

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Biotecnología

DISEÑO COMPUTACIONAL Y PREPARACIÓN DE LIGANDOS DE LA PROTEÍNA CDC20: DIANA TERAPÉUTICA PARA EL TRATAMIENTO CONTRA EL TNBC.

Autor: Xiomy Sary Sánchez Cepeda

Villaviciosa de Odón, *Junio, 2026*

Título del Trabajo: **DISEÑO COMPUTACIONAL Y PREPARACIÓN DE
LIGANDOS DE LA PROTEÍNA CDC20: DIANA TERAPÉUTICA PARA EL
TRATAMIENTO CONTRA EL TNBC**

Este trabajo ha sido realizado en el INSTITUTO DE QUÍMICA ORGÁNICA
GENERAL, en el grupo de investigación de Química Aplicada y Biomoléculas.



Tutora interna: Dra. Sara Gómez Quevedo

Tutores de prácticas externas: Dra. Ágatha Bastida Codina y Dr. Raúl Benito
Arenas

ÍNDICE

ABREVIATURAS	4
1. RESUMEN	5
2. INTRODUCCIÓN.....	6
2.1. CDC20 COMO PROTEÍNA DIANA PARA TRATAR EL CÁNCER, ESPECÍFICAMENTE TNBC	6
2.2. APCIN (1), LIGANDO DE LA PROTEÍNA CDC20.	7
2.3. FENOL 2, LIGANDO DERIVADO DE LA L-TIROSINA.....	8
3. OBJETIVOS.....	8
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
4.1. OBTENCIÓN DE ESTRUCTURAS PARA LA MODELIZACIÓN MOLECULAR.....	10
4.2. MODELIZACIÓN MOLECULAR	10
4.3. CÁLCULO DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS	11
4.4. MATERIALES DE LA SÍNTESIS QUÍMICA.....	11
4.5. PROCEDIMIENTOS GENERALES DE LA SÍNTESIS QUÍMICA.....	12
4.6. TÉCNICAS Y APARATOS DE LA SÍNTESIS QUÍMICA.....	12
4.7. SÍNTESIS QUÍMICA	13
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	17
5.1. MODELIZACIÓN MOLECULAR	17
5.2. PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS.....	21
5.3. PREPARACIÓN DE LOS INTERMEDIOS SINTÉTICOS	23
5.4. APROXIMACIONES FUTURAS PARA CONSEGUIR EL COMPUESTO OBJETIVO	29
6. CONCLUSIONES	30
7. BIBLIOGRAFÍA	31
8. ANEXOS	35
8.1. NOMENCLATURA	35
8.2. MECANISMOS DE REACCIÓN.....	36
8.3. ESPECTROS Y TABLAS DE RMN.....	38
8.4. ESPECTROS DE MASAS DE ALTA RESOLUCIÓN	46

ABREVIATURAS

δ	Desplazamiento químico
ν	Número de onda
APC/C	Complejo Promotor de la Anafase/Ciclosoma
ATR	Reflectancia Total Atenuada
c	Cuadruplete
Cdc20	proteína 20 del ciclo de división celular
COSY	Espectroscopía de correlación
d	Doblete
DBU	1,8-Diazabicycloundec-7-eno
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
dd	Doble doblete
ER	Receptor de estrógenos
ESI	Ionización por electrospray
HBTU	Hexafluorofosfato benzotriazol tetrametil uronio
HER2	Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano
HMBC	Correlación heteronuclear de múltiples enlaces
HOA	Porcentaje de absorción oral humano
HRMS	Espectros de masas de alta resolución
HSQC	Correlación heteronuclear cuántica simple
Hz	Hercios
IR	Infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
m	Multiplete
MHz	Megahercios
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
ODS	Objetivos de desarrollo sostenible
<i>QPlogBB</i>	Coeficiente de reparto entre la sangre y el cerebro
<i>QPlogHERG</i>	Predicción del posible bloqueo de los canales HERG K ⁺
<i>QPlogKhsa</i>	Predicción de la unión a la albúmina sérica
<i>QPlogKp</i>	Predicción de la permeabilidad de la piel, logKp
<i>QPlogS</i>	Predicción de la solubilidad acuosa
<i>QPPCaco</i>	Predicción de la permeabilidad para Caco-2 aparente
PR	Receptor de progesterona
<i>R_f</i>	Factor de retención
RMN	Resonancia magnética nuclear
rto.	Rendimiento
s	Singlete
s.a.	Singlete ancho
t	Triplete
TBDMS	<i>tert</i> -Butildimetilsililo
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina
TNBC	Cáncer de mama triple negativo
tm	Triple multiplete

DISEÑO COMPUTACIONAL Y PREPARACIÓN DE LIGANDOS DE LA PROTEÍNA CDC20: DIANA TERAPÉUTICA PARA EL TRATAMIENTO CONTRA EL TNBC.

1. RESUMEN

El cáncer de mama triple negativo (TNBC) es el cáncer de mama con peor pronóstico en mujeres jóvenes debido a la ineficacia de los tratamientos actuales, por lo que es necesaria la búsqueda de alternativas terapéuticas. Este subtipo tumoral se caracteriza por una elevada expresión de la proteína Cdc20, implicada en la proliferación celular. Por ello, en el presente trabajo se planteó el diseño y la síntesis de compuestos con mayor afinidad por dicha proteína que el Apcin (**1**), su ligando cristalográfico.

En el grupo de investigación, basándose en la estructura química del compuesto Apcin (**1**) se diseñó el ligando fenol **2**. Tras su síntesis, se determinó su actividad biológica frente a la línea celular MDA-MB231, obteniéndose mejores resultados frente al cáncer de mama que con el ligando Apcin. Teniendo en cuenta la estructura del fenol **2** se plantea el diseño computacional y síntesis del triazol **3**.

A pesar de los resultados positivos en cuanto a su afinidad, debido a sus propiedades farmacocinéticas, el triazol **3** no constituye un buen candidato para su administración oral, por lo que es necesaria una búsqueda de alternativas como la protección de su grupo amino, dando lugar a la bencilamida **13**, lo que aumentará su hidrofobicidad y por tanto, su capacidad para atravesar membranas biológicas.

En cuanto a su síntesis, no fue posible llegar al producto final por falta de tiempo, puesto que las últimas reacciones necesitaron optimizarse. A pesar de ello, se concluyó la buena candidatura del triazol **3** y la bencilamida **13** como posibles ligandos de la proteína Cdc20, evitando la formación del complejo, siendo una alternativa eficiente a los tratamientos actuales contra el TNBC.

Palabras clave: APC/C, Apcin, cáncer de mama triple negativo (TNBC), Cdc20, L-serina, modelización molecular, síntesis química.

2. INTRODUCCIÓN

La división celular es un proceso fundamental para el correcto desarrollo y mantenimiento de los organismos vivos. Sin embargo, alteraciones en los mecanismos que regulan el ciclo celular pueden dar lugar a enfermedades como el cáncer. Dentro de estos mecanismos de control, la proteína 20 del ciclo de división celular (Cdc20) desempeña un papel clave en la progresión de la mitosis, ya que participa en la activación del Complejo Promotor de la Anafase/Ciclosoma (APC/C), responsable de la degradación de proteínas implicadas en la correcta separación cromosómica.^{1,2} Debido a su relevancia biológica y a su sobreexpresión en distintos tipos tumorales, Cdc20 se ha convertido en una diana terapéutica de gran interés en el desarrollo de nuevos agentes antitumorales.³⁻⁵

2.1. Cdc20 como proteína diana para tratar el cáncer, específicamente TNBC

APC/C es una E3 ubiquitin ligasa, de 14 subunidades,² que es activada por la proteína Cdc20, formando el complejo APC/C-Cdc20 (Figura 1).¹ Este complejo ubiquitina la proteína securina,⁴ que se encarga de asegurar la correcta división de los cromosomas en el momento oportuno y la ciclina B1,⁶ esencial en la fase G2 del ciclo celular al promover el inicio de la mitosis. Además, también ubiquitina el inhibidor de la quinasa dependiente de ciclinas p21, lo que promueve el avance del ciclo celular. Si se unen ligandos a la proteína Cdc20, impidiendo la formación del complejo, la acumulación de p21 detiene la división celular.⁷

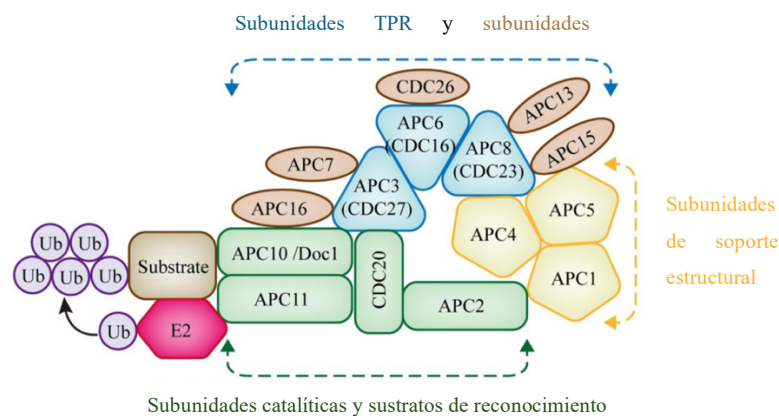


Figura 1. Complejo de la ubiquitin ligasa E3 APC/C-Cdc20. Imagen adaptada de la bibliografía.⁴

Debido a su carácter regulador, una sobreexpresión de Cdc20 compromete la estabilidad celular, derivando en un tumor maligno,⁴ como es el caso del cáncer de mama triple negativo (TNBC),⁸

osteosarcoma o cáncer de páncreas. Por otro lado, se ha observado una disminución de la migración celular de células cancerígenas y su división celular tras la unión de ligandos a Cdc20.⁹

El TNBC es el tipo de cáncer de mama con peor pronóstico, especialmente en mujeres jóvenes,¹⁰ debido a la ausencia, en sus células cancerígenas, de expresión de los receptores de progesterona (PR), de estrógeno (ER) y del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2),¹¹ que son ampliamente usados como dianas terapéuticas para tratar el resto de variantes de cáncer de mama.^{12,13} Estudios recientes han descrito grandes cantidades de la proteína Cdc20 en las células cancerígenas del TNBC, lo que la ha convertido en objeto de estudio para buscar nuevas terapias para el TNBC.¹⁴⁻¹⁶

2.2. Apcin (1), ligando de la proteína Cdc20.

El Apcin (1) (Figura 2) es un compuesto descrito en 2014 como un ligando de la proteína Cdc20, cuya unión imposibilita la formación del complejo APC/C-Cdc20,¹⁷ describiéndose el sitio de interacción dentro de la proteína de interés en el dominio D-box.¹⁸ A pesar de las dificultades derivadas de la obtención de la Cdc20, puesto que la proteína se obtiene a partir de huevos de *Xenopus laevis*, se logró cristalizar en conjunto con la proteína.¹⁷

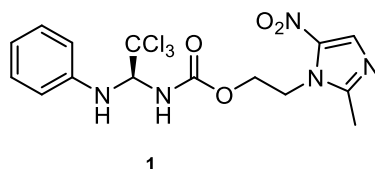
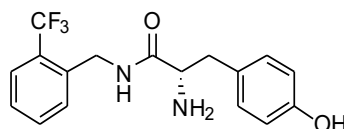


Figura 2. Estructura química de Apcin (1).

Sin embargo, debido a la baja afinidad que presenta el Apcin (1) en presencia de células cancerígenas donde se expresa la proteína Cdc20 (MDA-MB-231, 139.38 μ M),¹⁹ se han realizado numerosos estudios con el fin de conseguir nuevos compuestos con mejor actividad enfocados en modificaciones estructurales del Apcin (1).^{14,20,21}

2.3. Fenol 2, ligando derivado de la L-tirosina.

En los últimos años, el grupo de investigación liderado por la Dra. Ágatha Bastida ha trabajado en el diseño y síntesis de nuevos compuestos como respuesta a la necesidad de nuevos ligandos con mayor afinidad por la proteína Cdc20. En este sentido, el fenol 2 (Figura 3) es un compuesto diseñado y sintetizado con mayor afinidad por la proteína Cdc20 (MDA-MB-231, 50 μ M).²² Este compuesto es una bencilamida derivada de la L-tirosina sintetizado en tres etapas sintéticas.



2

Figura 3. Estructura química del compuesto fenol 2.

Sin embargo, durante la evaluación de su potencial uso como fármaco, se observaron limitaciones relacionadas con la concentración necesaria para ejercer su efecto, situándose en el rango micromolar en lugar del nanomolar. En consecuencia, el diseño racional y la posterior síntesis de nuevos compuestos con una afinidad mejorada por la proteína Cdc20 resultan fundamentales para el desarrollo de fármacos capaces de mejorar las estrategias terapéuticas actualmente disponibles para determinados tipos de cáncer.

En este contexto, el presente trabajo se centra en el diseño computacional y la preparación de nuevos ligandos de la proteína Cdc20 que impidan la formación del complejo APC/C-Cdc20. La base del estudio parte del análisis de la estructura cristalográfica de la proteína, identificada con el código PDB 4N14, en la que aparece descrito el compuesto Apcin (**1**) como ligando.¹⁷ Aunque Apcin (**1**) constituye uno de los primeros ligandos conocidos del complejo APC/C-Cdc20, presenta limitaciones en cuanto a su capacidad de unión, lo que hace necesario el desarrollo de nuevas moléculas con mejores propiedades biológicas.^{14,19}

3. Objetivos

El presente Trabajo de Fin de Grado tiene como objetivo principal obtener un ligando de la proteína Cdc20 con mayor afinidad que el Apcin (**1**) y el fenol 2. Ya que el compuesto fenol 2 es un derivado del aminoácido L-tirosina, se planteó el diseño de un nuevo compuesto usando

como aminoácido la L-serina. Partiendo de su estructura, se realizó el diseño de un compuesto final, el triazol **3**, siendo éste un análogo estructural del fenol **2** y Apcin (**1**) pero con otro grupo aromático, concretamente un grupo triazol, que pueda mejorar la capacidad de unión de los compuestos mencionados. En la Figura 4 se pueden observar las similitudes estructurales entre el Apcin (**1**), el fenol **2** y el triazol **3**, como justificación al diseño de este último.

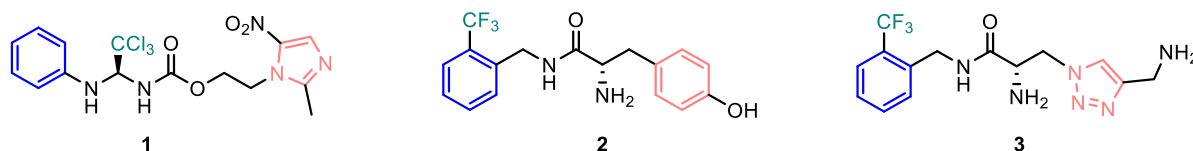


Figura 4. Comparación estructural del Apcin (**1**), fenol **2** y triazol **3**. Se observan las similitudes: anillo aromático (azul), radical trihalogenado (verde) y el residuo aromático (naranja).

Para alcanzar este objetivo, son necesarios los siguientes subobjetivos:

1. Caracterizar mediante modelización molecular la afinidad del triazol **3** a la proteína diana Cdc20 y compararlo con el compuesto de referencia Apcin (**1**).
2. Evaluar computacionalmente las propiedades farmacocinéticas de los compuestos de síntesis, comparándolos con el Apcin (**1**).
3. Sintetizar el triazol **3** siguiendo su esquema retrosintético representado en la Figura 5.

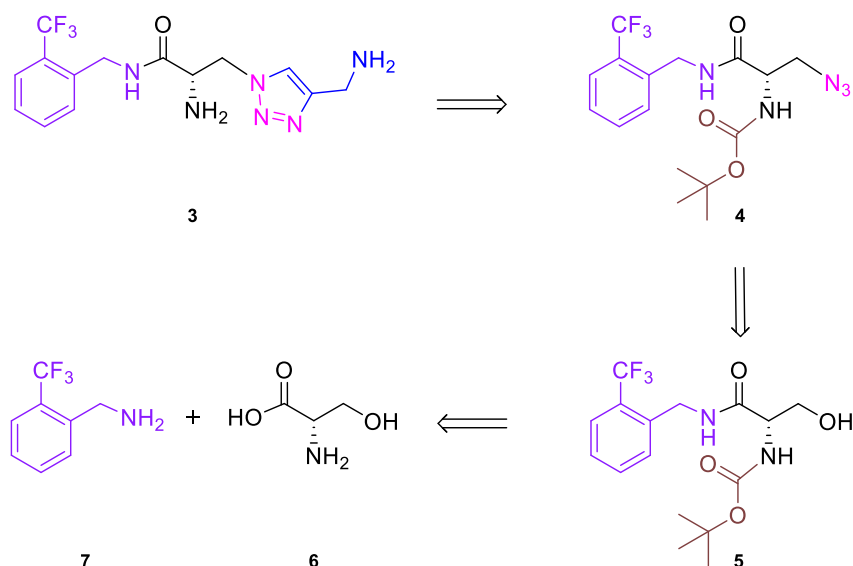


Figura 5. Esquema retrosintético para la obtención del triazol **3**. Se aprecian las moléculas: triazol **3**, azida **4**, alcohol **5**, ácido **6** (L-serina) y bencilamina **7**.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Obtención de estructuras para la modelización molecular

La estructura 3D de la proteína Cdc20 se obtuvo de la base de datos *Protein Data Bank* (PDB) con el código de acceso ID 4N14, obtenida mediante cristalografía de rayos X, con una resolución de 2.1 Å y depositada en 2013.¹⁷ La elección de la estructura se basó en la cristalización de esta proteína con el ligando Apcin (**1**), aspecto relevante para el modelado molecular a realizar.

Las estructuras tridimensionales de los ligandos (Apcin (**1**), fenol **2**, triazol **3** y bencilamida **13**) se obtuvieron a partir de las estructuras bidimensionales creadas con el programa ChemDraw v.23.0.1. La estructura de Apcin (**1**), en cambio, se extrajo de la misma entrada de PDB que presenta la proteína.

4.2. Modelización molecular

Las estructuras se importaron al programa informático Maestro v.14.2 (Schrödinger Suite), donde se realizó el procesamiento tridimensional de los ligandos y el modelado molecular, con todos los procedimientos descritos a continuación.

4.2.1. Preparación del receptor y los ligandos

El receptor, es decir, la proteína Cdc20 (Código PDB: 4N14) así como los ligandos, se prepararon haciendo uso de las opciones *Protein Preparation Workflow* y *Ligprep*, respectivamente.

Durante este proceso, a la proteína se le adicionaron los hidrógenos, se corrigieron errores estructurales (conformaciones incorrectas o residuos no estándares), se asignaron estados de protonación adecuados a pH fisiológico ($\text{pH } 7.0 \pm 2.0$) y se optimizaron los enlaces de hidrógeno. Además, se minimizó la energía parcial del sistema mediante la restricción de los átomos del esqueleto proteico (*protein backbone*), conservando así la conformación experimental original. A su vez, se relajaron los grupos ajustados o añadidos durante el proceso.

En cuanto a la preparación de los ligandos, se generaron los estados de protonación al pH mencionado anteriormente y se especificó la preservación de la configuración de los centros estereogénicos de las moléculas para evitar la modificación de la estructura.

4.2.2. Generación de la caja interna

La caja interna (*grid*) se generó tomando como referencia el ligando Apcin (**1**) de la estructura cristalográfica de la proteína, con unas dimensiones de $10 \times 10 \times 10$ Å en torno al sitio de unión. En cuanto a su espaciado, se siguió la estrategia multinivel incluida en el software Grid, que consiste en un refinamiento jerárquico partiendo de hexaedros de grandes dimensiones (~ 3.2 Å) que, progresivamente, se afina hasta alcanzar una resolución de 0.4 Å.

4.2.3. Cálculo de *docking*

Como control positivo del protocolo de modelización molecular, se utilizó como ligando el Apcin (**1**) para realizar un acoplamiento molecular con la proteína preparada mediante la opción *ligand docking* (*Glide*), seleccionando el modo *Extra Precision* (XP), y un *Induced Fit docking*, con la opción IFD, del programa *Glide Docking* (v. 14.2).^{23,24} Se compararon las mejores poses devueltas con la conformación experimental del ligando observada en el complejo cristalizado (PDB: 4N14), comprobando su estructura y las interacciones clave con la proteína.

Con el resto de los ligandos, se llevó a cabo el mismo protocolo, tras haber sido validado como se ha mencionado, mediante el mismo programa (*Glide Docking*). Se especificó la generación de 10 poses como máximo, así como que las posibles interacciones a tomar en cuenta sean las que se establezcan con residuos de no más de 4 Å de distancia del centro de unión.

4.3. Cálculo de parámetros farmacocinéticos

Para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos, se tomaron las poses de los ligandos con menor *XP GScore* que el Apcin (**1**) y que encajaban de forma adecuada en el sitio de unión de la proteína. Se hizo uso de la opción *QikProp* de Maestro (Schrödinger Academy, n.d.), analizando los parámetros *QPlogS*, *QPlogHERG*, *QPPCaco*, *QPlogBB*, *QPlogKp*, *QPlogKhsa* y el *PorcentHuman-OralAbsorption*. Se tomaron los valores y rangos estándares establecidos en el programa.

4.4. Materiales de la síntesis química

Los reactivos y productos de partida se adquirieron, con un alto porcentaje de pureza, en las casas comerciales *Fluorochem*, *Scharlab*, *BLD Pharmatech*, *Panreac*, *Acros Organics* y *Aldrich*. Los disolventes se obtuvieron de las casas comerciales *Carlo Erba*, *Scharlab*, *Sigma*

Fisher y Honeywell. Cabe recalcar que la dimetilformamida (DMF) (*Fisher*) se adquirió secada sobre tamiz molecular de 3Å bajo atmósfera de argón.

4.5. Procedimientos generales de la síntesis química

En el Anexo 8.1, se pueden consultar las especificaciones respecto a la nomenclatura y numeración de los compuestos que se describirán en este trabajo. En aquellas reacciones donde fue necesario el empleo de atmósfera inerte de argón, éste se encuentra indicado en la figura del esquema de la reacción, mientras que en caso contrario no se indica. Todas las estructuras químicas y esquemas se realizaron con el programa ChemDraw v.23.0.1.

Cuando fue necesario se realizó una extracción líquido-líquido²⁵ previa a la purificación de los productos de reacción con cromatografía en columna bajo presión, cromatografía *flash*,²⁶ haciendo uso de gel de sílice *Merck* (0.040 - 0.063 mm) como fase estacionaria. Para el seguimiento de las reacciones y procedimientos de purificación se utilizó la cromatografía en capa fina (TLC), mediante el uso de cromatofolios de gel de sílice 60 F₂₅₄ de *Merck* con soporte de aluminio en capas de 0.2 mm de espesor. Para el revelado de las placas se utilizó una lámpara de luz UV (254 nm), una disolución de ácido fosfomolibdico (PMA) al 10 % p/v de etanol y una disolución de ninhidrina 1.5 % p/v en una mezcla 3 % v/v de ácido acético glacial en *n*-butanol.

4.6. Técnicas y aparatos de la síntesis química

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) tanto monodimensionales (protón ¹H y carbono ¹³C) como bidimensionales (HSQC, HMBC y COSY) se realizaron a temperatura ambiente en el disolvente indicado en cada caso (CDCl₃ y CD₃OD) y en los equipos *VARIAN INOVA-300* (¹H a 300 MHz), *JEOL JNM-ECZ400R* (¹H a 400 MHz y ¹³C a 100 MHz) y *VARIAN SYSTEM-500* (¹H a 500 MHz y ¹³C a 125 MHz) del Centro de Química Orgánica “Lora-Tamayo”. Los desplazamientos químicos se expresaron en partes por millón y las constantes de acoplamiento en hercios. Se utilizó como referencia interna la señal residual del disolvente: CDCl₃ (7.26 ppm ¹H-RMN y 77.16 ppm ¹³C-RMN) y CD₃OD (3.31 ppm ¹H-RMN y 49.00 ppm ¹³C-RMN). Para especificar la multiplicidad se hizo uso de abreviaturas como s (singlete), s.a. (singlete ancho), d (doblete), dd (doble doblete), t (triplete), c (cuartete), m (multiplete) y tm (triple multiplete). La edición de los espectros se realizó con el programa MNova v.14.3.2-32681.

Los espectros de masas de alta resolución se registraron en un espectrómetro *Agilent 6520 Accurate Mass Q-TOF LC/MS* (equipo híbrido cuadrupolo-tiempo de vuelo, con especificaciones de resolución de 1-2 ppm), por inyección directa de la muestra y utilizando como portador una disolución de la muestra en MeOH con una concentración, aproximada, de 1 mg/mL. Los datos calculados y encontrados están expresados en m/z .

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron con el espectrofotómetro *Perkin-Elmer FT-IR Spectrum Two*, con transformada de Fourier y un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR), permitiendo el análisis de muestras sólidas y líquidas. Las frecuencias de los máximos de absorción se expresan en cm^{-1} .

4.7. Síntesis química

4.7.1. Preparación de ácido (2*S*)-2-amino-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]propanoico (8)

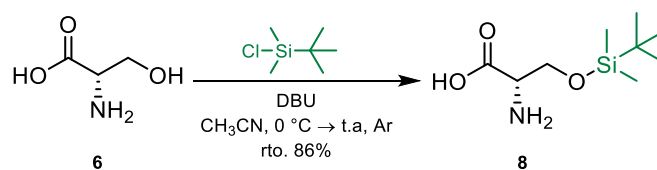


Figura 6. Reacción de obtención del sililéter **8**.

Sobre una suspensión de ácido (2*S*)-2-amino-3-hidroxipropanoico (**6**) (1.023 g, 9.515 mmol, 1.0 eq.) en CH_3CN (6.0 mL) se añadió, a $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1,8-diazabicycloundec-7-eno (DBU) (1.5 mL, 9.991 mmol, 1.05 eq.). A continuación, se adicionó, a $0\text{ }^\circ\text{C}$, una disolución de cloruro de *tert*-butildimetilsililo (1.537 g, 9.991 mmol, 1.05 eq.) en CH_3CN (6.0 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 21.5 horas. Pasado ese tiempo, la suspensión resultante se enfrió a $0\text{ }^\circ\text{C}$ durante 15 minutos y posteriormente, se filtró a vacío en embudo Büchner lavándose el sólido obtenido con CH_3CN frío (80.0 mL).²⁷ A continuación, se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose (2*S*)-2-amino-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]propanoico (**8**) como un sólido blanco (1.804 g, rto. 86 %).

$R_f = 0.45$ (TLC, $\text{AcOEt}/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$, 6:2:1). $^1\text{H-RMN}$ (300 MHz, CD_3OD) δ : 4.08-3.96 (2H, m), 3.63-3.59 (1H, m), 0.93 (9H, s), 0.13 (3H, s.a.), 0.12 (3H, s.a.) ppm.²⁸

4.7.2. Preparación de ácido (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoico (**9**)

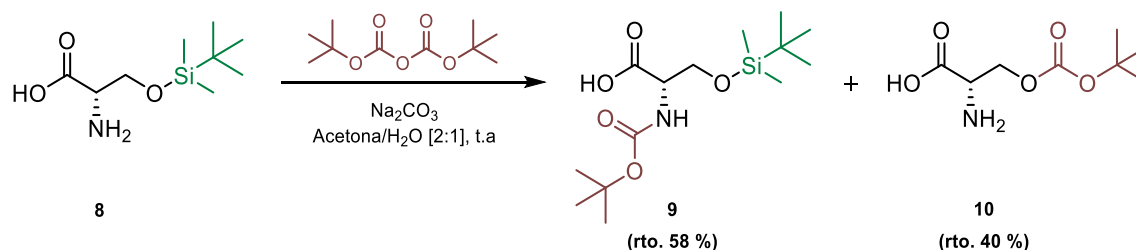


Figura 7. Reacción para la formación del carbamato **9** y el ácido **10**.

Sobre una disolución del (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoico (**8**) (1.753 g, 7.992 mmol, 1.0 eq.) en una disolución acuosa de Na₂CO₃ 5 % (17.0 mL) se añadió, a temperatura ambiente, una disolución de dicarbonato de di-*tert*-butilo (2.2 mL, 9.590 mmol, 1.2 eq.) en acetona (35.0 mL). La suspensión resultante se dejó agitando a temperatura ambiente durante 25.5 horas. Pasado ese tiempo, la mezcla de reacción se acidificó con una disolución acuosa de HCl 10 % (pH 3). Se separaron las fases en un embudo de extracción. La fase acuosa se extrajo con AcOEt (9 × 10.0 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con una disolución acuosa saturada de NaCl (1 × 10.0 mL), se secaron con MgSO₄ anhidro, se filtraron y se eliminó el disolvente a presión reducida, obteniéndose una mezcla 2:1 de (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoico (**9**) (1.499 g, rto. 58 %) y (2*S*)-2-amino-3-[(*tert*-butoxicarbonil)oxi]propanoico (**10**) (0.699 g, rto. 40 %) como un aceite amarillento.

R_f = 0.68 (TLC, AcOEt/MeOH/ NH₄OH, 6:2:1). ¹H-RMN (300 MHz, CD₃OD) δ: 4.21-4.14 (2H, m, **9** y **10**), 3.97 (1H, dd, J = 10.2, 4.1 Hz, **9**), 3.89-3.74 (3H, m, **9** y **10**), 1.49 (9H, s.a., **10**), 1.43 (9H, s, **9**), 0.88 (9H, s, **9**), 0.06 (3H, s.a., **9** y **10**) y 0.05 (3H, s.a., **9** y **10**) ppm.²⁸
HRMS (ESI⁺): m/z calculado para C₁₄H₂₈NO₅Si (M-H)⁻ (**9**) 318.1742, encontrado 318.1741, y calculado para C₈H₁₄NO₅ (M-H)⁻ (**10**) 204.0877, encontrado 204.0878.

4.7.3. Preparación de (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-*N*-[(2-trifluorometil)bencil]propanamida (**11**)

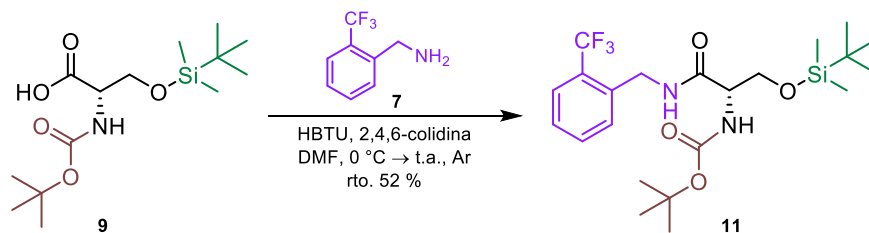


Figura 8. Reacción para la obtención de la amida **11**.

Sobre una disolución de ácido (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]propanoico (**9**) (2.370 g, 7.420 mmol, 1.0 eq.) en *N,N*-dimetilformamida (DMF) anhidra (40.0 mL) se añadió, a 0 °C, 2,4,6-colidina (2.5 mL, 18.550 mmol, 2.5 eq.) y se dejó agitando durante 10 minutos a 0 °C. Pasado ese tiempo, se adicionó, a 0 °C, hexafluorofosfato benzotriazol tetrametil uronio (HBTU) (4.260 g, 11.130 mmol, 1.5 eq.), dejando la mezcla en agitación durante el mismo periodo y temperatura descrita anteriormente. Seguidamente, se añadió 2-(trifluorometil)bencilamina (**7**) (1.2 mL, 8.160 mmol, 1.1 eq.). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 21 horas. Transcurrido ese tiempo, sobre la mezcla de reacción se adicionó AcOEt (10.0 mL). La fase orgánica se lavó con H₂O (5 × 10.0 mL) y una disolución de NaCl saturada (2 × 10.0 mL). Posteriormente, se secó con Na₂SO₄ anhidro, se filtró y posteriormente el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo de reacción se purificó mediante una cromatografía en columna (Hex/AcOEt, 12:1), obteniéndose (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-*N*-[(2-trifluorometil)bencil]propanamida (**11**) como un sólido blanco (1.852 g, rto. 52 %).

R_f = 0.45 (TLC, Hex/AcOEt, 5:1). **¹H-RMN** (500 MHz, CDCl₃) δ: 7.63 (1H, d, J = 7.6 Hz), 7.53 (1H, d, J = 7.6 Hz), 7.49 (1H, t, J = 7.6 Hz), 7.37 (1H, t, J = 7.6 Hz), 6.85 (1H, s.a.), 5.37 (1H, s.a.), 4.63 (2H, d, J = 6.0 Hz), 4.16 (1H, s), 4.04 (1H, dd, J = 9.8, 3.7 Hz), 3.65 (1H, dd, J = 9.8, 6.4 Hz), 1.42 (9H, s), 0.81 (9H, s), 0.03 (6H, s) ppm. **¹³C-RMN** (125 MHz, CDCl₃) δ: 170.7, 155.6, 136.5, 132.4, 130.6, 128.3 (c, J = 30.7 Hz), 127.7, 126.1 (c, J = 5.8 Hz), 124.5 (c, J = 273.5 Hz), 80.3, 63.3, 55.8, 40.2 (c, J = 2.5 Hz), 28.4, 25.8, 18.2, -5.4, -5.5 ppm. **HRMS** (ESI⁺): m/z calculado para C₂₂H₃₅F₃N₂NaO₄Si (M+Na)⁺ 499.2216, encontrado 499.2210. **IR** (sólido) ν: 3319, 1686, 1658, 1544, 1529, 1460, 1368, 1315, 1301, 1280, 1249, 1243, 1160, 1105, 1061, 1039, 1019, 1007, 837, 817, 778, 764, 719, 685, 653 cm⁻¹.

4.7.4. Preparación de (2*S*)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-hidroxi-*N*-[(2-trifluorometil)bencil]propanamida (**5**)

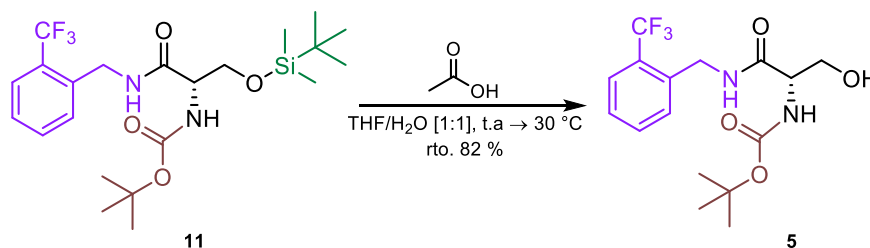


Figura 9. Reacción de formación del alcohol **5**.

Sobre una disolución de (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)-*N*-[(2-trifluorometil)bencil]propanamida (**11**) (1.430 g, 3.000 mmol) en tetrahidrofurano (THF) (13.0 mL) se añadió, a temperatura ambiente, H₂O (13.0 mL). Sobre la solución resultante se adicionó, a temperatura ambiente, ácido acético (46.8 mL, 810.000 mmol). La disolución resultante se calentó a 30 °C durante 22 horas. Pasado ese tiempo, la mezcla de reacción se neutralizó con una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ a temperatura ambiente. A continuación, se añadieron H₂O (10.0 mL) y AcOEt (10.0 mL). La fase acuosa se extrajo con AcOEt (6 × 10.0 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H₂O (3 × 10.0 mL), posteriormente se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se eliminó el disolvente a presión reducida.²⁷ El residuo de reacción se purificó por una cromatografía en columna (Hex/AcOEt, 2:3), obteniéndose (2*S*)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-hidroxi-*N*-[(2-trifluorometil)bencil]propanamida (**5**) como un sólido blanco (1.022 g, rto. 83 %).

R_f = 0.45 (TLC, Hex/AcOEt, 1:2). **¹H-RMN** (400 MHz, CD₃OD) δ : 7.66 (1H, d, J = 7.6 Hz), 7.59 (1H, d, J = 7.6 Hz), 7.55 (1H, t, J = 7.6 Hz), 7.41 (1H, t, J = 7.6 Hz), 4.67 (1H, d, J = 16.3 Hz), 4.57 (1H, d, J = 16.3 Hz), 4.18 (1H, t, J = 5.1 Hz), 3.81 (1H, dd, J = 11.2, 5.1 Hz), 3.77 (1H, dd, J = 11.2, 5.1 Hz), 1.45 (9H, s) ppm. **¹³C-RMN** (100 MHz, CD₃OD) δ : 173.8, 157.8, 138.1, 133.5, 129.7, 128.4 (c, J = 30.9 Hz), 128.4, 126.8 (c, J = 5.9 Hz), 126.0 (c, J = 273.2 Hz), 80.9, 63.1, 58.4, 40.6 (c, J = 2.3 Hz), 28.7 ppm. **HRMS** (ESI⁺): m/z calculado para C₁₆H₂₁F₃N₂NaO₄ (M+Na)⁺ 385.1351, encontrado 385.1348. **IR** (sólido) ν : 3320, 1686, 1659, 1544, 1527, 1460, 1368, 1315, 1280, 1249, 1243, 1160, 1106, 1061, 1038, 1020, 1007, 838, 774, 764, 719, 654 cm⁻¹.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente trabajo se enmarca dentro de los principios del enfoque *One Health*, el cual promueve una visión integrada de la salud humana, animal y ambiental mediante el desarrollo de estrategias innovadoras en investigación biomédica. En este contexto, el diseño y síntesis de nuevas moléculas con elevada afinidad frente a la proteína Cdc20 supone una aproximación prometedora para el desarrollo futuro de terapias dirigidas contra enfermedades asociadas a una desregulación del ciclo celular, especialmente distintos tipos de cáncer. Asimismo, el conocimiento generado podría tener potencial aplicación tanto en medicina humana como veterinaria, dada la relevancia de los procesos proliferativos en múltiples patologías.

Además, este trabajo contribuye directamente a los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en particular al ODS 3 (Salud y bienestar), al fomentar la investigación orientada al desarrollo de nuevos agentes terapéuticos, y al ODS 9 (Industria, innovación e infraestructura), mediante la aplicación de estrategias de innovación en química médica y desarrollo farmacéutico. De este modo, la investigación realizada pretende aportar nuevas herramientas moleculares de interés en el ámbito biomédico y farmacológico.

El principal objetivo de este trabajo es la búsqueda de una molécula con mayor afinidad a la proteína Cdc20 que el Apcin (**1**), para lo que se establece como producto de partida la L-serina por analogía estructural con la L-tirosina, pudiendo establecer así, un punto de diversidad estructural que permita sintetizar análogos del fenol **2** con distintos grupos aromáticos, comenzando con la síntesis del triazol **3**.²²

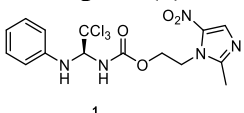
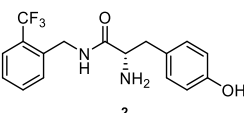
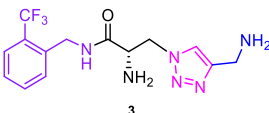
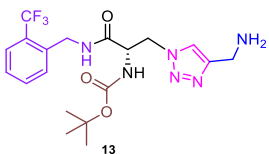
Para ello, en primer lugar, se comprueba la afinidad de este compuesto con la proteína diana mediante la modelización molecular, procediendo después a su síntesis siguiendo el esquema retrosintético mostrado en la Figura 5.

5.1. Modelización molecular

Se llevaron a cabo estudios de modelización molecular con las moléculas, previamente diseñadas en nuestro grupo, derivadas de la L-serina, para ver si presentaban valores de energía mejores que el Apcin (**1**) y proceder, posteriormente, a su síntesis siguiendo el esquema retrosintético mostrado en la Figura 5. Así, se usaron para dicho modelado Apcin (**1**), fenol **2**, triazol **3** y bencilamida **13**.

Con el fin de comprobar la afinidad del compuesto diana con la proteína Cdc20, se realizaron dos estudios de modelización molecular, uno mediante un *docking XP*, de extra-precisión, con los ligandos flexibles pero la proteína rígida, y otro con un *Induced Fit*, que, a diferencia del *docking XP*, considera la proteína también flexible. De esta manera, se escogen las poses con mayor similitud estructural y posición que el ligando control, el cristalográfico (Apcin (**1**)), en la proteína preparada, obteniendo las energías recogidas en la Tabla 1. Los valores calculados mediante el *Induced Fit*, son muy parecidos, sin apreciar diferencias significativas. En cambio, en lo resultante de los cálculos con *glide*, sí que se muestran. Teniendo esto en cuenta, se puede observar cómo el triazol **3** y la bencilamida **13** poseen mejor energía que el Apcin (**1**) y el fenol **2** debido a las interacciones que se establecen con la proteína Cdc20.

Tabla 1. Energías obtenidas de la realización de un *docking* y un *Induced Fit* en Maestro v.14.2.

	Glide XPscore (Kcal/mol)	IFD (Kcal/mol)
Apcin (1)  1	-6.329	-683.58
Fenol 2  2	-6.624	-676.59
Triazol 3  3	-8.061	-678.47
Bencilamida 13  13	-7.310	-680.29

Analizando en detalle el mapa de interacciones entre los diferentes ligandos y la proteína receptora, se pueden determinar las interacciones del ligando de referencia, el Apcin (**1**) (Figura 10). Se observan tres interacciones polares, dos enlaces de hidrógeno con el Asp 177, un residuo

clave en la interacción y colocación del ligando, y un enlace π -catión con el Trp 209, tal y como se observa en la Figura 10. Además, se establecen interacciones hidrofóbicas entre su grupo triclorometilo y los residuos de la periferia, destacando la Leu 202, Val 200 y Leu176.¹⁷ De igual manera interacciona el grupo trifluorometilo del fenol **2**, triazol **3** y bencilamida **13**, promoviendo la correcta colocación de estos ligandos en el sitio de interacción (Figura 11).

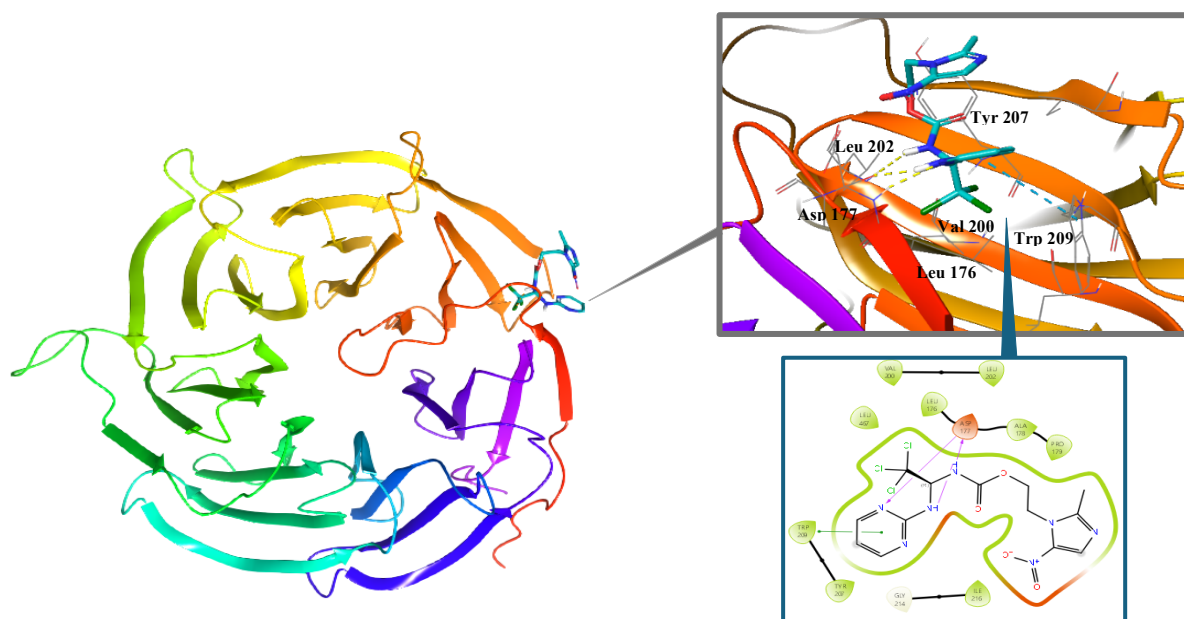


Figura 10. Interacciones del ligando cristalográfico, Apcin (**1**), con la proteína Cdc20 (PDB: 4N14). La proteína se muestra en *cartoon*, mediante un código de color espectro comenzando por el extremo N-terminal (rojo) al C-terminal (violeta). En la ampliación superior se muestra en detalle las interacciones, con los residuos clave en formato *sticks* y el ligando Apcin (**1**) en *sticks* azules. En la ampliación inferior se muestra el mismo mapa de interacciones, pero en formato 2D.

Con el triazol **3** y la bencilamida **13** se continúa apreciando un enlace de hidrógeno con el residuo Asp 177 (Figura 11(B) y Figura 11(C)). Se puede determinar que una de las principales razones por las que tienen mejores energías, tiene que ver con la presencia de un puente salino establecido con el Glu 180. Este se da debido a la protonación del grupo amonio primario (pka 8.91)²⁹ del radical del grupo triazol a pH fisiológico, lo cual aumenta la estabilidad de la unión del ligando y permite una mejor colocación en el bolsillo de interacción de la proteína Cdc20 que el Apcin (**1**) (Figura 10) o el fenol **2** (Figura 11(A)).

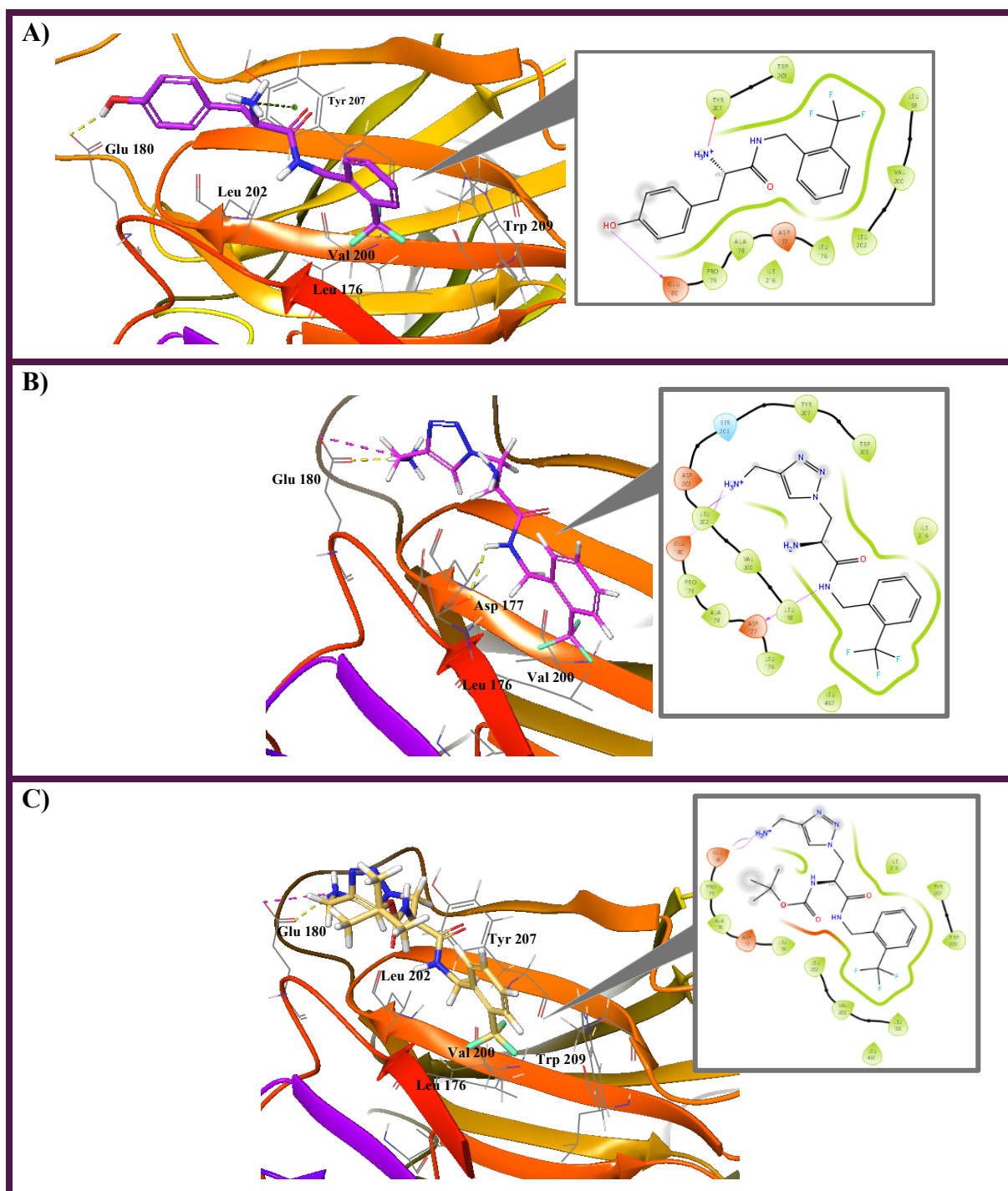


Figura 11. Representación de las interacciones entre los ligandos y la proteína Cdc20 (PDB: 4N14). En rosa se muestran los puentes salinos, en verde los enlaces π -catión y en amarillo los enlaces de hidrógeno. La proteína se muestra en *cartoon*, mediante un código de color de espectro desde el extremo N-terminal (rojo) al C-terminal (violeta), con los residuos implicados en las interacciones en formato *sticks*. En cada ampliación se observa el mapa de interacciones en formato 2D. **A)** Interacciones entre el fenol **2** (*sticks* morados) y la proteína Cdc20 en 3D y 2D. **B)** Interacciones entre el triazol **3** (*sticks* rosas) y Cdc20. **C)** Interacciones entre la bencilamida **13** (*sticks* amarillos) y Cdc20.

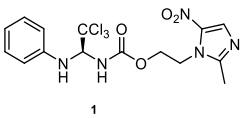
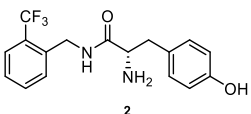
Tras tomar en consideración los valores energéticos resultantes de la modelización molecular observadas en la Tabla 1, y las interacciones establecidas por el triazol **3** y la bencilamida **13** con la proteína Cdc20, se puede presuponer que ambos compuestos son buenos candidatos como posibles ligandos de la proteína Cdc20. Por ello, se realiza un estudio de sus propiedades farmacocinéticas y se procede a su síntesis.

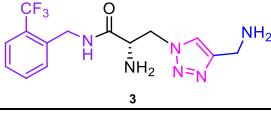
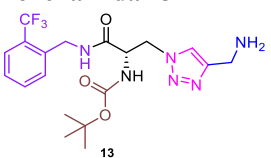
5.2. Propiedades farmacocinéticas

A continuación, con el objetivo de poder evaluar el empleo de los compuestos a sintetizar como potenciales fármacos de administración oral en el futuro, se realizó el cálculo teórico de diversas propiedades farmacocinéticas del triazol **3** y la bencilamida **13** mediante el programa *QikProp* de Maestro (Schrödinger Academy, n.d.). Los valores obtenidos se comparan con los correspondientes al Apcin (**1**) y al fenol **2**. Los resultados se recogen en la Tabla 2, y se describen a continuación.

En primer lugar, se necesita conocer el porcentaje de absorción oral del compuesto (HOA), es decir, qué fracción de la dosis empleada podrá ser absorbida por el paciente. Este parámetro tiene en cuenta aspectos como el tamaño, la lipofilia, la flexibilidad o la solubilidad de los compuestos. Como se puede observar en la Tabla 2, el Apcin (**1**) es el compuesto con mayor porcentaje, seguido del fenol **2** y la bencilamida **13**. En cambio, el triazol **3** muestra el menor porcentaje de absorción oral, posiblemente debido a su carácter más hidrofílico. En este sentido, la protección de su grupo amino, como en la bencilamida **13**, parece favorecer la absorción.

Tabla 2. Valores de parámetros farmacocinéticos del Apcin (**1**), fenol **2**, Triazol **3** y Bencilamida **13**, obtenidos mediante QikProp (Maestro v.14.2). Se aprecia en verde aquellos resultados que se encuentran dentro de los valores establecidos, en caso contrario se encuentran en rojo o, si la diferencia no es muy grande, en naranja.

	^a HOA (%)	^b QPPCaco	^c QPlogBB	^d QPlogHERG	^e QPlogKhsa	^f QPlogKp	^g QPlogS
Apcin (1)  1	80.509	436.767	-0.690	-4.170	0.069	-2.934	-4.132
Fenol 2  2	73.018	82.886	-0.520	-5.133	-0.284	-4.351	-2.362

Triazol 3 	37.756	4.785	-0.861	-5.350	-0.730	-7.980	-0.385
Bencilamida 13 	64.574	24.886	-1.367	-5.064	-0.087	-5.678	-3.743

^aHOA (Percent Human Oral Absorption): admisible por encima de 50; ^bQPPCaco (permeabilidad a la barrera intestinal): valores menores 25 indican baja permeabilidad y mayores de 500 mucha permeabilidad; ^cQPlogBB (permeabilidad a la barrera hematoencefálica): - 3.0 - 1.2; ^dQPlogHERG (toxicidad cardíaca): no supone un problema en valores superiores a - 5.0; ^eQPlogKhsa (unión a la albúmina sérica): - 1.5 - 1.5; ^fQPlogKp (permeabilidad a la piel): - 8.0 - - 1.0; ^gQPlogS (solubilidad en agua): - 6.5 - 0.5.

Con el parámetro QPlogHERG se quiere determinar si el compuesto es capaz de bloquear el canal cardíaco de potasio HERG. En el caso del fenol **2**, el triazol **3** y la bencilamida **13**, al obtener valores por debajo de - 5.0 (Tabla 2), el riesgo de toxicidad cardíaca es muy elevado.

En cuanto a la permeabilidad de la barrera intestinal, se mide mediante el parámetro QPPCaco. Se considera una permeabilidad moderada con valores entre 100 y 500, como es el caso del Apcin (**1**), y por debajo de 100, la permeabilidad es baja, como en el resto de los compuestos. Es importante destacar la puntuación extremadamente baja del triazol **3**, lo que, junto con el valor de absorción oral, reduce la viabilidad de una posible administración oral de este compuesto.

Con el parámetro QPlogBB se pretende predecir si el compuesto será capaz de atravesar la barrera hematoencefálica. En este caso, todos los compuestos podrían atravesarla, ya que sus valores se encuentran dentro del rango establecido (- 3.0 - 1.2). Así mismo, todos poseen una buena afinidad de unión a la albúmina sérica, ya que los valores de QPlogKhsa se encuentran entre - 1.5 y 1.5, lo que posibilita su transporte por el torrente sanguíneo. Además, a pesar de que todos poseen la capacidad para atravesar la piel, puesto que sus valores de QPlogKp se ubican entre - 8.0 y - 1.0, el triazol **3** la atravesará peor por su polaridad.

Dados los resultados obtenidos, tanto el triazol **3** como la bencilamida **13** son posibles compuestos con posibilidad de utilizarse como fármacos, aunque el triazol **3** con otra vía de administración distinta a la oral o mediante otras estrategias terapéuticas. Es por ello, que se

procede a su síntesis. Se establecerá como objetivo sintético el triazol **3**, dado que el compuesto bencilamida **13** es un intermediario en su síntesis.

5.3. Preparación de los intermedios sintéticos

5.3.1 Protección de la L-serina

Para la síntesis de la molécula objetivo es necesario comenzar protegiendo el grupo hidroxilo y amino de la L-serina (**6**) para evitar reacciones secundarias que lleven a la formación de subproductos no deseados. Se emplea una estrategia ortogonal de grupos protectores que permite una protección quimioselectiva de ambos grupos en las condiciones de desprotección utilizadas con posterioridad.

5.3.1.1 Síntesis del sililéter **8**

La protección del grupo hidroxilo de la L-serina se realizó con el grupo *tert*-butildimetilsililo (TBDMS), utilizando cloruro de *tert*-butildimetilsililo en acetonitrilo y en presencia de DBU como base.³⁰ Inicialmente, se establece un equilibrio dinámico entre el grupo hidroxilo y una pequeña fracción desprotonada en forma de alcóxido. La DBU, además de actuar como base, puede establecer un enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo sin desprotonar, aumentando su nucleofilia y favoreciendo el posterior ataque nucleófilo al átomo de silicio.

El mecanismo de reacción propuesto (Anexo 8.2.A.) consiste en el ataque nucleófilo del oxígeno del grupo alcóxido al átomo de silicio del cloruro. De esta forma, se crea un intermediario que favorece la salida del ion cloruro y la formación del enlace sililéter. Al captar un protón, la DBU se carga positivamente y, junto con el ion cloruro, forma una sal que fue retirada mediante filtración al ser soluble en CH₃CN.

Para comprobar la identidad del producto obtenido, se compara el espectro de ¹H-RMN (Anexo 8.3.A) con el descrito en la bibliografía,²⁸ observando todas las señales del esqueleto de la L-serina (señales 2 y 3), además de las señales correspondientes a los protones del grupo TBDMS (**señal A** y **señales 4, 5**), confirmando su correcta unión, tal y como se muestra en la Figura 12.

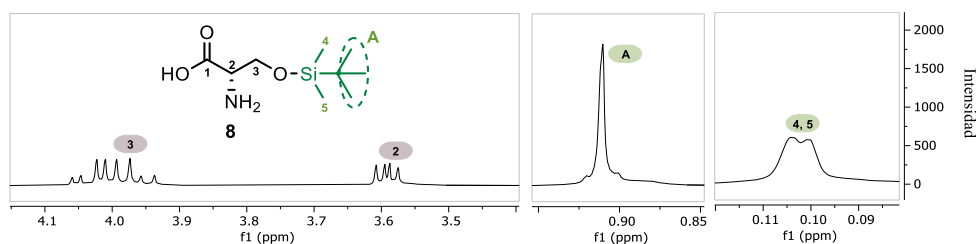


Figura 12. Espectro de ^1H -RMN del sililéter **8**.

5.3.1.2 Síntesis del carbamato 9

Así mismo, es necesaria la protección del grupo amino de la L-serina con el grupo Boc. Para ello, se usó el dicarbonato de di-*tert*-butilo ((Boc) $_2$ O) como reactivo en una mezcla de Acetona/H $_2$ O.³⁰ El medio básico de la reacción presenta un carácter bivalente permitiendo la solubilización del sililéter **8** en medio acuoso por la formación del carboxilato correspondiente y favoreciendo la nucleofilia de su grupo amino. El medio acuoso es un elemento clave de la reacción, ya que aumenta la electrofilia del carbonilo del dicarbonato de di-*tert*-butilo ((Boc) $_2$ O) para ser atacado por el grupo amino del sililéter **8**. Este mecanismo de reacción puede observarse en el Anexo 8.2.B.

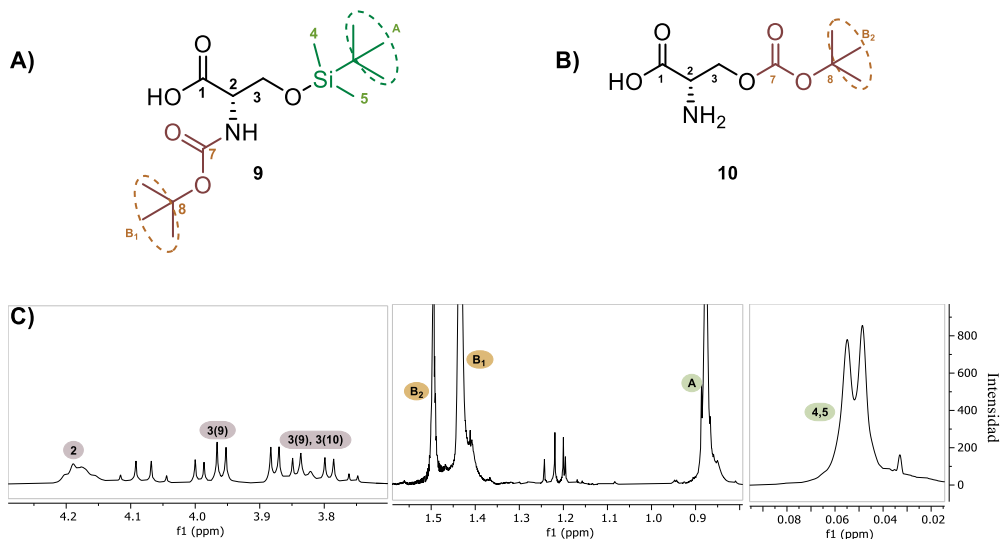


Figura 13. A) Estructura química del carbamato **9**. B) Estructura química del ácido **10**. C) Espectro de ^1H -RMN de la mezcla obtenida del carbamato **9** y el ácido **10**.

En el espectro de ^1H -RMN (Anexo 8.3.B) se observaron más señales de las esperadas. Tras su posterior estudio se pudo elucidar la estructura de los compuestos formados, siendo el carbamato **9** (Figura 13 (A)) y el ácido **10** (Figura 13 (B)), en una relación de abundancia de

2:1, establecida en base a las integrales de las señales del grupo *terc*-butilo del grupo Boc de ambos compuestos en el espectro de ^1H -RMN (Figura 13(C)). Gracias a la espectrometría de masas, se pudo confirmar la hipótesis propuesta para la formación de ambos compuestos, ya que se encontraron los picos moleculares de cada uno de los productos, 204.0878 m/z para el compuesto **9** (Anexo 8.4.A) y 318.1741 m/z para el compuesto **10** (Anexo 8.4.B).

El carácter diastereotópico de los protones H-3 debido a la proximidad del centro quiral C-2, se manifiesta en una diferencia de desplazamiento químico entre ambos en el espectro de ^1H -RMN (Figura 13 (C)). El doble doblete situado a 3.97 ppm fue asignado a uno de los protones H-3(9). Por otro lado, el multiplete que aparece entre 3.89-3.78 ppm y que integra para tres protones se asignó al otro protón H-3(9) además de los protones H-3(10).

5.3.2 Síntesis de la amida 11

Para la síntesis de la amida **11** (Anexo 8.2.C) se usó la 2,4,6-colidina como base de manera que desprotone el grupo ácido del carbamato **9**, promoviendo el ataque nucleófilo del anión carboxilato al agente de acoplamiento HBTU.³¹ Posteriormente, y tras la activación del grupo ácido, el grupo amino de la bencilamina **7** realiza un ataque nucleófilo sobre el intermedio de reacción generado, formando así la amida **11** (Figura 14 (A)). Las condiciones de reacción y los reactivos se encuentran establecidos tras la optimización del proceso por parte del grupo de investigación liderado por la Dra. Ágatha Bastida.²² La formación de la amida **11**, se confirmó, de manera preliminar, al encontrar, en espectrometría de masas, su pico molecular en 499.2210 m/z (Anexo 8.4.C).

Para confirmar la identidad del compuesto formado se procedió a su asignación estructural en base a sus datos espectroscópicos (Anexo 8.3.C). En el espectro de ^1H -RMN (Figura 14 (B)), se observan las señales correspondientes a los dos grupos *terc*-butilo pertenecientes a los grupos protectores de la L-serina, del grupo sililo (**señal A**) y del grupo Boc (**señal B**), además de los metilos del grupo sililo (**señales 4 y 5**). Estas señales confirman que, en las condiciones de reacción empleadas, los grupos protectores han resistido haciendo posible que el acoplamiento se haya podido producir sin la posible formación de productos secundarios. Además, a diferencia del siliéter **8** y el carbamato **9**, se observaron las señales asignadas a los protones unidos a heteroátomos debido al uso de CDCl_3 como disolvente. Se pueden apreciar las dos

señales correspondientes a los protones unidos al átomo de nitrógeno de la amida (**señal N₂**) por un lado, y el unido al átomo de nitrógeno del carbamato (**señal N₁**) por otro.

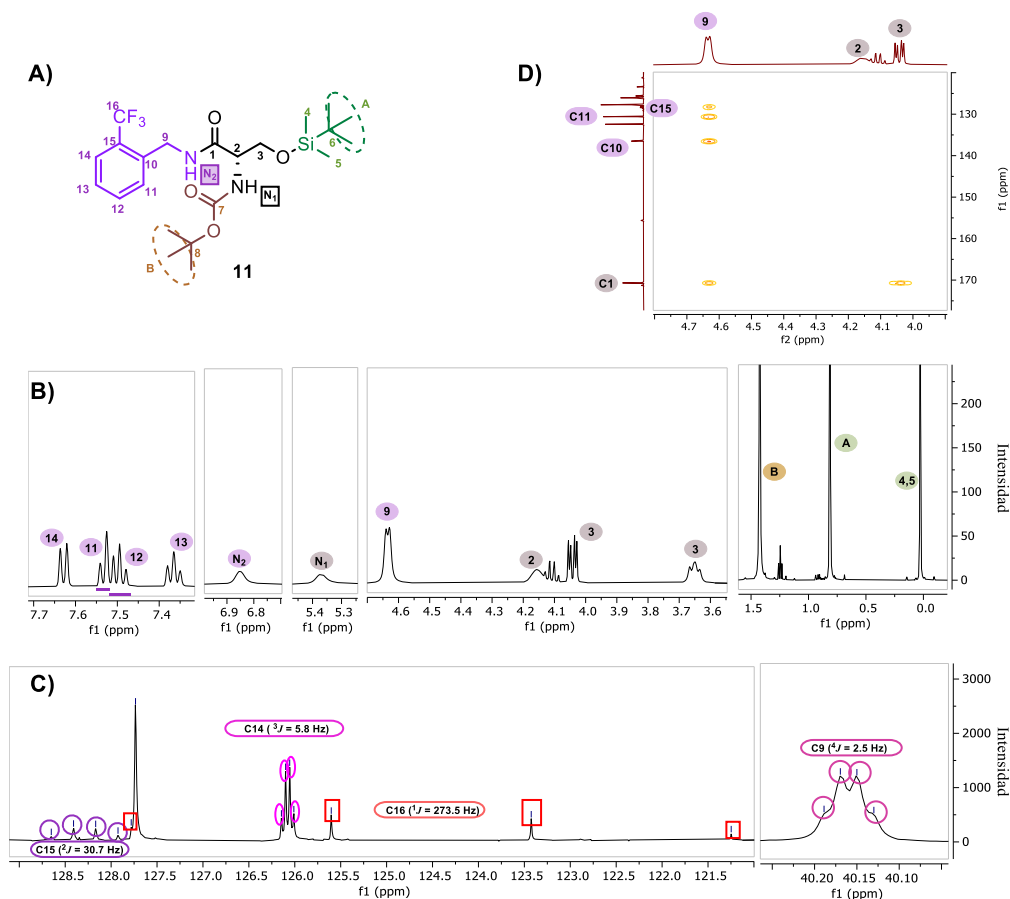


Figura 14. A) Estructura química de la amida **11**. B) Espectro de ^1H -RMN de la amida **11**. C) Espectro de ^{13}C -RMN de la amida **11**. D) Fragmento del espectro bidimensional de HMBC de la amida **11**.

Las señales de los protones unidos a los átomos de carbono del anillo bencílico se observan en el espectro de ^1H -RMN (Figura 14 (B)) a desplazamientos de bajo campo, debido al efecto de corriente, provocando la deslocalización electrónica del anillo, que desapantalla los protones.

En el espectro de ^{13}C -RMN (Figura 14 (C)) se aprecian señales con multiplicidad de cuádruplete debido al acoplamiento de los átomos de flúor del grupo trifluorometilo con los átomos de carbono cercanos (1J , 2J , 3J y 4J). La magnitud de las constantes de acoplamiento aumenta proporcionalmente con la proximidad de los átomos de carbono, en cada caso, a los átomos de flúor, tal y como se muestra en la Figura 14 (C).

En el espectro bidimensional de HMBC (Figura 14 (D)) se muestra la correlación entre los protones del C-9 tanto con carbonos del anillo bencílico como el carbono carbonílico de la amida. Esta última correlación es clave para confirmar la estructura del compuesto y que la reacción de acoplamiento ha tenido lugar con éxito.

Como ya se mencionó, el carácter diastereotópico de los protones H-3(11) viene dado por la presencia de un centro quiral en la posición C-2. Esto produce una diferenciación apreciable en el desplazamiento químico de ambas señales. Además, la intensidad del pico de cruce de ambas en el espectro bidimensional COSY (Figura 15 (A)) evidencia su fuerte acoplamiento, lo que se corresponde con el acoplamiento de $J_{gem} = 9.8$ Hz observado en el espectro de ^1H -RMN, y el pico de cruce en el de HSQC (Figura 15 (B)) de ambas con el carbono C-3 indica su unión directa al mismo carbono. Todo ello conduce a la asignación de estas señales a los protones H-3, unidos a la posición C-3.

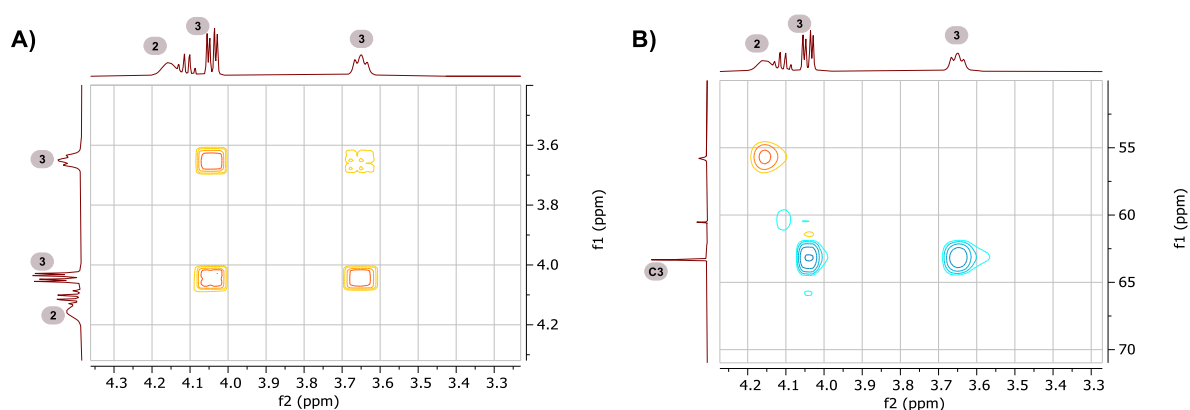


Figura 15. A) Fragmento del espectro bidimensional de COSY de la amida **11**, donde se indica la correlación entre los protones H-3. B) Fragmento del espectro bidimensional de HSQC de la amida **11**, donde se observan las correlaciones de los protones H-3 con el carbono C-3.

5.3.3 Síntesis del alcohol 5

La introducción de residuos aromáticos en la posición C-3 puede aumentar la afinidad de los compuestos con la proteína Cdc20, puesto que favorecen la correcta colocación en el centro de interacción y pueden establecer interacciones estables. Para ello, es necesario la desprotección del grupo TBDMS para la adecuada funcionalización posterior de la posición C-3. Con este fin, se usó ácido acético que, mediante una hidrólisis ácida, conduce a la desprotección del grupo hidroxilo. El ácido acético cede su protón al oxígeno del sililéter, quedando con carga positiva y posibilitando el ataque nucleófilo del agua al silicio, formando un compuesto intermedio que

permite la salida del grupo protector como un silanol y la formación del alcohol **5** (Anexo 8.2.D).²⁷

Se realizó su asignación estructural mediante la técnica de RMN (Anexo 8.3.D), confirmando su identidad estructural. Para ello, es necesario recalcar que en el espectro de ¹H-RMN no se pueden observar las señales asignables a los protones unidos a heteroátomos al utilizar CD₃OD como disolvente deuterado, por lo que no se pueden comparar los espectros del alcohol **5** y la amida **11** de manera exacta (Figura 16). Aun así, gracias a las señales presentes, mostradas en la Figura 16 (C), se puede confirmar que las condiciones de desprotección no han afectado al resto del esqueleto carbonado. Así mismo, no se aprecian las señales asignables a los protones del grupo protector TBDMS, tanto de los dos metilos (**señal 4,5**) como del grupo *tert*-butilo (**señal A**), corroborando, de esta manera, la desprotección del grupo hidroxilo de la posición C-3.

Además, mediante espectrometría de masas, se encontró el pico molecular del compuesto **5** a *m/z* 385.1348 (Anexo 8.4.D), confirmando la correcta desprotección del grupo sililo.

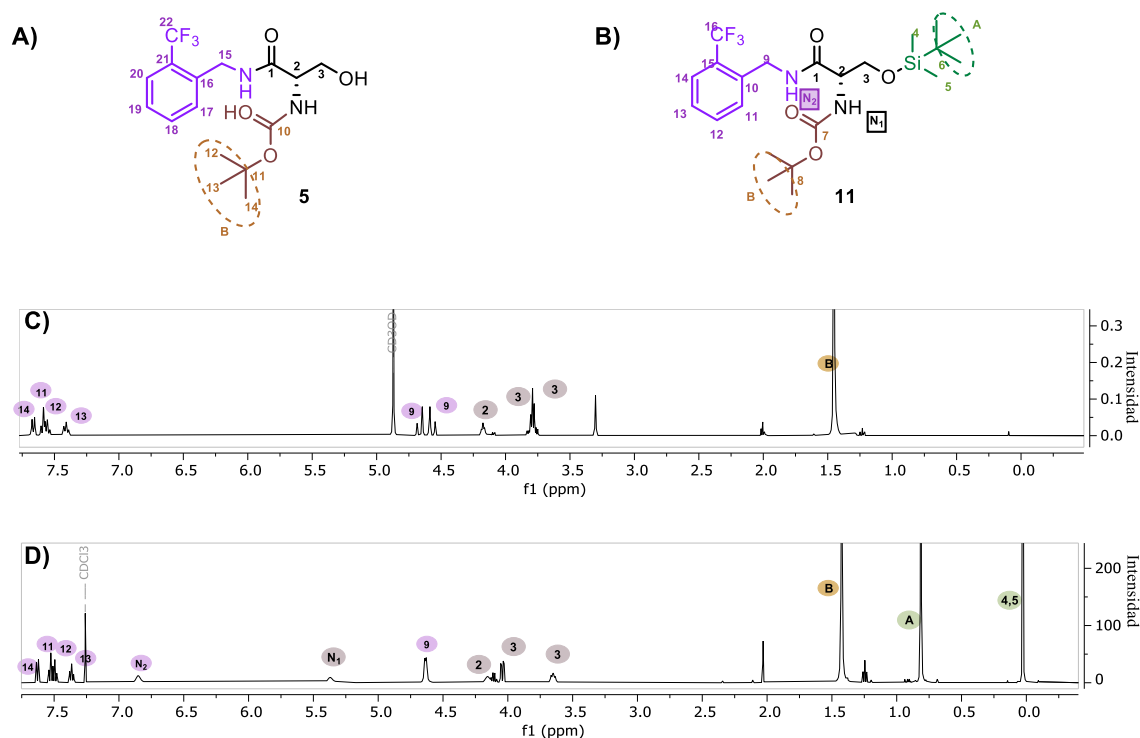


Figura 16. A) Estructura química del alcohol **5**. B) Estructura química de la amida **11**. C) Espectro de ¹H-RMN del alcohol **5**, donde se observa la desaparición de las señales pertenecientes al grupo protector TBDMS. D) Espectro de ¹H-RMN de la amida **11**, donde se aprecian las señales del grupo protector TBDMS.

5.4. Aproximaciones futuras para conseguir el compuesto objetivo

Para llegar al compuesto objetivo, el triazol **3**, se planteó funcionalizar el grupo hidroxilo unido al carbono C-3 del alcohol **5**. De este modo, tras una posterior reacción de sustitución nucleófila con el grupo azida,³² se obtendría el correspondiente derivado azidado, permitiendo finalmente llevar a cabo una reacción tipo Click³³ con propargilamina para formar el triazol **3**, tal y como se detalla en la Figura 17.

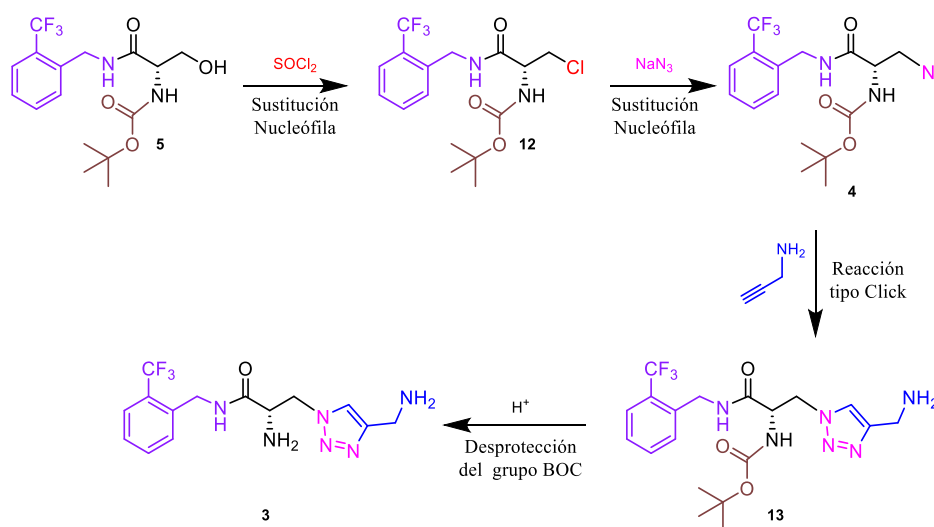


Figura 17. Esquema de las reacciones necesarias para la obtención del triazol **3**.

La activación del hidroxilo libre se llevó a cabo utilizando cloruro de tionilo para posteriormente, realizar la sustitución nucleófila del cloruro formado empleando azida sódica. Esta última reacción se llevó a cabo en condiciones de reflujo de etanol, lo que provocó la formación del éter **14** (Figura 18) en vez de la azida **4**, lo que se comprobó mediante su asignación estructural con el espectro de ^1H -RMN.

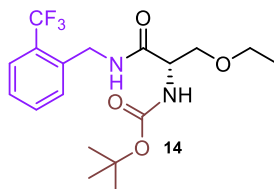


Figura 18. Estructura química del éter **14**.

Mediante el empleo de esta táctica sintética no fue posible llegar a la molécula objetivo, el triazol **3**, siendo necesario el diseño de otras estrategias, trabajo que será realizado en el futuro por el grupo de investigación de la Dra. Ágatha Bastida.

6. CONCLUSIONES

1. Se estudió la unión del compuesto triazol **3** con la proteína Cdc20 mediante modelado molecular (*docking XP* e *Induced Fit docking*), obteniendo una mejor energía de unión que el Apcin (**1**) y el fenol **2**, debido al establecimiento de enlaces más estables, como el puente salino con el residuo Glu180, y la mejor orientación en el bolsillo de unión. Además, también se obtuvo una mejor energía con la bencilamida **13**, el triazol **3** protegido con el grupo Boc, por lo que también se considera un posible ligando de la proteína Cdc20.
2. Se evaluaron las propiedades farmacocinéticas del triazol **3** y la bencilamida **13**, comparándolas con las del Apcin (**1**) y el fenol **2**. Tras tomar en cuenta los parámetros más relevantes, se puede concluir que la bencilamida **13** es mejor candidato para ser usado como fármaco, debido a que podría atravesar la membrana gracias a la presencia del grupo Boc, lo que le aporta menos polaridad, comparado con el triazol **3**.
3. Se intentó llevar a cabo la síntesis del triazol **3**, consiguiendo sintetizar el alcohol **5**, tras la consecución de reacciones observadas en la Figura 19. La síntesis del alcohol **5** se ha llevado a cabo con un rendimiento global del 24 %. No se logró realizar el resto de la síntesis, debido a la formación de productos no deseados en los siguientes pasos de síntesis, por lo que es necesario la optimización de la reacción y realizar ensayos con diferentes condiciones. Sin embargo, esto no se ha podido llevar a cabo en el presente trabajo por falta de tiempo.

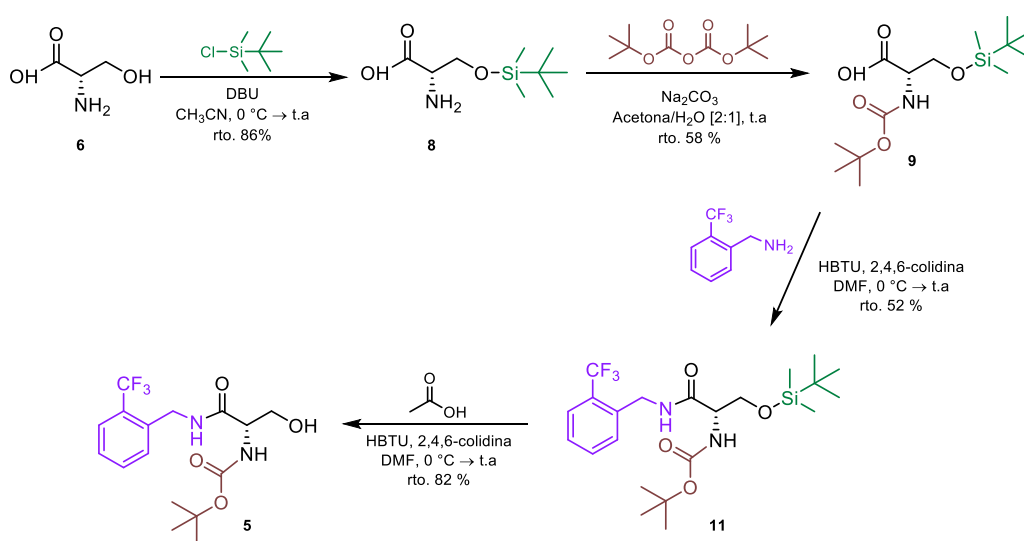


Figura 19. Esquema sintético de la preparación del alcohol **5**.

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Kapinas, K.; Grandy, R.; Ghule, P.; Medina, R.; Becker, K.; Pardee, A.; Zaidi, S. K.; Lian, J.; Stein, J.; van Wijnen, A.; Stein, G. The Abbreviated Pluripotent Cell Cycle. *J. Cell. Physiol.* **2013**, 228 (1), 9–20. <https://doi.org/10.1002/jcp.24104>.
- (2) Jeong, S. M.; Bui, Q. T.; Kwak, M.; Lee, J. Y.; Lee, P. C.-W. Targeting Cdc20 for Cancer Therapy. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Rev. Cancer* **2022**, 1877 (6), 188824. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2022.188824>.
- (3) Zhang, Y.; Wang, H.; Li, K.; Xu, X.; Yan, Q.; Sun, Y.; Wang, Y.; Bu, H.; Liang, X.; Hao, Q.; Gao, B.; Zhou, X.; Han, T.; Guan, L. APC/C Coactivators Cdh1 and Cdc20: Mechanistic Insights into Cancer Progression and Therapeutic Opportunities. *Cell. Signal.* **2025**, 136, 112171. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2025.112171>.
- (4) Chen, Y.; Gao, S.; Yang, P.; Liu, S.; Zhang, W.; Wang, J.; Jing, H. Current Progress of CDC20 in Cancer Development and Targeting CDC20 for Cancer Therapy. *Carcinogenesis* **2026**, 47 (2), bgag021. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgag021>.
- (5) Xian, F.; Zhao, C.; Huang, C.; Bie, J.; Xu, G. The Potential Role of CDC20 in Tumorigenesis, Cancer Progression and Therapy: A Narrative Review. *Medicine (Baltimore)* **2023**, 102 (36), e35038. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000035038>.
- (6) Schrock, M. S.; Stromberg, B. R.; Scarberry, L.; Summers, M. K. APC/C Ubiquitin Ligase: Functions and Mechanisms in Tumorigenesis. *Semin. Cancer Biol.* **2020**, 67, 80–91. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.03.001>.
- (7) Amador, V.; Ge, S.; Santamaría, P. G.; Guardavaccaro, D.; Pagano, M. APC/CCdc20 Controls the Ubiquitin-Mediated Degradation of P21 in Prometaphase. *Mol. Cell* **2007**, 27 (3), 462–473. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.06.013>.
- (8) Song, C.; Lowe, V. J.; Lee, S. Inhibition of Cdc20 Suppresses the Metastasis in Triple Negative Breast Cancer (TNBC). *Breast Cancer* **2021**, 28 (5), 1073–1086. <https://doi.org/10.1007/s12282-021-01242-z>.
- (9) Wang, J.; Zhou, F.; Li, Y.; Li, Q.; Wu, Z.; Yu, L.; Yuan, F.; Liu, J.; Tian, Y.; Cao, Y.; Zhao, Y.; Zheng, Y. Cdc20 Overexpression Is Involved in Temozolomide-Resistant Glioma Cells with Epithelial-Mesenchymal Transition. *Cell Cycle* **2017**, 16 (24), 2355–2365. <https://doi.org/10.1080/15384101.2017.1388972>.

- (10) Bianchini, G.; De Angelis, C.; Licata, L.; Gianni, L. Treatment Landscape of Triple-Negative Breast Cancer — Expanded Options, Evolving Needs. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **2022**, *19* (2), 91–113. <https://doi.org/10.1038/s41571-021-00565-2>.
- (11) Peiffer, D. S.; Hennessy, M. A.; Nanda, R. Triple Negative Breast Cancer: What Clinical Progress Have We Seen in the Last 5 Years? *Expert Opin. Investig. Drugs* **2026**, *35* (3), 223–238. <https://doi.org/10.1080/13543784.2026.2629512>.
- (12) Hu, X.; Chen, W.; Li, F.; Ren, P.; Wu, H.; Zhang, C.; Gu, K. Expression Changes of ER, PR, HER2, and Ki-67 in Primary and Metastatic Breast Cancer and Its Clinical Significance. *Front. Oncol.* **2023**, *13*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1053125>.
- (13) Kim, N.; Lukong, K. E. Treating ER-Positive Breast Cancer: A Review of the Current FDA-Approved SERMs and SERDs and Their Mechanisms of Action. *Oncol. Rev.* **2025**, *19*. <https://doi.org/10.3389/or.2025.1564642>.
- (14) Le, X.; Chen, Q.; Wen, Q.; Cao, S.; Zhang, L.; Hu, L.; Hu, G.; Li, Q.; Chen, Z. Design, Synthesis and Optimization of Apcin Analogues as Cdc20 Inhibitors for Triple-Negative Breast Cancer Therapy. *Eur. J. Med. Chem.* **2025**, *289*, 117434. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117434>.
- (15) Messeha, S. S.; Zarmouh, N. O.; Maku, H.; Gendy, S.; Yedjou, C. G.; Elhag, R.; Latinwo, L.; Odewumi, C.; Soliman, K. F. A. Prognostic and Therapeutic Implications of Cell Division Cycle 20 Homolog in Breast Cancer. *Cancers* **2024**, *16* (14), 2546. <https://doi.org/10.3390/cancers16142546>.
- (16) Karra, H.; Repo, H.; Ahonen, I.; Löyttyniemi, E.; Pitkänen, R.; Lintunen, M.; Kuopio, T.; Söderström, M.; Kronqvist, P. Cdc20 and Securin Overexpression Predict Short-Term Breast Cancer Survival. *Br. J. Cancer* **2014**, *110* (12), 2905–2913. <https://doi.org/10.1038/bjc.2014.252>.
- (17) Sackton, K. L.; Dimova, N.; Zeng, X.; Tian, W.; Zhang, M.; Sackton, T. B.; Meaders, J.; Pfaff, K. L.; Sigoillot, F.; Yu, H.; Luo, X.; King, R. W. Synergistic Blockade of Mitotic Exit by Two Chemical Inhibitors of the APC/C. *Nature* **2014**, *514* (7524), 646–649. <https://doi.org/10.1038/nature13660>.
- (18) Tian, W.; Li, B.; Warrington, R.; Tomchick, D. R.; Yu, H.; Luo, X. Structural Analysis of Human Cdc20 Supports Multisite Degron Recognition by APC/C. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109* (45), 18419–18424. <https://doi.org/10.1073/pnas.1213438109>.

- (19) Sood, D.; Kaur, C.; Kumar, N.; Kumar, R.; Singh, G. Triple-Negative Breast Cancer: Challenges, Advances, and Promising Therapeutic Interventions. *Med. Oncol.* **2025**, *42* (11), 506. <https://doi.org/10.1007/s12032-025-03066-9>.
- (20) Bhuniya, R.; Yuan, X.; Bai, L.; Howie, K. L.; Wang, R.; Li, W.; Park, F.; Yang, C.-Y. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Apcin-Based CDC20 Inhibitors. *ACS Med. Chem. Lett.* **2022**, *13* (2), 188–195. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.1c00544>.
- (21) He, Y.; Le, X.; Hu, G.; Li, Q.; Chen, Z. Discovery of Ureido-Based Apcin Analogues as Cdc20-Specific Inhibitors against Cancer. *Pharmaceuticals* **2023**, *16* (2), 304. <https://doi.org/10.3390/ph16020304>.
- (22) Bastida Codina, A.; Benito Arenas, R.; Bolanos-García, V. M.; Curtis, N. L. N-Benzyl-Alpha-Aminoamides as Anaphase-Promoting Complex/Cyclosome (Apc/C) Inhibitors, June 23, 2022. <https://patentscope.wipo.int/search/en/WO2022129397> (accessed 2026-05-04).
- (23) Friesner, R. A.; Murphy, R. B.; Repasky, M. P.; Frye, L. L.; Greenwood, J. R.; Halgren, T. A.; Sanschagrin, P. C.; Mainz, D. T. Extra Precision Glide: Docking and Scoring Incorporating a Model of Hydrophobic Enclosure for Protein–Ligand Complexes. *J. Med. Chem.* **2006**, *49* (21), 6177–6196. <https://doi.org/10.1021/jm051256o>.
- (24) Xu, T.; Zhu, K.; Beutrait, A.; Vendome, J.; Borrelli, K. W.; Abel, R.; Friesner, R. A.; Miller, E. B. Induced-Fit Docking Enables Accurate Free Energy Perturbation Calculations in Homology Models. *J. Chem. Theory Comput.* **2022**, *18* (9), 5710–5724. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.2c00371>.
- (25) Csáky, A. G. *Técnicas experimentales en síntesis orgánica*, 2ª edición corregida y ampliada.; Biblioteca de químicas ; Química básica 6; Síntesis: Madrid, 2012.
- (26) Still, W. C.; Kahn, M.; Mitra, A. Rapid Chromatographic Technique for Preparative Separations with Moderate Resolution. *J. Org. Chem.* **1978**, *43* (14), 2923–2925. <https://doi.org/10.1021/jo00408a041>.
- (27) Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. *Protective Groups in Organic Synthesis*, third ed.; Wiley: New York, 1999.

- (28) Wieneke, R.; Bernecker, A.; Riedel, R.; Sumper, M.; Steinem, C.; Geyer, A. Silica Precipitation with Synthetic Silaffin Peptides. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9* (15), 5482–5486. <https://doi.org/10.1039/C1OB05406F>.
- (29) Johnston, R. C.; Yao, K.; Kaplan, Z.; Chelliah, M.; Leswing, K.; Seekins, S.; Watts, S.; Calkins, D.; Chief Elk, J.; Jerome, S. V.; Repasky, M. P.; Shelley, J. C. Epik: pKa and Protonation State Prediction through Machine Learning. *J. Chem. Theory Comput.* **2023**, *19* (8), 2380–2388. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.3c00044>.
- (30) Sarnowski, M. P.; Pedretty, K. P.; Giddings, N.; Woodcock, H. L.; Del Valle, J. R. Synthesis and β -Sheet Propensity of Constrained *N*-Amino Peptides. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26* (6), 1162–1166. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.08.017>.
- (31) El-Faham, A.; Albericio, F. Peptide Coupling Reagents, More than a Letter Soup. *Chem. Rev.* **2011**, *111* (11), 6557–6602. <https://doi.org/10.1021/cr100048w>.
- (32) Yu, C.; Liu, B.; Hu, L. A Simple One-Pot Procedure for the Direct Conversion of Alcohols to Azides via Phosphate Activation. *Org. Lett.* **2000**, *2* (13), 1959–1961. <https://doi.org/10.1021/ol0060376>.
- (33) González-Lainez, M.; Gallegos, M.; Munarriz, J.; Azpiroz, R.; Passarelli, V.; Jiménez, M. V.; Pérez-Torrente, J. J. Copper-Catalyzed Azide–Alkyne Cycloaddition (CuAAC) by Functionalized NHC-Based Polynuclear Catalysts: Scope and Mechanistic Insights. *Organometallics* **2022**, *41* (15), 2154–2169. <https://doi.org/10.1021/acs.organomet.2c00246>.

8. ANEXOS

8.1. Nomenclatura

En el presente Trabajo de Fin de Grado, los compuestos descritos se numerarán y nombrarán tomando la L-serina como estructura base, de manera que se establezca una correspondencia entre la nomenclatura y la ruta sintética seguida. A los sustituyentes complejos de los compuestos sintetizados se les atribuirán una numeración propia al nombrarlos, distinta a la utilizada en la asignación estructural para mayor simplicidad, tal y como se observa en la Figura 20. Para diferenciar los protones de la posición C-3 del compuesto **9** y **10**, se nombrarán como H-3(**9**) y H-3(**10**).

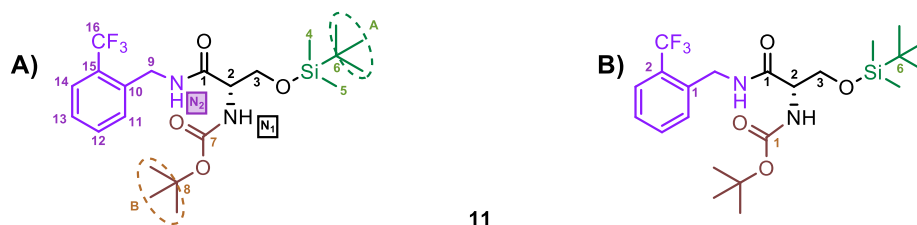


Figura 20. A) Numeración estructural de la amida **11** para su asignación estructural con RMN. B) Numeración estructural de la amida **11** para su nomenclatura: (2*S*)-3-[(*tert*-butildimetilsilil)oxi]-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-*N*-[(2-trifluorometil)encil]propanamida (**11**).

8.2. Mecanismos de reacción

A. Síntesis del sililéter 8

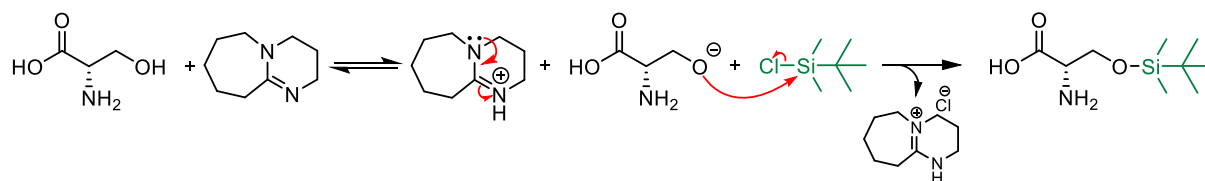


Figura 21. Mecanismo de reacción propuesto para la formación del sililéter 8.

B. Síntesis del carbamato 9

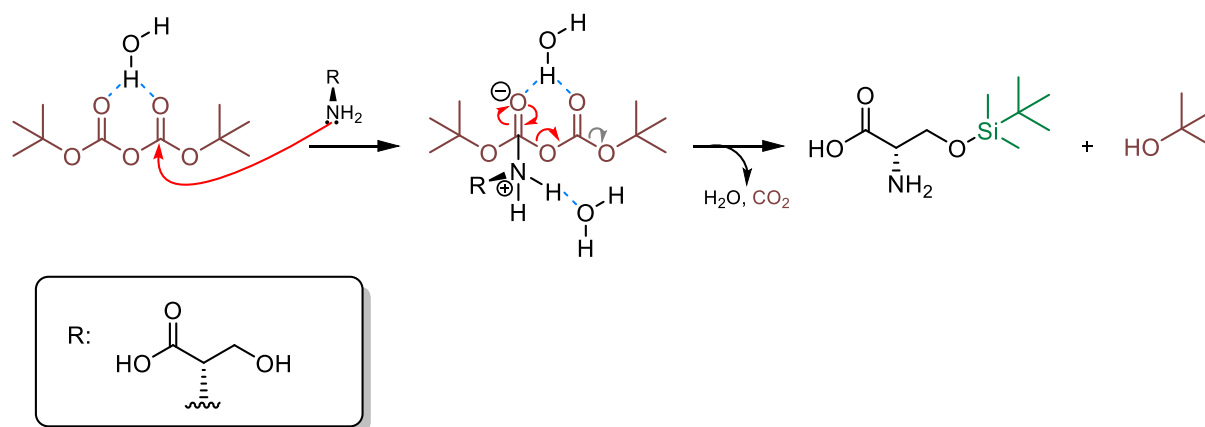


Figura 22. Mecanismo de reacción propuesto para la síntesis del carbamato 9.

C. Síntesis de la amida 11

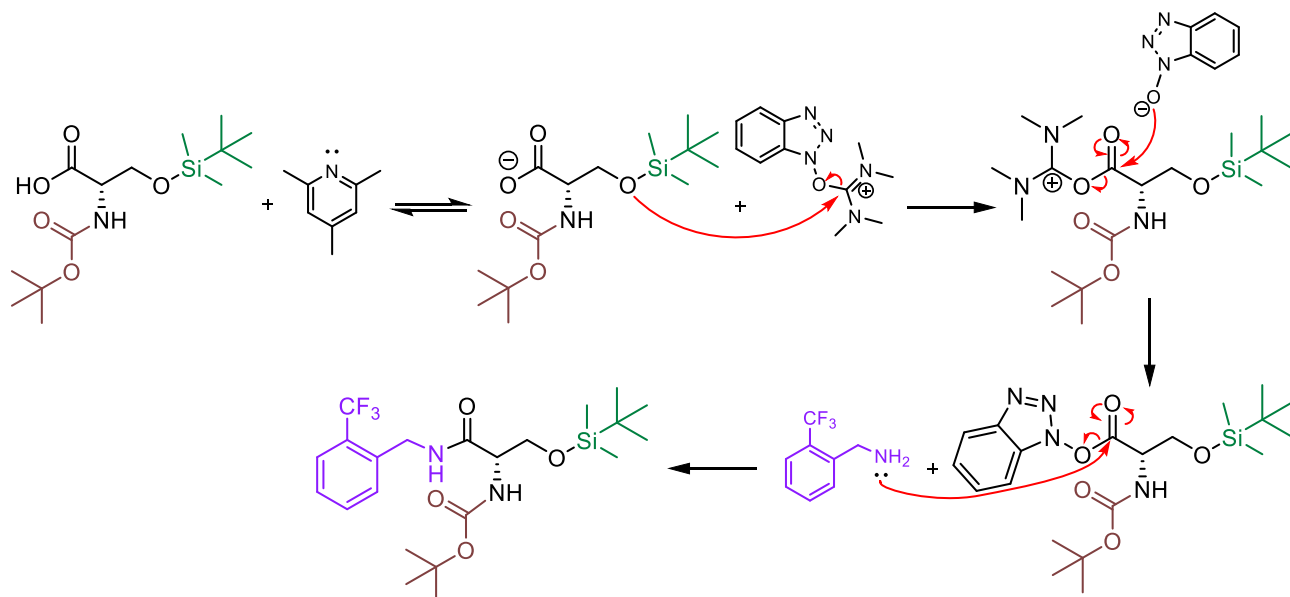


Figura 23. Mecanismo propuesto para la formación de la amida 11.

D. Síntesis del alcohol 5

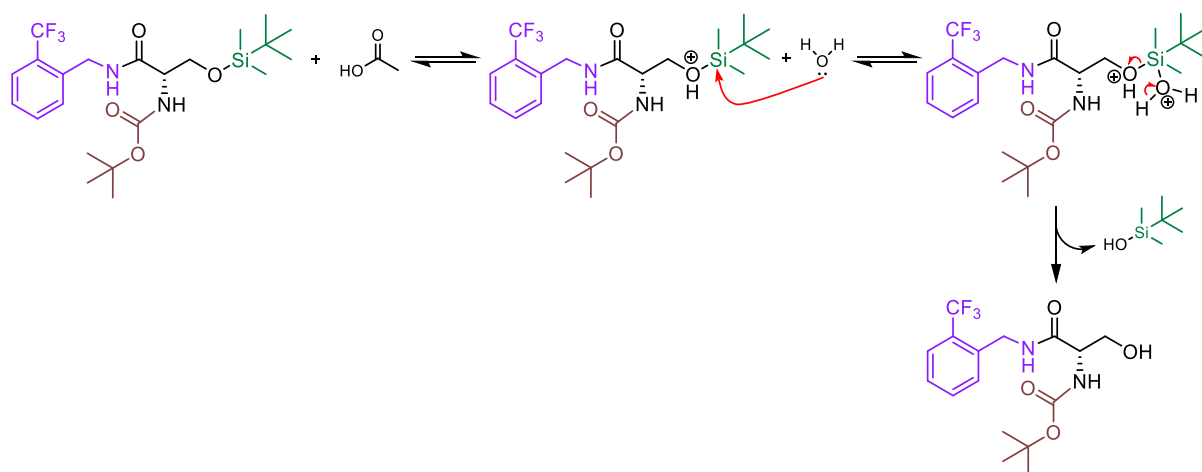


Figura 24. Mecanismo propuesto para la obtención del alcohol 5.

8.3. Espectros y tablas de RMN

A. Sililéter 8

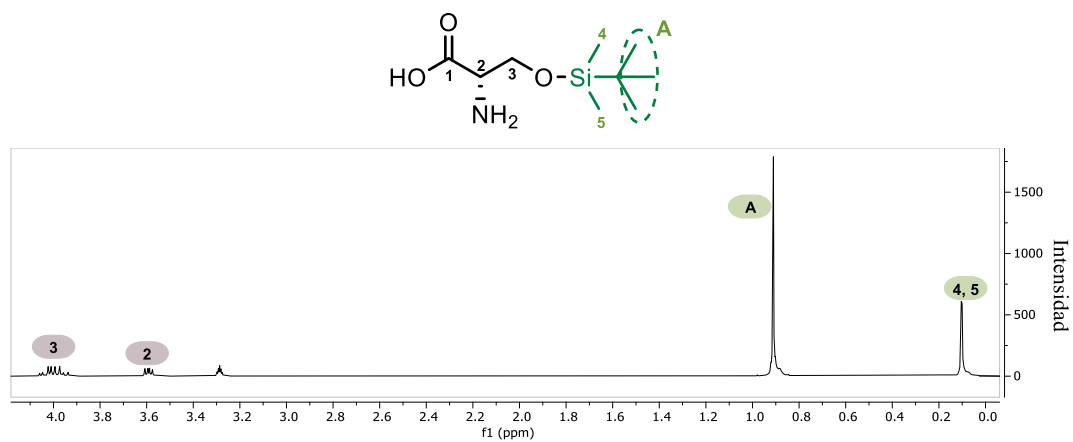


Figura 25. Espectro de ^1H -RMN del sililéter 8.

Tabla 3. Características de las señales del espectro de ^1H -RMN del sililéter 8.

Desplazamiento químico (ppm)	Multiplicidad	Integración	Asignación de la posición
4.08-3.96	multiplete	2H	3
3.63-3.59	multiplete	1H	2
0.93	singlete	9H	A
0.13	singlete ancho	3H	4/5
0.12	Singlete ancho	3H	4/5

B. Carbamato 9

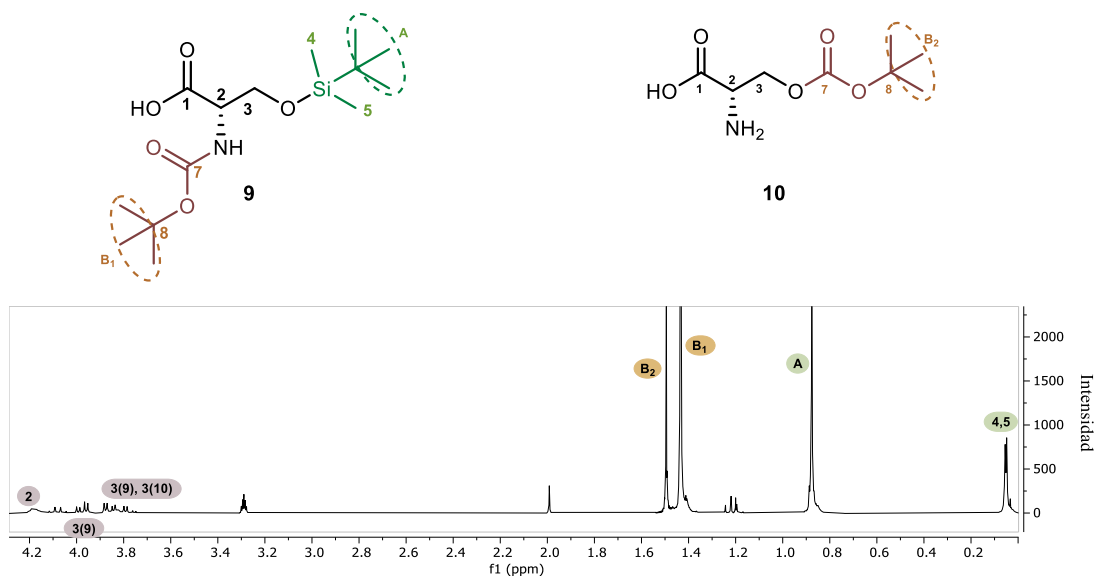


Figura 26. Espectro de ^1H -RMN de la mezcla del carbamato 9 y el carbamato 10.

Tabla 4. Características de las señales del espectro de ^1H -RMN de la mezcla del carbamato 9 y carbamato 10.

Desplazamiento químico (ppm)	Multiplicidad	Integración	Asignación de la posición
4.21-4.14	multiplete	1H	2(9) y 2(10)
3.97	doble doblete ($J = 10.2, 4.1$)	1H	3(9)
3.89-3.74	multiplete	3H	3(9) y 3(10)
1.49	singlete	6H	B ₁
1.43	singlete ancho	9H	B ₂
0.88	singlete	9H	A
0.13	singlete ancho	3H	4/5
0.12	Singlete ancho	3H	4/5

C. Amida 11

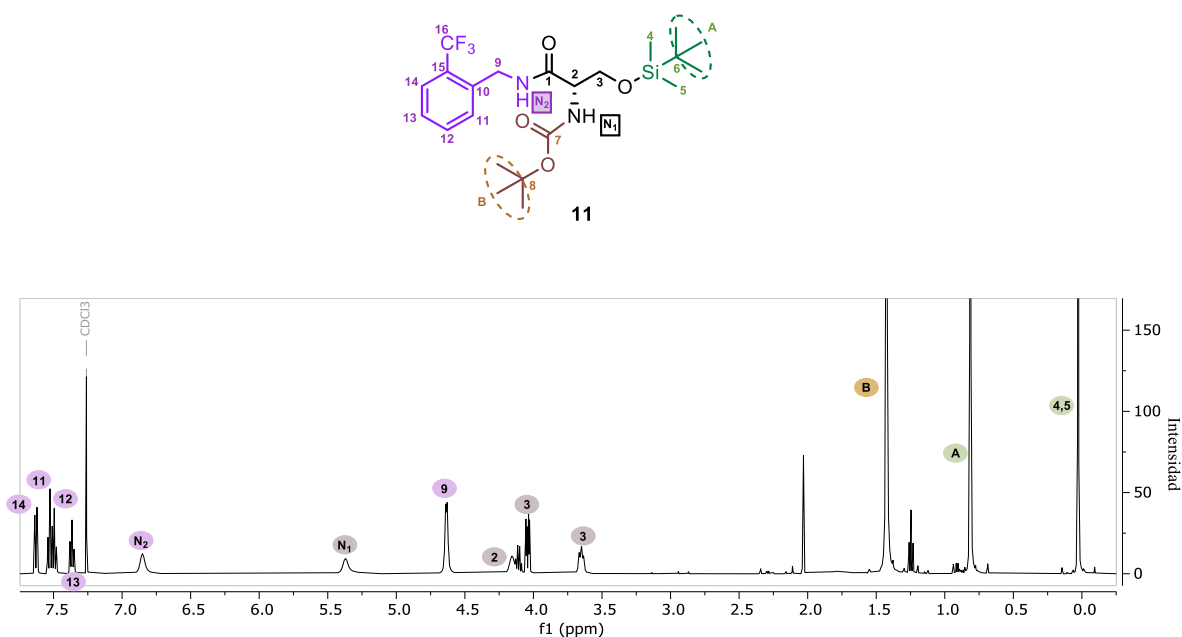


Figura 27. Espectro de ¹H-RMN de la amida 11.

Tabla 5. Características de las señales del espectro de ¹H-RMN de la amida 11.

Desplazamiento químico (ppm)	Multiplicidad	Integración	Asignación de la posición
7.63	doblete ($J = 7.6$ Hz)	1H	14
7.53	doblete ($J = 7.6$ Hz)	1H	11
7.49	triplete ($J = 7.6$ Hz)	1H	12
7.37	triplete ($J = 7.6$ Hz)	1H	13
6.85	singlete ancho	1H	N ₂
5.37	singlete ancho	1H	N ₁
4.63	doblete ($J = 6.0$ Hz)	2H	9
4.16	singlete	1H	2
4.04	doble doblete ($J = 9.8, 3.7$ Hz)	1H	3
3.65	triplete ($J = 9.8, 6.4$ Hz)	1H	3
1.42	singlete	9H	B
0.81	singlete	9H	A
0.03	singlete	6H	4/5

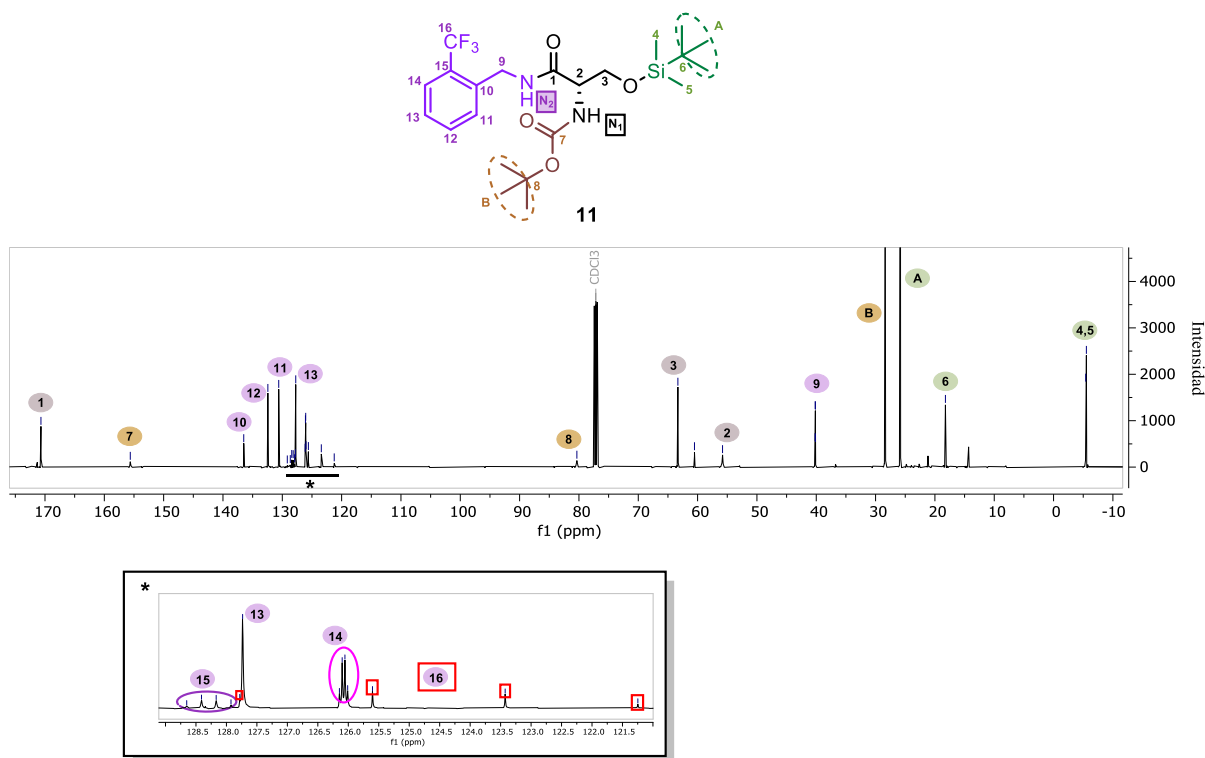


Figura 28. Espectro de ^{13}C -RMN de la amida **11**.

Tabla 6. Características de las señales de ^{13}C -RMN de la amida **11**.

Desplazamiento químico (ppm)	Asignación de la posición
170.7	1
155.6	7
136.5	10
132.4	12
130.6	11
128.3 (c, $J = 30.7$ Hz)	15
127.7	13
126.1 (c, $J = 5.8$ Hz)	14
124.5 (c, $J = 273.5$ Hz)	16
80.3	7
63.3	3
55.8	2
40.2 (c, $J = 2.5$ Hz)	9
28.4	B
25.8	A
18.2	6
-5.4	4/5
-5.5	4/5

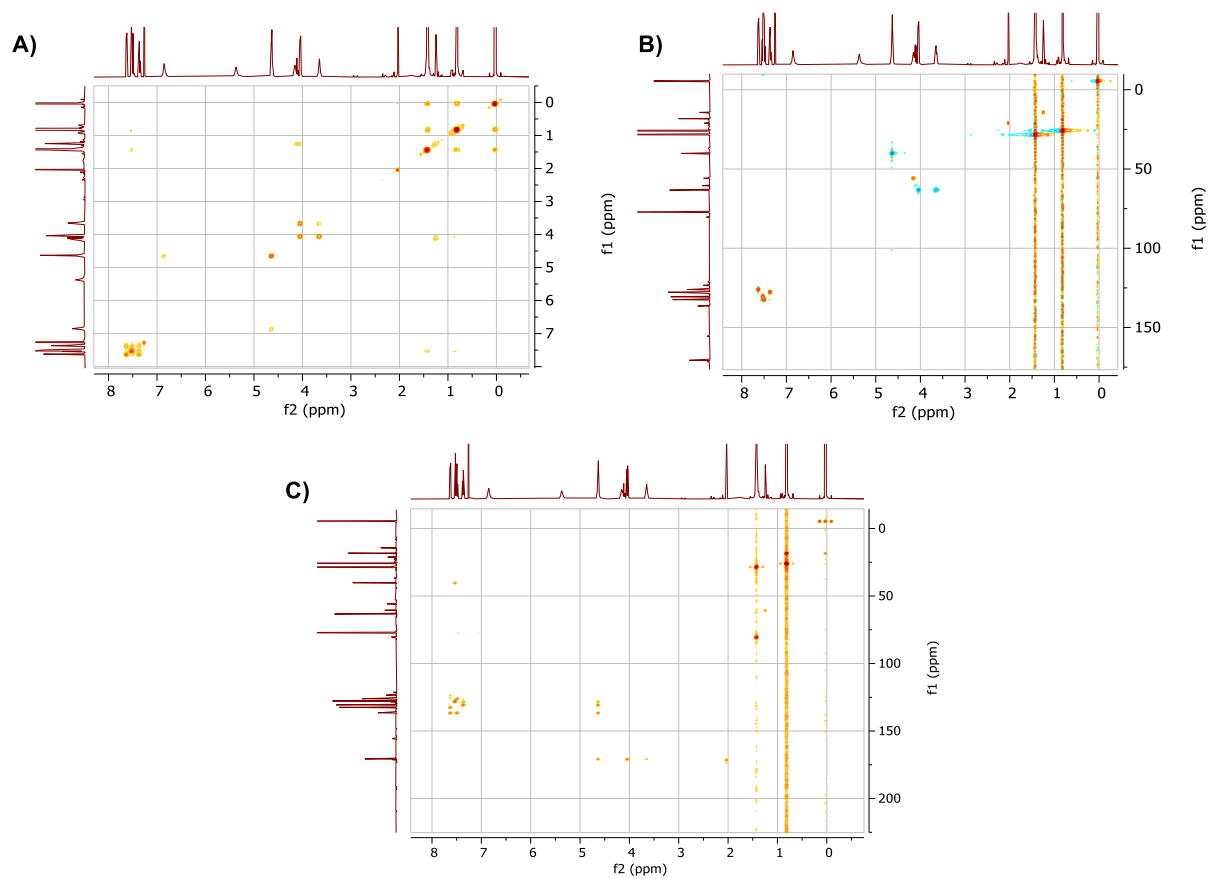


Figura 29. A) Espectro de COSY de la amida **11**. **B)** Espectro de HSQC de la amida **11**.

C) Espectro de HMBC de la amida **11**.

D. Alcohol 5

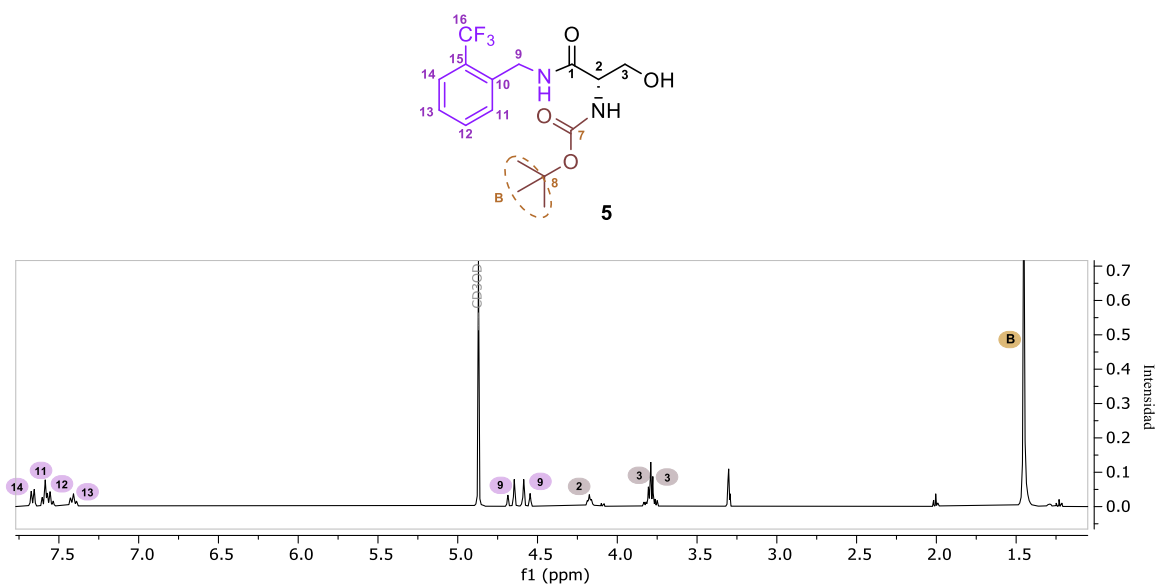


Figura 30. Espectro de ^1H -RMN del alcohol 5.

Tabla 7. Características de las señales del espectro de ^1H -RMN del alcohol 5.

Desplazamiento químico (ppm)	Multiplicidad	Integración	Asignación de la posición
7.66	doblete ($J = 7.6$ Hz)	1H	14
7.59	doblete ($J = 7.6$ Hz)	1H	11
7.55	triplete ($J = 7.6$ Hz)	1H	12
7.41	triplete ($J = 7.6$ Hz)	1H	13
4.67	doblete ($J = 16.3$ Hz)	2H	9
4.57	doblete ($J = 16.3$ Hz)	1H	9
4.18	triplete ($J = 5.0$ Hz)	1H	2
3.81	doble doblete ($J = 11.1, 5.1$ Hz)	1H	3
3.77	doble doblete ($J = 11.1, 5.1$ Hz)	1H	3
1.45	singlete	1H	B

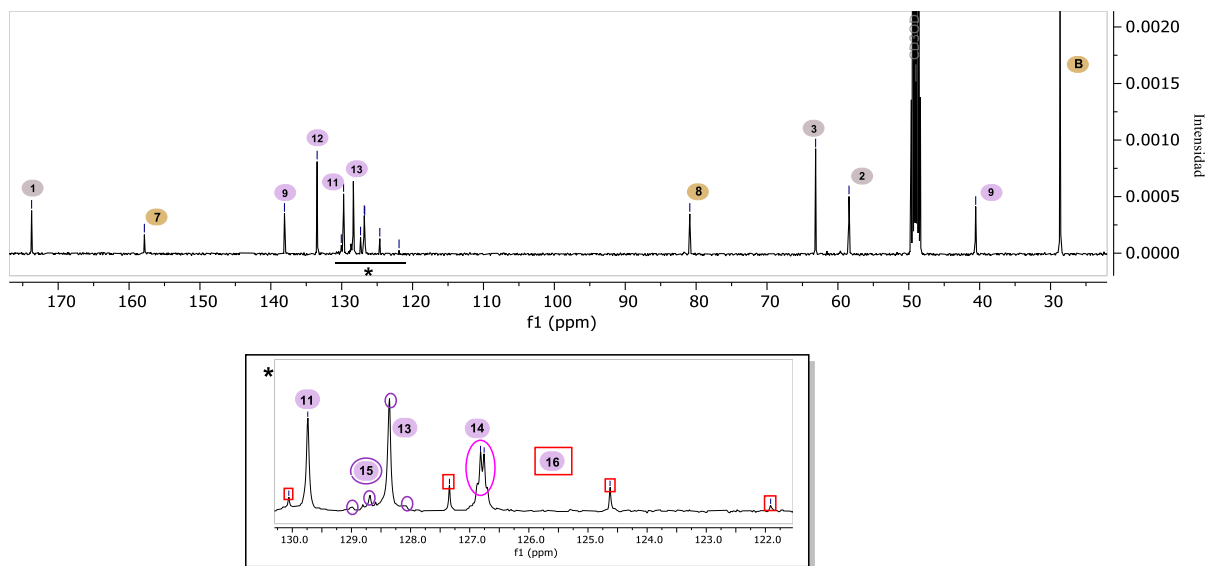
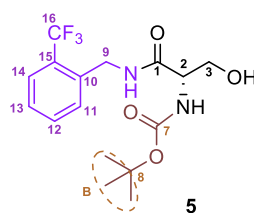


Figura 31. Espectro de ^{13}C -RMN del alcohol **5**.

Tabla 8. Características de las señales del espectro de ^{13}C -RMN del alcohol **5**.

Desplazamiento químico (ppm)	Asignación de la posición
173.8	1
157.8	7
138.1	10
133.5	12
129.7	11
128.4 (c, $J = 30.9$ Hz)	15
128.4	13

Desplazamiento químico (ppm)	Asignación de la posición
126.8 (c, $J = 5.9$ Hz)	14
126.0 (c, $J = 273.2$ Hz)	16
80.9	7
63.1	3
58.4	2
40.6 (c, $J = 2.3$ Hz)	9
28.7	B

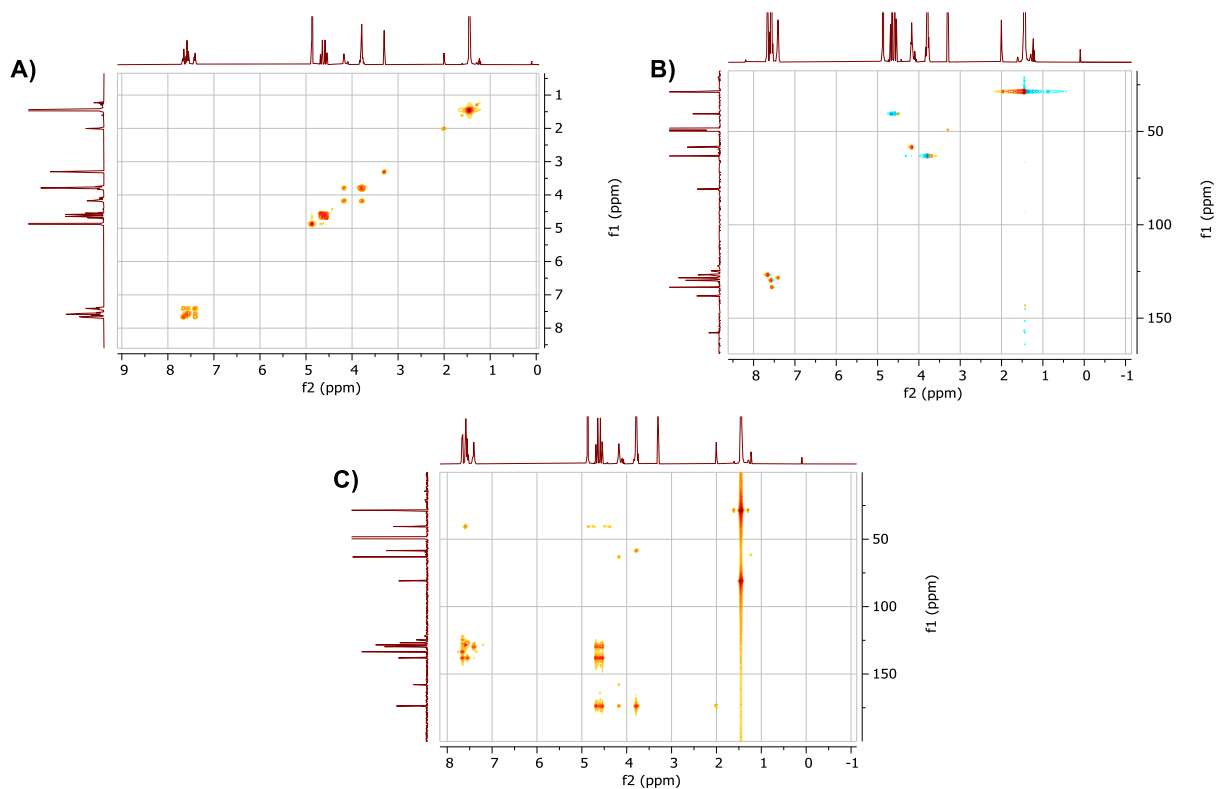


Figura 32. A) Espectro de COSY del alcohol 5. B) Espectro de HSQC del alcohol 5. C) Espectro de HMBC del alcohol 5.

8.4. Espectros de masas de alta resolución

A. Carbamato 9

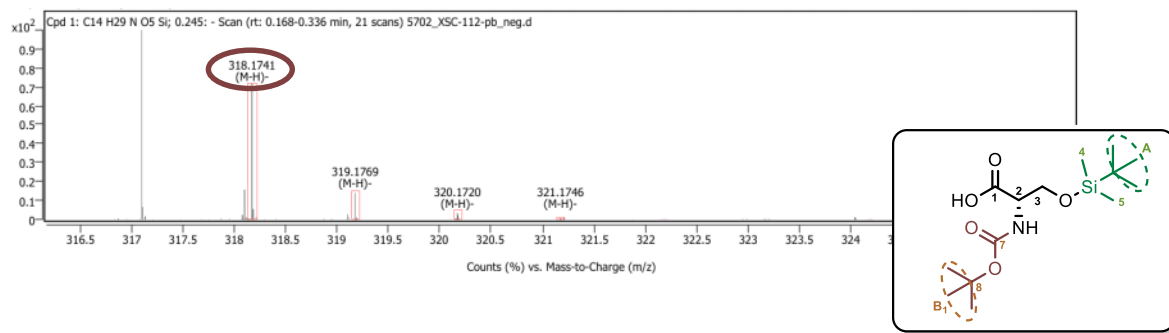


Figura 33. Espectro de masas de alta resolución del carbamato **9**.

B. Carbamato 10

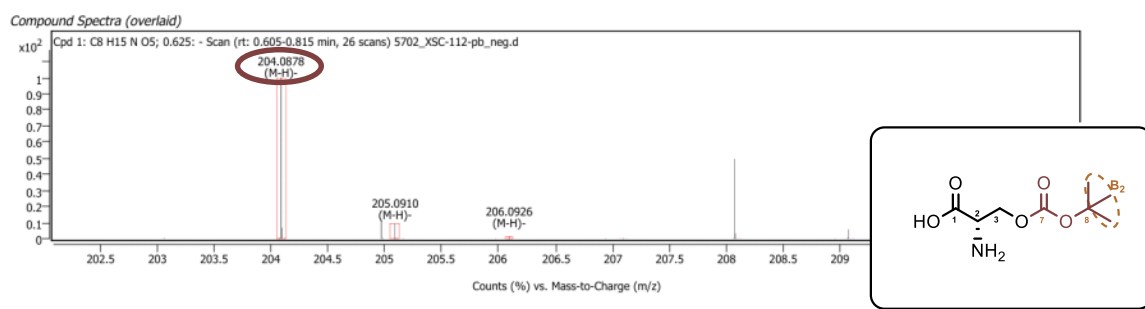


Figura 34. Espectro de masas de alta resolución del carbamato **10**.

C. Amida 11

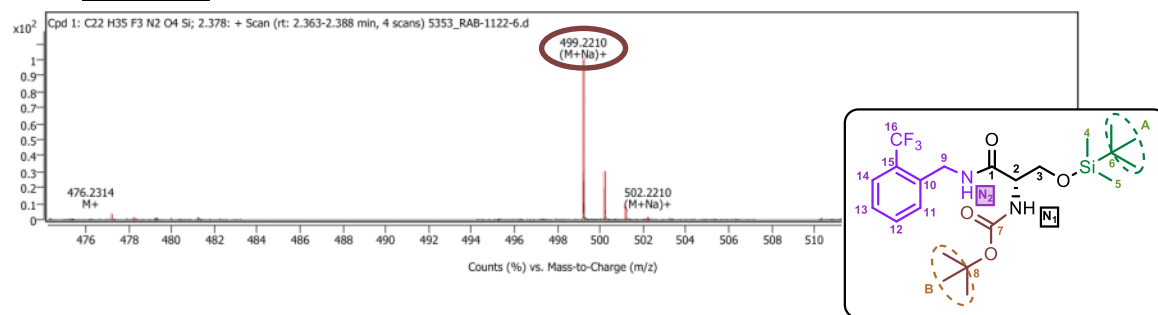


Figura 35. Espectro de masas de alta resolución de la amida **11**.

D. Alcohol 5

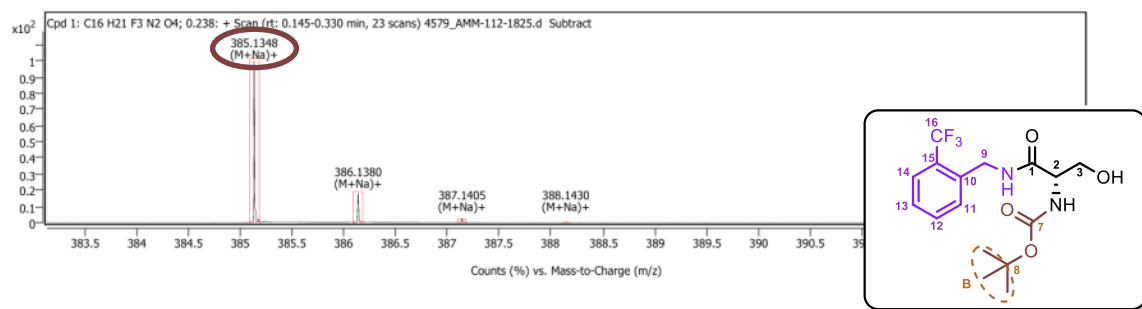


Figura 36. Espectro de masas de alta resolución del alcohol 5.