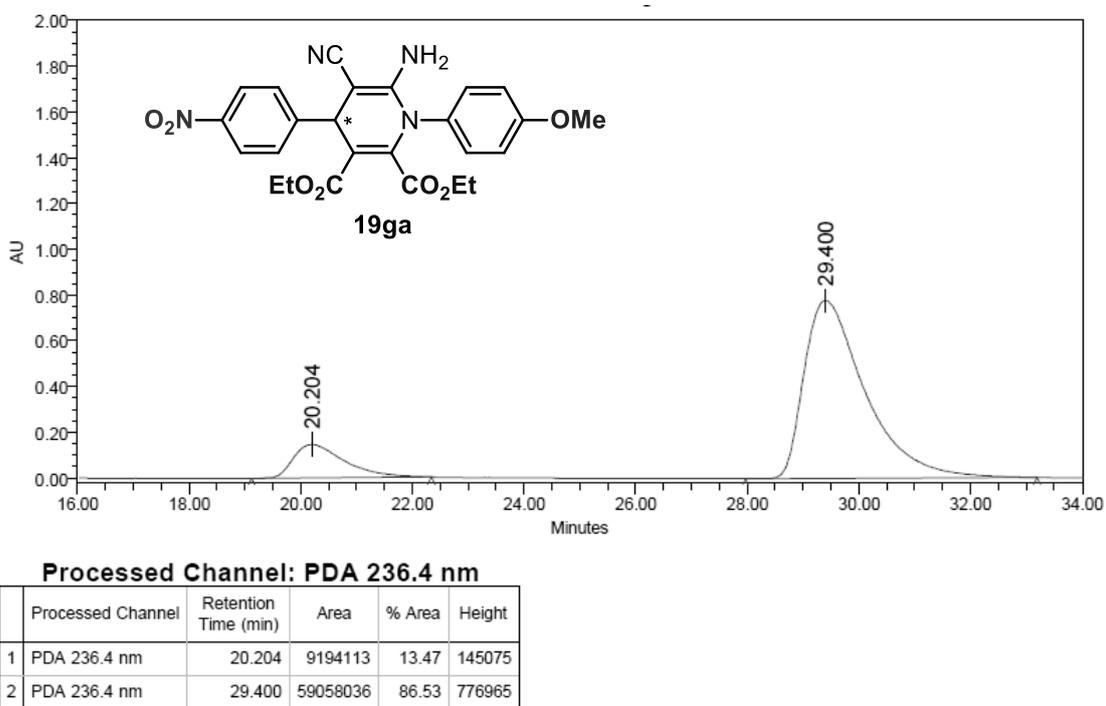
Processed Channel: PDA 254.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 254.0 nm	8.116	8367712	12.95	265441
2	PDA 254.0 nm	11.124	56267710	87.05	1738984

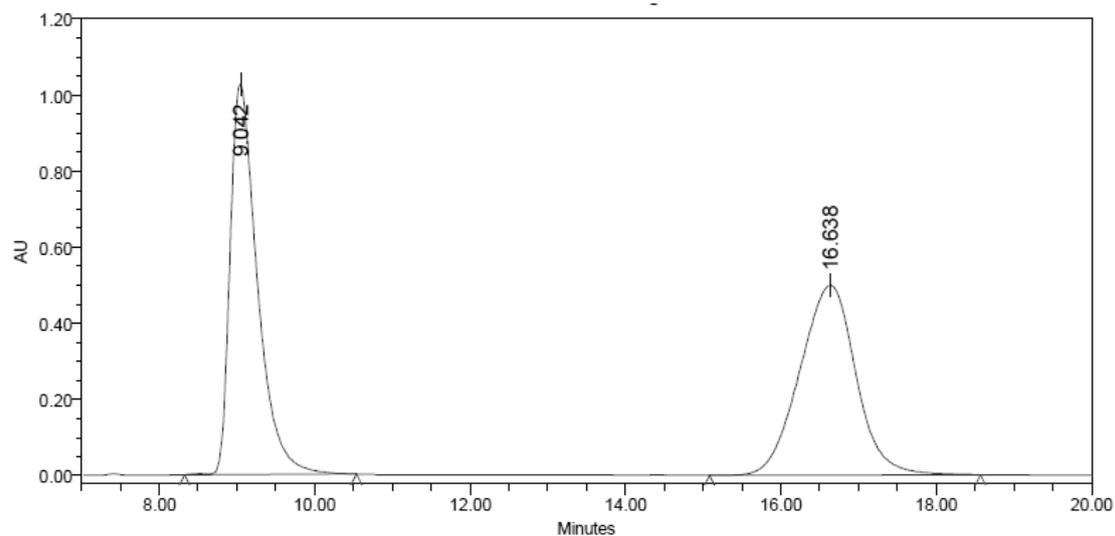
**Figura S2.30.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19fa**



**Figura S2.31.** Muestra racémica de **19ga**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



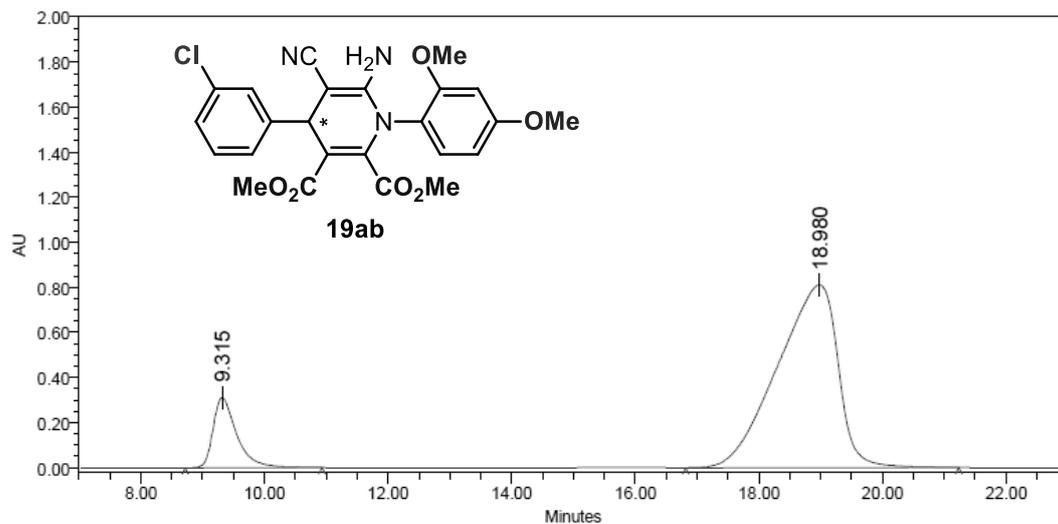
**Figura S2.32.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ga**.



Processed Channel: PDA 254.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 254.0 nm	9.042	24989406	49.91	1026520
2	PDA 254.0 nm	16.638	25084464	50.09	498808

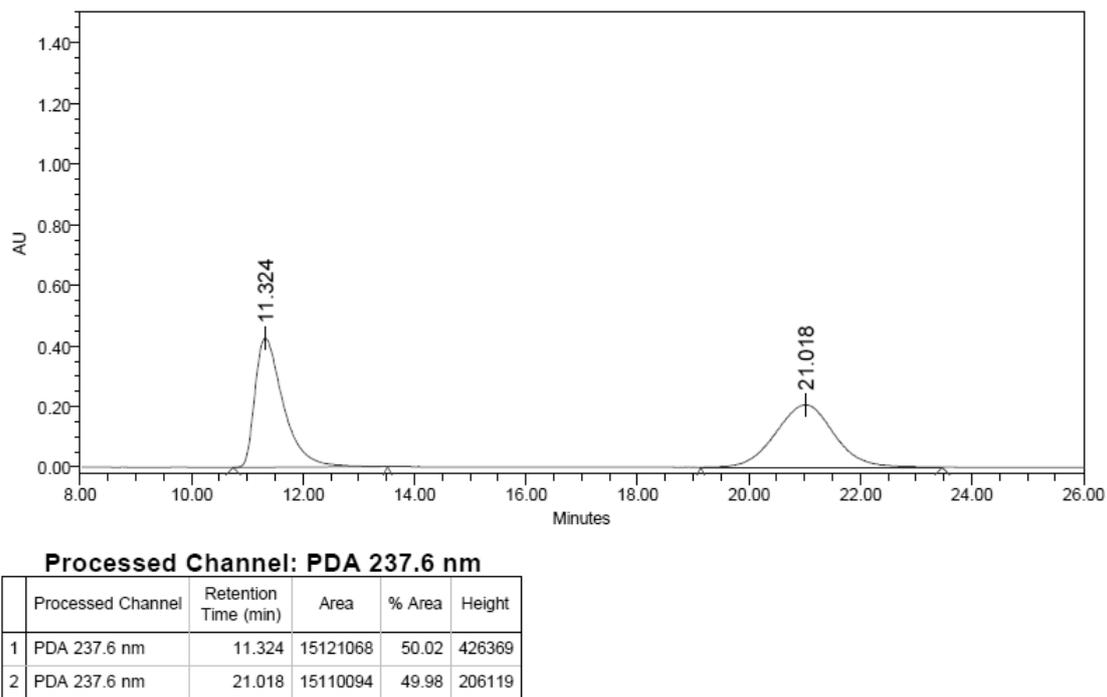
**Figura S2.33.** Muestra racémica de **19ab**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



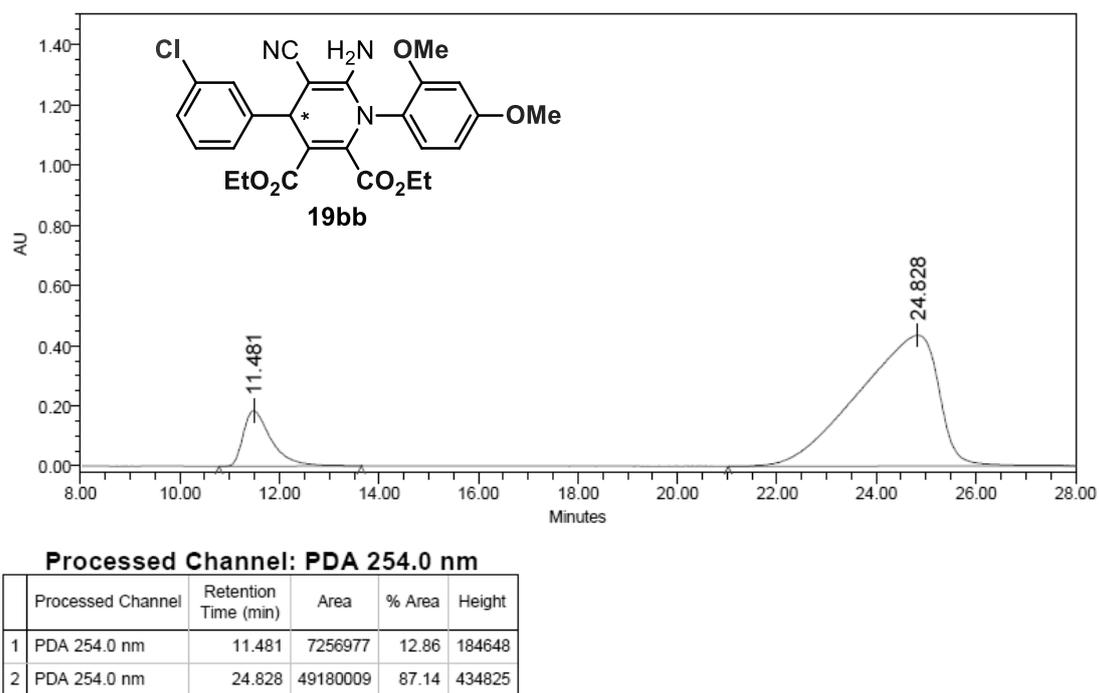
Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	9.315	8320479	13.05	311877
2	PDA 238.0 nm	18.980	55426884	86.95	811240

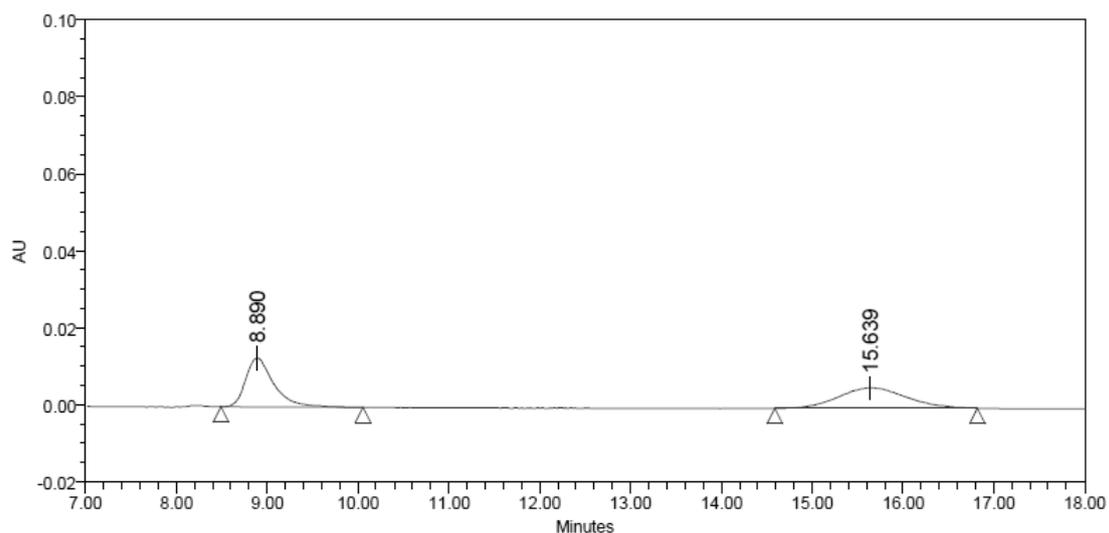
**Figura S2.34.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ab**.



**Figura S2.35.** Muestra racémica de **19bb**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



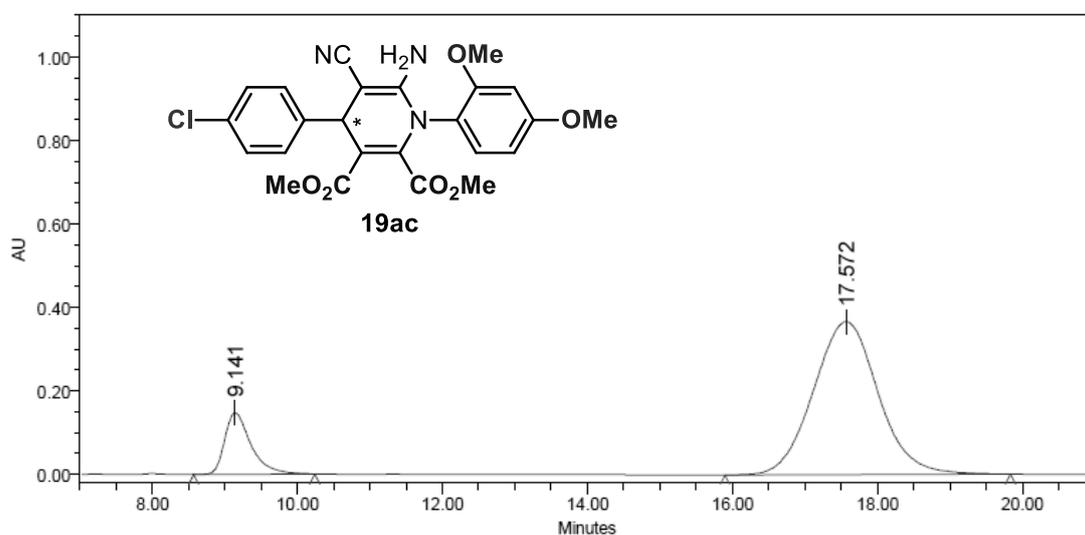
**Figura S2.36.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19bb**.



Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	8.890	273190	49.70	12735
2	PDA 238.0 nm	15.639	276481	50.30	5306

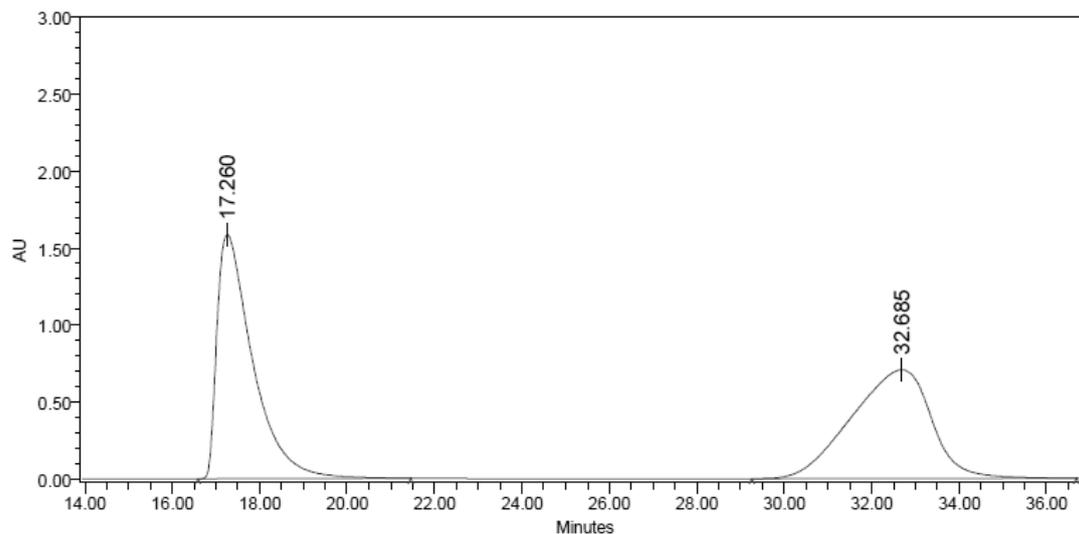
**Figura S2.37.** Muestra racémica de **19ac**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	9.141	3730873	14.05	148125
2	PDA 238.0 nm	17.572	22815260	85.95	366828

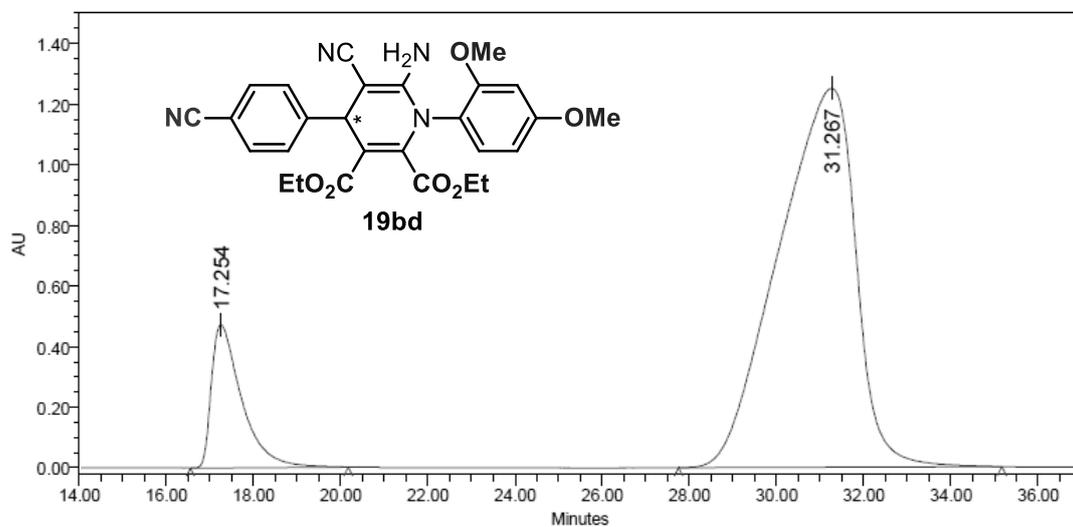
**Figura S2.38.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ac**.



Processed Channel: PDA 254.0 nm

Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1 PDA 254.0 nm	17.260	90062170	50.01	1588073
2 PDA 254.0 nm	32.685	90039590	49.99	707163

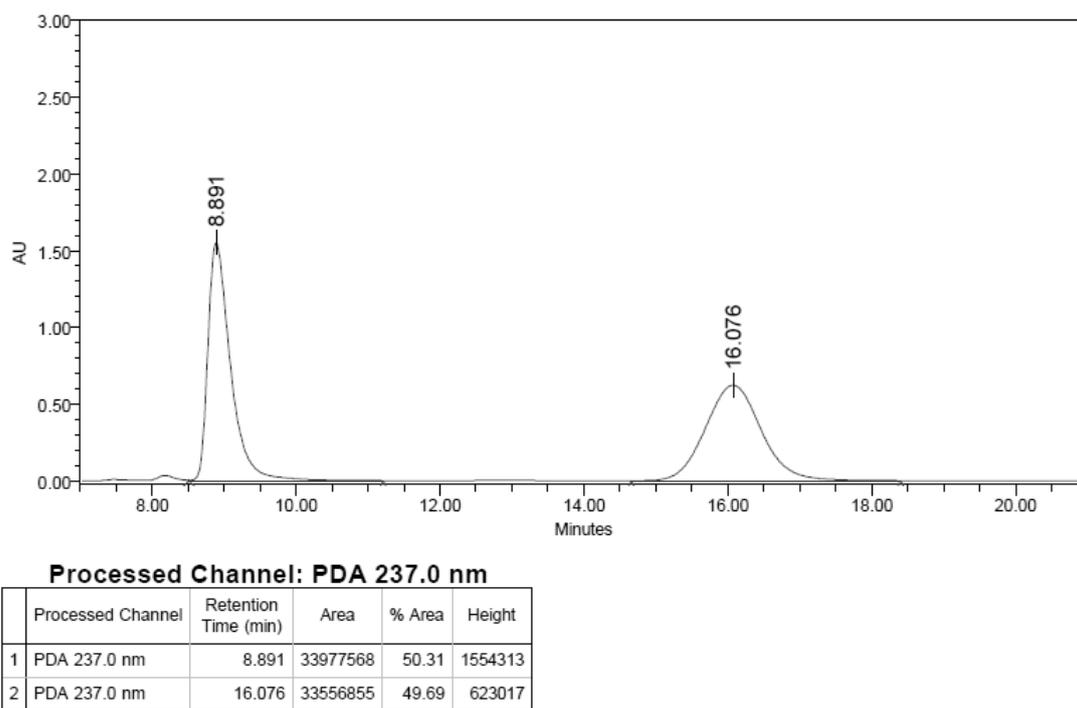
**Figura S2.39.** Muestra racémica de **19bd**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



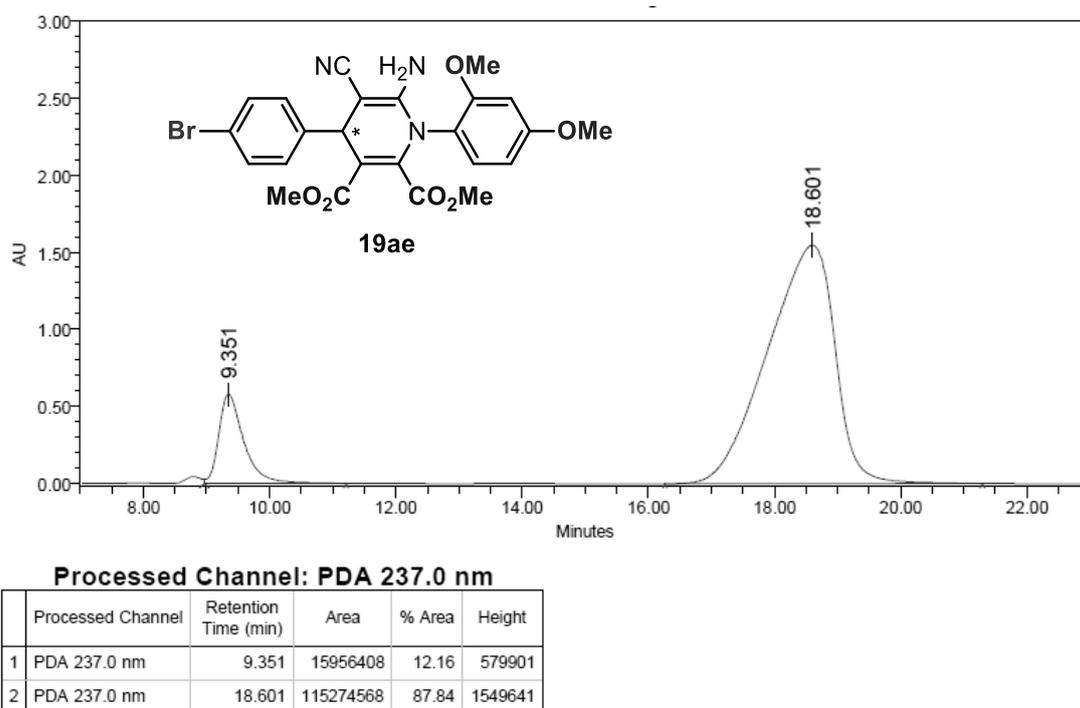
Processed Channel: PDA 254.0 nm

Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1 PDA 254.0 nm	17.254	22720720	12.83	471804
2 PDA 254.0 nm	31.267	154322611	87.17	1250342

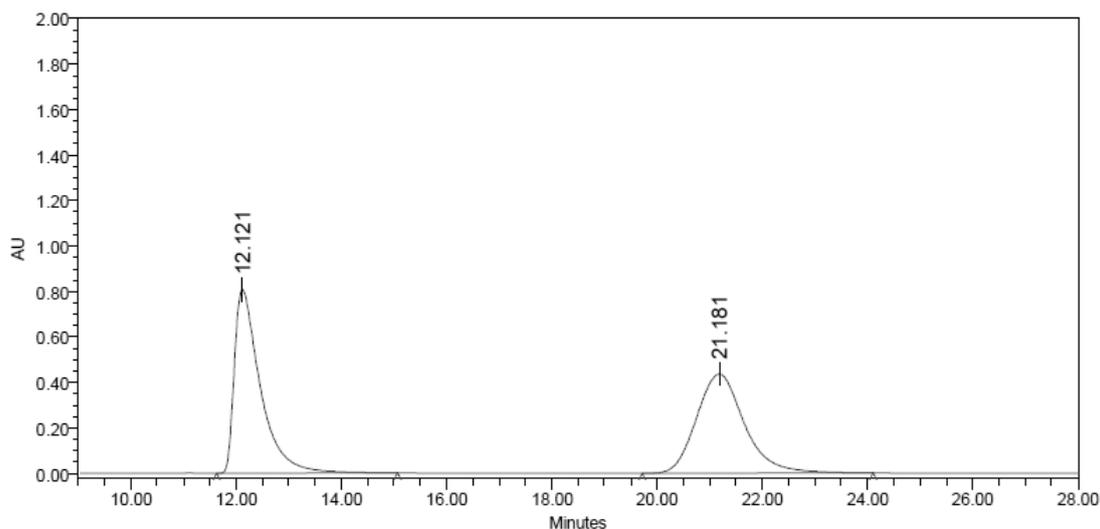
**Figura S2.40.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19bd**.



**Figura S2.41.** Muestra racémica de **19ae**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



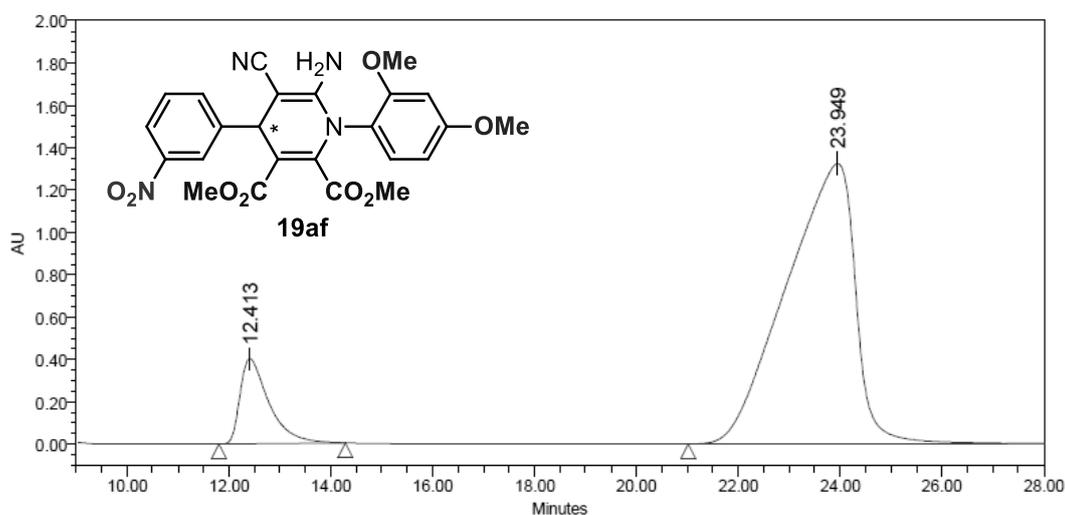
**Figura S2.42.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ae**.



Processed Channel: PDA 232.5 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 232.5 nm	12.121	27822928	50.17	807929
2	PDA 232.5 nm	21.181	27636939	49.83	436140

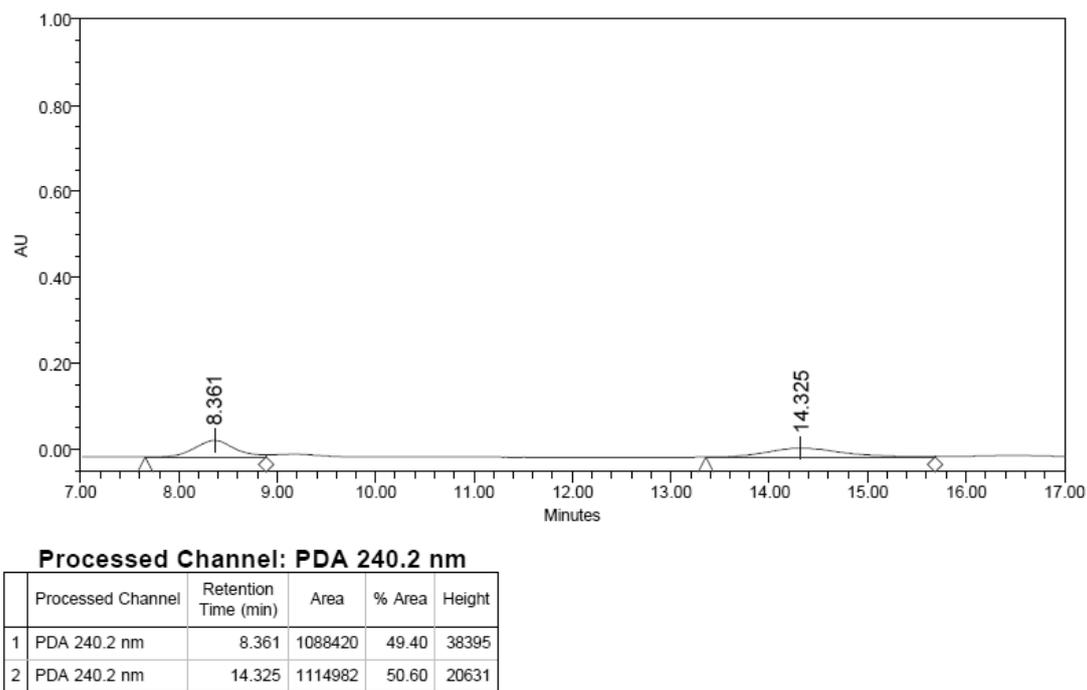
**Figura S2.43.** Muestra racémica de **19af**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



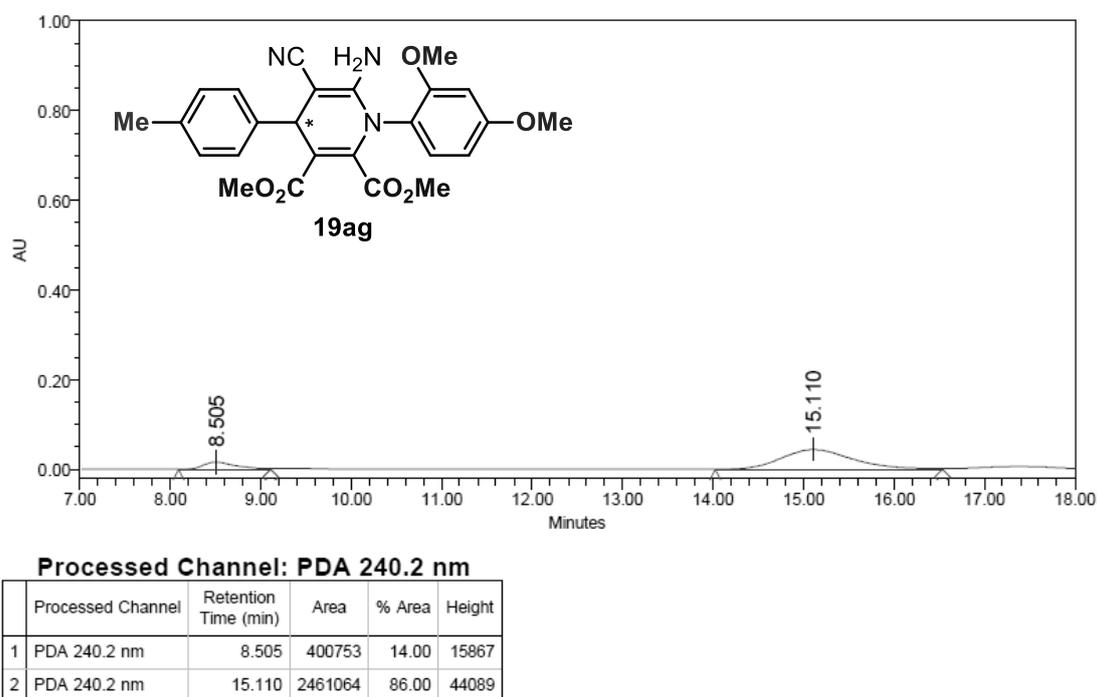
Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	12.413	15919866	11.30	401970
2	PDA 238.0 nm	23.949	124963700	88.70	1323596

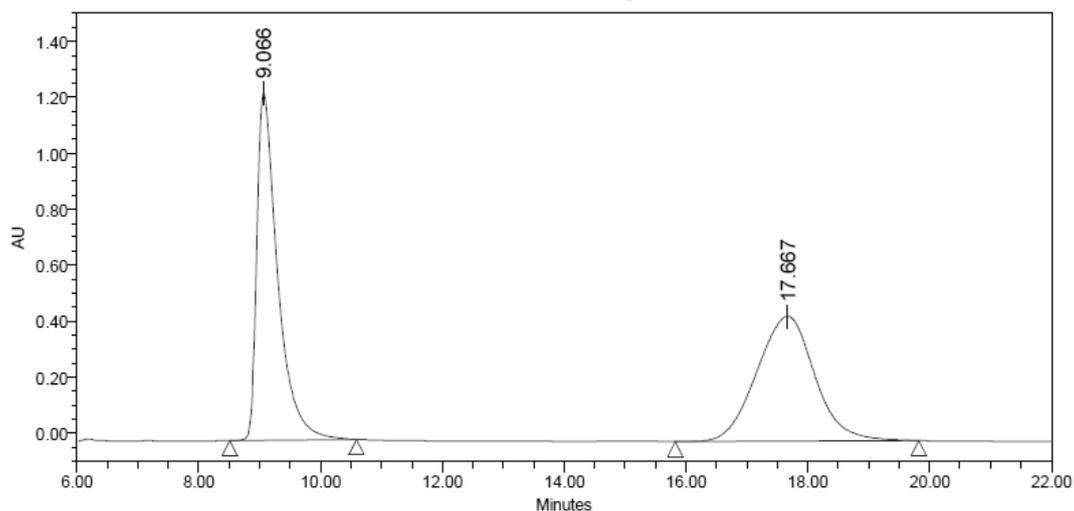
**Figura S2.44.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19af**.



**Figura S2.45.** Muestra racémica de **19ag**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



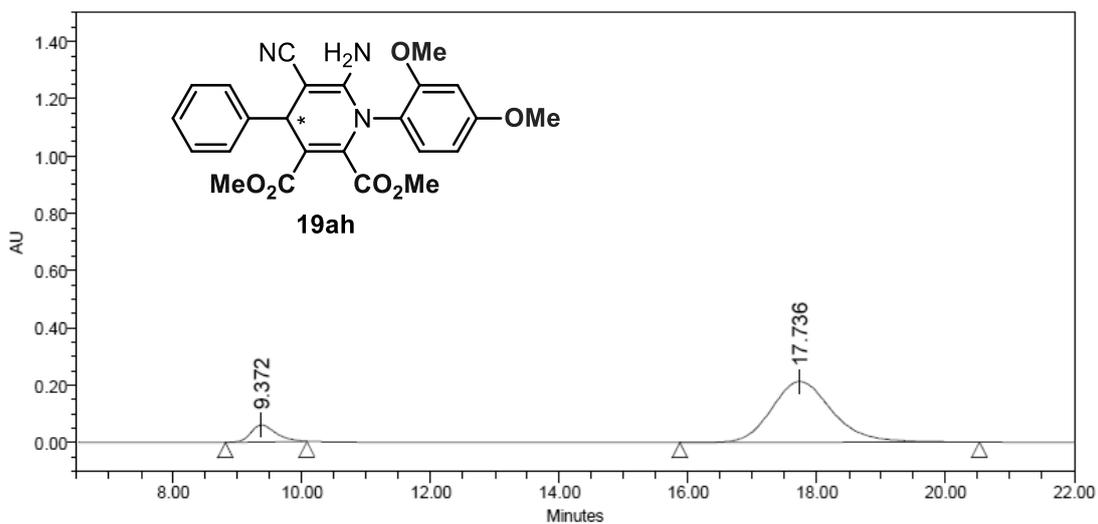
**Figura S2.46.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ag**.



Processed Channel: PDA 254.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 254.0 nm	9.066	29709112	50.20	1242058
2	PDA 254.0 nm	17.667	29468089	49.80	445698

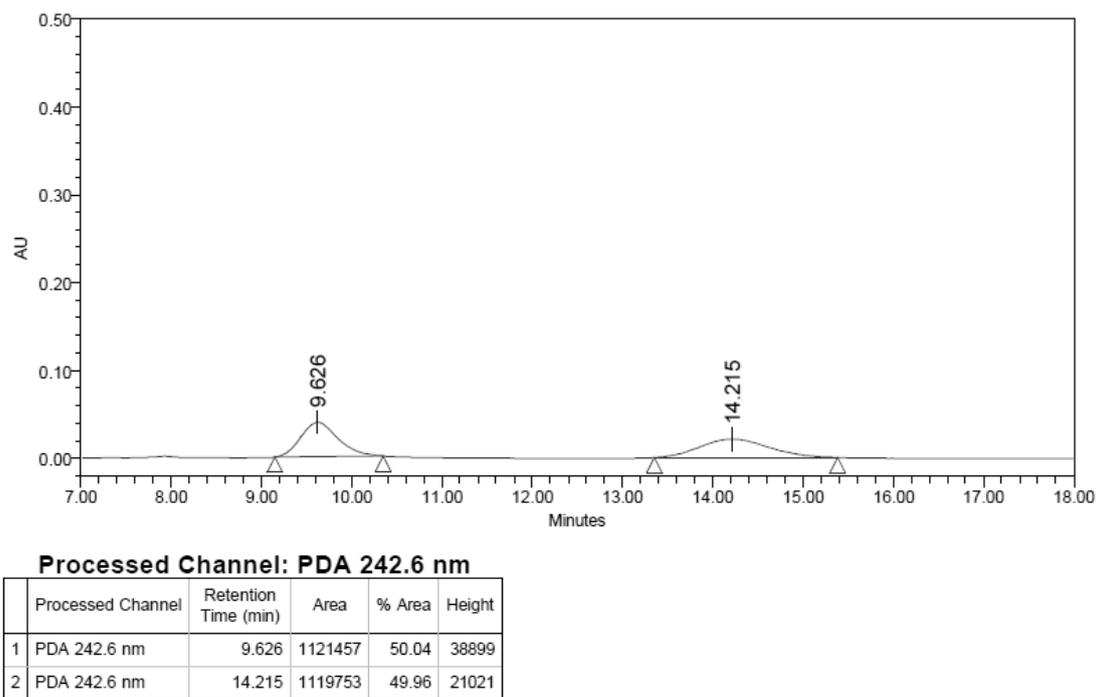
**Figura S2.47.** Muestra racémica de **19ah**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



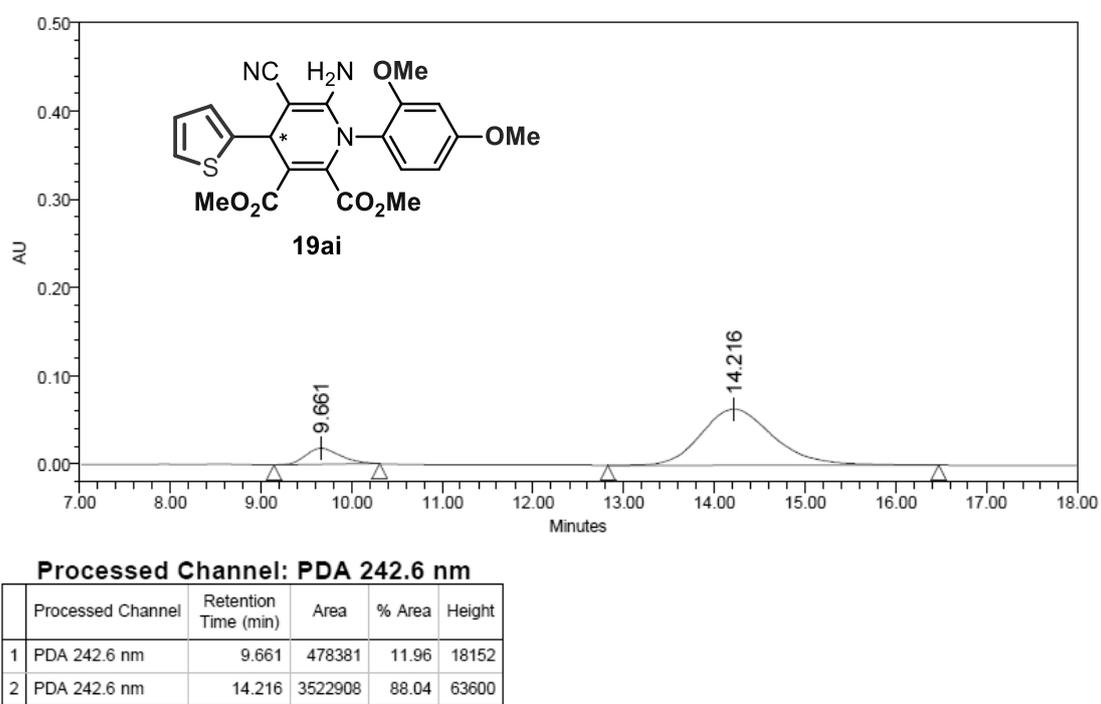
Processed Channel: PDA 238.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.0 nm	9.372	1575431	10.14	58800
2	PDA 238.0 nm	17.736	13957927	89.86	212142

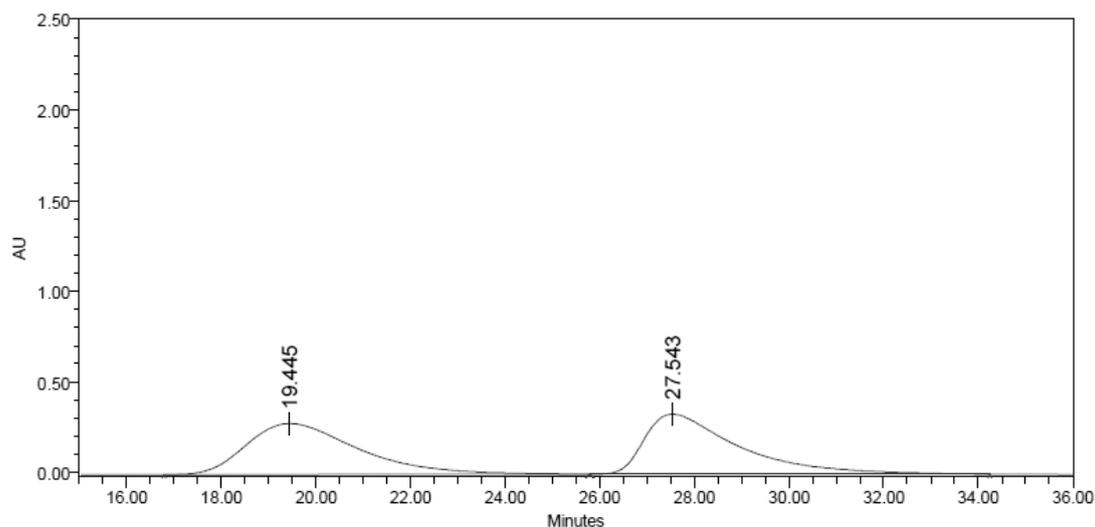
**Figura S2.48.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ah**.



**Figura S2.49.** Muestra racémica de **19ai**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



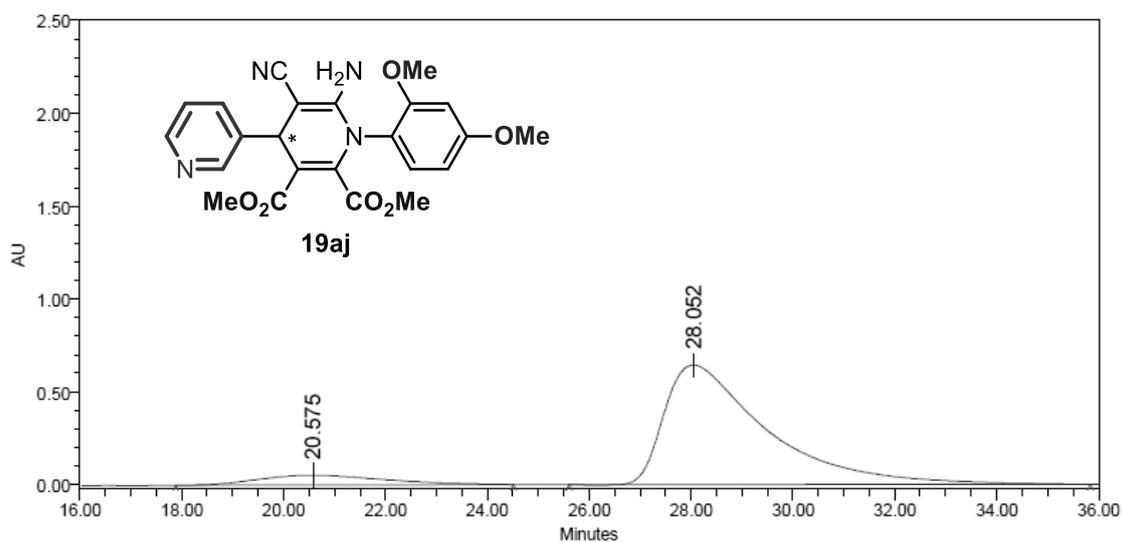
**Figura S2.50.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19ai**.



Processed Channel: PDA 238.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.7 nm	19.445	46605611	50.55	281342
2	PDA 238.7 nm	27.543	45583822	49.45	331463

**Figura S2.51.** Muestra racémica de **19aj**. Columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 238.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.7 nm	20.575	9004716	9.11	52600
2	PDA 238.7 nm	28.052	89822858	90.89	645048

**Figura S2.52.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **19aj**.

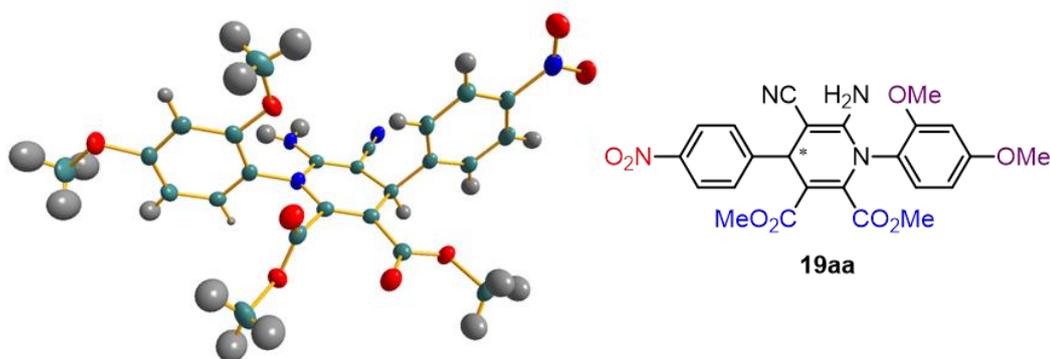
## Análisis de cristalografía de Rayos X

Tabla S2.1. Refinamiento estructural y datos del cristal para **19aa** y **19ae**.

Compuesto	19aa	19ae
Chemical Formula	C <sub>24</sub> H <sub>22</sub> N <sub>4</sub> O <sub>8</sub> ·iPrOH	C <sub>24</sub> H <sub>22</sub> BrN <sub>3</sub> O <sub>6</sub> ·CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>
Crystal habit	Colorless prism	Colorless prism
Crystal size:mm	0.23 x 0.22 x 0.12	0.36 x 0.26 x 0.20
Crystal system	Monoclinic	Triclinic
Space group	P2(1):c	P-1
a:Å	a = 10.984(2)	a = 9.4260(19)
b:Å	b = 17.208(3)	b = 11.425(2)
c:Å	c = 15.519(6)	c = 13.494(3)
α:°	90	83.39(3)
β:°	112.98(2)	72.61(3)
γ:°	90	71.28(3)
V: Å <sup>3</sup>	2700.5(12)	1313.2(5)
Z	4	2
Dc:Mg m <sup>-3</sup>	1.364 Mg:m <sup>3</sup>	1.551 Mg:m <sup>3</sup>
M	554.55	613.28
F(000)	1168	624
T:°C	-173(2)	-173(2)
2θmax:°	51	51
μ(Mo-Kα):mm <sup>-1</sup>	0.104	1.814
Transmission	0.9765-0.9877	0.5612-0.7130
Reflections collected	21061	30811

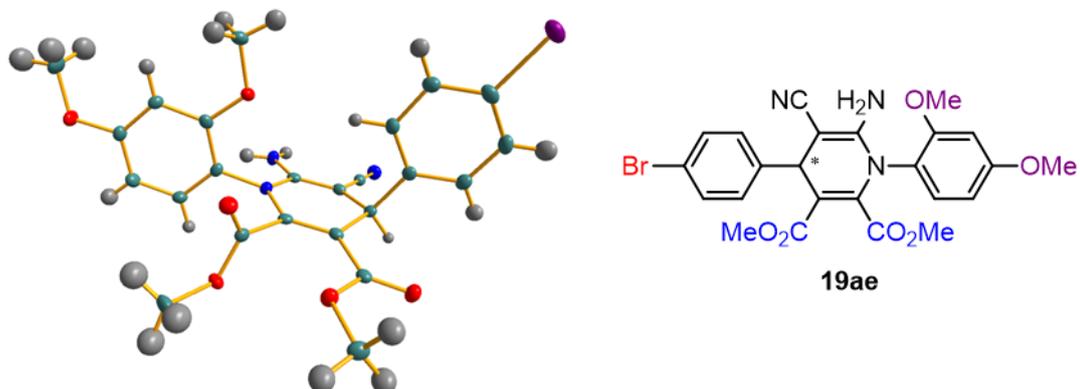
Independent reflections	5016	4882
$R_{\text{int}}$	0.0381	0.0311
$R (I > 2\sigma(I))$	0.0431	0.0228
wR (all data)	0.1064	0.0560
No. of refl. Used	5016	4882
No. of parameters	411	378
No. of restraints	0	0
Goodness-of-fit on $F^2$	1.034	1.031
Max.:Min. $\Delta\rho$ :e.Å <sup>-3</sup>	0.271:-0.184	0.333:-0.313

**Figura S2.53.** Estructura del compuesto **19aa**.<sup>82</sup> Los elipsoides de parámetros de desplazamiento representan superficies de probabilidad del 50 %.



<sup>82</sup> CCDC 1528183 (**19aa**) contiene los datos cristalográficos suplementarios para este compuesto.

**Figura S2.54.** Estructura del compuesto **19ae**.<sup>83</sup> Los elipsoides de parámetros de desplazamiento representan superficies de probabilidad del 50 %.



<sup>83</sup> CCDC 1529192 (**19ae**) contiene los datos cristalográficos suplementarios para este compuesto.

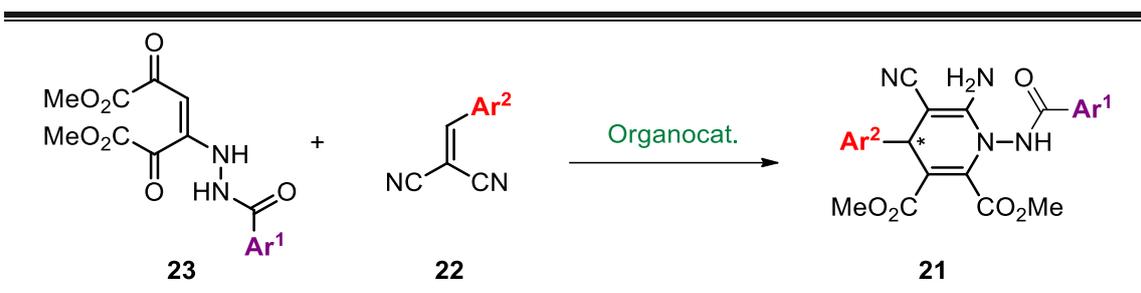


## 2.3 Primera síntesis asimétrica organocatalítica de 1-benzamido-1,4-dihidropiridinas<sup>84</sup>

### 2.3.1 Objetivos

Siguiendo la estela de nuestros trabajos previos<sup>67,75</sup> e inspirados por el trabajo publicado por Yan y colaboradores que se han descrito en la introducción,<sup>74</sup> el objetivo principal de este estudio es extender los procedimientos de síntesis de 1,4-DHPs usando derivados de benzohidrazida **20** y así obtener una mayor diversidad estructural (Esquema 2.14).

El enfoque para este objetivo es desarrollar un nuevo procedimiento enantioselectivo organocatalítico, utilizando reactivos preformados para tener un mayor control sobre el ataque nucleófilo, en vez de una versión multicomponente como la de la versión no enantioselectiva de Yan y colaboradores. Por nuestra experiencia previa, partimos de la base de que las enaminas **23** generadas a partir de hidrazidas podrían tener la misma reactividad que las generadas por anilinas. En este caso, se utilizarán también organocatalizadores con activación no covalente por medio de enlaces de hidrógeno. En concreto, se probarán de nuevo catalizadores de tipo aceptor de enlace de hidrógeno partiendo de la hipótesis de que estos nuevos sustratos pueden seguir el mismo mecanismo de reacción que el propuesto en los trabajos previos.<sup>67,75</sup>

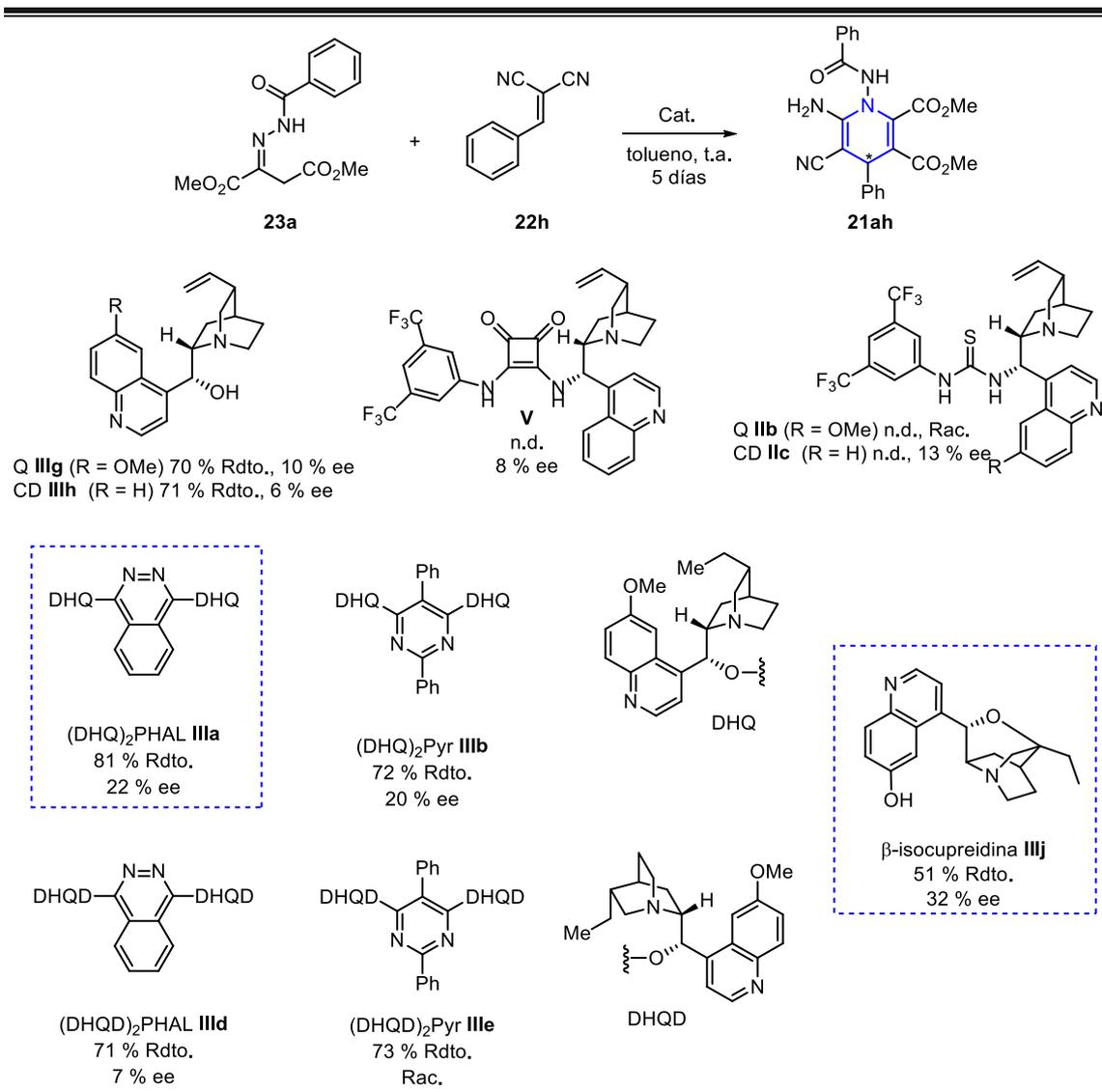


**Esquema 2.14.** Sistema a optimizar como objetivo principal de este trabajo.

<sup>84</sup> F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera, *Molecules* **2018**, 23, 2692.

### 2.3.2 Discusión de los resultados

En primer lugar y con el fin de comprobar la hipótesis previamente expuesta en los objetivos, se ensayaron diferentes organocatalizadores quirales con una funcionalidad básica en su estructura (**IIIb-c**, **IIIa-b,d-e,g-h,j** y **V**), en una reacción modelo entre la hidrazona **23a** y el alquilidenmalononitrilo **22h** (Esquema 2.15).



**Esquema 2.15.** Organocatalizadores quirales ensayados para la síntesis de las 1,4-DHPs quirales **21**.

Como aparece en el Esquema 2.15, el valor más interesante de enantioselectividad se obtuvo con la β-isocupreidina **IIIj** (32 % ee), mientras que la mejor reactividad se obtuvo con (DHQ)<sub>2</sub>PHAL **IIIa** (81 % rdto.). Estos resultados hicieron que se continuara con ambos catalizadores **IIIa** y **IIIj** en el proceso de optimización de los parámetros de reacción (Tabla 2.3).

**Tabla 2.3.** Optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de 1-benzamido-1,4-dihidropiridinas **21**.<sup>a</sup>

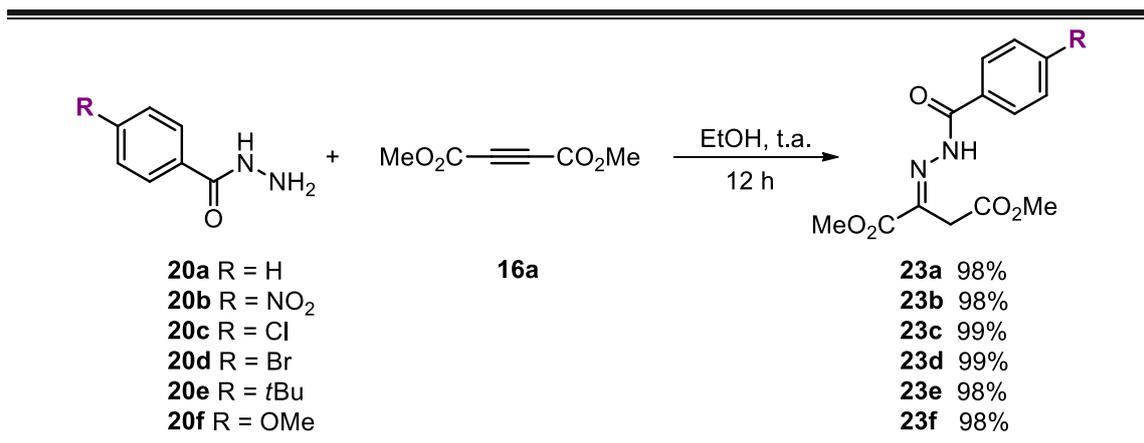
Entrada	Disolvente (mL)	23a (mmol)	22h (mmol)	Cat. (mol%)	Rdto. (%) <sup>b</sup>	ee (%) <sup>c</sup>
1	MeCN (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIa</b> (20)	>95	7
2	MeCN (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIj</b> (20)	56	10
3	AcOEt (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIa</b> (20)	72	20
4	AcOEt (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIj</b> (20)	54	40
5	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIa</b> (20)	67	15
6	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIj</b> (20)	35	Rac.
7	CHCl <sub>3</sub> (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIa</b> (20)	44	24
8	CHCl <sub>3</sub> (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIj</b> (20)	49	33
9	Et <sub>2</sub> O (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIa</b> (20)	26	25
10	Et <sub>2</sub> O (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIj</b> (20)	39	40
11	THF (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIa</b> (20)	54	17
12	THF (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIj</b> (20)	54	50
13	MeOH (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIa</b> (20)	>95	Rac.
14	MeOH (0.5)	0.1	0.1	<b>IIIj</b> (20)	77	Rac.
15	THF (0.5)	0.1	0.15	<b>IIIj</b> (20)	61	50
16	THF (0.5)	0.15	0.1	<b>IIIj</b> (20)	51	49

17	THF (0.25)	0.1	0.15	<b>IIIj</b> (20)	58	46
18	THF (1)	0.1	0.15	<b>IIIj</b> (20)	48	52
19	THF (0.5)	0.1	0.15	<b>IIIj</b> (10)	57	48
20	THF (0.5)	0.1	0.15	<b>IIIj</b> (30)	61	46

<sup>a</sup> A no ser que se indique lo contrario: A una mezcla del catalizador **IIIa** o **IIIj** (20 mol%) y la hidrazona **23a** (0.1 mmol), en el disolvente correspondiente (0.5 mL), se adiciona el alquilidenmalononitrilo **22h** (0.1 mmol). <sup>b</sup> Rendimiento tras columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a *n*hexano:Et<sub>2</sub>O 0:100). <sup>c</sup> Exceso enantiomérico determinado por HPLC quiral (Daicel Chiralpack IC, *n*hexano:*i*PrOH 70:30, 1 mL/min).

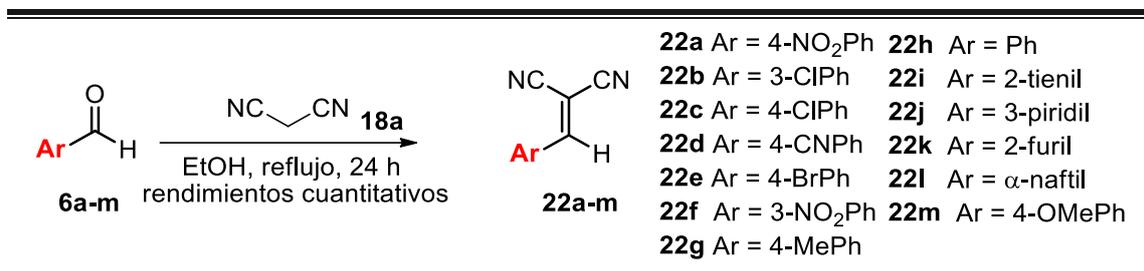
Como se muestra en la Tabla 2.3. se analizaron parámetros como la concentración de la reacción, la cantidad de cada reactivo y del catalizador. En general, el catalizador **IIIa** aportaba un mayor rendimiento en algunos disolventes, como MeCN, AcOEt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> o MeOH (Tabla 2.3, entradas 1, 3, 5 y 13), en comparación con el catalizador **IIIj** (Tabla 2.3, entradas 2, 4, 6 y 14). Sin embargo, las mejores enantioselectividades se produjeron con el catalizador **IIIj** en casi todos los disolventes (excepto en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Tabla 2.3, entrada 6). Con la intención de llegar a un compromiso entre rendimiento y enantioselectividad se seleccionó como disolvente el THF (Tabla 2.3, entradas 12, 15-20). La disminución de la cantidad de disolvente condujo a una pequeña caída en el ee con un interesante aumento en el rendimiento (Tabla 2.3, entrada 17). En cambio, se observa el efecto contrario al diluir la reacción (Tabla 2.3, entrada 18). Variar la carga catalítica no produjo diferencias significativas (Tabla 2.3, entradas 19 y 20). El aumento de la cantidad de los reactivos **23a** y **22h** dio lugar a resultados similares en ambos casos (Tabla 2.3, entradas 15 y 16), aunque el uso de 1.5 equivalentes de **22h** condujo a una ligera mejora en el rendimiento (Tabla 2.3, entrada 15). Por todo esto, se consideraron las condiciones de la entrada 15 como las óptimas para continuar con la extensión del protocolo a otros reactivos.

Sintetizamos varios derivados de hidrazona **23** siguiendo el procedimiento mostrado en el Esquema 2.16.

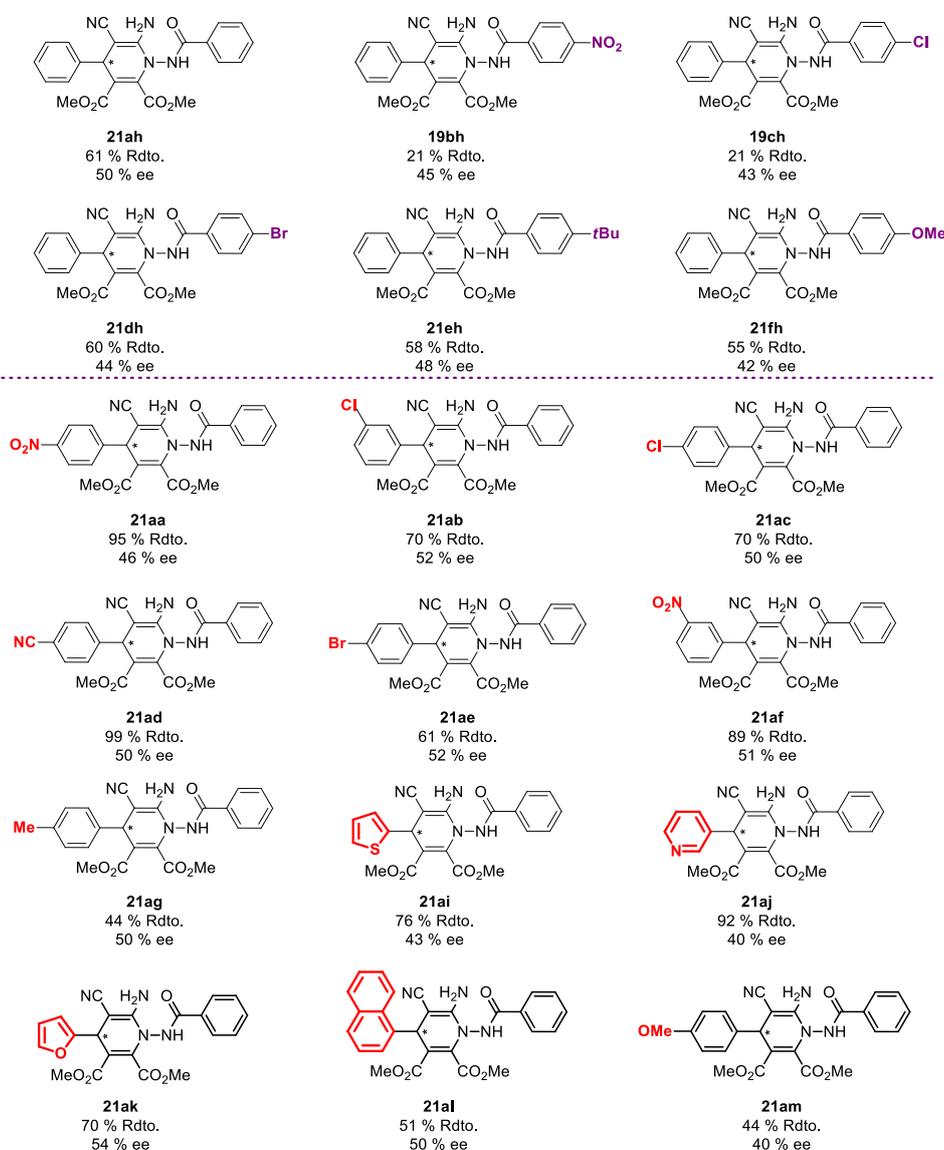
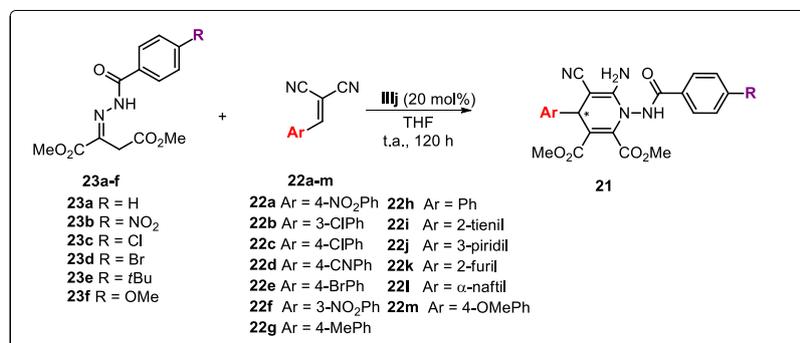

**Esquema 2.16.** Síntesis de las hidrazonas **23**.

Las hidrazonas **23** se sintetizaron tras 12 horas de reacción en etanol a temperatura ambiente con diferentes derivados de benzohidrazida **20**, para estudiar posteriormente el efecto de la electrónica de los sustituyentes en los productos finales. Se obtuvieron los compuestos objetivo **23** con rendimientos cuantitativos (Esquema 2.16). De manera interesante, en la reacción de las hidrazidas **20** con dimetil acetilendicarboxilato **16a**, tras observar los espectros de RMN de los productos sintetizados, se confirmó que los productos aparecían en su forma de hidrazona **23**, al contrario que en los trabajos anteriores con anilinas. Este hecho puede suponer un problema a posteriori si existe un equilibrio dinámico entre las formas imina y enamina de estos nucleófilos, ya que esto podría reducir la rigidez de los estados de transición en el mecanismo, conduciendo a una menor enantioselectividad.

Además, se prepararon varios derivados de alquilidenmalononitrilo **22** siguiendo el procedimiento general del Esquema 2.17, obteniendo rendimientos cuantitativos.


**Esquema 2.17.** Síntesis de derivados de alquilidenmalononitrilo **22**.

Con las condiciones óptimas de reacción y los sustratos necesarios, se sintetizó una serie de derivados de 1-benzamido-1,4-dihidropiridina **21**, como se muestra en el Esquema 2.18.



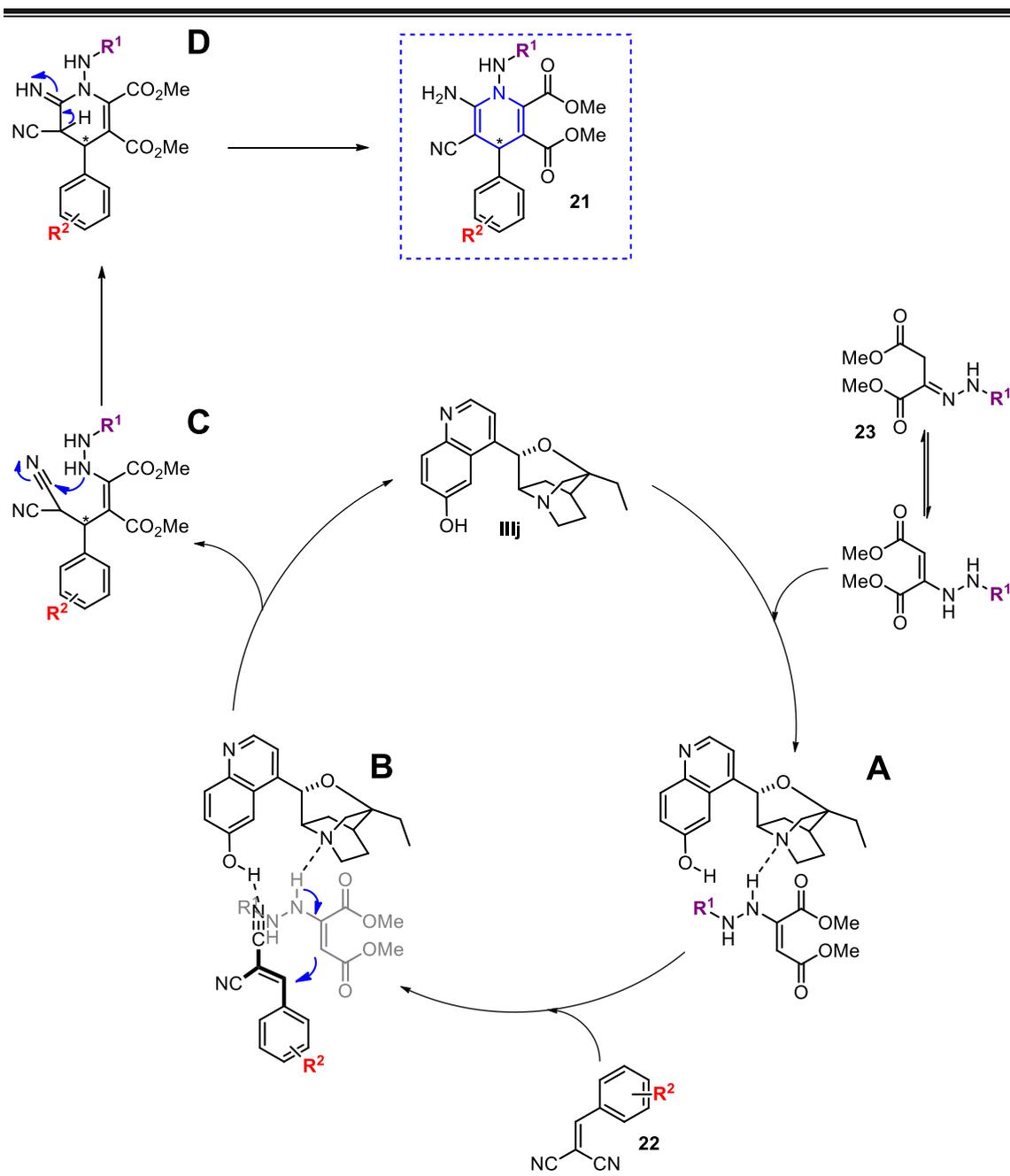
**Esquema 2.18.** Extensión del procedimiento para la síntesis de 1-benzamido-1,4-dihidropiridinas **21**.

Los productos finales **21** se obtuvieron con altos rendimientos (hasta 99 %) y con moderadas pero prometedoras enantioselectividades (hasta 54 %) ya que este trabajo representa el primer ejemplo quiral para la obtención de 1-benzamido-1,4-dihidropiridinas enantioméricamente enriquecidas. Los resultados sugieren una dependencia de la reactividad del sistema con las propiedades electrónicas del anillo aromático de los alquilidenmalononitrilos **22**, ya que grupos electroattractores (4-NO<sub>2</sub>, 3-NO<sub>2</sub>, 3-Cl, 4-Cl, 4-Br o 4-CN) o anillos heteroaromáticos (2-furil, 2-tienil, 3-piridil) produjeron mejores resultados que los obtenidos con grupos electrodonores (4-Me y 4-OMe) o en ausencia de sustituyentes ( $\alpha$ -naftil o Ph). Por otro lado, la enantioselectividad parece no tener una clara relación con dichas propiedades electrónicas. Además, al cambiar los sustituyentes en el anillo aromático de las hidrazonas **23** no se producen diferencias significativas ni en rendimiento ni en selectividad en los productos.

Basado en nuestros trabajos previos y en nuestra experiencia en el uso de organocatalizadores cinchona,<sup>85</sup> proponemos el mismo mecanismo de reacción que tenía lugar anteriormente (Esquema 2.19).

---

<sup>85</sup> a) A. Ricci, D. Pettersen, L. Bernardi, F. Fini, M. Fochi, R. P. Herrera, V. Sgarzani, *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 1037-1040; b) D. Pettersen, M. Marcolini, L. Bernardi, F. Fini, R. P. Herrera, V. Sgarzani, A. Ricci, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6269-6272; c) L. Bernardi, F. Fini, R. P. Herrera, A. Ricci, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 375-380.



**Esquema 2.19.** Propuesta sobre el mecanismo de reacción.

Así, primero tendría lugar la activación por parte del catalizador de la enamina generada *in situ* a partir de la hidrazona **23** (Esquema 2.19, **A**), seguida de la adición Michael del sistema enamina-catalizador sobre el alquilidenmalononitrilo **22** (Esquema 2.19, **B**). A continuación, se produciría una ciclación intramolecular (Esquema 2.19, **C**) y finalmente una tautomerización (Esquema 2.19, **D**) para obtener los derivados de 1-benzamido-1,4-dihidropiridina **21**. No obstante, para tratar de elucidar el comportamiento más exacto del catalizador **IIIj** en nuestro sistema, son necesarios más experimentos que se llevarán a cabo en nuestro grupo de investigación.

### 2.3.3 Conclusiones

En resumen, se ha desarrollado la primera síntesis organocatalítica enantioselectiva para la síntesis de 1-benzamido-1,4-dihidropiridinas quirales. Los productos finales se generaron con altos rendimientos y prometedores valores de exceso enantiomérico por primera vez, usando condiciones suaves y con una metodología sencilla. Serán necesarios estudios mecanísticos adicionales para entender y probar el rol de la  $\beta$ -isocupreidina en este proceso. Además, se están llevando a cabo en nuestro laboratorio nuevos estudios con el fin de mejorar la enantioselectividad del modelo y estudiar las propiedades biológicas derivadas de estos compuestos.

### 2.3.4 Parte experimental

#### Procedimientos experimentales generales e instrumentación

La purificación de los productos de reacción se realiza mediante columna cromatográfica usando sílica gel (0.063-0.200 mm). La cromatografía de capa fina para el seguimiento de las reacciones se realizó en placas de sílica gel 60-F de 0.25 mm. Las medidas de espectrometría de masas de alta resolución se realizaron con el método de ionización ESI, en un instrumento de tipo MicroTof-Q. Los cromatogramas de HPLC se recogieron en un HPLC analítico Waters (Delta 600, 2996 *Photodiode Array Detector*). Los espectros de IR se registraron en un espectrómetro PerkinElmer Spectrum 100 FT-IR. Las medidas de rotación óptica se tomaron en un polarímetro digital JASCO DIP-370. La espectroscopía de RMN se realizó en un espectrómetro Bruker AVANCE-II. Los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN se recogieron a 300 y 400 MHz y los de  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN a 75 MHz, usando  $\text{DMSO-}d_6$  como disolvente. Los desplazamientos químicos se describen en la escala  $\delta$  relativa a los picos residuales de DMSO (2.50 ppm) para  $^1\text{H}$ -RMN y a la línea central de  $\text{DMSO-}d_6$  (39.43 ppm) para  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Gallenkamp MDP350 sin corrección.

#### Datos

Los datos espectroscópicos para varios compuestos son consistentes con los valores que aparecen en la bibliografía: hidrazona **23a**,<sup>86</sup> alquilidenmalononitrilos **22**,<sup>75</sup> y 1,4-dihidropiridinas **21ac**, **21ae**, **21af**, **21ag**.<sup>74</sup> Los catalizadores **IIIa,b,d,e,g,h,j** están disponibles comercialmente,<sup>87</sup> **IIIb**, **IIc** y **V** se sintetizaron según los procedimientos señalados.<sup>88</sup>

Todos los reactivos y disolventes de origen comercial se usaron como son suministrados.

#### Procedimiento general para la síntesis de las hidrazonas **23**

<sup>86</sup> A. Hassanabadi, M. R. Hosseini-Tabatabaei, M. Shahraki, M. Anary-Abbasinejad, S. Ghoroghchian, *J. Chem. Res.* **2011**, 35, 11-14.

<sup>87</sup> a) K. Kacprzak, J. Gawroński, *Synthesis* **2001**, 961-998; b) W. Amberg, Y. L. Bennani, R. K. Chadha, G. A. Crispino, W. D. Davis, J. Hartung, K.-S. Jeong, Y. Ogino, T. Shibata, K. B. Sharpless, *J. Org. Chem.* **1993**, 58, 844-849; c) C. D. Papageorgiou, M. A. Cubillo de Dios, S. V. Ley, M. J. Gaunt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 4641-4644; d) L. Yao, C.-J. Wang, *Adv. Synth. Catal.* **2015**, 357, 384-388; e) Y. Iwabuchi, M. Nakatani, N. Yokoyama, S. Hatakeyama, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 10219-10220.

<sup>88</sup> a) W. Yang, D.-M. Du, *Org. Lett.* **2010**, 12, 5450-5453; b) J. Song, Y. Wang, L. Deng, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6048-6049.

A una disolución de la hidrazida correspondiente **20** (5 mmol) en etanol (15 mL), se le adiciona acetilendicarboxilato de dimetilo **16a** (5 mmol, 615  $\mu$ L) gota a gota y de manera lenta, debido a que la reacción es exotérmica. La mezcla de reacción se deja agitando durante 12 h a temperatura ambiente. Después, el disolvente se elimina a vacío y el crudo de reacción se purifica por filtración, lavando el precipitado blanco con pequeñas cantidades de etanol (3 x 3 mL) produciendo los aductos finales **23** (Esquema 2.18).

**(E)-2-(2-(Benzoil)hidrazono)succinato de dimetilo (23a):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **23a** se obtuvo con un 98 % de rendimiento.

**(E)-2-(2-(4-Nitrobenzoil)hidrazono)succinato de dimetilo (23b):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **23b** se obtuvo con un 98 % de rendimiento. P.f. 146-148 °C.  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.65 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.90 (s, 2H), 8.06 (d,  $J = 8.1$  Hz, 2H), 8.35 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H), 11.70 (s, 1H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  32.6 (1C), 52.2 (1C), 52.6 (1C), 123.3 (2C), 130.3 (2C), 138.8 (1C), 149.3 (1C), 164.4 (1C), 168.2 (3C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3451, 3244, 3113, 1729, 1690, 1671, 1520, 1349, 1241, 1124, 1005, 852, 719. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{NaO}_7$  346.0646; encontrado 346.0649 [M + Na].

**(E)-2-(2-(4-Clorobenzoil)hidrazono)succinato de dimetilo (23c):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **23c** se obtuvo con un 99 % de rendimiento. P.f. 138-140 °C.  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.64 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.89 (s, 2H), 7.60 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.87 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 11.47 (s, 1H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  32.5 (1C), 52.2 (1C), 52.5 (1C), 128.4 (2C), 130.7 (2C), 131.7 (1C), 137.0 (1C), 164.5 (1C), 168.3 (3C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3441, 3238, 2954, 1741, 1726, 1694, 1670, 1594, 1536, 1440, 1250, 1146, 1123, 1111, 1089, 1003, 889, 846, 756. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{NaO}_5$  335.0405; encontrado 335.0385 [M + Na].

**(E)-2-(2-(4-Bromobenzoil)hidrazono)succinato de dimetilo (23d):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **23d** se obtuvo con un 99 % de rendimiento. P.f. 114-116 °C.  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.64 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.89 (s, 2H), 7.77 (c,  $J = 8.4$  Hz, 4H), 11.48 (s, 1H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (75 MHz,

DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 30.9 (3C), 32.5 (1C), 52.2 (1C), 52.6 (1C), 125.9 (1C), 130.9 (2C), 131.3 (2C), 132.1 (2C), 164.5 (1C), 168.3 (2C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) v 3256, 2953, 1734, 1716, 1685, 1591, 1434, 1222, 1201, 1127, 1111, 1009, 889, 838, 752. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>13</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub> 378.9900; encontrado 378.9903 [M + Na].

**(E)-2-(2-(4-Terc-butylbenzoyl)hidrazono)succinato de dimetilo (23e):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **23e** se obtuvo con un 98 % de rendimiento. P.f. 165-167 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 1.31(s, 9H), 3.64 (s, 3H), 3.77 (s, 3H), 3.89 (s, 2H), 7.54 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.78 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 11.33 (s, 1H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 30.9 (3C), 32.4 (1C), 34.8 (1C), 52.1 (1C), 52.5 (1C), 125.1 (2C), 128.6 (2C), 130.3 (1C), 155.2(1C), 164.6 (1C), 168.4 (3C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) v 3232, 3201, 2964, 2949, 1741, 1721, 1671, 1609, 1536, 1432, 1246, 1205, 1150, 1126, 1118, 1021, 895, 857, 841, 707. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub> 357.1421; encontrado 357.1419 [M + Na].

**(E)-2-(2-(4-Metoxibenzoil)hidrazono)succinato de dimetilo (23f):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **23f** se obtuvo con un 98 % de rendimiento. P.f. 144-146 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 3.64 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.89 (s, 2H), 7.06 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.9 Hz, 2H), 11.25 (s, 1H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 32.4 (1C), 52.2 (1C), 52.5 (1C), 55.5 (1C), 113.6 (2C), 124.9 (1C), 130.9 (2C), 162.4 (1C), 164.6 (1C), 168.5 (3C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) v 3419, 3223, 3189, 1737, 1715, 1659, 1601, 1541, 1508, 1436, 1319, 1256, 1205, 1170, 1143, 1109, 1027, 996, 889, 849, 762. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub> 331.0901; encontrado 331.0888 [M + Na].

**Procedimiento general para la síntesis de las 1,4-dihidropiridinas 21**

A una mezcla del catalizador β-isocupreidina **IIIj** (20 mol%, 6.21 mg) y el correspondiente alquilidenmalononitrilo **22** (0.15 mmol) en tetrahidrofurano (0.5 mL), se le añade la hidrazona **23** correspondiente (0.1 mmol). La mezcla de reacción se deja agitando durante 5 días a temperatura ambiente. Luego, el crudo de reacción se purifica por columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), produciendo los correspondientes aductos quirales (Esquema 2.18).

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ah):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ah** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 61 % de rendimiento (26.37 mg). P.f. 106-108 °C. El ee del producto resultó ser 50 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda$  = 237.7 nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 30.4$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 11.1$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -25.4$  ( $c = 0.07$ , MeOH, 50 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.51 (s, 3H), 3.57 (s, 0.75H), 3.64 (s, 2.25H), 4.36 (s, 0.75H), 4.48 (s, 0.25H), 6.38 (s, 1.5H), 6.46 (s, 0.5H), 7.24 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1.5H), 7.35 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 7.45-7.59 (m, 3.5H), 7.63 (t,  $J = 7.1$  Hz, 1H), 7.79-7.91 (m, 2H), 11.21 (s, 0.75H), 11.32 (s, 0.25H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  39.2 (1C), 51.8 (1C), 52.8 (1C), 58.6 (1C), 104.6 (1C), 120.9 (1C), 126.8 (2C), 127.7 (1C), 127.9 (2C), 128.3 (2C), 128.5 (2C), 131.3 (1C), 132.5 (1C), 142.6 (1C), 145.7 (1C), 151.1 (1C), 162.4 (1C), 164.7 (1C), 166.7 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3420, 3334, 3249, 3219, 2957, 2190, 1736, 1707, 1662, 1590, 1479, 1428, 1225, 1110, 717, 699, 689. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>5</sub> 455.1326; encontrado 455.1340 [M + Na].

**6-Amino-5-ciano-1-(4-nitrobenzamido)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21bh):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21bh** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido amarillo con un 56 % de rendimiento (26.82 mg). P.f. 238-240 °C. El ee del producto resultó ser 45 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda$  = 249.6 nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 47.0$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 21.4$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -6.6$  ( $c = 0.13$ , MeOH, 45 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.51 (s, 3H), 3.58 (s, 0.78H), 3.65 (s, 2.22H), 4.37 (s, 0.74H), 4.44 (s, 0.26H), 6.55 (s, 1.48H), 6.60 (s, 0.52H), 7.24 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1.48H), 7.35 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.52 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1.52H), 8.04 (d,  $J = 8.8$  Hz, 0.52H), 8.10 (d,  $J = 8.8$  Hz, 1.48H), 8.38 (d,  $J = 8.8$  Hz, 2H), 11.62 (s, 0.74H), 11.68 (s, 0.26H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  39.2 (1C), 51.8 (1C), 52.9 (1C), 58.1 (1C), 104.9 (1C), 120.8 (1C), 123.5 (min), 123.6 (2C), 126.9 (1C), 127.6 (2C), 128.3 (2C), 128.6 (min), 129.4 (min), 129.5 (2C), 137.0 (1C), 142.2 (1C), 145.6 (1C), 149.7 (1C), 151.0 (1C), 162.4 (1C), 164.6 (1C), 165.4 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3420, 3331, 3208, 2955, 2923, 2852, 2193, 1722, 1710, 1679, 1660, 1589, 1527, 1430, 1346, 1231,

1117, 1081, 697. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{23}H_{19}N_5NaO_7$  500.1177; encontrado 500.1175 [M + Na].

**6-Amino-1-(4-clorobenzamido)-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ch):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ch** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 75 % de rendimiento (34.88 mg). P.f. 143-145 °C. El ee del producto resultó ser 43 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 254.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 24.2$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 11.6$  min.  $[\alpha]_D^{24} = -26.7$  ( $c = 0.10$ , MeOH, 43 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.49 (s, 0.9H), 3.51 (s, 2.1H), 3.56 (s, 0.9H), 3.63 (s, 2.1H), 4.35 (s, 0.7H), 4.47 (s, 0.3H), 6.46 (s, 1.4H), 6.50 (s, 0.6H), 7.24 (t,  $J = 7$  Hz, 1.4H), 7.30-7.38 (m, 2.2H), 7.53 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1.4H), 7.63 (d,  $J = 8.6$  Hz, 2H), 7.83 (d,  $J = 8.6$  Hz, 0.6H), 7.88 (d,  $J = 8.6$  Hz, 1.4H), 11.33 (s, 0.7H), 11.42 (s, 0.3H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  39.1 (1C), 51.9 (1C), 52.8 (min), 52.9 (1C), 57.2 (min), 58.3 (1C), 104.7 (1C), 120.9 (1C), 121.0 (min), 126.9 (min), 127.0 (1C), 127.7 (2C), 128.4 (2C), 128.5 (min), 128.6 (2C), 129.9 (2C), 130.2 (1C), 130.3 (min), 137.2 (1C), 137.4 (1C), 142.5 (1C), 143.0 (1C), 145.7 (1C), 151.1 (1C), 151.6 (1C), 162.4 (1C), 164.7 (1C), 164.8 (1C), 165.3 (1C), 165.8 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3413, 3331, 3251, 3025, 2956, 2192, 1727, 1715, 1664, 1590, 1432, 1335, 1230, 1093, 1014, 698. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{23}H_{19}ClN_4NaO_5$  489.0912; encontrado 489.0913 [M + Na].

**6-Amino-1-(4-bromobenzamido)-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21dh):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21dh** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido amarillo con un 60 % de rendimiento (30.81 mg). P.f. 134-136 °C. El ee del producto resultó ser 44 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 330.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 24.6$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 10.7$  min.  $[\alpha]_D^{24} = -20.3$  ( $c = 0.15$ , MeOH, 44 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.49 (s, 0.75H), 3.51 (s, 2.25H), 3.56 (s, 0.75H), 3.63 (s, 2.25H), 4.35 (s, 0.75H), 4.47 (s, 0.25H), 6.45 (s, 1.5 H), 6.50 (s, 0.50H), 7.24 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1.5H), 7.34 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.53 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1.5H), 7.73-7.84 (m, 4H), 11.33 (s, 0.75H), 11.42 (s, 0.25H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-

$d_6$ )  $\delta$  39.2 (1C), 51.9 (1C), 52.8 (1C), 58.3 (1C), 104.7 (1C), 120.9 (1C), 126.3 (1C), 126.8 (1C), 126.9 (min), 127.6 (2C), 128.3 (2C), 128.6 (min), 130.0 (2C), 130.5 (min), 131.4 (2C), 131.5 (1C), 142.4 (1C), 145.6 (1C), 151.1 (1C), 162.4 (1C), 164.6 (1C), 165.9 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3417, 3331, 3240, 2955, 2190, 1716, 1663, 1588, 1431, 1230, 1079, 1010, 698. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{BrN}_4\text{NaO}_5$  533.0418; encontrado 533.0418 [M + Na].

**6-Amino-1-(4-(*terc*-butil)benzamido)-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21eh):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21eh** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido amarillo con un 58 % de rendimiento (28.33 mg). P.f. 141-143 °C. El ee del producto resultó ser 48 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda$  = 242.5 nm):  $\tau_{\text{mayoritario}}$  = 13.2 min;  $\tau_{\text{minoritario}}$  = 9.1 min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  = -24.7 ( $c$  = 0.15, MeOH, 48 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  1.31 (s, 9H), 3.51 (s, 3H), 3.58 (s, 0.78H), 3.66 (s, 2.22H), 4.36 (s, 0.74H), 4.48 (s, 0.26H), 6.33 (s, 1.48H), 6.38 (s, 0.52H), 7.24 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 1.48H), 7.35 (t,  $J$  = 7.4 Hz, 2H), 7.56 (d,  $J$  = 8.2 Hz, 3.52H), 7.74-7.84 (m, 2H), 11.13 (s, 0.74H), 11.13 (s, 0.26H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  30.9 (1C), 34.8 (1C), 39.2 (1C), 51.9 (1C), 52.8 (1C), 58.7 (1C), 104.5 (1C), 120.9 (1C), 125.2 (min), 125.3 (2C), 126.8 (1C), 127.0 (min), 127.7 (2C), 127.8 (2C), 128.3 (2C), 128.5 (1C), 128.6 (min), 142.7 (1C), 145.7 (1C), 151.1 (1C), 155.6 (1C), 162.4 (1C), 164.7 (1C), 166.4 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3261, 2958, 2192, 1731, 1638, 1608, 1438, 1270, 1238, 1118, 849, 698. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{NaO}_5$  511.1948; encontrado 511.1947 [M + Na].

**6-Amino-5-ciano-1-(4-metoxibenzamido)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21fh):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21fh** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido amarillo con un 55 % de rendimiento (25.24 mg). P.f. 113-115 °C. El ee del producto resultó ser 42 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda$  = 253.2 nm):  $\tau_{\text{mayoritario}}$  = 32.7 min;  $\tau_{\text{minoritario}}$  = 14.8 min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24}$  = -25.6 ( $c$  = 0.08, MeOH, 42 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.51 (s, 3H), 3.55 (s, 0.75H),

3.62 (s, 2.25H), 3.84 (s, 3H), 4.35 (s, 0.75H), 4.47 (s, 0.25H), 6.33 (s, 1.50H), 6.38 (s, 0.5H), 7.07 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 7.24 (t,  $J = 7.1$  Hz, 1.5H), 7.34 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 7.55 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1.5H), 7.77-7.89 (m, 2H), 11.04 (s, 0.75H), 11.16 (s, 0.25H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  39.3 (1C), 51.8 (1C), 52.7 (1C), 55.5 (1C), 58.6 (1C), 104.5 (1C), 113.6 (min), 113.8 (2C), 120.9 (1C), 123.4 (1C), 126.8 (1C), 127.0 (min), 127.7 (2C), 128.3 (2C), 128.6 (min), 129.9 (2C), 142.8 (1C), 145.7 (1C), 151.2 (1C), 162.4 (1C), 162.6 (1C), 164.7 (1C), 166.0 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3409, 3334, 3247, 3214, 2953, 2186, 1732, 1713, 1663, 1604, 1587, 1489, 1431, 1249, 1228, 1184, 1115, 1076, 1024, 841, 700. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{NaO}_6$  485.1426; encontrado 485.1425 [M+Na].

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21aa):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21aa** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 95 % de rendimiento (45.3 mg). P.f. 158-160 °C. El ee del producto resultó ser 46 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IA (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 236.6$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 26.1$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 11.2$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = +24.5$  ( $c = 0.15$ , MeOH, 46 % ee).  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.51 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 4.50 (s, 1H), 6.62 (s, 2H), 7.54 (t,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 7.59-7.83 (m, 3H), 7.87 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 8.24 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 11.31 (s, 1H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  39.1 (1C), 45.7 (1C), 52.1 (1C), 52.9 (1C), 103.8 (1C), 120.5 (1C), 123.8 (2C), 128.0 (2C), 128.5 (2C), 128.7 (2C), 131.2 (1C), 132.6 (1C), 146.5 (1C), 151.6 (1C), 152.9 (1C), 162.2 (1C), 164.4 (1C), 166.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3330, 3200, 2953, 2185, 1743, 1708, 1652, 1579, 1516, 1428, 1344, 1225, 1110, 823, 694. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{NaO}_7$  500.1181; encontrado 500.1181 [M + Na].

**6-Amino-1-benzamido-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ab):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ab** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 70 % de rendimiento (32.6 mg). P.f. 134-136 °C. El ee del producto resultó ser 52 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda =$

236.6 nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 32.3$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 18.6$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +23.4$  ( $c = 0.13$ , MeOH, 52 % ee).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.53 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 4.41 (s, 1H), 6.49 (s, 2H), 7.31 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 7.39 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H), 7.54 (t,  $J = 7.6$  Hz, 3H), 7.60-7.68 (m, 2H), 7.86 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 11.27 (s, 1H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  39.0 (1C), 52.0 (1C), 52.9 (1C), 58.1 (1C), 104.3 (1C), 120.6 (1C), 126.4 (1C), 127.0 (1C), 127.6 (1C), 127.9 (2C), 128.5 (2C), 130.2 (1C), 131.3 (1C), 132.5 (1C), 133.2 (1C), 142.9 (1C), 148.1 (1C), 151.3 (1C), 162.3 (1C), 164.5 (1C), 166.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3330, 2953, 2922, 2850, 2184, 1736, 1707, 1654, 1578, 1430, 1227, 1115, 1079, 886, 781, 692. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{23}\text{H}_{19}\text{ClN}_4\text{NaO}_5$  489.0942; encontrado 489.0941 [M + Na].

**6-Amino-1-benzamido-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ac):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ac** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 70 % de rendimiento (32.7 mg). El ee del producto resultó ser 50 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 237.7$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 22.5$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 16.4$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -2.2$  ( $c = 0.15$ , MeOH, 50 % ee).

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ad):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ad** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 99 % de rendimiento (45.09 mg). P.f. 154-156 °C. El ee del producto resultó ser 50 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 234.2$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 22.2$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 18.5$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = +4.0$  ( $c = 0.07$ , MeOH, 50 % ee).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.51 (s, 3H), 3.65 (s, 3H), 4.49 (s, 1H), 6.55 (s, 2H), 7.35-7.69 (m, 4H), 7.70-7.91 (m, 5H), 11.30 (s, 1H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  39.4 (1C), 52.0 (1C), 52.9 (1C), 57.5 (1C), 103.9 (1C), 109.8 (1C), 118.9 (1C), 120.5 (1C), 127.9 (3C), 128.5 (2C), 128.6 (2C), 131.2 (1C), 132.5 (2C), 143.3 (1C), 151.0 (1C), 151.4 (1C), 162.2 (1C), 164.4 (1C), 166.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3414, 3313, 3210, 2947, 2231, 2192, 1750, 1704, 1682, 1665, 1590, 1433, 1360, 1272, 1253,

1222, 1115, 929, 846, 686. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>24</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub> 480.1258; encontrado 480.1256 [M + Na].

**6-Amino-1-benzamido-4-(4-bromofenil)-5-ciano-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ae):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ae** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 61 % de rendimiento (31.2 mg). El ee del producto resultó ser 52 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 236.6$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 23.0$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 18.0$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -19.5$  ( $c = 0.05$ , MeOH, 52 % ee).

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21af):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21af** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 89 % de rendimiento (42.4 mg). El ee del producto resultó ser 51 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 238.9$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 18.6$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 15.4$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -2.8$  ( $c = 0.24$ , MeOH, 51 % ee).

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(*p*-tolil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ag):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ag** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 44 % de rendimiento (19.6 mg). El ee del producto resultó ser 50 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 237.7$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 15.9$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 9.6$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -19.4$  ( $c = 0.12$ , MeOH, 50 % ee).

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(tiofen-2-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ai):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ai** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 76 % de rendimiento (33.18

mg). P.f. 124-126 °C. El ee del producto resultó ser 43 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 236.6$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 27.1$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 16.1$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -12.6$  ( $c = 0.10$ , MeOH, 43 % ee).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.55 (s, 1.11H), 3.60 (s, 3H), 3.64 (s, 1.89H), 4.66 (s, 0.63H), 4.82 (s, 0.37H), 6.50 (s, 1.26H), 6.57 (s, 0.74H), 6.88 (s, 0.37H), 7.00 (s, 1H), 7.19 (s, 0.63H), 7.39 (d,  $J = 4.7$  Hz, 1H), 7.52 (t,  $J = 6.4$  Hz, 2H), 7.62 (t,  $J = 6.7$  Hz, 1H), 7.83 (d,  $J = 7.4$  Hz, 2H), 11.21 (s, 0.63H), 11.38 (d, 0.37H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  33.7 (1C), 52.0 (1C), 52.8 (1C), 57.9 (1C), 104.3 (1C), 120.8 (1C), 124.5 (1C), 124.9 (1C), 127.1 (1C), 127.9 (2C), 128.3 (min), 128.5 (2C), 131.4 (1C), 132.4 (1C), 142.3 (1C), 148.7 (1C), 151.6 (1C), 162.2 (1C), 164.5 (1C), 166.2 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3415, 3332, 3248, 3213, 2954, 2191, 1719, 1685, 1660, 1587, 1434, 1337, 1230, 941, 707, 687. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{NaO}_5\text{S}$  461.0898; encontrado 461.0897 [M + Na].

**6'-Amino-1'-benzamido-5'-ciano-1',4'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-2',3'-dicarboxilato de dimetilo (21aj):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21aj** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100 a AcOEt 100), como un sólido blanco con un 92 % de rendimiento (39.66 mg). P.f. 157-159 °C. El ee del producto resultó ser 40 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 336.0$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 32.9$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 50.6$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -12.6$  ( $c = 0.17$ , MeOH, 40 % ee).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  3.52 (s, 3H), 3.64 (s, 3H), 4.44 (s, 1H), 6.53 (s, 2H), 7.42 (dd,  $J = 8$  Hz, 5 Hz, 1H), 7.52 (t,  $J = 7.5$  Hz, 2H), 7.63 (t,  $J = 7.3$  Hz, 1H), 7.87 (d,  $J = 7.3$  Hz, 2H), 8.05 (s, 1H), 8.47 (dd,  $J = 4.7$  Hz, 1.6 Hz, 1H), 8.67 (s, 1H), 11.31 (s, 1H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  36.9 (1C), 45.8 (1C), 52.0 (1C), 52.9 (1C), 104.1 (1C), 120.6 (1C), 123.8 (1C), 127.9 (2C), 128.5 (2C), 131.2 (1C), 132.6 (1C), 135.3 (1C), 141.0 (1C), 143.1 (1C), 148.2 (1C), 148.7 (1C), 151.5 (1C), 162.2 (1C), 164.4 (1C), 166.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3317, 3226, 2952, 2185, 1749, 1707, 1685, 1654, 1578, 1425, 1330, 1275, 1221, 1115, 1029, 703. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_5\text{O}_5$  434.1468; encontrado 434.1467 [M + H].

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(furan-2-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21ak):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21ak** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 70 % de rendimiento (29.77 mg). P.f. 151-153 °C. El ee del producto resultó ser 54 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IA (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 236.6$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 16.4$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 12.4$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -15.3$  ( $c = 0.10$ , MeOH, 54 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.55 (s, 1.35H), 3.58 (s, 1.35H), 3.59 (s, 1.65H), 3.65 (s, 1.65H), 4.51 (s, 0.55H), 4.64 (s, 0.45H), 6.11 (d,  $J = 3.1$  Hz, 0.45H), 6.33 (d,  $J = 3.1$  Hz, 0.55H), 6.37-6.45 (m, 1H), 6.50 (s, 1.1H), 6.57 (s, 0.9H), 7.46-7.67 (m, 4H), 7.77-7.86 (m, 2H), 11.20 (s, 0.55H), 11.38 (s, 0.45H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  32.4 (1C), 33.0 (min), 52.0 (min), 52.1 (1C), 52.7 (min), 52.9 (1C), 53.8 (min), 55.5 (1C), 101.8 (min), 102.3 (1C), 105.3 (min), 106.0 (1C), 110.6 (min), 110.8 (1C), 120.8 (1C), 120.9 (min), 127.8 (1C), 128.0 (min), 128.3 (min), 128.5 (1C), 131.3 (1C), 131.4 (min), 132.3 (min), 132.5 (1C), 141.6 (1C), 142.3 (min), 143.1 (1C), 143.7 (min), 152.0 (1C), 152.6 (min), 156.4 (min), 157.6 (1C), 162.1 (min), 162.2 (1C), 164.5 (1C), 164.7 (min), 166.1 (min), 166.2 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3527, 3406, 3328, 2175, 1735, 1707, 1652, 1578, 1431, 1336, 1225, 1013, 939, 754, 705. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>21</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>NaO<sub>6</sub> 445.1125; encontrado 445.1125 [M + Na].

**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(naftalen-1-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21al):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21al** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano:Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido amarillo con un 51 % de rendimiento (24.61 mg). P.f. 122-124 °C. El ee del producto resultó ser 50 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 221.2$  nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 27.9$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 16.5$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -28.9$  ( $c = 0.10$ , MeOH, 50 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.33 (s, 3H), 3.60 (s, 0.75H), 3.67 (s, 2.25H), 5.42 (s, 0.75H), 5.47 (s, 0.25H), 6.33 (s, 1.5H), 6.38 (s, 0.5H), 7.41-7.70 (m, 6.25H), 7.78-7.97 (m, 4H), 8.09 (d,  $J = 6.7$  Hz, 0.75H), 8.46 (d,  $J = 8.7$  Hz, 1H), 11.27 (s, 0.75H), 11.39 (s, 0.25H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  40.0 (1C), 51.7 (1C), 52.8 (1C), 59.2 (1C), 64.9 (1C), 105.4 (1C), 120.8 (1C), 123.5 (1C), 125.5 (1C), 125.7 (1C), 126.0 (1C), 127.0 (1C), 127.1 (1C), 127.9 (2C), 128.3 (1C), 128.5 (2C), 130.3 (1C), 131.4 (1C), 132.5 (1C), 133.1 (1C), 143.0 (1C), 151.1 (1C), 162.5 (1C), 164.8 (1C),

166.7 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3202, 2951, 2194, 1715, 1704, 1661, 1592, 1510, 1426, 1334, 1232, 1070, 782. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{27}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{NaO}_5$  505.1482; encontrado 505.1454 [M + Na].

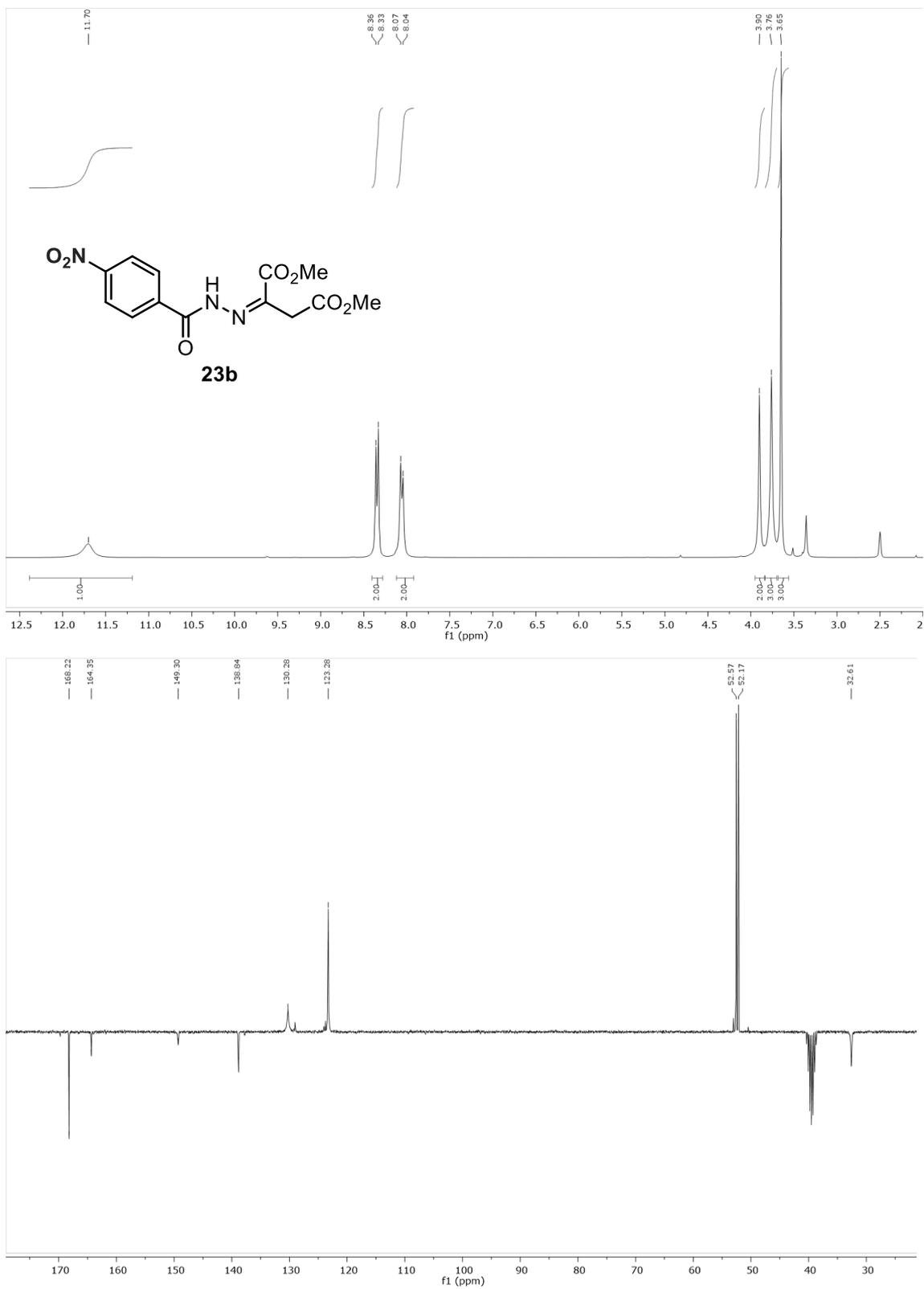
**6-Amino-1-benzamido-5-ciano-4-(4-metoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (21am):**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **21am** se obtuvo tras 120 h de reacción a temperatura ambiente y fue purificado por columna cromatográfica (*n*hexano: Et<sub>2</sub>O Et<sub>2</sub>O 20:80 a 0:100), como un sólido blanco con un 40 % de rendimiento (18.57 mg). P.f. 137-139 °C. El ee del producto resultó ser 40 % medido por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda$  = 237.7 nm):  $\tau_{\text{mayoritario}} = 48.4$  min;  $\tau_{\text{minoritario}} = 19.2$  min.  $[\alpha]_{\text{D}}^{24} = -24.0$  ( $c = 0.05$ , MeOH, 40 % ee). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.52 (s, 3H), 3.55 (s, 0.75H), 3.63 (s, 2.25H), 3.75 (s, 3H), 4.30 (s, 0.75H), 4.42 (s, 0.25H), 6.32 (s, 1.5H), 6.38 (s, 0.50H), 6.89 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2.25H), 7.10-7.22 (m, 0.75H), 7.43-7.68 (m, 4H), 7.79-7.88 (m, 2H), 11.19 (s, 0.75H), 11.30 (s, 0.25H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  38.4 (1C), 51.8 (1C), 52.7 (1C), 55.0 (1C), 58.9 (1C), 104.9 (1C), 113.6 (2C), 113.9 (min), 120.9 (1C), 127.9 (2C), 128.5 (2C), 128.8 (2C), 131.3 (1C), 132.5 (1C), 137.9 (1C), 142.2 (1C), 151.0 (1C), 158.2 (1C), 162.5 (1C), 164.8 (1C), 166.7 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3313, 3201, 2952, 2838, 2186, 1742, 1707, 1651, 1606, 1509, 1428, 1227, 1175, 1110, 1028, 833, 691. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{NaO}_6$  485.1438; encontrado 485.1435 [M + Na].

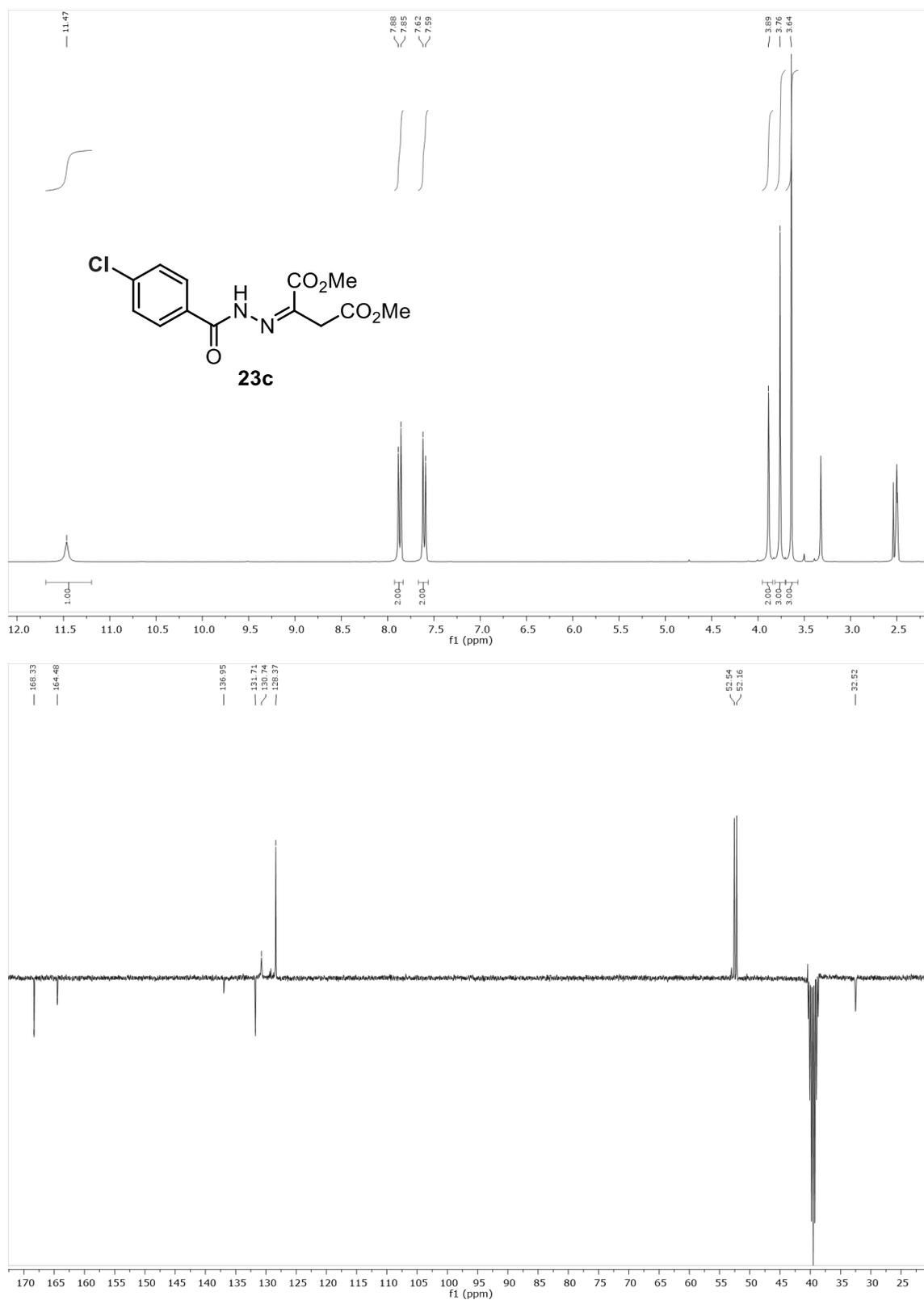
### 2.3.5 Información suplementaria

#### Espectros de RMN de los compuestos 23 y 21

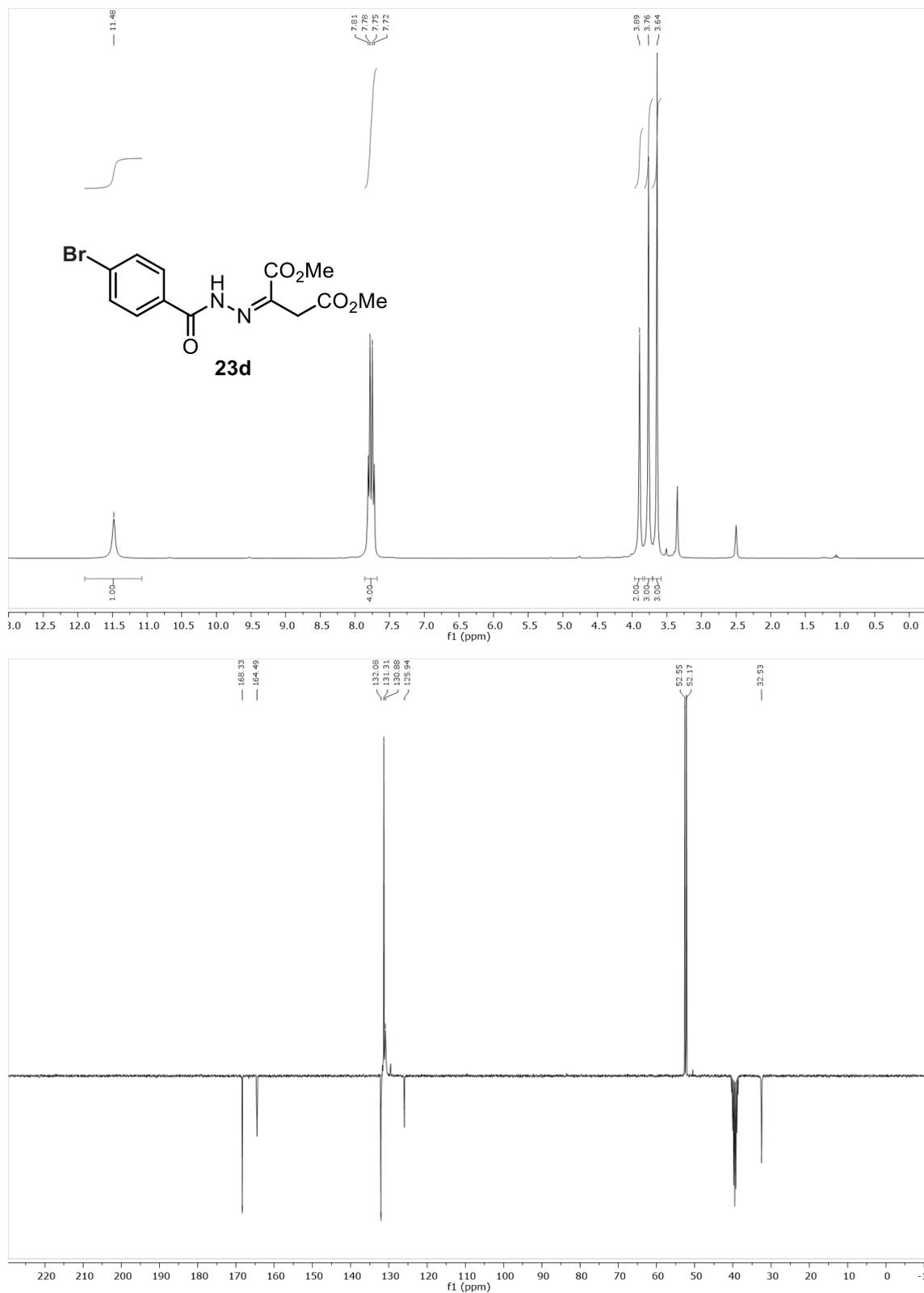
**Figura S2.55.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-2-(2-(4-nitrobenzoyl)hidrazono)succinato de dimetilo (**23b**)



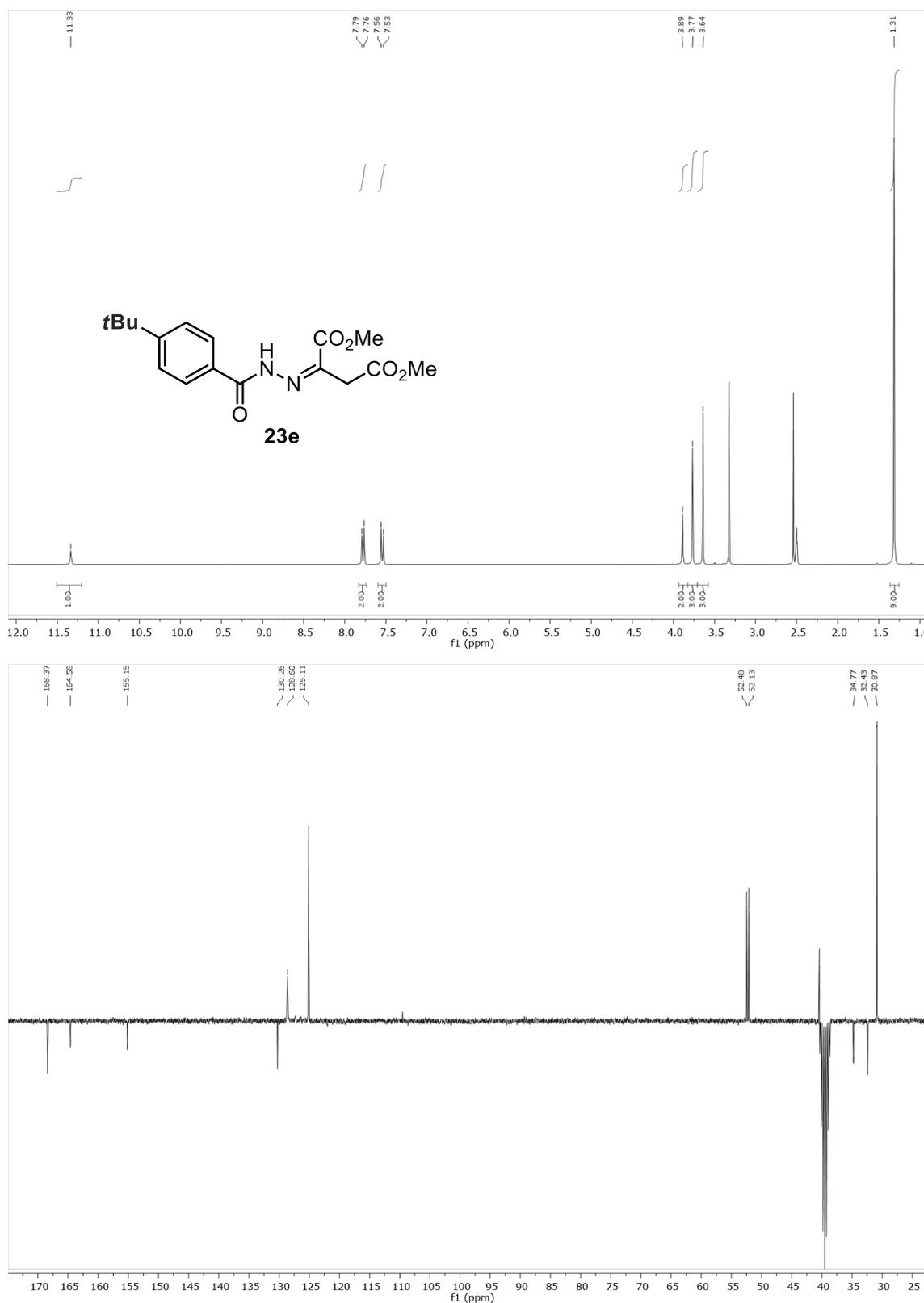
**Figura S2.56.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-2-(2-(4-clorobenzoyl)hidrazono)succinato de dimetilo (**23c**)



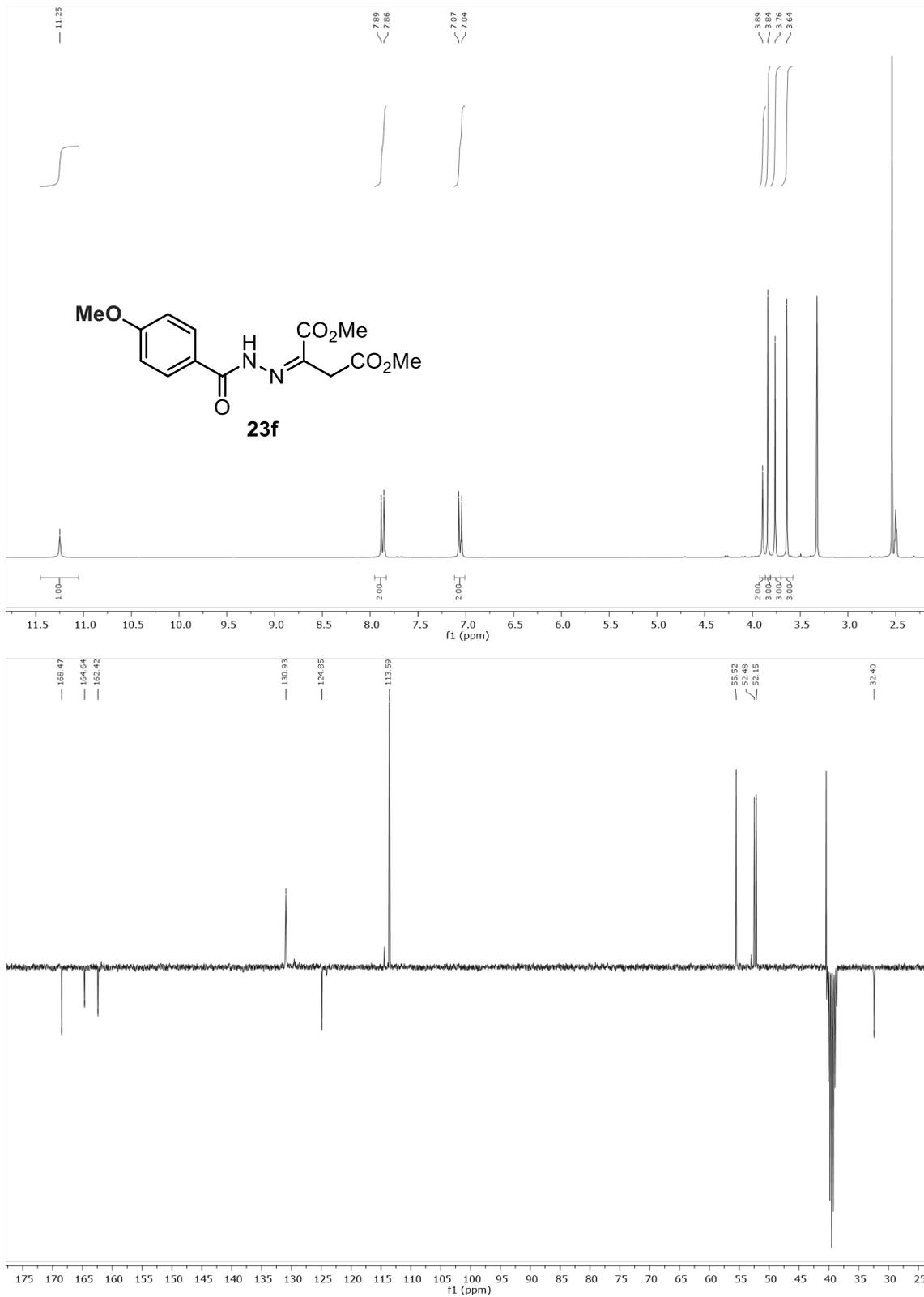
**Figura S2.57.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-2-(2-(4-bromobenzoil)hidrazono)succinato de dimetilo (**23d**)



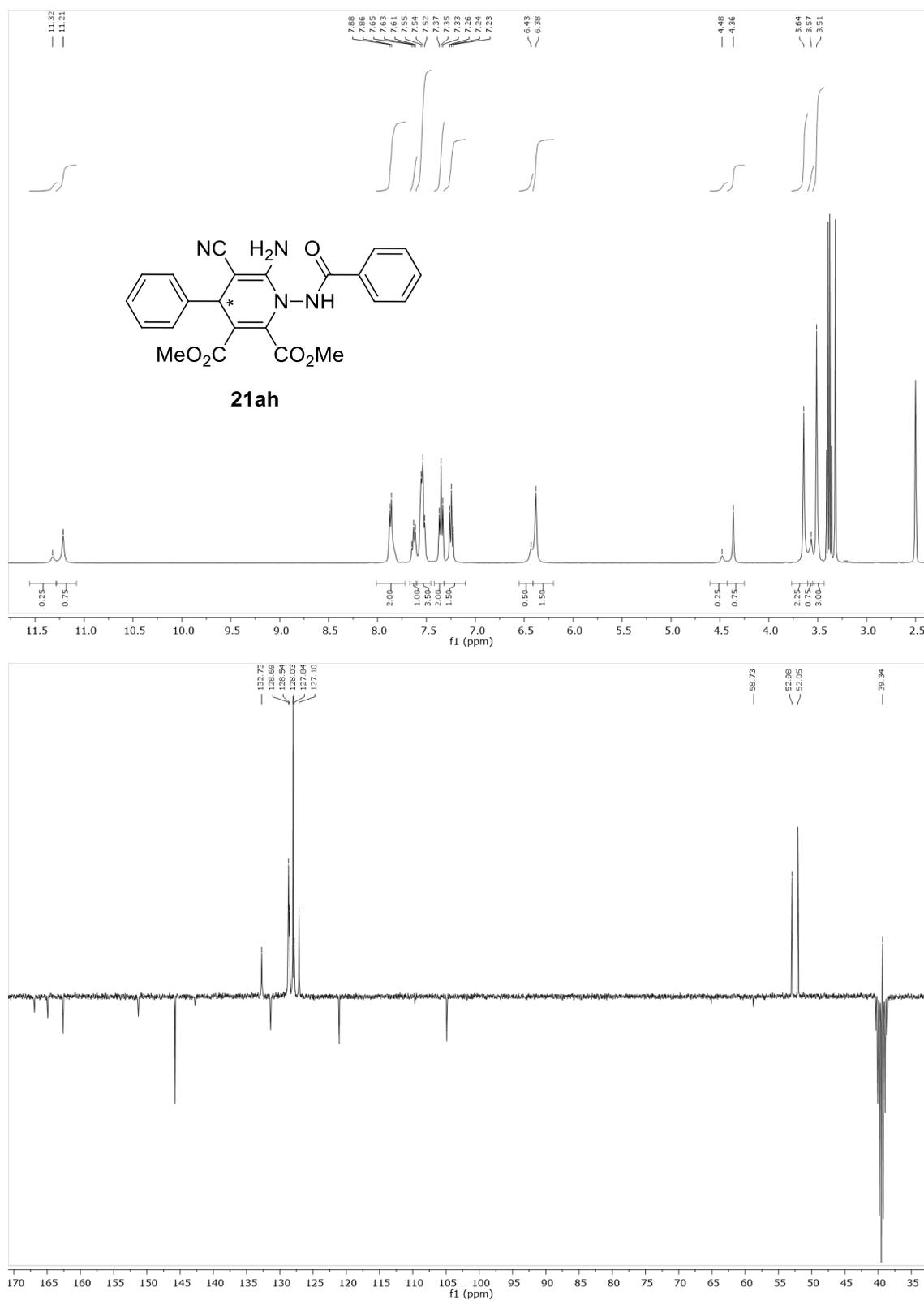
**Figura S2.58.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-2-(2-(4-*tert*-butilbenzoi)hidrazono)succinato de dimetilo (**23e**)



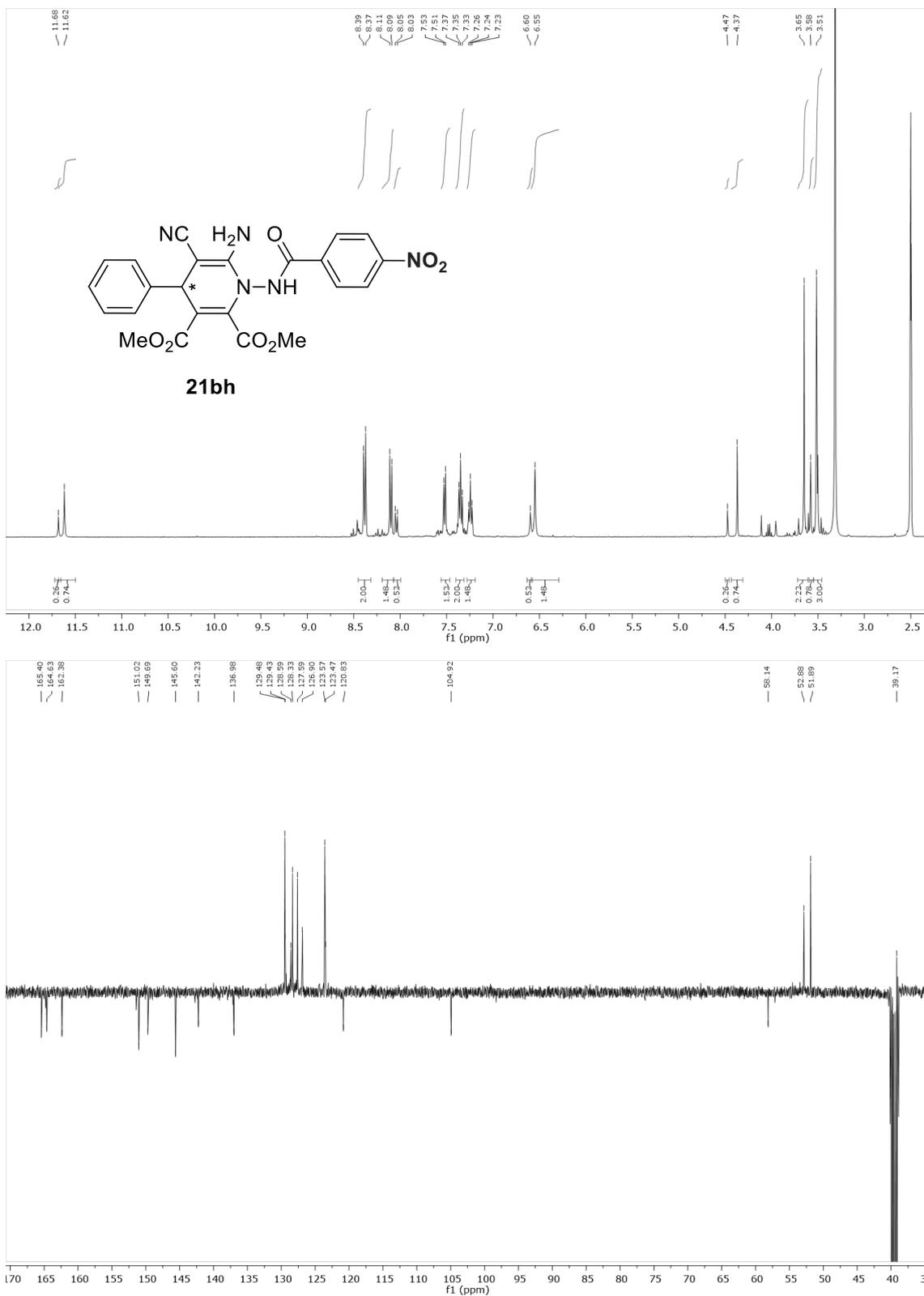
**Figura S2.59.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-2-(2-(4-metoxibenzoil)hidrazono)succinato de dimetilo (**23f**)



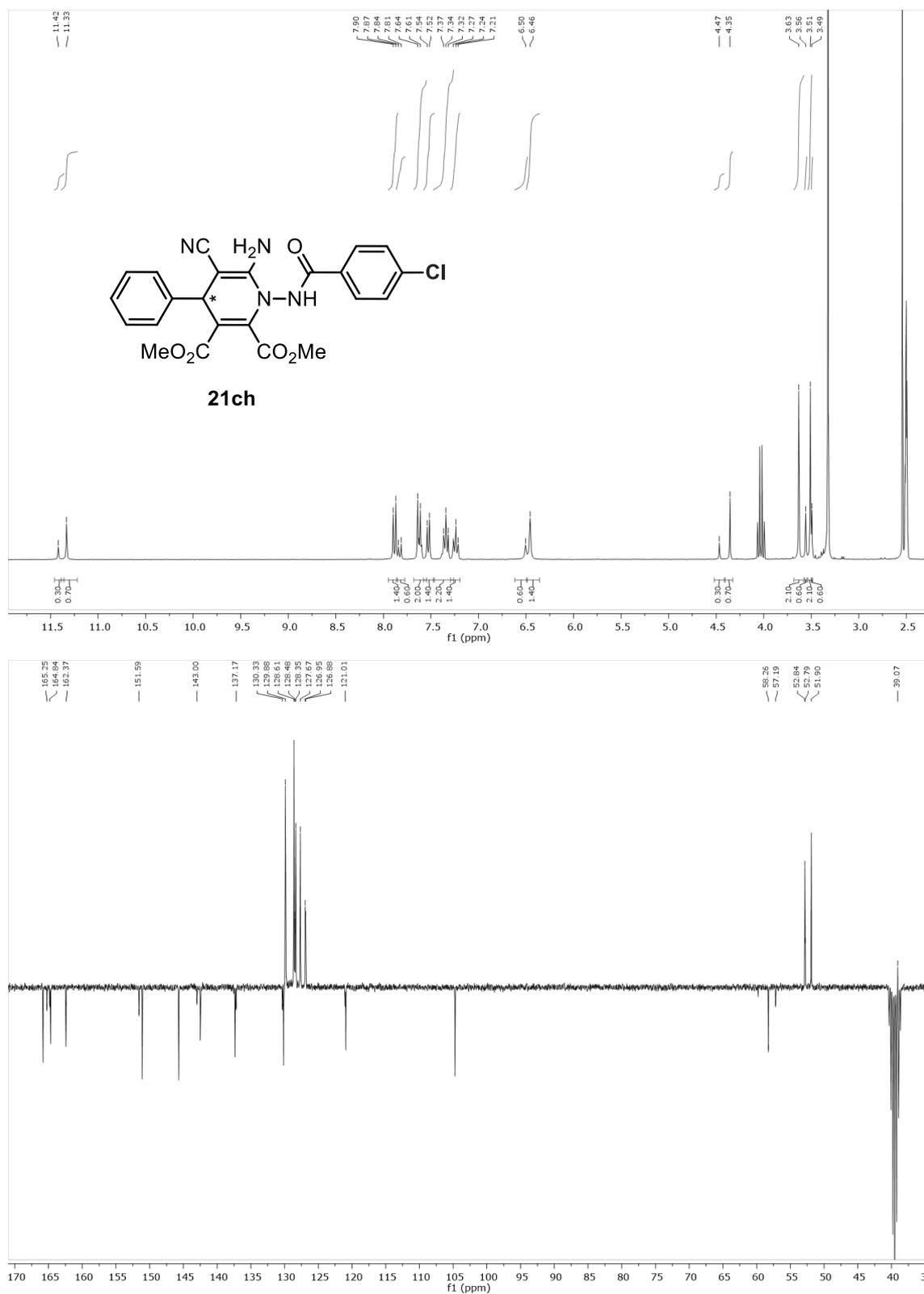
**Figura S2.60.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21ah**)



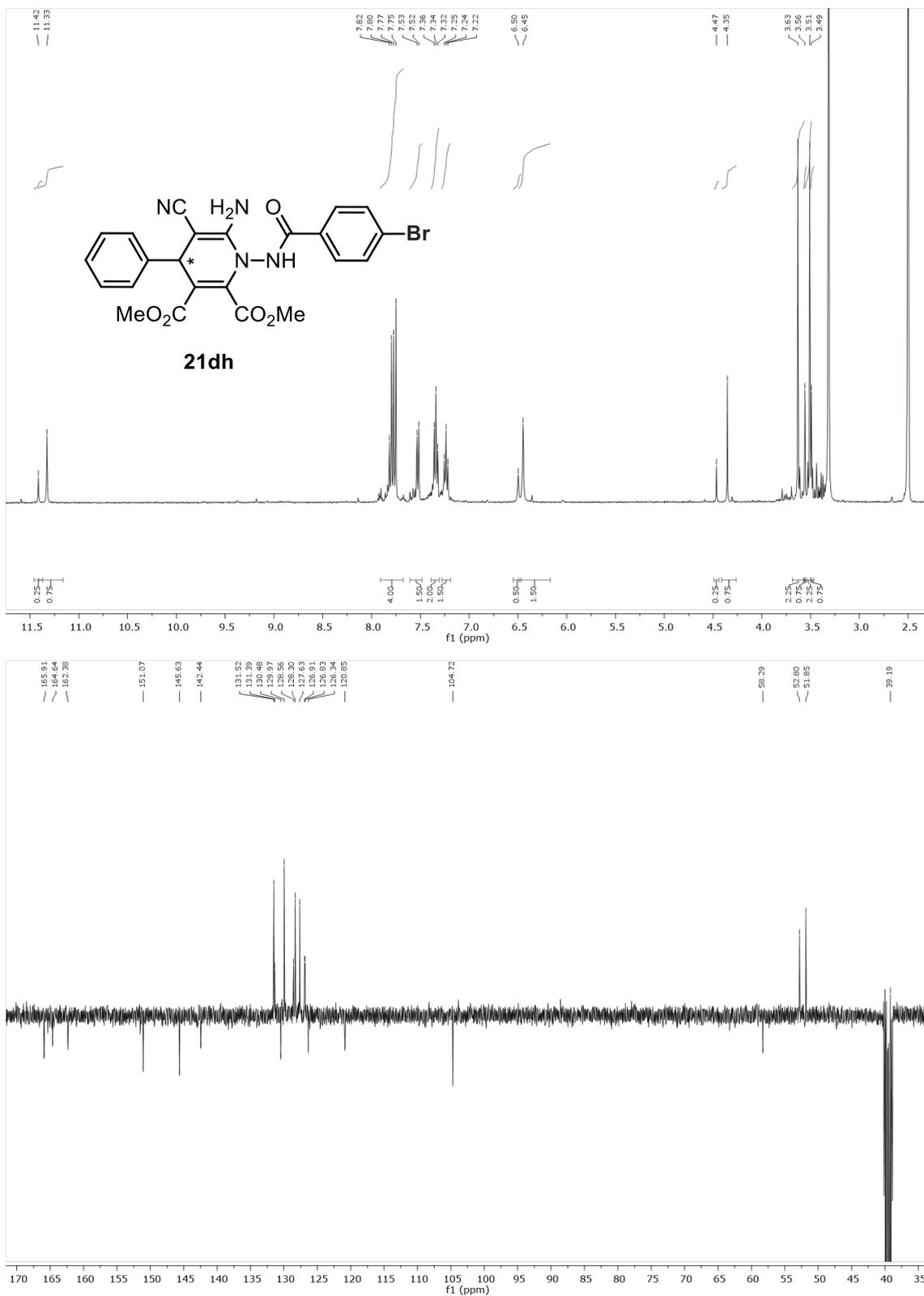
**Figura S2.61.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(4-nitrobenzamido)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21bh**)



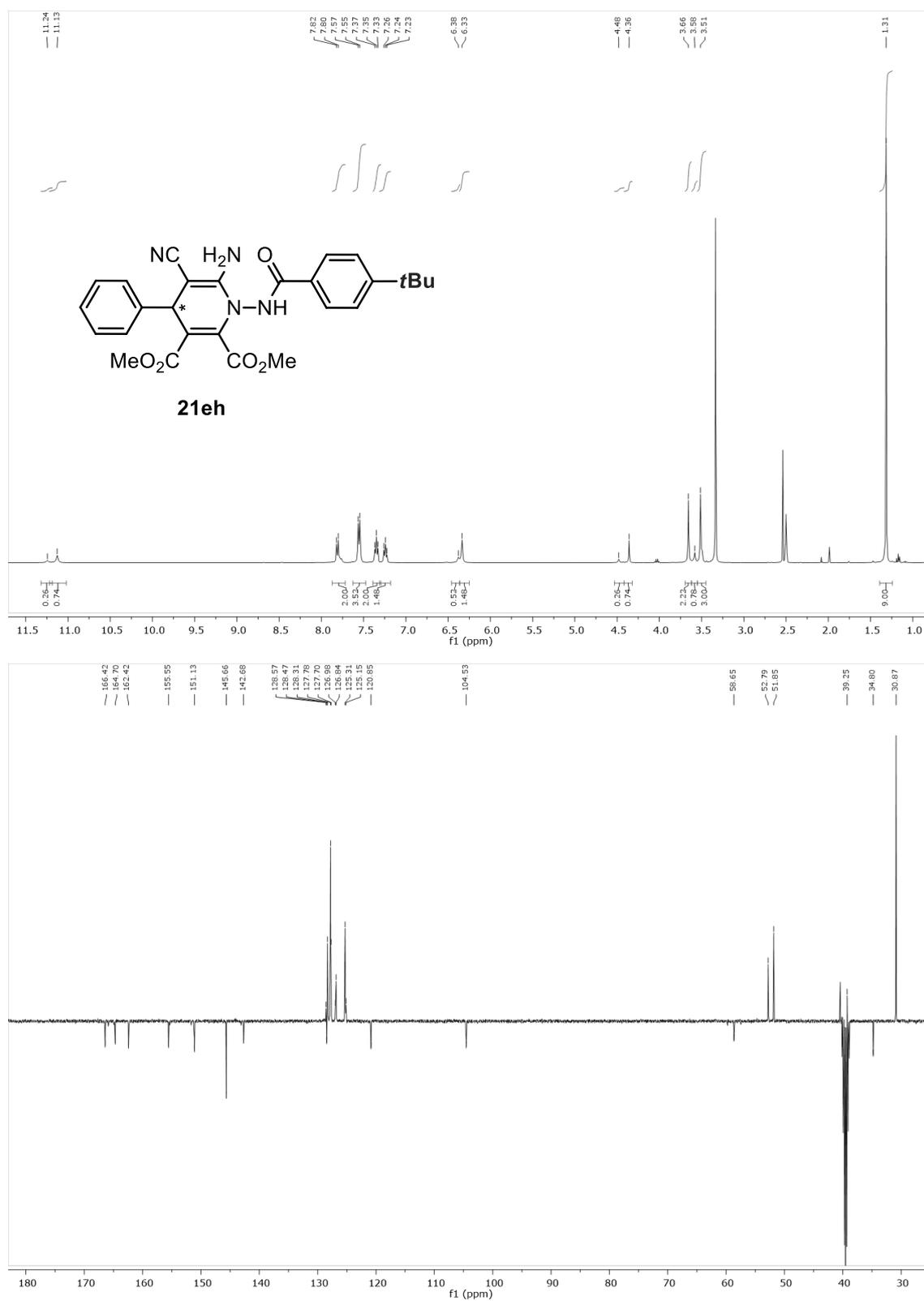
**Figura S2.62.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-(4-clorobenzamido)-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21ch**)



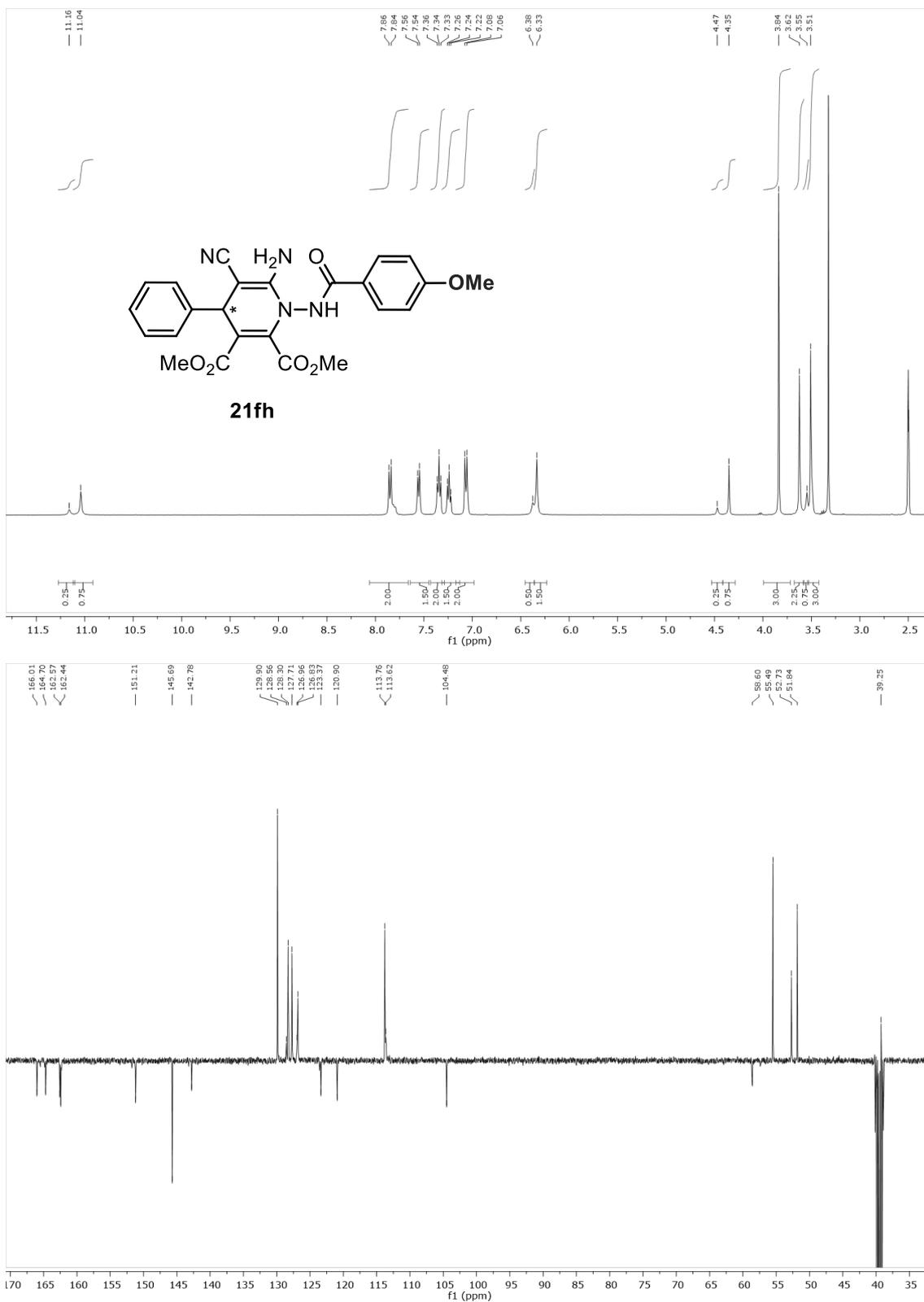
**Figura S2.63.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-(4-bromobenzamido)-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21dh**)



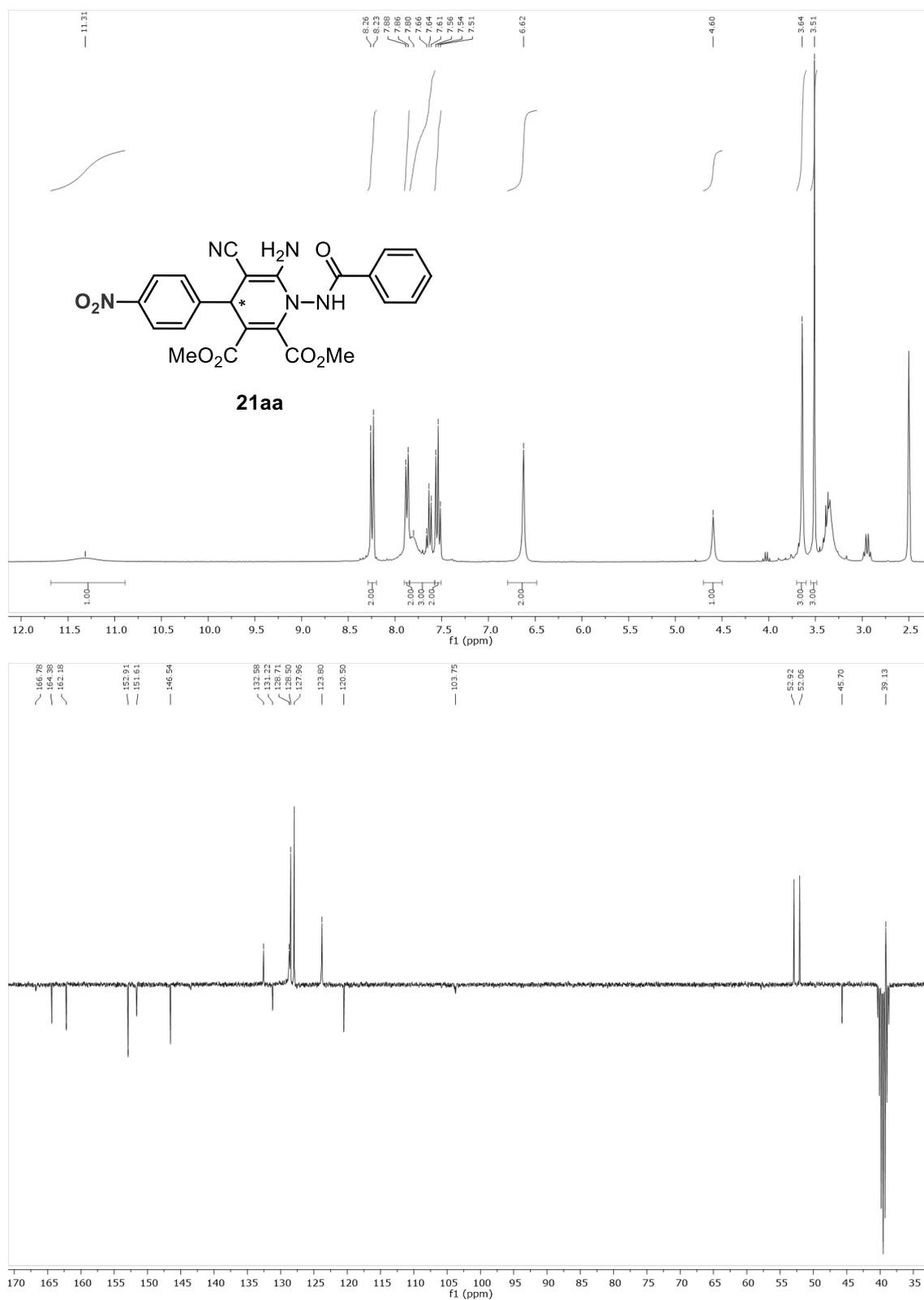
**Figura S2.64.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-(4-(*tert*-butil)benzamido)-5-ciano-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21eh**)



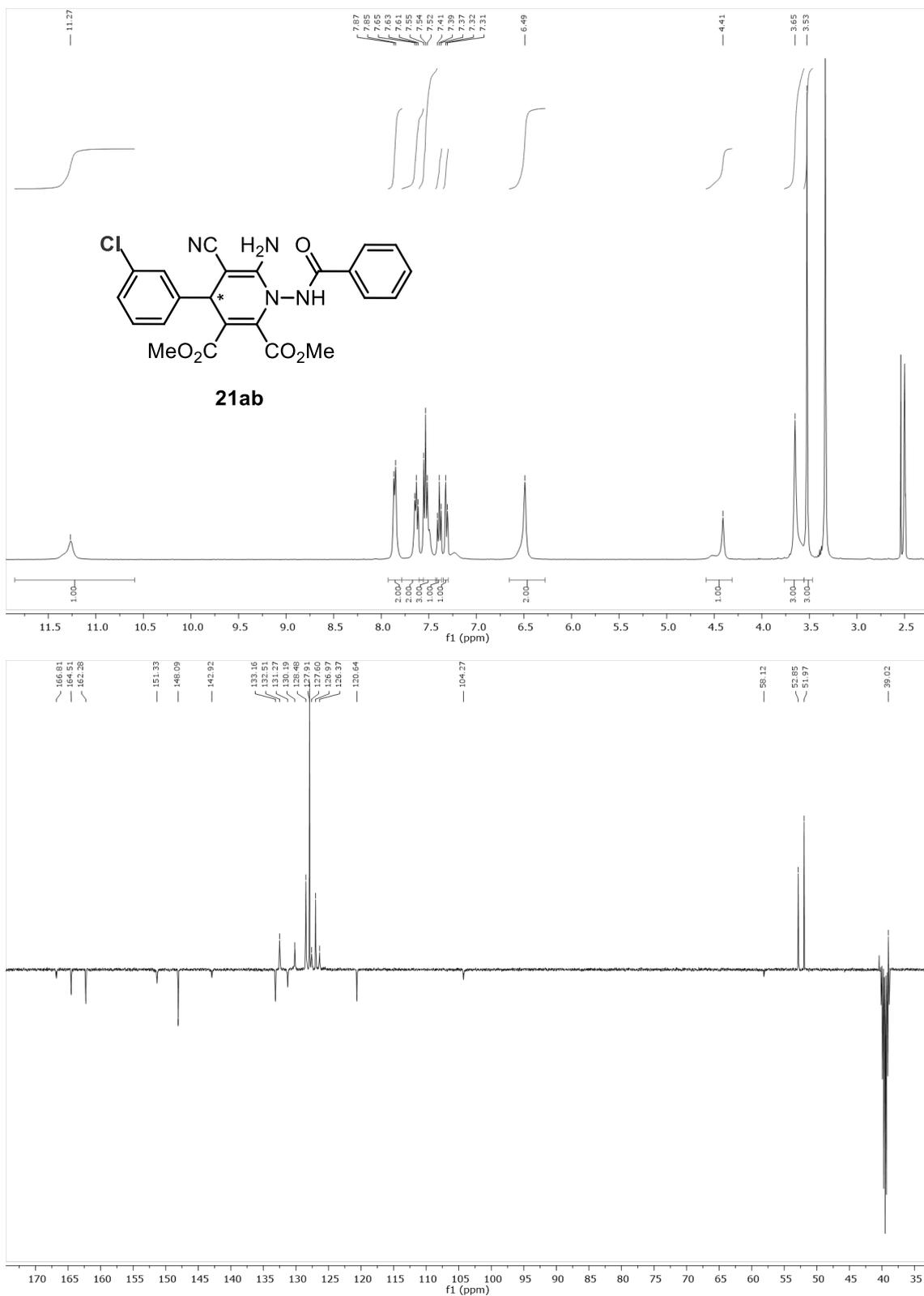
**Figura S2.65.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-5-ciano-1-(4-metoxibenzamido)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21fh**)



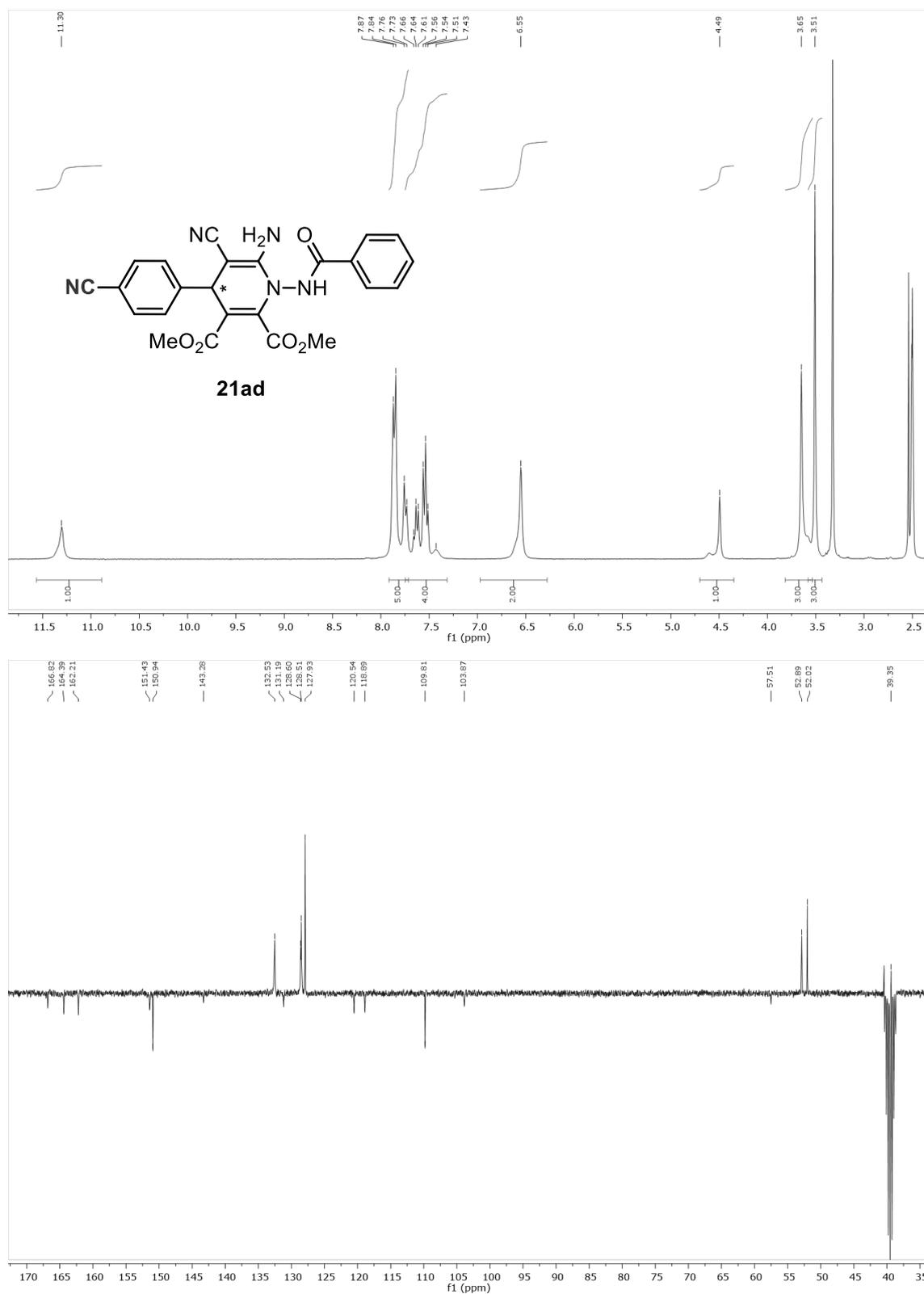
**Figura S2.66.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21aa**)



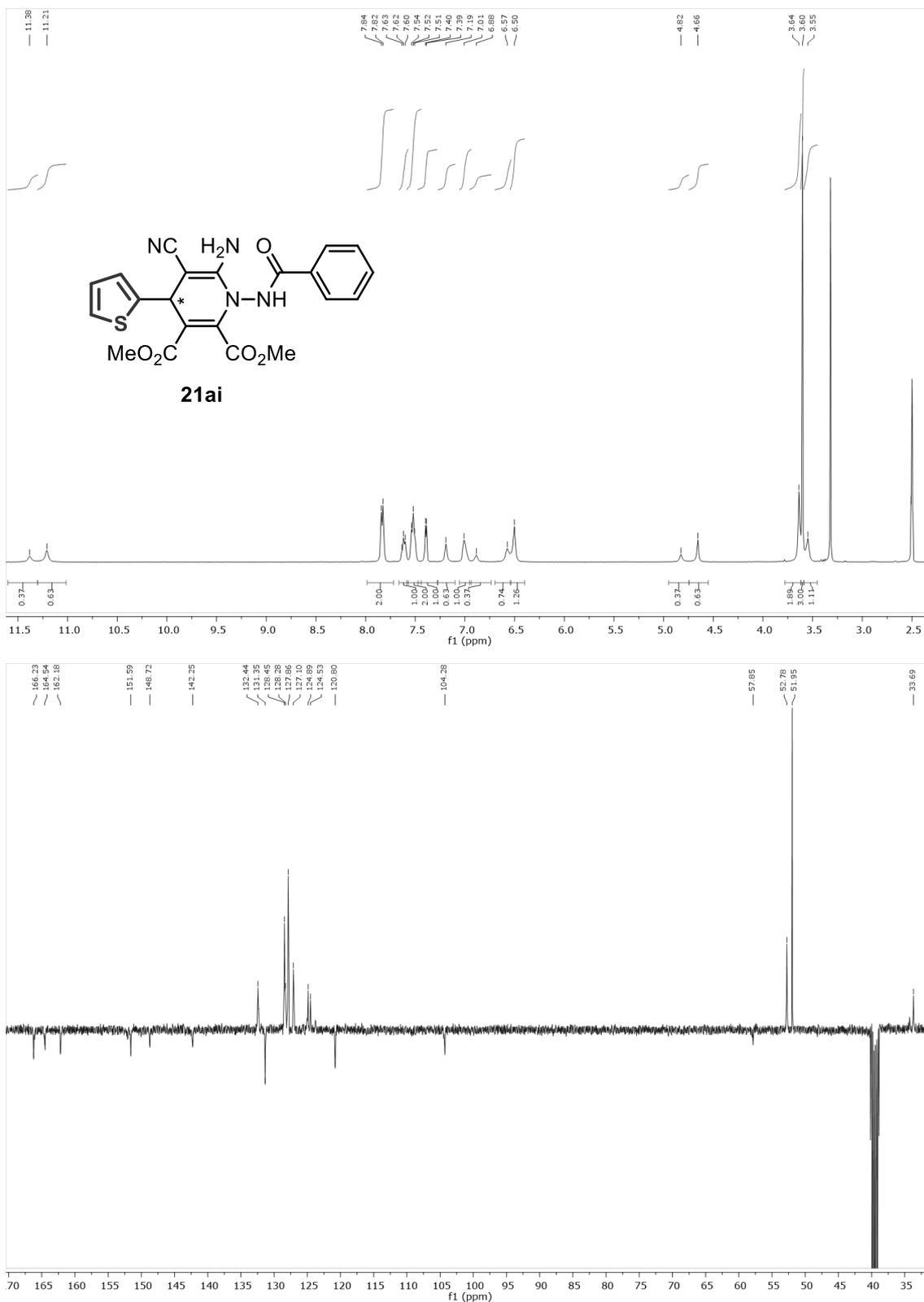
**Figura S2.67.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21ab**)



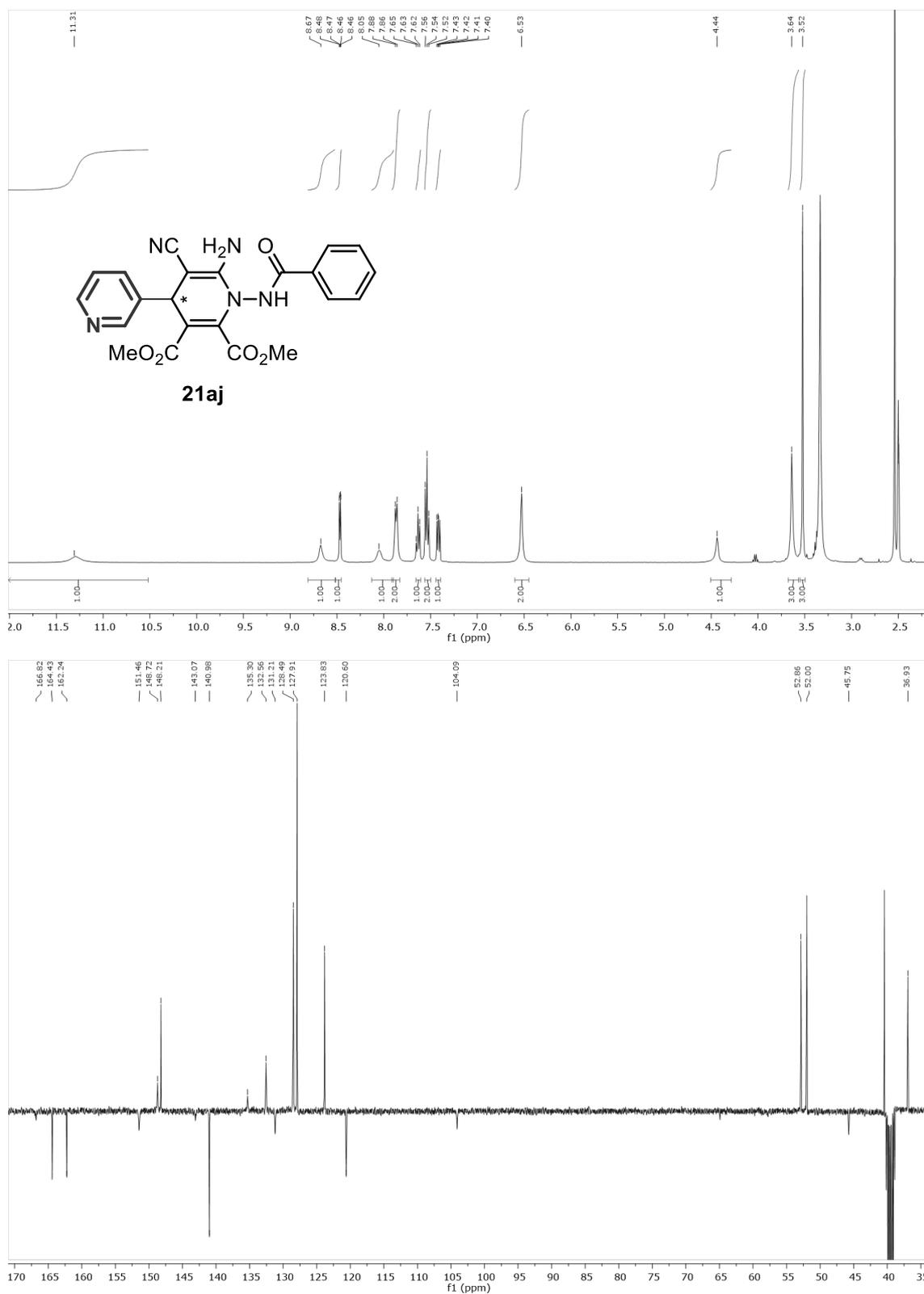
**Figura S2.68.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21ad**)



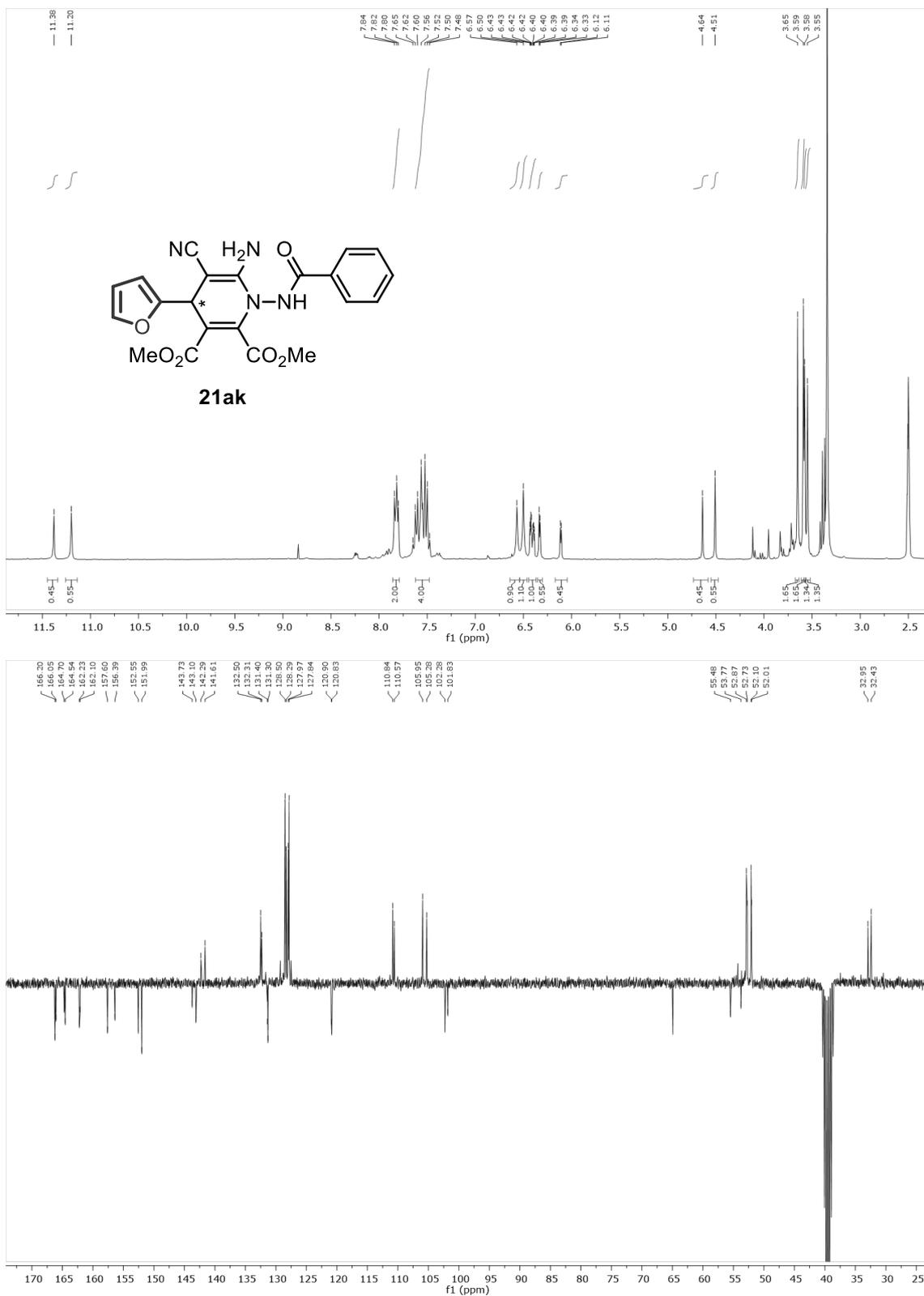
**Figura S2.69.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-5-ciano-4-(tiofen-2-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21ai**)



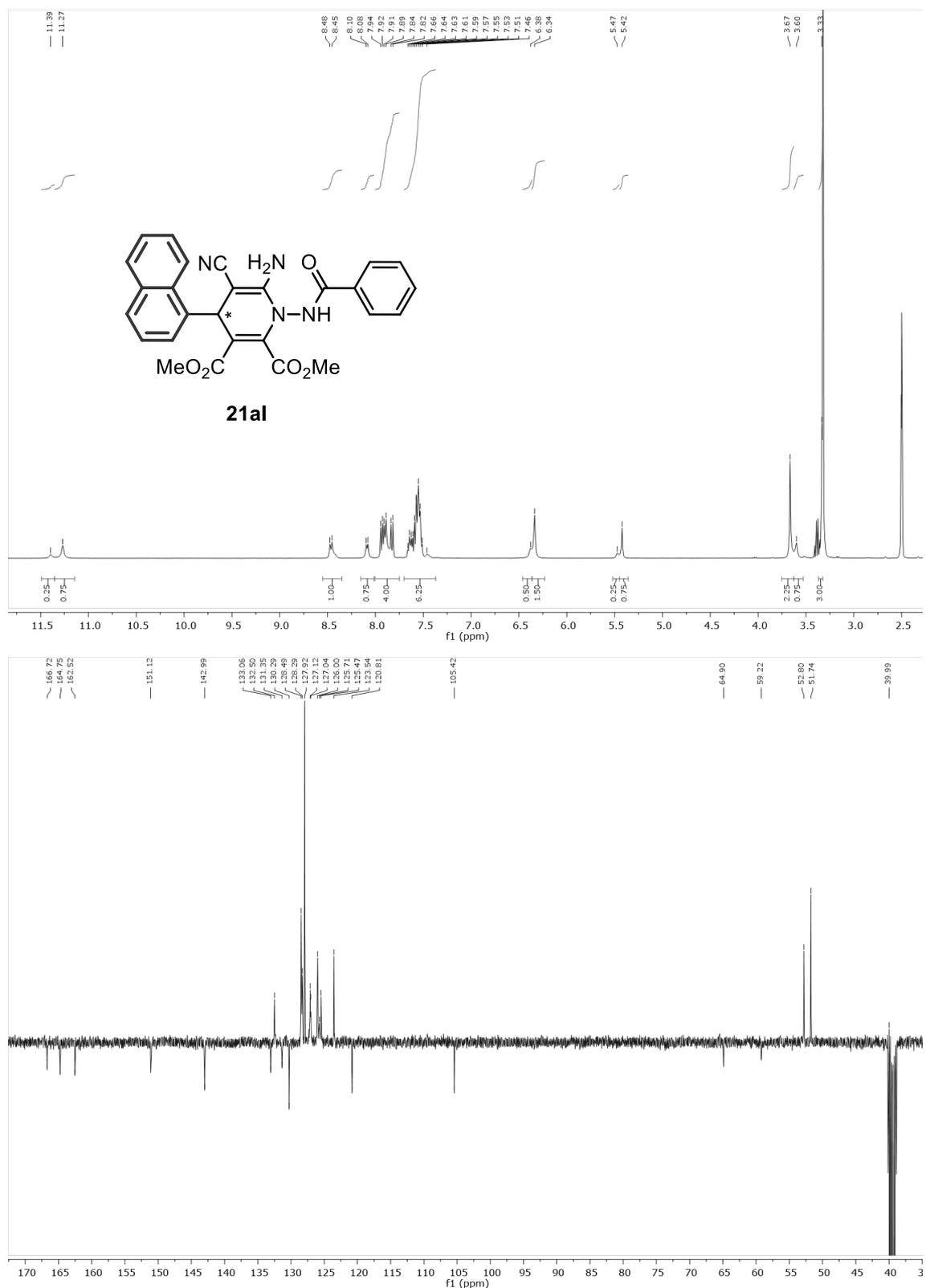
**Figura S2.70.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6'-amino-1'-benzamido-5'-ciano-1',4'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-2',3'-dicarboxilato de dimetilo (**21aj**)



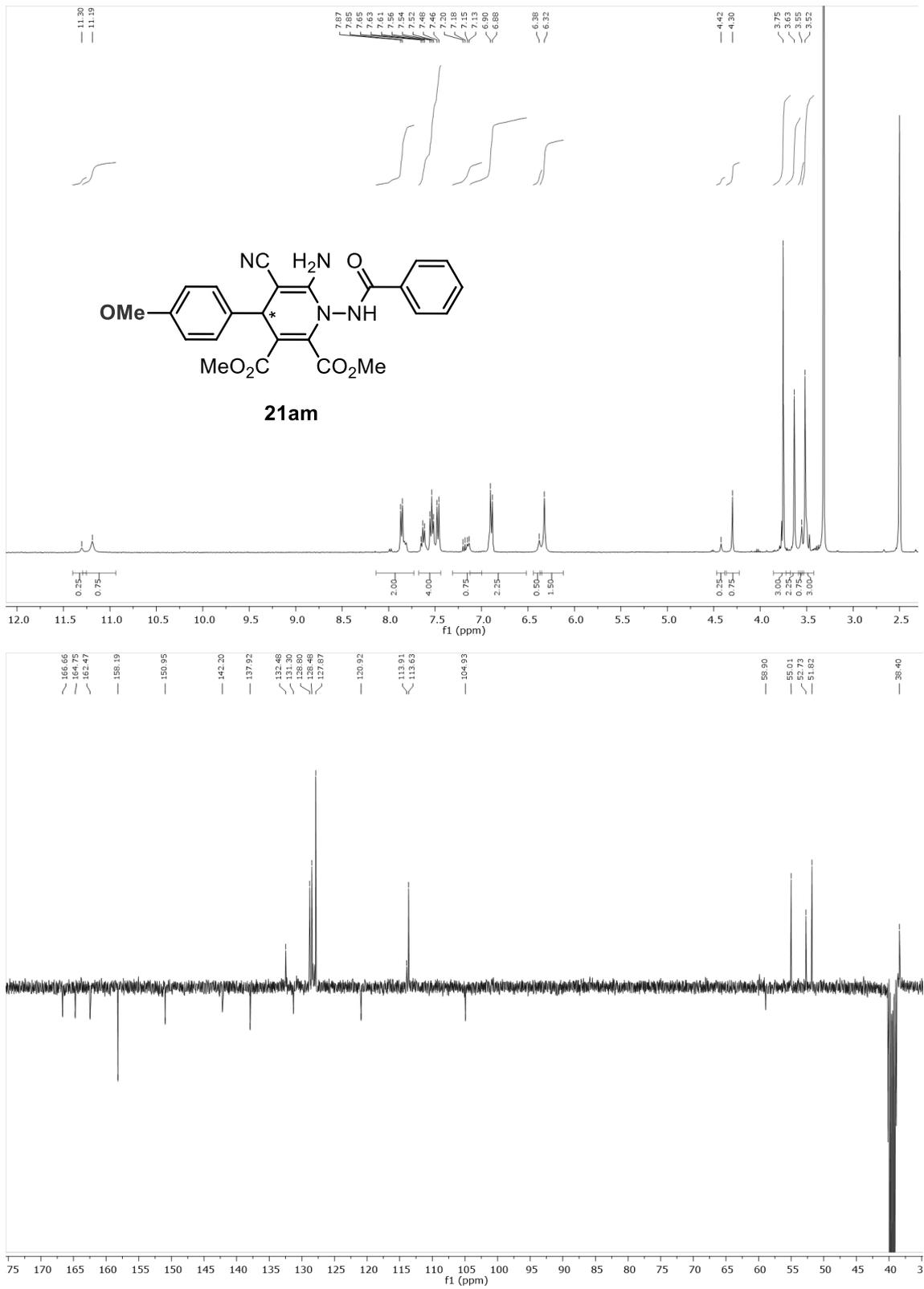
**Figura S2.71.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-5-ciano-4-(furan-2-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21ak**)



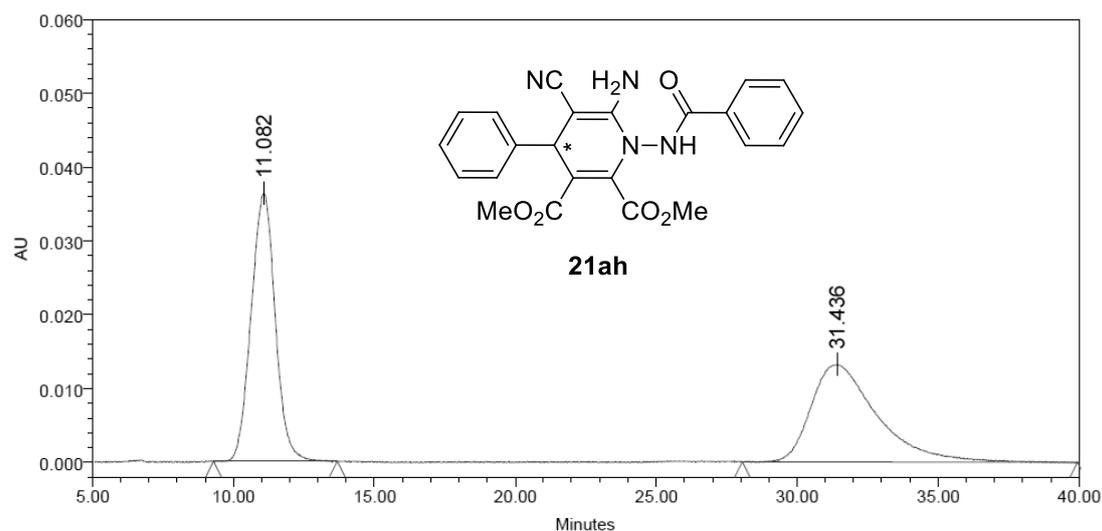
**Figura S2.72.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-5-ciano-4-(naftalen-1-il)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21al**)



**Figura S2.73.** Espectros de RMN de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT de 6-amino-1-benzamido-5-ciano-4-(4-metoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**21am**)



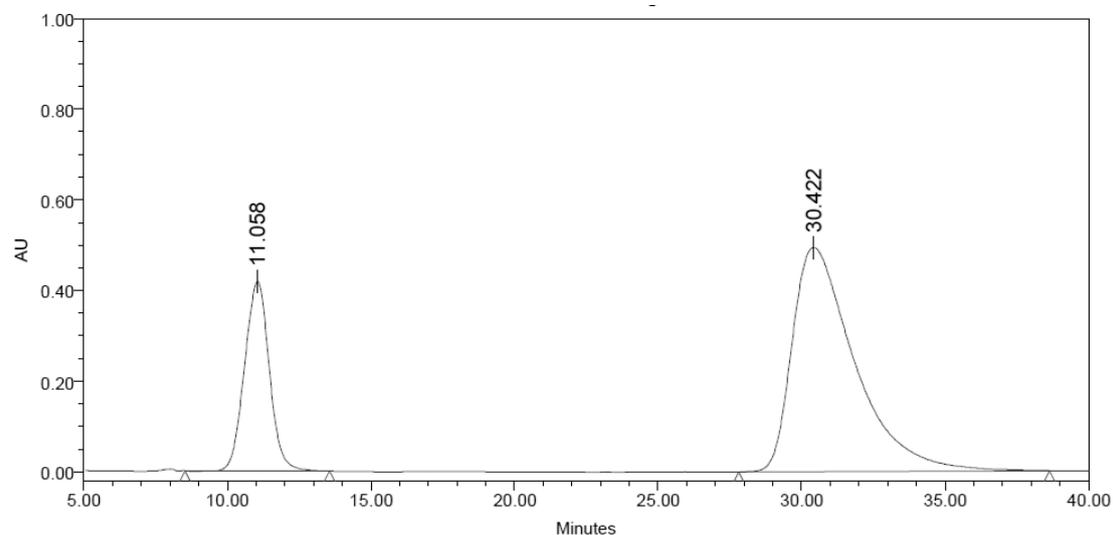
## Cromatogramas de HPLC de los Compuestos 21



## Processed Channel: PDA 337.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 337.7 nm	11.082	2158670	50.14	36296
2	PDA 337.7 nm	31.436	2146356	49.86	13164

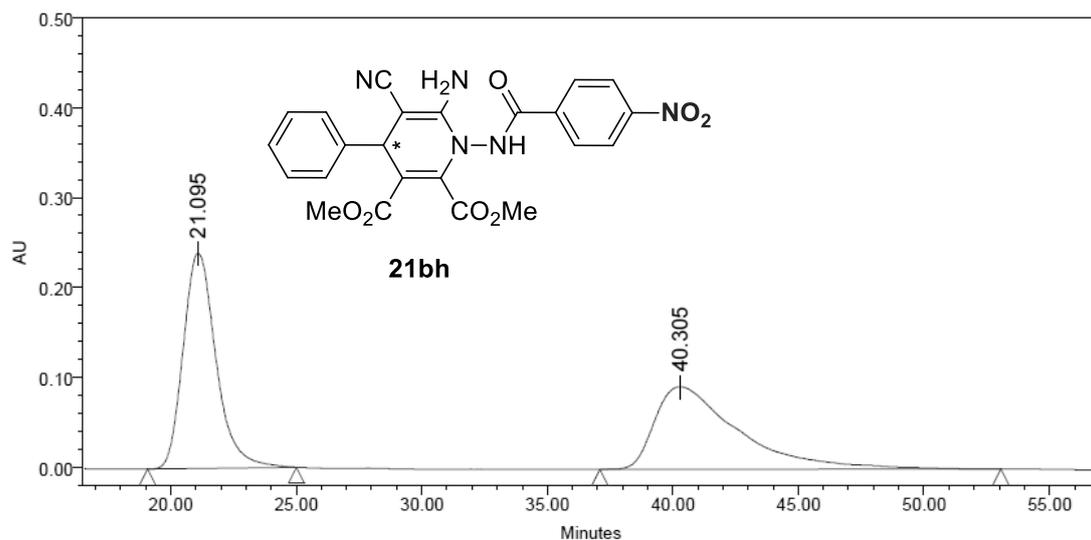
**Figura S2.74.** Muestra racémica de **21ah**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



## Processed Channel: PDA 237.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	11.058	25161769	25.20	417936
2	PDA 237.7 nm	30.422	74681844	74.80	494807

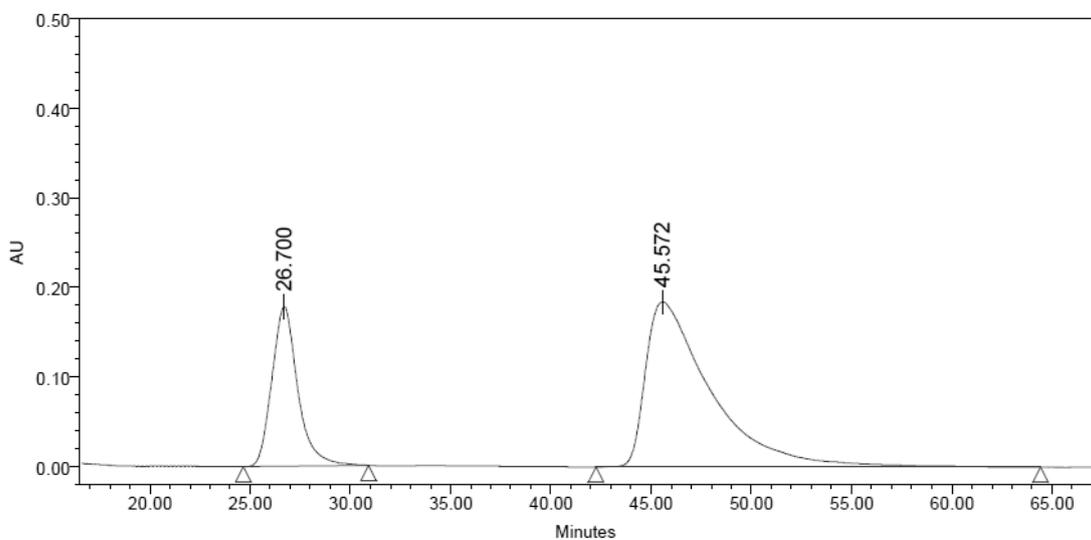
**Figura S2.75.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ah**.



**Processed Channel: PDA 249.6 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 249.6 nm	21.095	21776897	50.50	239114
2	PDA 249.6 nm	40.305	21347894	49.50	91917

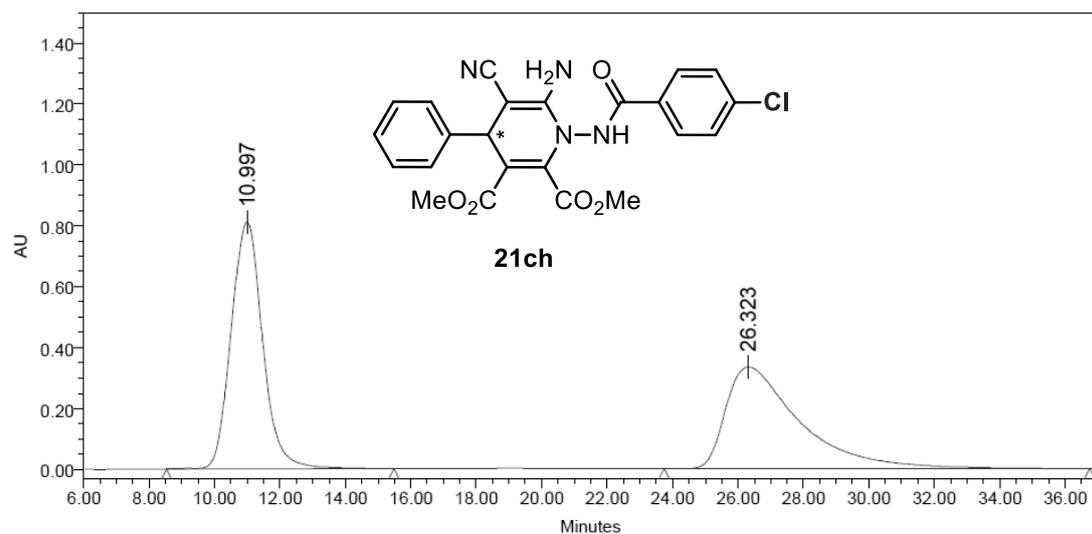
**Figura S2.76.** Muestra racémica de **21bh**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



**Processed Channel: PDA 249.6 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 249.6 nm	26.700	15938249	27.60	178196
2	PDA 249.6 nm	45.572	41807602	72.40	184381

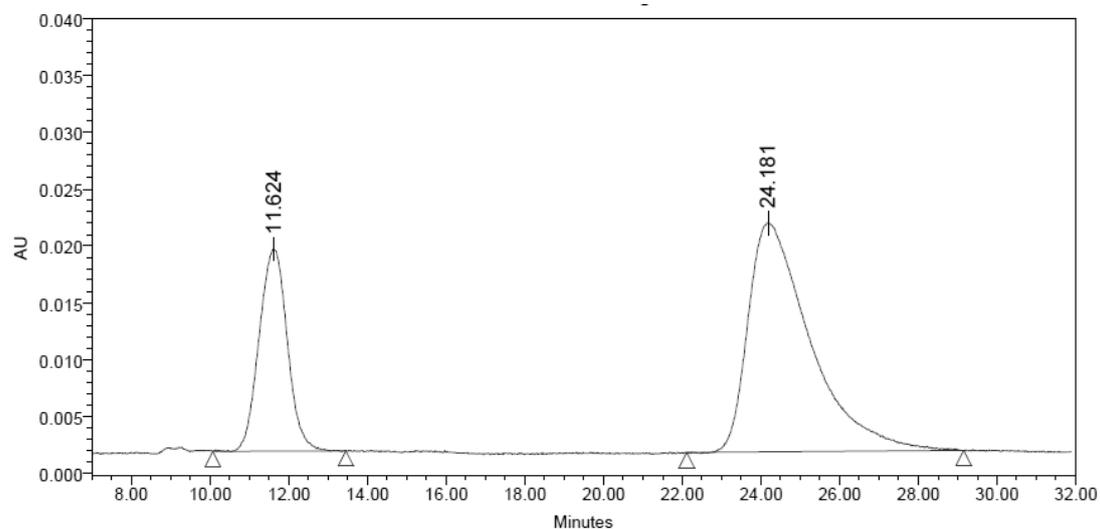
**Figura S2.77.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21bh**.



Processed Channel: PDA 254.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 254.0 nm	10.997	54334077	50.83	810319
2	PDA 254.0 nm	26.323	52551482	49.17	334036

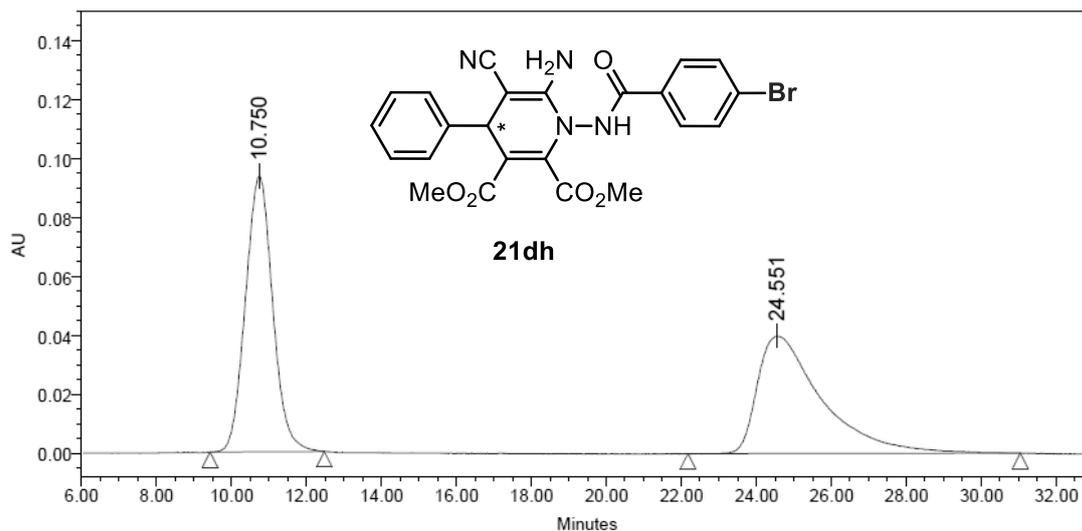
**Figura S2.78.** Muestra racémica de **21ch**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min) inyectada 3 meses después.



Processed Channel: PDA 310.5 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 310.5 nm	11.624	885053	28.54	17794
2	PDA 310.5 nm	24.181	2216192	71.46	20151

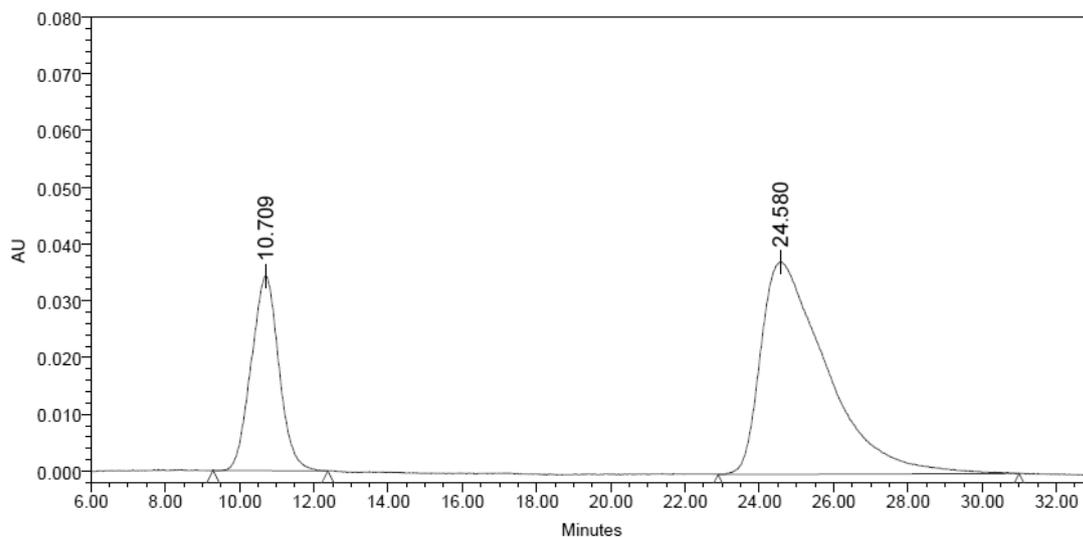
**Figura S2.79.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ch**.



Processed Channel: PDA 330.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 330.0 nm	10.750	4738746	49.95	93627
2	PDA 330.0 nm	24.551	4747889	50.05	39905

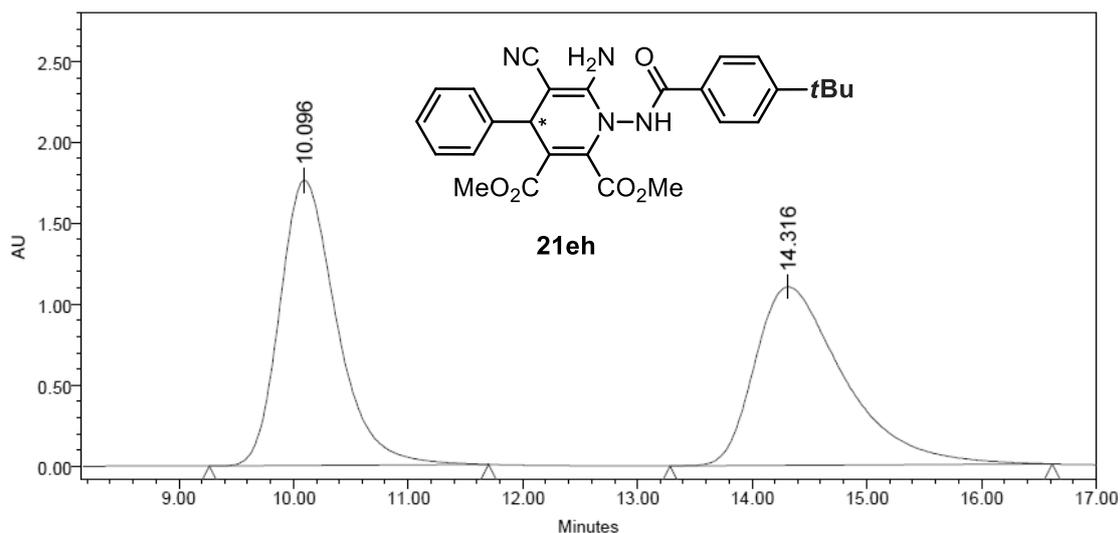
**Figura S2.80.** Muestra racémica de **21dh**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 330.0 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 330.0 nm	10.709	1776175	27.90	34259
2	PDA 330.0 nm	24.580	4590529	72.10	37376

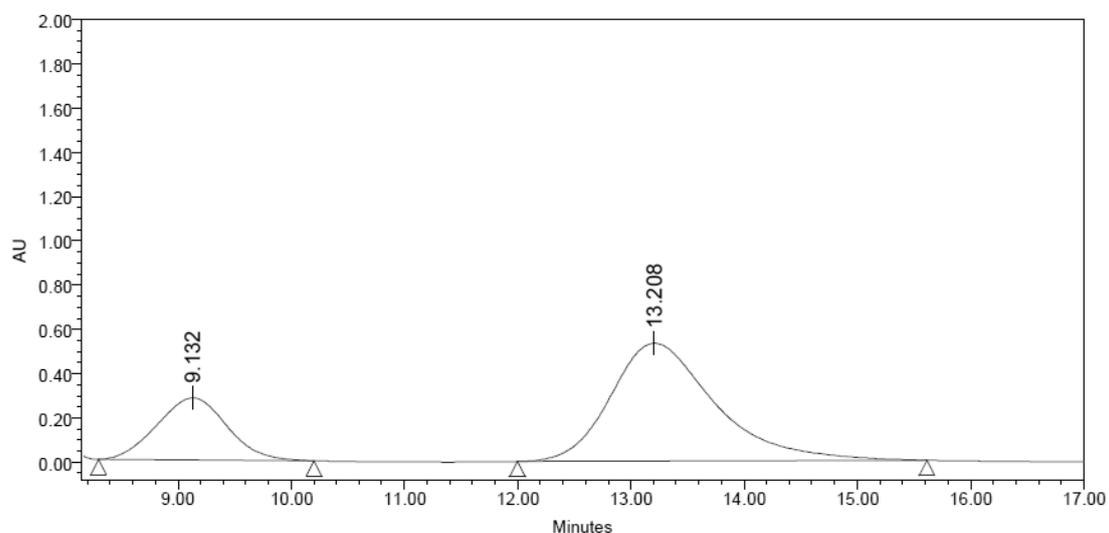
**Figura S2.81.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21dh**.



Processed Channel: PDA 242.5 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 242.5 nm	10.096	60689125	50.51	1761519
2	PDA 242.5 nm	14.316	59471736	49.49	1101201

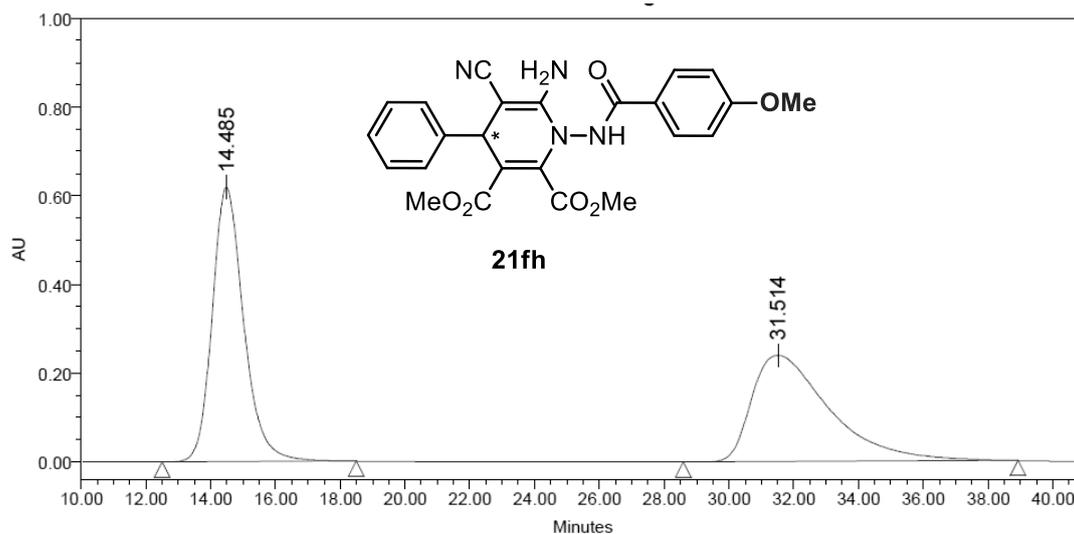
**Figura S2.82.** Muestra racémica de **21eh**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 242.5 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 242.5 nm	9.132	12055280	26.06	280193
2	PDA 242.5 nm	13.208	34205034	73.94	533262

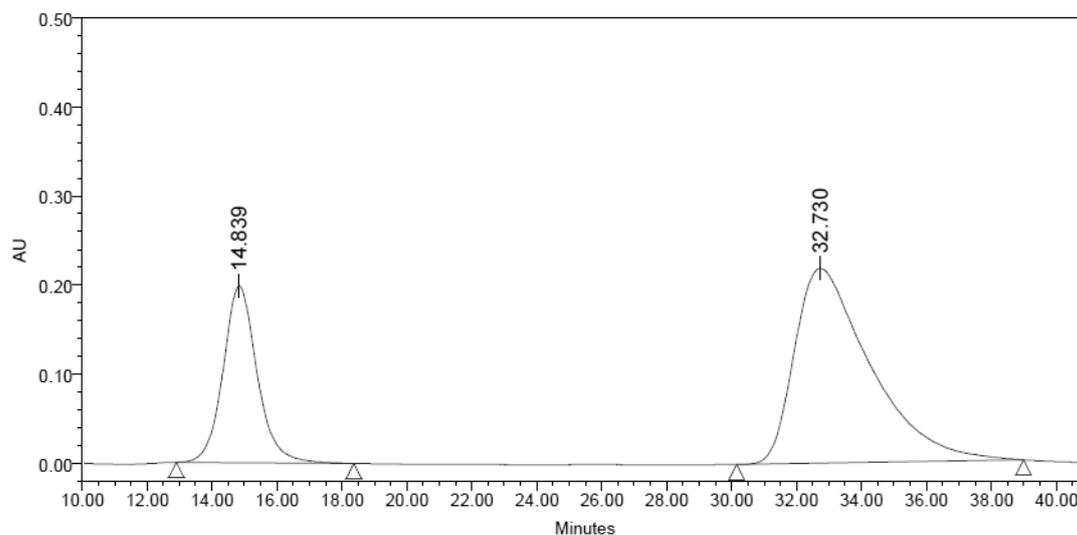
**Figura S2.83.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21eh**.



Processed Channel: PDA 253.2 nm

Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1 PDA 253.2 nm	14.485	41736937	51.06	618777
2 PDA 253.2 nm	31.514	39997758	48.94	239602

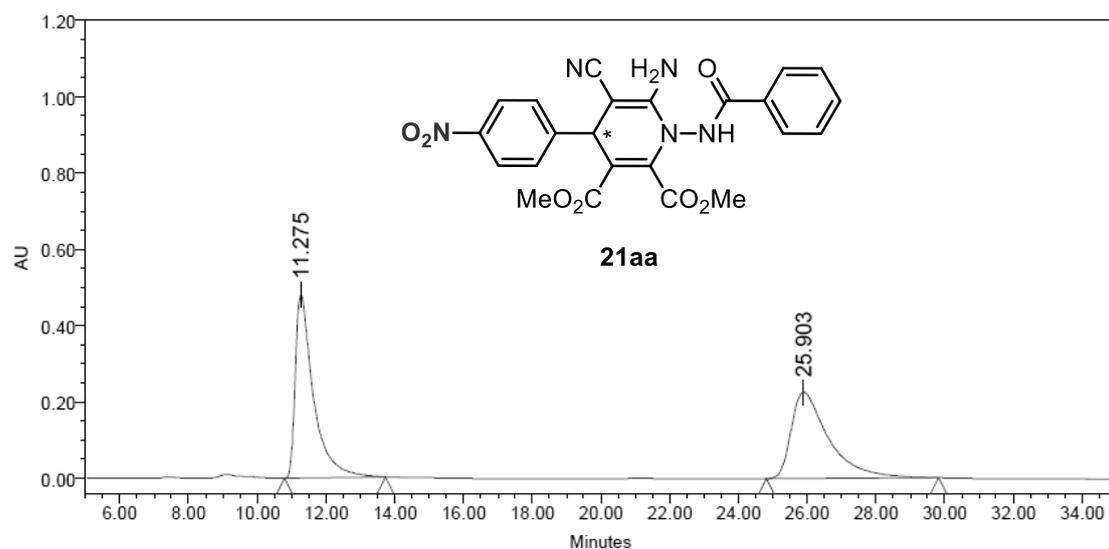
**Figura S2.84.** Muestra racémica de **21fh**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min) inyectada 3 meses después.



Processed Channel: PDA 253.2 nm

Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1 PDA 253.2 nm	14.839	14454503	28.96	198394
2 PDA 253.2 nm	32.730	35454138	71.04	218546

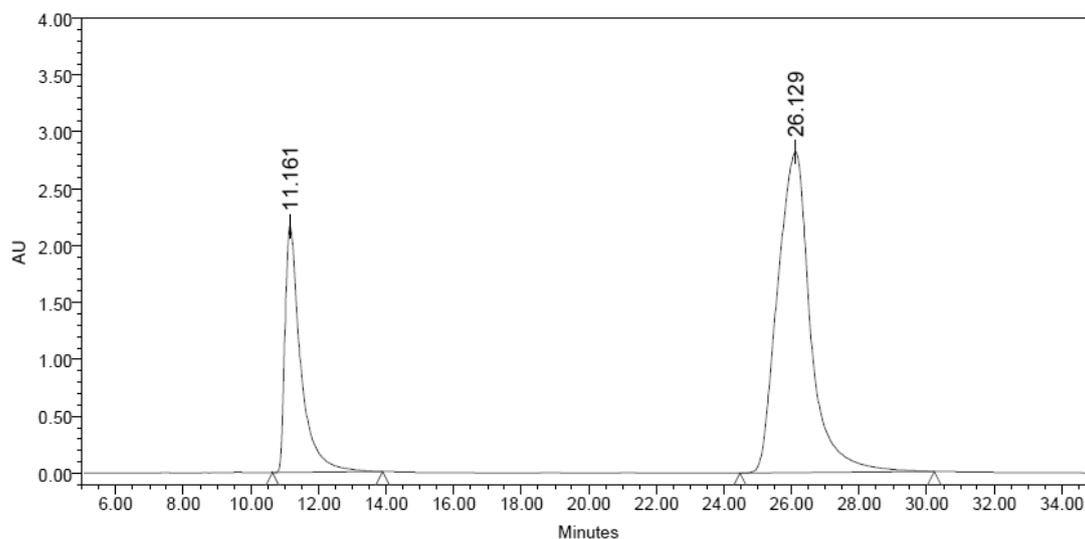
**Figura S2.85.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21fh**.



**Processed Channel: PDA 236.6 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	11.275	17622984	50.78	479710
2	PDA 236.6 nm	25.903	17082399	49.22	225531

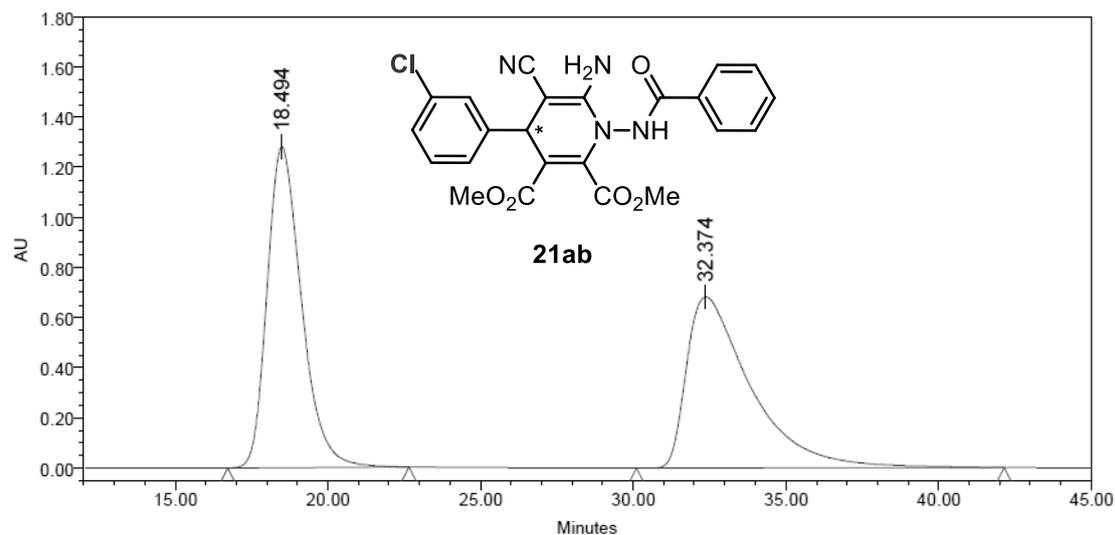
**Figura S2.86.** Muestra racémica de **21aa**. Daicel Chiralpak IA (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



**Processed Channel: PDA 236.6 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	11.161	70343801	26.94	2168349
2	PDA 236.6 nm	26.129	190731169	73.06	2819267

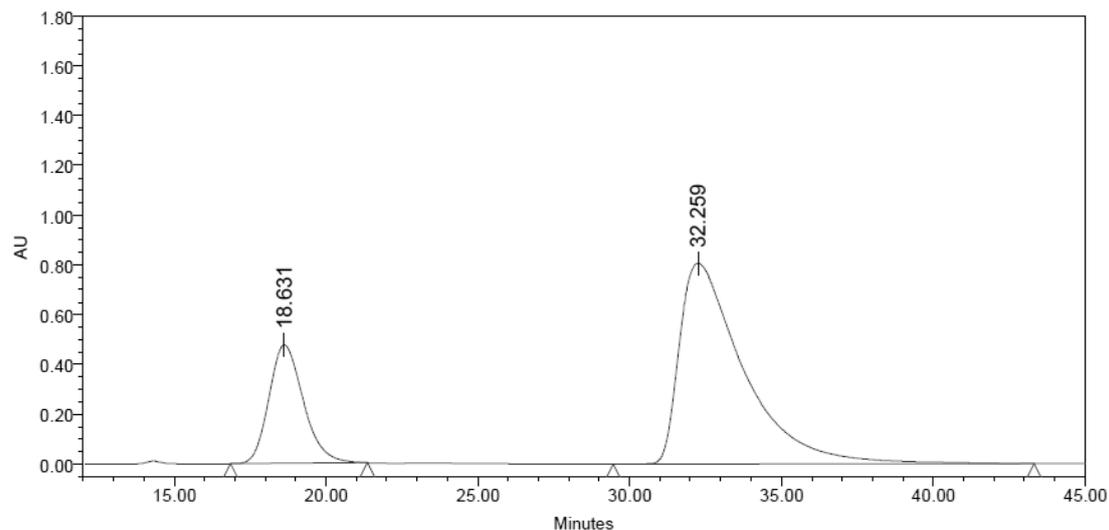
**Figura S2.87.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21aa**.



Processed Channel: PDA 236.6 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	18.494	100441914	50.09	1281760
2	PDA 236.6 nm	32.374	100070753	49.91	682777

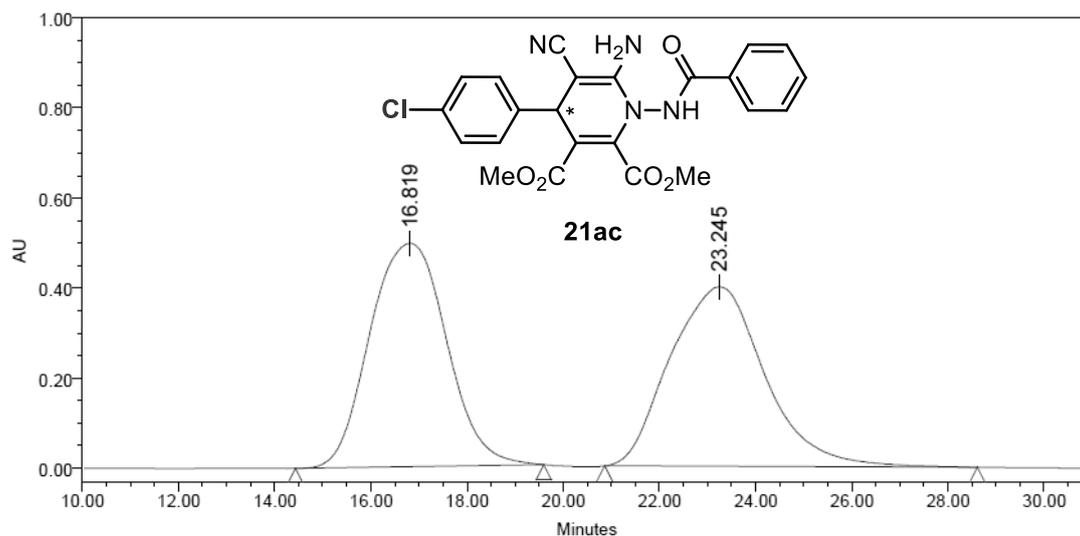
**Figura S2.88.** Muestra racémica de **21ab**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 236.6 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	18.631	37654156	24.09	477002
2	PDA 236.6 nm	32.259	118683057	75.91	806171

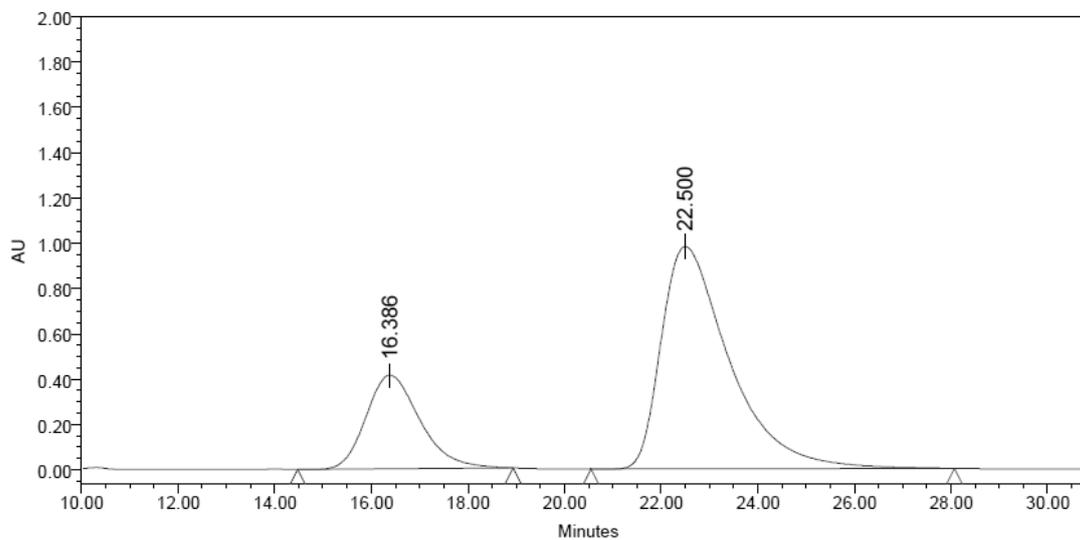
**Figura S2.89.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ab**.



Processed Channel: PDA 237.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	16.819	55049476	50.24	495723
2	PDA 237.7 nm	23.245	54529618	49.76	398603

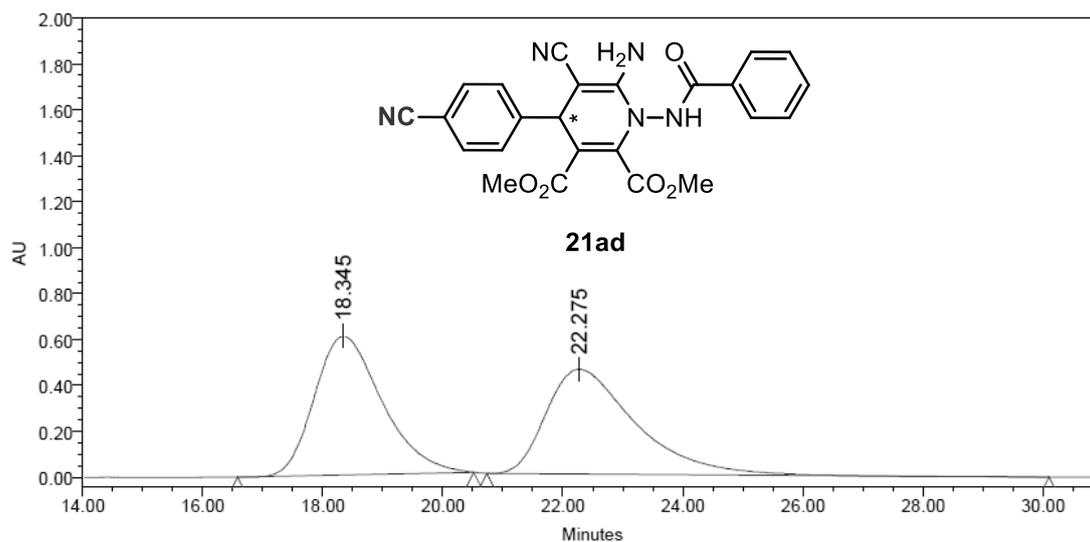
**Figura S2.90.** Muestra racémica de **21ac**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 237.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	16.386	32047499	24.94	413395
2	PDA 237.7 nm	22.500	96450196	75.06	981830

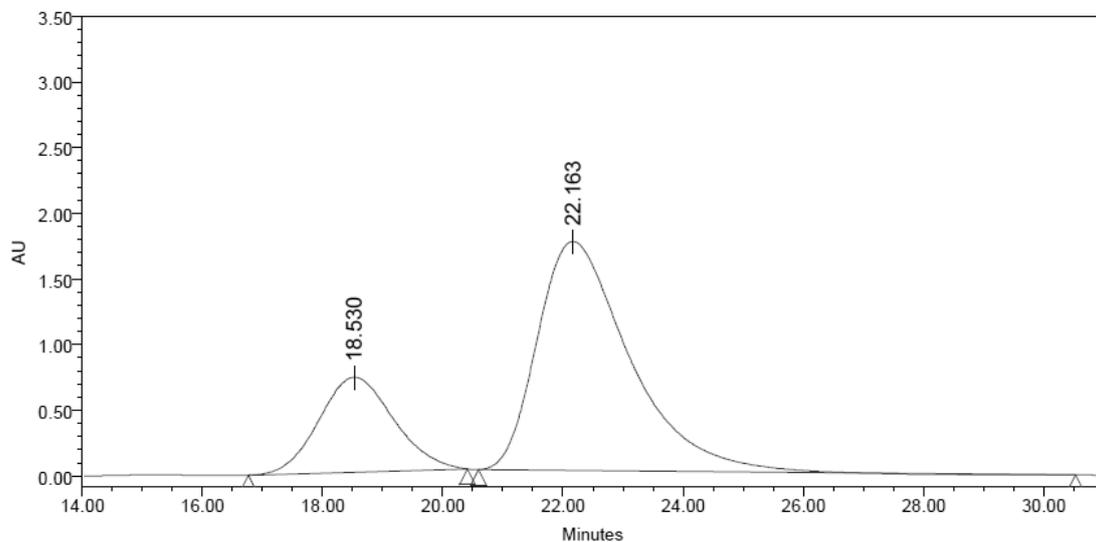
**Figura S2.91.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ac**.



Processed Channel: PDA 234.2 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 234.2 nm	18.345	47416686	50.17	604355
2	PDA 234.2 nm	22.275	47099216	49.83	455713

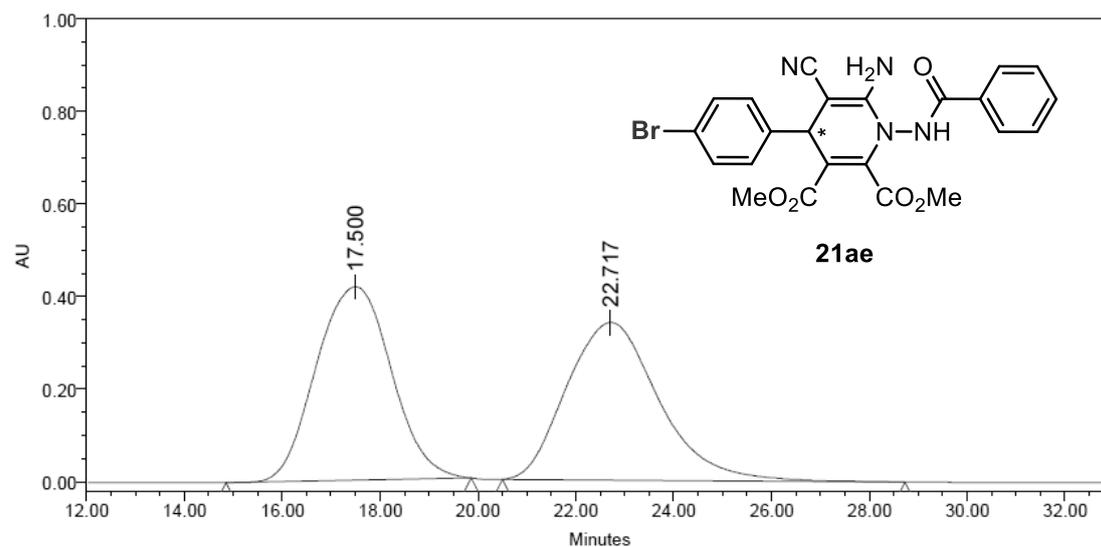
**Figura S2.92.** Muestra racémica de **21ad**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 234.2 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 234.2 nm	18.530	62541011	25.05	724498
2	PDA 234.2 nm	22.163	187103255	74.95	1746223

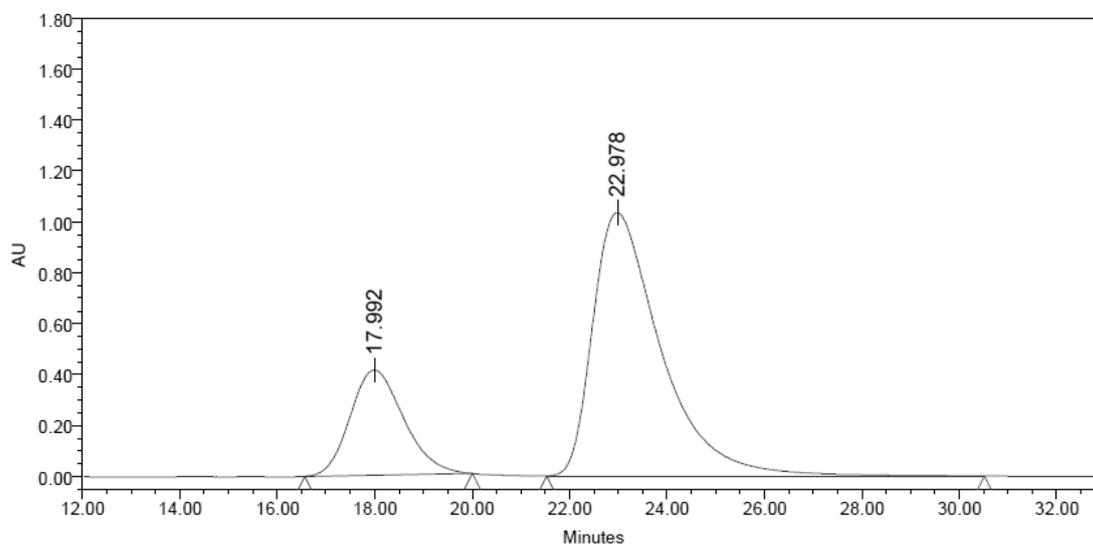
**Figura S2.93.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ad**.



Processed Channel: PDA 236.6 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	17.500	44708714	50.06	417705
2	PDA 236.6 nm	22.717	44606766	49.94	340507

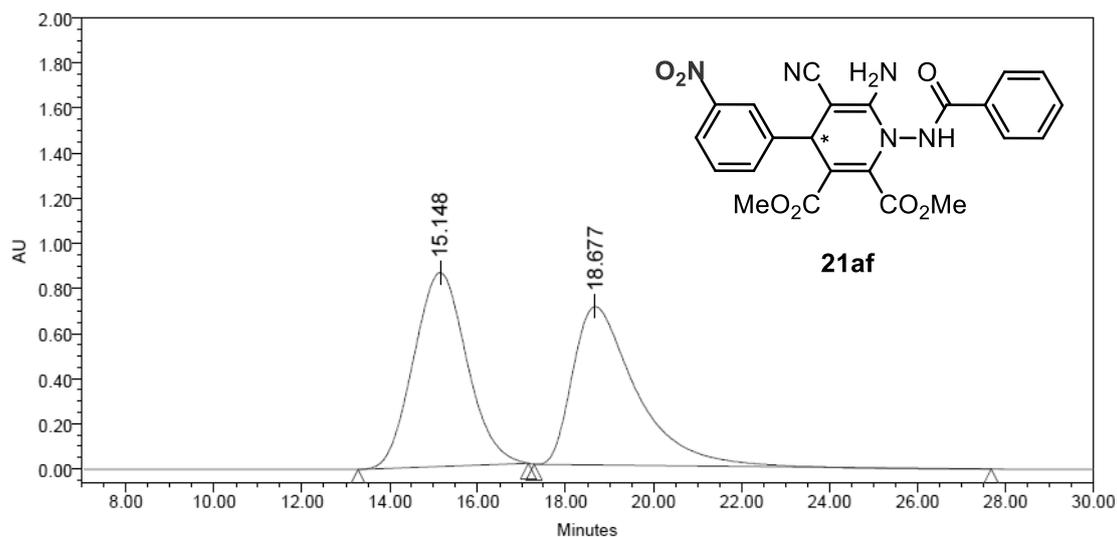
**Figura S2.94.** Muestra racémica de **21ae**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 236.6 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	17.992	31599134	23.88	413822
2	PDA 236.6 nm	22.978	100733240	76.12	1035302

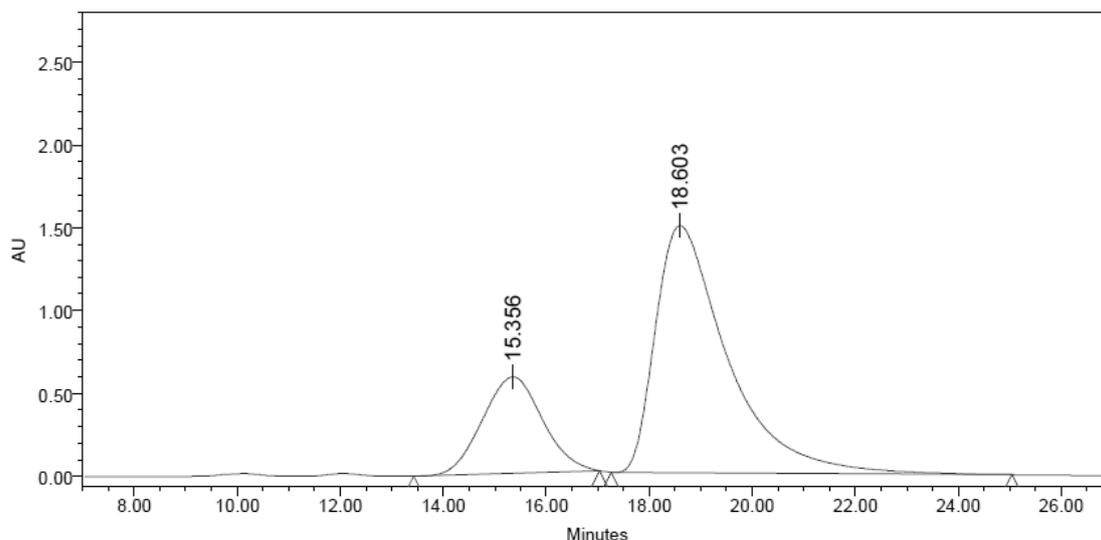
**Figura S2.95.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ae**.



**Processed Channel: PDA 238.9 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.9 nm	15.148	72022869	50.49	859290
2	PDA 238.9 nm	18.677	70638421	49.51	700873

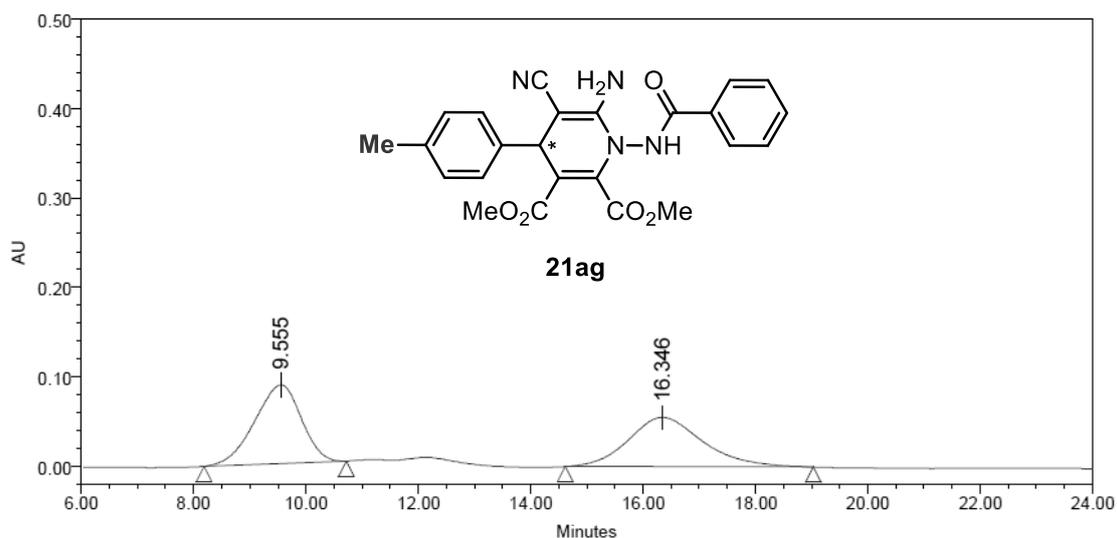
**Figura S2.96.** Muestra racémica de **21af**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



**Processed Channel: PDA 238.9 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 238.9 nm	15.356	47060023	24.46	581731
2	PDA 238.9 nm	18.603	145335733	75.54	1491373

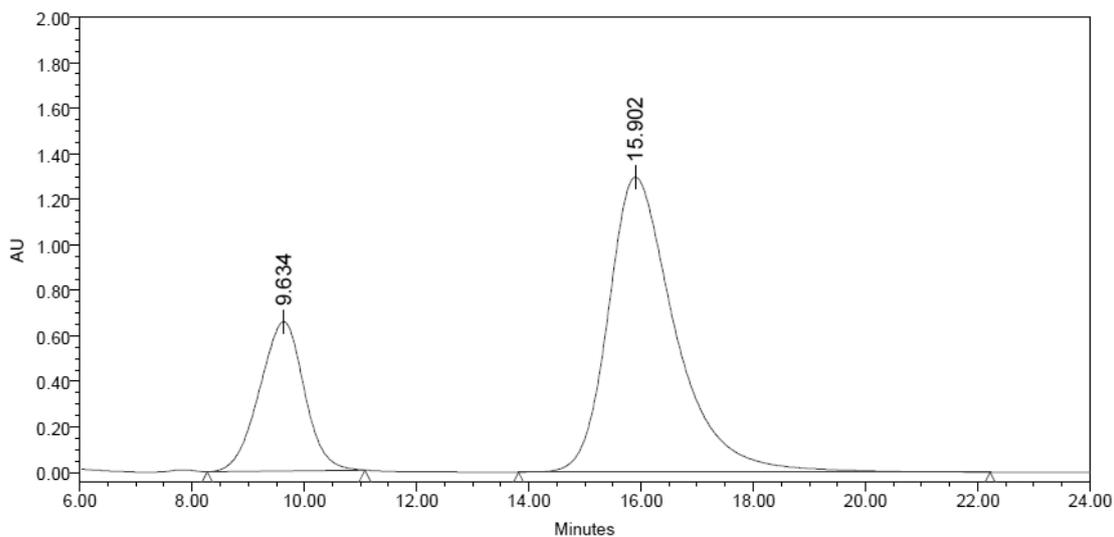
**Figura S2.97.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21af**.



Processed Channel: PDA 237.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	9.555	5079543	49.91	88016
2	PDA 237.7 nm	16.346	5098577	50.09	55184

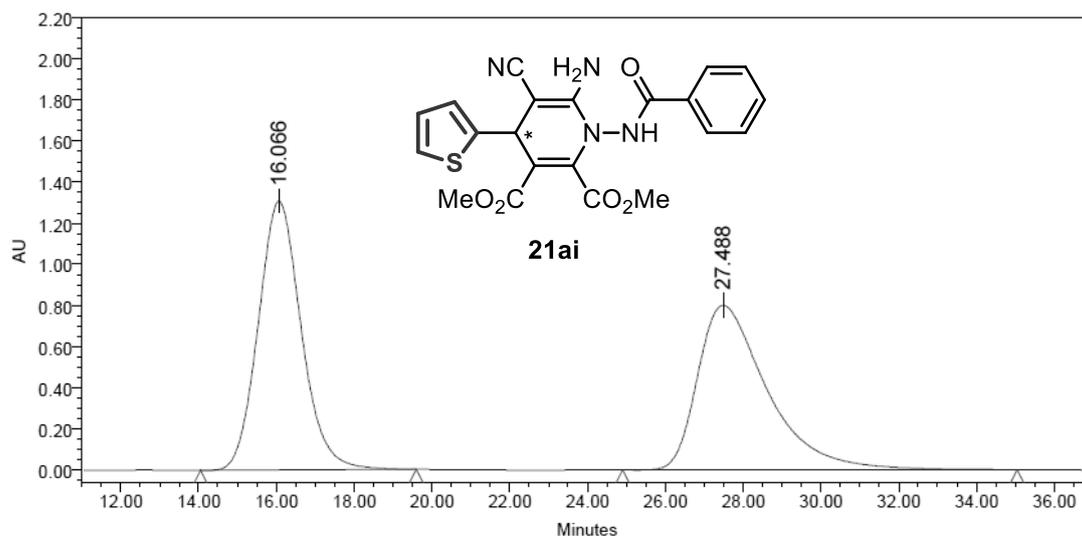
**Figura S2.98.** Muestra racémica de **21ag**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 237.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	9.634	36213748	25.17	655692
2	PDA 237.7 nm	15.902	107660471	74.83	1295935

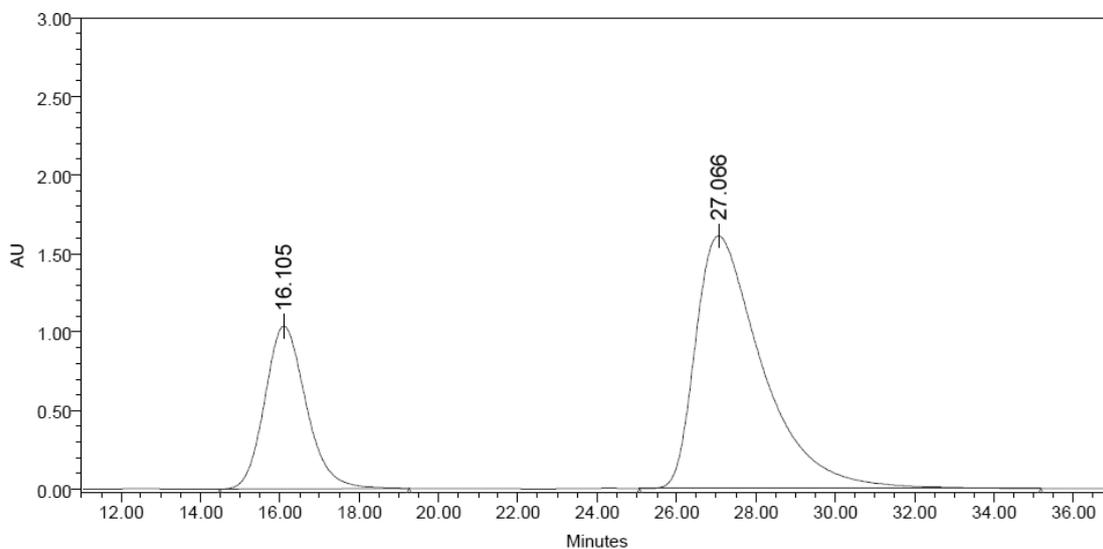
**Figura S2.99.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ag**.



Processed Channel: PDA 236.6 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	16.066	100596140	50.23	1308641
2	PDA 236.6 nm	27.488	99663464	49.77	800792

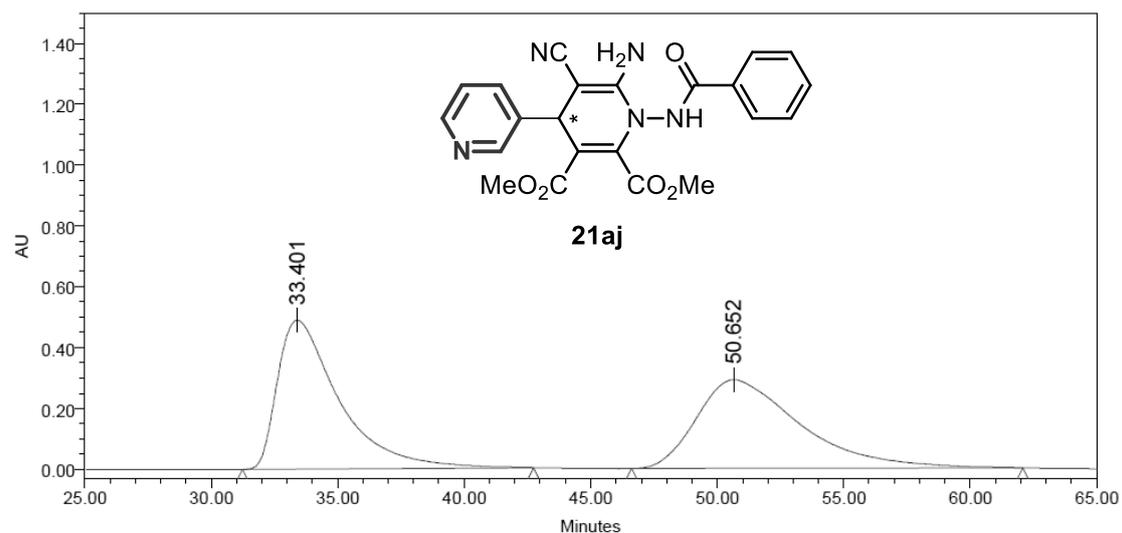
**Figura S2.100.** Muestra racémica de **21ai**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 236.6 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	16.105	74932650	28.49	1035798
2	PDA 236.6 nm	27.066	188049038	71.51	1607532

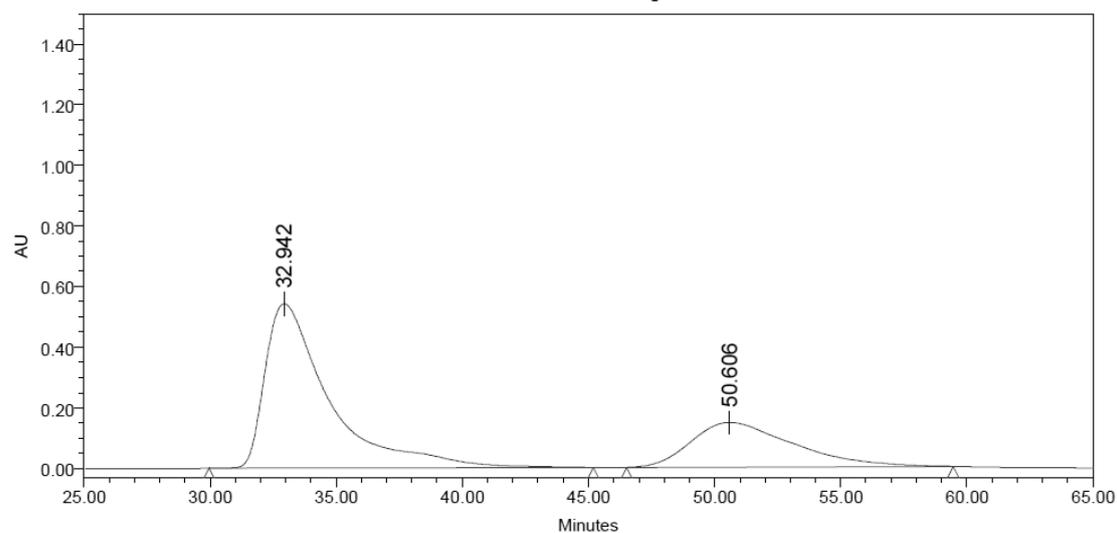
**Figura S2.101.** Muestra enantioméricamente enriquecida de del compuesto **21ai**.



Processed Channel: PDA 237.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	33.401	82969649	49.99	489103
2	PDA 237.7 nm	50.652	83002489	50.01	291330

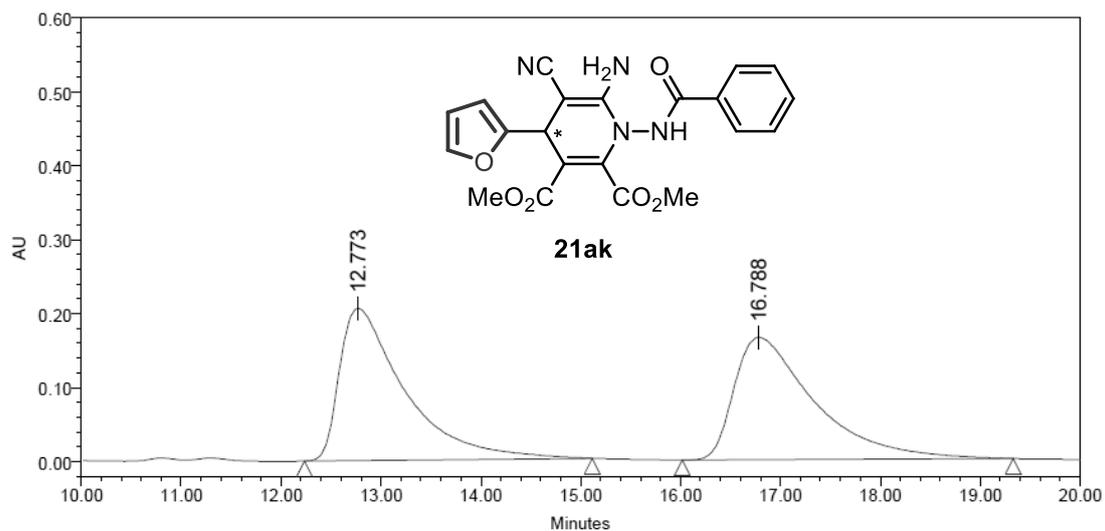
**Figura S2.102.** Muestra racémica de **21aj**. Columna Daicel Chiralpak IC (*n*hexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 237.7 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	32.942	95793294	69.83	542245
2	PDA 237.7 nm	50.606	41390261	30.17	146845

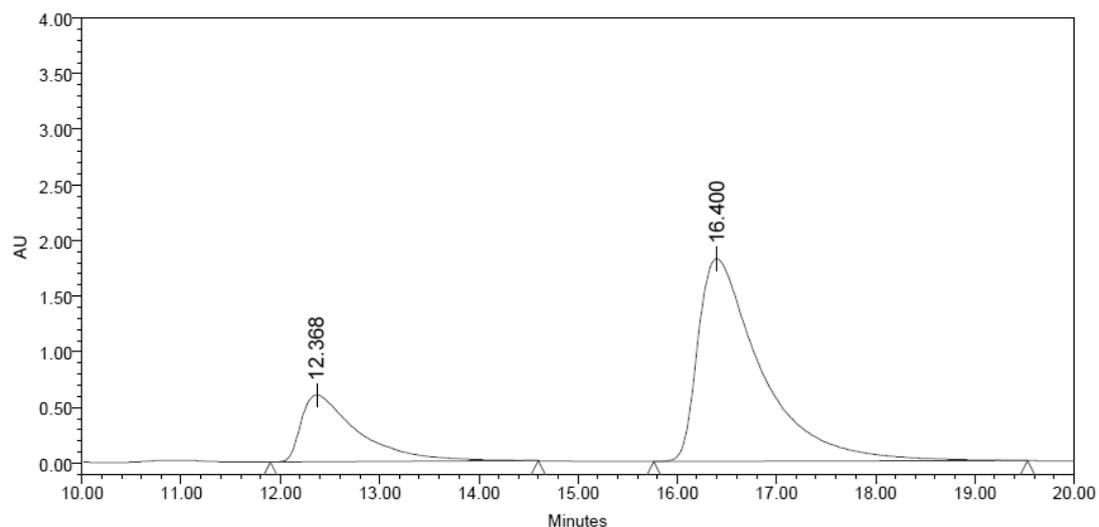
**Figura S2.103.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21aj**.



**Processed Channel: PDA 236.6 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	12.773	9337925	50.31	205692
2	PDA 236.6 nm	16.788	9222028	49.69	165429

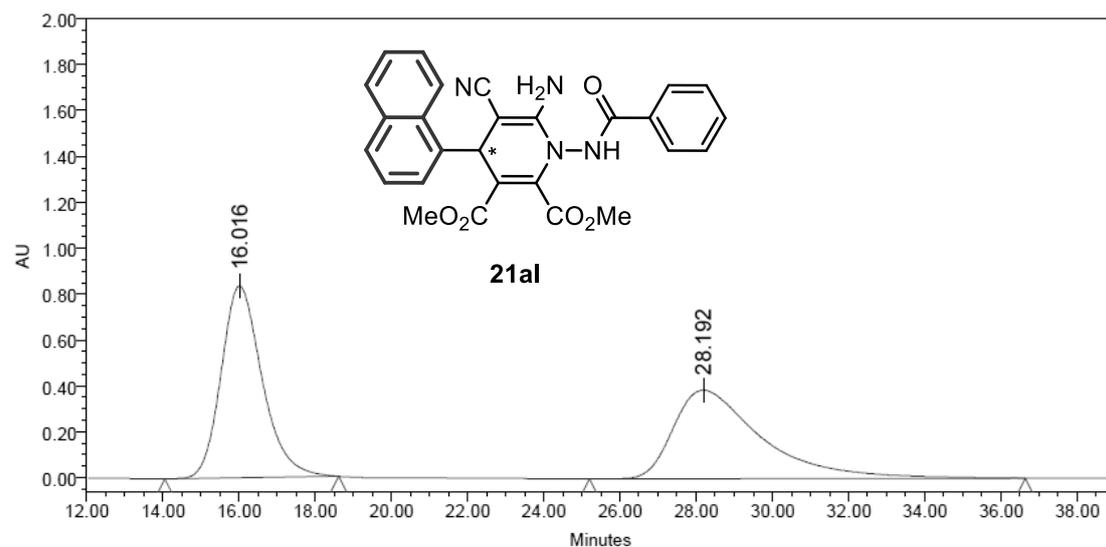
**Figura S2.104.** Muestra racémica de **21ak**. Daicel Chiralpak IA (*n*hexano:*i*PrOH = 80:20, velocidad de flujo 1 mL/min).



**Processed Channel: PDA 236.6 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 236.6 nm	12.368	23993346	22.92	601900
2	PDA 236.6 nm	16.400	80675819	77.08	1822151

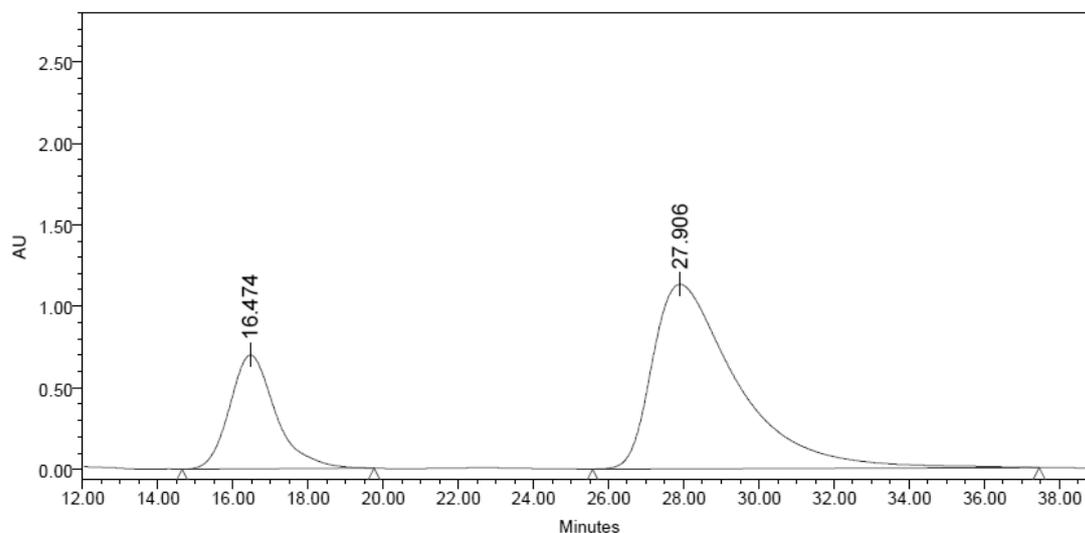
**Figura S2.105.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21ak**.



Processed Channel: PDA 221.2 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 221.2 nm	16.016	62495350	50.32	836041
2	PDA 221.2 nm	28.192	61702057	49.68	385566

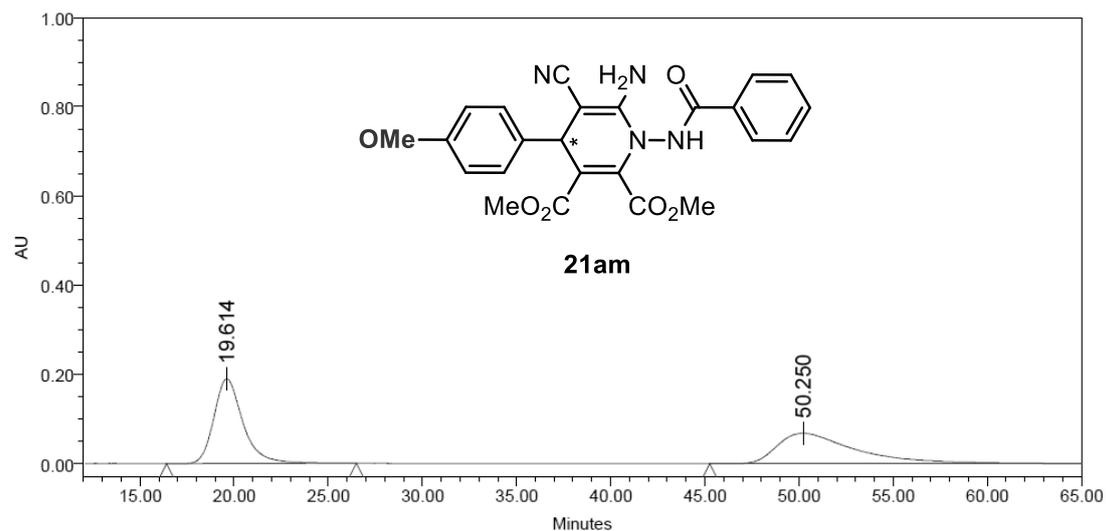
**Figura S2.106.** Muestra racémica de **21a**. Columna Daicel Chiralpak IC (nhexano:*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 221.2 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 221.2 nm	16.474	59358674	25.17	697447
2	PDA 221.2 nm	27.906	176513601	74.83	1130499

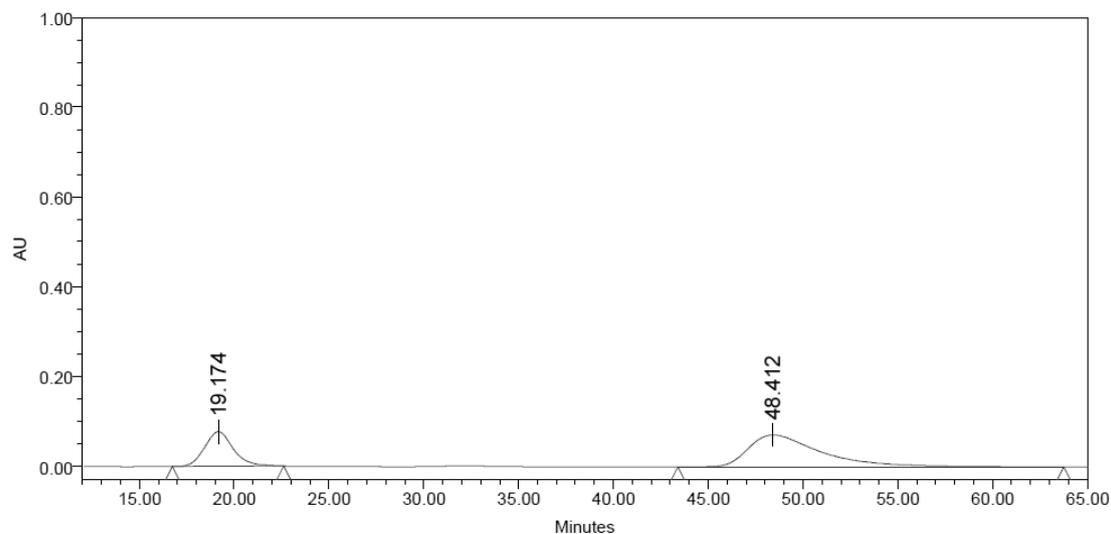
**Figura S2.107.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21a**.



**Processed Channel: PDA 247.4 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 247.4 nm	19.614	20322514	50.29	190004
2	PDA 247.4 nm	50.250	20087936	49.71	68499

**Figura S2.108.** Muestra racémica de **21am**. Columna Daicel Chiralpak IC (nhexano:iPrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



**Processed Channel: PDA 237.7 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 237.7 nm	19.174	8146189	29.96	77509
2	PDA 237.7 nm	48.412	19046679	70.04	71318

**Figura S2.109.** Muestra enantioméricamente enriquecida del compuesto **21am**.

# 3

## SÍNTESIS MULTICOMPONENTE ASISTIDA POR ULTRASONIDOS DE 4H-PIRANOS EN AGUA Y ESTUDIOS SOBRE SU INTERACCIÓN CON EL ADN<sup>89</sup>

### 3.1 Introducción

Los 4H-piranos son una importante familia dentro de los heterociclos. Se trata de una estructura de 6 miembros, monooxigenada y doblemente insaturada.<sup>90</sup> Se encuentra en muchos productos naturales y fármacos, generalmente como parte de derivados de 4H-cromeno (4H-benzopiranos).<sup>91</sup> Presentan un amplio abanico de propiedades biológicas, variando entre agentes antitumorales, antialérgicos, antimicrobianos o antibacterianos y otras propiedades.<sup>92</sup> Por su similitud con las 1,4-dihidropiridinas, se han aplicado también como bloqueadores de los canales de calcio.<sup>93</sup> Además, el uso de esta familia de moléculas se ha extendido a la industria cosmética y agroquímica.<sup>94</sup>

Entre ellas, la síntesis de 2-amino-3-ciano-4H-piranos ha despertado especial interés en los últimos años, como parte de 2-amino-3-ciano-4H-cromenos,<sup>91c</sup> también por sus propiedades biológicas (Figura 3.1).

<sup>89</sup> F. Auria-Luna, V. Fernández-Moreira, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. P. Herrera, *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 11594.

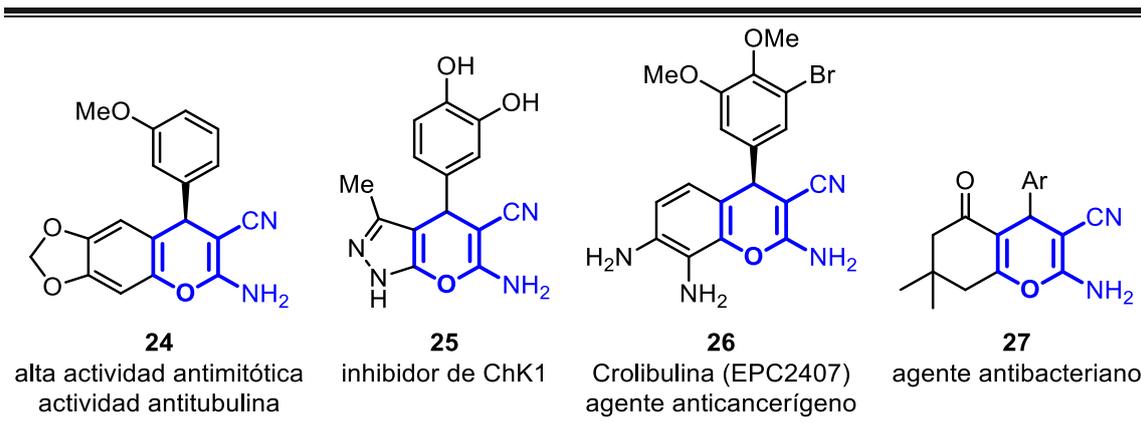
<sup>90</sup> *Six-Membered Heterocycles* en *The Chemistry of Heterocycles* (Eds.: V. J. Ram, A. Sethi, M. Nath, R. Pratap), Elsevier, **2019**, pp. 3-391.

<sup>91</sup> a) R. Pratap, V. J. Ram, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 10476-10526; b) E. Marqués-López, R. P. Herrera, *Thiourea-Catalyzed Formation of Heterocyclic Compounds* en *Targets in Heterocyclic Systems-Chemistry and Properties* (Ed.: O. A. Attanasi), Società Chimica Italiana, Vol. 18, **2014**, 236-261; c) I. G. Sonsona, E. Marqués-López, R. P. Herrera, *Symmetry* **2015**, *7*, 1519-1535.

<sup>92</sup> Para algunos ejemplos seleccionados, ver: a) L. Bonsignore, G. Loy, D. Secci, A. Calignano, *Eur. J. Med. Chem.* **1993**, *28*, 517-520; b) D. Roberson, S. Hegde, E. Reinhard, L. Gomez, W. F. Vernier, L. Lee, S. Liu, A. Sambandam, P. A. Snider, L. Masih, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 1587-1590; c) W. Kemnitzer, S. Kasibhatla, S. Jiang, H. Zhang, J. Zhao, S. Jia, L. Xu, C. Crogan-Grundy, R. Denis, N. Barriault, L. Vaillancourt, S. Charron, J. Dodd, G. Attardo, D. Labrecque, S. Lamothe, H. Gourdeau, B. Tseng, J. Drewe, S. X. Caia, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4745-4751; d) T. Raj, R. K. Bhatia, A. kapur, M. Sharma, A. K. Saxena, M. P. S. Ishar, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 790-794; e) P. K. Paliwal, S. R. Jetti, S. Jain, *Med. Chem. Res.* **2013**, *22*, 2984-2990; f) W. S. Shehab, A. A. Ghoneim, *Arab. J. Chem.* **2016**, *9*, S966-S970; g) Y.-B. Li, J. Liu, Z.-X. Huang, J.-H. Yu, X.-F. Xu, P.-H. Sun, J. Lin, W.-M. Chen, *Eur. J. Med. Chem.* **2018**, *158*, 753-766.

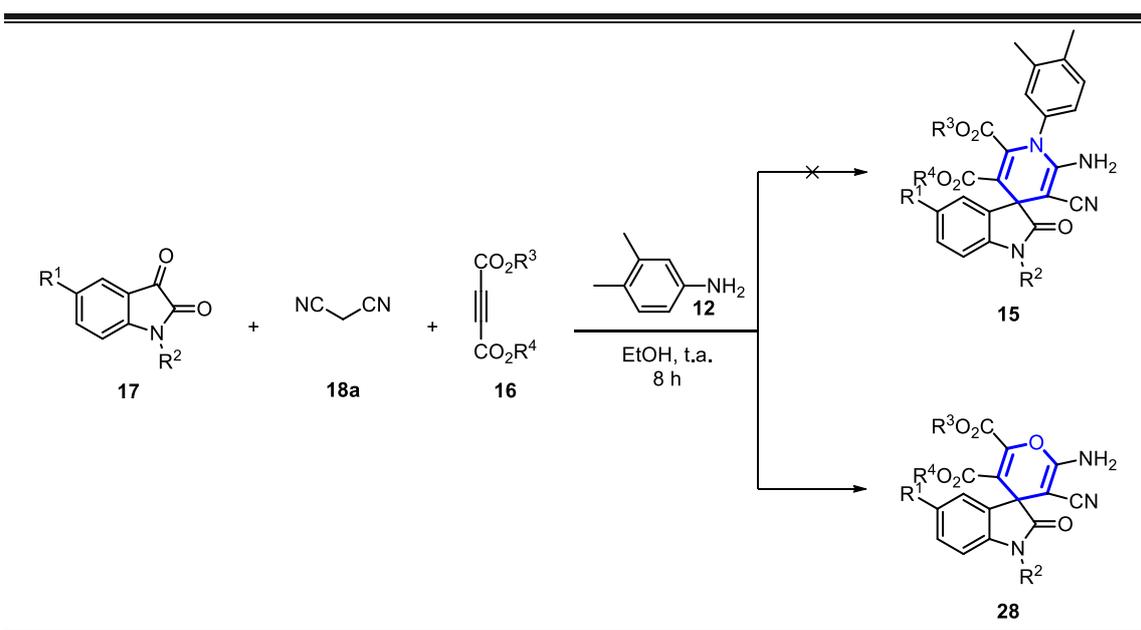
<sup>93</sup> K. Urbahns, E. Horváth, J.-P. Stasch, F. Mauler, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 2637-2639.

<sup>94</sup> G. P. Ellis, *The Chemistry of Heterocyclic Compounds: Chromenes, Chromanes, Chromones* (Eds.: A. Weissberger, P. Wipf, E. C. Taylor), Wiley: Nueva York, **1977**, pp. 11-139.



**Figura 3.1.** Estructuras biológicamente activas derivadas de 2-amino-3-ciano-4*H*-pirano como parte de esqueletos 2-amino-3-ciano-4*H*-cromeno: **24**,<sup>95</sup> **25**,<sup>96</sup> **26**<sup>97</sup> y **27**<sup>98</sup>

Debido a la importancia de estos compuestos, su síntesis ha sido una tarea activa en química orgánica desde hace tiempo.<sup>99</sup> De hecho, suelen ser un subproducto de las síntesis clásicas de Hantzsch para la preparación de 1,4-DHPs, dependiendo de las condiciones usadas (Esquema 3.1).<sup>100</sup>



**Esquema 3.1.** Síntesis de derivados de pirano usando la síntesis de Hantzsch.

<sup>95</sup> A. M. Shestopalov, Y. M. Litvinov, L. A. Rodinovskaya, O. R. Malyshev, M. N. Semenova, V. V. Semenov, *ACS Comb. Sci.* **2012**, *14*, 484-490.

<sup>96</sup> N. Foloppe, L. M. Fisher, R. Howes, A. Potter, A. G. S. Robertson, A. E. Surgenor, *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 4792-4802.

<sup>97</sup> Una prueba en fase I/II de Crolibulina (EPC2407) más cisplatino en adultos con tumores sólidos centrada en cáncer tiroideo anaplástico (ATC). Disponible online: <https://clinicaltrials.gov> (Acceso: 17 Febrero 2020).

<sup>98</sup> D. Kumar, V. B. Reddy, S. Sharad, U. Dube, S. Kapur, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 3805-3809.

<sup>99</sup> C. Seoane, J. L. Soto, M. Quinteiro, *Heterocycles* **1980**, *14*, 337-354.

<sup>100</sup> Z. N. Tisseh, F. Ahmadi, M. Dabiri, H. R. Khavasi, A. Bazgir, *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 3603-3606.

Los 4H-piranos se han sintetizado siguiendo diferentes metodologías, aunque en la mayoría de estos ejemplos su estructura está contenida dentro de la de cromenos más complejos. Síntesis más recientes, implican el uso de catalizadores más complejos como líquidos iónicos,<sup>101</sup> catalizadores heterogéneos,<sup>102</sup> polietilenglicol (PEG),<sup>103</sup> nanopartículas magnéticas,<sup>104</sup> MOFs<sup>105</sup> u organocatalizadores más sofisticados,<sup>106</sup> entre otros. Así que el desarrollo de nuevos procedimientos sencillos, económicos y eficientes para obtener derivados de 4H-pirano es, todavía, de vital importancia.

A pesar de que el uso de agua como disolvente se ha eludido durante décadas debido a la pobre solubilidad general de los compuestos orgánicos en agua, o la inestabilidad de muchos reactivos en ella, hoy en día ha ganado relevancia por sus atractivas ventajas prácticas sobre otros disolventes por su accesibilidad y seguridad, así como su impacto desde un punto de vista económico y medioambiental.<sup>107</sup> En este sentido, con la creciente preocupación sobre la sostenibilidad de los procesos, el uso de agua como disolvente o co-disolvente se ha convertido en un desafío muy importante en lo que se ha dado a conocer como química verde.<sup>108</sup> No en vano, el uso del agua está en consonancia con algunos de sus doce principios, enunciados estos en busca de una química cada vez más sostenible.<sup>109, 110, 111</sup> No obstante, a pesar del número de procesos

---

<sup>101</sup> A. R. Hajipour, Z. Khorsandi, *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 8976-8982.

<sup>102</sup> a) M. Bihani, P. P. Bora, G. Bez, *J. Chem.* **2013**, *2013*, 785930; b) A. Yaghoubi, M. G. Dekamin, *ChemistrySelect* **2017**, *2*, 9236-9243; c) A. Dhakar, R. Goyal, A. Rajput, M. S. Kaurav, V. S. Tomar, D. D. Agarwal, *Curr. Chem. Lett.* **2019**, *8*, 125-136.

<sup>103</sup> C.-W. Lü, J.-J. Wang, F. Li, S.-J. Yu, *Res. Chem. Intermed.* **2018**, *44*, 1035-1043.

<sup>104</sup> a) R. Cano, D. J. Ramón, M. Yus, *Synlett* **2011**, 2017-2020; b) R. Teimuri-Mofrad, M. Gholamhosseini-Nazari, S. Payami, E. Esmati, *Appl. Organomet. Chem.* **2018**, *32*, e3955; c) A. Banerjee, A. Saha, *New J. Chem.* **2013**, *37*, 4170-4175.

<sup>105</sup> K. K. Gangu, S. Maddila, S. B. Mukkamala, S. B. Jonnalagadda, *Ind. Eng. Chem. Res.* **2017**, *56*, 2917-2924.

<sup>106</sup> M. G. Dekamin, M. Eslami, A. Maleki, *Tetrahedron* **2013**, *69*, 1074-1085.

<sup>107</sup> Para una selección de revisiones bibliográficas, ver: a) U. M. Lindström, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2751-2772; b) C.-J. Li, L. Chen, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 68-82; c) C. I. Herreras, X. Yao, Z. Li, C.-J. Li, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2546-2562; d) A. Chanda, V. V. Fokin, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 725-748; e) M. Gruttadauria, F. Giacalone, R. Noto, *Adv. Synth. Catal.* **2009**, *351*, 33-57; f) J. Paradowska, M. Stodulski, J. mLynarski, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 4352-4362; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 4288-4297; g) R. N. Butler, A. G. Coyne, *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 6302-6337; h) S. Bhowmick, K. C. Bhowmick, *Tetrahedron: Asymmetry* **2011**, *22*, 1945-1979; i) M. B. Gawande, V. D. B. Bonifácio, R. Luque, P. S. Branco, R. S. Varma, *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 5522-5551.

<sup>108</sup> P. G. Jessop, *Green Chem.* **2011**, *13*, 1391-1398.

<sup>109</sup> a) *Green Chemistry: Theory, Practice* (Eds.: P. Anastas, J. C. Warner), Oxford University Press: Oxford, **1998**; b) P. Tundo, P. Anastas, D. StC. Black, J. Breen, T. Collins, S. Memoli, J. Miyamoto, M. Polyakoff, W. Tumas, *Pure Appl. Chem.* **2000**, *72*, 1207-1228.

<sup>110</sup> a) D. J. C. Constable, P. J. Dunn, J. D. Hayler, G. R. Humphrey, J. L. Jr. Leazer, R. J. Linderman, K. Lorenz, B. A. Pearlman, A. Wells, A. Zaks, T. Y. Zhang, *Green Chem.* **2007**, *9*, 411-420; b) R. A. Sheldon, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 1437-1451.

<sup>111</sup> *Organic Reactions in Water: Principles, Strategies, Applications* (Ed.: U. M. Lindström), Blackwell: Oxford, **2007**.

que se han desarrollado con agua como disolvente, tal vez debido a que la buena solubilidad de los reactivos en el medio puede ser un prerrequisito para una buena reactividad, el agua aún no es un disolvente común para reacciones orgánicas.<sup>112, 113</sup> Por todas estas razones, el desarrollo de nuevos procedimientos en agua tiene gran interés, no estando esta tarea exenta de complicación.

Las metodologías multicomponente han centrado los esfuerzos de muchos grupos de investigación,<sup>114</sup> debido a su potencial para construir de manera eficiente moléculas de alta complejidad en un solo paso de reacción, evitando purificaciones complicadas y permitiendo el ahorro de disolventes y reactivos. Así, el desarrollo de nuevos protocolos multicomponente en agua para obtener estructuras más complejas con un alto valor sintético es de gran interés y un desafío activo en síntesis orgánica.<sup>115</sup>

En el mismo contexto, con el objetivo de desarrollar nuevas rutas sintéticas o mejorarlas, superando la energía de activación, se han utilizado fuentes de energía poco convencionales.<sup>116</sup> Entre ellas, los ultrasonidos han sido empleados en muchas transformaciones químicas. Aunque el uso de esta fuente de energía está en crecimiento en química orgánica, en general su uso en reacciones multicomponente ha sido menos explorado hasta la fecha.<sup>117</sup>

---

<sup>112</sup> a) Y. Hayashi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 8103-8104; b) D. G. Blackmond, A. Armstrong, V. Coombe, A. Wells, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3798-3800.

<sup>113</sup> Para dos interesantes ejemplos, ver: a) E. Marqués-López, R. P. Herrera, R. Fernández, J. M. Lassaletta, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 3457-3460, DOI: 10.1002/ejoc.200800297; b) R. Ortiz, A. Koukouras, E. Marqués-López, R. P. Herrera, *Arab. J. Chem.* **2020**, *13*, 1866-1873. Para una revisión bibliográfica, ver: c) R. Ortiz, R. P. Herrera, *Molecules* **2017**, *22*, 574-585.

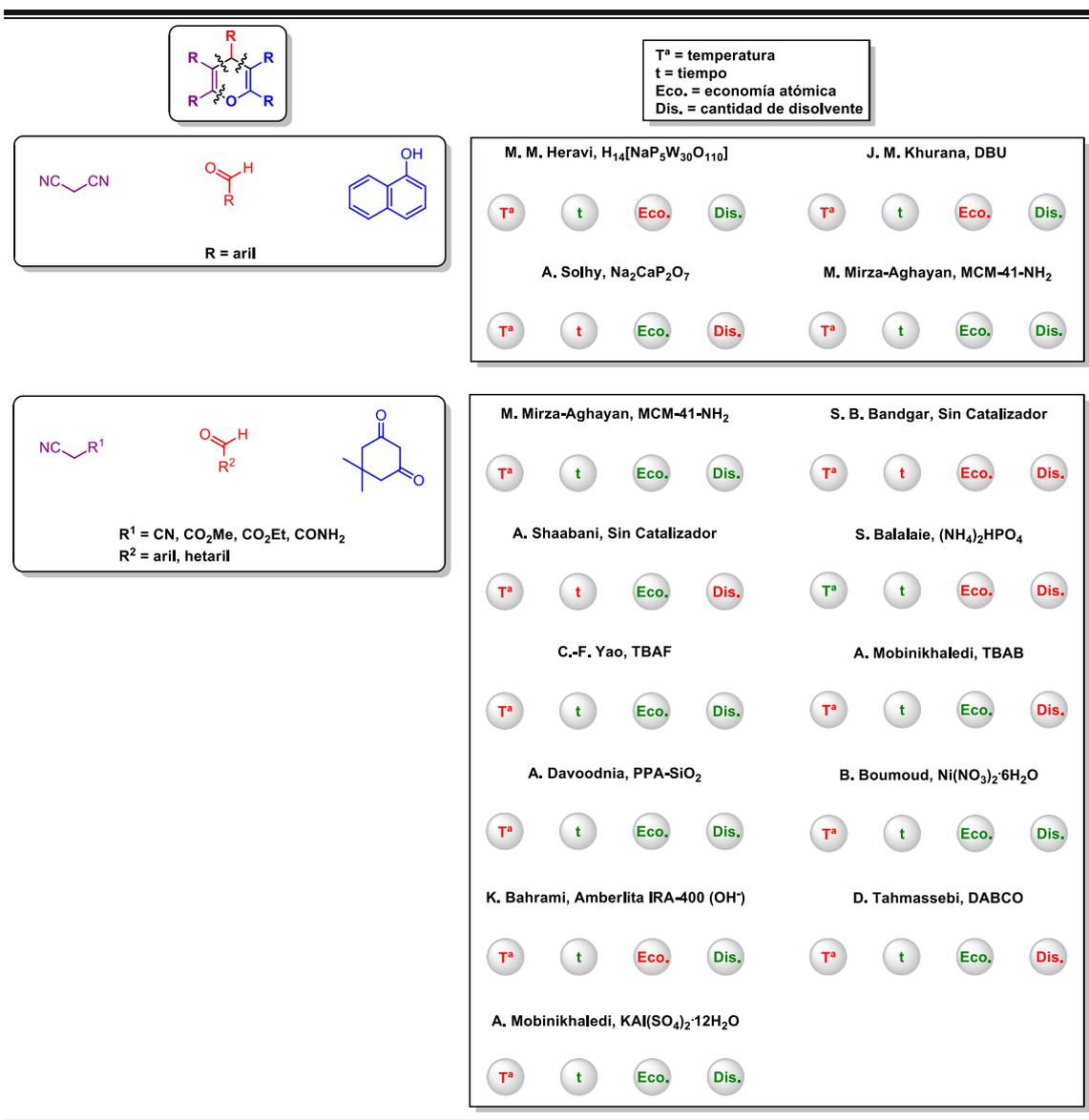
<sup>114</sup> a) *Multicomponent Reactions* (Eds.: J. Zhu, H. Bienayme), Wiley-VCH: Weinheim, **2005**; b) *Multicomponent Reactions in Organic Synthesis* (Eds.: J. Zhu, Q. Wang, M. Wang), Wiley-VCH: Weinheim, **2014**; c) *Multicomponent Reactions. Concepts, Applications for Design, Synthesis* (Eds.: R. P. Herrera, E. Marqués-López), Wiley: Hoboken, Nueva Jersey, **2015**.

<sup>115</sup> a) M. C. Pirrung, K. Das Sarma, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 444-445; b) K. Kumaravel, G. Vasuki, *Curr. Org. Chem.* **2009**, *13*, 1820-1841; c) N. R. Candeias, P. M. S. D. Cal, V. André, M. T. Duarte, L. F. Veiros, P. M. P. Gois, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 2736-2745; d) P. Gunasekaran, J. Menéndez, S. Perumal, *Green Chemistry: Synthesis of Bioactive Heterocycles* (Eds.: K. Ameta, A. Dandia), Springer: Nueva Delhi, **2014**.

<sup>116</sup> a) G. A. Shvekhgeimer, *Chem. Heterocycl. Compd.* **1994**, *30*, 633-660; b) T. J. Mason, *Chem. Soc. Rev.* **1997**, *26*, 443-451; c) P. W. Cains, P. D. Martin, C. J. Price, *Org. Proc. Res. Dev.* **1998**, *2*, 34-48; d) *Applied Sonochemistry: The Uses of Power Ultrasound in Chemistry, Processing* (Eds.: T. J. Mason, J. P. Lorimer), Wiley-VCH Verlag GmbH: Weinheim, **2002**; e) G. Cravotto, P. Cintas, *Chem. Soc. Rev.* **2006**, *35*, 180-196; f) S. Puri, B. Kaur, A. Parmar, H. Kumar, *Curr. Org. Chem.* **2013**, *17*, 1790-1828; g) B. Banerjee, *Ultrason. Sonochem.* **2017**, *35*, 1-14; h) B. Banerjee, *J. Serb. Chem. Soc.* **2017**, *82* 755-790.

<sup>117</sup> Para algunas revisiones bibliográficas, ver: a) A. Dandia, R. Singh, S. Bhaskaran, *Curr. Green Chem.* **2014**, *1*, 17-39; b) B. Banerjee, *Ultrason. Sonochem.* **2017**, *35*, 15-35; c) F. Penteadó, B. Monti, L. Sancineto, G. Perin, R. G. Jacob, C. Santi, E. J. Lenardão, *Asian J. Org. Chem.* **2018**, *7*, 2368-2385.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, se han recopilado a modo de ejemplo las síntesis de derivados de 4H-pirano que cumplen varios principios de la química verde en las Figuras 3.2-3.4.



**Figura 3.2.** Compendio de procedimientos para la síntesis de derivados de 4H-pirano a partir de aldehídos aromáticos, α-naftol o dimedona. T<sup>a</sup> = color verde para temperatura ambiente y rojo para superiores; t = color verde para tiempos de reacción de 2 h o inferior y color rojo para tiempos superiores; Eco. = color verde para condiciones equimolares y rojo para superiores; Dis. = color verde para cantidades de disolvente de 0.5 mL por 0.1 mmol o inferior y color rojo para cantidades superiores.

En estas recopilaciones se han englobado trabajos que se desarrollan en condiciones multicomponente o *one-pot* y en medio acuoso. Lógicamente no todas las condiciones de reacción pueden acercarse a unos valores óptimos. En la Figura 3.2 se

muestran aquellos procedimientos que dan lugar a derivados de 4*H*-pirano usando como reactivos de partida aldehídos aromáticos y  $\alpha$ -naftol o dimedona. Para los primeros derivados se utilizan como catalizadores compuestos inorgánicos en los trabajos de Heravi<sup>118</sup> y Solhi,<sup>119</sup> y 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undeca-7-eno (DBU) en el de Khurana.<sup>120</sup> Sin embargo, las condiciones más favorables se dan en el método de Mirza-Aghayan<sup>121</sup> utilizando MCM-41-NH<sub>2</sub>, un material microporoso basado en silicatos funcionalizado con posiciones -NH<sub>2</sub>. Para los derivados de dimedona, pueden encontrarse metodologías en las que se prescinde de catalizador (Bandgar<sup>122</sup> y Shaabani<sup>123</sup>), aquellas en las que se usan compuestos inorgánicos (Balalaie<sup>124</sup>, Boumoud<sup>125</sup> y Mobinikhaledi<sup>126</sup>), catalizadores de transferencia de fase (Yao<sup>127</sup> y Mobinikhaledi<sup>128</sup>), bases orgánicas (Tahmassebi<sup>129</sup>) y materiales heterogéneos (Mirza-Aghayan,<sup>121</sup> Davoodnia<sup>130</sup> y Bahrami<sup>131</sup>). Así pues, en este apartado, los métodos con las condiciones más favorables serían los de Mirza-Aghayan (MCM-41-NH<sub>2</sub>),<sup>121</sup> Yao (TBAF, fluoruro de tetrabutilamonio),<sup>127</sup> Davoodnia (PPA-SiO<sub>2</sub>, ácidos polifosfóricos soportados en silicatos),<sup>130</sup> Boumoud (Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O)<sup>125</sup> y Mobinikhaledi (KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O).<sup>126</sup>

En la Figura 3.3 se muestra el estudio de otros derivados menos explorados.

<sup>118</sup> M. M. Heravi, K. Bakhtiari, V. Zadsirjan, F. F. Bamoharram, O. M. Heravi, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 4262-4265.

<sup>119</sup> A. Solhi, A. Elmakssoudi, R. Tahir, M. Karkouri, M. Larzek, M. Bousmina, M. Zahouily, *Green Chem.* **2010**, *12*, 2261-2267.

<sup>120</sup> J. M. Khurana, B. Nand, P. Saluja, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 5637-5641.

<sup>121</sup> M. Mirza-Aghayan, S. Nazmdeh, R. Boukherroub, M. Rahimifard, A. A. Tarlani, M. Abolghasemi-Malakshah, *Synth. Commun.* **2013**, *43*, 1499-1507.

<sup>122</sup> S. B. Bandgar, B. P. Bandgar, B. L. Korbadi, J. V. Totre, S. Patil, *Aust. J. Chem.* **2007**, *60*, 305-307.

<sup>123</sup> A. Shaabani, S. Samadi, A. Rahmati, *Synth. Commun.* **2007**, *37*, 491-499.

<sup>124</sup> S. Balalaie, M. Bararjanian, M. Sheikh-Ahmadi, S. Hekmat, P. Salehi, *Synth. Commun.* **2007**, *7*, 1097-1108.

<sup>125</sup> B. Boumoud, A. A. Yahiaoui, T. Boumoud, A. Debache, *J. Chem. Pharm. Res.* **2012**, *4*, 795-799.

<sup>126</sup> A. Mobinikhaledi, N. Foroughifar, M. A. B. Fard, *Synth. React. Inorg. Met.-Org. Nano-metal Chem.* **2010**, *40*, 179-185.

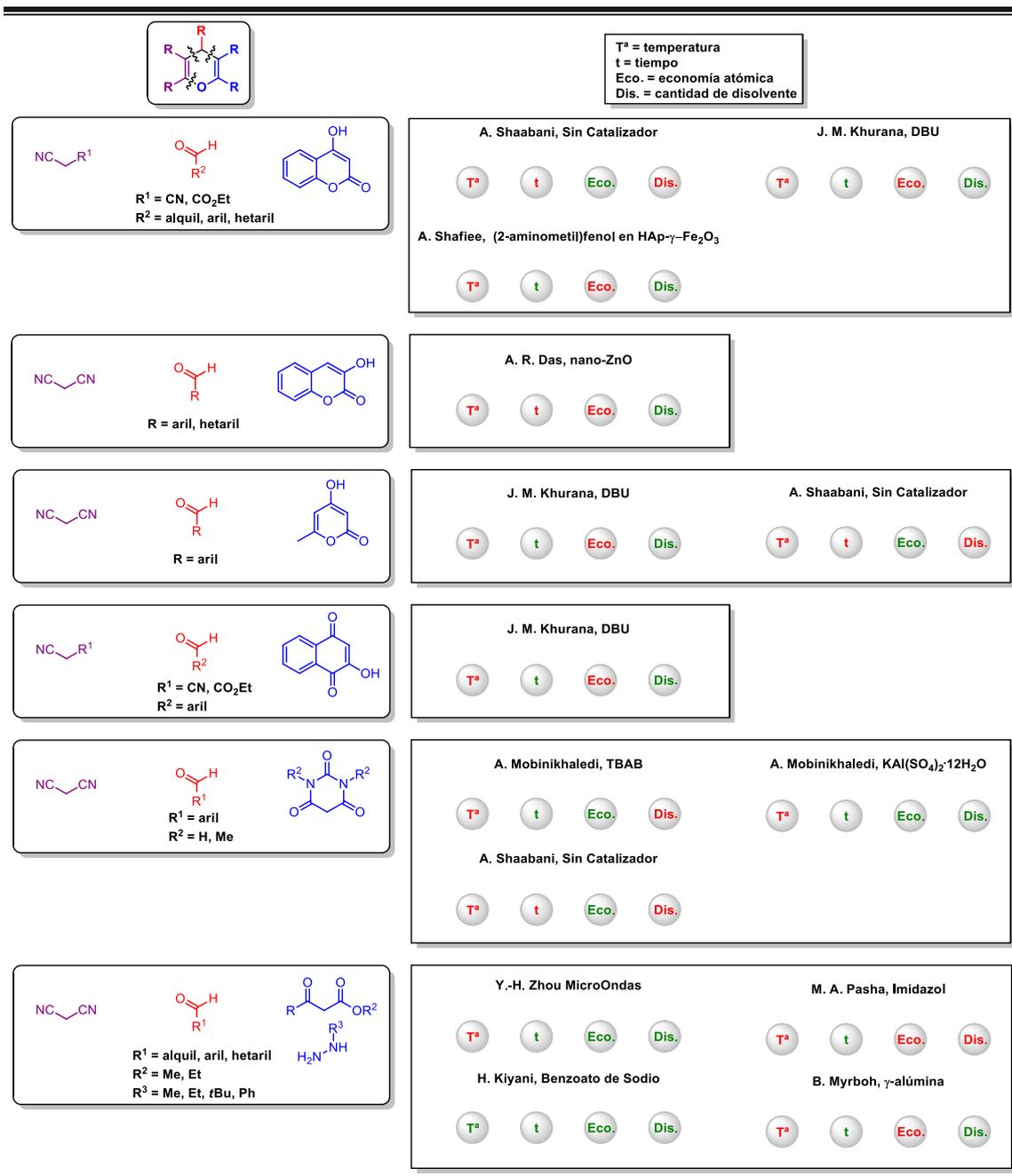
<sup>127</sup> S. Gao, C. H. Tsai, C. Tseng, C.-F. Yao, *Tetrahedron* **2008**, *64*, 9143-9149.

<sup>128</sup> A. Mobinikhaledi, M. A. B. Fard, *Acta Chim. Slov.* **2010**, *57*, 931-935.

<sup>129</sup> D. Tahmassebi, J. A. Bryson, S. I. Binz, *Synth. Commun.* **2011**, *41*, 2701-2711.

<sup>130</sup> A. Davoodnia, S. Allameh, S. Fazli, N. Tavakoli-Hoseini, *Chem. Pap. Slovak Acad. Sci.* **2011**, *65*, 714-720.

<sup>131</sup> M. M. Khodaei, K. Bahrami, A. Farrokhi, *Synth. Commun.* **2010**, *40*, 1492-1499.



**Figura 3.3.** Compendio de procedimientos para la síntesis de derivados de 4H-pirano a partir de aldehídos aromáticos y nucleófilos poco explorados. T<sup>a</sup> = color verde para temperatura ambiente y rojo para superiores; t = color verde para tiempos de reacción de 2 h o inferior y color rojo para tiempos superiores; Eco. = color verde para condiciones equimolares y rojo para superiores; Dis. = color verde para cantidades de disolvente de 0.5 mL por 0.1 mmol o inferior y color rojo para cantidades superiores.

Entre los trabajos mostrados en la Figura 3.3 se muestran procedimientos para la síntesis de derivados de 4H-pirano a partir de hidroxycumarina, 4-hidroxi-6-metilpirona, 2-hidroxinaftaleno-1,4-diona, ácidos barbitúricos y derivados β-cetocarbonílicos e

hidrazinas. Entre ellos podemos encontrar metodologías sin catalizador (Shaabani),<sup>123</sup> aquellas en las que se usan compuestos inorgánicos (Mobinikhaledi),<sup>126</sup> compuestos orgánicos (Khurana,<sup>120</sup> Pasha<sup>132</sup> y Kiyani<sup>133</sup>), materiales heterogéneos (Shafiee,<sup>134</sup> Das,<sup>135</sup> y Myrboh<sup>136</sup>), catalizadores de transferencia de fase (Mobinikhaledi<sup>128</sup>) e incluso el uso de microondas (Zhou<sup>137</sup>). El procedimiento que destaca por sus condiciones es el desarrollado por Kiyani y col.<sup>133</sup> aunque éste sólo es válido para obtener derivados de pirazol-4*H*-pirano a partir de derivados  $\beta$ -cetocarboxílicos e hidrazina.

En la Figura 3.4 se muestra, por último, la utilización de isatina en lugar de aldehídos aromáticos.

---

<sup>123</sup> A. Siddekha, A. Nizam, M. A. Pasha, *Spectrochim Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2011**, *81*, 431-440.

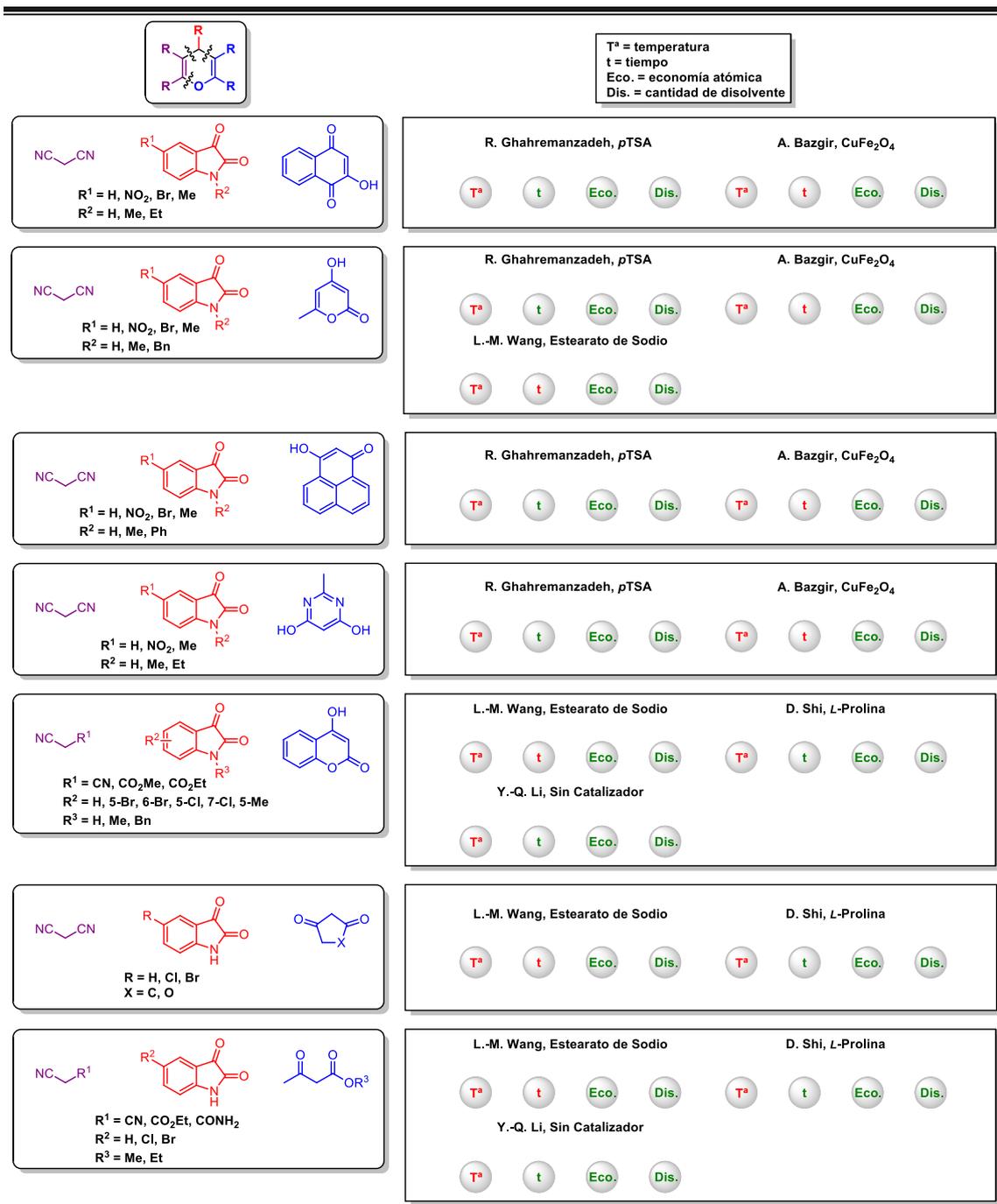
<sup>133</sup> H. Kiyani, H. A. Samim, F. Ghorbani, S. Esmaili, *Curr. Chem. Lett.* **2013**, *2*, 197-206.

<sup>134</sup> M. Khoobi, L. Ma'mani, F. Rezaadeh, Z. Zareie, A. Foroumadi, A. Ramazani, A. Shafiee, *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2012**, *359*, 74-80.

<sup>135</sup> S. Paul, P. Bhattacharyya, A. R. Das, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 4636-4641.

<sup>136</sup> H. Mecadon, M. R. Rohman, M. Rajbangshi, B. Myrboh, *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2523-2525.

<sup>137</sup> X.-H. Yang, P.-H. Zhang, Z.-M. Wang, F. Jing, Y.-H. Zhou, L.-H. Hu, *Ind. Crops Prod.* **2014**, *52*, 413-419.



**Figura 3.4.** Compendio de procedimientos para la síntesis de derivados de 4H-pirano a partir de isatina y diversos nucleófilos. T<sup>a</sup> = color verde para temperatura ambiente y rojo para superiores; t = color verde para tiempos de reacción de 2 h o inferior y color rojo para tiempos superiores; Eco. = color verde para condiciones equimolares y rojo para superiores; Dis. = color verde para cantidades de disolvente de 0.5 mL por 0.1 mmol o inferior y color rojo para cantidades superiores.

Entre las reacciones que se muestran en la Figura 3.4 podemos encontrar síntesis de derivados de 4H-pirano a partir de 2-hidroxi-naftaleno-1,4-diona, 4-hidroxi-6-metil-

pirona, 3-hidroxi-1*H*-fenalen-1-ona, 2-metil-pirimidina-4,6-diol, hidroxycumarina, derivados de 1,3-ciclopentanodiona y distintos derivados  $\beta$ -cetocarbonílicos. Para promover las reacciones encontramos procedimientos sin catalizador (Li<sup>138</sup>), compuestos inorgánicos (Bazgir<sup>139</sup>) y compuestos orgánicos (Ghahremanzadeh,<sup>140</sup> Wang<sup>141</sup> y Shi<sup>142</sup>). De entre todos ellos, destacan por sus condiciones favorables los trabajos de Ghahremanzadeh (*p*TSA, ácido paratoluensulfónico),<sup>140</sup> Shi (L-prolina)<sup>142</sup> y Li (sin catalizador).<sup>138</sup>

Realizando un resumen de todos los casos, llevar a cabo las diferentes síntesis a temperatura ambiente parece ser el mayor escollo, mientras que en los demás parámetros hay un balance más similar. Los productos más explorados resultan ser los derivados de 4*H*-pirano construidos a partir de aldehídos aromáticos y dimedona. En cuanto a los catalizadores utilizados, los materiales heterogéneos junto con los compuestos orgánicos (de diferente naturaleza) son los modos de activación más utilizados.

En la última década ha habido un creciente interés en profundizar en el conocimiento de la interacción de los fármacos con el medio biológico con el objetivo de entender, entre otros aspectos, el mecanismo de acción de estos compuestos. Es bien conocido que algunas moléculas orgánicas pequeñas, en su mayoría planas, son capaces de interactuar con el ADN e interferir en el ciclo celular iniciando una muerte celular programada. Este hecho puede ser central en algunos procesos biológicos como el cáncer, suministrando medios para realizar diseños inteligentes de nuevos fármacos y otras estrategias para terapias anticancerígenas.<sup>143, 144</sup> De esta manera, una de las metas más desafiantes para esta área de investigación es el diseño y síntesis de nuevas moléculas orgánicas pequeñas capaces de interactuar con el ADN con una alta selectividad y altas constantes de interacción.

---

<sup>138</sup> L. Zhao, B. Zhou, Y. Li, *Heteroatom Chem.* **2011**, *22*, 673-677.

<sup>139</sup> A. Bazgir, G. Hosseini, R. Ghahremanzadeh, *ACS Comb. Sci.* **2013**, *15*, 530-534.

<sup>140</sup> R. Ghahremanzadeh, T. Amanpour, A. Bazgir, *J. Heterocyclic Chem.* **2010**, *47*, 46-49.

<sup>141</sup> L.-M. Wang, N. Jiao, J. Qiu, J.-J. Yu, J.-Q. Liu, F.-L. Guo, Y. Liu, *Tetrahedron* **2010**, *66*, 339-343.

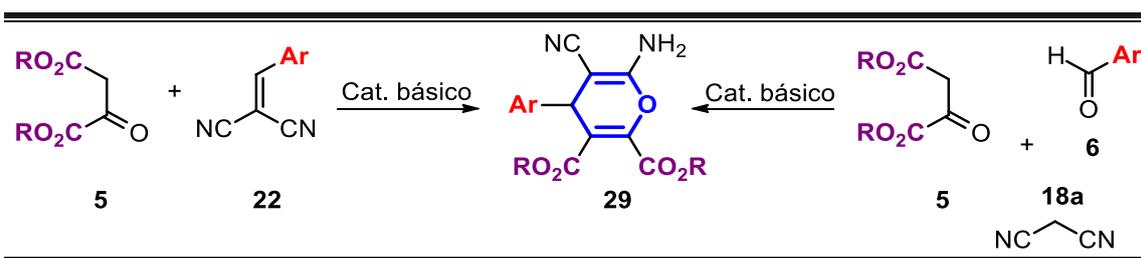
<sup>142</sup> Y. Li, H. Chen, C. Shi, D. Shi, S. Ji, *J. Comb. Chem.* **2010**, *12*, 231-237.

<sup>143</sup> a) Y. Ma, G. Zhang, J. Pan, *J. Agr. Food Chem.* **2012**, *60*, 10867-10875; b) O. Surova, B. Zhivotovsky, *Oncogene* **2013**, *32*, 3789-3797.

<sup>144</sup> Para artículos seleccionados, ver: a) K. A. Schafer, *Vet. Pathol.* **1998**, *35*, 461-478; b) B. C. Dash, W. S. El-Deiry, *Methods Mol. Biol.* **2004**, *280*, 99-161; c) L. Cobb, S. Das, *Mater. Methods* **2013**, DOI: 10.13070/mm.en.3.172; d) J. J. Bower, L. D. Vance, M. Psioda, S. L. Smith-Roe, D. A. Simpson, J. G. Ibrahim, K. A. Hoadley, C. M. Perou, W. K. Kaufmann, *NPJ Breast Cancer* **2017**, DOI: 10.1038/s41523-017-0009-7.

### 3.2 Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es desarrollar protocolos más eficientes y sostenibles para la síntesis de derivados de 4H-pirano altamente funcionalizados *vía* organocatálisis básica (Esquema 3.2). De manera adicional, debido a la interesante actividad biológica mostrada por este tipo de compuestos, estudiar su posible interacción con el ADN como paso previo para estudios más extensos de sus propiedades farmacológicas.



Esquema 3.2. Reacciones modelo para la síntesis de los derivados de 4H-pirano **29**.

### 3.3 Discusión de los resultados

#### 3.3.1 Síntesis multicomponente asistida por ultrasonidos de 4H-piranos en agua

Para comenzar, se desarrollaron dos procedimientos para obtener los productos deseados, realizando un proceso de optimización de las condiciones de reacción, usando como modelo el sistema formado por bencilidenmalononitrilo (BnMN) **22h** y el derivado  $\beta$ -cetocarbonílico (oxalacetato de dietilo: DEOA) **5a** (Tabla 3.1).

**Tabla 3.1.** Optimización de las condiciones de reacción para la ruta A.<sup>a</sup>

(A)



Entrada	BnMN 22h (mmol)	DEOA 5a (mmol)	Cat. (mol%)	Disolvente (mL)	Tiempo (h)	Rdto. (%) <sup>b</sup>
1	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	tolueno (0.5)	24	63
2	0.1	0.1	DIPEA (20)	tolueno (0.5)	24	73
3	0.1	0.1	DABCO (20)	tolueno (0.5)	24	54
4	0.1	0.1	piperidina (20)	tolueno (0.5)	24	52
5	0.1	0.1	piridina (20)	tolueno (0.5)	24	0
6	0.1	0.1	-	tolueno (0.5)	24	0
7	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	tolueno (0.5)	10 min	54
8	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	tolueno (0.5)	1	89
9	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	Et <sub>2</sub> O (0.5)	1	67
10	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> (0.5)	1	67
11	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	CHCl <sub>3</sub> (0.5)	1	71
12	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	nhexano (0.5)	1	0
13	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	THF (0.5)	1	69
14	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	acetona (0.5)	1	70

*CAPÍTULO 3: SÍNTESIS MULTICOMPONENTE ASISTIDA POR ULTRASONIDOS DE 4H-PIRANOS EN AGUA Y ESTUDIOS SOBRE SU INTERACCIÓN CON EL ADN*

15	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	DMF (0.5)	1	75
16	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	xileno (0.5)	1	77
17	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	EtOH (0.5)	1	84
18	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	AcOEt (0.5)	1	67
19	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	MeCN (0.5)	1	93
20	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	tolueno (0.5)	1	90
21	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	MeOH (0.5)	1	95
22	0.1	0.1	DIPEA (20)	MeOH (0.5)	1	47
23	0.1	0.1	–	–	1	0
24	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	–	1	47
25	0.1	0.1	DIPEA (20)	–	1	54
26	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (10)	MeOH (0.5)	1	64
27	0.1	0.1	DIPEA (10)	MeOH (0.5)	1	48
28	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (5)	MeOH (0.5)	1	49
29	0.1	0.1	DIPEA (5)	MeOH (0.5)	1	26
30	0.1	0.1	-	H <sub>2</sub> O (0.5)	48	26
31	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.5)	48	43
32	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.25)	24	59
33	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.25)	12	55
34	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.25)	6	51
35	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.25)	3	45
36	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.25)	1	18
37	0.1	0.1	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.25)	0.5	0
38	0.1	0.2	NEt <sub>3</sub> (20)	H <sub>2</sub> O (0.25)	24	85

<sup>a</sup> A no ser que se indique lo contrario: A una mezcla de bencilidenmalononitrilo **22h** (0.1 mmol) y el catalizador (20 mol%), en el disolvente correspondiente (0.5 mL), se adiciona oxalacetato de dietilo **5a** (0.1 mmol). <sup>b</sup> Rendimiento tras columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:AcOEt 80:20 a *n*hexano:AcOEt 60:40).

Ya que, según nuestra experiencia, la reacción debería proceder por un mecanismo de activación básica, se ensayaron diferentes bases comerciales y de fácil acceso en un 20 mol% a temperatura ambiente, durante 24 horas (Tabla 3.1, entradas 1-6). Las dos que mejor funcionaron fueron la  $\text{NEt}_3$  y la *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) por lo que se decidió proceder con ambas a la espera de poder seleccionar la mejor más adelante. Además, la reacción sin base no produjo resultados, por lo que se confirmó nuestra hipótesis de activación básica. Para continuar, se utilizó la entrada 1 como modelo para modificar el tiempo de reacción (Tabla 3.1, entradas 7 y 8). Tras tan solo 1 hora de reacción se observa un rendimiento superior al que ocurre a 24 horas, probablemente debido a un problema de inestabilidad del producto en el medio de reacción. Seleccionando 1 hora como tiempo de reacción óptimo, se decidió modificar el disolvente (Tabla 3.1, entradas 9-21). Puede observarse como la reacción parece favorecida en disolventes polares, obteniéndose también buenos resultados con disolventes aromáticos como el tolueno o el xileno. Se seleccionó el metanol como el mejor disolvente, ensayando de nuevo los dos mejores catalizadores (Tabla 3.1, entradas 21 y 22). En esta ocasión hay una clara diferencia entre  $\text{NEt}_3$  y DIPEA, siendo la primera mucho mejor que la segunda. Sin embargo, para seleccionar el catalizador con total seguridad y la carga catalítica necesaria se realizaron varias reacciones en paralelo modificando la carga para ambas bases y probando reacciones sin disolvente (Tabla 3.1, entradas 21-29). En estos experimentos puede observarse que la  $\text{NEt}_3$  resulta ser el mejor catalizador en todas las condiciones y que, además, es necesaria una carga catalítica de un 20 mol%.

Posteriormente, se probó si la reacción era capaz de funcionar en agua con la intención de realizarla en condiciones más sostenibles, debido al buen rendimiento en disolventes orgánicos (Tabla 3.1, entradas 30 y 31). Al preparar la reacción, se observó que procedía de manera heterogénea (Figura 3.5).



**Figura 3.5.** Imagen de un tubo de reacción al comienzo del procedimiento.

Puede verse que la reacción tiene un rendimiento moderado y que necesita de 48 horas para reaccionar. Además, la base sigue siendo necesaria para el sistema. Tras esto, se redujo la cantidad de disolvente (Tabla 3.1, entrada 32). Como resultado, se observa que la reactividad aumenta en la mitad de tiempo de reacción. Para ver si nuestro producto seguía siendo relativamente inestable en las condiciones de reacción se realizaron varios ensayos en paralelo a diferentes tiempos de reacción (Tabla 3.1, entradas 32-37). El tiempo necesario para un rendimiento máximo quedó fijado en 24 horas y, por último, se decidió aumentar la cantidad de DEOA (**5a**) a 0.2 mmol, ya que los enolatos no suelen ser estables en agua (Tabla 3.1, entrada 38). Como resultado, se obtuvo un drástico aumento de la reactividad, habiendo llegado a las condiciones de reacción que consideramos óptimas.

A continuación, se decidió probar si la reacción era capaz de proceder usando una metodología multicomponente, buscando un acercamiento aún más sostenible que en las condiciones anteriores (Tabla 3.2).

**Tabla 3.2.** Optimización de las condiciones de reacción para la ruta B.<sup>a</sup>

(B)

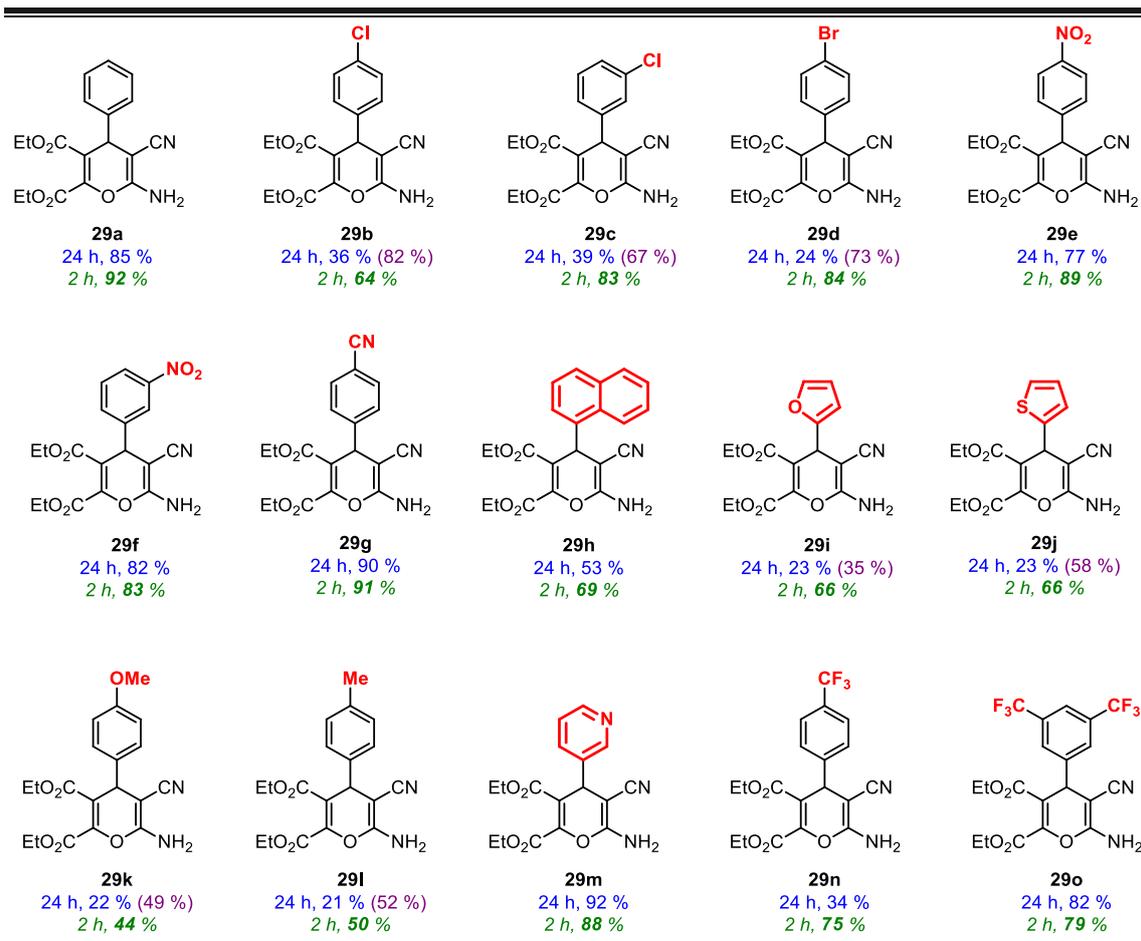
Reaction scheme showing the synthesis of **29a** from **5a**, **6h**, and **18a**. Reagents:  $\text{NEt}_3$  (20 mol%),  $\text{H}_2\text{O}$  (0.5 mL), t.a., 2 h.

Entrada	DEOA <b>5a</b> (mmol)	Adh. <b>6a</b> (mmol)	MN <b>18a</b> (mmol)	US	Rdto. (%) <sup>b</sup>
1	0.1	0.1	0.1	40 kHz	92
2	0.1	0.1	0.1	–	10

<sup>a</sup> A una mezcla de 0.5 mL de una disolución previa en  $\text{H}_2\text{O}$  de malononitrilo (**18a**) (0.1 mmol), trietilamina (20 mol%) y el aldehído **6a** (0.1 mmol), se añade DEOA (**5a**) (0.1 mmol). <sup>b</sup> Rendimiento tras columna cromatográfica ( $\text{SiO}_2$ , *n*hexano:AcOEt 80:20 a *n*hexano:AcOEt 60:40).

Como se puede observar, la reactividad es muy baja en condiciones normales. Sin embargo, al llevar a cabo la reacción en un baño de ultrasonidos se obtienen los mejores resultados hasta el momento, con un 92 % de rendimiento tras dos horas de reacción.

Tras haber optimizado las dos rutas de reacción y con las mejores condiciones (Entrada 38, Tabla 3.1 y Entrada 1, Tabla 3.2), se amplió el procedimiento a diferentes sustratos (Figura 3.6).



**Figura 3.6.** Extensión y aplicabilidad del método para la síntesis de 4H-piranos **29**. Rendimientos tras columna cromatográfica. Color azul: rendimientos tras seguir ruta A (Tabla 3.1). Color violeta y entre paréntesis: Rendimientos tras seguir la ruta A adicionando 50 µL de etanol. Color verde y en cursiva: Rendimientos tras seguir la ruta B (Tabla 3.2).

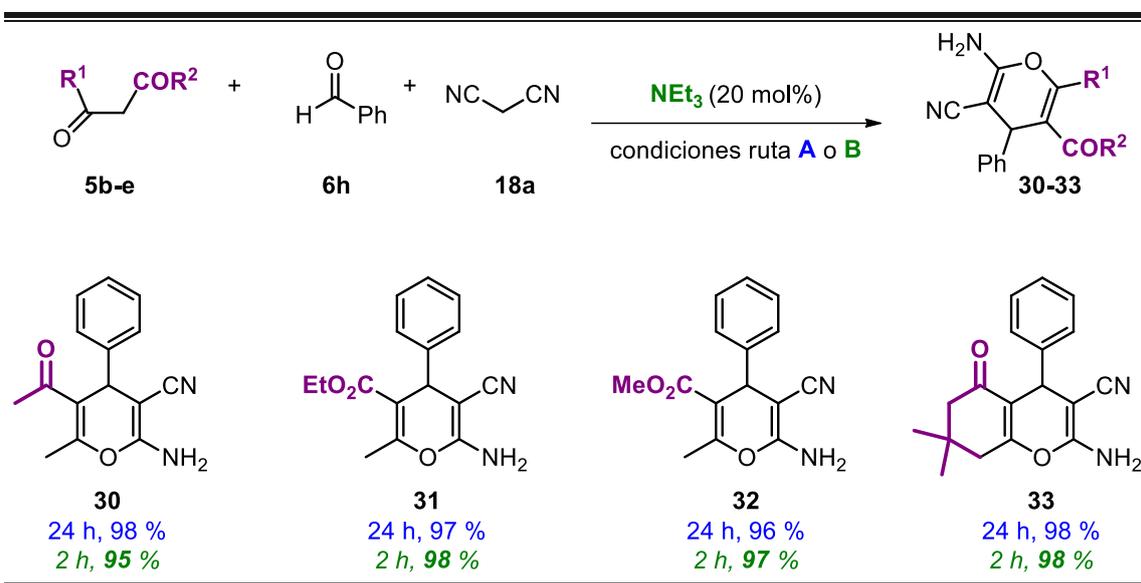
En los casos para los que se obtuvieron rendimientos pobres para la ruta A se adicionó al medio de reacción 50 µL de etanol. La mejora de los rendimientos obtenidos puede ser debida a un aumento de la solubilidad de los sustratos en el medio. Cabe resaltar que la reacción multicomponente en agua produjo mejores resultados en un tiempo de reacción más corto (Figura 3.6, rendimientos en verde). En este caso, el uso de los ultrasonidos parece ser el factor clave para la obtención de estos mejores rendimientos. A modo de aclaración, la temperatura del baño de ultrasonidos se mantuvo constante durante las 2 horas del proceso, lo que indica que la activación de la reacción se produce por los ultrasonidos en sí y no por un aumento de la temperatura del baño. El proceso multicomponente se produce, además, en condiciones equimolares, siendo un claro ejemplo de economía atómica.<sup>145</sup> Los crudos de reacción son muy limpios y la

<sup>145</sup> B. Trost, *Science* **1991**, 254, 1471-1477.

purificación de los productos se lleva a cabo con una simple extracción en el tubo de reacción y una columna cromatográfica.

A pesar de que no hay una correlación clara entre la electrónica de los sustituyentes y la reactividad en la ruta A, en la ruta B sí parece que los sustituyentes electrodonores de los anillos aromáticos **29k** y **29l** producen peores resultados en comparación con los grupos electroattractores o los grupos heteroaromáticos (Figura 3.6).

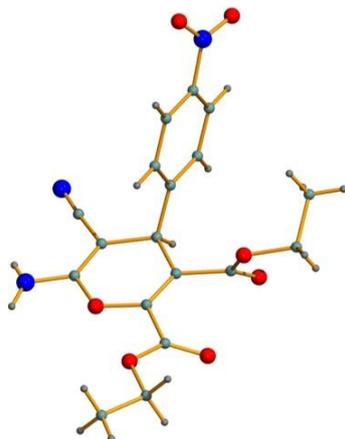
En experimentos siguientes, se utilizaron otros derivados  $\beta$ -dicarbonílicos como nucleófilos **5**. De esta manera, se sintetizaron los productos **30-33** con excelentes resultados siguiendo ambas rutas de reacción (Esquema 3.3).



**Esquema 3.3.** Rutas catalíticas para la síntesis de los derivados de 4H-pirano **30-33**. Rendimientos tras columna cromatográfica. Color azul: Resultados siguiendo la ruta A. Color verde y en cursiva: Resultados siguiendo la ruta B.

Se consiguió cristalizar el compuesto **29e** y se elucidó su estructura mediante difracción de rayos X. La imagen muestra la alta funcionalización de nuestros compuestos finales (Figura 3.7).<sup>146</sup>

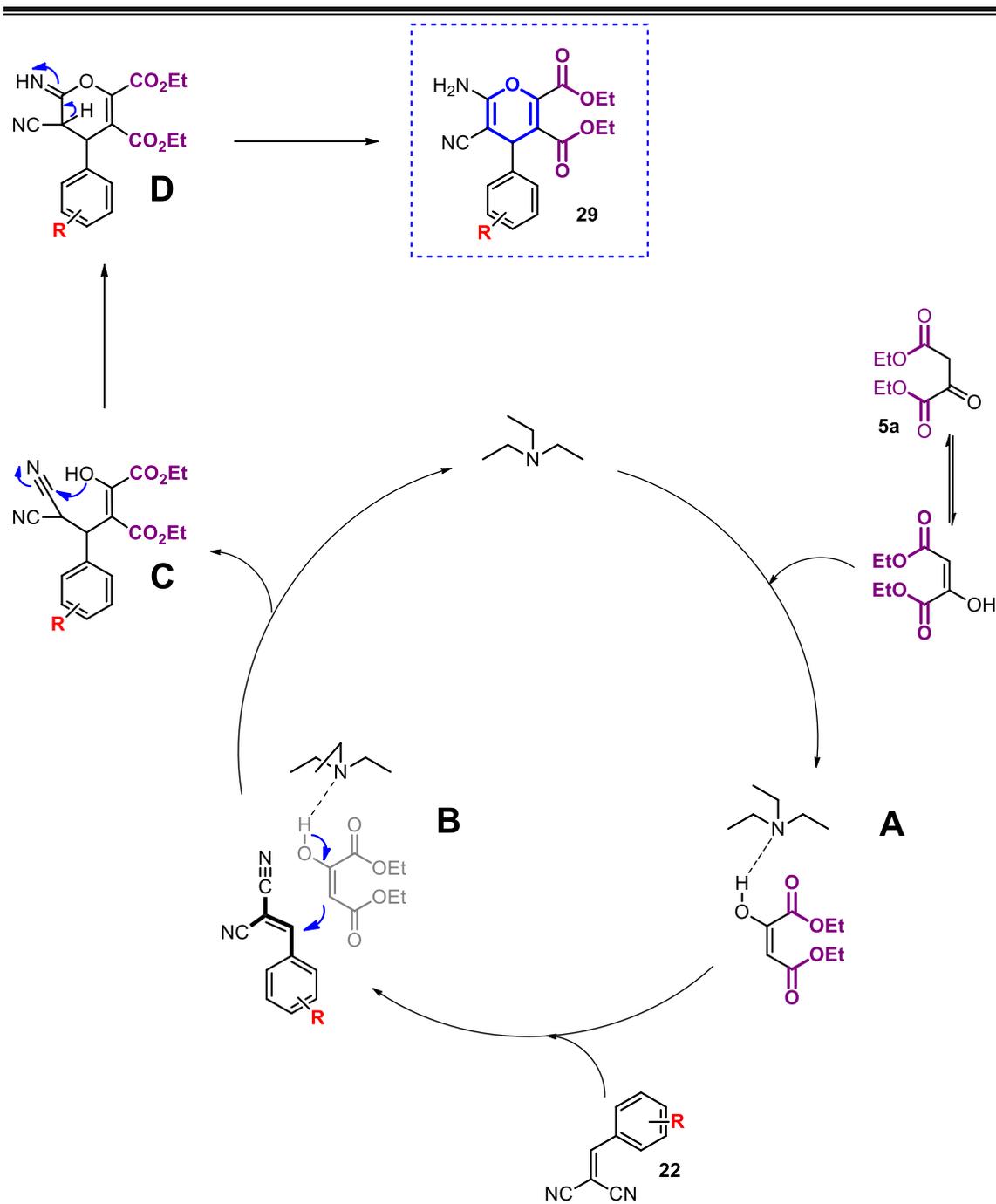
<sup>146</sup> CCDC-1982869 (**29e**) Contiene los datos suplementarios cristalográficos para este artículo. Estos datos se pueden obtener de manera gratuita *via* <http://www.ccdc.cam.ac.uk/conts/retrieving.html> (o desde CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; Fax: +44 1223 336033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).



---

**Figura 3.7.** Estructura de rayos X del compuesto **29e**.

Con toda esta información en nuestras manos se propone el siguiente mecanismo de reacción para el proceso multicomponente (Ruta B), extrapolable a la síntesis preformada (Ruta A) (Esquema 3.4).



**Esquema 3.4.** Propuesta sobre el mecanismo de reacción.

Así, primero tendría lugar una adición Michael del enolato generado *in situ* (**A**) del oxalacetato de dietilo (**5a**) sobre los alquidienmalononitrilos **22** (**B**), seguida por una ciclación intramolecular (**C**) y una tautomerización final (**D**) para obtener los derivados de 4H-pirano **29**.

### 3.3.2 Interacción con el ADN

Basados en la experiencia en este campo del grupo de investigación de la Prof. Gimeno con quienes se ha trabajado en colaboración,<sup>147</sup> se ha estudiado la posible interacción de nuestros productos con el ADN debido a su amplio abanico de propiedades biológicas.<sup>92, 148</sup> De esta manera, se ha explorado la interacción de nuestros derivados de 4H-pirano con ADN de timo de ternera (ctADN). Más tarde, se ha tratado de elucidar la naturaleza de esta interacción.

Hay varias técnicas para calcular las constantes de interacción ( $K_b$ ) entre fármacos y el ADN. De entre ellas, las más usadas son la fluorescencia y las técnicas de absorción.<sup>149, 150</sup> Decidimos utilizar el UV-Vis debido a que es una técnica muy accesible y sencilla. Hay dos maneras de medir la interacción. En la primera, el ADN se valora con cantidades crecientes del compuesto de ensayo. Posteriormente, se observan las variaciones en la intensidad y la posición del pico de ADN a 260 nm, y se procesan las diferencias observadas para obtener las constantes e indicios sobre el tipo de interacción.<sup>151</sup> Sin embargo, este método tiene un problema. El ADN tiene un coeficiente de extinción en su pico a 260 nm muy pequeño, lo cual lleva a una mala precisión en el cálculo de las constantes debido a que las variaciones son escasas. En cambio en la segunda, si el experimento se lleva a cabo usando los picos de los compuestos, generalmente con absorciones más fuertes, se observan diferencias más grandes y la precisión de los cálculos mejora.<sup>152</sup> Así que decidimos utilizar el segundo método para elucidar las  $K_b$  de nuestros compuestos con el ctADN. A modo de ejemplo se presentan en la Figura 3.8 las modificaciones causadas por el ADN en el compuesto **29n**.

---

<sup>147</sup> a) L. Ortego, F. Cardoso, S. Martins, M. F. Fillat, A. Laguna, M. Meireles, M. D. Villacampa, M. C. Gimeno. *J. Inorg Biochem.* **2014**, *130*, 32-37; b) A. Luengo, V. Fernández-Moreira, I. Marzo, M. C. Gimeno, *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 15159-15170.

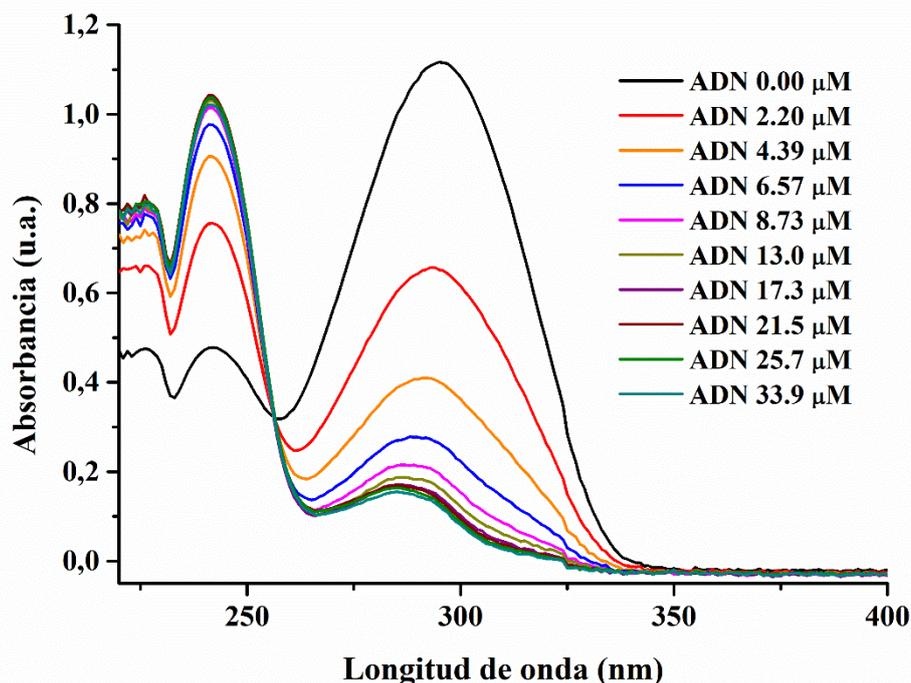
<sup>148</sup> Para los pocos estudios previos sobre 4H-piranos e interacciones con ADN, ver: a) S. Uzzaman, A. M. Dar, A. Sohail, S. Bhat, M. F. Mustafa, Y. Khan, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, *117*, 493-501; b) M. M. V. Ramana, R. Betkar, A. Nimkar, P. Ranade, B. Mundhe, S. Pardeshi, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2016**, *152*, 165-171.

<sup>149</sup> J. D. McGhee, P. H. von Hippel, *J. Mol. Biol.* **1974**, *86*, 469-489.

<sup>150</sup> a) M. Howe-Grant, K. C. Wu, W. R. Bauer, S. L. Lippard, *Biochemistry* **1976**, *15*, 4339-4346; b) Y. Li, Z.-Y. Yang, M.-F. Wang, *J. Fluoresc.* **2010**, *20*, 891-905; c) M. A. Husain, Z. Yaseen, S. U. Rehman, T. Sarwar, M. Tabish, *FEBS J.* **2013**, *280*, 6569-6580; d) S. U. Rehman, T. Sarwar, M. A. Husain, H. M. Ishqi, M. Tabish, *Arch. Biochem. Biophys.* **2015**, *576*, 49-60.

<sup>151</sup> M. Rahban, A. Divsalar, A. A. Saboury, A. Golestani, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 5798-5803.

<sup>152</sup> a) R. B. P. Elmes, M. Erby, S. M. Cloonan, S. J. Quinn, D. C. Williams, T. Gunnlaugsson, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 686-688; b) S. Kashanian, M. M. Khodaei, P. Pakravan, *DNA Cell Biol.* **2010**, *29*, 639-646.



**Figura 3.8.** Experimento de valoración del derivado de 4*H*-pirano **29n** (20 μM) con ctADN.<sup>153,</sup>

154

En este caso, el compuesto **29n** muestra dos intensas bandas de absorción a 242 y 295 nm, que se asocian con las transiciones electrónicas  $\pi \rightarrow \pi^*$  y  $n \rightarrow \pi^*$ , respectivamente. Las sucesivas adiciones de ADN provocan un efecto hipocrómico en el pico de 295 nm y un efecto hiperocrómico en el de 242 nm. Estas fuertes variaciones indican interacción entre nuestro compuesto y el ctADN. De manera similar, los compuestos **29-33** también mostraron diversas variaciones en la intensidad de las bandas, ver de la Figura S3.20 a la Figura S3.38. Para el cálculo de las constantes de interacción se usó el modelo modificado de Benesi-Hildebrand (Ecuación 1, Figura 3.9).<sup>155, 156, 157</sup>

$$\frac{|ADN|}{\epsilon_f - \epsilon_a} = \frac{|ADN|}{\epsilon_f - \epsilon_b} + \frac{1}{K_b(\epsilon_f - \epsilon_b)} \quad (1)$$

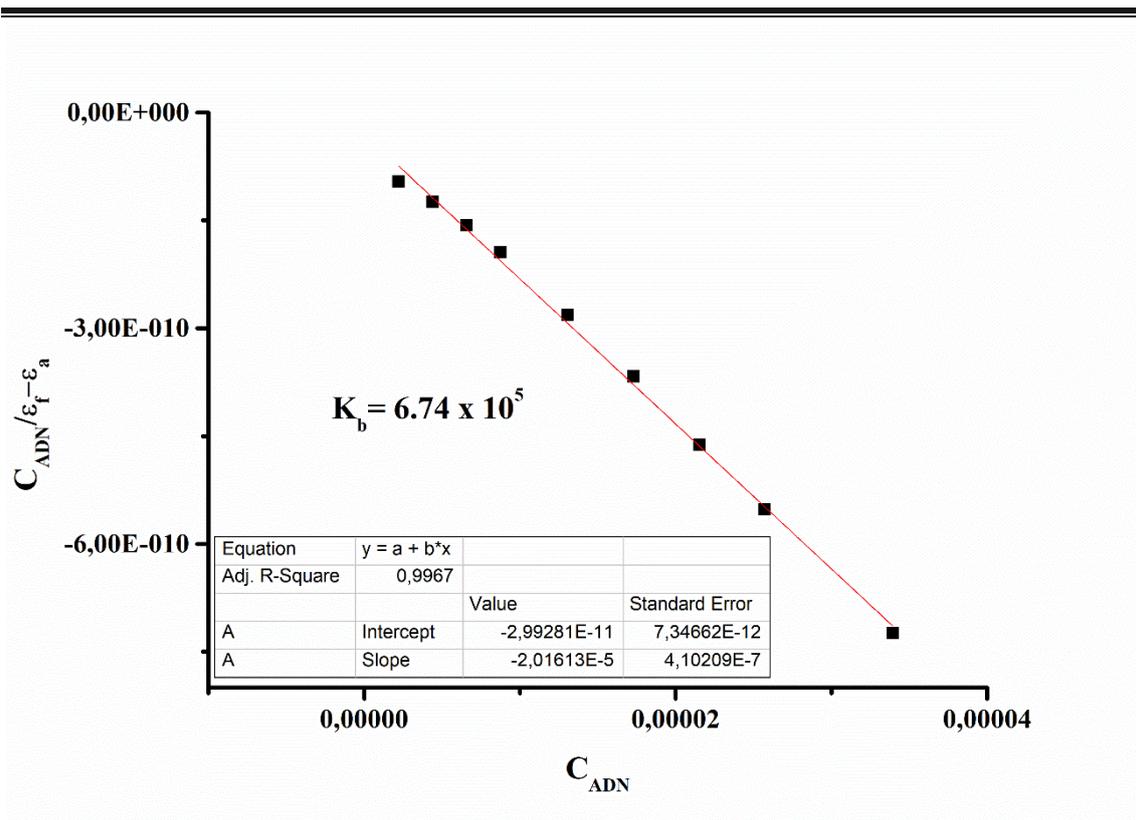
<sup>153</sup> W. W. Wilfinger, K. Mackey, P. Chomczynski, *Biotechniques* **1997**, 22, 474-481.

<sup>154</sup> a) C. V. Kumar, E. H. Asuncion, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8547-8553; b) G. S. Son, J.-A. Yeo, M.-S. Kim, S. K. Kim, A. Holmén, B. Åkerman, B. Nordén, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 6451-6457.

<sup>155</sup> H. A. Benesi, J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 2703-2707.

<sup>156</sup> a) A. Wolfe, G. H. Shimer, T. Meehan, *Biochemistry* **1987**, 26, 6392-6396; b) G. A. Gamov, M. N. Zavalishin, V. A. Sharnin, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2019**, 206, 160-164.

<sup>157</sup> H. A. Benesi, J. H. Hildebrand, *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, 71, 2703-2707.



**Figura 3.9.** Cálculo de la  $K_b$  para el compuesto **29n** usando los datos de la Figura 3.8.

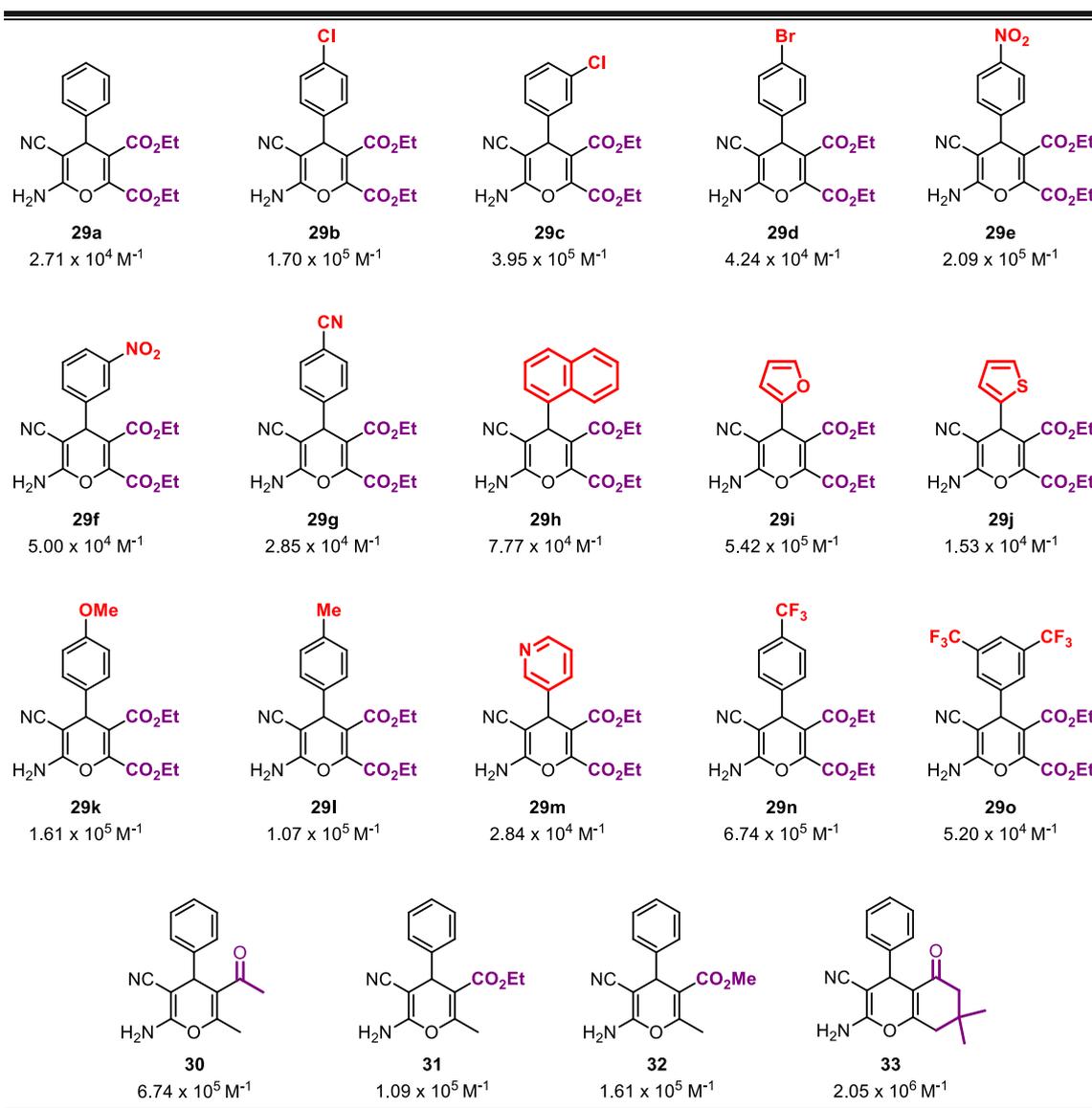
$K_b$  es la constante de interacción,  $\epsilon_f$ ,  $\epsilon_a$  y  $\epsilon_b$  son los coeficientes de extinción para el compuesto libre y los coeficientes aparentes (calculados como la relación entre la absorbancia y la concentración de compuesto en cada experimento) y el complejo compuesto-ADN, respectivamente. Al representar  $[ADN] / (\epsilon_f - \epsilon_a)$  vs  $[ADN]$  para cada experimento y realizar un ajuste lineal de los datos se obtiene una ecuación del tipo  $y = mx + n$ , donde  $m/n$  resulta ser la constante de interacción.

Los valores de  $K_b$  calculados varían desde  $1.53 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$  a  $2.05 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ , estando la mayoría de valores en torno a  $10^5 \text{ M}^{-1}$ . En la Figura 3.10 puede verse un resumen de los valores obtenidos para todos los compuestos de este trabajo. Los altos valores de las constantes indican una fuerte interacción de los derivados de 4H-pirano por el ctADN. El valor más alto obtenido es de  $2.05 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$  para el compuesto **33**. A modo de comparación, la constante de interacción del bromuro de etidio (EtBr),<sup>158</sup> un conocido agente intercalante, es de  $1.37 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ ,<sup>159</sup> lo que sugiere que nuestros compuestos pueden tener una interacción similar con el ADN. Es conocido que los valores típicos de las constantes de los agentes intercalantes están en el rango de  $10^4$  a  $10^6 \text{ M}^{-1}$ , mientras

<sup>158</sup> P. O. Vardevanyan, A. P. Antonyan, M. A. Parsadanyan, H. G. Davtyan, A. T. Karapetyan, *Exp. Mol. Med.* **2003**, 35, 527-533.

<sup>159</sup> S. Gupta, N. Tiwari, M. Munde, *Sci. Rep.* **2019**, 9, 5891.

que para las interacciones de tipo *groove binding* presentan valores de entre  $10^5$  y  $10^9$   $M^{-1}$  (Figura 3.10).<sup>160</sup> Son necesarios más experimentos para elucidar la naturaleza de la interacción presente. De manera adicional, los valores no muestran una relación clara entre estos y las propiedades electrónicas o la estructura de los compuestos. Esto puede indicar que es la propia estructura del 4*H*-pirano la responsable de las interacciones con el ADN. De hecho, la presencia de un grupo  $NH_2$  y los grupos éster puede ayudar a establecer interacciones adicionales por medio de enlaces de hidrógeno con las bases del ADN.<sup>148a</sup>



**Figura 3.10.** Constantes de interacción ( $K_b$ ) obtenidas para los compuestos 29-33.

<sup>160</sup> a) H. Ihmels, D. Otto, *Top. Curr. Chem.* **2005**, 258, 161-204; b) S. M. V. de Almeida, E. A. Lafayette, L. P. B. G. da Silva, C. A. da Cruz Amorim, T. B. de Oliveira, A. L. T. G. Ruiz, J. E. de Carvalho, R. O. de Moura, E. I. Carneiro Beltrão, M. C. A. de Lima, L. B. de Carvalho Júnior, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, 16, 13023-13042.

### 3.3.3 Determinación del tipo de interacción con el ADN

Los tipos de interacción de un fármaco o una molécula orgánica pequeña con el ADN se pueden clasificar en:<sup>161</sup> 1) una unión covalente fuerte como la mostrada por el cisplatino,<sup>162</sup> o 2) uniones más débiles mediante fuerzas intermoleculares (fuerzas de Van der Waals, enlace de hidrógeno,  $\pi$  stacking, etc.),<sup>163</sup> en las que se puede encontrar la intercalación (ej. EtBr)<sup>164</sup> y el *groove binding*. Estos últimos se clasifican en dos tipos, de *major groove* y *minor groove*. Esta diferenciación hace referencia a las particularidades de la macroestructura del ADN. Finalmente, 3) las uniones más débiles con el ADN mediante interacción con el esqueleto fosforado por fuerzas electrostáticas. Pueden realizarse muchos experimentos para elucidar el mecanismo de interacción de las moléculas con el ADN,<sup>165</sup> como los estudios de viscosidad, el dicroísmo circular y el *quenching* de la fluorescencia, entre otros. En este trabajo, se han realizado estos experimentos con el fin de obtener una mejor comprensión de la naturaleza de las interacciones de nuestros compuestos con el ADN.

#### Viscosimetría

Una técnica tremendamente sencilla, como la viscosimetría, puede dar una gran cantidad de información. Se considera uno de los mejores métodos para estudios en disolución por su alta sensibilidad a los cambios en las propiedades hidrodinámicas del ADN.<sup>166</sup> En estos experimentos, un incremento de la viscosidad indica que un compuesto intercalante se ha introducido entre las bases del ADN, haciendo que la longitud media del ADN aumente. En cambio, cuando un compuesto establece enlaces covalentes, la estructura de la hebra tiende a generar pliegues, haciendo que la longitud media disminuya, creando una menor viscosidad. Cualquier otro tipo de interacción no debería crear cambios significativos.<sup>167</sup> En el presente trabajo, el experimento se lleva a cabo con el compuesto **29n** como modelo, debido a que muestra una de las mayores constantes de

---

<sup>161</sup> *Nucleic acids in chemistry, biology* (Eds.: G. M. Blackburn, M. J. Gait, D. Loakes, D. M. Williams), RSC publishing: Cambridge, Reino Unido, 3ª edición, 2006.

<sup>162</sup> G. Chu, *J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 787-790.

<sup>163</sup> A. Kellett, Z. Molphy, C. Slator, V. McKee, N. P. Farrell, *Chem. Soc. Rev.* **2019**, 48, 971-988.

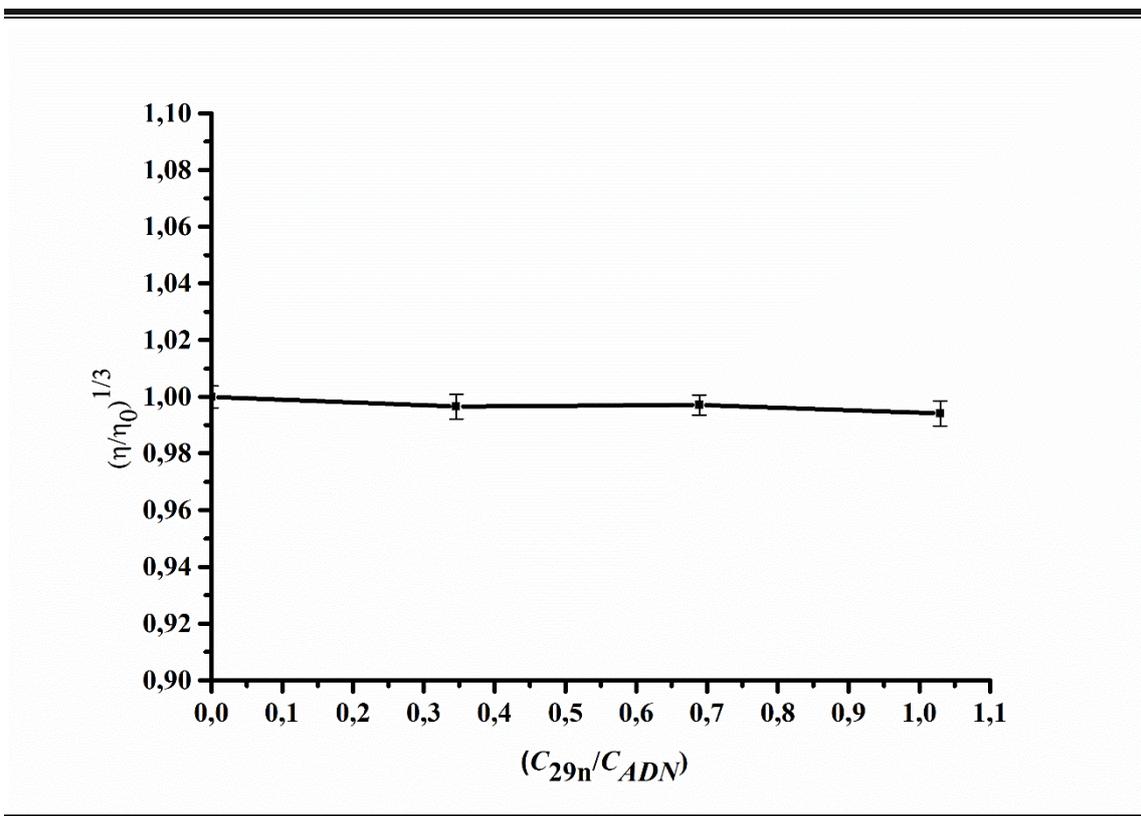
<sup>164</sup> a) C. Hiort, P. Lincoln, B. Nordén, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 3448-3454; b) H.-K. Liu, P. J. Sadler, *Acc. Chem. Res.* **2011**, 44, 349-359; c) C. J. Cardin, J. P. Hall, *DNA-targeting Molecules as Therapeutic Agents* (Ed.: M. J. Waring), Royal Society of Chemistry: Cambridge, **2018**, pp. 198-227.

<sup>165</sup> M. Sirajuddin, S. Ali, A. Badshah, *J. Photoch. Photobio. B* **2013**, 124, 1-19.

<sup>166</sup> a) G. Cohen, H. Eisenberg, *Biopolymers* **1969**, 8, 45-55; b) Q.-L. Zhang, J.-G. Liu, H. Chao, G.-Q. Xue, L.-N. Ji, *J. Inorg. Biochem.* **2001**, 83, 49-55; c) F. Dimiza, F. Perdih, V. Tangoulis, I. Turel, D. P. Kessissoglou, G. Psomas, *J. Inorg. Biochem.* **2011**, 105, 476-489.

<sup>167</sup> a) P. U. Maheswari, M. Palaniandavar, *J. Inorg. Biochem.* **2004**, 98, 219-230; b) M. Waring, *J. Mol. Biol.* **1970**, 54, 247-249; c) B.-L. Fei, W.-S. Xu, W.-L. Gao, J. Zhang, Y. Zhao, J.-Y. Long, A. K. Powell, *J. Photoch. Photobio. B* **2015**, 142, 77-85.

interacción (Figura 3.10). Además, debido a la similitud entre los compuestos, los datos serán extrapolables al resto. Una disolución de ctADN se introdujo en un baño con control de temperatura a 298 K, en un viscosímetro de tipo Canon-Fenske, tras lo que se realizaron varias adiciones de nuestro compuesto **29n**. En la Figura 3.11 puede verse una gráfica en la que se representa  $\eta/\eta_0$  vs la relación entre la concentración de **29n** y la concentración de ADN.

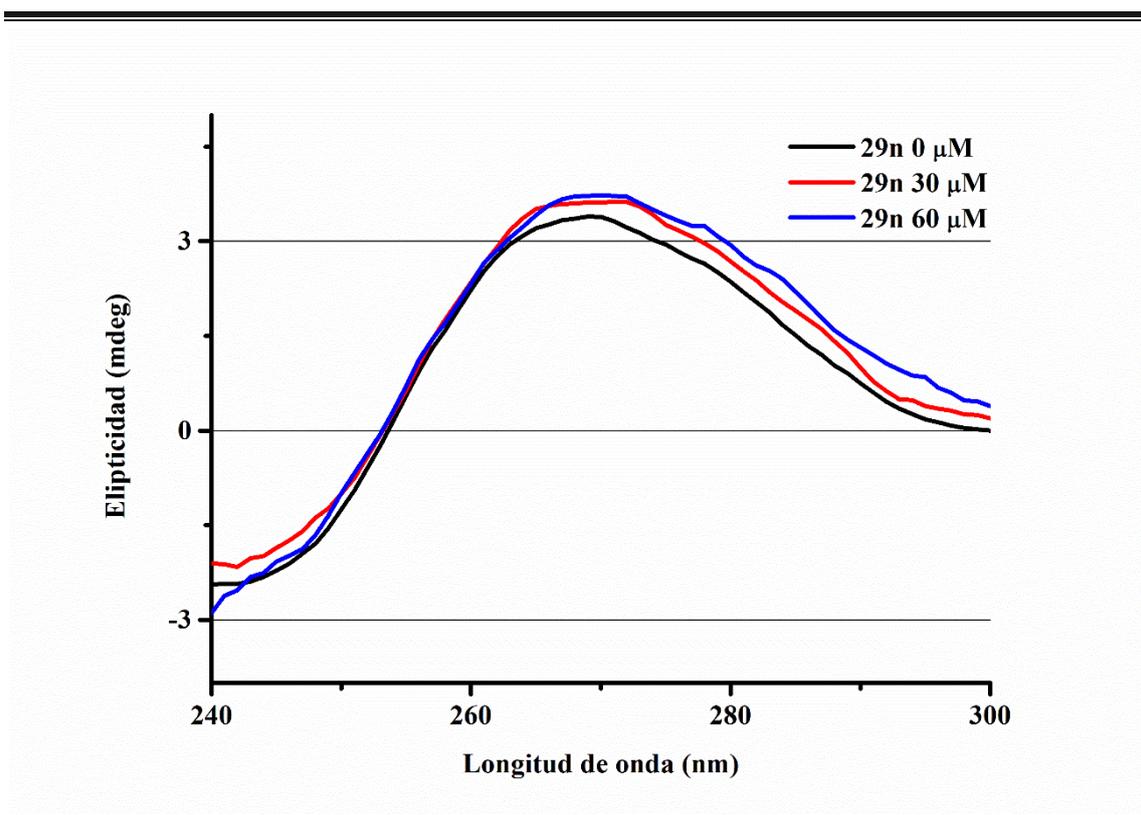


**Figura 3.11.** Cuatro medidas de viscosidad incrementando la concentración del compuesto **29n** en una relación **29n**/ADN de 0 a 1/3, 2/3, y 1, manteniendo la concentración de ADN constante (1.14 mM). La viscosidad se calcula como la relación de cada medida frente al valor inicial. Cada valor es la media  $\pm$  SD de 3 experimentos.

Los valores aportados en la Figura 3.11 indican que no hay una variación apreciable en la viscosidad del sistema tras las adiciones de nuestro compuesto al ADN. Este hecho podría indicar que nuestros compuestos interaccionan mayormente mediante *groove binding*, descartando la hipótesis de la intercalación.

### Dicroísmo circular (DC)

Esta es una técnica muy sensible que permite ver pequeños cambios en la estructura secundaria del ADN al interactuar con un fármaco.<sup>168</sup> En el espectro de DC del ctADN pueden verse dos bandas en 243 nm (negativa) y 277 nm (positiva) causadas por la helicoidad y la interacción entre las bases, respectivamente. Estas bandas son muy sensibles a la interacción con moléculas.<sup>169</sup> El espectro del ctADN muestra pequeños o nulos cambios cuando una molécula no interacciona por intercalación.<sup>170</sup> En la Figura 3.12, puede analizarse el experimento realizado con el compuesto **29n**.



**Figura 3.12.** Espectro de DC de ctADN (28 µM) en una disolución de Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2), con corrección de la línea base del *buffer* y una cubeta de 1 cm de longitud a 298 K. Dos experimentos adicionales se realizan añadiendo concentraciones del compuesto **29n** de 30 y 60 µM.

En este caso, la banda a 243 nm no aporta ninguna información debido a la distorsión causada por la adición de nuestro compuesto **29n**. En cambio, la banda a 277

<sup>168</sup> J. Wang, Z.-Y. Yang, X.-Y. Yi, B.-D. Wang, *J. Photoch. Photobio. A* **2009**, *201*, 183-190.

<sup>169</sup> V. I. Ivanov, L. E. Minchenkova, E. E. Minyat, M. D. Frank-Kamenetskii, A. K. Schyolkina, *J. Mol. Biol.* **1974**, *87*, 817-833.

<sup>170</sup> a) B. Nordén, F. Tjerneld, *Biopolymers* **1982**, *21*, 1713-1734; b) N. C. Garbett, P. A. Ragazzon, J. B. Chaires, *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 3166-3172; c) G. Zhan, X. Hu, J. Pan, *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2011**, *78*, 687-694.

nm se mantiene sin cambios significativos tras las adiciones del compuesto, lo que no es compatible con una intercalación del compuesto con el ADN. Este experimento apoya los datos obtenidos con las medidas de viscosidad, sugiriendo una interacción de tipo *groove binding*. En este caso es necesario un experimento más específico para discernir con claridad entre los dos tipos de *groove binding*.

### Ensayos competitivos mediante *quenching* de fluorescencia

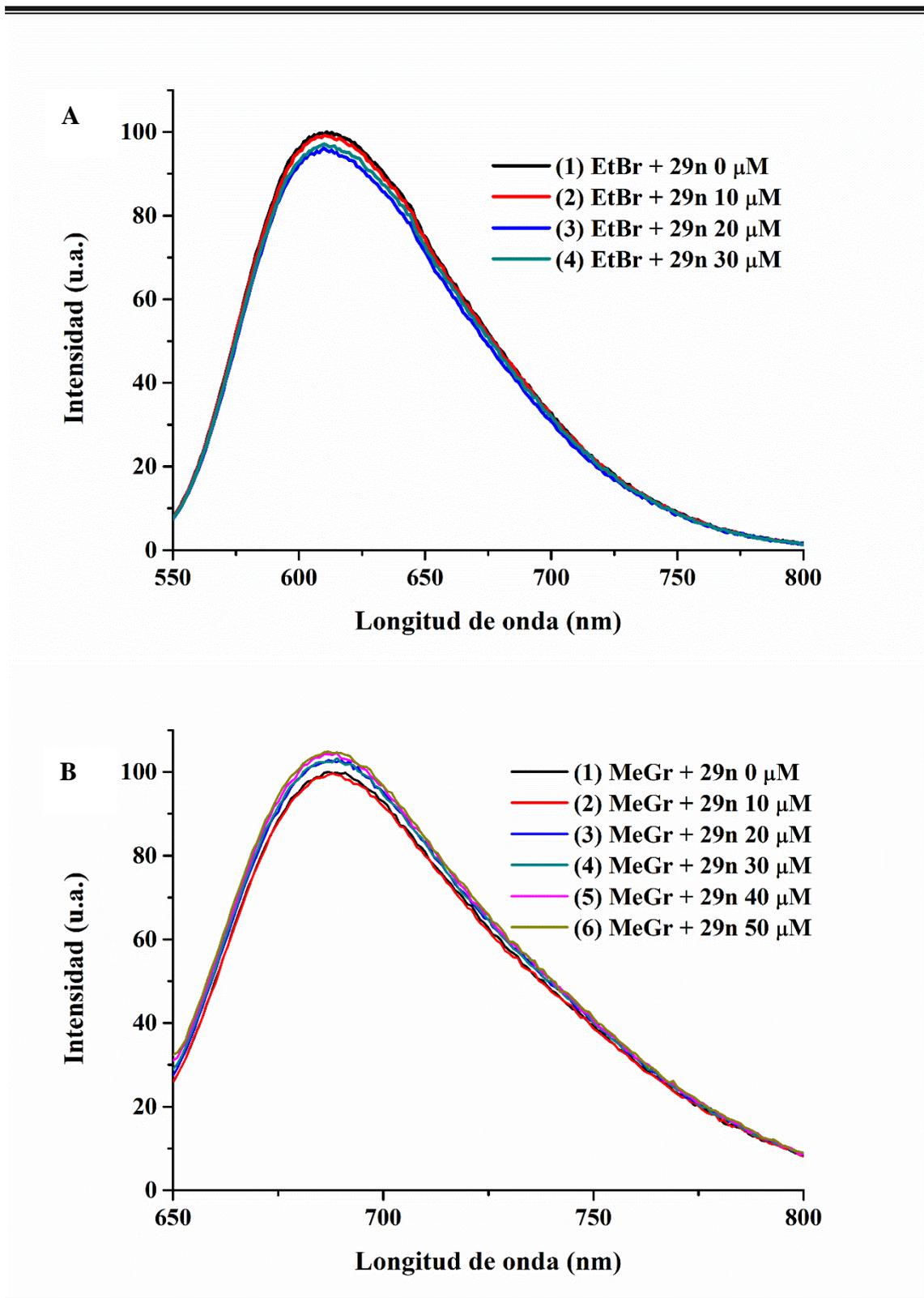
Para descubrir finalmente el tipo de interacción entre el derivado de 4*H*-pirano **29n** y el ctADN, se realizaron tres experimentos de *quenching* de fluorescencia. Los estudios anteriores han mostrado que, probablemente, nuestros compuestos interactúan mediante *groove binding*. De esta manera, se usaron tres tintes comerciales luminiscentes como modelo, bromuro de etidio (EtBr, intercalación),<sup>171</sup> verde de metilo (MeGr, *major groove*),<sup>172</sup> y Hoechst 33342 (*minor groove*).<sup>173</sup> La teoría tras este experimento dice que cuando nuestros compuestos se añadan a una mezcla del ctADN y las moléculas modelo (seleccionadas por su fuerte emisión), la fluorescencia debería caer únicamente si ambos compuestos compiten por un mismo hueco en el ADN. Concentraciones superiores de nuestros compuestos en comparación a los modelos aseguran la sustitución de estos. En las Figuras 3.13 y 3.14 pueden verse los resultados obtenidos con los tres compuestos.

---

<sup>171</sup> a) J. Olmsted, III, D. R. Kearns, *Biochemistry* **1977**, *16*, 3647-3654; b) A. Banerjee, J. Singh, D. Dasgupta, *J. Fluoresc.* **2013**, *23*, 745-752.

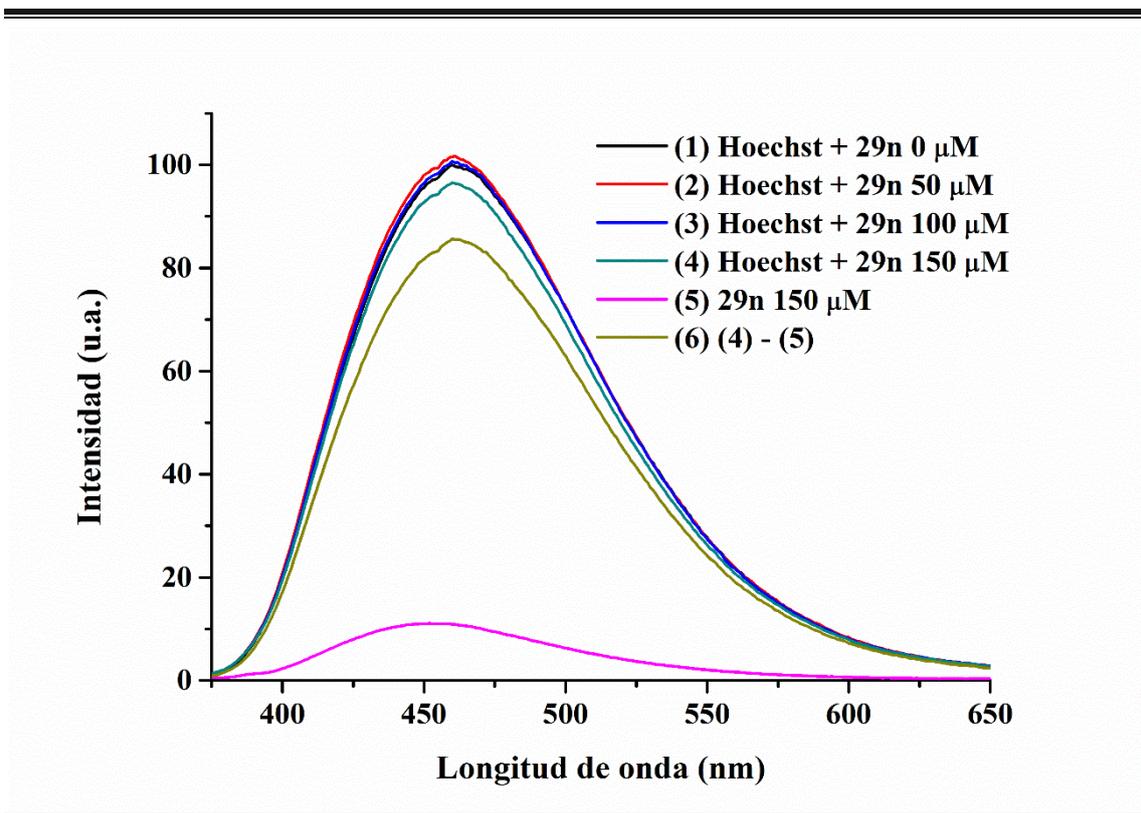
<sup>172</sup> a) S. K. Kim, B. Nordén, *FEBS Lett.* **1993**, *315*, 61-64; b) D. V. Berdnikova, N. I. Sosnin, O. A. Fedorova, H. Ihmels, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 545-554.

<sup>173</sup> a) Y. Matsuba, H. Edatsugi, I. Mita, A. Matsunaga, O. Nakanishi, *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2000**, *46*, 1-9; b) N. P. Bazhulina, A. M. Nikitin, S. A. Rodin, A. N. Surovaya, Y. V. Kravatsky, V. F. Pismensky, V. S. Archipova, R. Martin, G. V. Gursky, *J. Biomol. Struct. Dyn.* **2009**, *26*, 701-718; c) A. I. Dragan, R. Pavlovic, J. B. McGivney, J. R. Casas-Finet, E. S. Bishop, R. J. Strouse, M. A. Schenerman, C. D. Geddes, *J. Fluoresc.* **2012**, *22*, 1189-1199; d) S. U. Rehman, T. Sarwar, H. M. Ishqi, M. A. Husain, Z. Hasan, M. Tabish, *Arch. Biochem. Biophys.* **2015**, *566*, 7-14.



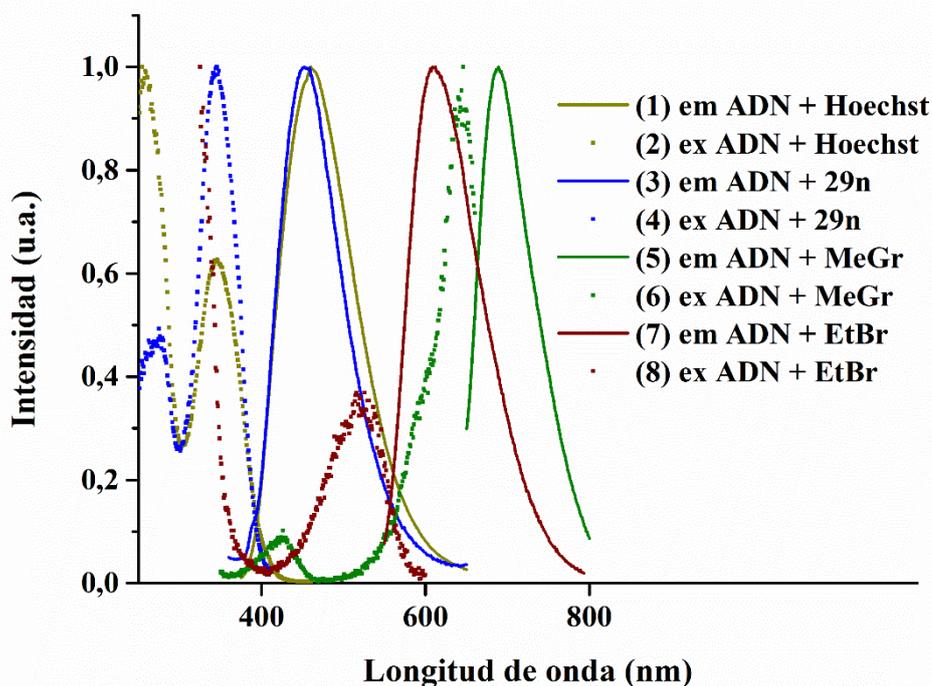
**Figura 3.13.** Experimento de valoración de una disolución de ctADN (50  $\mu\text{M}$ ) y EtBr (A 2.5  $\mu\text{M}$ ) en Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2) o MeGr (B 2.5  $\mu\text{M}$ ) con concentraciones crecientes del compuesto 29n (0-30  $\mu\text{M}$ ). Ambas gráficas están normalizadas a la intensidad máxima del experimento inicial.

En la Figura 3.13A, puede verse un descenso mínimo de la fluorescencia con la adición del compuesto **29n**. Esto podría indicar una pequeña interacción. Sin embargo, los experimentos anteriores descartan esta posibilidad. En el caso de la Figura 3.13B, no se detecta ningún cambio al usar el McGr. Estos resultados descartarían una interacción en el *major groove* del ADN. De igual manera, el experimento con el Hoechst 33342 mostró una disminución muy pequeña (Figura 3.14).



**Figura 3.14.** Experimento de valoración de una disolución de ctADN (200  $\mu\text{M}$ ) y Hoechst 33342 (A 2.5  $\mu\text{M}$ ) en Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2) con concentraciones crecientes del compuesto **29n** (0-150  $\mu\text{M}$ ). La gráfica está normalizada a la intensidad máxima del primer experimento.

Así, parece que ningún experimento muestra un desplazamiento de las moléculas modelo (EtBr, McGr o Hoechst 33342) por nuestros compuestos. Sin embargo, se observó que la emisión de nuestros compuestos resulta estar entre 400 y 550 nm (ver gráfica 5 en la Figura 3.14). De esta manera, la emisión de nuestro compuesto podría estar enmascarando la disminución provocada por la competencia con el Hoechst 33342, ya que los perfiles de excitación y emisión de nuestro compuesto **29n** y el Hoechst 33342 coinciden (Figura 3.15).

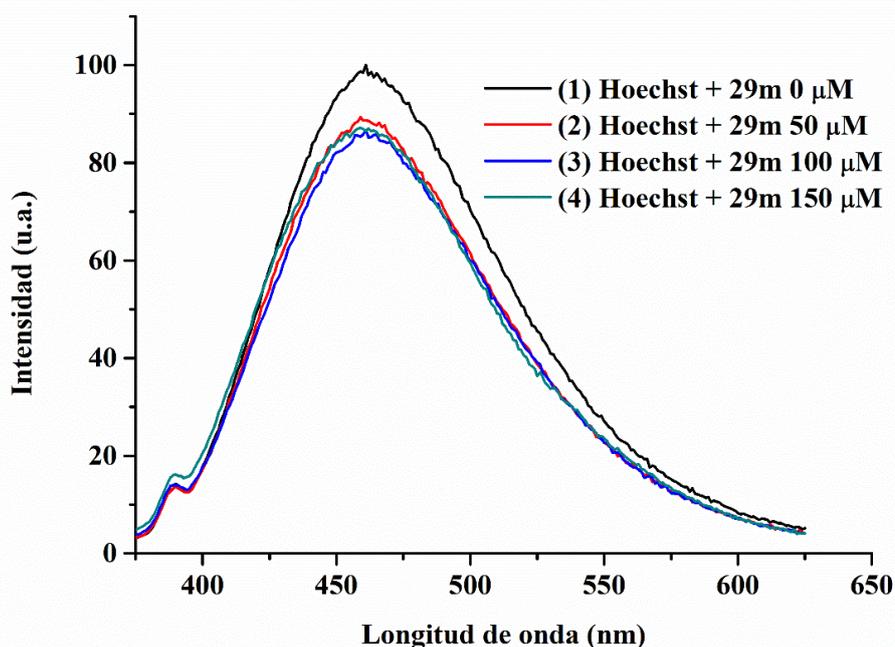


**Figura 3.15.** Perfiles de excitación y emisión de Hoechst 33342 (H33342), verde de metilo (MeGr), bromuro de etidio (EtBr) y el compuesto **29n**. Todos los espectros se obtuvieron con una concentración de ctADN de 50  $\mu$ M y 5  $\mu$ M de compuesto. Todos los espectros se normalizaron a 1.

De esta manera, se confirma que únicamente el Hoechst 33342 se ve afectado por este fenómeno. Tras esto, se realizaron las correcciones apropiadas en el experimento del Hoechst 33342 (ver gráficas 4, 5 y 6 de la Figura 3.14), pudiendo observarse una disminución significativa en la emisión. Esto sugiere que nuestro compuesto sí estaba desplazando al Hoechst 33342 del *minor groove* del ctADN.<sup>174</sup>

Un nuevo ensayo competitivo se llevó a cabo usando un derivado de pirano diferente para poder extrapolar el comportamiento mostrado por el compuesto **29n**. Así, se usó el compuesto **29m** en un nuevo experimento con el Hoechst 33342 (Figura 3.16).

<sup>174</sup> S. U. Rehman, Z. Yaseen, M. A. Husain, T. Sarwar, H. M. Ishqi, M. Tabish, *Plos One* **2014**, 9, e93913.



**Figura 3.16.** Experimento de valoración de una disolución de ctADN (200  $\mu\text{M}$ ) y Hoechst 33342 (A 2.5  $\mu\text{M}$ ) en Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2) con concentraciones crecientes del compuesto **29m** (0-150  $\mu\text{M}$ ). La gráfica está normalizada a la intensidad máxima del primer experimento.

De manera similar al experimento anterior, puede observarse una disminución de la intensidad de emisión con el compuesto **29m**. Esto sugiere una vez más que nuestros compuestos interaccionarían en el *minor groove* del ctADN.

Para cuantificar de una mejor manera las variaciones observadas, se calcularon como disminuciones porcentuales tanto de la intensidad como del área absoluta de los picos (Tabla 3.3).

**Tabla 3.3.** Variaciones observadas en el experimento de valoración.

Entrada	Compuesto	Compuesto modelo	Disminución de la intensidad (%) <sup>a</sup>	Disminución del área absoluta (%) <sup>b</sup>
1	<b>29n</b>	Bromuro de etidio	4.4	4.9
2	<b>29n</b>	Verde de metilo	-4.9	-5.9
3 <sup>c</sup>	<b>29n</b>	Hoechst 33342	14.3	13.6
4	<b>29m</b>	Hoechst 33342	13.5	10.0

<sup>a</sup> Calculado entre la máxima intensidad del último experimento y el primero. <sup>b</sup> Calculado entre la máxima área absoluta del último experimento y el primero. <sup>c</sup> Calculado entre el experimento corregido y el primero.

### 3.4 Conclusiones

Se ha desarrollado una buena aproximación sostenible y multicomponente para la síntesis de derivados de 4*H*-pirano. Se han desarrollado dos procedimientos diferentes usando NEt<sub>3</sub> como catalizador (accesible y eficiente) con un 20 mol% de carga catalítica y en agua. El uso de la aproximación multicomponente activada por ultrasonidos produce excelentes resultados, por primera vez en la bibliografía.<sup>175</sup> La simplicidad operacional, los tiempos cortos de reacción y que esta transcurre de forma limpia y con buenos rendimientos, hacen que este protocolo resulte de gran interés para la síntesis de derivados de 4*H*-pirano, los cuales presentan potenciales propiedades biológicas. Los estudios con ADN se han realizado mediante dicroísmo circular, absorción UV-Visible y espectroscopía de fluorescencia. Estos estudios permiten concluir que, probablemente, los productos finales estudiados interaccionan con el *minor groove* del ADN, con altas constantes de interacción, superiores a las publicadas hasta la fecha para derivados de 4*H*-pirano.<sup>148</sup> Este trabajo representa uno de los pocos ejemplos sobre piranos y su interacción con ADN, abriendo así la puerta a futuros descubrimientos sobre estos compuestos como potenciales fármacos.

---

<sup>175</sup> *Green Synthetic Approaches for Biologically Relevant Heterocycles* (Ed.: G. Brahmachari), Elsevier, **2015**, Capítulo 8, pp. 185-208.

### 3.5 Parte experimental

#### Procedimientos experimentales generales e instrumentación

La purificación de los productos de reacción se realiza mediante columna cromatográfica usando sílica gel (0.063-0.200 mm). La cromatografía de capa fina para el seguimiento de las reacciones se realizó en placas de sílica gel 60-F de 0.25 mm. Las medidas de espectrometría de masas de alta resolución se realizaron con el método de ionización ESI, en un instrumento de tipo MicroTof-Q. Los espectros de IR se registraron en un espectrómetro PerkinElmer Spectrum 100 FT-IR. La espectroscopía de RMN se realizó en un espectrómetro Bruker AVANCE-II. Los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN se recogieron a 300 y 400 MHz y los de  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN a 75 MHz, usando  $\text{DMSO-}d_6$  como disolvente. Los desplazamientos químicos se describen en la escala  $\delta$  relativa a los picos residuales de DMSO (2.50 ppm) para  $^1\text{H}$ -RMN y a la línea central de  $\text{DMSO-}d_6$  (39.43 ppm) para  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Gallenkamp MDP350 sin corrección. Para la síntesis de los compuestos finales se usó un baño de ultrasonidos Branson 5510.

Todos los reactivos y disolventes de origen comercial se usaron como son suministrados.

#### Procedimientos generales para la síntesis de los derivados de 4H-pirano 29-33.

Ruta (A): A una disolución del correspondiente alquilidenmalononitrilo **13** (0.1 mmol) y trietilamina (20 mol%, 2.8  $\mu\text{L}$ ) en agua (0.25 mL; y 50  $\mu\text{L}$  de EtOH, si es necesario), se añade el derivado enólico **5** (0.2 mmol). La reacción se deja en agitación a temperatura ambiente y controlada por cromatografía de capa fina (*n*hexano:AcOEt 70:30) hasta el consumo de todo el alquilidenmalononitrilo **22**.

Ruta (B): A una mezcla de 0.5 mL de una disolución previa en  $\text{H}_2\text{O}$  de malononitrilo **18a** (0.1 mmol), trietilamina (20 mol%, 2.8  $\mu\text{L}$ ) y el correspondiente aldehído **7** (0.1 mmol), se añade el derivado enólico **5** (0.1 mmol). La reacción se introduce en un baño de ultrasonidos. La reacción se deja en agitación a temperatura ambiente y controlada por cromatografía de capa fina (*n*hexano:AcOEt 70:30) hasta el consumo de todo el aldehído **6**.

Purificación: El crudo de reacción se extrae con acetato de etilo (AcOEt, 3 x 0.25 mL), directamente en el tubo de reacción. Se juntan las fases orgánicas y se purifican por

columna cromatográfica (SiO<sub>2</sub>, *n*hexano:AcOEt 80:20 a 60:40), produciéndose así los aductos finales **29-33**.

### Determinación de la estructura cristalina

Los cristales se depositaron sobre aceite inerte en fibras de cristal y transferidos a la corriente de gas frío de un difractómetro Smart APEX CCD equipado con un accesorio de baja temperatura. Los datos se recolectan usando radiación MoK $\alpha$  monocromada ( $\lambda = 0.71073 \text{ \AA}$ ). Tipo de scan  $\omega$ . Se aplicaron correcciones de absorción basadas en múltiples scans usando SADABS.<sup>176</sup> Las estructuras se resolvieron por métodos directos y refinadas en F<sup>2</sup> usando el programa SHELXT-2016.<sup>177</sup> Todos los átomos no hidrógeno se refinaron de manera anisotrópica. El número de depósito CCDC 1982869 contiene los datos suplementarios cristalográficos. Estos datos se pueden obtener de manera gratuita del centro de datos de *The Cambridge Crystallography Data Center*.

### Ensayos biológicos

El ADN de timo de ternera (ctADN) se compró en SigmaAldrich. Las disoluciones de ADN se prepararon disolviendo el ctADN sólido en un *buffer* de Tris (*tris*(hidroximetil)aminometano)/HCl (0.1 M, pH 7.2) a temperatura ambiente hasta una concentración final de 1 mg/mL, dejando la mezcla agitando durante la noche. La pureza del ADN se determinó midiendo la relación de absorbancia a A<sub>260 nm</sub>/A<sub>280 nm</sub>, estando en todos los casos entre 1.8-1.9, no se necesitó purificación adicional.<sup>178</sup> La concentración molar de las disoluciones de ADN se calculó usando un coeficiente de extinción medio de 6600 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> para un único nucleótido a 260 nm.<sup>179</sup>

### Medidas de UV-Vis

Los espectros UV se obtuvieron usando un espectrómetro *UV-Visible Thermo Fisher Scientific Evolution 600* con cubetas de cuarzo de 1 x 1 cm a 220-650 nm y 298 K. Se prepararon disoluciones madre de los compuestos **29-33** en DMSO 0.1 M. Los experimentos de titración para obtener las constantes de interacción se llevaron a cabo de la siguiente manera. Primero se prepararon disoluciones intermedias de nuestros compuestos de una concentración 2 mM. Después, las disoluciones de ensayo se preparan en 2 mL con el *buffer* de Tris/HCl a una concentración final de 20  $\mu$ M (20  $\mu$ L de la disolución intermedia y 1980  $\mu$ L de *buffer*), cuando se midió su espectro UV-Vis para

---

<sup>176</sup> G. M. Sheldrick, *SADABS, Program for adsorption correction*, University of Göttingen, Göttingen, Alemania, **1996**.

<sup>177</sup> G. M. Sheldrick, *Acta Cryst.* **2015**, *A71*, 3-8.

<sup>178</sup> W. W. Wilfinger, K. Mackey, P. Chomczynski, *Biotechniques* **1997**, *22*, 474-481.

<sup>179</sup> C. V. Kumar, E. H. Asuncion, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8547-8553.

obtener su coeficiente de extinción (se debe realizar una corrección de línea base con una disolución de la cantidad correspondiente de DMSO en el *buffer*). Después, se adicionan pequeñas cantidades de la disolución de ctADN a las cubetas de ensayo y referencia para corregir el espectro con un tiempo de mezcla de 10 minutos entre adiciones (4 x 5  $\mu\text{L}$ , 4 x 10  $\mu\text{L}$ , 1 x 20  $\mu\text{L}$ ).

### Medidas de viscosidad

Las medidas de viscosidad se tomaron con un viscosímetro Cannon-Fenske (Afora, modelo 5354/2, serie 50), sumergido en un baño calefactor a 298 K. El tiempo de flujo se tomó usando un cronómetro digital. Cada medida se repitió en al menos 4 ocasiones para obtener un tiempo medio. Los experimentos se llevaron a cabo de la manera siguiente: Se midió una disolución de 3.8 mL de ctADN en un *buffer* Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2) (1.14 mM medido por UV-Vis) en el viscosímetro tras 10 minutos para estabilizar la temperatura a 298 K. Después, se realizaron sucesivas adiciones de 15  $\mu\text{L}$  de la disolución de **29n** 0.1 M para medir la mezcla tomando las mismas precauciones que antes, con concentraciones 0.393 mM, 0.783 mM y 1.17 mM. Los datos se representan como  $\eta/\eta_0$  vs la relación de **29n** con la concentración de ADN, siendo  $\eta$  y  $\eta_0$  la viscosidad de la disolución con y sin **29n**.

### Dicroísmo circular (DC)

Las medidas de dicroísmo circular se tomaron en un espectropolarímetro Jasco J-810 con una cubeta de 1 cm, usando una velocidad de scan de 200 nm/min y un ancho de banda espectral de 10 nm, donde cada espectro es la media de 4 scans. Los experimentos se llevaron a cabo a 298 K, en el rango de 240-300 nm. El procedimiento de titración empieza midiendo una disolución de ctADN  $\mu\text{M}$  en un *buffer* Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2), con una corrección de línea base del *buffer*. Después, se midieron 2 muestras conteniendo también 30  $\mu\text{M}$  y 60  $\mu\text{M}$  de **29n**, corregidas con sus líneas base correspondientes de **29n** y *buffer*.

### Ensayos competitivos

Los experimentos de fluorescencia se realizaron en un espectrómetro Jobin-Yvon-Horiba Fluorolog FL3-11 usando una cubeta de 1 x 1 cm de cuarzo. Las longitudes de onda de excitación para el bromuro de etidio, el verde de metilo y el Hoechst 33342 son: 525, 633 y 343 nm, respectivamente. Los experimentos de titración se realizaron a 298 K. Se preparó una disolución de antemano de ctADN en Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2) con una concentración de 1 mg/mL, su concentración molar se calculó midiendo su espectro

UV-Vis en un espectrofotómetro *Thermo Fisher Scientific Evolution 600*, resultando ser 1.13 mM.

Bromuro de etidio y verde de metilo: Se prepararon las disoluciones en 2 mL de *buffer* Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2) a una concentración final de 50  $\mu$ M. El tinte correspondiente se adicionó a una concentración final de 2.5  $\mu$ M. Después, se realizan sucesivas adiciones de 10  $\mu$ L de una disolución del compuesto **29n** [2 mM, Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2)].

Hoechst 33342: Se preparó la disolución en 2 mL de *buffer* Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2) a una concentración final de 200  $\mu$ M. El Hoechst 33342 se adicionó a una concentración final de 2.5  $\mu$ M. Después, se realizan sucesivas adiciones de 1  $\mu$ L de una disolución de los compuestos **29m-n** [0.1 M, Tris/HCl (0.1 M, pH 7.2)].

### Caracterización de los derivados de 4H-pirano 29-33.

#### 6-Amino-5-ciano-4-fenil-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29a)

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29a** se obtuvo como un sólido blanco con un 85 % de rendimiento (29.1 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 92 % de rendimiento (31.5 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 137-139 °C.  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.98 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.97 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.21-4.31 (m, 2H), 4.39 (s, 1H), 7.16-7.30 (m, 5H), 7.33-7.39 (m, 2H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.5 (1C), 13.7 (1C), 39.0 (1C), 56.5 (1C), 61.2 (1C), 62.5 (1C), 113.3 (1C), 119.1 (1C), 127.5 (1C), 127.6 (2C), 128.7 (2C), 142.5 (1C), 143.7 (1C), 158.5 (1C), 160.6 (1C), 164.0 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3409, 3328, 3269, 3226, 3199, 2981, 2938, 2200, 2159, 2029, 1977, 1752, 1711, 1673, 1650, 1605, 1197, 1106, 1047, 736, 698, 421. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{NaO}_5$  365.1108; encontrado 365.1116 [M+Na].

#### 6-Amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29b)

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29b** se obtuvo como un sólido blanco con un 36 % de rendimiento (13.6 mg), 82 % de rendimiento (30.9 mg) si se adicionan 50  $\mu$ L de EtOH, tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 64 % de rendimiento (24.1 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 108-110 °C.  $^1\text{H-RMN}$  (300

MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1.00 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.98 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.21-4.31 (m, 2H), 4.45 (s, 1H), 7.19-7.23 (m, 2H), 7.27 (bs, 2H), 7.41-7.45 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.5 (1C), 13.6 (1C), 38.3 (1C), 56.1 (1C), 61.2 (1C), 62.5 (1C), 112.8 (1C), 118.9 (1C), 128.7 (2C), 129.5 (2C), 132.1 (1C), 141.5 (1C), 143.8 (1C), 158.5 (1C), 160.4 (1C), 163.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3419, 3340, 3279, 3229, 3200, 2982, 2971, 2200, 2024, 1977, 1731, 1715, 1686, 1649, 1605, 1413, 1370, 1338, 1290, 1261, 1190, 1172, 1087, 1042, 1010, 822, 776, 445. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{NaO}_5$  399.0718; encontrado 399.0737 [M+Na].

#### **6-Amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29c)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29c** se obtuvo como un sólido blanco con un 39 % de rendimiento (14.7 mg), 67 % de rendimiento (25.2 mg) si se adicionan 50  $\mu\text{L}$  de EtOH, tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 83 % de rendimiento (31.3 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 127-129 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1.00 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.96-4.03 (m, 2H), 4.23-4.30 (m, 2H), 4.48 (s, 1H), 7.15-7.18 (m, 1H), 7.22-7.23 (m, 1H), 7.27 (bs, 2H), 7.34-7.37 (m, 1H), 7.39-7.43 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.5 (1C), 13.6 (1C), 38.5 (1C), 55.9 (1C), 61.2 (1C), 62.5 (1C), 112.7 (1C), 118.8 (1C), 126.4 (1C), 127.5 (1C), 127.5 (1C), 130.7 (1C), 133.1 (1C), 143.9 (1C), 145.0 (1C), 158.5 (1C), 160.4 (1C), 163.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3417, 3327, 3264, 3224, 3197, 2985, 2198, 2160, 2035, 1738, 1711, 1671, 1604, 1254, 1203, 1106, 1044, 794, 749, 660, 414. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{ClN}_2\text{NaO}_5$  399.0718; encontrado 399.0732 [M+Na].

#### **6-Amino-4-(4-bromofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29d)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29d** se obtuvo como un sólido blanco con un 24 % de rendimiento (10.1 mg), 73 % de rendimiento (30.8 mg) si se adicionan 50  $\mu\text{L}$  de EtOH, tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 84 % de rendimiento (35.4 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 111-113 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1.01 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.95-4.02 (m, 2H), 4.22-4.30 (m, 2H), 4.43 (s, 1H), 7.13-7.17 (m, 2H), 7.25 (bs, 2H), 7.55-7.58 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$ -

APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.5 (1C), 13.6 (1C), 38.4 (1C), 56.0 (1C), 61.2 (1C), 62.5 (1C), 112.7 (1C), 118.8 (1C), 120.6 (1C), 129.8 (2C), 131.6 (2C), 141.9 (1C), 143.9 (1C), 158.5 (1C), 160.4 (1C), 163.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3419, 3339, 3276, 3229, 3199, 2970, 2199, 2160, 2028, 1977, 1732, 1714, 1686, 1649, 1604, 1415, 1370, 1338, 1289, 1262, 1189, 1173, 1089, 1041, 1010, 820, 775, 454. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{NaO}_5$  443.0213; encontrado 443.0220 [M+Na].

#### 6-Amino-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29e)

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29e** se obtuvo como un sólido blanco con un 77 % de rendimiento (29.8 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 89 % de rendimiento (34.5 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 103-105 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1.00 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.26 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.98 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.28 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.64 (s, 1H), 7.36 (bs, 2H), 7.48-7.51 (m, 2H), 8.23-8.26 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.5 (1C), 13.6 (1C), 38.5 (1C), 55.5 (1C), 61.3 (1C), 62.6 (1C), 111.6 (1C), 118.6 (1C), 124.0 (2C), 129.0 (2C), 144.8 (1C), 146.8 (1C), 150.0 (1C), 158.5 (1C), 160.4 (1C), 163.5 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3418, 3340, 3276, 3226, 3199, 2979, 2934, 2329, 2199, 2118, 1998, 1729, 1712, 1687, 1649, 1604, 1524, 1350, 1338, 1291, 1263, 1195, 1173, 1091, 1045, 1013, 819, 777, 451. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{NaO}_7$  410.0959; encontrado 410.0976 [M+Na].

#### 6-Amino-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29f)

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29f** se obtuvo como un sólido blanco con un 82 % de rendimiento (31.8 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 83 % de rendimiento (32.1 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 154-156 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  0.99 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.98 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.27 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.71 (s, 1H), 7.36 (bs, 2H), 7.68-7.72 (m, 2H), 8.04-8.05 (m, 1H), 8.15-8.20 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.4 (1C), 13.6 (1C), 38.3 (1C), 55.6 (1C), 61.3 (1C), 62.6 (1C), 112.1 (1C), 118.7 (1C), 122.2 (1C), 122.6 (1C), 130.5 (1C), 134.5 (1C), 144.5 (1C), 144.9 (1C), 147.8 (1C),

158.7 (1C), 160.4 (1C), 163.6 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3398, 3330, 3267, 3225, 3201, 3087, 2983, 2199, 2159, 3032, 1725, 1703, 1674, 1649, 1606, 1530, 1346, 1306, 1260, 1197, 1170, 1101, 1026, 825, 736, 506. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{NaO}_7$  410.0959; encontrado 410.0966 [M+Na].

#### **6-Amino-5-ciano-4-(4-cianofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29g)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29g** se obtuvo como un sólido blanco con un 90 % de rendimiento (33.1 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 91 % de rendimiento (33.4 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 103-105 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  0.99 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.98 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.27 (c,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 4.56 (s, 1H), 7.35 (bs, 2H), 7.39-7.41 (m, 2H), 7.84-7.87 (m, 2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  13.5 (1C), 13.6 (1C), 38.7 (1C), 55.6 (1C), 61.3 (1C), 62.5 (1C), 110.3 (1C), 111.8 (1C), 118.6 (1C), 118.7 (1C), 128.7 (2C), 132.7 (2C), 144.6 (1C), 148.1 (1C), 158.5 (1C), 160.4 (1C), 163.6 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3333, 3186, 2922, 2852, 2231, 2196, 2122, 1993, 1718, 1679, 1641, 1603, 1370, 1297, 1251. 1192, 1096, 1017, 846, 557. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{NaO}_5$  390.1060; encontrado 390.1066 [M+Na].

#### **6-Amino-5-ciano-4-(naftalen-1-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29h)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29h** se obtuvo como un sólido blanco con un 53 % de rendimiento (20.8 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 69 % de rendimiento (27.1 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 117-119 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  0.65 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.26 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 3.70-3.80 (m, 2H), 4.22-4.32 (m, 2H), 5.41 (s, 1H), 7.18 (bs, 2H), 7.34 (dd,  $J = 7.2$ , 1.1 Hz, 1H), 7.52-7.61 (m, 3H), 7.86 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 7.94-7.97 (m, 1H), 8.29 (d,  $J = 8.1$  Hz, 1H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  13.1 (1C), 13.6 (1C), 57.0 (1C), 60.9 (1C), 62.4 (1C), 114.2 (1C), 119.0 (1C), 123.1 (1C), 125.8 (1C), 125.8 (1C), 126.2 (1C), 126.5 (1C), 127.9 (1C), 128.5 (1C), 130.8 (1C), 133.3 (1C), 158.4 (1C), 160.5 (1C), 164.0 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3405, 3326, 3269, 3224, 3201, 2958, 2923, 2852, 2198, 2160, 2023, 1976, 1753, 1714, 1674, 1646, 1608, 1291, 1252, 1185, 1160, 1098, 1040,

1003, 863, 775, 447. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{22}H_{20}N_2NaO_5$  415.1264; encontrado 415.1261 [M+Na].

#### **6-Amino-5-ciano-4-(furan-2-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29i)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29i** se obtuvo como un sólido blanco con un 23 % de rendimiento (7.6 mg), 35 % de rendimiento (11.6 mg) si se adicionan 50  $\mu$ L de EtOH, tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 66 % de rendimiento (21.9 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 92-94 °C.  $^1H$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1.09 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.06 (c,  $J = 7.1$ , Hz, 2H), 4.22-4.30 (m, 2H), 4.56 (s, 1H), 6.20-6.21-6.23 (m, 1H), 6.39 (dd,  $J = 3.2$ , 1.9 Hz, 1H), 7.27 (bs, 2H), 7.59 (dd,  $J = 1.9$ , 0.9 Hz, 1H).  $^{13}C$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.6 (1C), 13.6 (1C), 32.6 (1C), 53.7 (1C), 61.3 (1C), 62.5 (1C), 106.8 (1C), 110.6 (1C), 110.8 (1C), 118.8 (1C), 142.9 (1C), 144.6 (1C), 153.5 (1C), 159.2 (1C), 160.4 (1C), 163.8 (1C). IR (puro) ( $cm^{-1}$ )  $\nu$  3146, 2124, 3042, 2986, 2923, 2224, 2091, 1991, 1739, 1605, 1527, 1456, 1394, 1296, 1018, 934, 763, 583, 458. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{16}H_{16}N_2NaO_6$  355.0901; encontrado 355.0918 [M+Na].

#### **6-Amino-5-ciano-4-(tiofen-2-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29j)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29j** se obtuvo como un sólido blanco con un 23 % de rendimiento (8.0 mg), 58 % de rendimiento (20.2 mg) si se adicionan 50  $\mu$ L de EtOH, tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 66 % de rendimiento (23.0 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 97-99 °C.  $^1H$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  1.09 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 1.25 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H), 4.03-4.10 (m, 2H), 4.22-4.29 (m, 2H), 4.76 (s, 1H), 6.91-6.92 (m, 1H), 6.97 (dd,  $J = 5.1$ , 3.5 Hz, 1H), 7.30 (bs, 2H), 7.45 (dd,  $J = 5.1$ , 1.2 Hz, 1H).  $^{13}C$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  13.6 (1C), 13.6 (1C), 33.8 (1C), 56.6 (1C), 61.3 (1C), 62.5 (1C), 112.7 (1C), 118.9 (1C), 125.2 (1C), 125.8 (1C), 127.0 (1C), 144.0 (1C), 146.9 (1C), 158.7 (1C), 160.5 (1C), 163.7 (1C). IR (puro) ( $cm^{-1}$ )  $\nu$  3411, 3329, 3267, 3225, 3199, 2982, 2936, 2200, 2160, 2033, 1978, 1747, 1708, 1674, 1650, 1605, 1370, 1250, 1196, 1170, 1101, 1044, 1009, 855, 697, 417. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{16}H_{16}N_2NaO_5S$  371.0672; encontrado 371.0681 [M+Na].

**6-Amino-5-ciano-4-(4-metoxifenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29k)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29k** se obtuvo como un sólido blanco con un 22 % de rendimiento (8.2 mg), 49 % de rendimiento (18.2 mg) si se adicionan 50  $\mu$ L de EtOH, tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 44 % de rendimiento (16.4 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 111-113 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  1.01 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.93-4.03 (m, 2H), 4.20-4.30 (m, 2H), 4.34 (s, 1H), 6.89-6.94 (m, 2H), 7.07-7.12 (m, 2H), 7.17 (bs, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  13.5 (1C), 13.6 (1C), 38.2 (1C), 55.1 (1C), 56.7 (1C), 61.0 (1C), 62.3 (1C), 113.8 (1C), 114.0 (2C), 119.0 (1C), 128.7 (2C), 134.4 (1C), 134.4 (1C), 143.1 (1C), 158.4 (1C), 160.5 (1C), 164.0 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3356, 2984, 2224, 1733, 1687, 1642, 1603, 1570, 1513, 1442, 1369, 1319, 1277, 1250, 1179, 1021, 833, 778, 512. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>Na 395.1214; encontrado 395.1224 [M+Na].

**6-Amino-5-ciano-4-(p-tolil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29l)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29l** se obtuvo como un sólido blanco con un 21 % de rendimiento (7.5 mg), 52 % de rendimiento (18.5 mg) si se adicionan 50  $\mu$ L de EtOH, tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 50 % de rendimiento (17.8 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 128-130 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  1.00 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.27 (s, 3H), 3.92-4.02 (m, 2H), 4.20-4.30 (m, 2H), 4.34 (s, 1H), 7.03-7.06 (m, 2H), 7.14-7.18 (m, 4H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  13.6 (1C), 13.7 (1C), 20.7 (1C), 38.6 (1C), 56.6 (1C), 61.2 (1C), 62.4 (1C), 113.5 (1C), 119.1 (1C), 127.5 (2C), 129.3 (2C), 136.7 (1C), 139.5 (1C), 143.5 (1C), 158.5 (1C), 160.6 (1C), 164.0 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>)  $\nu$  3411, 3329, 3272, 3226, 3199, 2981, 2924, 2206, 2109, 1998, 1738, 1744, 1709, 1677, 1649, 1609, 1370, 1306, 1288, 1255, 1171, 1101, 1040, 1006, 749, 388. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub> 379.1264; encontrado 379.1283 [M+Na].

**6-Amino-5-ciano-4-(piridin-3-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29m)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29m** se obtuvo como un sólido blanco con un 92 % de rendimiento (31.6 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 88 % de rendimiento (30.2 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 142-144 °C. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0.98 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 3.98 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.27 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.51 (s, 1H), 7.30 (bs, 2H), 7.39-7.43 (m, 1H), 7.60-7.63 (m, 1H), 8.42 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 8.49 (dd, *J* = 4.7, 1.6 Hz, 1H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.5 (1C), 13.6 (1C), 36.5 (1C), 55.7 (1C), 61.2 (1C), 62.5 (1C), 112.3 (1C), 118.8 (1C), 124.0 (1C), 135.3 (1C), 138.1 (1C), 144.2 (1C), 148.7 (1C), 148.8 (1C), 158.6 (1C), 160.4 (1C), 163.7 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3296, 2983, 2202, 2160, 2029, 1977, 1745, 1719, 1679, 1617, 1414, 1368, 1334, 1292, 1253, 1182, 1171, 1097, 1002, 857, 709, 611, 479. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>5</sub> 366.1060; encontrado 366.1072 [M+Na].

#### **6-Amino-5-ciano-4-(4-(trifluorometil)fenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29n)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29n** se obtuvo como un sólido blanco con un 34 % de rendimiento (14.0 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 75 % de rendimiento (30.8 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 104-106 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0.98 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.25 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 3.98 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.27 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.56 (s, 1H), 7.31 (bs, 2H), 7.43 (d, *J* = 7.9, 2H), 7.75 (d, *J* = 7.9, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.4 (1C), 13.6 (1C), 38.6 (1C), 55.8 (1C), 61.2 (1C), 62.5 (1C), 112.3 (1C), 118.8 (1C), 124.2 (c, *J* = 271.1 Hz, 1C), 125.6-125.7 (m, 2C), 128.1 (c, *J* = 31.6 Hz, 1C), 128.5 (2C), 144.3 (1C), 147.2 (1C), 158.5 (1C), 160.4 (1C), 163.7 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3324, 3095, 2990, 2234, 2196, 1953, 1726, 1676, 1591, 1565, 1419, 1319, 1160, 1115, 1068, 1014, 944, 849, 835, 621, 595, 386. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub> 433.0982 encontrado 433.0964 [M+Na].

#### **6-Amino-4-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (29o)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **29o** se obtuvo como un sólido blanco con un 82 % de rendimiento (39.2 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 79 % de rendimiento (37.8 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. 176-178 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0.93 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 1.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 3.96 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.27 (c, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.86 (s, 1H), 7.41 (bs, 2H), 7.92 (bs, 2H), 8.09 (bs, 1H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.3 (1C), 13.6 (1C), 38.3 (1C), 55.0 (1C), 61.3 (1C), 62.6 (1C), 112.1 (1C), 118.6 (1C), 121.5-121.7 (m, 1C), 123.2 (c, *J* = 272.8 Hz, 2C), 128.6-128.7 (m, 2C), 130.6 (c, *J* = 32.9 Hz, 2C), 144.0 (1C), 146.0 (1C), 158.7 (1C), 160.2 (1C), 163.7 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3404, 3323, 3274, 3202, 2987, 2199, 1739, 1714, 1689, 1650, 1605, 1372, 1268, 1165, 1124, 1091, 1091, 1045, 899, 779, 707, 680, 633, 492. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>5</sub> 501.0856; encontrado 501.0871 [M+Na].

#### **5-Acetil-2-amino-6-metil-4-fenil-4*H*-piran-3-carbonitrilo (30)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **30** se obtuvo como un sólido blanco con un 98 % de rendimiento (24.9 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 95 % de rendimiento (24.2 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 226-228 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 2.06 (s, 3H), 2.24 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H), 4.46 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 6.85 (bs, 2H), 7.16-7.26 (m, 3H), 7.31-7.36 (m, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 18.5 (1C), 29.8 (1C), 38.8 (1C), 57.8 (1C), 115.0 (1C), 119.8 (1C), 127.0 (1C), 127.2 (2C), 128.8 (2C), 144.6 (1C), 154.8 (1C), 158.3 (1C), 198.4 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3252, 3116, 2638, 2242, 1695, 1666, 1554, 1456, 1376, 1357, 1262, 1173, 1025, 745, 698, 546. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Na 277.0947; encontrado 277.0968 [M+Na].

#### **6-Amino-5-ciano-2-metil-4-fenil-4*H*-piran-3-carboxilato de etilo (31)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **31** se obtuvo como un sólido blanco con un 97 % de rendimiento (27.6 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 98 % de rendimiento (27.9 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x

0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 189-191 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 1.02 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H), 2.31 (d, *J* = 1.0 Hz, 3H), 3.88-4.04 (m, 2H), 4.28 (s, 1H), 6.93 (bs, 2H), 7.12-7.15 (m, 2H), 7.18-7.24 (m, 1H), 7.29-7.33 (m, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 13.7 (1C), 18.1 (1C), 38.8 (1C), 57.3 (1C), 60.1 (1C), 107.2 (1C), 119.7 (1C), 126.8 (1C), 127.2 (2C), 128.4 (2C), 144.9 (1C), 156.6 (1C), 158.5 (1C), 165.4 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3398, 3326, 3222, 3201, 2967, 2188, 1687, 1674, 1645, 1608, 1371, 1255, 1176, 1058, 1031, 831, 697, 475. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na 307.1053; encontrado 307.1047 [M+Na].

### **6-Amino-5-ciano-2-metil-4-fenil-4H-piran-3-carboxilato de metilo (32)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **32** se obtuvo como un sólido blanco con un 96 % de rendimiento (25.9 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 97 % de rendimiento (26.2 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 166-168 °C. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 2.31 (d, *J* = 0.8 Hz, 3H), 3.52 (s, 3H), 4.29 (bs, 1H), 6.90 (bs, 2H), 7.12-7.15 (m, 2H), 7.19-7.24 (m, 1H), 7.29-7.33 (m, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 18.2 (1C), 38.7 (1C), 51.5 (1C), 57.3 (1C), 107.2 (1C), 119.7 (1C), 126.8 (1C), 127.0 (2C), 128.5 (2C), 144.8 (1C), 156.8 (1C), 158.5 (1C), 166.0 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3407, 3328, 3202, 2953, 2193, 1697, 1677, 1645, 1607, 1406, 1332, 1261, 1176, 1120, 1057, 951, 737, 695, 475. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Na 293.0897; encontrado 293.0883 [M+Na].

### **2-Amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-fenil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-cromeno-3-carbonitrilo (33)**

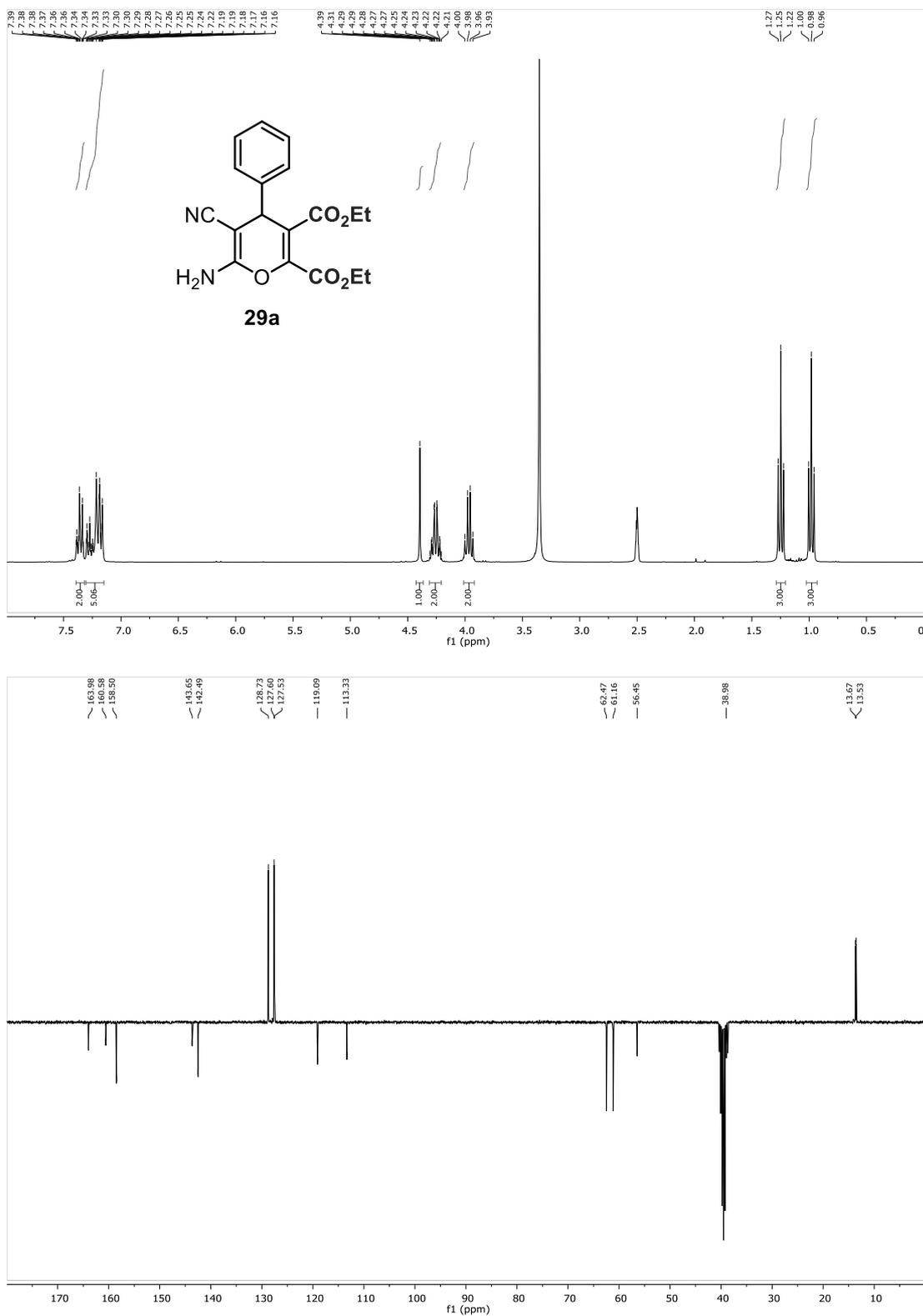
Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **33** se obtuvo como un sólido blanco con un 98 % de rendimiento (28.8 mg), tras 24 h de reacción a temperatura ambiente (ruta A); y con un 98 % de rendimiento (28.8 mg), tras 2 h de reacción a temperatura ambiente (ruta B). La purificación se realizó por extracción con AcOEt (3 x 0.25 mL) y columna cromatográfica con *n*hexano:AcOEt desde 80:20 a 60:40. P.f. 218-220 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 0.95 (s, 3H), 1.04 (s, 3H), 2.10 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.26 (d, *J* = 16.1 Hz, 1H), 2.46-2.58 (m, 2H), 4.17 (s, 1H), 7.02 (bs, 2H), 7.12-7.21 (m, 3H), 7.26-7.31 (m, 2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (100 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 26.8 (1C), 28.4 (1C), 31.8 (1C), 35.6 (1C), 39.7 (1C), 50.0 (1C), 58.3 (1C), 112.7 (1C), 119.6 (1C), 126.5 (1C),

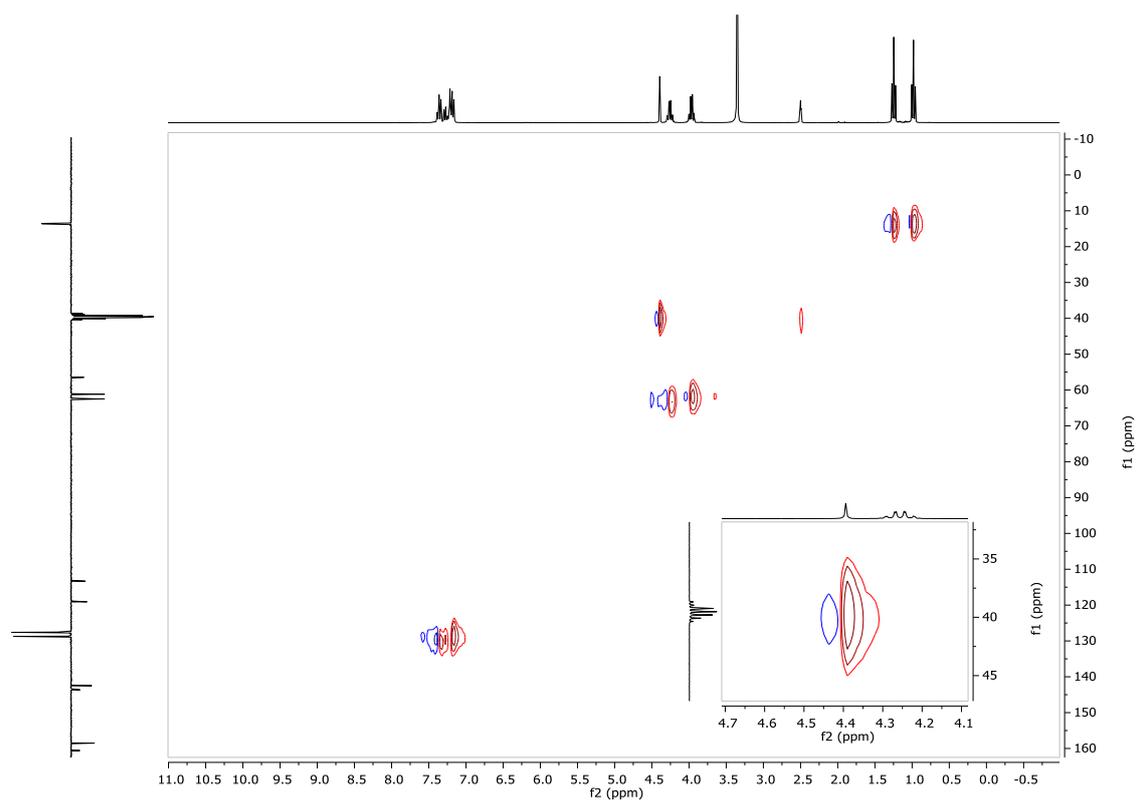
127.1 (2C), 128.3 (2C), 144.7 (1C), 158.5 (1C), 162.4 (1C), 195.6 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  
 $\nu$  3383, 3321, 3209, 2961, 2198, 1677, 1657, 1602, 1369, 1212, 1248, 1212, 1138, 1035,  
694, 495. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2\text{Na}$  317.1260; encontrado 317.1272  
[M+Na].

### 3.6 Información suplementaria

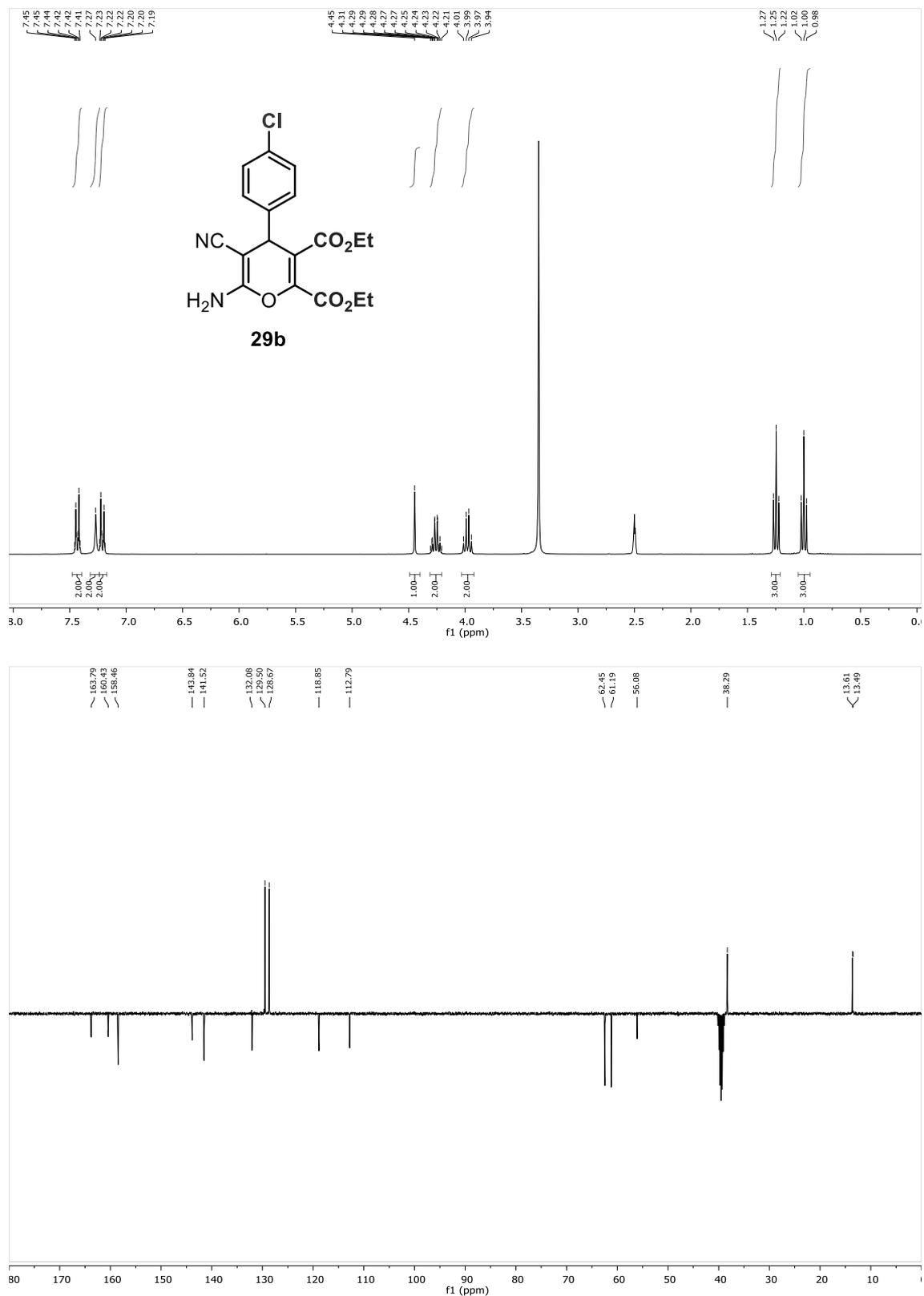
#### Espectros de RMN de los compuestos 29-33

**Figura S3.1.** Espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -APT y HSQC RMN de 6-amino-5-ciano-4-fenil-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29a**)

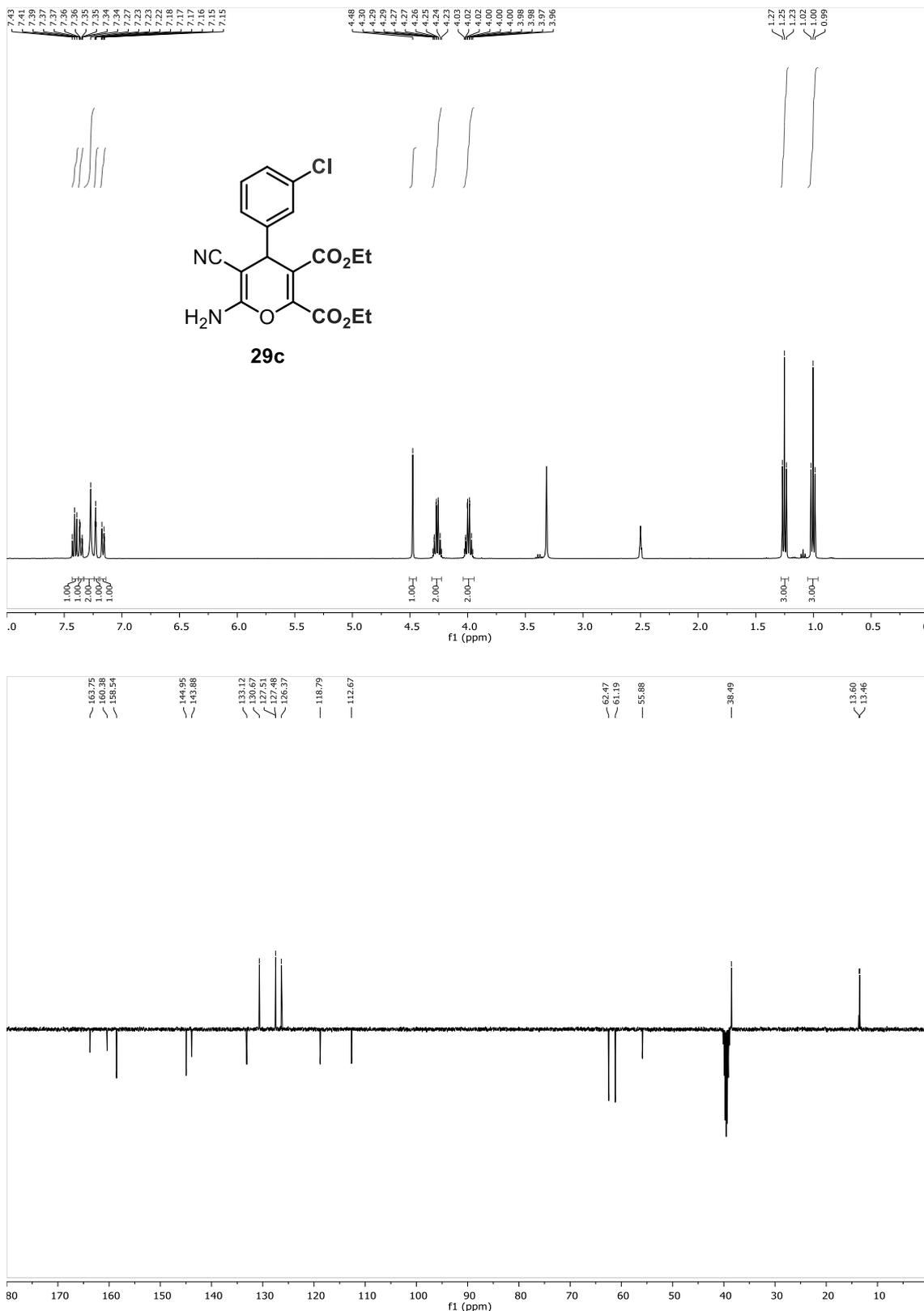




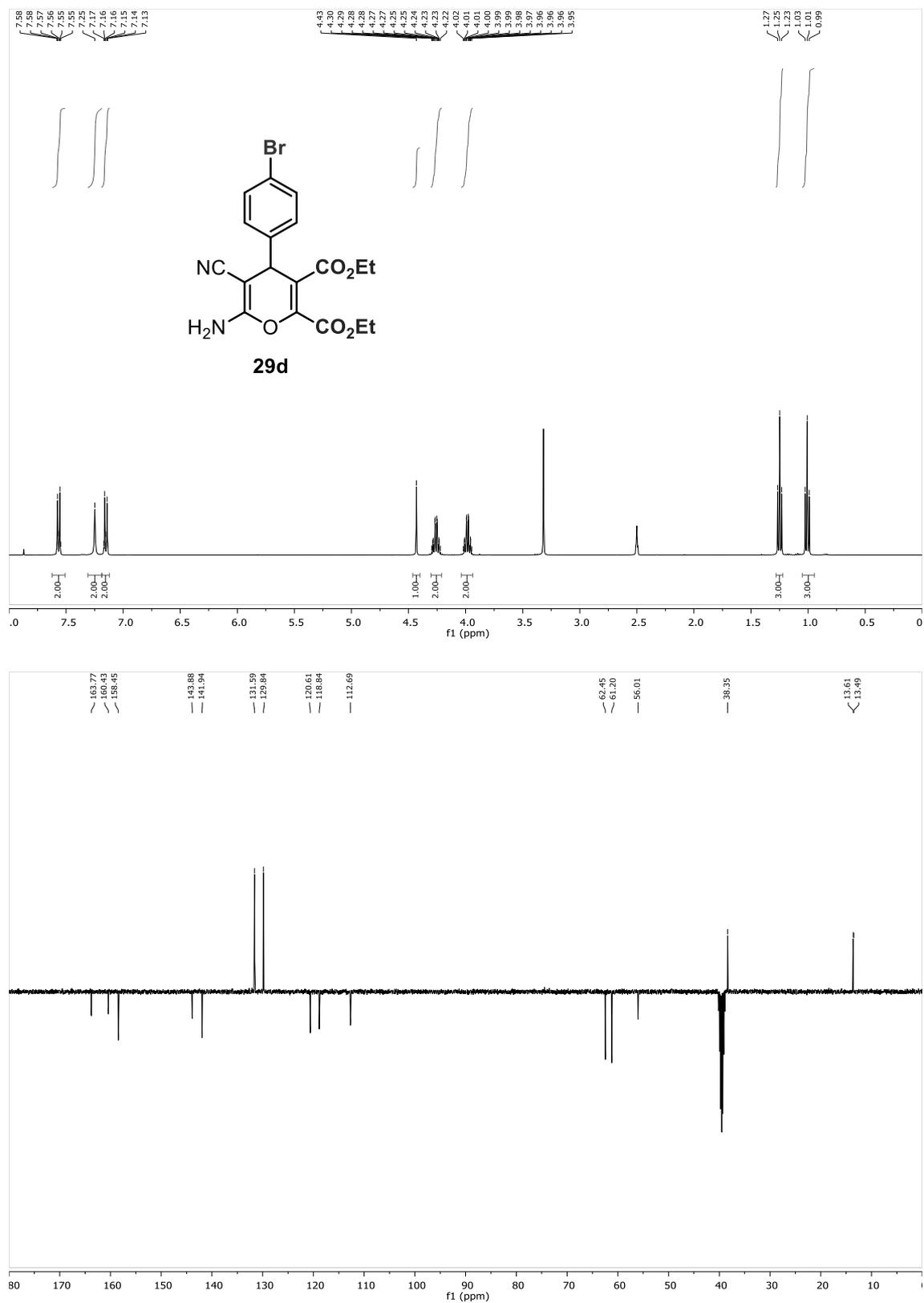
**Figura S3.2.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29b**)



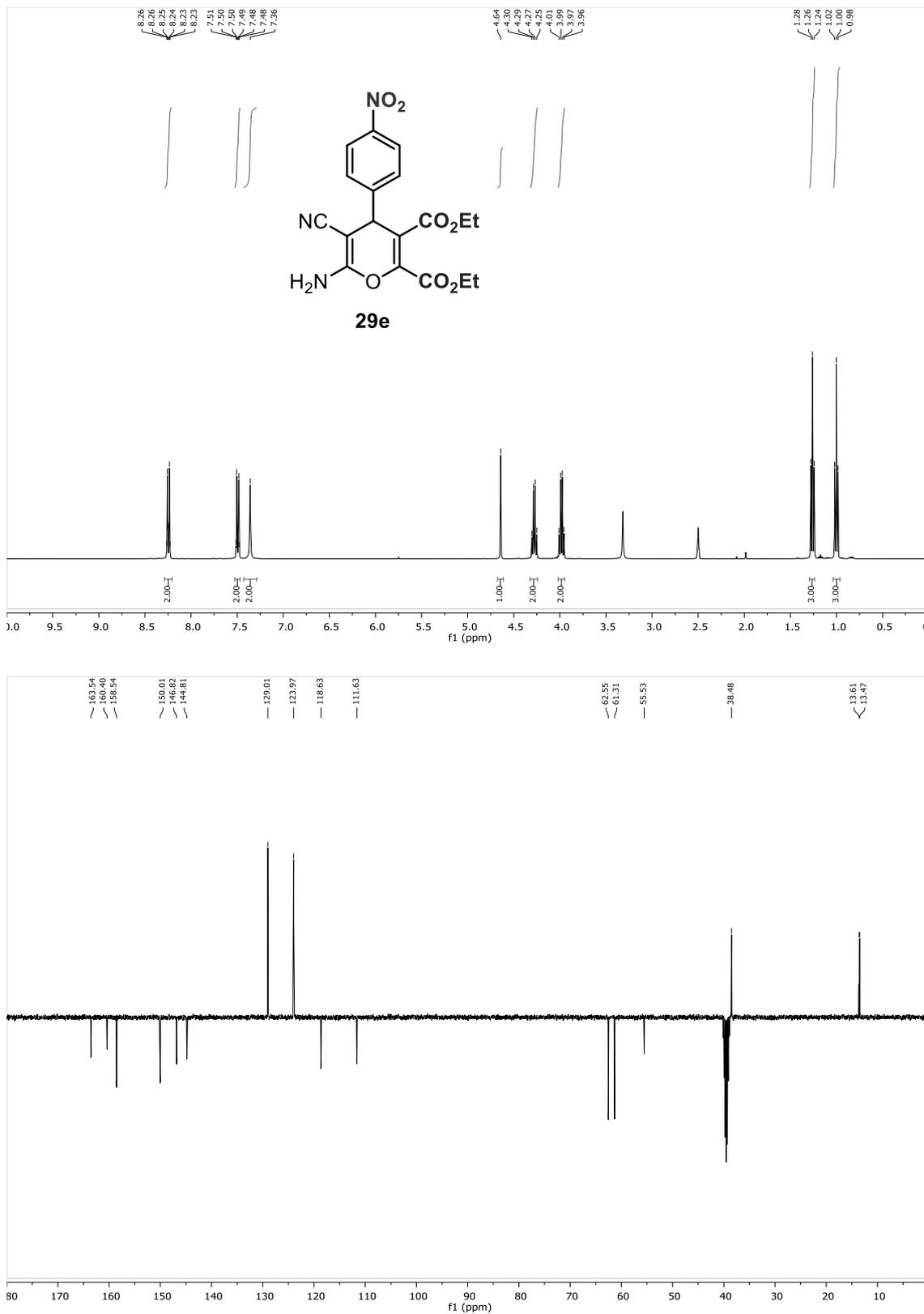
**Figura S3.3.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-4*H*-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29c**)



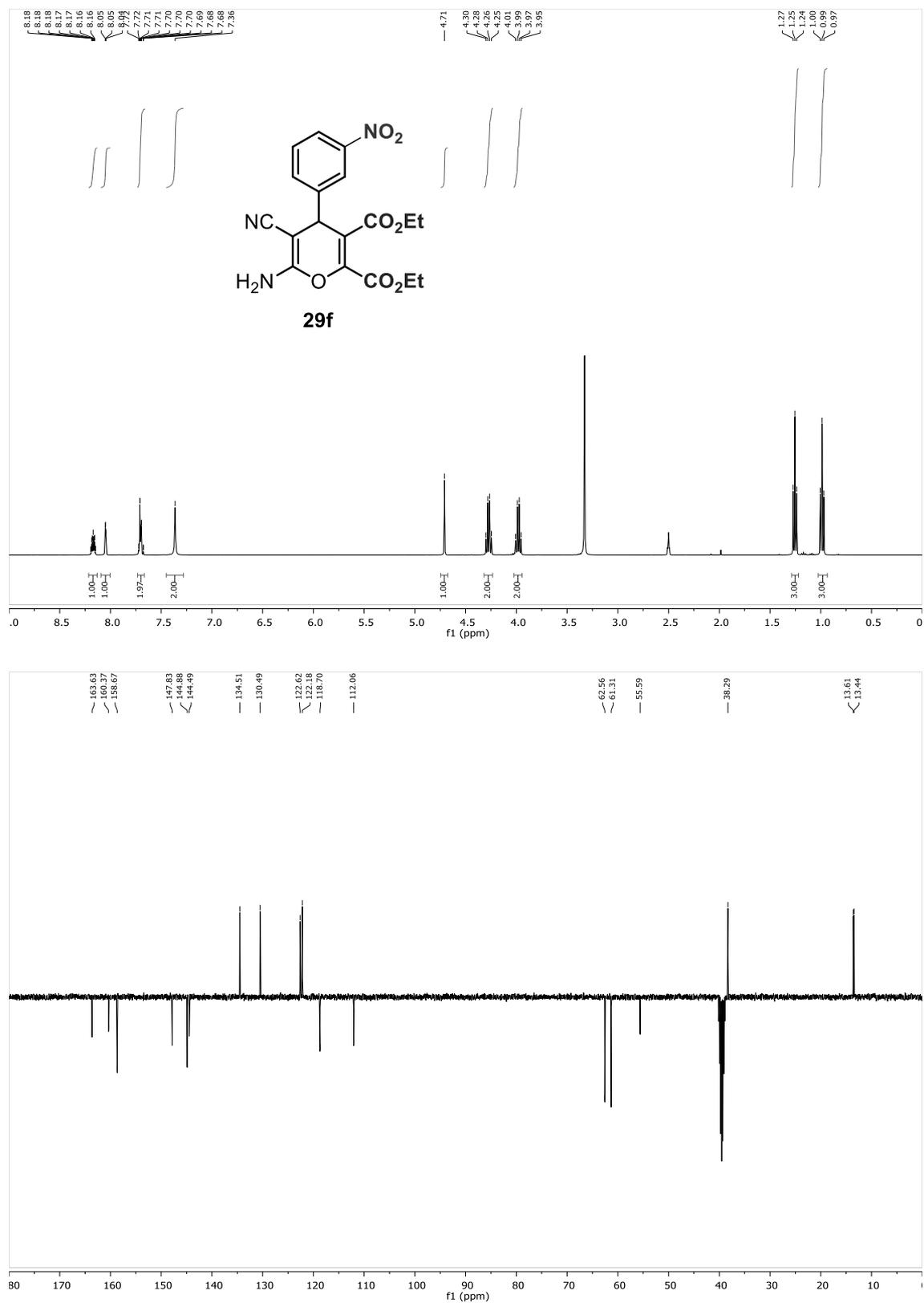
**Figura S3.4.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-4-(4-bromofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29d**)



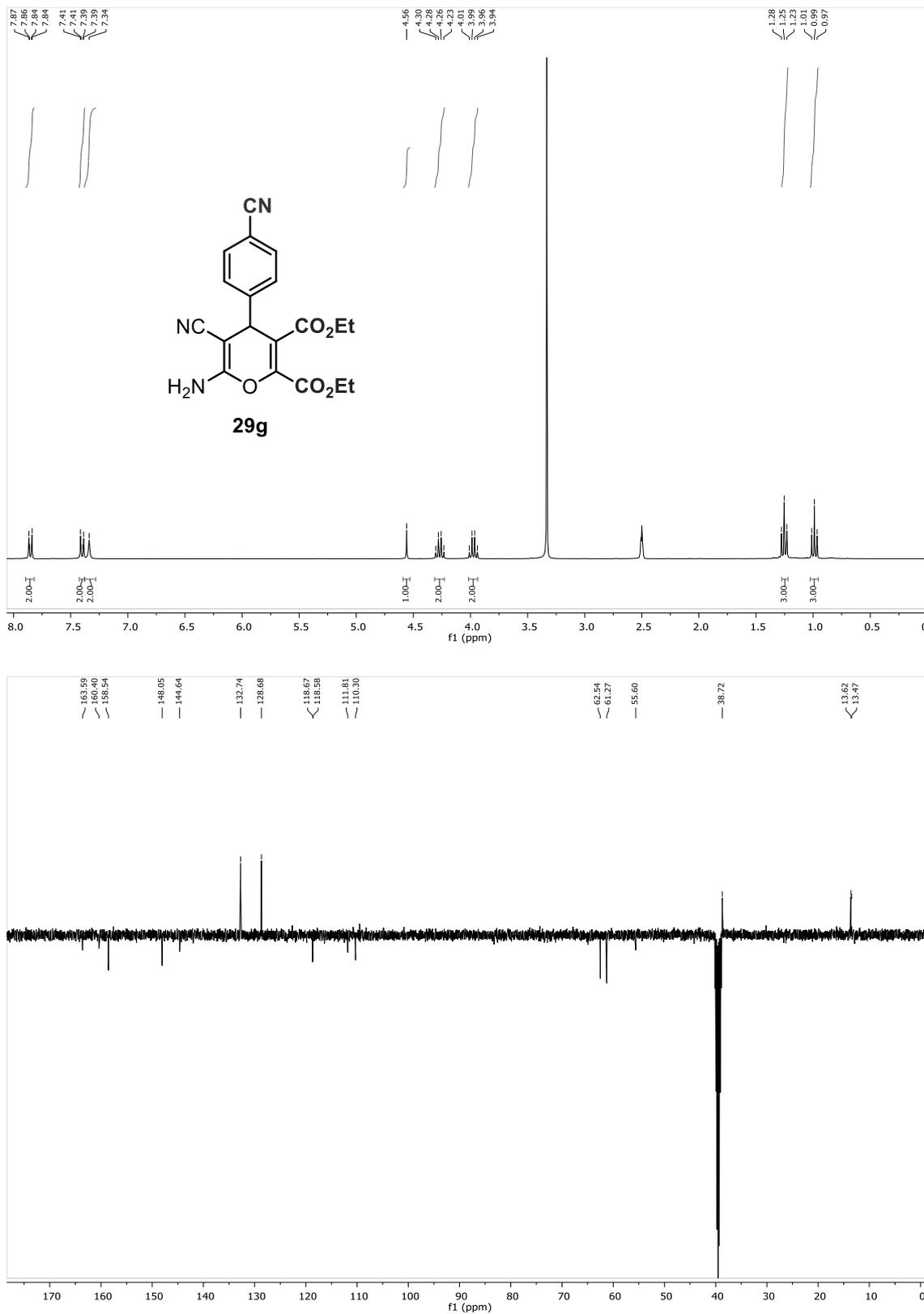
**Figura S3.5.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29e**)



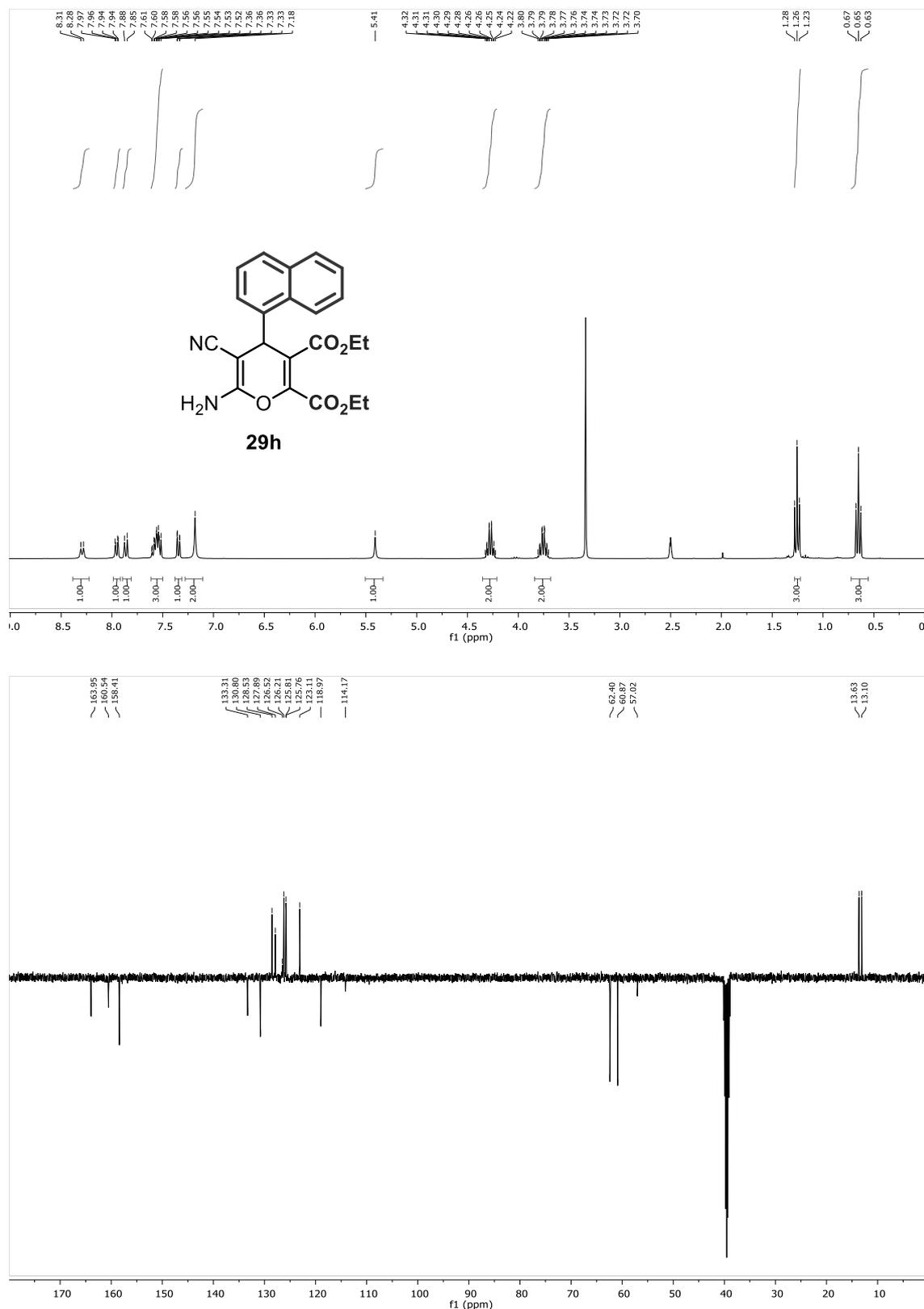
**Figura S3.6.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29f**)

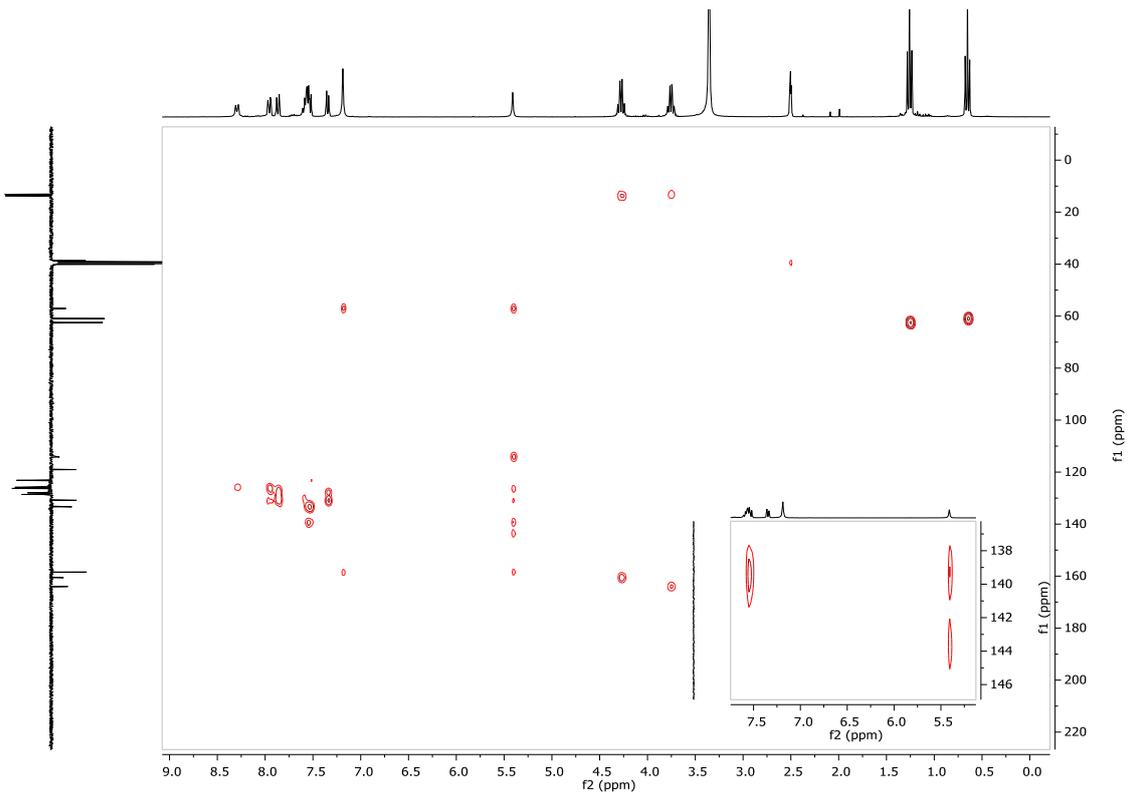
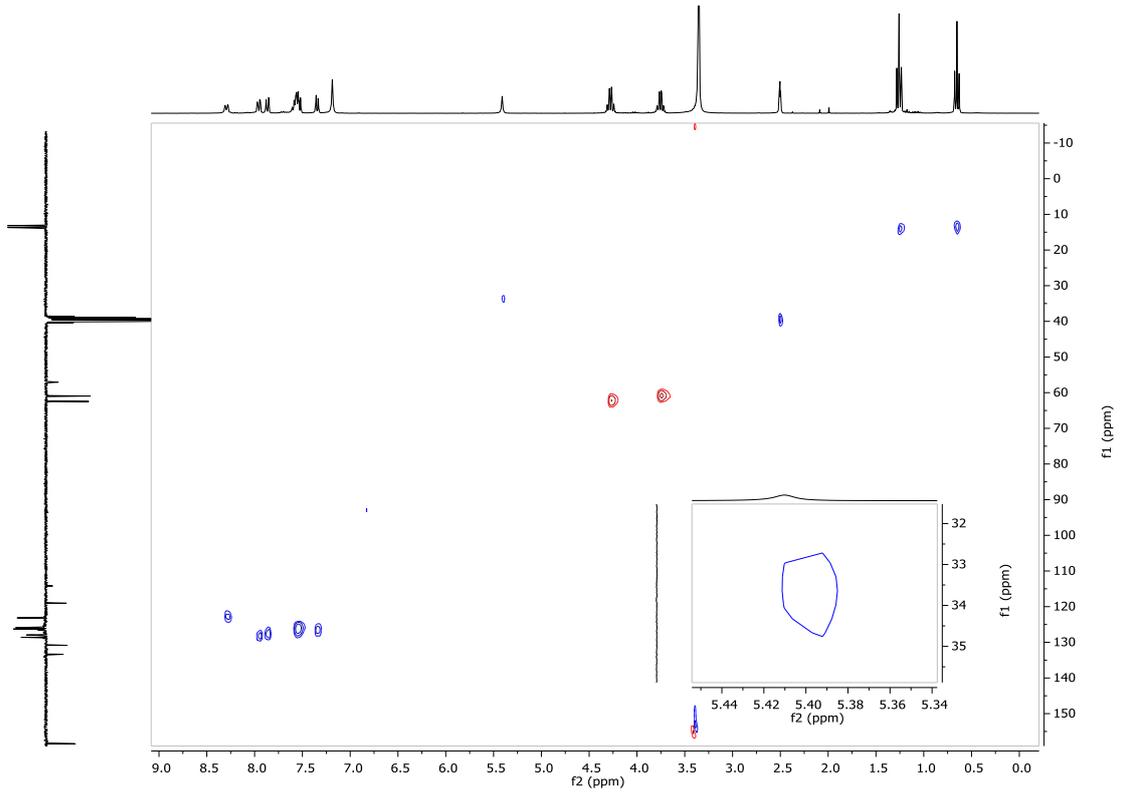


**Figura S3.7.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(4-cianofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29g**)

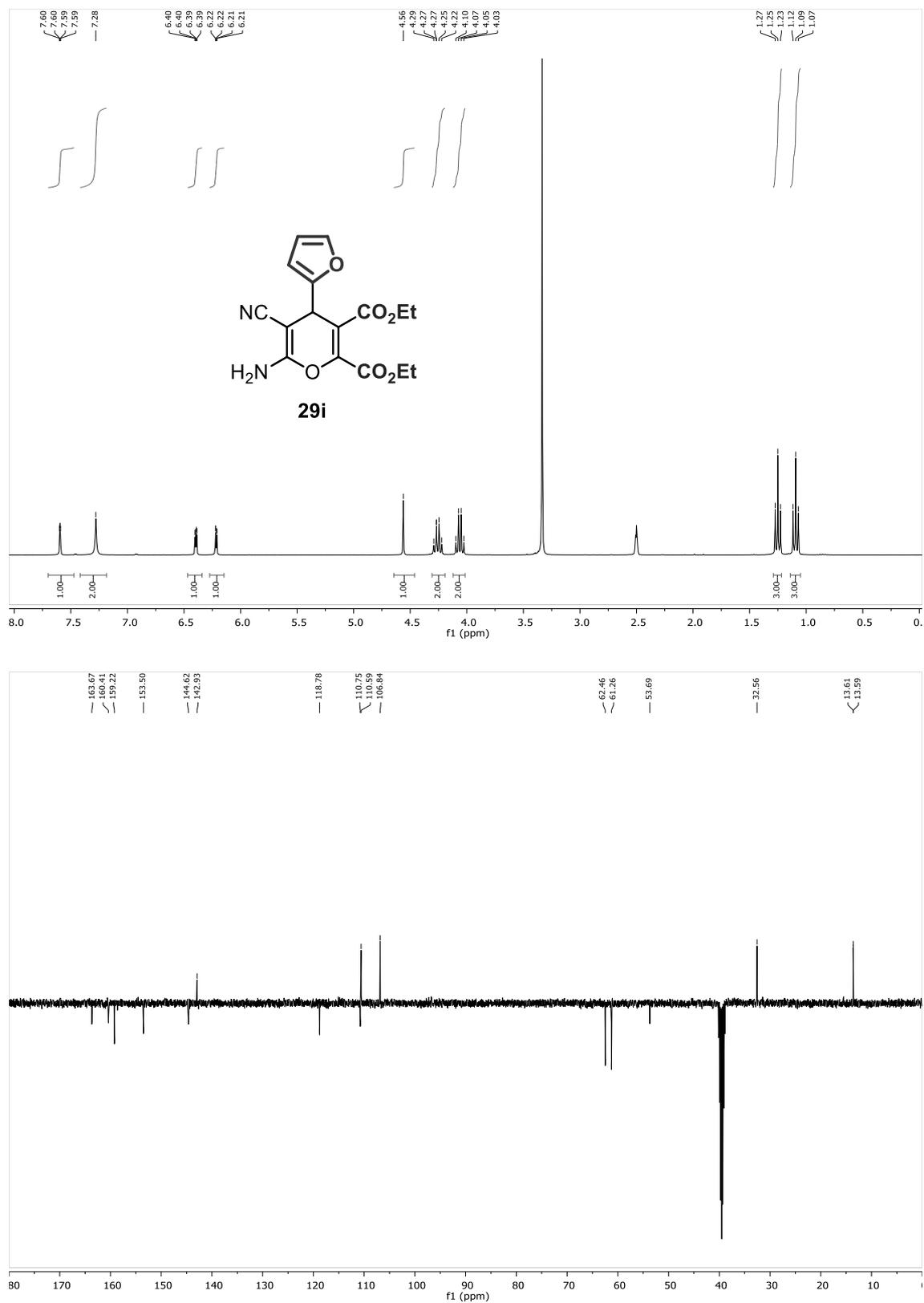


**Figura S3.8.** Espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -APT,  $^{13}\text{C}$ -HSQC,  $^{13}\text{C}$ -HMBC RMN de 6-amino-5-ciano-4-(naftalen-1-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29h**)

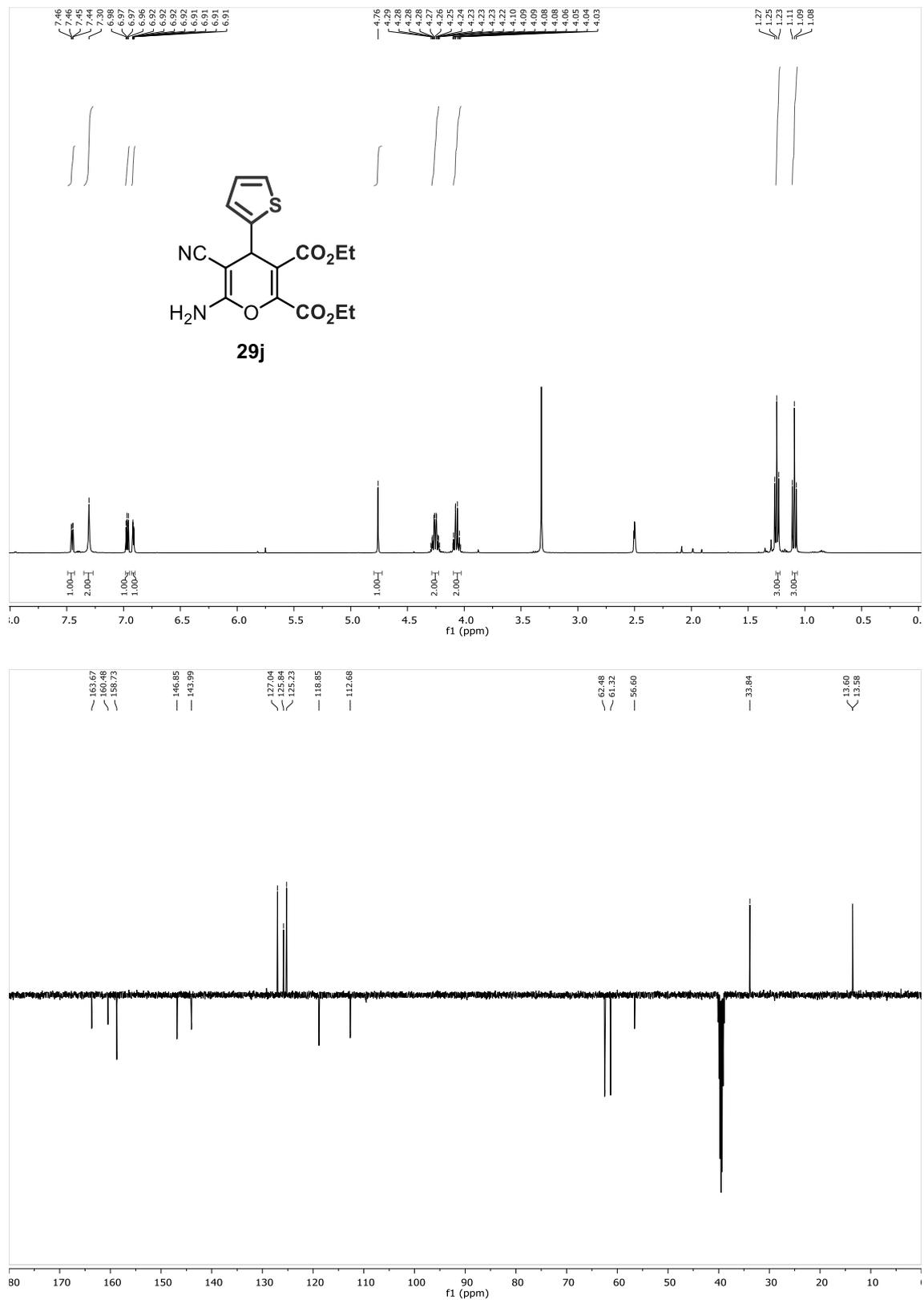




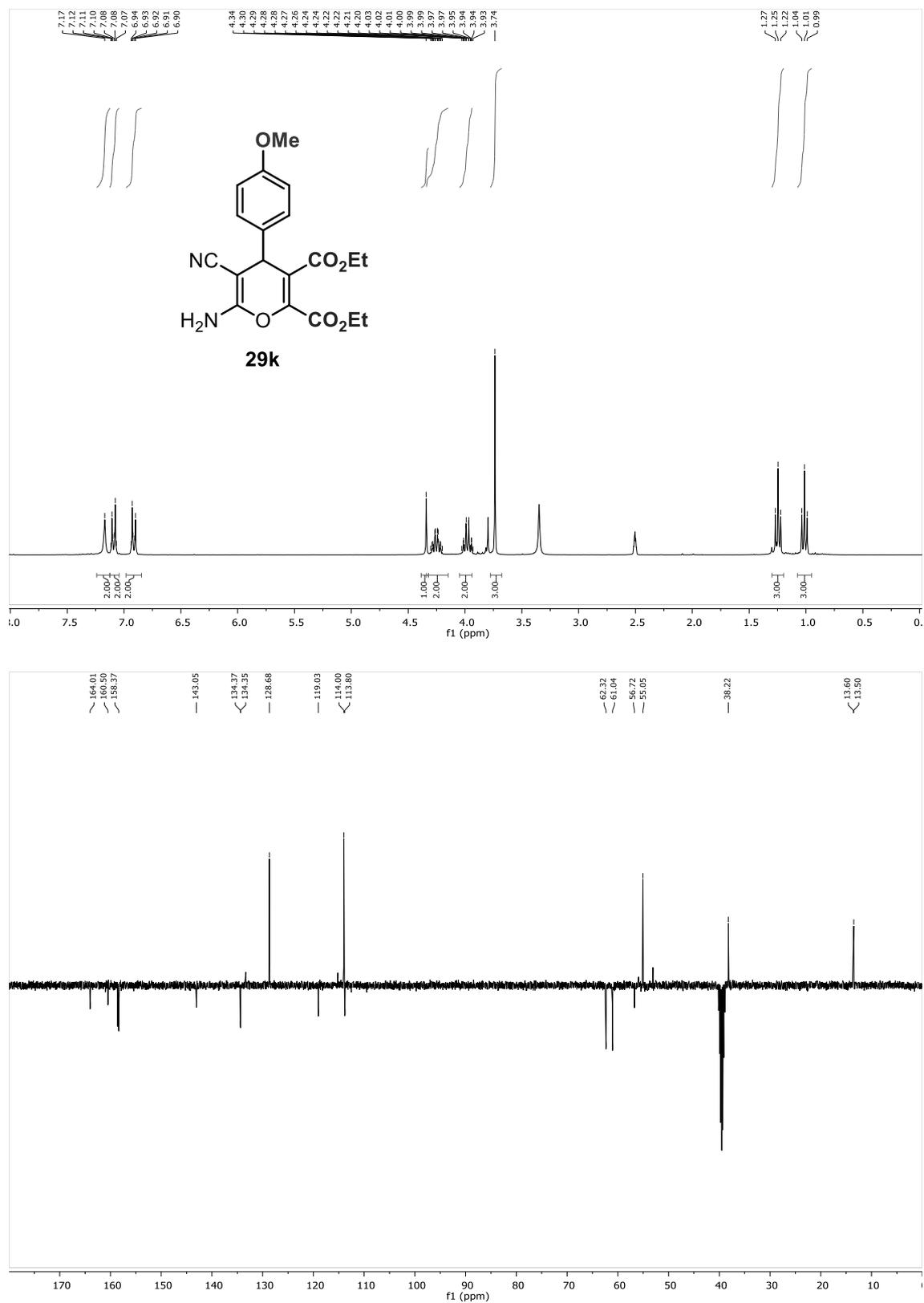
**Figura S3.9.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(furan-2-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29i**)



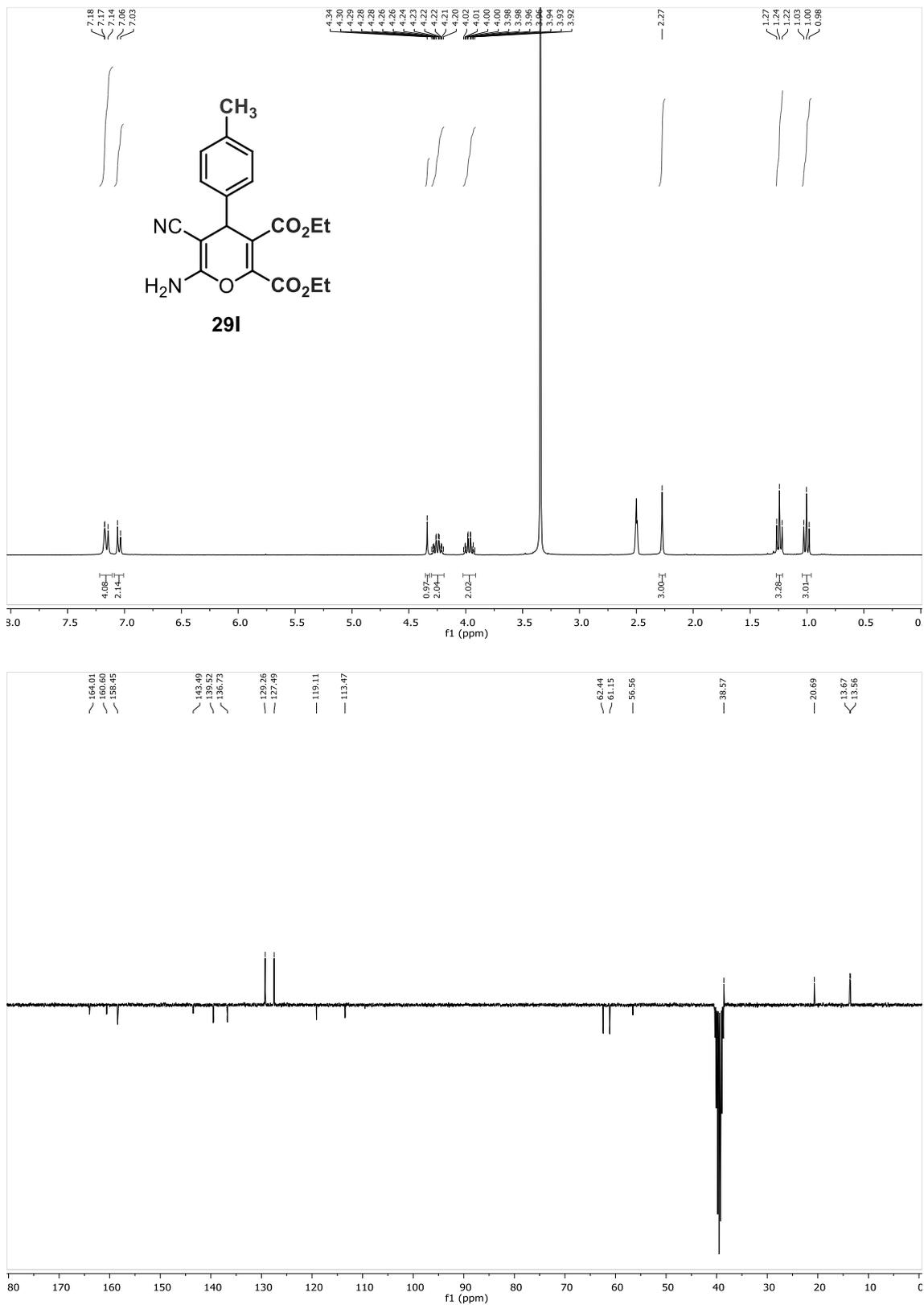
**Figura S3.10.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(tiofen-2-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29j**)



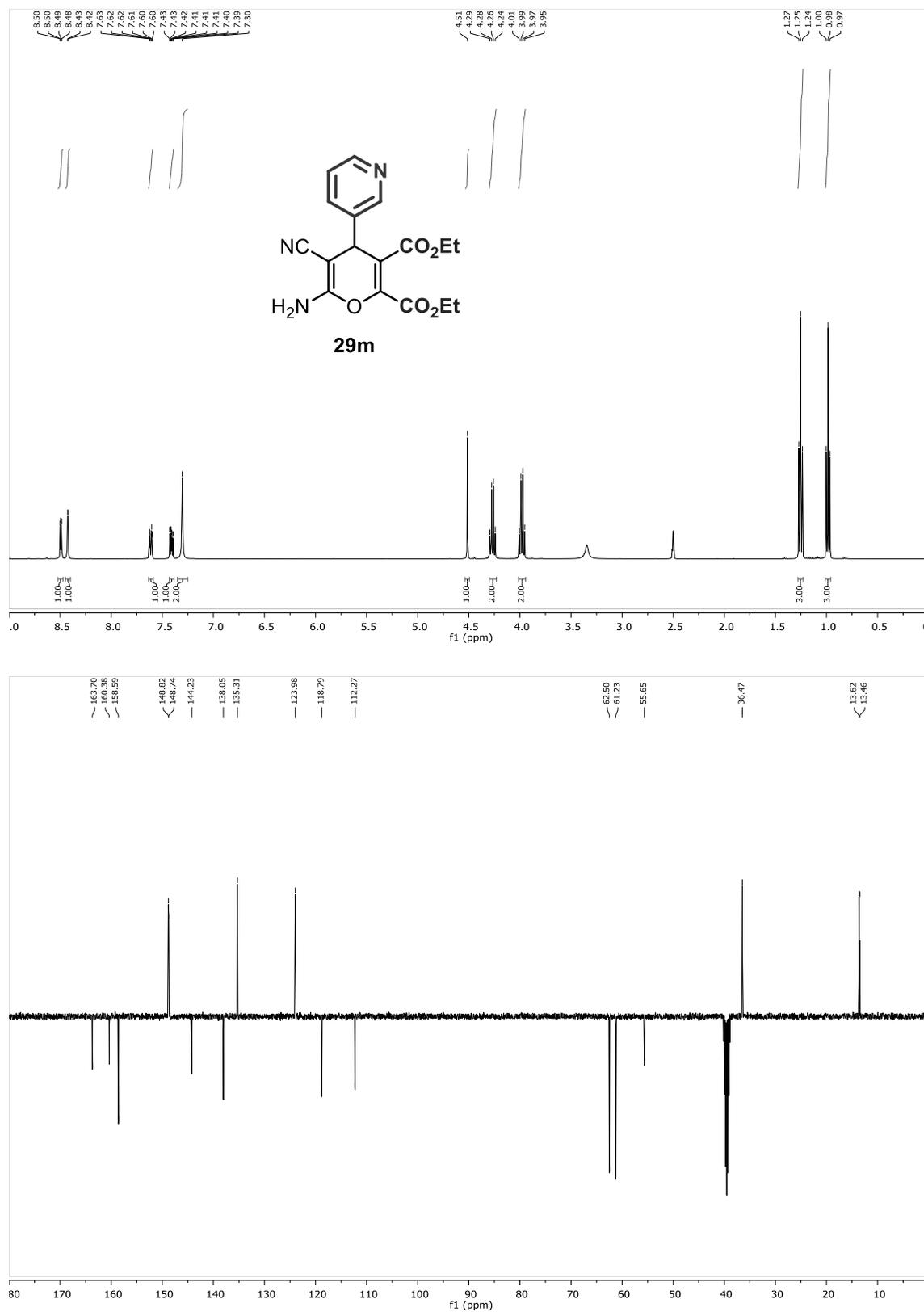
**Figura S3.11.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(4-metoxifenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29k**)



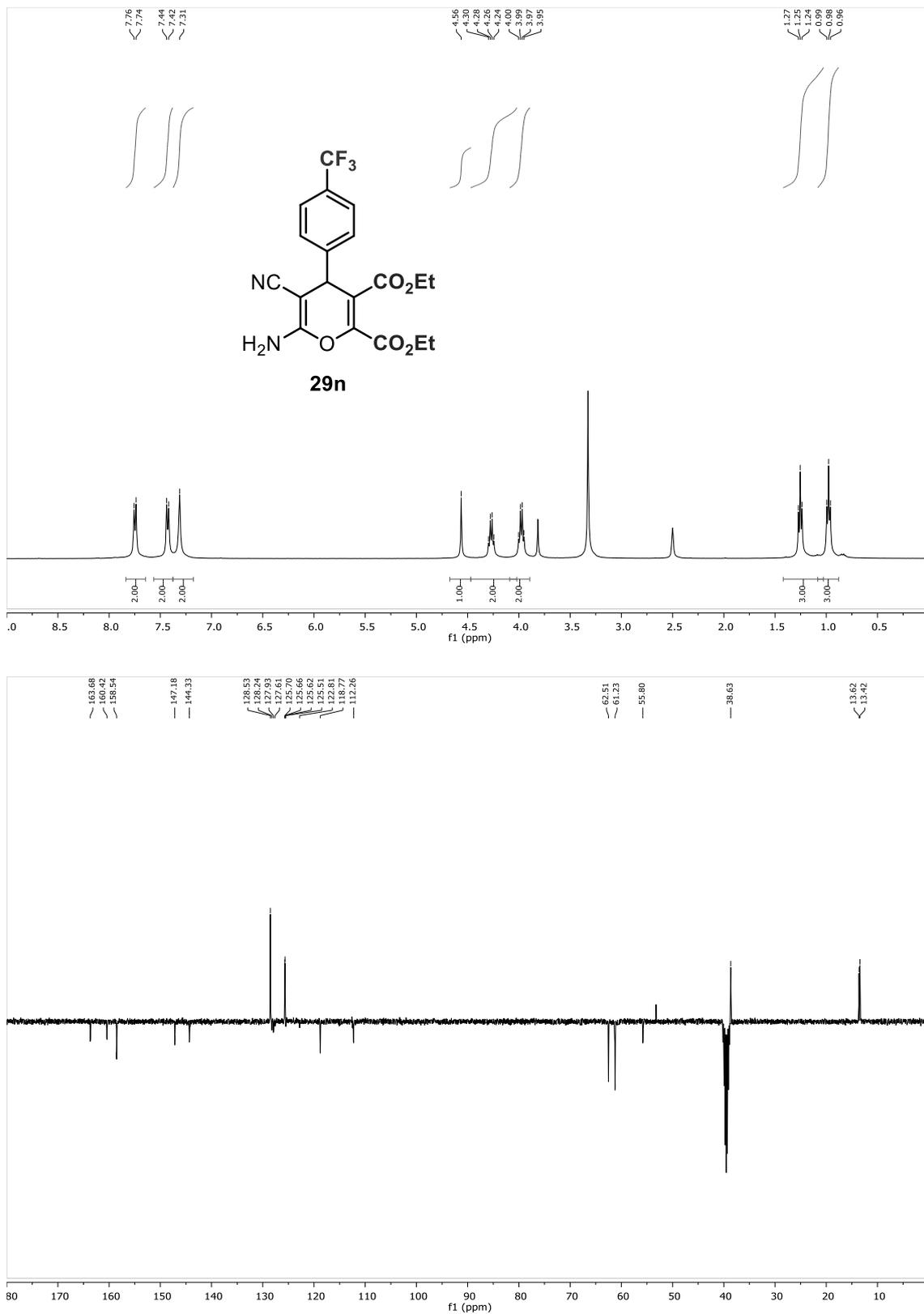
**Figura S3.12.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(p-tolil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29I**)



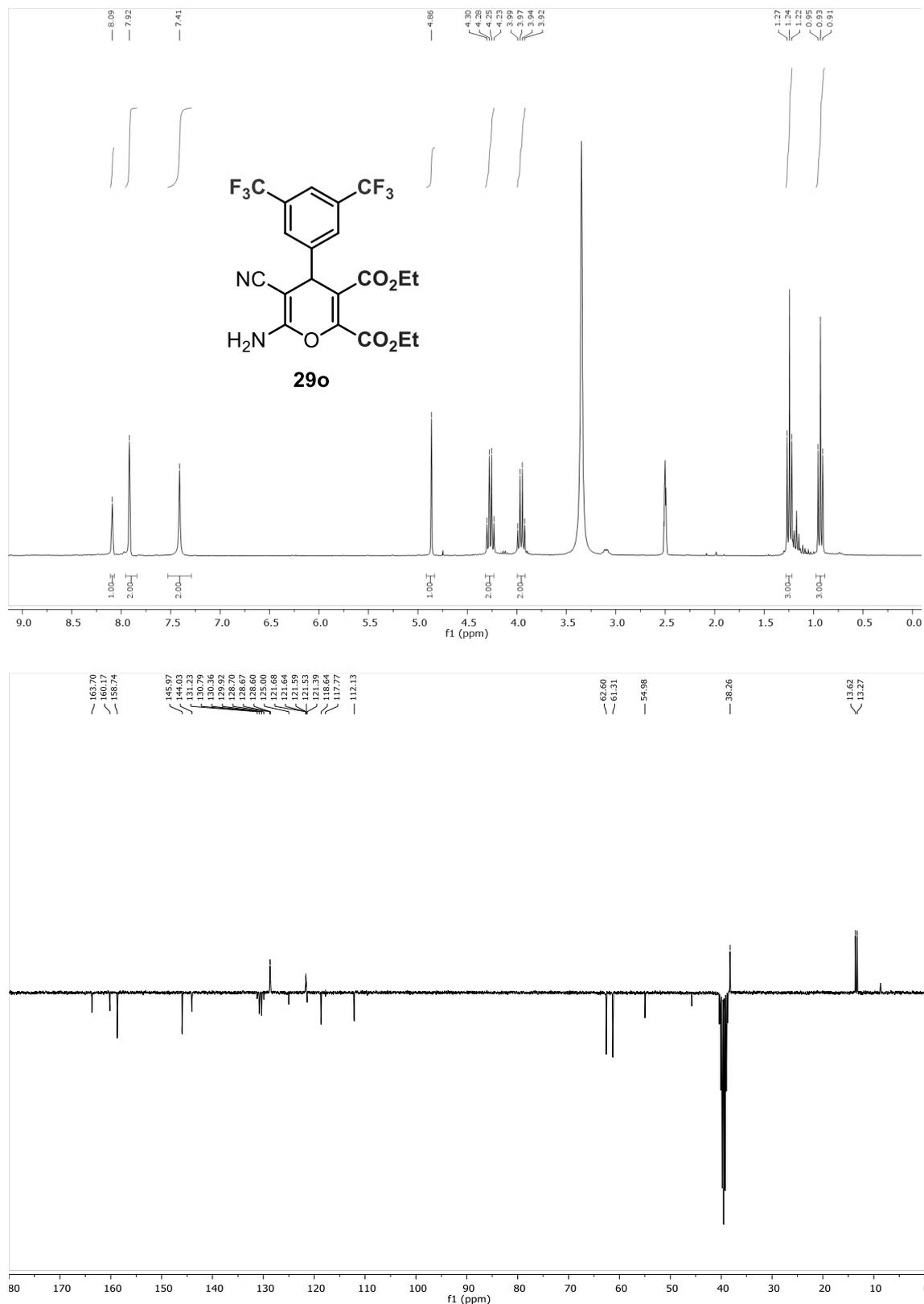
**Figura S3.13.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(piridin-3-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29m**)



**Figura S3.14.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(4-(trifluorometil)fenil)-4*H*-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29n**)



**Figura S3.15.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-4-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29o**)



**Figura S3.16.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 5-acetil-2-amino-6-metil-4-fenil-4*H*-piran-3-carbonitrilo (**30**)

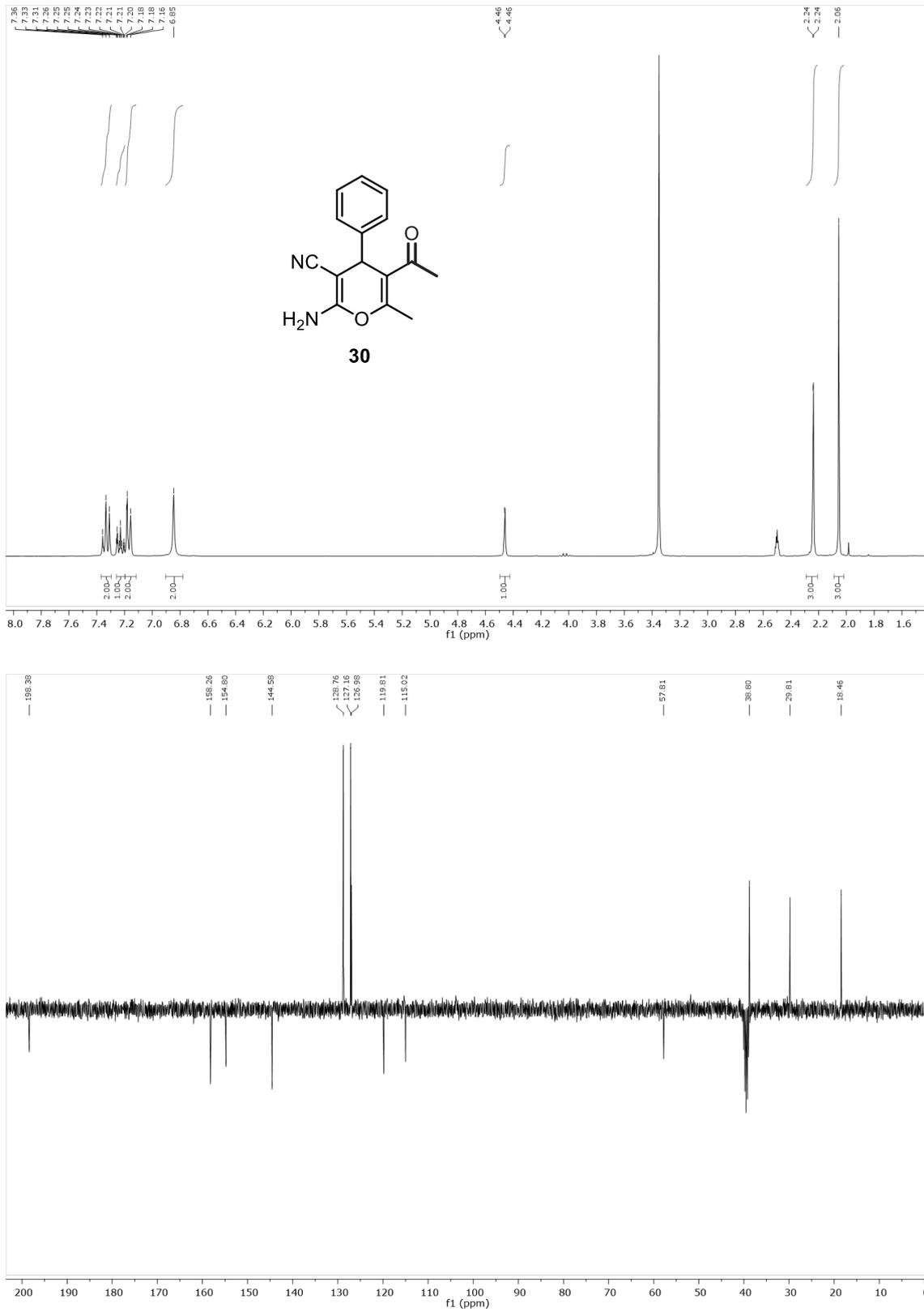
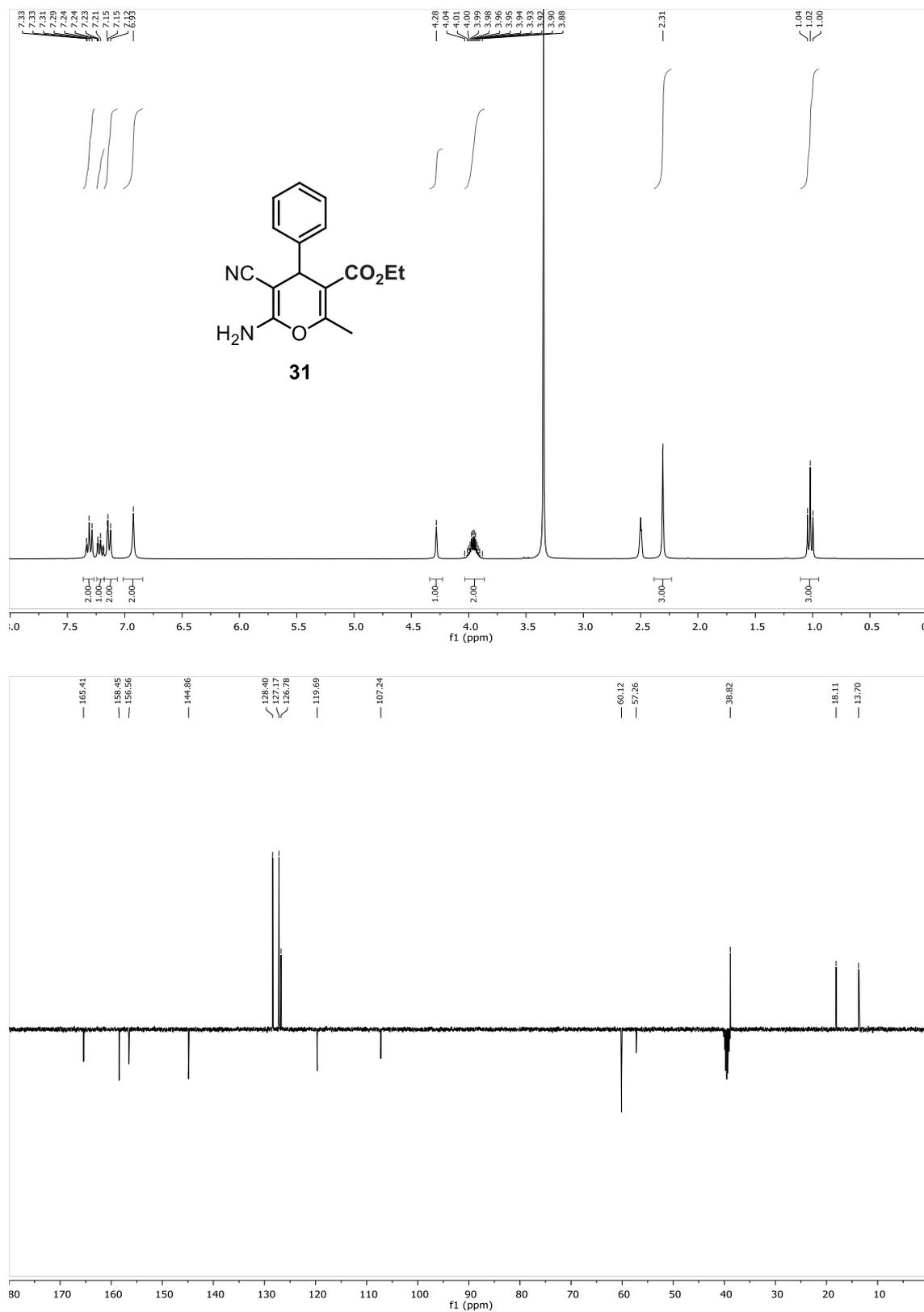
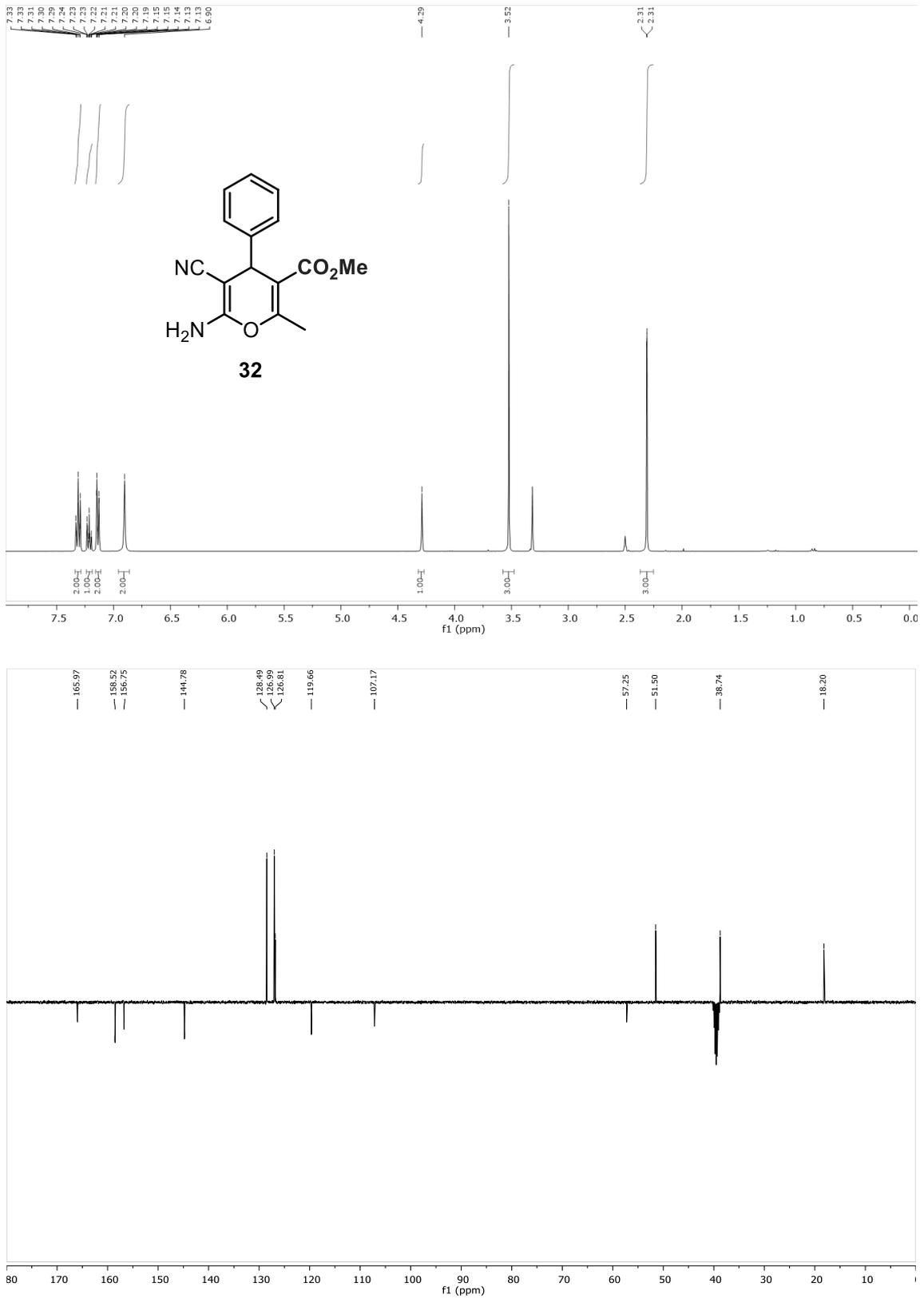


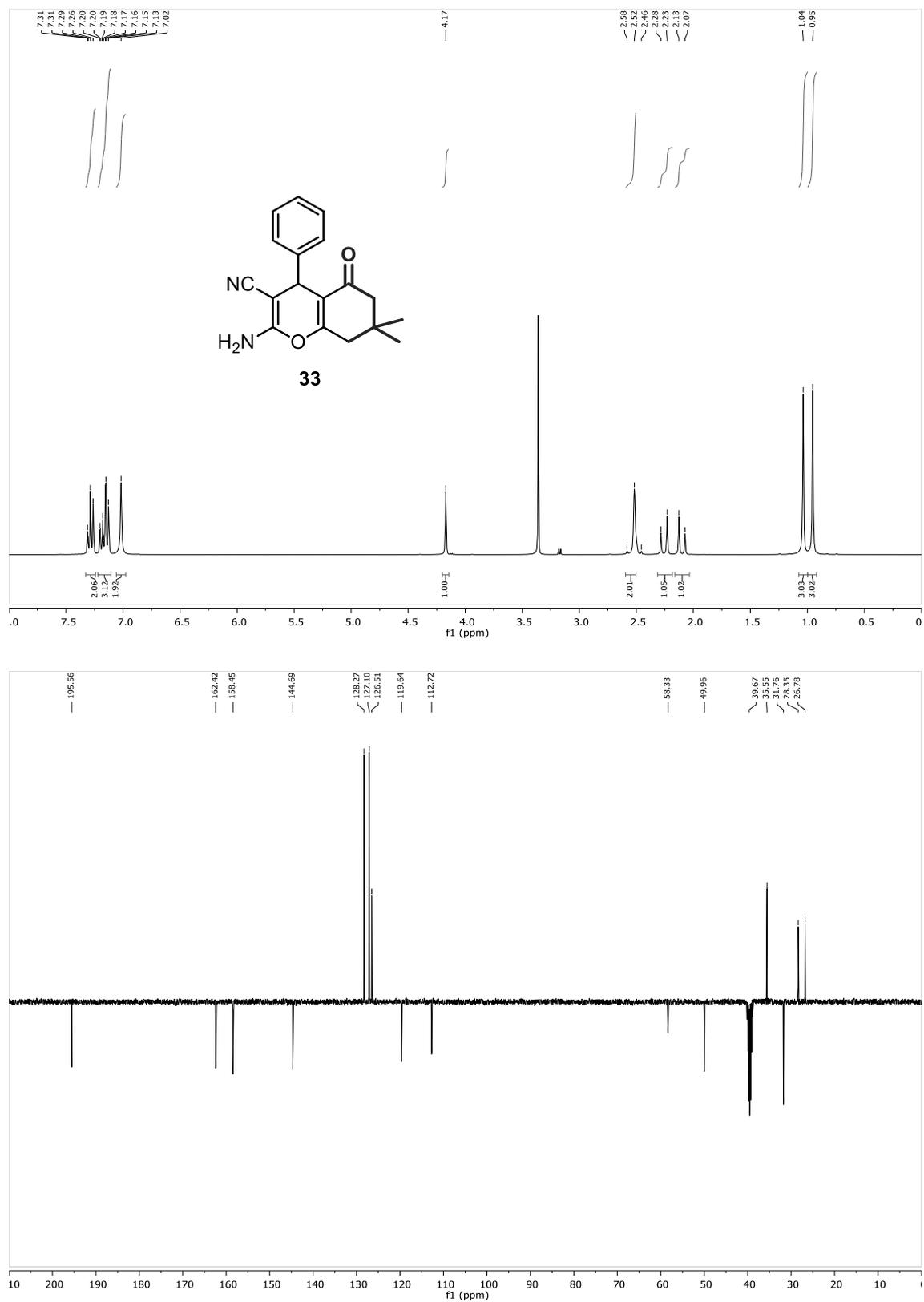
Figura S3.17. Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-2-metil-4-fenil-4H-piran-3-carboxilato (**31**)



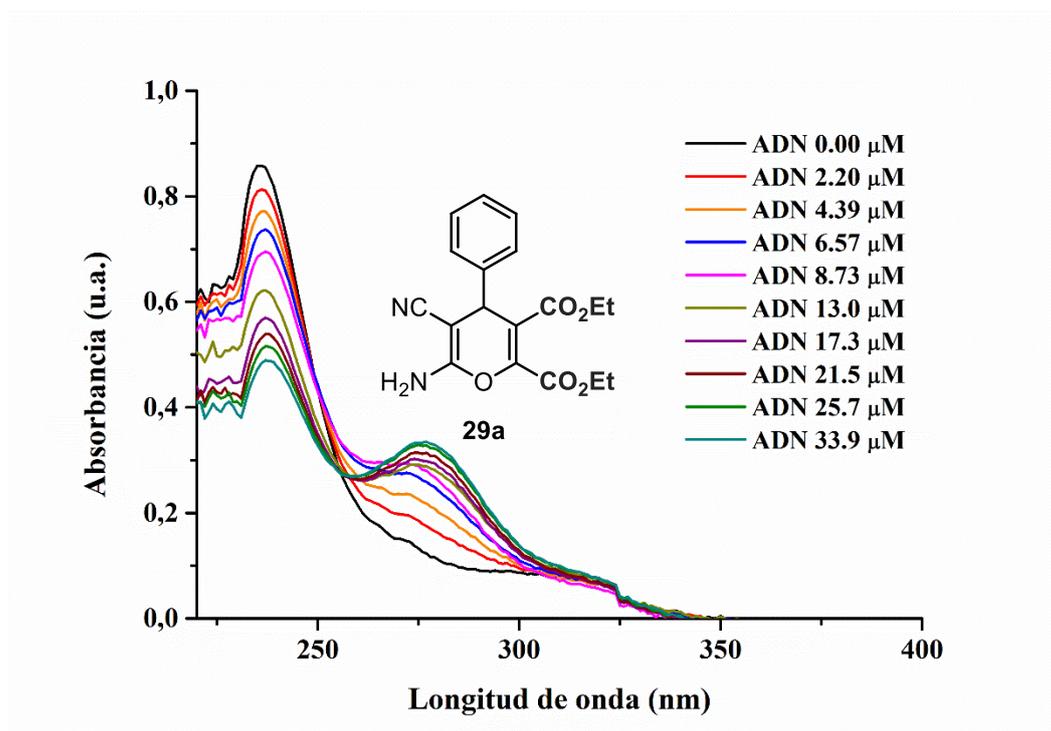
**Figura S3.18.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-2-metil-4-fenil-4*H*-piran-3-carboxilato de metilo (**32**)



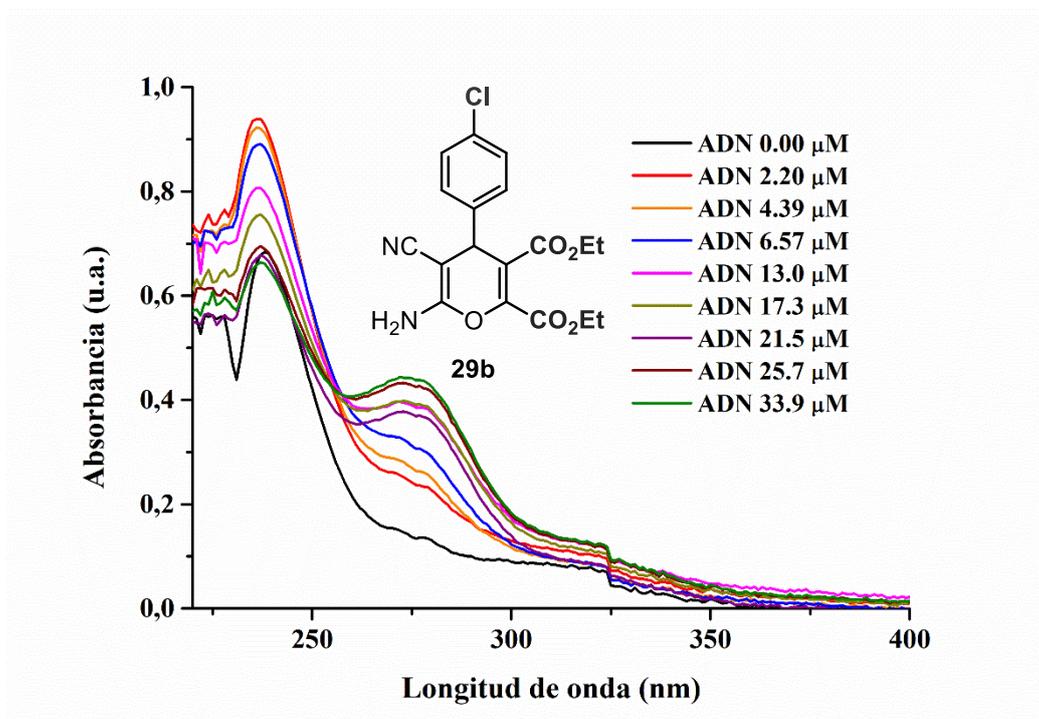
**Figura S3.19.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-fenil-5,6,7,8-tetrahydro-4H-cromeno-3-carbonitrilo (**33**)



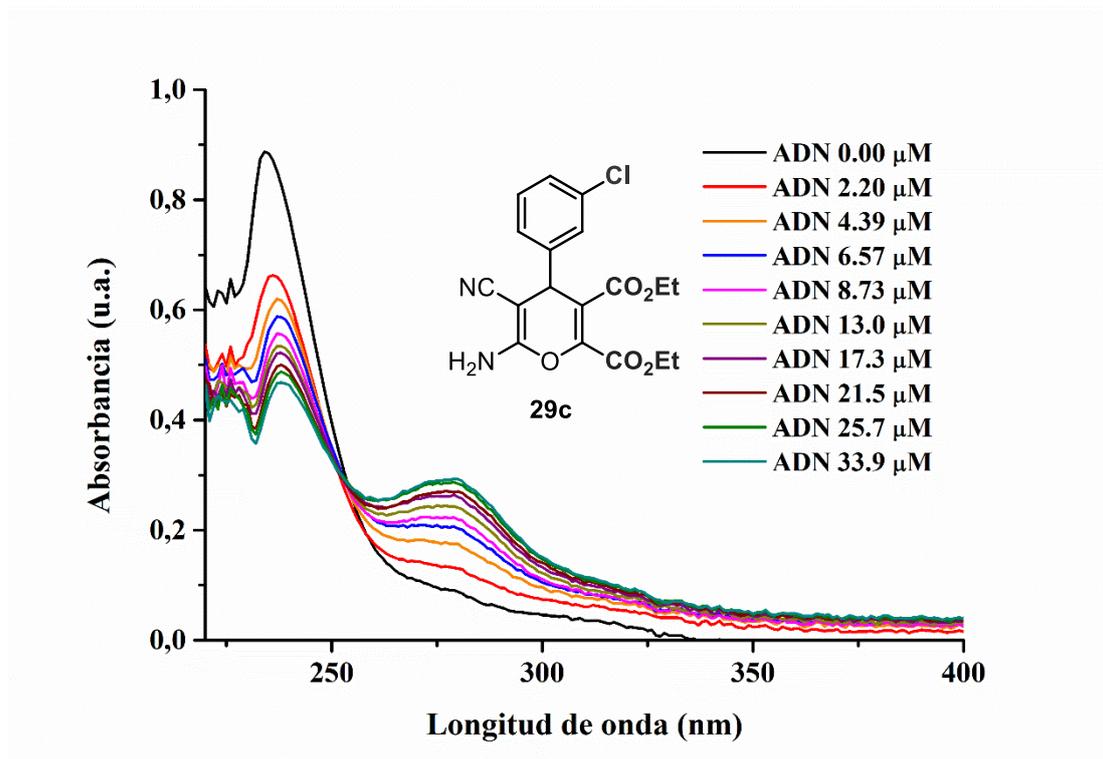
**Espectros de UV-Vis de los compuestos 29a-o, 30-33**



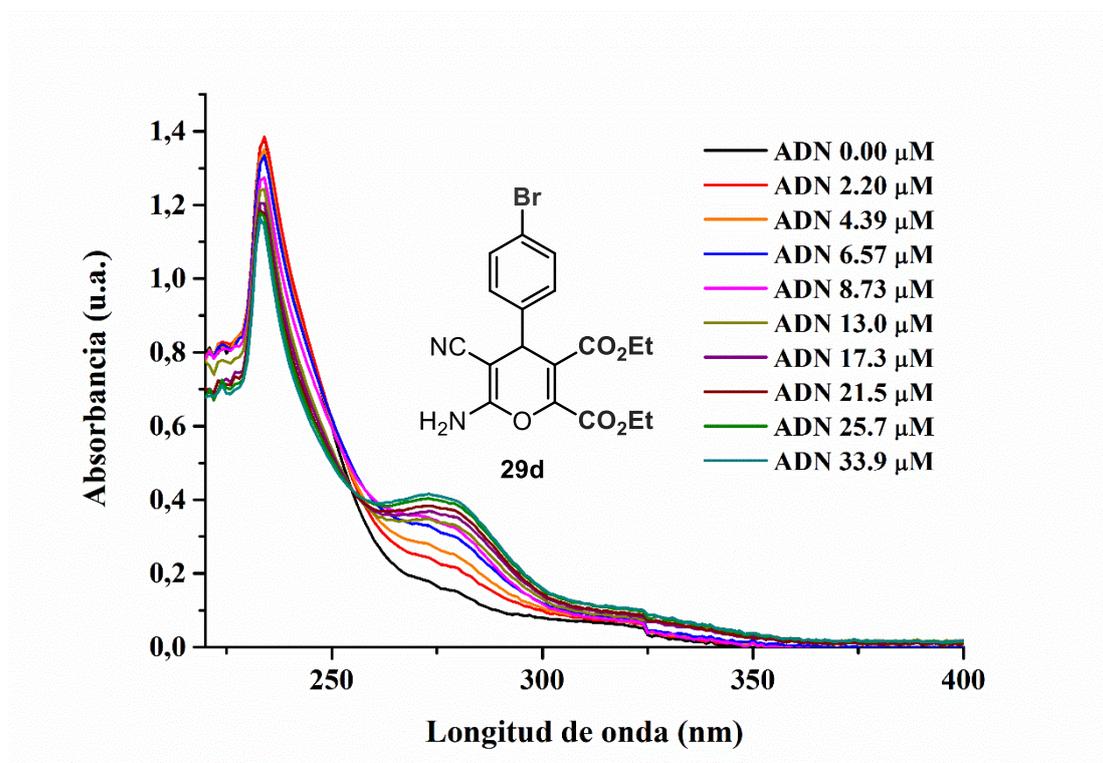
**Figura S3.20.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-fenil-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29a**)



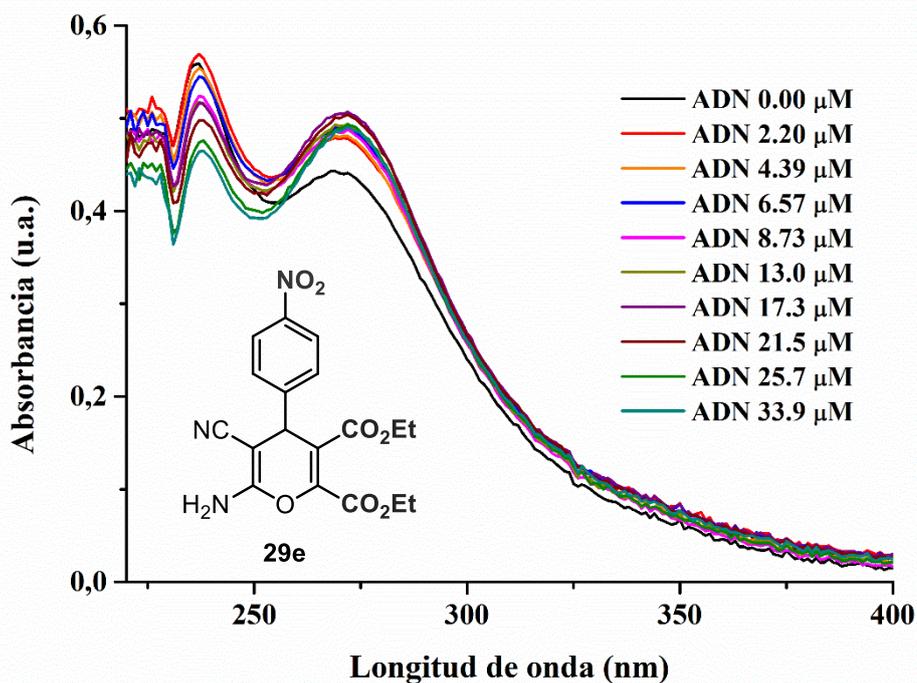
**Figura S3.21.** Experimento de titración de 6-Amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29b**)



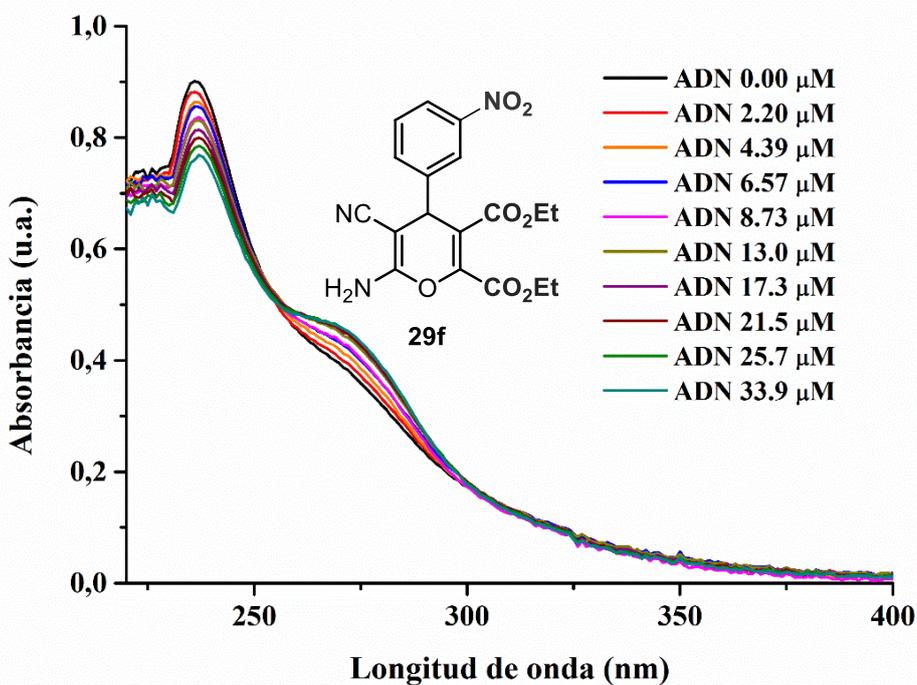
**Figura S3.22.** Experimento de titración de 6-amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29c**)



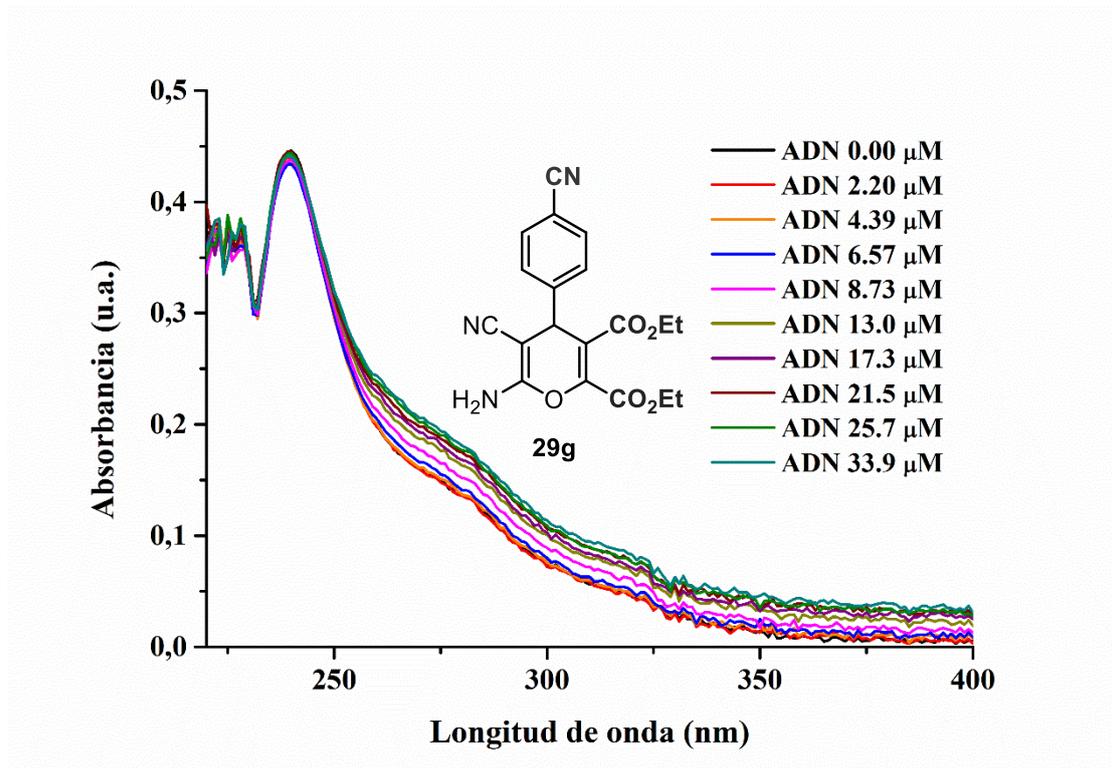
**Figura S3.23.** Experimento de titración de 6-amino-4-(4-bromofenil)-5-ciano-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29d**)



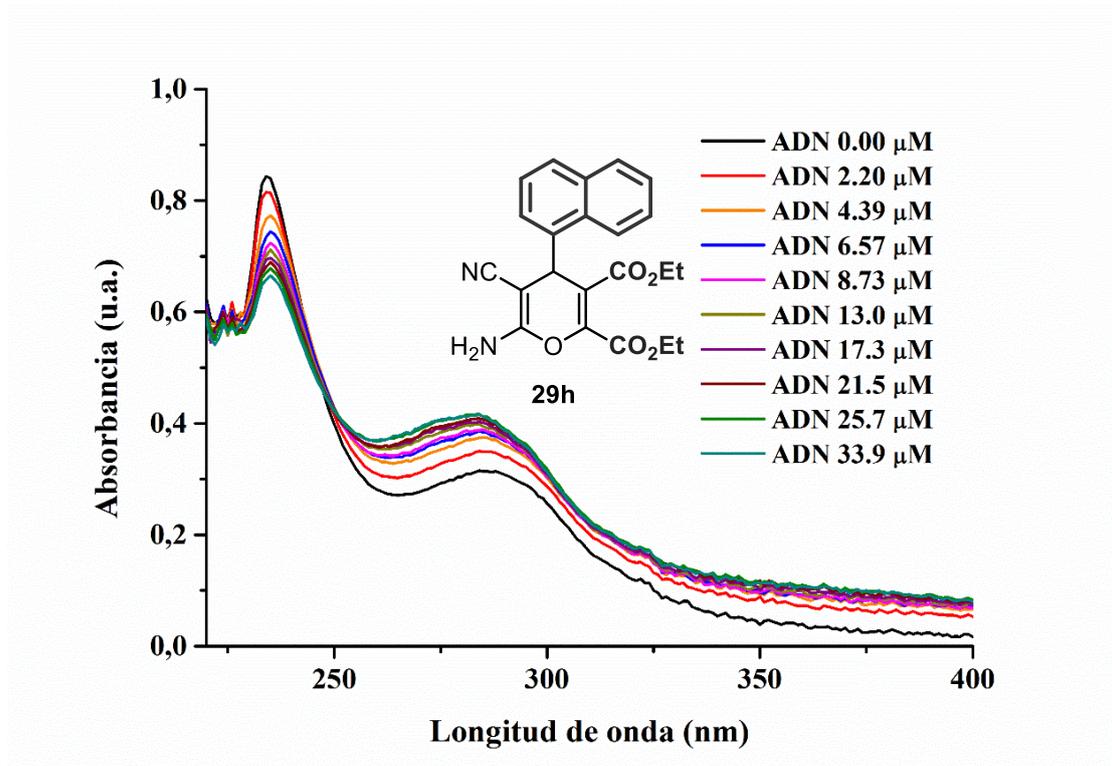
**Figura S3.24.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(4-nitrofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29e**)



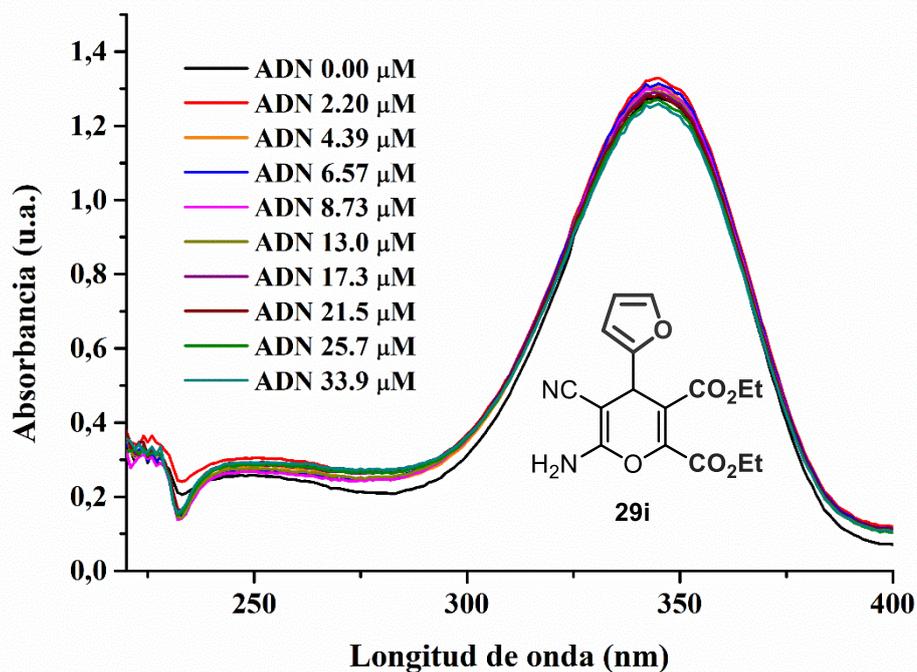
**Figura S3.25.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(3-nitrofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29f**)



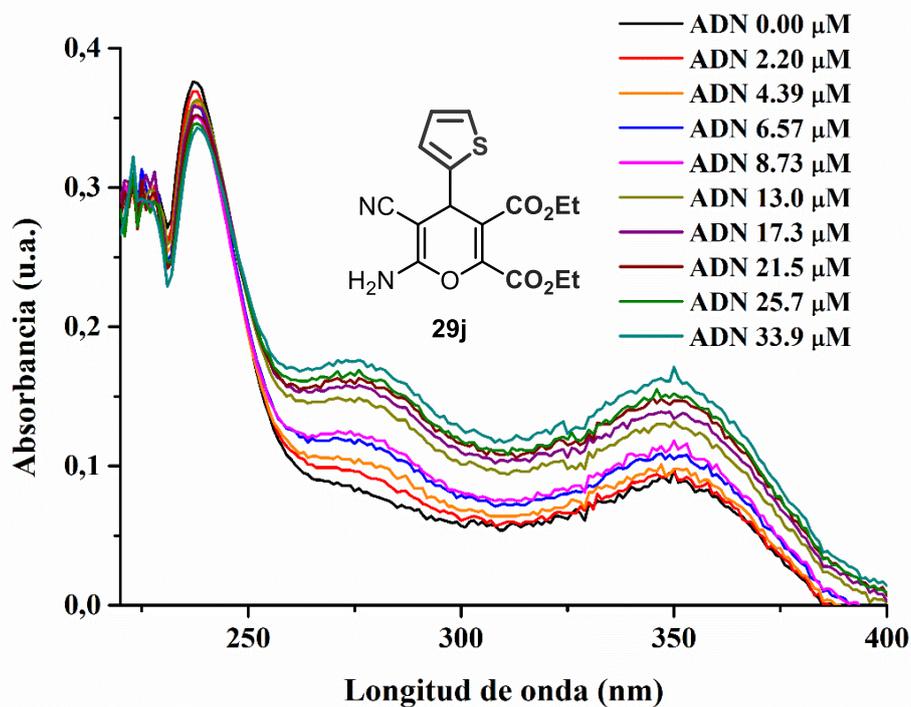
**Figura S3.26.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(4-cianofenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29g**)



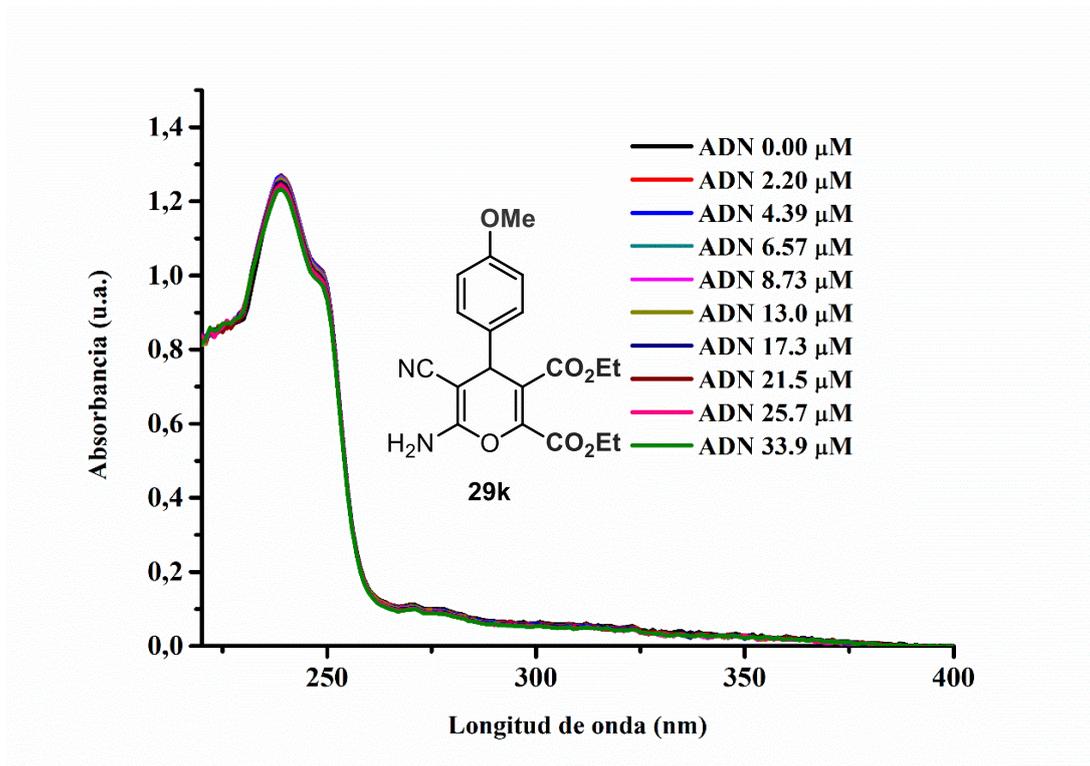
**Figura S3.27.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(naftalen-1-il)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29h**)



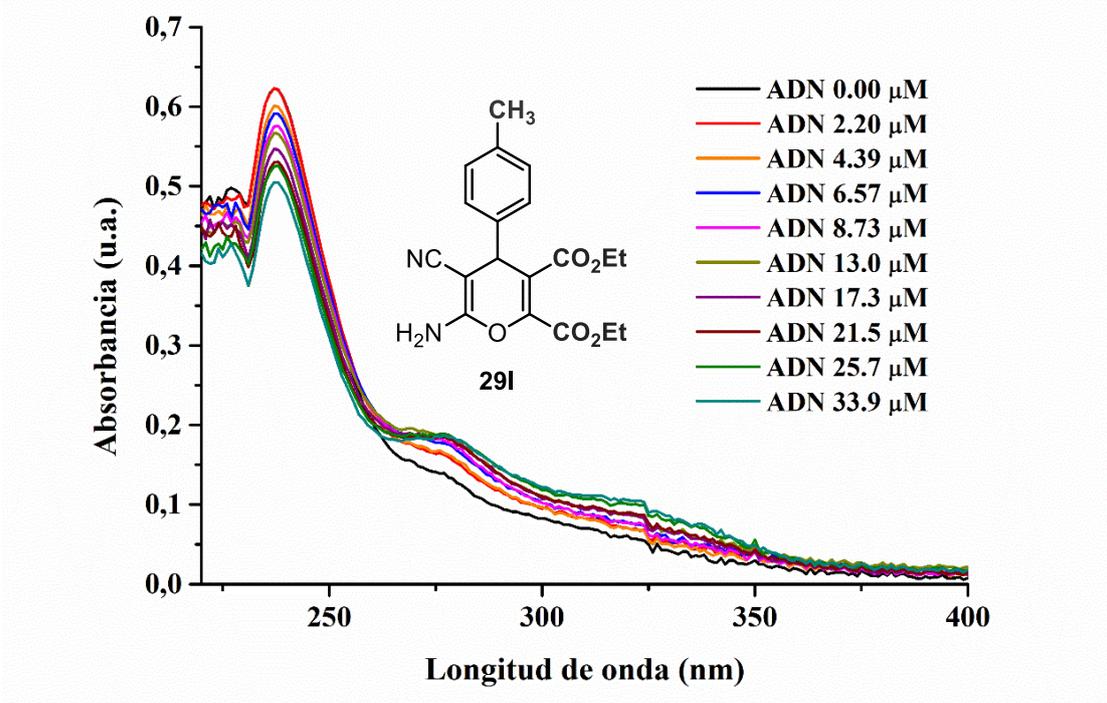
**Figura S3.28.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(furan-2-il)-4*H*-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29i**)



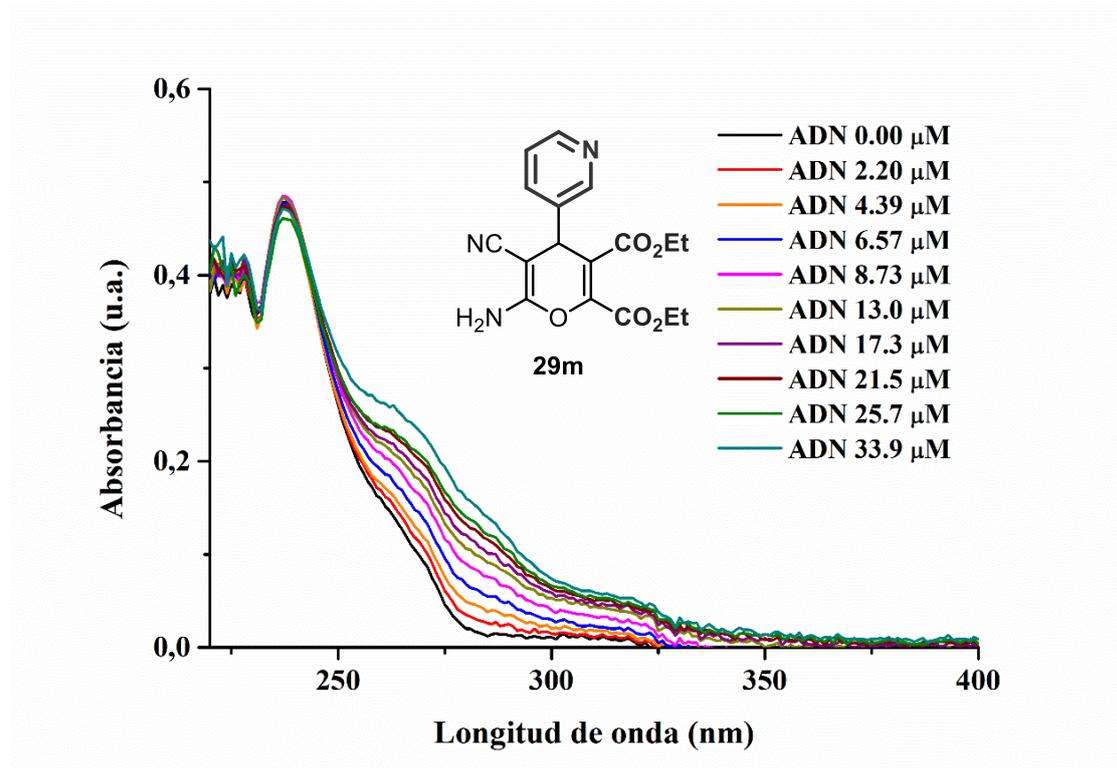
**Figura S3.29.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(tiofen-2-il)-4*H*-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29j**)



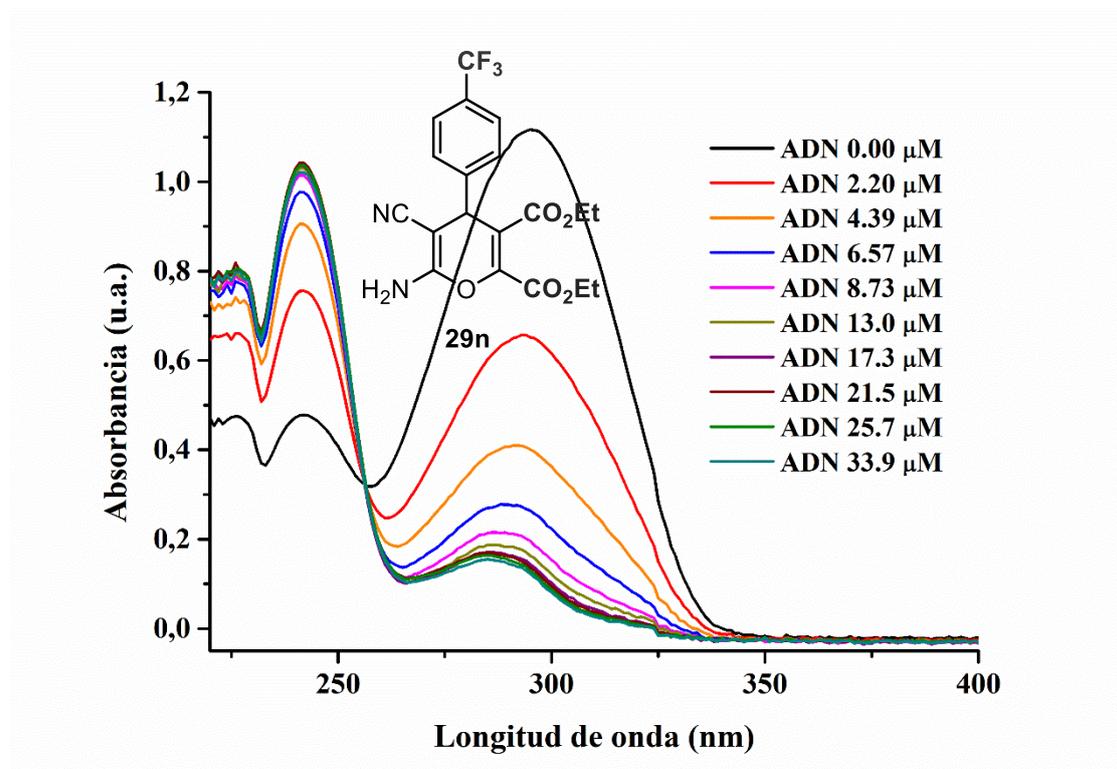
**Figura S3.30.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(4-metoxifenil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29k**)



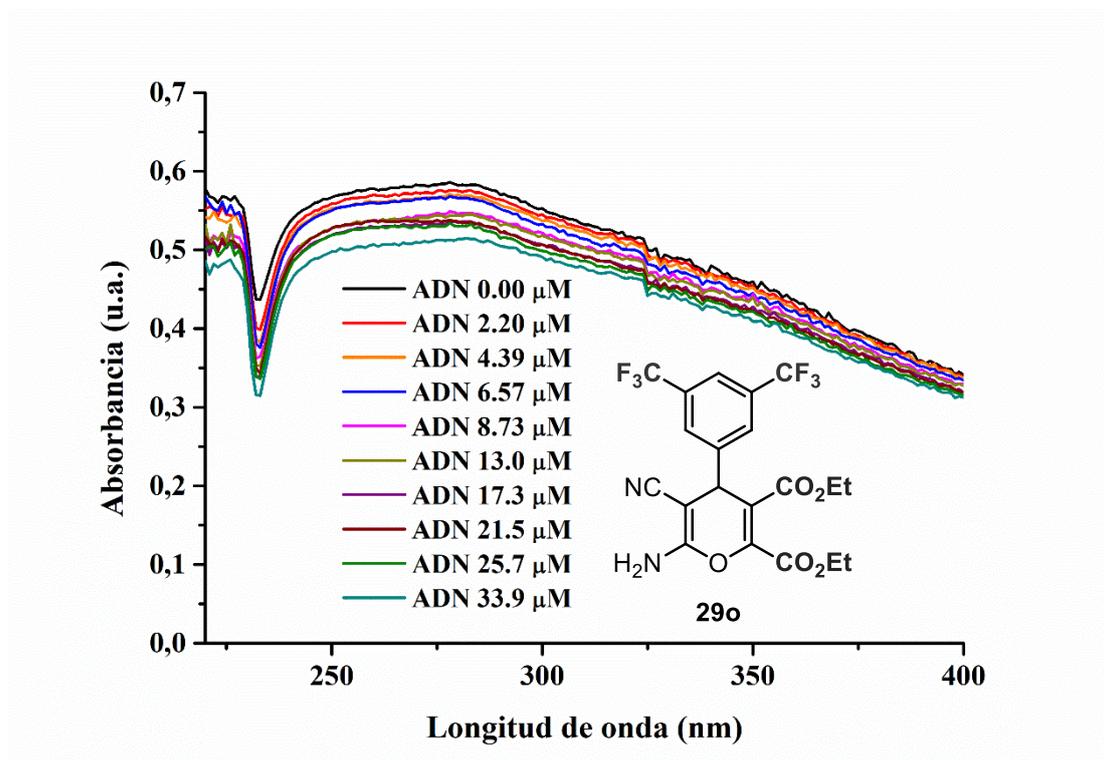
**Figura S3.31.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(p-tolil)-4H-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29l**)



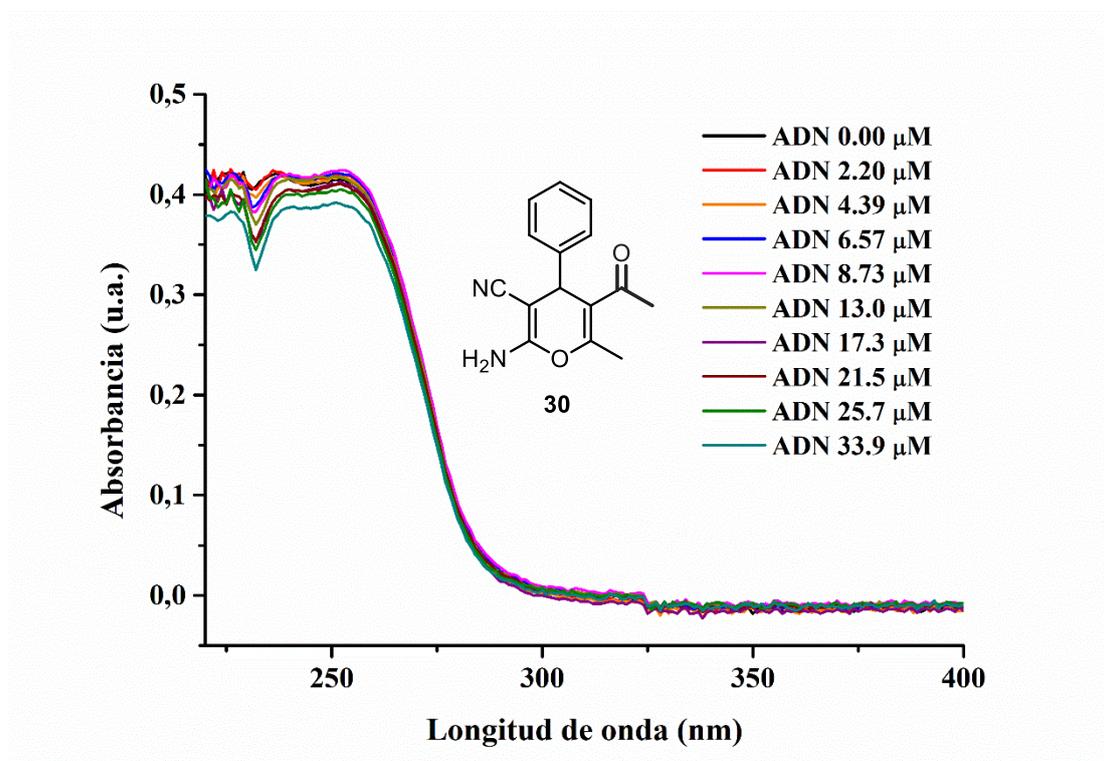
**Figura S3.32.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-4-(piridin-3-il)-4*H*-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29m**)



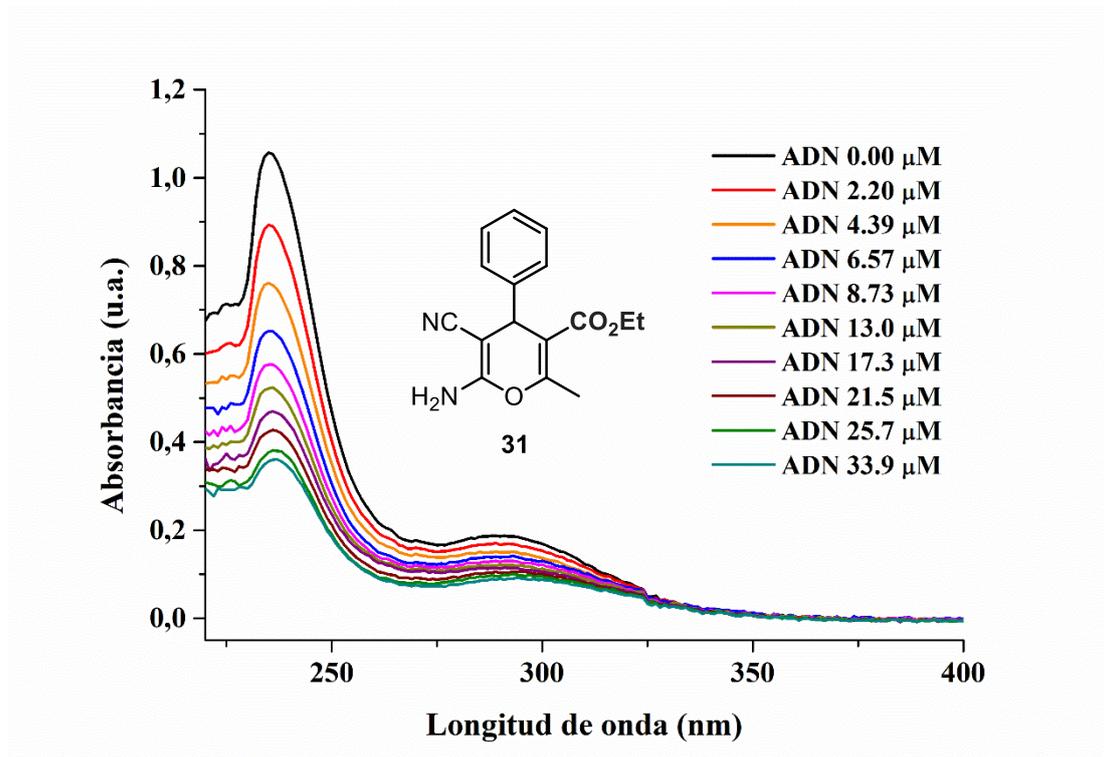
**Figura S3.33.** Experimento de titración de 6-Amino-5-ciano-4-(4-(trifluorometil)fenil)-4*H*-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29n**)



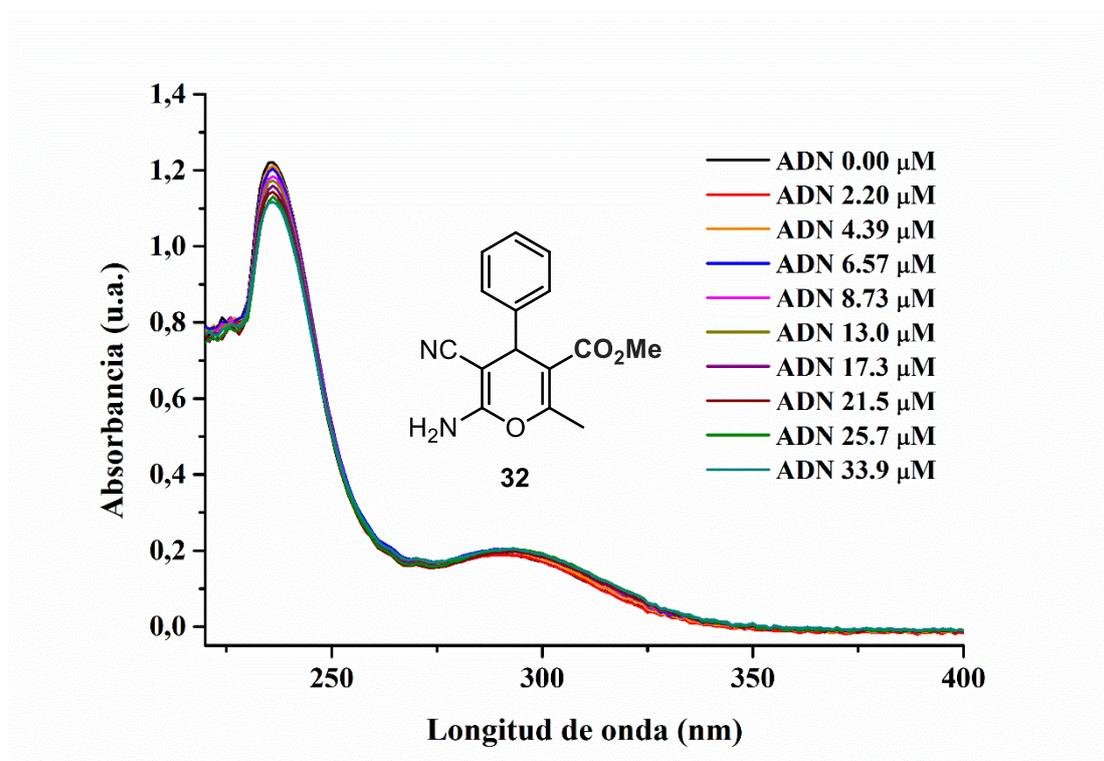
**Figura S3.34.** Experimento de titración de 6-amino-4-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-5-ciano-4*H*-pirano-2,3-dicarboxilato de dietilo (**29o**)



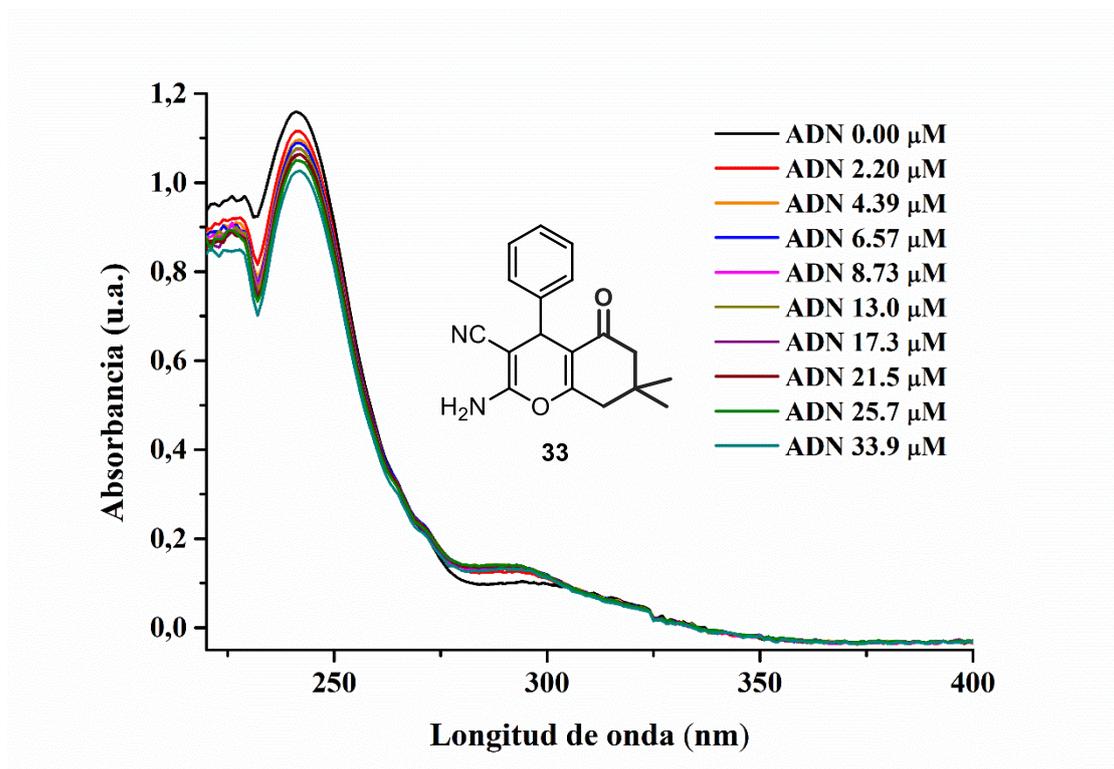
**Figura S3.35.** Experimento de titración de 5-acetil-2-amino-6-metil-4-fenil-4*H*-piran-3-carbonitrilo (**30**)



**Figura S3.36.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-2-metil-4-fenil-4*H*-piran-3-carboxilato de etilo (**31**)



**Figura S3.37.** Experimento de titración de 6-amino-5-ciano-2-metil-4-fenil-4*H*-piran-3-carboxilato de metilo (**32**)



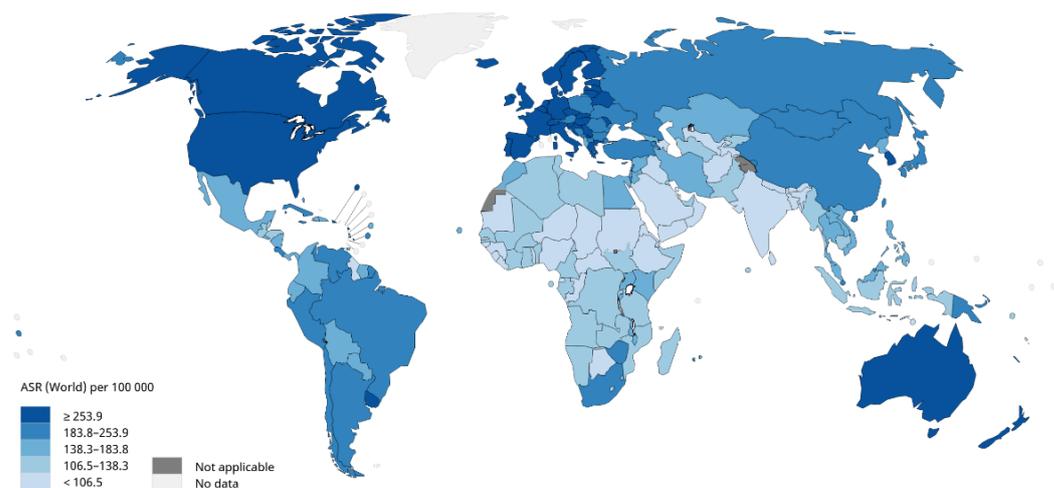
**Figura S3.38.** Experimento de titración de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 2-amino-7,7-dimetil-5-oxo-4-fenil-5,6,7,8-tetrahidro-4H-cromeno-3-carbonitrilo (**33**)

# 4

## 1,4-DIHDROPIRIDINAS Y SUS DERIVADOS UREA COMO AGENTES TERAGNÓSTICOS<sup>180</sup>

### 4.1 Introducción

El cáncer es la segunda causa de muerte en el mundo y representa uno de los mayores problemas sanitarios para la humanidad, lo que reclama una constante investigación y una enorme inversión de recursos en busca de una solución.<sup>181</sup> La enfermedad etiquetada como cáncer es, en realidad, un conjunto de enfermedades de diferente índole que presentan un punto clave en común, como es el crecimiento desmedido de tejido debido a una mutación genética. La incidencia de la enfermedad es más pronunciada en los países desarrollados, como se muestra en la Figura 4.1.



**Figura 4.1.** Incidencia estimada estandarizada por edad (ASR: *Age-Standardized Rate*) en 2018. Para todos los tipos de cáncer y toda la población.<sup>182</sup>

<sup>180</sup> F. Auria-Luna, E. Marqués-López, E. Romanos, V. Fernández-Moreira, M. C. Gimeno, I. Marzo, R. P. Herrera, *Bioorg. Chem.* **2020**, DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.104364..

<sup>181</sup> Página web de la Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer> (Acceso: 20 abril 2020).

<sup>182</sup> *International Agency for Research on Cancer*. Imagen extraída de <http://www.gco.iarc.fr/today> (Acceso: 20 abril 2020).

Los tipos de cáncer más comunes son: mama, pulmón, próstata, melanoma, endometrio o leucemia entre otros.<sup>183</sup> Sin embargo, el número de muertes ha ido disminuyendo poco a poco gracias a los nuevos tratamientos y la mejora en el estilo de vida de la población.<sup>184</sup>

Los tratamientos generales más comunes son la cirugía, la radioterapia, la quimioterapia, la inmunoterapia o una serie de combinaciones de estos. El reto en este punto es encontrar tratamientos cada vez más efectivos y menos invasivos. En cuanto a la quimioterapia, muchos de los fármacos utilizados no son totalmente efectivos y causan efectos secundarios de gran magnitud en el paciente. Por esto, los investigadores siguen centrados en el desarrollo de potenciales candidatos que puedan bloquear o retrasar el crecimiento de las células tumorales, reduciendo los efectos adversos para mejorar la calidad de vida de los pacientes y darles una mayor probabilidad de supervivencia. Los avances que comenzaron en la década de los 80 con el uso del cisplatino han provocado que el uso de los compuestos de coordinación tome la delantera en la lucha contra esta enfermedad,<sup>185</sup> aunque también se han explorado muchas moléculas orgánicas.<sup>186</sup>

Además del tratamiento, diagnóstico temprano implica un aumento considerable de las posibilidades de supervivencia del paciente. El seguimiento del cáncer consta de dos partes; en la primera encontramos el descubrimiento de la enfermedad que puede darse por la aparición de sintomatología física, desequilibrios bioquímicos o la aparición de lesiones cancerosas visibles. Una vez se ha localizado una anomalía, se ha de diagnosticar correctamente como un cáncer y caracterizar sus particularidades y estadio.

---

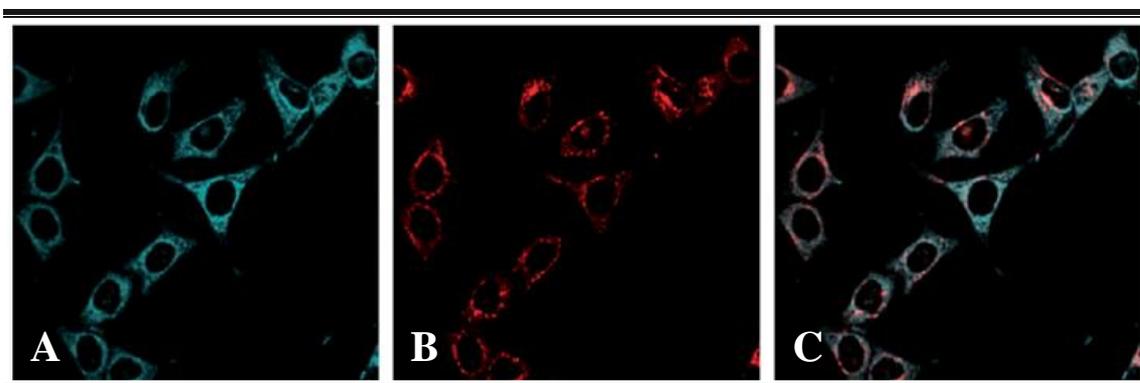
<sup>183</sup> Página web del *National Cancer Institute*: <https://www.cancer.gov> (Acceso: 20 Abril 2020).

<sup>184</sup> S. J. Henley, E. M. Ward, S. Scott, J. Ma, R. N. Anderson, A. U. Firth, C. C. Thomas, F. Islami, H. K. Weir, D. R. Lewis, R. L. Sherman, M. Wu, V. B. Benard, L. C. Richardson, A. Jemal, K. Cronin, B. A. Kohler, *Cancer* **2020**, *126*, 2225-2249.

<sup>185</sup> Para revisiones bibliográficas, ver: a) C. Orvig, M. J. Abrams, *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2201-2204; b) K. H. Thompson, C. Orvig, *Dalton Trans.* **2006**, 761-764; c) Y. W. Jung, S. J. Lippard, *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 1387-1407; d) F. Arnesano, G. Natile, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *253*, 2070-2081; e) C. Santini, M. Pellei, V. Gandin, M. Porchia, F. Tisato, C. Marzano, *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 815-862. Para ejemplos seleccionados del grupo de la Prof. Gimeno y del nuestro, ver: f) H. Goitia, Y. Nieto, M. D. Villacampa, C. Casper, A. Laguna, M. C. Gimeno, *Organometallics* **2013**, *32*, 6069-6078; g) L. Ortego, A. Laguna, J. Gonzalo-Asensio, M. D. Villacampa, M. C. Gimeno, *J. Inorg. Biochem.* **2015**, *146*, 19-27; h) A. Gutiérrez, I. Marzo, C. Cativiela, A. Laguna, M. C. Gimeno, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 11088-11095; i) S. Montanel-Pérez, R. P. Herrera, A. Laguna, M. D. Villacampa, M. C. Gimeno, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 9052-9062; j) L. Ortego, M. Meireles, C. Kasper, A. Laguna, M. D. Villacampa, M. C. Gimeno, *J. Inorg. Biochem.* **2016**, *156*, 133-144; k) D. Salvador-Gil, L. Ortego, R. P. Herrera, I. Marzo, M. C. Gimeno, *Dalton Trans.* **2017**, *46*, 13745-13755; l) V. Fernández-Moreira, C. Val-Campillo, I. Ospino, R. P. Herrera, I. Marzo, A. Laguna, M. C. Gimeno, *Dalton Trans.* **2019**, *48*, 3098-3108.

<sup>186</sup> Para un ejemplo de nuestro grupo de investigación, ver: M. Quintana, J. V. Alegre-Requena, E. Marqués-López, R. P. Herrera, G. Triola, *Med. Chem. Commun.* **2016**, *7*, 550-561.

Para ello, frecuentemente la técnica más precisa suele ser analizar directamente una muestra de tejido, lo que requiere un procedimiento muy invasivo y con alto riesgo. Otra vía consiste en utilizar técnicas de visualización, lo que incluye imágenes de rayos X, ecografías, RMN, tomografías, etc. Recientemente las técnicas de imagen han mejorado tremendamente y su aplicación para la diagnosis de diferentes tipos de cáncer es de una importancia enorme. En paralelo, se ha desarrollado nuevos sensores y tintes para utilizar en estas técnicas, incluso para realizar una doble función en la diagnosis y el tratamiento directo de la enfermedad, lo que implica el descubrimiento de compuestos con una buena citotoxicidad y selectividad hacia las células de cáncer compatibilizado con unas propiedades fotofísicas idóneas para su seguimiento y visualización (Figura 4.2).<sup>187</sup>



**Figura 4.2.** Imágenes de microscopía confocal donde se puede observar la internalización celular de fármacos luminiscentes (A = Luminiscencia propia del compuesto de ensayo; B = Luminiscencia de las mitocondrias señaladas con un tinte; C = Superposición de A y B donde se muestra colocalización en las mitocondrias).<sup>188</sup>

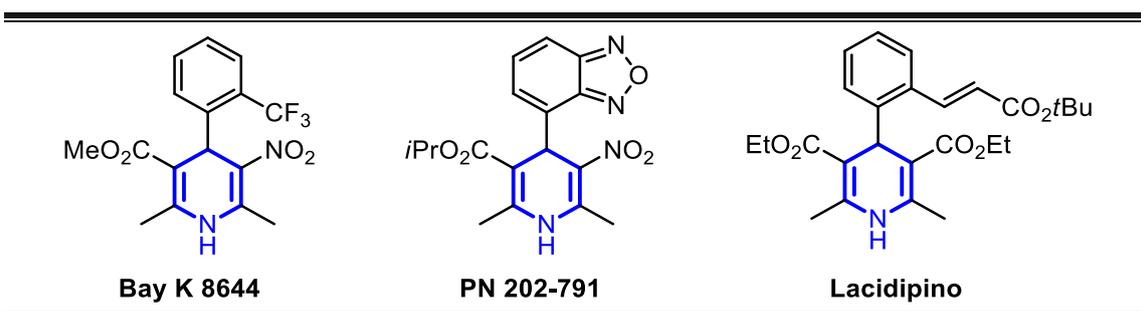
En la Figura 4.2 puede observarse una serie de imágenes de microscopía confocal de fluorescencia en las que se observa por separado un fármaco potencial luminiscente y un estándar conocido (LysoTracker red DND-99) que se acumula en los lisosomas. Con esta técnica puede seguirse el fármaco en su camino al introducirse en la célula cancerosa, pudiendo así mejorar el entendimiento de su mecanismo de acción y, además, en un futuro, seguir el tratamiento del paciente.

<sup>187</sup> Para ejemplos seleccionados, ver: a) V. Fernández-Moreira, I. Marzo, M. C. Gimeno, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 4434-4446; b) R. Visbal, V. Fernández-Moreira, I. Marzo, A. Laguna, M. C. Gimeno, *Dalton Trans.* **2016**, *45*, 15026-15033; c) A. Luengo, V. Fernández-Moreira, I. Marzo, M. C. Gimeno, *Inorg. Chem.* **2017**, *56*, 15159-15170; d) V. Fernández-Moreira, M. C. Gimeno, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 3345-3353.

<sup>188</sup> V. Fernández-Moreira, J. V. Alegre-Requena, R. P. Herrera, I. Marzo, M. C. Gimeno, *RSC Adv.* **2016**, *6*, 14171-14177.

La combinación de visualización y terapia en una sola metodología recibe el nombre de teragnosis.<sup>189</sup> La intensa investigación realizada en esta área ha producido ejemplos basados, por ejemplo, en nanopartículas<sup>190</sup> o moléculas discretas.<sup>188,191</sup>

Las 1,4-DHPs son una de las familias más exploradas en cuanto a sus propiedades biológicas. Más concretamente, los derivados de 1,4-DHP más investigados están desprotegidos en la posición *N*-heterocíclica, probablemente por su similitud con fármacos comerciales (Figura 4.3).<sup>192</sup>



**Figura 4.3.** Ejemplos de fármacos basados en 1,4-DHP con la posición 1 libre (NH).

En general, la importancia de desarrollar nuevos fármacos capaces de luchar contra el cáncer ha hecho que se hayan estudiado hasta cierto punto las capacidades de las 1,4-DHPs.<sup>193</sup> En los estudios realizados cabe destacar que, frecuentemente, estos compuestos exhiben cierta selectividad hacia las células tumorales en comparación a las células sanas, un comportamiento que genera un gran interés debido a que se evitarían

<sup>189</sup> E. Terreno, F. Uggeri, S. Aime, *J. Control Release* **2012**, *161*, 328-337.

<sup>190</sup> a) X. Zheng, D. Pan, M. Chen, X. Dai, H. Cai, H. Zhang, Q. Gong, Z. Gu, K. Luo, *Adv. Mater.* **2019**, *31*, 1901586; b) H. Cai, X. Dai, X. Wang, P. Tan, L. Gu, Q. Luo, X. Zheng, Z. Li, H. Zhu, H. Zhang, Z. Gu, Q. Gong, K. Luo, *Adv. Sci.* **2020**, *7*, 1903243; c) H. Cai, X. Wang, H. Zhang, L. Sun, D. Pan, Q. Gong, Z. Gu, K. Luo, *Appl. Mat. Today* **2018**, *11*, 207-218; d) B. Wang, P. Lv, H. Cai, Y. Li, H. Zhu, S. Lui, Q. Gong, K. Luo, *J. Biomed. Nanotechnol.* **2019**, *15*, 1897-1908.

<sup>191</sup> a) A. Luengo, I. Marzo, M. Reback, I. M. Daubit, V. Fernández- Moreira, N. Metzler-Nolte, M. C. Gimeno, *Chem. Eur. J.* **2020**, *26*, 12158-12167; b) A. Luengo, M. Redrado, I. Marzo, V. Fernández-Moreira, M. C. Gimeno, *Inorg. Chem.* **2020**, *59*, 8960-8970.

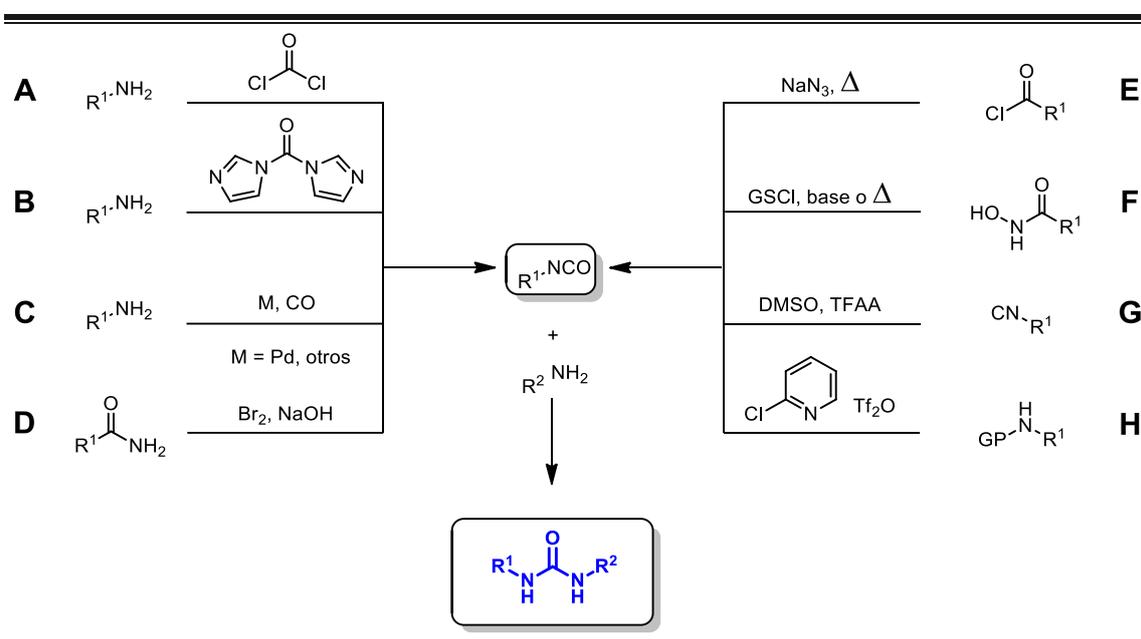
<sup>192</sup> Para ejemplos seleccionados, ver: a) S. R. Morshed, K. Hashimoto, Y. Murotani, M. Kawase, A. Shah, K. Satoh, H. Kikuchi, H. Nishikawa, J. Maki, H. Sakagami, *Anticancer Res.* **2005**, *25*, 2033-2038; b) L. Bazargan, S. Fouladdel, A. Shafiee, M. Amini, S. M. Ghaffari, E. Azizi, *Cell Biol. Toxicol.* **2008**, *24*, 165-174; c) H.-A. S. Abbas, W. A. El Sayed, N. M. Fathy, *Eur. J. Med. Chem.* **2010**, *45*, 973-982; d) O. Firuzi, K. Javidnia, E. Mansourabadi, L. Saso, A. R. Mehdipour, R. Miri, *Arch. Pharm. Res.* **2013**, *36*, 1392-1402; e) R. A. Azzam, R. M. Mohareb, *Chem. Pharm. Bull.* **2015**, *63*, 1055-1064; f) J. E. Gómez-Galeno, C. Hurtado, J. Cheng, C. Yardimci, M. Mercola, J. R. Cashman, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2018**, *28*, 3363-3367.

<sup>193</sup> a) B. Voigt, C. Coburger, J. Monár, A. Hilgeroth, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5110-5113; b) F. Shekari, H. Sadeghpour, K. Javidnia, L. Saso, F. Nazari, O. Firuzi, R. Miri, *Eur. J. Pharm.* **2015**, *746*, 233-244.

muchos efectos secundarios derivados de la quimioterapia y mejoraría la actividad de los fármacos usados.<sup>194</sup>

Otra familia de moléculas que ha generado una exhaustiva investigación es la de las ureas. Esta estructura es una de las más conocidas en el campo de la activación por enlace de hidrógeno<sup>23,195</sup> y es utilizada muy ampliamente en la química supramolecular.<sup>196,197</sup>

La síntesis de urea por Fredrich Wöhler en 1828 es considerada como el comienzo de la química orgánica.<sup>198</sup> Desde entonces se han desarrollado múltiples procedimientos para su síntesis (Esquema 4.1).<sup>199</sup>



**Esquema 4.1.** Visión general sobre la síntesis de ureas.

En el Esquema 4.1 se observa un resumen general sobre los métodos más comunes para la síntesis de derivados de urea. Todos ellos presentan algo en común, y es la formación de un intermedio isocianato, al que se añadirá posteriormente una amina

<sup>194</sup> N. Goto, L. M. Sobral, L. O. Sousa, C. B. Garcia, N. P. Lopes, J. Marín-Prida, E. Ochoa-Rodríguez, Y. Verdecia-Reyes, G. L. Pardo-Andreu, C. Curti, A. M. Leopoldino, *Eur. J. Pharmacol.* **2018**, 819, 198-206.

<sup>195</sup> M. Kotke, P. R. Schreiner, *Hydrogen Bonding in Organic Synthesis* (Ed: P. M. Pihko) Wiley-VCH, Weinheim, **2009**, 141-351.

<sup>196</sup> a) J. Rebek, Jr. *Chem. Commun.* **2000**, 637-643; b) A. Bogdan, Y. Rudzevich, M. O. Vysotsky, V. Böhmer, *Chem. Commun.* **2006**, 2941-2952; c) R. Custelcean, *Chem. Commun.* **2008**, 295-307; d) S. K. Chandran, N. K. Nath, S. Cherukuvada, A. Nangia, *J. Mol. Struct.* **2010**, 968, 99-107.

<sup>197</sup> a) M. Yamanaka, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2013**, 77, 33-48; b) E.-M. Schön, E. Marqués-López, R. P. Herrera, C. Alemán, D. D. Díaz, *Chem. Eur. J.* **2014**, 20, 10720-10731.

<sup>198</sup> a) F. Wöhler, *Ann. Phys.* **1828**, 88, 253-256; b) P. J. Ramberg, *Ambix* **2000**, 47, 170-195.

<sup>199</sup> A. K. Ghosh, M. Brindisi, *J. Med. Chem.* **2020**, 63, 2751-2788.

primaria o secundaria para formar la urea deseada. El primer ejemplo (**A**) parte de una amina que se adiciona sobre fosgeno ( $\text{COCl}_2$ ) para producir el correspondiente isocianato.<sup>200</sup> Esta síntesis presenta el problema de la toxicidad del fosgeno, por lo que posteriormente se desarrollaron otros reactivos similares con grupos salientes diferentes a los halógenos, como es el 1,1'-carbonildiimazol (**B**), un reactivo mucho más seguro y estable.<sup>201</sup> Además de estos dos ejemplos, existe otra variante que parte de aminas y usa catalizadores metálicos (**C**). Este protocolo se basa en la transferencia de un grupo carbonilo a la amina usando generalmente Pd,<sup>202</sup> aunque también se han descrito ejemplos con otros metales.<sup>203</sup> En muchos casos, se requiere oxígeno para regenerar los catalizadores, lo que supone un peligro por los problemas derivados del manejo del mismo. Además de estos casos, existen otros en los que se siguen mecanismos de transposición partiendo de reactivos diferentes a las aminas primarias. En el primero de ellos (**D**) se parte de amidas, a las que se trata con bromo molecular y una base para que se produzca una transposición de Hofmann que desemboca en el isocianato correspondiente.<sup>204</sup> En el siguiente proceso (**E**), se parte de cloruros de ácido, tratados con azida de sodio para después aportar energía para que se produzca una transposición de Curtius.<sup>205</sup> También puede partirse de ácidos hidroxámicos, realizar una protección en el grupo -OH y tratar el intermedio resultante con una base o con calor para que se produzca una transposición de Lossen (**F**).<sup>206</sup> Los derivados de isonitrilo pueden utilizarse como reactivos de partida si se tratan con DMSO en presencia de anhídrido trifluoroacético (TFAA) para producir isocianatos (**G**).<sup>207</sup> Incluso, se pueden utilizar aminas protegidas (por ejemplo, con un grupo Boc), que se tratarían con 2-cloropiridina y anhídrido trifluorometanosulfónico (**H**).<sup>208</sup> Todos estos ejemplos dan una buena visión general de la síntesis de ureas en la actualidad.

---

<sup>200</sup> J. S. Nowick, N. A. Powell, T. M. Nguyen, G. Noronha, *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 7364-7366.

<sup>201</sup> a) G. Y. Leshner, B. Singh, Z. E. Mielens, *J. Med. Chem.* **1982**, *25*, 837-842; b) M. Patel, R. F. Kaltenbach, D. A. Nugiel, R. J. Jr. McHugh, P. K. Jadhav, L. T. Bacheler, B. C. Cordova, R. M. Klabe, S. Erickson-Viitanen, S. Garber, C. Reid, S. P. Seitz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 1077-1082; c) L. Matzen, C. van Amsterdam, W. Rautenberg, H. E. Greiner, J. Harting, C. A. Seyfried, H. Bottcher, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1149-1157.

<sup>202</sup> J. Tsuji, N. Iwamoto, *Chem. Commun.* **1966**, 380-380.

<sup>203</sup> D. J. Diaz, A. K. Darko, L. McElwee-White, *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 4453-4465.

<sup>204</sup> Y. Matsumura, T. Maki, Y. Satoh, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 8879-8882.

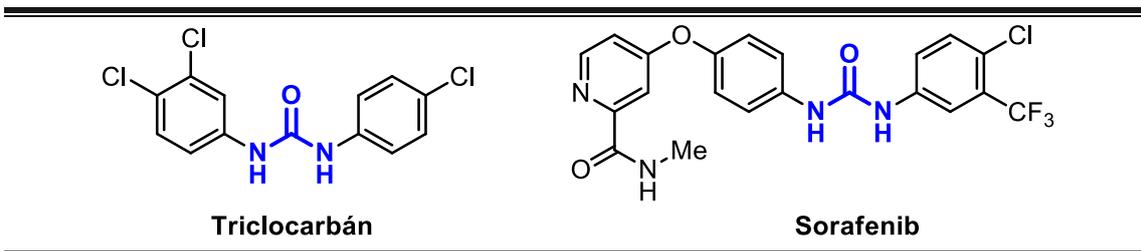
<sup>205</sup> a) A. K. Ghosh, M. Brindisi, A. Sarkar, *ChemMedChem* **2018**, *13*, 2351-2373; b) A. K. Ghosh, A. Sarkar, M. Brindisi, *Org. Biomol. Chem.* **2018**, *16*, 2006-2027.

<sup>206</sup> N. Narendra, G. Chennakrishnareddy, V. V. Sureshababu, *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 3520-3526.

<sup>207</sup> H. V. Le, B. Ganem, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2584-2585.

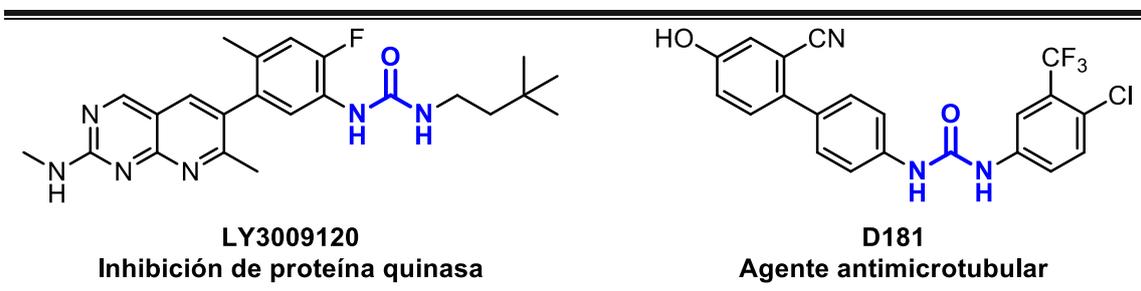
<sup>208</sup> C. Spyropoulos, C. G. Kokotos, *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 4477-4483.

En cuanto a sus propiedades biológicas es muy conocida su actividad como agentes antibacterianos y antifúngicos (Figura 4.4).<sup>209</sup>



**Figura 4.4.** Fármacos basados en aril urea: Triclocarbán<sup>210</sup> y Cloflucarbán.<sup>211</sup>

Así como en cuanto a su actividad como agentes antitumorales, pueden encontrarse varios ejemplos (Figura 4.5).



**Figura 4.5.** Ejemplos de derivados de urea con actividad antitumoral.

Se conocen dos mecanismos de acción mayoritarios para los derivados de urea. El primero es la inhibición de proteínas quinasas, como la del compuesto LY3009120.<sup>212</sup>

<sup>209</sup> a) P. B. Kaswala, K. H. Chikhalia, N. K. Shah, D. P. Patel, D. H. Patel, G. V. Mudaliar, *ARKIVOC* **2009**, xi, 326-335; b) B. Kocyigit-Kaymakcioglu, A. O. Celen, N. Tabanca, A. Ali, S. I. Khan, I. A. Khan, D. E. Wedge, *Molecules* **2013**, *18*, 3562-3576; c) S. Edrah, *J. Appl. Sci. Res.* **2010**, *4*, 1014-1018; d) A. Saeed, R. A. Khera, N. Abbas, M. Latif, I. Sajid, U. Flörke, *Turk. J. Chem.* **2010**, *34*, 335-345.

<sup>210</sup> a) T. E. Stoker, R. J. Kavlock, *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology* (Ed.: R. Krieger) 3ª Edición, Elsevier, **2010**, capítulo 18, 551-569; b) J. R. Rochester, A. L. Bolden, K. E. Pelch, C. F. Kwiatkowski, *J. Toxic.* **2017**, *2017*, 9679738.

<sup>211</sup> L. W. Condie, D. R. Buhler, *Biochem. Pharm.* **1979**, *28*, 375-380.

<sup>212</sup> a) P. Cao, X.-F. Huang, H. Ding, H.-M. Ge, H.-Q. Li, B.-F. Ruan, H.-L. Zhu, *Chem. Biodivers.* **2007**, *4*, 881-886; b) G. Džimbeg, B. Zorc, M. Kralj, K. Ester, K. Pavelić, G. Andrei, R. Snoeck, J. Balzarini, E. De Clercq, M. Mintas, *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1180-1187; c) H.-Q. Li, T.-T. Zhu, T. Yan, Y. Luo, H.-L. Zhu, *Eur. J. Med. Chem.* **2009**, *44*, 453-459; d) D. Lokwani, S. Bhandari, R. Pujari, P. Shastri, G. shelke, V. Pawar, *J. Enzyme Inhibit. Med. Chem.* **2011**, *26*, 319-331; e) Z. R. Džolić, I. Perković, S. K. Pavelić, M. Sedić, N. Ilić, D. Schols, B. Zorc, *Med. Chem. Res.* **2016**, *25*, 2729-2741; f) J. R. Henry, M. D. Kaufman, S. B. Peng, Y. M. Ahn, T. M. Caldwell, L. Vogeti, H. Telikepalli, W. P. Lu, M. M. Hood, T. J. Rutkoski, B. D. Smith, S. Vogeti, D. Miller, S. C. Wise, L. Chun, X. Zhang, Y. Zhang, L. Kays, P. A. Hipskind, A. D. Wroblewski, K. L. Lobb, J. M. Clay, J. D. Cohen, J. L. Walgren, D. McCann, P. Patel, D. K. Clawson, S. Guo, D. Manglicmot, C. Groshong, C. Logan, J. J. Starling, D. L. Flynn, *J. Med. Chem.* **2015**, *58*, 4165-4179.

Por otro lado, encontramos los compuestos que interfieren con la formación de los microtúbulos durante la mitosis, como la del compuesto D181.<sup>213</sup>

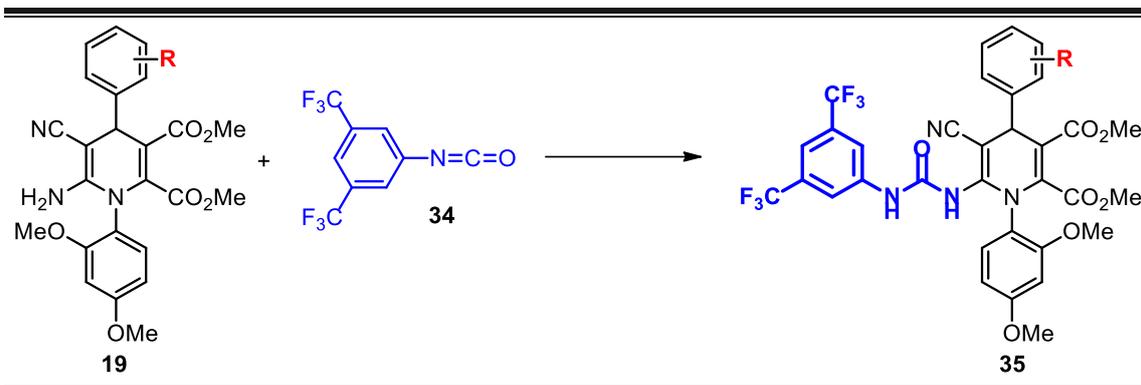
La suma de estas propiedades hace de los derivados urea objetos de investigación tremendamente interesantes.

---

<sup>213</sup> a) A. Akhmanova, M. O. Steinmetz, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2015**, *16*, 711-726; b) H. Y. Kueh, T. J. Mitchison, *Science* **2009**, *325*, 960-963; c) D. Q. Song, Y. Wang, L. Z. Wu, P. Yang, Y. M. Wang, L. M. Gao, Y. Li, J. R. Qu, Y. H. Wang, Y. H. Li, N. N. Du, Y. X. Han, Z. P. Zhang, J. D. Jiang, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 3094-3103; d) J. Zhang, J. Zhou, X. Ren, Y. Diao, H. Li, H. Jiang, K. Ding, D. Pei, *Invest. New Drugs* **2012**, *30*, 490-507; e) E. K. Leggans, K. K. Duncan, T. J. Barker, K. D. Schleicher, D. L. Boger, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 628-639; f) M. Gagné-Boulet, S. Fortin, J. Lacroix, C.-A. Lefebvre, M.-F. Côté, R. C-Gaudreault, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *100*, 34-43.

## 4.2 Objetivos

Teniendo en cuenta las cuestiones explicadas con anterioridad, uno de los objetivos principales será estudiar las propiedades citotóxicas de los derivados de 1,4-DHP **19** frente a diferentes líneas celulares de cáncer. A su vez, se tratará de desarrollar nuevas moléculas derivadas de aril urea **35** para realizar estudios similares (Esquema 4.2).

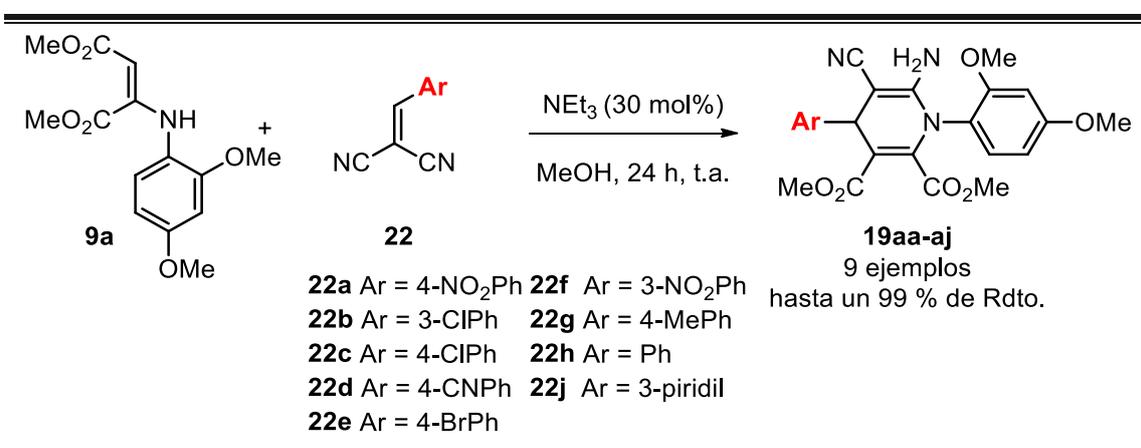


**Esquema 4.2.** Ruta para la síntesis de derivados de aril urea **35**.

Por último, investigar otras propiedades de las moléculas centro de estudio en este capítulo para su utilización como sensores biológicos en caso de ser posible.

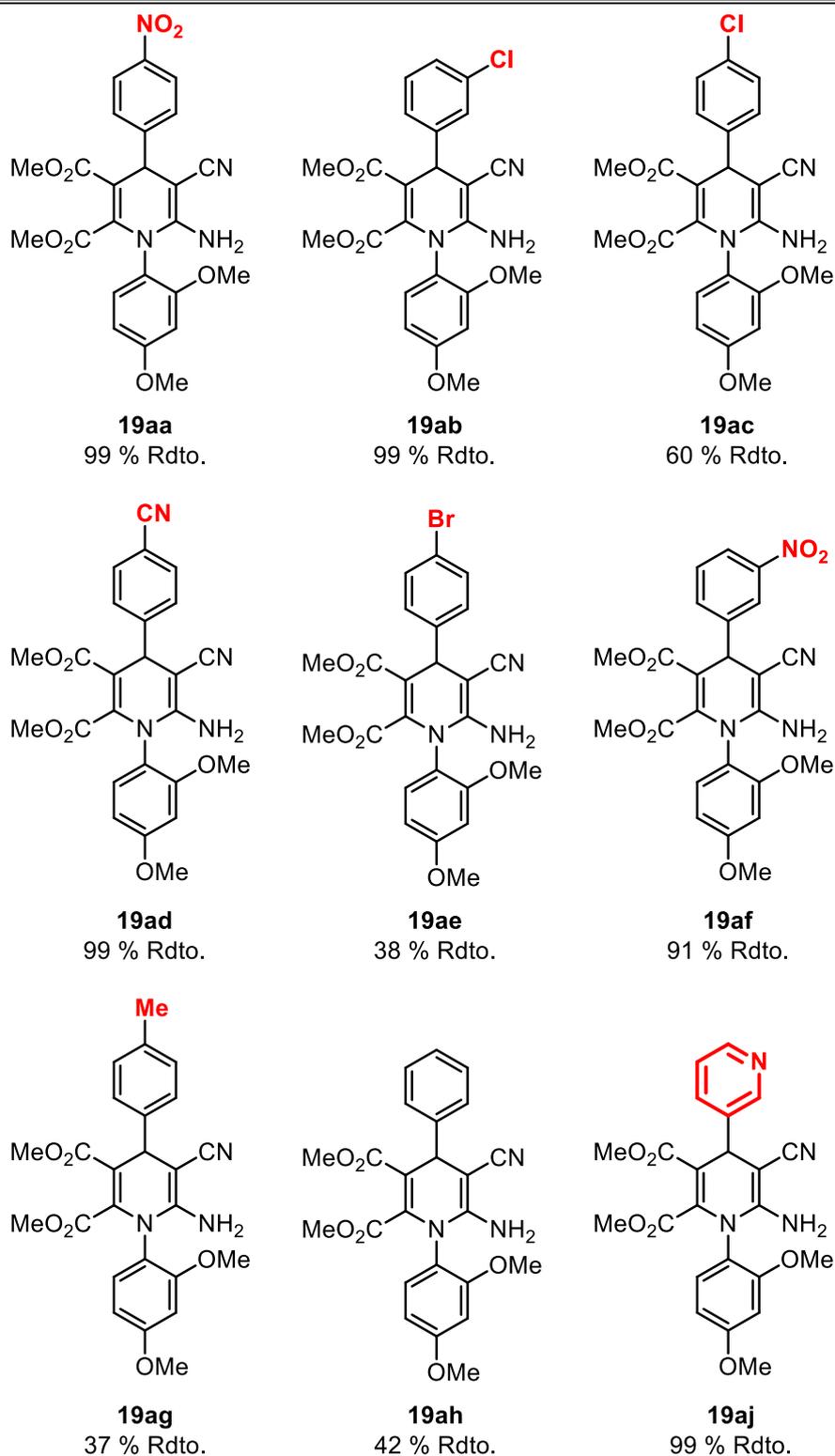
### 4.3 Discusión de los resultados

Al realizar la investigación, se valoró que tipo de sustituciones utilizar de entre las desarrolladas hasta el momento.<sup>75</sup> Por ello se pensó en utilizar como el grupo variable el arilo en posición 4, ya que posibilita la mayor variación en las propiedades electrónicas, facilitando el estudio de las relaciones estructura-actividad de los productos. Para comenzar, se necesita obtener una buena cantidad de las 1,4-DHPs deseadas con una alta pureza y de manera racémica, como punto de partida para las pruebas biológicas y los procesos siguientes. Por ello, nos basamos en nuestra experiencia en la síntesis de 1,4-DHPs y en la bibliografía,<sup>46p,46q,67,75,84</sup> para adaptar nuestros procedimientos y obtener los compuestos de ensayo (Esquema 4.3).



**Esquema 4.3.** Síntesis racémica de los derivados de 1,4-DHP **19aa-aj**.

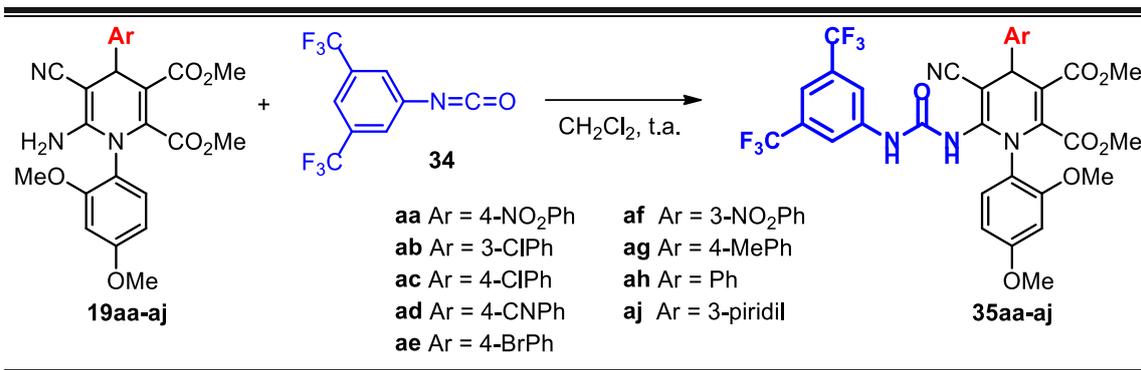
Usando esta metodología se ha logrado obtener las 1,4-DHPs **19aa-aj** con unas condiciones sencillas (Figura 4.6). Sólo en los casos donde se utilizan derivados de alquilidenmalononitrilo **22** poco electroattractores, con anillos aromáticos sin sustitución (**19ah**) o con sustituyentes alquílicos (**19ag**) y halógenos en *para* (**19ac**, **19ae**), se obtienen rendimientos moderados (42-60 %).



**Figura 4.6.** Estructuras de los derivados de 1,4-DHP **19** sintetizados.

Teniendo a nuestra disposición esta batería de compuestos para ensayar sus propiedades biológicas, y teniendo en cuenta su amina primaria libre, se decidió intentar su derivatización hacia las aril ureas **35** para averiguar si la inclusión de este grupo

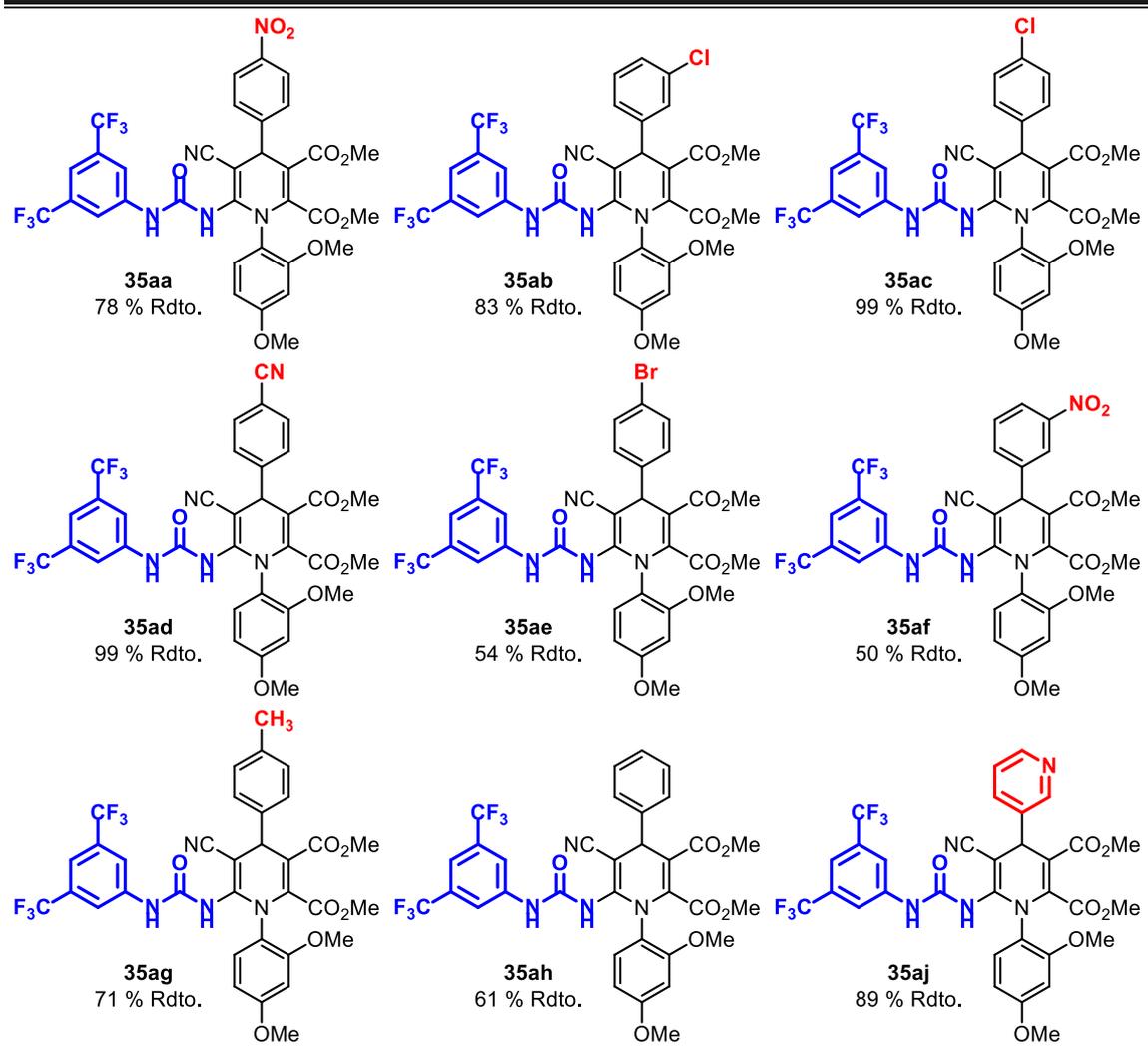
funcional es capaz de cambiar y mejorar el modo de interacción de los compuestos con el medio biológico (Esquema 4.4).



**Esquema 4.4.** Derivados de urea **35aa-aj** sintetizados.

Basados en nuestra experiencia sintetizando derivados de urea en organocatálisis asimétrica,<sup>22a,23,214</sup> se han obtenido por primera vez los derivados de urea-1,4-DHP **35**. La reacción se produce usando el isocianato **34** en diclorometano en condiciones suaves y con un procedimiento muy sencillo. Esta familia de compuestos es totalmente nueva y constituye el primer ejemplo en este campo de investigación (Figura 4.7).

<sup>214</sup> a) G. Dessole, R. P. Herrera, A. Ricci, *Synlett* **2004**, 2374-2378; b) R. P. Herrera, D. Monge, E. Martín-Zamora, R. Fernández, J. M. Lassaletta, *Org. Lett.* **2007**, *9*, 3303-3306; c) V. Juste-Navarro, E. Marqués-López, R. P. Herrera, *Asian J. Org. Chem.* **2015**, *4*, 884-889.



**Figura 4.7.** Serie urea-1,4-DHP **35** obtenida con nuestro procedimiento.

En este caso, los mejores rendimientos se obtienen para los derivados con sustituyentes 4-ClPh (**35ac**) y 4-CNPh (**35ad**) (99 %), mientras que los resultados más modestos aparecen en los compuestos con sustituyentes 3-NO<sub>2</sub>Ph (**35af**), 4-BrPh (**35ae**) y Ph (**35ah**) (50, 54 y 61 % respectivamente).

Con todos estos compuestos a nuestra disposición, se procedió a investigar sus propiedades fotofísicas, ya que se había observado con anterioridad que ambas familias de compuestos presentaban luminiscencia, por lo cual se estudiaron disoluciones de estos compuestos en DMSO en concentraciones de 1 a 5 mM, a 298 K, obteniéndose los datos representados en la Tabla 4.1.

**Tabla 4.1.** Propiedades fotofísicas de los compuestos **19ab-ae**, **19ag-ah**, **19aj** y **35ab-ae**, **35ag-ah**, **35aj** en una disolución de DMSO (1-5 mM), a 298 K.

DHP	$\lambda_{exc}$ (nm)	$\lambda_{em}$ (nm)	Despl. de Stokes (nm)	Urea- DHP	$\lambda_{exc}$ (nm)	$\lambda_{em}$ (nm)	Despl. de Stokes (nm)
<b>19ab</b>	>422	428	$\approx 6$	<b>35ab</b>	389	456	67
<b>19ac</b>	>420	425	$\approx 5$	<b>35ac</b>	391	436	45
<b>19ad</b>	416	471	55	<b>35ad</b>	398	465	67
<b>19ae</b>	>415	420	$\approx 5$	<b>35ae</b>	391	437	46
<b>19ag</b>	>416	424	$\approx 8$	<b>35ag</b>	389	460	71
<b>19ah</b>	415	454	39	<b>35ah</b>	382	450	68
<b>19aj</b>	>420	425	$\approx 5$	<b>35aj</b>	393	440	47

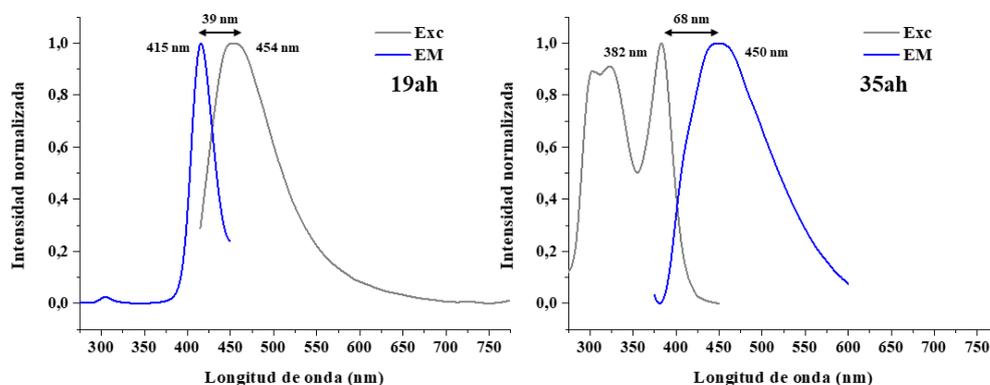
De la Tabla 4.1 se pueden extraer las siguientes conclusiones. Para empezar, puede observarse cómo no aparecen los compuestos con sustituyentes NO<sub>2</sub> en el anillo aromático (**19aa**, **35aa**, **19af** y **35af**). Esto es debido a que no presentan luminiscencia. Este hecho puede obedecer a la contribución de diferentes procesos de *quenching* que tengan lugar en estos derivados en concreto. Los mecanismos propuestos pueden ir desde un fuerte acoplamiento vibracional<sup>215</sup> a transferencias intramoleculares de carga promovidas por el fuerte efecto electroatractor del grupo nitro,<sup>216</sup> o incluso el proceso de reducción del grupo nitro a nitroso que produce una fotodescomposición.<sup>217</sup> Por otra parte, el resto de compuestos estudiados sí son luminiscentes, los compuestos **19** tienen una menor intensidad de emisión que sus derivados urea **35**. La incorporación de un fragmento urea afecta a la posición del máximo de excitación de una manera más intensa que al del máximo de emisión, desplazando la excitación 33 nm hacia una posición de mayor energía, como en el caso de los compuestos **19ah** y **35ah**. Así, en todos los casos, el máximo de excitación de los compuestos **35** está en torno a 390 nm, mientras que los máximos de emisión se mantuvieron entre 436 y 465 nm, lo cual es un rango similar al encontrado para las 1,4-DHPs **19** (420-471 nm, Tabla 4.1). El resultado de este comportamiento es un desplazamiento de Stokes mayor, que seguramente previene los procesos que desactivan la luminiscencia, conduciendo a los aumentos de intensidad

<sup>215</sup> P. Pávez, M. V. Encinas, *Photochem. Photobiol.* **2007**, *83*, 722-729.

<sup>216</sup> E. Fasani, D. Dondi, A. Ricci, A. Albini, *Photochem. Photobiol.* **2006**, *82*, 225-230.

<sup>217</sup> H. de Vries, G. M. J. B. van Henegouwen, *Photochem. Photobiol.* **1995**, *62*, 959-963.

observados. En la Figura 4.8 se muestra un ejemplo de los cambios observados al pasar del derivado de 1,4-DHP **19ah** a su derivado de urea **35ah**.

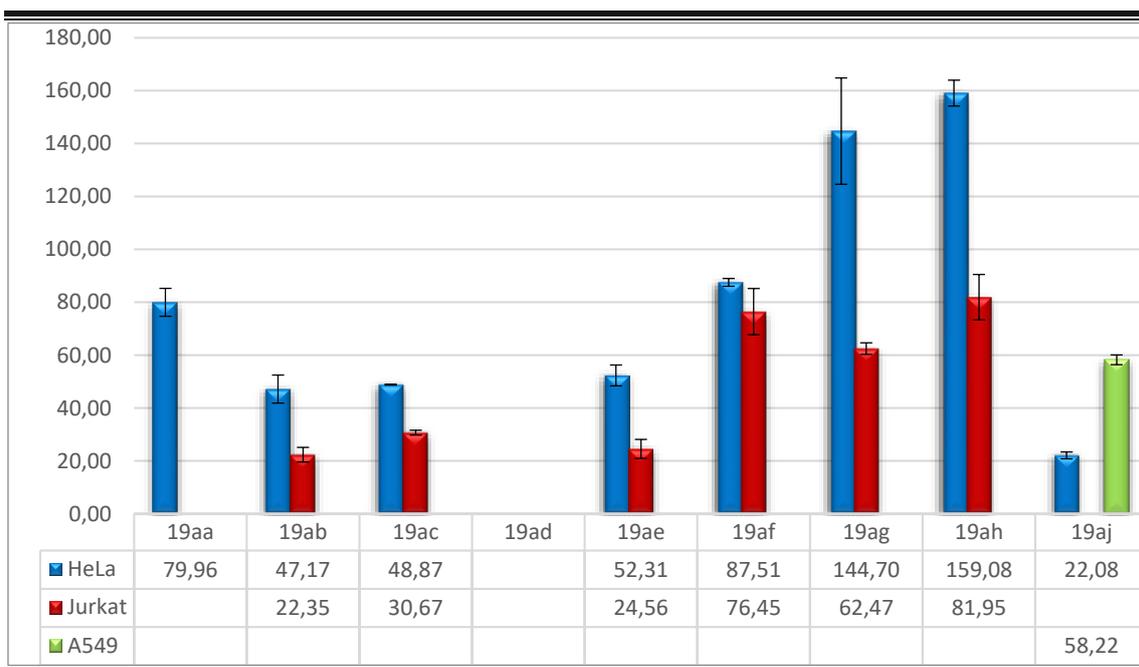


**Figura 4.8.** Espectros de excitación y emisión de los compuestos **19ah** y **35ah**.

El resto de espectros de emisión y excitación están recogidos en la información suplementaria (Figura S4.22). En cuanto a la relación de las propiedades electrónicas de los compuestos con su luminiscencia, puede observarse como en el caso de las 1,4-DHPs con grupos 4-CNPh (**19ad**) y Ph (**19ah**) son las que presentan una emisión más intensa. En cambio, aquellas con un grupo halógeno, metilo o piridilo presentan una emisión menor. Este hecho está en consonancia con el mayor desplazamiento de Stokes de las especies señaladas (55 nm para **19ad** y 39 nm para **19ah**) con respecto al resto de compuestos (<10 nm), lo que apoya la hipótesis de la presencia de un proceso de *quenching* por reabsorción de la emisión.

## Propiedades biológicas

Para medir la citotoxicidad de los compuestos preparados se utilizó el ensayo MTT, por el cual se mide la capacidad reductora de las células aún vivas sobre el bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio.<sup>218</sup> Las líneas tumorales sobre las que se probaron los compuestos **19** y **35** fueron: HeLa (carcinoma cervical humano), JurKat (linfoma humano) y A549 (cáncer de pulmón humano) (Figuras 4.9 y 4.10).

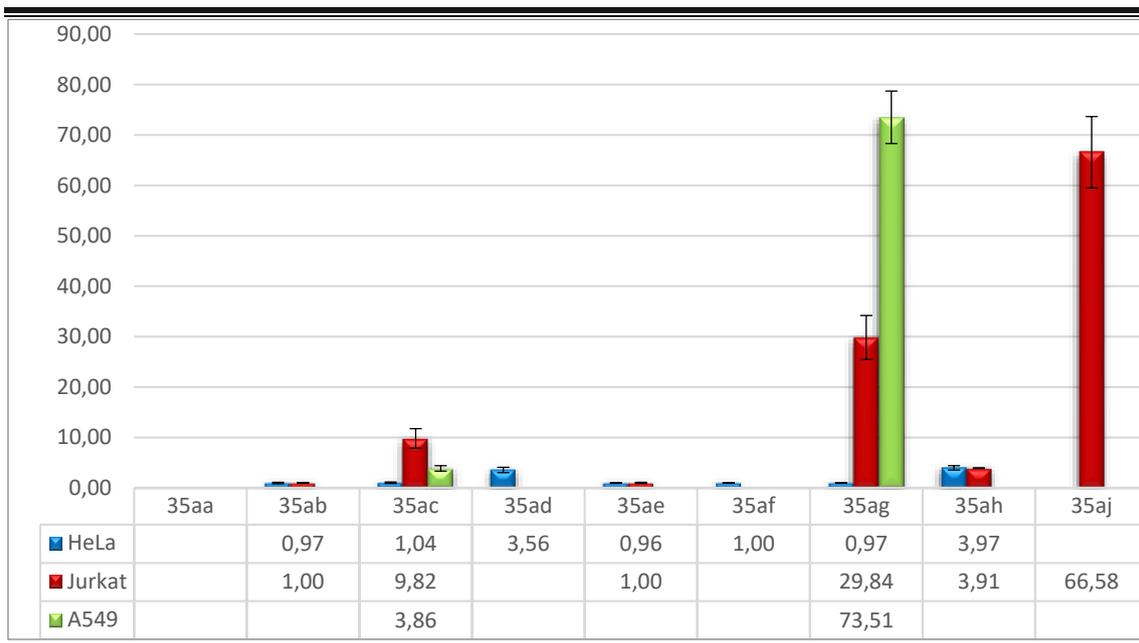


**Figura 4.9.** Valores de IC<sub>50</sub> para los derivados de 1,4-DHP **19aa-aj**. Celdas vacías para valores superiores a 200  $\mu$ M o para aquellos casos en los que no se alcanza un 50 % de inhibición del crecimiento en las condiciones de ensayo. Para encontrar los datos completos con desviación estándar, consultar la información suplementaria (Tabla S4.1).

En el caso de las 1,4-DHPs **19**, los valores de IC<sub>50</sub> son de moderados a altos (Figura 4.9). El compuesto **19aj** muestra el valor más bajo para la línea celular HeLa y es el único activo en A549. Los compuestos **19ab** y **19ae** son los únicos con valores menores de 25  $\mu$ M en la línea celular Jurkat. Sorprendentemente, el compuesto **19aa** sólo muestra actividad para HeLa y el compuesto **19aj** no muestra actividad en Jurkat. Desgraciadamente, el compuesto **19ad** no muestra actividad relevante hacia las líneas celulares ensayadas. Estos resultados sugieren la presencia de algún tipo de selectividad en el modo de acción de los compuestos, un comportamiento de gran importancia para el

<sup>218</sup> J. van Meerloo, G. J. Kaspers, J. Cloos, *Methods Mol. Biol.* **2011**, 731, 237-245.

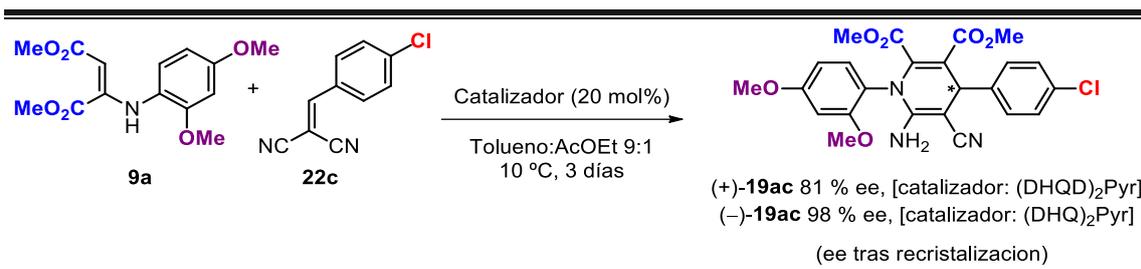
descubrimiento de nuevos fármacos, ya que podría ser un indicio de baja toxicidad para tejidos sanos.



**Figura 4.10.** Valores de  $IC_{50}$  para los derivados de 1,4-DHP **35aa-aj**. Celdas vacías para valores superiores a 100  $\mu$ M o para aquellos casos en los que no se alcanza un 50 % de inhibición del crecimiento en las condiciones de ensayo. Para encontrar los datos completos con desviación estándar, consultar la información suplementaria (Tabla S4.2).

En el caso de los derivados de urea **35**, puede observarse un descenso considerable en los valores de  $IC_{50}$  con respecto a los derivados de 1,4-DHP **19** (Figura 4.10). Además, los valores para casi todos los compuestos están cerca del rango nM, especialmente para la línea celular HeLa, salvo los compuestos **35aa** y **35aj**, que no presentan actividad. En Jurkat, encontramos valores interesantes para los compuestos **35ab**, **35ac**, **35ae** y **35ah**, mientras que **35ag** y **35aj** presentan valores más altos y los demás no produjeron una respuesta satisfactoria. En este caso, solo los compuestos **35ac** y **35ag** son activos frente a la línea celular A549. Además, a modo de comparación entre los compuestos **19** y **35**, puede verse como el proceso de derivatización a urea produce un aumento de actividad en los compuestos **35ab**, **35ac**, **35ae**, **35af**, **35ag** y **35ah**, en diferentes líneas celulares. Un caso interesante es el del compuesto **35aj**, ya que previamente no era activo en Jurkat y, tras su derivatización, muestra un comportamiento opuesto, siendo activo únicamente en esta línea celular. Al igual que antes, parece existir la misma selectividad en estos compuestos, mostrando que el proceso de derivatización a urea mejora los valores de citotoxicidad manteniendo el interesante comportamiento de estos compuestos.

Dado que el comportamiento de dos enantiómeros puede diferir en cuanto a sus propiedades biológicas,<sup>219</sup> decidimos investigar si este efecto ocurría con los compuestos de ensayo.<sup>220</sup> Para ello utilizamos la 1,4-DHP **19ac** y su correspondiente derivado urea **35ac**. Seguimos el procedimiento descrito en el Capítulo 2.2 y utilizamos sucesivas recristalizaciones para obtener muestras enantioméricamente enriquecidas de **19ac**.<sup>75</sup> Así se han sintetizado los compuestos (+)-**19ac** y (-)-**19ac**, llamados D y L, respectivamente, según el signo de su rotación óptica (Esquema 4.5).



**Esquema 4.5.** Síntesis de las 1,4-DHPs (+)-**19ac** y (-)-**19ac**.

Para la preparación de los correspondientes derivados urea (+)-**35ac** y (-)-**35ac** seguimos el mismo procedimiento del Esquema 4.4, partiendo de las 1,4-DHPs (+)-**19ac** y (-)-**19ac**, respectivamente. Después se realizaron los mismos procedimientos descritos anteriormente con las versiones enantioenriquecidas de **19ac** y **35ac** (Tablas 4.2 y 4.3).

**Tabla 4.2.** Valores de IC<sub>50</sub> (μM) para las líneas celulares HeLa, Jurkat y A549 para el compuesto **19ac**.

<b>19ac</b>	<b>HeLa</b>	<b>Jurkat</b>	<b>A549</b>
<b>L</b>	>100	43.20 ± 4.78	>100
<b>D</b>	>100	77.46 ± 15.83	>100
<b>Rac.</b>	47.87 ± 1.22	31.23 ± 3.34	>100

<sup>219</sup> a) E. J. Ariëns, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1984**, *26*, 663-668; b) B. Waldeck, *Chirality* **1993**, *5*, 350-355; c) A. J. Hutt, S. C. Tan, *Drugs* **1996**, *52*, 1-12; d) M. C. Núñez, M. E. García-Rubiño, A. Conejo-García, O. Cruz-López, M. Kimatrai, M. A. Gallo, A. Espinosa, J. M. Campos, *Curr. Med. Chem.* **2009**, *16*, 2064-2074; e) W. H. Brooks, W. C. Guida, K. G. Daniel, *Curr. Top. Med. Chem.* **2011**, *11*, 760-770.

<sup>220</sup> a) S. Goldmann, J. Stoltefuß, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1991**, *30*, 1559-1578; b) S. Goldmann, J. Stoltefuß, 1,4-Dihidropiridinas: Effects of Chirality and Conformation on Their Activity en *Dihydropiridines: Progress in Pharmacology and Therapy* (Eds.: W.-D. Busse, B. Garthoff, F. Seuter.) Springer-Verlag Berlín Heidelberg, **1993**, 24-35; c) A. D. Hughes, S. Hering, T. B. Bolton, *Br. J. Pharmacol.* **1990**, *101*, 3-5; d) W. A. Carroll, R. J. Altenbach, H. Bai, J. D. Brioni, M. E. Brune, S. A. Buckner, C. Cassidy, Y. Chen, M. J. Coghlan, A. V. Daza, I. Drizin, T. A. Fey, M. Fitzgerald, M. Gopalakrishnan, R. J. Gregg, R. F. Henry, M. W. Holladay, L. L. King, M. E. Kort, P. R. Kym, I. Milicic, R. Tang, S. C. Turner, K. L. Whiteaker, L. Yi, H. Zhang, J. P. Sullivan, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 3163-3179; e) R. Shan, C. Velazquez, E. E. Knaus, *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 254-261.

**Tabla 4.3.** Valores de IC<sub>50</sub> (μM) para las líneas celulares HeLa, Jurkat y A549 para el compuesto **35ac**.

<b>35b</b>	<b>HeLa</b>	<b>Jurkat</b>	<b>A549</b>
<b>L</b>	>50	>50	>50
<b>D</b>	>50	16.49 ± 2.42	0.28 ± 0.01
<b>Rac.</b>	1.07 ± 0,16	8.17 ± 1.43	2.99 ± 0.86

En la línea celular HeLa, puede verse un efecto sinérgico cuando se usa la mezcla racémica en ambos compuestos **19ac** y **35ac**, mientras que en el uso de los enantiómeros por separado no se alcanza un valor de IC<sub>50</sub> en las condiciones de ensayo. En Jurkat, aparece el mismo efecto, pero en este caso el enantiómero L es más activo que el D en el compuesto **19ac**, mientras que para el compuesto **35ac** ocurre lo contrario. En A549, el compuesto **19ac** no es activo. Sin embargo, el compuesto **35ac** presenta un comportamiento contrario al de otras líneas, siendo el enantiómero D más activo que la mezcla racémica mientras que el enantiómero L se muestra inactivo.

El efecto observado puede deberse a las interacciones diferentes de ambos enantiómeros con los compuestos y dianas quirales del medio biológico (o incluso entre ellos), lo que podría causar diferencias en su comportamiento físico y químico. Los efectos de la quiralidad en la farmacología han sido ampliamente descritos por la comunidad científica.<sup>221</sup> Existe así, un amplio rango de posibilidades en cuanto a la actividad, potencia, efectos secundarios y toxicidad en un fármaco quiral. Generalmente, uno de los enantiómeros resulta ser más activo que su pareja y que la mezcla racémica. Sin embargo, en algunos casos las mezclas racémicas son más activas.<sup>222</sup> El mecanismo detrás de este fenómeno es complejo y difícil de explicar. Algunas de las posibilidades podrían ser que la auténtica especie activa resulte ser un complejo formado por ambos enantiómeros,<sup>222b</sup> que ambos enantiómeros tomen parte por separado en una cadena que lleve a una mayor actividad y que una discrepancia en la solubilidad entre los enantiómeros y la mezcla racémica pudiera originar precipitaciones y diferencias en la concentración real de los compuestos en el medio biológico.<sup>223</sup> En cuanto a la última

<sup>221</sup> S. W. Smith, *Toxicol. Sci.* **2009**, *110*, 4-30.

<sup>222</sup> a) P. Joseph-Nathan, B. Gordillo-Román, *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products 100: Vibrational Circular Dichroism Absolute Configuration Determination of Natural Products* (Eds. A. D. Kinghorn, H. Falk, J. Kobayashi), Springer: New York, **2015**, p 403; b) C. M. Manna, G. Armony, E. Y. Tshuva, *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 14094-14103; c) J. de Moraes, *Future Med. Chem.* **2015**, *7*, 801-820.

<sup>223</sup> a) C.-H. Gu, D. J. W. Grant, *Chiral Analysis: Physical properties and enantiomeric composition* (Eds. K. W. Busch, M. A. Busch), Chiral Analysis, Elsevier: Amsterdam, **2006**, pp 47-77; b) A. J. Repta, M. J.

posibilidad, se ha realizado un estudio acerca de la solubilidad de ambos enantiómeros y de las mezclas racémicas de los compuestos **19ac** y **35ac** (Tabla 4.4, Figura S4.24).

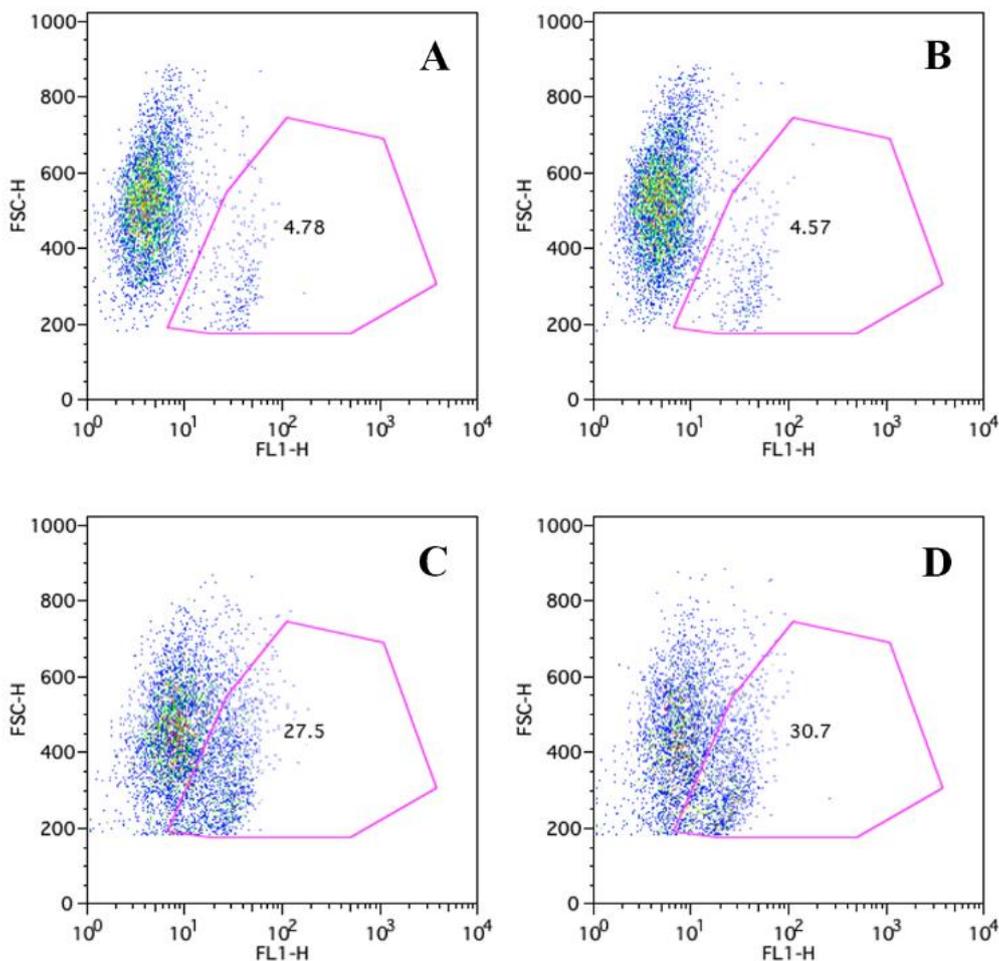
**Tabla 4.4.** Datos de solubilidad calculados para los compuestos **19ac** ( $\epsilon_{243} = 21020 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) y **35ac** ( $\epsilon_{247} = 24699 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) en agua con un 3.75 % de DMSO basados en los experimentos UV-Vis mostrados en la Figura S4.24.

	<b>19ac</b> ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	<b>35ac</b> ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )
<b>L (82 % ee)</b>	170	25
<b>D (92 % ee)</b>	168	24
<b>Rac.</b>	54	3

Los resultados sugieren que las mezclas racémicas son, en ambos casos, menos solubles que los enantiómeros por separado. Este hecho supone que los valores de citotoxicidad son independientes o al menos no están influenciados en gran medida por la solubilidad. Sin embargo, el comportamiento de las muestras en un auténtico medio biológico podría diferir del encontrado en agua. Por todo esto, la explicación al comportamiento de los compuestos ensayados resulta ser una mezcla compleja de diferentes aportaciones físicas y químicas.<sup>222</sup> No obstante, el hecho de que la mezcla racémica resulte más activa (en general) en las líneas celulares ensayadas podría suponer una ventaja *a posteriori* en cuanto a energía y tiempo.

Para averiguar más sobre el mecanismo de acción de los compuestos se realizó un ensayo de citometría de flujo con el compuesto **19ac** en la línea celular HeLa. El experimento se realizó usando anexina V-FITC y los resultados se recogen en la fase FL-1 frente a *forward scatter* (Figura 4.11).

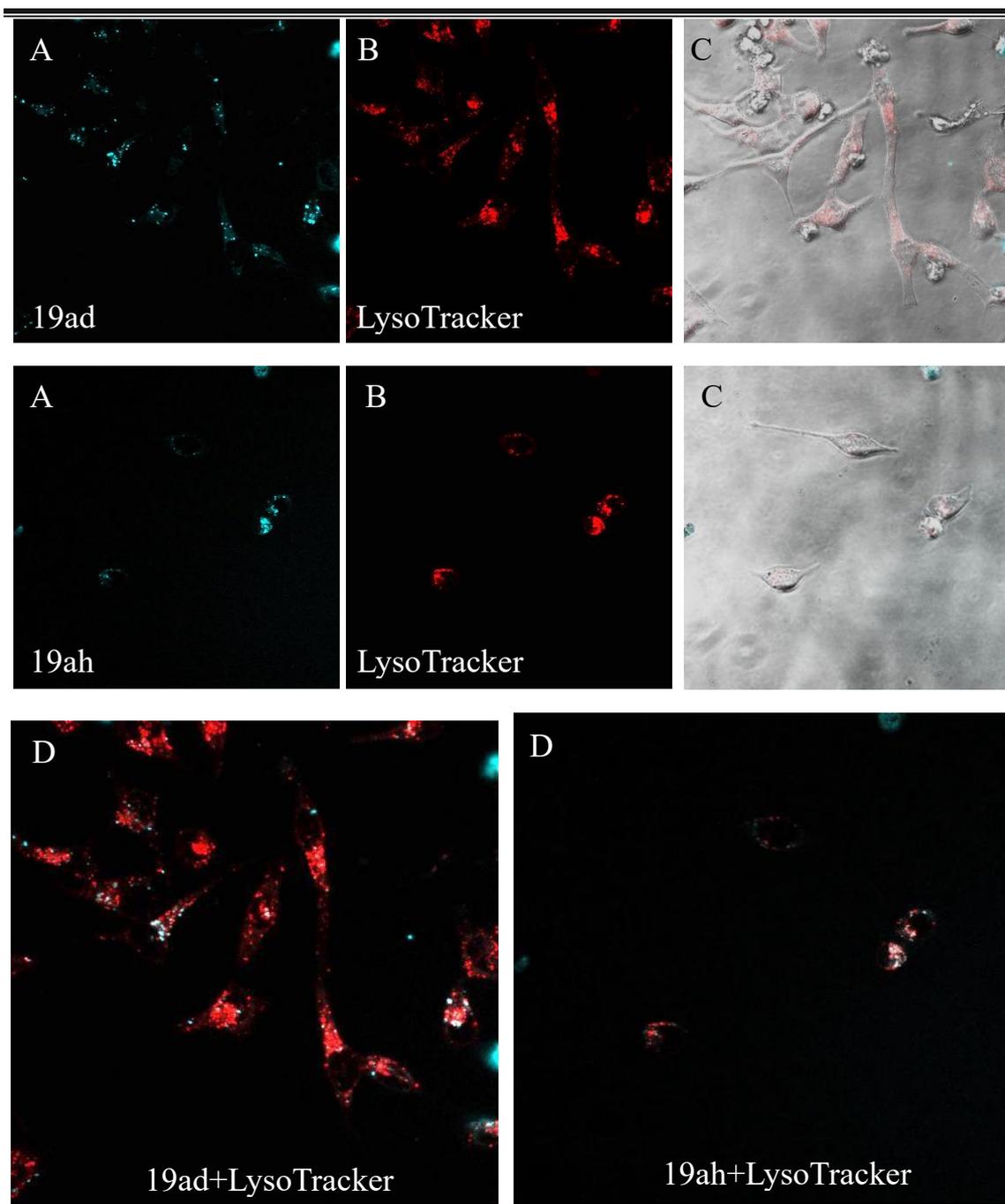
Baltezor, P. C. Bansal, *J. Pharm. Sci.* **1976**, *65*, 238-242; c) C. Gu, D. J. W. Grant, *Stereochemical Aspects of Drug Action and Disposition: Physical properties and crystal structures of chiral drugs* (M. Eichelbaum, B. Testa, A. Somogyi), Springer-Verlag: Berlin, **2003**, pp. 113-139.



**Figura 4.11.** Resultados de la citometría de flujo para el compuesto **19ac**. Anexina V/FSC. **A:** Experimento control. **B:** Experimento control con el inhibidor de caspasas z-VAD-fmk. **C:** Células incubadas con el compuesto **19ac** (100  $\mu$ M). **D:** Células incubadas con el compuesto **19ac** (100  $\mu$ M) y el inhibidor de caspasas z-VAD-fmk.

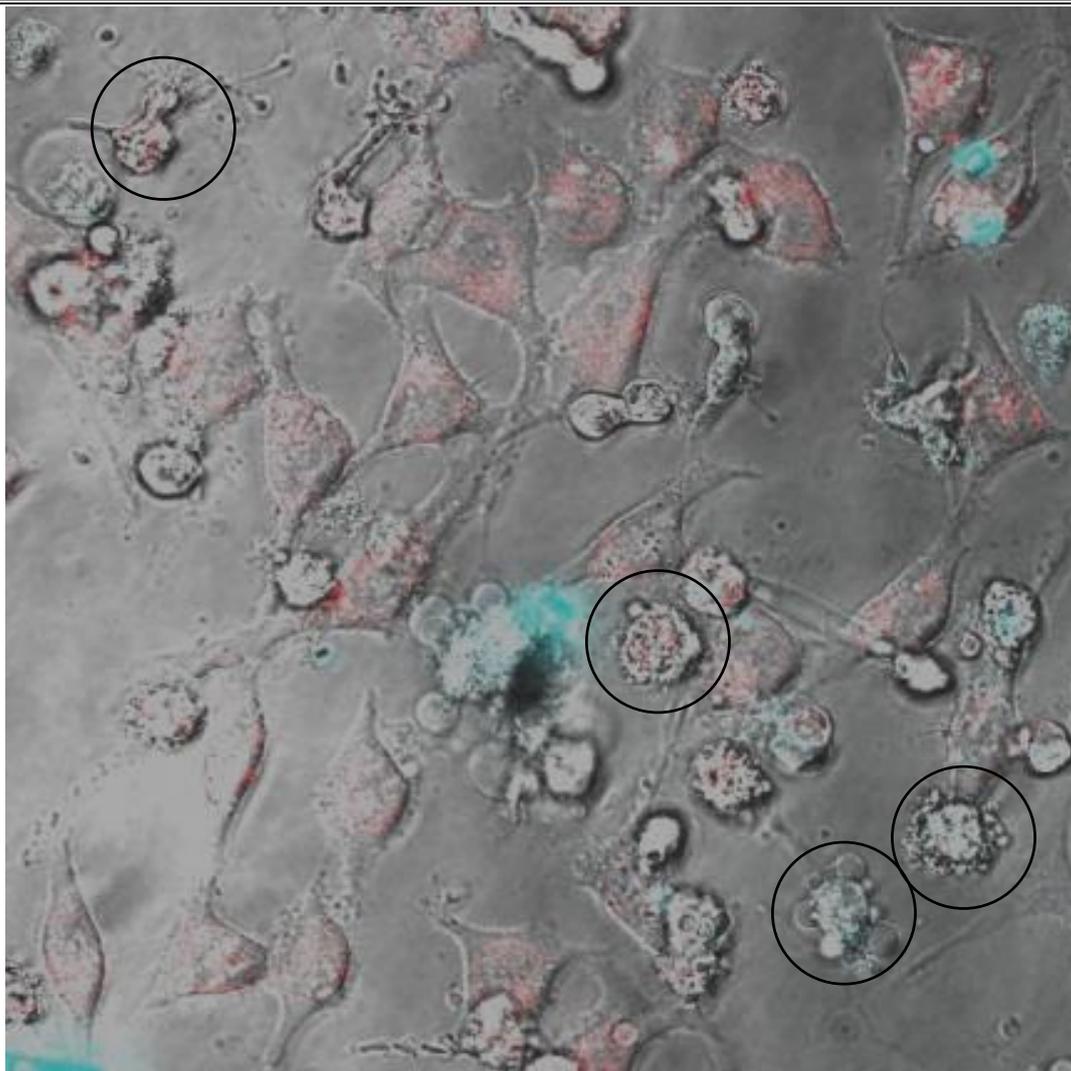
Los resultados de la Figura 4.11 muestran un experimento control (**A**) en el que, correctamente, todas las células siguen con vida. Si lo comparamos con el gráfico **C**, en el que se incubaron las células con el compuesto **19ac**, puede verse como el porcentaje de células en la zona positiva de la anexina (marcada en rosa) aumenta, lo que aclara que el compuesto **19ac** promueve la muerte celular. Además, al hacer la misma comparación entre **B** (experimento control con el inhibidor de caspasas z-VAD-fmk) y **D** (células incubadas con el compuesto **19ac** y el inhibidor de caspasas z-VAD-fmk) podemos observar el mismo resultado que anteriormente, lo que indica que este compuesto promueve un mecanismo de muerte celular independiente de caspasas.

Con los resultados de luminiscencia y citotoxicidad de los compuestos **19** y **35**, se decidió recurrir a la microscopía confocal de fluorescencia para tratar de averiguar más sobre su biodistribución y mecanismo de acción; además, este experimento proveerá información sobre su idoneidad como agentes de visualización en técnicas de imagen. Los experimentos se llevaron a cabo para compuestos específicos seleccionados entre las dos familias por sus propiedades fotofísicas (con altas emisiones) y por su citotoxicidad (seleccionando compuestos con  $IC_{50}$  elevado para impedir una muerte celular masiva). Se incubaron los compuestos **19ad**, **19ah**, **35ac**, **35ad**, **35ag** y **35ah** en la línea celular HeLa junto con LysoTracker Red DND-99, un tinte que se acumula de manera específica en los lisosomas. Los compuestos **19** se prepararon en una concentración de 150  $\mu$ M mientras los **35** en una concentración de 2  $\mu$ M para prevenir una muerte celular desmedida en las muestras. Después, se irradiaron los cultivos con longitudes de onda de 405 o 588 nm para visualizar las diferentes especies (compuestos en estudio y la referencia interna, respectivamente, por separado). Los compuestos **19ad** y **19ah** mostraron una pequeña emisión intracelular. La superposición de las imágenes obtenidas para los compuestos y la referencia muestran una acumulación en el mismo orgánulo (lisosomas) (Figura 4.12).



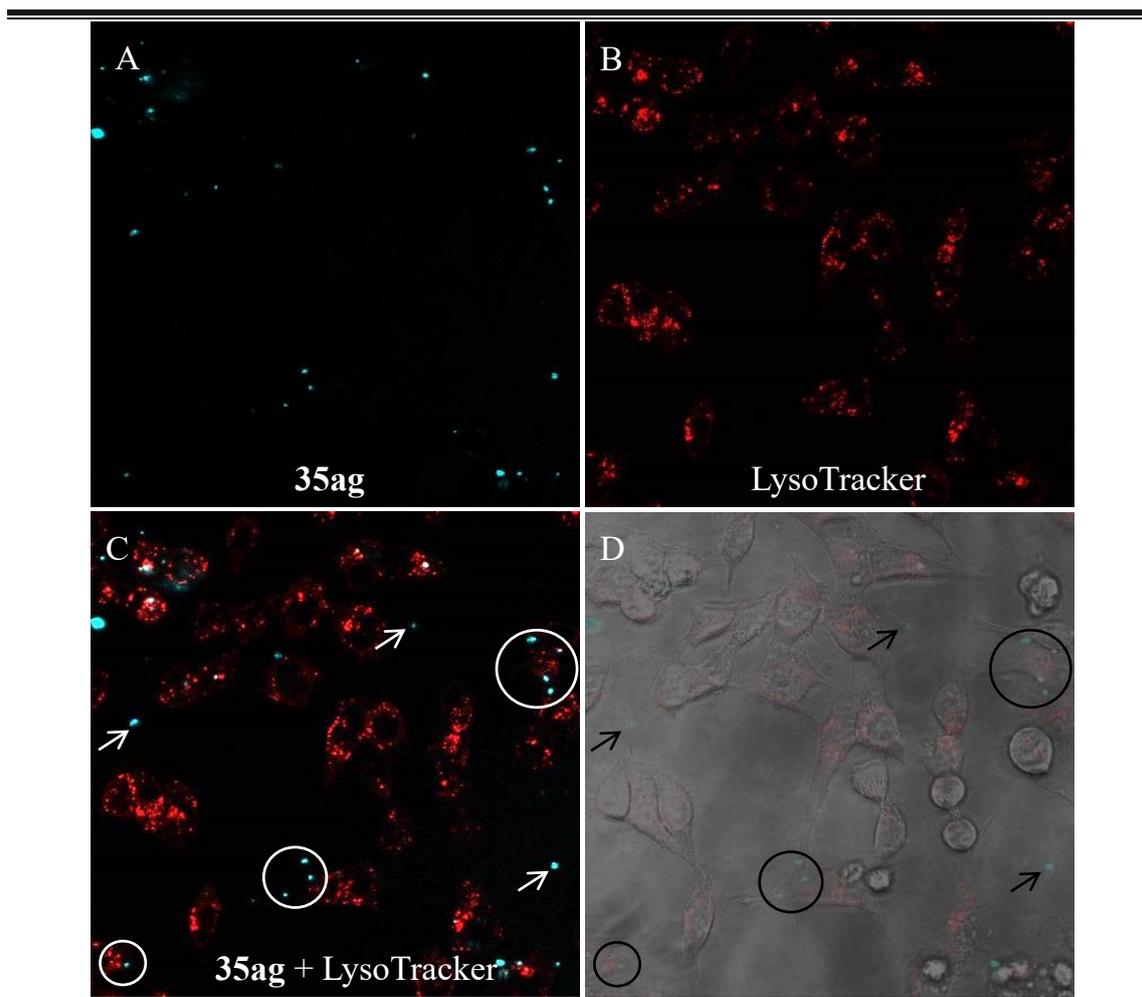
**Figura 4.12.** Imágenes de microscopía de fluorescencia tras incubar los compuestos **19ad** y **19ah** (150  $\mu$ M) y LysoTracker Red-DND (10 nm) con células HeLa durante 24 h. **A:** Imágenes con irradiación a 405 nm. **B:** Imágenes con irradiación a 588 nm. **C:** Superposición de imágenes A, B y el contraste. **D:** Superposición de imágenes A y B. Anchura de las imágenes: 210  $\mu$ m.

Además, vistas las imágenes, puede observarse cómo en las células aparecen cuerpos apoptóticos, indicativos de las fases iniciales de la apoptosis (Figura 4.13).



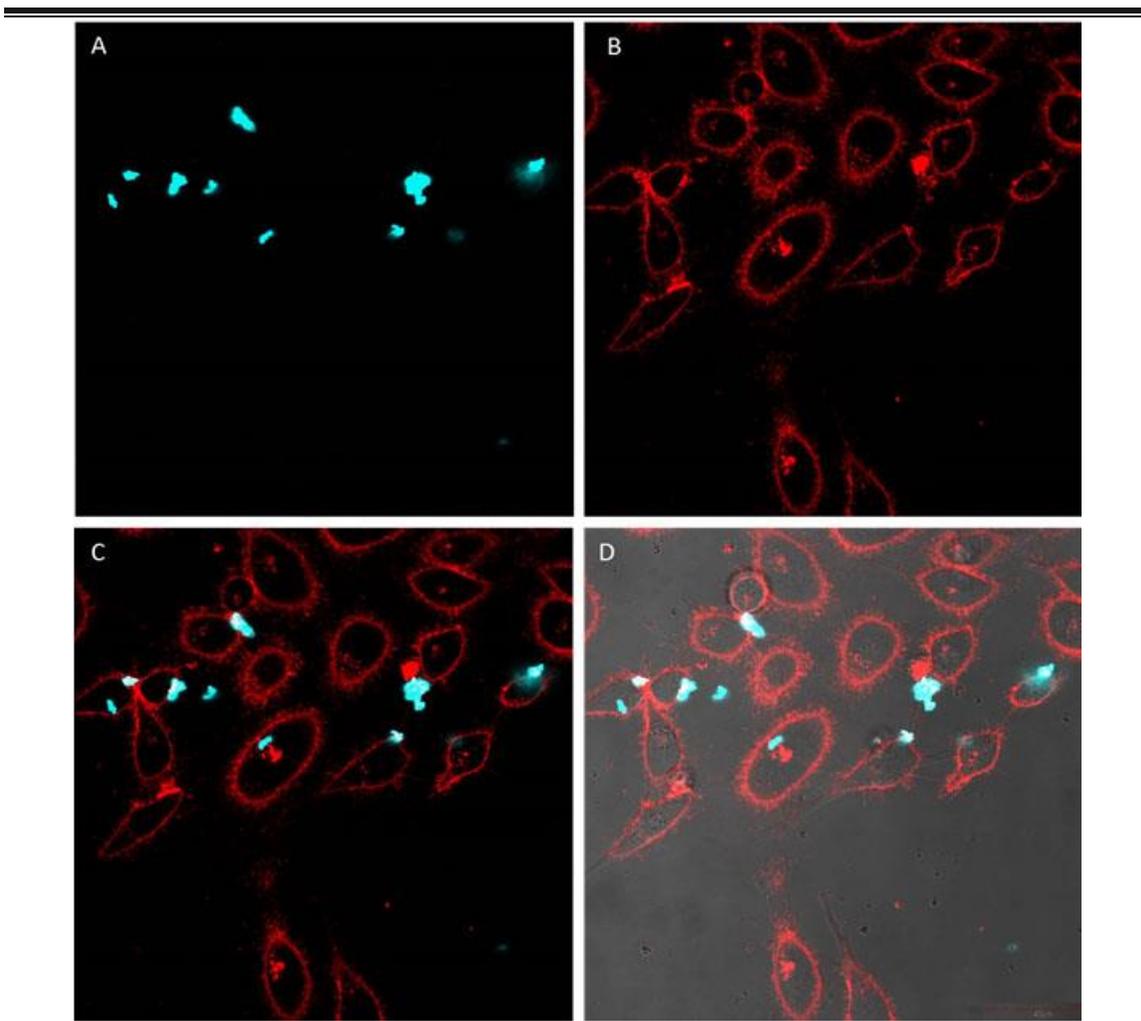
**Figura 4.13.** Superposición de las imágenes de microscopia de fluorescencia del compuesto **19ad** y el LysoTracker Red-DND incubados con células HeLa a 150  $\mu\text{M}$  y 10 nM, respectivamente, durante 24 h. En azul compuesto **19ad** y en rojo LysoTracker Red-DND. Rresaltadas en círculos varias células con cuerpos apoptóticos. Anchura de las imágenes: 210  $\mu\text{m}$ .

En cambio, cuando se lleva a cabo el mismo experimento con el compuesto **35ag**, se observa un patrón de emisión diferente. Las señales del compuesto parecen estar localizadas en el medio extracelular y en menor medida cerca de las células (Figura 4.14).



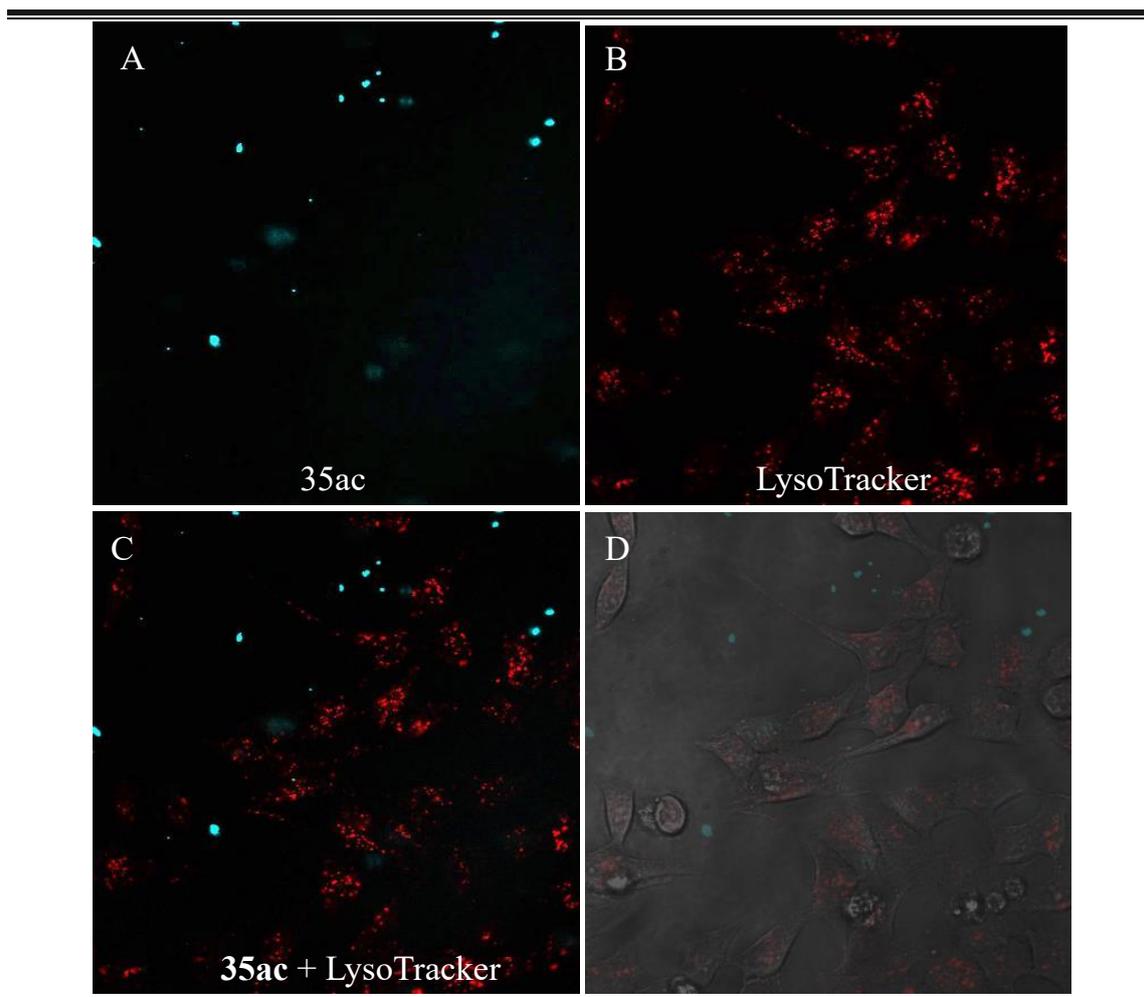
**Figura 4.14.** Imágenes de microscopía de fluorescencia tras incubar el compuesto **35ag** (2  $\mu$ M) y LysoTracker Red-DND (10 nM) con células HeLa durante 24 h. **A:** Imágenes con irradiación a 405 nm. **B:** Imágenes con irradiación a 588 nm. **C:** Superposición de imágenes A y B. **D:** Superposición de imágenes A, B y el contraste. Las flechas y círculos señalan respectivamente la localización extracelular e intracelular del compuesto **35ag**. Anchura de las imágenes: 210  $\mu$ m.

Dado que la emisión del compuesto **35ag** no se superpone con la del LysoTracker, se supone otra localización diferente. Este compuesto parece localizarse cerca de la membrana celular en agregados. Por ello, se realizó otro experimento utilizando un tinte específico para la membrana celular (*CellMask Orange*). De nuevo, puede observarse como la emisión del compuesto **35ag** se sitúa cerca de la membrana (Figura 4.15).



**Figura 4.15.** Imágenes de microscopía de fluorescencia tras incubar el compuesto **35ag** ( $2 \mu\text{M}$ ) y *CellMask Orange* ( $5 \times 10^{-4} \text{ mg mL}^{-1}$ ) con células HeLa durante 48 h. **A:** Imágenes con irradiación a 405 nm. **B:** Imágenes con irradiación a 554 nm. **C:** Superposición de imágenes A y B. **D:** Superposición de imágenes A, B y el contraste. Anchura de las imágenes:  $210 \mu\text{m}$ .

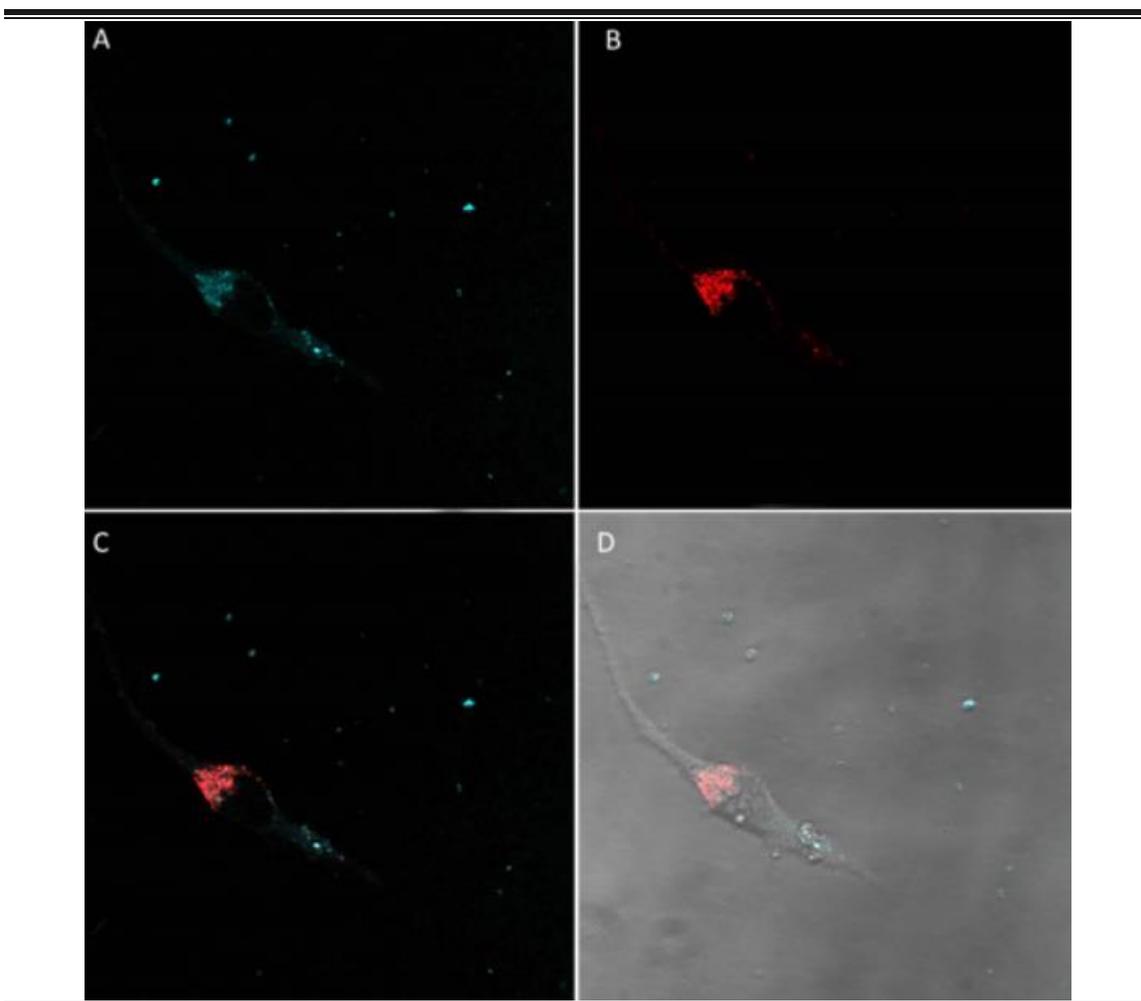
En cambio, para el compuesto **35ac**, no se observa emisión en la región intracelular y solo se ven puntos con una emisión alta fuera de las células, lo que indica la precipitación del compuesto (Figura 4.16).



**Figura 4.16.** Imágenes de microscopía de fluorescencia tras incubar el compuesto **35ac** (2  $\mu$ M) y LysoTracker Red-DND (10 nM) con células HeLa durante 24 h. **A:** Imágenes con irradiación a 405 nm. **B:** Imágenes con irradiación a 588 nm. **C:** Superposición de imágenes A y B. **D:** Superposición de imágenes A, B y el contraste. Anchura de las imágenes: 210  $\mu$ m.

Para finalizar, se ha comprobado que los compuestos **35ad** y **35ah** no son visibles con esta técnica. Esto puede ser debido a dos factores: la baja concentración utilizada para evitar la muerte celular (2  $\mu$ M) y/o la longitud de onda usada en las pruebas (405 nm), que no encaja perfectamente con el máximo de excitación de las muestras (< 400 nm). Por ello, en base a los resultados, se puede concluir que, aunque los derivados de urea **35** mostraron una emisión superior a sus precursores **19**, su visualización por microscopía de fluorescencia no es satisfactoria para todos los compuestos. El hecho de que son más citotóxicos que las 1,4-DHPs **19** nos fuerza a utilizar una concentración mucho más pequeña, impidiendo su visualización. Sólo pudo observarse internalización en el caso específico del compuesto **35ag**. Éste se acumula cerca de la membrana celular, mientras que para los compuestos **19ad** y **19ah**, teniendo una menor intensidad de emisión,

mostraron una acumulación lisosomal al incubarlos en la línea celular HeLa. Los comportamientos mostrados pueden explicar los datos de citotoxicidad obtenidos, ya que sugieren un mecanismo de acción diferente. Por un lado, las 1,4-DHPs **19** son menos citotóxicas, lo que se puede relacionar con su localización en los lisosomas, ya que estos podrían estar previniendo la interacción de los compuestos con su diana terapéutica. Mientras tanto, los derivados de urea **35**, mucho más citotóxicos, parecen interactuar con los fosfolípidos y proteínas de la membrana celular. Para probar la dificultad que experimentan las 1,4-DHPs **19** para escapar de los lisosomas, se realizó otro experimento de incubación a 48 h con el compuesto **19ah** en la línea celular HeLa (Figura 4.17).



**Figura 4.17.** Imágenes de microscopía de fluorescencia tras incubar el compuesto **19ah** (150  $\mu$ M) y LysoTracker Red-DND (10 nM) con células HeLa durante 48 h. **A:** Imágenes con irradiación a 405 nm. **B:** Imágenes con irradiación a 588 nm. **C:** Superposición de imágenes A y B. **D:** Superposición de imágenes A, B y el contraste. Anchura de las imágenes: 210  $\mu$ m.

### Estudio *in vivo*

Tras recopilar las propiedades fotofísicas y biológicas (*in vitro*) de los compuestos, decidimos dar un paso más, comenzando los ensayos en ratones con algunos compuestos seleccionados (**19ab**, **19ae**, **35ae** y **35ah**). El procedimiento realizado es un test de toxicidad oral aguda.<sup>224</sup> El procedimiento se basa en administrar por vía intraperitoneal una rampa de dosis de los compuestos (pendiente 2, comenzando por 0.175 mg/kg hasta 0.550 mg/kg) a hembras de ratón RjOrl:SWISS de 7-10 semanas de vida en intervalos de 48 horas.

Las dosis de los compuestos se prepararon como una suspensión en agua (hasta un 5 % de DMSO) y fueron administradas en un volumen de 1 mL/100 g de peso del individuo. Posteriormente, la salud de los especímenes se evaluó mediante pesajes y mediante una escala sobre su estado general (0-11 puntos).<sup>225</sup> Los datos se recopilaron tras 1, 2, 7 y 14 días (Tabla S4.3).

En cuanto a la variación en el peso de los especímenes, no se detectó ninguna pérdida reseñable tras 48 h, estando ésta en todos los casos por debajo del 5 % de pérdida de peso. Ocurre lo mismo tras 7 y 14 días donde solo se observa un aumento de peso de acuerdo con el sexo y el estrés de los animales. En su estado general, la escala de Morton y Griffiths<sup>225</sup> muestra un 0 para todos los especímenes tras 14 días, lo que significa que no se encontró ningún cambio en su estado y comportamiento. Estos resultados destacan aún más sabiendo que las dosis administradas de estos compuestos son entre 2000 y 7200 veces más concentradas que los valores de IC<sub>50</sub> de los compuestos seleccionados. Con estos datos, se puede concluir que los compuestos no son tóxicos en células sanas o, al menos, presentan una especificidad mayor hacia las líneas celulares de cáncer ensayadas. Estos resultados suponen el primer y prometedor paso en el descubrimiento de nuevos fármacos para el tratamiento del cáncer basados en derivados de 1,4-DHP y ureas.

---

<sup>224</sup> Test número 425: *Acute Oral Toxicity: Up-and-Down Procedure*. [www.oecd.org/env/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure-9789264071049-en.htm](http://www.oecd.org/env/test-no-425-acute-oral-toxicity-up-and-down-procedure-9789264071049-en.htm) (Acceso: 27 Abril 2020).

<sup>225</sup> D. B. Morton, P. H. Griffiths, *Vet. Rec.* **1985**, *116*, 431-436.

#### 4.4 Conclusiones

Se ha logrado sintetizar por primera vez derivados urea a partir de 1,4-DHPs mediante un procedimiento muy sencillo con unos rendimientos de moderados a excelentes. Este hecho constituye en sí mismo un importante avance en la síntesis de compuestos heterocíclicos de interés por las interesantes propiedades de ambas familias. Se ha evaluado el potencial de las 1,4-DHPs **19** y los derivados de urea **35**, como agentes anticancerígenos, revelándose que los derivados urea mejoran ampliamente la citotoxicidad de sus precursores, lo que demuestra una sinergia entre las dos familias. Se ha puesto a prueba la influencia de la quiralidad de los compuestos en la citotoxicidad, descubriéndose que, en casi todos los casos, los enantiómeros son menos activos que las mezclas racémicas correspondientes. Las pruebas de solubilidad muestran que esta no influye, al menos en gran medida, en los resultados de citotoxicidad observados, por lo que el mecanismo detrás de este fenómeno es aún desconocido. Para estudiar el mecanismo de acción de los compuestos se ha realizado un ensayo de citometría de flujo con el compuesto **19ac**, con el cual se pone de manifiesto que estos compuestos promueven un mecanismo de muerte celular independiente de caspasas. Ambas familias de compuestos presentan luminiscencia, lo que ha permitido analizar su idoneidad como agentes de visualización celular y explorar su biodistribución mediante microscopía confocal de fluorescencia, lo que ha mostrado que los compuestos **19** se acumulan en los lisosomas, mientras que los compuestos **35** parecen interactuar con los fosfolípidos y proteínas presentes en las membranas celulares. Esta diferencia puede explicar la citotoxicidad de ambas familias. Las 1,4-DHPs **19** podrían tener una menor actividad debido a que los lisosomas podrían evitar su liberación efectiva al medio celular, disminuyendo la interacción con sus dianas terapéuticas. Por último, el análisis de la toxicidad de los compuestos *in vivo* usando concentraciones hasta 7200 veces mayores que el IC<sub>50</sub> de los compuestos, revela que no existe una toxicidad aparente para los especímenes, lo que apoya el futuro desarrollo de estos compuestos como fármacos antitumorales. Actualmente se está siguiendo con los estudios *in vivo* en nuestro laboratorio.

## 4.5 Parte experimental

### Cultivos celulares

Las líneas celulares HeLa (carcinoma cervical humano) y A549 (carcinoma de pulmón humano) se cultivaron en un medio alto en glucosa DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) con suplementos de un 5 % de suero fetal bovino (FBS), penicilina 200 U/mL, estreptomina 100 µg/mL y (L)-glutamina 2 mM. La línea celular Jurkat se cultivó en un medio de glucosa RPMI 1640 con suplementos de un 5 % de suero fetal bovino (FBS), penicilina 200 U/mL, estreptomina 100 µg/mL y (L)-glutamina 2 mM. Los cultivos se almacenaron en una atmósfera húmeda con un 95 % aire / 5 % CO<sub>2</sub> a 37 °C.

### Ensayos de citotoxicidad

Se utilizó el ensayo MTT para determinar la viabilidad celular como un indicador de la sensibilidad de las células a los compuestos. Se sembraron células con crecimiento exponencial a una densidad aproximada de 10<sup>4</sup> células por pocillo (HeLa y A549) o 5x10<sup>5</sup> células/mL (Jurkat) en placas de 96 pocillos de base plana y se dejó que se adhirieran durante 24 h antes de la adición de los compuestos (HeLa y A549). Los compuestos se disolvieron en DMSO y se adicionaron a las células en concentraciones desde 0.5 a 200 µM por cuadruplicado. Después, se dejaron incubar durante 24 h a 37 °C. Más tarde, se adicionaron 10 µL de MTT (5 mg/mL) en cada pocillo y se dejó incubar de nuevo durante 2 h a 37 °C. Por último, se eliminó el medio (en el caso de las células Jurkat se centrifugó la placa antes durante 20 minutos a 2500 rpm) y se adicionaron 100 µL de DMSO por pocillo para disolver los cristales de formazán. La densidad óptica se midió a 550 nm usando un aparato automático de tipo ELISA. El IC<sub>50</sub> se calculó por regresión no lineal usando el programa Origin pro. Cada compuesto se ensayó un mínimo de 3 veces de manera independiente.

### Citometría de flujo

La línea celular HeLa tratada con el compuesto **19ac** se analizó midiendo la exposición de la fosfatidilserina. Se sembraron células HeLa (6 x 10<sup>4</sup> células por pocillo) en placas de 24 pocillos y se dejó que se adhirieran durante 24 h. Después, se trató las células con el compuesto a una concentración de 100 µM y se dejó incubar durante 24 h en presencia o ausencia de un inhibidor general de caspasas (z-VAD-fmk, 30 µM,

MedChemExpress). Tras el tratamiento se midió la exposición de la fosfatidilserina marcando las células con anexina V-FITC.<sup>226</sup> Las células se centrifugaron durante 5 minutos a 200 x g y fueron resuspendidas en 100 µL de *Annexin Binding Buffer* (ABB) con Anexina V-FITC. Las células se incubaron a temperatura ambiente durante 15 minutos, se diluyeron a 500 µL con ABB y se analizaron por citometría de flujo (FACScalibur, BD Bioscience, España).

### **Microscopía de fluorescencia**

La línea celular HeLa (carcinoma cervical humano) se cultivó en un medio alto en glucosa DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle's Medium*) con suplementos de un 5 % de suero fetal bovino (FBS), penicilina 200 U/mL, estreptomicina 100 µg/mL y (L)-glutamina 2 mM. Las células se desprendieron del recipiente de plástico usando una disolución de tripsina-EDTA y se suspendieron en un exceso de medio de cultivo. Más tarde, se depositaron 300 µL de la suspensión homogénea en una placa *µ-slide 8 well ibiTreat* y se dejó que se adhirieran durante 24 h. Después, se sustrajeron 200 µL de medio y se adicionaron 100 µL de las disoluciones de compuesto hasta una concentración final de 2 µL para **35ac**, **35ad**, **35ag** y **35ah** o 150 µL para **19ad** y **19ah**. Se dejaron incubar los compuestos durante otras 24 o 48 h a 37 °C. Posteriormente, se adicionaron 50 µL de los tintes LysoTracker red DND-99 o CellMask Orange hasta una concentración final de 10 nM o  $5 \times 10^{-4}$  mg mL<sup>-1</sup> respectivamente y se dejó incubar el cultivo durante otros 30 o 10 minutos respectivamente a temperatura ambiente. Finalmente, el medio se reemplazó con medio nuevo y las muestras se visualizaron en un microscopio confocal láser compacto *Olympus FV10-i-Oil* usando objetivos x10 y x60 con unas longitudes de onda de excitación de 405, 588 y 554 nm.

### **Ensayo *in vivo***

Los experimentos siguen los procedimientos de investigación PI17/20 aprobados por el comité de ética para los experimentos con animales de la Universidad de Zaragoza. El cuidado y uso de los animales se llevó a cabo de acuerdo a la Política Española para la protección animal RD53/2013 y a la directiva de la Unión europea 2010/63 para la protección de animales usados para experimentación y otros propósitos científicos. Se usaron hembras adultas de ratones (7-10 semanas) RjOrl:SWISS, de *Janvier Laboratories*. Hasta un máximo de 5 especímenes se mantuvieron en cajas de 30 x 20 x

---

<sup>226</sup> S. Logue, M. Elgendy, S. Martin, *Nat. Protoc.* **2009**, *4*, 1383-1395.

15 cm, con acceso a agua y comida *ad libitum*. La temperatura de la estancia se mantuvo a  $23 \pm 1$  °C con un ciclo de luz de 12 h (comienzo a las 7:00 a.m.). Los fármacos se administraron por vía intraperitoneal en ratones conscientes con un volumen estándar de 10 mL/kg de peso. Los compuestos de ensayo se administraron como una suspensión en agua MiliQ (hasta un 5 % de DMSO). Los especímenes se controlaron individualmente al menos una vez durante los primeros 30 minutos desde la inyección, de manera periódica durante las primeras 24 h (con especial atención en las primeras 4 h) y diariamente desde ese momento, durante un total de 14 días. El estado de salud de los animales se controló usando la escala propuesta por Morton y Griffiths,<sup>225</sup> asignando una puntuación a la apariencia (0-3), condición física (0-2), comportamiento espontáneo (0-3) y comportamiento provocado (0-3) (Tabla S4.4).

### Experimentos UV-Vis para el cálculo de solubilidad

Los espectros UV-Vis se recogieron con un espectrofotómetro *Thermo Fischer Scientific Evolution 600*, en cubetas de 1 x 1 cm de cuarzo, en longitudes de onda de 230-300 nm y a 298 K. Para llevar a cabo el cálculo de la solubilidad de los compuestos **19ac** y **35ac** es necesario preparar disoluciones madre 0.01 M en DMSO. A partir de ellas se prepararon disoluciones intermedias de 0.002 M (**19ac**) y 0.0001 M (**35ac**). Tras esto, las disoluciones de ensayo se prepararon en 2 mL de agua a los que se realizaron sucesivas adiciones de 5 µL, recogiendo los correspondientes espectros tras cada adición (es necesario añadir la cantidad correspondiente de DMSO a la cubeta de referencia). Se obtienen un total de 6 medidas con una concentración final aproximada de 30 µM en el caso del compuesto **19ac** y 1.5 µM para el compuesto **35ac**. Tras la obtención de los datos en bruto, se representaron los datos de absorbancia a 243 (**19ac**) y 247 nm (**35ac**) frente a las concentraciones de los compuestos y se realizó un ajuste lineal de los datos siguiendo la fórmula de Beer-Lambert (Ecuación 2).

---

---

$$A = \epsilon C l \quad (2)$$

---

---

En esta ecuación; **A** corresponde a la absorbancia,  $\epsilon$  es el coeficiente de extinción molar, **C** corresponde a la concentración molar y **l** a la longitud del paso de luz. En la recta obtenida, la pendiente obtenida resulta ser el correspondiente coeficiente de extinción molar (**19ac**:  $\epsilon_{243} = 21020 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ; **35ac**:  $\epsilon_{247} = 24699 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Tras la obtención de los coeficientes, para conocer la máxima concentración en

disolución de los compuestos en sus formas racémicas y enantioméricamente enriquecidas, se miden los espectros de cada muestra adicionando 75  $\mu\text{L}$  de las disoluciones madre 0.01 M a 2 mL de agua. Tras las adiciones se observa la aparición de precipitado, por lo que se filtra cada disolución 5 veces con un filtro de HPLC (022  $\mu\text{m}$ ) y se mide su espectro. Los valores mostrados en la Tabla 4.4 se calcularon gracias a los coeficientes de extinción molar obtenidos previamente y a los datos de absorbancia de cada muestra (**19ac** 243 nm y **35ac** 247 nm).

### Procedimientos experimentales generales e instrumentación

La purificación de los productos de reacción se realiza mediante columna cromatográfica usando sílica gel (0.063-0.200 mm) o por filtración. La cromatografía de capa fina para el seguimiento de las reacciones se realizó en placas de sílica gel 60-F de 0.25 mm. Las medidas de espectrometría de masas de alta resolución se realizaron con el método de ionización ESI, en un instrumento de tipo MicroTof-Q. Los cromatogramas de HPLC se recogieron en un HPLC analítico Waters (Delta 600, 2996 *Photodiode Array Detector*). Los espectros de IR se registraron en un espectrómetro PerkinElmer Spectrum 100 FT-IR. Las medidas de rotación óptica se tomaron en un polarímetro digital JASCO DIP-370. La espectroscopía de RMN se realizó en un espectrómetro Bruker AVANCE-II. Los espectros de  $^1\text{H}$ -RMN se recogieron a 300 y 400 MHz y los de  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN a 75 y 100 MHz; (min.: isómero minoritario); usando  $\text{DMSO-}d_6$  como disolvente. Los desplazamientos químicos se describen en la escala  $\delta$  relativa a los picos residuales de DMSO (2.50 ppm) para  $^1\text{H}$ -RMN y a la línea central de  $\text{DMSO-}d_6$  (39.43 ppm) para  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Gallenkamp MDP350 sin corrección. Las medidas de luminiscencia a temperatura ambiente se tomaron con un espectrómetro Jobin-Yvon-Horiba fluorolog FL3-11.

### Datos

Los datos espectroscópicos para los compuestos **19aa**, **19ab**, **19ac**, **19ae**, **19af**, **19ag**, **19ah** y **19aj** son consistentes con los valores encontrados en la bibliografía.<sup>75</sup> Los espectros de RMN de todos los nuevos productos y todas las pruebas relacionadas con las pruebas biológicas están recogidos en la información suplementaria.

Todos los reactivos y disolventes de origen comercial se usaron como son suministrados.

### Procedimiento general para la síntesis de los derivados de 1,4-DHP **19**

A una disolución de la enamina **9a** (0.4 mmol) en 2 mL de metanol, se adicionan 16.7  $\mu$ L de  $\text{NEt}_3$  (0.12 mmol, 30 mol%) (Esquema 4.3). Tras esto, se adiciona el correspondiente alquilidenmalononitrilo **22** (0.4 mmol). Después, la mezcla de reacción se deja agitando a temperatura ambiente durante 3 días. La reacción se controla por cromatografía de capa fina (*n*hexano:AcOEt 70:30).

Purificación: Cuando la reacción termina, se evapora el disolvente a vacío y el crudo resultante se purifica por columna cromatográfica ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a *n*hexano:AcOEt 50:50), dando lugar a los productos finales **19**.

En el caso de los compuestos enantioenriquecidos para las pruebas biológicas, ambos compuestos se sintetizaron siguiendo el procedimiento del Capítulo 2.2 usando los catalizadores  $(\text{DHQ})_2\text{Pyr}$  y  $(\text{DHQD})_2\text{Pyr}$  para obtener los compuestos (L) y (D), respectivamente (Esquema 4.5).<sup>75</sup> Tras esto, se realizaron recristalizaciones en  $\text{Et}_2\text{O}$  para aumentar la enantioselectividad.

#### **6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19aa)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19aa** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 99 % de rendimiento (195.8 mg).  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) 3.37 (s, 3H), 3.49 (s, 3H), 3.82 (s, 3.75H), 3.90 (s, 2.25H), 4.61 (s, 0.75H), 4.65 (s, 0.25H), 5.71 (s a, 2H), 6.55-6.59 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 0.25H), 6.71-6.72 (m, 0.75H), 7.12-7.15 (m, 0.75H), 7.23-7.26 (m, 0.25H), 7.55-7.57 (m, 0.5H), 7.65-7.68 (m, 1.5H), 8.26-8.29 (m, 0.5H), 8.30-8.33 (m, 1.5H).

#### **6-Amino-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ab)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ab** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 99 % de rendimiento (191.6 mg).  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ) 3.36 (s, 3H), 3.51 (s, 3H), 3.81 (s, 3.6H), 3.89 (s, 2.4H), 4.46 (s, 0.8H), 4.50 (s, 0.2H), 5.63 (s a, 2H), 6.55-6.59 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 0.2H), 6.71-6.72 (m, 0.8H), 7.11-7.14 (m, 1H), 7.26-7.28 (m, 0.4H), 7.34-7.36 (m, 1.6H), 7.41-7.45 (m, 2H).

**6-Amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ac)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ac** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 60 % de rendimiento (116.1 mg). El ee [98 % (L) y 81 % (D)] de los productos para los ensayos de citotoxicidad fue determinado por HPLC usando una columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano/*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min,  $\lambda = 235.4$  nm):  $\tau$ -(L) = 15.8;  $\tau$ -(D) = 8.7; (L)  $[\alpha]_D^{20.2} = -7.9$  ( $c = 0.1$ , MeOH, 98 % ee); (D)  $[\alpha]_D^{20.4} = +7.7$  ( $c = 0.11$ , MeOH, 81 % ee).  $^1\text{H-RMN}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 3.32 (s, 0.6H), 3.35 (s, 2.4H), 3.49 (s, 0.6H), 3.50 (s, 2.4H), 3.80 (s, 0.6H), 3.81 (s, 3H), 3.86 (s, 2.4H), 4.43 (s, 0.8H), 4.48 (s, 0.2H), 5.57 (s a, 2H), 6.55-6.59 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 0.2H), 6.70-6.71 (m, 0.8H), 7.11-7.13 (m, 0.8H), 7.15-7.18 (m, 0.2H), 7.29-7.31 (m, 0.8H), 7.42-7.50 (m, 4H).

**6-Amino-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ad)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ad** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 99 % de rendimiento (187.9 mg). P.f. 219-221 °C.  $^1\text{H-RMN}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) 3.36 (s, 3H), 3.48 (s, 0.6H), 3.49 (s, 2.4H), 3.81 (s, 3.6H), 3.87 (s, 2.4H), 4.53 (s, 0.8H), 4.58 (s, 0.2H), 5.68 (s a, 2H), 6.55-6.59 (m, 1H), 6.67-6.69 (m, 0.2H), 6.71-6.72 (m, 0.8H), 7.11-7.14 (m, 0.8H), 7.18-7.21 (m, 0.2H), 7.46-7.49 (m, 0.4H), 7.59-7.62 (m, 1.6H), 7.85-7.88 (m, 0.4H), 7.92-7.95 (m, 1.6H).  $^{13}\text{C-APT-RMN}$  (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  39.2(1C), 51.8(min.), 51.9(1C), 52.3(min.), 52.3(1C), 55.6(1C), 55.9(min.), 56.2(1C), 57.6(min.), 58.4(1C), 99.2(1C), 99.5(min.), 102.4(min.), 102.9(1C), 105.1(1C), 105.3(min.), 109.7(1C), 115.7(min.), 115.8(1C), 118.8(min.), 118.9(1C), 120.8(1C), 120.9(min.), 127.9(min.), 128.1(2C), 132.3(1C), 132.4(min.), 132.6(2C), 132.8(min.), 143.4(1C), 143.6(min.), 151.2(1C), 151.3(1C), 157.6(min.), 157.7(1C), 161.9(1C), 161.9(min.), 162.5(min.), 162.8(1C), 164.8(1C), 164.8(min.). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3433, 3328, 3227, 2953, 2842, 2227, 2181, 1745, 1705, 1649, 1611, 1570, 1506, 1422, 1220, 1209, 1163, 1109, 1052, 1026, 831, 558. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6\text{Na}$  497.1432; encontrado 497.1418 [M+Na].

**6-Amino-4-(4-bromofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ae)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ae** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 38 % de rendimiento (80.3 mg). <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.31 (s, 0.6H), 3.35 (s, 2.4H), 3.49 (s, 0.6H), 3.50 (s, 2.4H), 3.80 (s, 0.6H), 3.81 (s, 3H), 3.86 (s, 2.4H), 4.42 (s, 0.8H), 4.47 (s, 0.2H), 5.59 (s a, 2H), 6.53-6.60 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 0.2H), 6.70-6.71 (m, 0.8H), 7.11-7.13 (m, 0.8H), 7.15-7.17 (m, 0.2H), 7.23-7.25 (m, 0.4H), 7.36-7.38 (m, 1.6H), 7.57-7.59 (m, 0.4H), 7.61-7.63 (m, 1.6H).

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19af)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19af** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 91 % de rendimiento (180.0 mg). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.31 (s, 1.26H), 3.35 (s, 1.74H), 3.59 (s, 1.74H), 3.59 (s, 1.26H), 3.75 (s, 1.74H), 3.80 (s, 4.26H), 4.72 (s, 0.58H), 4.76 (s, 0.42H), 5.64 (s a, 1.16H), 5.69 (s a, 0.84H), 6.53-6.59 (m, 1H), 6.66-6.67 (m, 1H), 6.91-6.92 (m, 0.42H), 6.96-7.06 (m, 1.74H), 7.09-7.12 (m, 0.84H), 7.40-7.41 (m, 1H).

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(p-tolil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ag)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ag** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 37 % de rendimiento (68.6 mg). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 2.30 (s, 3H), 3.31 (s, 0.75H), 3.35 (s, 2.25H), 3.49 (s, 3H), 3.81 (s, 3.75H), 3.86 (s, 2.25H), 4.36 (s, 0.75H), 4.40 (s, 0.25H), 5.47 (s a, 2H), 6.52-6.60 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 0.25H), 6.69-6.70 (m, 0.75H), 7.09-7.14 (m, 1H), 7.15-7.22 (m, 2.5H), 7.30-7.32 (m, 1.5H).

**6-Amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (19ah)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19ah** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 42 % de rendimiento (75.5 mg). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.32 (s, 0.9H), 3.35 (s, 2.1H), 3.49 (s, 3H), 3.81 (s, 3.9H), 3.85 (s, 2.1H), 4.41 (s, 0.7H), 4.45 (s, 0.3H), 5.52 (s a, 2H), 6.53-6.60 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 0.3H), 6.70-6.71 (m, 0.7H), 7.09-7.16 (m, 1H), 7.22-7.31 (m, 1.5H), 7.35-7.41 (m, 3.5H).

**6'-Amino-5'-ciano-1'-(2,4-dimetoxifenil)-1',4'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-2',3'-dicarboxilato de metilo (19aj)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **19aj** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 99 % de rendimiento (178.4 mg). <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.32 (s, 0.6H), 3.36 (s, 2.4H), 3.49 (s, 0.6H), 3.51 (s, 2.4H), 3.81 (s, 3.6H), 3.87 (s, 2.4H), 4.48 (s, 0.8H), 4.53 (s, 0.2H), 5.67 (s a, 2H), 6.55-6.59 (m, 1H), 6.67-6.68 (m, 0.2H), 6.70-6.71 (m, 0.8H), 7.12-7.15 (m, 0.8H), 7.19-7.22 (m, 0.2H), 7.40-7.52 (m, 1H), 7.68-7.71 (m, 0.2H), 7.81-7.84 (m, 0.8H), 8.47-8.49 (m, 1.2H), 8.63-8.64 (m, 0.8H).

**Procedimiento general para la síntesis de los derivados de urea 35**

A una disolución del correspondiente derivado de 1,4-DHP **19** (0.1 mmol) en 1 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> se le añaden 19 μL del isocianato **34** (0.11 mmol). La mezcla de reacción se deja agitando a temperatura ambiente durante 3 días. La reacción se controla por cromatografía de capa fina (tolueno:AcOEt 50:50).

Purificación: Un sólido precipita durante la reacción. El crudo se filtra y se lava con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 0.5 mL) y Et<sub>2</sub>O (3 x 0.5 mL), produciendo el producto correspondiente **35**.

Para el caso de los compuestos enantioenriquecidos para las pruebas biológicas, se siguió el procedimiento general.

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35aa)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35aa** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 78 % de rendimiento (58.5 mg). P.f. 233-235 °C. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.41 (s, 3H), 3.53 (s, 0.6H), 3.55 (s, 2.4H), 3.75 (s, 2.4H), 3.76 (s, 0.6H), 3.87 (s, 3H), 4.97 (s, 0.8H), 5.01 (s, 0.2H), 6.45-6.46 (m, 0.8H), 6.50-6.53 (m, 0.2H), 6.65-6.68 (m, 0.8H), 6.68-6.69 (m, 0.2H), 7.12-7.21 (m, 1H), 7.63-7.66 (m, 1H), 7.76-7.79 (m, 0.4H), 7.82-7.86 (m, 1.6H), 7.92-7.94 (m, 0.4H), 7.97-7.99 (m, 1.6H), 8.07 (s a, 0.2H), 8.31-8.43 (m, 2H), 8.80 (s a, 0.8H), 9.40 (s a, 0.8H), 9.52 (s a, 0.2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 41.0 (1C), 52.2 (1C), 53.0 (1C), 56.0 (1C), 56.3 (1C), 84.2 (1C), 98.8 (1C), 102.5 (1C), 104.5 (1C), 115.1-115.4 (m, 1C), 116.9 (1C), 118.1-118.5 (m, 2C), 123.2 (c, *J* = 272.9 Hz, 2C), 124.0 (2C), 124.3

(min.), 129.0 (min.), 129.1 (2C), 130.7 (c,  $J = 32.4$  Hz, 2C), 131.2 (1C), 138.1 (1C), 141.1 (1C), 143.6 (1C), 144.6 (1C), 147.1 (1C), 150.8 (1C), 151.6 (1C), 157.4 (1C), 161.5 (1C), 162.4 (1C), 164.6 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3364, 3306, 2960, 2848, 1748, 1715, 1697, 1656, 1602, 1570, 1531, 1509, 1472, 1374, 1348, 1274, 1260, 1229, 1179, 1133, 1111, 884, 726, 702, 681, 258. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_9$  750.1629; encontrado 750.1543 [M+H].

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35ab)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35ab** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 83 % de rendimiento (61.3 mg). P.f. 235-237 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 3.41 (s, 3H), 3.56 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.86 (s, 0.6H), 3.88 (s, 2.4H), 4.81 (s, 0.8H), 4.86 (s, 0.2H), 6.40-6.50 (m, 0.8H), 6.50-6.54 (m, 0.2H), 6.63-6.69 (m, 1H), 7.07-7.15 (m, 1H), 7.37-7.46 (m, 1H), 7.46-7.58 (m, 2H), 7.59-7.72 (m, 2H), 7.96 (s, 0.4H), 8.01 (s, 1.6H), 8.11 (s a, 0.2H), 8.85 (s a, 0.8H), 9.38 (s a, 0.8H), 9.51 (s a, 0.2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ 40.3 (1C), 52.1 (1C), 52.5 (1C), 55.5 (1C), 55.6 (min.), 56.1 (1C), 56.3 (min.), 86.0 (1C), 98.9 (1C), 99.1 (min.), 102.7 (1C), 104.7 (min.), 115.1-115.2 (m, 1C), 117.0 (1C), 117.9 (1C), 118.4-118.5 (m, 2C), 123.2 (c,  $J = 272.8$  Hz, 2C), 126.7 (1C), 127.7 (1C), 127.8 (1C), 130.5 (1C), 130.6 (c,  $J = 32.6$  Hz, 2C), 131.2 (1C), 133.5 (1C), 141.1 (1C), 143.2 (1C), 143.6 (1C), 146.3 (1C), 151.7 (1C), 157.5 (1C), 161.4 (1C), 162.5 (1C), 164.7 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3371, 3277, 2957, 2843, 2216, 1752, 1718, 1692, 1654, 1603, 1565, 1510, 1498, 1474, 1373, 1275, 1230, 1211, 1186, 1122, 1089, 1049, 777, 703, 681, 572. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{ClF}_6\text{N}_4\text{O}_7$  739.1389; encontrado 739.1352 [M+H].

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35ac)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35ac** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 99 % de rendimiento (73.2 mg). P.f. 248-250 °C. (L)-**35ac**  $[\alpha]_{\text{D}}^{22.4} = -41.6$  ( $c = 0.1$ , acetona); (D)-**35ac**  $[\alpha]_{\text{D}}^{22.2} = +34.7$  ( $c = 0.11$ , acetona).  $^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 3.40 (s, 2.4H), 3.50 (s, 0.6H), 3.54 (s, 0.6H), 3.55 (s, 2.4H), 3.74 (s, 2.4H), 3.75 (s, 0.6H), 3.81 (s, 0.6H), 3.85 (s, 2.4H), 4.76 (s, 0.8H), 4.81 (s, 0.2H), 6.43-6.47 (m, 0.8H), 6.47-6.52 (m, 0.2H), 6.62-6.72 (m, 1H), 7.10-7.15 (m, 1H), 7.41-7.70 (m, 5H), 7.94 (s, 0.4H), 7.99 (s, 1.6H), 8.05 (s a, 0.2H),

8.79 (s a, 0.8H), 9.35 (s a, 0.8H), 9.48 (s a, 0.2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  38.5 (1C), 52.0 (1C), 52.4 (min.), 52.5 (1C), 55.5 (1C), 55.6 (min.), 56.1 (1C), 56.3 (min.), 86.1 (1C), 98.8 (1C), 99.1 (min.), 102.9 (1C), 104.4 (1C), 115.1-115.2 (m, 1C), 117.0 (1C), 117.9 (1C), 118.4-118.5 (m, 2C), 123.2 (c,  $J = 272.8$  Hz, 2C), 128.7 (2C), 128.9 (min.), 129.5 (min.), 129.7 (2C), 130.7 (c,  $J = 32.8$  Hz, 2C), 131.1 (min.), 131.2 (1C), 132.3 (1C), 141.1 (1C), 142.9 (1C), 143.1 (1C), 143.5 (1C), 151.7 (1C), 157.5 (1C), 161.4 (1C), 162.5 (1C), 164.8 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3357, 3287, 3113, 2957, 2845, 2217, 1744, 1716, 1692, 1652, 1601, 1569, 1510, 1493, 1473, 1389, 1374, 1274, 1223, 1210, 1185, 1127, 1088, 1049, 827, 703, 681, 584, 551, 253. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{33}\text{H}_{26}\text{ClF}_6\text{N}_4\text{O}_7$  739.1389; encontrado 739.1409 [M+H].

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35ad)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35ad** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 99 % de rendimiento (72.2 mg). P.f. 212-214 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) 3.42 (s, 2.4H), 3.50 (s, 0.6H), 3.55 (s, 2.4H), 3.74 (s, 2.4H), 3.81 (s, 0.6H), 3.86 (s, 2.4H), 4.90 (s, 0.8H), 4.96 (s, 0.2H), 6.43-6.48 (m, 0.8H), 6.48-6.53 (m, 0.2H), 6.63-6.70 (m, 1H), 7.08-7.24 (m, 1H), 7.58-7.68 (m, 1H), 7.68-7.74 (m, 0.4H), 7.74-7.86 (m, 1.6H), 7.86-7.96 (m, 0.4H), 7.96-8.20 (m, 3.8H), 8.84 (s a, 0.8H), 9.41 (s a, 0.8H), 9.53 (s a, 0.2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  40.5 (1C), 52.1 (min.), 52.1 (1C), 52.5 (min.), 52.5 (1C), 55.5 (1C), 55.6 (min.), 56.2 (1C), 56.3 (min.), 85.4 (1C), 98.8 (1C), 102.5 (1C), 104.4 (1C), 110.5 (1C), 115.1-115.2 (m, 1C), 116.9 (1C), 117.8 (1C), 118.4-118.5 (m, 2C), 118.7 (1C), 123.2 (c,  $J = 272.7$  Hz, 2C), 128.7 (min.), 128.8 (2C), 130.7 (c,  $J = 32.7$  Hz, 2C), 131.2 (1C), 132.8 (2C), 133.0 (min.), 140.8 (min.), 141.0 (1C), 143.2 (min.), 143.5 (1C), 143.9 (1C), 148.9 (1C), 151.6 (1C), 157.0 (min.), 157.4 (1C), 161.5 (1C), 161.7 (min.), 162.4 (1C), 164.6 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3355, 3279, 3109, 2959, 2848, 2233, 2217, 1746, 1716, 1686, 1651, 1602, 1568, 1515, 1494, 1474, 1443, 1388, 1375, 1275, 1235, 1221, 1183, 1129, 1027, 882, 844, 704, 682, 587, 558. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{34}\text{H}_{26}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_7$  730.1731; encontrado 730.1695 [M+H].

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-4-(4-bromofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35ae)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35ae** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 54 % de rendimiento (42.3 mg). P.f. 251-253 °C. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.39 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.74 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 4.74 (s, 0.8H), 4.79 (s, 0.2H), 6.40-6.54 (m, 1H), 6.63-6.71 (m, 1H), 7.10-7.13 (m, 1H), 7.43-7.45 (m, 0.4H), 7.51-7.53 (m, 1.6H), 7.61-7.77 (m, 3H), 7.92-7.93 (m, 0.4H), 7.98-8.00 (m, 1.6H), 8.06 (s a, 0.2H), 8.78 (s a, 0.8H), 9.35 (s a, 0.8H), 9.48 (s a, 0.2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 40.0 (1C), 51.9 (min.), 52.1 (1C), 52.3 (min.), 52.5 (1C), 55.5 (1C), 55.6 (min.), 56.2 (1C), 56.3 (min.), 86.1 (1C), 98.8 (1C), 99.1 (min.), 102.9 (1C), 104.4 (1C), 115.1-115.4 (m, 1C), 117.0 (1C), 118.0 (1C), 118.1-118.5 (m, 2C), 121.0 (1C), 123.2 (c, *J* = 272.9 Hz, 2C), 129.9 (min.), 130.1 (2C), 130.7 (c, *J* = 32.7 Hz, 2C), 131.2 (1C), 131.6 (2C), 131.9 (min.), 141.1 (1C), 143.1 (1C), 143.3 (1C), 143.5 (1C), 151.1 (min.), 151.7 (1C), 157.0 (min.), 157.5 (1C), 161.4 (1C), 162.2 (min.), 162.5 (1C), 164.8 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3357, 3288, 2955, 2844, 2217, 1745, 1716, 1692, 1653, 1602, 1570, 1510, 1492, 1473, 1374, 1275, 1231, 1186, 1174, 1128, 1049, 1036, 1026, 837, 827, 583. HRMS (ESI+) calculado para C<sub>33</sub>H<sub>26</sub>BrF<sub>6</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> 783.0884; encontrado 783.0762 [M+H].

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35af)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35af** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 50 % de rendimiento (37.5 mg). P.f. 215-217 °C. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) 3.41 (s, 3H), 3.55 (s, 3H), 3.74 (s, 2.4H), 3.76 (s, 0.6H), 3.81 (s, 2.4H), 3.86 (s, 0.6H), 5.03 (s, 0.8H), 5.05 (s, 0.2H), 6.45-6.49 (m, 0.8H), 6.52-6.55 (m, 0.2H), 6.65-6.66 (m, 0.8H), 6.69-6.70 (m, 0.2H), 7.12-7.16 (m, 1H), 7.64-7.67 (m, 1H), 7.81-7.86 (m, 1H), 7.93-7.95 (m, 0.4H), 7.97-8.02 (m, 1.8H), 8.05-8.08 (m, 1H), 8.22-8.25 (m, 1H), 8.36-8.40 (m, 1H), 8.80 (s a, 0.8H), 9.40 (s a, 0.8H), 9.54 (s a, 0.2H). <sup>13</sup>C-APT-RMN (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 40.2 (1C), 52.2 (1C), 52.6 (1C), 55.5 (1C), 55.6 (min.), 56.2 (1C), 56.3 (min.), 85.5 (1C), 98.9 (1C), 99.2 (min.), 102.5 (1C), 104.4 (1C), 104.8 (min.), 115.1-115.4 (m, 1C), 116.9 (1C), 117.8 (1C), 118.1-118.5 (m, 2C), 122.4 (1C), 122.8 (1C), 123.2 (c, *J* = 272.8 Hz, 2C), 130.4 (1C), 130.7 (c, *J* = 32.6 Hz, 2C), 130.7 (min.), 131.2 (1C), 131.5 (min.), 134.5 (min.), 134.8 (1C), 141.1 (1C), 143.2 (min.), 143.6 (1C), 144.0 (1C), 146.0 (1C), 148.1 (min.), 148.2 (1C), 151.7 (1C), 157.0 (min.), 157.5 (1C), 161.5 (1C), 161.7 (min.), 162.1 (min.), 162.4 (1C), 164.6 (min.), 164.6 (1C). IR (puro) (cm<sup>-1</sup>) ν 3486, 3369, 2951, 2845, 2212, 2183, 1740, 1708,

1649, 1604, 1569, 1511, 1475, 1377, 1351, 1276, 1211, 1177, 1120, 1096, 937, 726, 704, 681. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{33}H_{26}F_6N_5O_9$  750.1629; encontrado 750.1595 [M+H].

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(p-tolil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35ag)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35ag** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 71 % de rendimiento (51.0 mg). P.f. 242-244 °C.  $^1H$ -RMN (300 MHz, DMSO- $d_6$ ) 2.33 (s, 3H), 3.39 (s, 3H), 3.49 (s, 0.75H), 3.54 (s, 3H), 3.74 (s, 2.25H), 3.81 (s, 0.75H), 3.85 (s, 2.25H), 4.65 (s, 0.75H), 4.70 (s, 0.25H), 6.42-6.45 (m, 0.75H), 6.48-6.51 (m, 0.25H), 6.63-6.65 (m, 1H), 7.09-7.12 (m, 1H), 7.26-7.28 (m, 2H), 7.36-7.38 (m, 0.5H), 7.44-7.47 (m, 1.5H), 7.63-7.65 (m, 1H), 7.93-7.95 (m, 0.5H), 7.98-8.00 (m, 1.5H), 8.18 (s a, 0.25H), 8.82 (s a, 0.75H), 9.44 (s a, 0.75H), 9.75 (s a, 0.25H).  $^{13}C$ -APT-RMN (100 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  20.7 (1C), 40.1 (1C), 51.9 (min.), 51.9 (1C), 52.4 (1C), 52.4 (min.), 55.5 (1C), 55.5 (1C), 56.0 (1C), 56.3 (1C), 86.7 (1C), 87.2 (min.), 98.8 (1C), 103.2 (1C), 104.3 (1C), 115.1-115.4 (m, 1C), 117.2 (1C), 118.1 (1C), 118.1-118.5 (m, 2C), 123.2 (c,  $J = 272.5$  Hz, 2C), 127.6 (min.), 127.8 (2C), 129.2 (2C), 129.4 (min.), 130.7 (c,  $J = 32.6$  Hz, 2C), 131.1 (1C), 131.5 (1C), 136.8 (1C), 136.9 (min.), 140.9 (1C), 142.7 (min.), 142.7 (1C), 143.0 (1C), 151.8 (1C), 157.5 (1C), 161.4 (1C), 162.6 (1C), 163.0 (min.), 165.0 (1C). IR (puro) ( $cm^{-1}$ )  $\nu$  3353, 3290, 2955, 2216, 1744, 1717, 1689, 1652, 1600, 1568, 1513, 1493, 1474, 1442, 1375, 1275, 1234, 1221, 1184, 1122, 1086, 1030, 843, 703, 681, 589, 254. HRMS (ESI+) calculado para  $C_{34}H_{29}F_6N_4O_7$  719.1935; encontrado 719.1898 [M+H].

**6-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (35ah)**

Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35ah** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 61 % de rendimiento (43.0 mg). P.f. 230-232 °C.  $^1H$ -RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) 3.39 (s, 3H), 3.54 (s, 3H), 3.74 (s, 2.4H), 3.75 (s, 0.6H), 3.84 (s, 3H), 4.71 (s, 0.8H), 4.76 (s, 0.2H), 6.42-6.46 (m, 0.8H), 6.47-6.52 (m, 0.2H), 6.62-6.70 (m, 1H), 7.09-7.13 (m, 1H), 7.31-7.36 (m, 1H), 7.45-7.50 (m, 2H), 7.53-7.59 (m, 2H), 7.63-7.65 (m, 1H), 7.92-7.94 (m, 0.4H), 7.99-8.01 (m, 1.6H), 8.06 (s a, 0.2H), 8.82 (s a, 0.8H), 9.32 (s a, 0.8H), 9.47 (s a, 0.2H).  $^{13}C$ -APT-RMN (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  40.5 (1C), 52.0 (min.), 52.0 (1C), 52.4 (min.), 52.5 (1C), 55.5 (1C),

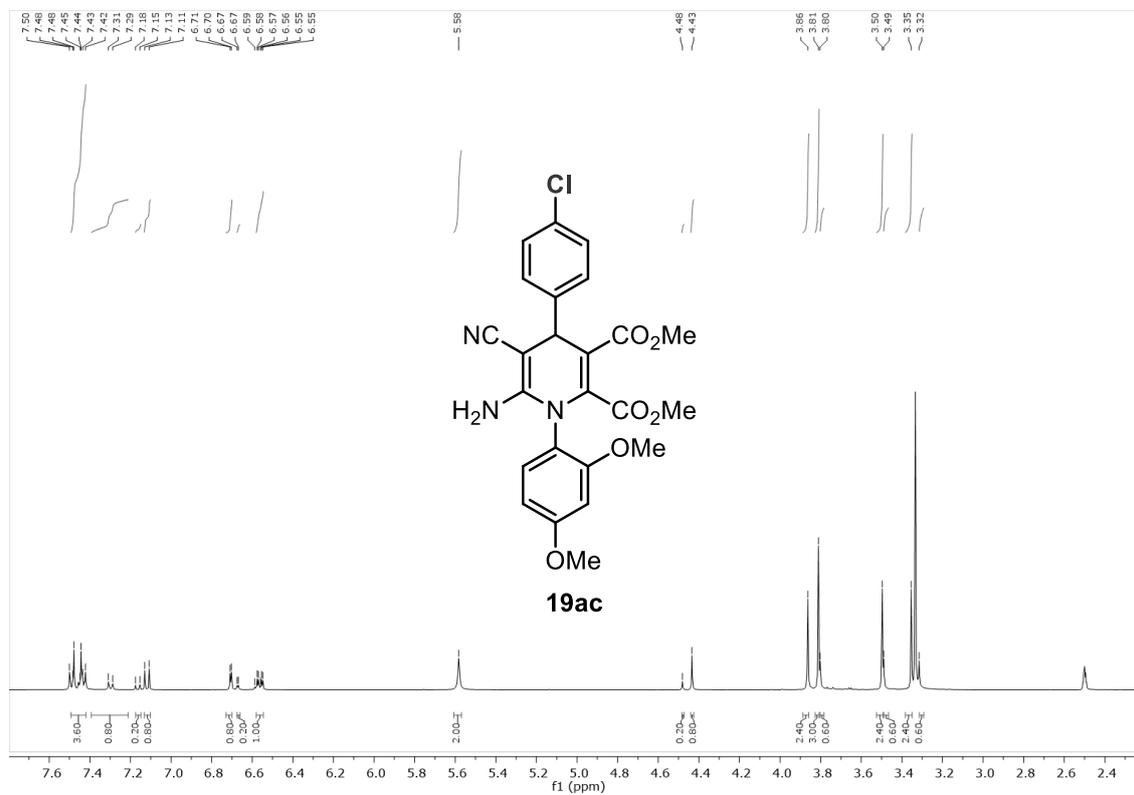
55.6 (min.), 56.0 (1C), 56.3 (min.), 86.6 (1C), 98.8 (1C), 103.2 (1C), 104.3 (1C), 115.1-115.4 (m, 1C), 117.1 (1C), 117.8 (1C), 118.1-118.5 (m, 2C), 123.2 (c,  $J = 272.9$  Hz, 2C), 127.6 (1C), 127.7 (min.), 127.9 (2C), 128.7 (2C), 128.9 (min.), 130.7 (c,  $J = 32.4$  Hz, 2C), 131.2 (1C), 140.9 (min.), 141.1 (1C), 143.0 (1C), 143.3 (1C), 143.9 (1C), 151.8 (1C), 157.5 (1C), 161.4 (1C), 162.7 (1C), 164.9 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3353, 3284, 2958, 2920, 2849, 2216, 1743, 1717, 1687, 1651, 1600, 1563, 1495, 1442, 1375, 1273, 1231, 1211, 1182, 1121, 1086, 1028, 843, 723, 702, 680, 576, 388. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{33}\text{H}_{27}\text{F}_6\text{N}_4\text{O}_7$  705.1778; encontrado 705.1730 [M+H].

**6'-(3-(3,5-Bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5'-ciano-1'-(2,4-dimetoxifenil)-1',4'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-2',3'-dicarboxilato de dimetilo (35aj)**

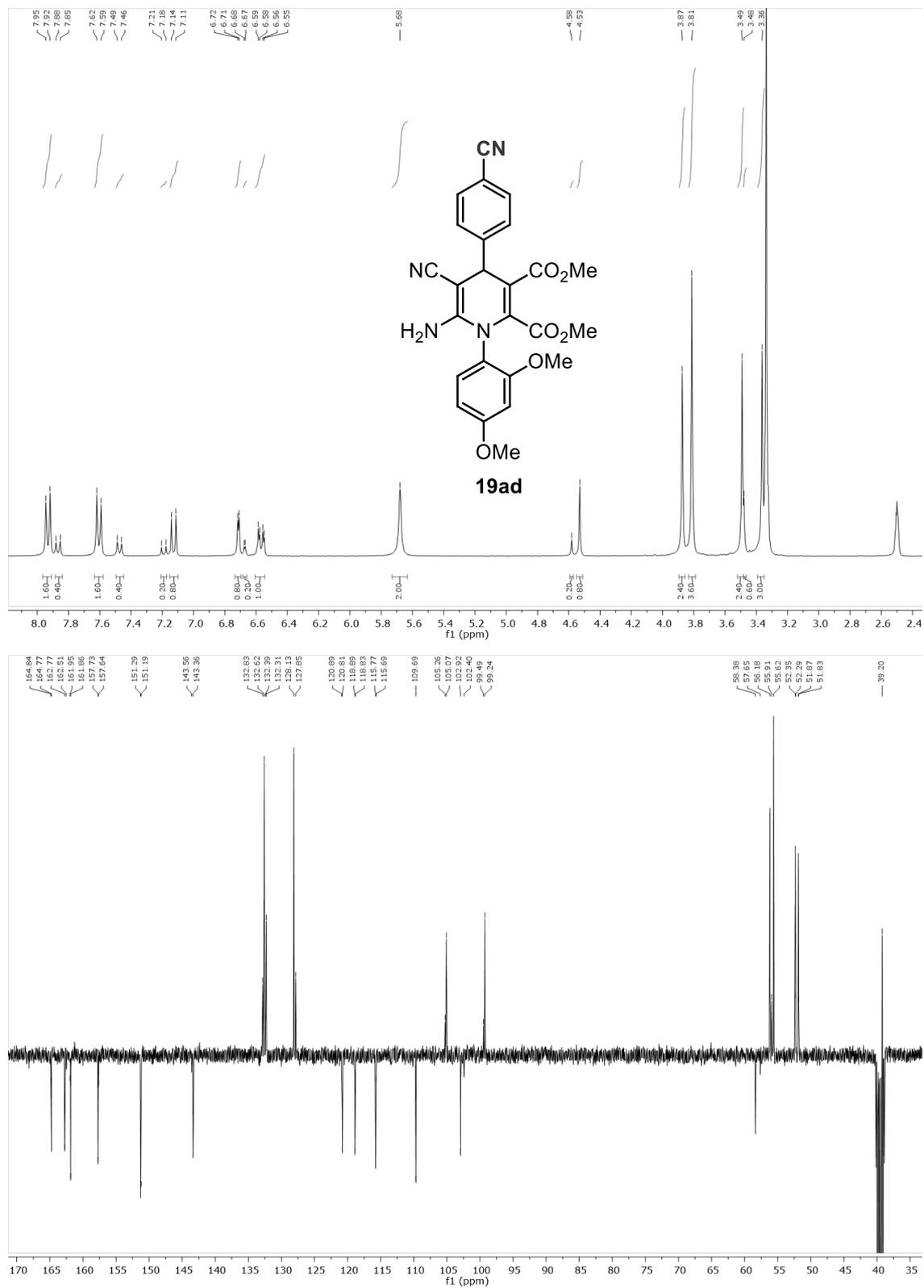
Siguiendo el procedimiento general, el compuesto **35aj** se obtuvo tras 3 días de reacción a temperatura ambiente como un sólido blanco con un 89 % de rendimiento (62.8 mg). P.f. 212-214 °C.  $^1\text{H}$ -RMN (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ ) 3.37 (s, 0.6H), 3.41 (s, 2.4H), 3.56 (s, 0.6H), 3.57 (s, 2.4H), 3.70-3.75 (m, 2.4H), 3.81 (s, 0.6H), 3.83-3.89 (s, 3H), 4.82 (s, 0.8H), 4.88 (s, 0.2H), 6.45-6.48 (m, 0.8H), 6.49-6.53 (m, 0.2H), 6.65-6.67 (m, 0.8H), 6.68-6.70 (m, 0.2H), 7.13-7.17 (m, 1H), 7.51-7.60 (m, 1H), 7.63-7.69 (m, 1H), 7.90-8.07 (m, 3H), 8.44-8.50 (m, 0.2H), 8.51-8.59 (m, 0.8H), 8.66-8.75 (m, 0.4H), 8.75-8.88 (m, 1.6H), 9.41 (s a, 0.8H), 9.51 (s a, 0.2H).  $^{13}\text{C}$ -APT-RMN (100 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  38.2 (1C), 52.1 (1C), 52.5 (1C), 55.5 (1C), 56.0 (1C), 56.3 (min.), 85.4 (1C), 98.8 (1C), 99.1 (min.), 102.7 (1C), 104.4 (1C), 104.7 (min.), 115.1-115.4 (m, 1C), 116.9 (1C), 117.9 (1C), 118.1-118.5 (m, 2C), 123.2 (c,  $J = 272.8$  Hz, 2C), 123.9 (1C), 124.2 (min.), 130.7 (c,  $J = 32.7$  Hz, 2C), 131.3 (1C), 131.6 (1C), 134.7 (min.), 135.5 (1C), 139.1 (1C), 140.8 (min.), 141.1 (1C), 143.0 (min.), 143.3 (1C), 143.9 (1C), 148.8 (1C), 149.2 (1C), 151.7 (1C), 157.0 (min.), 157.4 (1C), 161.5 (1C), 162.4 (1C), 164.6 (1C). IR (puro) ( $\text{cm}^{-1}$ )  $\nu$  3354, 3124, 2940, 2181, 1740, 1702, 1654, 1567, 1510, 1426, 1274, 1210, 1165, 1107, 1028, 836, 803, 728, 569. HRMS (ESI+) calculado para  $\text{C}_{32}\text{H}_{26}\text{F}_6\text{N}_5\text{O}_7$  706.1731; encontrado 706.1697 [M+H].



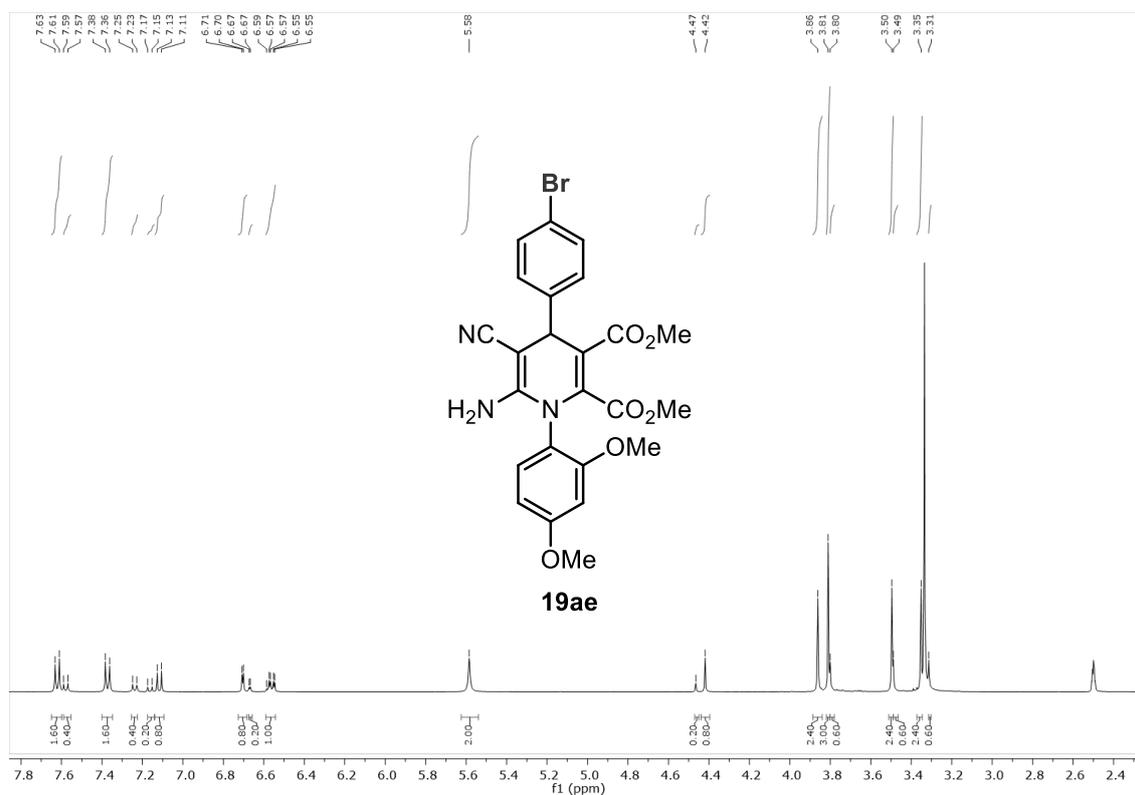
**Figura S4.3.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 6-amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ac**)



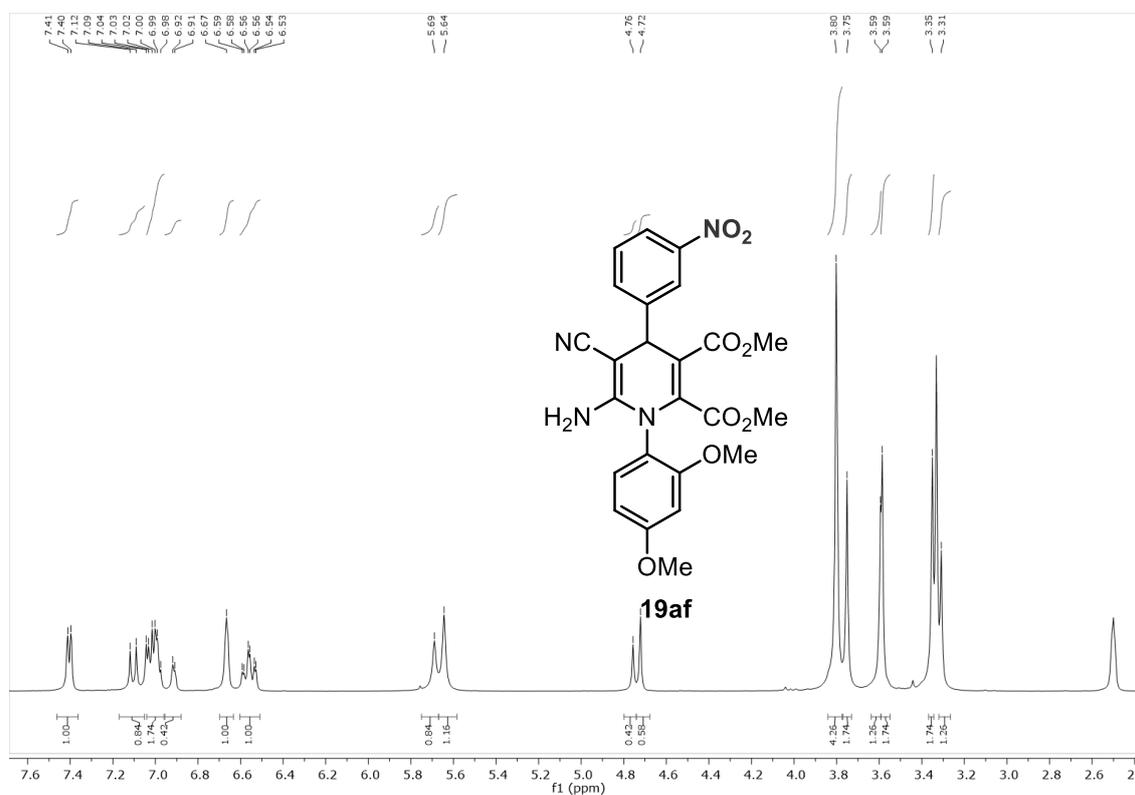
**Figura S4.4.** Espectro de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-amino-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ad**)



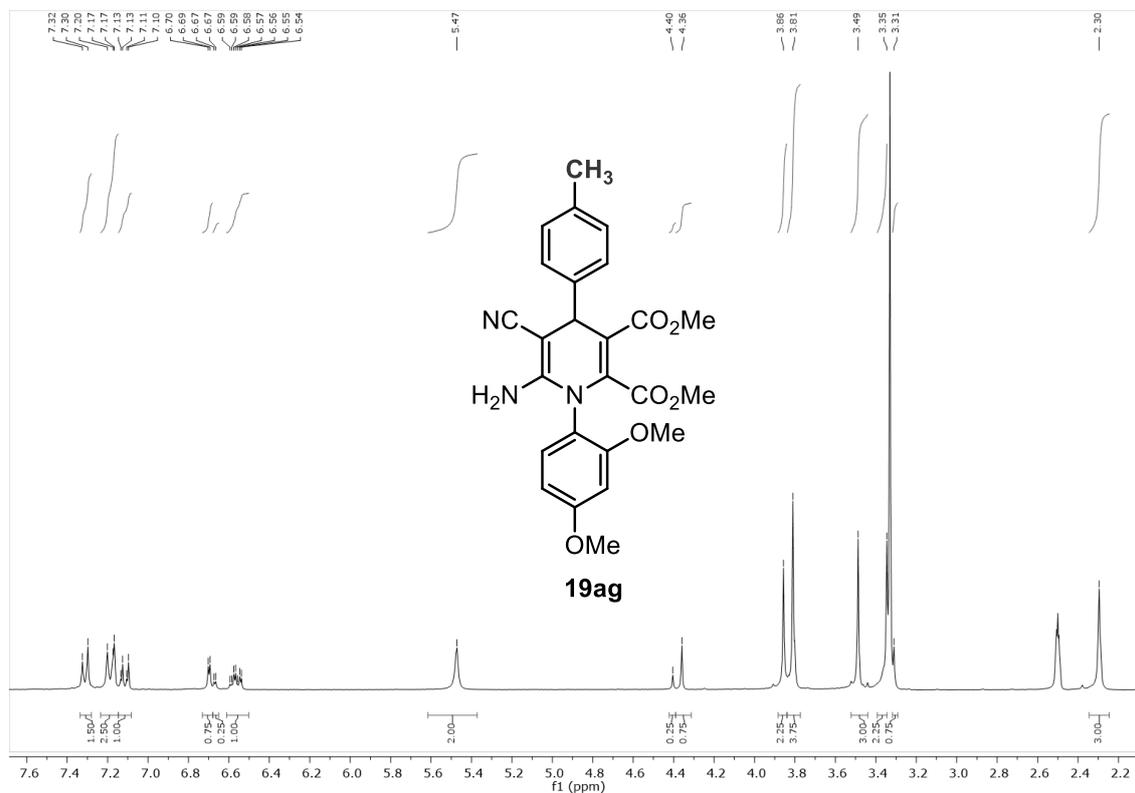
**Figura S4.5.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 6-amino-4-(4-bromofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ae**)



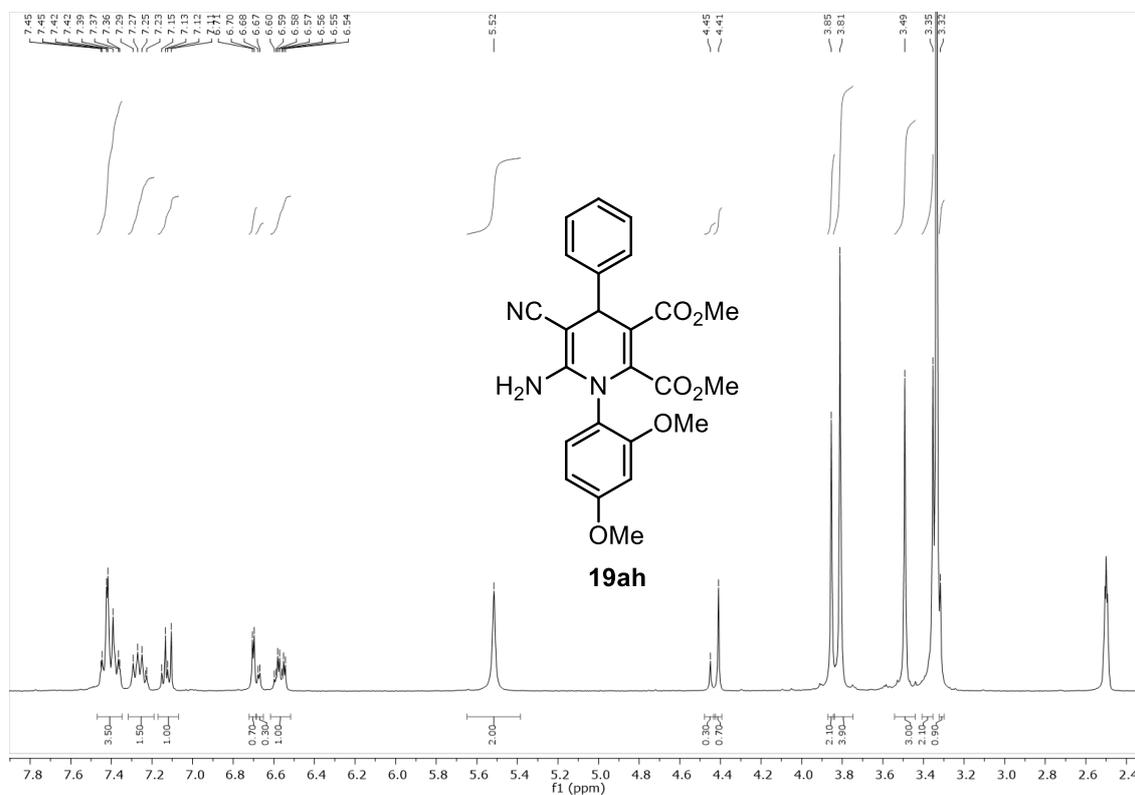
**Figura S4.6.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19af**)



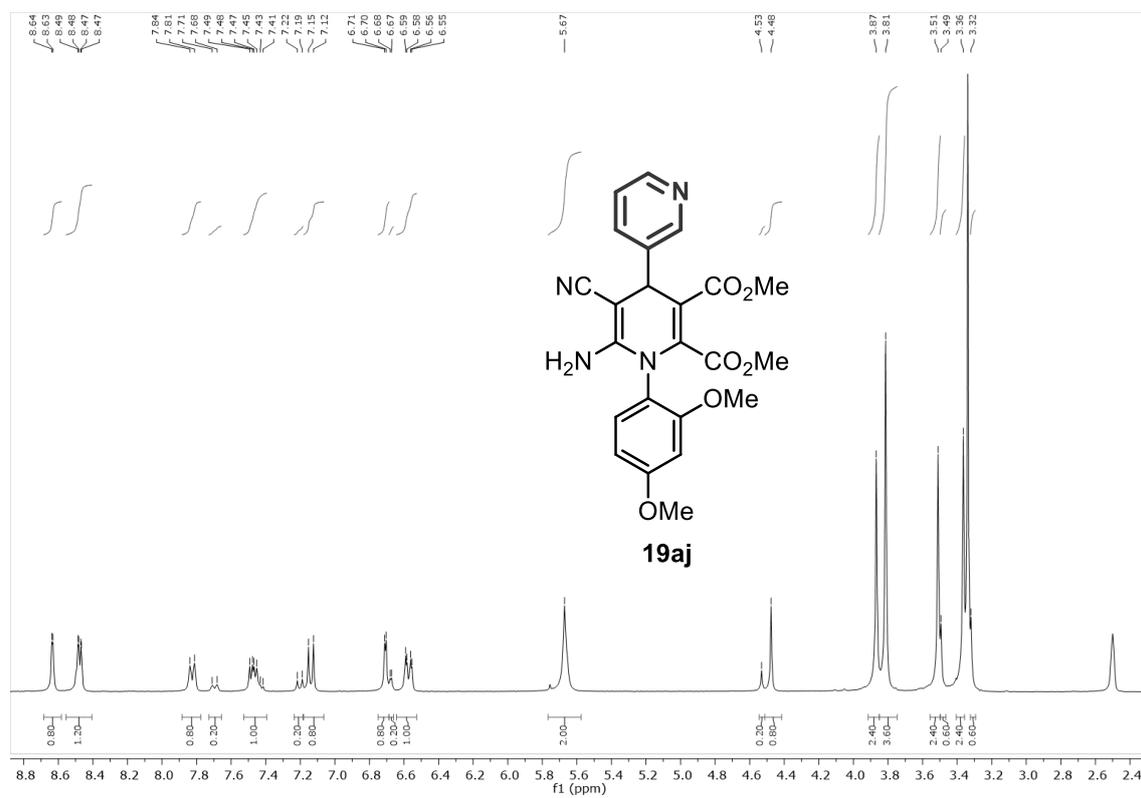
**Figura S4.7.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(p-tolil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ag**)



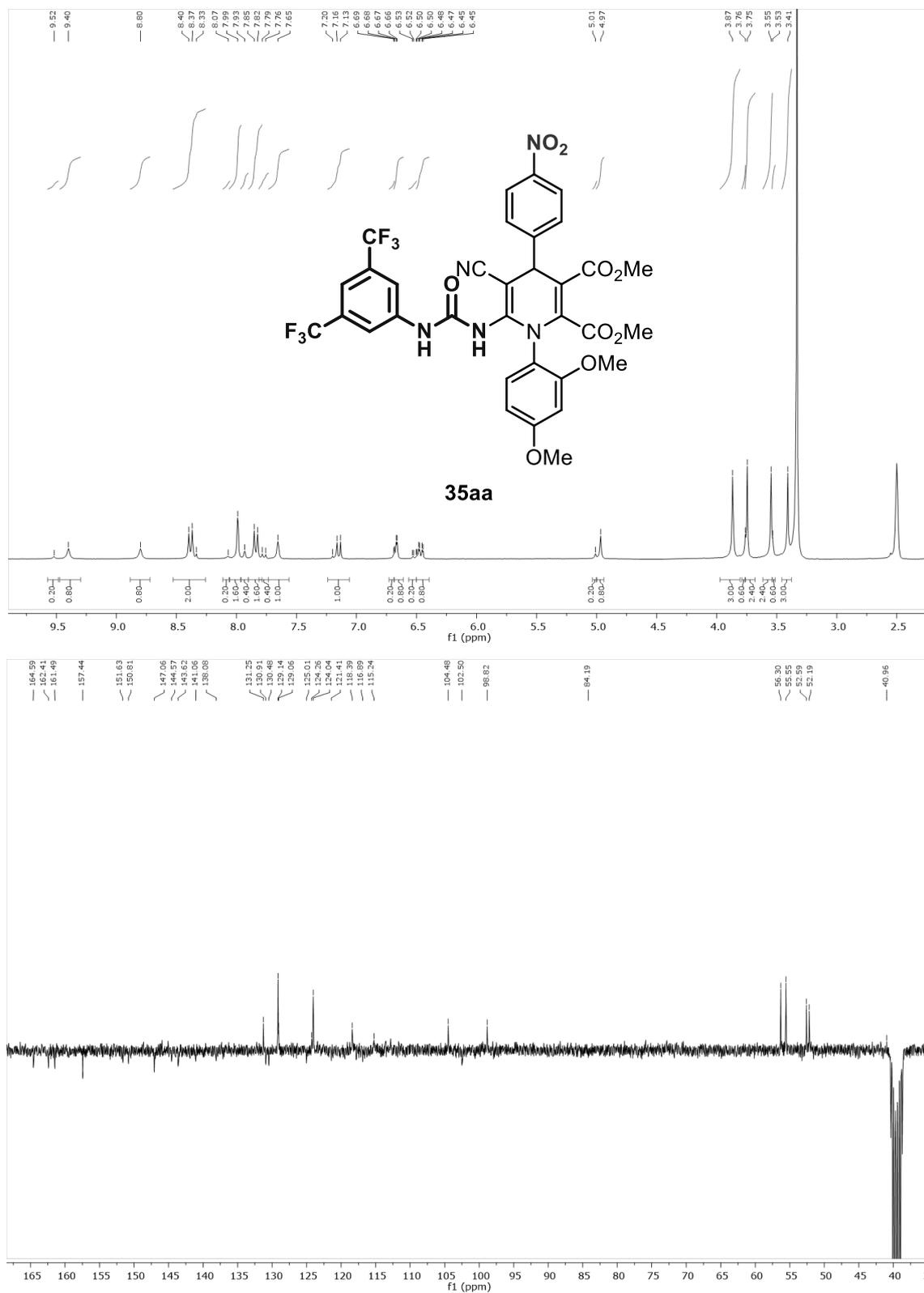
**Figura S4.8.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 6-amino-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**19ah**)



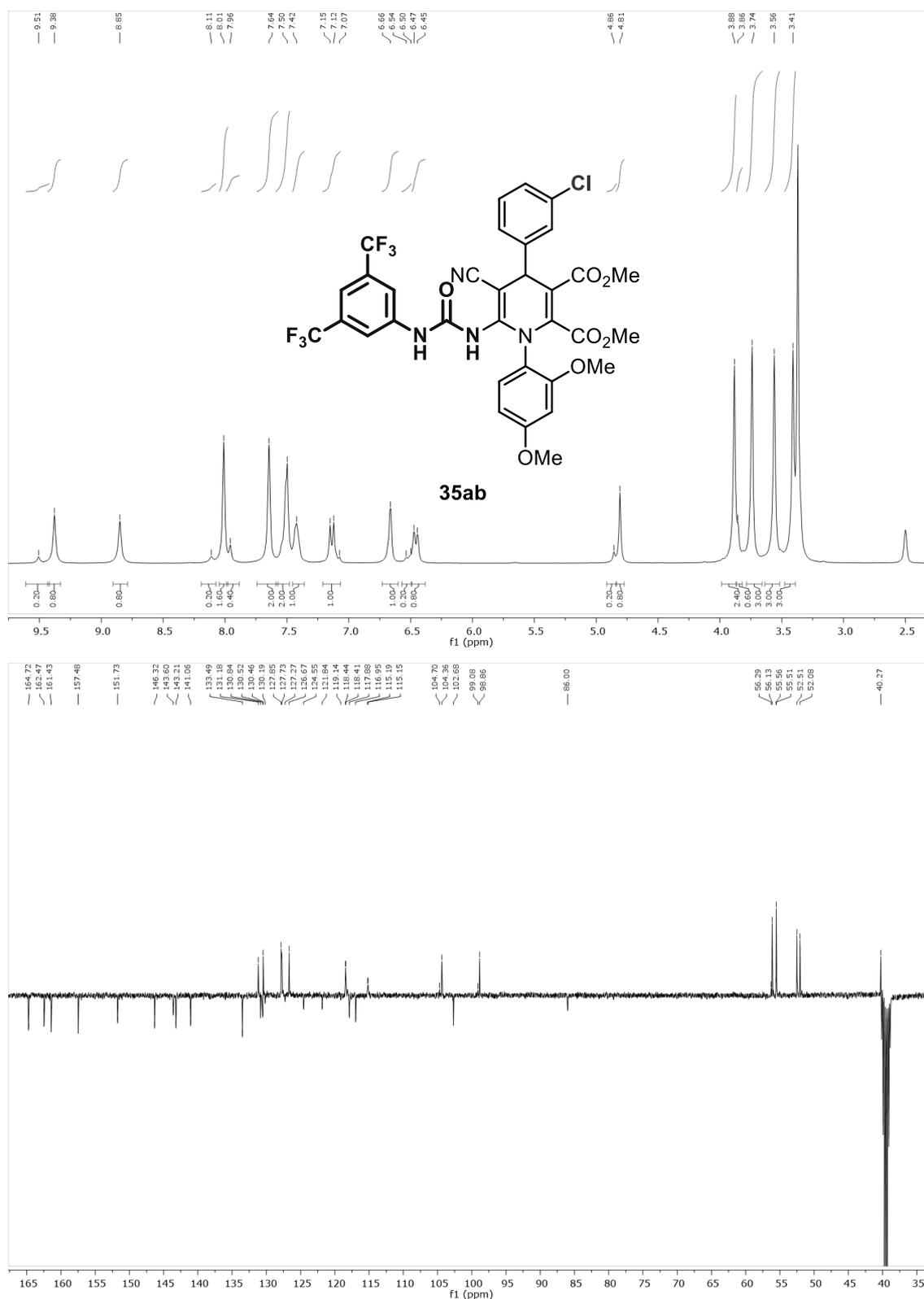
**Figura S4.9.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de 6'-amino-5'-ciano-1'-(2,4-dimetoxifenil)-1',4'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-2',3'-dicarboxilato de dimetilo (**19aj**)



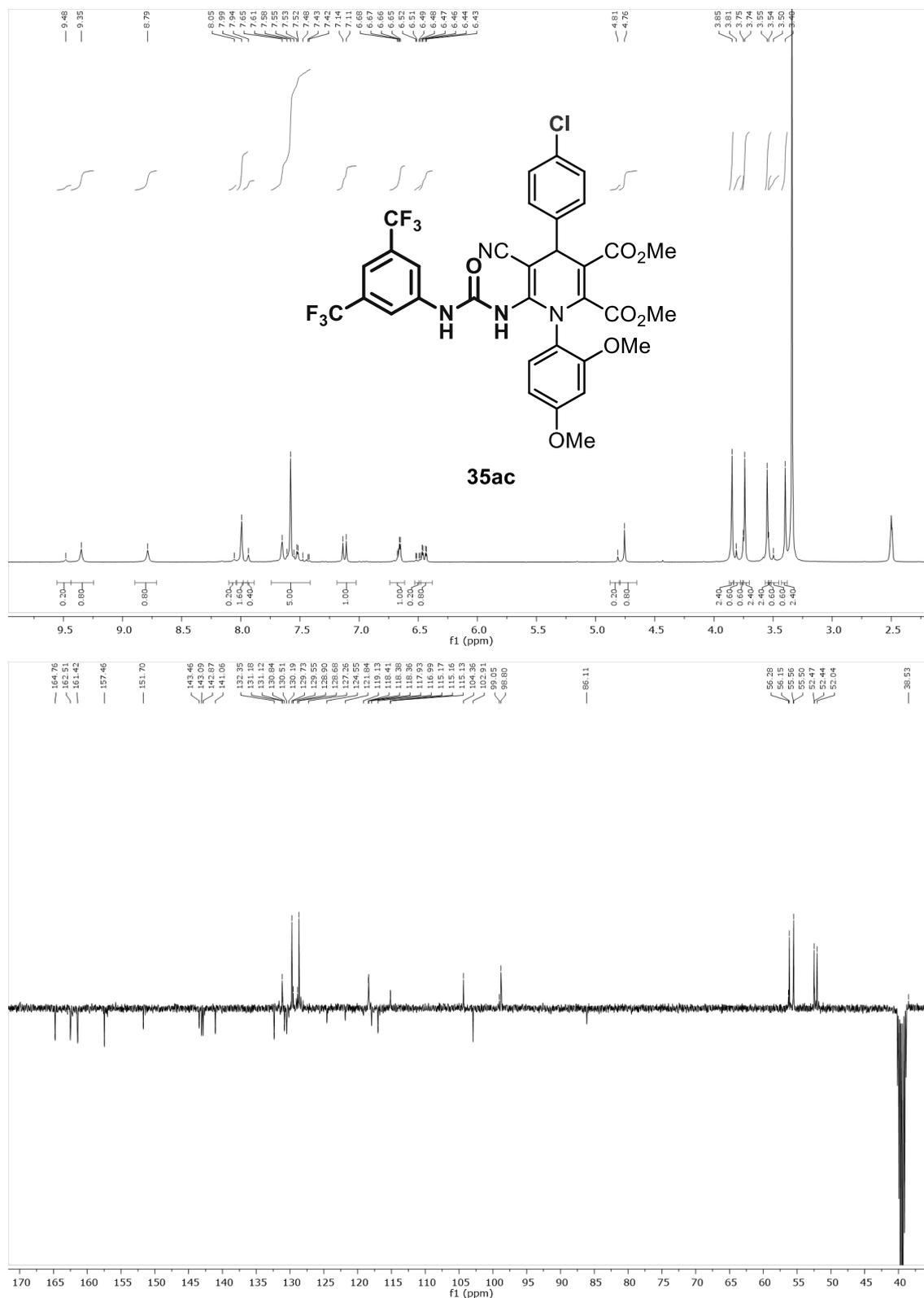
**Figura S4.10.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(4-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35aa**)



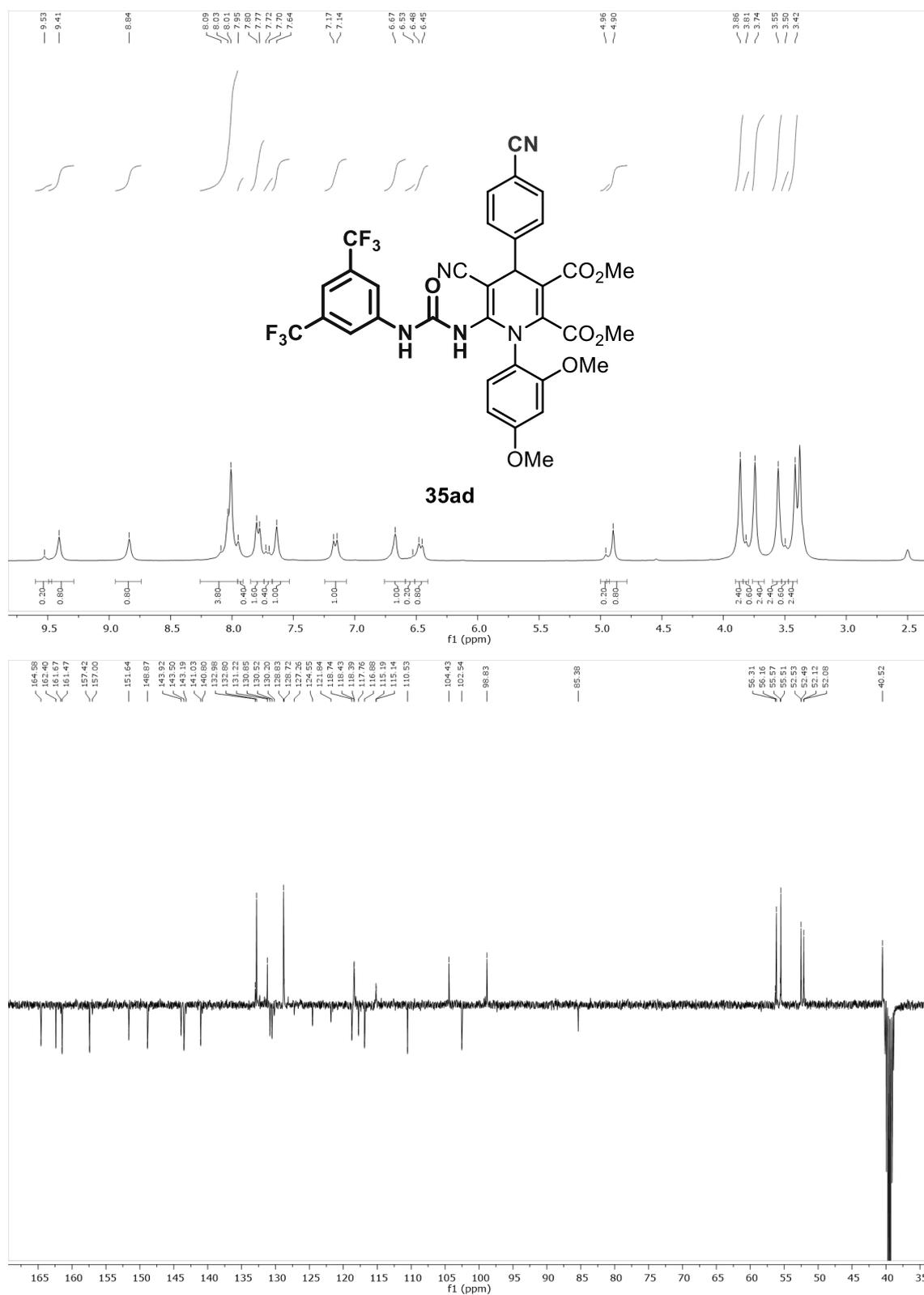
**Figura S4.11.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-4-(3-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35ab**)



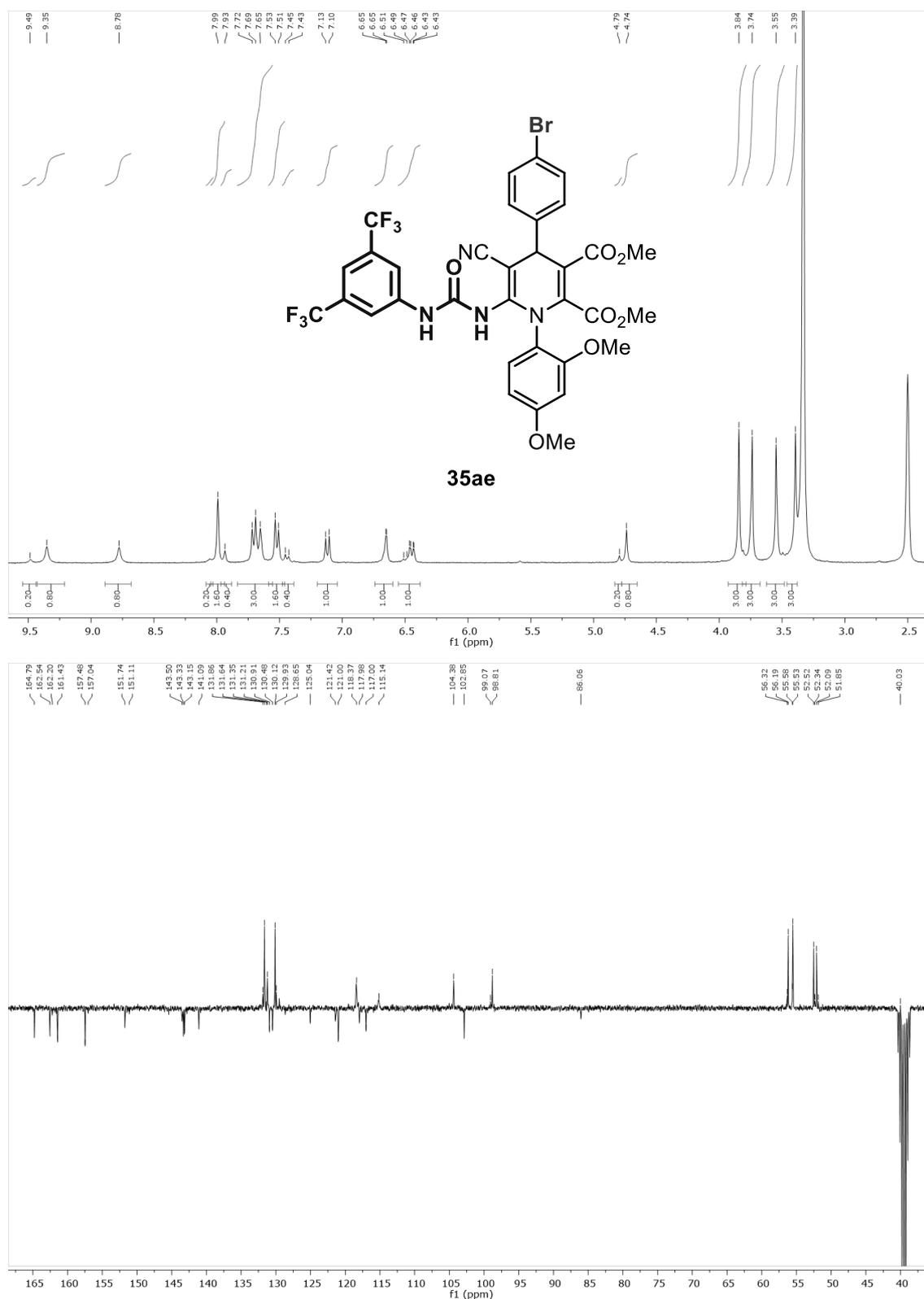
**Figura S4.12.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35ac**)



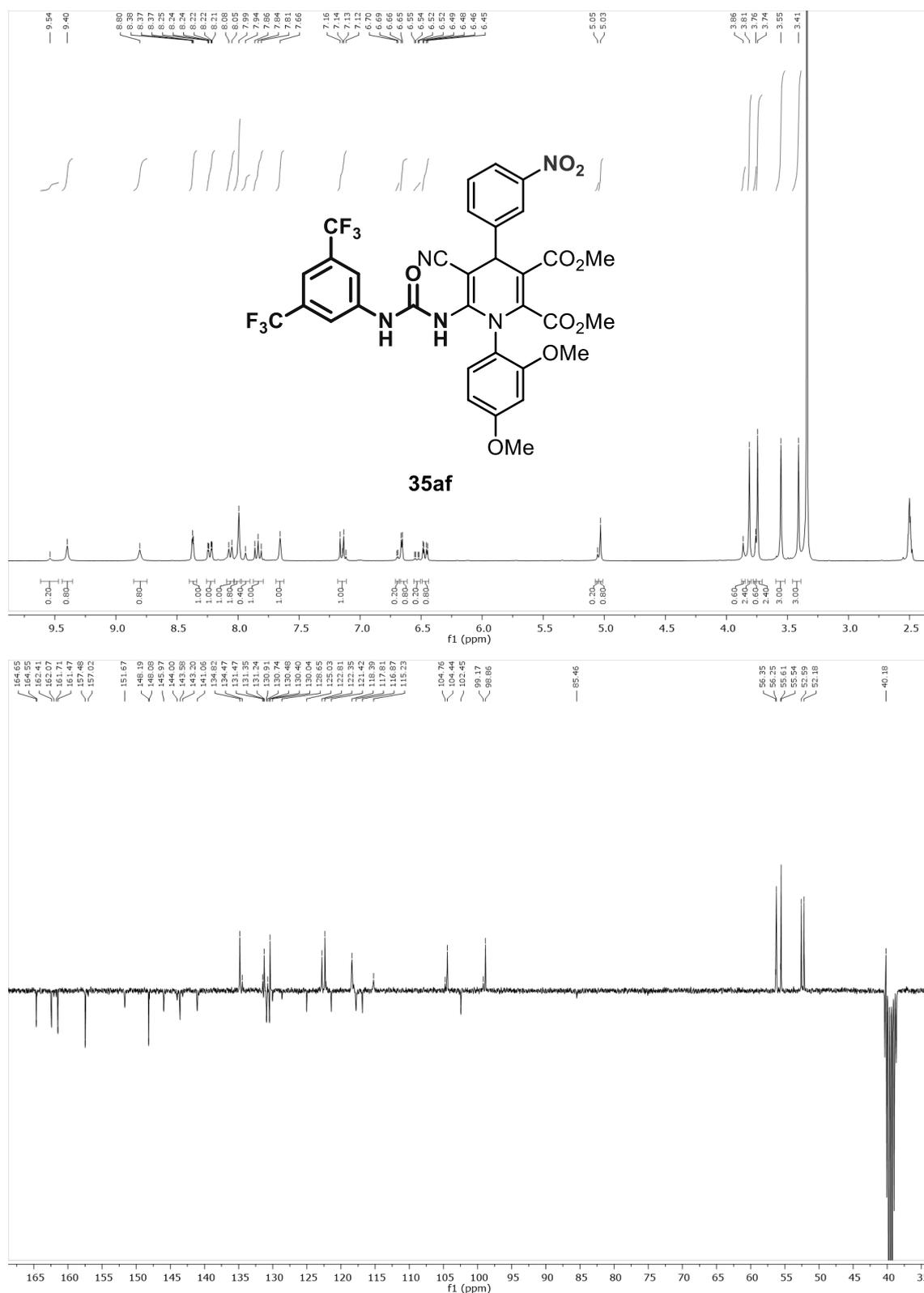
**Figura S4.13.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-4-(4-cianofenil)-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35ad**)



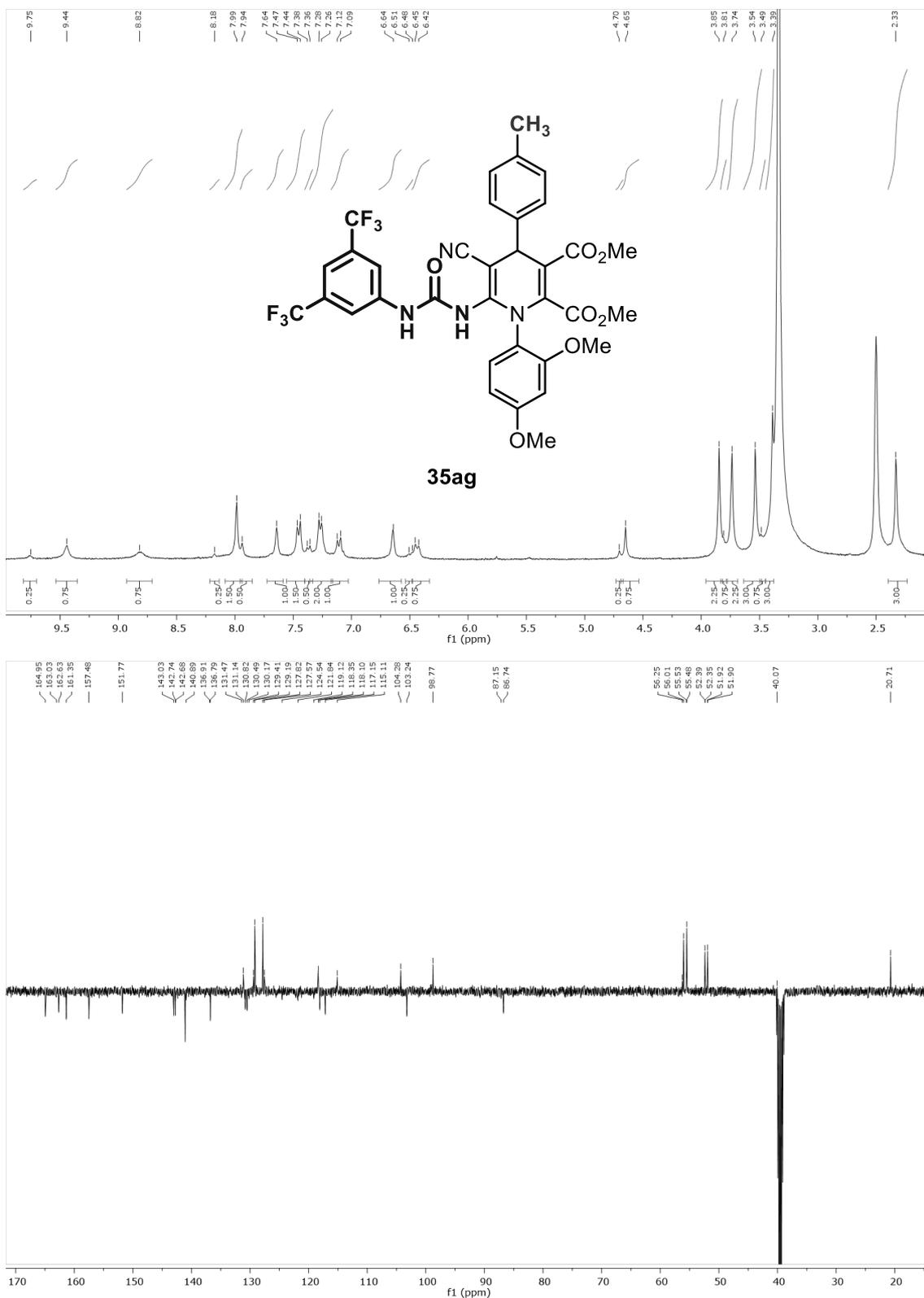
**Figura S4.14.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-4-(4-bromofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35ae**)



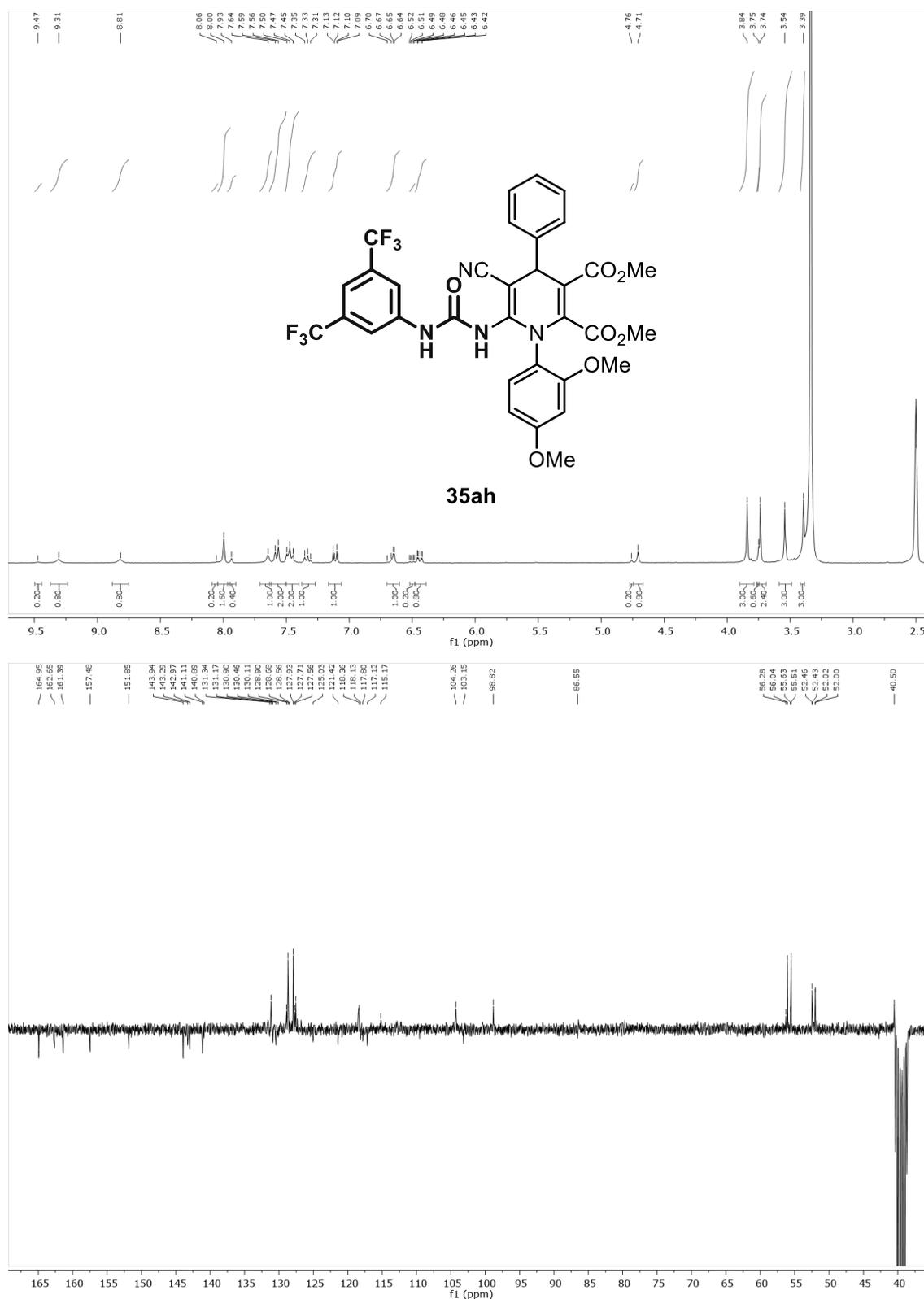
**Figura S4.15.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(3-nitrofenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35af**)



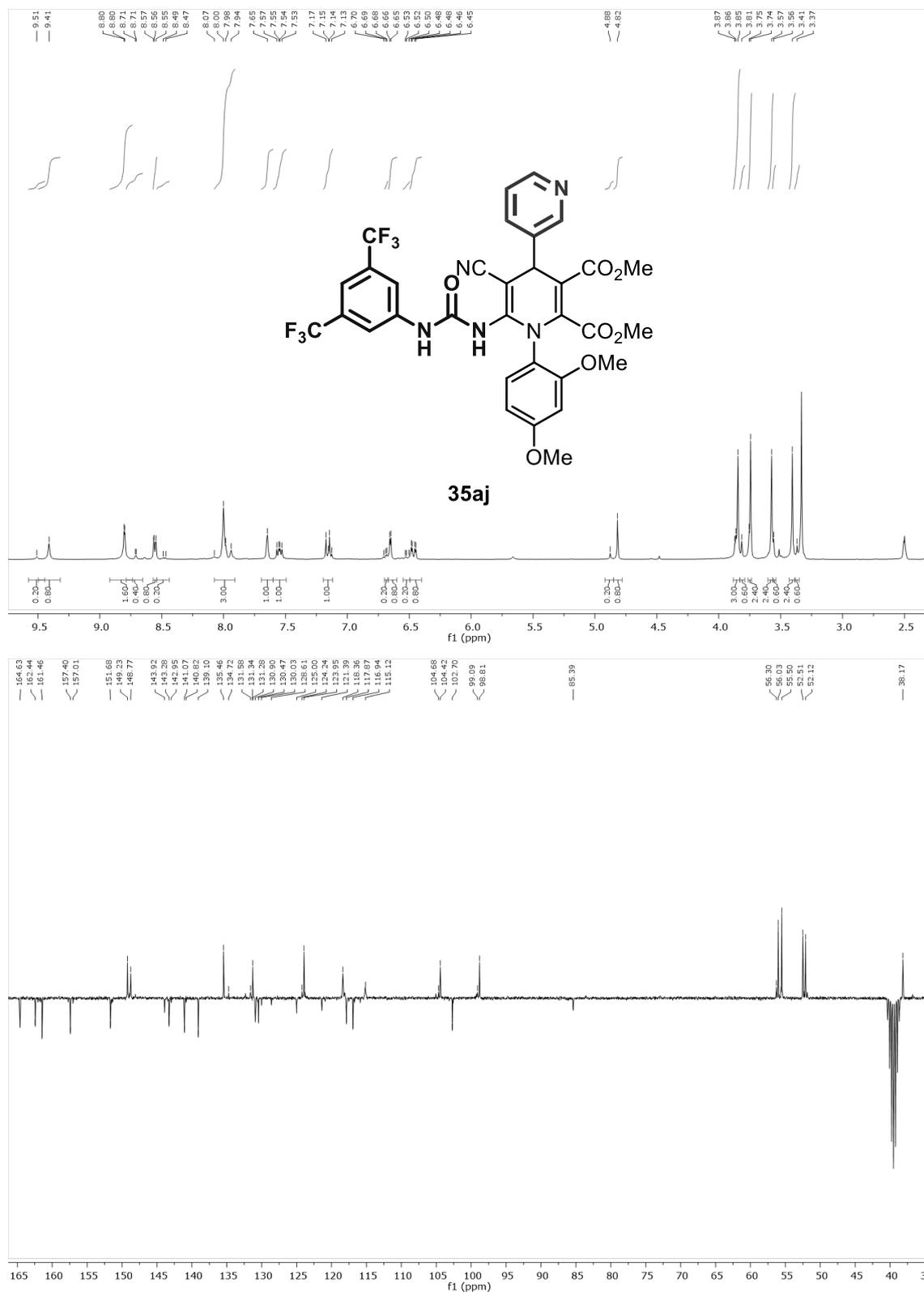
**Figura S4.16.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-(p-tolil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35ag**)



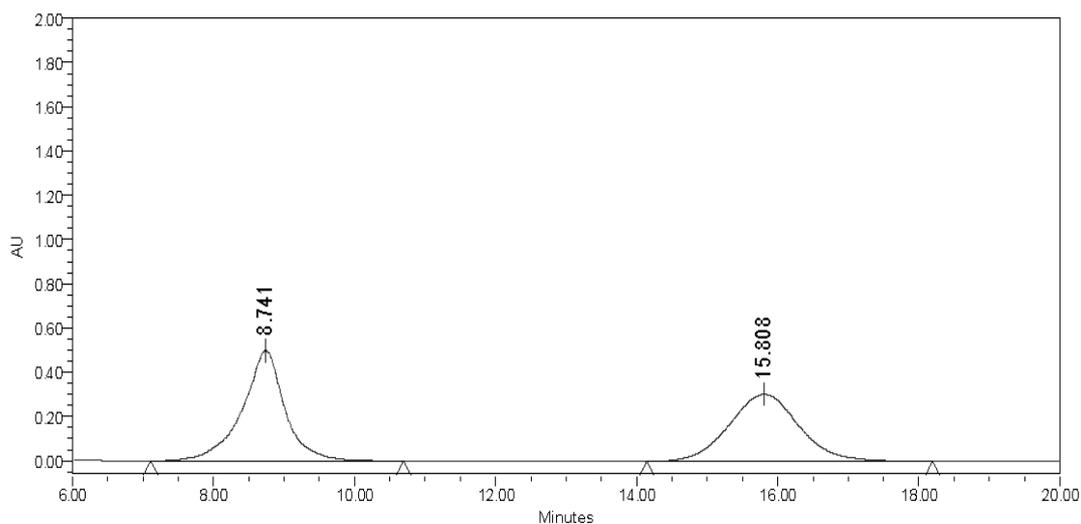
**Figura S4.17.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de 6-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-4-fenil-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato de dimetilo (**35ah**)



**Figura S4.18.** Espectros de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ -APT RMN de dimetil 6'-(3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)ureido)-5'-ciano-1'-(2,4-dimetoxifenil)-1',4'-dihidro-[3,4'-bipiridina]-2',3'-dicarboxilato de metilo (**35aj**)



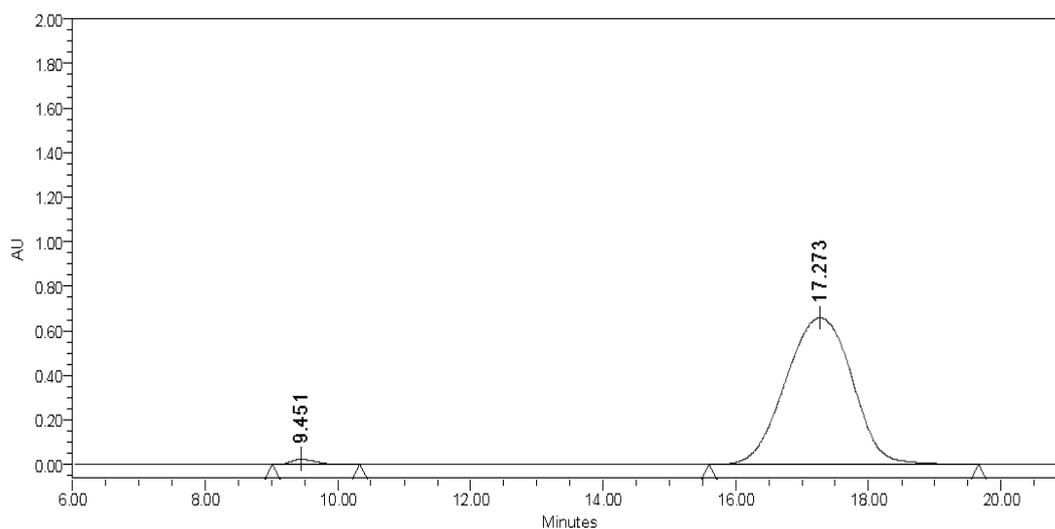
**Cromatogramas de HPLC del compuesto 19ac.**



**Processed Channel: PDA 235.4 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 235.4 nm	8.741	20776670	50.05	498641
2	PDA 235.4 nm	15.808	20733103	49.95	302669

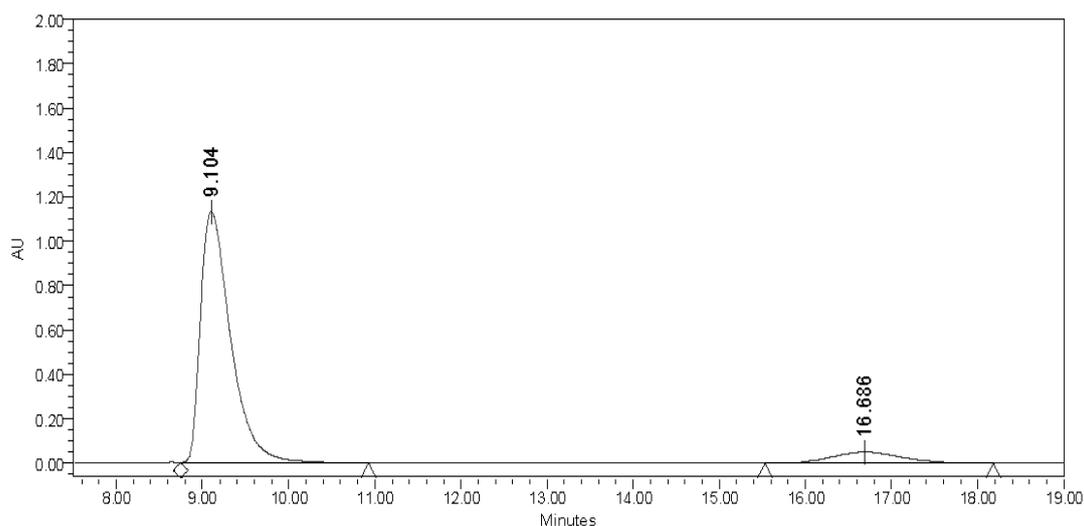
**Figura S4.19.** Mezcla racémica de 6-amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato, columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexane/*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min) (**19ac**).



**Processed Channel: PDA 235.4 nm**

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 235.4 nm	9.451	585354	1.27	23522
2	PDA 235.4 nm	17.273	45450619	98.73	657178

**Figura S4.20.** Muestra quiral de (L)-6-amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato, columna Daicel Chiralpak IB (*n*hexano/*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).



Processed Channel: PDA 235.4 nm

	Processed Channel	Retention Time (min)	Area	% Area	Height
1	PDA 235.4 nm	9.104	27434324	90.64	1132630
2	PDA 235.4 nm	16.686	2833741	9.36	49605

**Figura S4.21.** Muestra quiral de (D)-6-amino-4-(4-clorofenil)-5-ciano-1-(2,4-dimetoxifenil)-1,4-dihidropiridina-2,3-dicarboxilato, columna Daicel Chiralpak IB (nhexano/*i*PrOH = 70:30, velocidad de flujo 1 mL/min).

**Valores de IC<sub>50</sub>**

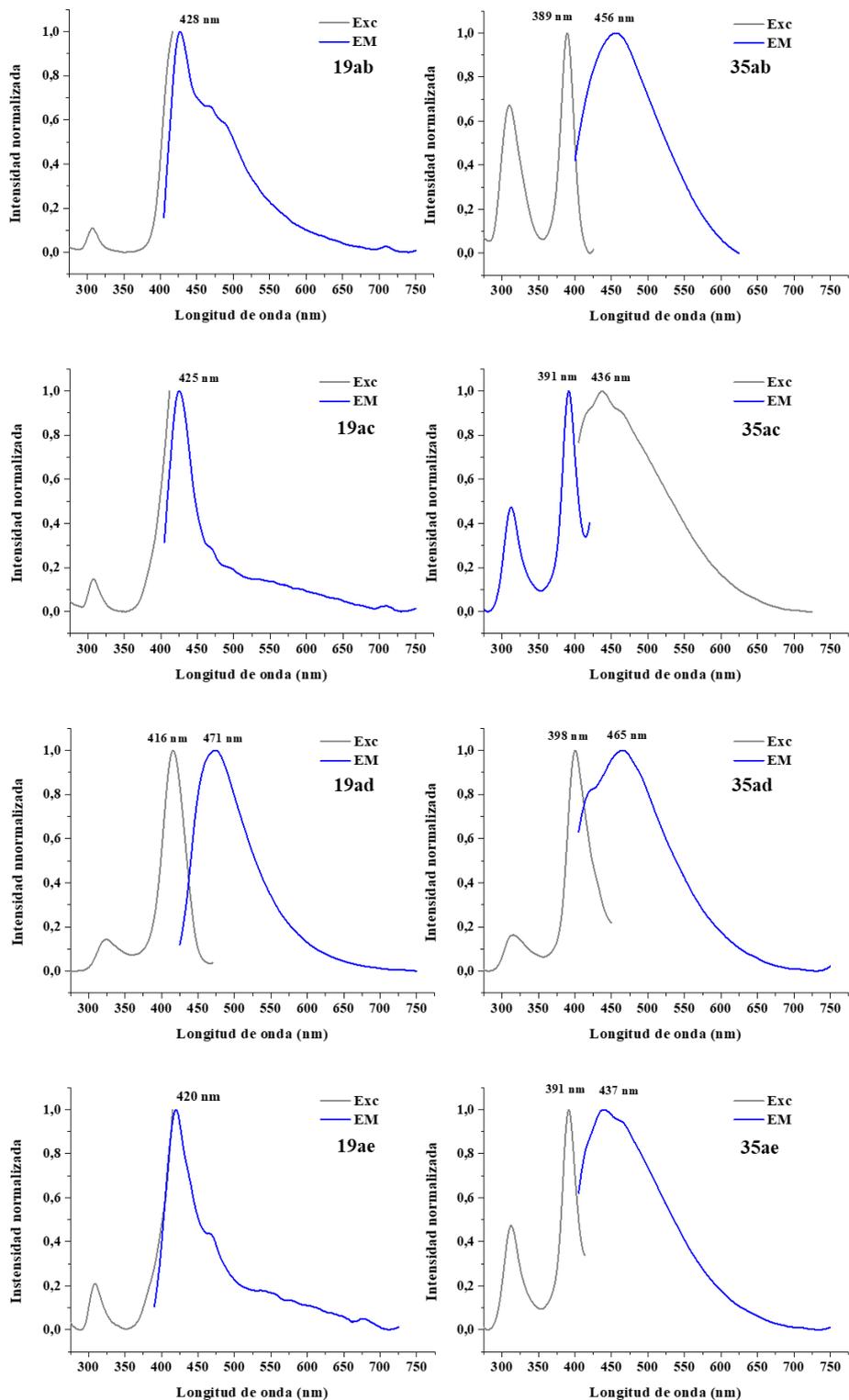
**Tabla S4.1.** Valores (μM) para los compuestos **19**.

Compuesto	HeLa	Jurkat	A549
<b>19aa</b>	79.96 ± 5.30		
<b>19ab</b>	47.17 ± 5.30	22.35 ± 2.69	
<b>19ac</b>	48.87 ± 0.19	30.67 ± 0.90	
<b>19ad</b>			
<b>19ae</b>	52.31 ± 3.94	24.56 ± 3.53	
<b>19af</b>	87.51 ± 1.48	76.45 ± 8.54	
<b>19ag</b>	144.70 ± 20.11	62.47 ± 2.16	
<b>19ah</b>	159.08 ± 4.89	81.95 ± 8.40	
<b>19aj</b>	22.08 ± 1.32		58.22 ± 1.80

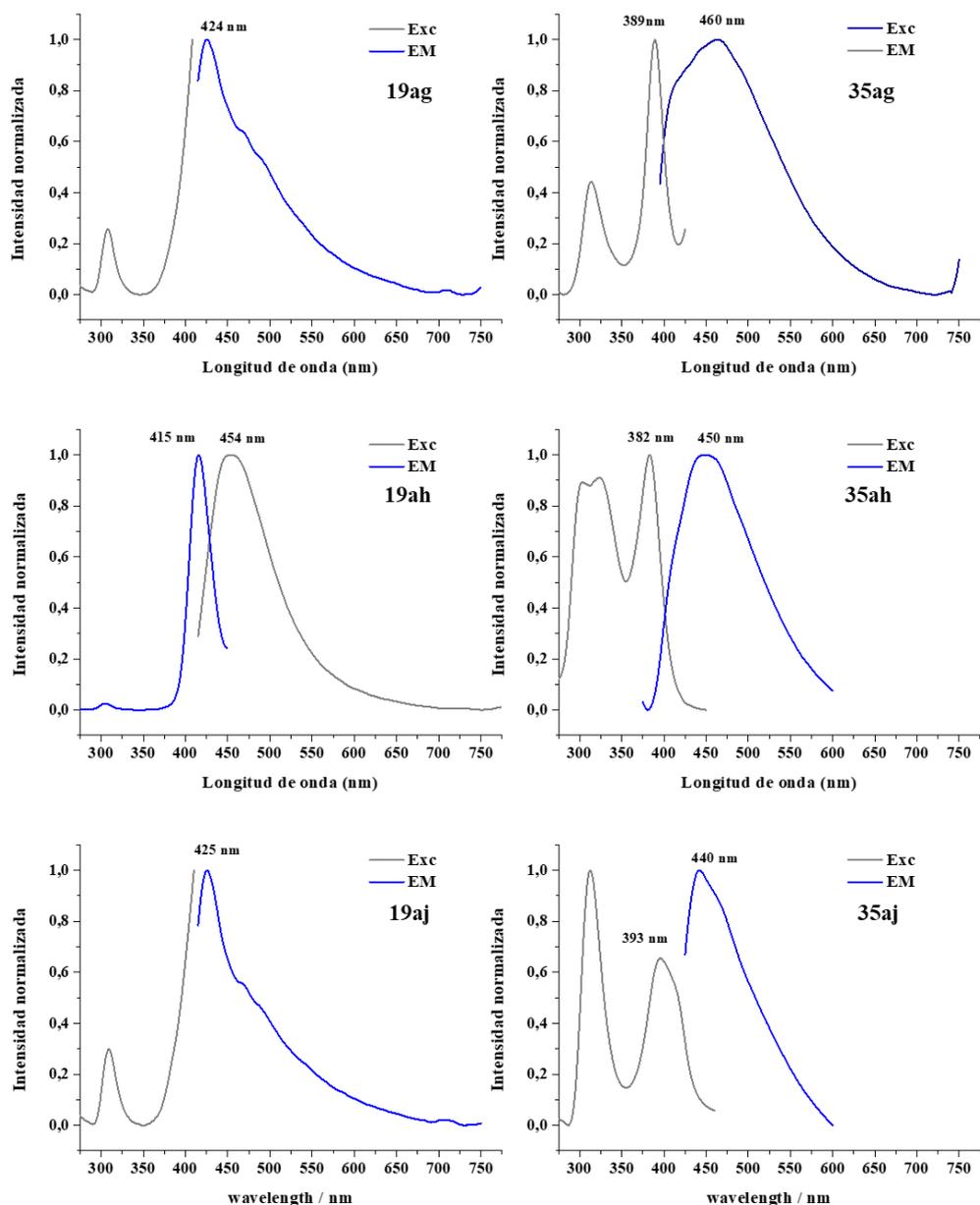
**Tabla S4.2.** Valores ( $\mu\text{M}$ ) para los compuestos **35**.

Compuesto	HeLa	Jurkat	A549
<b>35aa</b>			
<b>35ab</b>	$0.97 \pm 0.14$	$1.00 \pm 0.08$	
<b>35ac</b>	$1.04 \pm 0.15$	$9.82 \pm 1.93$	$3.86 \pm 0.53$
<b>35ad</b>	$3.56 \pm 0.54$		
<b>35ae</b>	$0.96 \pm 0.01$	$1.00 \pm 0.10$	
<b>35af</b>	$1.00 \pm 0.03$		
<b>35ag</b>	$0.97 \pm 0.04$	$29.84 \pm 4.35$	$73.51 \pm 5.22$
<b>35ah</b>	$3.97 \pm 0.42$	$3.91 \pm 0.04$	
<b>35aj</b>		$66.58 \pm 7.08$	

**Espectros de excitación y emisión de los compuestos 19 y 35.**

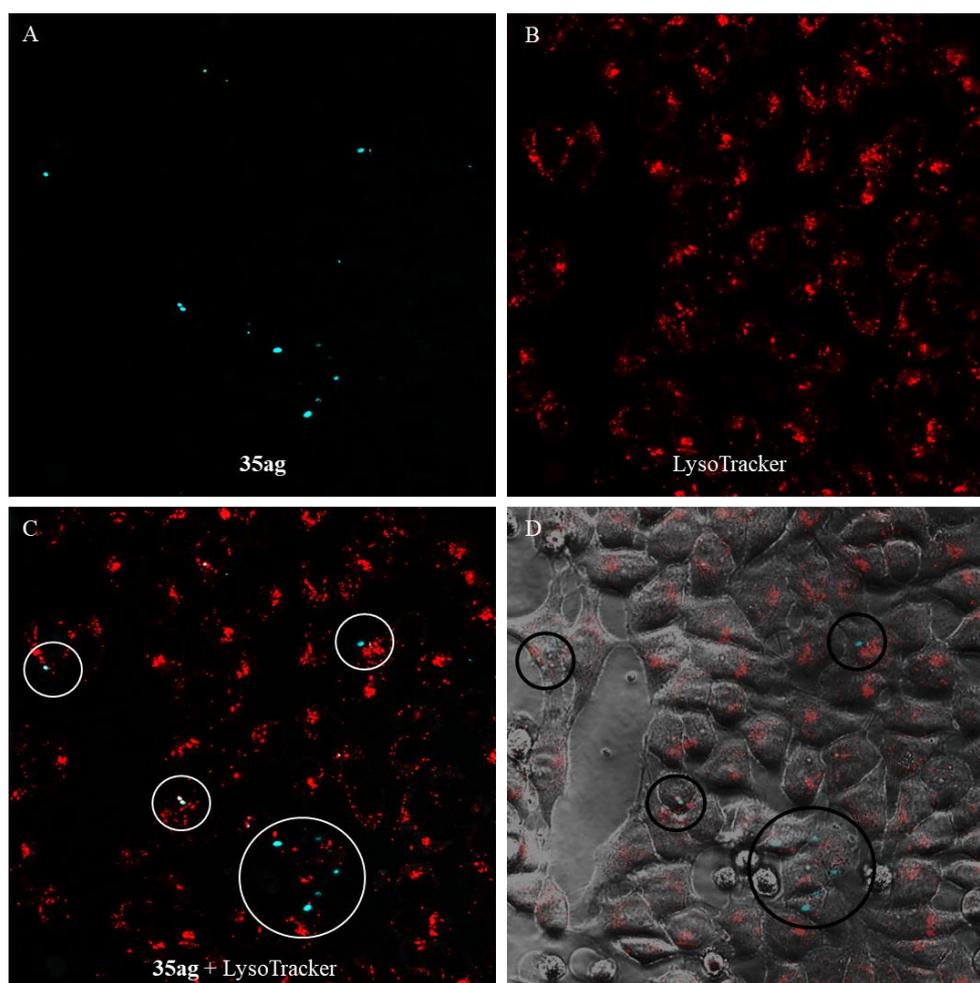


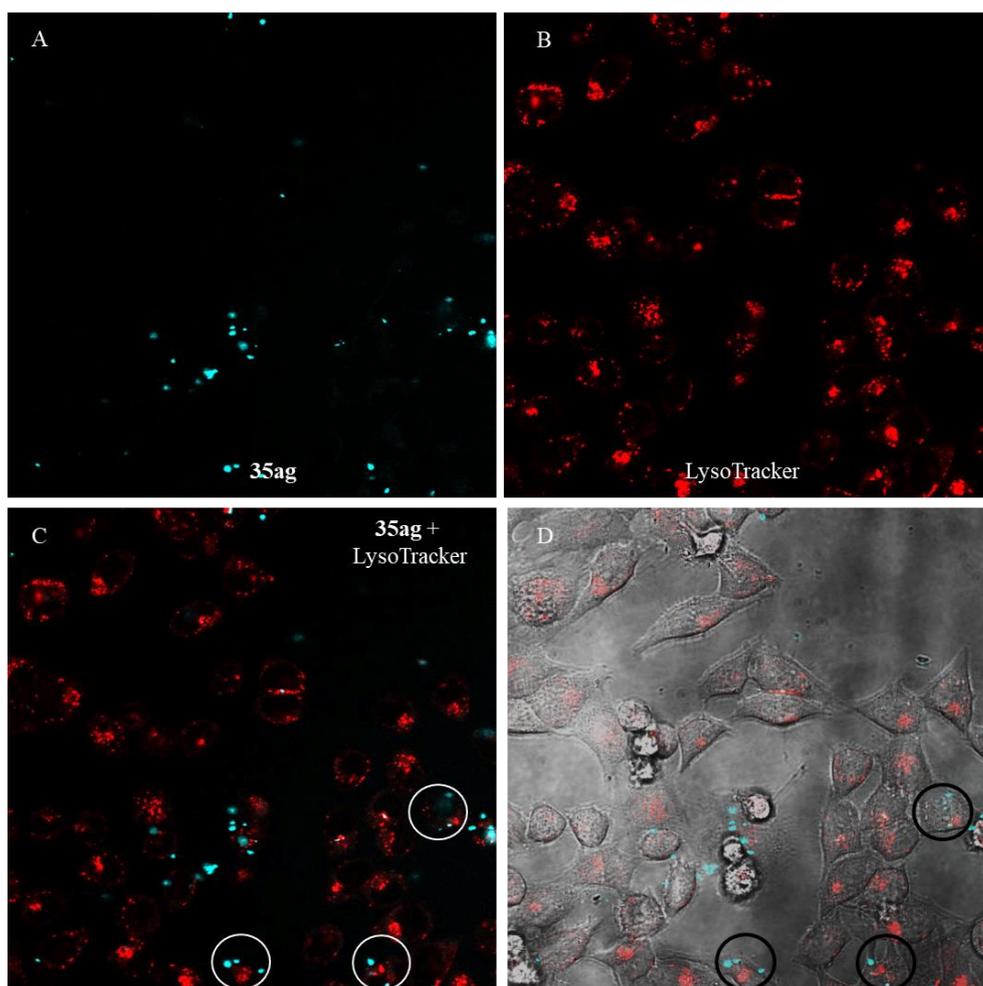
**Figura S4.22.** Espectros de excitación y emisión de los compuestos 19/35ab-19/35ae medidos en disolución de DMSO a 298 K.



**Figura S4.22 cont.** Espectros de excitación y emisión de los compuestos **19/35ag-19/35aj** medidos en disolución de DMSO a 298 K.

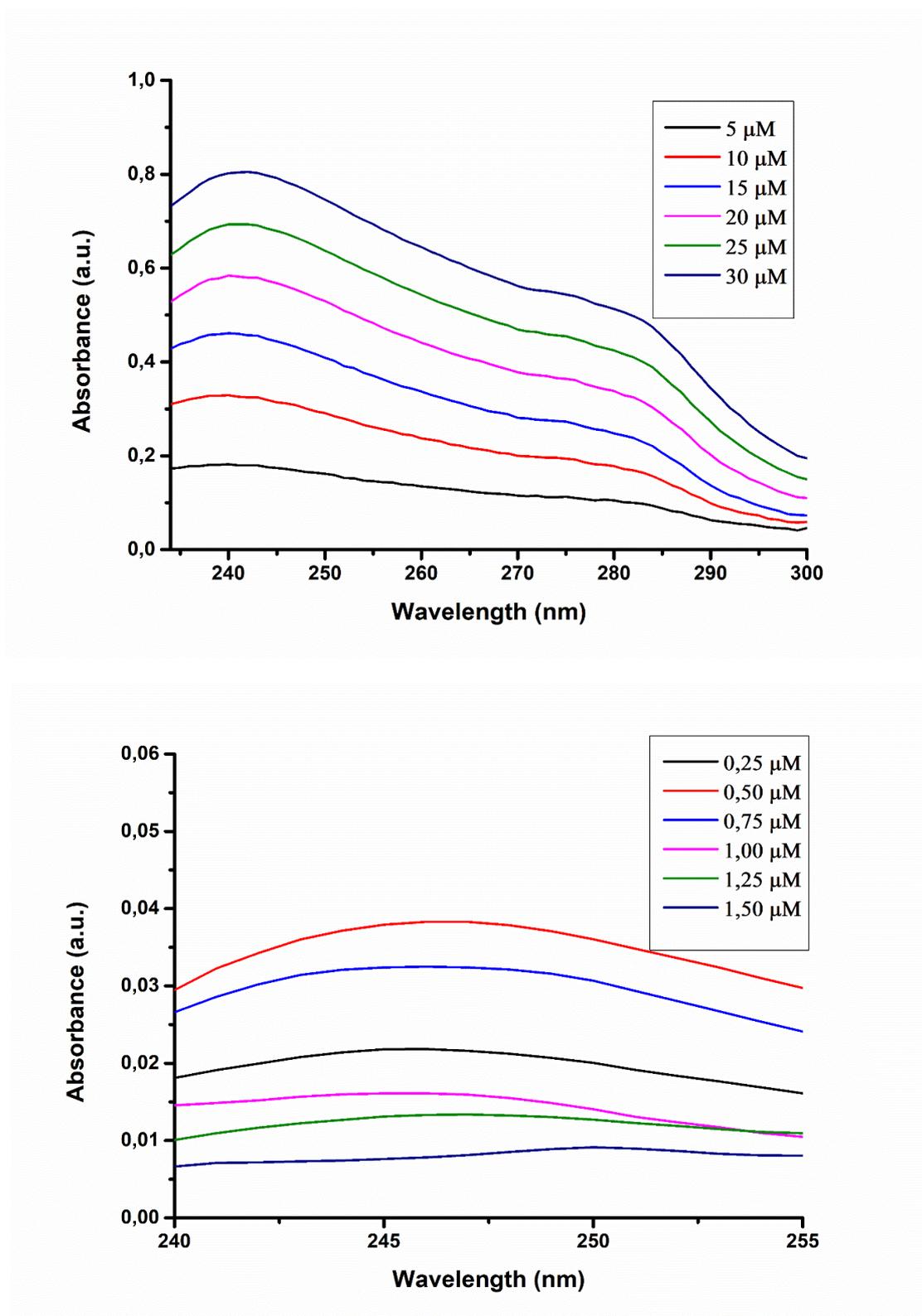
**Imágenes de microscopía de fluorescencia del compuesto 35ag.**





**Figura S4.23.** Dos conjuntos de imágenes de microscopio de fluorescencia del compuesto **35ag** y LysoTracker Red-DND incubados en células HeLa a 2  $\mu$ M y 10 nM respectivamente durante 24 h. **A)** Imágenes tras irradiar a 405 nm; **B)** Imágenes tras irradiar a 588 nm; **C)** Superposición de las imágenes **A** y **B**; **D)** Superposición de las imágenes **A**, **B** y el contraste, los círculos muestran la localización intracelular del compuesto **35ag**. Anchura de las imágenes: 210  $\mu$ m.

Imágenes de microscopía de fluorescencia del compuesto 35ag.



**Figura S4.24.** Dos gráficos UV-Vis mostrando el crecimiento de la absorbancia con la concentración de los compuestos **19ac** (arriba) y **35ac** (abajo), para el cálculo de sus coeficientes de extinción molar en agua a 298 K.

**Ensayo *in vivo***

**Tabla S4.3.** Seguimiento del peso de los especímenes en el ensayo *in vivo*.

Animal	Compuesto	Concentra (mg/2 mL)	Dosis (mg/kg)	Volumen (µL)	Edad (Semanas) <sup>a</sup>	Peso 0 h (g)	Peso 48 h (g)	Variación 48 h (%)	Peso 7 d (g)	Variación 7 d (%)	Peso 14 d (g)	Variación 14 d (%)
1	35ah	3.53	0.175	290	7	29.5	29.2	-1.0	30.4	3.1	32	5.3
2	19ab	3.52	0.175	250	7	24.7	25.3	2.4	25.2	2.0	26.1	3.6
3	35ae	3.5	0.175	250	7	25.2	24.7	-2.0	26.3	4.4	28.2	7.2
4	19ae	3.56	0.175	270	7	27.4	28.2	2.9	28.6	4.4	29.2	2.1
5	35ah	11	0.55	230	7	23.5	24.4	3.8	24.2	3.0	25.7	6.2
6	19ab	11.01	0.55	270	7	27.2	26.4	-2.9	28.6	5.1	28.8	0.7
7	35ae	11.01	0.55	260	7	26.2	25.5	-2.7	26.3	0.4	27.4	4.2
8	19ae	11.04	0.55	270	7	27.1	26.2	-3.3	27.8	2.6	29	4.3
9	35ah	11	0.55	260	7	25.8	26.2	1.6	27.6	7.0	28.4	2.9
10	19ab	11.01	0.55	280	7	27.6	28	1.4	29.1	5.4	30.2	3.8
11	35ae	11.01	0.55	280	7	27.9	28.1	0.7	28.9	3.6	29.3	1.4
12	19ae	11.04	0.55	250	7	25.5	27.6	8.2	28.5	11.8	30.4	6.7
13	35ah	11	0.55	260	8	25.9	26.3	1.5	26.7	3.1	28.6	7.1
14	19ab	11.01	0.55	270	8	27.5	26.7	-2.9	28.7	4.4	29.8	3.8
15	35ae	11.01	0.55	270	8	27.4	28.3	3.3	29	5.8	30.1	3.8
16	19ae	11.04	0.55	280	8	27.7	27.2	-1.8	29.1	5.1	30.8	5.8

<sup>a</sup>Fecha de nacimiento de los animales: 16/01/2020.

**Tabla S4.4.** Escala de evaluación.

<b>PARÁMETRO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PUNTOS</b>
<b>Condición física</b>	10 % ≤ Peso ≤ Día 0	0
	Peso ≤ 10 %	1
	Peso ≤ 20 %	2
<b>Apariencia</b>	Normal (Ojos normales, con brillo, pelaje normal)	0
	Pérdida de pelo	1
	Piel mate, presencia de secreciones oculares o nasales	2
	Encorvado, piloerección	3
<b>Comportamiento natural</b>	Normal (Activo, interacciona con su entorno)	0
	Disminución pronunciada de la actividad o inmovilidad	3
<b>Comportamiento provocado</b>	Normal (Se aparta rápidamente)	0
	No se mueve o reacciona con una respuesta exagerada	3
		<b>TOTAL</b> <b>11</b>



---

---

# 5

---

---

## CONCLUSIONES GENERALES

En el marco de esta tesis doctoral se han desarrollado procesos de síntesis de diferente índole con el objetivo de obtener nuevos compuestos heterocíclicos de 6 miembros por medio de la organocatálisis. Primero, mediante organocatálisis asimétrica mediada por el derivado de biscinchona **IIIb**, se obtuvieron de manera pionera los derivados de 1,4-dihidropiridina **19**. Este procedimiento produjo un amplio número de ejemplos, bajo condiciones suaves y simples con buenos rendimientos y enantioselectividades. Sin embargo, aún hay espacio para la mejora de los resultados y la comprensión del mecanismo de reacción, para lo que la obtención de la configuración absoluta de los compuestos resulta crucial. De la misma manera, también se logró obtener las 1,4-dihidropiridinas **21** empleando los derivados de hidrazida **23**, sustratos complejos pero que aportan una mayor variedad a los productos de interés. En este caso se utilizó como catalizador la  $\beta$ -isocupreidina **IIIj**, dando lugar a buenos rendimientos y prometedoras enantioselectividades. Al igual que en el caso anterior, es necesario profundizar en el mecanismo de reacción para poder seguir mejorando los resultados.

Posteriormente, se ha conseguido realizar una aproximación racémica a los derivados de 4*H*-pirano **29**. En este trabajo se utilizaron dos metodologías con  $\text{NEt}_3$  como catalizador en agua. Una de ellas se trata de un procedimiento multicomponente, activado por ultrasonidos, con una gran simplicidad operacional, con crudos limpios y con tiempos de reacción cortos, produciendo un buen número de ejemplos con buenos rendimientos. Estas características la convierten en una excelente opción sostenible para la obtención de unos productos con alto valor añadido, como son los 4*H*-piranos.

Todos los compuestos objeto de estudio en esta tesis doctoral presentan potencial como fármacos para tratar diferentes afecciones. Con el objetivo de estudiar sus propiedades biológicas se han llevado a cabo diferentes ensayos. En el caso de los derivados de 4*H*-pirano, se ha investigado su interacción con el ADN mediante viscosimetría, dicroísmo circular, absorción UV-Visible y espectroscopía de fluorescencia. Los resultados parecen indicar que los compuestos interaccionan con el *minor groove* del ADN, con unas constantes de unión superiores a las encontradas hasta la fecha, lo que les confiere un alto interés como posibles fármacos.

Por último, se ha logrado añadir aún más complejidad a las 1,4-dihidropiridinas **19** mediante la introducción, por primera vez, de funcionalidades urea en estos compuestos obteniendo así híbridos urea-1,4-dihidropiridina **35** con buenos rendimientos. Dado que ambas familias presentan interesantes propiedades biológicas se ha evaluado su comportamiento como agentes anticancerígenos, revelándose un efecto sinérgico al mostrar los compuestos **35** valores de IC<sub>50</sub> menores que sus predecesores. Asimismo, dado que se trata de compuestos quirales, se evaluó la influencia de esta en la citotoxicidad, hallando que en la mayoría de los casos las mezclas racémicas resultaban ser más activas que los enantiómeros por separado. Las pruebas de solubilidad muestran que esta no influye, al menos en gran medida, en los resultados de citotoxicidad observados, por lo que el mecanismo detrás de este fenómeno es aún desconocido. Al estudiar en más profundidad el mecanismo de acción de estos compuestos se ha encontrado que estos promueven una muerte celular independiente de caspasas. Además, al ser ambas familias luminiscentes, se ha analizado su idoneidad como agentes de visualización celular, mostrando que los compuestos **19** se acumulan en los lisosomas, mientras que los compuestos **35** parecen interactuar con los fosfolípidos y proteínas presentes en las membranas celulares. Por último, los primeros estudios in vivo han mostrado que ambas familias no son tóxicas para los especímenes, incluso utilizando concentraciones 7200 veces superiores a los correspondientes valores de IC<sub>50</sub>. Por todo lo anterior, estos compuestos resultan ser candidatos prometedores para continuar los estudios encaminados a su desarrollo como fármacos.

Tanto los procedimientos catalíticos, como los compuestos sintetizados y los estudios biológicos introducidos en esta tesis doctoral contribuyen al avance de diversos campos científicos. La investigación, globalmente, presenta un alto carácter multidisciplinar, lo que ha supuesto un valor formativo inestimable. Además, todos los trabajos generan un punto de partida interesante para nuevas líneas de estudio.

---

---

# Anexo 1

---

---

## PUBLICACIONES Y CONFERENCIAS

### A1.1 Lista completa de publicaciones

1. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, S. Mohammadi, R. Heiran, R. P. Herrera, New Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Highly Substituted Chiral 2-Oxospiro-[indole-3,4'-(1',4'-dihydropyridine)] Derivatives *Molecules*, **2015**, *20*, 15807-15826.  
IF (2015) = 2.465. Q2 (24/59 en Chemistry, Organic).
2. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera, Organocatalytic Enantioselective Synthesis of 1,4-Dihydropyridines. *Adv. Synth. Catal.* **2017**, *359*, 2161-2175.  
IF (2017) = 5.123. Q1 (7/57 en Chemistry, Applied).
3. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. Heiran, S. Mohammadi, R. P. Herrera, Asymmetric Organocatalytic Synthesis of Substituted Chiral 1,4-Dihydropyridine Derivatives. *J. Org. Chem.* **2017**, *82*, 5516-5523.  
IF (2017) = 4.805. Q1 (9/57 en Chemistry, Organic).
4. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera, First Organocatalytic Asymmetric Synthesis of 1-Benzamido-1,4-Dihydropyridine Derivatives. *Molecules*, **2018**, *23*, 2692.  
IF (2018) = 3.060. Q2 (67/172 en Chemistry, Multidisciplinary).
5. F. Auria-Luna, V. Fernández-Moreira, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. P. Herrera, Ultrasound-Assisted Multicomponent Synthesis of 4H-pyrans in water and DNA binding studies. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 11594.  
IF (2019) = 3.998. Q1 (17/71 en Sciences, Multidisciplinary).
6. F. Auria-Luna, S. Mohammadi, M. Divar, M. C. Gimeno, R. P. Herrera, Asymmetric Fluorination Reactions Promoted by Chiral Hydrogen-Bonding-Based Organocatalysts. *Adv. Synth. Catal.* **2020**, DOI: 10.1002/adsc.202000848.  
IF (2019) = 5.851. Q1 (5/57 en Chemistry, Organic).
7. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, V. Fernandez-Moreira, M. C. Gimeno, I. Marzo, R. P. Herrera, Novel ureido-dihydropyridine scaffolds as theranostic agents. *Bioorg. Chem.* **2020**, DOI: 10.1016/j.bioorg.2020.104364.

IF (2019) = 4.831. Q1 (8/57 en Chemistry, Organic).

8. F. Auria-Luna, J. V. Alegre-Requena, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. P. Herrera, Redefining Chiral Proton Catalysis with Cinchona-promoted Reactions. **2020**, *Enviado*.

**A1.2 Lista completa de conferencias**

1. F. Auria-Luna. "1,4-Dihydropyridines and their urea derivatives as theranostic agents". **LIVE ONLINE - AEBIN Photochemistry School 2020**. Septiembre 2020.  
*Póster.*
2. F. Auria-Luna. " Estudio de las propiedades biológicas de nuevos derivados heterocíclicos de 6 miembros". **I Multifunctional Metallodrugs in Diagnosis and Therapy Meeting**. Julio 2020.  
*Comunicación Oral Flash.*
3. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Nuevos Procedimientos Organocatalíticos Enantioselectivos para la Síntesis de 1,4-Dihidropiridinas". **8ª Jornada de Jóvenes Investigadores de Aragón**. Zaragoza, España. Noviembre 2018.  
*Comunicación Oral Flash.*
4. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Atrapando Enolatos en Agua: Síntesis de Derivados de 4H-Pirano y Estudio de su Actividad Biológica". **XV Simposio de Investigadores Jóvenes de la Real Sociedad Española de Química**. Toledo, España. Noviembre 2018.  
*Póster.*
5. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Trapping Enolates in Pure Water for the Synthesis of 4H-Pyran Derivatives and Study of their Biological Activity". **XXXVI GEQO Congress Organometallic Chemistry Group**. Zaragoza, España. Septiembre 2018.  
*Póster y Miembro del Local Staff*
6. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Síntesis Organocatalítica de Derivados de 4H-Pirano". **XIV Simposio de Investigadores Jóvenes de la Real Sociedad Española de Química**. Badajoz, España. Noviembre 2017.  
*Póster.*
7. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, M. C. Gimeno, R. P. Herrera. "Organocatalytic Synthesis of Chiral 1,4-Dihydropyridines with Potential Biological Properties". **3rd International Electronic Conference on Medicinal Chemistry**. Noviembre 2017, DOI: 10.3390/ecmc-3-04671.  
*Conference Paper*

8. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Organocatalytic Synthesis of Chiral 1,4-Dihydropyridines". **XXXVI Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de Química**. Sitges, España. Junio 2017.  
*Comunicación Oral Flash.*
9. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Highly Substituted Chiral 1,4-Dihydropyridine Derivatives". **7ª Jornada de Jóvenes Investigadores de Aragón**. Zaragoza, España. Noviembre 2016.  
*Póster y Ganador al Premio al Cartel Anunciador.*
10. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Síntesis Asimétrica Organocatalítica de 1,4-Dihidropiridinas Altamente Funcionalizadas". **XIII Simposio de Investigadores Jóvenes de la Real Sociedad Española de Química**. Logroño, España. Noviembre 2016.  
*Póster.*
11. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Síntesis Organocatalítica de 2-Oxo-espiro-[indol-3,4'-(1',4'-dihidropiridinas)] Quirales". **XII Simposio de Investigadores Jóvenes de la Real Sociedad Española de Química**. Barcelona, España. Noviembre 2015.  
*Comunicación Oral.*
12. F. Auria-Luna. "El Día a Día de un Químico Orgánico". **La Noche de los Investigadores**. Zaragoza, España. Septiembre 2015.  
*Presentación Oral.*
13. F. Auria-Luna, E. Marqués-López, R. P. Herrera. "Síntesis de 1,4-Dihidropiridinas Quirales mediante Organocatálisis Asimétrica". **6ª Jornada de Jóvenes Investigadores de Aragón**. Zaragoza, España. Noviembre 2014.  
*Póster.*