

**ALCALOIDES INDOLIZIDÍNICOS DE ANFIBIOS. ESTUDIO EN LA  
SÍNTESIS DE INDOLIZIDINAS 5,8-DISUSTITUÍDAS**

**Claudia Rodríguez Sánchez**

***TRABAJO DE FIN DE GRADO***

***Facultad de Ciencias de la Salud***

***Sección de Farmacia***

***Mayo 2016***

Tutor: Dra. María M. Afonso Rodríguez

Realizado en:

Instituto Universitario de Bio-Orgánica “Antonio González”

Departamento de Química Orgánica

Universidad de La Laguna

## Abstract

This work is focused on the study of alkaloids, specifically indolizidine alkaloids. These alkaloids represent a very abundant family of natural products. They are distributed in nature and have been found in very low concentration in the skin of certain species of amphibious belonging to the family *Dendrobatidae* located in Central and South America.

Indolizidine alkaloids have a structure of azabicyclo-[4,3,0]-nonane with a bridging nitrogen. They have been shown to exert biological activity on the nicotinic acetylcholine receptors located in the central nervous system. In addition, these receptors have been shown to play an important role in the psychological process of memory, knowledge and study. This result suggests that the indolizidine alkaloids may be useful in the synthesis of drugs for the treatment of cholinergic alterations in the central nervous system.

In this work we have applied the hetero Diels-Alder reaction for the synthesis of indolizidine alkaloids. This known reaction consists on a [4 + 2] cycloaddition between a diene and an alkene for the formation of a cycloalkene. It is a very simple reaction with a single step. This makes it even more interesting as a synthetic route for the indolizidine alkaloids

I will start by describing the most relevant characteristics of the *Dendrobatidae* family. Next, I will show the most common alkaloids found in the skin of these amphibians, as well as the origin of the same. Subsequently, I will present the most important structural and functional characteristics of the indolizidines, studies that have demonstrated their activity as non-competitive antagonists of nicotinic receptors and the need to prepare these compounds in the laboratory will then be presented. In addition, i will give a brief description of the Diels-Alder reaction, since the alkaloids synthesized in this work have been prepared based on this reaction.

In addition to the literature search on different aspects that seemed important to me in the understanding of this subject, I have synthesized a 5,8-disubstituted indolizidine alkaloid, namely, (E)-7-Butyldimethylsilyloxy-8-butyldiene-5-propyl-1,2,3,5,8,9-hexahydroindolizidine by the Diels-Alder reaction between a diene (vinylallene) and a dienophile ( $\Delta^1$ -pyrroline). For this, I had to prepare one of the reagents that i would need later to carry out the reaction. This reagent was the vinylallene (diene), prepared from a commercial compound through simple reactions. The other reagent,  $\Delta^1$ -pyrroline, was pre-prepared by another partner in the laboratory.

At the practical level, I have worked with spectroscopic techniques studied during my degree as nuclear magnetic resonance that have helped me elucidate the structure of my reaction products, and chromatographic techniques such as thin layer chromatography, column chromatography and high performance liquid chromatography that has allowed me to purify the products. In addition, I have worked in special experimental conditions that involve the manipulation of reagents sensitive to air and humidity.

**Lista de abreviaturas**

AcOEt	Acetato de etilo
ACN	Acetonitrilo
cm	centímetro
TBDMSCI	Cloruro de <i>terc</i> -butildimetilsilano
GC-MS	Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas
DCM	Diclorometano
LDA	Diisopropilamiduro de litio
DIPA	Diisopropilamina
°C	grados centígrados
g	gramo
Hex	Hexano
h	hora
FTIR	Infrarrojo -Transformada de Fourier
m/z	masa/carga
$\mu$ g	microgramo
mg	miligramo
ml	mililitro
mmol	milimol
min	minutos
M	molar
n-BuLi	n-Butillitio
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
THF	Tetrahidrofurano
In(OTf) <sub>3</sub>	Trifluorometanosulfonato de indio
BF <sub>3</sub> ·Et <sub>2</sub> O	Trifluoruro de boro eterato

## Índice

Abstract .....	1
Lista de abreviaturas .....	2
Índice .....	3
1. Introducción .....	4
1.1 Ranas de la familia <i>Dendrobatidae</i> .....	4
1.2 Alcaloides más comunes en la familia <i>Dendrobatidae</i> .....	4
1.3 Origen de las indolizidinas .....	5
1.4 Características estructurales y funcionales de las indolizidinas .....	5
1.5 Necesidad de preparar indolizidinas en el laboratorio .....	7
1.6 Reacción de hetero Diels-Alder en la síntesis de heterociclos .....	7
2. Objetivos .....	9
3. Material y métodos .....	10
3.1 Disolventes y Reactivos .....	10
3.2 Métodos cromatográficos .....	10
3.2.1 Cromatografía en capa fina .....	10
3.2.2 Cromatografía en columna .....	10
3.2.3 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC) .....	10
3.3 Técnicas espectroscópicas .....	11
3.3.1 Resonancia Magnética Nuclear .....	11
4. Resultados y Discusión .....	12
4.1 Síntesis de (E)-undec-4-en-7-in-6-ol (3) .....	13
4.2 Síntesis de (E)-terc-butildimetil(undec-4-en-7-in-6-iloxi)silano (4) .....	14
4.3 Síntesis de (E)-terc-butildimetil(undec-4,5,7-trien-6-iloxi)silano (5) .....	15
4.4 Reacción de hetero-Diels-Alder. Síntesis de (E)-7-terc-butildimetilsililoxi-8-butilden-5-propil-1,2,3,5,8,9-hexahidroindolizidina (7) .....	16
5. Conclusiones .....	18
6. Bibliografía .....	19

## 1. Introducción

### 1.1 Ranas de la familia *Dendrobatidae*

La familia *Dendrobatidae* está constituida por un grupo de ranas originarias de Centroamérica y Sudamérica, que viven en ecosistemas muy diversos tales como bosques nubosos, selvas tropicales de tierras bajas, bosques andinos xerofíticos, etc.

Estas ranas, se caracterizan por presentar una coloración aposemática y un pequeño tamaño que oscila entre 1 y 6 cm de longitud en función de la edad y de la especie a la que pertenezcan.



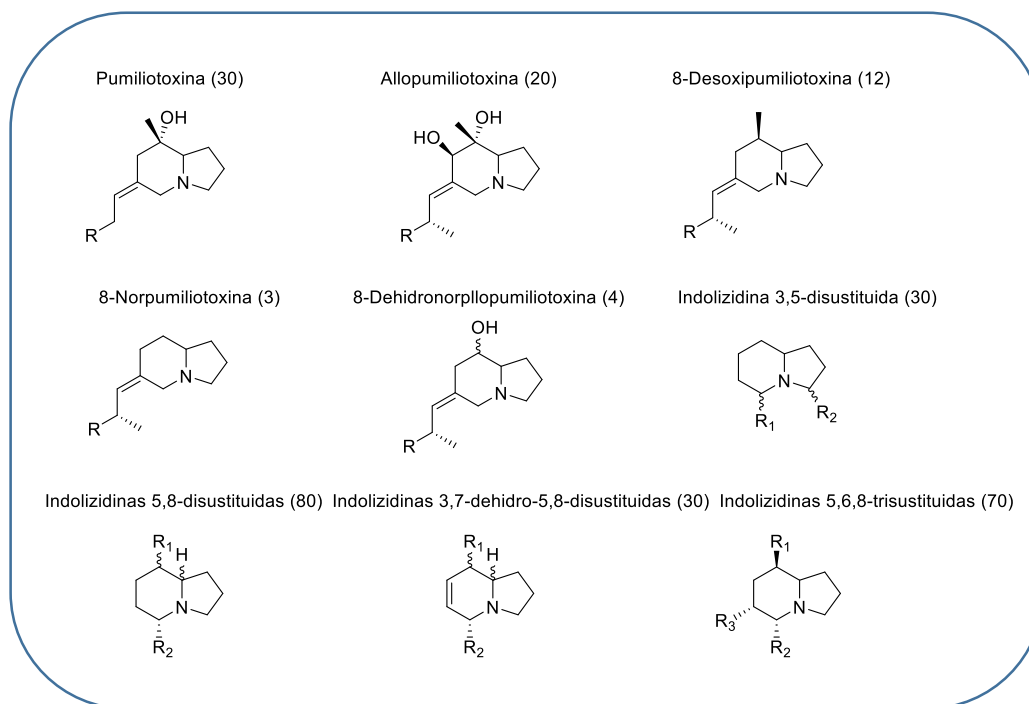
Aparte de su coloración llamativa, la piel se caracteriza porque contienen una amplia gama de sustancias potencialmente mortales en baja concentración, que son secretadas por las glándulas cutáneas granulares. Se trata de alcaloides, utilizados por los anfibios no sólo como protección frente a sus depredadores sino también frente a infecciones bacterianas o protozoarias. Hay que destacar que los antiguos nativos usaban para la caza, flechas previamente “frotadas” con la piel de estos peculiares anfibios.

### 1.2 Alcaloides más comunes en la familia *Dendrobatidae*

En el año 1999, Daly y colaboradores<sup>1</sup> publicaron una profunda revisión sobre la química y biología de estos alcaloides. En su trabajo se detallan más de 500 alcaloides aislados de la piel de estos anfibios, aunque no todos estaban completamente caracterizados. Seis años después, en 2005,<sup>2</sup> y sólo en el estudio de la familia *Dendrobatidae* y en particular de la especie *Oophaga pumilio*, se descubrieron 232 nuevos alcaloides. Estos trabajos han requerido más de tres décadas de investigación en tres continentes y con más de 70 géneros de ranas y sapos de 11 familias de anfibios diferentes.

Los alcaloides indolizidínicos o indolizidinas más comunes son los 5,8-disustituidos, 5,6,8-trisustituidos y el grupo de las pumilotoxinas, que representan el 55% de los tipos de alcaloides encontrados en la rana *Oophaga pumilio*.<sup>3</sup>

A continuación se muestran diferentes alcaloides indolizidínicos sustituidos, aislados de ranas, ya conocidos, indicando el número de compuestos de cada uno. (Figura 1)



**Figura 1. Diferentes tipos de alcaloides indolizidínicos sustituidos**

### 1.3 Origen de las indolizidinas

El origen de los alcaloides indolizidínicos es muy interesante. En un principio se pensaba que eran consecuencia del metabolismo de las ranas, sin embargo, Daly y colaboradores demostraron que procedían de hormigas y ácaros, parte importante de la dieta de estos anfibios.

El estudio de Daly <sup>4</sup> consistió en comparar diferentes ranas *Oophaga pumilio* de su hábitat natural (Nicaragua, Costa Rica y Panamá) con ranas reproducidas en cautiverio. Así descubrieron, que sólo las primeras presentaban alcaloides en su mucosa.

En el análisis de los ácaros y hormigas que forman parte de la dieta de estos anfibios en su hábitat natural, se detectaron 82 alcaloides, de los cuales 42 fueron encontrados en la piel de las ranas.

### 1.4 Características estructurales y funcionales de las indolizidinas

Inicialmente el término alcaloide se utilizó para designar a aquellos metabolitos secundarios de las plantas, que poseen un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos y que tienen en común su hidrosolubilidad a pH ácido y su solubilidad en disolventes orgánicos a pH alcalino.

A medida que avanzaron los estudios en productos naturales, se han ido descubriendo compuestos que son considerados alcaloides, pero que no cumplen con alguno de estos requisitos.

Los alcaloides indolizidínicos son compuestos con una estructura de azabicyclo-[4,3,0]-nonano, con un nitrógeno cabeza de puente. (Figura 2)

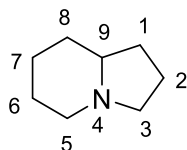


Figura 2

Estos alcaloides representan una familia de productos naturales muy abundante. Se han aislado más de diez mil, de fuentes naturales extremadamente diversas. Así se encuentran en organismos como bacterias, hongos, plantas superiores, invertebrados y vertebrados.<sup>5</sup> Se ha demostrado que estos compuestos poseen interesantes actividades biológicas tales como fitotoxicidad, propiedades antibacterianas y fungicidas.

Tsuneki y colaboradores han demostrado que las indolizidinas naturales **207A**, 5,9Z-**203A** y las indolizidinas sintéticas 5,9Z-**235B'**, son antagonistas no competitivos de los receptores nicotínicos en el sistema nervioso central. Además, su sensibilidad es comparable con los antagonistas naturales, dihidro- $\beta$ -heritroidina.<sup>6</sup> (Figura 3)

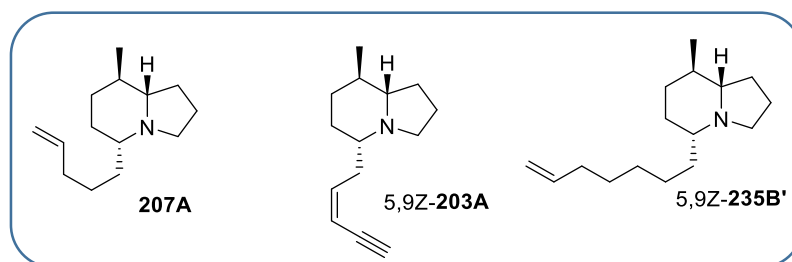


Figura 3

Los receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) son muy importantes en la transmisión colinérgica del sistema nervioso. Se ha demostrado que estos receptores juegan un importante papel en el proceso psicológico de la memoria, conocimiento y estudio.

Algunos estudios realizados sobre cerebros de muertos humanos, sugieren que la pérdida de receptores nicotínicos de los nervios está relacionada con una amplia gama de disfunciones neuronales y mentales. Debido a su complejidad estructural, solo un número limitado de agonistas y antagonistas son adecuados para el estudio de sus funciones.

Algunos alcaloides de las ranas modifican la función de los receptores nicotínicos de manera selectiva. Este resultado sugiere que el estudio como cabeza de serie de estos compuestos podría permitir acceder a compuestos útiles en el diseño de futuros medicamentos para el tratamiento de alteraciones colinérgicas en el sistema nervioso central, tales como el Alzheimer, la Esquizofrenia y el Parkinson.

### 1.5 Necesidad de preparar indolizidinas en el laboratorio

Debido a las pequeñas cantidades de estos compuestos indolizidínicos en la piel de ranas, su elucidación estructural ha sido complicada. En algunos extractos, estos componentes pueden alcanzar los 100  $\mu\text{g}$  por rana, pero en la mayoría de los casos han sido aislados en menor cantidad.

Además de su importancia funcional como antagonistas no competitivos de los receptores nicotínicos, las indolizidinas sustituidas se han convertido en punto de mira de numerosos investigadores debido a los desafíos sintéticos que implica su estructura.<sup>7</sup> A pesar de ser estructuralmente simples, estas moléculas son un buen modelo para el desarrollo de nuevas metodologías sintéticas, sobre todo desde el punto de vista de su estereoquímica, es decir la exacta disposición espacial de los sustituyentes.

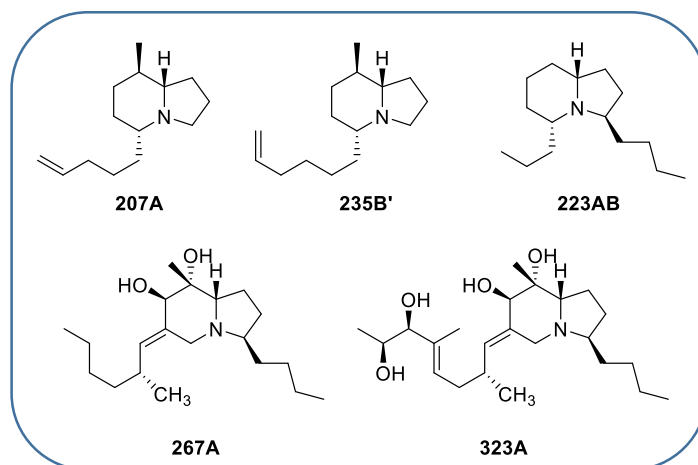
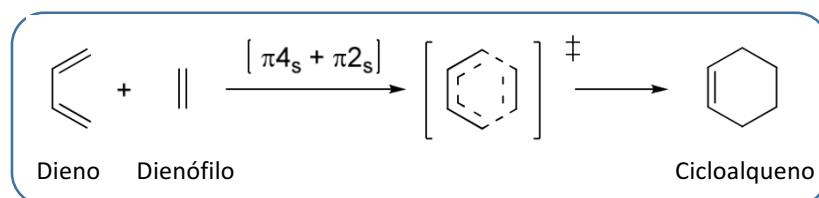


Figura 4

### 1.6 Reacción de hetero Diels-Alder en la síntesis de heterociclos

La reacción de Diels-Alder<sup>8</sup> es una cicloadición [4+2] entre un dieno conjugado y un alqueno, llamado dienófilo. La formación del cicloalqueno tiene lugar a través de un estado de transición cíclico, donde se rompen tres enlaces  $\pi$  y se forman al mismo tiempo dos nuevos enlaces  $\sigma$  y un enlace  $\pi$ . (Esquema 1).

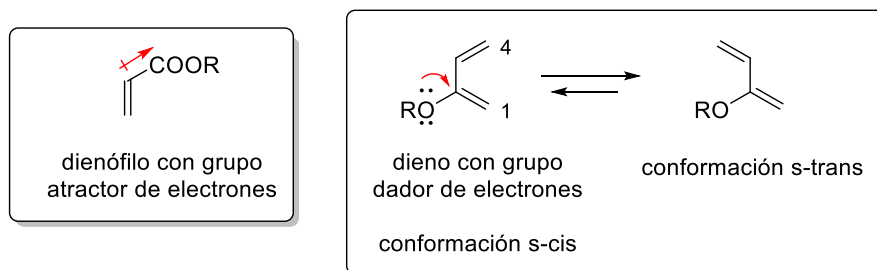


Esquema 1

La reacción de cicloadición de Diels-Alder ocurre más rápidamente si el compuesto alqueno, o dienófilo, tiene un grupo sustituyente atractor de electrones, conjugado con el doble enlace. El dieno debe adoptar una conformación s-cis respecto al enlace



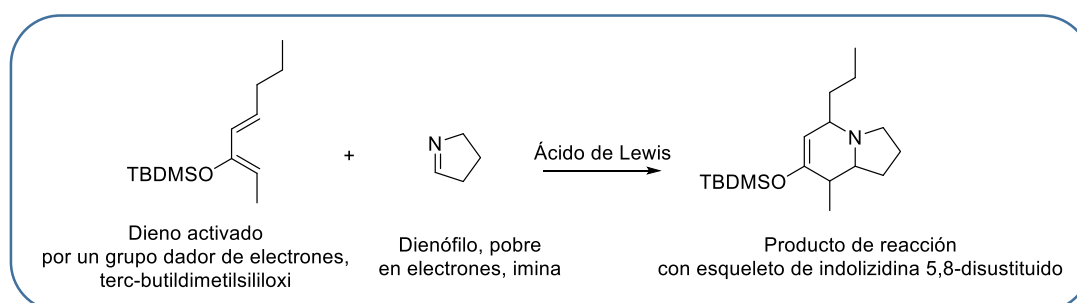
sencillo. Únicamente en la conformación *s-cis* los carbonos 1 y 4 están lo suficientemente cerca para reaccionar a través de un estado de transición cíclico. Para que el dieno sea más reactivo debe ser rico en electrones, esto es, sustituido por grupos dadores de electrones. (Esquema 2)



**Esquema 2**

Si el dieno o el dienófilo poseen un heteroátomo, como nitrógeno, la reacción se denomina hetero Diels-Alder. Las reacciones con iminas necesitan activación, normalmente con un ácido de Lewis.

En el grupo de investigación donde he realizado este trabajo, se ha llevado a cabo la síntesis de núcleos indolizídnicos, vía reacción de hetero Diels-Alder, como el que se muestran a continuación. (Esquema 3)<sup>8</sup>



**Esquema 3**

En el Esquema 3 se ha utilizado como dienófilo una imina cíclica, la  $\Delta^1$ -pirrolina. El hecho de que esta imina sea cíclica, permite incorporar, al mismo tiempo que se forma el anillo de seis miembros, el anillo de cinco miembros de la indolizidina.

## 2. Objetivos

En este Trabajo Fin de Grado se llevará a cabo un estudio experimental en el desarrollo de nuevas metodologías sintéticas para la preparación, en el laboratorio, de alcaloides indolizídnicos o indolizidinas-5,8-disustituidas.

Se estudiará la viabilidad de la síntesis del esqueleto indolizídnicico, usando la reacción de hetero Diels-Alder entre un vinil-aleno y la  $\Delta^1$ -pirrolina como dienófilo. Para ello necesitaremos sintetizar el dieno (vinil-aleno) y el dienófilo ( $\Delta^1$ -pirrolina), comprobar su pureza y analizar su reactividad como sustratos en la reacción de hetero Diels-Alder.

También se profundizará en la utilización de técnicas cromatográficas para la purificación de los productos, así como en el uso de técnicas espectroscópicas para la determinación estructural de los mismos y para el análisis de resultados. Además, se precisará de una adecuada manipulación de reactivos sensibles al aire y a la humedad, propios de un laboratorio de investigación en síntesis orgánica.

Así mismo, este trabajo implica la revisión bibliográfica de trabajos previos sobre el tema, conocer la estructura y propiedades de las indolizidinas y los principios y fundamentos de la reacción de hetero Diels-Alder.

### **3. Material y métodos**

#### **3.1 Disolventes y Reactivos**

Los disolventes utilizados se purificaron y secaron bajo atmósfera inerte siguiendo los procedimientos descritos en la bibliografía.<sup>9</sup>

A menos que se indique lo contrario, todas las reacciones se llevaron a cabo en material de vidrio secado al horno, bajo atmósfera de argón y con agitación magnética. Cuando se precisaron temperaturas de reacción de -30°C o -78°C se utilizó un Neslab Cryocool CC 100 II Immersion Cooler, que permite controlar la temperatura del sistema.

#### **3.2 Métodos cromatográficos**

##### **3.2.1 Cromatografía en capa fina**

Las cromatografías en capa fina fueron realizadas sobre cromatofolios de gel de sílice, de 200 µm de espesor y 25 µm de tamaño de partícula, con indicador de fluorescencia a 254 nm, de la casa Fluka.

La visualización se realizó utilizando una lámpara UV254 y 366 nm o mediante tinción y calentamiento.

##### **3.2.2 Cromatografía en columna**

Las cromatografías en columna se realizaron empleando gel de sílice 60 (0.040–0.063 mm) Merck Kieselgel. Las columnas fueron preparadas en húmedo, mezclando gel de sílice con el eluyente. Se emplearon como eluyentes mezclas de n-hexano/acetato de etilo en distintas proporciones.

##### **3.2.3 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)**

Para el HPLC se utilizó una bomba de cromatografía WATERS 510, con inyector Rheodine 7010 y detector de índice de refracción Waters R401. La columna utilizada fue Waters µ-Porasil de 300 x 7.8 mm diámetro interno y como eluyentes mezclas n-Hex:AcOEt.

### 3.3 Técnicas espectroscópicas

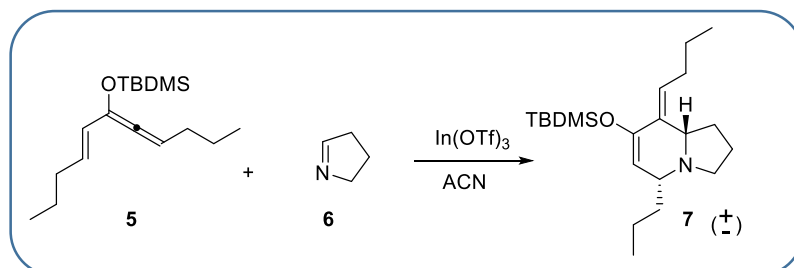
#### 3.3.1 Resonancia Magnética Nuclear

Los espectros se realizaron en un espectrómetro Bruker Avance 500, perteneciente al SEGAI de la ULL. Se utilizó cloroformo deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) como disolvente y tetrametilsilano como referencia. Los desplazamientos químicos se expresan en unidades  $\delta$  (en partes por millón). Las constantes de acoplamiento  $J$  se indican en Herzios.

En los experimentos de  $^1\text{H}$  RMN, la multiplicidad de las señales se indica por las abreviaturas: s, singlete; d, doblete; t, triplete; dt, doble triplete; dd, doble doblete c, cuarteto; m, multiplete.

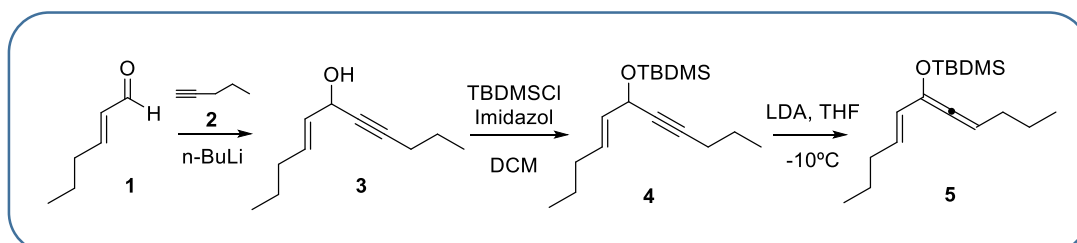
#### 4. Resultados y Discusión

La síntesis de las indolizidinas se realizó mediante la reacción hetero Diels-Alder entre un vinil-aleno (dieno) y la  $\Delta^1$ -pirrolina (dienófilo).



La  $\Delta^1$ -pirrolina (**6**) había sido preparada anteriormente en el laboratorio. El vinil-aleno (**5**) fue sintetizado en 3 pasos:

- Síntesis del compuesto **3**, por adición nucleofílica del acetiluro de pentino a *trans*-2-hexenal, utilizando *n*-butillitio como base.
- Protección del alcohol **3**, como su *tert*-butildimetil éter **4** por tratamiento con TBDMSCl, utilizando imidazol como base.
- Síntesis del vinil-aleno **5** por isomerización del compuesto **4** con LDA, a  $-10^\circ\text{C}$ .

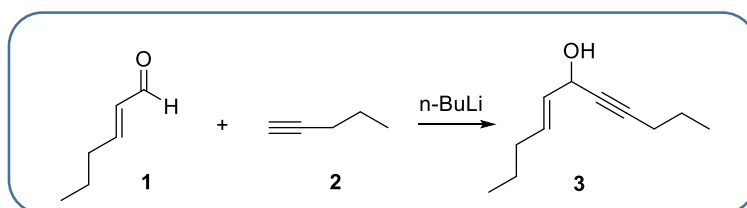


La reacción de hetero Diels-Alder entre el vinil-aleno y la  $\Delta^1$ -pirrolina se llevó a cabo en acetonitrilo, utilizando  $\text{In}(\text{OTf})_3$  como ácido de Lewis. La reacción proporcionó, con buen rendimiento, un compuesto con esqueleto de indolizidina (**7**). La estereoquímica relativa del compuesto **7** ha sido tentativamente asignada por comparación con compuestos similares previamente preparados en el laboratorio.

Todos los compuestos sintetizados fueron purificados por cromatografía y/o HPLC e identificados mediante técnicas espectroscópicas. Se adjuntan los espectros obtenidos, y los datos de éstos.

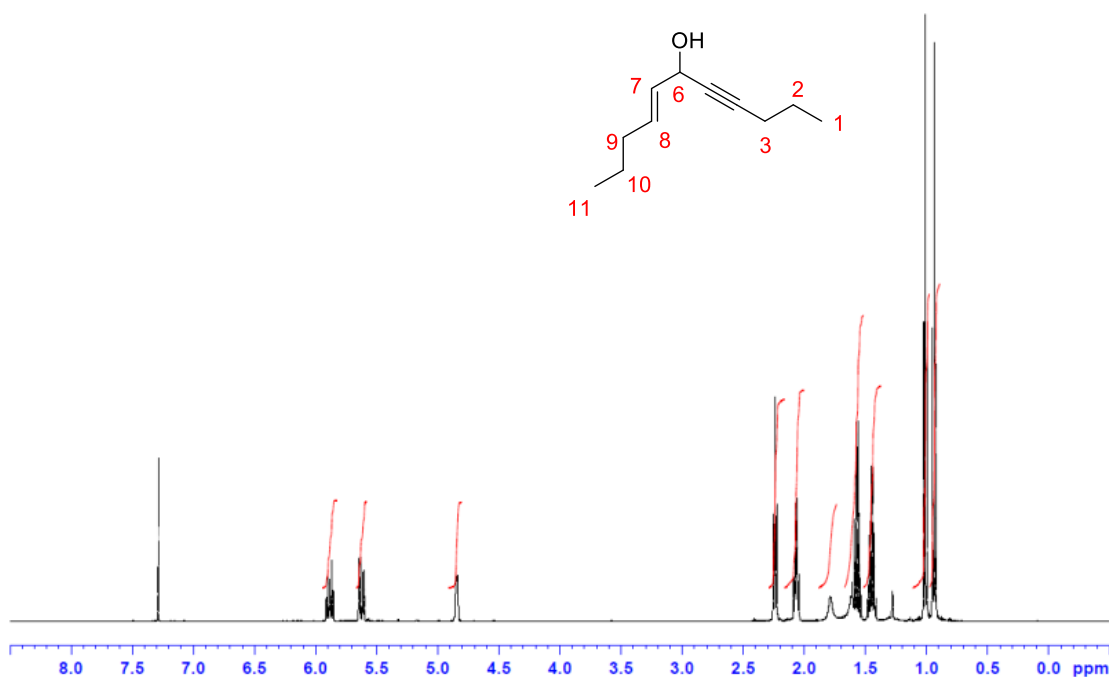
A continuación se detalla la parte experimental:

#### 4.1 Síntesis de (E)-undec-4-en-7-in-6-ol (3)



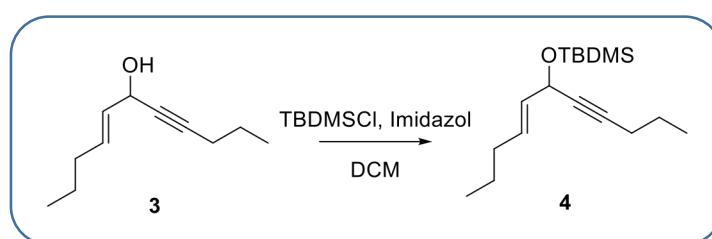
A una solución de 1-pentino (1,18 ml, 12.0 mmol) en THF (60 ml), se añadió gota a gota n-BuLi (8.25 ml, 13.2 mmol) a  $-78^{\circ}\text{C}$  y en atmosfera de nitrógeno. Se dejó agitando durante 40 min a  $-30^{\circ}\text{C}$ , se enfrió a  $-78^{\circ}\text{C}$  y se añadió gota a gota trans-2-hexenal, recién destilado (1.67 ml, 14.4 mmol). La solución se dejó agitando durante 4 horas a temperatura ambiente. Después, se añadió una solución acuosa saturada fría de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (60 ml), y la mezcla resultante fue extraída con dietiléter (50ml x 3). La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de NaCl, se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se concentró a vacío y se purificó mediante una columna cromatográfica (Hex:EtOAc 90:10). Se obtuvieron 1.8 g de producto (3), como un aceite amarillo claro. El rendimiento fue 75%

Claudia-1,  $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz

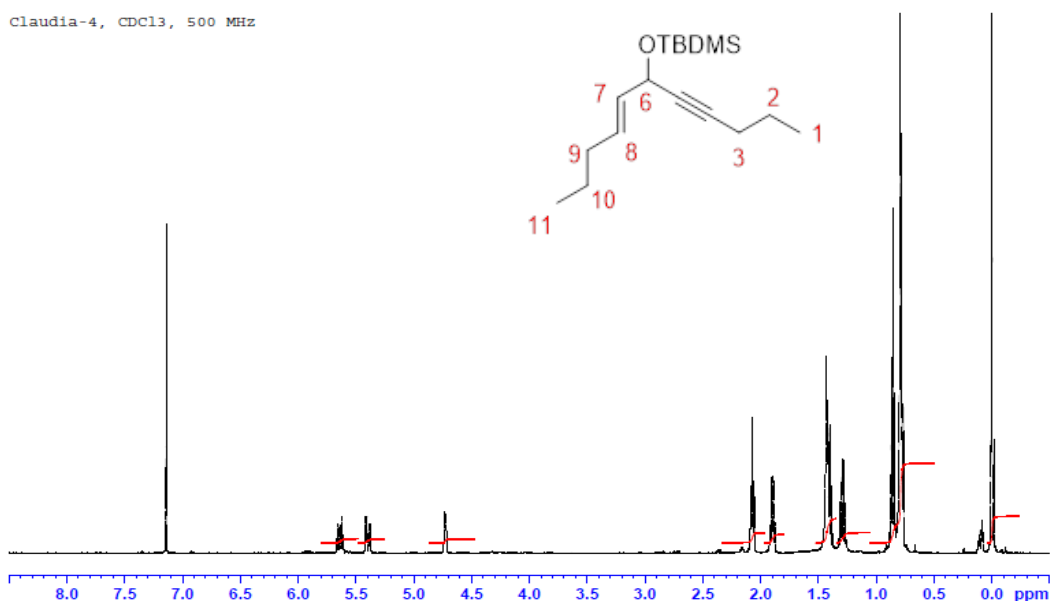


protón	ppm	señal
H-8	5,88	dt, $J = 15.0, 7.0$ Hz
H-7	5,62	dd, $J = 15.0, 6.0$ Hz
H-6	4,84	d, $J = 5.0$ Hz
H-3*	2,34	td, $J = 7.0, 2.0$ Hz
H-9*	2,06	c, $J = 7.1$ Hz
H-2*	1,57	s
H-10*	1,45	s
Me-1*	1,00	t, $J = 7.0$ Hz
Me-11*	0,93	t, $J = 7.0$ Hz
Los * indican posición no definida		

#### 4.2 Síntesis de (E)-terc-butildimetil(undec-4-en-7-in-6-iloxi)silano (**4**)

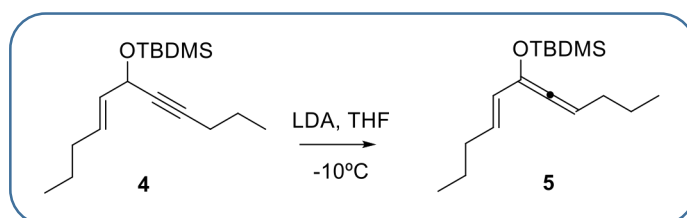


A una solución del alcohol **3** (1.8 g, 10.8 mmol) en DCM (50 ml), se añadió imidazol (2.21 g, 32.5 mmol) y seguidamente TBDMSCl (1.8 g, 13.0 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se dejó alcanzar temperatura ambiente durante 3 h. Después, se añadió agua y la fase acuosa se extrajo con DCM. La combinación de fases orgánicas, se lavó con solución acuosa saturada de NaCl, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a vacío. El crudo resultante fue purificado en una columna cromatográfica (Hex:EtOAc 98:2), obteniéndose 2,76 g del compuesto **4**, como un aceite amarillo claro. Rendimiento 90%.

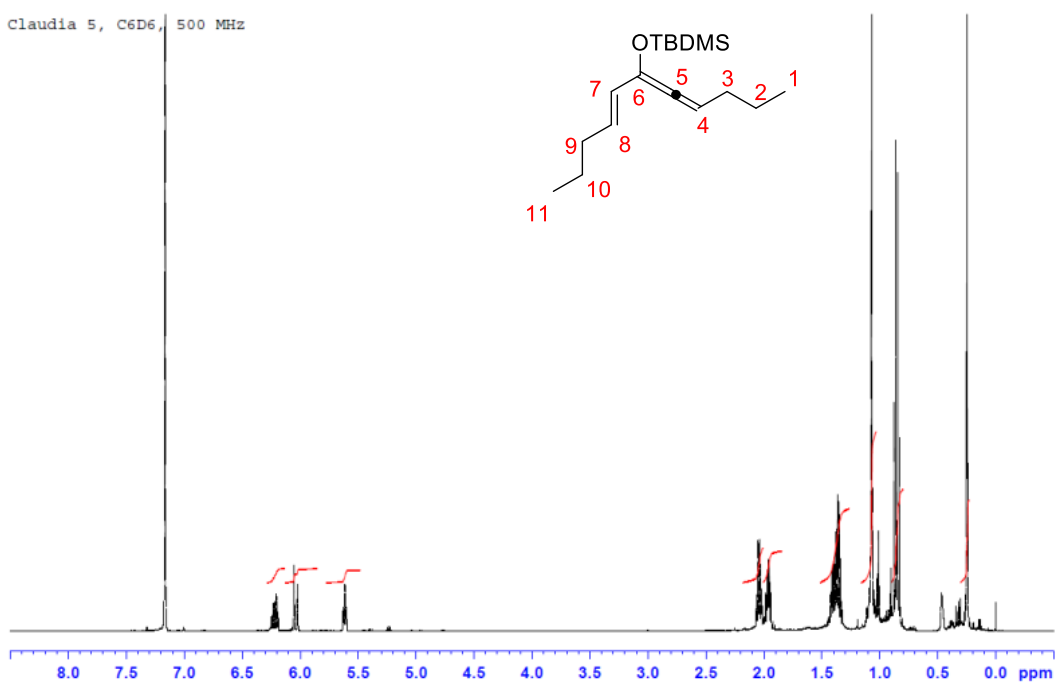


protón	ppm	señal
H-8	5,63	dt, $J = 15.0, 7.0$ Hz
H-7	5,39	dd, $J = 15.0, 7.0$ Hz
H-6	4,72	d, $J = 5.4$ Hz
H-3*	2,06	td, $J = 7.0, 2.0$ Hz
H-9*	1,89	c, $J = 7.1$ Hz
H-2*	1,41	m
H-10*	1,29	s
Me-1*	0,85	t, $J = 7.2$ Hz
tBu-Si	0,88	s
Me-11*	0,78	t, $J = 7.6$ Hz
Me-Si	0,003	s
Me-Si	0,002	s

### 4.3 Síntesis de (E)-terc-butildimetil(undec-4,5,7-trien-6-iloxi)silano (5)



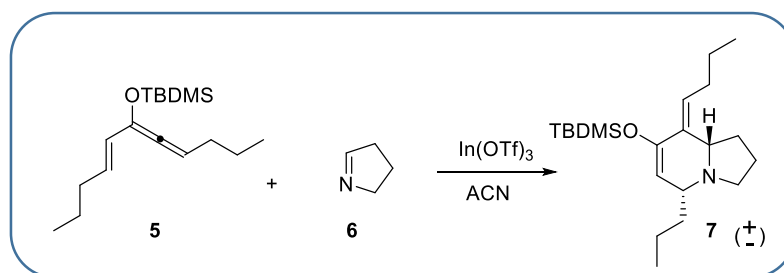
A una solución del silil éter **4** (1.0 g, 3.6 mmol) en THF (36 mL) a  $-10^{\circ}\text{C}$ , se agregó LDA (3.6 mmol, 0.5 M) en THF. La disolución se colorea intensamente de amarillo-naranja. Se dejó en agitación a  $-10^{\circ}\text{C}$  y al cabo de 10 min, se adicionó una solución de imidazol (267 mg, 3.93 mmol) en THF (3 mL). Se vertió la mezcla sobre hexano, se filtró y se concentró a vacío. Se obtuvieron 870 mg del vinil-aleno **5**, como un aceite amarillo claro. Rendimiento 87%



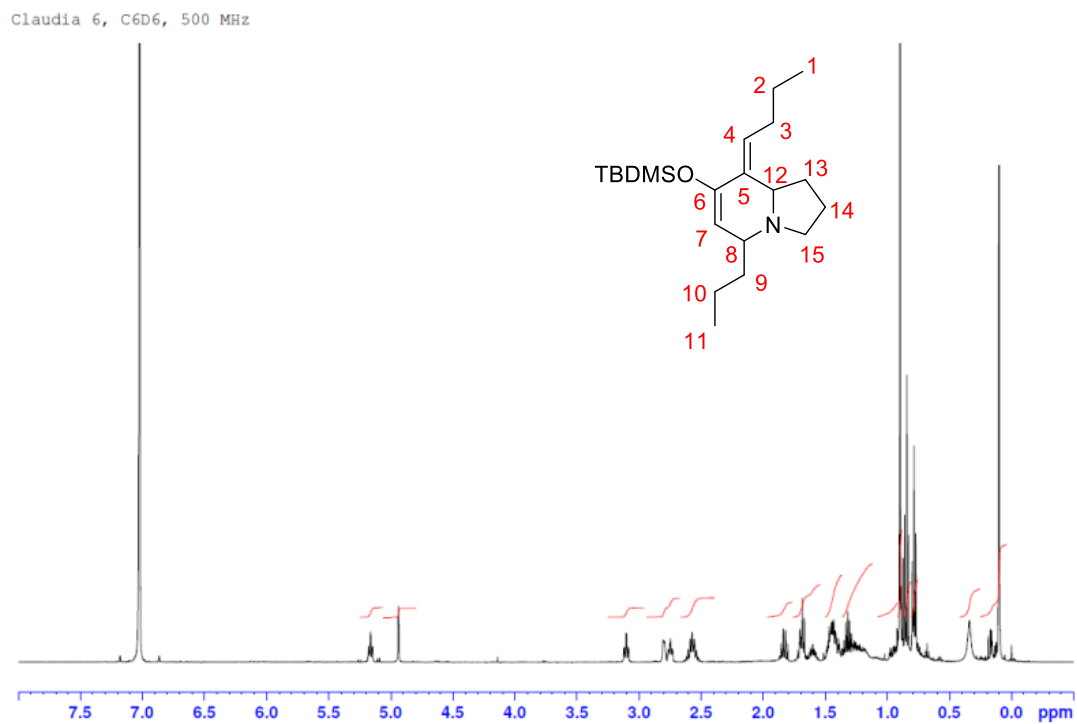


protón	ppm	señal
H-8	6,22	dt, $J = 15.4, 7.1$ Hz
H-7	6,03	d, $J = 15.1$ Hz
H-4	5,61	t, $J = 6.5$ Hz
H-3*	2,04	c, $J = 7.3$ Hz
H-9*	1,96	m
H-2 y H-10	1,44-1,31	m
tBu-Si	1,07	s
Me-1*	0,86	t, $J = 7.5$ Hz
Me-11*	0,84	t, $J = 7.3$ Hz
Me-Si	0,25	s
Me-Si	0,24	s

#### 4.4 Reacción de hetero-Diels-Alder. Síntesis de (E)-7-terc-butildimetilsiloxi-8-butiliden-5-propil-1,2,3,5,8,9-hexahidroindolizidina (7)



A un solución de  $\text{In}(\text{OTf})_3$  (871 mg, 1.55 mmol) en ACN (8 ml) a  $0^\circ\text{C}$ , se le agregó una solución de  $\Delta^1$ -Pirrolina **6** (257 mg, 3.72 mmol) en ACN (3 ml). La mezcla se agitó 15 min a  $0^\circ\text{C}$ , luego se enfrió a  $-40^\circ\text{C}$  y se le añadió una solución del vinil-aleno **5** (869 mg, 3.10 mmol) en ACN (5 ml). La mezcla de reacción se dejó alcanzar temperatura ambiente y se agitó durante 24 h. Se agregó una solución acuosa saturada fría de  $\text{NaHCO}_3$  (30 ml) y se extrajo con AcOEt (3 x 30 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada de NaCl, se secaron con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron a vacío. El crudo resultante fue purificado en una columna cromatográfica (Hex:EtOAc 98:2), obteniéndose 0,87 g del compuesto **7**, como un aceite amarillo claro. Rendimiento 80%.



Protón- Isómero-1	ppm	señal
H-4	5,16	t, $J = 7.4$ Hz
H-7	4,94	s
H-8	3,10	td, $J = 8.7, 2.7$ Hz
H-15	2,80	m
H-3	2,75	t, $J = 7.6$ Hz
H-15	2,64-2,50	m
H-12	1,82	c, $J = 8.7$ Hz
H-9*(10, 13)	1,73-1,55	m
H-2*(10, 14)	1,49-1,14	m
tBu-Si	1,08	s
Me-11 (1)*	0,98	t, $J = 7.4$ Hz
Me-1 (11)*	0,84	t, $J = 7.4$ Hz
Me-Si	0.24	s

## 5. Conclusiones

En este trabajo se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de estudios previos sobre la reacción de hetero Diels-Alder y la naturaleza de las indolizidinas. De este modo he podido comprobar que resulta de especial interés la síntesis de este tipo de compuestos, al encontrarse en muy escasa concentración en la piel de anfibios de la familia Dendrobatidae, ejemplares que, además de estar en vías de extinción, son muy tóxicos para el ser humano.

Se ha diseñado y llevado a la práctica una nueva metodología para la síntesis de alcaloides indolizidínicos, utilizando como reacción clave la reacción de hetero Diels-Alder entre un vinil-aleno y una imina cíclica. Esta reacción, nos ha permitido llegar de manera sencilla y rápida al producto final, lo que es importante para la elaboración de estos compuestos en el laboratorio.

Además de la importancia funcional que presenta este tipo de compuestos, como cabezas de serie en el diseño de fármacos capaces de actuar a nivel del SNC, resultan de interés desde el punto de vista estructural, lo que los convierte en compuestos útiles para el desarrollo de nuevas metodologías sintéticas.

Por todo esto, podemos concluir que la síntesis de alcaloides indolizidínicos es importante en la comunidad científica, ya sea desde el punto de vista funcional como estructural. Además, hemos comprobado que la reacción de hetero Diels-Alder es una ruta viable en la obtención de indolizidinas.

## 6. Bibliografía

---

- 1.- J. W. Daly, H. M. Garraffo, T. F. Spande, "Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives", ed. S. W. Pelletier, Pergamon Press, Amsterdam, 1999, vol. 13, pp. 1–161.
- 2.- J. W. Daly, T. F. Spande, H. M. Garraffo, *J. Nat. Prod.*, **2005**, *68*,1556.
- 3.- En la última década ha aparecido una nueva clasificación que divide a las antiguamente consideradas *Dendrobatidae* en dos familias: *Dendrobatidae* y *Aromobatidae*. En la nueva clasificación aparecen muchos más géneros, destacando la división que sufre el género *Dendrobates* que ha pasado a dar *Ranitomeya* (ranas cuyos renacuajos tienen una alimentación menos específica, de tamaño pequeño, carácter arborícola y que habitan en Sudamérica), *Dendrobates* (ranas de mayor tamaño y hábitos terrestres) y *Oophaga* (ranas cuyos renacuajos sólo comen huevos no fecundados que les proporciona su progenitora). Grant, Taran.; Frost, Darrel R.; Caldwell, Janalee P.; Gagliardo, Ron; Haddad, Celio F.B.; Kok, Philippe J.R.; Means, D. Bruce; Noonan, Brice P.; Schargel, Walter E.; Wheeler, Ward. *Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia, Athesphatanura, Dendrobatidae)*. *Bulletin of the American Museum of Natural History*; nº 299, 2006. URI: <http://hdl.handle.net/2246/5803>
- 4.- (a) Daly, J. W.; Secunda, S. I.; Garraffo, H. M. Spande, T. F.; Winieski, A.; Cover Jr., J. F., *Toxicon* **1994**, *32*, 657. (b) Daly, J. W.; Garraffo, H. M. Spande, T. F.; Jaramillo, C.; Rand, A. S., *J. Chem. Ecol.*, **1994**, *20*, 943. (c) Daly, J. W. The Alkaloids, Cap. 4, "The Nature and Origin of Amphibian Alkaloids." **1998**.
- 5.- Michael, J. P. *Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 191.
- 6.- (a) Tsuneki, H.; You, Y.; Toyooka, N.; Kagawa, S.; Kobayashi, S.; Sasaoka, T.; Nemoto, H.; Kimura, I.; Dani, J. A., *Molecular Pharmacology* **2004**, *66*, 1061. (b) Daly, J. W. *Cell Mol Neurobiol* **2005**, *25*, 513. (c) Nelson, A.; Garraffo, H. M.; Spande, T. F.; Daly, J. W.; Stevenson, P. J. *Beilstein J. Org. Chem.* **2008**, *4-6*. (d) Kobayashi, S.; Toyooka, N.; Zhou, D.;Tsuneki, H.; Wada, T.; Sasaoka, T.; Sakai, H.; Hideo Nemoto, H.; Garraffo, H. M.; Spande, T. F.; Daly, J. W. *Beilstein J. Org. Chem.* **2007**, *3-30*.
- 7.- Volhardt, P.; Schore, N. E.; *Química Orgánica*, Ed.: Omega, 2008, ISBN 842821431X
- 8.- Marcos Bassetto, TFG, Facultad de Ciencias de la Salud, Sección de Farmacia, ULL, 2015
- 9.- Perrin, D.; Armaraego, W. *Purification of Laboratory Chemicals*; 4th Edition, Butterworth-Heinemann. 1996.