



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**SÍNTESIS DE DIHIDROISOQUINOLINAS FUSIONADAS PARA SU APLICACIÓN
EN SONDAS FLUORESCENTES**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. CYNTHIA ORTA SOTELO

Dr. LUIS DEMETRIO MIRANDA GUTIÉRREZ
INSTITUTO DE QUÍMICA

CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE DE 2020.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**SÍNTESIS DE DIHIDROISOQUINOLINAS FUSIONADAS PARA SU APLICACIÓN
EN SONDAS FLUORESCENTES**

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. CYNTHIA ORTA SOTELO

Dr. LUIS DEMETRIO MIRANDA GUTIÉRREZ
INSTITUTO DE QUÍMICA



Ciudad de México, septiembre de 2020.

Este trabajo se realizó en el laboratorio 1-2 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Bajo la dirección del Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez.

Con el financiamiento del proyecto CONACyT No. 284976.

Parte de los resultados de este trabajo han sido publicados en el siguiente artículo:

Amador-Sánchez, Y. A.; Aguilar-Granda, A.; Flores-Cruz, R.; González-Calderón, D.; Orta, C.; Rodríguez-Molina, B.; Jiménez-Sánchez, A.; Miranda, L. D. "Diversity-Oriented Synthesis of Highly Fluorescent Fused Isoquinolines for Specific Subcellular Localization" *J. Org. Chem.* **2020**, 85, 633.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Instituto de Química, mi infinita gratitud por mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT, por financiar mis estudios de maestría (No. CVU: 832140).

Las palabras son insuficientes para expresar mi agradecimiento al Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez. Gracias por brindarme la oportunidad de formar parte de tu grupo de investigación, por todo el apoyo durante mis estudios de maestría, por motivarme a mejorar, por los consejos y por las enseñanzas.

A los miembros del jurado: Dr. José Norberto Farfán García, Dr. Heraclio López Ruiz, Dra. María del Carmen Virginia Ortega Alfaro, Dr. Alejandro Dorazco González y Dr. Rubén Omar Torres Ochoa; por sus valiosas observaciones y sugerencias, que sin duda mejoraron este trabajo.

A los técnicos académicos del Instituto de Química: Dra. Ma. del Carmen García González, Q. Ma. de los Ángeles Peña, M. en C. Elizabeth Huerta Salazar, Q.F.B. Ma. del Rocío Patiño Maya, Ing. Gladys Cortés Romero; por la capacitación y la asistencia técnica brindada. Al Dr. Arturo Jiménez Sánchez, por los estudios de microscopía de fluorescencia.

A Yoarhy Alejandro Amador Sánchez y a Pedro López Mendoza, por compartir su conocimiento conmigo, por su apoyo y por su amistad.

A mis compañeros del laboratorio 1-2 y 2-3 del Instituto de Química.

A mis padres, por confiar en mí, por apoyarme incondicionalmente y alentarme a alcanzar mis sueños.

A mis hermanos, Stephanie y César, por su apoyo y su cariño.

Índice

Abreviaturas y acrónimos.....	02
Resumen.....	03
Introducción.....	04
Antecedentes.....	05
<i>La reacción de cuatro componentes de Ugi.....</i>	<i>05</i>
<i>Síntesis multicomponente de fluoróforos de isoquinolina.....</i>	<i>07</i>
<i>Sondas moleculares fluorescentes.....</i>	<i>08</i>
Planteamiento del problema.....	10
Hipótesis.....	11
Objetivos.....	11
Resultados y discusión.....	12
<i>Introducción de anillos heterocíclicos en el sistema fusionado tipo 29.....</i>	<i>12</i>
<i>Introducción de isonitrilos convertibles en la estrategia sintética.....</i>	<i>15</i>
<i>Empleo de la reacción de Reissert para la síntesis del sistema fusionado tipo 29.....</i>	<i>18</i>
Conclusiones.....	20
Parte experimental.....	21
Referencias.....	28

Abreviaturas y acrónimos

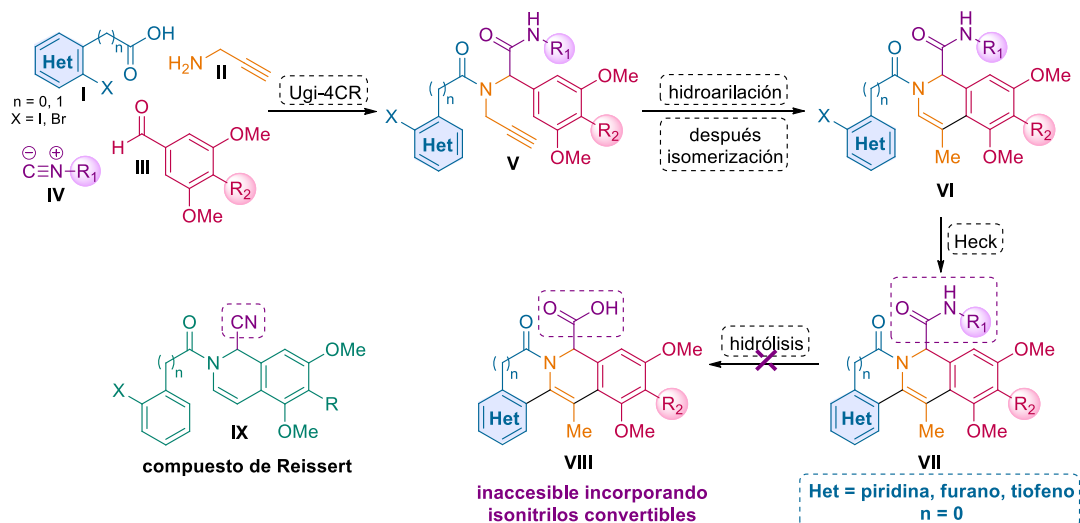
Ac	acetilo	S₁	primer estado singulete excitado
Bn	bencilo	S₂	segundo estado singulete excitado
BODIPY	borodipirrometano	t	señal triple
bs	señal amplia	T₁	estado triplete
CC	cromatografía en columna	ta	temperatura ambiente
cm	centímetros	TBS	<i>tert</i> -butildimetilsililo
conc.	concentrado	<i>t</i>Bu	<i>tert</i> -butilo
Cy	ciclohexilo	THF	tetrahidrofurano
d	señal doble	TMRM	éster metílico de la tetrametilrodamina
DART	análisis directo en tiempo real	TMS	tetrametilsilano
DMAP	4-(dimetilamino)piridina	TOS	síntesis orientada a una molécula objetivo
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida	Ts	tosilo
DOS	síntesis orientada a la diversidad	Ugi-4CR	reacción de cuatro componentes de Ugi
E	energía	W	watts
equiv	equivalentes	°C	grados Celsius
Et	etilo	Å	ángstroms
g	gramos	δ	desplazamiento químico
h	horas	Φ_{fl}	rendimiento cuántico de fluorescencia
HeLa	línea celular de cáncer cervicouterino	μm	micrómetros
Het	grupo heteroaromático	ν	frecuencia
Hex	hexano		
HRMS	espectrometría de masas de alta resolución		
Hz	hertz		
I_{abs}	intensidad de absorción		
IC	conversión interna		
I_{em}	intensidad de emisión		
IR	infrarrojo		
ISC	cruce intersistema		
J	constante de acoplamiento		
JohnPhos	(2-bifenil)di- <i>tert</i> -butilfosfina		
log P	coeficiente de partición		
m	señal múltiple		
M	molar		
MCR	reacción de multicomponentes		
Me	metilo		
mg	miligramos		
MHz	megahertz		
min	minutos		
mL	mililitros		
mM	milimolar		
mmol	milimol		
MS	malla molecular		
MW	irradiación por microondas		
<i>m/z</i>	relación masa/carga		
Naph	naftilo		
<i>n</i>Bu	butilo		
nm	nanómetros		
Nu	nucleófilo		
R_f	factor de retención		
p.f.	punto de fusión		
Ph	fenilo		
ppm	partes por millón		
RMN ¹H	resonancia magnética nuclear de hidrógeno		
RMN ¹³C	resonancia magnética nuclear de carbono		
s	señal simple		
S₀	estado basal		

Resumen

En el presente trabajo, se describe la síntesis de siete fluoróforos isoquinolínicos tetracíclicos de tipo **VII**, así como la evaluación de sus propiedades fotofísicas (absorción, emisión y rendimiento cuántico); esto en la búsqueda de derivados más eficientes y/o con localización subcelular diferenciada para su aplicación como sondas fluorescentes. La ruta sintética se basa en una reacción de Ugi-4CR (**V**), seguida de una hidroarilación de alquino, para construir el sistema isoquinolínico **VI**; y finalmente una reacción de Heck para ensamblar el tetraciclo **VII**.

En una primera parte, se abordó la síntesis de derivados que incluyeran sistemas heteroaromáticos (tales como piridina, furano o tiofeno) en el sistema fusionado tetracíclico. Este objetivo se logró mediante la introducción del ácido carboxílico adecuado en la reacción de Ugi-4CR. Como se esperaba, estas moléculas resultaron ser fluorescentes. Aún más interesante, estudios de localización subcelular utilizando microscopía confocal en células HeLa, mostraron una distribución específica sobre lisosomas para dos de estos fluoróforos.

La incorporación de isonitrilos convertibles para la funcionalización del sistema tetracíclico con un ácido carboxílico (compuesto **VIII**), no procedió exitosamente. Como alternativa para acceder a estos compuestos, se ha propuesto una estrategia diferente, empleando la reacción de Reissert para la obtención del intermediario isoquinolínico **IX**.



Introducción

Actualmente, en la búsqueda de moléculas con propiedades farmacológicas relevantes, así como en el desarrollo de nuevos materiales para diferentes aplicaciones, uno de los retos importantes que enfrenta un químico orgánico sintético, es desarrollar estrategias sintéticas cada vez más cortas, económicas y compatibles ambientalmente.¹ Dentro de este contexto, las reacciones de multicomponentes (MCR) se han convertido en herramientas importantes, tanto en la síntesis orientada a una molécula objetivo (TOS), como en la síntesis orientada a la diversidad (DOS).²

Esta última estrategia es una aproximación sintética muy útil para la exploración eficiente del espacio químico, en la cual se procura la creación de librerías moleculares estructuralmente diversas. Este objetivo se logra mediante la incorporación de diferentes motivos estructurales, a través del diseño de secuencias sintéticas unificadas y compactas.³

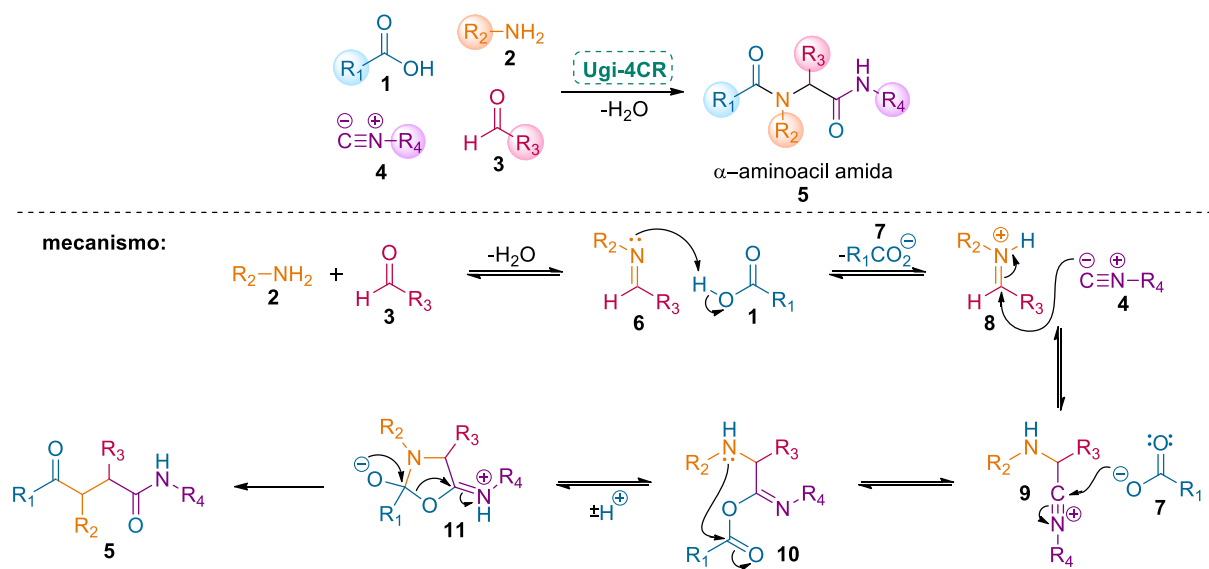
Una MCR se define como el proceso en el cual tres o más reactivos reaccionan para formar un solo producto, de tal manera que la mayoría de los átomos de los reactivos integren dicho producto.² Gracias a la facilidad con la que se pueden generar una variedad de productos con alta complejidad y diversidad estructural, esta aproximación permite acelerar el descubrimiento de nuevas entidades moleculares, adquiriendo una importancia considerable dentro del área de la química medicinal y de nuevos materiales.⁴

Antecedentes

La reacción de cuatro componentes de Ugi

Entre las diferentes MCRs, la reacción de cuatro componentes de Ugi (Ugi-4CR), destaca por su simplicidad y por el grado de diversidad estructural que ofrece para la construcción de grandes librerías de compuestos.⁴ Esta reacción parte de un ácido carboxílico (**1**), una amina (**2**), un aldehído (**3**) y un isonitrilo (**4**), para producir α -aminoacilamidas (**5**) en un solo paso (**Esquema 1**). Mecánicamente, la condensación entre el aldehído (**3**) y la amina (**2**) produce la imina **6**, la cual, después de una reacción ácido-base con el ácido carboxílico (**1**), forma el ión iminio **8**, que posteriormente sufre la adición nucleofílica del isonitrilo (**4**); seguida del ataque nucleofílico del carboxilato **7** sobre **9**, generando el intermediario **10**. Finalmente, una transferencia de grupo acilo (ordenamiento de Mumm) genera el producto de Ugi **5**.⁵

Como puede observarse en el mecanismo, solo una molécula de agua es obtenida como subproducto, por lo que es considerado un proceso con alta economía atómica. Adicionalmente, atributos como su alta convergencia, los rendimientos generalmente altos que se obtienen, y a que los procesos de purificación requeridos suelen ser sencillos, han hecho que esta reacción haya adquirido gran relevancia en la química moderna.²



Esquema 1. Reacción de cuatro componentes de Ugi (Ugi-4CR).

Una aproximación interesante dentro del enfoque de la DOS, es la combinación consecutiva de una reacción de Ugi-4CR con reacciones posteriores (*post-condensación*). Protocolos que han sido extensamente aplicados en la síntesis de heterociclos, macrociclos y compuestos de interés medicinal.⁶ La estrategia permite modificar fácilmente la estructura molecular. Esto mediante la introducción de grupos funcionales adecuados en los componentes iniciales, y que permiten realizar manipulaciones posteriores.⁷

Uno de los inconvenientes que limitan el uso directo de los productos de Ugi para algunas aplicaciones, es la baja reactividad de la amida secundaria que deriva del isonitrilo. Específicamente, la posibilidad de hidrólisis de esta amida a su correspondiente ácido

carboxílico; o bien, su transformación directa a un éster o amida diferente (**Figura 1**). Esto, entre otras cosas, permite expandir la diversidad molecular de los productos Ugi-4CR, más allá de las amidas secundarias, en procedimientos *post*-condensación. Estas transformaciones también aliviarían, en parte, la limitante de la escasa disponibilidad comercial de isonitrilos.⁸

Una solución a este problema, es la introducción de un “isonitrilo convertible” como componente en la reacción Ugi-4CR. Originalmente, este término fue introducido por Armstrong en 1995^{8a} para referirse al 1-ciclohex-1-enisonitrilo (**4a**) (**Figura 1**), cuyo producto de Ugi pudiera ser convertido, bajo condiciones ácidas en un solo paso posterior a la Ugi-4CR, a ésteres, tioésteres, ácidos carboxílicos, pirroles, entre otros grupos funcionales.^{8a,8b}

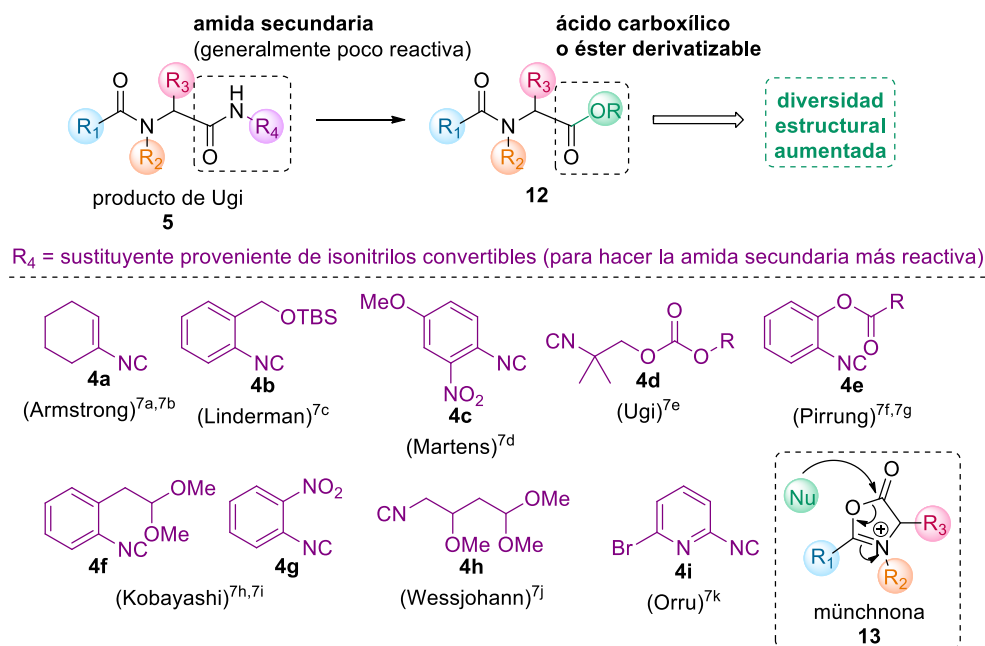


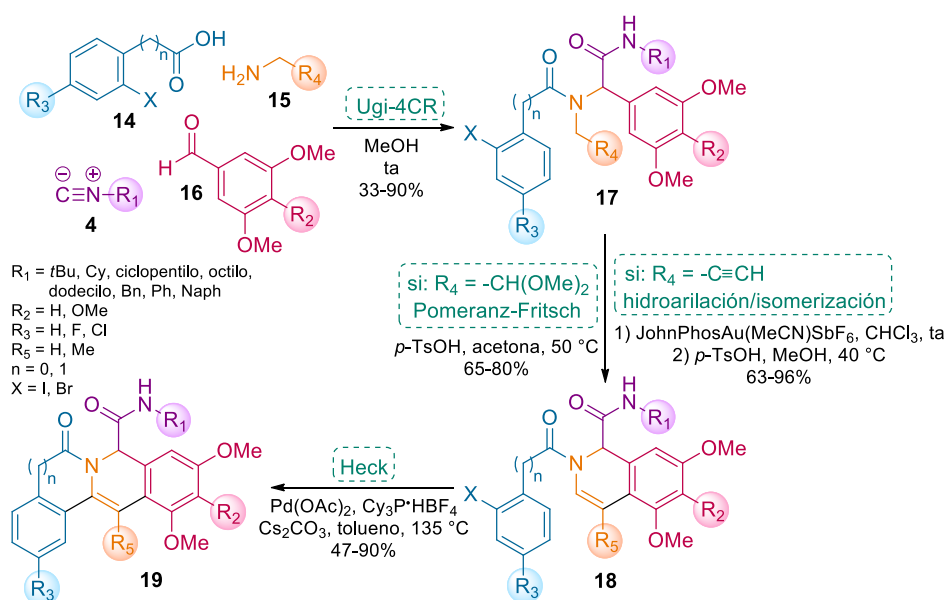
Figura 1. Estructura de algunos de los diferentes isonitrilos convertibles que se han reportado.

En las últimas dos décadas, se han reportado un número considerable de isonitrilos convertibles,^{8c-8k} sin embargo, la mayoría de ellos presentan algún inconveniente. Entre estos, se puede mencionar la dificultad para su preparación, ya que suelen ser procesos largos y/o además de la necesidad de emplear trifosgeno tóxico (o alguno de sus derivados) en la síntesis. Entre las excepciones al uso de trifosgeno está la síntesis de los isonitrilos **4d** reportados por Ugi^{8e} y **4e** por Pirrung,^{8f,8g} cuyo método de preparación se basa en la apertura de heterociclos mediada por base (*n*BuLi). Otra desventaja importante en algunos isonitrilos convertibles, es que la conversión de la amida secundaria después de la Ugi-4CR, en ciertos casos se lleva a cabo en varios pasos. Este es el caso del isonitrilo **4h** reportado por Wessjohann,^{8j} cuya activación involucra la formación de un *N*-acilpirrol. En tanto que los isonitrilos reportados por Kobayashi, requieren de la formación de un *N*-acilindol (para el isonitrilo **4f**^{8h}) o de la construcción de un benzotriazol (a partir del isonitrilo **4g**⁸ⁱ). Los dos últimos ofrecen como ventaja que la conversión se lleva a cabo bajo condiciones suaves (Et₃N, a temperatura ambiente), en comparación con las condiciones fuertemente básicas o ácidas generalmente requeridas para este proceso. Algunos productos de Ugi, para su conversión, requieren de la formación en medio ácido de una

oxazolinio-5-ona (**7**, münchnona), como intermediario reactivo, cuya formación está limitada por la necesidad de un grupo *N*-acilo rico en electrones. Este es el caso de la conversión del isonitrilo de Armstrong (**4a**)^{8a,8b} y del reportado por Pirrung (**4e**).^{8f,8g} Por otro lado, si el nitrógeno de la amida del producto de Ugi está unido a un grupo electroattractor, la hidrólisis, bajo condiciones básicas, es posible sin necesidad de la formación de algún otro intermediario. Es el caso del (2-nitro-4-metoxifenil)isonitrilo (**4c**) empleado por Martens,^{8d} o del 2-(6-bromopiridil)isonitrilo (**4i**) diseñado por Orru.^{8k} Este último permite la conversión de las amidas secundarias a ésteres, tioésteres, ácidos carboxílicos, así como a otras amidas secundarias, tanto en condiciones básicas como ácidas (probablemente vía la münchnona intermediaria).^{8k}

Síntesis multicomponente de fluoróforos de isoquinolina

Un ejemplo elegante de la aplicación de procedimientos *post*-condensación es el desarrollado recientemente por nuestro grupo de investigación. Este consistió en una estrategia sintética orientada a la diversidad estructural para la obtención de fluoróforos de isoquinolina. La ruta sintética se basó en una reacción de Ugi-4CR para la obtención de los productos tipo **17**; seguida de una hidroarilación de alquino o una reacción tipo Pomeranz-Fritsch, para construir el sistema isoquinolínico **18**; y finalmente una reacción de Heck para ensamblar el tetraciclo **19** (**Esquema 2**).⁹ Como se puede observar, el protocolo consta de solo tres o cuatro etapas de reacción (dependiendo de la amina de partida); y permite obtener tetraciclos con una diversidad impresionante, tanto en los sustituyentes que los decoran, como en la naturaleza de los sistemas aromáticos. Es importante señalar que en este estudio solo se introdujeron sistemas bencenoides.



Esquema 2. Síntesis orientada a la diversidad estructural para la obtención de fluoróforos isoquinolínicos desarrollada previamente.

Hasta el momento del inicio del presente trabajo, se habían sintetizado de manera práctica cerca de 20 nuevas isoquinolinas tetracíclicas, que resultaron ser altamente emisivas, algunas de ellas con rendimientos cuánticos cercanos a la unidad. Este sistema tetracíclico

resultó ser un nuevo fluoróforo no descrito hasta ese momento. Más interesantes fueron las observaciones cuando estas moléculas se utilizaron en experimentos de tinción en células vivas, para ser visualizadas a través de microscopía confocal. En estos ensayos se descubrió que distintas moléculas tiñen de manera selectiva diferentes organelos. Esto dependiendo de la cadena lateral (sustituyente proveniente del isonitrilo) y de algunos otros atributos estructurales, que fueron modulados inicialmente seleccionando apropiadamente los componentes en la reacción de Ugi. Con este estudio se encontraron moléculas para marcaje selectivo de mitocondria, aparato de Golgi y membrana celular.⁹

La facilidad que ofrece la estrategia para acceder a derivados de estos localizadores subcelulares, modulando los sustituyentes en las isoquinolinas tetracíclicas, representa una ventaja sobre las síntesis clásicas de sondas moleculares fluorescentes.⁹

Este sin duda, es un ejemplo de cómo la DOS permite de manera práctica la exploración del espacio químico, en la aventura de descubrir nuevas moléculas con aplicaciones importantes. En este caso, para el desarrollo de nuevos materiales (no solo en la química medicinal). Es importante mencionar que este trabajo abrió la puerta para la síntesis de muchos otros derivados con diferente naturaleza electrónica, en la exploración de nuevos materiales fluorescentes para diferentes aplicaciones.

Sondas moleculares fluorescentes

En las últimas décadas, el uso de sondas moleculares fluorescentes en estudios biológicos ha tenido un crecimiento considerable.^{10a} Las sondas fluorescentes son herramientas moleculares que permiten el estudio de un sistema biológico mediante la visualización directa y proporciona información dinámica referente a la localización y cuantificación de biomoléculas. Esto normalmente se logra gracias a una alta sensibilidad y especificidad, a tiempos de respuesta rápida y a la simplicidad que la técnica ofrece.^{10b} Además, el incremento en la resolución óptica de las imágenes obtenidas por microscopía confocal, ha facilitado y ampliado significativamente las aplicaciones de estas herramientas en el estudio de células vivas.^{10a}

Algunas características atractivas en las sondas moleculares son: bajo peso molecular, alta fotoestabilidad y alto brillo. Asimismo, una relación señal/ruido alta y tiempos de adquisición cortos son deseables.^{10c} Estas propiedades son importantes en el diseño de sondas fluorescentes subcelulares, donde el ambiente celular puede influir en la respuesta de la sonda, así como en su distribución en la célula.⁹ Una estrategia ampliamente aplicada en el diseño de sondas, consiste en conjugar un fragmento de anclaje (responsable de localizarse específicamente en un sitio o región de la célula u organelo^{10d}) a un fluoróforo (moléculas que son utilizadas en virtud de sus propiedades fluorescentes¹¹), por lo general basados estructuralmente en BODIPYs (**20**), o en colorantes como cianinas (**21**), fluoresceína (**22**) o rodamina (**23**) (**Figura 2**).^{10e} Actualmente, varias sondas fluorescentes para la tinción específica de organelos se encuentran disponibles comercialmente;¹⁰ sin embargo, sus costos suelen ser altos; además, no logran satisfacer la creciente demanda para el estudio específico de unidades subcelulares diversas, tanto en composición química, como en función.

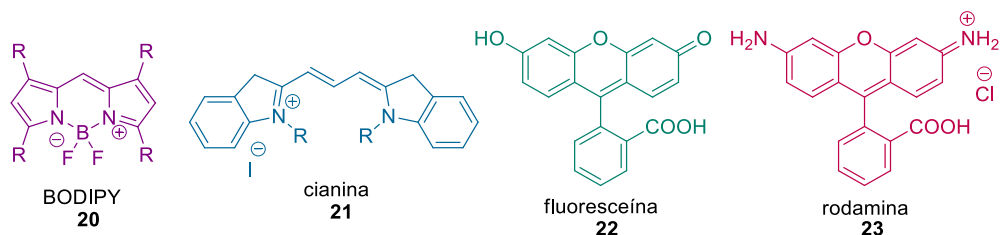


Figura 2. Estructuras moleculares de diferentes fluoróforos.

Cuando una molécula fluorescente es expuesta a una fuente de luz, la absorción de un fotón produce una molécula excitada electrónicamente. Esto es, la promoción de un electrón del estado basal (S_0) a un estado singulete excitado (energéticamente más alto). Dependiendo de la energía de la radiación electromagnética, un intervalo de estados singulete excitados con diferentes energías vibracionales pueden ser accesibles, pero todos estos relajan al estado energético más bajo, el primer estado singulete excitado (S_1). El destino de S_1 se define por procesos radiativos y no radiativos. Los procesos radiativos son transiciones a estados energéticos más bajos por emisión de luz; mientras que la energía disipada en una transición no radiativa es perdida como calor. S_1 puede retornar a S_0 por fluorescencia (transición radiativa), o por conversión interna (IC) (transición no radiativa); también puede proceder al estado triplete (T_1) por un proceso no radiativo que involucra una inversión de espín, conocido como cruce intersistema (ISC). Ya que la transición de T_1 a S_0 también involucra inversión de espín, los estados T_1 tienden a tener una vida más larga, decayendo por fosforescencia (transición radiativa).¹² Los diagramas de Jablonski, son útiles para entender estos procesos,¹¹ tal como se muestra en la **Figura 3**.

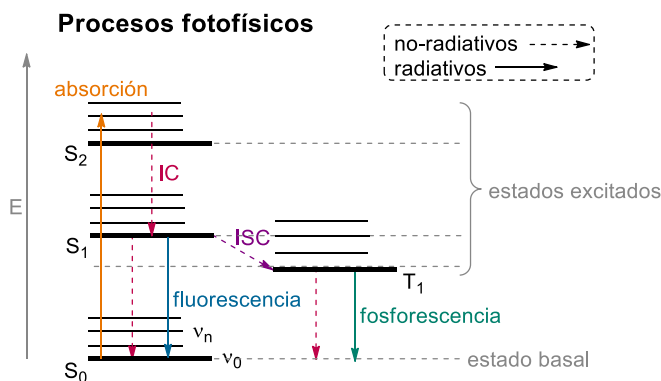


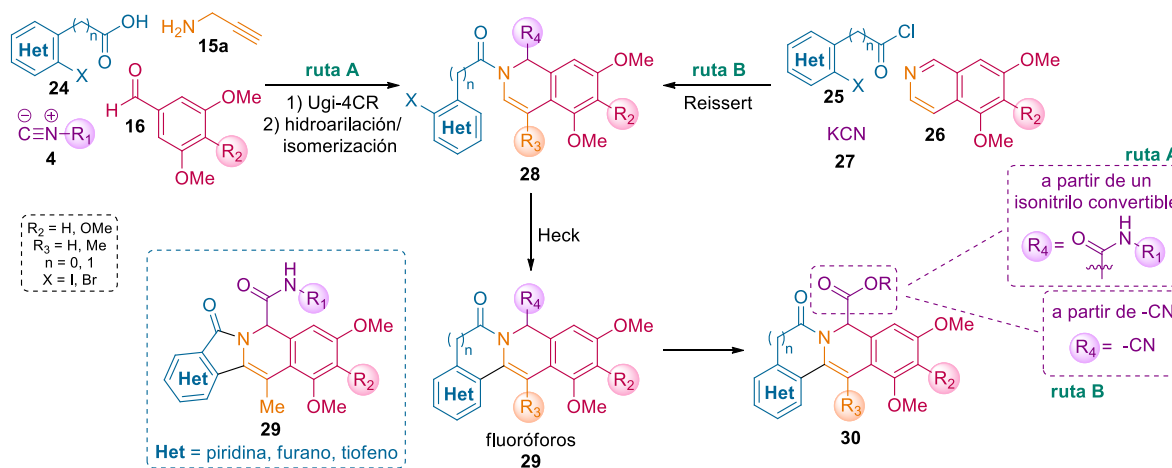
Figura 3. Diagrama de Jablonski para describir los procesos fotofísicos de una molécula.

La luz emitida por fluorescencia es, típicamente, de longitud de onda más larga que la luz absorbida. La diferencia entre las longitudes de onda de excitación y emisión, conocida como desplazamiento de Stokes, es la propiedad crítica que hace de la fluorescencia una herramienta tan poderosa en microscopía; ya que por filtración completa de la luz de excitación sin bloquear la de emisión (fluorescencia), es posible observar solo los objetos que fluorescen.¹¹ El rendimiento cuántico de un fluoróforo es una medida de la eficiencia de la fluorescencia, definido como la relación del número de fotones emitidos por el número de fotones absorbidos. Rendimientos cuánticos cercanos a la unidad significa que esencialmente todas las moléculas en el estado excitado S_1 regresan al estado S_0 por la emisión de un fotón; y que procesos no radiativos son mucho más lentos. Además, un rendimiento cuántico alto incrementa la intensidad de fluorescencia.¹¹

Planteamiento del problema

El desarrollo de sondas moleculares fluorescentes para la visualización de células vivas ha tenido un crecimiento importante. Esto, en respuesta a la actual demanda para el estudio de sistemas subcelulares diversos. Estudios previos⁹ han demostrado la utilidad sintética de la reacción Ugi-4CR para la obtención de tetraciclos isoquinolínicos (ver el **Esquema 2**, pág. 7), los cuales fueron empleados exitosamente como localizadores subcelulares en experimentos por microscopía confocal. Inspirados en los resultados anteriores, se decidió continuar con la síntesis de derivados estructuralmente relacionados a los previamente estudiados, utilizando el mismo protocolo sintético.

Una primera extensión, lógica y a la vez muy atractiva desde el punto de vista de la fluorescencia, fue la sustitución de uno de los sistemas bencenoides del tetraciclo, por un sistema heterocíclico. Esto pensando en cambiar significativamente la distribución electrónica de la molécula final para evaluar el efecto en sus propiedades fotofísicas. De manera práctica, la introducción de anillos heterocíclicos en el sistema fusionado **29** podría abordarse con el simple uso de un ácido carboxílico heterocíclico (**24**) como componente en la Ugi-4CR (*ruta A*, **Esquema 3**). Es importante mencionar que este pequeño cambio en uno de los componentes iniciales, aumentaría dramáticamente la diversidad estructural de las moléculas finales, lo cual permitiría estudiar no solo sus propiedades fotofísicas, también permitiría observar si se modifica su localización subcelular, en comparación con la observada anteriormente.



Esquema 3. Estrategia sintética para la obtención de fluoróforos isoquinolínicos.

Por otro lado, la estrategia más ampliamente aplicada en el diseño de sondas fluorescentes consiste en conjugar un fragmento de anclaje (con localización subcelular ya conocida) a un fluoróforo. Con base en esto, la obtención del ácido carboxílico **30** (R = H) sería de gran importancia, dado que éste podría servir como fluoróforo capaz de anclarse (vía un éster o amida) a un fragmento de anclaje determinado. Así, se pensó que esto podría lograrse mediante la introducción de un isonitrilo convertible, empleando la *ruta A*; que permitiría, en pasos posteriores, la conversión de la amida secundaria **29** (R₄ = CONHR₁) al ácido carboxílico **30** (R = H). Alternativamente, también se podría acceder a estos compuestos a través de una reacción de Reissert (**28** y **29** R₄ = CN *ruta B*); así, un grupo ciano sería, en este caso, el precursor sintético del ácido.

Hipótesis

La síntesis de los análogos estructurales a los fluoróforos isoquinolínicos de tipo **29** (uno incluyendo heterociclos en el sistema de anillos fusionados y otro funcionalizado con un ácido carboxílico) es posible empleando una secuencia de reacciones Ugi-hidroarilación de alquino-isomerización-Heck y/o mediante una secuencia Reissert-Heck. Los fluoróforos isoquinolínicos pueden ser utilizados como sondas moleculares fluorescentes.

Objetivos

Objetivo general

Sintetizar dos tipos de análogos estructurales de los fluoróforos isoquinolínicos tipo **29** para su aplicación como sondas fluorescentes: uno en donde se introduzcan heterociclos en el sistema de anillos fusionados, y el otro que contenga el ácido carboxílico derivado de la amida secundaria.

Objetivos específicos

- Sintetizar derivados tipo **29** que contengan anillos heterocíclicos en el sistema fusionado, mediante la introducción del respectivo ácido heterocíclico en la reacción Ugi-4CR.
- Desarrollar una metodología para la síntesis de los ácidos carboxílicos derivados de las amidas tipo **29**, esto a través de la incorporación de isonitrilos convertibles (ciclohexenisonitrilo y 2-(6-bromopiridil)isonitrilo) en la reacción Ugi-4CR y/o a través de una reacción de Reissert entre el cloruro de acilo **25**, la isoquinolina **26** y KCN, seguida de un acoplamiento de Heck y finalmente la hidrólisis del grupo nitrilo.
- Evaluar las propiedades fotofísicas, determinar los coeficientes de partición ($\log P$) y realizar los estudios de localización subcelular por microscopía confocal de los diferentes fluoróforos obtenidos.

Resultados y discusión

Introducción de anillos heterocíclicos en el sistema fusionado tipo 29

Como el objetivo en esta parte del trabajo fue la preparación de una serie de tetraciclos en donde se sustituyera un anillo de benceno por uno heterocíclico, se decidió incluir tanto sistemas π -deficientes como π -excesivos. Para esto se escogieron los anillos de piridina, furano y tiofeno. Como se había planteado, la secuencia sintética utilizada fue la desarrollada en un trabajo anterior. Para esto, se llevó a cabo la introducción de los anillos heterocíclicos, mediante la incorporación de ácidos 2-bromo-3-carboxílicos heteroaromáticos como componente en la reacción Ugi-4CR, en combinación con cuatro isonitrilos (*tert*-butilisonitrilo, ciclohexilisonitrilo, y los isonitrilos lipídicos: octilisonitrilo y dodecilisonitrilo) y dos aldehídos diferentes (3,4,5-trimetoxibenzaldehído y 3,5-dimetoxibenzaldehído). Así, la síntesis de los productos de Ugi propargílicos **31** se llevó a cabo a partir de una mezcla equimolar de propargilamina (**15a**), de los isonitrilos alifáticos **4**, de los benzaldehídos **16**, y de los ácidos 2-bromo-3-furancarboxílico, 2-bromo-3-tiofencarboxílico y 2-bromonicotínico (**Esquema 4**). La reacción se llevó a cabo en metanol, a temperatura ambiente, permitiendo la obtención de los productos de Ugi **31a-g** de manera exitosa, en rendimientos de 62 a 90%. Cabe mencionar que para algunos productos se observan los rotámeros de la amida terciaria en RMN.

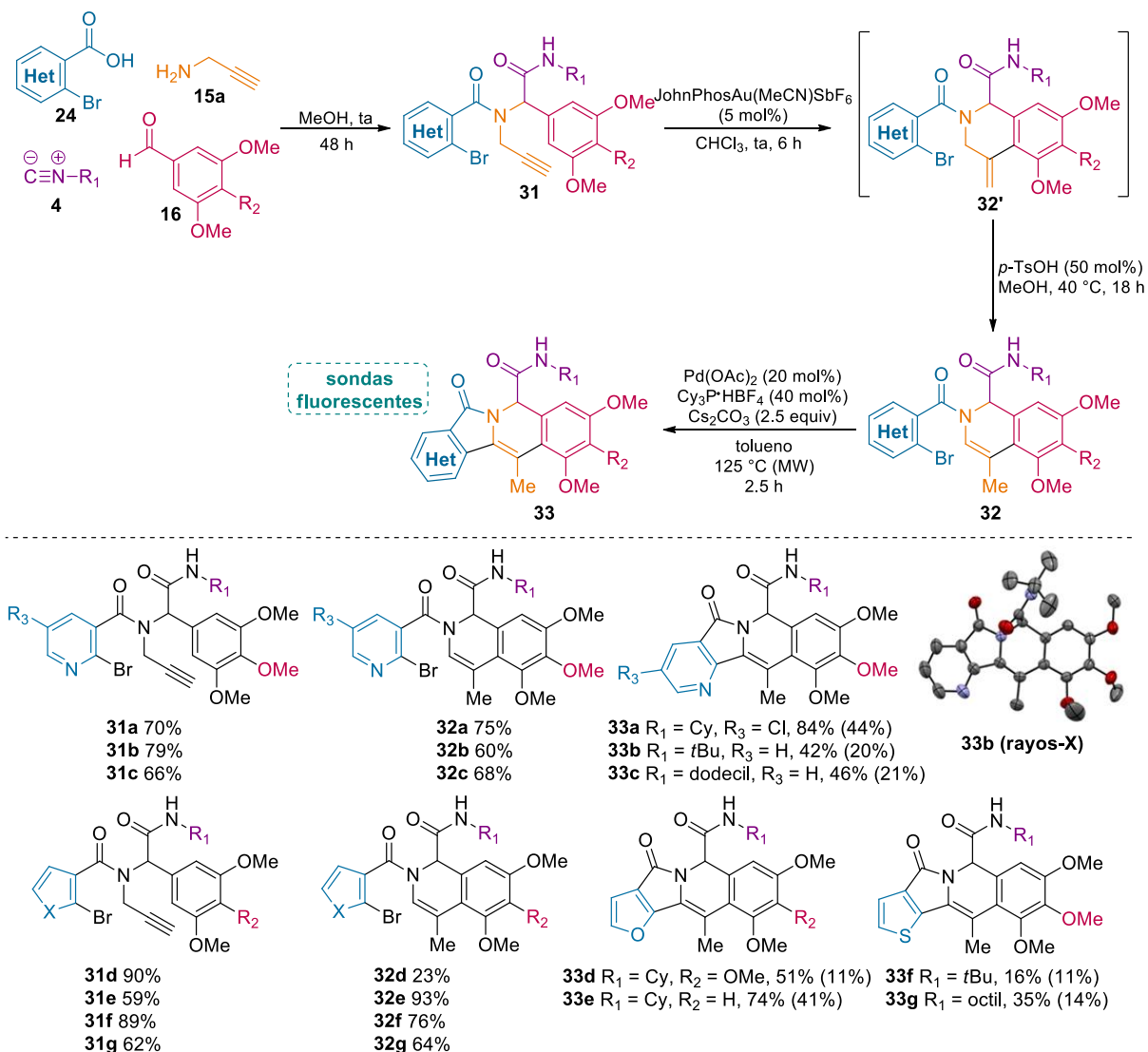
La siguiente reacción consistió en una hidroarilación de alquinos catalizada por Au(I) y la posterior isomerización del doble enlace. Así, se sometió cada uno de los productos de Ugi **31** a una cantidad catalítica (5 mol%) de JohnPhosAu(MeCN)SbF₆, bajo condiciones anhidras por 6 h, dando lugar a la obtención de las tetrahidroisoquinolinas correspondientes **32'**. Después, el disolvente se evaporó, el crudo de reacción se redisolvió en metanol. La adición de una cantidad subestequiométrica de *p*-TsOH (0.5 equiv), provocó la isomerización del doble enlace exocíclico al correspondiente endocíclico, produciendo las dihidroisoquinolinas **32a-g**, en rendimientos que van de moderados a excelentes (60-93%) para los dos pasos. Nuevamente, en algunos casos, los rotámeros de la amida terciaria son visibles en los espectros de RMN.

Finalmente, bajo las condiciones descritas para el acoplamiento de Heck (Pd(OAc)₂, Cy₃P·HBF₄, Cs₂CO₃, en tolueno, a 125 °C bajo irradiación de microondas), las dihidroisoquinolinas **32** reaccionaron para proporcionar los compuestos tetracíclicos **33**. Así, a partir de las dihidroisoquinolinas **32a-c** se prepararon las piridopirroloisoquinolinas **33a-c**, en rendimientos buenos (42-84%). Las correspondientes furopirroloisoquinolinas **33d** y **33e** se obtuvieron en 51 y 74% de rendimiento, respectivamente. Se sintetizaron también las tienopirroloisoquinolinas **33f** y **33g**, en rendimientos modestos (16 y 34%). Afortunadamente, fue posible la obtención de cristales del compuesto **33b** para su estudio por difracción de rayos-X, confirmando inequívocamente su estructura.

Es conveniente mencionar que el empleo de los isonitrilos: *tert*-butilisonitrilo, ciclohexilisonitrilo, octilisonitrilo y dodecilisonitrilo, permitieron la funcionalización de los fluoróforos tetracíclicos con cadenas alifáticas, aumentando con ello la diversidad estructural.

Este protocolo permitió la preparación de fluoróforos que contienen un anillo de piridina (**33a-c**), furano (**33d** y **33e**) o tiofeno (**33f** y **33g**) en el sistema fusionado, en tan solo tres

pasos de reacción, de una manera altamente convergente y eficiente, en rendimientos globales que van del 11 al 44%.



Esquema 4. Síntesis de las isoquinolinas fusionadas **33** (tipo **29**) mediante el protocolo Ugi-hidroarilación-isomerización-Heck. (Rendimiento global).

Con los compuestos tetracíclicos **33** sintetizados, en conjunto con el Dr. Arturo Jiménez-Sánchez, se continuó con el estudio de estas moléculas para su uso como sondas fluorescentes. Para ello, primeramente, se evaluaron las propiedades fotofísicas de dichas moléculas mediante espectrofotometría.

En la **Tabla 1** se muestran los datos espectrofotométricos de algunos de los fluoróforos **33**, así como los rendimientos cuánticos de fluorescencia (Φ_{fl}). Los tetracíclicos **33a** y **33b**, que contienen en su estructura el anillo de piridina, un sistema π -deficiente, presentan un rendimiento cuántico modesto ($\Phi_{fl} = 0.07$ y 0.19 , respectivamente). Por otro lado, los compuestos que incluyen estructuralmente los núcleos de furano (**33d** y **33e**) y tiofeno (**33f**), que son sistemas heterocíclicos π -excesivos, exhiben rendimientos cuánticos muy buenos ($\Phi_{fl} = 0.52-0.76$).

Además, para evaluar el comportamiento de estos compuestos como marcadores fluorescentes en células vivas, se determinaron sus coeficientes de partición ($\log P$) (la distribución de un soluto en una mezcla de dos disolventes inmiscibles¹³). Dichos datos también se muestran en la **Tabla 1**. Estos experimentos brindan información directa acerca del carácter lipofílico o hidrofílico que posee cada uno de los compuestos. Asimismo, los diferentes valores de $\log P$ sugieren que pueden observarse diferencias importantes en el patrón de localización subcelular de los fluoróforos.⁹ Los compuestos **33d** y **33e**, que contienen en su estructura anillos de furano, presentan coeficientes de partición más bajos, es decir, son menos lipofílicos que los compuestos **33a**, **33b** y **33f**.

Tabla 1. Propiedades ópticas y coeficientes de partición de algunos de los fluoróforos **33**.

Compuesto	$I_{\text{abs, max}}$ (nm) ^a	$I_{\text{em, max}}$ (nm) ^a	Desplazamiento de Stokes (cm ⁻¹)	Φ_{fl} ^b	$\log P$ ^c
33a	390	498	9.34×10^4	0.07	0.86
33b	390	479	1.12×10^5	0.19	1.00
33d	325	463	7.24×10^4	0.52	0.54
33e	390	478	1.13×10^5	0.76	0.60
33f	390	474	1.19×10^5	0.59	1.32

^aAbsorción y emisión en THF (2×10^{-6} M). ^bLos rendimientos cuánticos fueron determinados siguiendo el procedimiento reportado en la literatura,¹⁴ utilizando cumarina 102 como estándar. ^cLos coeficientes de partición fueron determinados por partición en octanol/agua, siguiendo el procedimiento descrito en la literatura.¹⁵

Finalmente, se realizaron los estudios de localización subcelular utilizando microscopía confocal en células HeLa (**Figura 4**). El compuesto **33a** se localizó sobre lisosomas y mitocondria. Los compuestos **33d** y **33e** mostraron una distribución específica sobre lisosomas. Los compuestos **33b** y **33f** no mostraron especificidad alguna en localización subcelular.

Para comprobar que las sondas **33** poseen una localización sobre estos organelos, se realizaron experimentos de colocalización utilizando TMRM, un localizador específico de mitocondria; y LysoTracker Deep Red, específico para lisosomas; ambos disponibles comercialmente.

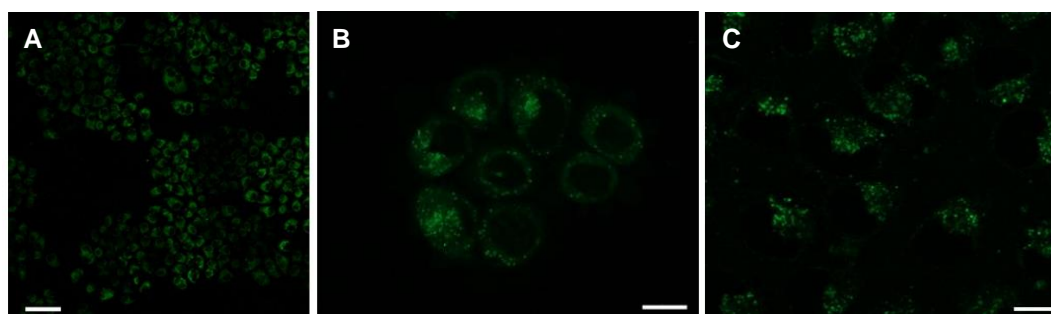


Figura 4. Localización intracelular de los fluoróforos sintetizados en células HeLa vivas, después de ser incubadas por 30 min con una solución 5 mM de **33**, observado por microscopía confocal en el canal verde ($I_{\text{exc}} = 405$ nm, $I_{\text{em}} = 450$ nm). (A) El compuesto **33a** muestra una localización sobre lisosomas y mitocondria. (B) El compuesto **33d** exhibe una localización específica sobre lisosomas. (C) El compuesto **33e** también muestra una localización específica sobre lisosomas. La barra blanca representa 20 μm .

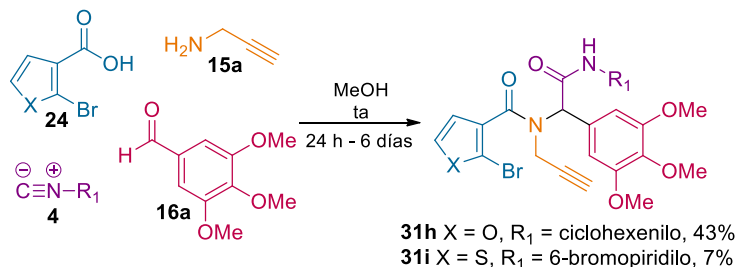
Introducción de isonitrilos convertibles en la estrategia sintética

Con el objetivo de acceder al ácido carboxílico derivado de los tetraciclos, se emprendió el desarrollo de una metodología que incluyera la introducción de algún isonitrilo convertible, el cual permitiría la hidrólisis de la amida secundaria al final de la ruta.

Para esto se decidió comenzar el estudio con los isonitrilos convertibles ciclohexenilisonitrilo (**4a**) y 6-bromopiridilisonitrilo (**4i**) (ver la **Figura 1**, pág. 6). Para esto, primero se llevó a cabo la síntesis de estos compuestos según lo reportado en la literatura,⁸ procediendo sin inconveniente alguno.

Ya con los isonitrilos en mano, en un primer intento y empleando el ciclohexenilisonitrilo (**4a**) en la Ugi-4CR bajo las condiciones empleadas anteriormente, se obtuvo el producto de Ugi **31h** en 43% de rendimiento, después de 24 h de reacción (**Esquema 5**).

Por otro lado, utilizando el 6-bromopiridilisonitrilo (**4i**), la reacción resultó demasiado lenta, generando el producto **31i** en tan solo 7% de rendimiento después de 6 días de reacción (**Esquema 5**). El bajo rendimiento de esta última reacción se debe a la hidrólisis del isonitrilo en el medio de reacción, dando lugar a la formación de la formamida correspondiente.^{2b}



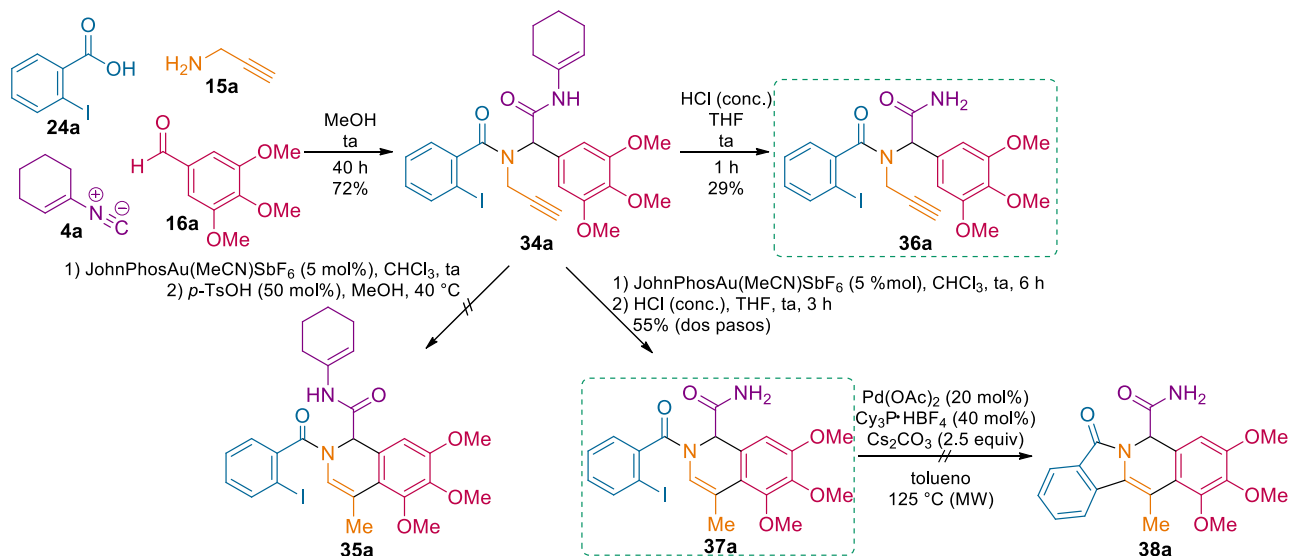
Esquema 5. Reacciones Ugi-4CR utilizando los isonitrilos convertibles **4a** y **4i**.

Debido a que la reacción de Ugi-4CR mostró mejores resultados utilizando el isonitrilo **4a**, se procedió a evaluar éste como el isonitrilo convertible dentro de la estrategia sintética. Para ello, se utilizó el ácido 2-yodobenzoico (**24a**) en lugar del ácido heterocíclico utilizado en el primer experimento. Así, al emplear el ácido carboxílico **24a**, propargilamina (**15a**), 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (**16a**) y el isonitrilo convertible **4a** en metanol y a temperatura ambiente, la reacción rindió el producto de Ugi **34a** de manera eficiente después de 40 h, en 72% de rendimiento (**Esquema 6**).

En el siguiente paso, utilizando las condiciones de reacción de hidroarilación/isomerización previamente descritas para la obtención de la dihidroisoquinolina **35a**, se observó, por cromatografía en capa fina, la formación de una cantidad considerable de productos, fallando en los intentos por aislar e identificar cada uno de ellos. Con base en lo anterior, y pensando que el ácido *p*-toluensulfónico utilizado en la reacción de isomerización fuera el responsable de la descomposición, se decidió cambiar estas condiciones. Así, después de la hidroarilación del producto de Ugi **34a** catalizada por Au(I), la isomerización del doble enlace exocíclico al endocíclico, en conjunto con la conversión del grupo hexenilamida, se realizó bajo las condiciones ácidas descritas por Armstrong (HCl 1.7%, en THF, a temperatura ambiente).^{8a,8b} Bajo estas condiciones, después de 3 h de reacción, se aisló el producto mayoritario de la mezcla de reacción, el cual se identificó como la amida primaria **37a**, en lugar del ácido carboxílico deseado. Este producto se obtuvo en un rendimiento moderado de 55%.

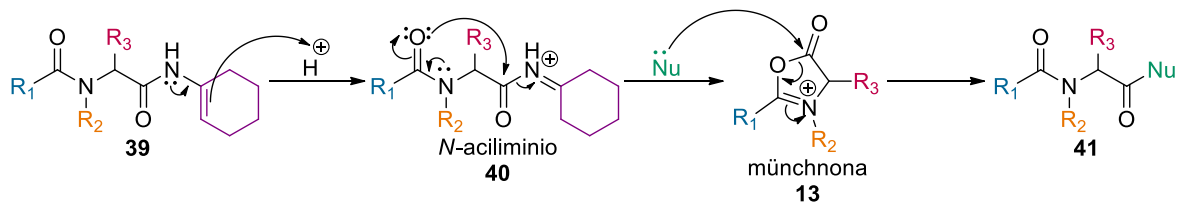
En un intento posterior, se decidió convertir el grupo ciclohexenamida del producto de Ugi **34a** al respectivo ácido carboxílico, previo al proceso de hidroarilación/isomerización. Así, la exposición del compuesto **34a** a las condiciones ácidas descritas para la conversión, resultó en la formación de un producto más polar que **34a**, después de 1 h de reacción. Sin embargo, nuevamente, este producto correspondió a una amida primaria (**36a**).

Por último, pese a la ausencia de éxito en los intentos anteriores por obtener el ácido carboxílico, la amida primaria bicíclica **37a** se sometió a las condiciones para el acoplamiento de Heck, con la finalidad de obtener la isoquinolina tetracíclica **38a**. Sin embargo, esto resultó en una mezcla inseparable de varios productos.



Esquema 6. Evaluación de la implementación del isonitrilo convertible **4a** y de la conversión de la amida secundaria en la secuencia sintética para la obtención de las isoquinolinas fusionadas.

Considerando el mecanismo de conversión de la enamida **39**,⁸ la obtención de la amida primaria en lugar del ácido carboxílico se debe probablemente a ciertos factores electrónicos,^{8b} que impiden la formación del intermediario clave en esta transformación, una oxazolinio-5-ona, münchnona **13** (**Esquema 7**). Mecanísticamente, la protonación de la enamida **39** daría lugar a la formación del ion *N*-aciliminio **40**, el cual experimentaría una ciclación intramolecular para formar la münchnona **7**, junto con la concomitante eliminación de la imina. Finalmente, el intermediario **13** sería atacado nucleofílicamente para formar el producto de conversión **41**. En lugar de ello, la protonación de la enamida, sin la subsecuente formación de la münchnona, solo permite la hidrólisis del ion *N*-aciliminio **40**, dando lugar a la formación de las amidas primarias **36a** y **37a** (**Esquema 6**).⁸

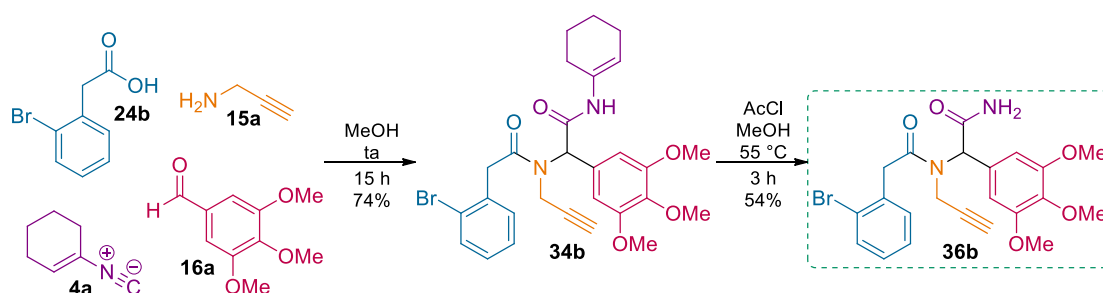


Esquema 7. Mecanismo de conversión del grupo hexenilamida en medio ácido.

Debido a que el grupo *N*-acilo parece tener influencia en la formación de la münchnona, ya que se ha reportado que en ausencia de este grupo ($R_1 = H$, en el **Esquema 7**) la formación

de este intermediario no procede,^{8b} se decidió evaluar la introducción del isonitrilo **4a** en la Ugi-4CR, utilizando el ácido 2-bromofenilacético (**24b**), en lugar del ácido benzoico empleado anteriormente, cambiando así la naturaleza del grupo *N*-acilo, esperando que con ello se permitiera la formación de la münchnona en el paso de conversión posterior. Así, de una mezcla equimolar de ácido 2-bromofenilacético (**24b**), propargilamina (**15a**), 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (**16a**) y el isonitrilo convertible **4a**, en metanol, después de 40 h a temperatura ambiente, se obtuvo el producto de Ugi **34b** en un rendimiento de 74% (**Esquema 8**).

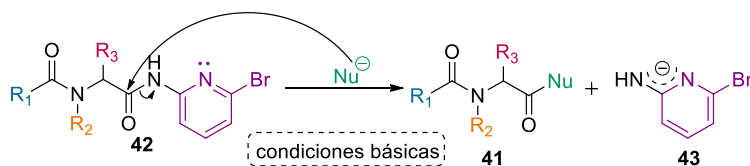
Después, el aducto **34b** se sometió a las condiciones reportadas para la conversión del grupo ciclohexenilamida al éster de metilo correspondiente. Esto es, la solvólisis (en metanol), con la generación *in situ* de cloruro de hidrógeno.⁸ Sin embargo, nuevamente se observó la formación de la amida primaria **36b**, la cual fue aislada en un 54% de rendimiento.



Esquema 8. Implementación del isonitrilo convertible **4a** y conversión de la amida secundaria.

Dado que los intentos para la conversión de la ciclohexenamida al ácido carboxílico o al éster respectivos no fueron exitosos, obteniendo en todos los casos las amidas primarias **36a**, **36b** y **37a**, se prosiguió con el estudio de la incorporación de un isonitrilo convertible cuya reacción de transformación no procediera por medio de la formación de münchnonas.

El uso del 2-(6-bromopiridil)isonitrilo **4i** en la Ugi-4CR genera un grupo *N*-(2-piridil)amida, el cual es un buen grupo saliente, tanto en condiciones ácidas como básicas (**Esquema 9**). Bajo condiciones básicas, el ataque nucleofílico sobre el carbonilo de la amida conduce a la eliminación de especies amino-piridinas **43** cargadas negativamente. Así, la conversión bajo condiciones básicas, que mecanísticamente no ocurre a través de la formación de münchnonas, podría resolver el problema observado anteriormente.



Esquema 9. Mecanismo de conversión del grupo piridilamida en medio básico.

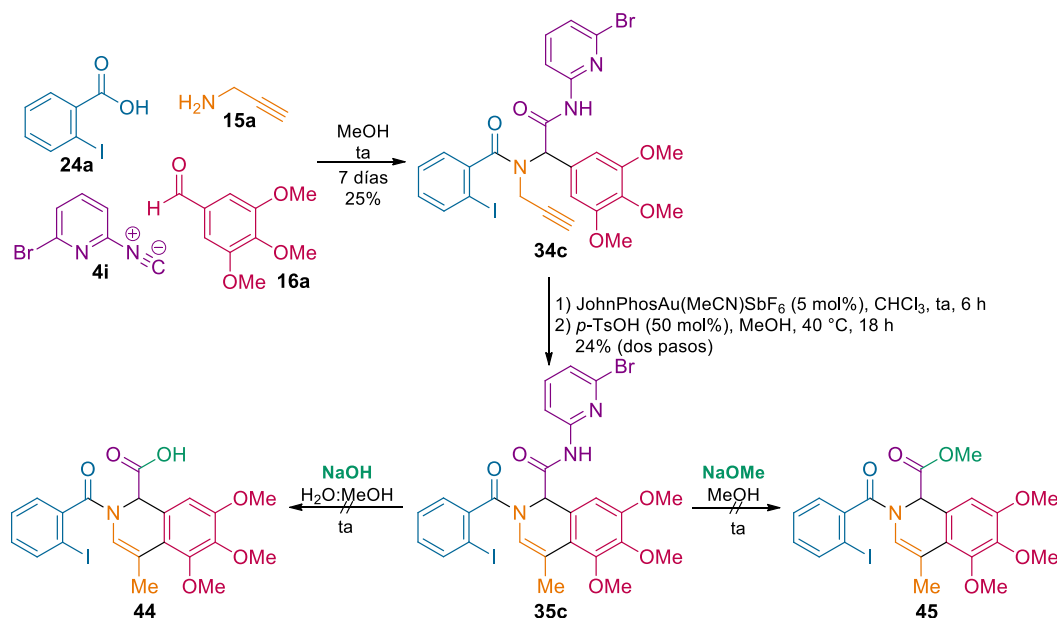
De esta manera, se llevó a cabo la reacción entre el ácido 2-yodobenzoico (**24a**), la propargilamina (**15a**), el 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (**16a**) y el (6-bromopiridil)isonitrilo (**4i**), como una mezcla equimolar en metanol, reacción de la cual se aisló el producto de Ugi **34c** en un rendimiento bajo (25%), después de 7 días de reacción (**Esquema 10**).

Posteriormente, se continuó con el proceso de hidroarilación/isomerización, bajo las condiciones empleadas anteriormente, dando lugar a la formación de la dihidroisoquinolina

deseada **35c**, aunque en un rendimiento del 24%. Comparado con la enamida generada del ciclohexenisonitrilo (**4a**), el grupo piridilamida tolera de mejor manera las condiciones ácidas bajo las cuales se lleva a cabo la isomerización.

Sin embargo, los intentos para la conversión de la *N*-piridilamida al ácido carboxílico **44** o al éster metílico **45** no fueron exitosos. Para ello, se utilizaron condiciones básicas, empleando como nucleófilo hidróxido de sodio o metóxido de sodio, en metanol, tal como se describe en la literatura.^{8k} En los dos casos, solo se observó la formación de una mezcla inseparable de varios productos.

Nuevamente, al igual que en los experimentos anteriores, el rendimiento bajo obtenido de la Ugi-4CR cuando se utiliza el isonitrilo **4i**, se atribuyó a la descomposición de este isonitrilo.^{2b} De manera similar, el rendimiento modesto en el proceso de hidroarilación/isomerización, puede deberse a reacciones colaterales de la parte proveniente del isonitrilo bajo las condiciones ácidas.

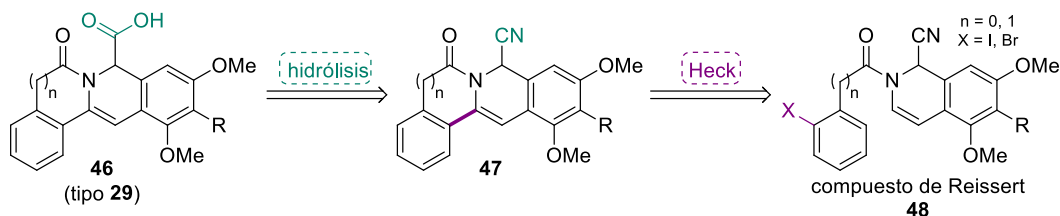


Esquema 10. Implementación del isonitrilo convertible **4i** y la conversión de la amida secundaria en la secuencia sintética para la obtención de las isoquinolinas fusionadas.

Empleo de la reacción de Reissert para la síntesis del sistema fusionado tipo 29

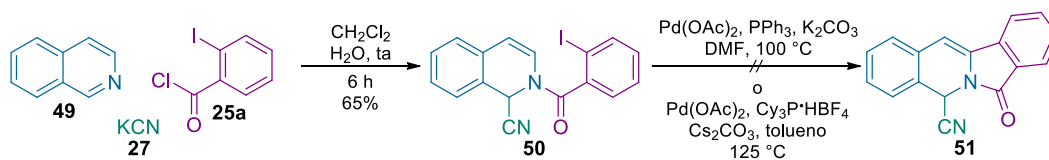
En función de que los intentos para la obtención de los ácidos carboxílicos tetracíclicos mediante la introducción de un isonitrilo convertible no fueron exitosos, se propuso una estrategia diferente para la síntesis de estos compuestos. Así, para la obtención de los fluoróforos isoquinolínicos **46** (tipo **29**), se pensó que el grupo ácido podría derivar de la hidrólisis del nitrilo **47** (**Esquema 11**). Tal como en la estrategia desarrollada previamente y descrita a lo largo de este trabajo,⁹ el esqueleto tetracíclico podría obtenerse de un acoplamiento de Heck intramolecular de la dihidroisoquinolina **48**. Esta *N*-acildihidroisoquinolina es conocida como compuesto de Reissert.¹⁶ Cabe mencionar que la síntesis de compuestos tetracíclicos nitrogenados empleando la secuencia de reacciones

Reissert-Heck ha sido descrita previamente, por lo que los primeros experimentos se basaron en este reporte.¹⁷



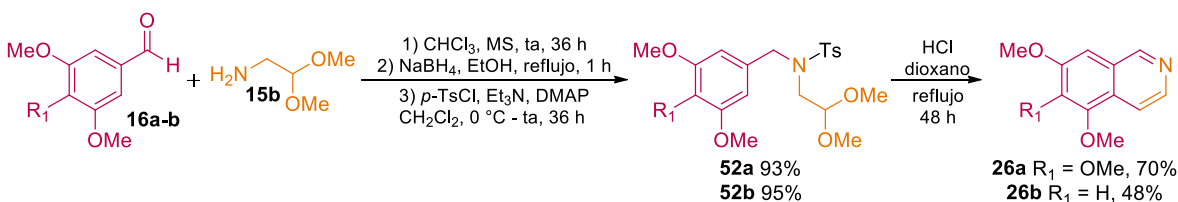
Esquema 11. Análisis retrosintético de la nueva estrategia propuesta para la síntesis de los compuestos **46** (tipo **29**).

Así, la reacción empleando isoquinolina (**49**), cloruro de 2-yodobenzoilo (**25a**) y cianuro de potasio (**27**), proveyó la dihidroisoquinolina de Reissert **50** (**Esquema 12**). Desafortunadamente, el acoplamiento de Heck para la obtención del compuesto tetracíclico **51** no procedió exitosamente, ya sea empleando las condiciones reportadas¹⁷ o las empleadas a lo largo de este trabajo.⁹



Esquema 12. Experimento preliminar: secuencia de reacciones Reissert-Heck para la síntesis de los tetraciclos isoquinolínicos **51**.

Se emprendió también la tarea de sintetizar las isoquinolinas **26a** y **26b**. Esta secuencia de reacciones se efectuó de manera eficiente y simple a partir de los aldehídos **16a-b** (**Esquema 13**), empleando la modificación a la síntesis de isoquinolinas de Pomeranz-Fritsch reportada por Jackson.¹⁸ En esta secuencia, mediante una aminación reductiva y la posterior reacción con cloruro de tosilo se obtuvieron las *N*-tosilaminas **52a-b**. Estas, bajo condiciones ácidas a reflujo de dioxano, efectuaron una reacción tipo Pomeranz-Fritsch para generar *in situ* las dihidroisoquinolinas intermediarias que, después de eliminar el grupo tosilo, se aromatizaron para rendir al final las isoquinolinas **26a-b**.¹⁸



Esquema 13. Síntesis de las isoquinolinas **26a** y **26b** a partir de los benzaldehídos **16** y el dimetilacetal del aminoacetaldehído **15b**.

Desafortunadamente, este trabajo se vio interrumpido por la emergencia sanitaria. Sin embargo, se proseguirá con la evaluación de las reacciones de Reissert de las isoquinolinas **26a-b** con diferentes cloruros de acilo. Es importante determinar las posibles razones por las que el acoplamiento de Heck no procedió exitosamente en el modelo preliminar, antes de proceder con la síntesis de los compuestos tetracíclicos **46**.

Conclusiones

Se logró la síntesis de los derivados isoquinolínicos **33** (tipo **29**), los cuales contienen un anillo de piridina, furano o tiofeno en el sistema fusionado. Esto se llevó a cabo mediante la introducción de un ácido que contenía el anillo heterocíclico en la reacción Ugi-4CR de la estrategia sintética previamente desarrollada por nuestro grupo.

Los compuestos tetracíclicos **33** se utilizaron exitosamente como sondas químicas fluorescentes para la localización subcelular por microscopía confocal. Los compuestos **33d** y **33e** mostraron localización lisosomal selectiva, mientras que el compuesto **33a** exhibió localización sobre lisosomas y mitocondria.

La introducción del ciclohexenisonitrilo como isonitrilo convertible en la Ugi-4CR resultó en la obtención del producto de Ugi **34a** y **34b**, cuya hidrólisis condujo exclusivamente a la formación de las amidas primarias **36a** y **36b**. De manera similar, la reacción de hidroarilación, seguida de la isomerización conjunta con la conversión de la enamida, condujo únicamente a la amida primaria isoquinolínica **37a**. La obtención de la amida primaria, en lugar del ácido carboxílico esperado, se atribuye a la imposibilidad para formar el intermediario clave en esta transformación, la münchnona; esto como resultado de la ausencia de un grupo *N*-acilo rico en electrones.

La incorporación del (6-bromopiridil)isonitrilo en la Ugi-4CR resultó en la obtención del producto de Ugi **34c**, cuya posterior hidroarilación-isomerización proveyó la dihidroisoquinolina **35c**, aunque de manera ineficiente. Sin embargo, la conversión del grupo piridilamida al ácido carboxílico o al éster respectivo, bajo condiciones básicas, no resultó exitosa, dando lugar a la descomposición de la dihidroisoquinolina.

Se propuso una nueva estrategia sintética para abordar la síntesis de los ácidos tetracíclicos **46** (tipo **29**). La idea clave de esta propuesta es el empleo de la reacción de Reissert para la preparación de la dihidroisoquinolina adecuadamente funcionalizada para permitir la síntesis del núcleo tetracíclico y la instalación de un nitrilo, precursor sintético del ácido carboxílico. De ser exitosa esta síntesis, permitiría la obtención de los fluoróforos funcionalizados con un grupo ácido, que posibilitaría manipulaciones posteriores para ampliar la diversidad estructural de estos compuestos.

Parte experimental

Los reactivos y disolventes fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. En los casos que se especifique, los disolventes fueron utilizados recién destilados, sobre un secante adecuado y nitrógeno. El CHCl_3 , el CH_2Cl_2 y el MeOH, se secaron empleando CaH_2 como agente secante. La DMF se secó utilizando BaO. Los isonitrilos lipídicos (octilisonitrilo^{19a} y dodecilisonitrilo^{19b}), así como el ciclohexenisonitrilo y el 6-bromopiridilisonitrilo,^{8k} fueron sintetizados siguiendo los procedimientos reportados.

El progreso de las reacciones se controló mediante cromatografía en capa fina, utilizando cromatofolios de gel de sílice 60 F254, el revelado de los mismos se realizó bajo luz ultravioleta (254 nm) y/o revelado químico con tinción de vainillina. Los productos fueron purificados por cromatografía en columna (CC), utilizando como fase estacionaria sílica gel 230–400 mesh y como eluyente ciertas mezclas de hexano y acetato de etilo. Todas las reacciones se agitaron magnéticamente. Las reacciones asistidas por microondas se realizaron utilizando un reactor Biotage®.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no están corregidos. La espectroscopía de RMN de ^1H y ^{13}C se realizó en un equipo JEOL Eclipse-300 MHz, utilizando CDCl_3 como disolvente y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna. Los desplazamientos químicos (δ) se reportan en partes por millón (ppm). Las constantes de acoplamiento (J) se informan en hertz (Hz). La multiplicidad para los espectros de ^1H se indica de la siguiente manera, en señales: s = simple, d = doble, t = triple, m = múltiple, bs = señal ancha. Los espectros de IR se obtuvieron con un espectrofotómetro Bruker Tensor 27 FT-IR. La espectrometría de masas de alta resolución se obtuvo en un espectrómetro AccuTOFLC equipado con una fuente de ionización del controlador ionSense DART. La difracción de rayos-X se realizó en un difractor CCD Bruker Smart APEX II con irradiación de Mo Ka monocromática de grafito. La solución y el refinamiento fue realizada por Simón Hernández-Ortega y Rubén A. Toscano.

- **Síntesis de los productos de Ugi 31a-i y 34a-c:**

Procedimiento general I. Se adicionó 0.10 mL (1.5 mmol, 1.0 equiv) de propargilamina a una disolución en MeOH (0.2 M) del correspondiente aldehído (1.5 mmol, 1.0 equiv). La mezcla resultante se agitó por 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionó el ácido carboxílico (1.5 mmol, 1.0 equiv) y el isonitrilo (1.5 mmol, 1.0 equiv). La mezcla de reacción se agitó por 48 h a temperatura ambiente. Después se evaporó el disolvente a presión reducida y el producto se purificó por CC (Hex:AcOEt) para rendir los productos de Ugi **31a-i** y **34a-c**.

2-Bromo-5-cloro-N-(2-(ciclohexilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-N-(prop-2-in-1-il)nicotinamida (31a). Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), ciclohexilisonitrilo (0.19 mL, 1.5 mmol) y ácido 2-bromo-5-cloronicotínico (354.7 mg, 1.5 mmol). CC (70:30 Hex:AcOEt). Sólido beige (607.8 mg, 70% de rendimiento), $R_f = 0.1$ (70:30 Hex:AcOEt), p.f. = 149–152 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 8.37 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 6.72 (s, 2H), 6.62 (s, 1H), 5.83 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 4.22–4.04 (m, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 6H), 3.82–3.81 (m, 2H), 2.11 (s, 1H), 2.01–1.84 (m, 2H), 1.75–1.55 (m, 3H), 1.44–1.27 (m, 2H), 1.21–1.01 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámero mayoritario) 167.3, 166.9, 153.6, 149.5, 138.7, 136.8, 136.4, 135.9, 135.1, 131.7, 107.1, 78.6, 72.8, 66.7, 61.0, 56.3, 49.0, 36.7, 32.9, 25.5, 24.9. IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3282, 3228, 3079, 2931, 2853, 1678, 1634, 1592, 1509, 1451, 1404, 1330, 1245, 1125, 1007, 904, 754. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{BrClN}_3\text{O}_5$, 578.1057; encontrada, 578.1055.

2-Bromo-N-(2-(tert-butilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-N-(prop-2-in-1-il)nicotinamida (31b). Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), *tert*-butilisonitrilo (0.17 mL, 1.5 mmol) y ácido 2-bromonicotínico (312.7 mg, 1.5 mmol). CC (50:50 Hex:AcOEt). Sólido blanco (614.3 mg, 79% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (50:50 Hex:AcOEt), p.f. = 83–85 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 8.41 (dd, $J = 4.8, 2.0$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.33 (ddd, $J = 7.2, 4.7, 2.5$ Hz, 1H), 6.74 (s, 2H), 6.67 (s, 1H), 5.90 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 6H), 3.81 (s, 2H), 2.01 (s, 1H), 1.39 (s, 9H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámero mayoritario) 168.2, 167.8, 153.5, 150.8, 138.6, 136.9, 134.5, 129.4, 128.0, 122.7, 106.9, 78.8, 72.5, 61.9, 61.0, 56.3, 52.1, 36.8, 28.7. IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3404, 3110, 2966, 2936, 1682, 1646, 1592, 1550, 1508, 1457, 1391, 1330, 1243, 1127, 1004, 813, 510, 534. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{BrN}_3\text{O}_5$, 518.1290; encontrada, 518.1291.

2-Bromo-N-(2-(dodecilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-N-(prop-2-in-1-il)nicotinamida (31c).

Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), dodecilisonitrilo (293.0 mg, 1.5 mmol) y ácido 2-bromonicotínico (312.7 mg, 1.5 mmol). CC (50:50 Hex:AcOEt). Sólido beige (624.3 mg, 66% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (50:50 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámetro mayoritario) 8.28 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.24 (dd, $J = 7.4, 2.6$ Hz, 1H), 6.63 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 6.18 (bs, 1H), 4.18–3.72 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.69 (s, 6H), 3.18–3.00 (m, 2H), 1.94 (s, 1H), 1.46–1.29 (m, 2H), 1.14 (s, 18H), 0.76 (t, $J = 4.7$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámetro mayoritario) 168.4, 168.2, 153.4, 150.7, 138.3, 136.9, 134.4, 129.4, 128.2, 122.7, 107.2, 78.6, 72.5, 70.8, 66.3, 60.8, 56.2, 39.9, 31.9, 29.6, 29.5, 29.3, 27.0, 22.7, 14.1. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{32}\text{H}_{45}^{81}\text{BrN}_3\text{O}_5$, 632.25221; encontrada, 632.25443.

2-Bromo-N-(2-(ciclohexilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-N-(prop-2-in-1-il)furan-3-carboxamida (31d).

Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), ciclohexilisonitrilo (0.19 mL, 1.5 mmol) y ácido 2-bromo-3-furancarboxílico (298.4 mg, 1.5 mmol). CC (50:50 Hex:AcOEt). Sólido blanco (720.1 mg, 90% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (50:50 Hex:AcOEt), p.f. = 166–168 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.45 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 6.66 (s, 2H), 6.08 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 5.87 (s, 1H), 4.25–3.96 (m, 2H), 3.90–3.84 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.82 (s, 6H), 2.11 (s, 1H), 1.98–1.87 (m, 2H), 1.73–1.53 (m, 3H), 1.43–1.26 (m, 2H), 1.20–1.08 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 167.8, 165.0, 153.5, 144.6, 138.4, 129.6, 120.0, 111.9, 106.9, 106.8, 79.6, 72.4, 61.0, 60.4, 56.3, 48.8, 36.9, 32.9, 25.5, 24.9. IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3259, 3090, 2998, 2932, 2853, 2117, 1741, 1641, 1590, 1497, 1451, 1423, 1330, 1249, 1176, 1129, 1007, 943, 845, 757. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{BrN}_2\text{O}_6$, 533.1287; encontrada, 533.1287.

2-Bromo-N-(2-(ciclohexilamino)-1-(3,5-dimetoxifenil)-2-oxoetil)-N-(prop-2-in-1-il)furan-3-carboxamida (31e).

Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,5-dimetoxibenzaldehído (254.3 mg, 1.5 mmol), ciclohexilisonitrilo (0.19 mL, 1.5 mmol) y ácido 2-bromo-3-furancarboxílico (298.4 mg, 1.5 mmol). CC (70:30 Hex:AcOEt). Sólido beige (445.5 mg, 59% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (70:30 Hex:AcOEt), p.f. = 140–143 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.43 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 6.54 (s, 2H), 6.40 (t, $J = 2.2$ Hz, 1H), 6.17 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 5.86 (s, 1H), 4.23–3.97 (m, 2H), 3.89–3.76 (m, 1H), 3.74 (s, 6H), 2.12 (s, 1H), 1.96–1.87 (m, 2H), 1.72–1.52 (m, 3H), 1.40–1.25 (m, 2H), 1.19–1.03 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 167.7, 165.0, 161.1, 144.5, 136.4, 124.0, 120.1, 111.9, 107.5, 100.8, 79.6, 72.4, 60.5, 55.5, 48.8, 37.4, 32.9, 25.5, 24.9. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{BrN}_2\text{O}_5$, 503.1181; encontrada, 503.1171.

2-Bromo-N-(2-(tert-butilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-N-(prop-2-in-1-il)tiofen-3-carboxamida (31f).

Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), *tert*-butilisonitrilo (0.17 mL, 1.5 mmol) y ácido 2-bromo-3-tiofencarboxílico (320.2 mg, 1.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido blanco (698.8 mg, 89% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (60:40 Hex:AcOEt), p.f. = 204–206 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.31 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.73 (s, 2H), 6.03 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 4.19–3.91 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.83 (s, 6H), 2.04 (s, 1H), 1.38 (s, 9H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 168.1, 168.0, 153.5, 138.4, 136.5, 129.9, 127.6, 126.8, 112.3, 106.8, 79.4, 72.2, 62.4, 61.0, 56.2, 52.0, 37.1, 28.7. IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3302, 3113, 3067, 3008, 2966, 2932, 2834, 1677, 1658, 1595, 1545, 1438, 1330, 1236, 1130, 1045, 998, 917, 849, 743. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S}$, 523.0902; encontrada, 523.0888.

2-Bromo-N-(2-(octilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-N-(prop-2-in-1-il)tiofen-3-carboxamida (31g).

Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), octilisonitrilo (208.9 mg, 1.5 mmol) y ácido 2-bromo-3-tiofencarboxílico (320.2 mg, 1.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido blanco (539.0 mg, 62% de rendimiento). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.30 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 7.05 (s, 1H), 6.73 (s, 2H), 6.24 (dd, $J = 5.4, 5.4$ Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 4.19–3.86 (m, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.82 (s, 6H), 3.37–3.21 (m, 2H), 2.06 (s, 1H), 1.56–1.45 (m, 2H), 1.32–1.19 (m, 10H), 0.88–0.82 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 168.6, 166.8, 153.4, 138.3, 136.5, 129.8, 127.5, 126.8, 111.9, 106.8, 79.3, 72.1, 61.7, 60.9, 56.2, 39.8, 37.1, 31.8, 29.5, 29.3, 29.2, 27.0, 22.6, 14.1. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{27}\text{H}_{38}^{81}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S}$, 581.15078; encontrada, 581.15048.

2-Bromo-N-(2-(ciclohex-1-en-1-ilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-N-(prop-2-in-1-il)furan-3-carboxamida (31h).

Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), ciclohexenilisonitrilo (160.7 mg, 1.5 mmol) y ácido 2-bromo-3-furancarboxílico (298.4 mg, 1.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido blanco (342.8 mg, 43% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (60:40 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.46 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.75 (s, 1H), 6.70 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 5.90 (s, 1H), 4.28–4.04 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.84 (s, 6H), 2.12 (s, 1H), 2.12–2.05 (m, 4H), 1.70–1.51 (m, 4H). RMN ^{13}C (CDCl_3 ,

75 MHz): δ 166.9, 165.1, 153.5, 144.5, 138.6, 132.4, 129.3, 119.8, 114.4, 111.9, 107.1, 107.0, 79.5, 72.5, 61.0, 60.5, 56.4, 37.9, 28.0, 24.1, 22.5, 21.9.

***N*-(2-(Ciclohex-1-en-1-ilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-2-yodo-*N*-(prop-2-in-1-il)benzamida (34a).** Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), ciclohexenilisonitrilo (160.7 mg, 1.5 mmol) y ácido 2-yodobenzoico (379.6 mg, 1.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido amarillo claro (635.5 mg, 72% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (60:40 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 7.83 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.45–7.32 (m, 2H), 7.15 (s, 1H), 7.10 (td, $J = 7.5$, 2.0 Hz, 1H), 6.82 (s, 2H), 6.69 (s, 1H), 6.09 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 6H), 3.84–3.79 (m, 2H), 2.13 (s, 1H), 2.13–2.06 (m, 4H), 1.70–1.52 (m, 4H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámero mayoritario) 171.5, 167.2, 153.4, 141.1, 139.7, 139.4, 132.6, 132.2, 130.8, 128.3, 127.8, 114.4, 107.5, 107.3, 78.7, 72.6, 62.1, 61.0, 56.4, 37.4, 28.0, 24.1, 22.5, 22.0.

2-(2-Bromofenil)-*N*-(2-(ciclohex-1-en-1-ilamino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-*N*-(prop-2-in-1-il)acetamida (34b). Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), ciclohexenilisonitrilo (160.7 mg, 1.5 mmol) y ácido 2-bromofenilacético (325.8 mg, 1.5 mmol). CC (65:35 Hex:AcOEt). Sólido beige (616.4 mg, 74% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (65:35 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.56–7.49 (m, 1H), 7.26–7.22 (m, 2H), 7.17 (s, 1H), 7.16–7.08 (m, 1H), 6.63 (s, 2H), 6.19 (s, 1H), 6.01 (s, 1H), 4.18 (s, 2H), 4.12–3.93 (m, 2H), 3.84 (s, 3H), 3.82 (s, 6H), 2.17 (s, 1H), 2.11–1.99 (m, 4H), 1.68–1.49 (m, 4H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 171.6, 167.5, 153.4, 138.3, 135.1, 132.7, 132.5, 131.5, 129.9, 128.8, 127.7, 125.1, 114.5, 106.7, 79.4, 72.4, 61.5, 61.0, 56.3, 41.5, 35.7, 27.8, 24.1, 22.5, 21.9.

***N*-(2-((6-Bromopiridin-2-il)amino)-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-2-yodo-*N*-(prop-2-in-1-il)benzamida (34c).** Utilizando el **procedimiento general I**, con 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (300.3 mg, 1.5 mmol), 6-bromopiridilisonitrilo (274.5 mg, 1.5 mmol) y ácido 2-yodobenzoico (379.6 mg, 1.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido amarillo (249.1 mg, 25% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (60:40 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 8.45 (s, 1H), 8.24 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 7.84 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.55 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.47–7.39 (m, 2H), 7.20 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.15–7.09 (m, 1H), 6.81 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.85 (s, 6H), 3.83 (s, 2H), 2.12 (s, 1H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámero mayoritario) 170.3, 167.4, 153.5, 151.1, 140.8, 140.4, 139.2, 139.2, 139.2, 138.8, 130.8, 128.3, 127.9, 123.7, 112.4, 107.6, 92.5, 79.1, 73.1, 63.1, 60.8, 56.3, 37.2.

- **Síntesis de las dihidroisoquinolinas 32a-g y 35c:**

Procedimiento general II. El producto de Ugi correspondiente **31a-g** o **34c** (0.5 mmol, 1.0 equiv) y 0.05 equiv de JohnPhosAu(MeCN)SbF₆ se disolvieron en CHCl_3 anhidro (5 mL, 0.1 M). La mezcla resultante se agitó por 6 h a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. Se evaporó el disolvente a presión reducida, el crudo de la reacción anterior se disolvió en MeOH (5 mL, 0.1 M) y se adicionó 0.5 equiv de *p*-TsOH·H₂O. La reacción se agitó y se calentó a 40 °C por 18 h. Después, el disolvente se evaporó a presión reducida y el producto se purificó por CC (Hex:AcOEt), para proporcionar las dihidroisoquinolinas **32a-g** y **35c**.

2-(2-Bromo-5-cloronicotinoil)-*N*-ciclohexil-5,6,7-trimetoxi-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (32a). Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **31a** (289.4 mg, 0.5 mmol). CC (70:30 Hex:AcOEt). Sólido amarillo claro (217.1 mg, 75% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (70:30 Hex:AcOEt), p.f. = 238–239 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 8.44 (d, $J = 2.6$ Hz, 1H), 7.54 (bs, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.18 (bs, 1H), 6.05 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.77–3.65 (m, 1H), 2.10 (s, 3H), 1.89–1.80 (m, 2H), 1.69–1.59 (m, 3H), 1.39–1.28 (m, 2H), 1.20–1.03 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámero mayoritario) 167.5, 166.9, 153.3, 151.5, 150.0, 143.0, 139.7, 137.0, 132.2, 125.9, 120.6, 120.3, 107.8, 107.2, 61.3, 57.7, 56.3, 49.1, 33.1, 25.5, 24.8, 19.3. IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3305, 3078, 2924, 2851, 1645, 1597, 1550, 1495, 1454, 1401, 1332, 1278, 1112, 1024, 898, 772. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{26}\text{H}_{30}\text{BrClN}_3\text{O}_5$, 578.1057; encontrada, 578.1055.

2-(2-Bromonicotinoil)-*N*-(*tert*-butil)-5,6,7-trimetoxi-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (32b). Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **31b** (259.2 mg, 0.5 mmol). CC (50:50 Hex:AcOEt). Sólido blanco (155.5 mg, 60% de rendimiento), $R_f = 0.3$ (50:50 Hex:AcOEt), p.f. = 74–77 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 8.48 (dd, $J = 4.8$, 2.0 Hz, 1H), 7.58 (bs, 1H), 7.38 (dd, $J = 7.4$, 4.9 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.28 (bs, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 2.09 (d, $J = 1.3$ Hz, 3H), 1.32 (s, 9H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámero mayoritario) 167.2, 165.5, 153.2, 151.3, 142.9, 140.0, 138.9, 137.6, 133.9, 126.2, 123.1, 120.9, 119.3, 118.4, 107.8, 61.3, 60.8, 58.1, 56.2, 52.0, 28.9,

19.2. IR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3444, 2924, 2856, 1684, 1631, 1600, 1458, 1405, 1326, 1276, 1110, 1023, 846, 812, 756, 525. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{BrN}_3\text{O}_5$, 518.1290; encontrada, 518.1287.

2-(2-Bromonicotinoil)-*N*-dodecil-5,6,7-trimetoxi-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (32c). Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **31c** (315.3 mg, 0.5 mmol). CC (50:50 Hex:AcOEt). Sólido beige (214.4 mg, 68% de rendimiento). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 8.48 (dd, $J = 4.8, 1.9$ Hz, 1H), 7.63 (bs, 1H), 7.38 (dd, $J = 7.5, 4.8$ Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.29 (bs, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.22 (q, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.07 (s, 3H), 1.50–1.40 (m, 2H), 1.23 (s, 18H), 0.86 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H). HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{32}\text{H}_{45}^{81}\text{BrN}_3\text{O}_5$, 632.25221; encontrada, 632.25171.

2-(2-Bromofuran-3-carbonil)-*N*-ciclohexil-5,6,7-trimetox-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (32d). Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **31d** (266.7 mg, 0.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido amarillo claro (61.3 mg, 23% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (60:40 Hex:AcOEt), p.f. = 148–149 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.48 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.37 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 6.20 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 3.86 (s, 6H), 3.85 (s, 3H), 3.75–3.60 (m, 1H), 2.17 (s, 3H), 1.87–1.73 (m, 2H), 1.66–1.49 (m, 3H), 1.38–1.25 (m, 2H), 1.20–1.10 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 167.8, 162.0, 153.0, 151.3, 144.5, 142.9, 126.4, 121.1, 119.5, 119.5, 119.2, 119.1, 113.1, 107.5, 61.3, 60.9, 58.1, 56.2, 48.4, 32.8, 25.6, 24.5, 19.2. IR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3312, 2930, 2854, 1648, 1597, 1494, 1457, 1409, 1329, 1253, 1161, 1110, 1026, 942, 887, 754. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{BrN}_2\text{O}_6$, 533.1287; encontrada, 533.1305.

2-(2-Bromofuran-3-carbonil)-*N*-ciclohexil-5,7-dimetoxi-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (32e). Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **31e** (251.7 mg, 0.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido beige (234.1 mg, 93% de rendimiento), $R_f = 0.5$ (60:40 Hex:AcOEt), p.f. = 208–209 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.46 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 6.44 (s, 2H), 6.29 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 6.14 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 3.81 (s, 3H), 3.79 (s, 3H), 3.72–3.62 (m, 1H), 2.14 (s, 3H), 1.86–1.72 (m, 2H), 1.65–1.49 (m, 3H), 1.43–1.21 (m, 2H), 1.19–1.09 (m, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 167.7, 161.9, 160.1, 157.9, 144.4, 132.9, 126.3, 120.2, 120.0, 119.3, 114.7, 113.1, 104.7, 99.5, 58.4, 55.6, 55.5, 48.3, 32.8, 25.6, 24.5, 19.9. IR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3293, 3089, 2924, 2853, 1648, 1604, 1574, 1493, 1464, 1402, 1334, 1210, 1166, 1040, 889, 810, 735. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{BrN}_2\text{O}_6$, 503.1181; encontrada, 503.1181.

2-(2-Bromotiofen-3-carbonil)-*N*-(*tert*-butil)-5,6,7-trimetoxi-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (32f). Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **31f** (261.7 mg, 0.5 mmol). CC (70:30 Hex:AcOEt). Sólido blanco (198.9 mg, 76% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (70:30 Hex:AcOEt), p.f. = 152–154 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.31 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H), 6.97 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.35 (s, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 1.31 (s, 9H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 167.9, 163.6, 152.9, 151.2, 142.8, 135.1, 128.0, 127.3, 126.4, 120.5, 119.9, 119.0, 114.8, 107.7, 61.3, 60.9, 58.4, 56.1, 51.7, 28.9, 19.2. IR ($\nu_{\max}/\text{cm}^{-1}$): 3378, 3077, 2966, 2937, 2849, 1689, 1652, 1627, 1522, 1491, 1417, 1327, 1268, 1184, 1108, 1024, 877, 825, 707. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S}$, 523.0902; encontrada, 523.0893.

2-(2-Bromotiofen-3-carbonil)-5,6,7-trimetoxi-4-metil-*N*-octil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (32g). Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **31g** (289.8 mg, 0.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido beige (185.5 mg, 64% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (60:40 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.31 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 6.99 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.43 (t, $J = 5.5$ Hz, 1H), 6.05 (s, 1H), 6.03 (s, 1H), 3.85 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.19 (q, $J = 6.8$ Hz, 2H), 2.11 (s, 3H), 1.50–1.33 (m, 2H), 1.22 (s, 10H), 0.84 (t, $J = 6.7$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 168.6, 163.6, 153.0, 151.2, 142.9, 135.2, 128.1, 127.4, 126.2, 120.9, 119.2, 118.9, 114.5, 107.6, 61.3, 60.8, 58.0, 56.1, 39.8, 31.8, 29.5, 29.3, 29.3, 26.9, 22.7, 19.2, 14.2.

***N*-(6-Bromopiridin-2-il)-2-(2-yodobenzoil)-5,6,7-trimetoxi-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (35c).** Utilizando el **procedimiento general II**, a partir del producto de Ugi **34c** (332.1 mg, 0.5 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido amarillo (79.7 mg, 24% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (60:40 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 8.92 (bs, 1H), 8.09 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.46 (t, $J = 7.9$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.17 (tt, $J = 7.7, 0.8$ Hz, 2H), 6.85 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 3.89 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 2.08 (d, $J = 1.3$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 169.2, 167.5, 153.2, 151.4, 151.1, 143.3, 140.4, 139.6, 139.3, 131.4, 129.3, 128.8, 128.7, 128.5, 124.7, 123.9, 120.6, 119.6, 112.6, 108.0, 93.1, 61.3, 60.9, 58.3, 56.2, 19.4.

- **Síntesis de los tetraciclos isoquinolínicos 33a-g:**

Procedimiento general III. A una disolución en tolueno (0.1 M) de la correspondiente dihidroisoquinolina **32a-g** (0.1 mmol, 1.0 equiv) se adicionó 0.2 equiv de Pd(OAc)₂, 0.4 equiv de Cy₃P·HBF₄ y 2.5 equiv de Cs₂CO₃. La mezcla se desoxigenó (Ar, 1 h) y se calentó a 125 °C, bajo irradiación de microondas (100 W) por 2.5 h. Después, el disolvente se evaporó a presión reducida y el producto se purificó por CC (Hex:AcOEt) para proporcionar los tetraciclos isoquinolínicos **33a-g**.

3-Cloro-N-ciclohexil-9,10,11-trimetoxi-12-metil-5-oxo-5,7-dihidropirido[2',3':3,4]pirrolo[1,2-b]isoquinolin-7-carboxamida (33a). Utilizando el **procedimiento general III**, a partir de la dihidroisoquinolina **32a** (57.9 mg, 0.1 mmol). CC (70:30 Hex:AcOEt). Sólido amarillo claro (41.8 mg, 84% de rendimiento), R_f = 0.2 (70:30 Hex:AcOEt), p.f. = 258–260 °C. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.76 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.11 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 5.83 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.91 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.69–3.56 (m, 1H), 3.06 (s, 3H), 1.83–1.69 (m, 2H), 1.66–1.49 (m, 3H), 1.13–1.00 (m, 2H), 0.90–0.81 (m, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 167.5, 162.8, 154.6, 154.2, 154.1, 153.6, 151.8, 143.4, 130.8, 126.1, 123.8, 122.3, 119.3, 109.5, 107.2, 61.4, 60.9, 57.6, 56.3, 48.9, 32.8, 25.5, 24.6, 15.9. IR (ν_{max}/cm⁻¹): 3311, 3292, 2928, 2854, 1704, 1646, 1593, 1461, 1329, 1112, 1034, 799. HRMS (DART, [M + H]⁺) m/z: calcd para C₂₆H₂₉ClN₃O₅, 498.1795; encontrada, 498.1788.

N-(tert-Butil)-9,10,11-trimetoxi-12-metil-5-oxo-5,7-dihidropirido[2',3':3,4]pirrolo[1,2-b]isoquinolin-7-carboxamida (33b). Utilizando el **procedimiento general III**, a partir de la dihidroisoquinolina **32b** (51.8 mg, 0.1 mmol). CC (50:50 Hex:AcOEt). Sólido amarillo (18.4 mg, 42% de rendimiento), R_f = 0.2 (50:50 Hex:AcOEt), p.f. = descompone a >205 °C. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.84 (dd, J = 4.8, 1.7 Hz, 1H), 8.13 (dd, J = 7.7, 1.7 Hz, 1H), 7.35 (ddd, J = 7.7, 4.9, 2.4 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.50 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 3.93 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.12 (s, 3H), 1.22 (s, 9H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 167.9, 164.2, 156.1, 154.0, 152.8, 143.2, 131.1, 127.2, 126.5, 123.1, 122.2, 121.5, 119.6, 107.2, 61.4, 60.9, 58.1, 56.2, 51.8, 28.7, 15.9. IR (ν_{max}/cm⁻¹): 3310, 2966, 2931, 2851, 1699, 1667, 1592, 1546, 1456, 1403, 1368, 1322, 1194, 1108, 1022, 950, 787, 553, 512. HRMS (DART, [M + H]⁺) m/z: calcd para C₂₄H₂₈N₃O₅, 438.2029; encontrada, 438.2033.

N-Dodecil-9,10,11-trimetoxi-12-metil-5-oxo-5,7-dihidropirido[2',3':3,4]pirrolo[1,2-b]isoquinolin-7-carboxamida (33c). Utilizando el **procedimiento general III**, a partir de la dihidroisoquinolina **32c** (63.1 mg, 0.1 mmol). CC (50:50 Hex:AcOEt). Sólido amarillo (25.3 mg, 46% de rendimiento). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 8.77 (dd, J = 4.9, 1.7 Hz, 1H), 8.14 (dd, J = 7.8, 1.7 Hz, 1H), 7.32 (dd, J = 7.8, 4.9 Hz, 1H), 6.49 (s, 1H), 6.48 (s, 1H), 5.95 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.75 (s, 6H), 2.92 (s, 3H), 1.60 (s, 2H), 1.34–1.22 (m, 20H), 0.90–0.84 (m, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 164.8, 162.8, 154.4, 154.3, 153.6, 152.8, 138.5, 132.4, 131.8, 123.0, 122.9, 121.9, 121.8, 114.7, 103.9, 60.8, 58.5, 56.2, 53.5, 42.9, 32.0, 29.7, 29.6, 29.6, 29.6, 29.4, 29.3, 29.3, 29.3, 26.9, 22.8, 14.2, 13.5.

N-Ciclohexil-8,9,10-trimetoxi-11-metil-4-oxo-4,6-dihidrofuro[2',3':3,4]pirrolo[1,2-b]isoquinolin-6-carboxamida (33d). Utilizando el **procedimiento general III**, a partir de la dihidroisoquinolina **32d** (53.3 mg, 0.1 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido beige (23.1 mg, 51% de rendimiento), R_f = 0.2 (60:40 Hex:AcOEt), p.f. = 167–170 °C. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.59 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.82 (s, 1H), 6.69 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.05 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.66 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.90 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.70–3.58 (m, 1H), 2.66 (s, 3H), 1.86–1.70 (m, 2H), 1.66–1.48 (m, 3H), 1.18–0.99 (m, 2H), 0.91–0.79 (m, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 168.5, 161.5, 153.8, 153.5, 148.9, 143.0, 132.9, 127.1, 122.0, 120.2, 118.4, 116.1, 107.8, 106.2, 61.5, 60.9, 57.8, 56.3, 48.7, 32.8, 25.6, 24.6, 17.3. IR (ν_{max}/cm⁻¹): 3294, 2928, 2853, 1677, 1649, 1596, 1554, 1465, 1106, 1027, 988. HRMS (DART, [M + H]⁺) m/z: calcd para C₂₅H₂₉N₂O₆, 453.2025; encontrada, 453.2032.

N-Ciclohexil-8,10-dimetoxi-11-metil-4-oxo-4,6-dihidrofuro-[2',3':3,4]pirrolo[1,2-b]isoquinolin-6-carboxamida (33e). Utilizando el **procedimiento general III**, a partir de la dihidroisoquinolina **32e** (50.3 mg, 0.1 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido amarillo (31.2 mg, 74% de rendimiento), R_f = 0.2 (60:40 Hex:AcOEt), p.f. = 270–272 °C. RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.55 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 1.9 Hz, 1H), 6.62 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 6.42 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.07 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.66 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.69–3.56 (m, 1H), 2.64 (s, 3H), 1.83–1.67 (m, 2H), 1.66–1.46 (m, 3H), 1.15–0.99 (m, 2H), 0.90–0.79 (m, 2H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 168.3, 161.6, 160.9, 160.1, 148.5, 133.8, 121.0, 119.8, 117.0, 116.3, 113.9, 106.1, 105.5, 99.3, 58.0, 55.6, 55.6, 48.7, 32.8, 25.5, 24.6, 18.4. IR (ν_{max}/cm⁻¹): 3299, 2924, 2855, 1695, 1648, 1602, 1548, 1455, 1360, 1323, 1204, 1162, 1093, 1047, 892, 846, 727. HRMS (DART, [M + H]⁺) m/z: calcd para C₂₄H₂₇N₂O₅, 423.1920; encontrada, 423.1910.

***N*-(*tert*-Butil)-8,9,10-trimetoxi-11-metil-4-oxo-4,6-dihidrotieno[2',3':3,4]pirrolo[1,2-*b*]isoquinolin-6-carboxamida (33f).** Utilizando el **procedimiento general III**, a partir de la dihidroisoquinolina **32f** (52.3 mg, 0.1 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido amarillo claro (7.0 mg, 16% de rendimiento), $R_f = 0.1$ (60:40 Hex:AcOEt), p.f. = 222–225 °C. RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.43 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 5.7$ Hz, 1H), 6.91 (s, 1H), 6.61 (s, 1H), 5.74 (s, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 2.57 (s, 3H), 1.25 (s, 9H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 168.4, 163.2, 153.6, 153.1, 143.5, 142.9, 136.6, 130.9, 127.8, 127.0, 120.1, 118.9, 115.9, 107.6, 61.4, 60.9, 58.6, 56.2, 51.8, 28.7, 18.1. IR ($\nu_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$): 3409, 3305, 3077, 2967, 2856, 1662, 1594, 1550, 1457, 1363, 1325, 1250, 1152, 1102, 1018, 981, 883, 732, 518. HRMS (DART, $[\text{M} + \text{H}]^+$) m/z : calcd para $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$, 443.1640; encontrada, 443.1629.

8,9,10-Trimetoxi-11-metil-*N*-octil-4-oxo-4,6-dihidrotieno[2',3':3,4]pirrolo[1,2-*b*]isoquinolin-6-carboxamida (33g). Utilizando el **procedimiento general III**, a partir de la dihidroisoquinolina **32g** (58.0 mg, 0.1 mmol). CC (60:40 Hex:AcOEt). Sólido amarillo (17.5 mg, 35% de rendimiento), $R_f = 0.1$ (60:40 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.44 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 7.30 (d, $J = 5.0$ Hz, 1H), 6.90 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 5.78 (s, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.89 (s, 3H), 3.87 (s, 3H), 3.23–3.04 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 1.43–1.35 (m, 2H), 1.28–1.13 (m, 10H), 0.85 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 169.2, 163.0, 153.6, 153.1, 143.4, 143.0, 136.7, 131.0, 127.5, 126.7, 120.3, 118.7, 115.9, 107.9, 61.4, 60.9, 57.8, 56.2, 39.8, 31.8, 29.4, 29.3, 29.2, 26.8, 22.7, 18.1, 14.2.

- **Síntesis de las amidas primarias 36a-b y 37a:**

***N*-(2-Amino-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-2-yodo-*N*-(prop-2-in-1-il)benzamida (36a).** A una disolución en THF (0.1 M) del producto de Ugi **34a** (294 mg, 0.5 mmol, 1.0 equiv) se adicionó 0.25 mL de HCl concentrado. La reacción se agitó por 1 h a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se neutralizó con NaHCO_3 (sólido), se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto se purificó por CC (20:80 Hex:AcOEt -0.2% de Et_2NH -) para proporcionar la amida primaria como un sólido amarillo claro (73.7 mg, 29% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (20:80 Hex:AcOEt -0.2% de Et_2NH -). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ (rotámero mayoritario) 7.82 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.43–7.29 (m, 2H), 7.10 (td, $J = 7.6, 2.0$ Hz, 1H), 6.81 (s, 2H), 6.70 (s, 1H), 6.19 (s, 1H), 6.10 (s, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 6H), 3.83–3.80 (m, 2H), 1.88 (s, 1H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ (rotámero mayoritario) 171.5, 171.4, 153.5, 141.0, 139.4, 130.9, 128.7, 128.4, 127.8, 127.4, 107.4, 92.5, 78.6, 71.4, 61.9, 61.0, 56.4, 33.2.

***N*-(2-Amino-2-oxo-1-(3,4,5-trimetoxifenil)etil)-2-(2-bromofenil)-*N*-(prop-2-in-1-il)acetamida (36b).** A una disolución en MeOH anhidro (0.05 M) del producto de Ugi **34b** (278 mg, 0.5 mmol, 1.0 equiv) se adicionó 10.0 equiv de AcCl. La reacción se dejó en agitación a 55 °C por 1 h bajo atmósfera de argón. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto se purificó por CC (20:80 Hex:AcOEt) para rendir la amida primaria como un sólido beige (128.4 mg, 54% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (20:80 Hex:AcOEt). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.53 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.25 (s, 2H), 7.12 (dt, $J = 7.8, 4.6$ Hz, 1H), 6.62 (s, 2H), 6.37 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 5.72 (s, 1H), 4.17 (d, $J = 2.5$ Hz, 2H), 4.12–3.92 (m, 2H), 3.83 (s, 3H), 3.80 (s, 6H), 2.17 (s, 1H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 171.6, 171.5, 153.5, 138.3, 135.1, 132.7, 131.7, 129.7, 128.9, 127.7, 125.1, 106.7, 79.3, 72.5, 61.0, 60.6, 56.3, 41.5, 35.6.

2-(2-Yodobenzoil)-5,6,7-trimetoxi-4-metil-1,2-dihidroisoquinolin-1-carboxamida (37a). 294 mg (0.5 mmol, 1.0 equiv) del producto de Ugi **34a** y 0.05 equiv de $\text{JohnPhosAu}(\text{MeCN})\text{SbF}_6$ se disolvieron en CHCl_3 anhidro (5 mL, 0.1 M). La mezcla resultante se agitó por 6 h a temperatura ambiente, bajo atmósfera de argón. Después de este tiempo el disolvente se evaporó a presión reducida, el crudo de la reacción anterior se disolvió en THF (5 mL, 0.1 M) y se adicionó 0.25 mL de HCl concentrado. La reacción se agitó por 3 h a temperatura ambiente. Después la mezcla de reacción se neutralizó con NaHCO_3 (sólido), se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto se purificó por CC (20:80 Hex:AcOEt -0.2% de Et_2NH -) para proporcionar la amida primaria dihidroisoquinolinica como un sólido amarillo (139.8 mg, 55% de rendimiento), $R_f = 0.2$ (20:80 Hex:AcOEt -0.2% de Et_2NH -). RMN ^1H (CDCl_3 , 300 MHz): δ 7.87 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.42 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 7.15 (td, $J = 7.9, 1.6$ Hz, 2H), 6.74 (s, 1H), 6.39 (bs, 1H), 6.15 (s, 1H), 6.05 (bs, 1H), 5.85 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.86 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 2.06 (s, 3H). RMN ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz): δ 171.1, 168.9, 153.0, 151.2, 143.0, 139.6, 131.3, 128.7, 128.5, 125.6, 120.6, 119.5, 119.3, 118.7, 107.8, 93.1, 61.3, 60.9, 57.3, 56.2, 19.2.

- **Síntesis del compuesto de Reissert 50:**

2-(2-Yodobenzoil)-1,2-dihidroisoquinolin-1-carbonitrilo (50).¹⁷ A una mezcla bifásica de 391 mg (6.0 mmol, 3.0 equiv) de KCN en 1 mL de agua y 0.24 mL (2.0 mmol, 1.0 equiv) de isoquinolina recién destilada en 1 mL de CH_2Cl_2 se adicionó, en un periodo de 2 h, una disolución en CH_2Cl_2 (2.0 mL) de cloruro de 2-yodobenzoilo

(1088 mg, 4.0 mmol, 2.0 equiv). La mezcla resultante se agitó por 6 h a temperatura ambiente. Después se separaron las fases, la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 5 mL), la fase orgánica se lavó con una disolución de HCl al 5% (5 mL), luego con una disolución de NaOH al 5% (5 mL) y finalmente con agua (5 mL). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto se purificó por CC (80:20 Hex:AcOEt) para proporcionar el producto de Reissert como un sólido blanco (772.4 mg, 65% de rendimiento), R_f = 0.2 (80:20 Hex:AcOEt). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.51–7.14 (m, 8H), 6.79 (s, 1H), 6.24 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 6.00 (d, J = 7.8 Hz, 1H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 168.6, 139.7, 139.0, 131.7, 130.3, 129.9, 128.7, 128.6, 128.3, 126.9, 126.1, 124.4, 124.0, 115.9, 111.1, 92.8, 44.1. IR (ν_{max}/cm⁻¹): 3078, 2964, 2357, 1667, 1625, 1574, 1490, 1460, 1426, 1404, 1349, 1273, 1231, 1155, 1106, 1018, 930, 907, 819, 775, 737, 691, 672, 617, 500. HRMS (DART, [M + H]⁺) m/z: calcd para C₁₇H₁₂N₂O, 386.99943; encontrada, 386.99812.

- **Síntesis de las sulfonamidas 52a-b:**

Procedimiento general IV. A una disolución del aldehído correspondiente (15.0 mmol, 1.0 equiv) en CHCl₃ anhidro (0.6 M) se adicionó 1.500 g de MS 4 Å y 3.6 equiv de dimetilacetal del aminoacetaldehído. La mezcla resultante se agitó por 36 h a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. Después la mezcla de reacción se filtró sobre celita, se diluyó en CHCl₃ (25 mL) y se extrajo con agua (4 x 50 mL); la fase orgánica se lavó con una disolución saturada de NaCl (30 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó a presión reducida. El crudo de la reacción de aminación se disolvió en EtOH (15 mL, 0.1 M) y se adicionó 2.0 equiv de NaBH₄. La reacción se agitó y se calentó a reflujo por 1 h. Posteriormente, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó en agua (50 mL), el producto se extrajo con CH₂Cl₂ (50 mL), la fase orgánica se extrajo con agua (2 x 50 mL), se lavó con una solución saturada de NaCl (50 mL), se secó sobre Na₂SO₄ y el disolvente se evaporó a presión reducida. Finalmente, el crudo de la reacción de reducción y 0.01 equiv de DMAP se disolvieron en CH₂Cl₂ anhidro (40 mL) y se adicionó 2.0 equiv de Et₃N. La mezcla resultante se enfrió a 0 °C y se colocó en agitación, bajo atmósfera de argón; se adicionó, gota a gota, una disolución en CH₂Cl₂ anhidro (10 mL) de *p*-TsCl (1.1 equiv). La mezcla resultante se agitó por 36 h a temperatura ambiente. Después la reacción se diluyó en CH₂Cl₂ (50 mL), se adicionó una solución saturada de NaHCO₃ (100 mL), y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x 100mL), la fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se evaporó el disolvente a presión reducida, proporcionando las sulfonamidas **52a-b**.

***N*-(3,4,5-Trimetoxibencil)-*N*-(2,2-dimetoxietil)-4-metilbencensulfonamida (52a).** Utilizando el **procedimiento general IV**, a partir de 3,4,5-trimetoxibenzaldehído (3.003 g, 15.0 mmol). Líquido viscoso amarillo claro (6.131 g, 93% de rendimiento -tres pasos-). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.29 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.34 (s, 2H), 4.42 (s, 2H), 4.38 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.72 (s, 6H), 3.27 (s, 6H), 3.22 (d, J = 5.3 Hz, 2H), 2.41 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 153.2, 143.4, 137.8, 131.8, 129.7, 127.2, 105.3, 104.2, 60.9, 56.0, 54.8, 52.8, 48.7, 46.1, 21.5.

***N*-(3,5-Dimetoxibencil)-*N*-(2,2-dimetoxietil)-4-metilbencensulfonamida (52b).** Utilizando el **procedimiento general IV**, a partir de 3,5-dimetoxibenzaldehído (2.543 g, 15.0 mmol). Líquido viscoso naranja claro (5.836 g, 95% de rendimiento -tres pasos-). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 7.73 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.30 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 6.33–6.29 (m, 3H), 4.41 (s, 2H), 4.37 (t, J = 5.3 Hz, 1H), 3.69 (s, 6H), 3.25 (s, 6H), 3.23 (d, J = 5.4 Hz, 2H), 2.41 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 160.9, 143.4, 138.6, 137.7, 129.7, 127.3, 106.1, 103.9, 55.3, 54.6, 52.6, 48.7, 46.1, 21.5.

- **Síntesis de las isoquinolinas 26a-b:**

Procedimiento general V. De acuerdo con el procedimiento descrito en la literatura,¹⁶ a una disolución en dioxano (135 mL, 0.1 M) de la sulfonamida **52a-b** (13.5 mmol, 1.0 equiv) se adicionó 22.5 mL de una solución 6 M de HCl (10.0 equiv). La mezcla resultante se agitó y se calentó a reflujo por 48 h. Posteriormente, la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, se neutralizó con NaHCO₃ (sólido), se filtró y el disolvente se evaporó a presión reducida. El producto se purificó por CC (Hex:AcOEt) para rendir las isoquinolinas **26a-b**.

5,6,7-Trimetoxiisoquinolina (26a).¹⁶ Utilizando el **procedimiento general V**, a partir de la sulfonamida **52a** (5.934 g, 13.5 mmol). CC (70:30 Hex:AcOEt). Sólido amarillo claro (2.072 g, 70 % de rendimiento). RMN ¹H (CDCl₃, 300 MHz): δ 9.04 (s, 1H), 8.38 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.78 (d, J = 5.8 Hz, 1H), 7.01 (s, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.98 (s, 3H), 3.97 (s, 3H). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 153.9, 150.3, 146.7, 144.2, 141.4, 127.6, 125.9, 114.6, 101.5, 61.5, 61.2, 56.1.

5,7-Dimetoxiisoquinolina (26b).¹⁶ Utilizando el **procedimiento general V**, a partir de la sulfonamida **52b** (5.528 g, 13.5 mmol). CC (80:20 Hex:AcOEt). Sólido amarillo claro (1.226 g, 48 % de rendimiento). RMN ¹³C (CDCl₃, 75 MHz): δ 159.2, 155.7, 150.4, 140.8, 130.2, 124.8, 115.1, 101.5, 96.5, 55.7, 55.6.

Referencias

- ¹ a) Newhouse, T.; Baran, P. S.; Hoffmann, R. W. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 3010; b) Baran, P. S.; Maimone, T. J.; Richter, J. M. *Nature* **2007**, 446, 404.
- ² a) Dömling, A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2002**, 6, 306; b) Dömling, A.; Ugi, I. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, 39, 3168.
- ³ a) Burke, M. D.; Schreiber, S. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 46; b) Galloway, W. R. J. D.; Isidro-Llobet, A.; Spring, D. R. *Nat. Commun.* **2010**, 80, 1.
- ⁴ García-González, M. C.; Aguilar-Granda, A.; Zamudio-Medina, A.; Miranda, L. D.; Rodríguez-Molina, B. *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 2570.
- ⁵ Chéron, N.; Ramozzi, R.; El Kaïm, L.; Grimaud, L.; Fleurat-Lessard, P. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 1361.
- ⁶ Miranda, L. D.; Hernández-Vázquez, E. *J. Org. Chem.* **2015**, 80, 10611.
- ⁷ Marcaccini, S.; Torroba, T. *Post-Condensation Modifications of the Passerini and Ugi Reactions*. En: *Multicomponent Reactions* (Eds.: Zhu, J.; Bienaymé, H.). **2005**, Wiley-VCH, Weinheim (Germany), Ch. 2.
- ⁸ a) Keating, T. A.; Armstrong, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 7842; b) Keating, T. A.; Armstrong, R. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2574. c) Linderman, R. J.; Binet, S.; Petrich, S. R. *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 336; d) Maison, W.; Schlemminger, I.; Westerhoff, O.; Martens J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, 9, 581; e) Lindhorst, T.; Bock, H.; Ugi, I. *Tetrahedron* **1999**, 55, 7411; f) Pirrung, M. C.; Ghorai, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 11772; g) Pirrung, M. C.; Ghorai, S.; Ibarra-Rivera, T. R. *J. Org. Chem.* **2009**, 74, 4110; h) Gilley, C. B.; Buller, M. J.; Kobayashi, Y. *Org. Lett.* **2007**, 9, 3631; i) Gilley, C. B.; Kobayashi, Y. *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 4198; j) Neves Filho, R. A. W.; Stark, S.; Morejon, M. C.; Westermann, B.; Wessjohann, L. A. *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 5360; k) van der Heijden, G.; Jong, J. A. W. (S.); Ruijter, E.; Orru, R. V. A. *Org. Lett.* **2016**, 18, 984.
- ⁹ Amador-Sánchez, Y. A.; Aguilar-Granda, A.; Flores-Cruz, R.; González-Calderón, D.; Orta, C.; Rodríguez-Molina, B.; Jiménez-Sánchez, A.; Miranda, L. D. *J. Org. Chem.* **2020**, 85, 633.
- ¹⁰ a) Zhu, H.; Fan, J.; Du, J.; Peng, X. *Acc. Chem. Res.* **2016**, 49, 2115; b) Ueno, T.; Nagano, T. *Nat. Methods* **2011**, 8, 642; c) Chen, K.; Chen, X. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, 10, 1227; d) Xiao, H.; Wu, C.; Li, P.; Gao, W.; Zhang, W.; Zhang, W.; Tong, L.; Tang, B. *Chem. Sci.* **2017**, 8, 7025; e) Kobayashi, H.; Ogawa, M.; Alford, R.; Choyke, P. L.; Urano, Y. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 2620.
- ¹¹ Lichtman, J. W.; Conchello, J.-A. *Nat. Methods* **2005**, 2, 910.
- ¹² a) Romero, N. A.; Nicewicz, D. A. *Chem. Rev.* **2016**, 116, 10075; b) Valeur, B. *Molecular fluorescence*. En: *Digital Encyclopedia of Applied Physics*. **2009**, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- ¹³ Leo, A.; Hansch, C.; Elkins, D. *Chem. Rev.* **1971**, 71, 525-616.
- ¹⁴ Würth, C.; Grabolle, M.; Pauli, J.; Spieles, M.; Resch-Genger, U. *Nat. Protoc.* **2013**, 8, 1535.
- ¹⁵ Rothbard, J. B.; Jessop, T. C.; Lewis, R. S.; Murray, B. A.; Wender, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9506.
- ¹⁶ a) Wang, Z. *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*. **2010**, John Wiley & Sons, Inc. pp. 2335-2338; b) McEwen, W. E.; Cobb, R. L. *Chem. Rev.* **1955**, 55, 511; c) Popp, F. D. *Adv. Heterocycl. Chem.* **1968**, 9, 1-25; d) Uff, B. C.; Kershaw, J. R.; Neumeyer, J. L. *Org. Synth.* **1977**, 56, 19.
- ¹⁷ Grigg, R.; Sridharan, V.; Stevenson, P.; Sukirthalingam, S.; Worakun, T. *Tetrahedron* **1990**, 46, 4003.
- ¹⁸ a) Birch, A. J.; Jackson, A. H.; Shannon, P. V. R. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1974**, 2185.
- ¹⁹ a) Lei, J.; Wu, X.; Zhu, Q. *Org. Lett.* **2015**, 17, 2322; b) Pérez-Labrada, K.; Brouard, I.; Méndez, I.; Rivera, D.G. *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 4660.