



UNIVERSIDAD DE CHILE
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas
Departamento de Química Farmacológica y Toxicológica
Laboratorio de Desarrollo de Fármacos

**“DISEÑO, SINTESIS Y EVALUACIÓN DE FENILFURANOXIBENZAMIDAS
COMO POTENCIALES ANTIBACTERIANOS”**

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO

GUSTAVO MANUEL ENRIQUE CID MORA

DIRECTOR DE MEMORIA
Dr. David Reinaldo Vásquez Velásquez
Dpto. de Química Farmacológica y
Toxicológica.

PROFESOR PATROCINANTE
Dr. David Reinaldo Vásquez Velásquez
Dpto. de Química Farmacológica y
Toxicológica.

SANTIAGO-CHILE
2016

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi profesor y director de tesis, el Dr. David Vásquez por la paciencia y por otorgarme la oportunidad y las herramientas necesarias para alcanzar esta meta, la cual será la llave de oro para mi futuro.

Para mis padres Gustavo y Luisa, mis hermanas Victoria y Javiera, quienes en todo este tiempo y a lo largo de la carrera lo dieron todo por mí, creyeron fielmente en mis capacidades y estuvieron constantemente apoyándome en todo lo que necesité. Simplemente el cariño que les tengo es incalculable y ustedes son una familia que nunca cambiaría por nada. ¡Los amo a todos ustedes!

A toda la gente del cuarto piso, profesores y compañeros; a JP (por ayudarme con las reacciones), ¡Nene, ¡Taca, Leyla, Gabriel, Claudio, Braulio, la uyuii por ser una manada de desquiciados que me hacen reír, antiguos compañeros de laboratorio y por toda la ayuda que me han dado son grosos!

A mis compañeros de laboratorio: Fernando, Fabián, Cristóbal y Felipe con quienes compartí risas y buenos ratos; también a Juan por toda la ayuda brindada, por esa sinceridad que dudo que otras personas sean capaces de reflejar y los consejos; a Javier, quien me ayudo en el desarrollo de la parte biológica de la tesis y todas las veces que tuve preguntas también tuvo la mejor disposición para ayudarme y sobre todo por todas las veces que me hizo reír con sus tallas; a América, mi compañera tesista y quien en poco tiempo se convirtió en una amiga muy importante, quien no dudó ni chistó al brindarme apoyo, me escuchó y acompañó cuando más lo necesité. Les aprecio profundamente y les deseo todo el éxito que puedan encontrar en el transcurso de la vida.

A mis amigos de la vida Angelo, Alan, Gabriel y Carlos, pues, aunque no hemos hablado como en siglos (jajaja lo que solemos decir), siempre, siempre y siempre los he tenido en mi mente, por lo tanto, siento como si me estuvieran constantemente al lado mío y siempre que los recuerdo termino riéndome solo por cada cosa que se nos ocurrió hacer. A mis amigos de la Universidad, Alejandro, Kamila, Eryck, Jennifer, Ignacio, Edgardo con quienes compartí muchos momentos, ratos de estudio, carretes y demases, y me acompañaron en todos estos años, simplemente gracias.

A mi Dianita hermosa, quien llegó a mí, en estos últimos dos años, por ser mi polola y también mi amiga, quien depositó toda su confianza y amor en mí, me apoyó sin negarse y por darme todos los brillantes momentos que he tenido los que han sido sin duda los mejores de mi vida. ¡Todo amo con todo mi ser preciosa! llllllllll.

A Francisco Ordoñez y la gente de la Universidad Católica, por ayudarme y contribuir en el desarrollo de la tesis, les deseo lo mejor. Si hay alguien que olvidé mencionar, también le agradezco por alguna razón jajaja, eso, ahí se ven.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
AGRADECIMIENTOS	2
TABLA DE CONTENIDOS	3
ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE TABLAS	6
ABREVIATURA DE SIGLAS	6
RESUMEN	8
SUMMARY	9
1. INTRODUCCIÓN	10
1.1. LA APARICIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS.	10
1.2. CONTEXTO ACTUAL DE LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (I+D) EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA.	11
1.3. FtsZ, UNA PROTEÍNA IMPORTANTE PARA LA REPLICACIÓN CELULAR BACTERIANA Y NUEVO BLANCO FÁRMACOLÓGICO DE INTERÉS.	12
1.4. LOS COMPUESTOS INHIBIDORES DE FtsZ.	16
1.5. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LOS DERIVADOS DE NÚCLEO 5-FENILFURANO.	18
1.6. ESTRUCTURAS DIMÉRICAS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA.	20
2. HIPÓTESIS	21
3. OBJETIVO GENERAL	21
4. OBJETIVOS ESPECIFICOS	21
5. MATERIALES Y EQUIPOS	22
5.1. MATERIALES	22
5.2. EQUIPOS	23
6. DESARROLLO EXPERIMENTAL	24
6.1. RUTA DE SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS	24
6.1.1. PREPARACIÓN DE LOS ARILFURFURALES (1): MÉTODO GENERAL.	25
6.1.2. PREPARACIÓN DE ALCOHOLES (2): MÉTODO GENERAL POR REDUCCIÓN DE ALDEHÍDOS.	29
6.1.3. PREPARACIÓN DE LAS FENILFURANOXIBENZAMIDAS O FENILFURANOXIESTERES (3): REACCIÓN DE MITSUNOBU.	33
6.1.4a. PREPARACIÓN DE LOS DÍMEROS 5-FENILFURANO (4): POR MEDIO DE TOSILACIÓN DE ALCOHOLES.	34
6.1.4b. PREPARACIÓN DE LOS DÍMEROS 5-FENILFURANO (4): POR MEDIO DE MESILACIÓN DE ALCOHOLES.	35

	Página
6.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM).	38
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES	41
7.1. ESTUDIO DE LA RUTA DE SINTESIS DEL NUCLEO 5-FENILFURANO.	
7.1.1. ARILFURFURALES (1)	41
7.1.2. ALCOHOLES (2)	46
7.1.3. FENILFURANOXIBENZAMIDAS O FENILFURANOXIESTERES (3)	49
7.1.4. BUSQUEDA DE UN NUEVO GRUPO SALIENTE	66
7.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	79
8. CONCLUSIONES	83
9. PERSPECTIVAS	84
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
11. ANEXO	89

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página	
Figura 1	Descubrimiento de los nuevos agentes bacterianos.	12
Figura 2	Estructura cristalizada de un monómero de FtsZ de <i>Bacillus subtilis</i> unido a GTP- γ -S.	14
Figura 3	Estructura química del nucleótido GTP (Guanosin-Trifosfato)	14
Figura 4	Ensamblaje de FtsZ en el proceso de división celular bacteriano.	15
Figura 5	Polímeros de proteína FtsZ y división celular.	15
Figura 6	Inhibidores de FtsZ.	17
Figura 7	Algunos derivados del núcleo 5-fenilfurano.	18
Figura 8	Mecanismo de reacción de formación de los dímeros de núcleo 5-fenilfurano.	19
Figura 9	Estructura química de los derivados 5-fenilfurano.	20
Figura 10	Diagrama de síntesis de los derivados del núcleo 5-fenilfurano.	24
Figura 11	Esquema de las placas utilizadas para realizar el ensayo en triplicado de microdilución en caldo y determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM).	40
Figura 12	Mecanismo de la reacción de diazotación.	43
Figura 13	Mecanismo de reacción de la arilación del furfural con sales de diazonio catalizada por Cu(I).	44
Figura 14	Espectro de ^1H -RMN característico de los aril-furfurales.	45
Figura 15	Mecanismo de la reacción de reducción con NaBH_4 .	47

Figura 16	Espectro de ^1H -RMN característico de los alcoholes.	48
Figura 17	Montaje que representa el sistema utilizado en la reacción de Mitsunobu.	51
Figura 18	Efecto de inducción producido en los compuestos fenólicos.	52
Figura 19	Mecanismo de la reacción de Mitsunobu.	53
Figura 20	Reacción lateral en el mecanismo de la reacción de Mitsunobu.	54
Figura 21	Espectro de ^1H -RMN del fenilfuranoxiester obtenido	55
Figura 22	Espectro de ^1H - ^1H -COSY del fenilfuranoxiester	57
Figura 23	Espectro de ^1H - ^1H -COSY del fenilfuranoxiester: Región alifática.	58
Figura 24	Espectro de ^1H - ^1H -COSY del fenilfuranoxiester: Región aromática.	59
Figura 25	Espectro de HMQC del fenilfuranoxiester.	60
Figura 26	Espectro de HMQC del fenilfuranoxiester: Región Alifática.	61
Figura 27	Espectro de HMQC del fenilfuranoxiester: Región Aromática.	62
Figura 28	Posibles acoplamiento explicados por espectros de HMBC.	63
Figura 29	Espectro de HMBC del fenilfuranoxiester.	63
Figura 30	Espectro de HMBC del fenilfuranoxiester: Región Alifática.	64
Figura 31	Espectro de HMBC del fenilfuranoxiester: Región Aromática.	65
Figura 32	Mecanismo de esterificación (sulfonato) de alcoholes.	67
Figura 33	Mecanismo alternativo de esterificación (sulfonato) de alcoholes.	68
Figura 34	Formación del carbocatión estabilizado por resonancia.	70
Figura 35	Mecanismo propuesto para la formación concertada de los dímeros del núcleo 5-fenilfurano.	70
Figura 36	Espectro de ^1H -RMN para el compuesto 4b .	72
Figura 37	Espectro de DEPT-135 para el compuesto 4b .	73
Figura 38	Espectro de ^1H - ^1H -COSY para el compuesto 4b .	74
Figura 39	Espectro de HSQC del compuesto 4b .	75
Figura 40	Espectro de HSQC del compuesto 4b : Región Aromática.	76
Figura 41	Espectro de HMBC del compuesto 4b .	77
Figura 42	Espectro de HMBC del compuesto 4b : Región Aromática.	78

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Arilación de furfural con sales de arenodiazonio.	43
Tabla 2	Efecto del sustituyente en la posición orto del anillo aromático.	46
Tabla 3	Rendimientos de reacción para el alcohol frente a cloruros de <i>p</i> -toluensulfonilo y metanosulfonilo respectivamente.	71
Tabla 4	Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los aril-furfurales, sobre las cepas <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (SARM) y <i>Enterococcus faecalis</i> sensible a vancomicina (EFSV).	79
Tabla 5	Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los alcoholes, sobre las cepas <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (SARM) y <i>Enterococcus faecalis</i> sensible a vancomicina (EFSV).	79
Tabla 6	Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los compuestos 3a y 3b, sobre las cepas <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (SARM) y <i>Enterococcus faecalis</i> sensible a vancomicina (EFSV).	80
Tabla 7	Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los Dímeros de núcleo 5-fenilfurano, sobre las cepas <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina (SARM) y <i>Enterococcus faecalis</i> sensible a vancomicina (EFSV).	80

ABREVIATURA DE SIGLAS

CDCI ₃	Cloroformo deuterado.
CIM	Concentración Inhibitoria Mínima.
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i> (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio).
COSY	<i>Correlation Spectroscopy</i> (Espectroscopía de Correlación)
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i> (Mejora sin Distorsión por Transferencia de Polarización).
DEAD	Dietilazodicarboxilato.
DIAD	Diisopropilazodicarboxilato.
4-DMAP	4-dimetilamino-piridina.
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfoxido deuterado.
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> (Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades).

EFSV	<i>Enterococcus faecalis</i> sensible a la vancomicina.
EMEA	<i>European Medicines Agency</i> (Agencia de Medicinas Europea),
FtsA	<i>Filamentous Temperature-Sensitive Z</i> (Filamento Z sensible a la Temperatura).
FtsZ	<i>Filamentous Temperature-Sensitive Z</i> (Filamento Z sensible a la Temperatura).
GDP	Guanosin Difosfato.
GTP	Guanosin Trifosfato
HETCOR	<i>Heteronuclear Correlation</i> (Correlación heteronuclear)
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple Bond Correlation</i> (Correlación de enlaces múltiples heteronuclear).
HMQC	<i>Heteronuclear Multiple Quantum Correlation</i> (Correlación de cuantos múltiples heteronuclear).
HSQC	<i>Heteronuclear Simple Quantum Correlation</i> (Correlación de un simple cuanto heteronuclear).
HTS	<i>High-Throughput Screening</i> (Selección de alto rendimiento)
Hz	<i>Hertz</i>
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration</i> (Concentración Inhibitoria 50)
I+D	Investigación y Desarrollo
3-MBA	3-metoxi-benzamida
MsCl	Cloruro de metanosulfonilo.
NaBH ₄	Borohidruro de sodio
PDB	<i>Protein Data Bank</i> (Banco de Datos de Proteína)
ppm	Partes por millón.
¹ H-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Protones.
¹³ C-RMN	Resonancia Magnética Nuclear de Carbonos.
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina.
SAR	Structure-Activity-Relationship (Relación estructura-actividad)
TEA	Trietilamina.
TLC	Thin Layer Chromatography (Cromatografía en Capa Fina)
TMS	Tetrametilsilano.
TsCl	Cloruro de <i>p</i> -toluenosulfonilo.
UFC	Unidades Formadoras de Colonias.

RESUMEN

“DISEÑO, SINTESIS Y EVALUACIÓN DE FENILFURANOXIBENZAMIDAS COMO POTENCIALES ANTIBACTERIANOS”

Los antibióticos a lo largo del tiempo han sido utilizados como distintas opciones terapéuticas en el tratamiento y control de enfermedades infecciosas, pero en la actualidad la lucha contra ciertas enfermedades se ha vuelto un problema mundial en términos de la salud en general, debido a que la eficacia de los antibióticos ha ido en declive por la resistencia que han ido desarrollando los microorganismos. Sumado a lo anterior, la tendiente disminución de la investigación y desarrollo de nuevos agentes antibacterianos con distintos mecanismos de acción, obliga a concentrar los esfuerzos de investigar nuevos blancos moleculares. La proteína FtsZ (Filamentous Temperature-Sensitive Z) ha sido objeto de este tipo de estudios, debido a su importancia en el proceso de citodíéresis (o citocinesis) celular bacteriana, pues polimeriza en protofilamentos necesarios para ensamblar el anillo Z, un complejo divisor que permite que se lleve a cabo el proceso normal de citodíéresis, hecho que ha despertado el interés en esta estructura como un atractivo blanco para el diseño de agentes antibacterianos con pocos efectos adversos. Se han desarrollado distintos inhibidores de la FtsZ, destacándose la estructura PC190723 (**5**) la cual posee una potente y selectiva actividad antiestafilocócica en determinados modelos de infección *in vivo*. Sobre un modelo de *docking* ya estudiado, se concluyó que la serie de las fenilfuranoxibenzamidas (**3**), análoga estructuralmente a **5** posee parámetros de interacción similar y favorable al sitio de unión de la FtsZ y posee el núcleo 5-fenilfurano que tiene potencial actividad biológica. Posteriormente se sintetizaron las series **1**, **2** y se obtuvieron los compuestos **3a** y **4a**, **4b**, **4c** y **4f** contenedores todos del núcleo químico 5-fenilfurano de relevancia para el estudio de ensayos biológicos propuestos para la investigación. La síntesis de los compuestos se realizó en etapas; se empleó la reacción de arilación de Meerwein sobre el furfural a partir de anilinas comerciales, seguido de la reducción de los aldehídos con borohidruro de sodio. El estudio de la reacción de Mitsunobu condujo hacia la formación del compuesto **3a**, un bioisómero de las fenilfuranoxibenzamidas, a partir de 3-hidroxibenzoato de etilo con el correspondiente alcohol. Además, el estudio de las fenilfuranoxibenzamidas condujo a la formación de nuevos productos de los cuales pocos antecedentes hay de su proceso de obtención y uso como posibles agentes antibacterianos, a partir del método de esterificación de alcoholes con cloruro de *p*-toluenosulfonilo (o metanosulfonilo). Se evaluó la actividad biológica de los compuestos obtenidos frente a bacterias prototipo Gram-positivas, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina.

Palabras Clave: Resistencia, I+D. FtsZ. *Docking*. Agente Antibacteriano.

SUMMARY

“DESIGN, SYNTHESIS AND EVALUATION OF PHENYLPURANOXIBENZAMIDES AS POTENTIALS ANTIBACTERIALS”

Antibiotics has been used over time like different therapeutical options in treatment and control of infectious diseases, but lately the struggle with certain type of diseases has become in a worldwide problem in terms of general health, because the effectivity of antibiotics has been reduced for the resistance that microorganisms has been developing. Besides, the tending decrease on develop and research of new antibacterial agents with new action mechanisms, force to concentrate the efforts to investigate new molecular targets. FtsZ protein (Filamentous Temperature-Sensitive Z) has been marked as target of this kind of studies, because the importance in the bacterial cellular cytokinesis process, it polymerizes in necessary protofilaments to assemble Z-ring, a divisor complex that allows the normal cytokinesis process to be carried out, a fact that has sparked interest in this structure as an attractive target for the design of antibacterial agents with few adverse effects. Different FtsZ inhibitors have been developed, standing out the PC190723 (**5**) structure which it has a powerful and selective anti-staphylococcal activity in certain models of *in vivo* infection. About an already studied docking model, it concluded that the phenylfuranoxibenzamide series (**3**), analogical structurally to **5**, it possesses similar and favorable interaction parameters at the binding site of FtsZ and it possesses 5-phenylfuran core that it has powerful biological activity. Later it synthesized the **1**, **2**, series and it obtained the compounds **3a**, **4a**, **4b** and **4c**, all containing 5-fenilfuran core, relevant for the proposed bioassays studies for research. Compound synthesis was performed in stages; it has used Meerwein's arylation on furfural from commercial anilines, then the aldehydes reduction with sodium borohidride. Study of Mitsunobu's reaction leads to the formation of the compound **3a**, a phenylfuranoxibenzamide bioisostere, from ethyl 3-hydroxybenzoate with the corresponding alcohol. Besides, phenylfuranoxibenzamide's study lead to the formation of new products of which few antecedents are about its obtaining process and use as possible antibacterial agents, from the alcohol esterification method with *p*-toluensulfonyl (or methanesulfonyl). The biological activity of the compounds obtained was evaluated against Gram-positive prototype bacteria, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-sensitive *Enterococcus faecalis*.

Keywords: Resistance. R&D. FtsZ. Docking. Antibacterial Agent.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LA APARICIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA A LOS ANTIBIÓTICOS.

Los antibióticos son uno de los descubrimientos más importantes tanto para la medicina, la investigación y la industria del desarrollo farmacéutico. Indispensables en prácticamente toda la medicina moderna, han sido extensamente utilizados desde el campo de la cirugía hasta incluso las terapias contra el cáncer, las cuales no podrían ser posibles sin un efectivo control y tratamiento de las enfermedades producidas por bacterias [1]. Sin embargo, el uso y abuso prolongado dentro de la clínica y la comunidad en general ha traído como consecuencia una fuerte presión en el proceso de selección para la generación de mecanismos por los cuales las bacterias han podido resistir el ataque de antibióticos [2]. Estos mecanismos se han desarrollado por mutación espontánea o por transferencia de genes de resistencia desde el comienzo de la era antibiótica, permitiendo que las bacterias resistentes prevalezcan y puedan replicarse, ya que el tratamiento afecta sólo a las bacterias susceptibles [3], reduciendo las posibilidades de tratar cuadros infecciosos de manera efectiva e incrementando el riesgo de complicaciones para los pacientes enfermos.

En el año 2009, el reporte técnico de la Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades/Agencia de Medicina Europea (ECDC/EMA) señaló que la resistencia antibacteriana se ha convertido en un problema de salud pública mundial, siendo la segunda principal causa de muerte en el mundo [4, 5], y que prioritariamente se debe enfatizar los esfuerzos en conseguir nuevos tratamientos efectivos contra las bacterias que poseen esta característica. Esta información también revela que cerca de 25.000 pacientes mueren al año en Europa, debido a las infecciones que no se pueden tratar con los antibióticos ya existentes, trayendo además consigo costos adicionales en cuidados a la salud e importantes pérdidas económicas de 1,5 billones de euros por año.

Diversos estudios realizados en otras partes del mundo revelan que las bacterias resistentes son un grave riesgo para la calidad de vida y salud humana. Un estudio realizado en Tanzania mostró que un 43,5% de la mortalidad por infecciones sanguíneas fue causada por bacterias Gram-negativas preponderando la resistencia bacteriana [6]. En los niños de menor edad, la diarrea y neumonía son una importante causa de muerte en las regiones más vulnerables. En general, en los países de bajos recursos, la situación es aún más complicada, ya que la situación de pobreza marca una importante tendencia a la proliferación de infecciones mortales. Las viviendas en mal estado, hacinamiento, malnutrición, falta de alimento, agua limpia e higiene causan un ambiente propicio para que las bacterias patógenas se reproduzcan y se propaguen [3].

Actualmente, el panorama no es muy alentador, puesto que se descubrió la existencia de una bacteria resistente a todos los antibióticos actualmente disponibles. Esta bacteria prototipo de *Escherichia coli*, detectada en una paciente de 49 años con una infección urinaria, de Pensilvania en Estados Unidos [7], fue capaz de resistir el ataque de colistin, uno de los

antibióticos más potentes y de último recurso utilizado solo en bacterias multiresistentes [8]. Esta situación llama con urgencia al desarrollo de fármacos totalmente distinto a todos los desarrollados y que puedan ejercer su efecto mediante un mecanismo de acción totalmente diferente a todos los ya conocidos.

1.2. CONTEXTO ACTUAL DE LA INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (I+D) EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA.

Con la aparición y proliferación de las bacterias resistentes, se hace necesario el desarrollo de nuevos fármacos que respondan efectivamente como tratamiento para las distintas infecciones causadas por las bacterias resistentes. Sin embargo, a partir del año 1970 (Figura 1) decae la tendencia innovadora de investigar nuevos antibióticos, debido a que las industrias farmacéuticas cambiaron el enfoque a un desarrollo que está basado en la modificación de los fármacos ya existentes desde un punto de vista estructural, si bien mejoró bastante las características de los fármacos (absorción, farmacocinética, farmacodinamia), el mecanismo de acción es el mismo que sus análogos predecesores para atacar a las bacterias, facilitando las condiciones para que éstas desarrollen resistencia a los fármacos, lo que se traduce en una corta durabilidad de los antibióticos desarrollados [9, 10] y por lo tanto son poco rentables para la industria farmacéutica, dando razón suficiente para que el desarrollo de nuevos antibióticos haya disminuido conforme pasan los años.

Otra razón importante es la barrera económica que supone el desarrollo de un nuevo agente antibacteriano, ya que se estiman costos de I+D de \$800 millones de dólares por agente aprobado (considerando que el tiempo aproximado para investigar, desarrollar y aprobar un nuevo fármaco puede llegar a demorar hasta 18 años) [11]; Los fármacos utilizados en terapias crónicas, por ejemplo cáncer, artritis, diabetes, depresión, etc. generan una permanente retribución económica comparado con los tratamientos con antibióticos que tienen una duración de 7, 14 o 21 días, considerándose una terapia de corta duración. Es por esto que la retribución económica de estos agentes es mucho menor y menos atractiva para las industrias farmacéuticas. Además, las ganancias de venta por inversión económica son disminuidas, dadas las políticas regulatorias nacionales e internacionales para el uso restringido y racional de los antibióticos, el control de precio y la expiración de las patentes que resultan en la proliferación de fármacos genéricos de bajo precio [12].

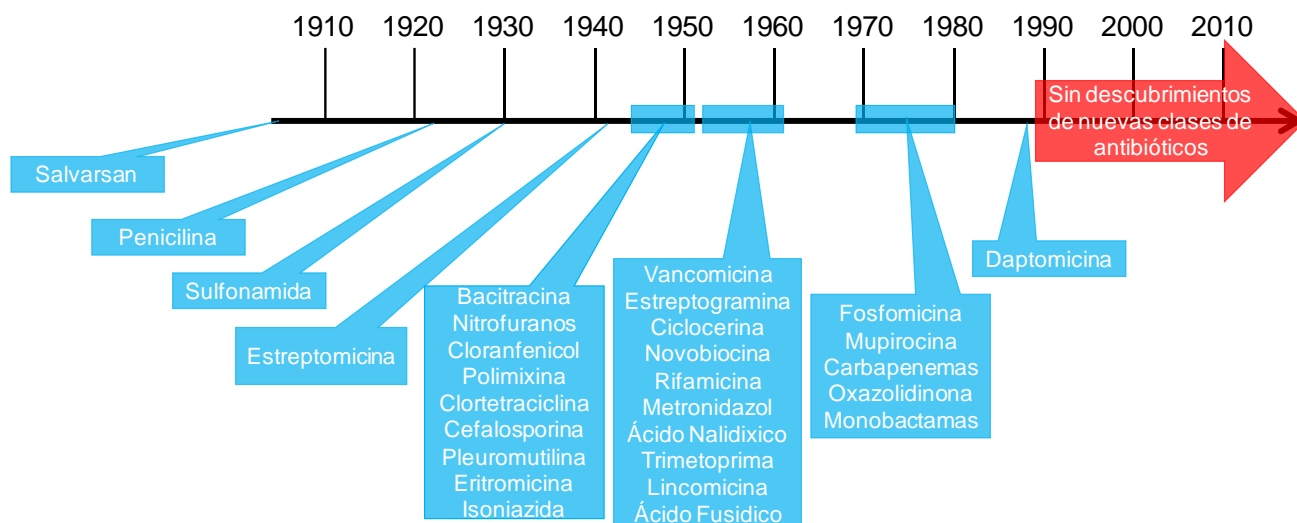


Figura 1. Descubrimiento de los nuevos agentes antibacterianos.

1.3. FtsZ, UNA PROTEÍNA IMPORTANTE PARA LA REPLICACIÓN CELULAR BACTERIANA Y NUEVO BLANCO FÁRMACOLÓGICO DE INTERÉS.

Según todos los antecedentes ya mencionados, actualmente está latente la necesidad de sintetizar y desarrollar nuevas sustancias como alternativas a las ya existentes con nuevos mecanismos de acción que sean efectivos contra las infecciones bacterianas, además se debe poner énfasis en investigar nuevos blancos moleculares, tales como los que pueden tener relevancia para la división y replicación celular bacteriana, los cuales han sido punto de interés común como potenciales objetivos para el tratamiento antibiótico.

La división celular bacteriana se lleva a cabo a través de un complejo macromolecular llamado divisoma, el cual es altamente dinámico y está caracterizado por un ensamblaje de proteínas específicas dependiente del tiempo [13]. La formación de este complejo macromolecular se lleva a cabo a través de la proteína denominada FtsZ (del inglés *Filamentous Temperature Sensitive Z*) que da inicio al proceso de división normal celular, polimerizándose en una estructura conocida como el anillo Z en medio de la célula, marcando el sitio de división celular y proporcionando un lugar para reunir subsecuentemente las proteínas necesarias para que se pueda llevar a cabo la división celular [14].

La proteína FtsZ se encuentra presente en casi todas las bacterias y es un análogo estructural a la tubulina presente en las células eucariontes (de origen animal) [14]. La información genética que la codifica, lo hace a través de los genes "Fts" (del inglés *Filament-forming temperatura-sensitive*), los cuales fueron confirmados por análisis mutacional en el año 1960, pero mucho después, en el año 1991, se descubrió su papel en la división celular

[15]. La proteína *FtsZ* (Figura 2), consta de 2 dominios plegados de forma independiente y una hélice central (H7). Uno de los dominios es el *N*-terminal enzimático, importante para la unión de nucleótidos, el guanosintrifosfato (GTP) (Figura 3); también está el dominio *C*-terminal, que tiene un residuo, ubicado en la base del dominio, el cuál forma un sitio de unión para las proteínas importantes para el proceso de división. A continuación de la hélice central H7 se encuentra el loop T7 (lazo sinérgico o T7 catalítico) [16]. A pesar de ser similar en estructura a la β -tubulina (que también se enlaza al GTP), su secuencia de alineamiento basado en la estructura de ambas difiere significativamente, ya que los residuos comunes a la α -tubulina, β -tubulina y *FtsZ* constituyen solo el 7% de la secuencia de la tubulina, y la identidad entre las tres secuencias, considerando solamente el dominio de unión de nucleótidos es de un 10% [17], lo cual podría sostener el desarrollo de fármacos antibacterianos selectivos para *FtsZ*, teniendo pocos efectos adversos.

Durante la citocinesis celular bacteriana (Figura 4) la proteína *FtsZ* auto-activa la enzima GTP-asa al asociarse a dos monómeros enlazados a GTP, uniendo el loop T7 de la subunidad superior en el bolsillo de unión de nucleótidos de la unidad inferior [18] para crear un sitio activo con la capacidad de hidrolizar GTP a guanosindifosfato (GDP), condensando más subunidades de *FtsZ* unidos a GTP de la misma forma e hidrolizándolo en los nuevos sitios de hidrólisis generados, formándose polímeros de protofilamentos de *FtsZ* [19] (Figura 5), dando lugar al anillo Z en medio de la región celular.

La estructura de la proteína *FtsZ* es muy dinámica pues se arma de manera rápida y está continuamente remodelándose a sí misma por medio de intercambios de subunidades monoméricas entre el anillo y el citoplasma bacteriano [20, 21]. Así mismo, como se mencionó previamente, el anillo Z proporciona un centro de unión de un cierto número de proteínas de división celular fundamentales para llevar a cabo el proceso exitosamente, formar el complejo divisoma y anclarse efectivamente a la membrana citoplasmática, siendo la más importante la *FtsA*, que tiene interacción el residuo del dominio *C*-terminal de *FtsZ* [22].

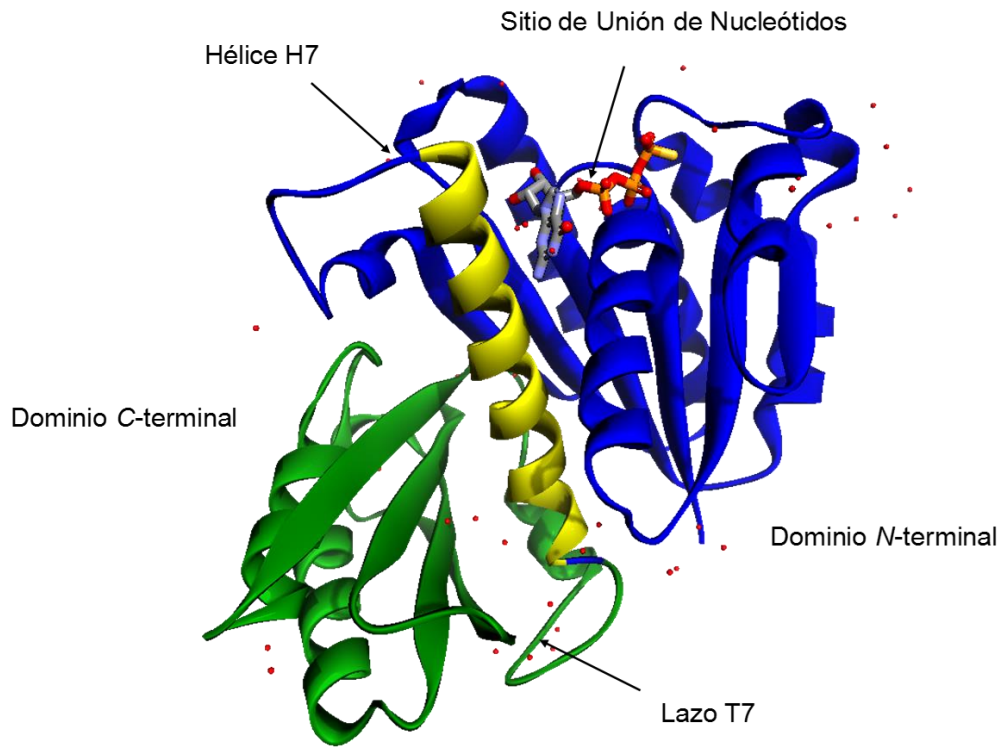


Figura 2. Estructura cristalizada de un monómero de FtsZ de *Bacillus subtilis* unido a GTP- γ -S (Código del Banco de Proteínas PDB: 2RHO)

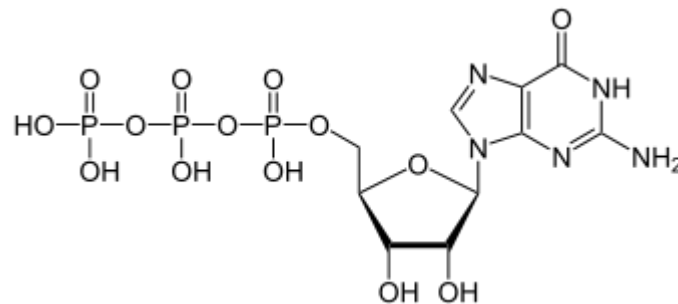


Figura 3. Estructura química del nucleótido GTP (Guanosin-Trifosfato)

Finalmente, el anillo Z y el divisoma organizan coordinadamente la constricción anular de la membrana, pared y cualquier otra capa celular presente, formando el *septum* y dando fin al proceso de mitosis bacteriana [23], donde se sugiere un modelo de constricción basado en que los polímeros del anillo Z generan la fuerza de constricción a través de reiterados procesos de hidrólisis de GTP de polimerización, unión a la membrana, cambios

conformacionales en los protofilamentos de lineales a curvos; despolimerización e intercambio de nucleótidos [24].

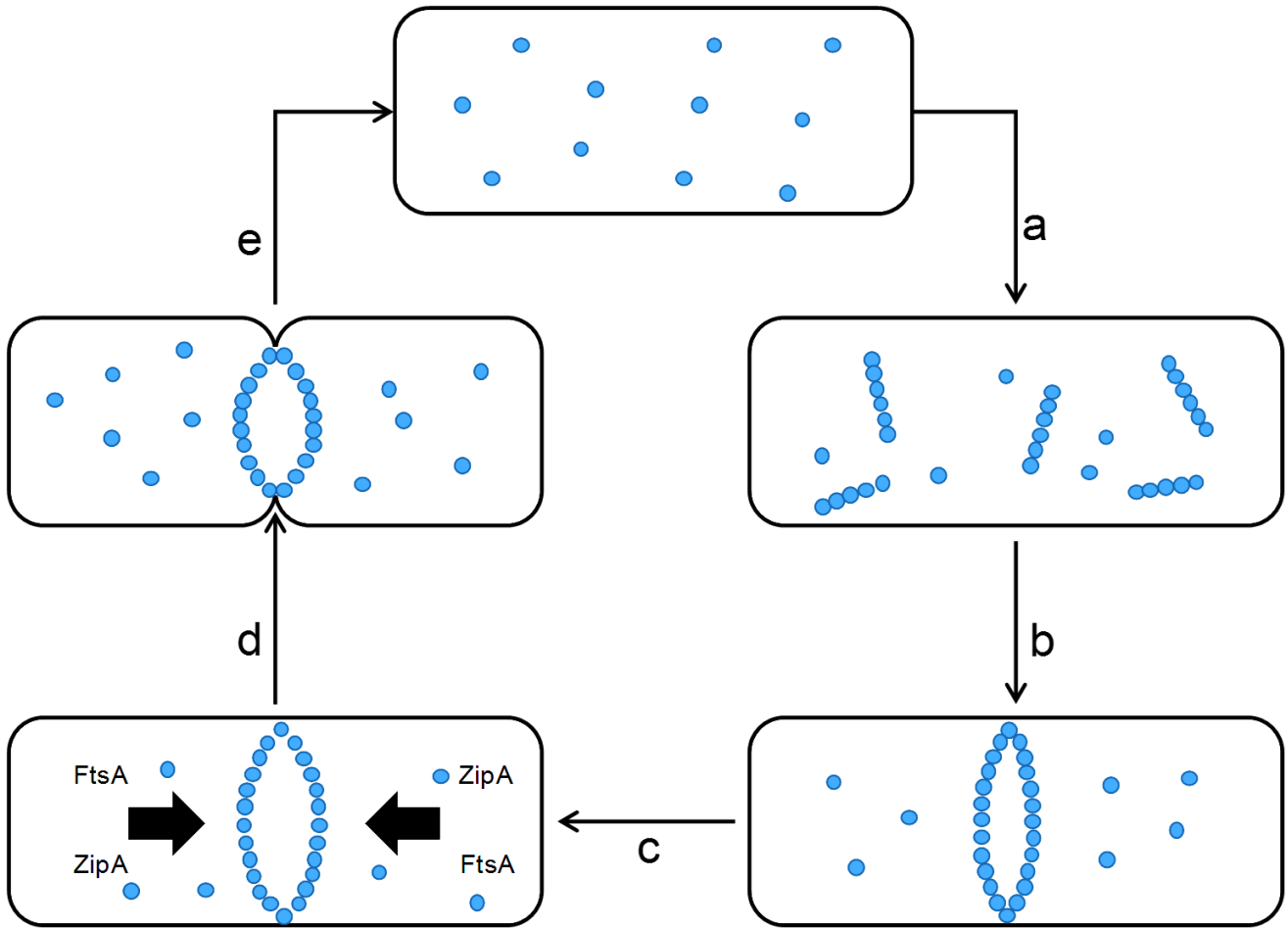


Figura 4. Ensamblaje de FtsZ en el proceso de división celular bacteriano. a) Polimerización de FtsZ en protofilamentos; b) Auto-ensamblaje de FtsZ al anillo Z en la mitad celular; c) Reclutamiento de otras proteínas de división; d) Constricción del anillo Z y formación del septum; e) Desensamblaje del anillo Z y división celular [25].

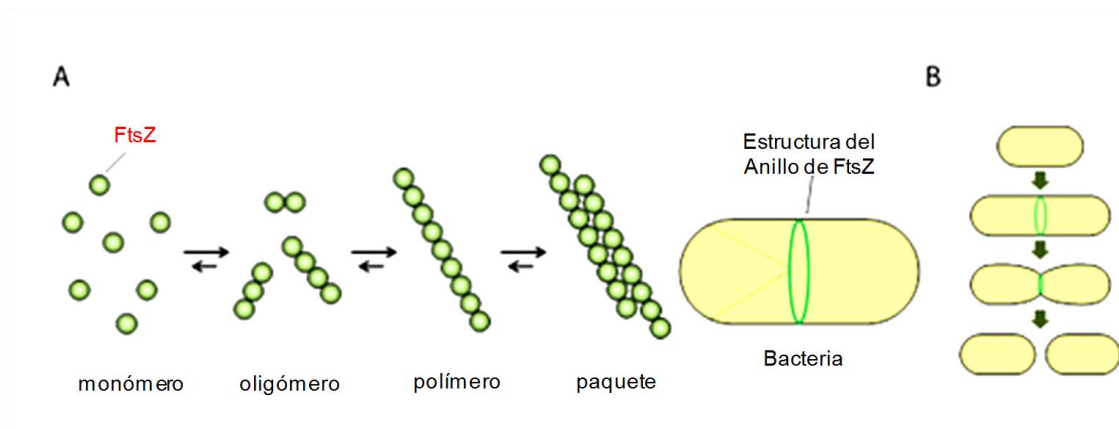
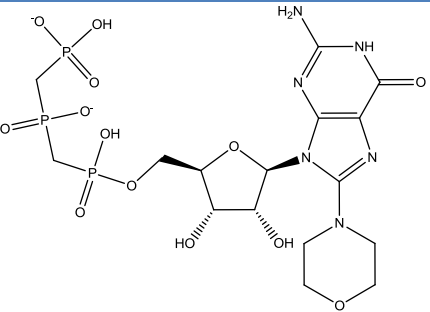
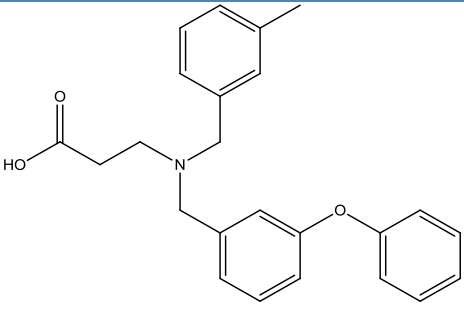
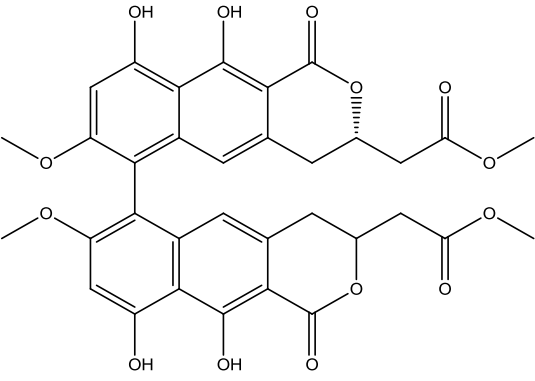
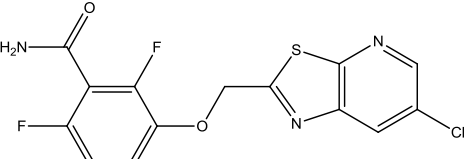
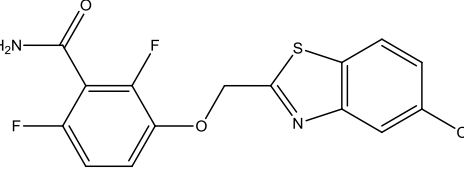


Figura 5. (A) Polímeros de proteína FtsZ y (B) división celular.

1.4. LOS COMPUESTOS INHIBIDORES DE FtsZ.

La FtsZ, proteína muy importante en la replicación bacteriana, posee una serie de cualidades que la hacen ser un blanco biológico atractivo para el diseño y síntesis de nuevos compuestos con actividad antibacteriana. Sobre una base de datos de compuestos obtenidos desde extractos de productos naturales, antibacterianos conocidos previamente, inhibidores de tubulina y compuestos sintetizados especialmente para inhibir FtsZ se realizó un test HTS (del inglés *High-Throughput Screening*) donde se generaron una gran variedad de moléculas que diversa potencia y especificidad clasificadas en 5 grupos químicos: Derivados de guanina, Ácidos carboxílicos, Fenoles, Derivados de benzamida, N-heterociclos entre otros [26], los cuales se muestran a continuación (Figura 6)

Nucleótidos de Guanina	Ácido Carboxílico
 <p data-bbox="313 982 690 1087">8-morfolino-GTP Actividad GTP-asa IC₅₀: 179 μM IC₅₀ de Polimerización: 139 μM</p>	 <p data-bbox="829 982 1369 1087">PC58538 Actividad GTP-asa CIM: ≈ 341 μM en <i>Bacillus subtilis</i>.</p>
Fenoles	Derivados de Benzamida
 <p data-bbox="250 1753 751 1816">Viriditoxina Actividad GTP-asa CIM: ≈ 12 μM en SARM</p>	 <p data-bbox="829 1407 1369 1585">PC190723 Actividad GTP-asa IC₅₀: 55 ng/mL Actividad GTP-asa CIM: 2.8 μM en <i>Bacillus subtilis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a Meticilina (SARM)</p>  <p data-bbox="813 1795 1386 1898">8j Actividad GTP-asa CIM: 1 μM en <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>

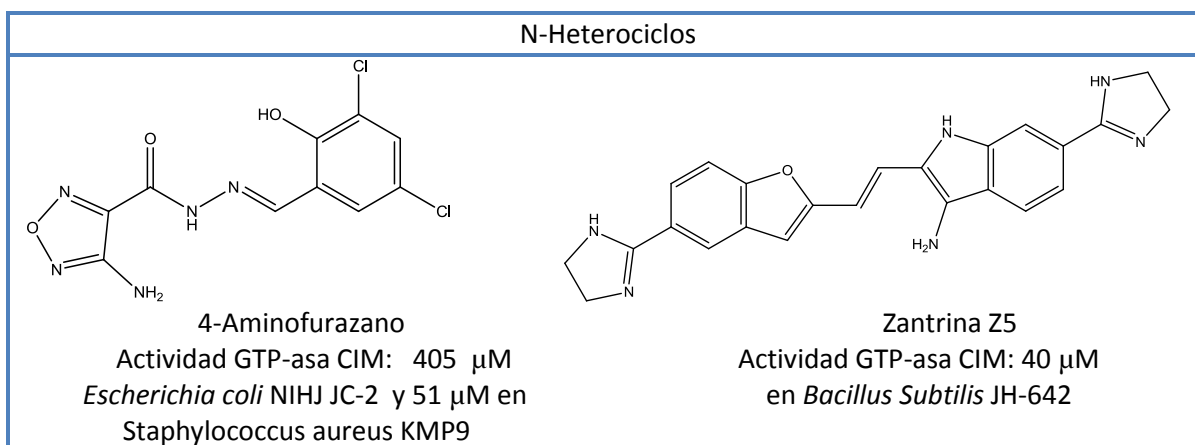


Figura 6. Inhibidores de FtsZ.

Muchos de estos compuestos fueron obtenidos sobre la base de un diseño racional de inhibidores selectivos de FtsZ a través de estudios computacionales y *docking* molecular. Esta técnica corresponde a una de las herramientas computacionales que permiten el estudio de moléculas pequeñas en una cavidad determinada de una macromolécula, como por ejemplo modelos de unión sustrato-enzima, permitiendo controlar los parámetros estructurales (orientaciones, posicionamientos, conformaciones). El estudio de las interacciones de un ligando con un receptor (uniones de grupos funcionales) en un sitio de unión y la cuantificación de la energía de interacción ligando-receptor [27], permite obtener información valiosa para una modelación molecular precisa y la predicción de la actividad biológica en los bioensayos.

Estudios previos demostraron que PC190723, un derivado benzamídico, fue el primer inhibidor de FtsZ que mostró ser eficaz en un modelo *in vivo* de infección protegiendo a ratones de una dosis letal de *Staphylococcus aureus* [28]. Este compuesto fue desarrollado a partir de la 3-metoxi-benzamida (3-MBA), en el cual los estudios de relación estructura-actividad hacia PC190723 mostraron que los grupos amida y éter en posición 3 son fundamentales para la inhibición bacteriana, debido a las interacciones favorables entre el sitio de unión de FtsZ y el ligando estructural de PC190723; la sustitución en las posiciones 2 y 6 con flúor confieren mayor potencia y el reemplazo del grupo 3-metoxi por sustituyentes con una variedad de grupos heterobenciloxi mejoraban la actividad antibacteriana como las propiedades farmacocinéticas de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME), resultando en una potente y selectiva inhibición de FtsZ.

Utilizando herramientas de *docking*, se realizó un estudio y modelación de una serie de compuestos del tipo fenilfuranoxibenzamidas, estructuralmente similares a PC190723. Para dicho estudio cristalográfico se utilizó el sitio activo de FtsZ de *Staphylococcus aureus* (PDB: 3VOB). Como resultado, los puntajes *docking* entre las fenilfuranoxibenzamidas y el ligando PC190723 (parámetro de energía libre de interacción ligando-receptor) fueron similares entre sí, lo que sugiere que las fenilfuranoxibenzamidas pueden unirse al bolsillo de la FtsZ de forma similar que el ligando PC190723 en *Staphylococcus aureus*.

1.5. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE LOS DERIVADOS 5-FENILFURANOS

En la literatura científica se han reportado compuestos con diversas actividades en microorganismos que en su estructura química tienen el núcleo químico 5-fenilfurano, algunos de los cuales se describen a continuación y se pueden observar en la Figura 7: (i) Derivados de furano con mitad rodanina (A) que presentan actividad antimicrobiana contra bacterias Gram-positivas incluyendo bacteria prototipos clínicas multirresistentes con valores de CIM en el rango de 2 a 16 $\mu\text{g/mL}$, baja citotoxicidad y cuyo mecanismo de acción se desconoce [29]. (ii) Análogos neonicotinoides con grupos 5-fenilfurano en su estructura (B) que presentan significativa actividad insecticida sobre pulgón del frijol (*Aphis craccivora*), pulgón del algodón (*Aphis gossypii*), y pulgón pardo (*Nilaparvata lugens*) con una mejorada estabilidad al agua y a la luz debido a su gran sistema de conjugación [30] con valores de concentración letal 50 (CL_{50}) en el rango de 0,33 μM a 2,04 μM entre todas las especies estudiadas. (iii) Series de arilfuranos basados en 2,5-bis-(4-Acetamido-fenil)furano (C) que muestran actividad inhibitoria *in vitro* sobre la enzima tripanotión reductasa del parásito *Trypanosoma cruzi* causante de la enfermedad de Chagas [31] con porcentajes de inhibición de la enzima (en relación a una concentración de 100 μM) en el rango de 6 a 63% .

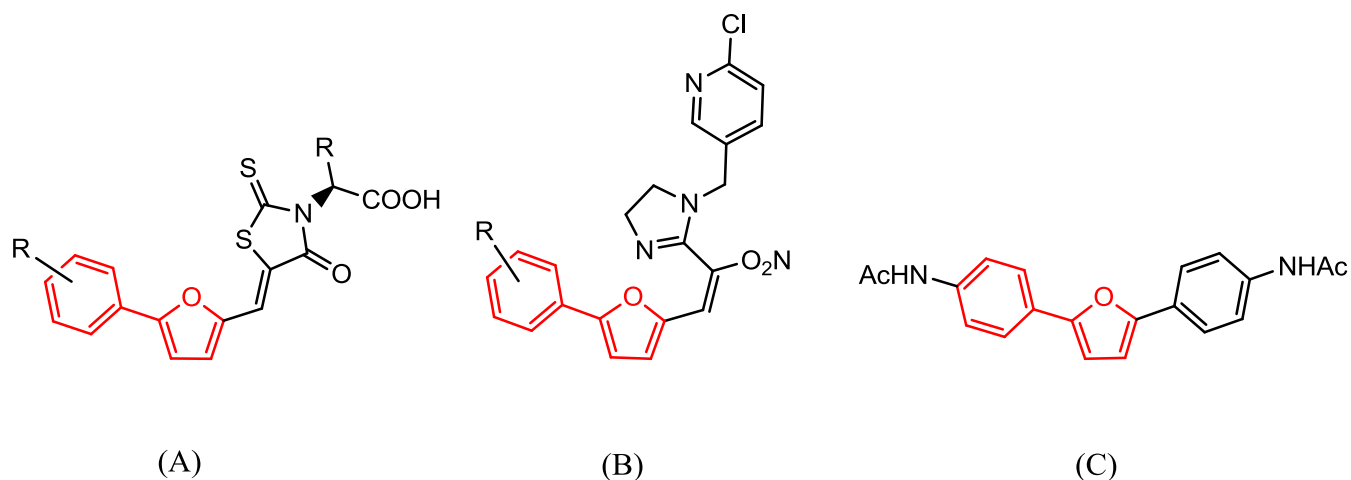


Figura 7. Algunos derivados del núcleo 5-fenilfurano.

Sin embargo, existen pocos antecedentes bibliográficos que describan la actividad de dímeros del núcleo 5-fenilfurano como agentes antibacterianos y así mismo es escasa la información que se puede obtener en cuanto a la síntesis u obtención de este tipo de compuestos, siendo un interesante conjunto de moléculas que podrían presentar actividad antibacteriana, dada la estructura química que poseen. Singh Aidhen y colaboradores [32] proponen la síntesis de los dímeros a través de un proceso de desfuncionalización de aril-cetonas, derivadas del ácido L-(+)-tartárico, por influencia de un medio ácido. Se describe

detalladamente la formación de un intermediario totalmente análogo a los alcoholes derivados del núcleo 5-fenilfurano, el cual se protonaría en medio ácido dando lugar a la formación de un carbocatión tipo bencílico, el cual es muy estable por efectos de resonancia y este a su vez sería atacado por un par de electrones del doble enlace en posición alílica al hidroxilo de otra molécula del mismo alcohol (Figura 8) lo que daría paso al proceso de dimerización de la estructura con la liberación concomitante de formaldehído.

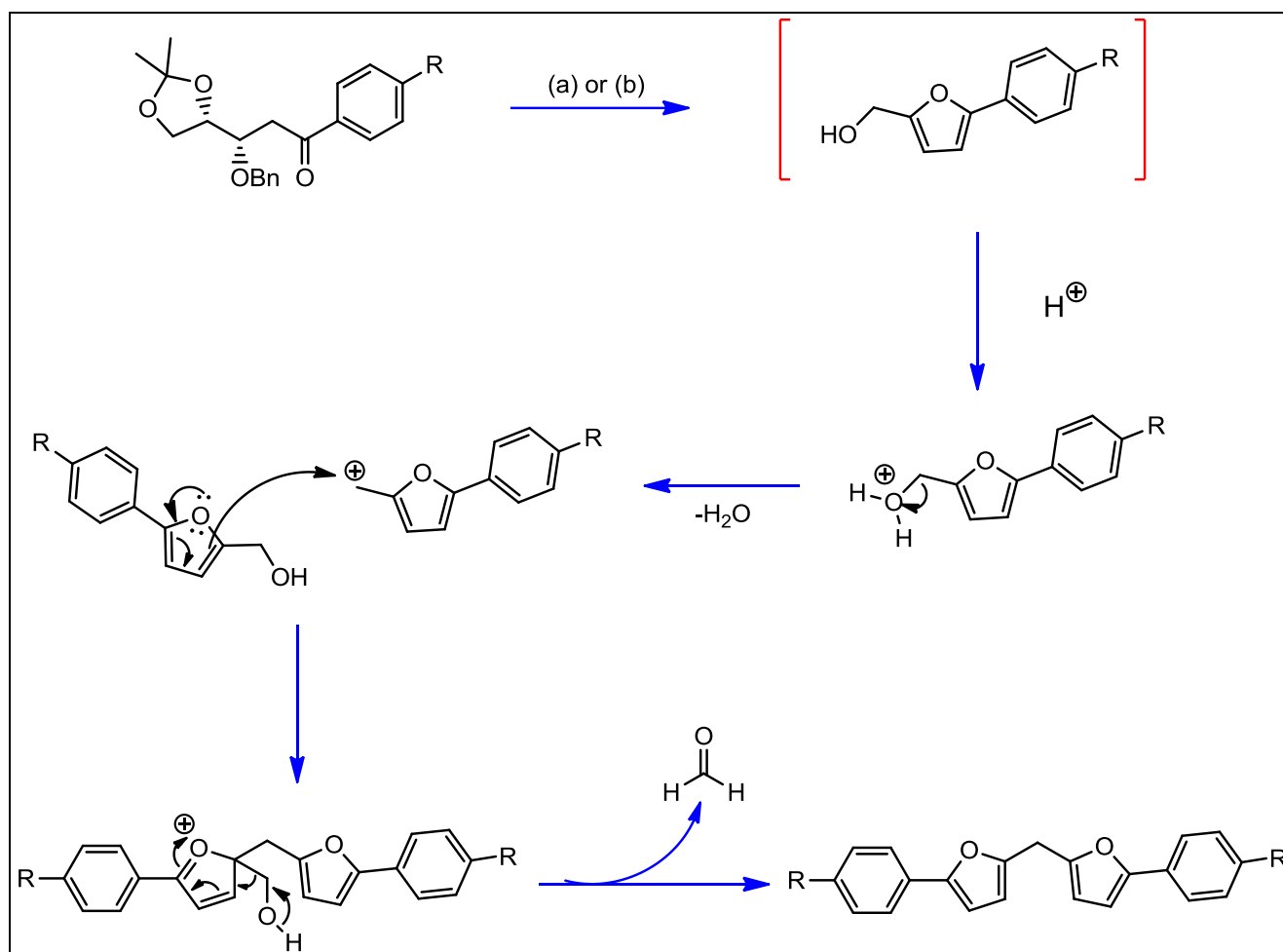


Figura 8. Mecanismo de reacción de formación de los dímeros del núcleo 5-fenilfurano. a) Trazas de ácido prótico acuoso. b) CF_3COOH , THF/ H_2O (3:1), 40 - 45°C, 3-4 h.

Por otra parte Pershin y colaboradores [33] describen un poco sobre la actividad biológica de algunos de estos compuestos midiendo la actividad antimicrobiana con respecto a 3 especies de micobacterias estables en medio ácido, encontrando actividad contra la micobacteria que produce la tuberculosis humana (bacteria prototipo $H_{37}RV$). Uno de los compuestos estudiados correspondía al dímero *p*-cloro-sustituido, el cual presentó un valor de CIM de 2 $\mu g/mL$ para $H_{37}RV$, siendo el único compuesto de esta serie en evaluarse como un agente antimicrobiano. Los valores de actividad de los compuestos estudiados se vieron reducidos por la adición de suero de sangre de caballo al 10% reportando un valor de 1000 $\mu g/mL$ del dímero *p*-cloro-sustituido.

1.6 ESTRUCTURAS DIMÉRICAS CON ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Considerando la actividad del núcleo 5-fenilfurano como antibacteriano, y el escaso estudio de los dímeros que este núcleo posee. Se propone la síntesis y evaluación antibacteriana de una serie de dímeros de 5-fenilfuranos en dos bacterias prototipo Gram-positivas. (Figura 9). Se procederá a realizar la síntesis completa de dichos compuestos, pasando por los intermediarios sintéticos y aprovechando la estructura en común que estos compuestos poseen (el núcleo químico 5-fenilfurano). Posteriormente se evaluará la actividad antibacteriana mediante el ensayo de microdilución en caldo para determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) en las bacterias prototipo de *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

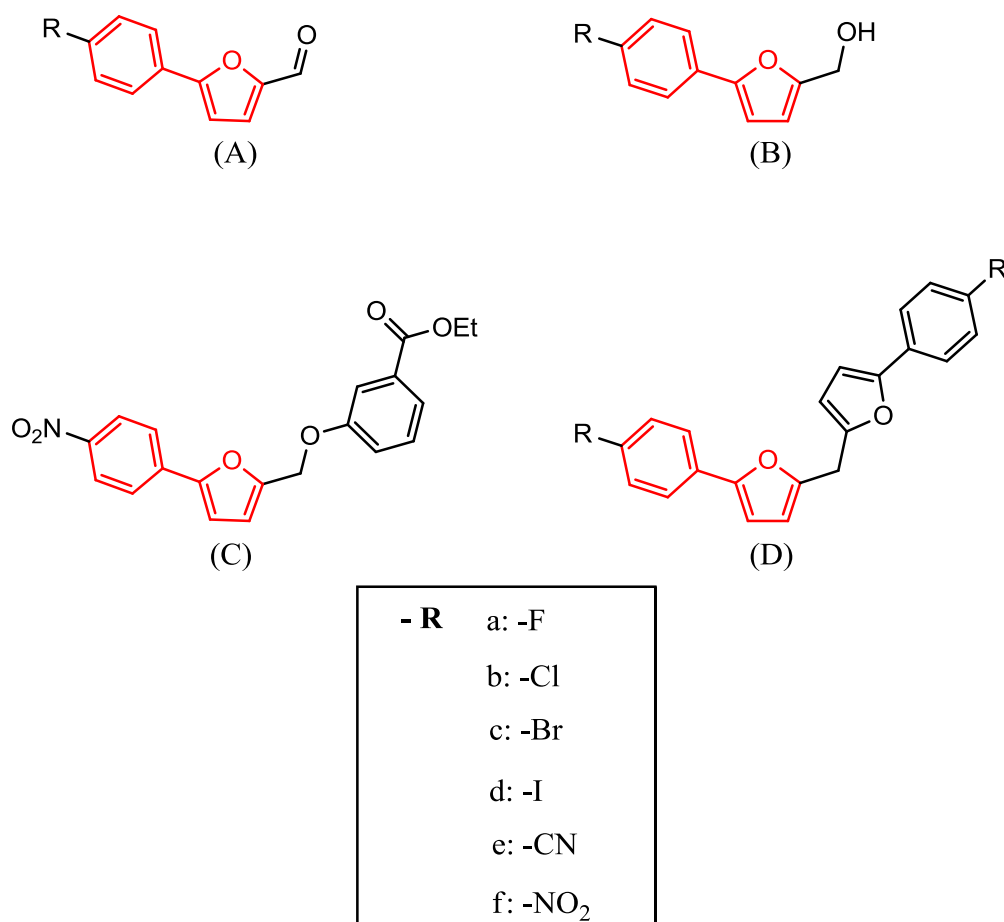


Figura 9. Estructura química de los derivados 5-fenilfurano. A) Compuestos **1a-f**. B) Compuestos **2a-f**. C) Compuestos **3a** D) Compuestos **4a-f**.

2. HIPÓTESIS

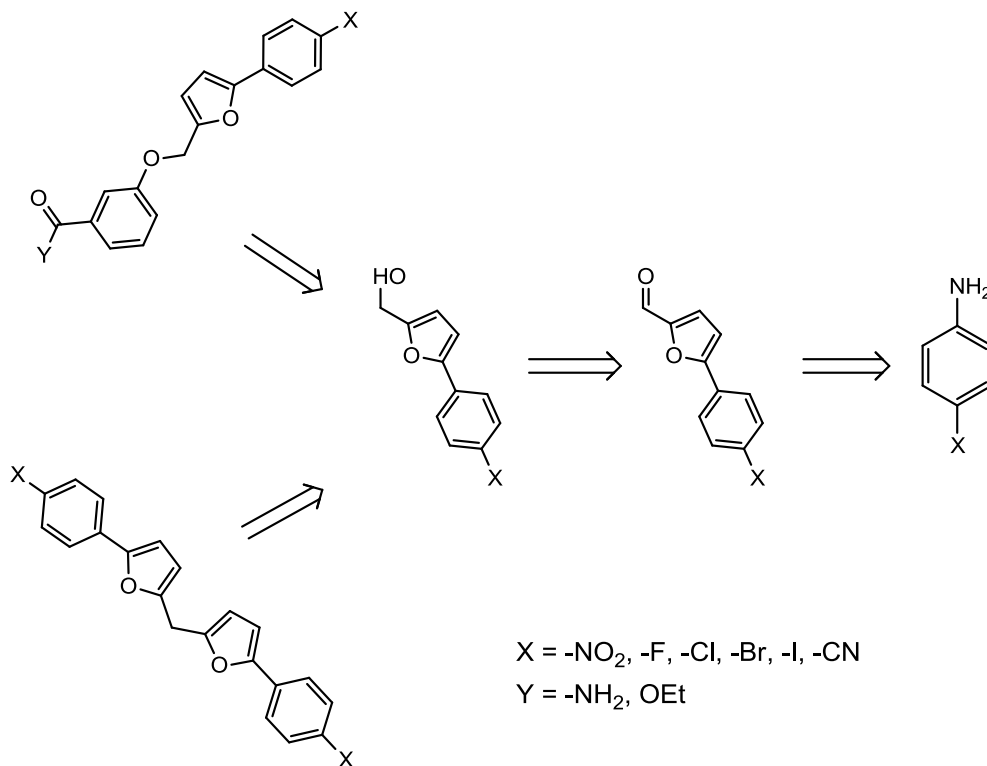
Los derivados del núcleo 5-fenilfurano presentan actividad biológica a distintas especies, por lo tanto los compuestos a sintetizar presentarán actividad antibacteriana frente a las bacterias prototipo Gram-positivas *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y *Enterococcus faecalis* sensible a la vancomicina.

3. OBJETIVO GENERAL

Estudiar la síntesis de derivados del núcleo 5-fenilfurano para posteriormente evaluar su actividad antibacteriana frente a bacterias prototipo Gram-positivas.

4. OBJETIVO ESPECIFICO

1. Estudiar la obtención de las series de compuestos derivados del núcleo 5-fenilfurano a través del siguiente esquema retrosintético.



2. Caracterizar los compuestos sintetizados a través de espectroscopia de ¹H-RMN, ¹³C-RMN y Punto de Fusión.
3. Medir la concentración inhibitoria mínima (CIM) de los compuestos obtenidos sobre las bacterias prototipo *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM, ATCC 43300) y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina (EFSV, ATCC 29212).

5. MATERIALES Y EQUIPOS

5.1. MATERIALES

Solventes

Se emplearon solventes de calidad HPLC adquiridos en Sigma-Aldrich[®] y Merck[®]. Acetato de etilo, hexano, éter de petróleo y diclorometano para cromatografía TLC y preparativa en columna de gel de sílice flash; etanol absoluto ($\geq 99,8\%$), diclorometano, tetrahidrofurano, acetona o acetato de etilo como disolvente de los compuestos, los cuales fueron secados según fuese necesario, empleando tamiz molecular de 0,3 nm adquirido también en Merck[®]

Reactivos

- ❖ *p*-fluoro-anilina (Aldrich 99%)
- ❖ *p*-cloro-anilina (Aldrich 98%)
- ❖ *p*-bromo-anilina (Aldrich 97%)
- ❖ *p*-iodo-anilina (Aldrich 98%)
- ❖ *p*-amino-benzonitrilo (Aldrich 98%)
- ❖ *p*-nitro-anilina (Aldrich $\geq 99\%$)
- ❖ Furfural (Aldrich 99%)
- ❖ Bromuro Cuproso, CuBr (Aldrich 98%)
- ❖ Nitrito de Sodio, NaNO₂ (Aldrich $\geq 97\%$)
- ❖ Ácido Clorhídrico fumante (Merck 37%)
- ❖ Borohidruro de Sodio, NaBH₄ (Aldrich 98%)
- ❖ Trietilamina (Merck 98%)
- ❖ Cloruro de *p*-toluensulfonilo (Aldrich 98%)
- ❖ Cloruro de metanosulfonilo (Merck 98%)
- ❖ Trifenilfosfina (Aldrich 98%)
- ❖ Diisopropilazodicarboxilato (Aldrich 98%)
- ❖ 3-hidroxibenzamida (AK Scientific 98%)

Insumos para Cromatografía en columna y en capa fina

Se empleó gel de sílice flash (Silicagel 60, 0,015-0,040 mm, Merck) para cromatografía en columnas preparativas para la purificación de los compuestos obtenidos, y TLC Silicalgel 60 (Merck) para cromatografía en capa fina como método de caracterización preliminar.

Insumos para los Ensayos Biológicos

El antibiótico patrón utilizado fue vancomicina, adquirido en Abcam Biochemicals®. El medio de cultivo Mueller Hinton fue adquirido desde Lab-Diagnostic®, y preparado según la recomendación del fabricante. La tripticasa de soya con 5% sangre cordero (*AES Chemunex*) fue obtenida de Lab-Diagnostic®. Las placas de agar McConkey (*AES Chemunex*) fueron obtenidas de Lab-Diagnostic®. Las placas de cultivo de 96 pocillos estériles de fondo U (Santa Cruz Biotechnology, Inc.) fueron adquiridas desde Fermelo Biotec®.

5.2. EQUIPOS

Los análisis espectroscópicos de Resonancia Magnética Nuclear (^1H -RMN) se llevaron a cabo en un espectrómetro Bruker modelo Advance DRX-300 en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile y en un espectrómetro Bruker modelo Advance 400 (^1H -RMN, ^{13}C -RMN, DEPT-135, ^1H - ^1H COSY, HMQC, HMBC, HSQC) en la Facultad de Química, Pontificia Universidad Católica de Chile. Se utilizó dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) al 99,9% y cloroformo deuterado (CDCl_3) al 99,8% para la disolución y análisis de los compuestos. Los desplazamientos químicos (δ) se expresaron en ppm y las constantes de acoplamiento (J) en *Hertz* (Hz). Además, las multiplicidades de las señales se expresaron como singulete (s), doblete (d), doblete de doblete (dd), triplete (t), cuarteto (q) o multiplete (m). El estándar interno utilizado en la determinación de los espectros fue tetrametilsilano (TMS).

6. Desarrollo Experimental

6.1. RUTA DE SÍNTESIS DE LOS COMPUESTOS.

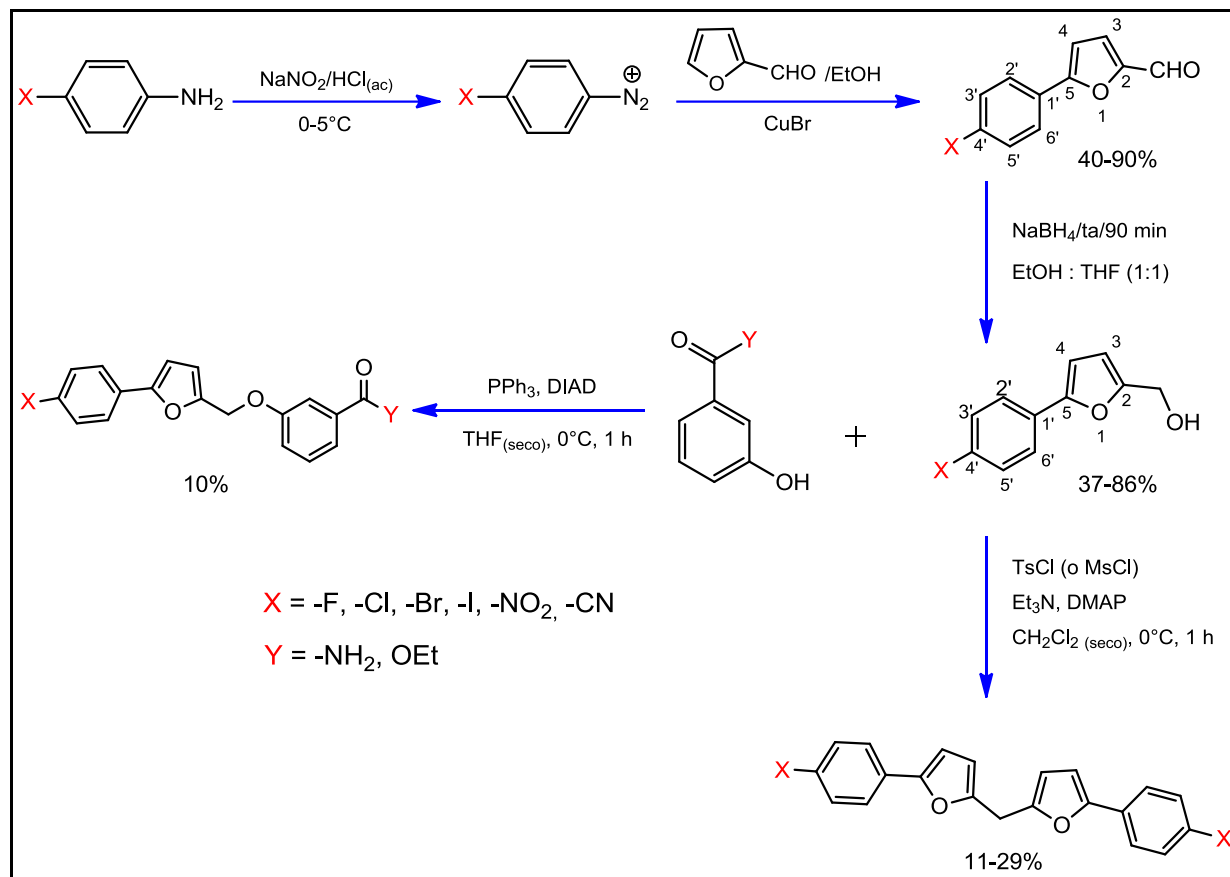


Figura 10. Diagrama de síntesis de los derivados del núcleo 5-fenilfuran.

6.1.1. PREPARACIÓN DE LOS ARILFURFURALES (1): MÉTODO GENERAL.

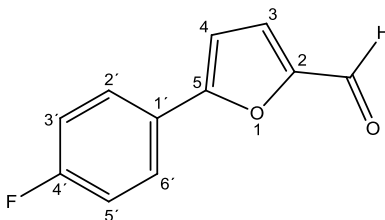
Preparación de las sales de diazonio.

En un vaso de precipitado de 600 mL se disuelven 100 mmol de anilina en 25 mL de HCl (37%) y 13 mL de agua destilada. Con agitación y calentamiento. Una vez disuelta la anilina, se deja enfriar para precipitar la anilina en forma de clorhidrato. La solución se enfría hasta llegar un rango de temperatura entre 0 y 5°C, para luego añadir una solución acuosa de 20 mL de NaNO₂ (100 mmol) por goteo lento. Una vez terminada la adición se continúa agitando a una temperatura inferior a 5°C por 10 minutos. Se filtra rápidamente al vacío evitando que la temperatura ascienda por sobre los 10°C y se procede a la reacción de arilación.

Arilación del Furfural.

Al vaso precipitado que contiene solución fría de la sal de diazonio con agitación, se le agrega una solución alcohólica (8,3 mL de aldehído en 16 mL de etanol) de furan-2-carboxaldehído (furfural), destilado previamente. Posteriormente, se añade por goteo y bajo agitación, 10 mmol de CuBr en 10 mL de agua. La temperatura se elevará levemente. Se mantiene la agitación durante 4 horas y se deja en reposo hasta el día siguiente. Todos los compuestos fueron recristalizados mediante el siguiente procedimiento: El aril-furfural obtenido se recristaliza en etanol con carbón activado. Para inducir la recristalización, al filtrado calentado hasta ebullición se le adicionó cuidadosamente agua caliente hasta la opalescencia, permitiendo que el sólido precipite posteriormente por enfriamiento.

Los espectros ¹H-RMN y ¹³C-RMN de los compuestos sintetizados **1a-f**, **2a-f**, **3a** y **4a-f** se encuentran en el anexo.

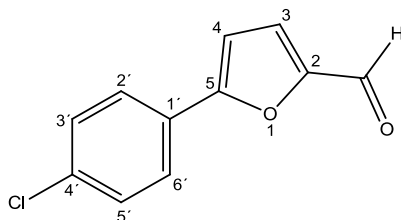


PM = 190,04 g/mol

Síntesis del 5-(4-fluorofenil)-furfural (1a). El compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente utilizando 11,1 g (100 mmol) de 4-fluoroanilina.

Fórmula molecular: C₁₁H₇O₂F. Sólido Café. Rendimiento: 87%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 6,78 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H, H4); 7,13 (t, *J* = 8,2 Hz, 2H, H3' y H5'); 7,31 (d, *J* = 3,7 Hz, 1H, H3); 7,80 (dd, *J* = 7,2; 5,5 Hz, 2H, H2' y H6'); 9,63 (s, 1H, -CHO). **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC

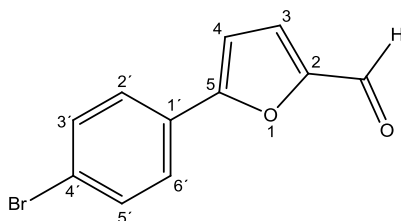
107,33 (C-H, C4); 116,11 (C-H, C3' y C5'); 123,60 (C-H, C3) 125,30 (C1'); 127,26 (C-H, C2' y C6'); 151,98 (C2); 158,41 (C5), 162,19 (C4'), 164,68 (C4') 177,06 (C=O). **p.f.:** 75,8-77,3°C.



PM = 206,01 g/mol

Síntesis del 5-(4-clorofenil)-furfural (1b). El compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente utilizando 6 g (47 mmol) de 4-cloroanilina.

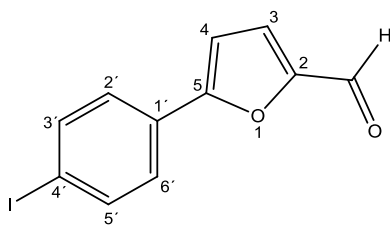
Fórmula molecular: C₁₁H₇O₂Cl. Sólido Amarillo. Rendimiento: 89%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 6,83 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H4); 7,32 (d, *J* = 2,9 Hz, 1H, H3); 7,42 (dd, *J* = 7,6 Hz, 2H, H3' y H5'); 7,50 (dd, *J* = 7,6 Hz, 2H, H2' y H6'); 9,65 (s, 1H, -CHO). **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 107,96 (C-H, C4); 123,36 (C-H, C3); 126,48 (C-H, C2' y C6'); 127,44 (C1'); 129,23 (C-H, C3' y C5'); 135,63 (C4'); 152,13 (C2); 158,17 (C5); 177,17 (C=O). **p.f.:** 121,2-125,3°C.



PM = 249,96 g/mol

Síntesis del 5-(4-bromofenil)-furfural (1c). El compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente utilizando 8,6 g (50 mmol) de 4-bromoanilina.

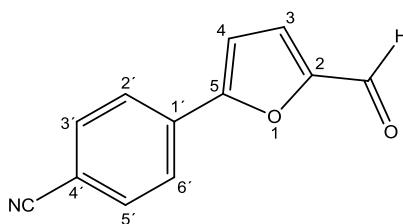
Fórmula molecular: C₁₁H₇O₂Br. Sólido Café. Rendimiento: 87%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 6,84 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H4); 7,32 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H, H3); 7,58 (dd, *J* = 8,1 Hz, 2H, H3' y H5'); 7,68 (dd, *J* = 8,3 Hz, 2H, H2' y H6'); 9,66 (s, 1H, -CHO). **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 108,04 (C-H, C4); 123,39 (C-H, C3); 123,91 (C4'); 126,67; (C-H, C2' y C6'); 127,86 (C1'); 132,18 (C-H, C3' y C5'); 152,14 (C2); 158,19 (C5); 177,20 (C=O). **p.f.:** 144,6-146,9°C.



PM = 297,95 g/mol

Síntesis del 5-(4-iodofenil)-furfural (1d). El compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente utilizando 10,95 g (50 mmol) de 4-iodoanilina.

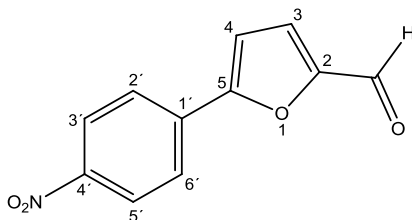
Fórmula molecular: C₁₁H₇O₂I. Sólido Café. Rendimiento: 40%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 6,85 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H, H4); 7,31 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H, H3); 7,54 (dd, *J* = 8,1 Hz, 2H, H3' y H5'); 7,78 (dd, *J* = 8,1 Hz, 2H, H2' y H6'); 9,66 (s, 1H, -CHO). **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 95,71 (C4'); 108,12 (C-H, C4); 123,32 (C-H, C3); 126,70; (C-H, C2' y C6'); 128,38 (C1'); 138,11 (C-H, C3' y C5'); 152,17 (C2); 158,28 (C5); 177,21 (C=O). **Descomposición:** 132,5°C; **p.f.(d):** 138,5-139,8°C.



PM = 197,05 g/mol

Síntesis del 4-(5-formil-2-furil)benzonitrilo (1e). El compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente utilizando 5,9 g (50 mmol) de 4-aminobenzonitrilo.

Fórmula molecular: C₁₂H₇NO₂. Sólido Amarillo. Rendimiento: 68%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 6,99 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H, H4); 7,35 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H, H3); 7,73 (dd, *J* = 8,1 Hz, 2H, H3' y H5'); 7,91 (dd, *J* = 8,1 Hz, 2H, H2' y H6'); 9,71 (s, 1H, -CHO). **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 110,04 (C4'); 112,71 (C-H, C4); 118,28 (CN); 122,80 (C-H, C3); 125,49 (C-H, C2' y C6'); 132,72(C-H, C3' y C5'); 132,78 (C1'); 152,76 (C2); 156,60 (C5); 177,44 (C=O). **p.f.:** 160,8-165-6°C.



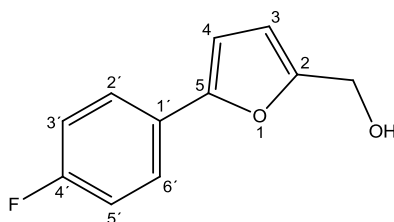
PM = 217,04 g/mol

Síntesis del 5-(4-nitrofenil)-furfural (1f). El compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente utilizando 6,9 g (50 mmol) de 4-nitroanilina. El 5-(4-nitrofenil)-furfural se recristaliza posteriormente en una mezcla 3:1 acetona-etanol, utilizando carbón activado para la remoción de impurezas. Para inducir la recristalización, al filtrado calentado hasta ebullición se le adiciona cuidadosamente agua caliente hasta la opalescencia, permitiendo que el sólido precipite posteriormente por enfriamiento.

Fórmula molecular: $C_{11}H_7NO_4$. Sólido Amarillo. Rendimiento: 90%. **1H -RMN:** (400 MHz, $CDCl_3+DMSO-d_6$) δ_H 6,78 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H, H4); 7,01 (d, $J = 3,8$ Hz, 1H, H3); 7,61 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H2' y H6'); 7,87 (d, $J = 9,0$ Hz, 2H, H3' y H5'); 9,25 (s, 1H, CHO). **^{13}C -NMR:** (100 MHz, $CDCl_3+DMSO-d_6$) δ_C 110,20 (C-H, C4); 122,50 (C-H, C3); 123,22(C-H, C3' y C5'); 124,79(C-H, C2' y C6'); 133,58 (C1'); 146,62 (C4'); 151,79 (C2); 154,98 (C5); 176,57 (C=O). **p.f.:** 199,6-203,6°C

6.1.2. PREPARACIÓN DE ALCOHOLES (2): MÉTODO GENERAL POR REDUCCIÓN DE ALDEHÍDOS.

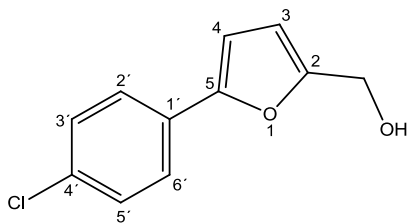
En un balón de 500 mL se disuelve 1 equivalente del aldehído en 100 mL de etanol absoluto y cantidad suficiente de THF hasta completar la disolución, en un sistema con agitación. Luego se adicionan 2,4 equivalentes de NaBH₄, y se deja agitando durante 1 hora y media a temperatura ambiente. Posteriormente se evapora a presión reducida la mezcla de reacción con el objetivo de remover la mitad del solvente, y la mezcla resultante se le agregan 300 mL de agua destilada. La solución acuosa resultante se extrae cuatro veces con porciones de 200 mL de acetato de etilo. La fase orgánica que resulta del proceso se seca con NaSO₄ (sulfato de sodio anhidro) y el solvente es eliminado a sequedad a presión reducida. El crudo residual es purificado por columna cromatográfica usando gel de sílice flash.



PM = 192,06 g/mol

Síntesis del [5-(4-fluorofenil)-2-furil] metanol (2a). El alcohol se obtuvo siguiendo la marcha descrita previamente, empleando 1,3 g (6,84 mmol) de 5-(4-fluorofenil)-furfural, tratándolo con 620,7 mg (16,41 mmol) de NaBH₄ y el crudo obtenido se purificó por medio de una columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla éter de petróleo/acetato de etilo (3:1) como fase móvil.

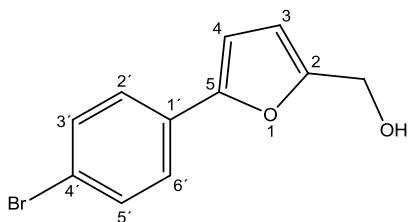
Fórmula molecular: C₁₁H₉O₂F. Sólido Café. Rendimiento: 68%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 2,01 (s, 1H, -OH); 4,66 (s, 2H, -CH₂); 6,37 (m, 1H, H₄); 6,53 (m, 1H, H₃); 7,07 (t, *J* = 8,3 Hz, 2H, H_{3'} y H_{5'}); 7,64 (m, 2H, H_{2'} y H_{6'}); **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 57,54 (CH₂); 105,31 (C-H, C₃); 109,99 (C-H, C₄), 115,64 (C-H, C_{3'} y C_{5'}), 125,53 (C-H, C_{2'} y C_{6'}), 127,02 (C_{1'}), 153,15 (C₂); 153,52 (C₅); 160,93 (C_{4'}); 163,39 (C_{4'}). **p.f.:** 62,1-66,2°C.



PM = 208,03 g/mol

Síntesis del [5-(4-clorofenil)-2-furil] metanol (2b). El alcohol se obtuvo siguiendo la marcha descrita previamente, empleando 1,3 g (6,31 mmol) de 5-(4-clorofenil)-furfural, tratándolo con 573 mg (15,14 mmol) de NaBH₄ y el crudo obtenido se purificó por medio de una columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla éter de petróleo/acetato de etilo (3:1) como fase móvil.

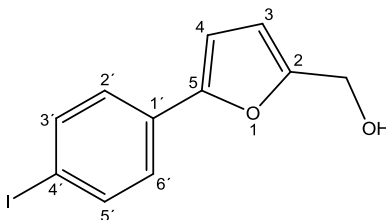
Fórmula molecular: C₁₁H₉O₂Cl. Sólido Amarillo Pálido. Rendimiento: 70%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 2,02 (s, 1H, -OH); 4,66 (s, 2H, -CH₂); 6,38 (m, 1H, H₄); 6,58 (m, 1H, H₃); 7,35 (d, *J* = 8,1 Hz, 2H, H_{3'} y H_{5'}); 7,59 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, H_{2'} y H_{6'}); **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 57,53 (-CH₂); 106,11 (C-H, C₃); 110,04 (C-H, C₄); 124,97 (C-H, C_{2'} y C_{6'}); 128,83 (C-H, C_{3'} y C_{5'}); 129,10 (C_{1'}); 133,06 (C_{4'}); 152,89 (C₂); 153,82 (C₅) **p.f.:** 87,8-89,8°C.



PM = 251,98 g/mol

Síntesis del [5-(4-bromofenil)-2-furil] metanol (2c). El alcohol se obtuvo siguiendo la marcha descrita previamente, empleando 2 g (7,93 mmol) de 5-(4-bromofenil)-furfural, tratándolo con 723 mg (19,04 mmol) de NaBH₄ y el crudo obtenido se purificó por medio de una columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla éter de petróleo/acetato de etilo (1:1) como fase móvil.

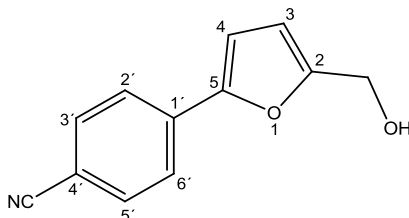
Fórmula molecular: C₁₁H₉O₂Br. Sólido Rosado. Rendimiento: 69%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 2,03 (s, 1H, -OH); 4,66 (s, 2H, -CH₂); 6,38 (m, 1H, H₄); 6,60 (m, 1H, H₃); 7,49 (m, 2H, H_{3'} y H_{5'}); 7,53 (m, 2H, H_{2'} y H_{6'}); **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 57,53 (-CH₂); 106,24 (C-H, C₃); 110,06 (C-H, C₄); 121,18 (C_{4'}); 125,23 (C-H, C_{2'} y C_{6'}); 129,51 (C_{1'}); 131,76 (C-H, C_{3'} y C_{5'}); 152,90 (C₂); 153,88 (C₅). **p.f.:** 97,6-99,83°C.



PM = 299,96 g/mol

Síntesis del [5-(4-iodofenil)-2-furil] metanol (2d). El alcohol se obtuvo siguiendo la marcha descrita previamente, empleando 2 g (6,71 mmol) de 5-(4-iodofenil)-furfural, tratándolo con 609,4 mg (16,11 mmol) de NaBH₄ y el crudo obtenido se purificó por medio de una columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla éter de petróleo/acetato de etilo/diclorometano (6:2:1) como fase móvil.

Fórmula molecular: C₁₁H₉O₂I. Sólido Café. Rendimiento: 38%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 1,96 (s, 1H, -OH); 4,66 (s, 2H, -CH₂); 6,38 (s, 1H, H₄); 6,61 (m, 1H, H₃); 7,40 (m, *J* = 8,3 Hz, 2H, H_{3'} y H_{5'}); 7,70 (m, *J* = 8,6 Hz, 2H, H_{2'} y H_{6'}); **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 57,56 (-CH₂); 92,57 (C_{4'}); 106,38 (C-H, C₃); 110,07 (C-H, C₄); 125,40 (C-H, C_{2'} y C_{6'}); 130,5 (C_{1'}); 137,69 (C-H, C_{3'} y C_{5'}); 152,95 (C₂), 153,95 (C₅). **p.f.:** 113,7-118,4°C.

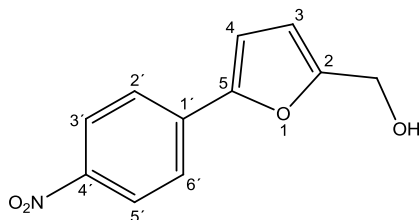


PM = 199,06 g/mol

Síntesis del 4-(5-hidroximetil-2-furil)benzonitrilo (2e). El alcohol se obtuvo siguiendo la marcha descrita previamente, empleando 1,3 g (6,59 mmol) de 4-(5-formil-2-furil)benzonitrilo, tratándolo con 598,9 mg (15,83 mmol) de NaBH₄ y el crudo obtenido se purificó por medio de una columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla éter de petróleo/acetato de etilo/diclorometano (3:1:1) como fase móvil.

Fórmula molecular: C₁₂H₉NO₂. Sólido Anaranjado. Rendimiento: 76%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 2,26 (s, 1H, -OH); 4,68 (s, 2H, -CH₂); 6,43 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H, H₄); 6,75 (d, *J* = 2.9 Hz, 1H, H₃); 7,62 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H_{3'} y H_{5'}); 7,71 (m, 2H, H_{2'} y H_{6'}); **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 57,42 (-CH₂); 108,89 (C-H, C₃); 110,14 (C_{4'}); 110,27 (C-H,

C4); 118,85 (CN); 123,82 (C-H, C2' y C6'); 132,48 (C-H, C3' y C5'); 134,40 (C1'); 151,72 (C2); 155,37 (C5). **p.f.:** 91,7-94,2°C.



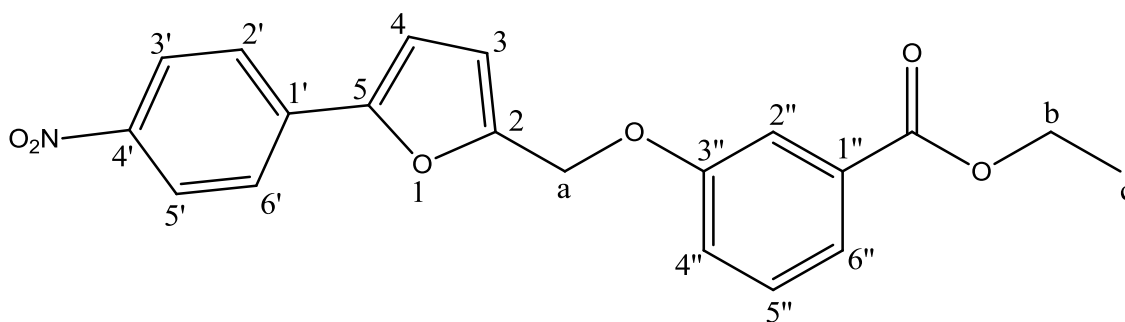
PM = 219,05 g/mol

Síntesis del [5-(4-nitrofenil)-2-furil] metanol (2f). El alcohol se obtuvo siguiendo la marcha descrita previamente, empleando 1 g (6,84 mmol) de 5-(4-fluorofenil)-furfural, tratándolo con 620,7 mg (16,41 mmol) de NaBH₄ y el crudo obtenido se purificó por medio de una columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla éter de petróleo/acetato de etilo (3:1) como fase móvil.

Fórmula molecular: C₁₁H₉NO₄. Sólido Anaranjado. Rendimiento: 86%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 4,35 (s, 2H, -CH₂); 4,67 (m, 1H, -OH); 6,16 (d, *J* = 2 Hz, 1H, H₄); 6,61 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, H₃); 7,53 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H_{3'} y H_{5'}); 7,94 (d, *J* = 8,3, 2H, H_{2'} y H_{6'}); **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 56,13 (CH₂); 109,17 (C-H, C₃) 109,29 (C-H, C₄); 123,05 (C-H, C_{2'} y C_{6'}); 123,53 (C-H, C_{3'} y C_{5'}); 135,85 (C_{1'}); 145,38 (C_{4'}); 150,14 (C₂); 156,74 (C₅); **p.f.:** 137,4-140,1°C.

6.1.3. PREPARACIÓN DE FENILFURANOXIBENZAMIDAS O FENILFURANOXIESTERES (3): REACCIÓN DE MITSUNOBU

En un balón de 50 mL a 0°C se mezclan 1,75 mmol de alcohol, 2,63 mmol de compuesto fenólico y 2,63 mmol de trifetilfosfina (PPh₃); dicha mezcla se disuelve en 10-20 mL de THF anhidro, se purga y ambienta con nitrógeno (N₂) y se le adiciona lentamente por goteo 2,63 mmol de diisopropilazodicarboxilato (DIAD). La mezcla se deja agitando por 2 horas a temperatura ambiente. Transcurrido ese tiempo, se remueve el solvente de la mezcla resultante y se disuelve en 25 mL de CH₂Cl₂, se lava con una solución saturada de 25 mL de bicarbonato y con 25 mL de una solución de HCl al 10%. La fase orgánica se seca con Na₂SO₄, se filtra y se remueve el solvente, para purificar el crudo por columna cromatográfica.



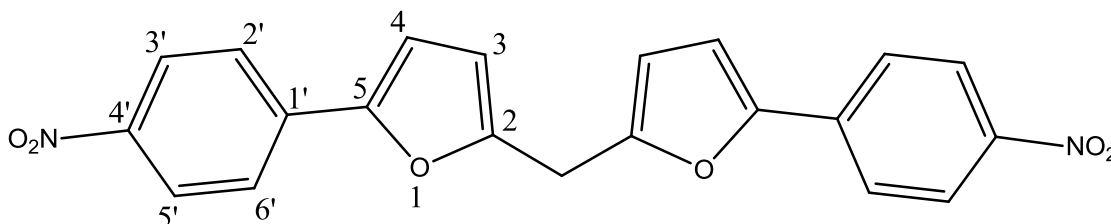
PM = 367,11 g/mol

Síntesis del [3-[5-(4-nitrofenil)-2-furil]metoxi]benzoato de etilo (3a) El éter se obtuvo siguiendo la marcha descrita previamente, utilizando 250 mg de alcohol (1,14 mmol), tratándolos con 448 mg de PPh₃ (1,71 mmol), 336 µL, ρ = 1,027 g/mL de DIAD (1,71 mmol) y 283,3 mg de 3-hidroxibenzoato de etilo (1,71 mmol) en solvente anhidro y atmósfera inerte. El crudo obtenido se purificó a través de columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla eluyente de hexano/acetato de etilo (6:1).

Fórmula molecular: C₂₀H₁₇NO₆. Sólido Amarillo. Rendimiento: 10%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δH 1,39 (t, J = 7,1 Hz, 3H, c-CH₃); 4,38 (q, J = 7,1 Hz, 2H, b-CH₂); 5,13 (s, 2H, a-CH₂); 6,60 (d, J = 3,4 Hz, 1H, H₃); 6,85 (d, J = 3,4 Hz, 1H, H₄); 7,18 (ddd, J = 8,2, 2,6, 0,8 Hz, 1H, H_{4''}); 7,37 (t, J = 7,9 Hz, 1H, H_{5''}); 7,70 (m, 2H, H_{2''} y H_{6''}); 7,79 (d, J = 9 Hz, 2H, H_{2'} y H_{6'}); 8,22 (d, J = 9 Hz, 2H, H_{3'} y H_{5'}). **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δC 14,2 (c-CH₃); 61,05 (b-CH₂); 62,38 (a-CH₂); 109,66 (C-H, C₃); 112,74 (C-H, C₄); 114,97 (C-H, C_{2''}); 120,13 (C-H, C_{4''}); 122,61 (C-H, C_{2''}); 123,99 (C-H, C_{2'} y C_{6'}); 124,17 (C-H, C_{3'} y C_{5'}); 129,44 (C-H, C_{5''}); 131,82 (C_{1''}); 135,94 (C_{1'}); 146,47 (C_{4'}); 151,64 (C₂); 152,09 (C₅); 158,02 (C_{3''}); 166,19 (C=O). **p.f.:** 100,8-104,6°C.

6.1.4a. PREPARACIÓN DE LOS DÍMEROS 5-FENILFURANO (4): POR MEDIO DE TOSILACIÓN DE ALCOHOLES

En un balón de 50 mL se agrega 2,7 mmol de cloruro de *p*-toluensulfonilo y se agrega una cantidad suficiente de CH₂Cl₂ seco a 0°C dejando agitar para que homogenice bien el sólido en el solvente, luego se agregan 4,9 mmol de TEA (trietilamina) y una punta de espátula de 4-DMAP (4-dimetilamino-piridina) o en cantidades catalíticas. A dicha mezcla se le adiciona lentamente por goteo una disolución del alcohol (1,97 mmol) en CH₂Cl₂ seco. Una vez finalizada la adición del alcohol, se sella y se deja agitando a 0°C por 1 hora y a temperatura ambiente hasta el otro día. Luego se lava la mezcla de reacción con agua destilada (2x10 mL) y con salmuera (1x10 mL), se seca con sulfato de sodio (Na₂SO₄) y se evapora el solvente. El crudo obtenido se purifica por columna cromatográfica para dar el producto de esta reacción.



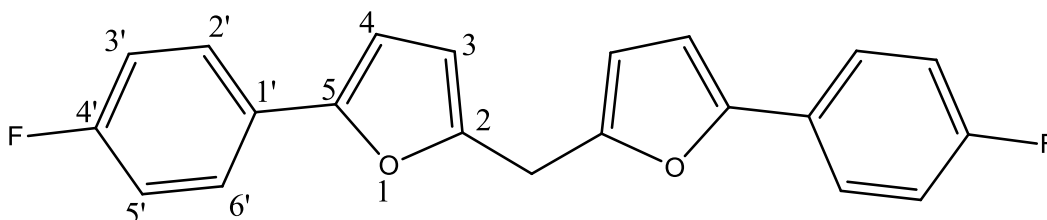
PM = 390,09 g/mol

Síntesis del bis [5-(4-nitrofenil)-2-furil]metano(4f). Este compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente, empleando 200 mg (0,913 mmol) de alcohol disueltos en diclorometano seco, solución que se adicionó lentamente a una mezcla que contenía 238,6 mg de cloruro de *p*-toluensulfonilo (1,25 mmol, TsCl), 0,314 mL, 229,5 mg, $\rho = 0,73$ g/mL de trietilamina (2,26 mmol) y 4-DMAP en cantidades catalíticas. El crudo obtenido se purificó a través de columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla eluyente de éter de petróleo/acetato de etilo (4:1).

Fórmula molecular: C₂₁H₁₄N₂O₆. Sólido amarillo. Rendimiento: 11%. **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δ H 4,21(s, 2H, -CH₂); 6,34 (d, $J = 2,9$ Hz, 2H, H₃); 6,85 (d, $J = 3,4$ Hz, 2H, H₄); 7,76 (d, $J = 8,6$ Hz, 4H, H_{2'} y H_{6'}); 8,23 (d, $J = 8,6$ Hz, 4H, H_{3'} y H_{5'}). **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δ C 27,88 (CH₂); 109,95 (C-H, C₃); 110,07 (C-H, C₄); 123,58 (C-H, C_{2'} y C_{6'}); 124,32 (C-H, C_{3'} y C_{5'}); 136,31(C_{1'}); 146,25 (C_{4'}); 151,04 (C₃); 152,8 (C₅); **p.f.:** 178,9-181,1°C.

6.1.4b. PREPARACIÓN DE LOS DÍMEROS 5-FENILFURANO (4): POR MEDIO DE MESILACIÓN DE ALCOHOLES

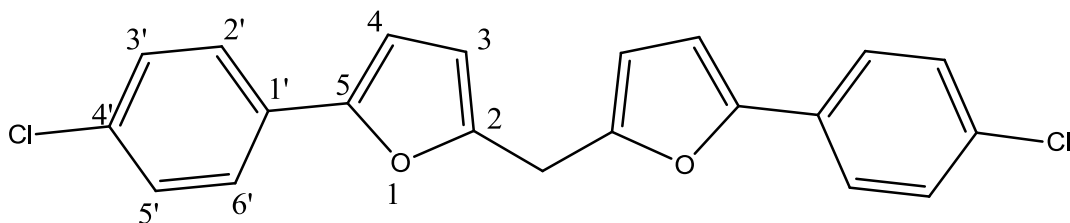
En un balón de 50 mL se agrega un 1 mmol de alcohol y se disuelve en 10-20 mL de CH₂Cl₂ seco, luego se agrega 1 mmol de TEA (trietilamina) y una punta de espátula de 4-DMAP (4-dimetilamino-piridina). A dicha mezcla se le agrega 1 mmol de cloruro de metanosulfonilo y se deja agitar a 0°C, sellando el sistema por un tiempo mínimo de 1 hora y en adelante a temperatura ambiente, pudiendo seguir la reacción por TLC. Transcurrido el tiempo la solución resultante es evaporada con una pequeña porción sílica flash y purificada directamente por columna cromatográfica, para dar obtención de un sólido que corresponderá al producto de esta reacción.



PM = 336,1 g/mol

Síntesis del bis[5-(4-fluorofenil)-2-furil]metano(4a). Este compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente, empleando 250 mg (1,301 mmol) de alcohol disueltos en diclorometano seco, solución a la que se le adicionó 0,18 mL, 131,7 mg, $\rho = 0,73$ g/mL de trietilamina (1,301 mmol), 4-DMAP en cantidades catalíticas y 0,101 mL, 149,1 mg, $\rho = 1,48$ g/mL de cloruro de metanosulfonilo (1,301 mmol, MsCl), transcurrido el periodo de reacción, se agregó sílica flash a la mezcla y se purificó directamente a través de columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla eluyente de éter de petróleo/diclorometano (7:1).

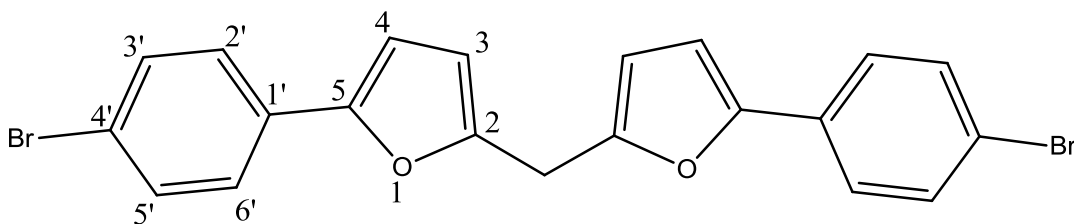
Fórmula molecular: C₂₁H₁₄F₂O₂. Sólido rosado pálido. Rendimiento: 16% **¹H-RMN:** (400 MHz, CDCl₃) δ H 4,13 (s, 2H, -CH₂); 6,22 (d, $J = 2,9$ Hz, 2H, H₃); 6,53 (d, $J = 3,2$ Hz, 2H, H₄); 7,07 (t, $J = 8,7$ Hz, 4H, H_{3'} y H_{5'}); 7,62 (dd, $J = 8,6, 5,4$ Hz, 4H, H_{2'} y H_{6'}); **¹³C-RMN:** (100 MHz, CDCl₃) δ C 27,73 (CH₂); 105,49 (C-H, C₃); 108,78 (C-H, C₄); 115,61 (C-H, C_{3'} y C_{5'}); 125,22 (C-H, C_{2'} y C_{6'}); 127,3 (C-H, C_{1'}); 151,01(C₅); 152,22 (C₂); 160,74 (C_{4'}) 163,19 (C_{4'}); **p.f.:** 86,7-89,2°C.



PM = 368,04 g/mol

Síntesis del bis[5-(4-clorofenil)-2-furil]metano(4b). Este compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente, empleando 250 mg (1,2 mmol) de alcohol disueltos en diclorometano seco, solución a la que se le adicionó 0,16 mL, 121,4 mg, $\rho = 0,73$ g/mL de trietilamina (1,2 mmol), 4-DMAP en cantidades catalíticas y 0,0923 mL, 137,4 mg, $\rho = 1,48$ g/mL de metanosulfonilo (1,2 mmol, MsCl), transcurrido el periodo de reacción, se agregó sílica flash a la mezcla y se purificó directamente a través de columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla eluyente de éter de petróleo/diclorometano (7:1).

Fórmula molecular: $C_{21}H_{14}Cl_2O_2$. Sólido rosado pálido. Rendimiento: 12%. **1H -RMN:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ H 4,13 (s, 2H, $-CH_2$); 6,23 (d, $J = 3,2$ Hz, 2H, H3); 6,59 (d, $J = 3,2$ Hz, 2H, H4); 7,34 (d, $J = 8,3$ Hz, 4H, H3' y H5'); 7,58 (d, $J = 8,3$ Hz, 4H, H2' y H6'); **^{13}C -RMN:** (100 MHz, $CDCl_3$) δ C 27,78 (CH_2); 106,34 (C-H, C3); 108,95 (C-H, C4); 124,72 (C-H, C2' y C6'); 128,83 (C-H, C3' y C5'); 129,38 (C1'); 132,68 (C4'); 151,25 (C5); 152,03 (C2); **p.f.:** 119,8-123°C.



PM = 455,94 g/mol

Síntesis del bis [5-(4-bromofenil)-2-furil]metano(4c). Este compuesto se obtuvo siguiendo la marcha descrita anteriormente, empleando 250 mg (0,992 mmol) de alcohol disueltos en diclorometano seco, solución a la que se le adicionó 0,137 mL, 100,4 mg, $\rho = 0,73$ g/mL de trietilamina (0,992 mmol), 4-DMAP en cantidades catalíticas y 0,0775 mL, 113,6 mg, $\rho = 1,48$ g/mL de metanosulfonilo (0,992 mmol, MsCl), transcurrido el periodo de reacción, se agregó sílica flash a la mezcla y se purificó directamente a través de

columna de cromatografía con gel de sílice flash, empleando una mezcla eluyente de éter de petróleo/acetato de etilo (5:1).

Fórmula molecular: $C_{21}H_{14}Br_2O_2$. Sólido púrpura pálido. Rendimiento: 29%. **1H -RMN:** (400 MHz, $CDCl_3$) δ H 4,13 (s, 2H, $-CH_2$); 6,23 (d, $J = 2,9$ Hz, 2H, H3); 6,60 (d, $J = 3,2$ Hz, 2H, H4); 7,49 (m, 4H, H3' y H5); 7,51 (m, 4H, H2' y H6'); **^{13}C -RMN:** (100 MHz, $CDCl_3$) δ C 27,78 (CH_2); 106,46 (C-H, C3); 108,98 (C-H, C4); 120,75 (C-H, C4'); 124,98 (C-H, C2' y C6'); 129,77 (C1'); 131,74 (C-H, C3' y C5'); 151,27 (C5); 152,03 (C2); **p.f.:** 156,9-159,3°C.

6.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN INHIBITORIA MÍNIMA (CIM).

La actividad antibacteriana de los compuestos de núcleo 5-fenilfurano se midió a través de ensayos para la determinación de la CIM por microdilución en caldo frente a bacterias prototipo Gram-positivas, los cuales fueron realizados en el Laboratorio de Desarrollo de Fármacos sección Microbiología, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, siguiendo el protocolo recomendado por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) [34]. A continuación, se detallan las condiciones de estos ensayos:

Bacterias Prototipo

Las bacterias prototipo Gram-positivas utilizadas fueron de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM, ATCC 43300) y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina (EFSV, ATCC 29212), obtenidas a partir del cepario del Servicio de Laboratorio Clínico, Unidad de Microbiología, del Hospital Clínico de la Universidad de Chile. Éstas se conservaron congeladas en viales a -20°C en leche descremada estéril. Para obtener cepas puras se realizaron cultivos bacterianos en agar de sangre de cordero incubándose por 18 a 24 horas a 36°C . Posteriormente, en forma independiente para cada cepa, se preparó un inóculo bacteriano en caldo Mueller Hinton (Beckton Dickinson, Ltda. USA) hasta alcanzar una concentración bacteriana aproximada a $1,5 \times 10^8$ UFC/mL, lo que equivale a una turbidez de 0,5 Mc Farland, la cual fue medida usando un nefelómetro (Grant-Bio DEN-1).

Antibiótico Control

Se utilizó vancomicina (Abcam Biochemicals®) como antibiótico control para el ensayo 1 y 2 respectivamente, el cual fue adquirido de manera comercial. Se preparó de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, considerando la potencia del antibiótico para obtener una concentración inicial patrón de 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Compuestos ensayados

Los compuestos ensayados se masaron en triplicado en un rango de 0,9 a 1,5 mg. Estos se disuelven en la cantidad suficiente de dimetilsulfóxido (DMSO) para después diluir 20 μL de la disolución anterior en 980 μL de agua estéril. Luego se colocan 200 μL en los primeros pocillos de las placas que contienen 100 μL de caldo de cultivo y 100 μL de suspensión bacteriana para obtener una concentración final de hasta 128 $\mu\text{g/mL}$ al 1% de DMSO. Se realizó un test de solubilidad preliminar con el fin de poder determinar la cantidad de DMSO necesaria para mantener disueltos a los compuestos en las posteriores diluciones en agua estéril, siendo preparadas las soluciones nuevas para cada ensayo.

Medio de cultivo

El medio de cultivo usado para realizar los ensayos de microdilución fue caldo Mueller Hinton, el cual se preparó de acuerdo a las instrucciones del fabricante, siendo posteriormente autoclavado.

Determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

Se realizaron ensayos en triplicado para los compuestos para determinar la actividad antibacteriana de los compuestos frente a cada una de las bacterias prototipo Gram-positivas. La Figura 11 muestra un esquema que representa las microplacas usadas para realizar los ensayos de microdilución; éstas son placas de cultivo de 96 pocillos estériles (8 filas y 12 columnas) (Ultracruz™ Polystyrene Microplates, 96 well, U bottom Santa Cruz Biotechnology, inc.) a los cuales se les agregaron 100 µL de caldo Mueller Hinton, para luego adicionar 200 µL de un compuesto a ensayar en las 3 filas de la primera columna (A1, B1, C1), 200 µL de otro compuesto en las 3 filas siguientes de la primera columna (D1, E1, F1), y 200 µL del antibiótico control en las últimas 2 filas de la primera columna (G1, H1), para continuar haciendo diluciones seriadas de 100 µL por vez hasta la columna 10 para los ensayos en triplicado.

Para los ensayos en duplicado el procedimiento preparativo fue similar, pero se adicionaron 200 µL de un compuesto a ensayar en las 2 filas de la primera columna (A1, B1), 200 µL de otro compuesto en las 2 filas siguientes (C1, D1), 200 µL de otro compuesto en las 2 filas siguientes (E1, F1), y 200 µL del antibiótico control en las últimas 2 filas de la primera columna (G1, H1), para continuar haciendo diluciones seriadas de 100 µL por vez hasta la columna 10. Los pocillos de las columnas 11 y 12 se utilizaron para controles de crecimiento y de esterilidad respectivamente. Una vez preparada la placa, se agregaron 100 µL de la suspensión bacteriana a evaluar que contiene aproximadamente 70000 UFC.

Finalmente, las placas fueron tapadas y llevadas a incubar a 36°C por 18 a 24 horas, tiempo tras el cual se observan los pocillos a contra luz el crecimiento de colonias en forma de “botones” o turbidez dentro de los pocillos. Se considera que el antibiótico control o compuesto tiene actividad antibacteriana frente a una determinada bacteria prototipo si no hay crecimiento bacteriano en el pocillo. El último pocillo de la fila donde no se observe crecimiento se consideró como la CIM.

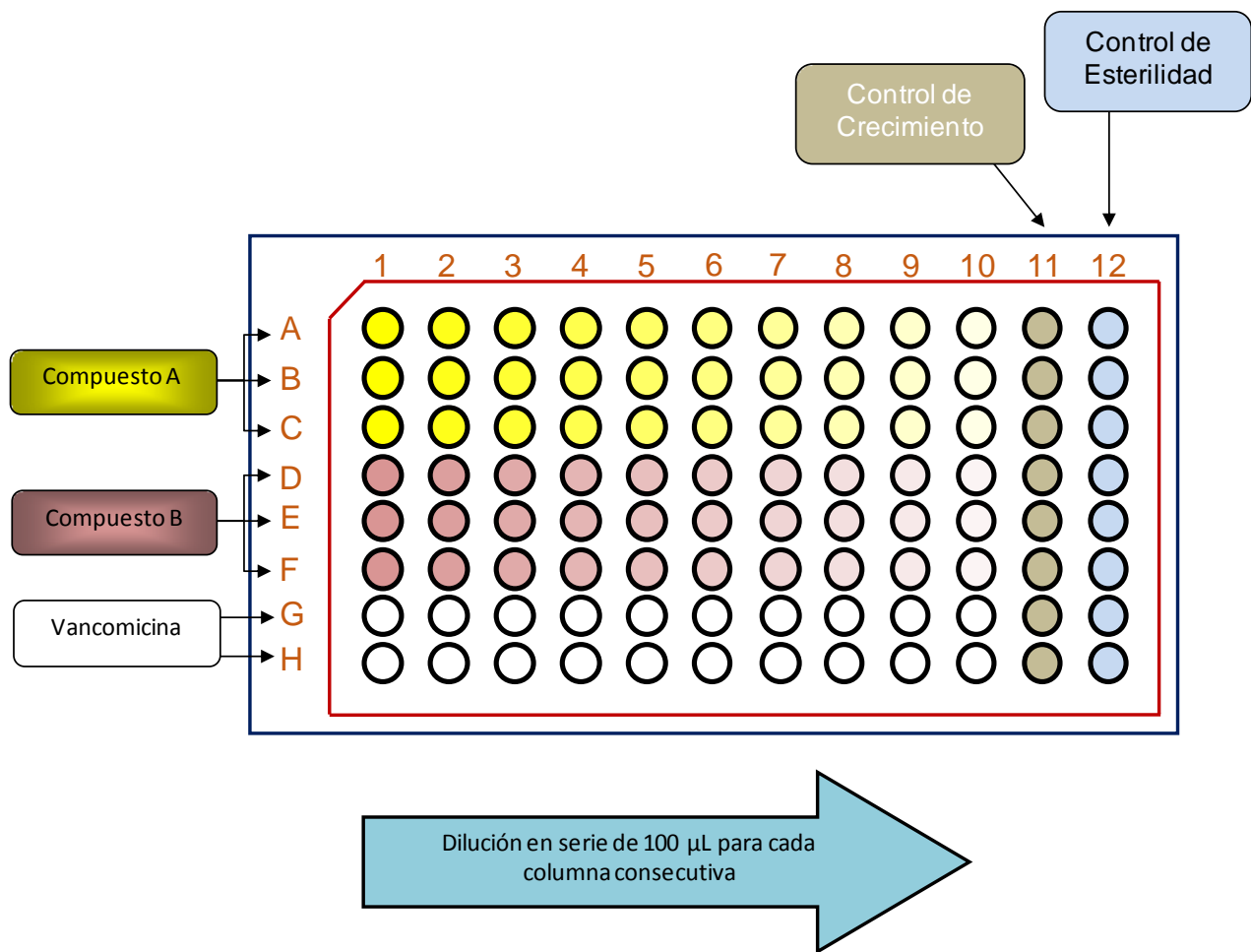


Figura 11. Esquema de las placas utilizadas para realizar el ensayo en triplicado de microdilución en caldo y determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM).

Se consideraron como resultados válidos los ensayos cuyos controles internos presentaban el control de crecimiento y de esterilidad normales y los resultados del antibiótico control (vancomicina) frente a las bacterias prototipo estuvieran dentro de los rangos de control de calidad dados por la CLSI.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1. ESTUDIO DE LA RUTA DE SÍNTESIS DEL NUCLEO 5-FENILFURANO.

Las reacciones químicas empleadas para obtener las series **1**, **2** y **4** se estudiaron respecto a las diferencias dadas por la metodología utilizada para obtener los compuestos, el rendimiento de los productos obtenidos y el mecanismo de las reacciones que dan lugar a los productos. En este último punto, el sustituyente situado en posición 4 (*para*) con respecto al anillo aromático enlazado al núcleo furánico constituyente de todas las moléculas sintetizadas tiene un papel importante que puede dar cuenta del rendimiento de los compuestos obtenidos por el mismo método y empleando las mismas condiciones. Finalmente se hizo la comparación con los espectros de RMN de todas las series.

7.1.1. ARIL-FURFURALES (1).

La serie 1 del tipo 5-(4R-fenil)-furfural (**1a-f**) se obtuvo mediante el método de arilación de Meerwein de los derivados de furano, la que consiste en una reacción catalizada por una sal de cobre (I o II) entre el furfural y los derivados de diazonio benceno, dónde se produce la sustitución del hidrógeno de la posición 5 del furfural por el *p*-arilo derivado de la sal de diazonio, eliminando nitrógeno gaseoso [35].

Matiichuk y colaboradores [35] estudiaron ampliamente la formación de arilfurfurales mediante dos métodos, el primero conocido como reacción de Gomberg, donde se produce la descomposición de las sales de diazonio en medio básico (NaOH, AcONa) en presencia de furfural y para obtener el aril-furfural utilizaron diversas condiciones. Sin la presencia de bases, descomposición de *N*-nitrosoacetanilida en vez de la sal de diazonio, calentamiento, presencia de yoduro de potasio (KI), descomposición térmica y catalítica de sales de diariliodonio, etc. El rendimiento promedio de los productos obtenidos por este método fue de 14%.

Por otra parte, el segundo método que reportan los autores corresponde al método de arilación de Meerwein, en el cual fueron variando ciertas condiciones como el anión de la sal de arenodiazonio, el solvente (o mezclas de solventes) y el catalizador utilizado para llevar a cabo la reacción, con el fin de detallar el efecto que tiene cada condición sobre el rendimiento de los arilfurfurales (Tabla 1).

Tabla 1. Arilación de furfural con sales de arenodiazonio.

N°	Contraión (X ⁻) en ArN ₂ X	Solvente	Catalizador	Rendimiento (%)
1	BF ₄ ⁻	Agua : DMSO, 1:1	CuCl ₂	75-80
2	Cl ⁻	Agua : DMSO, 5:4	Cu(OAc) ₂	61-66
3	Cl ⁻	Agua	CuCl ₂	55-60
4	Cl ⁻	Agua : DMSO, 1:1	CuCl ₂	50-60
5	BF ₄ ⁻	DMSO anhidro.	CuCl ₂	44-48
6	Cl ⁻	Agua : DMSO, 5:4	CuSO ₄	40-46
7	BF ₄ ⁻	Acetona : Agua 1:1	CuCl ₂	32-40
8	Cl ⁻	Acetona : Agua 1:1	CuCl ₂	25-40
9	Cl ⁻	Acetona : Agua 1:1	CuCl	15-20
10	Cl ⁻	Agua : DMSO, 4:3	CuCl	8-11
11	HSO ₄ ⁻	Agua : DMSO, 1:1	CuCl ₂	-
12	HSO ₄ ⁻	Agua : DMSO, 1:1	CuSO ₄	-
13	HSO ₄ ⁻	Agua	CuCl ₂	-
14	BF ₄ ⁻	Agua : DMSO, 1:1	CuSO ₄	-
15	BF ₄ ⁻	Agua : DMSO, 1:1	CuCl	-
16	BF ₄ ⁻	Agua : DMSO, 1:1	Cu(OAc) ₂	-
17	HSO ₄ ⁻	Agua : DMSO, 1:1	CuSO ₄ : NaCl, 1:4	55-58

En la tabla se observa que las condiciones que ocuparon los autores que más se acercan a las empleadas en este estudio fueron las del experimento N°3 (marcado en verde), donde la única diferencia en cuanto a los reactivos ocupados está dada por el catalizador utilizado, ya que para la síntesis de la serie 1, se ocupó CuBr (Cu⁺) y la especie utilizada por los autores es cloruro cúprico (CuCl₂, Cu⁺²). Las otras diferencias existentes están dadas por la metodología experimental ocupada en este estudio, la cual contempla la formación del clorhidrato, usando HCl, por disolución de la anilina con temperatura seguido de la precipitación del clorhidrato a baja temperatura (0-5°C), la adición lenta de una solución de NaNO₂ para formar la sal de diazonio a baja temperatura, la adición de una solución alcohólica de furfural disuelto en etanol y la adición lenta de una suspensión del catalizador dejando la mezcla formada bajo esas condiciones hasta el día siguiente para recrystalizarlo con etanol y carbón activado. El rendimiento general de este procedimiento fue 77%, dejando en evidencia de que este método obtiene un mayor rendimiento para la obtención de arilfurfurales. Los autores proponen formar inmediatamente una solución de la sal de diazonio, adicionando secuencialmente anilina, HCl, agua y NaNO₂; dicha mezcla es posteriormente adicionada de forma lenta a una mezcla formada por CuCl₂·2H₂O, furfural y agua, dejando con agitación la mezcla de reacción por dos días y luego se recrystaliza en tetracloruro de carbono (CCl₄) [35].

Probablemente la razón de porque existe tal diferencia se deba a que esta reacción se llevó a cabo a baja temperatura, lo que garantiza mayor estabilidad para las sales de diazonio, las cuales deben evitar que la temperatura del medio de reacción ascienda sobre

10°C para que las sales de diazonio permanezcan estables [36], asegurando que la mayor cantidad de sal de diazonio dará lugar al arilfurfural antes de descomponerse. El mecanismo de la reacción ocurre en 2 etapas (Figura 12 y 13), en la primera ocurre la formación de ion nitrosonio, el cual es atacado por la anilina para dar lugar a la sal de diazonio y en la segunda etapa se forma el aril-furfural a partir de la sal de diazonio catalizada por la sal cuprosa.

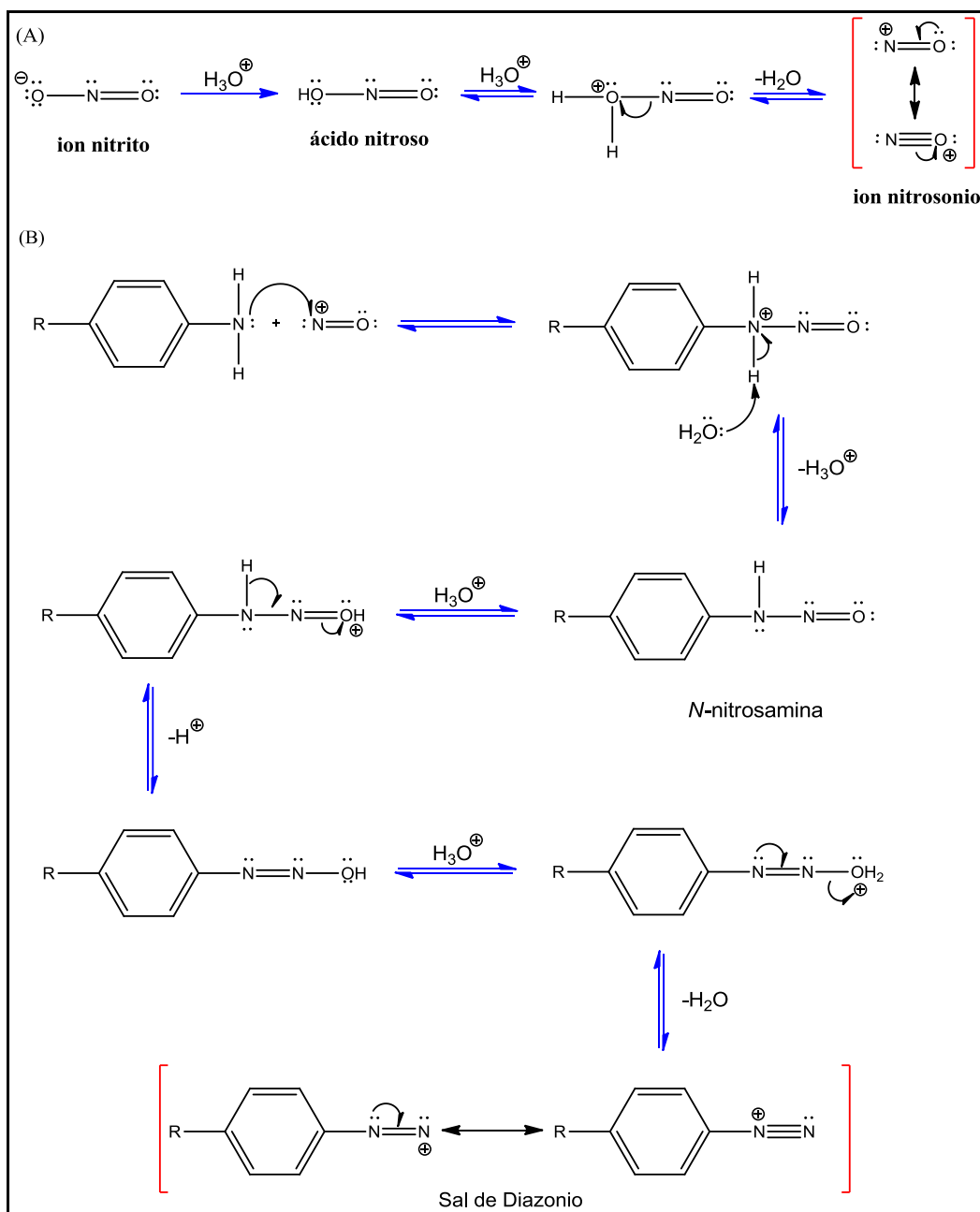


Figura 12. Mecanismo de la reacción de diazotación. (A) Formación del ion nitrosonio. (B) Formación de la sal de diazonio a partir de la nitrosación de una amina primaria aromática.

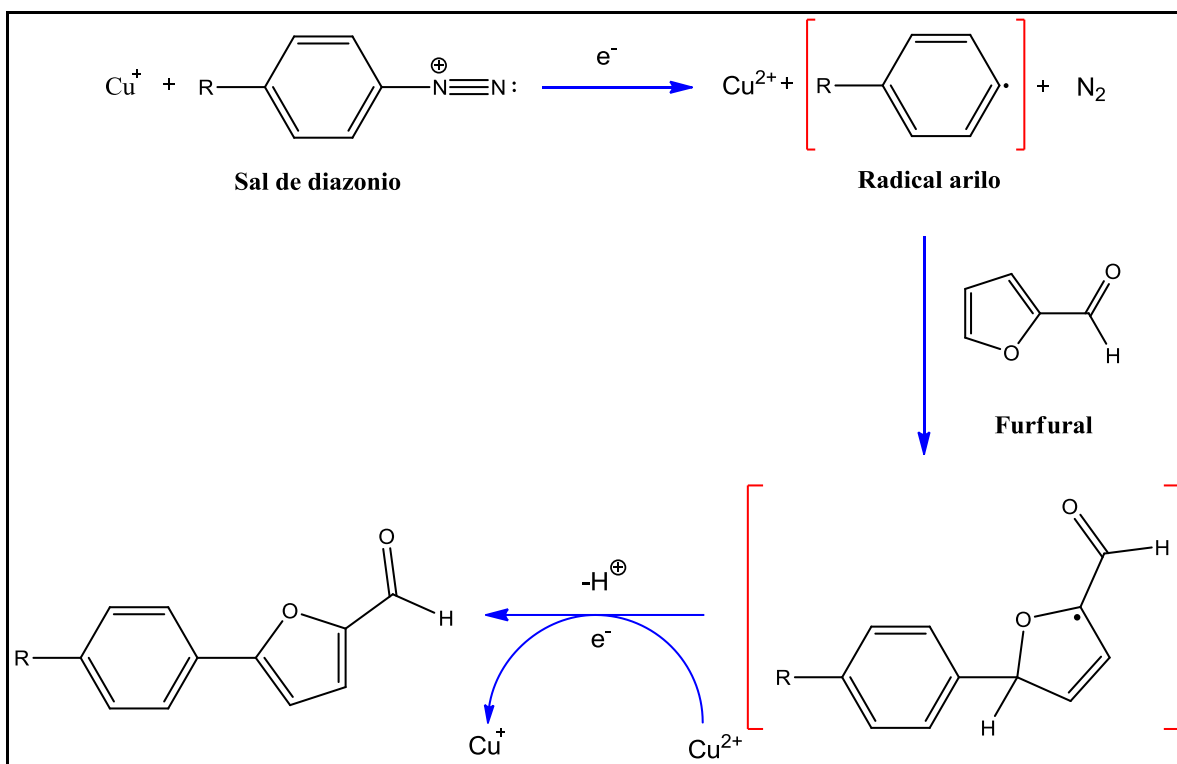


Figura 13. Mecanismo de reacción de la arilación del furfural con sales de diazonio catalizada por Cu(I).

La reacción se ve influenciada por el carácter aceptor de electrones del grupo orientado en la posición *para* del anillo bencénico de las anilinas, favoreciendo altos rendimientos de los productos obtenidos, mientras más marcada sea dicha característica. Por ejemplo, el yodo posee una capacidad aceptor de electrones baja y mayor volumen, comparado con el resto de los halógenos, lo que explicaría su bajo rendimiento observado.

Análisis Espectroscópico.

Los espectros de ^1H -RMN (Figura 14) y ^{13}C -RMN presentan señales características observadas en todos los aril-furfurales sintetizados, tales como las del grupo aldehído (protón \approx 9-10 ppm, dado por el efecto anisótropo provocado por el enlace C=O; carbono \approx 177 ppm), anillo furánico (protones entre 6,80-7,30 ppm; carbonos entre 108-123; 152-158 ppm) y anillo bencénico (protones entre 7,54-7,78 ppm; carbonos entre 125-140 ppm).

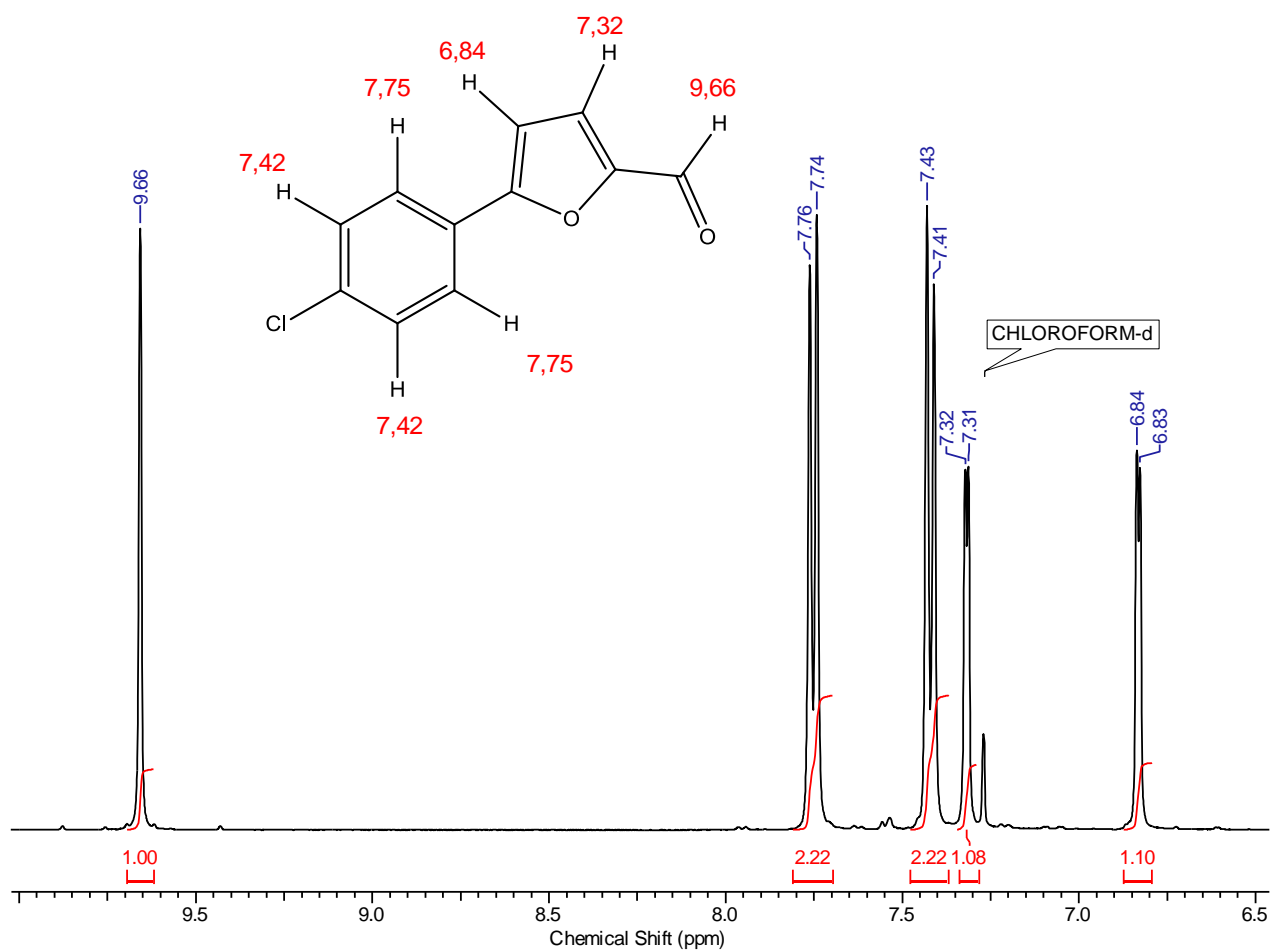


Figura 14. Espectro de ^1H -RMN característico de los aril-furfurales.

El desplazamiento de las señales del anillo aromático y el furánico, pueden estar influenciadas por la naturaleza del grupo aceptor de electrones en posición *para* del anillo aromático, por tanto, se esperaría que mientras más potente sea la atracción de electrones por parte de dicho grupo aceptor, las señales debieran aparecer más a campo bajo y que si existiese un grupo dador de electrones las señales aparecieran más a campo alto por apantallamiento de los protones; en el caso de los halógenos esa característica se ve mermada debido a que esta serie tiene efecto mesomérico M^+ dador de electrones y causaría un leve apantallamiento en los protones *orto* del anillo aromático (Tabla 2), en contraste con el grupo nitro y ciano que son aceptores de electrones tanto por efecto inductivo como por efecto mesomérico, así que la señales de estos protones deberían aparecer a campo más bajo. Por su parte, el grupo formilo presente en la posición 2 del anillo furánico tiene carácter aceptor de electrones y causaría el desplazamiento de las señales en el protón de la posición 3 del anillo furánico y los protones *meta* del anillo aromático a campo más bajo por desapantallamiento de dichos protones. Se puede establecer una comparación en detalle consultando la sección de anexo donde aparecen todos los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

Tabla 2. Efecto del sustituyente en las posición orto del anillo aromático.

Sustituyente (-R)	Posición <i>orto</i>
F	7,13
Cl	7,42
Br	7,58
I	7,54
CN	7,73
NO ₂	7,87

7.1.2. ALCOHOLES (2)

La serie de [5-(4R-fenil)-2-furil] metanol (**2a-f**) se obtuvo a través de la reducción del grupo carbonilo de los compuestos **1a-f** a carbinol empleando borohidruro de sodio (NaBH₄). Diversos autores [37, 38, 39] destacan el uso de esta reacción para reducir aldehídos o cetonas a sus correspondientes alcoholes; en especial se ha reportado la obtención este tipo de alcoholes, derivados de arilfurfurales, como intermediarios de procesos sintéticos más complejos.

Con respecto a los métodos de obtención, Gatti y colaboradores [37] emplearon el método de reducción de alcoholes usando solo etanol como solvente y un baño de hielo a 0°C al momento de adicionar NaBH₄, dejando posteriormente a temperatura ambiente la mezcla de reacción y agitando por 4 horas para posteriormente purificar el compuesto lavándolo con soluciones de salmuera y agua, para posteriormente secarlo con sulfato de sodio anhidro y purificarlo por columna cromatográfica, con un porcentaje de rendimiento de hasta el 95%. Rétey y colaboradores [38] utilizan metanol como disolvente de la reacción y adicionan NaBH₄ en pequeñas porciones hasta la transformación total del aldehído, monitorizando el progreso de la reacción por TLC, posteriormente la mezcla resultante se trata con una alícuota de 4 mL de HCl (1 M). El metanol es removido bajo presión reducida, y el crudo se lava con otra mezcla 1:1 CH₂Cl₂:H₂O para secarse con un desecante, purificando posteriormente el compuesto por columna cromatográfica, sin reportar su rendimiento. Smith y colaboradores [39] emplearon dos posibles métodos para obtener alcoholes a partir de productos de similar estructura, utilizando NaBH₄ para reducir aldehídos en alcoholes en metanol con un 95% de rendimiento o hidruro de litio y aluminio (LiAlH₄) como un reductor enérgico que permite reducir derivados de ácido carboxílico a alcoholes con un 57% de rendimiento. La diferencia entre el LiAlH₄ y el NaBH₄ es la alta reactividad que presenta el primero; su almacenamiento debe ser completamente aislado de la humedad y del aire. Su uso en reacciones hace necesaria la utilización de sistemas purgados con un gas inerte, como nitrógeno, para que el LiAlH₄ no reaccione con el vapor de agua o con el oxígeno presente en el aire, dado el carácter de base y agente reductor que posee respectivamente, además los solventes utilizados deben estar totalmente exentos de humedad a fin de no reducir el rendimiento global de las reacciones.

Los solventes o condiciones a baja temperatura en algunos casos que emplearon los autores para la obtención de sus productos, posiblemente favoreció el rendimiento de los intermediarios de los alcoholes, o bien, la mezcla de solventes pudo afectar las interacciones intermoleculares que intervienen en la formación de los intermediarios, ejemplo de esto, el THF es un solvente poco polar aprótico y podría dificultar la solvatación del anión tetraalcoxiborato por parte del etanol que es un solvente polar prótico, además el THF al ser un solvente poco polar no es muy efectivo para estabilizar el desarrollo de separación de cargas por parte de los estados de transición de las estructuras en un mecanismo de reacción, debido a su bajo momento dipolar, además no posee hidrógenos que puedan formar enlaces de hidrógeno, por lo tanto las reacciones que involucran separación de cargas en el estado de transición proceden más lentamente que en los solventes polares, ya sean próticos o apróticos [40].

El mecanismo de la reacción (Figura 15) empieza con el ataque de aril-furfural al anión borohidruro, formando el alcoxiborohidruro, el cual es atacado por 3 moléculas más de aril-furfural dando lugar al tetraalcoxiborato, que posteriormente es atacado por agua para formar el alcohol.

En general, los métodos de obtención de alcoholes están ampliamente reportados y se consideran como métodos habituales para obtener este tipo de compuestos. Comparando el método utilizado para obtener la serie **2**, en cuanto a la metodología no hay grandes diferencias. A pesar que los arilfurfurales sintetizados no eran completamente solubles, sus correspondientes alcoholes se lograron obtener mediante el uso de mezclas de solvente etanol:THF 1:1, con rendimientos de hasta un 86%, al reducir con NaBH₄.

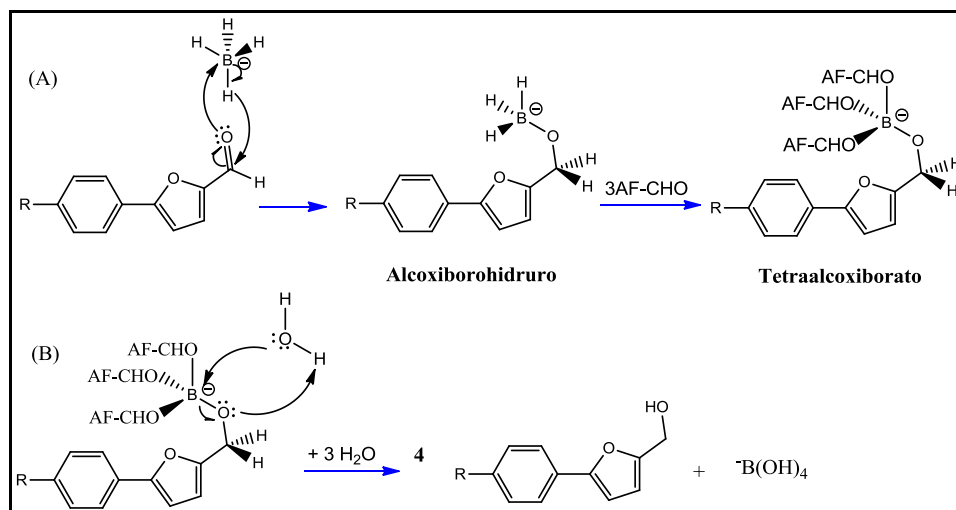


Figura 15. Mecanismo de la reacción de reducción con NaBH₄. (A) Formación del tetraalcoxiborato. (B) Hidrólisis acuosa del tetraalcoxiborato origina los productos **2a-f** y el ion borato.

Si se empleará de LiAlH_4 , se abriría un abanico de posibilidades para obtener alcoholes a partir de los derivados de ácido carboxílico o también a partir de aldehídos y cetonas, pero las condiciones de trabajo deben ser mucho más controladas, debido a la mayor labilidad al agua que presenta respecto al NaBH_4 . Por otro lado, nuevamente se hace característica la influencia de los grupos aceptores de electrones de los sustituyentes, favoreciendo altos rendimientos de reacción y se observó el mismo comportamiento mencionado para el derivado *p*-yodado en la serie 1.

Análisis Espectroscópico.

En cuanto a los espectros ^1H -RMN y ^{13}C -RMN, los alcoholes mostraron similitudes en las señales características de los anillos de furano y benceno ya descritas para sus aldehídos. A diferencia de los precursores carbonílicos, los derivados sintetizados mostraron el singulete característico de los alcoholes de esta serie, alrededor de los 4,60 ppm correspondientes a los protones metilénicos enlazados al carbono hidroxílico, y un singulete para la señal del protón hidroxílico en el espectro de protones como lo muestra la Figura 16.

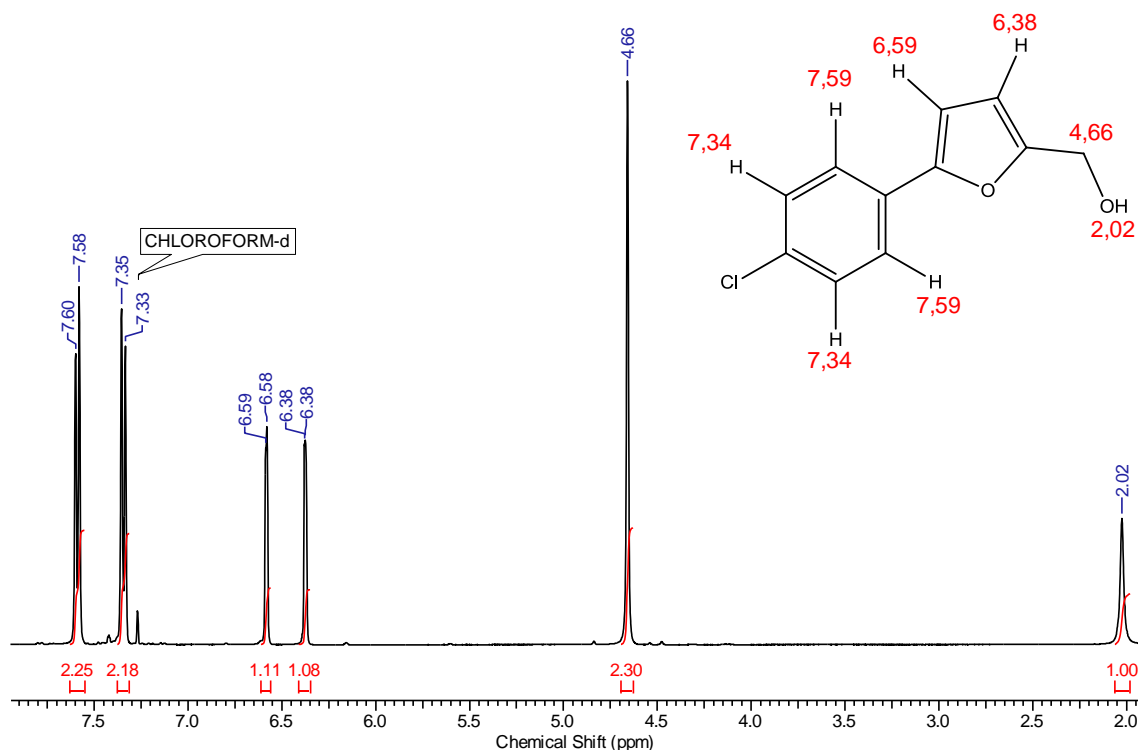


Figura 16. Espectro de ^1H -RMN característico de los alcoholes.

Como se observó para el caso de los aril-furfurales el grupo aceptor en la posición *para* puede estar afectando el desplazamiento químico de las señales de los protones del

anillo aromático como los del anillo furánico por los efectos electrónicos de dicho sustituyente. Es interesante destacar que al desaparecer el grupo formilo del sistema hubo un desplazamiento de las señales a campo más alto, debido a la pérdida del carácter aceptor de electrones de este grupo, causando el apantallamiento de los protones de las señales correspondientes al protón de la posición 3 del anillo furánico y a los protones *meta* del anillo aromático por la aparición del grupo hidroximetilo que es dador de electrones π . En el espectro de ^{13}C -RMN desaparece la señal por encima de 175 ppm del carbono carbonílico y aparece la del carbono hidroxílico cerca y por debajo de los 60 ppm. Se puede establecer una comparación en detalle consultando la sección de anexo donde aparecen todos los espectros de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN.

7.1.3. FENILFURANOXIBENZAMIDAS o FENILFURANOXIESTERES (3)

En el caso de la serie **3**, se empleó en primera instancia la reacción de Mitsunobu, cuya ventaja descansa en el hecho de poder sintetizar los productos finales de este estudio en un solo paso sintético, sin tener que convertir los alcoholes en moléculas que contengan un buen grupo saliente debido a la baja nucleofilia que presentan y aunque sea una alternativa para la obtención de los productos, implica un paso adicional en la ruta sintética, disminuyendo el rendimiento global del proceso completo.

Originalmente la reacción de Mitsunobu esta descrita para la formación de ésteres a partir de un alcohol y un ácido, utilizando dietilazodicarboxilato (DEAD) y trifenilfosfina para llevar a cabo la transformación de los sustratos en el producto [41, 42]. La formación del producto depende de la polaridad del solvente, así como del pKa del ácido, dado por el complejo mecanismo descrito para esta reacción que se verá más adelante. La versatilidad de esta reacción no solo permite la obtención de ésteres a partir de un ácido, sino que además se han podido utilizar distintos nucleófilos, como sulfonamidas [43] o fenoles que en este último caso dan como resultado aril-alquil éteres [42, 44, 45], los cuales son de particular interés para este estudio.

Teniendo en cuenta todos los antecedentes previos, se estudió la síntesis de este tipo de compuestos y se procedió a sintetizar un aril-alquil éter utilizando como productos de partida el alcohol *p*-nitro derivado (**2f**) y un fenol, el 3-hidroxibenzoato de etilo (**3b**), previamente sintetizado en el laboratorio, para corroborar la información reportada, dando como resultado la obtención del producto con un 10% de rendimiento; el detalle de la caracterización del producto formado se explica en la próxima sección de análisis espectroscópico. Con este resultado, se dio la posibilidad de contemplar un proceso de síntesis con todos los alcoholes de la serie **2** y también considerando emplear como sustituyente, la *m*-hidroxibenzamida, la cual por los estudios computacionales de *docking* realizados previamente, se justifica una promisorio actividad biológica en el bolsillo de FtsZ de *Staphylococcus aureus*, dada la analogía estructural que presenta con el compuesto PC190723.

Se inició el estudio de la síntesis de fenilfuranoxibenzamidas replicando la reacción de Mitsunobu, empleando la 3-hidroxibenzamida, tanto para el alcohol *p*-nitro-derivado (**2f**) como para el *p*-bromo-derivado (**2c**). Se procedió a montar la reacción en un sistema abierto, sin embargo, la reacción no transcurrió hacia la formación del producto esperado. Se realizó entonces, un segundo intento siguiendo la reacción mediante TLC cada 30 min. Sin embargo, al cabo de 8 horas no se observó la formación del producto esperado o de productos de degradación de los reactivos. En un tercer intento se procedió a realizar la reacción a reflujo, para aumentar la cinética de la reacción que por efecto de temperatura podría llevar hacia la formación del producto y verificar de esta forma si este parámetro afecta la formación del mismo, aun así, no se observó formación de producto. En el cuarto intento, se montó la reacción de Mitsunobu en un sistema purgado y en atmósfera inerte como se ha reportado previamente [44, 45, 46], empleando THF anhidro secado por tamiz molecular de 0,3 nm [47]; ya que la presencia de agua en el THF podría estar dificultando la obtención del aril-alquil éter, al reaccionar con el DIAD e interviniendo de esa forma en el mecanismo de la reacción, no dando resultado este ensayo. Se procedió entonces a modificar el orden de adición de los reactivos [48] adicionando primero el alcohol y luego el fenol, ambos en soluciones separadas, ya que la desprotonación del fenol que es más ácido ($pK_a < 10$) que el alcohol ($pK_a \approx 16$) podría también influir en el mecanismo de la reacción, sin embargo, no se detectó la formación de productos bajo estas modificaciones, lo cual condujo a emplear un sistema cuya descripción se detalla en la Figura 17, junto con el procedimiento experimental que se empleó desde ese momento en adelante:

- En un sistema completamente cerrado, que consta de un embudo de adición que contiene una mezcla de 0,081 mmol de alcohol y 0,121 mmol del compuesto fenólico, en un balón de tres bocas de 100 mL a 0°C se adicionaron 0,121 mmol de trifenilfosfina PPh_3 , y el sistema se purgó con nitrógeno (N_2), luego se disolvió la PPh_3 con 5 mL de THF anhidro mediante jeringa y se agregaron 0,121 mmol de diisopropilazodicarboxilato (DIAD), dejando la mezcla en agitación por 30 minutos; mientras ocurría la formación de la betaína a 0°C. Posteriormente, se disolvió la mezcla del embudo de adición con una alícuota de (2-5 mL) de THF anhidro y transcurrido ese tiempo se abrió la llave del embudo dejando caer por goteo lento la solución sobre la mezcla de betaína recientemente formada, para dar paso a la reacción de Mitsunobu. La mezcla de reacción se agitó por 1 hora a 0°C y luego por 1 hora a temperatura ambiente. La reacción fue monitorizada mediante TLC cada 30 minutos, pero no se observó la formación del producto esperado.

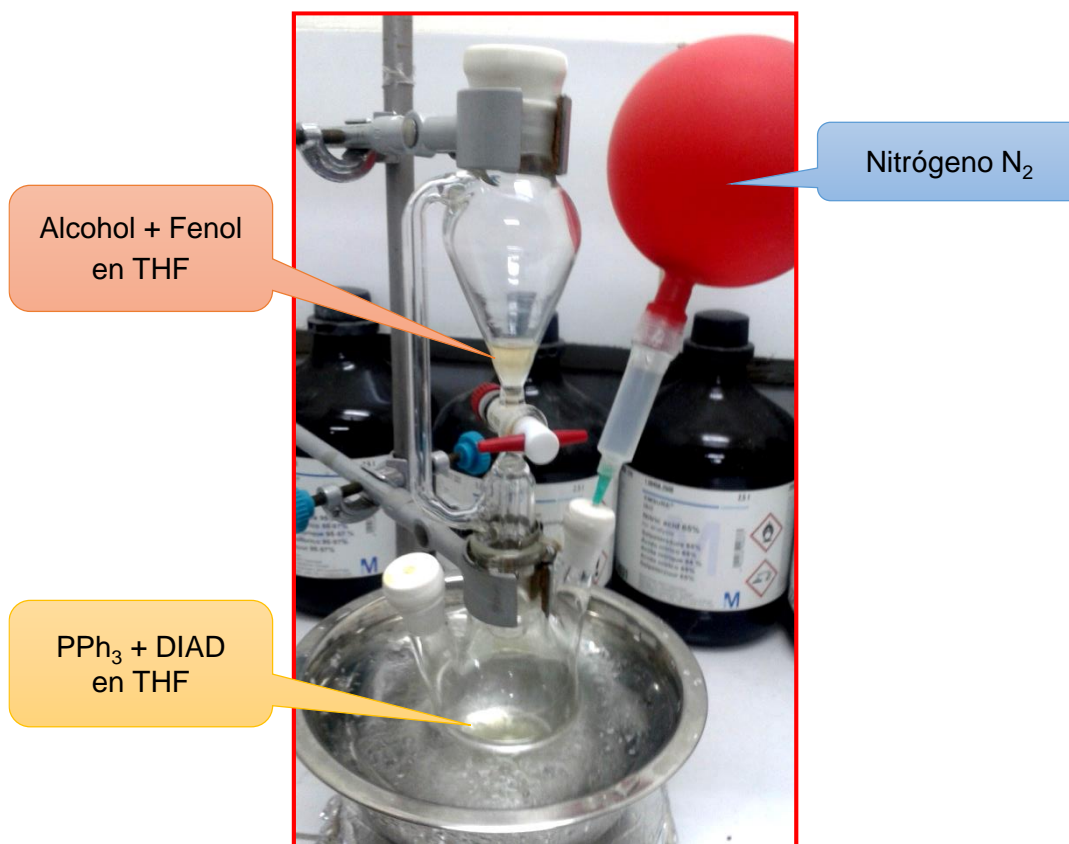


Figura 17. Montaje que representa el sistema utilizado en la reacción de Mitsunobu.

La formación de la betaína ($\text{PPh}_3 + \text{DIAD}$) 30 minutos antes de agregar el alcohol y el fenol, podría mejorar el rendimiento de la reacción como algunos autores reportan [48], sin embargo, este intento también fracasó en la formación del producto esperado.

Efecto del pKa

El pKa del ácido juega un rol importante dentro del mecanismo (Figura 19) de la reacción de Mitsunobu. Como se emplearon compuestos fenólicos ($\text{pKa} \approx 10$), el grado de acidez de estas estructuras no es tan alto como lo sería un ácido carboxílico de cadena corta como el ácido fórmico o el ácido acético que tienen un pKa de 3,74 y 4,76 respectivamente. Estos son fácilmente desprotonables por efecto de una base con respecto a los compuestos fenólicos. Una forma de aumentar la acidez de las estructuras fenólicas, y en general de los compuestos aromáticos, es sustituyendo las distintas posiciones con grupos electro-atractores causando una disminución de la densidad electrónica del anillo aromático que puede estar dada por efectos de resonancia (electrones π) o por efecto inductivo (electrones σ), lo que podría favorecer la formación de los productos de la reacción de Mitsunobu.

El grupo amida de la *m*-hidroxibenzamida, es un aceptor débil de electrones por la presencia del grupo amino que estabiliza la deslocalización de la carga producida por el

grupo carbonilo. Esta reportado que la presencia de un sustituyente aceptor de electrones puede otorgar mayor acidez al protón fenólico, y por lo tanto facilitar la salida del protón en el tercer paso del mecanismo [44], dejando al anión fenolato activado para atacar nucleofílicamente al carbono del alcoxifosfonio, dando paso a la formación del producto esperado e impidiendo la formación del producto lateral de la reacción. Si la acidez no es suficiente, entonces se favorecerá la reacción lateral no lográndose la obtención del producto deseado. Luego el fenol con pKa de 10, no debería formar un producto en esta reacción. Se decidió entonces reemplazar la *m*-hidroxibenzamida por fenol manteniendo la relación estequiométrica con el fin de comprobar empíricamente la hipótesis planteada. El ensayo no mostró formación del producto buscado, lo cual reveló que el pKa es relevante en la reacción y que el cambio del éster a amida es responsable de la caída de reactividad de la reacción. Si se compara la *m*-hidroxibenzamida con el *m*-hidroxibenzoato de etilo, ambos poseen un efecto de estabilización de la deslocalización de la carga negativa del hidroxilo fenólico al desprotonarse (Figura 18), que es de forma inductiva por la posición meta. Pero a diferencia del éster, la amida puede donar más fácilmente su par de electrones por resonancia al grupo acilo compensando el déficit de carga formada en el carbono carbonílico. Así la acidez de la *m*-hidroxibenzamida será menor que la del *m*-hidroxibenzoato de etilo lo que explicaría el bajo rendimiento del éster y la no formación del producto con el fenol y *m*-hidroxibenzamida.

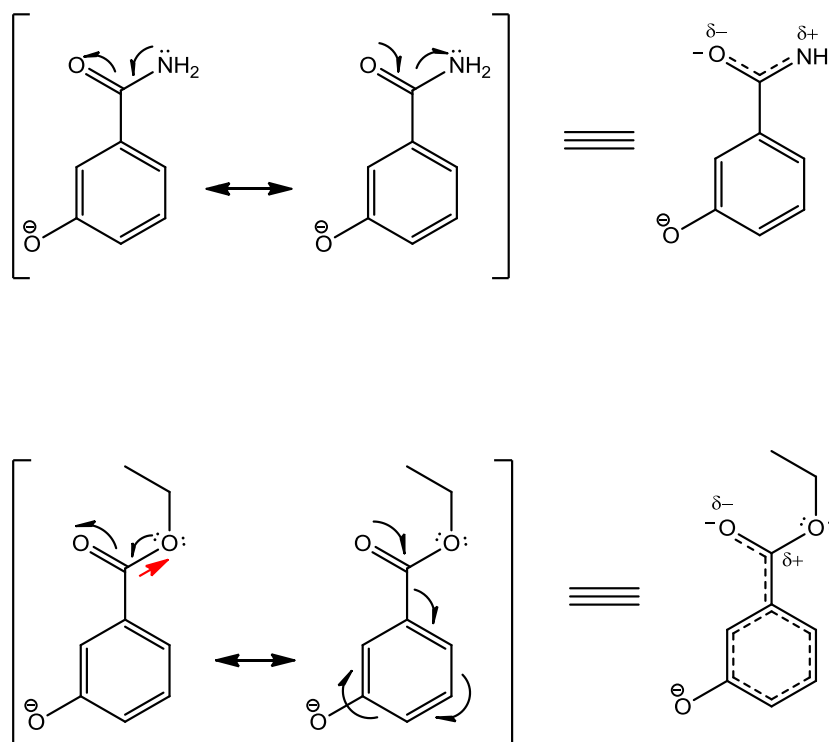


Figura 18. Efecto de inducción producido en los compuestos fenólicos.

El mecanismo de la reacción ya mencionado se detalla en las Figuras 19 y 20. Considerando que el sustituyente en el anillo aromático puede influir en la reactividad de alcohol utilizado, se decidió reemplazar el alcohol *p*-bromo-derivado por el *p*-nitro-derivado, debido a que el mayor efecto aceptor hacia el alcohol podría mejorar el ataque nucleofílico del fenol hacia el carbono del alcoxifosfonio. Sin embargo, no se obtuvo el producto deseado utilizando esta modificación. En un último intento, se decidió someter la reacción del fenol a ultrasonido [49] 5 veces cada 15 minutos siguiendo la reacción por TLC y en una reacción paralela se irradió la mezcla de reacción en un microondas convencional 5 veces a máxima potencia (1700 Watts), aumentando 1 minuto cada vez hasta un máximo de 5 min, pero en ningún caso se pudo apreciar formación del producto deseado.

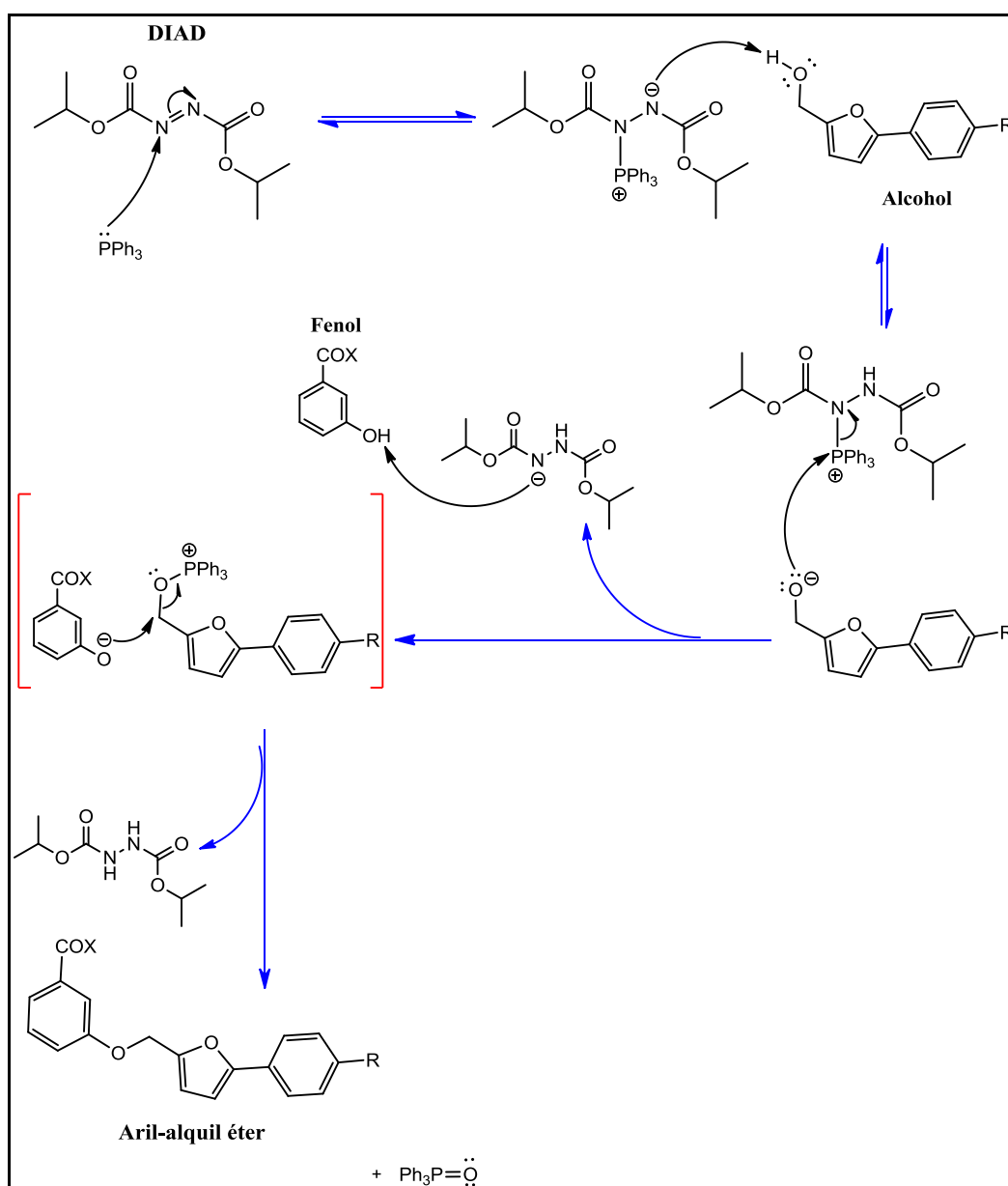


Figura 19. Mecanismo de la reacción de Mitsunobu. X = NH_2 o OEt .

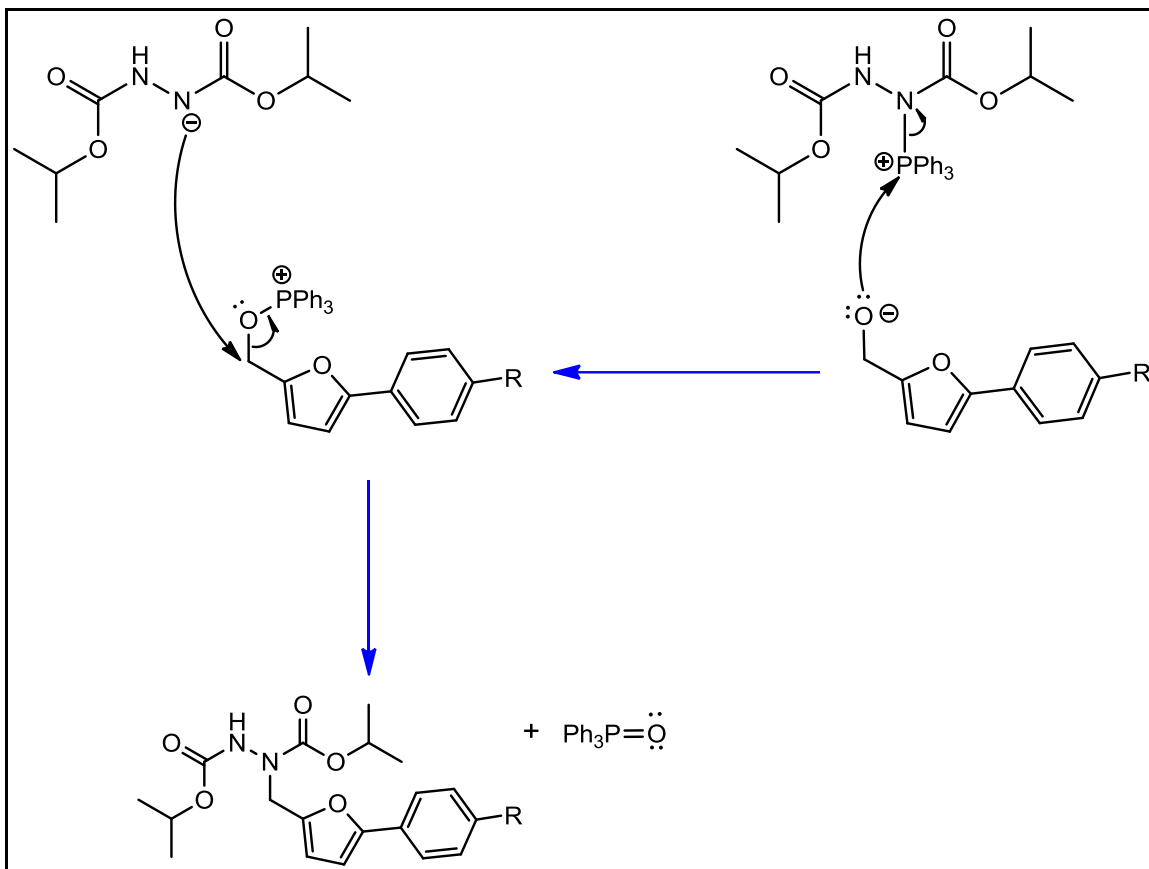


Figura 20. Reacción lateral en el mecanismo de la reacción de Mitsunobu.

Probablemente la razón de estos resultados sea que se están intentando unir dos porciones moleculares muy voluminosas y debido a esto el efecto estérico puede ser muy importante, lo que estaría provocando una disminución considerable del rendimiento de la reacción (caso ocurrido con *m*-hidroxibenzoato de etilo) o bien la no formación de los productos contemplados en este paso (ocurrido con la *m*-hidroxibenzamida y el fenol). Se debe considerar también que como se mencionó anteriormente, la reacción de Mitsunobu tiene la formación de un producto lateral (Figura 20) originado por el ataque del intermediario hidrazin-anión al alcoxifosfonio produciendo una hidrazina estable [44] y podría ser que dicha reacción en competencia este dificultando también la obtención de los aril-alquil éteres derivados del núcleo 5-fenilfuranos con los compuestos fenólicos, debido al efecto del pKa como se mencionó anteriormente.

A continuación se analiza en detalle los espectros del producto **3a**.

Análisis Espectroscópico de 3a

El compuesto obtenido se caracterizó por espectros de ^1H -RMN, ^{13}C -RMN y espectros bidimensionales que permiten justificar con mayor precisión los acoplamientos protón-protón (^1H - ^1H COSY) y protón-carbono (HMQC, HMBC, etc.) pudiendo encontrar las señales características tanto del alcohol *p*-nitro derivado, como del 3-hidroxibenzoato de etilo. Comparado con los espectros del alcohol *p*-nitro derivado en ^1H -RMN, se pudo apreciar la desaparición de la señal del protón del alcohol que aparecía a los 4,67 ppm; la señal que da cuenta de los protones metilénicos que aparecían en 4,35 ppm se desplazó más a campo bajo apareciendo en 5,13 ppm; aparece un triplete a campo alto en 1,39 ppm correspondiente a protones de un grupo CH_3 , señal que acopla con un cuarteto que apareció a los 4,38 ppm correspondiente a protones metilénicos; estas últimas dos señales dan cuenta de un fragmento $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ (etilo) correspondiente al grupo etoxi de la función éster añadida junto a un nuevo sistema de protones que aparecen en 7,20; 7,37 y 7,72 respectivamente que justifican el sistema *m*-sustituido, añadido al núcleo 5-fenilfurano proveniente del alcohol *p*-nitro-derivado como lo muestra la Figura 21.

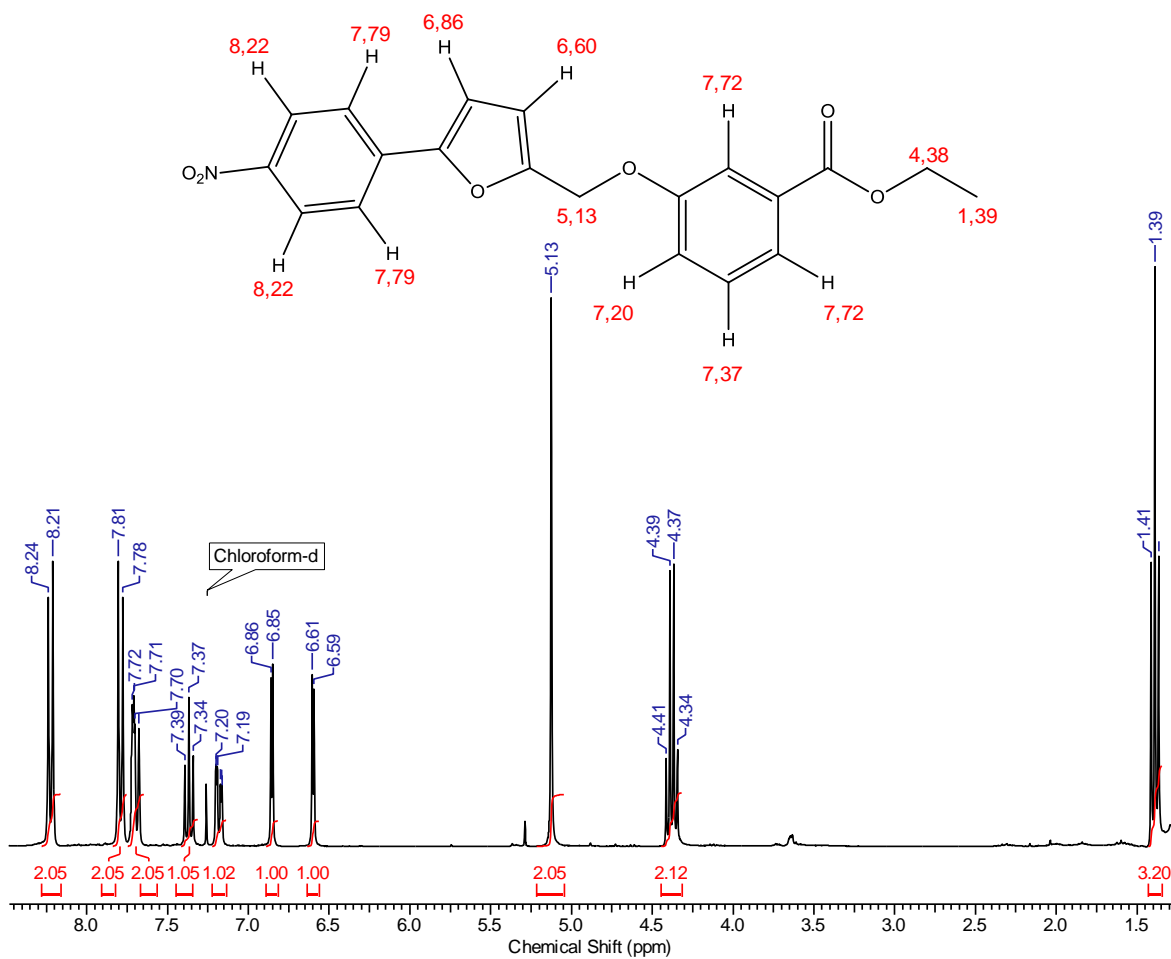


Figura 21. Espectro de ^1H -RMN del fenilfuranoxiester obtenido.

Como se puede observar en el espectro, las señales de los protones *orto* de ambos anillos aromáticos están más a campo bajo por el efecto aceptor de electrones que tiene el grupo nitro y el grupo carbonilo del éster que estarían desapantallando los protones situados en dichas posiciones. Además, la deslocalización causada por el grupo nitro provoca el desapantallamiento del protón situado en la posición 4 del anillo furánico apareciendo la señal correspondiente a campo más bajo con respecto al otro protón furánico que está apantallado por la presencia del grupo fenoximetil en la posición 2. Resulta interesante destacar que el grupo carbonilo del éster, causa deslocalización electrónica en las posiciones *orto* y *para* en su anillo aromático, pero por el efecto dador de electrones del grupo éter y la distancia la señal correspondiente al protón situado en esa última posición aparece más a campo alto de lo que debiera.

En ^{13}C -RMN (ver anexo), se puede apreciar la aparición de una señal a campo alto a los 14,2 ppm correspondiente al carbono metílico y dos señales a $\approx 60\text{-}62$ ppm correspondiente a los carbonos metilénicos de la molécula estudiada, además aparece un complejo sistema de carbonos que están comprendidos entre $\approx 114\text{-}160$ ppm correspondientes a los carbonos aromáticos del sistema *m*-sustituido y la aparición de una señal a 166 ppm que corresponde al carbono carbonílico del éster.

Análisis Bidimensional de 3a

Como se mencionó anteriormente este compuesto fue analizado por espectros bidimensionales, los que permiten realizar un análisis mucho más profundo y exhaustivo de la estructura del compuesto que se desea caracterizar. Por lo general este tipo de espectroscopias son denominadas **CORrelation SpectroscopY** (COSY) y de acuerdo al experimento y propósito del análisis dan cuenta de distintos tipos de interacciones que pueden existir en la molécula analizada, tales como protón-protón (^1H - ^1H) o protón-carbono (^1H - ^{13}C) y en este último caso reciben el nombre de **HETeronuclear CORrelation** (HETCOR) [50, 51]. Cada tipo de análisis espectral consiste en una secuencia de pulsos electromagnéticos y se diferencian entre sí por los parámetros experimentales con los que fueron realizados, como el tiempo, frecuencia e intensidades de los pulsos [52].

El análisis ^1H - ^1H -COSY muestra las interacciones entre los protones de la molécula, usando un sistema de dos ejes X e Y (F2 y F1 respectivamente), en los cuales se muestra el espectro ^1H -RMN en cada eje, dando como resultado dentro un plano una serie de manchas que dan cuenta de la interacción de las señales de los protones. Las manchas que aparecen en la diagonal de los ejes son denominadas *peaks* diagonales, las cuales corresponden a intersecciones de las proyecciones de las señales del espectro de ^1H -RMN de cada eje (son por lo tanto manchas debido al mismo protón) y las manchas fuera de la diagonal corresponden a las correlaciones entre protones diferentes, denominadas señales de correlación o *cross peaks* [53]. Estas señales de correlación se deben al acoplamiento escalar (espin-espin) entre los protones a través de los enlaces y cada señal

de correlación indica los protones que están acoplando mutuamente. Las señales del espectro de ^1H -RMN que correlacionan se buscan trazando líneas paralelas a ambos ejes desde los *cross peak* hasta encontrar las señales respectivas en función de los *peaks* diagonales como lo muestran las Figuras 23 y 24 del éter sintetizado en este estudio que son ampliaciones del espectro de la Figura 22 que se verá a continuación.

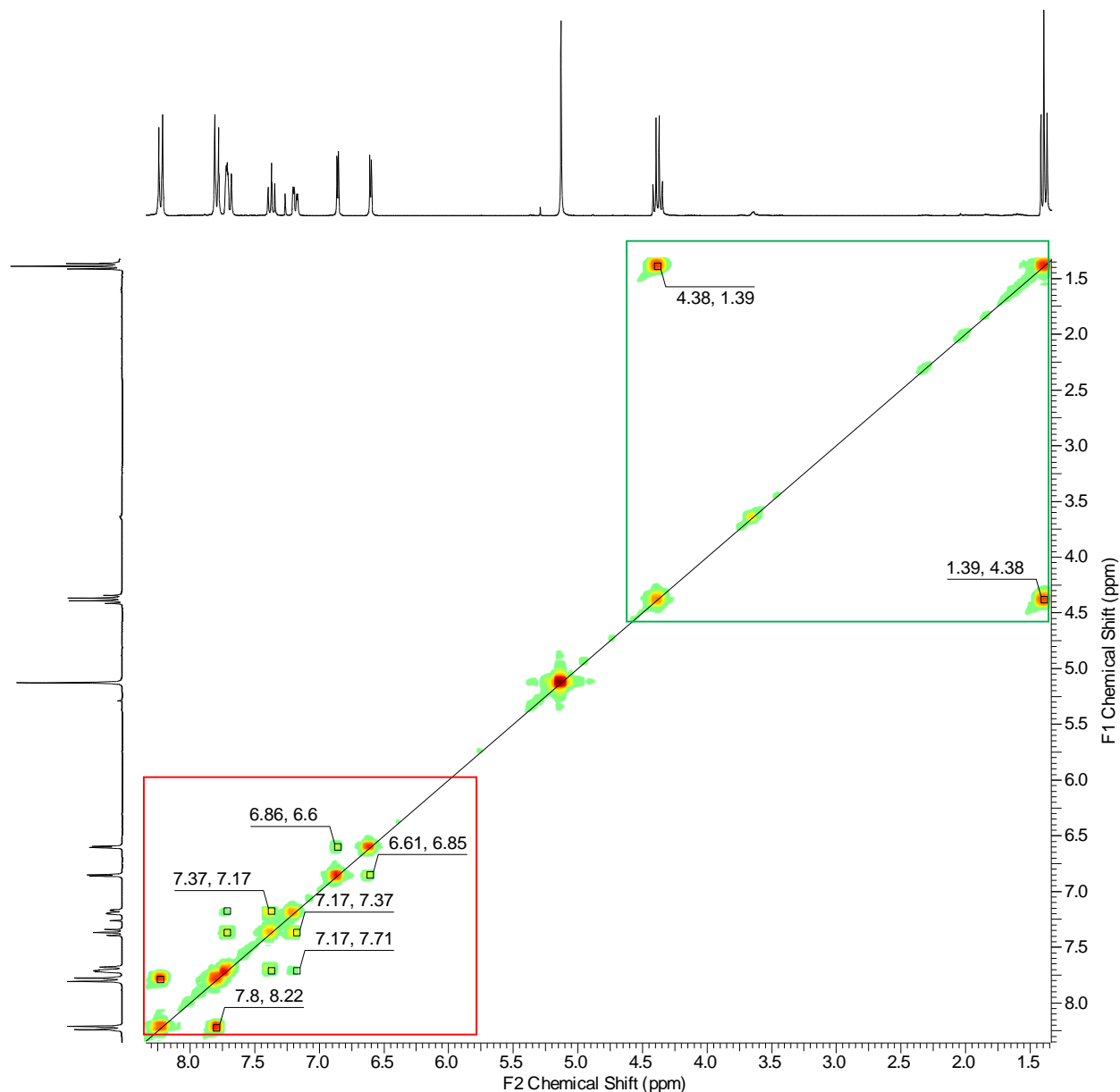


Figura 22. Espectro de ^1H - ^1H -COSY del fenilfuranoxiester.

El espectro COSY del aril-alkil éter sintetizado por medio de la reacción de Mitsunobu se analizó en dos secciones por separado cada una, las que corresponden a las regiones alifática y aromática (Figuras 23 y 24 respectivamente).

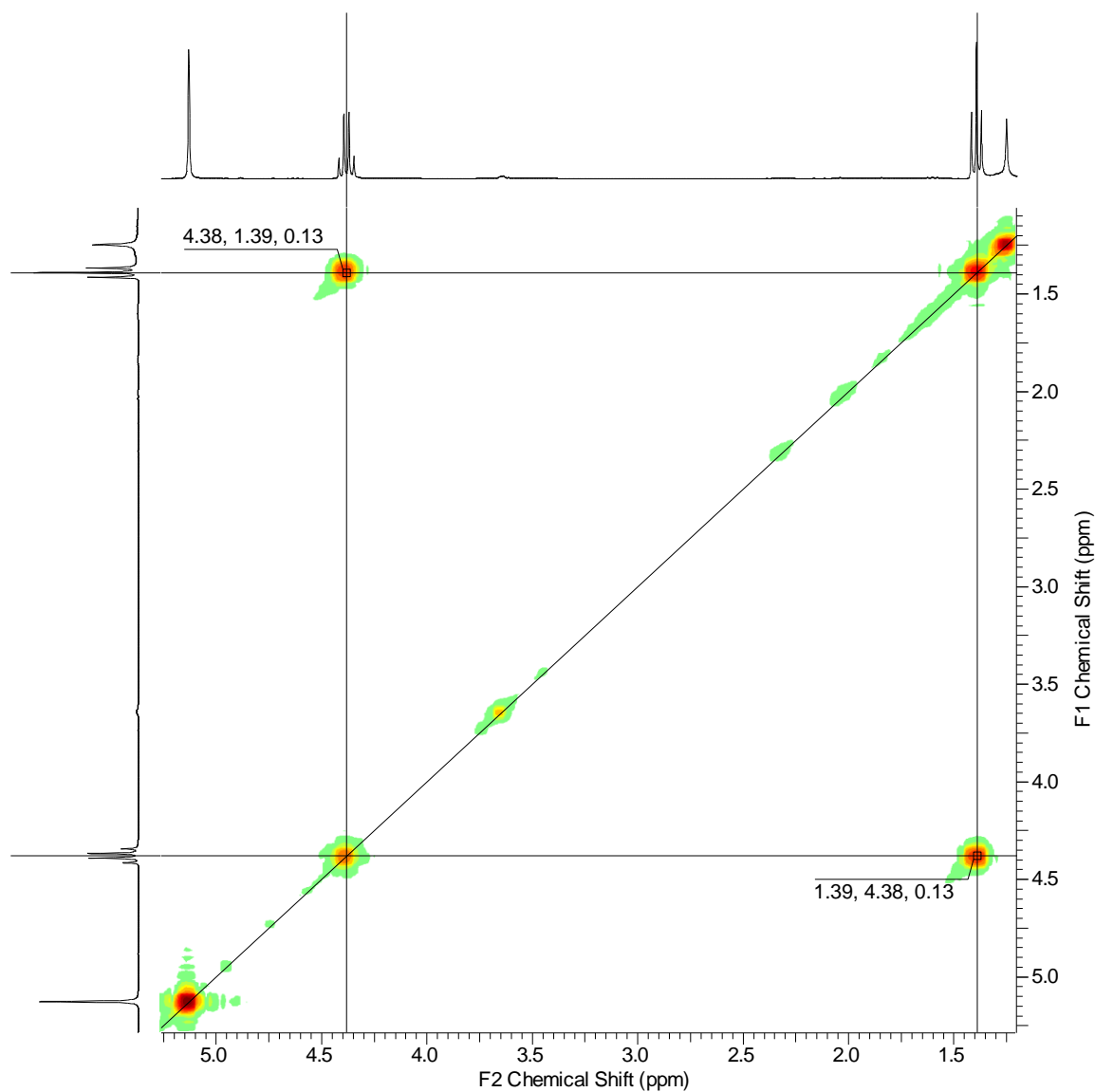


Figura 23. Espectro de ^1H - ^1H -COSY del fenilfuranoxiester: Región alifática.

Esta ampliación del espectro COSY, permite ver los acoplamientos de los protones de la región alifática, en el que se ve acoplamiento escalar entre el triplete a los 1,39 ppm y el cuarteto que aparece a los 4,38 ppm, que confirma la presencia de protones metilénicos interaccionando con protones metílicos que están muy apantallados.

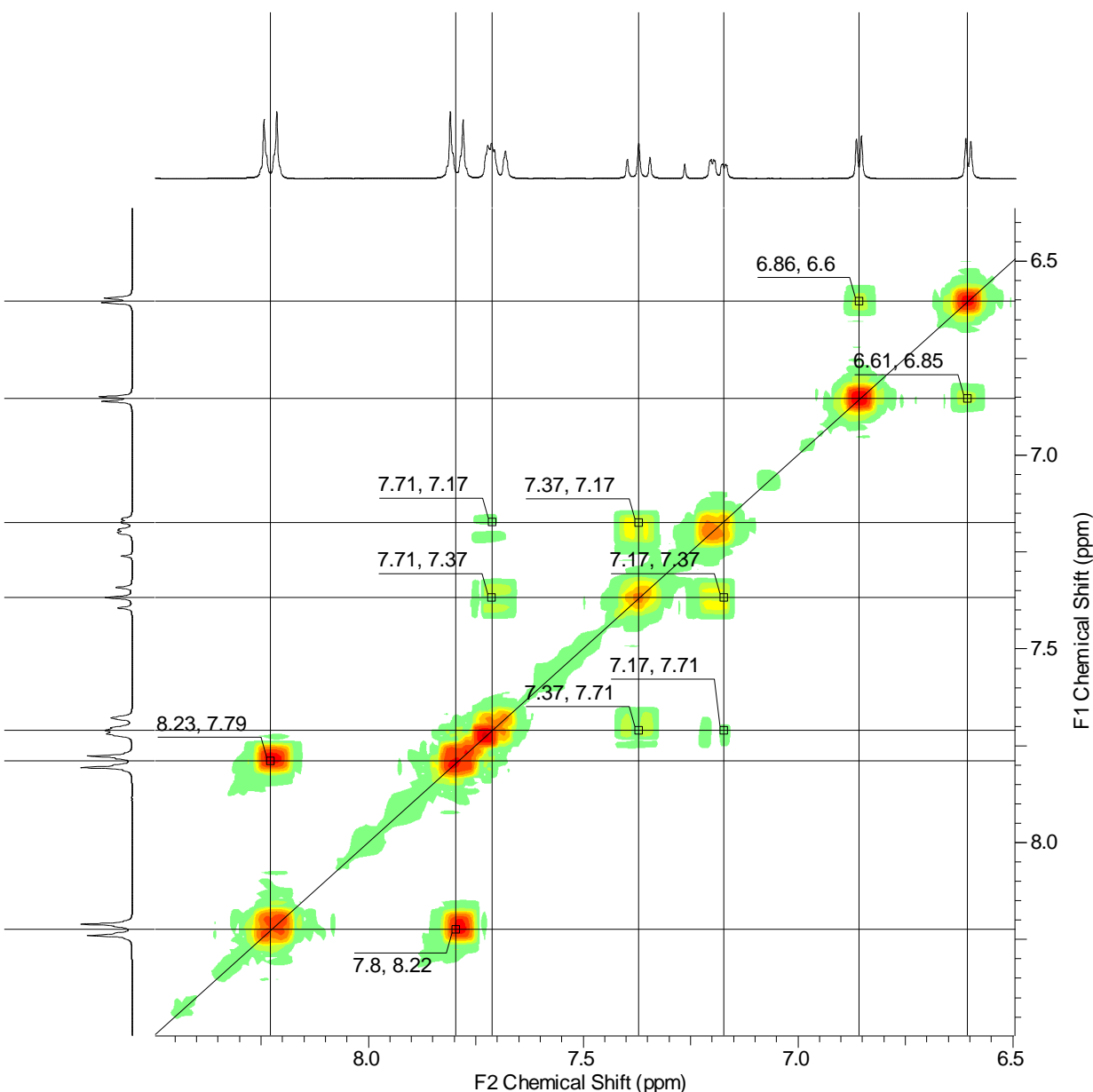


Figura 24. Espectro de ^1H - ^1H -COSY del fenilfuranoxiester: Región aromática.

En cuanto a la parte aromática del espectro COSY, se ve que las señales en 6,61 y 6,86 que acoplan entre sí y corresponderían a los protones del anillo furánico que están en la posición 3 y 4; aparecen también interacciones de acoplamiento escalar para las señales de los protones del segundo anillo aromático que está enlazado al grupo éster de la molécula, donde se ve que las señales 7,17, 7,37 y 7,70 que estarían interaccionando entre sí, lo que confirma que los protones correspondientes a esas señales forman parte del mismo anillo aromático, están acoplando mutuamente y corresponderían a los protones *para*, *meta* y los dos *orto* a la función éster respectivamente; por último quedan las señales que aparecen entre 7,79 y 8,23 ppm estarían acopladas entre sí y dan cuenta

de los protones *orto* y *meta* que están siendo afectados por la influencia de un fuerte grupo aceptor de electrones en el primer anillo aromático.

Los espectros HMQC (Figuras 25) y HMBC (Figura 29) al igual que los experimentos HETCOR son de carácter heteronuclear, constan de dos ejes que sitúan el espectro ^1H -RMN en el eje X y el espectro de ^{13}C -RMN en el eje Y, y muestran las interacciones existentes entre los protones del espectro de ^1H -RMN y los carbonos del ^{13}C -RMN otorgando mayor precisión para la caracterización estructural de la molécula al poder identificar los acoplamientos protón-carbono.

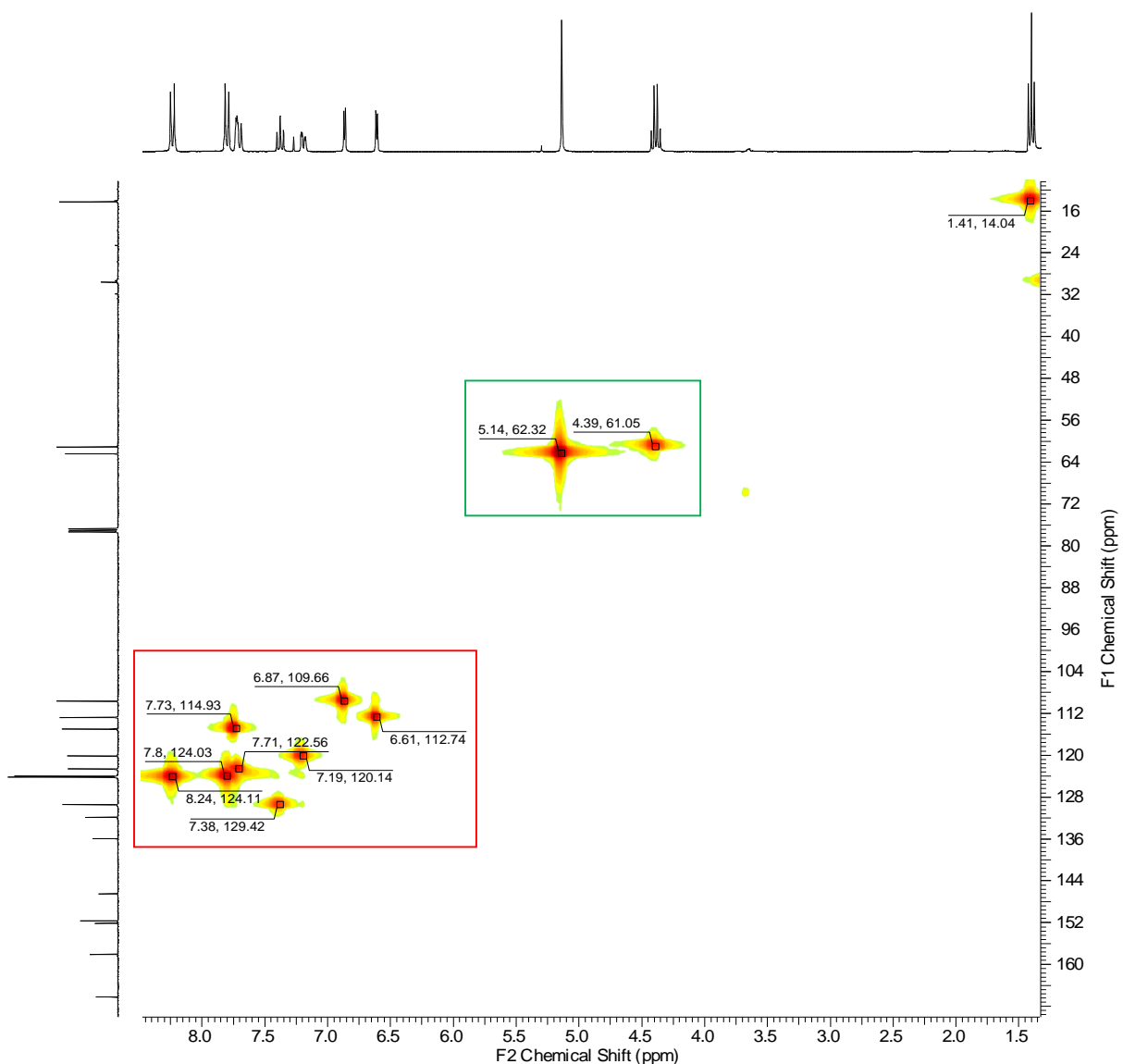


Figura 25. Espectro de HMQC del fenilfuranoxiester.

El espectro HMQC es un experimento similar al HETCOR, pero que ofrece mayor sensibilidad [54] y por lo tanto un análisis más preciso de las interacciones entre los

protones y carbonos de la molécula caracterizada que estarían enlazados directamente (a un enlace de distancia). Como se puede ver en el espectro la señal que aparece en el eje F2 a los 1,41 ppm estaría acoplado directamente con la señal que aparece a los 14,04 ppm en el eje F1, confirmando la presencia de un grupo metilo. El espectro HMQC del arilalquil éter sintetizado por medio de la reacción de Mitsunobu se analizó en dos secciones por separado cada una, las que corresponden a las regiones alifática y aromática (Figuras 26 y 27 respectivamente).

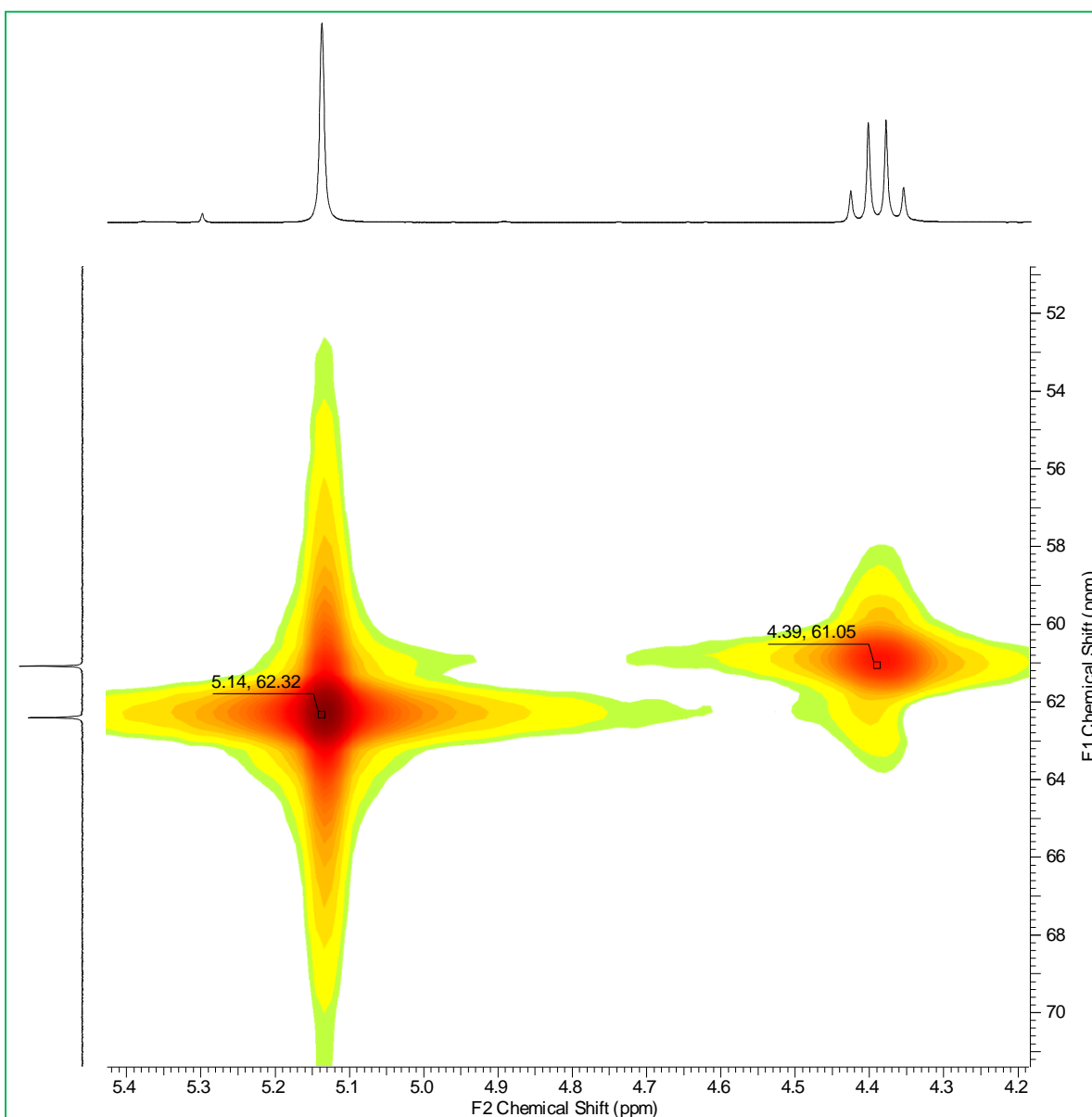


Figura 26. Espectro de HMQC del fenilfuranoxiester: Región Alifática.

A campo bajo encontramos dos correlaciones, una entre la señal que aparece a los 4,39 ppm con la que aparece a 61,05 ppm que correspondería a un grupo metileno debido a

los desplazamientos químicos, lo mismo que para la correlación de señales 5,14 - 62,32 ppm.

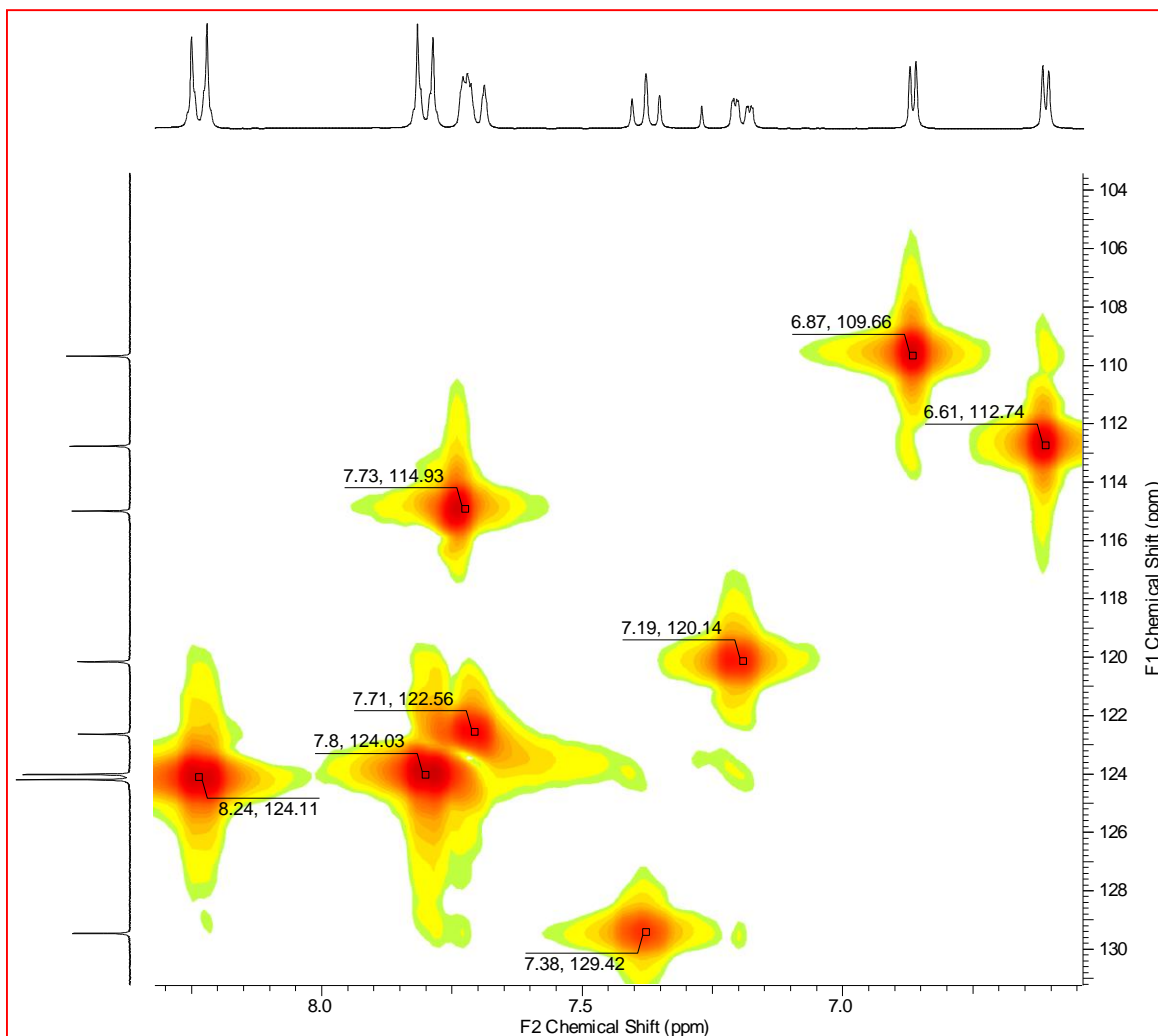


Figura 27. Espectro de HMQC del fenilfuranoxiester: Región Aromática.

Más a campo bajo estarían los protones furánicos y aromáticos de la molécula, donde para los primeros se aprecian las correlaciones de señales 6,61-112,74 y 6,87-109,66 ppm correspondientes a los enlaces C-H de la posición 3 y 4 del anillo furánico; las correlaciones 7,19-120,14 (*para*); 7,38-129,42 (*meta*); 7,71-122,56 y 7,73-114,93 ppm (*orto*) dan cuenta de los enlaces C-H del anillo aromático que contiene como grupo funcional a la función éster y al sustituyente éter en posición *meta*. Resulta interesante notar que en el espectro de ^1H -RMN las señales 7,71-7,73 sean de parte de la misma multiplicidad, pero al correlacionar con el espectro de ^{13}C -RMN estén acoplado con carbonos diferentes, lo que indicaría que los protones *orto* de ese anillo bencénico no son equivalentes.

El espectro HMBC da cuenta de las interacciones de acoplamiento ^1H y ^{13}C de largo alcance, lo que permite establecer interacciones con una distancia de 2 o 3 enlaces (Figura 28) y no se visualizan las interacciones a un enlace como en HMQC [55], permitiendo visualizar mejor los carbonos cuaternarios de una molécula. Se obtiene de los espectros HMBC información relativa a la conectividad de los enlaces de la molécula y la orientación de los protones de manera espacial por los acoplamientos en las vecindades de la molécula. Para el compuesto obtenido en este estudio también se obtuvo el espectro HMBC, el cual también se analizará por regiones, dado que este espectro muestra mayor cantidad de interacciones de acoplamiento que el espectro HMQC.

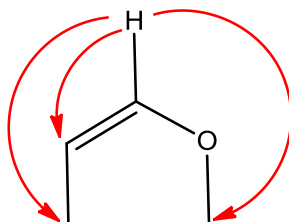


Figura 28. Posibles acoplamientos explicados por espectros de HMBC.

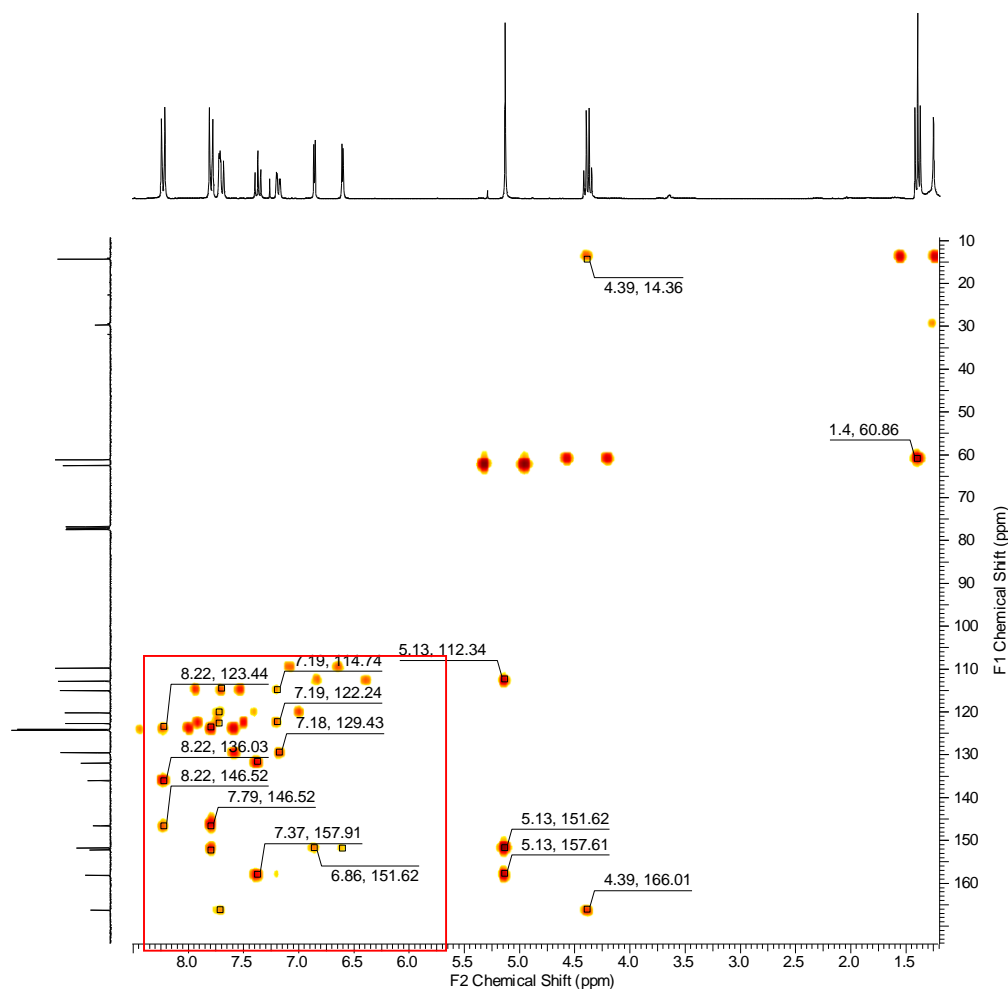


Figura 29. Espectro de HMBC del fenilfuranoxiester.

El espectro HMBC de **3a** se analizó en dos secciones por separado cada una, las que corresponden a las regiones alifática y aromática (Figuras 30 y 31 respectivamente).

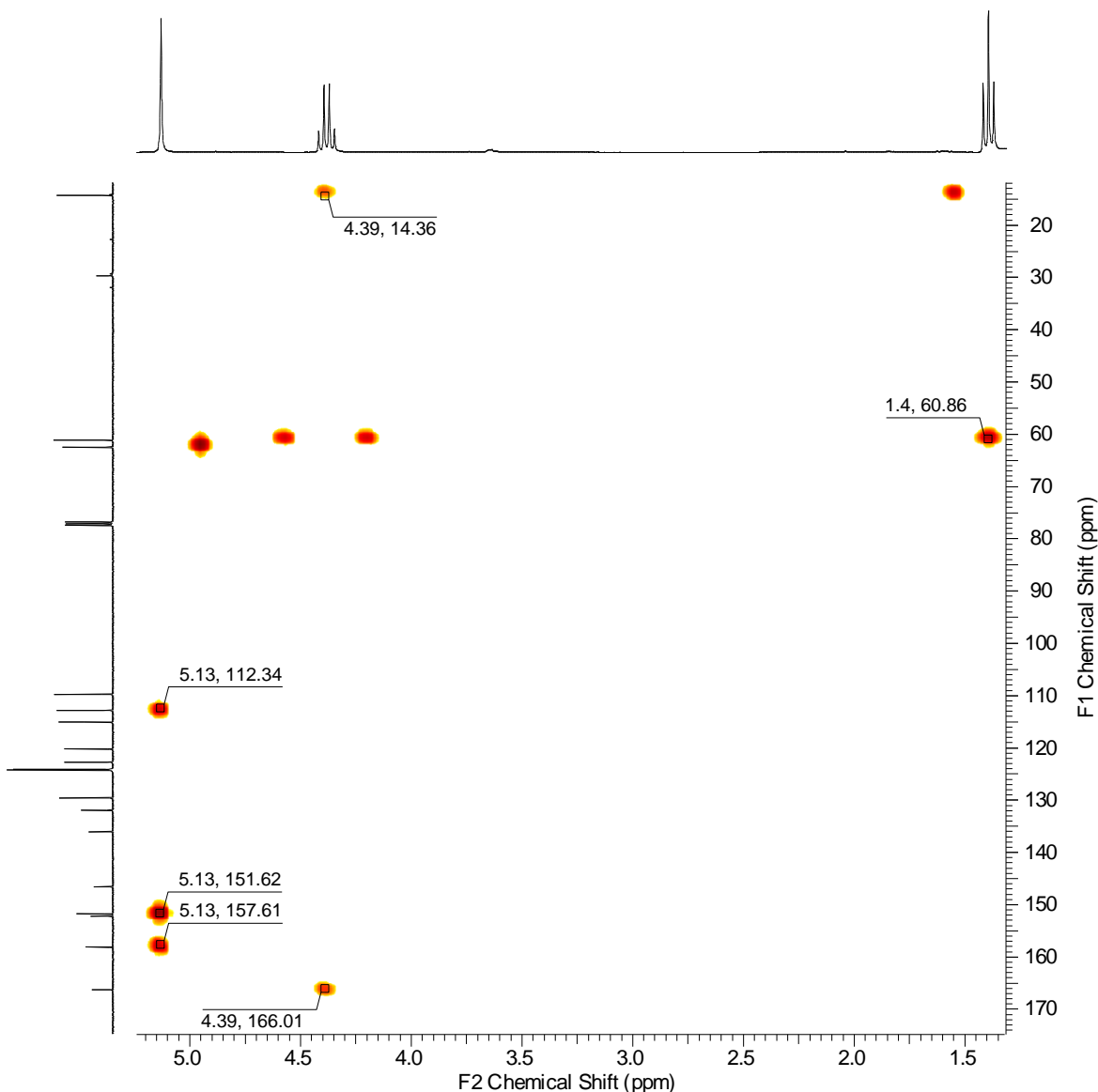


Figura 30. Espectro de HMBC del fenilfuranoxiester: Región Alifática.

En la región alifática tenemos la señal a campo bajo de 1,4 ppm que corresponde a los protones terminales de la cadena del grupo etoxi ($-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_3$), los cuales estarían acoplado con el carbono metilénico correspondiente a la señal 60,86 ppm que está situado en la vecindad del carbono que contiene a dichos protones; la señal que aparece a los 4,39 ppm corresponde a protones metilénicos, los cuales estarían acoplado con los carbonos correspondientes a las señales 14,36 (metílico) y 166,01 ppm (carbonilo del éster); por último la señal que aparece a los 5,13 ppm corresponde a los protones metilénicos que están enlazados al éter y que conectan en núcleo 5-fenilfurano con la

porción de *m*-hidroxibenzoato de étilo. Dichos protones estarían acoplado con los carbonos correspondientes a las señales 112,34 (*orto*, 1,2); 151,62 y 157,61 ppm (*meta* sustituido por el éter) y la segunda señal mencionada corresponde al carbono del anillo fúranico situado en la posición 2.

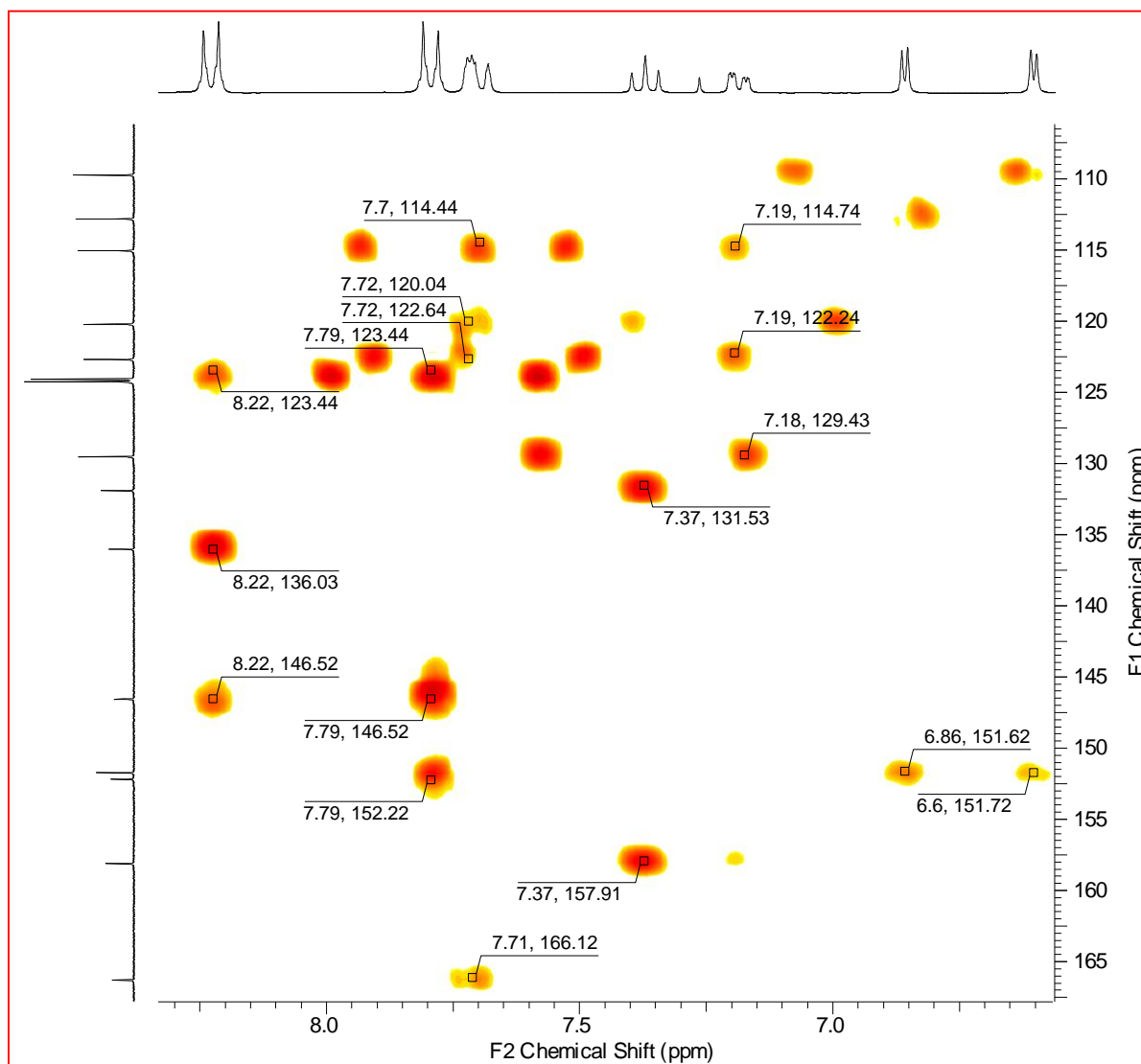


Figura 31. Espectro de HMBC del fenilfuranoxiester: Región Aromática.

Como se puede ver en el espectro los protones furánicos correspondientes a la posición 3 (6,60 ppm) y 4 (6,86 ppm) estarían acoplado con los carbonos de la posición 2 (151,72 ppm) y 5 (151,62 ppm); la señal correspondiente a 7,19 ppm estaría mostrando el acoplamiento de dicho protón con los carbonos correspondientes a las señales encontradas en 114,74 (*orto*; 1,2); 122,24 (*orto*; 1,6) y 129,43 ppm (*meta*; 1,5) y la razón del apantallamiento del primer carbono mencionado es por la influencia del grupo dador de electrones situado en la posición *meta* sustituida; la señal correspondiente a 7,37 ppm

estaría mostrando el acoplamiento de dicho protón con los carbonos correspondientes a las señales encontradas en 131,53 y 157,91 ppm que son los carbonos que están enlazados al grupo funcional éster y el sustituyente en *meta* respectivamente; luego aparece la señal correspondiente a 7,71 ppm que estaría mostrando el acoplamiento de los protones situados en la posición (*orto*) del anillo aromático con los carbonos correspondientes a las señales 114,74 (*orto*; 1,2), 120,04 (*para*); 122,64 (*orto*; 1,6) y 166,12 (carbonilo del éster) los cuales estarían acoplando mutuamente. La diferencia está dada porque el protón situado en la posición 1,2 estaría siendo afectado por la presencia del grupo dador de electrones siendo levemente apantallado y por lo tanto dicho protón estaría acoplando realmente con los carbonos de la posición 1,4 y 1,6, mientras que el otro protón ($\approx 7,72$ ppm) estaría acoplando con los carbonos de la posición 1,2 y 1,4, lo cual confirma que los protones situados en las posiciones orto del anillo aromático no son equivalentes; más a campo bajo tenemos la señal que aparece a los 7,79 ppm la cual corresponde a los protones situados en la posición *orto* del anillo aromático que tiene al anillo furánico enlazado en la posición 1 y tiene un sustituyente aceptor de electrones situado en la posición *para* con respecto al anillo furánico. Dicha señal mostraría el acoplamiento de dichos protones con los carbonos correspondientes a las señales 123,44 (*meta*); 146,52 (*para*) y 152,22 que corresponde al carbono 5 del anillo furánico; finalmente la señal que aparece a los 8,22 corresponde a los protones situados en la posición *meta* del mismo anillo aromático mencionado anteriormente, los cuales estarían acoplando con los carbonos correspondientes a las señales 123,44 (*orto*); 136,03 y 146,52, los dos últimos correspondientes a el carbono enlazado al anillo furánico y el carbono que contiene al sustituyente aceptor de electrones.

Los espectros recientemente analizados permiten caracterizar mejor el compuesto estudiado y los espectros completos de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN de este compuesto se pueden consultar en la sección del anexo.

7.1.4. BUSQUEDA DE UN NUEVO GRUPO SALIENTE

Con los resultados obtenidos en la reacción de Mitsunobu, se pudo comprobar que dicha reacción no conduce a la formación de fenilfuranoxibenzamidas, que como ya se ha mencionado en ocasiones anteriores es de relevancia para este estudio debido a su promisorio actividad como agente antibacteriano. Por lo tanto, se decidió emplear otro método el cual sugiere hacer la síntesis de aril-alquil éteres empleando condiciones de reacción tipo Williamson, una $\text{S}_{\text{N}}2$ activada por la desprotonación del fenol por medio de una base fuerte y el ataque a un centro reactivo que contenga un buen grupo saliente. Para tal propósito se intentó formar el *p*-toluensulfonato derivado de los alcoholes de núcleo 5-fenilfurano a través de una reacción de esterificación del alcohol, empleando cloruro de *p*-toluensulfonilo, 4-dimetilamino-piridina como catalizador y trietilamina [56, 57] para generar un ambiente básico que permita neutralizar el cloruro de hidrógeno gaseoso

que se desprende en la reacción, lo que permite además recuperar el catalizador, como lo muestra la Figura 32.

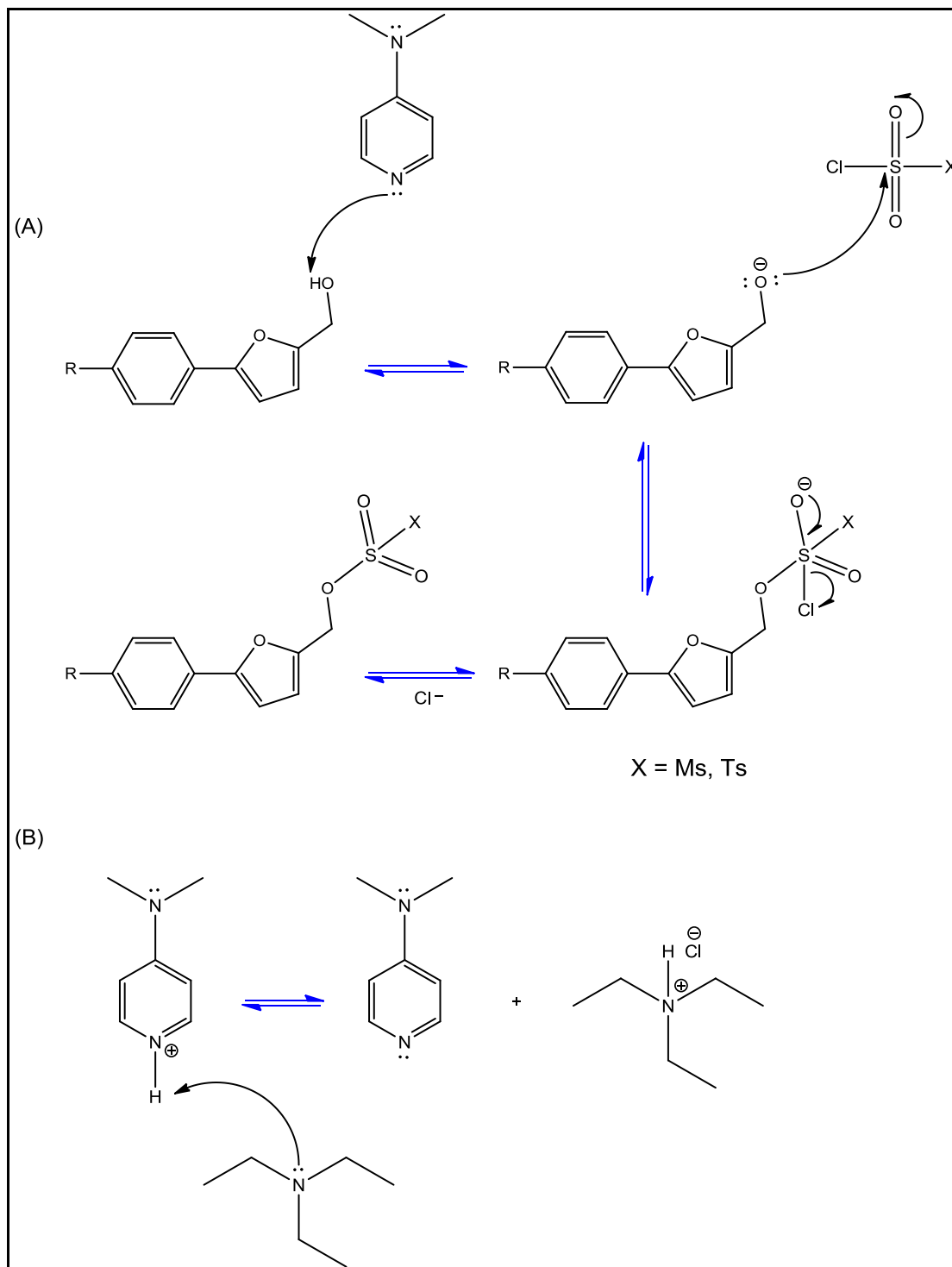


Figura 32. Mecanismo de esterificación (sulfonato) de alcoholes.
(A) Formación del sulfonato (B) Recuperación del catalizador [56].

La otra posibilidad es que el alcohol ataque directamente al cloruro de ácido sulfónico (Figura 33) y el catalizador se recupera de la misma forma que en la Figura 32B.

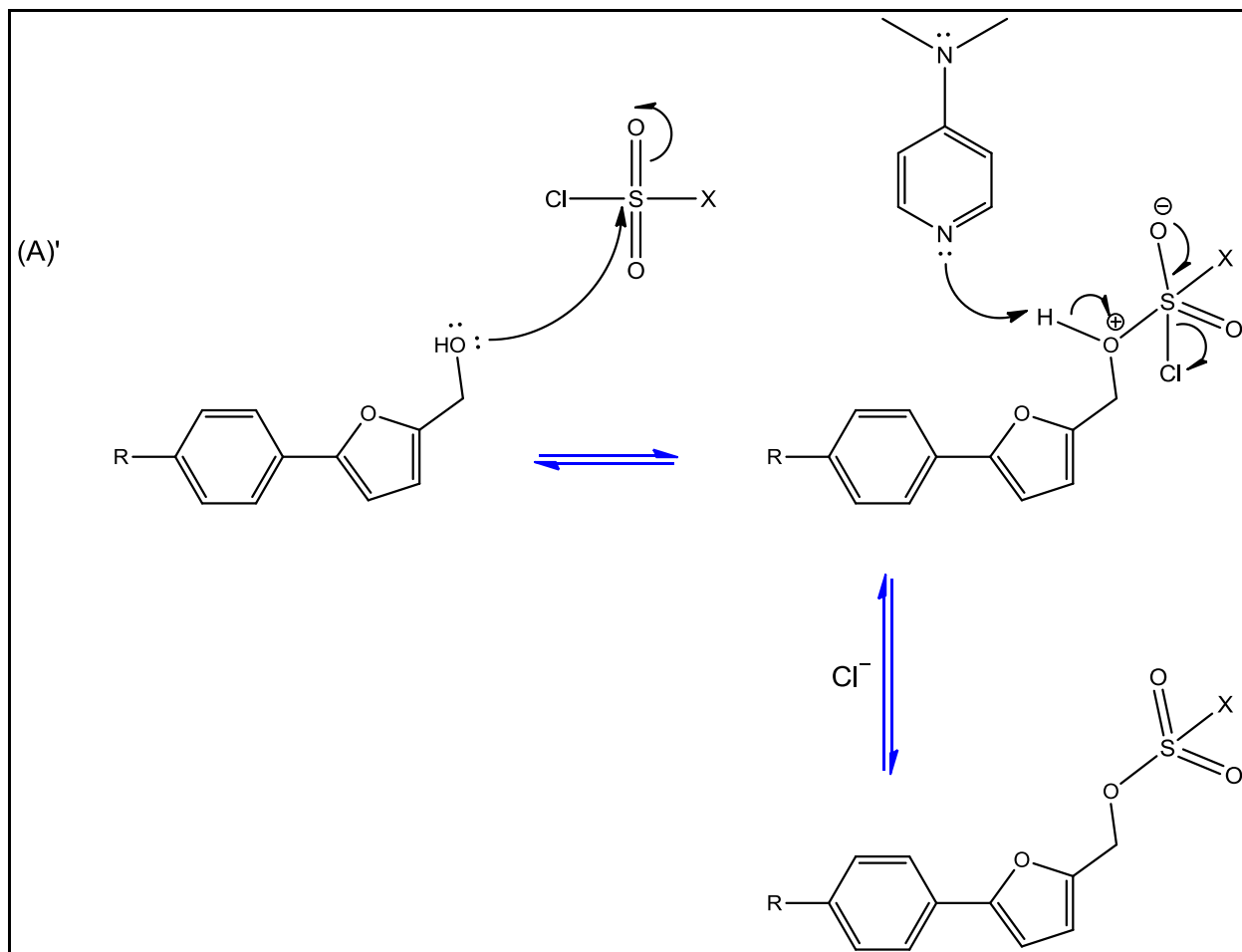


Figura 33. Mecanismo alternativo de esterificación (sulfonato) de alcoholes.
(A) Formación del sulfonato [56]

Se probó la reacción con el alcohol *p*-bromo-derivado (**2c**) en el cual se observó la formación de un producto, pero la cantidad obtenida resultó ser muy baja, así que se decidió probar con el alcohol *p*-nitro-derivado (**2f**) obteniendo mayor rendimiento y dando como resultado un producto que fue posible aislar por columna cromatográfica con gel de sílice flash. En espectro de ¹H-RMN del compuesto obtenido se observaron señales propias del sistema AB presentes en los alcoholes (protones entre ≈ 7,76 - 8,23 ppm), el sistema furánico (protones entre ≈ 6,34-6,84 ppm) y un singulete en 4,21 ppm que corresponde a un carbono metilénico y ausencia de las señales características para el tosilato [56], es decir, los protones del sistema AB desplazados un poco más a campo alto, dado por la presencia del grupo metilo en posición *para* con respecto a este anillo aromático, y la presencia del metilo característico de los tosilatos que aparece como un singulete en ≈ 2,34 ppm. Además, otro hecho que resultó ser bastante curioso, fue que el resultado de las integrales en las señales correspondientes al núcleo 5-fenilfurano se

duplicó, es decir que el sistema AB, en vez de estar integrando para 2 protones en cada señal, integraba para 4 protones y las señales de los protones furánicos integraron para 2 en vez de 1, pero la señal proveniente del carbono metilénico mantuvo la cantidad de protones de su integral, lo cual sugirió de manera preliminar que se había formado un dímero del núcleo 5-fenilfurano, situación que no está reportada en literatura científica con esta reacción.

Este interesante resultado condujo a seguir explorando el proceso de síntesis del resto de los derivados provenientes de la serie de alcoholes con el objetivo de confirmar la formación de estos productos en todos los alcoholes o contrastar si hay formación del sulfonato de los alcoholes. El rendimiento global de este proceso resultó ser muy bajo y menor al 1% para todos los productos sintetizados, exceptuando el dímero *p*-nitro-derivado obtenido con un \approx 12% de rendimiento, lo que permitió la caracterización completa de este producto.

Al no ser suficiente la información que respalde la formación y caracterización de los dímeros, se probó entonces realizar la misma reacción, pero esta vez empleando cloruro de metanosulfonilo [57, 58] como sustituyente con el objetivo de sintetizar el mesilato, como grupo saliente para el siguiente paso de síntesis hacia la fenilfuranoxibenzamida, debido a que la posible razón de que no haya funcionado la reacción con el cloruro de *p*-toluensulfonilo es el impedimento estérico tanto del alcohol como del cloruro de *p*-toluensulfonilo, según lo que ha reportado en literatura [57]. Al emplear el alcohol *p*-bromo-derivado (**2c**) se obtuvo un producto que se caracterizó por ¹H-RMN. Las señales mostraron un sistema de señales acoplado en su totalidad (A₂), dando origen a un multiplete a los \approx 7,50 ppm e integrando al doble de protones de lo que se esperaba; las integrales de las señales de los protones furánicos entre \approx 6,21-6,60 ppm también se duplicó. No se observó el singulete que debería aparecer a los \approx 3,1 ppm, característico del metilo del mesilato, lo cual sugirió nuevamente la formación de un dímero, esta vez con el alcohol *p*-bromo-derivado (**2c**). Se esperaba que por el hecho de haber cambiado el cloruro de *p*-toluensulfonilo por cloruro de metanosulfonilo se obtuviera el mesilato, sin embargo, se obtuvo el mismo producto dimérico para ambas variantes, lo cual tampoco está reportado en la literatura.

Los pocos antecedentes científicos reportados respecto a la síntesis de dímeros del núcleo 5-fenilfurano, sugieren que la formación de estos compuestos ocurre en medio ácido como se mencionó en un principio, pero las condiciones de trabajo de las reacciones realizadas en el laboratorio fueron en medio básico. Lo que podría estar sucediendo es que, al haber liberación de cloruro de hidrógeno en el medio de reacción, el protón originado por este proceso pueda estar reaccionando con el alcohol y formando un carbocatión tipo bencílico, muy estable que ataca rápidamente a otra molécula de alcohol derivando hacia la formación del dímero del mismo modo que se detalló en la Figura 8, encontrándose reportado por los autores Singh Aidhen y colaboradores [32]. Otra

posibilidad es que la formación del mismo carbocatión este dada porque el sulfonato del alcohol que se forma es muy inestable y se descompone rápidamente formando el carbocatión (Figura 34) tipo bencílico que reaccionaría de la misma forma.

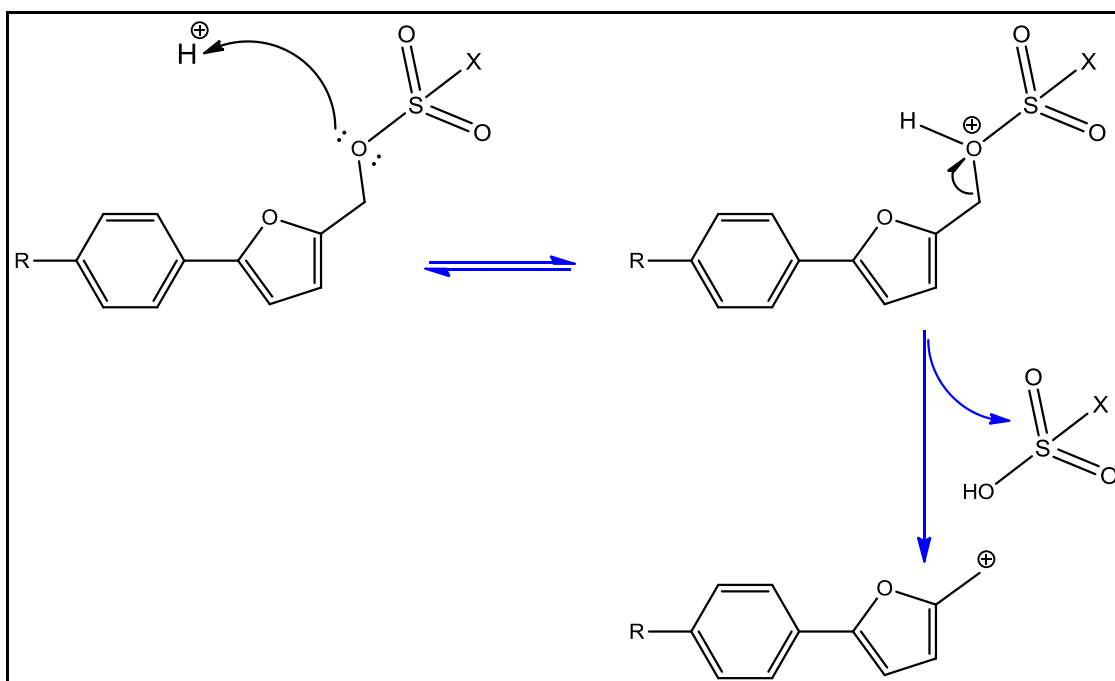


Figura 34. Formación del carbocatión estabilizado por resonancia.

Y como otra posibilidad, puede que el ataque del alcohol hacia el sulfonato que se formó sea concertado (Figura 35), sin la formación de un carbocatión y con la salida del anión sulfonato.

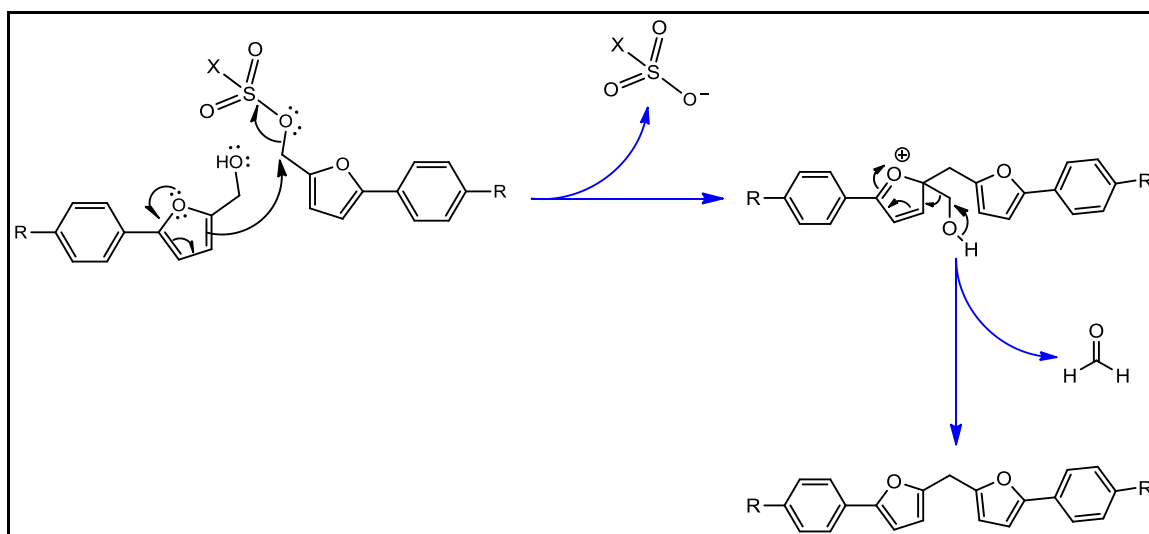


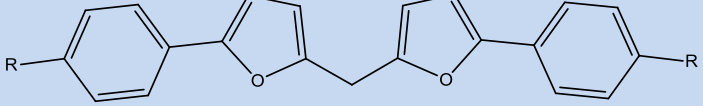
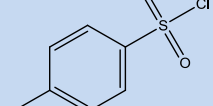
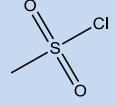
Figura 35. Mecanismo propuesto para la formación concertada de los dímeros del núcleo 5-fenilfurano.

El rendimiento del dímero Br sustituido, fue mayor con mesilato que con tosilato y permitió realizar la caracterización completa de este producto.

A la luz de los pocos antecedentes respecto de la síntesis de los dímeros del núcleo 5-fenilfurano se investigó también si este tipo de compuestos han sido utilizados en pruebas o ensayos biológicos [33] como potenciales agentes antimicrobianos, encontrando que el dímero *p*-cloro derivado ha sido utilizado en estudios contra cepas micobacterianas que producen la tuberculosis (H₃₇RV) y dando como resultado una potente actividad antituberculosa. La formación de estos productos resultó ser muy interesante y reorientó este estudio tomando como productos finales los que resultan de este último proceso de síntesis.

Se decidió desarrollar esta nueva serie de dímeros (serie 4) a partir del resto de los alcoholes con mesilato, para comparar los rendimientos obtenidos con tosilato. El método con mesilato permitió obtener con mayores rendimientos los dímeros *p*-fluoro (**4a**) y el *p*-cloro (**4b**), pero no así los compuestos *p*-yodo (**4d**), *p*-ciano (**4e**), *p*-nitro (**4f**) los cuales se obtuvieron con un rendimiento menor al 1%. La siguiente tabla resume los resultados obtenidos con ambas variantes:

Tabla 3. Rendimientos de reacción para el alcohol frente a cloruros de *p*-toluensulfonilo y metanosulfonilo respectivamente.

			
R		%Rendimiento	%Rendimiento
4a	-F	<1%	16%
4b	-Cl	<1%	12%
4c	-Br	<1%	29%
4d	-I	<1%	<1%
4e	-CN	<1%	<1%
4f	-NO ₂	11%	<1%

Análisis Espectroscópico.

En los espectros de ^1H -RMN de los dímeros obtenidos se observan las señales correspondientes a los protones de los anillos furánicos (protones entre 6,20-6,80 ppm) y los de los anillos bencénicos (protones entre 7,30-7,80 ppm), similar a lo observado en los aldehídos (**1a-f**) y los alcoholes (**2a-f**), con la correspondiente duplicación de la integral de sus señales como lo muestra la Figura 36 para el compuesto **4b**. Además, se observó la desaparición del protón del alcohol; se observa también el par de protones metilénicos entre los 4,13-4,20 ppm, de los cuales no se tiene muy claro si efectivamente están enlazados a oxígeno, debido a su desplazamiento a campo bajo, pero el empleo de espectros bidimensionales (^1H - ^1H -COSY, HSQC y HMBC) ayudó a dilucidar de manera certera la estructura de este tipo de compuestos como se verá a continuación.

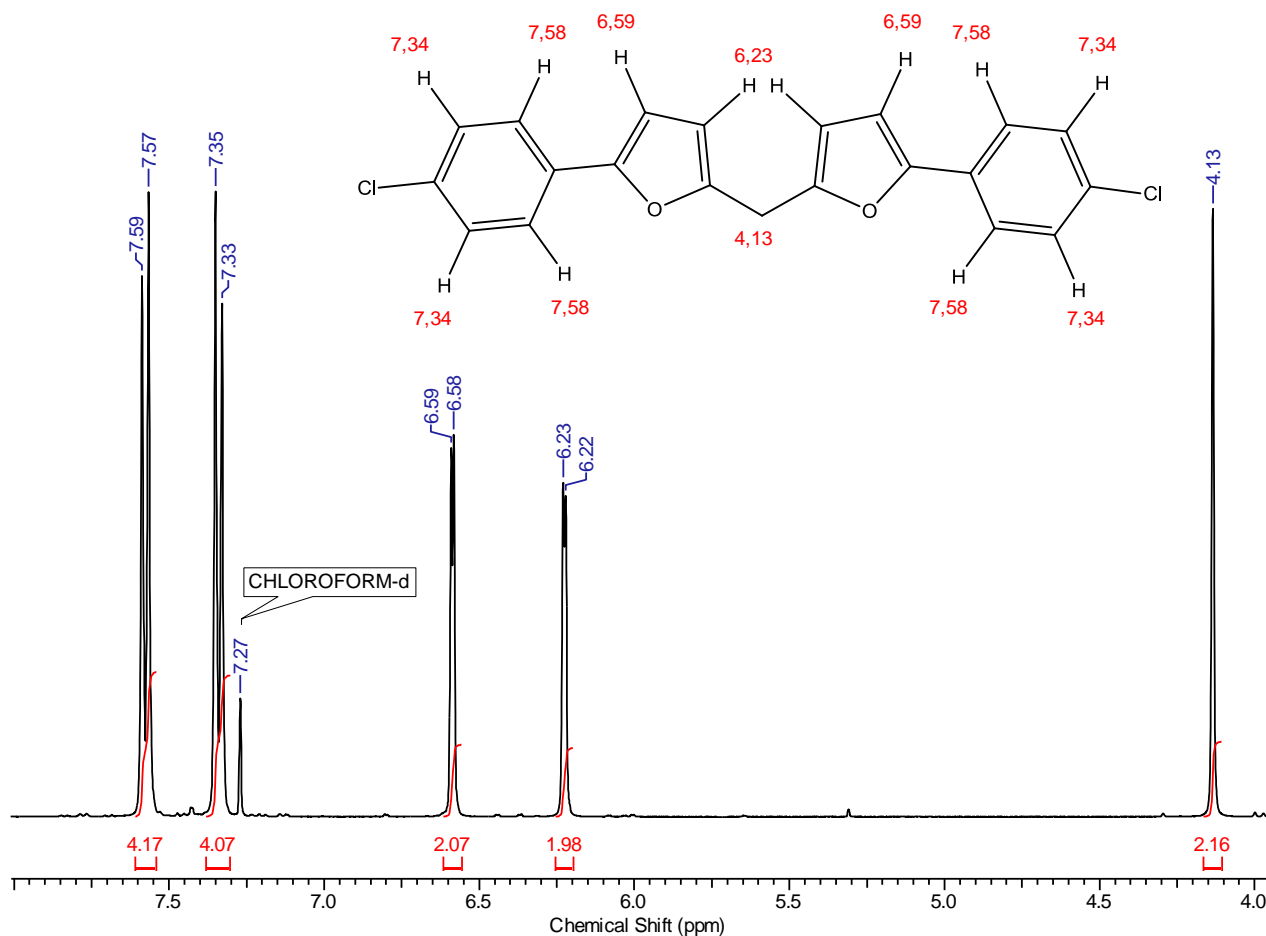


Figura 36. Espectro de ^1H -RMN para el compuesto **4b**.

En cuanto al espectro de ^{13}C -RMN (ver anexo) se observó el mismo patrón de señales presentes en los espectros de los alcoholes, con la única diferencia atribuida a la desaparición de la señal del carbono carbinólico que aparecía a los ≈ 57 ppm que

corresponde al carbono metilénico enlazado al grupo hidroxilo y además apareció una señal a campo alto a los ≈ 27 ppm de la cual no se tuvo mucha certeza a que podía corresponder, pero el análisis DEPT-135 [59] (Figura 37) mostró claramente la presencia de un grupo metileno (en antifase) enlazado a otros átomos de carbono y los carbonos correspondientes a los enlaces C-H aromáticos (en fase) del anillo furánico y el anillo bencénico.

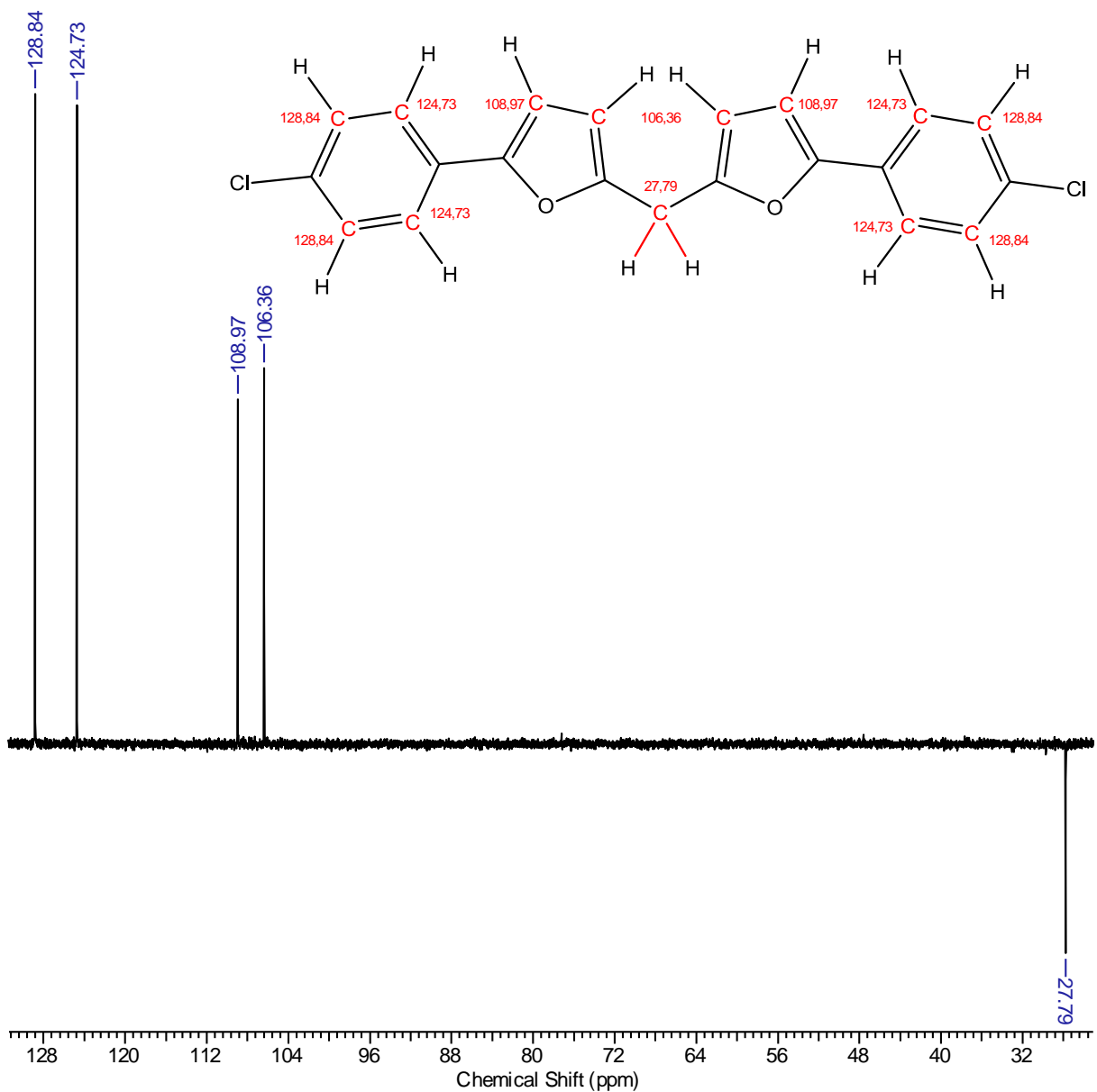


Figura 37. Espectro de DEPT-135 para el compuesto **4b**.

Análisis Bidimensional

Los dímeros de núcleo 5-fenilfurano también fueron analizados por medio de los experimentos espectroscópicos los cuales fueron descritos en la sección anterior, a continuación, se discutirá el detalle de los análisis de los espectros bidimensionales característico de los dímeros.

El espectro ^1H - ^1H -COSY del compuesto **4b** se analizó en una sección, la que incluye solo la parte aromática (Figura 38), ya que en la parte alifática solo hay un grupo $-\text{CH}_2$.

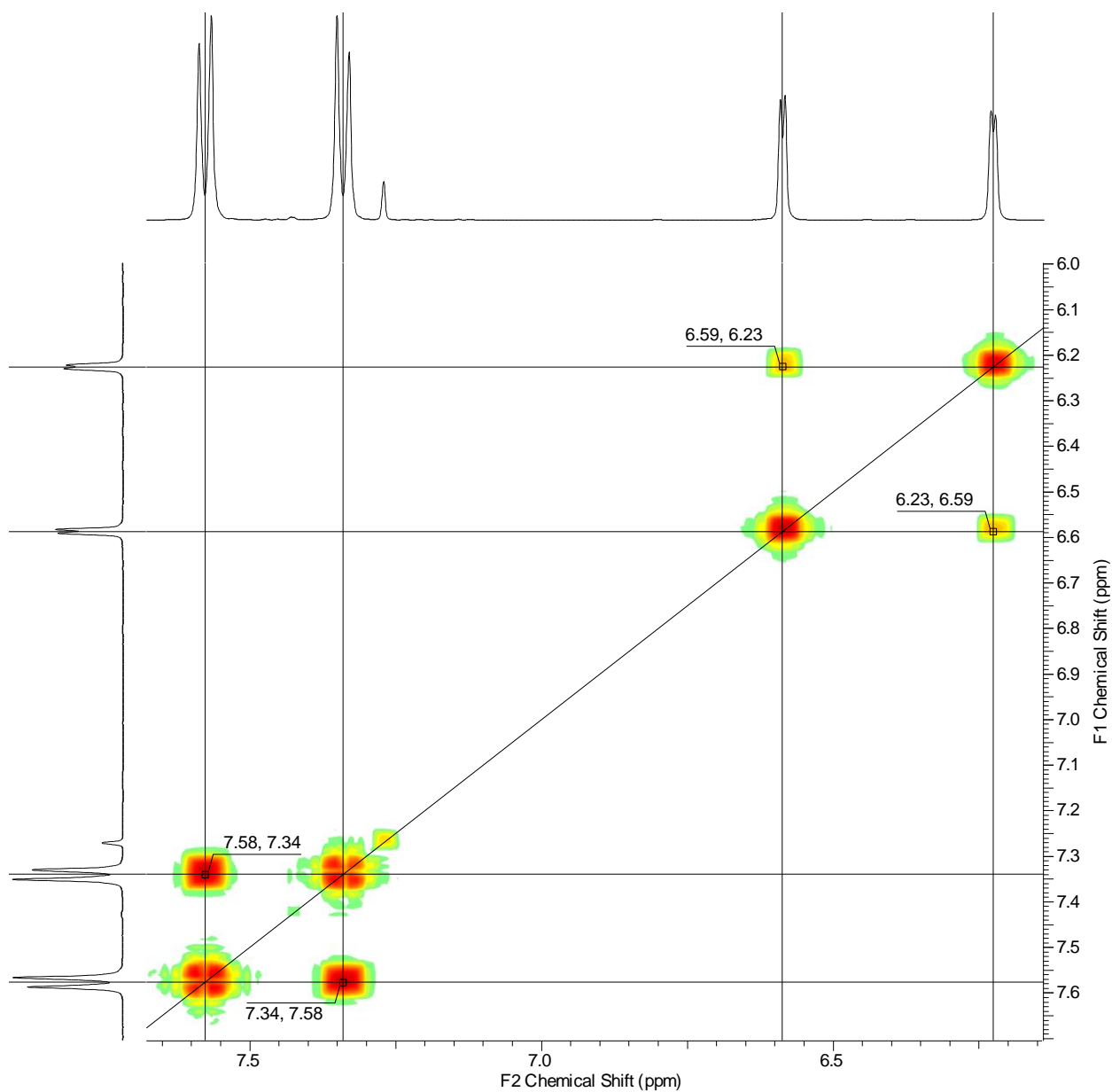


Figura 38. Espectro de ^1H - ^1H -COSY para el compuesto **4b**.

Como se puede apreciar en el espectro, se observan las señales correspondientes a los protones de la región aromática tanto para los anillos bencénicos como para los anillos furánicos. Las señales que aparecen a los 6,23 y 6,59 ppm corresponden a los protones 3 y 4 de los anillos furánicos los cuales están acoplado mutuamente y las señales que aparecen a los 7,34 y 7,58 ppm corresponden a los protones *orto* y *meta* de los anillos bencénicos enlazados en posición 1 a los anillos furánicos y que tienen un sustituyente atractor de electrones en posición *para*, similar a lo observado para el compuesto **3a**.

Se incluye también el análisis de los acoplamientos protón-carbono, realizados por experimentos HSQC [54] y HMBC (Figuras 39 y 41 respectivamente), para los dímeros de núcleo 5-fenilfurano. El análisis HSQC es muy similar al HMQC con la diferencia de que en el primero durante el tiempo de evolución ocurre solamente la evolución de la magnetización de los núcleos de ^{13}C , en cambio en HMQC ocurre la evolución de la magnetización tanto para ^1H y ^{13}C , lo que implica que HMQC es afectado por el acoplamiento homonuclear de protones, pero no así para el HSQC dando como resultado señales más anchas en HMQC.

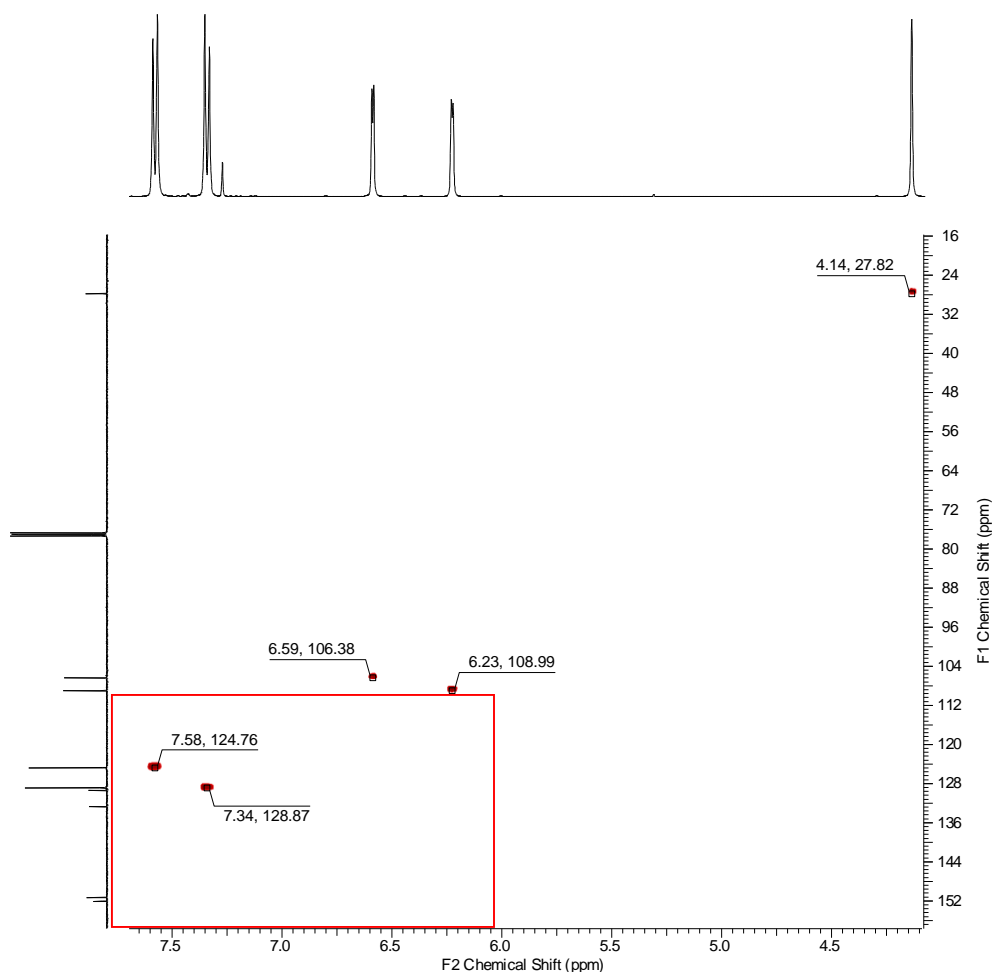


Figura 39. Espectro de HSQC del compuesto **4b**.

En el espectro se puede apreciar las correlaciones directas entre las señales del espectro de ^{13}C -RMN y ^1H -RMN los cuales están acoplados; la señal que aparece a los 4,14 ppm corresponde a los protones metilénicos del dímero que acoplan con el carbono correspondiente a la señal 27,71 ppm que es el carbono metilénico. Al existir mayor cantidad de correlaciones protón-carbono, el análisis de este espectro contempla una ampliación de la región aromática al igual que en el caso del compuesto **3a**:

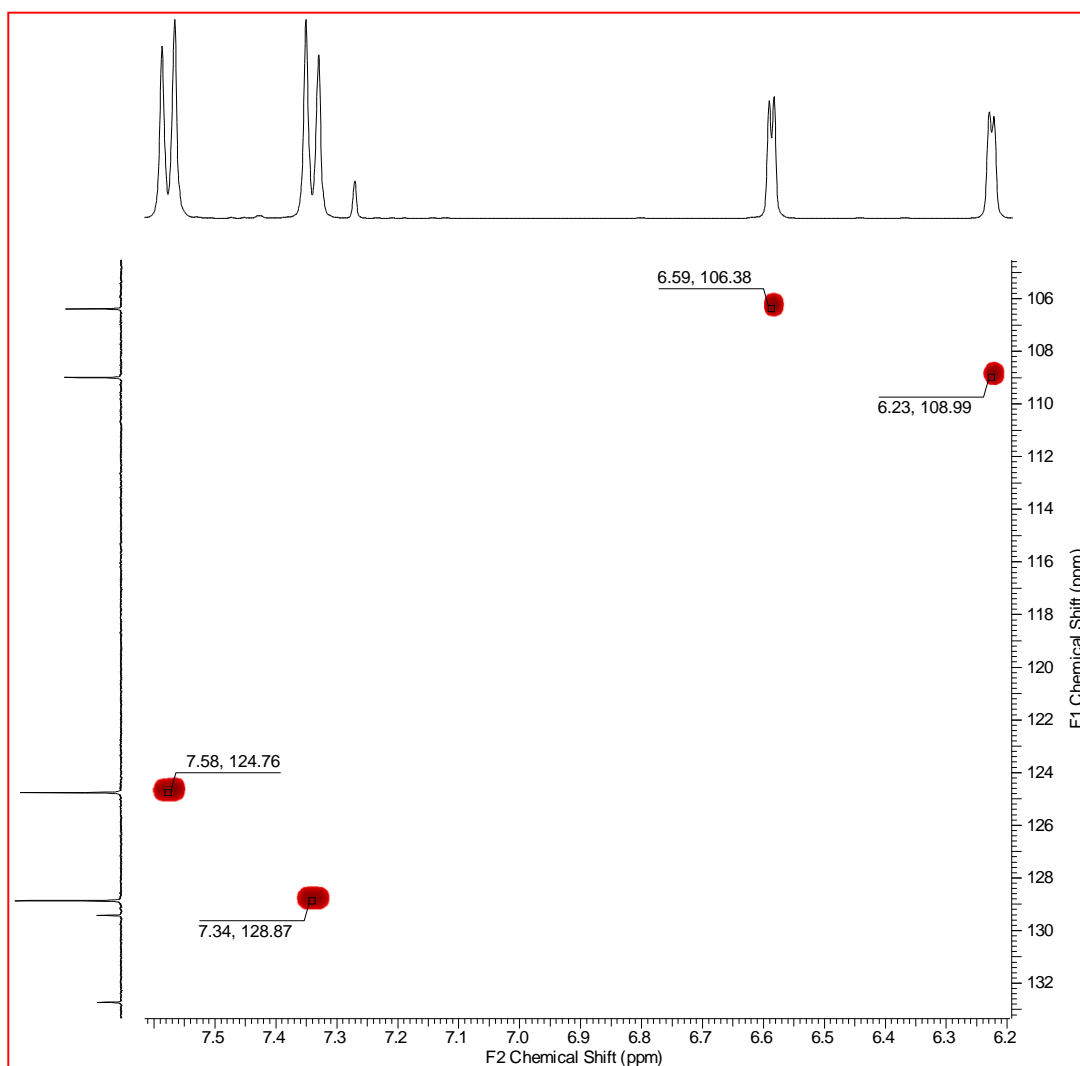


Figura 40. Espectro de HSQC del compuesto **4b**: Región Aromática.

A los 6,23 y 6,59 ppm que corresponden a los protones 3 y 4 de los anillos furánicos del dímero se ve el acoplamiento de dichos protones con los carbonos correspondientes a las señales 108,99 y 106,38 ppm respectivamente correspondiente a los carbonos de 3 y 4 de los anillos furánicos; y por último se observa el acoplamiento de los protones de las señales que aparecen a los 7,34 y 7,58 ppm con los carbonos de las señales que aparecen

en 128,87 y 124,76 ppm respectivamente que corresponden al acoplamiento de los protones *meta* y *orto* interactuando con sus respectivos carbonos.

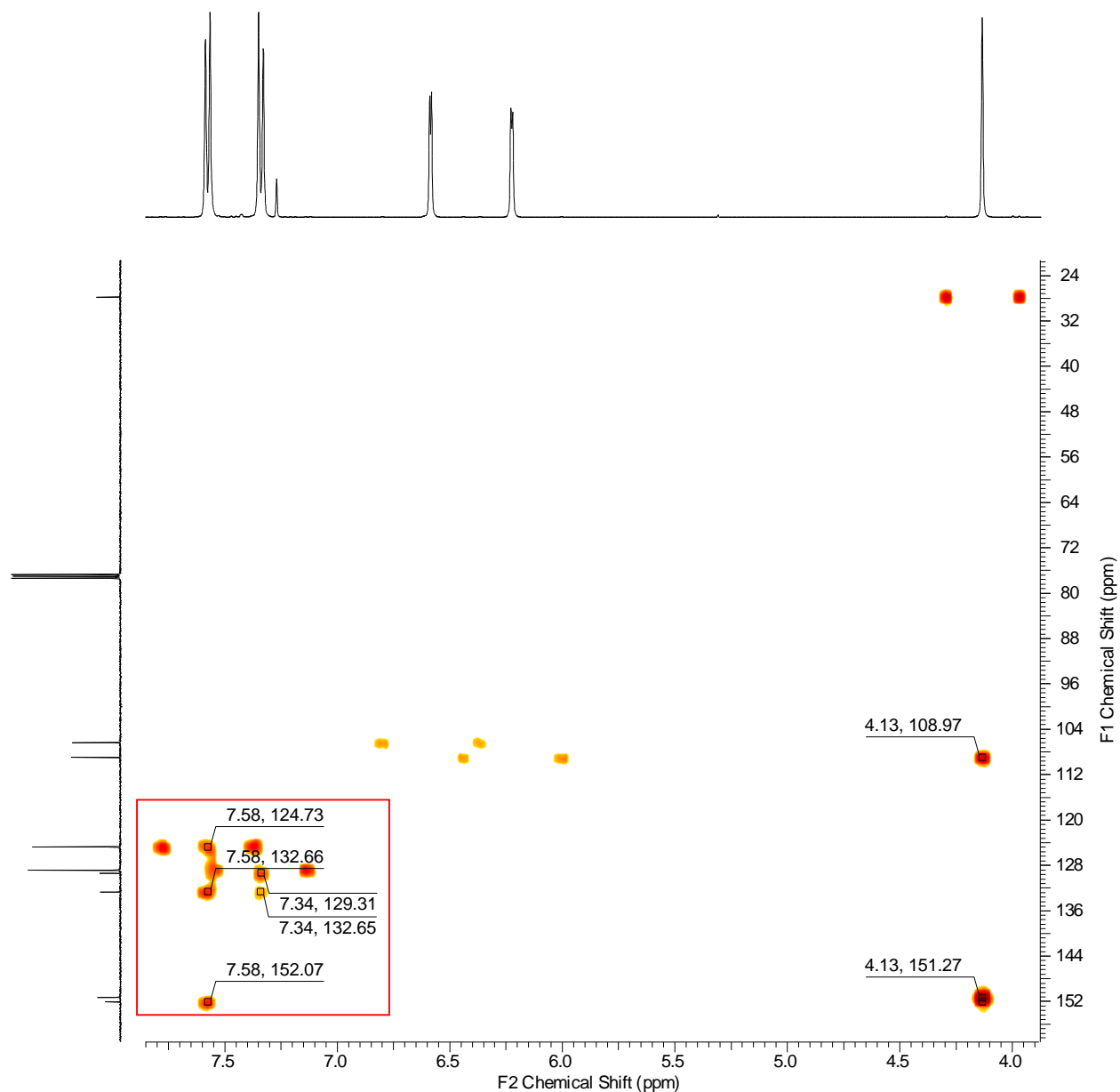


Figura 41. Espectro de HMBC del compuesto **4b**.

Para el caso del espectro de HMBC del dímero se observa una señal a los 4,13 ppm que corresponde a los protones metilénicos, los cuales están acoplado con los carbonos correspondientes a las señales 108,97 y 151,27 ppm, las que corresponden a los carbonos 2 y 3 de los anillos furánicos.

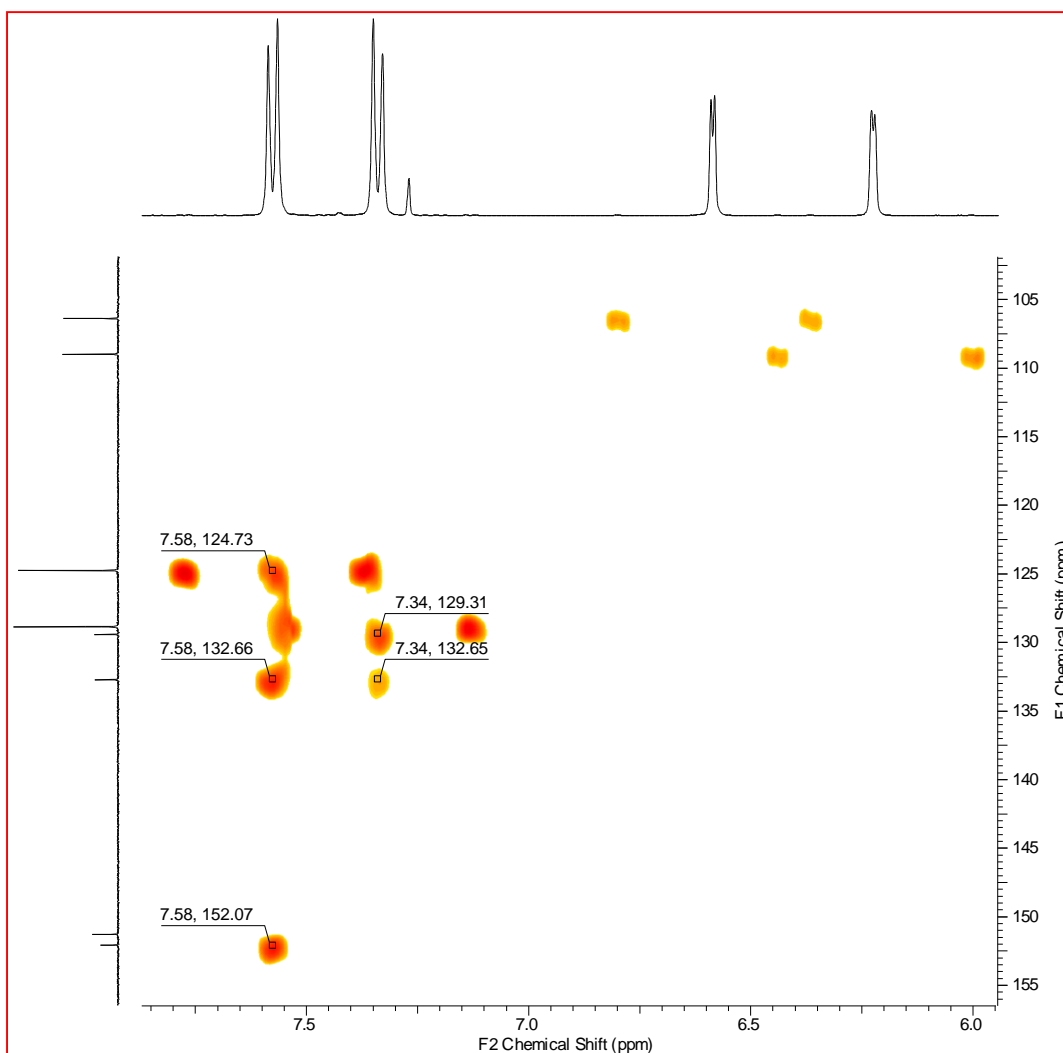


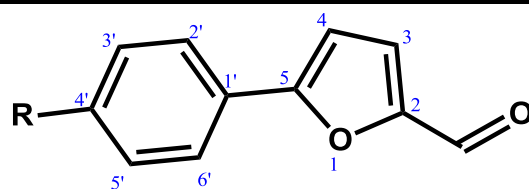
Figura 42. Espectro de HMBC del compuesto **4b**: Región Aromática.

A campo bajo, en la región aromática aparecen las señales de los protones aromáticos *meta* y *orto*. La señal que parece a los 7,34 ppm corresponde a los protones de la posición *meta* en los anillos aromáticos y estarían acoplado con los carbonos de las señales 129,31 y 132,65 ppm, que corresponden al carbono de la posición 1 de los anillos aromáticos y los carbonos que contienen al sustituyente atractor de electrones en la posición *para* con respecto a los anillos furánicos; A los 7,58 ppm aparece la señal de los protones de la posición *orto* en los anillos aromáticos y estaría acoplado con los carbonos de la posición 124,73, 132,66 y 152,07 ppm, que corresponden a los carbonos de la posición *meta* con respecto a los anillos furánicos, el carbono que contiene al sustituyente atractor de electrones en posición *para* con respecto al anillo furánico y el carbono de la posición 5 de los anillos furánicos. Se pueden amplificar los detalles de esta caracterización por medio de los espectros completos de ¹H-RMN y ¹³C-RMN de este y el resto de los compuestos de la serie **4**, los que se pueden consultar en la sección del anexo.

7.2. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA.

La evaluación de la actividad antibacteriana de las series **1**, **2** y **4**, además de los compuestos **3a** y **3b** fue llevada a cabo mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) usando la técnica de microdilución en caldo sobre las bacterias prototipo Gram-positivas *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM, ATCC 43300) y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina (EFSV, ATCC 29212). Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 3, 4, 5 y 6.

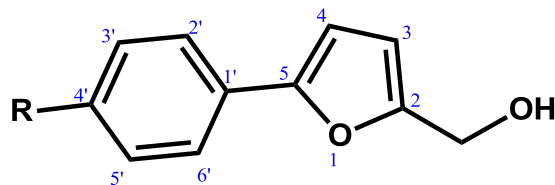
Tabla 4. Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los aril-furfurales, sobre las cepas *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina (EFSV). Se usó vancomicina como antibiótico control.



Serie 1a-f

Sigla	R	CIM (µg/mL)	
		SARM	EFSV
1a	F	128	>128
1b	Cl	>64	>64
1c	Br	>64	>64
1d	I	>32	>32
1e	CN	>128	>128
1f	NO ₂	>32	>32
Vancomicina	-	0,5	2

Tabla 5. Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los alcoholes, sobre las cepas *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina (EFSV). Se usó gentamicina (G) como antibiótico control.



Serie 2a-f

Sigla	R	CIM (µg/mL)	
		SARM	EFSV
2a	F	>128	>128
2b	Cl	>128	>128
2c	Br	>64	>64
2d	I	>64	>64

2e	CN	>128	>128
2f	NO ₂	>64	>64
Vancomicina	-	0,5	2

Tabla 6. Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los compuestos 3a y 3b, sobre las cepas *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina (EFSV). Se usó gentamicina (G) como antibiótico control.

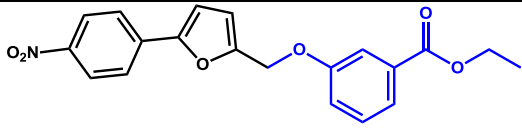
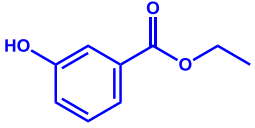
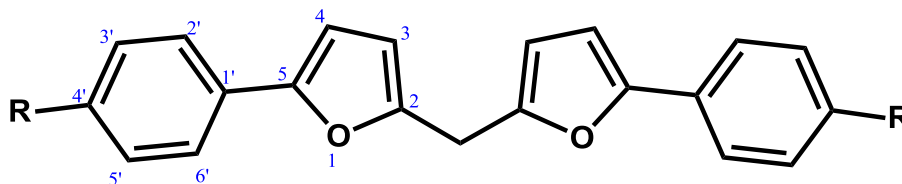
Compuestos 3a y 3b			
Sigla	Estructura	CIM (µg/mL)	
		SARM	EFSV
3f'		>128	128
3b		>128	>128
Vancomicina	-	0,5	2

Tabla 7. Concentración inhibitoria mínima (CIM) en µg/mL de los dímeros de núcleo 5-fenilfurano, sobre las cepas *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y *Enterococcus faecalis* sensible a vancomicina (EFSV). Se usó vancomicina como antibiótico control. * El compuesto no se logró obtener.

Serie 4a-f			
Sigla	R	CIM (µg/mL)	
		SARM	EFSV
4a	F	>128	128
4b	Cl	>128	>128
4c	Br	>128	128
4d	I	*	*
4e	CN	*	*
4f	NO ₂	>128	128
Vancomicina	-	0,5	2



Para la Serie 1 se observa que solo el compuesto **1a** presenta actividad a 128 $\mu\text{g/mL}$ en SARM, en cambio todos los demás compuestos no presentan actividad en las dos cepas estudiadas. Estos compuestos presentan una marcada diferencia en los tamaños de los sustituyentes R, donde el compuesto activo es el de menor tamaño. Por otro lado, todos presentan un grupo aldehído. Lo que sugiere que la actividad reside principalmente en la sección sustituida por el benceno. Los grupos aldehídos por su alta reactividad no son habitualmente utilizados en fármacos, debido a que pueden ser fácilmente atacados por nucleófilos de los medios biológicos como aminoácidos, proteínas, nucleótidos, neutralizando su actividad.

Para la serie 2 no se presentó actividad sobre las bacterias estudiadas. Es interesante notar que la transformación del grupo aldehído a alcohol, no conlleva mejoras en la actividad, pero si se observa un aumento en la solubilidad de los compuestos. Particularmente la reducción del compuesto **1a** para obtener el **2a**, genera una pérdida de actividad. Este cambio químico generó un aumento en la solubilidad de los compuestos de la serie 2 respecto a los de la serie 1, propiedad que afecta la concentración de compuesto disponible para ejercer la acción. En las bacterias Gram positivas el proceso de difusión pasiva en la membrana es relevante al momento de incorporar nutrientes del medio dependiendo tanto de la concentración como de la lipofilia de los compuestos. En ensayos *in vitro*, como los aquí realizados, el aumento de actividad se correlaciona con un incremento de la lipofilia, sin embargo, los resultados sugieren que no es posible realizar ese análisis con los compuestos desarrollados, lo que apunta a que la actividad dependería preferentemente de la unión a algún sitio particular en la bacteria.

De los compuestos **3a** y **3b**, sólo el primero posee actividad a 128 $\mu\text{g/mL}$, en la cepa EFSV. Es interesante notar que los precursores, compuestos **2f** y **3b** no poseen actividad *per se*, sin embargo, su unión genera una molécula activa. Estudios previos de modelación molecular indicaron que la estructura **3a** tendría afinidad por el sitio activo de FtsZ debido a su semejanza estructural con el compuesto PC190723. Lo sugiere que el compuesto podría estar actuando en el sitio activo de FtsZ.

De los dímeros sintetizados, los compuestos **4a**, **4c** y **4f** presentaron actividad antibacteriana a 128 $\mu\text{g/mL}$ en la cepa EFSV y a diferencia del compuesto **1a**, todos los demás compuestos presentaron actividad frente a EFSV, lo que sugiere una selectividad en la cepa blanco, donde las especies diméricas tienen preferencia por EFSV. Los resultados obtenidos se pueden explicar por las diferentes características estructurales de la pared celular de las bacterias estudiadas. En el caso de *Staphylococcus aureus* la pared celular se encuentra recubierta por una capa de polisacáridos externos, la cual recibe el nombre de slime o cápsula mucoide, que incrementa su capacidad de adherencia, evita que sea reconocido y refuerza el efecto antifagocítico. Además, posee peptidoglicano que forma aproximadamente el 50% del peso de la pared celular en seco. El peptidoglicano

funciona como estabilizador osmótico y evita la lisis de la bacteria por las diferencias en la concentración de sal [60]. En cambio, para *Enterococcus faecalis* posee una pared celular con antígenos del grupo D, el cual es un ácido lipoteicoico que se encuentra asociado con la membrana citoplasmática de la bacteria y que contiene residuos de glicerol [61]. La resistencia a vancomicina para *Enterococcus Faecalis* proviene generalmente por modificación bioisostérica de un átomo en el sitio activo y por un engrosamiento de la pared celular. Estas características están ausentes en la cepa de EFSV estudiada ya que es sensible a vancomicina, lo que involucra la presencia de una membrana más sensible a agentes que actúen en la membrana. Estas diferencias podrían explicar la selectividad observada por los dímeros frente a EFSV.

Un análisis comparativo entre las estructuras **3a** y **4f**, muestra que el sustituyente 3-etoxicarbonil-fenolato tiene similar actividad que el dímero, sin embargo, esta información es insuficiente para indicar que ambos compuestos estarían actuando en el mismo sitio de acción.

Muchos de los compuestos antibacterianos de estructuras con amplios segmentos apolares pueden unirse a la membrana bacteriana, provocando alteraciones que se reflejan en la pérdida de permeabilidad, con salida de metabolitos desde el citosol, como por ejemplo los detergentes no iónicos como polisorbato, éteres de sorbitano y nonoxinoles [62]. Debido a la similitud estructural entre los dímeros y los detergentes no iónicos y la alta concentración requerida para que actúen. Es probable que los dímeros obtenidos puedan actuar a nivel de la membrana bacteriana.

8. CONCLUSIONES

- La reacción de arilación de Meerwein permitió sintetizar la serie 1 que corresponde a los 5-(4-R-fenil)-furfurales, donde R es igual a F, Cl, Br, I, CN y NO₂ con un rendimiento de 40-90%.
- La reacción reducción de aldehídos con NaBH₄ permitió sintetizar la serie 2 que corresponde a los [5-(4-R-fenil-2-furil)]metanol, donde R es igual a F, Cl, Br, I, CN y NO₂ con un rendimiento de 37-86%.
- La reacción de Mitsunobu permite obtener el compuesto [3-[5-(4-nitrofenil)-2-furil]metoxi]benzoato de etilo (**3a**) con un rendimiento de 10%.
- Mediante la reacción de Mitsunobu no se logró obtener la serie de compuestos fenilfuranoxibenzamidas.
- A través de la reacción de esterificación de alcoholes por los cloruros de sulfonilo se consiguió obtener los compuestos **4a**, **4b**, **4c** y **4f** con rendimientos de 15, 12, 29 y 11% respectivamente.
- El compuesto **1a** presentó una CIM de 128 µg/mL en la SARM.
- Los compuestos 3a, 4a, 4c y 4f presentaron una CIM de 128 µg/mL en la EFSV.

9. PROYECCIONES

- El estudio de fenilfuranoxibenzamidas, permitió la obtención inesperada de compuestos diméricos a través de condiciones no descritas en literatura, lo que abre la posibilidad de estudiar este tipo de reacciones para la dilucidación de su mecanismo de reacción y para la obtención de nuevos dímeros que permitan profundizar el estudio de su relación estructura-actividad como potenciales agentes antibacterianos.
- Los compuestos diméricos presentaron actividad frente a la cepa *Enterococcus Faecalis* sensible a vancomicina, lo cual genera un auspicioso resultado que abre la posibilidad de realizar estudios del mecanismo de acción antibacteriana que permitiría orientar la síntesis de compuestos a través pequeñas modificaciones estructurales, como usar sustituyentes dadores de electrones u otros patrones de sustitución en los anillos aromáticos con el objeto de obtener compuestos más activos.

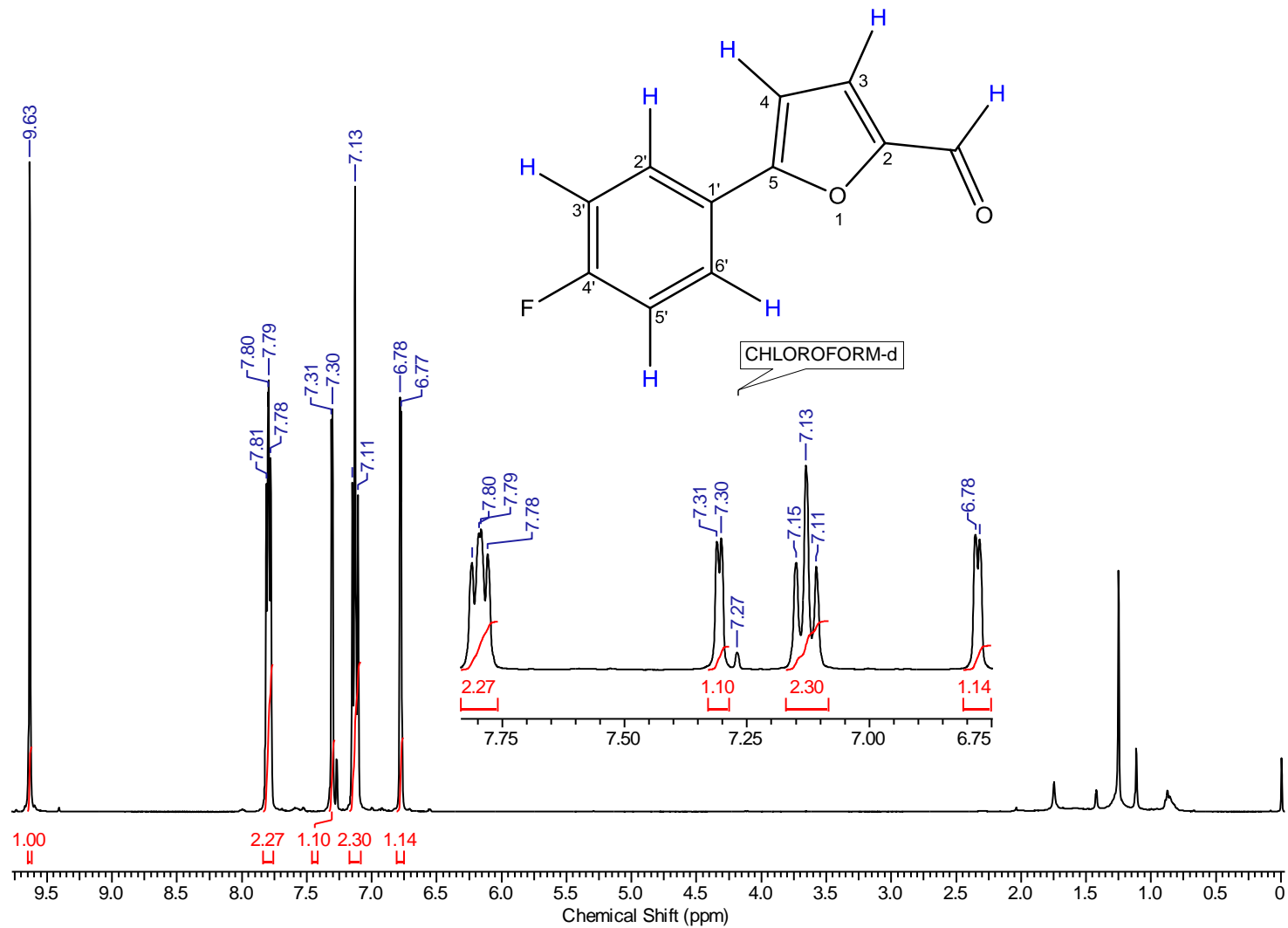
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CARS O., HEDIN A., HEDDINI A. The global need for effective antibiotics—Moving towards concerted action. *Drug Resistance Updates* 14(2): 68-69, abr. 2011.
2. ANDERSSON D., HUGHES D. Evolution of antibiotic resistance at non-lethal drug concentrations. *Drug Resistance Updates*, 15(3): 162–172, jun. 2012.
3. ALVAN G., EDLUND C., HEDDINI A. The global need for effective antibiotics—A summary of plenary presentations. *Drug Resistance Updates*, 14(2): 70–76, abr. 2011.
4. ECDC/EMEA. ECDC/EMEA Joint Technical Report: The bacterial challenge: time to react. Stockholm, 2009.
5. World Health Organization (WHO). *World Health Report 2004: Changing History*. [en línea] Geneva, Suiza, 2004. <<http://www.who.int/whr/2004/en/>> [Consulta: 15 Julio 2016].
6. BLOMBERG B., MANJI K.P., URASSA W.K., TAMIM B.S., MWAKAGILE D.S., JUREEN R., MSANGI V., TELLEVIK M.G., HOLBERG-PETERSEN M., HARTHUG S., MASELLE S.Y. LANGELAND N. Antimicrobial resistance predicts death in Tanzanian children with bloodstream infections: a prospective cohort study. *BMC Infectious Diseases*, 7(43), may. 2007.
7. WENNER M.M. SCIENTIFIC AMERICAN. Dangerous New Antibiotic-Resistant Bacteria Reach U.S. [en línea] Estados Unidos, 2016. <<https://www.scientificamerican.com/article/dangerous-new-antibiotic-resistant-bacteria-reach-u-s/>> [Consulta: 17 Julio 2016].
8. AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY (ASM). *Escherichia coli* Harboring mcr-1 and bla_{CTX-M} on a novel IncF. Plasmid: First Report of mcr-1 in USA. [en línea] Maryland, Estados Unidos, 2016. <<http://aac.asm.org/content/early/2016/05/25/AAC.01103-16.full.pdf+html>> [Consulta: 17 Julio 2016].
9. NORDBERG P., MONNET D., CARS O. Antibacterial drug resistance [Background document for the WHO project: Priority Medicines for Europe and the World. ‘A Public Health Approach to Innovation’]. 2004.
10. SPELLBERG B., POWERS J., BRASS E., MILLER L., EDWARDS J. Trends in Antimicrobial Drug Development: Implications for the Future. *Clinical Infectious Diseases*, 38: 1279–1286, mar. 2004.
11. DIMASSA J., HANSEN R., GRABOWSKI H. The price of innovation: new estimates of drug development costs. *Journal of Health Economics*, 22(5): 151–185, sep. 2003.
12. PROJAN S. Why is Big Pharma getting out of antibacterial drug discovery?. *Current Opinion in Microbiology*, 6(5): 427–430, oct. 2003.
13. GAMBA P., VEENING J., SAUNDERS N., HAMOEN L., DANIEL R. Two-step assembly dynamics of the *Bacillus subtilis* divisome. *Journal of Bacteriology*, 191(13): 4186-4194, may. 2009.

14. HARRY E., MONAHAN L., THOMPSON L. Bacterial Cell Division: The Mechanism and Its Precision. *International Review of Cytology*, 253: 27– 94, nov. 2006.
15. BI E., LUTKENHAUS. FtsZ ring structure associated with division in *Escherichia coli*. *Nature*, 354(6349): 161 –164, nov. 1991.
16. ADAMS D., ERRINGTON J. Bacterial cell division: assembly, maintenance and disassembly of the Z ring. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9): 642-653, sep. 2009.
17. NOGALES E., DOWNING K., AMOS L., LOWE J. Tubulin and FtsZ form a distinct family of GTPases. *Nature Structural Biology*, 5(6): 451– 458, jun. 1998.
18. LOWE J., AMOS L. Tubulin-like protofilaments in Ca²⁺-induced FtsZ sheets. *The European Molecular Biology Organization Journal*, 18(9): 2364-2371, may. 1999.
19. SCHEFFERS D., DRIESSEN A. The polymerization mechanism of the bacterial cell division protein FtsZ. *FEBS Letters*, 506(1): 6-10, sep. 2001.
20. SUN Q., MARGOLIN W. FtsZ dynamics during the division cycle of live *Escherichia coli* cells. *Journal of Bacteriology*, 180(8): 2050–2056, feb. 1998.
21. STRICKER J., MADDUX P., SALMON E., ERICKSON H. Rapid assembly dynamics of the *Escherichia coli* FtsZ-ring demonstrated by fluorescence recovery after photobleaching. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(5): 3171–3175, mar. 2002.
22. YAN K., PEARCE K., PAYNE D. A conserved residue at the extreme C-terminus of FtsZ is critical for the FtsA-FtsZ interaction in *Staphylococcus aureus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 270(2): 387–392, abr. 2000.
23. ERRINGTON J., DANIEL R., SCHEFFERS D. Cytokinesis in Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(1): 52-65, mar. 2003.
24. LI Z., TRIMBLE M., BRUN Y., JENSEN G. The structure of FtsZ filaments *in vivo* suggests a force-generating role in cell division. *The European Molecular Biology Organization Journal*, 26(22): 4694-4708, oct. 2007.
25. MA S., MA S. The development of FtsZ inhibitors as potential antibacterial agents. *ChemMedChem*, 7(7): 1161-1172, jul. 2012.
26. SCHAFFNER C., MARTÍN M., CHACÓN P., ANDREU J. Targeting the Assembly of Bacterial Cell Division Protein FtsZ with Small Molecules. *ACS Chemical Biology*, 7(2): 269-277, nov. 2011.
27. KITCHEN D., DECORNEZ H., FURR J., BAJORATH J. *Docking* and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11): 935-949, nov. 2004.
28. OHASHI Y., CHIJIWA Y., SUZUKI K., TAKAHASHI K., NANAMIYA H., SATO T., HOSOYA Y., OCHI K., KAWAMURA F. The Lethal Effect of a Benzamide Derivative, 3-Methoxybenzamide, Can Be Suppressed by Mutations within a Cell Division Gene, FtsZ, in *Bacillus subtilis*. *Journal of Bacteriology*, 181(4): 1348-1351, feb. 1999.
29. CHE J., ZHENG C., SONG M., BI Y., LIU Y., LI Y., WU Y., SUN L., PIAO H. Synthesis and antibacterial evaluation of furan derivatives bearing a rhodanine moiety. *Medicinal Chemistry Research*, 23(1): 426-435, ene. 2014.

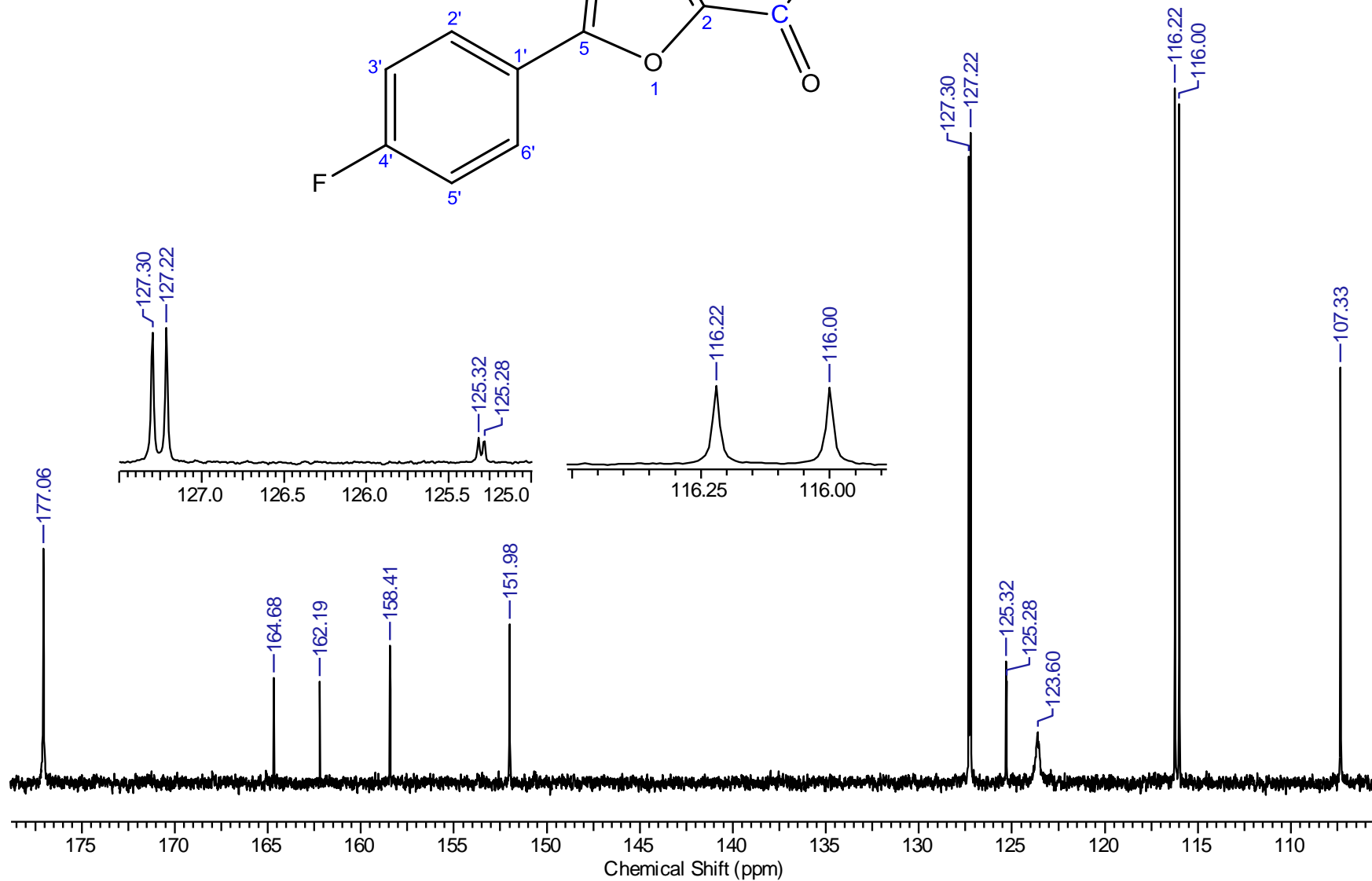
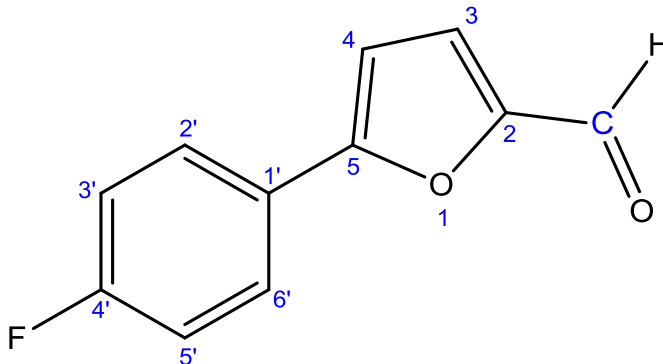
30. LU S., ZHUANG Y., WU N., FENG Y., CHENG J., LI Z., CHEN J., YUAN J., XU X. Synthesis and Biological Evaluation of Nitromethylene Neonicotinoids Based on the Enhanced Conjugation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46): 10858-10863, nov. 2013.
31. DE OLIVEIRA R., ZANI C., FERREIRA R., LEITE R., ALVES T., DA SILVA T., ROMANHA A. Síntese, avaliação biológica e modelagem molecular de arilfuranos como inibidores da enzima tripanotona redutase. *Química Nova*, 31(2): 261-267, 2008.
32. TIWARI P.K., MUKHOPADHYAY T., AIDHEN I.S. A Defunctionalization Concept for the Convenient Synthesis of Bis(5-arylfuran-2-yl)methane Scaffolds. *European Journal of Organic Chemistry*, nov 2013, 8083-8086
33. OLEINIK. A.F., DOZOROVA. E.N., SOLOV'EVA N.P., POLUKHINA. L.P., FILITIS. L.N., POLYAKOVA O.N., PERSHIN G.N. Synthesis and Tuberculostatic Activity of 3- and 5-Substituted 2-arylfurans. S. Ordzhonikidze All-Union Scientific-Research Institute of Pharmaceutical Chemistry, Moscow. Translated from *Khimiko-farmatsevticheskii Zhurnal*, Vol. 17, No. 8, pp. 928-931, August, 1983.
34. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically, approved Standard, 2009.
35. OBUSHAK N., LESYUK A., GORAK Y., MATIICHUK V. Mechanism of Meerwein Arylation of Furan Derivatives. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 45(9): 1375-1381, sep. 2009.
36. CAREY, Francis A. *Química Orgánica*. 6ª ed. México, McGraw-Hill, 2006. 1245p.
37. Michael E. Jung, Jin-Mo Ku, Liutao Du, Hailiang Hu, Richard A. Gatti. Synthesis and evaluation of compounds that induce readthrough of premature termination codons. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 21 (2011) 5842–5848.
38. Csaba Paizs, Monica Ioana Toşa, László Csaba Bencze, Jürgen Brem, Florin Dan Irimie. and János Rétey. 2-Amino-3-(5-phenylfuran-2-yl)propionic acids and 5-phenylfuran-2-ylacrylic acids are novel substrates of phenylalanine ammonia-lyase. *HETEROCYCLES*, Vol. 82, No. 1, 2011, pp. 1217 - 1228.
39. Stephane Jeanmart, John B. Taylor, Robert W. Parsons, Christopher J. Mathews, Stephen C. Smith. Synthesis of novel heterocyclic acetyl coenzyme-A carboxylase inhibitors . via a Claisen rearrangement. *Tetrahedron Letters* 54 (2013) 3378–3383.
40. CAREY, Francis A., SUNDBERG, Richard J. *Advanced Organic Chemistry Part A: Structure and Mechanisms*. 5th Edition, Springer, US, 2007. 359p.
41. Mitsunobu, O. and Yamada, Y. *Bull. Chem. Soc. Japan* 1967, 40, 2380-2382.
42. Mitsunobu, O. *The use of Azodicarboxylate and Triphenylphosphine in Synthesis and Transformation of Natural Products*. Georg Thieme Verlag, NY, US, 1981, 1-28.
43. Kurosawa, W., Kan, T., Fukuyama, T. *Organic Syntheses*, Coll. Vol. 10, p.482 (2004); Vol. 79, p.186 (2002).
44. Humphries, Paul S., T,D, Quyen-Quyen., Wilhite, D, M. ADDP and PS-PPh3: an efficient Mitsunobu protocol for the preparation of pyridine ether PPAR agonists. *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 2006, 2, No. 21.

45. R. Sankara Subramanian & K. K. Balasubramanian (1989): A Facile Synthesis of Aryl Ethers of Ethynyl-Carbinols Using the Mitsunobu Reaction, *Synthetic Communications*, 19:7-8, 1255-1259
46. Zhang Y., Hubbard J.W., Akhmedow N.G., Petersen J.L., Söderberg B.C.G. Total Synthesis of the Tetracyclic Indole Alkaloid Ht-13-B. *J. Org. Chem.* 2015, 80, 4783–4790.
47. Williams, D.B.G and Lawton, M. Drying of Organic Solvents: Quantitative Evaluation of the Efficiency of Several Dessicants. *J. Org. Chem.* 2010, 75, 8351–8354.
48. Volante, R, P. A New, Highly efficient method for the conversion of alcohols to thiolesters and thiols. *Tetrahedron Letters*, Vo1.22, No.33, pp 3119 - 3122, 1981.
49. Lepore, S, D. and He, Y. Use of Sonication for the Coupling of Sterically Hindered Substrates in the Phenolic Mitsunobu Reaction. *J. Org. Chem.* 2003, 68, 8261-8263 8261
50. Aue, W. P., Bartholdi, E., and Ernst, R. R. (1976) "Two-dimensional spectroscopy. Application to nuclear magnetic resonance," *Journal of Chemical Physics*, 64 : 2229-2246.
51. Martin, G. E; Zekter, A. S. (1988). *Two-Dimensional NMR Methods for Establishing Molecular Connectivity*. New York: VCH Publishers, Inc. p. 59.
52. Akitt, J. W.; Mann, B. E. (2000). *NMR and Chemistry*. Cheltenham, UK: Stanley Thornes. p. 273.
53. Keeler, James (2010). *Understanding NMR Spectroscopy* (2nd ed.). Wiley. pp. 190-191.
54. Keeler, James (2010). *Understanding NMR Spectroscopy* (2nd ed.). Wiley. pp. 209-215.
55. Keeler, James (2010). *Understanding NMR Spectroscopy* (2nd ed.). Wiley. pp. 215-219.
56. Banerjee, T,S., Paul, S., t Sinha, S., Das S. Synthesis of iboga-like isoquinuclidines: Dual opioid receptors agonists having antinociceptive properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 22 (2014) 6062–6070.
57. Gordon I, M and Maskill, H. Sulphonyl Transfer Reactions. *Chem. SOC. Rev.*, 1989, 18,123-151.
58. Wan, W., Chen,W., Liu, L,X., Li Y., Yang L,J., Deng X,Y., Zhang, H,.B. Yang, X, D, Synthesis and cytotoxic activity of novel hybrid compounds between 2-alkylbenzofuran and imidazole. *Med Chem Res* (2014) 23:1599–1611.
59. Doddrell, D.M.; Pegg, D.T.; Bendall, M.R. (1982). "Distortionless enhancement of NMR signals by polarization transfer". *J. Magn. Reson.* 48: 323–327.
60. Murray, Patrick R.; Rosenthal, Ken S.; Pfaller, Michael A. (Abril de 2009). «Capítulo 21:Staphylococcus y cocos grampositivos relacionados». En Patrick R. Murray. *Microbiología Médica* 6 Ed (6a edición). España: Elsevier-Mosby. pp. 209-224.
61. PORTENIER I, WALTIMO T, HAAPASALO M. Enterococcus faecalis:-the root canal survivor and "star" in post treatment disease. *Endod Tropics* 2003; 6: 135-59.
62. Moore, S., L. (1997). *The Mechanisms of Antibacterial Action of Some Nonionic Surfactants* (Tesis Doctoral). Universidad de Brighton, Research Port, Sunlight,

5-(4-fluorofenil)-furfural (**1a**)¹H-RMN

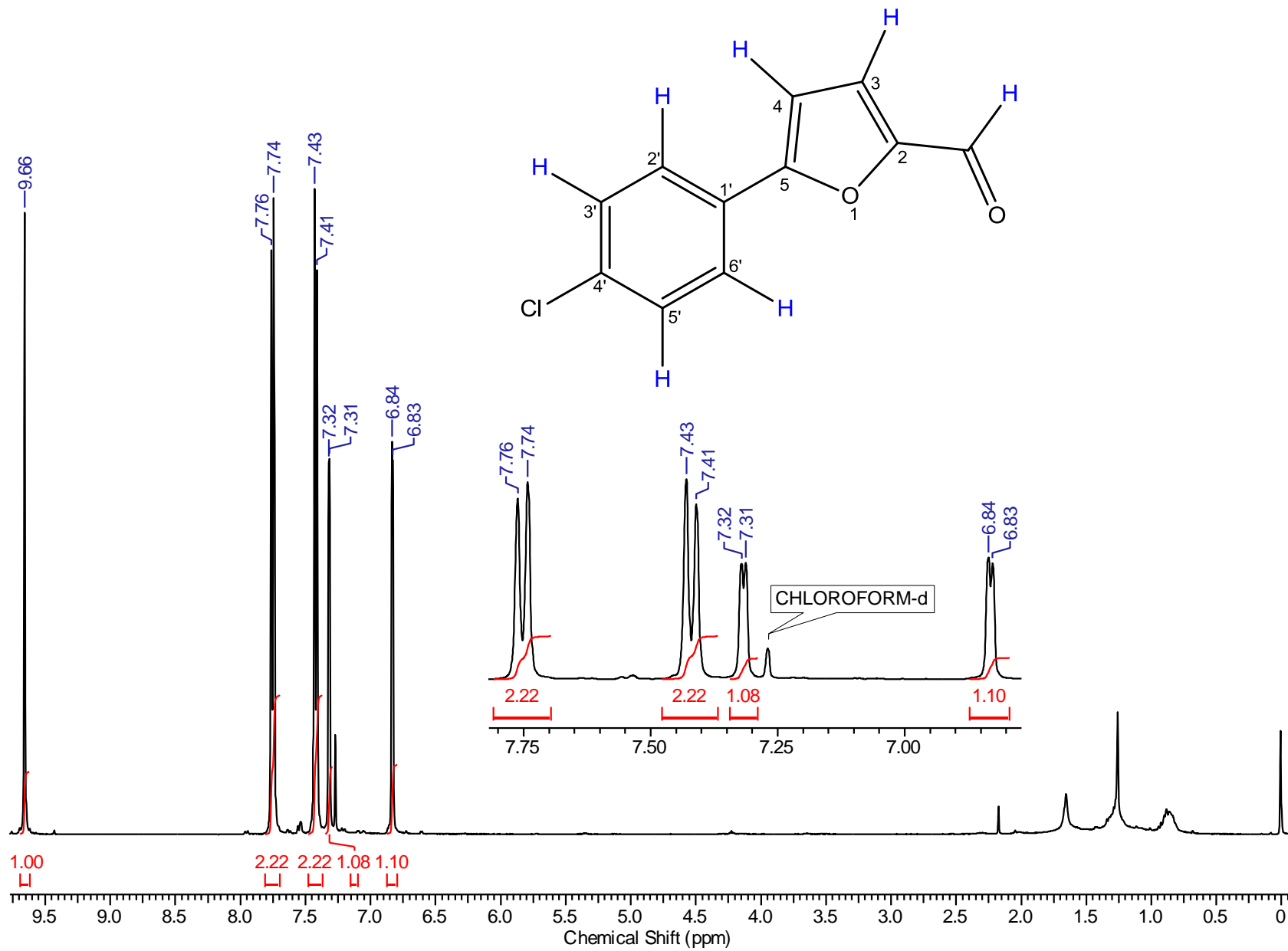
5-(4-fluorophenyl)-furfural (**1a**)

¹³C-RMN



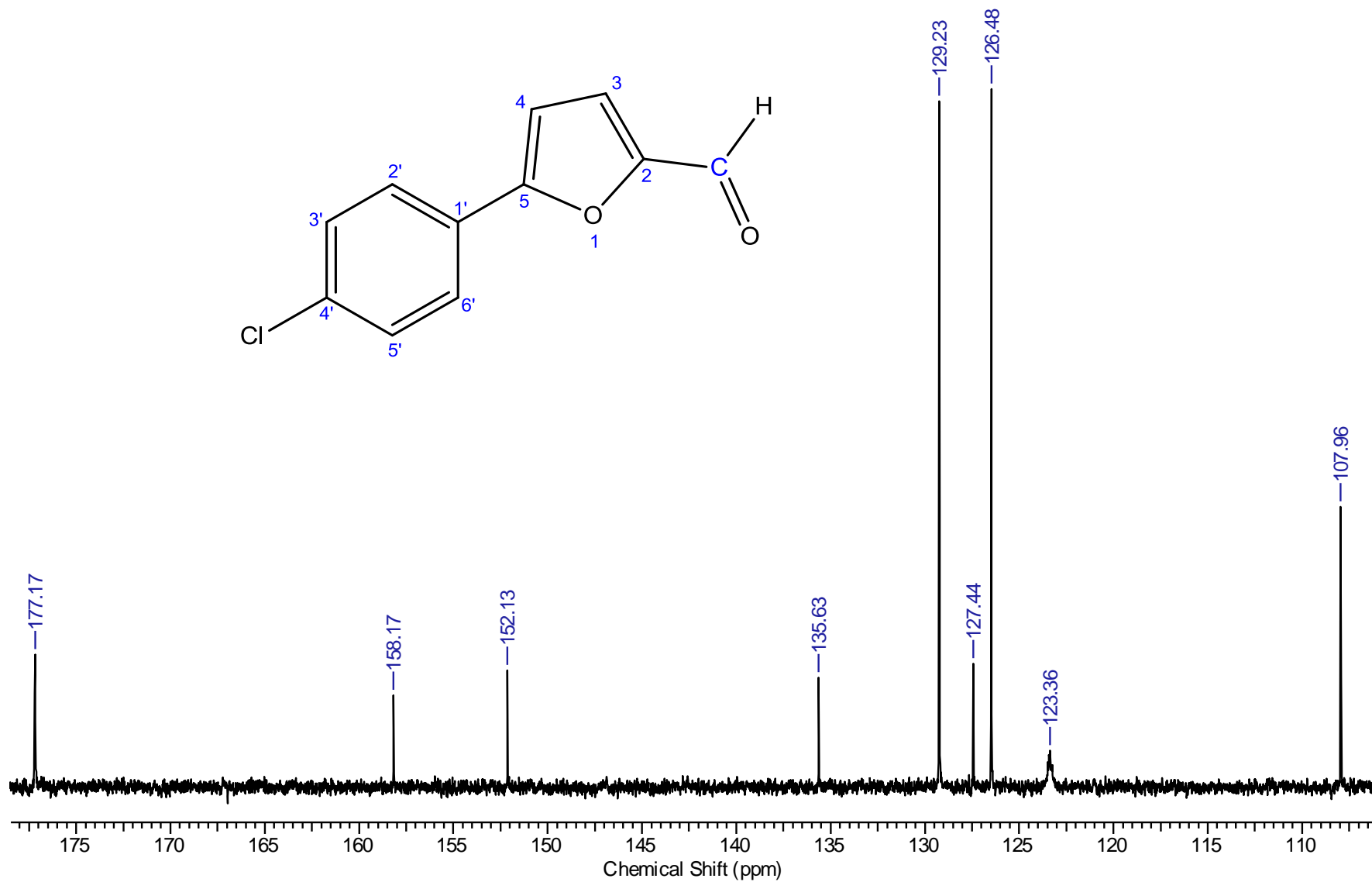
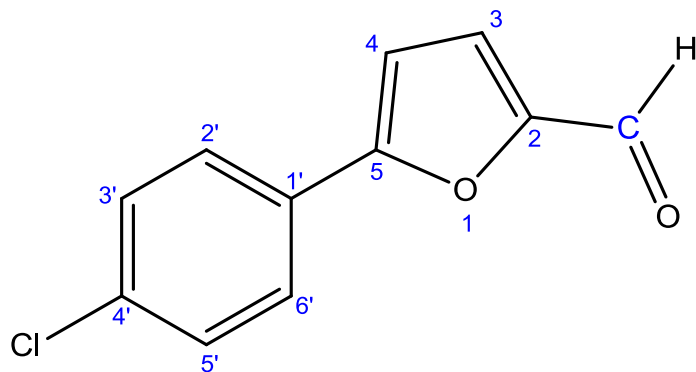
5-(4-chlorophenyl)-furfural (**1b**)

¹H-RMN



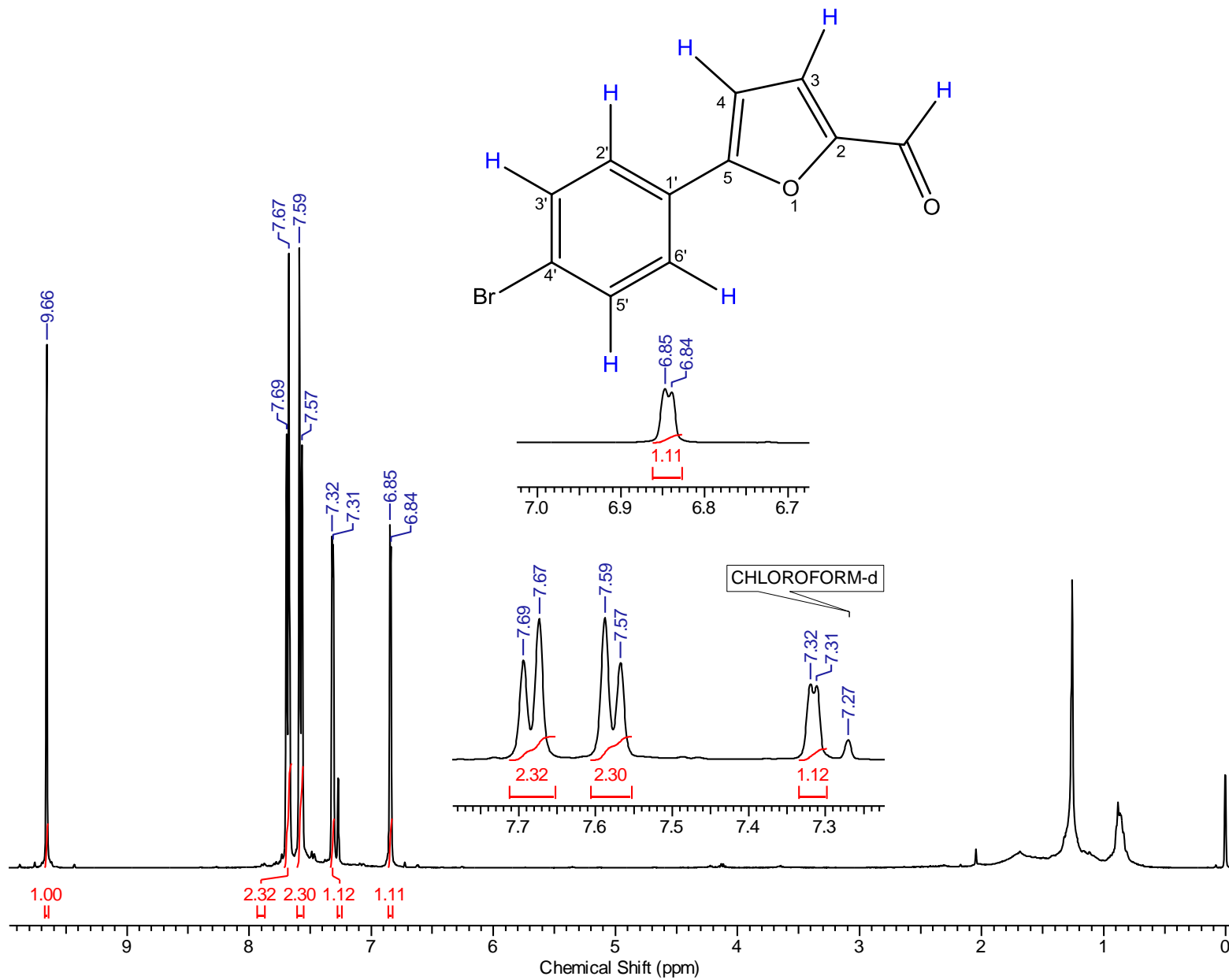
5-(4-clorofenil)-furfural (**1b**)

¹³C-RMN



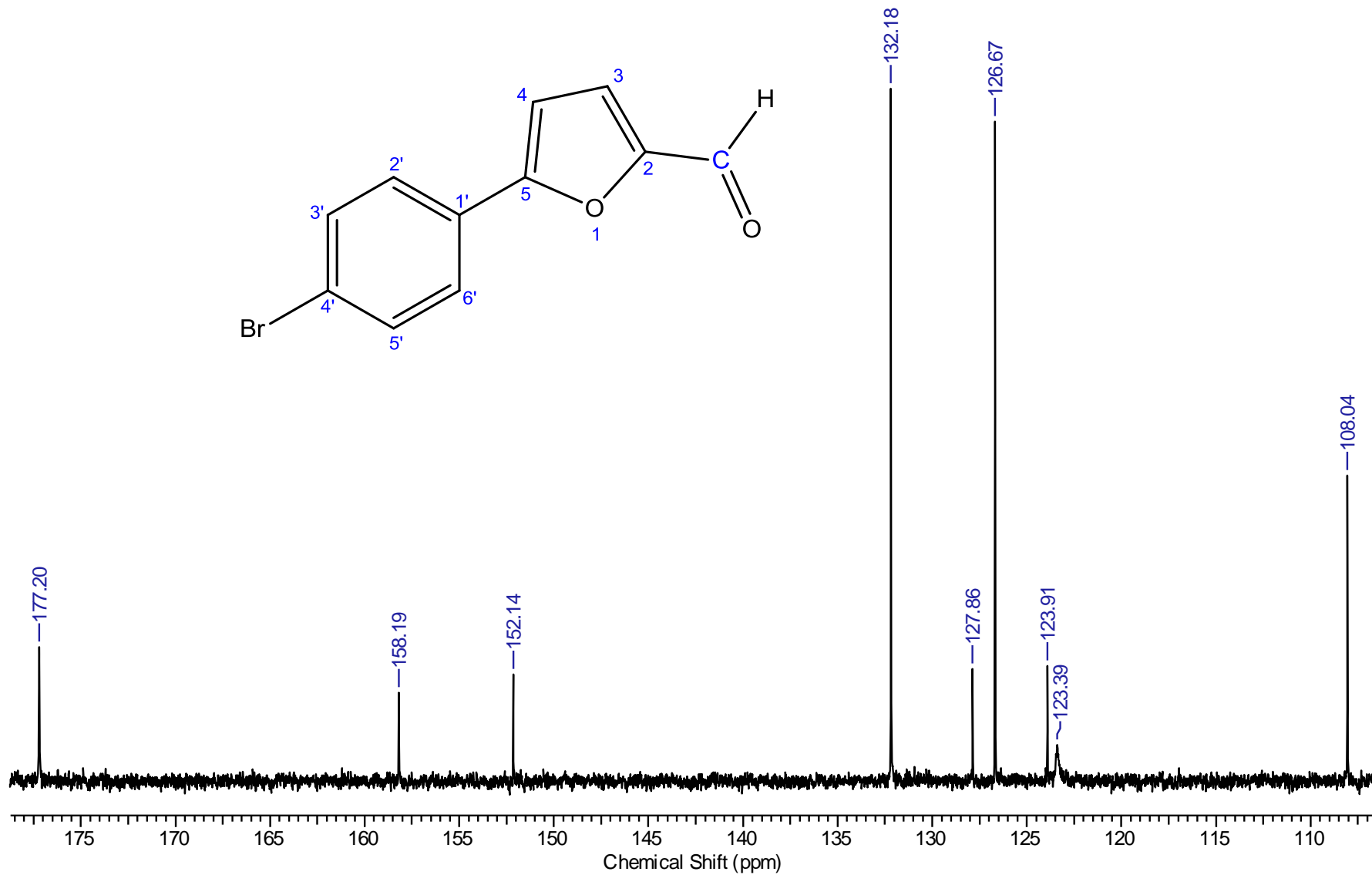
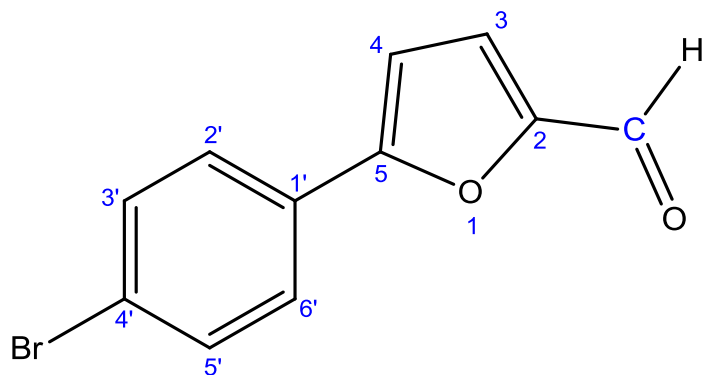
5-(4-bromofenil)-furfural (**1c**)

¹H-RMN



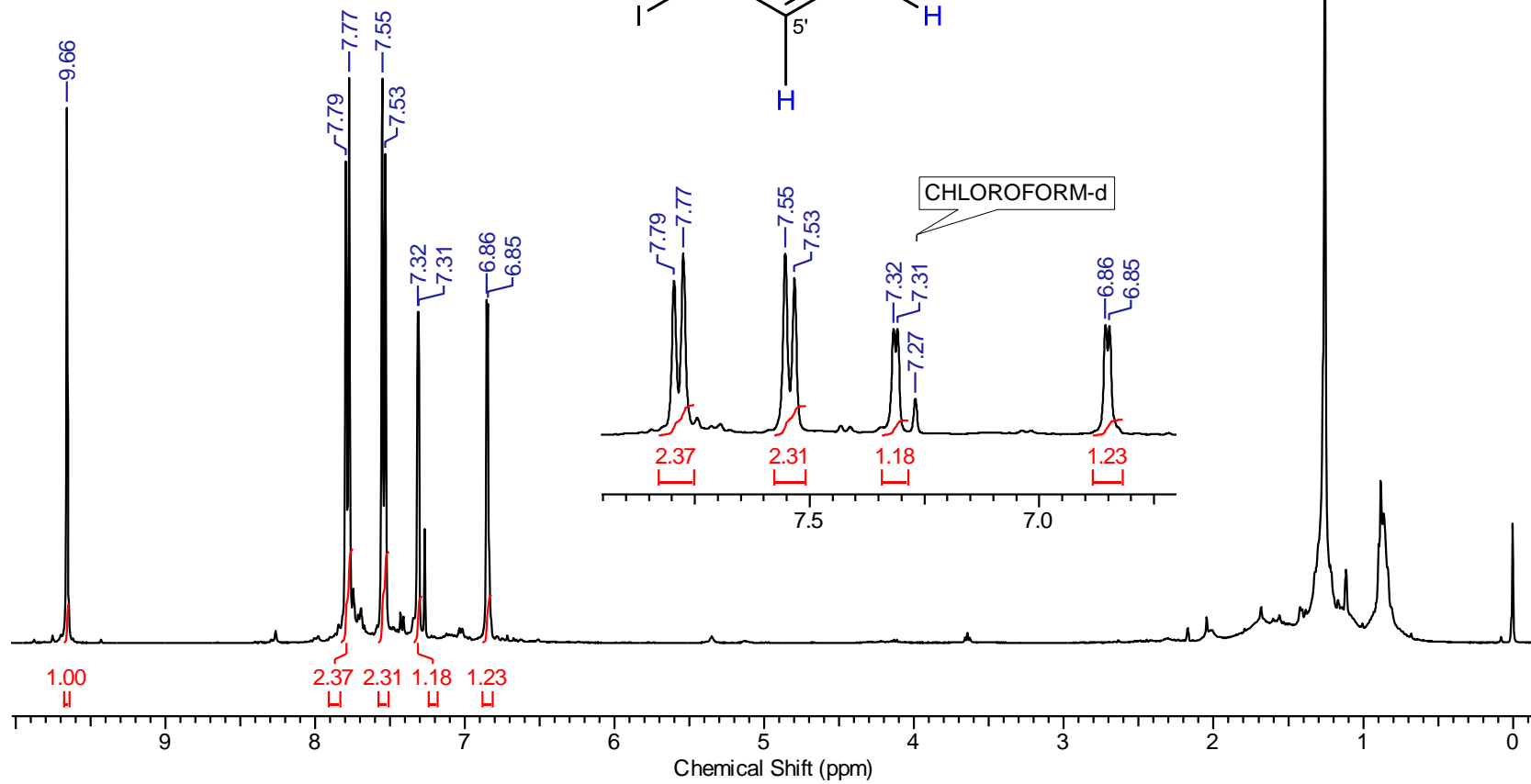
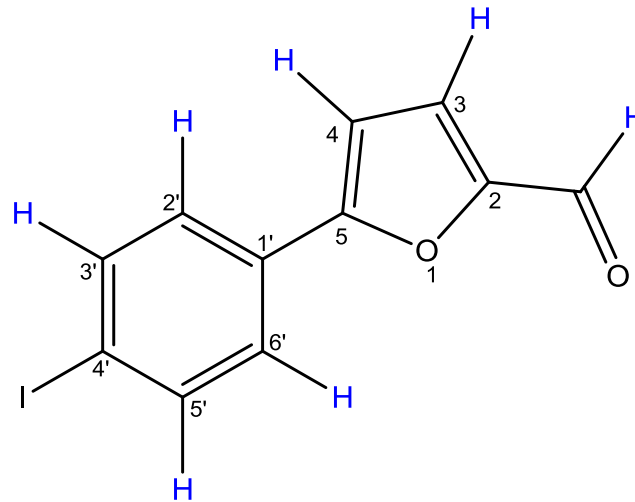
5-(4-bromophenyl)-furfural (**1c**)

¹³C-RMN



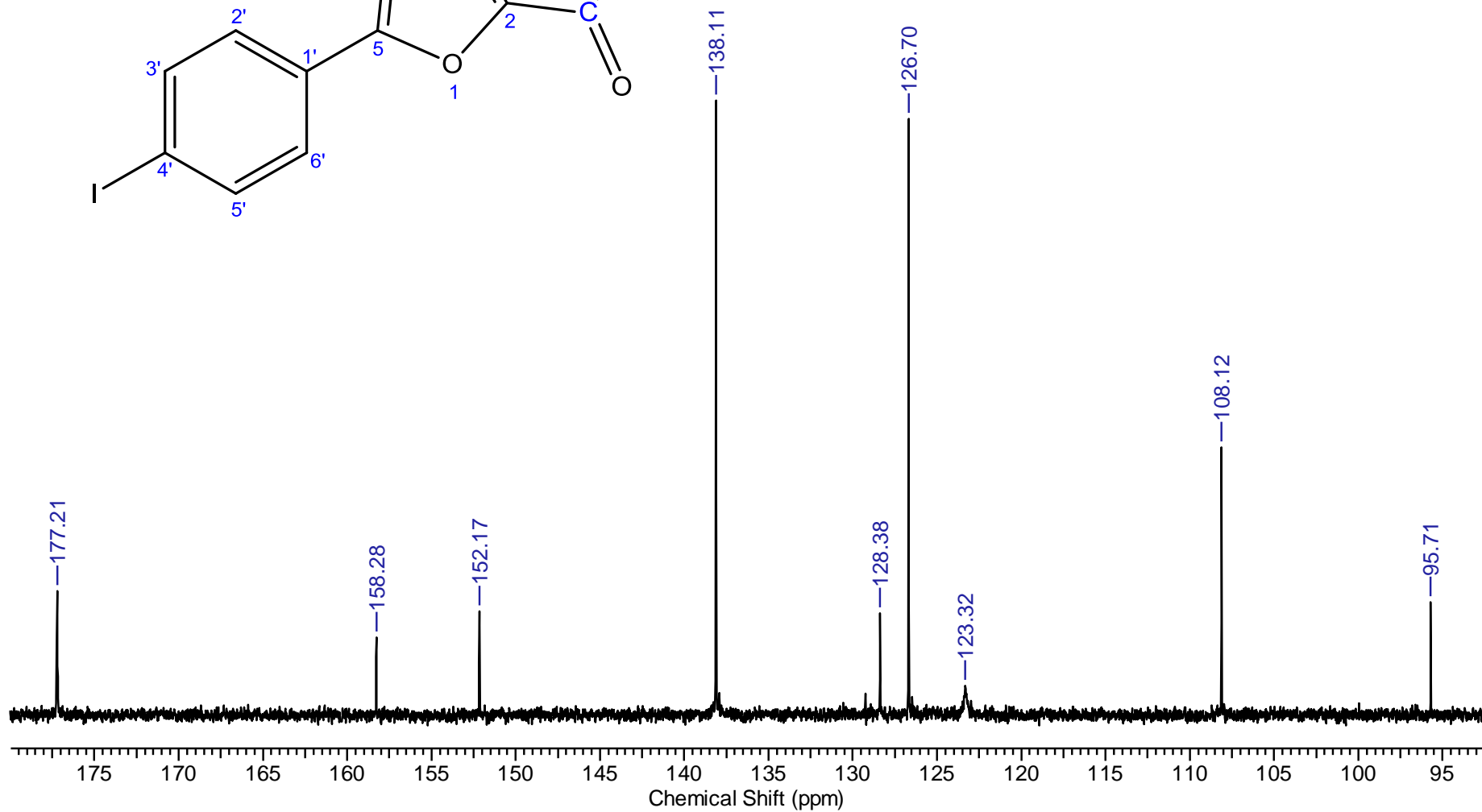
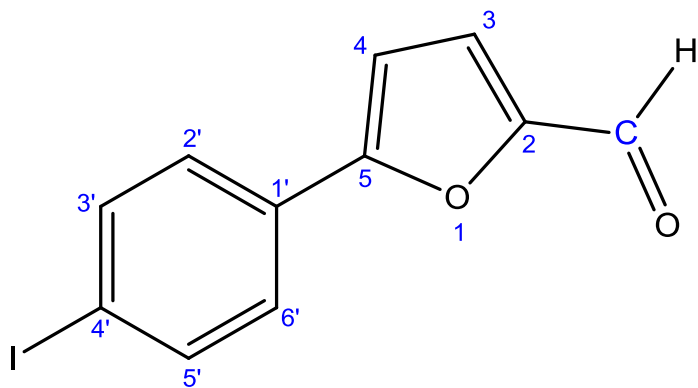
5-(4-iodofenil)-furfural (**1d**)

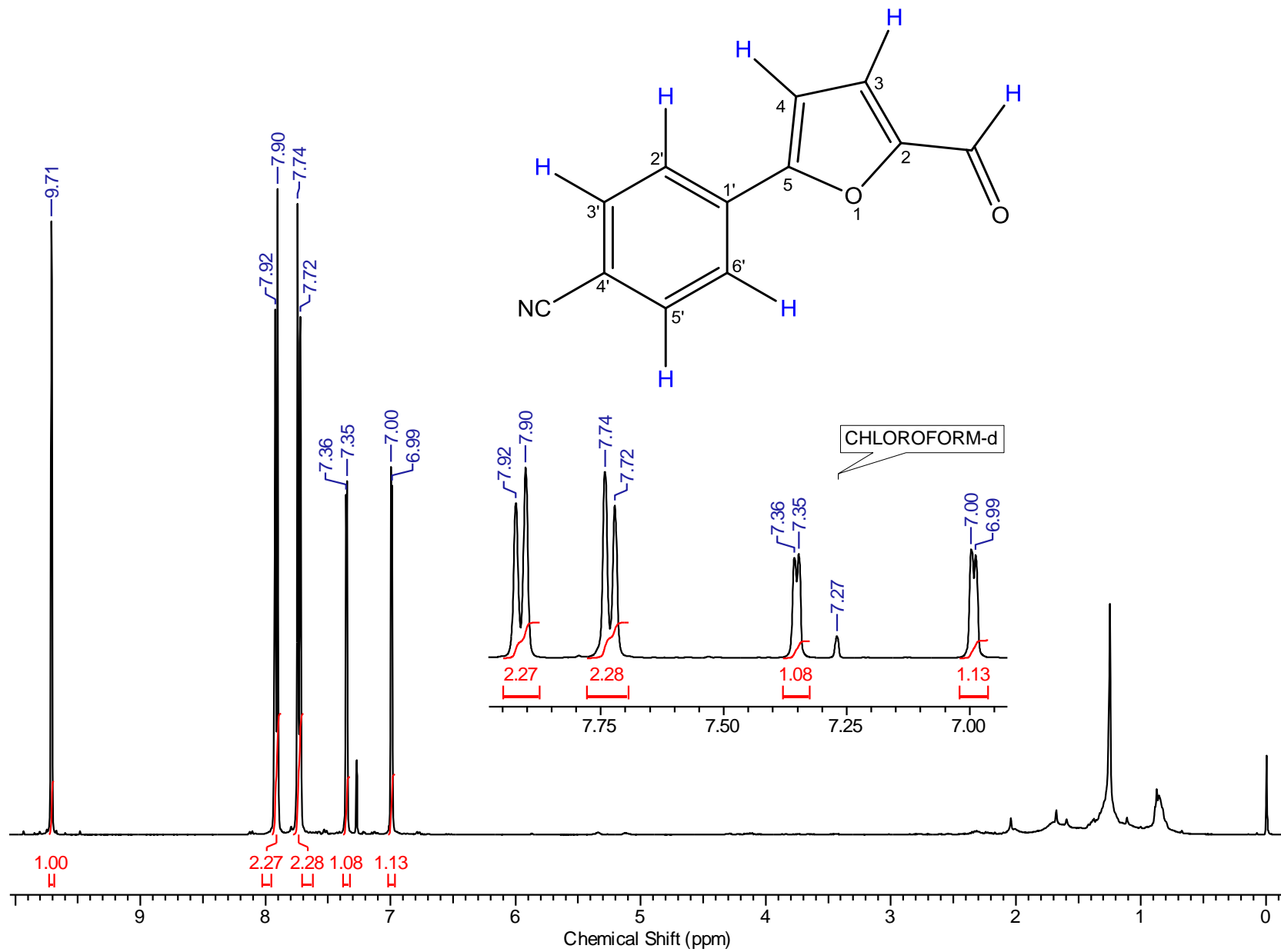
¹H-RMN



5-(4-iodophenyl)-furfural (**1d**)

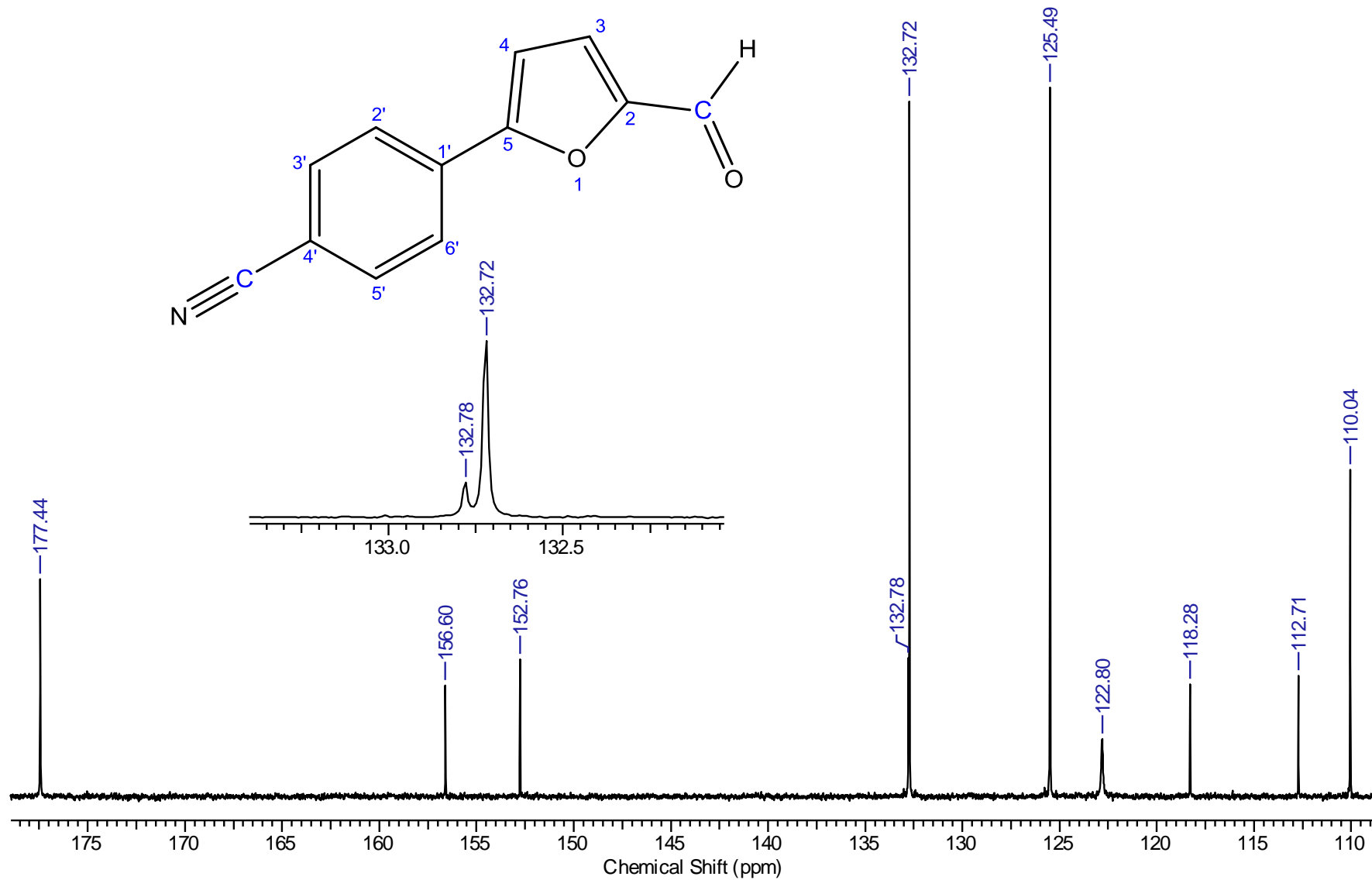
¹³C-RMN



4-(5-formil-2-furyl)benzonitrilo (**1e**)¹H-RMN

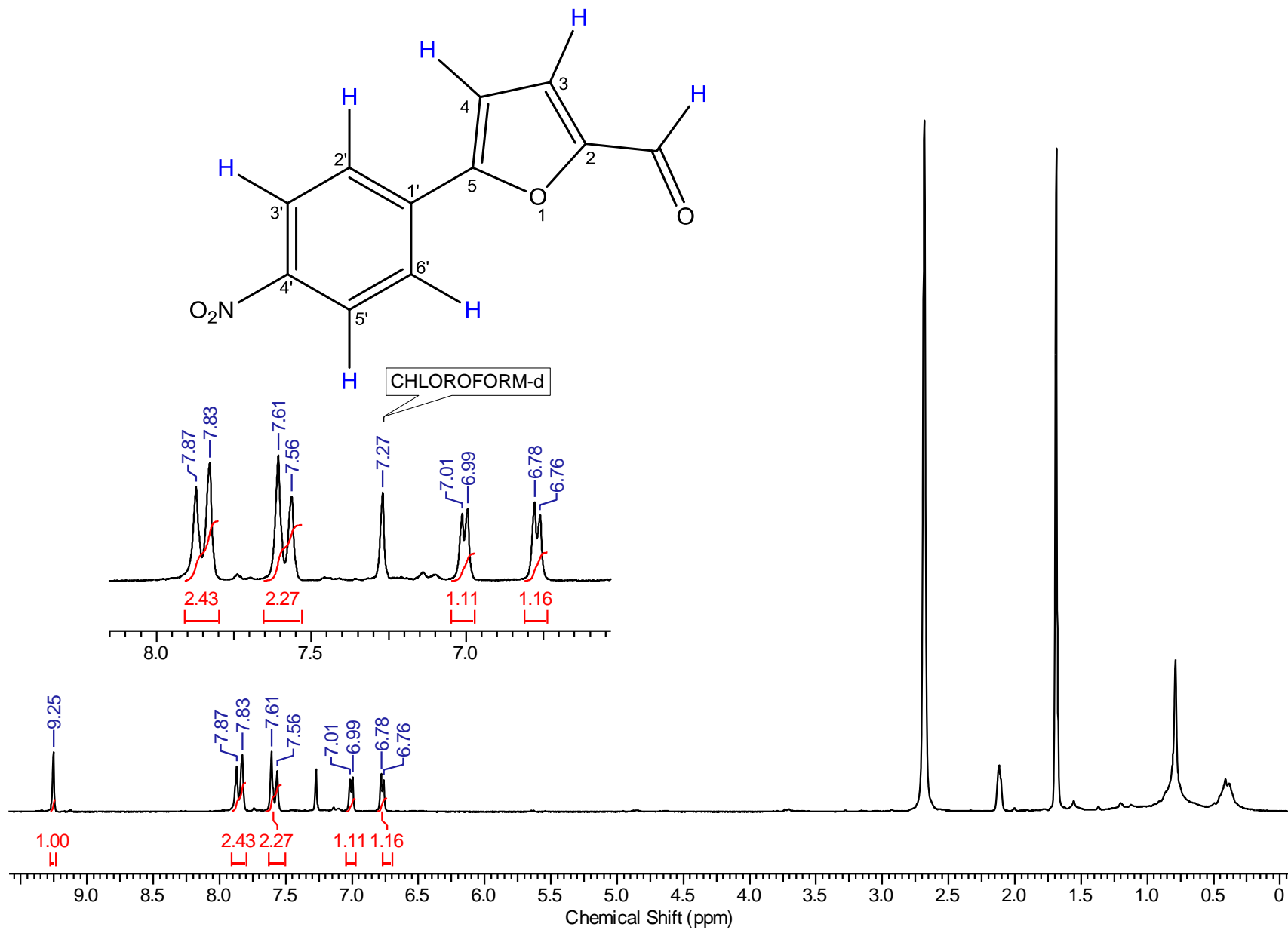
4-(5-formil-2-furil)benzonitrilo (**1e**)

¹³C-RMN



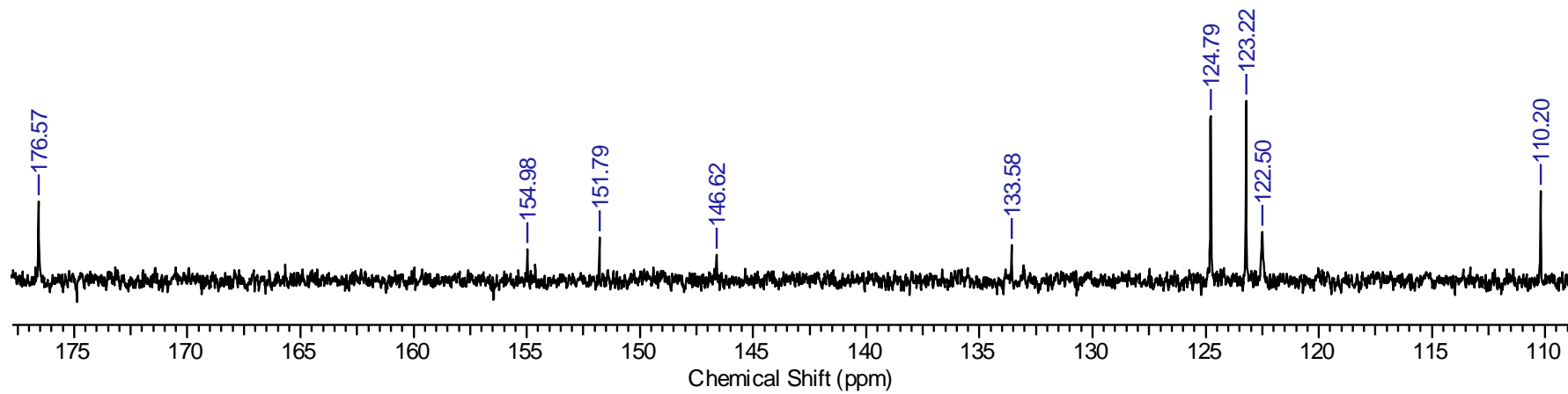
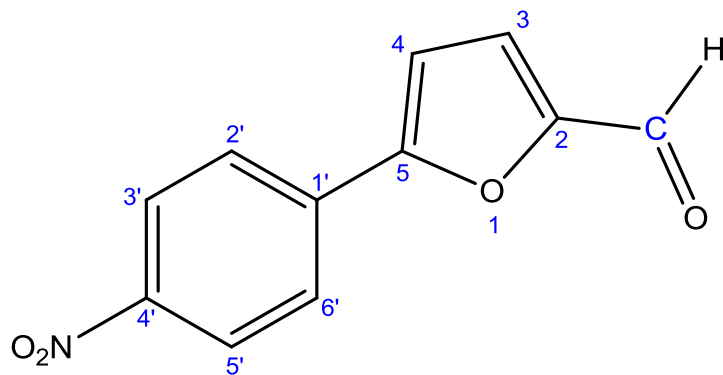
5-(4-nitrophenyl)-furfural (**1f**)

¹H-RMN



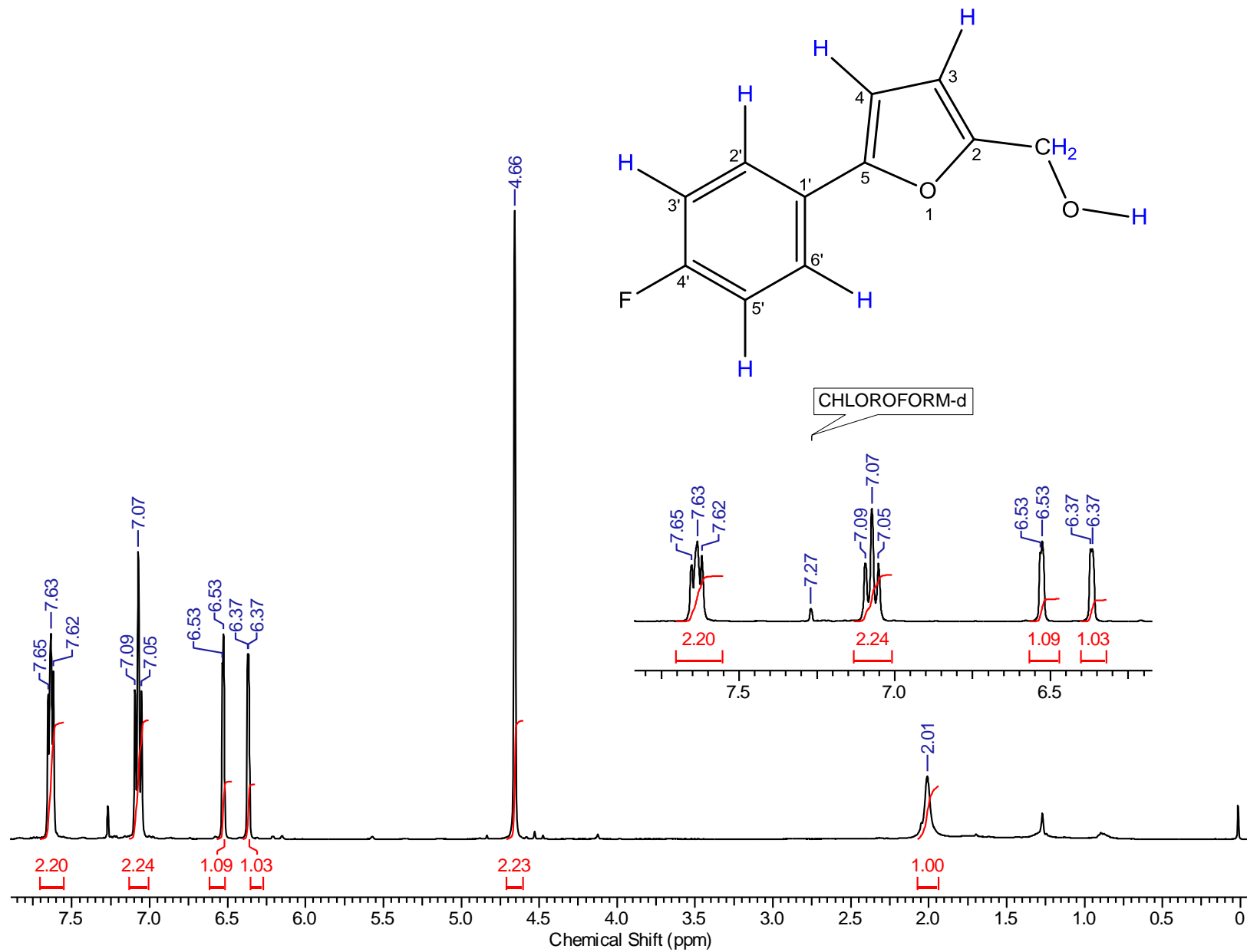
5-(4-nitrofenil)-furfural (**1f**)

¹³C-RMN



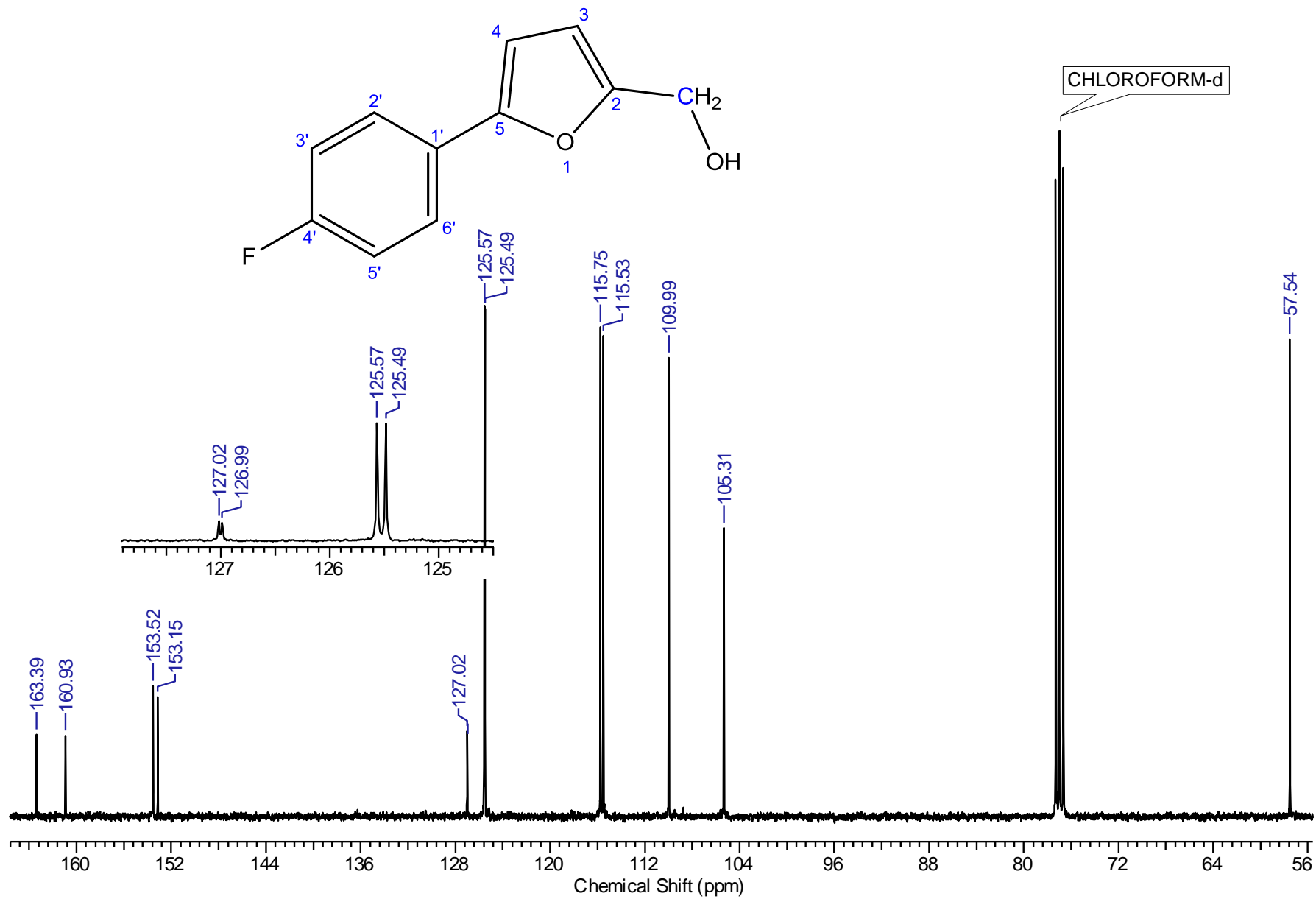
[5-(4-fluorofenil)-2-furil] metanol (**2a**)

¹H-RMN



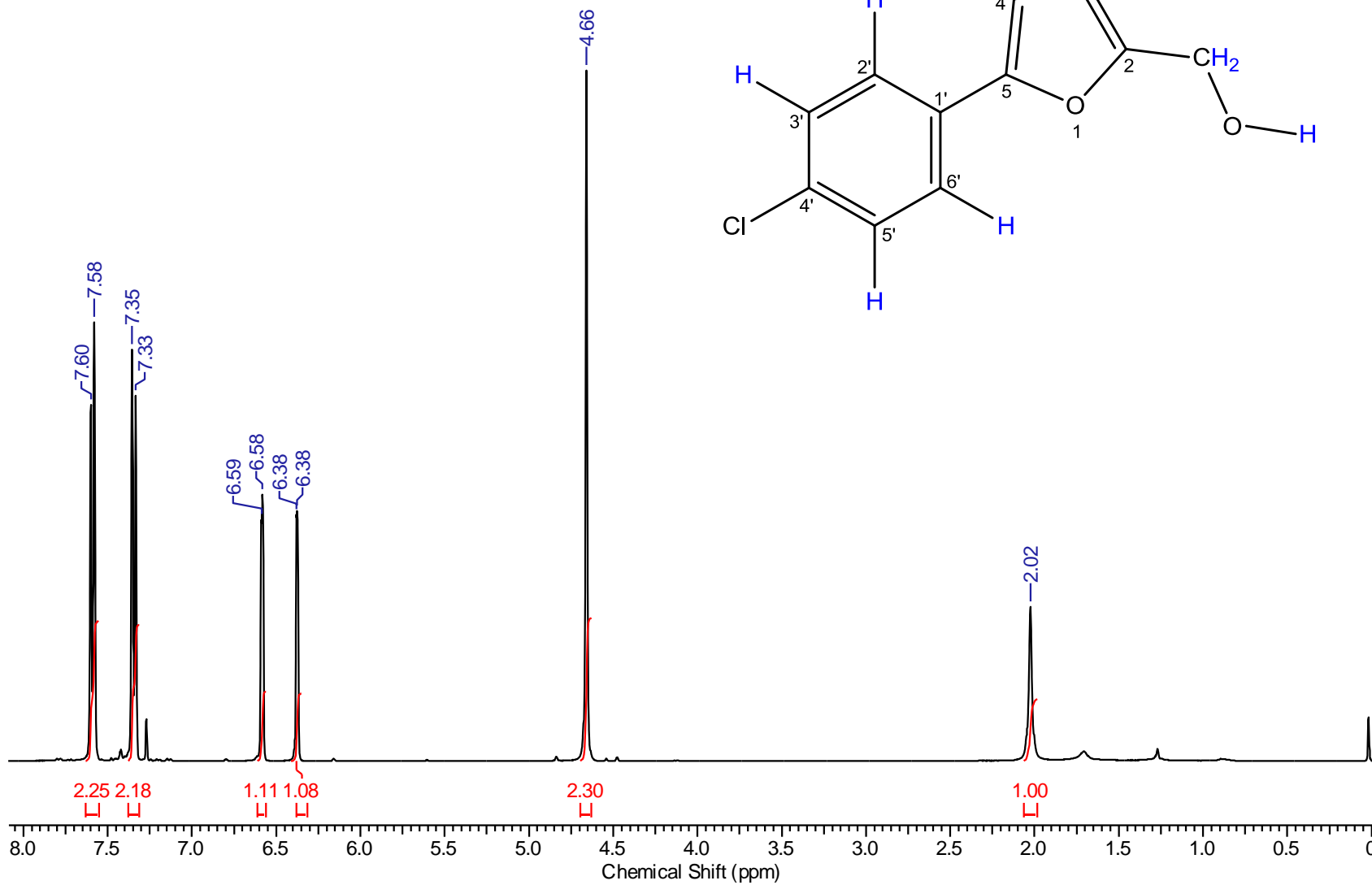
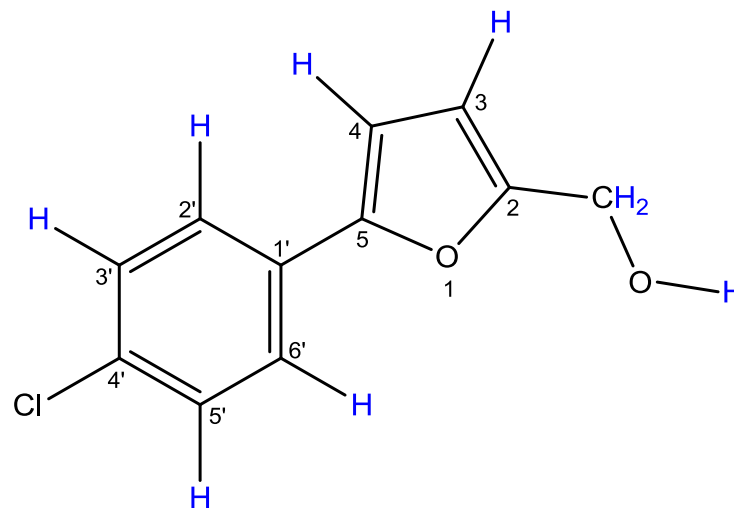
[5-(4-fluorophenyl)-2-furyl] metanol (**2a**)

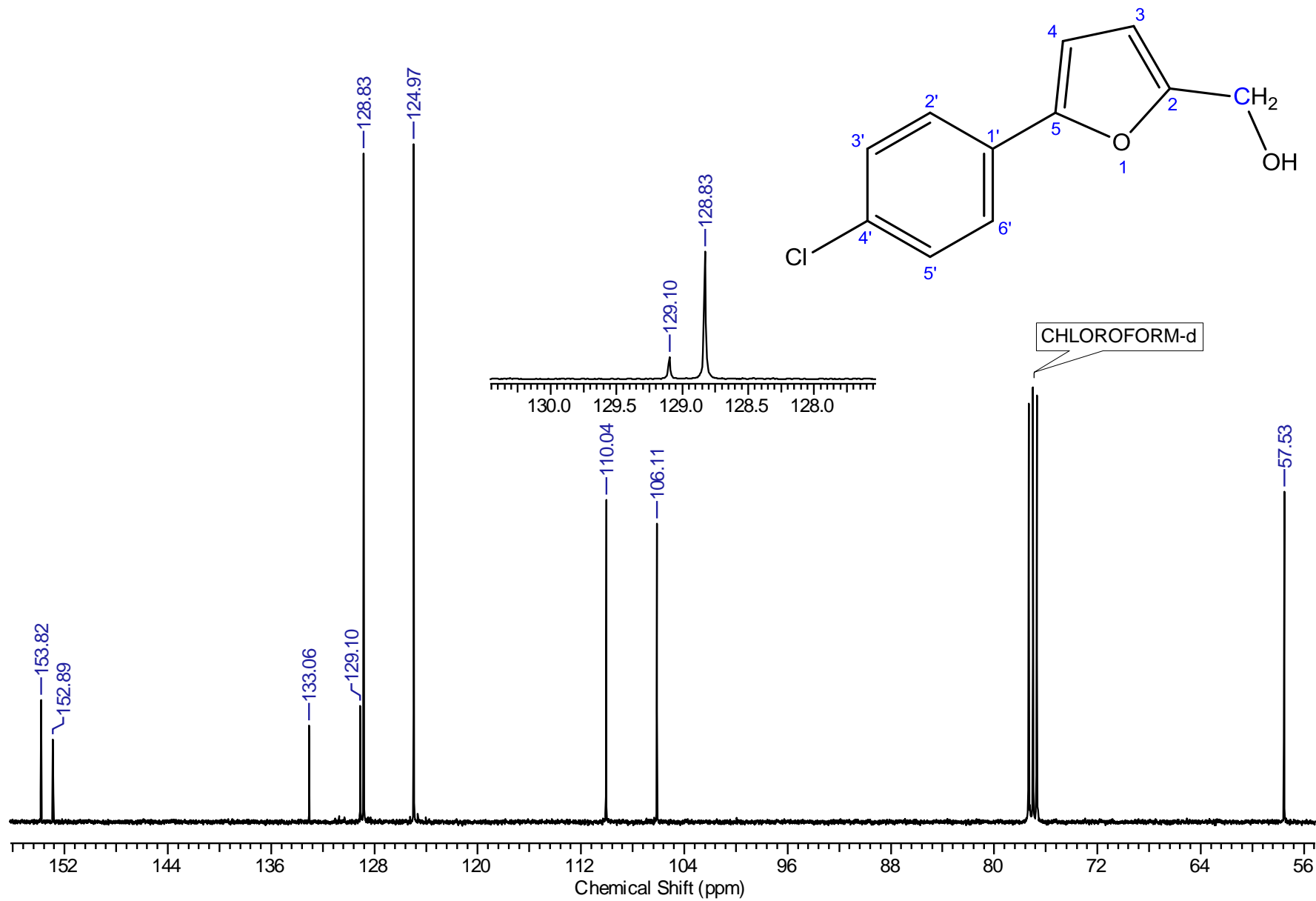
¹³C-RMN



[5-(4-clorofenil)-2-furil] metanol (**2b**)

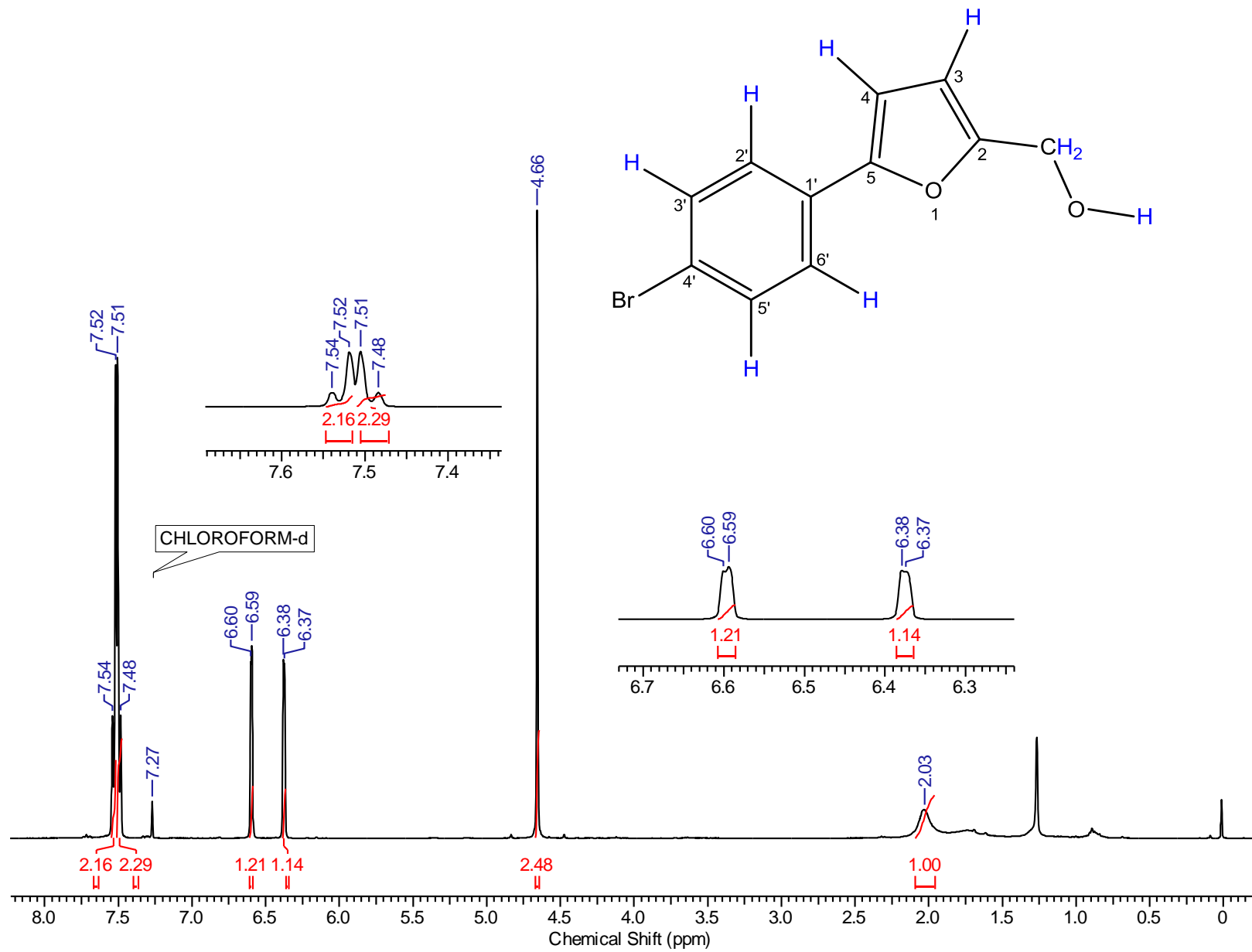
¹H-RMN





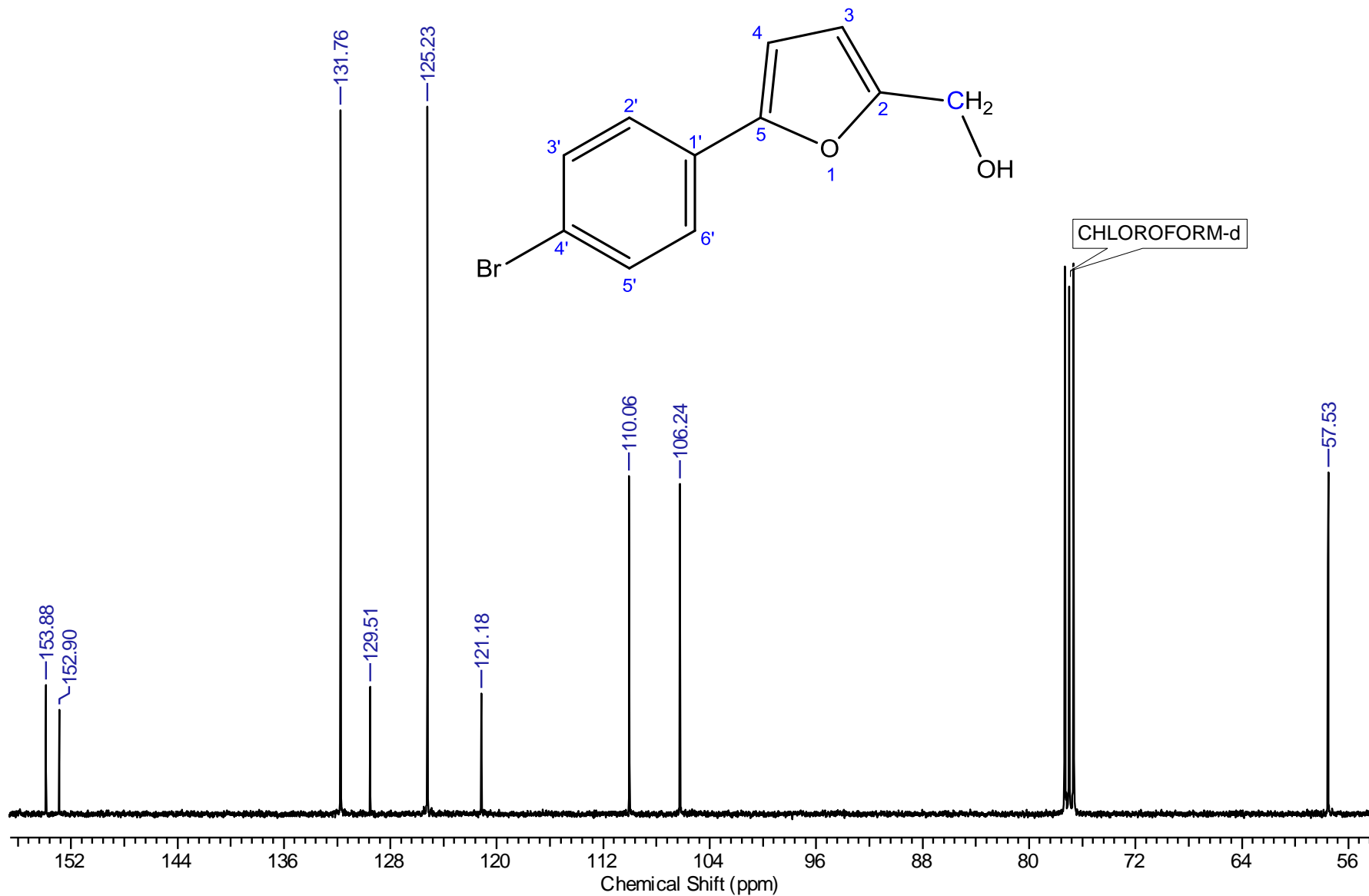
[5-(4-bromofenil)-2-furil] metanol (**2c**)

¹H-RMN



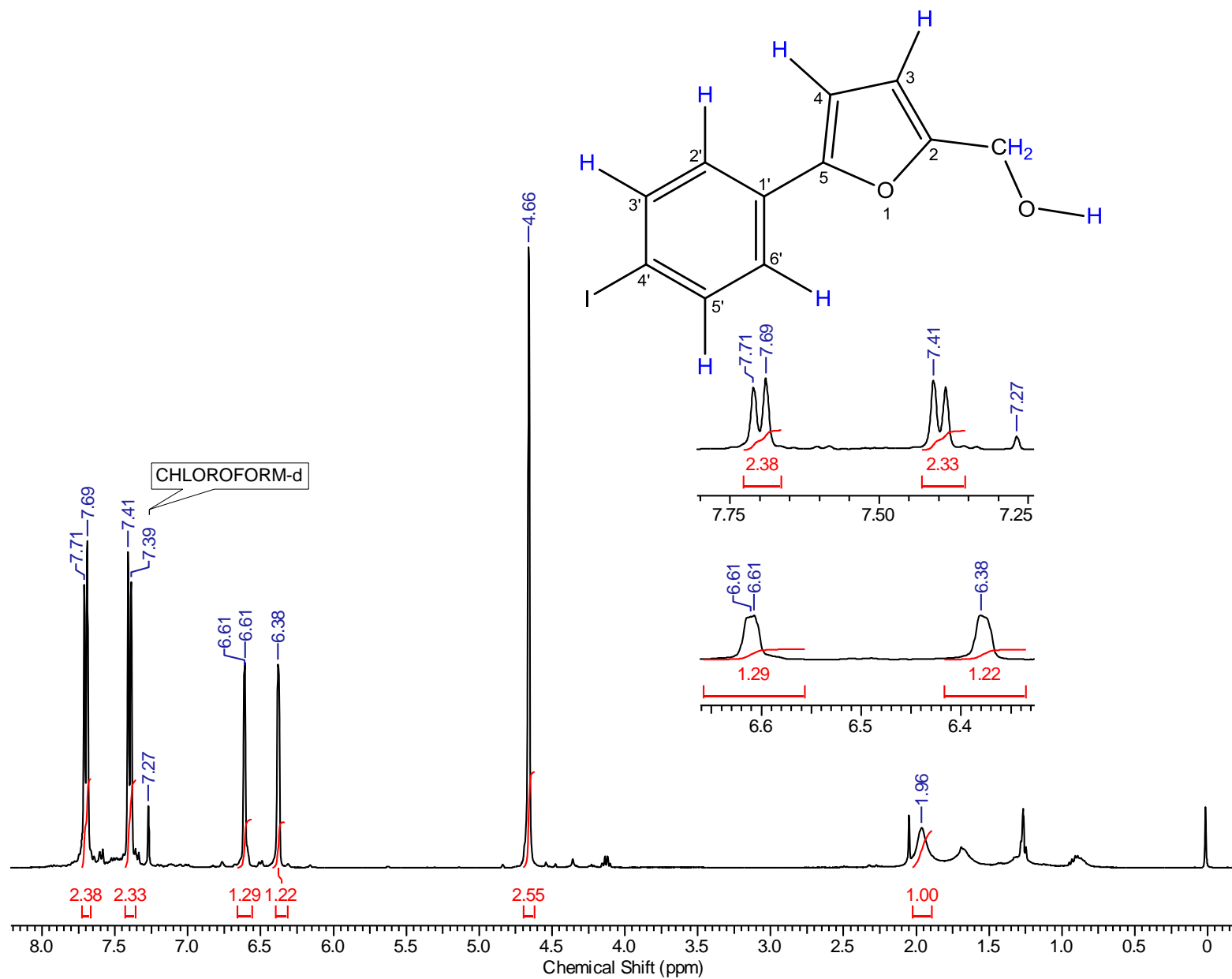
[5-(4-bromofenil)-2-furil] metanol (**2c**)

¹³C-RMN



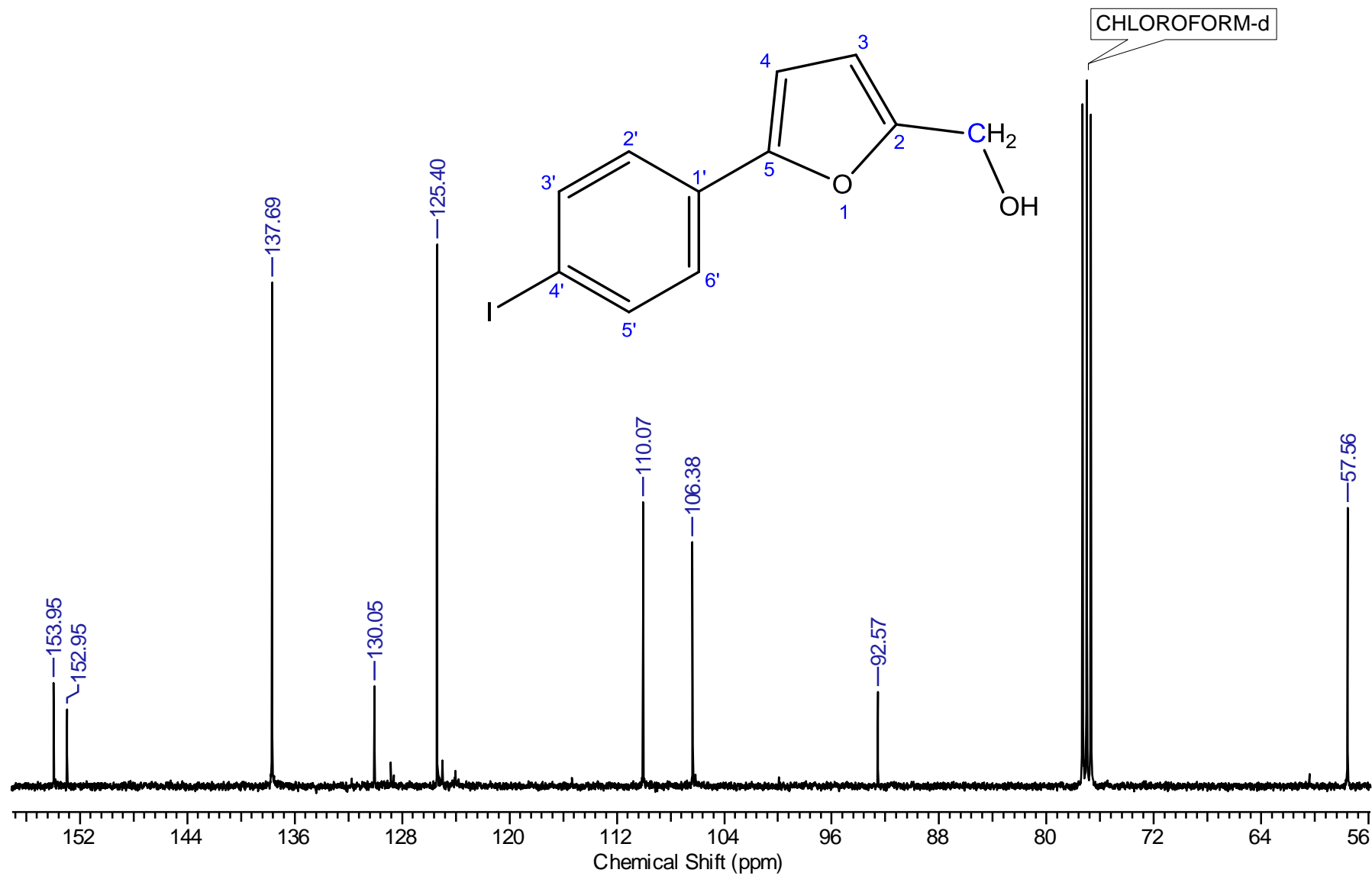
[5-(4-iodofenil)-2-furil] metanol (**2d**)

¹H-RMN

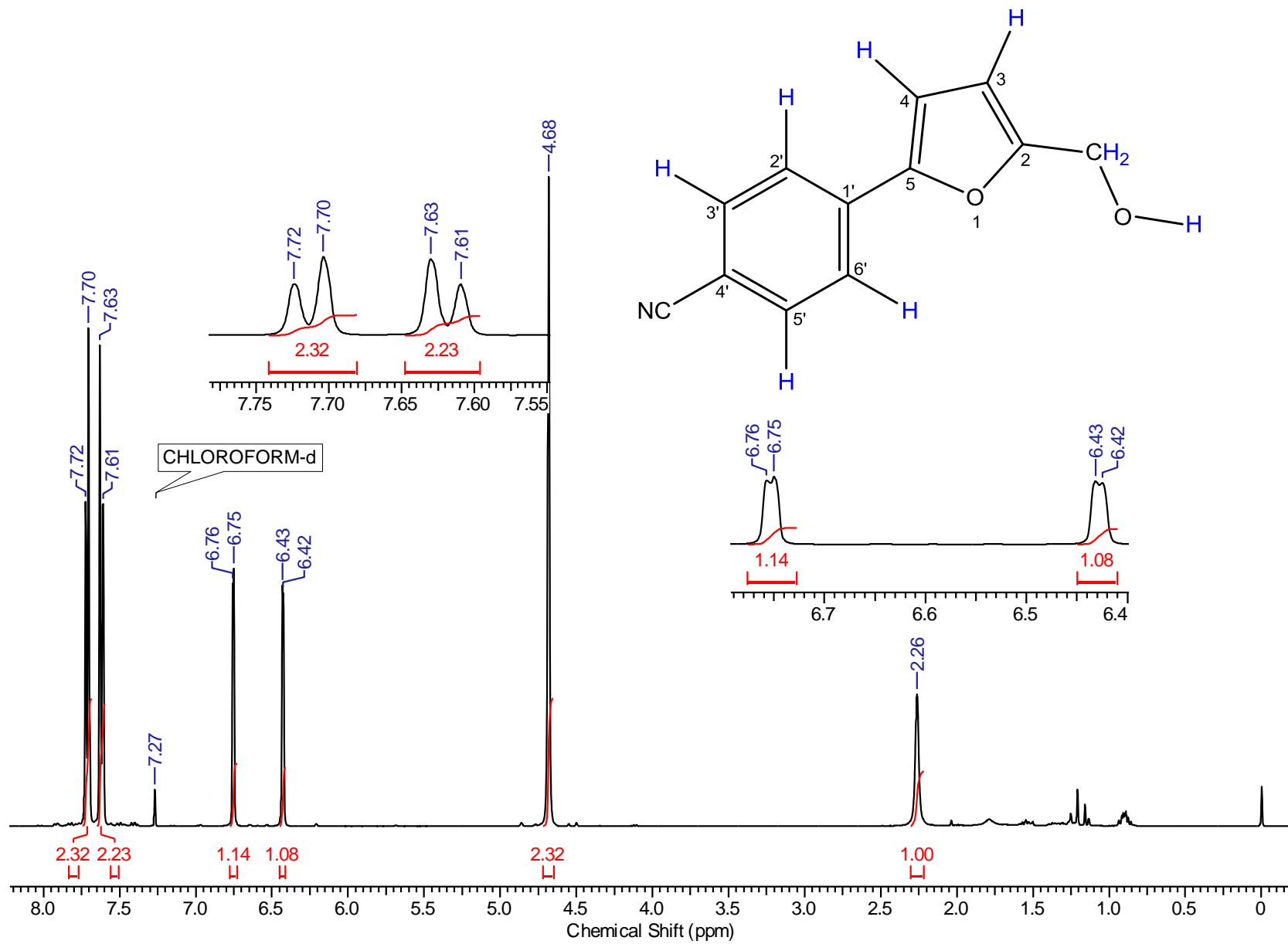


[5-(4-iodofenil)-2-furil] metanol (**2d**)

¹³C-RMN

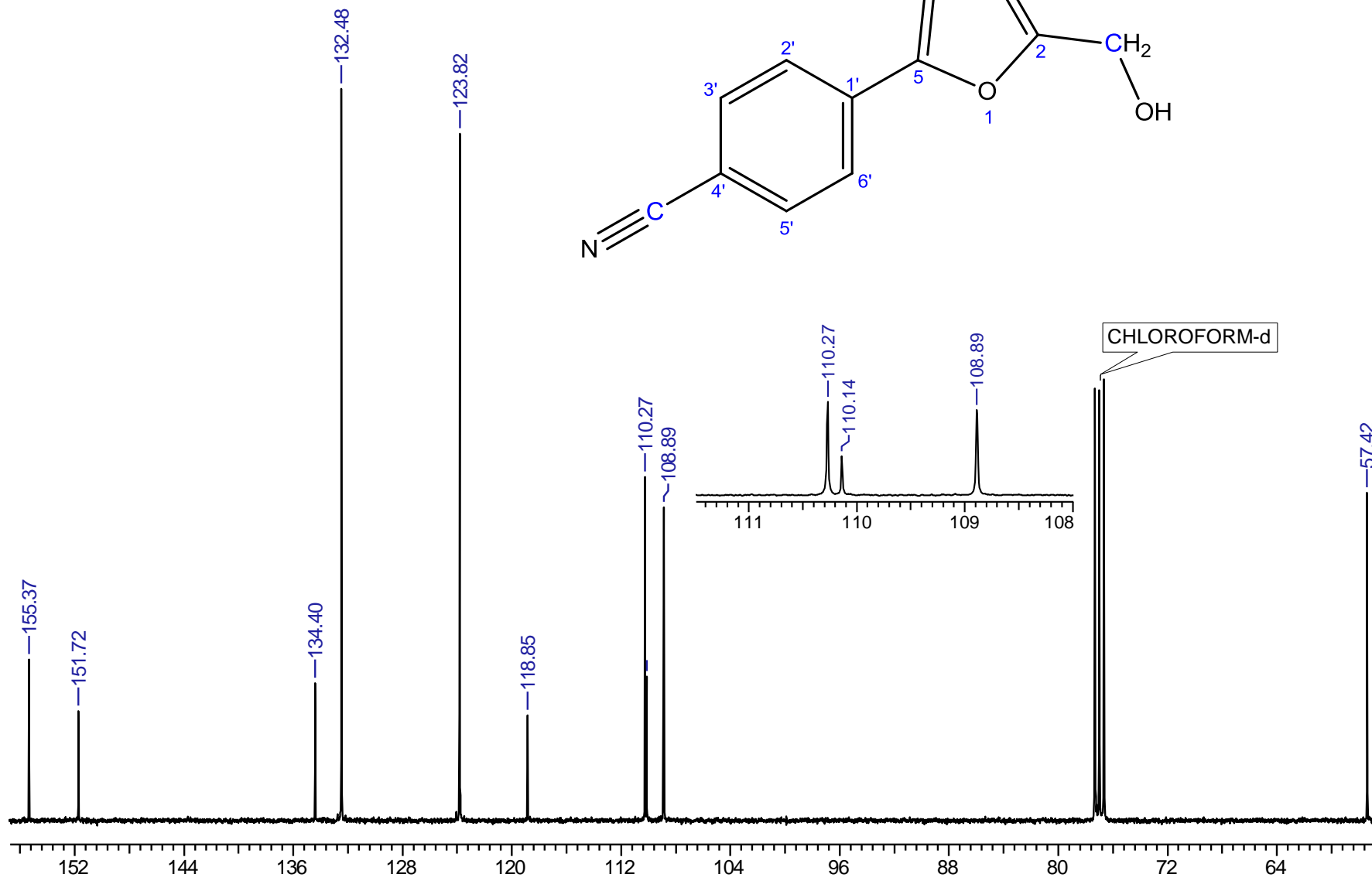
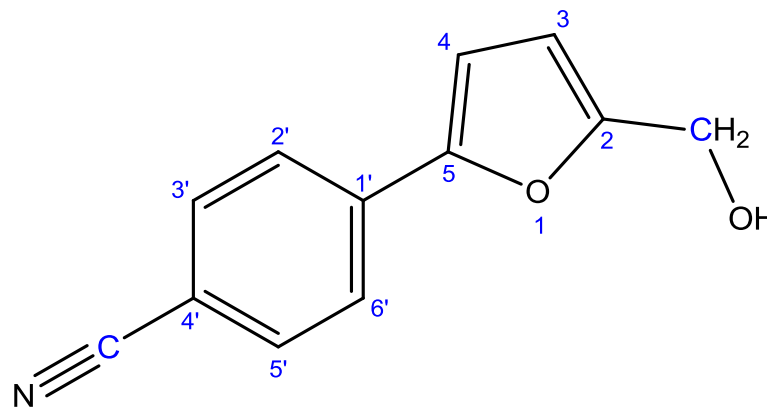


4-(5-hidroxi metil-2-furil)benzonitrilo (2e)

¹H-RMN

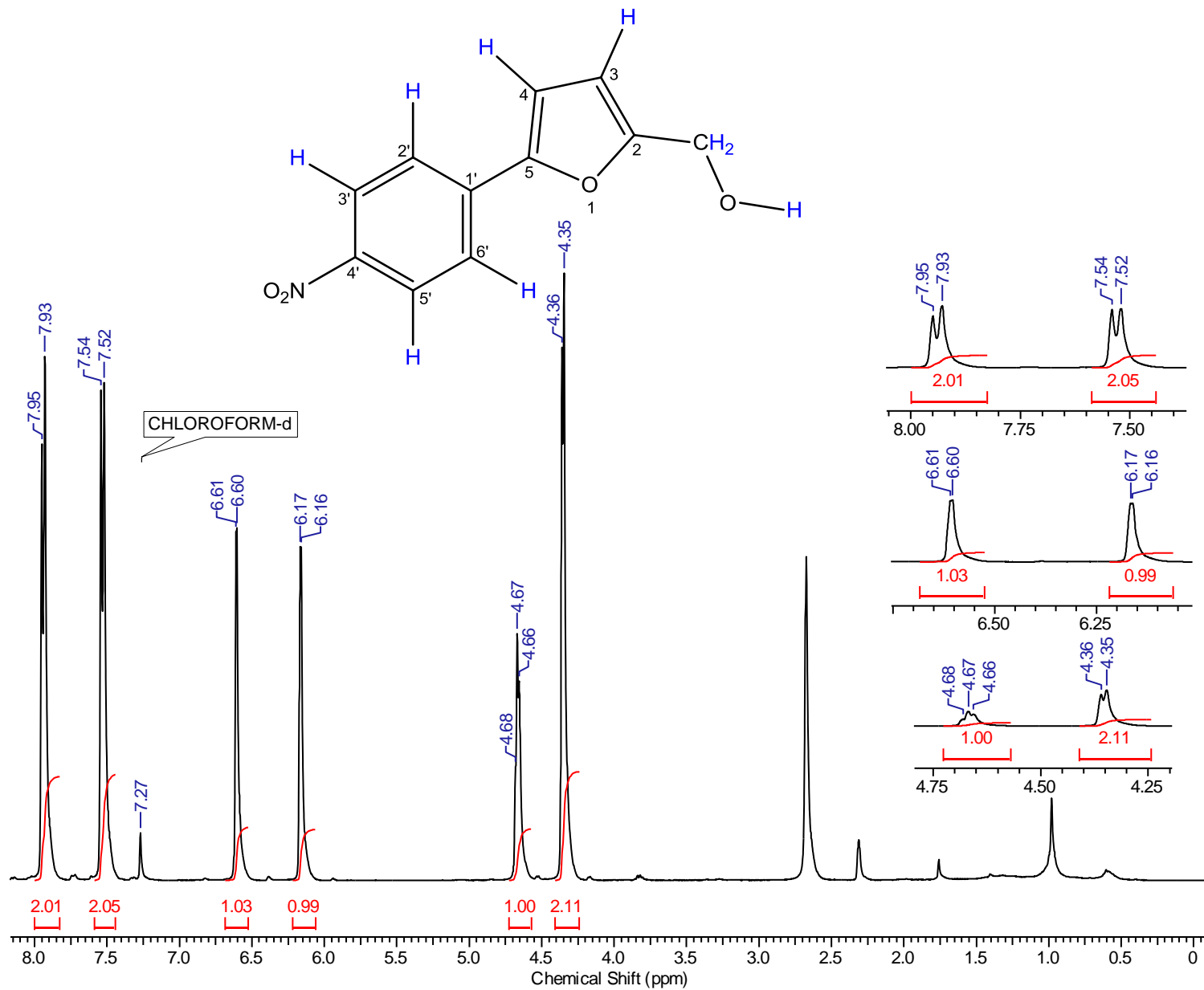
4-(5-hidroxitetil-2-furil)benzonitrilo (**2e**)

¹³C-RMN



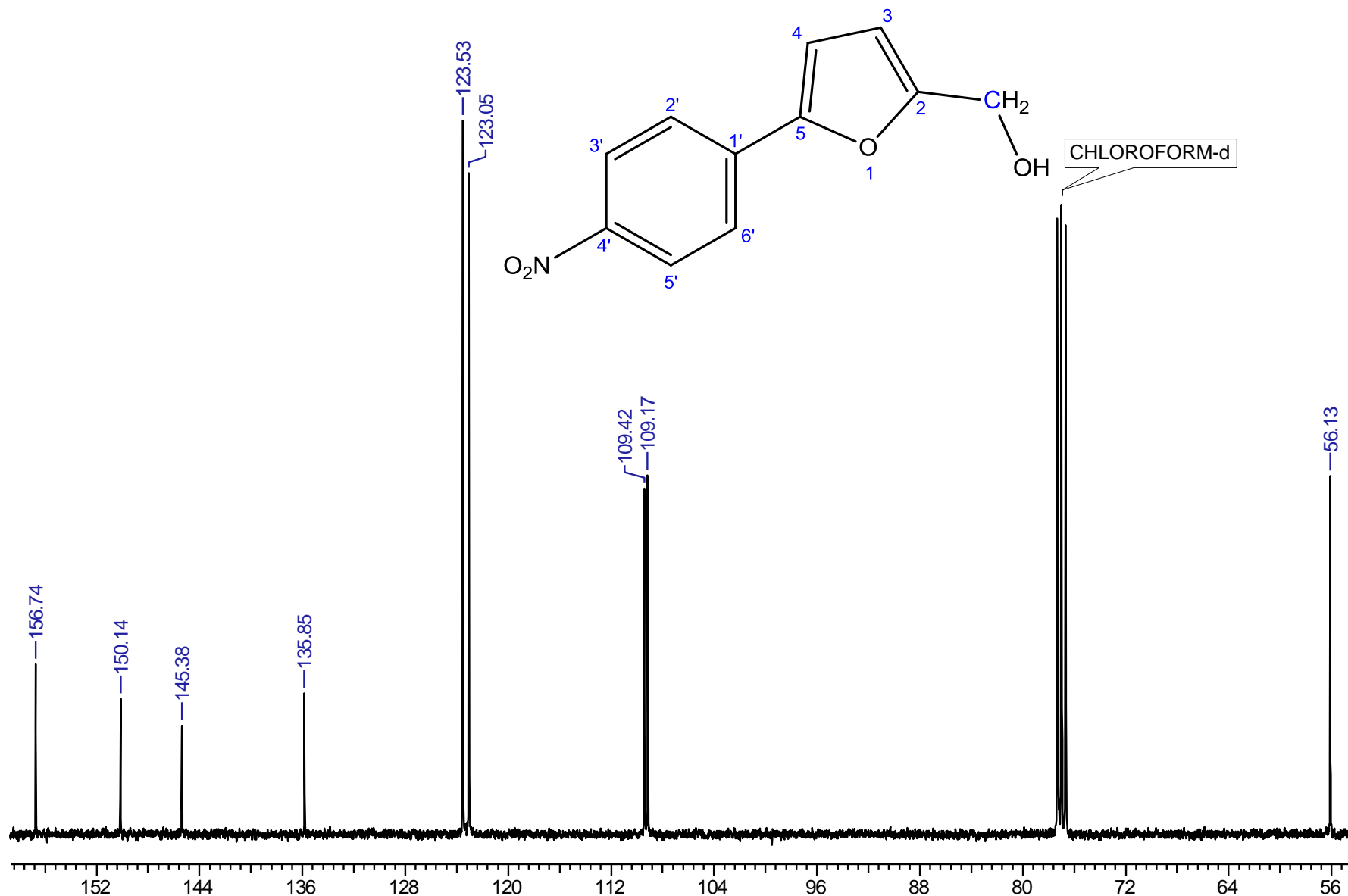
[5-(4-nitrofenil)-2-furil] metanol (**2f**)

¹H-RMN



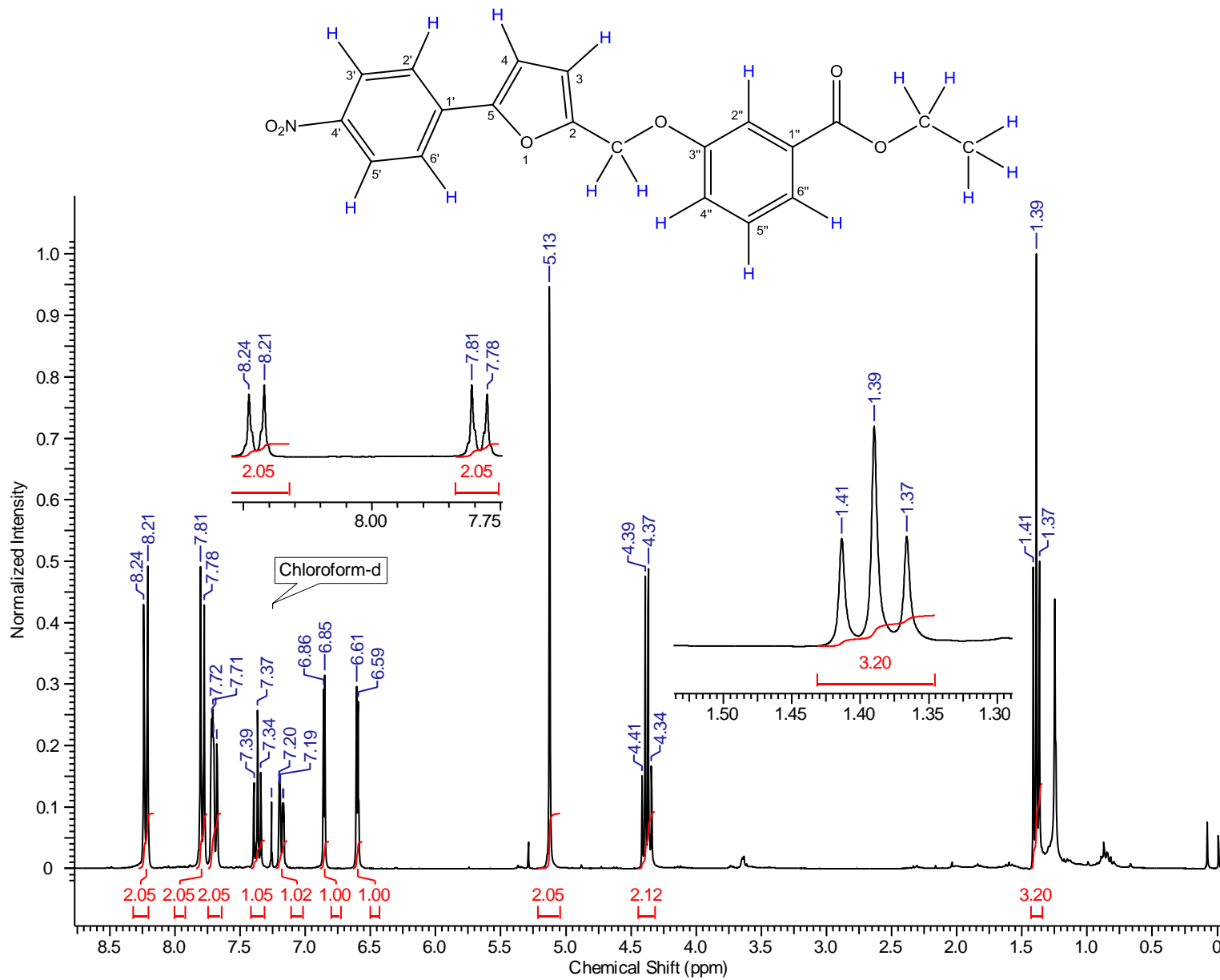
[5-(4-nitrofenil)-2-furil] metanol (2f)

¹³C-RMN



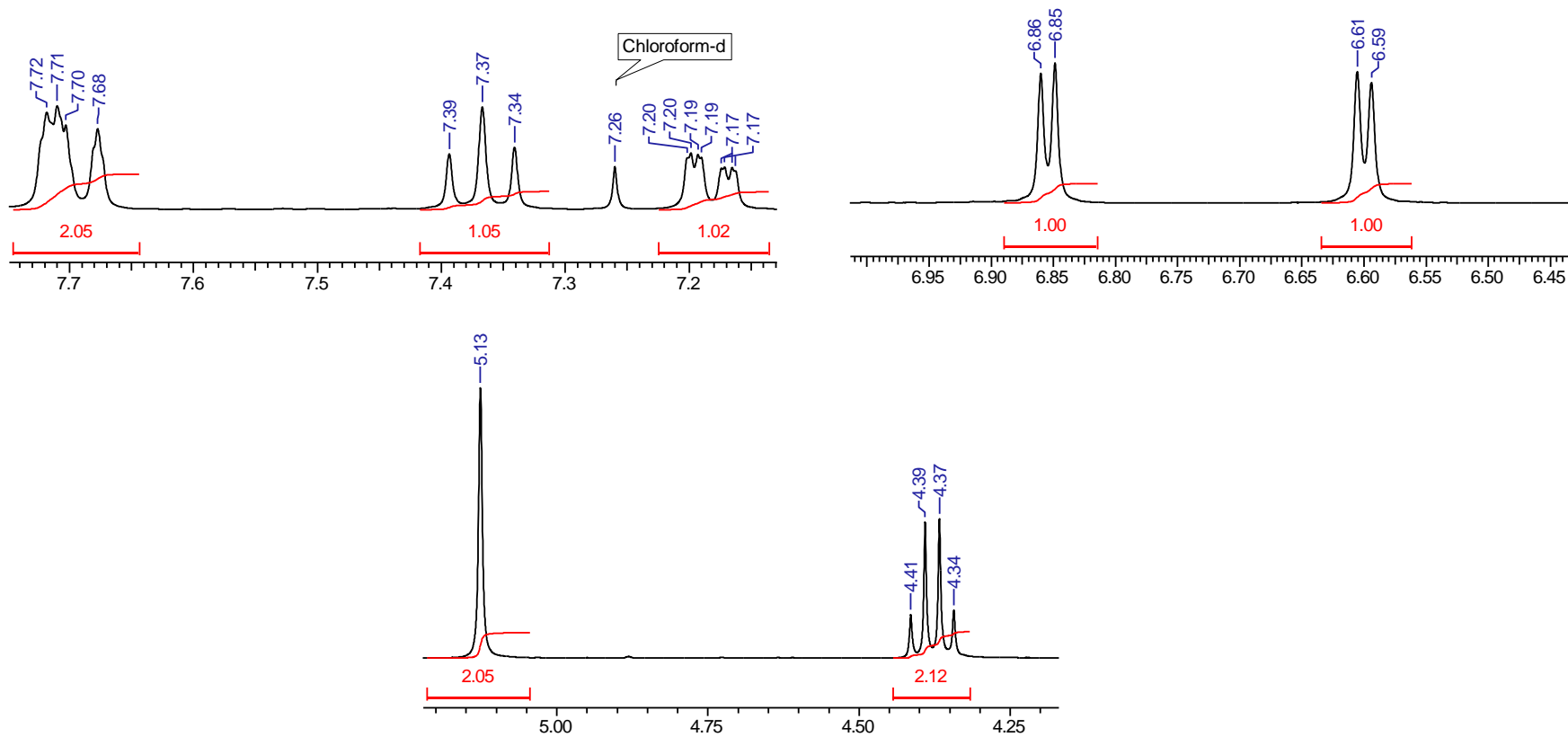
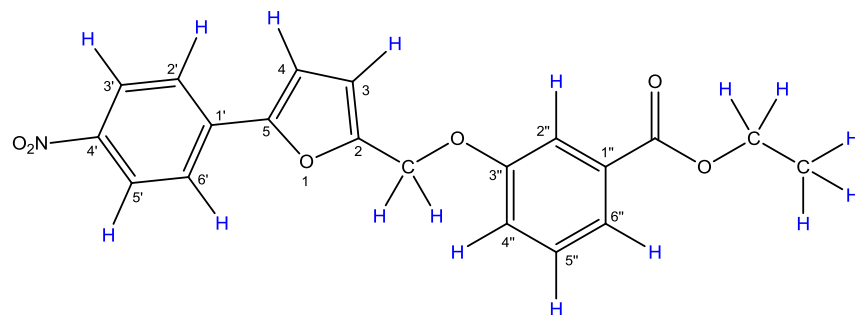
[3-[5-(4-nitrofenil)-2-furil]metoxi]benzoato de etilo (3a)

¹H-RMN



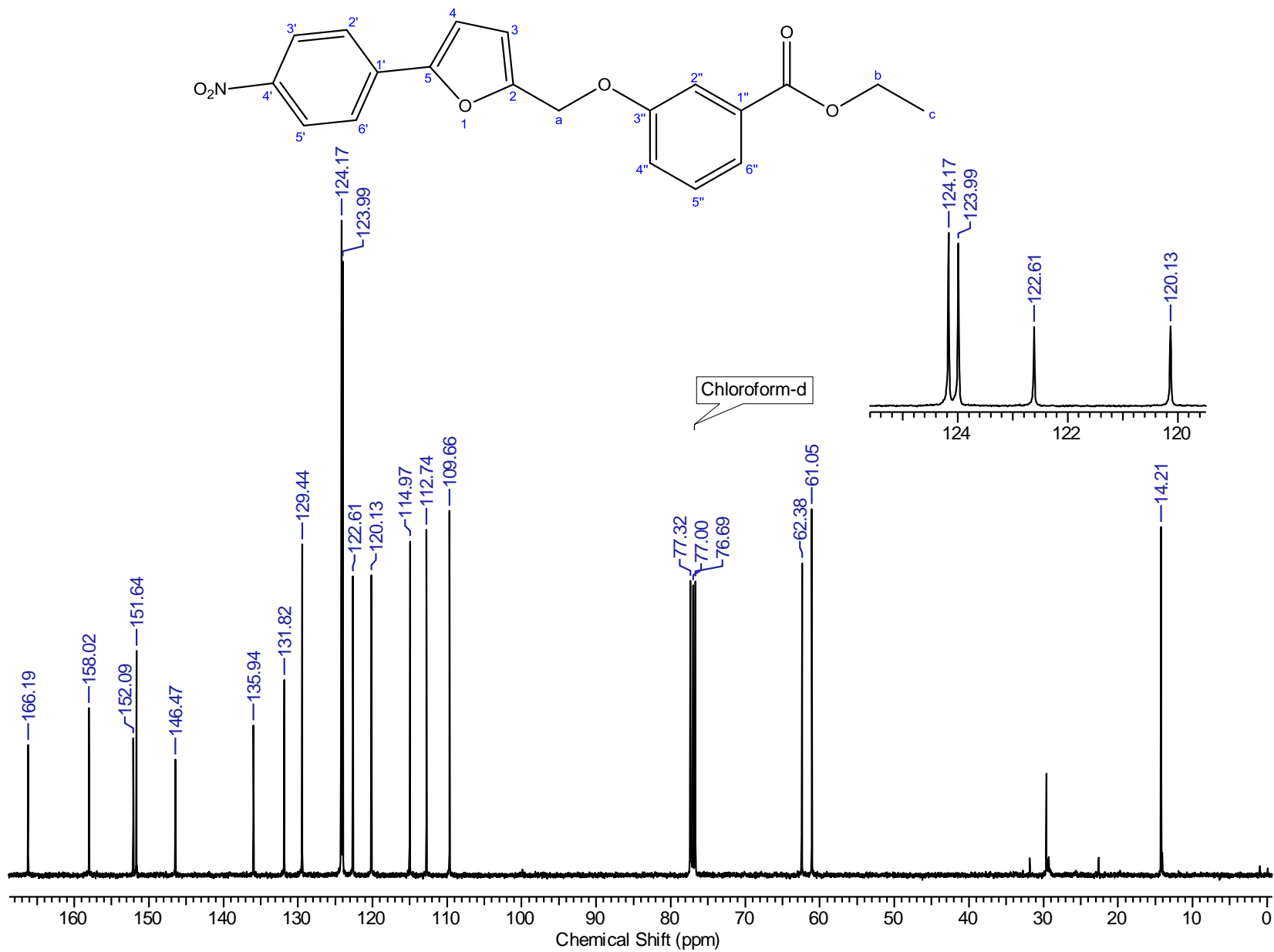
[3-[5-(4-nitrofenil)-2-furil]metoxi]benzoato de etilo (3a)

¹H-RMN

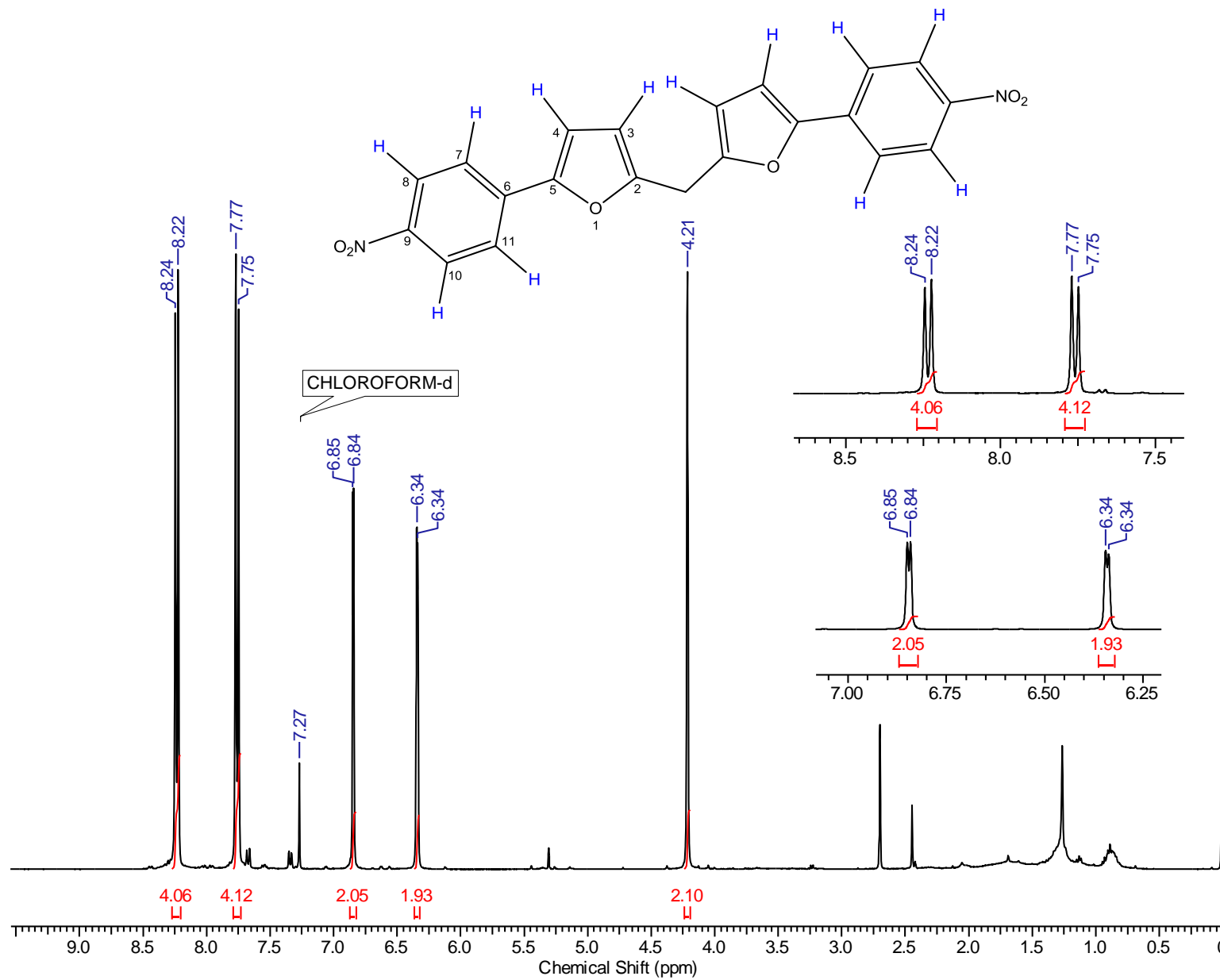


[3-[5-(4-nitrofenil)-2-furil]metoxi]benzoato de etilo (**3a**)

¹³C-RMN

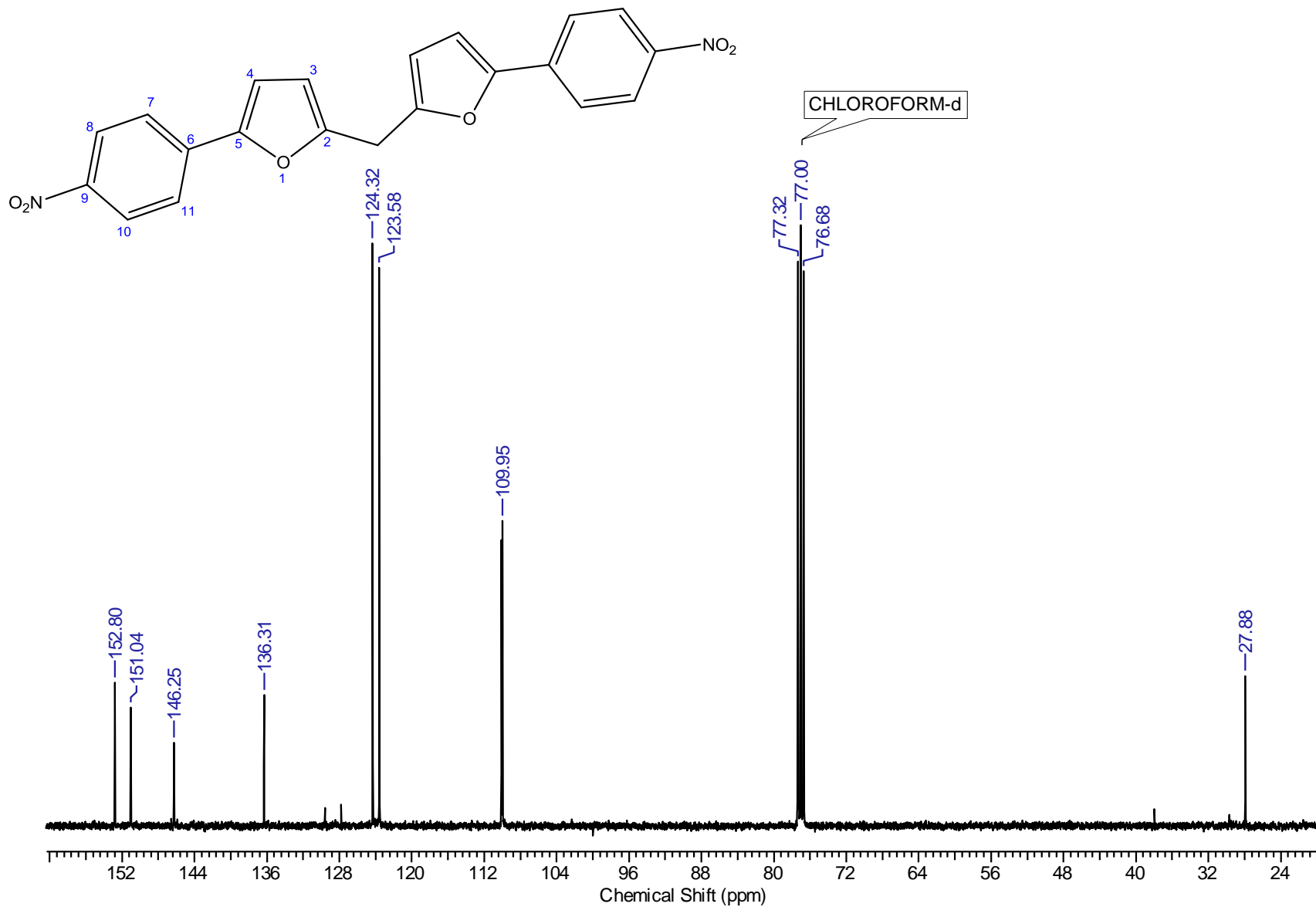


bis[5-(4-nitrofenil)-2-furil]metano (4f)

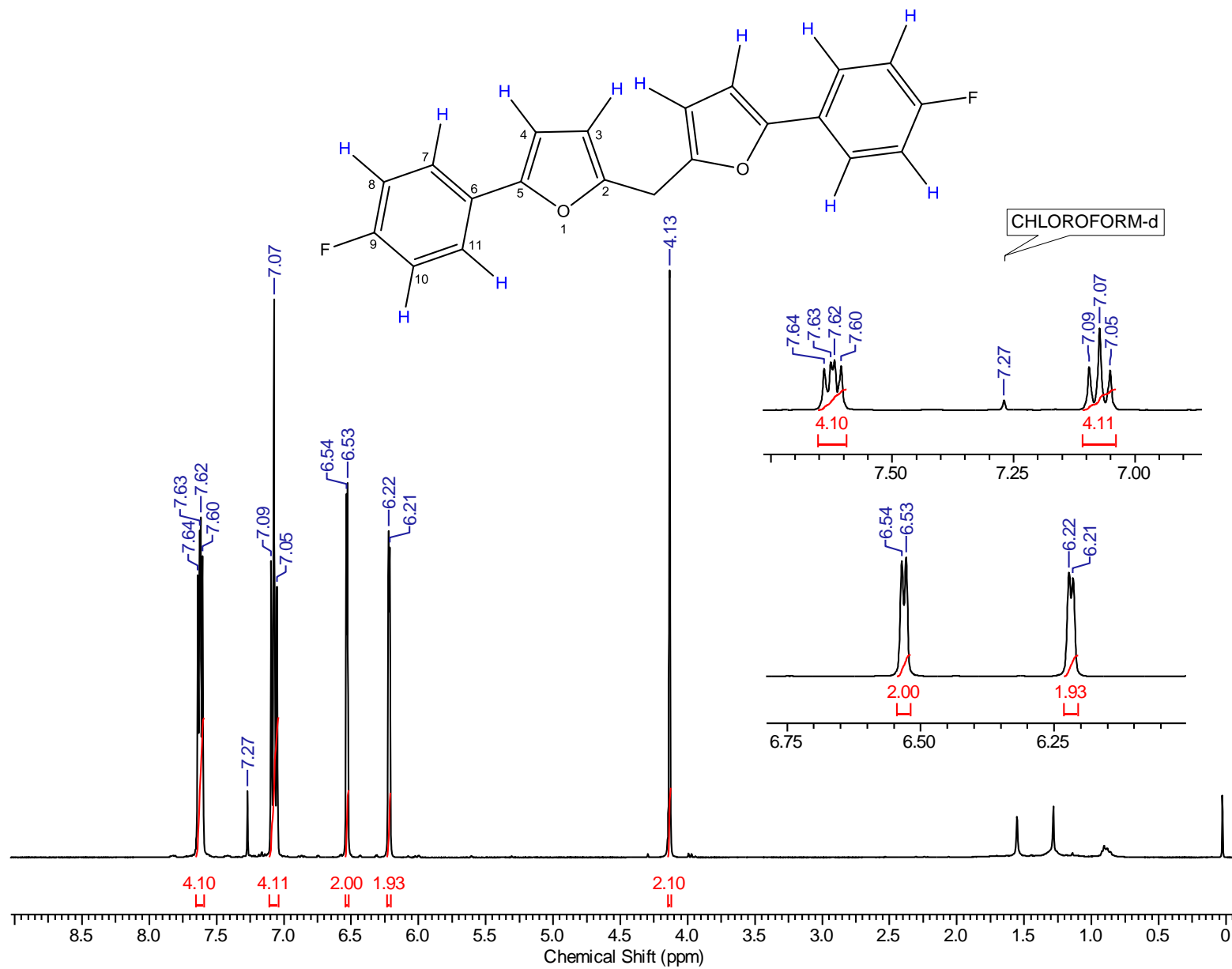
¹H-RMN

bis[5-(4-nitrofenil)-2-furil]metano (**4f**)

¹³C-RMN

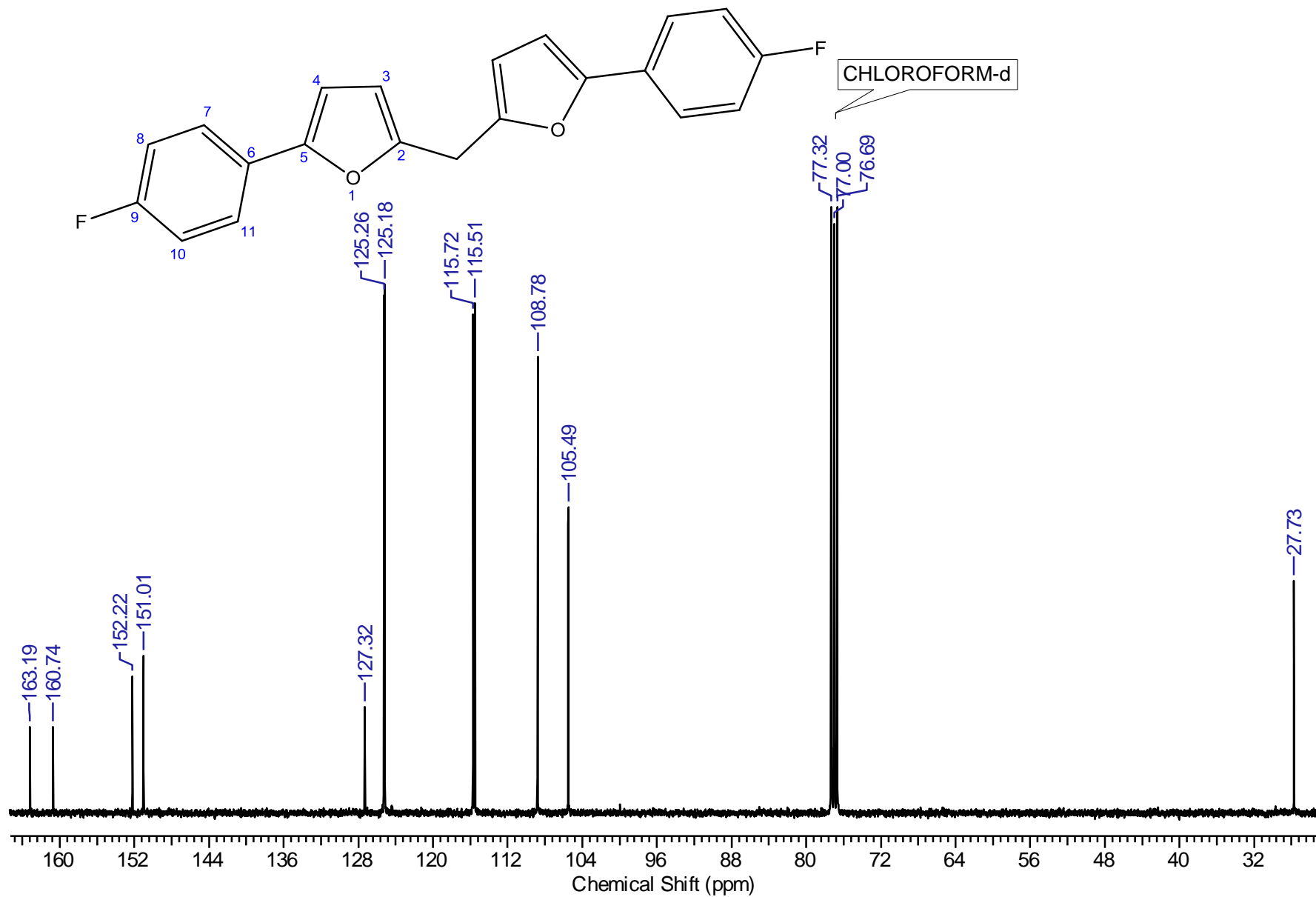


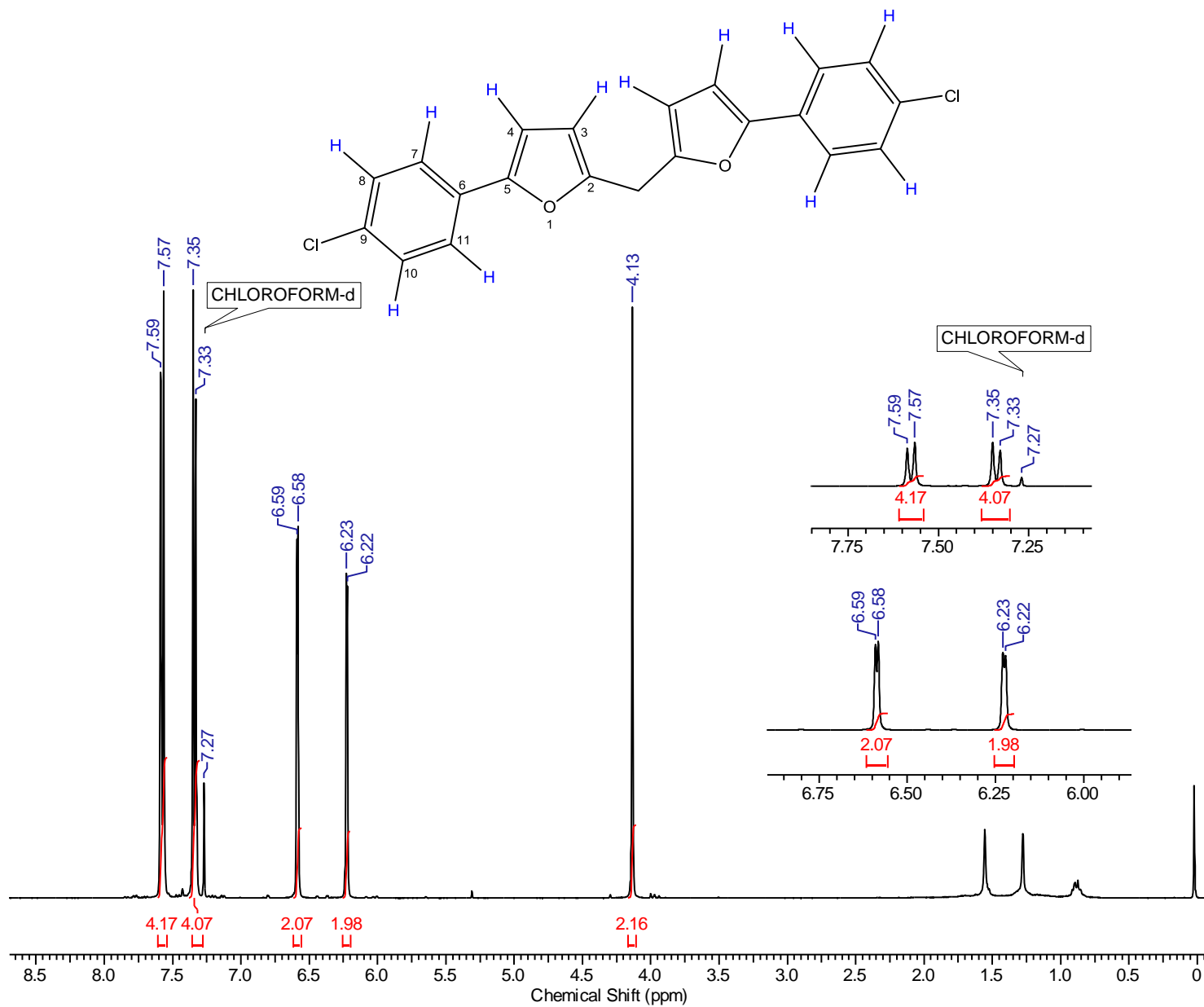
bis [5-(4-fluorofenil)-2-furil] metano (4a)

¹H-RMN

bis [5-(4-fluorofenil)-2-furil] metano (4a)

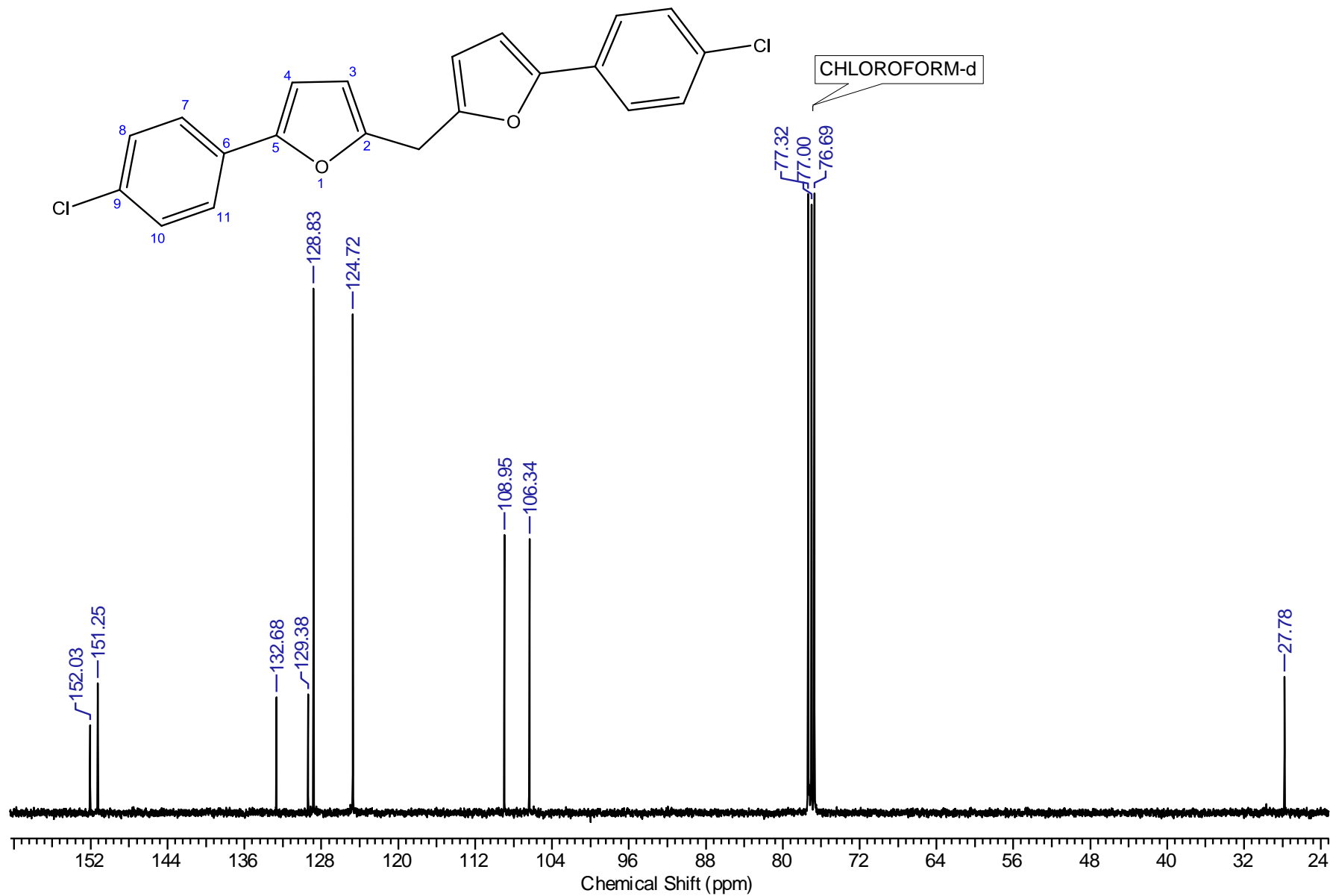
¹³C-RMN

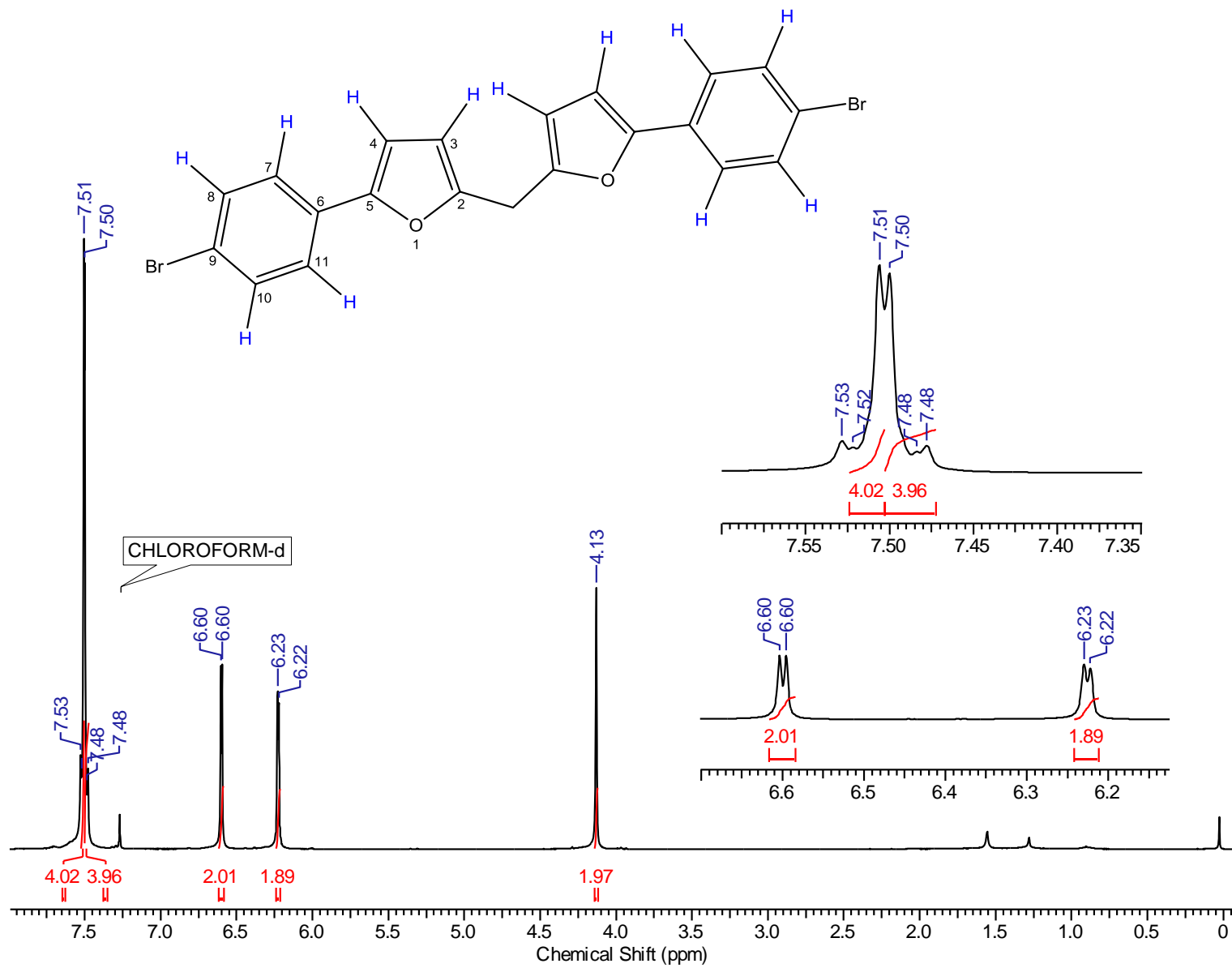


bis [5-(4-clorofenil)-2-furil]metano (**4b**)¹H-RMN

bis [5-(4-clorofenil)-2-furil]metano (**4b**)

¹³C-RMN



bis [5-(4-bromofenil)-2-furil] metano (**4c**)¹H-RMN

bis [5-(4-bromofenil)-2-furil] metano (**4c**)

¹³C-RMN

