



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

CENTRO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS

**Diseño y síntesis de octahidroisindolonas enantiopuras como potenciales  
inhibidores de quitinasas**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

PRESENTA:

**M. en C. ALBERTO MARBÁN GONZÁLEZ**

ASESOR: DR. JOSÉ LUIS VIVEROS CEBALLOS

CUERNAVACA, MORELOS

MARZO 2021

La presente Tesis de Doctorado se realizó en el Laboratorio 203 del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas (IICBA) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, bajo la dirección del Dr. José Luis Viveros Ceballos, y con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), que otorgó la beca de número 738899 y el proyecto 256985.

## **JURADO DE EXAMEN DE GRADO**

Presidente: Dr. José Mario Ordóñez Palacios	CIQ-UAEM
Secretario: Dra. Irma Linzaga Elizalde	CIQ-UAEM
Vocal: Dr. Marcos Hernández Rodríguez	IQ-UNAM
Vocal: Dr. Joel Luis Terán Vázquez	CQ-BUAP
Vocal: Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez	Farmacia-UAEM
Suplente: Dr. Rodrigo Said Razo Hernández	CIDC-UAEM
Suplente: Dr. Armando Hernández Mendoza	CIDC-UAEM

Candidato al grado:

---

M. en C. Alberto Marbán González

Director de tesis:

---

Dr. José Luis Viveros Ceballos

**DR. JEAN MICHEL GRÉVY MACQUART**  
**COORDINADOR DEL POSGRADO EN CIENCIAS**  
**PRESENTE**

Atendiendo a la solicitud para emitir DICTAMEN sobre la revisión de la TESIS titulada: **Diseño y síntesis de octahidroisoindolonas enantiopuras como potenciales inhibidores de quitinasas**, que presenta el alumno **Alberto Marbán González (10012787)** para obtener el título de **Doctor en Ciencias**.

Nos permitimos informarle que nuestro voto es:

NOMBRE	DICTAMEN	FIRMA
Dr. José Mario Ordóñez Palacios CIQ-UAEM	APROBADO	
Dra. Irma Linzaga Elizalde CIQ-UAEM	APROBADO	
Dr. Marcos Hernández Rodríguez IQ-UNAM	APROBADO	
Dr. Joel Luis Terán Vázquez CQ-BUAP	APROBADO	
Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez Facultad de Farmacia-UAEM	APROBADO	
Dr. Rodrigo Said Razo Hernández CIDC-UAEM	APROBADO	
Dr. Armando Hernández Mendoza CIDC-UAEM	APROBADO	



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

**Sello electrónico**

**RODRIGO SAID RAZO HERNANDEZ** | Fecha:2021-12-13 14:58:26 | Firmante  
dm05faUaYmsW5sR3PesWmCVNMWz27dA/Jo6hwjZEbyxpo7AcV/O3CO8quz3FvUhrGyLsTf50tm9G88Q719lygPT7MstYV8Nezm10p6HwQuAgMEWcAhs/RzR/H+bX  
Ov/ANzyZLspTtd0Bv+6M/uszbfA/tzckLDM76DV4teE2jKxj8R/sydwQhvxj0sJD9DcKox+gUUIMTJRHWROFJpgVbqs5w09RIBK/BGJ74xv4L3Z2wfrPpwEwfvpi7+uzdGh  
qsjC95NE2Gq/UzZazyhKcDehWUPDuap/WrOghVULYrPsOmhs2FYQDnmveqo0/5sLUC98mU+1+g==

**IRMA LINZAGA ELIZALDE** | Fecha:2021-12-13 16:18:43 | Firmante  
l9KUZBMZq9QZuehQ+hfi0K0P6N6aP+83q1zjgETX1UQWpUITm8UUYLCTjUKEPbtaRRhNjYVMBaA07FH5YcR69PMQISEJPQEY8FxbjRRsZFQwPbt0hLma390G2M  
GADovMISJZ9H2b9746Yzv/8OanpFvvpAItte35Z90s9pdmovN49FUqXlyGP3YulwDhT3ADGGmabHX2MDJeRerFha33Y3mDwXN9ghNyDnOdaI8XNhtWCN07D9mGww  
uG48Kj/crFpeFd0zWwJszsbUtaGgnYs8BWDeoGxBIOOqXjqtMCG7x5zWdQqBslZzcUuJrF9VZx6N8J2QA==

**JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ** | Fecha:2021-12-13 17:57:57 | Firmante  
lW0jzKvntL021noL3zR9g28MgaugaTcos3vOToWRbPdAVzC1HBBAwE9wUgXG0u599a12w7EEeDg+V+3iO8Hh5FECqgEQeQBERBZMKQIHd7++ersZ10jY3YbuHgu37N  
Dn+MKmDomoqam5m7PDmcT03jWVT55NbyHjcrXs7LG46xI2CmW1oI2+swf5D7uh8oA+hndVIMVH09hBRCAE0BvpQXg5wJC8YrbLUvw+q3YX21YN8dAWbWmF  
euhnL86fD00nH452d4v6wS4fUJZ7C0kx8u+ZyCnImP243HXwaYdGjprZloFmWdzz4uPKw1NngB8P4TJBig==

**ARMANDO HERNANDEZ MENDOZA** | Fecha:2021-12-13 18:51:50 | Firmante  
L3KUH8Uz299NigAXUYThinNcnaWQcY26NZePuR6ckb+GNk7iyMWZwVXyOmh3X9MW+mo5BUe79dEe2dPqNj3rSeoYajGpnD+MhaN+6zZfd521T7AB9c3d4FN'sWk9  
SKe9eH7VuwN2rVMZPZKzL5q6bKE6WdA8gH/VH90Cet0SMnuMrPLonEOLJ6euma/G5RqBShkcAWDaXqkOIXAKuvD3bP4e7woFwVlg9lyFKK3mdg90jvliqzix8TIRnEK  
kvJKWcd5NUPJ7HexKIWYKN6smHlqF4EKYDF16UIH0EVYnEZ3aOBjE4yB7C6r4m18iWUC0e/Nw==

**JOEL LUIS TERÁN VÁZQUEZ** | Fecha:2021-12-14 08:34:28 | Firmante  
FRbjyDTIX9tkvAzd+RRwFWMFkdb9dx2OIMqH9ML5wFIQ2QuRw4CAKlITVYKGeM5JezA2a0GHL1ov2roQwoJILD9C+uZFn3suXVpTQ6uNks6vidJaEz0G8bNox2oZBn+/Vv  
fHgUbuBdFNnr+WPWyHZ89CI/AwqoERyhr2LVQR13ammCeLu1u7hX9q91UkdkUORTUEPCLwPpuZR8mpUnTrEBE7u7icu740as5wGs1xexpWJDLG5opHHABFXsAkkATh  
yKs+TezBndb2kAr9ZsY/rarR2TLpdLq4D001AFrrcutAb2Gc/BBK1D0a9j8H+hw50PFD0eYAsbAzb+Q==

**JOSE MARIO ORDOÑEZ PALACIOS** | Fecha:2021-12-14 14:47:23 | Firmante  
47d2zxeUpl7NsAcLnuRyZHF6Nx116Z8VJLggbuFD1hQzT0LM3+vjr+zfyhIHPGandcQdjbq+HRMX7Osrqz5xNsdY9LZqTIQv2REHCIM4nFHB+5fA16EQROITY3CYpJgRHL  
G82CA+EZU1bJGMCfMm4BU3uOeLVGKSLXII7TRjTV11+H8YoaSPM4LLV7Wihd4KISLbEh7cJhKqOnm5Gmhq3QTIUnA82xa7cYqjumaJXQW97r7v6FPXZkZkGjC  
V7yyaQyKj3351pBoVkpXNLSuUATJvbYx6QoIVUeSUOUTIIH7VMY28YfEzko1QIT4F36GhnWA==

**MARCOS HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ** | Fecha:2021-12-16 18:14:48 | Firmante  
AT+3PP/UNZcRsjTz18aGhrV/WzhJA3zL44m0XmIV8wXdiK7V9QW5ovbZZK1gRaslsacwI2600m9599T3OPMKcv2E0PHDQBAO/wRj6K34IN7P4B9Mg5EToo4Ihm  
9YwvQcSMRr1z4sLR/Vh8pNEyVvu/DN+uLOe1aE6NdXir+M/I0xhskGuYEPqXZIHJh45hI6q2IBXJfA3etuy2x7ZZsDj614g8RC9vR3KYeF8fCqrlfets0XC+C7uPym4nleOixXP  
sz2ckvt5uF5ofutaOk8klyG3oIKDyInZCyul5WRS2kqrD0le00kfsdrAvX6W376LA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



CKXJGttoD

<https://firma.uaem.mx/noReputio/reSzWze8rZ7dK8v9CQx3DQzK2kI8q>



## **Agradecimientos**

Esta es la parte más difícil de escribir, si bien los amigos y familiares no echan una mirada al cuerpo de este documento, sino que vienen a lo que más les da curiosidad, y es saber si los pusiste en agradecimientos, además de que el orden de aparición no refleja la importancia de cada uno de ellos. Por supuesto, comienzo con mis padres que son el cimiento de mi formación personal y los mecenas en su momento de mi licenciatura, que más tarde me traería las consecuencias de estudiar una serie de posgrados. Aun así, no se podría escribir la enorme deuda que tengo para con ellos, y que siempre los estaré llevando en mi corazón. Dentro de esta institución, llegué a conocer a mi querida esposa Mayra, que sin duda ha sido una gran felicidad y apoyo en mi vida, y agradezco enormemente su consejo, paciencia y amor.

A mis hermanos Arturo, Natalia y Ricardo, los cuales fueron aventados al ruedo de la vida conmigo, compartiendo nuestras vivencias y nuestro tiempo, en compañía de nuestras familias. Dentro de todo lo demás, me queda agradecer al resto de la familia con la cual he compartido momentos grandiosos durante el proceso de este posgrado.

A mi asesor de tesis, el Dr. José Luis Viveros Ceballos, por haberme dado la oportunidad de estudiar el doctorado con él. Agradezco su consejo en este proceso, su conocimiento, su apoyo, aunque soy su primer estudiante de doctorado, juntos logramos establecer un protocolo de investigación que dio vida a este proyecto. Su entusiasmo y creatividad en química orgánica fueron sin duda un estímulo para aprender e indagar en mi formación.

Al Dr. Rodrigo Said Razo Hernández por haberme dado un poco de conocimiento de las áreas de química computacional utilizadas en la química medicinal. Aunque no esté consciente, sigo recordando la sencillez para lograr un buen diseño de fármacos a partir de sus clases. Agradezco enormemente su asesoría para conseguir desarrollar buena parte de este manuscrito.

Al Dr. José Mario Ordóñez Palacios por facilitarnos reactivos y equipo, y su retroalimentación durante los exámenes tutoriales fue de gran ayuda para mi formación. También quiero agradecer al Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez por sus acertadas y muy apreciadas sugerencias para la parte del diseño de fármacos, así como su retroalimentación en los exámenes tutoriales. Agradezco a la Dra. Irma Linzaga Elizalde por sus consejos y acompañamiento durante este proyecto de investigación. Además, quiero agradecer por adelantado a los miembros de mi jurado de examen integrado por el Dr. José Mario Ordóñez Palacios, la Dra. Irma Linzaga Elizalde, el Dr. Marcos Hernández Rodríguez, el Dr. Joel Luis Terán Vázquez, el Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez, el Dr. Rodrigo Said Razo

Hernández y el Dr. Armando Hernández Mendoza, por aceptar y tomarse el tiempo de revisar este manuscrito.

A los técnicos de resonancia, el Dr. Raúl, la Dra. Blanca y la Mtra. Cristina, por realizar la adquisición de las muestras de RMN. Asimismo, agradezco a la Mtra. Victoria Labastida por la adquisición de muestras de espectrometría de masas.

A la Lic. Cristina y la secretaria Verónica por su ardua labor administrativa.

A todo el personal administrativo, de limpieza y de seguridad por hacer de las instalaciones del CIQ un lugar adecuado y funcional.

Así también agradezco la amistad, consejo y compañía de Rubén Oswaldo y Juan Carlos (alias Morsol), así como a los compañeros/amigos del CIQ: Erick, Huguito, Fanny, Gaspar, Gustavo, Israel, la desaparecida de Mar, Melchor, Omar, Juan Pablo, Edson, Kevin, Fernando y al Dr. Iván.

A Alexandra Elbakyan por la creación de su plataforma que ha facilitado el acceso a la información a más de un millar de estudiantes y científicos.

**Publicaciones, presentación en Congresos Nacionales y actividades académicas:**

**Alberto Marbán-González**, Gaspar Maravilla-Moreno, Josué Vazquez-Chavez, Marcos Hernández-Rodríguez, Rodrigo Said Razo-Hernández, Mario Ordóñez, and José Luis Viveros-Ceballos. Stereocontrolled Synthesis of Enantiopure *cis*-Fused Octahydroisoindolones via Chiral Oxazoloisoindolone Lactams. *Journal of Organic Chemistry*, **2021**, 86(23), 16361–16368. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01757>

**Alberto Marbán-González**, Armando Hernández-Mendoza, Mario Ordoñez, Rodrigo Said Razo-Hernández, José Luis Viveros-Ceballos. Discovery of Octahydroisoindolone as a Scaffold for the Selective Inhibition of Chitinase B1 from *Aspergillus fumigatus*: In Silico Drug Design Studies. *Molecules*, 2021, 26(24), 7606. <https://doi.org/10.3390/molecules26247606>

**M en C. Alberto Marbán González**. Constancia de participación como invitado en la asignatura "Taller de elucidación estructural de compuestos orgánicos", impartiendo el tema de espectrometría de masas. Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 7 de mayo del 2021.

**Alberto Marbán González**, Rodrigo Said Razo Hernández, Mario Ordoñez Palacios y José Luis Viveros Ceballos. Diseño in silico de  $\gamma$ -lactamas bicíclicas como potenciales inhibidores de la Quitinasa AfChiB1. Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM), Cuernavaca, Mor., 3 de mayo del 2021.

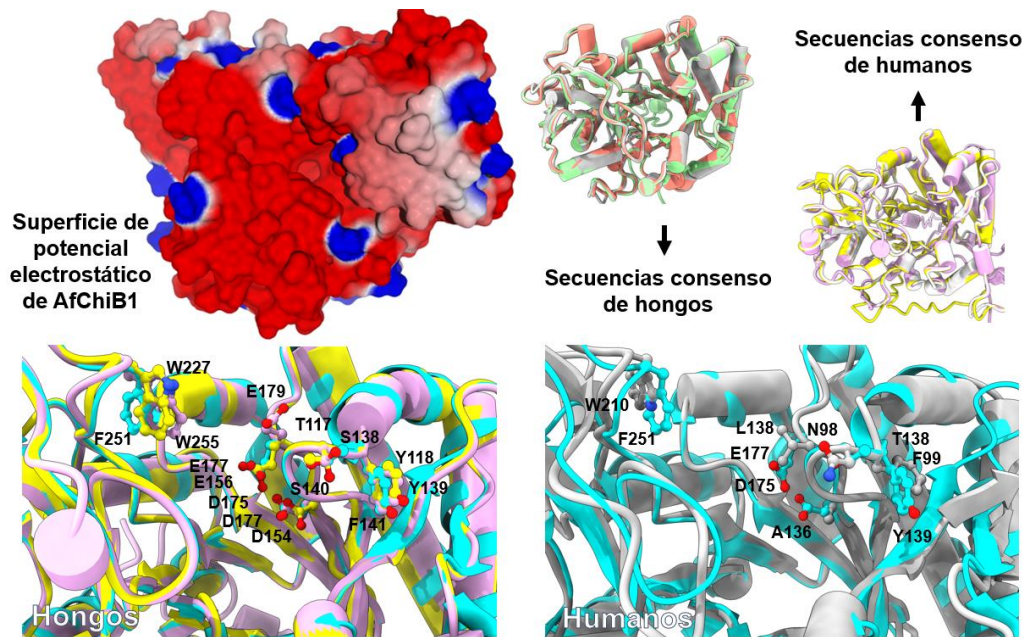
**Alberto Marbán González**. Por haber participado en la organización de la XVI Reunión de la Academia Mexicana de Química Orgánica celebrada en modalidad virtual, del 19 al 23 de abril del 2021.

**Alberto Marbán-González**, Rodrigo Said Razo-Hernández, Nina Pastor-Colón, Mario Ordoñez y José Luis Viveros-Ceballos. Diseño molecular de análogos del ion oxazolinio como potenciales inhibidores de la enzima AfChiB1. Universidad Autónoma del Estado de Morelos (CIQ-UAEM), del 11 al 12 de abril del 2019.



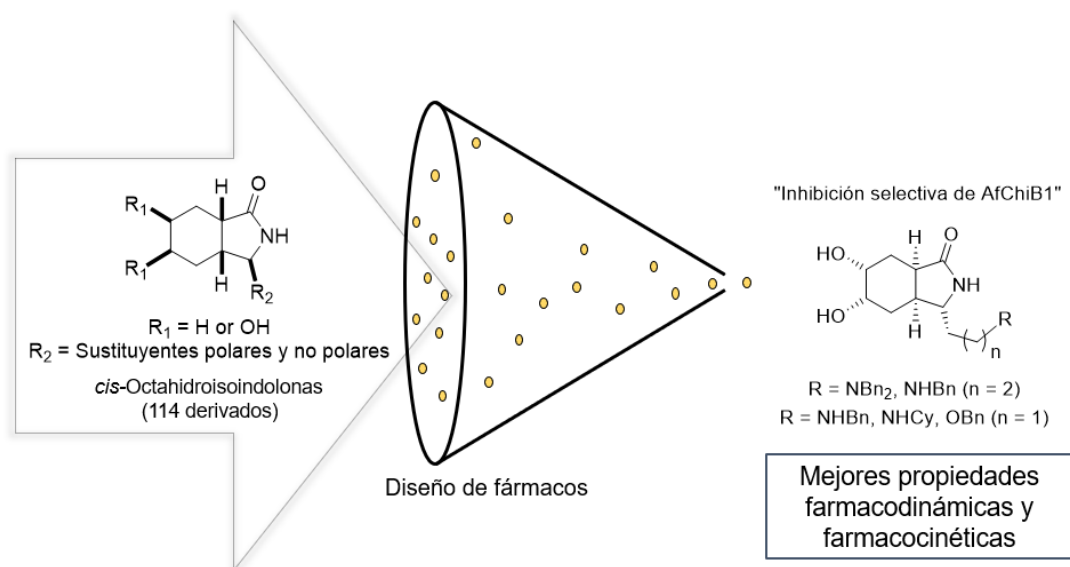
## Resumen

Las quitinasas representan una alternativa terapéutica para el tratamiento de micosis invasivas ya que participan en la remodelación de la pared celular de los hongos; por lo tanto, se planteó el diseño de nuevos inhibidores de quitinasas a partir del ion oxazolinio intermediario generado en la hidrólisis de la quitina. Para lograr lo anterior, se realizó un análisis bioinformático de la quitinasa de *Aspergillus fumigatus* B1 (AfChiB1) y la quitotriosidasa (CHIT1), de acuerdo con la longitud y conservación de las cadenas de aminoácidos, para obtener secuencias representativas de proteínas en diversas especies de hongos y de *Homo sapiens*. Posteriormente, se construyeron las estructuras tridimensionales de las secuencias consenso por modelado por homología y se determinaron sus diferencias en el sitio catalítico.

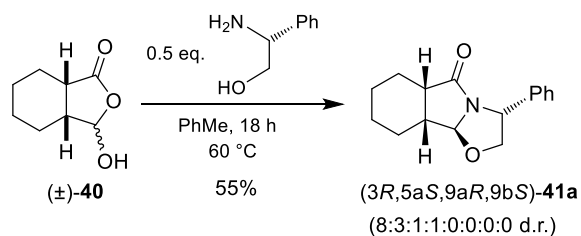


La siguiente etapa del proyecto consistió en la exploración del núcleo de la octahidroisoindolona como un andamio potencial, a través del análisis de sus características electrónicas y estructurales, tomando como referencia al ion oxazolinio. Así, se propusieron una serie de octahidroisoindolonas, utilizando cálculos de docking (acoplamiento molecular) y se evaluó su interacción con la quitinasa AfChiB1, la cual está altamente conservada en los hongos del género *Aspergillus* y *Cryptococcus*. A los mejores ligandos **1-5**, se les realizaron cálculos de acoplamiento molecular para evaluar su selectividad sobre la quitinasa CHIT1. Para la selección de los mejores candidatos, se consideraron la energía de interacción

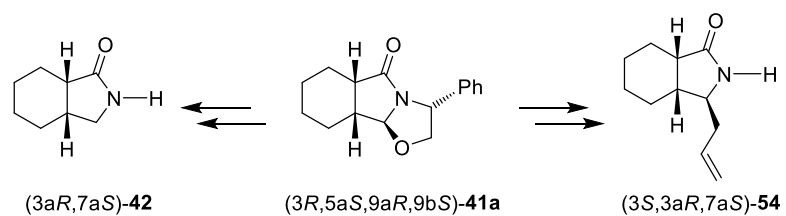
(MolDock score) y un parámetro lipofílico (aLogP); además, mediante estos descriptores se construyó un modelo matemático para predecir la potencia de los ligandos propuestos, utilizando valores experimentales reportados de  $CI_{50}$  de inhibidores de AfChiB1 (60-200  $\mu$ M). Finalmente, se determinaron las propiedades ADME de los mejores candidatos, seleccionando al ligando **5** debido a sus características farmacodinámicas y farmacocinéticas.



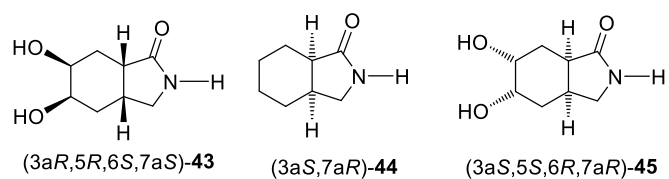
Una vez concluido el diseño, se estableció un protocolo para la síntesis de octahidroisoindolonas enantioméricamente puras. De esta manera, bajo condiciones optimizadas, la ciclocondensación cinéticamente controlada entre una mezcla tautomérica anillo-cadena de la ( $\pm$ )-hidroxilactona **40** y 0.5 equiv. de (*R*)-fenilglicinol, generó la lactama tricíclica (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**41a** con un rendimiento químico del 55%.



Para demostrar la utilidad sintética de la lactama tricíclica (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**41a**, se utilizó como intermediario quiral avanzado en la obtención de las octahidroisoindolonas (*3aR,7aS*)-**42** y (*3S,3aR,7aS*)-**54**, a través de reacciones estereocontroladas.

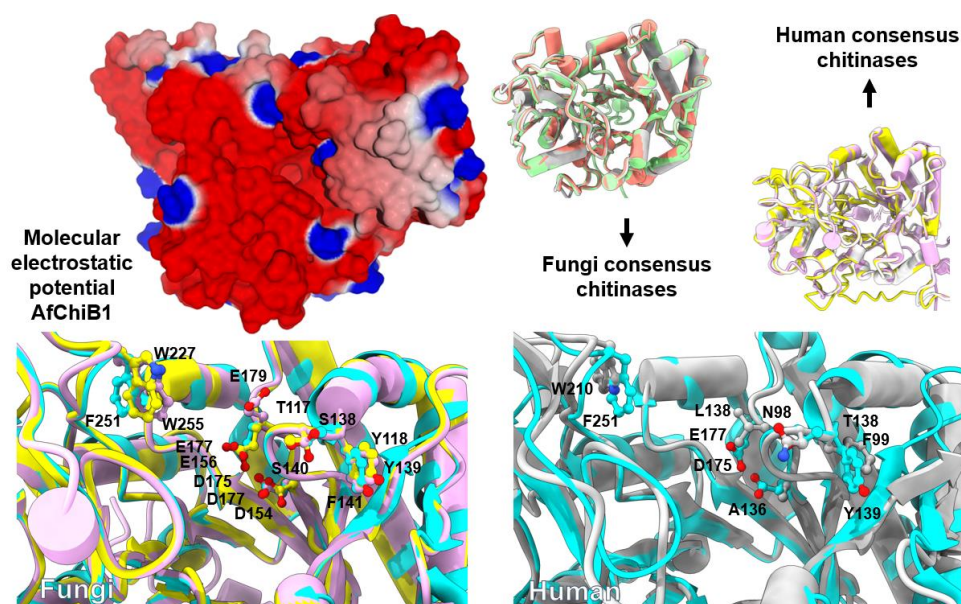


Finalmente, se extendió esta metodología para la síntesis del derivado 5,6-dihidroxiado (3aR,5R,6S,7aS)-**43**. Asimismo, se obtuvieron los enantiómeros (3aS,7aR)-**44** y (3aS,5S,6R,7aR)-**45**, haciendo uso del reactivo quiral de configuración opuesta [(S)-fenilglicinol].



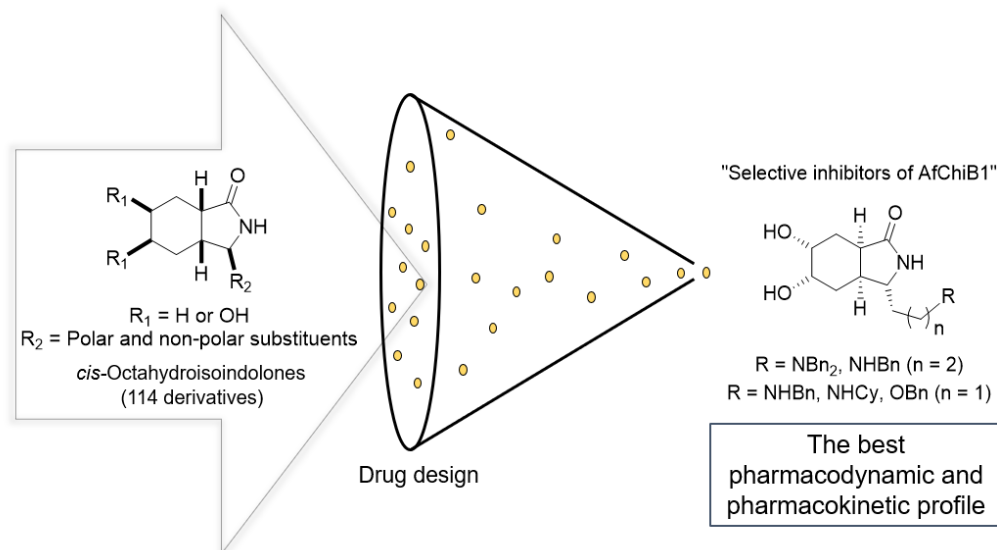
## Summary

Chitinases represent a therapeutic alternative for the treatment of invasive mycoses since they are necessary for fungal cell wall remodeling. Therefore, the design of new chitinase inhibitors was proposed from the oxazolinium ion generated as reaction intermediate during chitin hydrolysis. Then, bioinformatic analysis of *Aspergillus fumigatus* B1 chitinase (AfChiB1) and chitotriosidase (CHIT1) was performed, according to the length and conservation of the amino acid chains, to obtain representative protein sequences in various species of fungi and *Homo sapiens* proteins. Next, 3D structures of consensus sequences chains were constructed by homology modeling, and their differences in the catalytic site were determined.

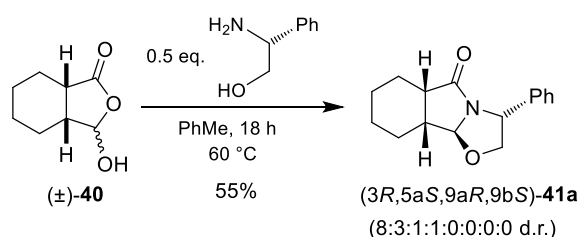


The next step explored the octahydroisindolone moiety as a potential scaffold by analyzing its electronic and structural characteristics by comparison with the oxazolinium ion. Then, octahydroisindolones derivatives were proposed and submitted to docking calculations to estimate their interaction with chitinase AfChiB1 (a highly conserved fungi chitinase of *Aspergillus* and *Cryptococcus* genera). For the best ligands **1-5**, extra docking calculations were performed to assess their selectivity over chitinase CHIT1. The best candidate's selection considered the interaction energy (MolDock score) and a lipophilic parameter (aLogP); these descriptors were employed to construct a mathematical model to predict ligand potency by using reported experimental values of  $IC_{50}$  of AfChiB1 inhibitors

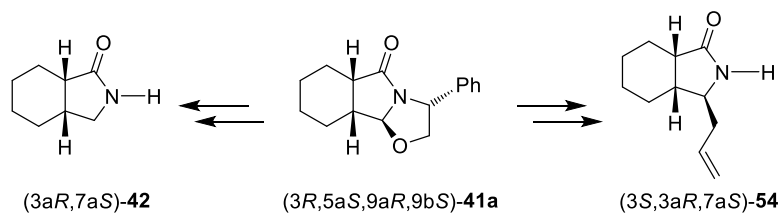
(60-200  $\mu\text{M}$ ). Finally, the ADME properties of the best candidates were determined, concluding that ligand **5** showed the best pharmacodynamic and pharmacokinetic characteristics.



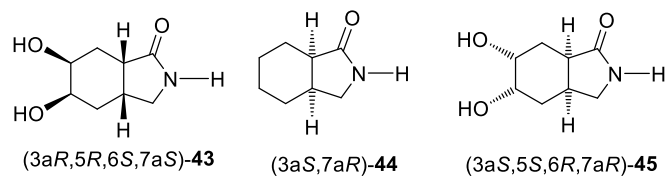
Once the design was completed, a protocol was established for the synthesis of enantiomerically pure octahydroisindolones. In this way, under optimized conditions, the kinetically controlled cyclocondensation between a ring-chain tautomeric mixture of ( $\pm$ )-hydroxylactone **40** and 0.5 equiv. of (*R*)-phenylglycinol gave the tricyclic lactam (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**41a** in 55% yield.



To further explore the synthetic value of tricyclic lactam (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**41a**, it was employed as an advanced chiral intermediate to obtain octahydroisindolones (*3aR,7aS*)-**42** and (*3S,3aR,7aS*)-**54** through stereocontrolled reactions.



Finally, this methodology was extended for the synthesis of the 5,6-dihydroxy derivative  $(3aR,5R,6S,7aS)$ -**43**. Likewise, the enantiomers  $(3aS,7aR)$ -**44** and  $(3aS,5S,6R,7aR)$ -**45** were obtained by using (*S*)-phenylglycinol reagent.



## ÍNDICE

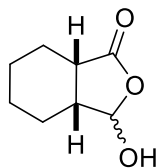
Capítulo 1. El núcleo de octahidroisoindolona como un andamio para la inhibición selectiva de la Quitinasa B1 de <i>Aspergillus fumigatus</i> : un estudio <i>in silico</i> de diseño de moléculas bioactivas.....	1
1.1. Introducción .....	1
1.2. Antecedentes .....	4
1.2.1. Diseño de inhibidores análogos a intermediarios y estados de transición.....	9
1.3. Objetivos .....	12
1.3.1. Objetivo general.....	12
1.3.2. Objetivos específicos.....	12
1.4. Detalles computacionales .....	13
1.4.1. Análisis bioinformático.....	13
1.4.2. Modelado por homología de proteínas .....	14
1.4.3. Diseño del andamio.....	15
1.4.4. Cálculos y parámetros de acoplamiento molecular o docking .....	16
1.4.5. Construcción de los ligandos.....	18
1.4.6. Cálculos de docking flexible (re-docking) y construcción del modelo matemático para estimar $Cl_{50}$ .....	19
1.5. Resultados y Discusión .....	21
1.5.1. Análisis de las estructuras 3D de las quitinasas .....	21
1.5.2. Diseño del andamio.....	22
1.5.3. Diseño basado en la estructura.....	31
1.5.4. Análisis de la selectividad por la quitinasa AfChiB1 sobre CHIT1.....	34
1.5.5. Modelo matemático para la predicción de los valores de $Cl_{50}$ en AfChiB1.....	40
1.6. Conclusiones.....	43
Capítulo 2. Síntesis estereocontrolada de octahidroisoindolonas <i>cis</i> -fusionadas a través de oxazoloisoindolonas quirales. ....	45
2.1. Introducción .....	45
2.2. Antecedentes .....	48
2.3. Objetivos .....	53
2.3.1. Objetivo general.....	53
2.3.2. Objetivos específicos.....	53
2.4. Resultados y Discusión .....	55
2.5. Conclusiones.....	69
3. Parte experimental.....	71

3.1. Información general .....	71
4. Métodos sintéticos.....	73
4.1. (±)-3-Hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3 <i>H</i> )-ona 40. ....	73
4.2. (3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-Hexahidroisobenzofuran-1(3 <i>H</i> )-ona 46. ....	74
4.3. 3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-onas 41a-d. ....	74
4.3.1. (3 <i>R</i> ,5 <i>aS</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bS</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 41a. ....	75
4.3.2. (3 <i>R</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>aS</i> ,9 <i>bR</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 41b. ....	75
4.3.3. (3 <i>R</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bS</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 41c. ....	76
4.3.4. (3 <i>R</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bR</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 41d.....	77
4.4. (3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-2-(( <i>R</i> )-2-Hidroxi-1-feniletíl)octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 48. ....	77
4.5. (3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-2-(( <i>R</i> )-2-Cloro-1-feniletíl)octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 49. ....	78
4.6. (3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-Octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 42. ....	79
4.7. (3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-3-Alil-2-(( <i>R</i> )-2-hidroxi-1-feniletíl)octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 52.....	80
4.8. (3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-3-Alil-2-(( <i>R</i> )-2-cloro-1-feniletíl)octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 53.....	81
4.9. (3 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-3-Aliloctahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 54. ....	82
4.10. (±)-3-Hidroxi-3 <i>a</i> ,4,7,7 <i>a</i> -tetrahidroisobenzofuran-1(3 <i>H</i> )-ona 56.....	83
4.11. 3-Fenil-2,3,6,9,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-onas 58a-d. ....	83
4.11.1. (3 <i>R</i> ,5 <i>aS</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bS</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 58a.....	84
4.11.2. (3 <i>R</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>aS</i> ,9 <i>bR</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 58b.....	84
4.11.3. (3 <i>R</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bS</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 58c.....	85
4.11.4. (3 <i>R</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bR</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9 <i>a</i> ,9 <i>b</i> -hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 58d.....	85
4.12. (3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-2-(( <i>R</i> )-2-Hidroxi-1-feniletíl)-2,3,3 <i>a</i> ,4,7,7 <i>a</i> -hexahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 59. ..	86
4.13. (3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-2-(( <i>R</i> )-2-Cloro-1-feniletíl)-2,3,3 <i>a</i> ,4,7,7 <i>a</i> -hexahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 60. ....	87
4.14. (3 <i>aR</i> ,7 <i>aS</i> )-2,3,3 <i>a</i> ,4,7,7 <i>a</i> -Hexahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 63. ....	88
4.15. (3 <i>aR</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>aS</i> )-5,6-Dihidroioctahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 43.....	89
4.16. 3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-onas 64a-d. ....	89
4.16.1. (3 <i>S</i> ,5 <i>aR</i> ,9 <i>aS</i> ,9 <i>bR</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 64a. ....	90
4.16.2. (3 <i>S</i> ,5 <i>aS</i> ,9 <i>aR</i> ,9 <i>bS</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 64b.....	90
4.16.3. (3 <i>S</i> ,5 <i>aS</i> ,9 <i>aS</i> ,9 <i>bR</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 64c. ....	91
4.16.4. (3 <i>S</i> ,5 <i>aS</i> ,9 <i>aS</i> ,9 <i>bS</i> )-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5 <i>aH</i> )-ona 64d. ....	91

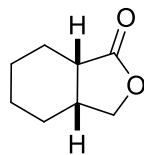


4.17. (3a <i>S</i> ,7a <i>R</i> )-2-(( <i>S</i> )-2-Hidroxi-1-feniletil)octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 65.....	92
4.18. (3a <i>S</i> ,7a <i>R</i> )-2-(( <i>S</i> )-2-Cloro-1-feniletil)octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 66.....	93
4.19. (3a <i>S</i> ,7a <i>R</i> )-Octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 44. ....	94
4.20. 3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5a <i>H</i> )-onas 67a-d. ....	95
4.20.1. (3 <i>S</i> ,5a <i>R</i> ,9a <i>S</i> ,9b <i>R</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5a <i>H</i> )-ona 67a.....	95
4.20.2. (3 <i>S</i> ,5a <i>S</i> ,9a <i>R</i> ,9b <i>S</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5a <i>H</i> )-ona 67b.....	96
4.20.3. (3 <i>S</i> ,5a <i>S</i> ,9a <i>S</i> ,9b <i>R</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5a <i>H</i> )-ona 67c.....	96
4.20.4. (3 <i>R</i> ,5a <i>R</i> ,9a <i>R</i> ,9b <i>R</i> )-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3- <i>a</i> ]isoindol-5(5a <i>H</i> )-ona 67d.....	97
4.21. (3a <i>S</i> ,7a <i>R</i> )-2-(( <i>S</i> )-2-Hidroxi-1-feniletil)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 68... ..	97
4.22. (3a <i>S</i> ,7a <i>R</i> )-2-(( <i>S</i> )-2-Cloro-1-feniletil)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 69.....	98
4.23. (3a <i>S</i> ,7a <i>R</i> )-2,3,3a,4,7,7a-Hexahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 71. ....	99
4.24. (3a <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> ,7a <i>R</i> )-5,6-Dihidroxi octahidro-1 <i>H</i> -isoindol-1-ona 45.....	100
5. Apéndice Teórico.....	101
6. Apéndice Experimental .....	136
Publicaciones.....	211

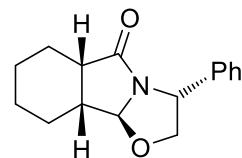
## Índice de compuestos sintetizados



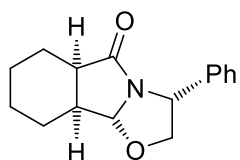
(±)-40



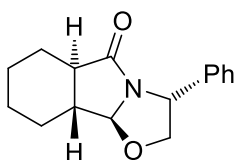
(±)-46



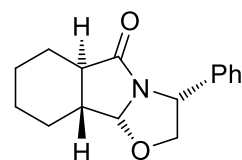
(3R,5aS,9aR,9bS)-41a



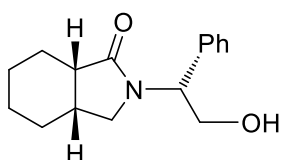
(3R,5aR,9aS,9bR)-41b



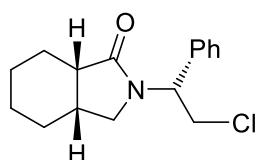
(3R,5aR,9aR,9bS)-41c



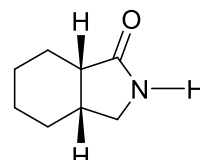
(3R,5aR,9aR,9bR)-41d



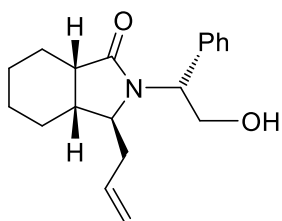
(3aR,7aS)-2-(1R)-48



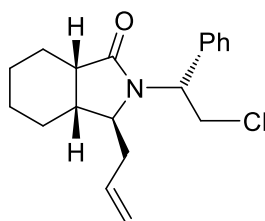
(2'R,3aR,7aS)-49



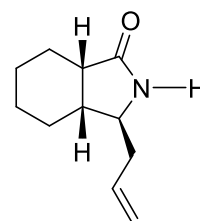
(3aR,7aS)-42



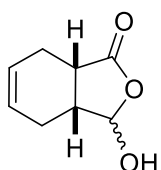
(3S,3aR,7aS)-2-(1R)-52



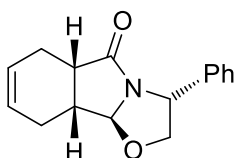
(3S,3aR,7aS)-2-(1R)-53



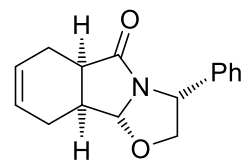
(3S,3aR,7aS)-54



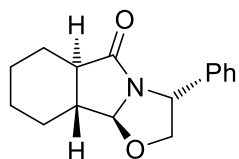
(±)-56



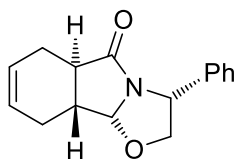
(3R,5aS,9aR,9bS)-58a



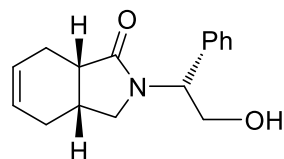
(3R,5aR,9aS,9bR)-58b



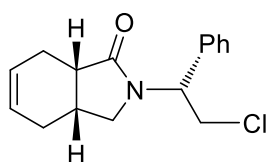
(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-**58c**



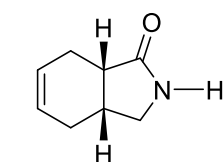
(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bR*)-**58d**



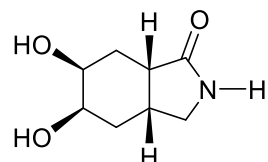
(3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-**59**



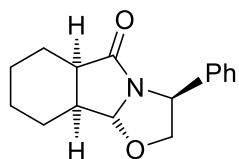
(3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-**60**



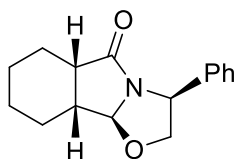
(3*aR*,7*aS*)-**63**



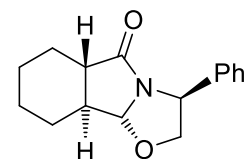
(3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-**43**



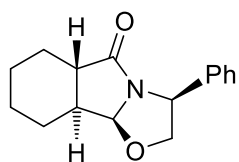
(3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-**64a**



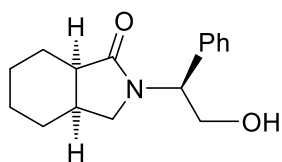
(3*S*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**64b**



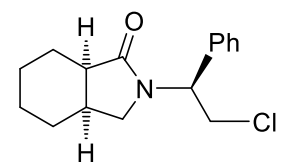
(3*S*,5*aS*,9*aS*,9*bR*)-**64c**



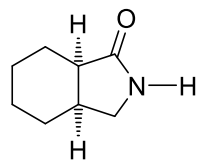
(3*S*,5*aS*,9*aS*,9*bS*)-**64d**



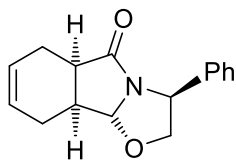
(3*aS*,7*aR*)-2-(1*S*)-**65**



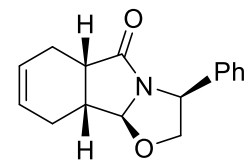
(3*aS*,7*aR*)-2-(1*S*)-**66**



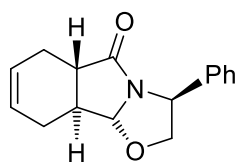
(3*aS*,7*aR*)-**44**



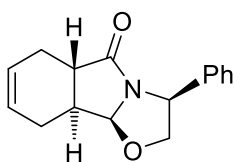
(3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-**67a**



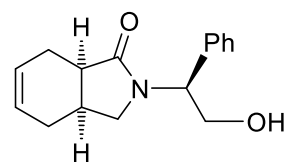
(3*S*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**67b**



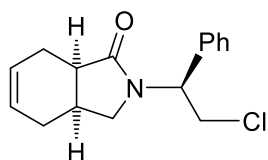
(3S,5aS,9aS,9bR)-67c



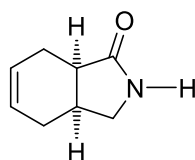
(3S,5aS,9aS,9bS)-67d



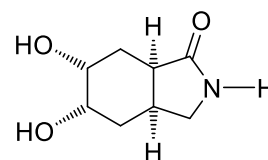
(3aS,7aR)-2-(1S)-68



(3aS,7aR)-2-(1S)-69



(3aS,7aR)-71



(3aS,5S,6R,7aR)-45

## Lista de abreviaturas

AcOH	Ácido acético
AfChiB1	Quitinasa B1 de <i>Aspergillus fumigatus</i>
Ala	Alanina
AMCase	Quitinasa ácida de mamífero
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Ácido aspártico
CHIT1	Quitotriosidasa-1
Cys	Cisteína
Boc <sub>2</sub> O	Dicarbonato de di- <i>terc</i> -butilo
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DMAP	4-Dimetilaminopiridina
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DGU	Dimetilguanilurea
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMT	Demetilalosamidina
Gln	Glutamina
Glu	Ácido glutámico
Gly	Glicina
HCHT	Quitotriosidasa de macrófago
His	Histidina
Ile	Isoleucina
IOX	Ion oxazolinio
Leu	Leucina
Lys	Lisina
MEP	Potencial electrostático molecular
Met	Metionina
MeCN	Acetonitrilo
MsCl	Cloruro de metansulfonilo

---

MVD	Molegro Virtual Docker
NMO	Óxido de la <i>N</i> -metilmorfolina
NCBI	National Center for Biotechnology Information
CHIT1	Quitotriosidasa-1
PDB	Protein Data Bank
Phe	Fenilalanina
PhMe	Tolueno
Pro	Prolina
Ser	Serina
PTX	Pentoxifilina
TFL	Teofilina
THF	Tetrahidrofurano
Thr	Treonina
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
Val	Valina

---

# Capítulo 1. El núcleo de octahidroisoindolona como un andamio para la inhibición selectiva de la Quitinasa B1 de *Aspergillus fumigatus*: un estudio *in silico* de diseño de moléculas bioactivas.

## 1.1. Introducción

Las enfermedades fúngicas invasivas son una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad en pacientes inmunocomprometidos, tales como los receptores de trasplantes, pacientes con neoplasias hematológicas, y de manera más reciente los casos más severos de COVID-19, causados por el virus SARS-Cov-2.<sup>1</sup> En este sector de la población de alto riesgo, los patógenos fúngicos oportunistas son los pertenecientes al género *Aspergillus* que son la causa más frecuente de enfermedades fúngicas invasivas.<sup>2</sup>

A pesar de que los triazoles son los fármacos de primera línea para el tratamiento de la aspergilosis invasiva, hay varios efectos secundarios reportados clínicamente como neurotoxicidad, náusea, vómito y nefrotoxicidad. Asimismo, los triazoles pueden actuar como inhibidores de la Citocromo P450 14 $\alpha$ -esterol demetilasa (CYP51), una enzima esencial en la biosíntesis de ergosterol en los hongos. Por otro lado, estos fármacos también pueden interferir con el Citocromo P450 3A4 (CYP3A4) de humano, una de las enzimas más importantes involucradas en el metabolismo de xenobióticos en el organismo, lo que incrementa la toxicidad y el riesgo de interacciones fármaco-fármaco en pacientes inmunocomprometidos.<sup>3</sup> Además, el desarrollo de farmacorresistencia por parte de los hongos patógenos es un problema clínico significativo; por ejemplo, *Aspergillus fumigatus* ha mostrado resistencia a productos agroquímicos.<sup>4</sup>

---

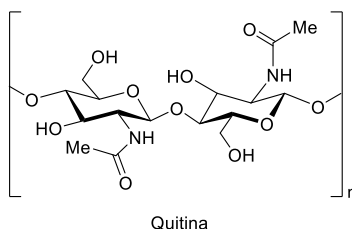
<sup>1</sup> Marr, K. A.; Platt, A.; Tornheim, J. A.; Zhang, S. X.; Datta, K.; Cardozo, C.; Garcia-vidal, C. *Emerg. Infect. Dis.* **2021**, *27*, 18–25.

<sup>2</sup> (a) Firacative, C. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **2020**, *115*, 1–9; Brown, G. D.; Denning, D. W.; Gow, N. A. R.; Levitz, S. M.; Netea, M. G.; White, T. C. *Sci. Transl. Med.* **2012**, *4*, 1–10.

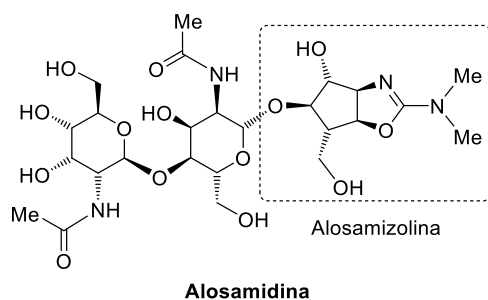
<sup>3</sup> (a) François, I. E. J. A.; Cammue, B. P. A.; Borgers, M.; Ausma, J.; Dispersyn, G. D.; Thevissen, K. *Antifungal Agents Med. Chem.* **2006**, *5*, 3–13; (b) Groll, A. H.; Townsend, R.; Desai, A.; Azie, N.; Jones, M.; Engelhardt, M.; Brüggemann, A. S. R. J. M. *Transpl. Infect. Dis.* **2017**, *19*, e12751.

<sup>4</sup> (a) Mohamed, A.; Rogers, T. R.; Talento, A. F. *J. Fungi* **2020**, *6*, 115; (b) Resendiz-sharpe, A.; Mercier, T.; Lestrade, P. P. A.; Beek, M. T. Van Der; Borne, P. A. Von; Cornelissen, J. J.; Kort, E. De; Rijnders, B. J. A. *J. Antimicrob. Chemother.* **2019**, *74*, 2759–2766.

Así, existe interés particular en el descubrimiento de nuevos agentes antifúngicos y en encontrar blancos terapéuticos novedosos.<sup>5</sup> En este contexto, las quitinasas de la familia de las glicosil hidrolasas 18 (GH 18) son un grupo de enzimas que se encargan de la hidrólisis de los enlaces  $\beta$ -1,4 de las unidades de *N*-acetil- $\beta$ -D-glucos-2-amina que constituyen la quitina, uno de los biopolímeros más abundantes en la naturaleza, interfiriendo así en la morfogénesis, remodelación y rigidez dinámica de la pared celular de los hongos.<sup>6</sup>



Por ejemplo, el pseudotrisacárido alosamidina es un inhibidor selectivo de la familia GH 18 de las quitinasas, cuyo fragmento alosamizolina, mimetiza al ion oxazolinio intermediario que se genera durante la hidrólisis de la quitina;<sup>7</sup> sin embargo, a pesar de la potencia de la alosamidina, no se encuentra disponible comercialmente y su síntesis es compleja.<sup>8</sup>



Considerando lo anterior, las quitinasas son un blanco biológico relativamente nuevo, que representan un área de oportunidad en la búsqueda de inhibidores enzimáticos con posible aplicación como insecticidas, antifúngicos, antiinflamatorios y nuevos tratamientos

<sup>5</sup> (a) Vahedi-Shahandashti, R.; Lass-Flörl, C. *J. Fungi* **2020**, *6*, 213; (b) Madan, K.; Madan, M.; Sharma, S.; Paliwal, S. *Inflamm. Allergy Drug Targets* **2020**, *14*, 46-57; (c) Mazur, M.; Zielinska, A.; Grzybowski, M. M.; Olczak, J.; Fichna, J. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 6966.

<sup>6</sup> Hartl, L.; Zach, S.; Seidl-Seiboth, V. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *93*, 533–543.

<sup>7</sup> Sakuda, S.; Inoue, H.; Nagasawa, H. *Molecules* **2013**, *18*, 6952–6968.

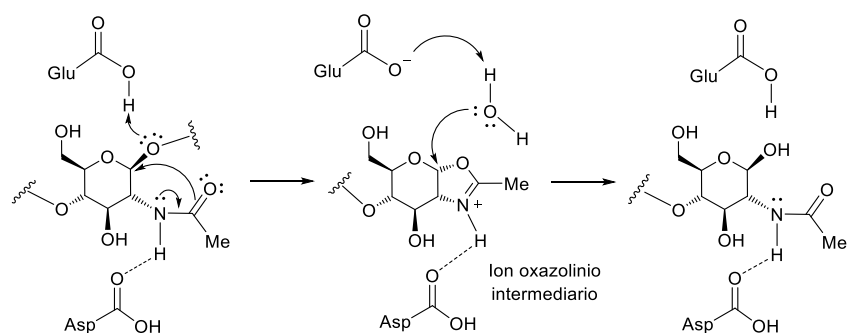
<sup>8</sup> Huang, G.; Huang, H. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* **2019**, *34*, 1226–1232.



contra el asma. Desafortunadamente, la mayoría de los compuestos activos que actúan sobre las quitinasas son productos naturales, los cuales presentan la desventaja de ser de difícil acceso, lo que limita su disponibilidad comercial. Por otra parte, los inhibidores sintéticos suponen una alternativa a los productos naturales; sin embargo, los que se han diseñado y probado hasta el momento han tenido una pobre actividad biológica, siendo escasas las moléculas “hit” reportadas. Considerando lo anterior, en este trabajo de investigación se realizó el diseño de una serie de potenciales inhibidores de la quitinasa de *Aspergillus fumigatus* B1 (AfChiB1), principal especie responsable de la aspergilosis, un problema grave en pacientes inmunocomprometidos. El punto central del diseño consiste en proponer el núcleo de la octahidroisoindolona como un nuevo análogo del ion oxazolinio intermediario que se genera durante la hidrólisis de la quitina.

## 1.2. Antecedentes

La capacidad inhibitoria de la alosamidina, se atribuye a la presencia del núcleo de la alosamizolina, el cual actúa como un análogo del ion oxazolinio que se genera durante la hidrólisis de la quitina. En el Esquema 1 se muestra el mecanismo de la hidrólisis de los enlaces  $\beta$ -1,4 de las unidades *N*-acetil-D-glucos-2-amina que integran la quitina. Inicialmente, el sustrato sufre un ataque nucleofílico intramolecular, donde el oxígeno de la acetamida ataca al carbono anomérico, rompiendo el enlace glucosídico para dar paso la formación del ion oxazolinio; entonces el intermediario sufre un ataque nucleofílico por una molécula de agua para obtener la unidad de *N*-acetil-D-glucos-2-amina con retención de la configuración.<sup>9</sup>



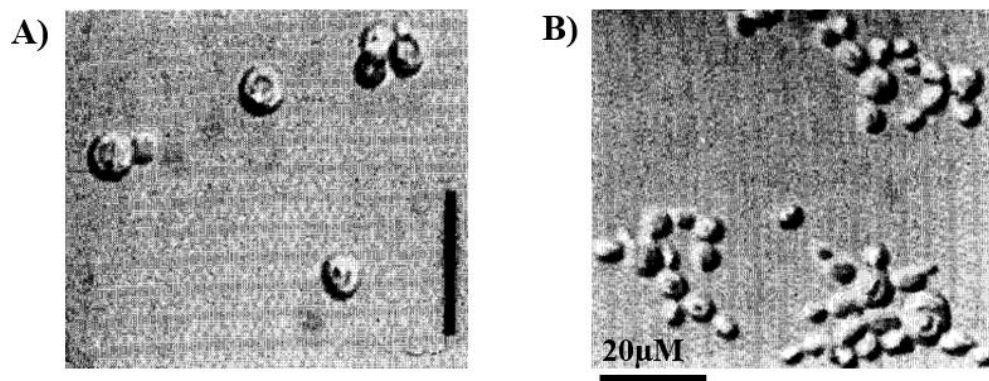
**Esquema 1.**

Así, en cuanto a su actividad biológica, en la Figura 1 se muestra la alosamidina y su efecto en la separación en el crecimiento de levaduras de *Candida albicans*, generando aglomerados de células.<sup>10</sup> Además, su derivado, la demetilalosamidina (**DMT**) también produce la formación de aglomerados anormales de células de *Saccharomyces cerevisiae*.<sup>11</sup>

<sup>9</sup> (a) Brameld, K. A.; Shrader, W. D.; Imperiali, B.; Goddard III, W. A. *J. Mol. Biol.* **1998**, *280*, 913-923; (b) Jitonnorn, J.; Limb, M. A.; Mulholland, A. J. *J. Phys. Chem. B* **2014**, *118*, 4771-4783; (c) Sakuda, S.; Inoue, H.; Nagsawa, H. *Molecules* **2013**, *18*, 6952-6968; (d) Fadel, F.; Zhao, Y.; Cachau, R.; Cousido-Siah, A.; Ruiz, F. X.; Harlos, K.; Howard, E.; Mitschler, A.; Podjarny, A. *Acta Cryst.* **2015**, *71*, 1455-1470; (e) Bortone, K.; Monzingo, A. F.; Ernst, S.; Robertus, J. D. *J. Mol. Biol.* **2002**, *320*, 293-302.

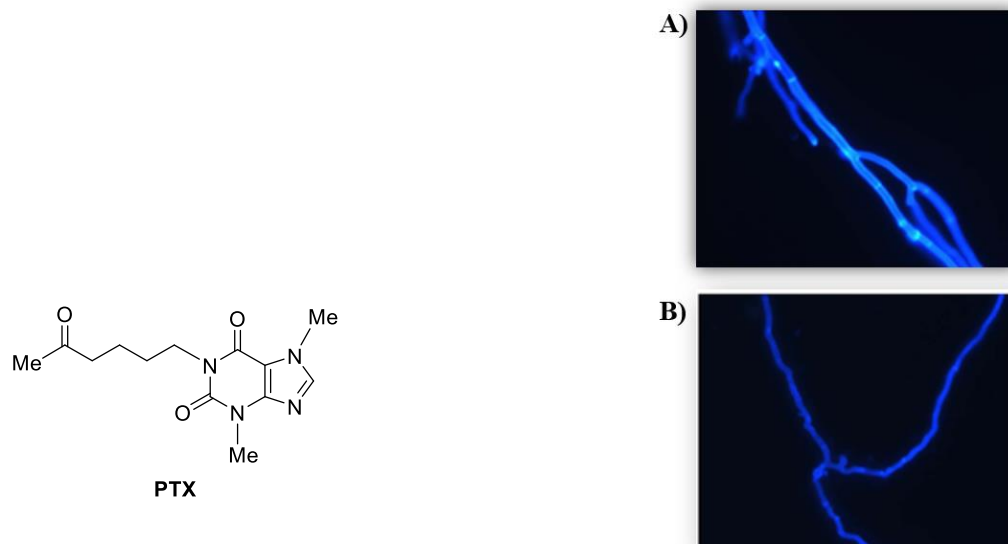
<sup>10</sup> Gooday, G. W.; Wei-Yun Zhu; O'Donnell, R. W. *FEMS Microbiol. Lett.* **1992**, *100*, 387-391.

<sup>11</sup> Sakuda, S.; Nishimoto, Y.; Ohi, M.; Watanabe, M.; Takayama, S.; Isogai, A.; Yamada, Y. *Agric. Biol. Chem.* **1990**, *54*, 1333-1335.



**Figura 1.** Efecto de aglomeración de la alosamidina sobre *C. albicans*. A) Grupo control de levaduras de *C. albicans*. B) Tratamiento con 632  $\mu\text{M}$  de alosamidina en un periodo de 12 h a 25  $^{\circ}\text{C}$  (pH = 4.5).

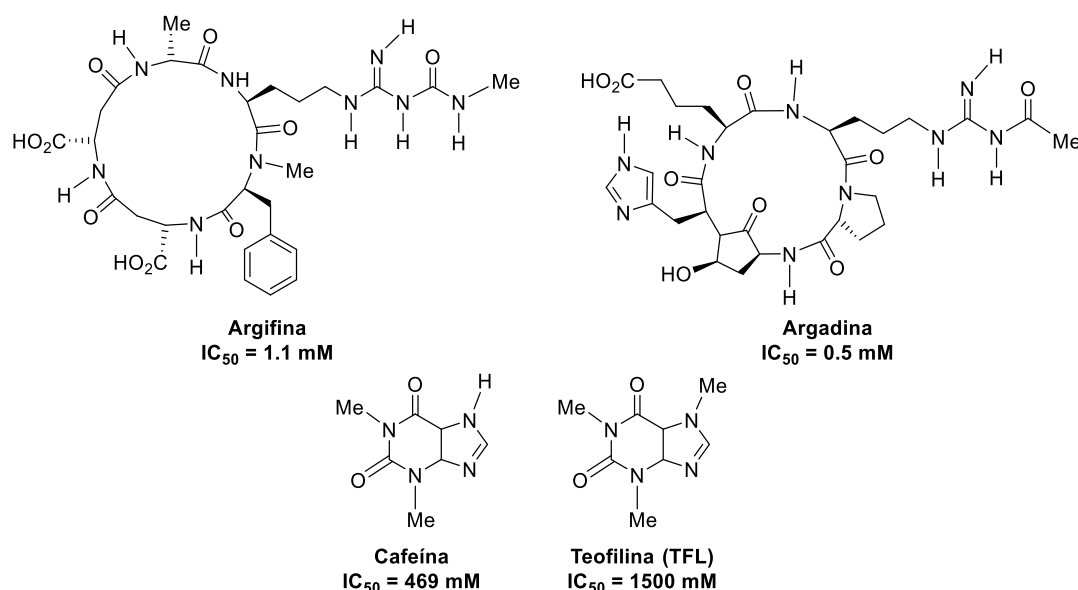
Taambién, existe evidencia de otros inhibidores que se constituyen por el núcleo de las metilxantinas como la pentoxifilina (**PTX**), la cual tiene un efecto drástico sobre su morfología de las hifas en *A. fumigatus*, lo que podría sugerir un efecto protector en la aspergilosis pulmonar invasiva (Figura 2).<sup>12</sup>



**Figura 2.** Microscopía de fluorescencia de la morfología de las hifas de *A. fumigatus* con tratamiento con 10 mM de **PTX** (magnificación x200).

<sup>12</sup> Tsirilakis, K.; Kim, C.; Vicencio, A. G.; Andrade, C.; Casadevall, A.; Goldman, D. L. *Mycopathologia* **2012**, *173*, 83–91.

Asimismo, existen otros inhibidores con la capacidad de inhibir a *A. fumigatus*<sup>13</sup> y a *C. albicans*.<sup>12,14</sup> sin embargo, al considerar su potencia farmacológica, pocos exhiben características de compuestos hit o líderes. Por ejemplo, Argifina, y Argadina son macrociclos naturales que inhiben a la quitinasa B1 de *A. fumigatus* (AfChiB1) con valores de  $CI_{50}$  de 1.1 y 0.5  $\mu$ M, respectivamente.<sup>15</sup> Además, se pueden encontrar diversas estructuras que incluyen derivados de metilxantinas como la **Cafeína** ( $CI_{50}$  = 469  $\mu$ M) y la Teofilina (**TFL**,  $CI_{50}$  = 1500  $\mu$ M) que muestran capacidad inhibitoria para AfChiB1 (Figura 3).



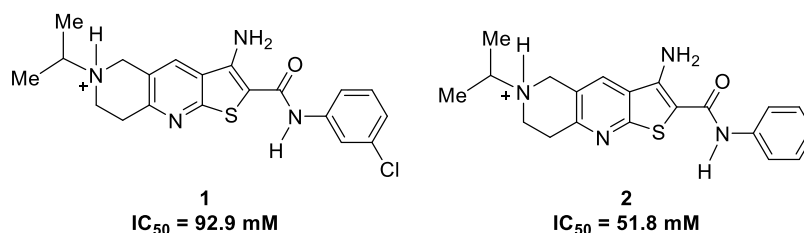
**Figura 3.** Productos naturales que inhiben la quitinasa AfChiB1

<sup>13</sup> (a) Rao, F. V.; Houston, D. R.; Boot, R. G.; Aerts, J. M. F. G.; Hodkinson, M.; Adams, D. J.; Shiomi, K.; Omura, S.; Van Aalten, D. M. F. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 65–76; (b) Schüttelkopf, A. W.; Andersen, O. A.; Rao, F. V.; Allwood, M.; Lloyd, C.; Eggleston, I. M.; Van Aalten, D. M. F. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 27278–27285; (c) Lockhart, D. E. A.; Schuettelkopf, A.; Blair, D. E.; Van Aalten, D. M. F. *FEBS Lett.* **2014**, *588*, 3282–3290; (d) Schüttelkopf, A. W.; Andersen, O. A.; Rao, F. V.; Allwood, M.; Rush, C. L.; Eggleston, I. M.; Van Aalten, D. M. F. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 428–432; (e) Rao, F. V.; Andersen, O. A.; Vora, K. A.; Demartino, J. A.; Van Aalten, D. M. F. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 973–980; (f) Rush, C. L.; Schüttelkopf, A. W.; Hurtado-Guerrero, R.; Blair, D. E.; Ibrahim, A. F. M.; Desvergnés, S.; Eggleston, I. M.; Van Aalten, D. M. F. *Chem. Biol.* **2010**, *17*, 1275–1281; (g) Schüttelkopf, A. W.; Gros, L.; Blair, D. E.; Frearson, J. A.; Van Aalten, D. M. F.; Gilbert, I. H. *Bioorganic Med. Chem.* **2010**, *18*, 8334–8340.

<sup>14</sup> (a) Dickinson, K.; Keer, V.; Hitchcock, C. A.; Adams, D. J. *J. Gen. Microbiol.* **1989**, *135*, 1417–1421; (b) Takayama, S.; Sakuda, S.; Yasuhiro, Y. *J. Antibiot. (Tokyo)*. **1991**, *44*, 716–722; (c) Batran, R. Z.; Khedr, M. A.; Abdel Latif, N. A.; Abd El Aty, A. A.; Shehata, A. N. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1180*, 260–271.

<sup>15</sup> Hirose, T.; Sunazuka, T.; Omura, S. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B* **2010**, *86*, 85–102.

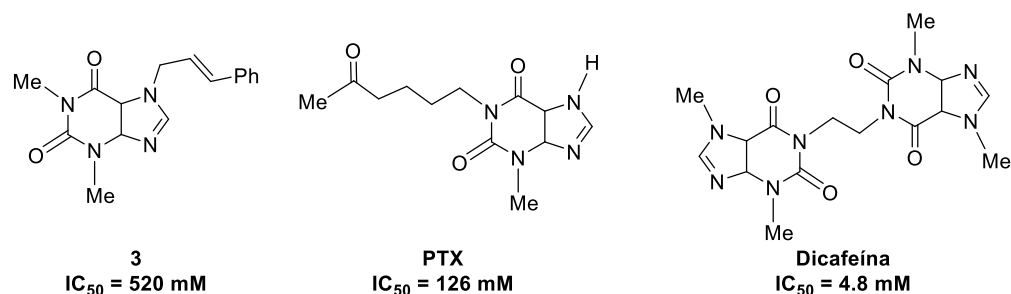
Por ejemplo, recientemente, Yang, Q. y colaboradores<sup>16</sup> desarrollaron una serie de inhibidores con forma y propiedades similares al sustrato (unidades *N*-acetil-D-glucos-2-amina). Para lograr lo anterior, realizaron un cribado virtual (*virtual screening*) con ensayos biológicos de quitinasas de distintas especies, encontrando dos tipos de estructuras andamio basadas en los núcleos de tienopiridina y furoquinolina. Algunos de estos compuestos, presentaron un rango de concentración inhibitoria media de orden micromolar para la quitinasa AfChiB1, por ejemplo, las tienopiridinas **1** y **2** (Figura 4).



**Figura 4.** Inhibidores de tienopiridinas de la quitinasa AfChiB1

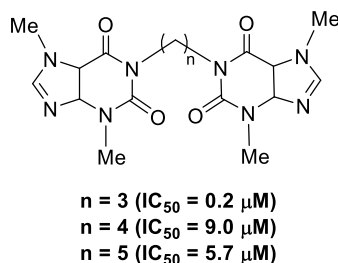
Por otra parte, a través de un cribado virtual (*virtual screening*) se logró identificar una serie de inhibidores basados en el andamio de la metilxantina, los cuales también tienen valores de inhibición ( $IC_{50}$ ) en el rango micromolar. Además, por estudios de cristalografía de rayos X, se encontró que los ligandos se estabilizan con residuos bien conservados de la quitinasa AfChiB1, a través interacciones  $\pi$ - $\pi$  con los residuos de triptófano expuestos al disolvente como Trp52, Trp137, y Trp384. Como resultado del estudio, se seleccionó a la **Dicaféina** como un candidato importante para la inhibición de quitinasas de la familia GH 18, la cual mostró propiedades farmacocinéticas deseables. Por su parte, otros compuestos como **3** y la **PTX** demostraron una reducción sustancial de la actividad inhibitoria (Figura 5).<sup>13b</sup>

<sup>16</sup> Jiang, X.; Kumar, A.; Liu, T.; Zhang, K. Y. J.; Yang, Q. *J. Chem. Inf. Model.* **2016**, *56*, 2413–2420.



**Figura 5.** Inhibidores de la quitinasa AfChiB1 que incluyen el núcleo de las metilxantinas.

En un estudio posterior, con la finalidad de optimizar la estructura de la **Dicafeína**, se realizaron homologaciones de la cadena hidrocarbonada que une los dos fragmentos de cafeína. Los derivados obtenidos mostraron valores de  $CI_{50}$  menores de  $10 \mu\text{M}$  para AfchiB1, y a la vez, mayor selectividad sobre quitinasas de humanos, como la quitotriosidasa de macrófago (HCHT, por sus siglas en inglés) y la quitinasa ácida de mamífero (AMCase, por sus siglas en inglés) (Figura 6).<sup>17</sup>

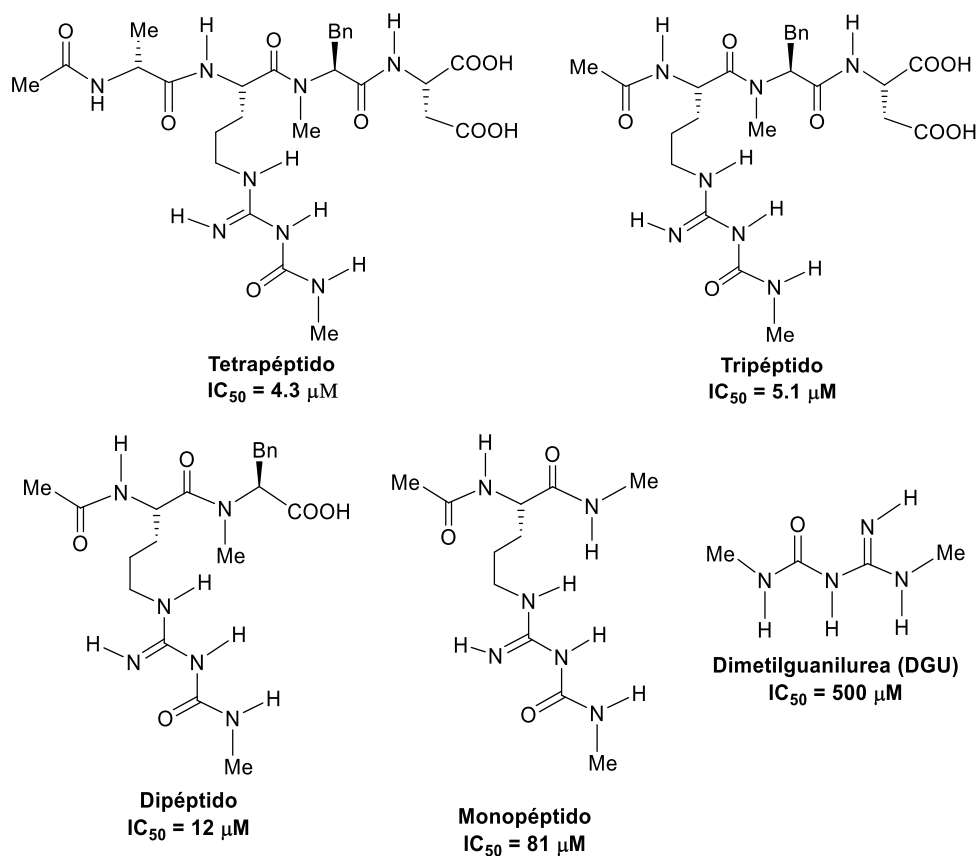


**Figura 6.** Homologaciones de la **Dicafeína** para inhibir la quitinasa AfChiB1.

Por otra parte, se exploró la Argifina que ha mostrado alta capacidad inhibitoria de la familia GH 18, por lo que se realizó un análisis de “disección” estructural, sintetizando los péptidos que constituyen a la Argifina hasta llegar a la dimetilguanilurea (**DGU**). Los estudios permitieron identificar el fragmento de **DGU** como necesario para la inhibición competitiva de la quitinasa AfChiB1 a través de la interacción con los residuos de aminoácido Asp175, Glu177, Tyr178, Asp246 y Tyr245 del sitio activo (Figura 7).<sup>18</sup>

<sup>17</sup> Schüttelkopf, A. W.; Andersen, O. A.; Rao, F. V.; Allwood, M.; Rush, C. L.; Eggleston, I. M.; Van Aalten, D. M. F. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, 2, 428–432.

<sup>18</sup> Andersen, O. A.; Nathubhai, A.; Dixon, M. J.; Eggleston, I. M.; van Aalten, D. M. F. *Chem. Biol.* **2008**, 15, 295–301.



**Figura 7.** Péptidos que constituyen a la Argifina, los cuales tienen la capacidad de inhibir a la quitinasa AfChiB1.

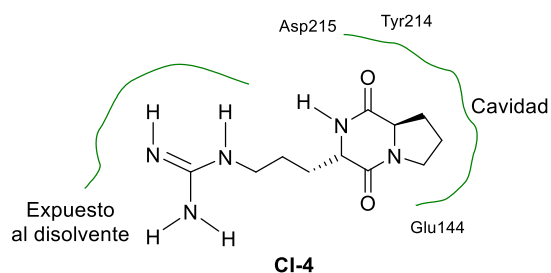
### 1.2.1. Diseño de inhibidores análogos a intermediarios y estados de transición.

Los inhibidores análogos al estado de transición e intermediarios de reacción son compuestos que se unen fuertemente a las enzimas debido a la formación de un complejo de mayor estabilidad a través de interacciones intermoleculares específicas, siendo una herramienta útil en el diseño de fármacos para hacer potentes inhibidores.<sup>19</sup>

Por ejemplo, se ha propuesto como análogo del ion oxazolinio al dipéptido cíclico **CI-4**, proveniente de los aminoácidos L-arginina y D-prolina, el cual ha generado cambios morfológicos en hongos y levaduras, de manera similar a la alosamidina. Así, en la quitinasa B de *Serratia marcescens* (SmChiB1), el anillo de prolina ocupa la cavidad hidrofóbica,

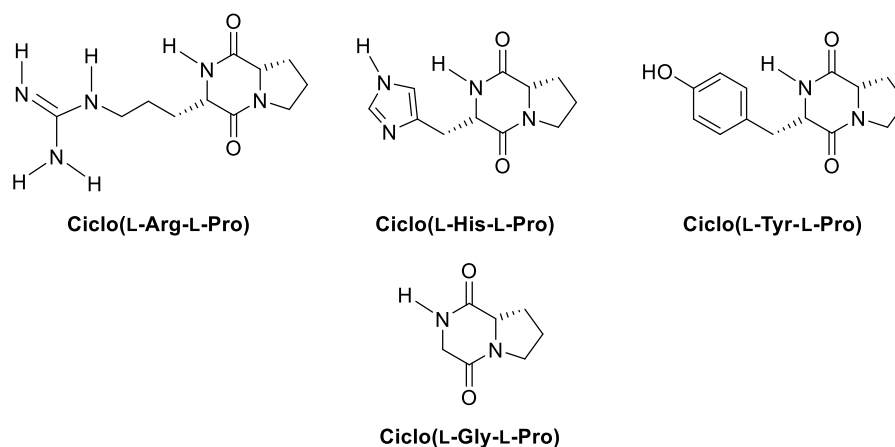
<sup>19</sup> a) Schramm, V. L. *ACS Chem. Biol.* **2013**, 8, 71-81; b) Wolfenden, R. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, 7, 647-652.

mientras que la cadena de arginina se orienta de manera similar a la cadena de *N*-acetilglucosamina de la alosamidina, manteniendo enlaces de hidrógeno con los residuos de aminoácido Glu144, Trp97, Tyr214 y Asp215, que se encuentran conservados en la familia GH 18 (Figura 8).<sup>20</sup>



**Figura 8.** El inhibidor CI-4 como un análogo del ion oxazolinio y la alosamidina.

Asimismo, se han sintetizado varios ligandos que incorporan el núcleo de la 2,5-dicetopiperazina, a partir de los aminoácidos L-arginina, L-histidina, L-tirosina y glicina, favoreciendo la formación de agregados de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 9).<sup>21</sup>



**Figura 9.** Inhibidores de quitinasas de *S. cerevisiae* como análogos del ion oxazolinio.

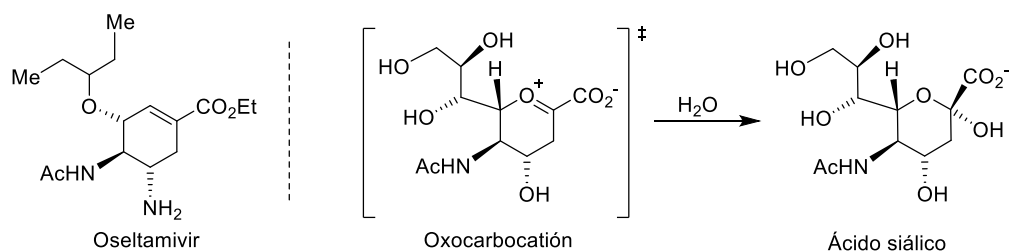
Por otra parte, la neuraminidasa es una enzima que se encarga de escindir la glicoproteína hemaglutinina del virus de la influenza, la cual desempeña un papel clave en la replicación

<sup>20</sup> Houston, D. R.; Eggleston, I.; Synstad, B.; Eijnsink, V. G. H.; Van Aalten, D. M. F. *Biochem. J.* **2002**, 368, 23-27.

<sup>21</sup> Houston, D. R.; Synstad, B.; Eijnsink, V. G. H.; Stark, M. J. R.; Eggleston, I. M.; Van Aalten, D. M. F. *J. Med. Chem.* **2004**, 47, 5713-5720.



viral. En el proceso de hidrólisis se genera un oxocarbocatión en el estado de transición, que posteriormente da lugar al ácido siálico (Figura 10). Lo anterior, junto con el análisis de las estructuras de rayos X y las interacciones en el sitio activo del ácido siálico, condujo al diseño del Oseltamivir, como un análogo del estado de transición.<sup>22</sup>



**Figura 10.** El Oseltamivir como análogo del estado de transición durante la hidrólisis de la glicoproteína hemaglutinina.

<sup>22</sup> Lew, W.; Chen, X.; Kim, C. U. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 663-672.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Realizar el diseño de potenciales inhibidores de la quitinasa de *Aspergillus fumigatus* B1 (AfChiB1) con base en la estructura del ion oxazolinio intermediario que se genera durante la hidrólisis de la quitina.

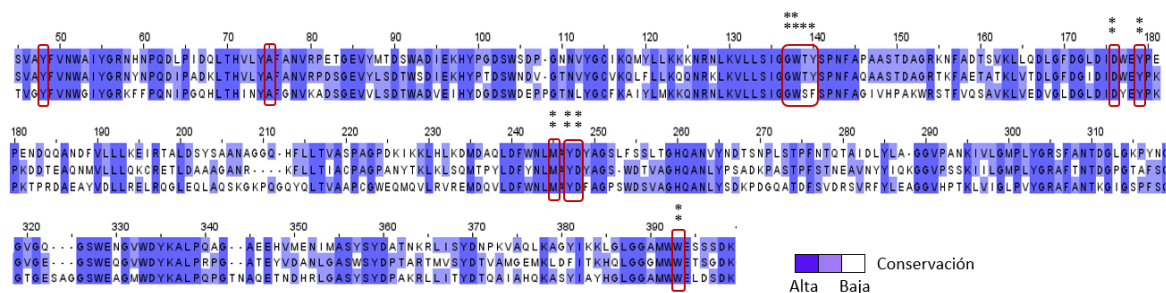
#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- Seleccionar la proteína adecuada para realizar los estudios *in silico*.
- Diseñar el nuevo andamio de los potenciales inhibidores de la enzima AfChiB1.
- Diseñar derivados tomando como referencia el andamio propuesto y seleccionar los mejores, tomando como criterios las energías de interacción enzima-ligando y el coeficiente de partición *n*-octanol/agua.
- Construir un modelo matemático para estimar la capacidad inhibitoria de los mejores candidatos frente a la enzima AfChiB1.

## 1.4. Detalles computacionales

### 1.4.1. Análisis bioinformático

Inicialmente, se seleccionó la secuencia de la proteína de AfChiB1 porque se contaba con el cocristal (PDB:3CH9).<sup>23</sup> Se realizó una búsqueda en el servidor del National Center for Biotechnology Information (NCBI) de secuencias con longitudes similares a AfChiB1, adquiriendo 4254 secuencias de hongos. A continuación, se utilizó el *software* JalView 2.11.1.3<sup>24</sup> para hacer alineamientos con las diferentes secuencias, separándolas en clústeres a partir de la generación de un árbol filogenético (ver Apéndice teórico). A partir de lo anterior, se obtuvieron dos clústeres que incluyeron secuencias del hongo del género de *Aspergillus* con 22 secuencias, y uno adicional con variantes de los hongos del género *Cryptococcus*. Así, de cada clúster se obtuvieron secuencias representativas, es decir, secuencias consenso (Figura 11), las cuales están compuestas por los aminoácidos más abundantes dentro de cada grupo. Por otro lado, a partir de las secuencias de hongos, se realizó una segunda búsqueda en el servidor del NCBI con el fin de identificar secuencias parecidas en el ser humano, lo que nos permitió generar tres secuencias consenso de *homo sapiens*.



**Figura 11.** Secuencias consenso de hongos. En rojo se marcan los residuos de aminoácidos del sitio activo que están altamente conservados en varios hongos. El grado de conservación está señalado por la intensidad del color.

<sup>23</sup> Andersen, O. A.; Nathubhai, A.; Dixon, M. J.; Eggleston, I. M.; van Aalten, D. M. F. *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 295–301.

<sup>24</sup> Waterhouse, A.M.; Procter, J.B.; Martin, D.M.A.; Clamp, M.; Barton, G.J. *Bioinformatics* **2009**, *25*, 1189–1191.

#### 1.4.2. Modelado por homología de proteínas

Se generaron las estructuras proteínicas de las secuencias consenso encontradas, para contrastar las quitinasas de humano y hongos. Para lograr lo anterior, se utilizó el servidor I-TASSER. De acuerdo con las evaluaciones que realiza *The Critical Assessment of Protein Structure Prediction* (CASP), I-TASSER predice con bastante precisión la estructura de proteínas tomando como plantilla secuencias similares para su construcción 3D.<sup>25</sup> De esta manera, en las estructuras generadas se encontraron valores aceptables, tales como Z-score normalizado (Z-score), el cual indica buenos alineamientos con la base de datos *protein data bank* (PDB, por sus siglas en inglés) y C-score (rango de valores de -5 a 2) que entre más alto sea el valor, indica que la predicción del modelo es mejor. Por otro lado, el TM-score señala qué tan adecuado es el alineamiento estructural con diferentes especies de quitinasas.<sup>26</sup>

Por otra parte, las plantillas que utilizó I-TASSER para construir las estructuras de las secuencias consenso del género *Aspergillus* (grupo I), se basaron en las especies *A. fumigatus*, *C. immitis*, *C. rosea* y *Y. entomophaga*. La cobertura de alineamiento de cada plantilla fue mayor a 0.96 y el porcentaje de identidad fue alrededor de 93% para las plantillas utilizadas, mientras que el Z-score fue mayor a 1. Así, el TM-score tuvo una similitud con diferentes quitinasas mayor a 0.9; estos valores indican que el modelo producido es aceptable y puede ser utilizado. Por otro lado, la construcción del modelo por homología del género *Aspergillus* (grupo II) y de *Cryptococcus* utilizó plantillas similares; obteniendo valores adecuados para la construcción de la proteína 3D, como la cobertura de alineamiento mayor a 0.87, porcentaje de identidad con las secuencias utilizadas como plantillas entre 51% y 63%, valores de Z-score mayores a 1.0 y de TM-score mayores a 0.77.

Por otra parte, I-TASSER generó los modelos 3D de las proteínas de *Homo sapiens* con una cobertura de alineamiento mayor a 0.91, mientras que porcentaje de identidad de las secuencias utilizadas se encontró entre el 40 y el 100% para las tres secuencias consenso, los valores de Z-score fueron mayores a 1.28 y el TM-score mayor a 0.85. De esta búsqueda se

---

<sup>25</sup> (a) Roy, A., Kucukural, A., Zhang, Y. *Nature Protocols* **2010**, 5, 725–738; (b) Yang, J., Yan, R., Roy, A., Xu, D., Poisson, J., Zhang, Y. *Nature Methods* **2015** 12, 7–8; (c) Zhang, Y. *BMC Bioinformatics* **2000** 9, 1–8.

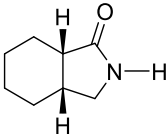
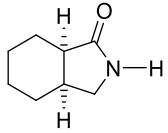
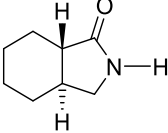
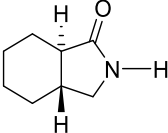
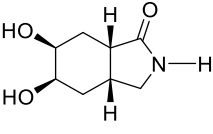
<sup>26</sup> I-TASSER. Zhang Lab. Visitado el 07 de octubre del 2021. Recuperado de <https://zhanggroup.org/I-TASSER/about.html>.

lograron identificar diferencias entre los residuos de aminoácidos en el sitio activo de las quitinasas de las especies de hongos y de humano.

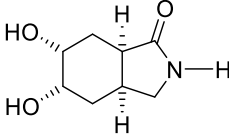
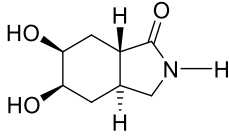
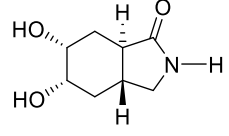
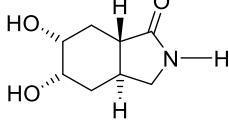
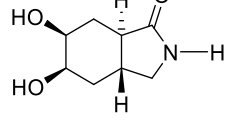
### 1.4.3. Diseño del andamio

Los andamios se diseñaron con base en el ion oxazolinio intermediario que se forma durante la hidrólisis de la quitina, considerando que el inhibidor alosamidina incorpora un anillo de oxazolona, análogo de este intermediario de reacción. Así, el diseño se basó en la geometría y en el reemplazamiento bioisotérico del ion oxazolinio. Nuestra propuesta se centró en el núcleo de la octahidroisoindolona, que consiste en un anillo de ciclohexano [c]-fusionado a una  $\gamma$ -lactama. Inicialmente, se propusieron diez estructuras (Tabla 1), a las cuales se les realizaron cálculos de búsqueda de conformeros con un nivel de teoría semiempírico PM6.<sup>27</sup>

**Tabla 1.** Propuestas de andamios y número de conformaciones por cálculo.

Andamio	Estructura	Número de conformeros
<b>A</b>		<b>4</b>
<b>ent-A</b>		<b>4</b>
<b>B</b>		<b>1</b>
<b>ent-B</b>		<b>2</b>
<b>C</b>		<b>14</b>

<sup>27</sup> Stewart, J. J. P. *J. Mol. Model.* **2007**, *13*, 1173–1213.

<b>ent-C</b>		<b>16</b>
<b>D</b>		<b>5</b>
<b>ent-D</b>		<b>6</b>
<b>E</b>		<b>9</b>
<b>ent-E</b>		<b>8</b>

Se comparó el conformero de mínima energía del intermediario de reacción (Figura 12) con cuatro conformeros de los andamios **A**, *ent-A*, **C** y *ent-C*, los cuales presentaron ángulos diedros  $\varphi_n$  y ángulos  $\theta_n$  similares (Figura 13). Además, se hicieron cálculos de punto sencillo, utilizando la teoría de funcionales de la densidad<sup>28</sup> con el funcional M06 y la base 6-31+G\*,<sup>29</sup> para correlacionar propiedades electrónicas con el intermediario de reacción.<sup>30</sup>

#### 1.4.4. Cálculos y parámetros de acoplamiento molecular o docking

Los ligandos se construyeron en SPARTAN 18 y la optimización de la geometría se llevó a cabo usando un nivel de teoría semiempírico AM1. Se evaluaron dos tipos de cargas parciales para el cálculo de docking: electrostático y Mulliken.

<sup>28</sup> Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648–5652.

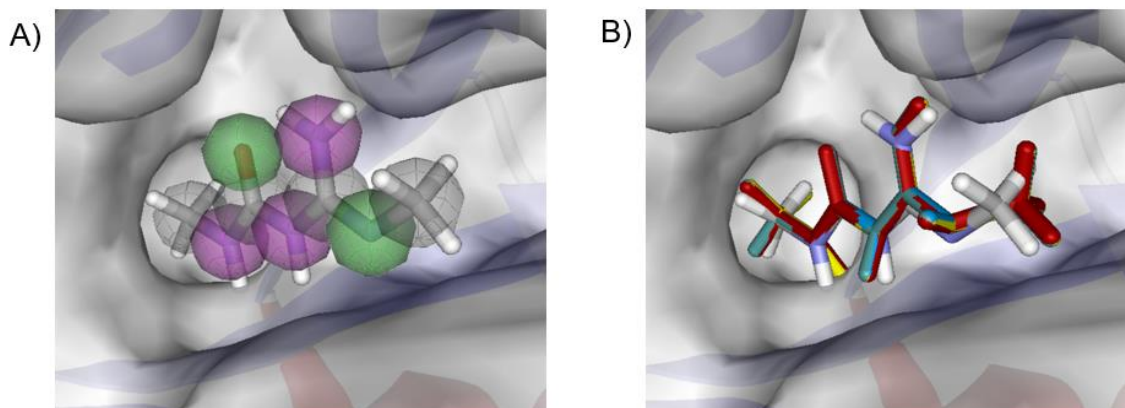
<sup>29</sup> MacKie, I. D.; Dilabio, G. A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, 12, 6092–6098.

<sup>30</sup> Wavefunction, Inc. Spartan'18. Disponible online: <https://www.wavefun.com/> (acceso el 27 noviembre del 2017).

Por otra parte, se utilizó el cristal AfChiB1 (PDB:3CH9) con una resolución de 2.20 Å. Con el *software Molegro Virtual Docker* (MVD) 6.0, se removieron las moléculas de agua y sulfatos, y se realizaron las correspondientes correcciones de la estructura. El ligando cocrystalizado de 3CH9 se estableció como plantilla para los cálculos (ver especificaciones de plantilla en la Figura 12), considerando la orientación del fragmento de la urea hacia el barril ( $\alpha/\beta$ )<sub>8</sub> donde se ubica el sitio activo de la quitinasa, el volumen de esta cavidad fue de 386.11 Å<sup>3</sup>. Se probaron diferentes funciones de *scoring* y algoritmos de búsqueda tales como números de corridas, el número máximo de iteraciones y el tamaño de la población, con el objetivo de lograr reproducir el conformero de **DGU** en el cocrystal. Finalmente, los mejores parámetros para reproducir el conformero fueron el uso de cargas parciales electrostáticas, la función de *scoring* MolDock score [GRID]<sup>31</sup> con una resolución de grid de 0.2 Å y una esfera de búsqueda de 12 Å; por otro lado, el algoritmo de búsqueda MolDock *Optimizer* se utilizó con 20 corridas, un máximo de 4,000 iteraciones y un tamaño de población de 200 individuos. Este método de docking fue validado por su capacidad de reproducir el conformero de **DGU** con valores de error raíz media cuadrática (RMSD, por sus siglas en inglés) menores a 1 Å. Por otro lado, el criterio de selección de los cálculos de docking de los ligandos tomó en consideración la orientación en la cavidad. Todos los cálculos de docking se realizaron en MVD 6.0.

---

<sup>31</sup> Thomsen, R.; H. Christensen, M. *J. Med. Chem.* **2008**, *49*, 3315–3321.



**Figura 12.** A) Plantilla para los cálculos de docking del ligando cocrystalizado. Las esferas indican aceptores de enlaces de hidrógeno (verde), donadores de enlaces de hidrógeno (azul) y átomos hidrofóbicos (gris). B) Reproducibilidad del ligando DGU en 4 corridas independientes en el sitio activo.

#### 1.4.5. Construcción de los ligandos

Las propuestas de andamios se discriminaron por inspección visual; esto considera la orientación, choques intra- e intermoleculares.<sup>32</sup> Se realizaron una serie de modificaciones sobre los cuatro andamios considerando la posibilidad de funcionalizar la posición C-3 del núcleo de la octahidroisindolona, originando 76 posibles estructuras como se describe en las Figuras 19 y 20. Se utilizaron cálculos de docking rígido, logrando identificar una configuración preferida por la enzima AfChiB1. Esto simplificó sustancialmente el diseño, utilizando sólo el andamio *ent*-C incorporando en C-3 diferentes cadenas alifáticas  $[(CH_2)_2R]$  y sus homólogos  $[(CH_2)_3R]$ , donde R es un anillo de heterocíclico o heteroaromático, obteniendo 38 derivados. Por otro lado, se utilizaron el coeficiente de partición *n*-octanol/agua (aLogP)<sup>33</sup> y la energía de interacción para seleccionar los mejores ligandos. En contraste, se evaluó la selectividad de los mejores ligandos frente a las quitinasas de hongos y humano, mediante el uso de la quitotriosidasa-1 (CHIT1, PDB: 5NR8) con un enfoque de docking rígido y con los parámetros de docking utilizados para AfChiB1. CHIT1 resulta

<sup>32</sup> Lill, M. A.; Fischer, A.; Smiesko, M.; Sellner, M. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2489–2500.

<sup>33</sup> Tetko, I. V.; Tanchuk, V. Y. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42*, 1136–1145.



relevante porque es producida principalmente por macrófagos, relacionando su función de defensa contra infecciones fúngicas.<sup>34</sup>

#### 1.4.6. Cálculos de docking flexible (re-docking) y construcción del modelo matemático para estimar CI<sub>50</sub>.

Por otra parte, para los mejores candidatos como inhibidores de AfCHiB1, se realizó un docking flexible, estableciendo como plantilla la pose adquirida del docking rígido para cada ligando. Así, se seleccionaron los residuos de aminoácidos modificando el parámetro de tolerancia a 0.9 para todos los ligandos y la fuerza de acuerdo con lo descrito en la Tabla 2. El parámetro de fuerza se ajusta a cero si la cadena lateral es muy flexible.<sup>35</sup> Asimismo, este método se aplicó al cocrystal de CHIT1, analizando las energías de interacción y cambios de la cavidad. Adicionalmente, el valor de aLogP se determinó para todos los candidatos.

**Tabla 2.** Valores de fuerza de las cadenas laterales para el cálculo del docking flexible.

Residues in AfChiB1	Fuerza	Residues in CHIT1	Fuerza
Trp52	1	Trp31	0
Arg57	0	Phe58	0
Phe76	1	Trp99	0
Trp137	1	Asp138	0.5
Asp175	0.5	Gu140	0.5
Glu177	0.5	Tyr141	1
Tyr178	1	Tyr190	1
Lys224	0	Met210	1
Met 243	1	Asp213	0.5
Arg301	0	Arg269	0
Trp384	1	Asp213	0

<sup>34</sup> (a) Labadaridis, I.; Dimitriou, E.; Theodorakis, M.; Kafalidis, G.; Velegraki, A.; Michelakakis, H. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* **2005**, *90*, 531–532; (b) Van Dyken, S. J.; Locksley, R. M. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, *142*, 364–369.

<sup>35</sup> Pérez, D. J.; Zakai, U. I.; Guo, S.; Guzei, I. A.; Gómez-Sandoval, Z.; Razo-Hernández, R. S.; West, R.; Ramos-Organillo, Á. *Aust. J. Chem.* **2016**, *69*, 662–671.

Con la misma metodología de docking establecida, se realizaron cálculos sobre los inhibidores (cafeína, dicafeína, PTX, TFL, DGU, 1, 2 y 3), obteniendo los valores de MolDock score y el aLogP calculado, que correlacionan con los valores del logaritmo de la concentración inhibitoria media  $\text{LogCI}_{50}$  para la construcción del modelo matemático. Este modelo se construyó con el *software* Excel (Microsoft Office 365). Los parámetros estadísticos que se usaron para la validación del modelo matemático fueron la desviación estándar (s), la prueba de Fischer (F) y el coeficiente de correlación (R<sup>2</sup>). Para evaluar la habilidad predictiva, se utilizó el coeficiente de validación cruzada ( $Q^2_{\text{LOO}}$ ) y el método de “Dejar-Uno-Afuera” (One-Leave-Out).<sup>36</sup>

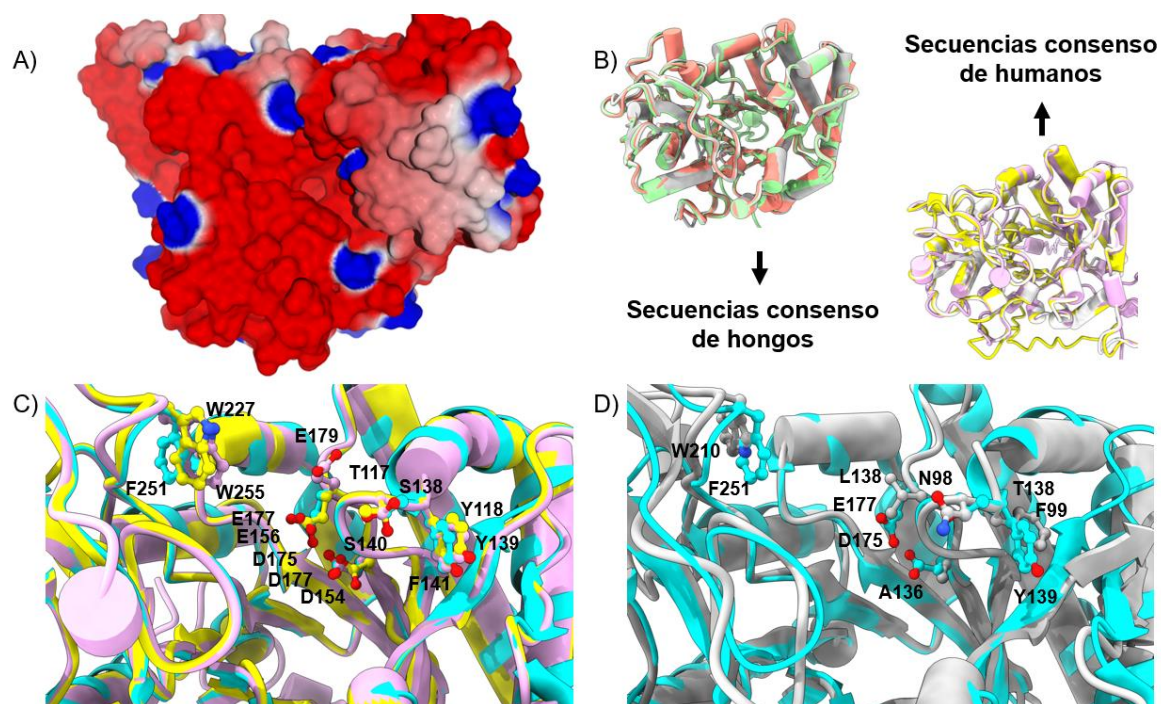
---

<sup>36</sup> Hernández-López, H.; Leyva-Ramos, S.; Azael Gómez-Durán, C. F.; Pedraza-Alvarez, A.; Rodríguez-Gutiérrez, I. R.; Leyva-Peralta, M. A.; Razo-Hernández, R. S. *ACS Omega* **2020**, *5*, 14061–14068.

## 1.5. Resultados y Discusión

### 1.5.1. Análisis de las estructuras 3D de las quitinasas

Se construyeron modelos 3D de las quitinasas para cada secuencia consenso. Se obtuvieron valores positivos de C-score, lo que indicó que la calidad del modelo es aceptable. Por otro lado, los valores de C-score para el grupo de *Cryptococcus*, el grupo I de *Aspergillus*, y el grupo II de *Aspergillus* fueron 0.16, 1.5, y 0.98, respectivamente. Se realizó un alineamiento estructural de los modelos de hongos con la estructura de AfChiB1 (RMSD menor a 1 Å) y se hizo el alineamiento estructural de las secuencias consenso de humano. Por otra parte, el sitio catalítico se encuentra muy conservado y está expuesto al disolvente. De acuerdo con su superficie de potencial electrostático molecular (MEP, por sus siglas en inglés), muestra mayormente un valor negativo, y solo una pequeña región tiene un valor positivo, donde se ubican los residuos de aminoácidos Arg57 y Arg301 (Figura 13A). Por otro lado, hay una gran similitud estructural entre los grupos de hongos y humanos (Figura 13B). Sin embargo, hay diferencias entre los grupos de *Aspergillus*, por ejemplo, los residuos del grupo de *Cryptococcus* como Thr138 que cambió por Ser140, y Tyr139 por Phe141 (Figura 13C). En la Figura 13D se muestran las diferencias cerca del sitio activo, marcando los siguientes residuos de aminoácidos mutantes en AfChiB1 y las secuencias consenso de humano: Thr138 (cambió en todas las secuencias por Asn), Tyr139 (cambió en todas las secuencias por Phe), Asp175 (solo cambió Ala136 en humano de la secuencia proveniente del grupo I de *Aspergillus*), Glu177 (cambió Leu138 del grupo I de *Aspergillus*) y Phe251 (cambiaron todas las secuencias por Trp).



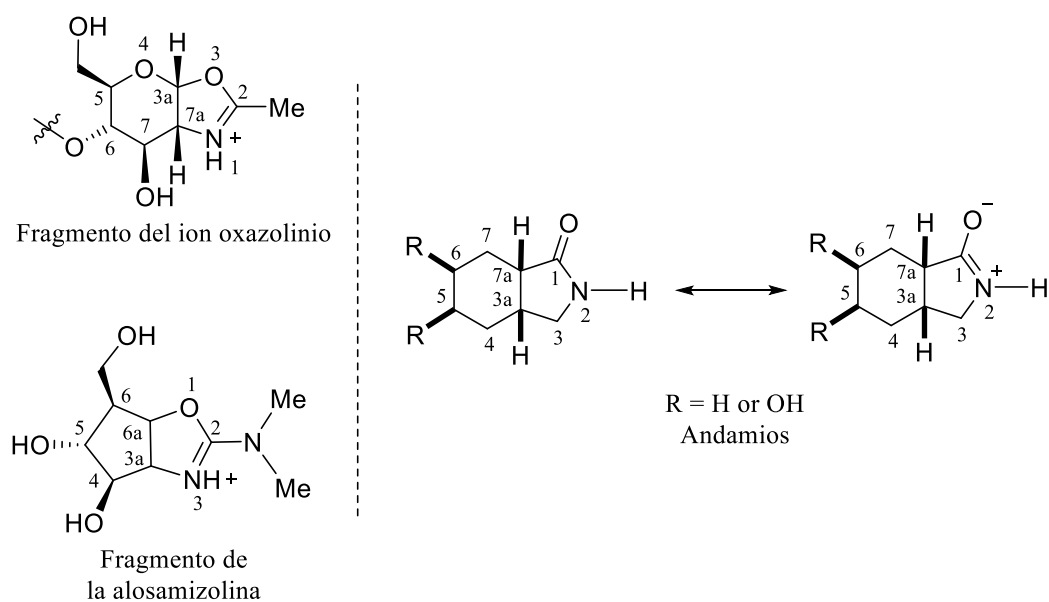
**Figura 13.** Estructura cristalográfica de AfChiB1 (PDB: 3CH9) y alineamiento estructural del modelado por homología de las secuencias consenso. A) Superficie de MEP y sitio catalítico (marcado en forma rectangular) de la quitinasa AfChiB1; los colores azul, rojo y blanco indican las regiones con valores positivos, negativos y cero de MEP, respectivamente. B) Alineamiento estructural de los modelos construidos a partir de las secuencias consenso de hongos y humanos. C) Diferencias predichas de los residuos de aminoácidos en el sitio catalítico de las quitinasas de hongos (3CH9 está indicado en color cian). D) Alineamiento estructural de los modelos de las secuencias consenso de humano contra la estructura AfChiB1 en color cian. Los residuos mutantes están representados como varillas.

### 1.5.2. Diseño del andamio

Se analizó el intermediario de reacción propuesto para el mecanismo de hidrólisis de las quitinasas de la familia GH 18, el ion oxazolinio. El esqueleto de carbonos del intermediario se mantuvo con un anillo de seis miembros y una lactama de cinco miembros.

Se propuso el reemplazo bioisostérico de la oxazolona por una  $\gamma$ -lactama, la cual se consideró como un análogo del ion oxazolinio, tomando en cuenta la deslocalización en el

grupo amida. Por otro lado, se decidió incluir hidroxilos vecinales en los carbonos C-5 y C-6 para emular la estructura de un glúcido (Figura 14).

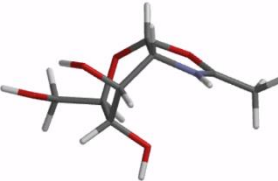
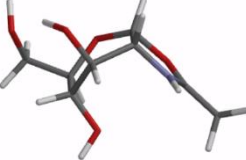
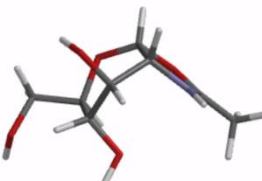
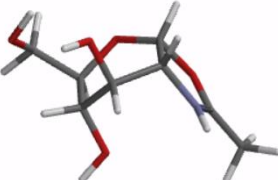

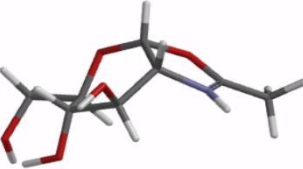
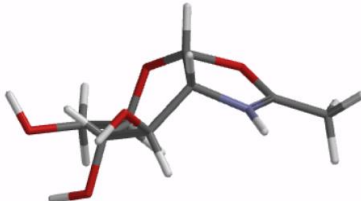


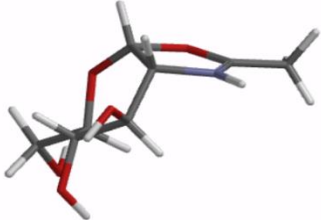
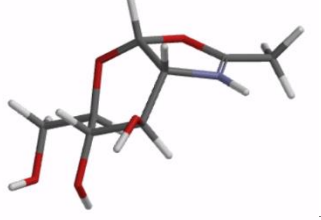
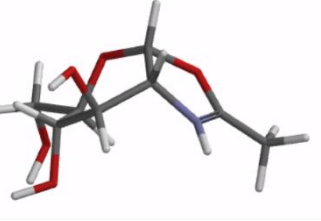
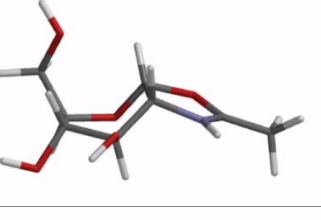

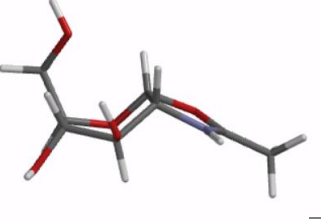

**Figura 14.** Comparación del ion oxazolinio, el fragmento alosamizolina y la estructura general de los andamios propuestos.

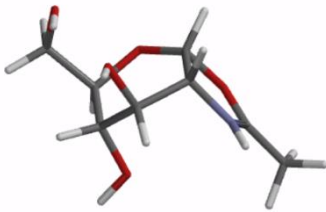
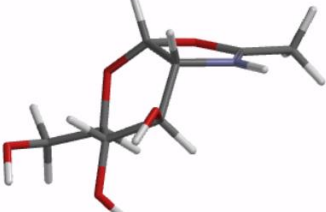
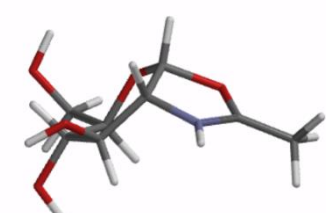
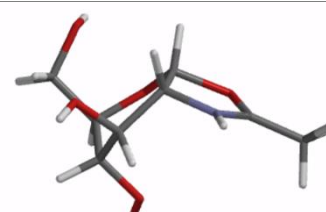
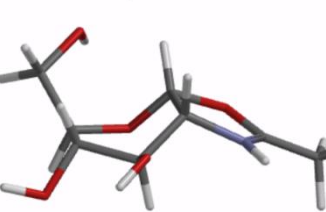
Después, se llevó a cabo un análisis conformacional del ion oxazolinio, usando un nivel de teoría PM6, generando 19 conformeros. De estas geometrías, se analizaron sus ángulos, y considerando un diseño basado en el ligando, se seleccionó la conformación de mínima energía (ver conformación **B-IOX** de la Tabla 3), la cual presentó una geometría parecida a un “*bowl*”. Además, se examinaron las propiedades electrónicas como los orbitales moleculares de frontera y la superficie de potencial electrostático, utilizando la teoría de funcionales de la densidad.<sup>37</sup>

<sup>37</sup> (a) Raftani, M.; Abram, T.; Azaid, A.; Kacimi, R.; Bennani, M. N.; Bouachrine, M. *Mater. Today Proc.* **2021**, *45*, 7334–7343; (b) Bourass, M.; Touimi Benjelloun, A.; Hamidi, M.; Benzakour, M.; Mcharfi, M.; Sfaira, M.; Serein-Spirau, F.; Lère-Porte, J. P.; Sotiropoulos, J. M.; Bouzzine, S. M.; Bouachrine, M. *J. Saudi Chem. Soc.* **2016**, *20*, S415–S425; (c) Kerru, N.; Gummidi, L.; Bhaskaruni, S. V. H. S.; Maddila, S. N.; Singh, P.; Jonnalagadda, S. B. A. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 1–17; (d) Marquina, S.; Maldonado-Santiago, M.; Sánchez-Carranza, J. N.; Antúnez-Mojica, M.; González-Maya, L.; Razo-Hernández, R. S.; Alvarez, L. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 43–54; (e) Zhao, Y.; Truhlar, D. G. *Chem. Phys. Lett.* **2011**, *502*, 1–13.

**Tabla 3.** Resultados del análisis conformacional del ion oxazolinio.

Confórmeros del ion oxazolinio (IOX)	Confórmero	Energía (kJ/mol)
A-IOX		7.59
B-IOX		0
C-IOX		24.22
D-IOX		22.45
E-IOX		14.99
F-IOX		31.02
G-IOX		33

<b>H-IOX</b>		51.75
<b>I-IOX</b>		50.21
<b>J-IOX</b>		61.48
<b>K-IOX</b>		15.32
<b>L-IOX</b>		41.9
<b>M-IOX</b>		27.46
<b>N-IOX</b>		28.56

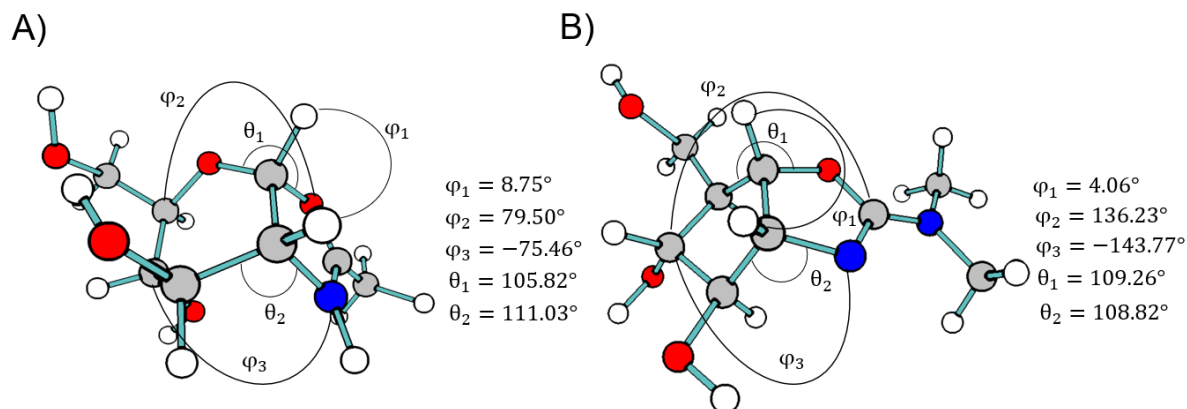
<b>O-IOX</b>		36.9
<b>P-IOX</b>		50.64
<b>Q-IOX</b>		43.28
<b>R-IOX</b>		64.35
<b>S-IOX</b>		61.28

Por otro lado, el fragmento alosamizolina se utilizó como ligando de referencia experimental, dado que comparte características estructurales con el ion oxazolinio (Figura 15<sup>a</sup>), siendo considerado un análogo (Figura 15B).<sup>38</sup> Por otra parte, se encontró que el conformero de mínima energía **B-IOX** tiene un ángulo diedro de la fusión *cis* de  $\varphi_1 = 8.75^\circ$

<sup>38</sup> Rao, F. V.; Andersen, O. A.; Vora, K. A.; Demartino, J. A.; Aalten, D. M. F. Van. Brief. **2005**, *12*, 973–980.

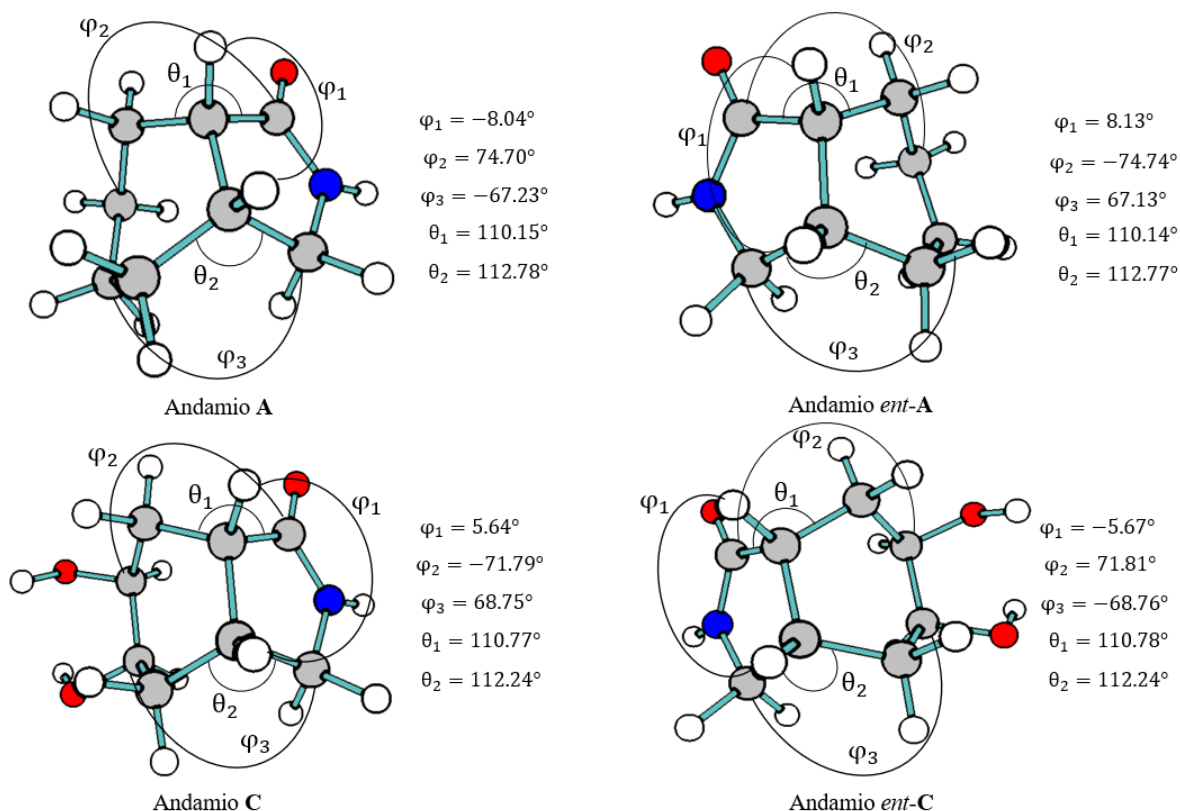


(H-3a-7a-H) y dos ángulos  $\theta_1 = 105.82^\circ$  (O4-C3a-O3) y  $\theta_2 = 110.03^\circ$  (C7-C7a-N1) que son similares al ligando del cocrystal con la alosamizolina.



**Figura 15.** Valores de los ángulos diedros: A)  $\varphi_1(H-3a-7a-H)$ ,  $\varphi_2(C5-O4-C3a-O3)$  y  $\varphi_3(C6-C7-C7a-N1)$  para el conformero **B-IOX** de mínima energía y B)  $\varphi_1(H-6a-3a-H)$ ,  $\varphi_2(C5-C6-C6a-O1)$  y  $\varphi_3(C5-C5-C3a-N3)$  del fragmento de la alosamizolina (PDB:2A3E) y sus ángulos  $\theta$  de la fusión *cis*.

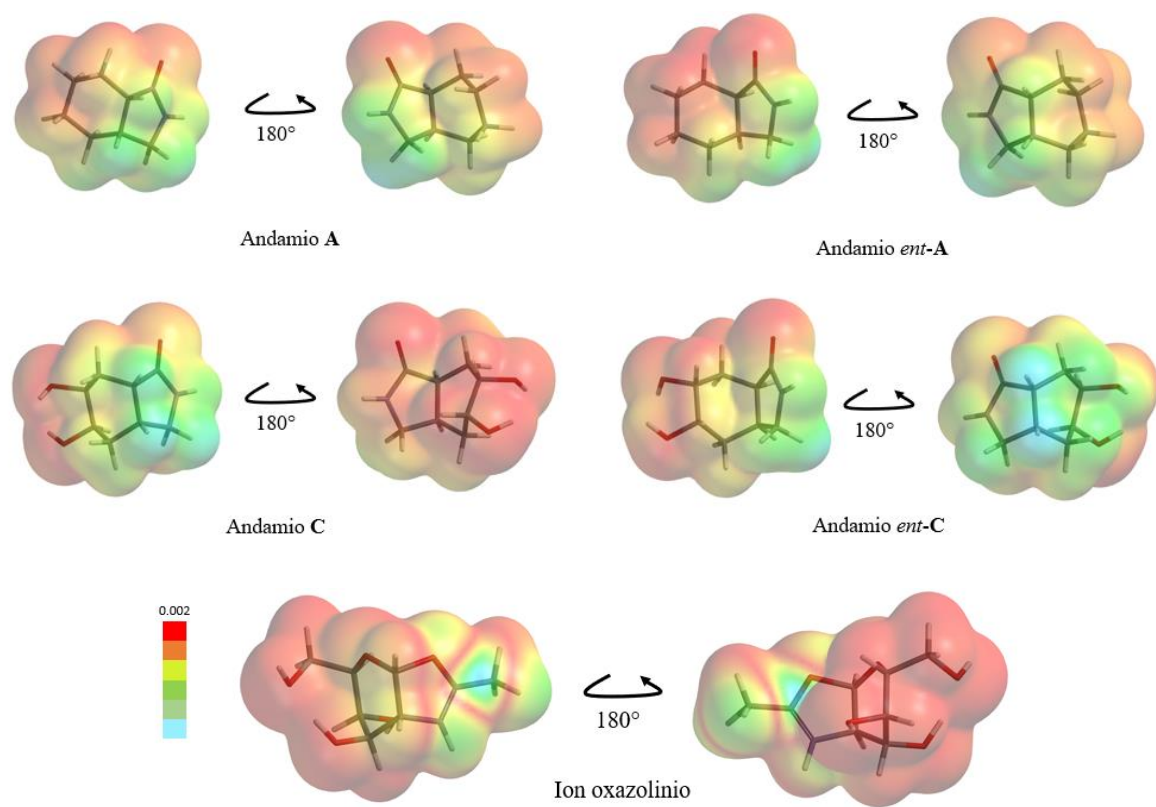
Por lo tanto, a partir del análisis conformacional comparativo entre el ion oxazolinio, el fragmento de la alosamizolina y los andamios de fusión *cis* y sus enantiomeros, tuvieron ángulos similares; además, los ángulos  $\varphi_1$ ,  $\theta_1$  y  $\theta_2$  de los andamios, orientan la lactama tal como lo hace el anillo del oxazol del ion oxazolinio (Figura 16).



**Figura 16.** Valores de los ángulos diedros:  $\varphi_1(H - 3a - 7a - H)$ ,  $\varphi_2(C6 - C7 - C7a - C1)$  y  $\varphi_3(C5 - C4 - C3a - C3)$  y ángulos  $\theta$  de la fusión para cada andamio similar al confórmero del ion oxazolinio y al fragmento de la alosamizolina.

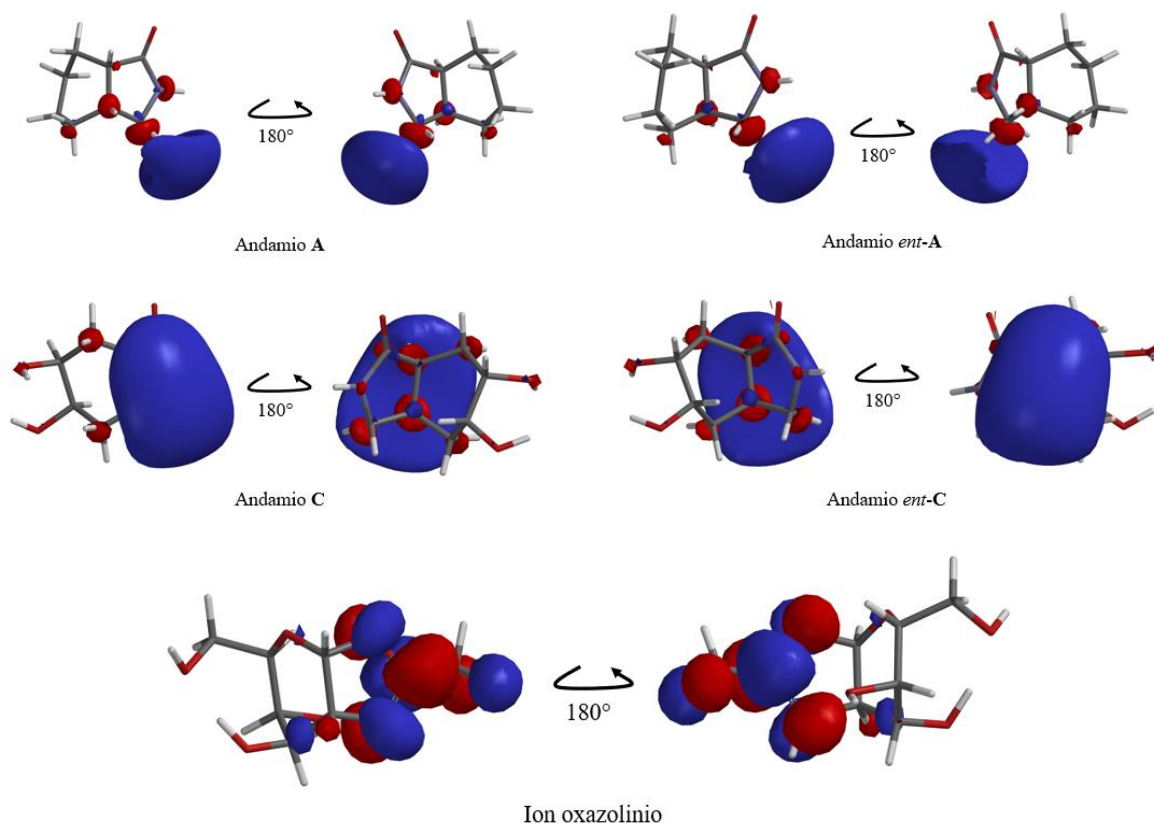
Por otro lado, con respecto a las propiedades electrónicas, se encontró que el ion oxazolinio ubica en la región del anillo de oxazol a los orbitales moleculares desocupados de más baja energía (LUMO, por sus siglas en inglés) como se encuentra en los andamios (sitio aceptor de electrones). Esto concuerda con lo descrito en el mecanismo de hidrólisis, que describe un ataque intramolecular del oxígeno de la acetamida al carbono anomérico (Esquema 1).

En la Figura 17, se muestran los mapas de densidad de LUMO, donde el anillo de la lactama mimetiza electrónicamente la región electrofílica del anillo de cinco miembros del ion oxazolinio.



**Figura 17.** Mapas de densidad de LUMO de las propuestas de andamios en comparación con el ion oxazolinio. El color rojo indica menor densidad y el azul mayor densidad de LUMO.

Adicionalmente, se muestran los orbitales LUMO en la Figura 18, ubicándolos en los anillos de cinco miembros.



**Figura 18.** Orbitales de LUMO para cada andamio y del ion oxazolinio.

Para ampliar el estudio, se analizaron las cargas parciales de Mulliken de los tres tipos de átomos de la oxazolina: el carbono con hibridación  $sp^2$  tuvo valores positivos, mientras que el nitrógeno y el oxígeno fueron negativos para los andamios y el ion oxazolinio (Tabla 4).

**Tabla 4.** Cargas parciales de los andamios A, *ent*-A, C, *ent*-C y el ion oxazolinio

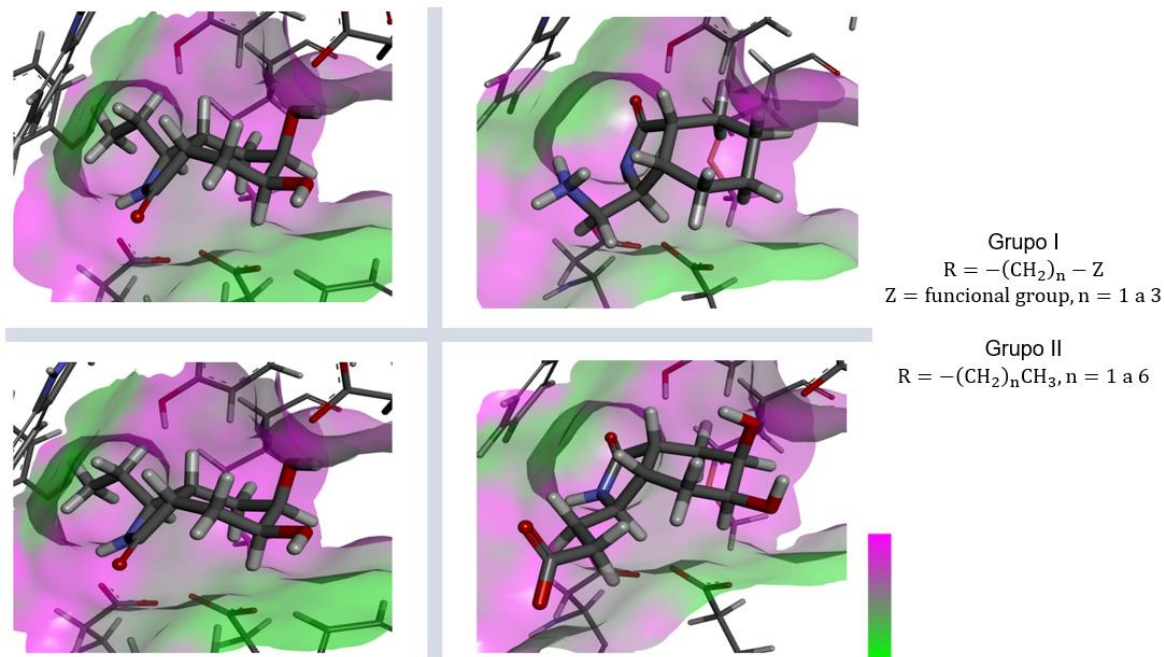
Átomo	A	<i>ent</i> -A	C	<i>ent</i> -C	Ion oxazolinio
C( $sp^2$ )	0.277	0.277	0.23	0.23	0.599
O	-0.510	-0.510	-0.494	-0.494	-0.245
N	-0.483	-0.483	-0.477	-0.477	-0.460

En resumen, del diseño basado en el ligando, los conformeros de los andamios tuvieron una geometría similar al ion oxazolinio. Asimismo, algunas propiedades

electrónicas de las estructuras propuestas se correlacionaron, sugiriendo que los átomos del anillo de cinco miembros podrían presentar interacciones similares. Por lo tanto, en la siguiente sección se realizaron las modificaciones de estos andamios a través de un diseño basado en la estructura por medio de cálculos de docking.

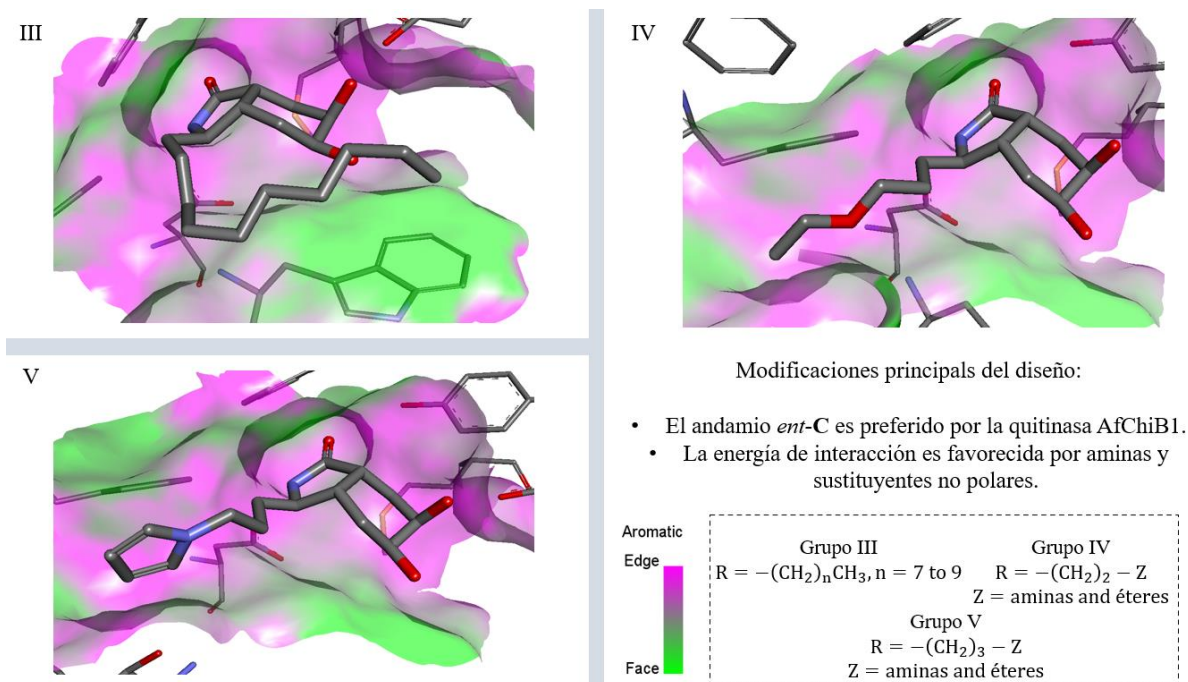
### 1.5.3. Diseño basado en la estructura

Inicialmente, se realizó un estudio con docking rígido; en las Figuras 19 y 20, se muestra el método que se utilizó, considerando la sustitución en la posición C-3, debido a que se propuso la obtención de estos compuestos vía adición nucleofílica a iones *N*-aciliminio. En la primera etapa se exploró el efecto de la incorporación de cadenas alquílicas de uno, dos o tres carbonos, sosteniendo en la porción terminal una amina, tiol, alcohol o ácido carboxílico (grupo I, Figura 19). Por otra parte, se exploraron homólogos de cadenas hidrocarbonadas de uno a seis carbonos para buscar posibles choques estéricos o la estabilización de la cadena por interacciones con los residuos aromáticos en el sitio activo, como Trp137, Tyr48 y Trp384 (grupo II, Figura 19). Los derivados se seleccionaron de acuerdo con las energías de interacción e inspección visual de los modos de unión, así como la orientación del bioisómero hacia el barril ( $\alpha/\beta$ )<sub>8</sub>. Por lo tanto, del grupo I de la Figura 19, se observó una ligera preferencia por los derivados del andamio *ent*-C, estabilizados por la interacción con Gly136, Trp137, Asp175, Glu177, Asp246, Tyr245, Met243 y Trp384. Además, las poses más estables de los derivados fueron aquellas que presentaban cadenas con aminas primarias, seguidas por los tioles y alcoholes. Esto último, sugiere que la protonación de las aminas a pH fisiológico brinda estabilidad al complejo enzima-ligando. Por otra parte, los sustituyentes con carboxilatos (ionizados a pH fisiológico) tuvieron mayor estabilidad por la interacción hidrofóbica entre el anillo de la lactama y Trp384. En comparación, el andamio *ent*-C con sustituyentes hidrofóbicos del grupo II mostró una preferencia por la enzima AfChiB1 y mayor estabilización por los residuos de aminoácido Trp137 y Trp384, así como la formación de enlaces de hidrógeno con Glu177 y Tyr245.



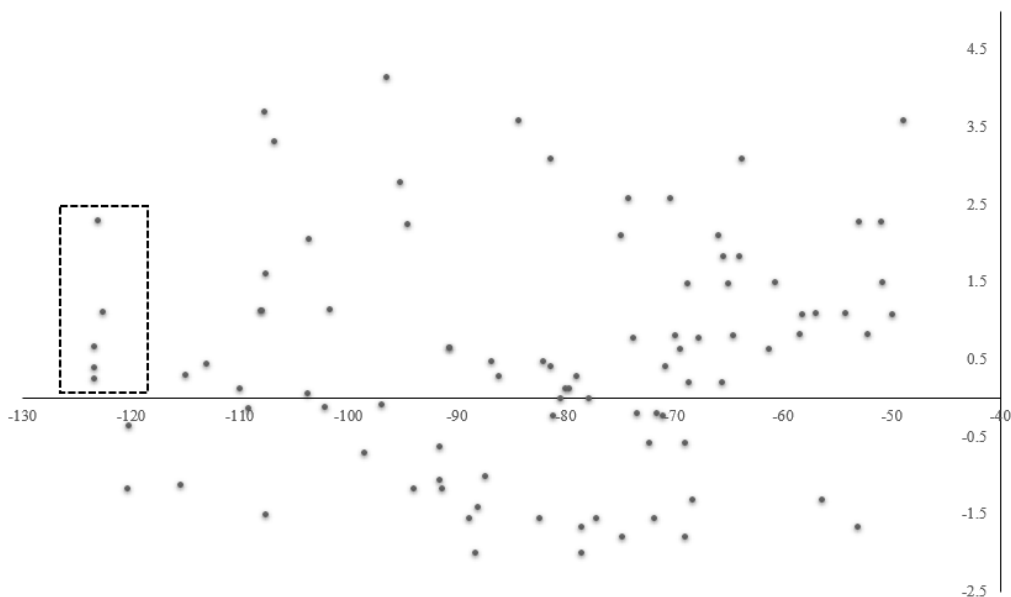
**Figura 19.** Modificaciones de los andamios **A**, *ent-A*, **C**, y *ent-C* en la posición C-3 de los grupos I y II. La superficie del sitio catalítico muestra la aromaticidad de los residuos de aminoácidos. El color verde indica una interacción de cara-cara entre los residuos aromáticos, y el color magenta muestra orientaciones no coplanares entre los residuos no aromáticos a la superficie de la proteína.

Una vez identificada la preferencia del andamio *ent-C* por la quitinasa AfChiB1, se decidieron probar diversos grupos como posibles auxóforos, por lo que se probaron aminas, éteres y cadenas hidrocarbonadas para la construcción de los derivados de los grupos III a V. Por lo consiguiente, en los ligandos del grupo III se homologaron las cadenas de siete a diez carbonos, pero esto no mejoró la energía de interacción en comparación con el grupo II. Por otro lado, los grupos IV y V, con aminas, presentaron mejores energías de interacción, en comparación con los grupos I-III. Por otra parte, los derivados unidos a anillos alifáticos o aromáticos presentaron estabilización a través de interacciones con los residuos de Phe76, Trp137, Thr138, Tyr 139, Glu177, Tyr245 y Trp384 (Figura 20).



**Figura 20.** Modificaciones en la posición C-3 del andamio *ent-C* para los grupos III, IV y V. . El color verde indica una interacción de cara-cara entre los residuos aromáticos, y el color magenta muestra orientaciones no coplanares entre los residuos no aromáticos a la superficie de la proteína.

Adicionalmente, se propuso tomar en consideración el perfil farmacocinético de las moléculas propuestas, utilizando el aLogP como segundo criterio (Figura 21). De esta manera, se consideró que los compuestos con valores de aLogP entre 0 y 3, presentarían una absorción aceptable, seleccionando los ligandos **4**, **5**, **6**, **7**, y **8** como los mejores candidatos (Tabla 5).



**Figura 21.** MolDock score (kcal/mol, eje x) vs aLogP (eje y). La región marcada señala a los mejores candidatos.

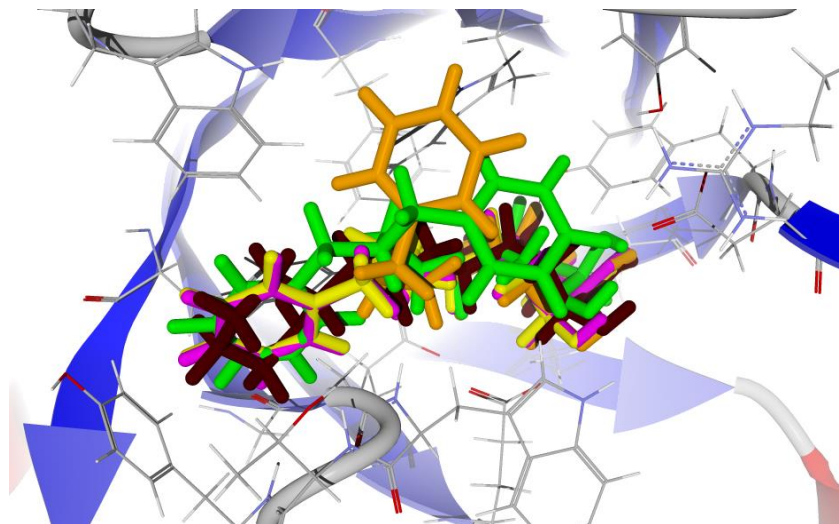
#### 1.5.4. Análisis de la selectividad por la quitinasa AfChiB1 sobre CHIT1.

Cada pose de la Tabla 5 fue analizada a través de un segundo cálculo de docking con enfoque flexible, identificando los posibles enlaces de hidrógeno y otras interacciones de tipo no covalente. En la Figura 22, se muestra la superposición de las poses de los diferentes ligandos y su orientación similar. De esta manera, **4** presentó interacciones con Trp384, Asp246, Glu177, Trp137, Thr138, Tyr 139, Gly136, Phe76, Tyr245, Met243, Tyr48, y Asp175; asimismo, se formó un enlace de hidrógeno entre el NH de la amida y el carboxilato del residuo Asp175. Además, el carbonilo de la amida interaccionó por medio de un enlace de hidrógeno con el hidroxilo del residuo Tyr245. Por otro lado, el hidroxilo de la posición C-5 del ligando **4** presentó un enlace de hidrógeno con el residuo Asp246. Por otra parte, el anillo de fenilo A se orientó hacia Trp137, exponiéndose al disolvente. Además, el anillo B se posicionó cercano a los residuos Phe76, Trp52, Gly136, Thr138, y Tyr139.

El anillo aromático del ligando **5** se orientó hacia los residuos no polares como lo hizo el anillo B del ligando **4**, y se formaron, de igual manera, los enlaces de hidrógeno con Asp175 y Tyr45; y los hidroxilos C-5 y C-6 interactuaron con Glu177 y Asp246, respectivamente. Por otro lado, el ligando **6** formó enlaces de hidrógeno con Tyr245, Asp246



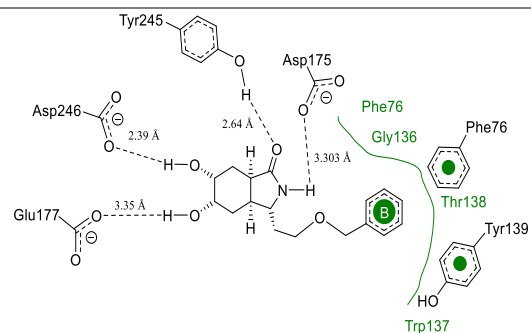
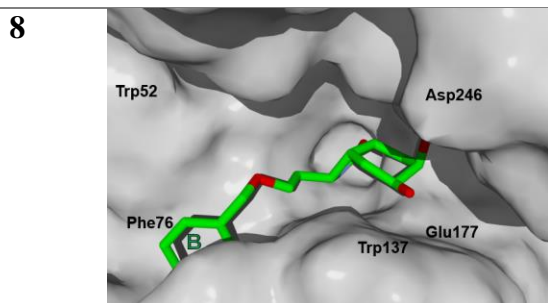
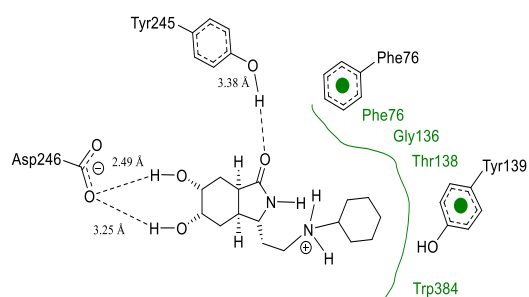
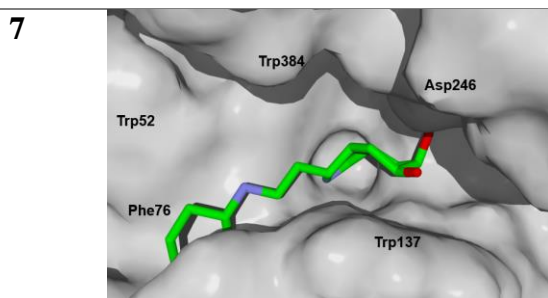
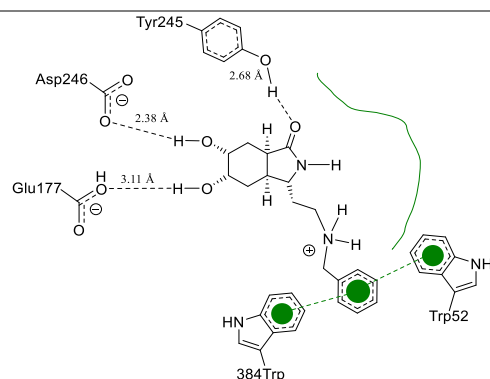
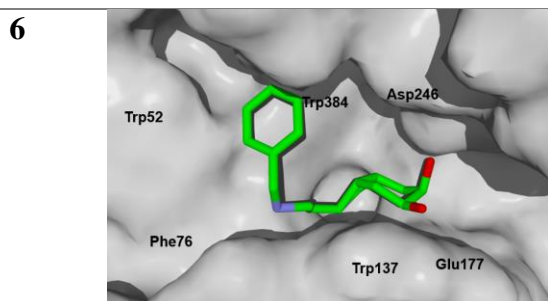
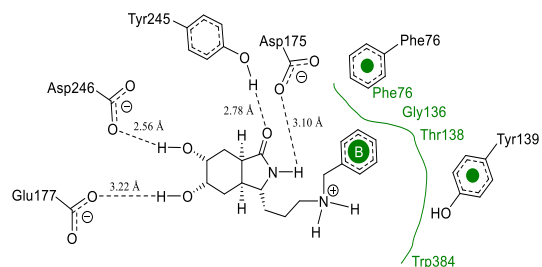
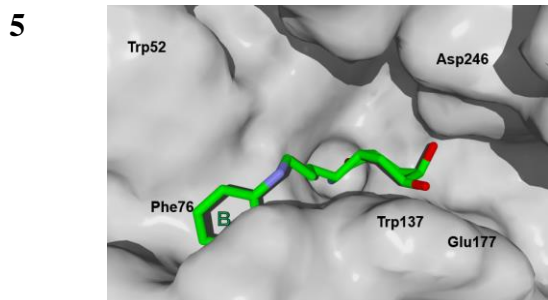
y Glu177, pero el sustituyente de fenilo se orientó hacia Trp52 y Trp284. Después, se analizó el ligando **7**, que mantuvo los enlaces de hidrógeno con Tyr245 y formó enlaces de hidrógeno con Asp246, mientras que el sustituyente de ciclohexilo se orientó de manera parecida a los ligandos **4** y **5**. Finalmente, el ligando **8** generó una pose similar al ligando **2**, con una orientación similar del sustituyente de fenilo y formando enlaces de hidrógeno con Asp175, Glu177, Tyr245 y Asp246.



**Figura 22.** Pose de cada derivado obtenido del segundo análisis de docking: **4** (verde), **5** (amarillo), **6** (naranja), **7** (café) y **8** (rosa) para AfChiB1.

**Tabla 5.** Mejores poses de los derivados del andamio *ent-C* en la quitinasa AfChiB1.

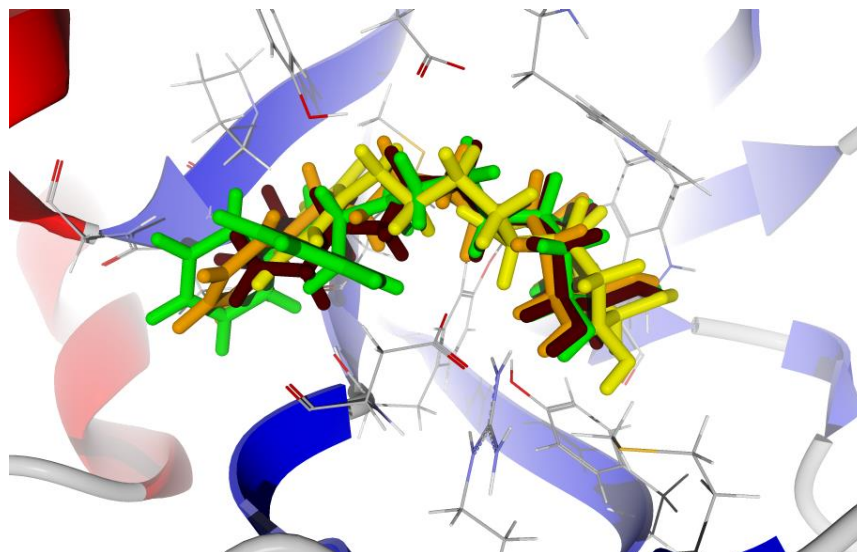
Ligando	Pose en la cavidad	Interacciones
<b>4</b>		



La siguiente etapa fue la evaluación de la selectividad de los ligandos **4-8** por la quitinasa CHIT1 a través de un estudio de docking rígido, y de acuerdo con el criterio de selección, no se logró encontrar una pose para el ligando **8**. Por lo tanto, a los ligandos **4-7** se les realizaron cálculos de docking flexible, con los residuos del sitio activo que se hicieron

flexibles de manera equivalente a la quitinasa AfChiB1, esto se consiguió con un alineamiento estructural de las quitinasas de ambas especies. Por otro lado, del análisis bioinformático se identificaron las mutaciones entre hongos y humano, donde las interacciones con los residuos mutantes en AfChiB1 mostraron interacciones nulas en el docking flexible con Phe251 y Tyr247, mientras que los ligandos **4-7** tuvieron una interacción significativa con los residuos análogos mutantes Trp218 y Phe214 para CHIT1 (PDB:5NR8).

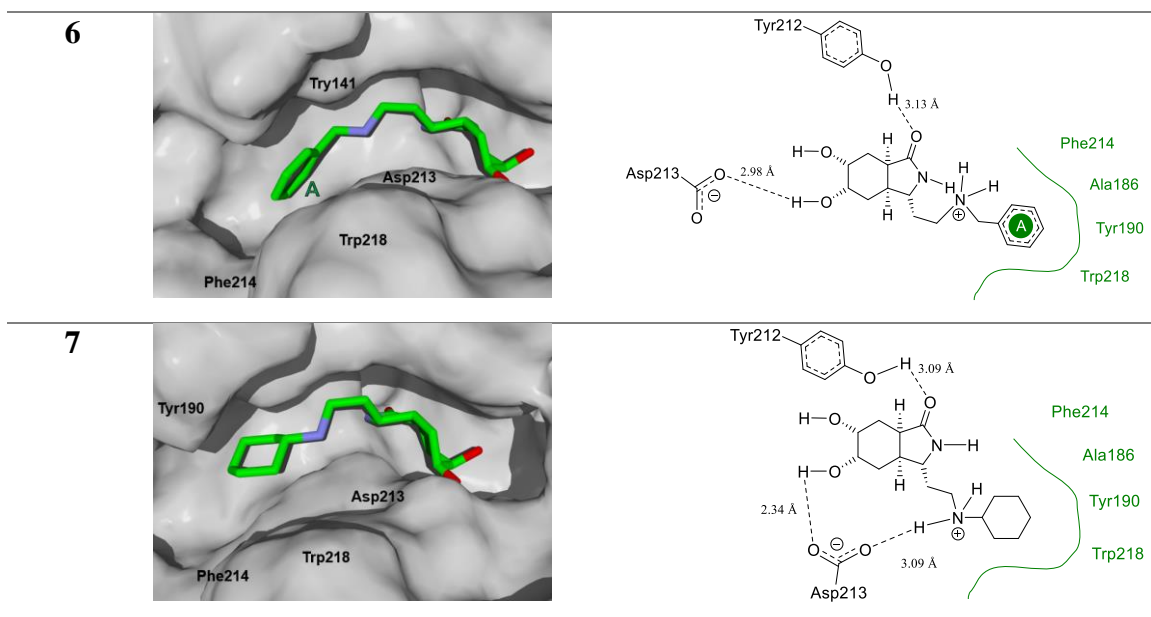
Así, las principales interacciones de los ligandos con CHIT1 fueron con Asp213, Trp99, Trp458, Met210, Tyr141, Tyr267, Trp218, Tyr212, Ala186, Phe214, Glu140, Tyr190, Pro185 y Gly187. Inicialmente, se analizó el ligando **4**, y la amina presentó un puente salino con el residuo Tyr141, mientras que el carbonilo del derivado formó un enlace de hidrógeno con Tyr212. Por otro lado, el anillo aromático A se aproximó a los residuos Gly187, Ala186, Tyr141, Phe214, y Tyr190, y el anillo B se orientó hacia el residuo Trp218, expuesto al disolvente. El ligando **5** también presentó el puente salino con Tyr141, además presentó enlaces de hidrógeno con Trp358 y la orientación del sustituyente de manera similar al anillo A. Por otro lado, el ligando **6** tuvo interacciones similares como **4**, pero el hidroxilo en C-5 formó un enlace de hidrógeno con el residuo Asp213, así como una orientación parecida del anillo de fenilo. Por último, el ligando **7** formó un puente salino entre la amina y el residuo Asp213 y un enlace de hidrógeno con el hidroxilo en C-5, mientras que el carbonilo presentó la misma interacción y orientación del sustituyente de ciclohexilo en C-3 como los ligandos **4** y **6** (ver superposición de poses en la Figura 23 y las interacciones en la Tabla 6).



**Figura 23.** Pose de cada derivado obtenido del segundo análisis de docking: **4** (verde), **5** (amarillo), **6** (naranja) y **7** (café) para CHIT1.

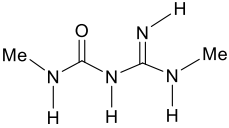
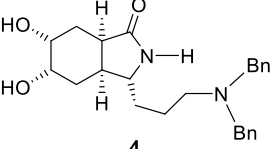
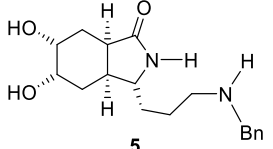
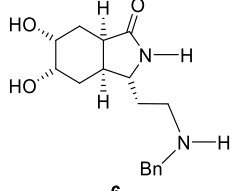
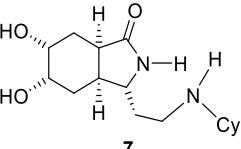
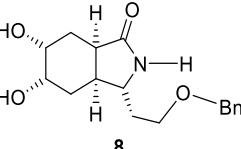
**Tabla 6.** Mejores poses de los derivados del andamio *ent-C* en la quitinasa de humano CHIT1.

Ligando	Pose en la cavidad	Interacciones
<b>4</b>		
<b>5</b>		



La Tabla 7 resume las energías de interacción de los candidatos finales con las quitinasas AfChiB1 y CHIT1. Por un lado, la estabilidad con AfChiB1 se debe a las interacciones con los residuos Trp384, Trp137, Phe76, Thr138, Trp52, Tyr139 y Asp246. Así, **5**, **7** y **8** mostraron energías similares, pero menores al ligando **4**. El ligando **6** sólo tuvo interacciones con Trp384, Trp137, Glu177 y Tyr245. En contraste, en la quitinasa CHIT1, **4** tuvo mayor interacción con los residuos Asp213, Trp99, Trp358, Tyr212, Met210, Tyr141, Tyr267 y Ala 186, mientras que los ligandos **5-8** tienen menor interacción con Asp213, Trp99, Trp358, y Tyr212; así contrastando con el **DGU**, que es el ligando del cocrystal 3CH9, hay un incremento sustancial en la estabilidad del complejo enzima-ligando y mayor lipofilidad de los candidatos finales. Sin embargo, las energías que despliega el *software Molegro* no se pueden correlacionar con la energía de unión tal y como lo hace *Glide* o *Vina*. Dicho lo anterior, se desarrolló un modelo predictivo, usando los valores experimentales de  $CI_{50}$  de los inhibidores de AfChiB1 con sus respectivos valores de MolDock score y aLogP.

**Tabla 7.** Valores de la energía de interacción (kcal/mol) de los candidatos finales en el docking flexible con la quitinasa AfChiB1 y CHIT1, así como los valores de aLogP.

Ligando	MolDock score (AfChiB1)	MolDock score (CHIT1)	aLogP
 <p>DGU</p>	-63.86	N. D.	-0.47 <sup>a</sup>
 <p>4</p>	-161.06	-172.91	2.28
 <p>5</p>	-140.51	-131.316	1.11
 <p>6</p>	-117.14	-141.49	0.25
 <p>7</p>	-135.19	-145.50	0.66
 <p>8</p>	-135.851	No encontrada	0.39

<sup>a</sup> Calculado en Molinspiration LogP predictor. Recuperado de <https://www.molinspiration.com/docu/mipc/index.html>  
N. D. no determinado.

### 1.5.5. Modelo matemático para la predicción de los valores de CI<sub>50</sub> en AfChiB1

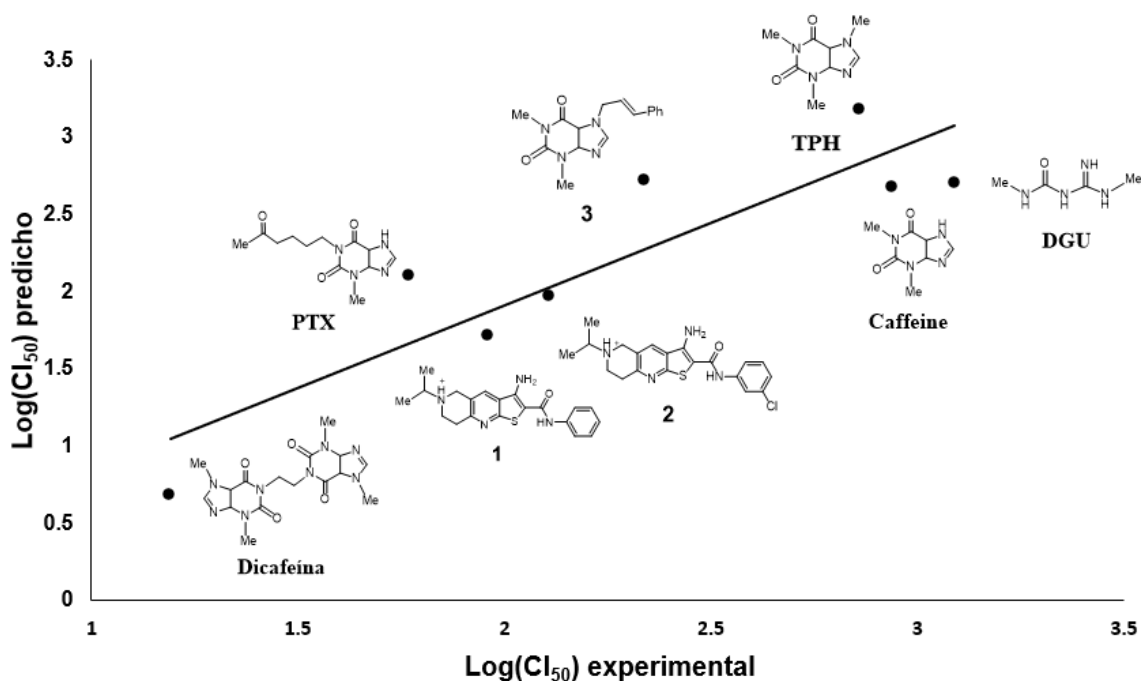
De manera similar como se realizaron los cálculos de docking para los mejores candidatos, se aplicaron los mismos parámetros para un primer cálculo de docking rígido,

seguido de un cálculo con enfoque flexible (se consideró el ligando **DGU** como plantilla, como se estableció con los cálculos anteriores). Las poses del docking se analizaron y contrastaron con los cristales (los datos para la construcción del modelo se presentan en el Apéndice teórico), con el objetivo de mantener la mayoría de las interacciones intermoleculares, mientras que para los inhibidores **1**, **2** y **3** se seleccionaron las poses que orientaron la lactama hacia la cavidad.

En la Figura 24, se hizo la transformación de la variable de respuesta como el logaritmo del  $CI_{50}$ , el cual tuvo una correlación lineal con las variables MolDock score y aLogP como variables independientes, generando la ecuación 1. Por otro lado, el parámetro  $Q^2_{100}$  tuvo un valor aceptable en su capacidad predictiva (los valores predichos de  $CI_{50}$  se muestran en el Apéndice teórico). De acuerdo con la ecuación 1, la energía de interacción con la quitinasa AfChiB1 se relaciona con el coeficiente MolDock score con valores más negativos, formando complejos más estables; mientras que el coeficiente de aLogP indica que la hidrofiliidad de los compuestos incrementa la potencia de los inhibidores. Sin embargo, se necesita considerar que las pruebas biológicas de  $CI_{50}$  no consideran atravesar membranas biológicas. Por lo que, en este diseño, los ligandos seleccionados fueron con un valor cercano a 1. Además, es importante mencionar que este modelo está limitado a derivados bicíclicos y moléculas rígidas, y que permite analizar las moléculas en el espectro farmacocinético (MolDock Score) y farmacodinámico (aLogP). Por lo tanto, se lograron predecir los valores de  $CI_{50}$  para los ligandos diseñados **4-8**, que se presentan en la Tabla 8, estimando concentraciones alrededor de 60-200  $\mu$ M.

$$\text{Log}(IC_{50}) = 0.01843\text{MolDock score} + 0.1609\text{aLogP} + 4.3994 \quad (1)$$

$$s = 0.26, F = 29.11, R^2 = 92.1, Q^2_{LOO} = 78.9, n = 8$$



**Figura 24.** Correlación lineal entre los datos experimentales de  $CI_{50}$  vs los valores de  $CI_{50}$  predichos. En el gráfico se muestran las estructuras de los inhibidores para la construcción del modelo predictivo: **Cafeína** PDB (2A3B), **PTX** (PDB: 2A3C), **DGU** (PDB: 3CH9), inhibidores **1**<sup>16</sup>, **2**<sup>16</sup>, **3**<sup>13b</sup>, y **TFL** (PDB: 2A3A).

**Tabla 8.** Estimación de los valores de  $CI_{50}$  a partir de la ecuación 1.

Ligando	$CI_{50}$ predicho ( $\mu M$ )
<b>4</b>	62.78
<b>5</b>	97.36
<b>6</b>	190.86
<b>7</b>	103.25
<b>8</b>	90.86

Con el objetivo de presentar un esquema completo para el diseño de moléculas bioactivas, se determinó la toxicidad y las propiedades de similitud de fármacos, utilizando el servidor SwissADME.<sup>39</sup> Los resultados que se obtuvieron para los candidatos finales indican que no inhibirán a las isoformas del citocromo p450 y pueden ser sustratos de la

<sup>39</sup> Antoine, D., Michielin, O., Zoete, V. *Scientific Reports*, **2017**, 7:42717



glicoproteína P-gp, la cual participa en la expulsión de los xenobióticos de la célula.<sup>40</sup> Por otro lado, el ligando **4** presentó permeabilidad hacia la barrera hematoencefálica y baja solubilidad en agua. Además, respecto a la biodisponibilidad, los ligandos presentaron un valor alrededor del 55%, y de forma general, aprobaron las principales reglas para el diseño de moléculas bioactivas como las reglas de Veber, Lipinski y Ghose.

En resumen, los cálculos de docking sobre las quitinasas de hongos y humano, sugieren que **8**, podría ser un potencial inhibidor selectivo para AfChiB1, porque este ligando podría adoptar una orientación diferente en el sitio activo de CHIT1. Por otro lado, el ligando **4** tendrá la mayor potencia para las quitinasas AfChiB1 y CHIT1, y además, presenta buenas propiedades similares a un fármaco; así como, un aceptable perfil farmacocinético, pero con la limitación de que puede atravesar la barrera hematoencefálica, lo cual no es deseable considerando la actividad biológica objetivo (los datos de SwissADME se muestran en el Apéndice teórico).

## 1.6. Conclusiones

- Se seleccionó la quitinasa AfChiB1 del cocrystal 3CH9 que tiene un sitio catalítico altamente conservado. Además, se encontraron diversas quitinasas del género *Aspergillus* tales como *A. fumigatus*, *A. novofumigatus*, *A. niger*, *A. candidus*, *A. fischeri*, *A. flavus*, y el género *Cryptococcus* de la variante *grubii* que tienen similitud en su secuencia de aminoácidos y longitud de la cadena, construyendo las secuencias consenso de hongos, que mostraron alta similitud en su estructura tridimensional con la quitinasa AfChiB1, lo que determinó que esta enzima era adecuada para realizar un diseño basado en la estructura (cálculos de docking). Además, se reportaron las mutaciones de los residuos de aminoácidos alrededor del sitio activo entre las quitinasas de hongos y humano.
- Se desarrolló el diseño de los andamios considerando el núcleo de la octahidroisoindolona *cis*-fusionada como el apropiado para mimetizar estructuralmente al confórmero de mínima energía del ion oxazolinio. Así también,

---

<sup>40</sup> Elmeliegy, M.; Vourvahis, M.; Guo, C.; Wang, D. D. *Clin. Pharmacokinet.* **2020**, *59*, 699–714.

se estableció, por medio del análisis del descriptor LUMO, que el anillo de la lactama de cinco miembros es capaz de mimetizar electrónicamente al anillo de oxazolina del ion oxazolinio.

- Con base en lo anterior, se realizó un diseño basado en la estructura en la quitinasa AfChiB1, proponiendo 144 moléculas a partir de los andamios, y se modificó la posición C-3 del núcleo de la octahidroisoindolona. Posteriormente, se logró seleccionar los ligandos **4-8** con valores apropiados de los descriptores de aLogP y energía de interacción. También se contrastó la selectividad sobre la quitinasa CHIT1, sugiriendo que el ligando **8** podría ser un inhibidor selectivo.
- Finalmente, se construyó un modelo matemático para poder estimar la potencia farmacológica de los ligandos diseñados, obteniendo valores de 62 a 190  $\mu\text{M}$ .

## Capítulo 2. Síntesis estereocontrolada de octahidroisoindolonas *cis*-fusionadas a través de oxazoloisoindolonas quirales.

### 2.1. Introducción

La síntesis de moléculas orgánicas complejas tiene como objetivos: la obtención de productos naturales o sintéticos de interés particular, la búsqueda de métodos de preparación más eficientes que involucren menores costos de producción y realizar modificaciones específicas a estructuras moleculares, con la finalidad de mejorar su actividad biológica o aplicación industrial, sin olvidar la generación de conocimientos sobre la reactividad química en el área de ciencia básica.<sup>41</sup> Con respecto a la síntesis de productos naturales y derivados, el desarrollo de nuevas rutas estereoselectivas para la construcción de núcleos heterocíclicos quirales aún representa un reto para la industria farmacéutica y los químicos sintéticos.<sup>42</sup> En este sentido, el trabajo pionero de Meyers ha establecido la utilidad de las lactamas bicíclicas como bloques quirales de construcción en la síntesis estereoselectiva de heterociclos nitrogenados, permitiendo acceder a una amplia variedad de productos naturales y sintéticos con alta pureza enantiomérica.<sup>43</sup> Recientemente, la metodología de Meyers se ha extendido a la preparación de lactamas tricíclicas de tipo oxazoloindolona, a través de la reacción estereoselectiva de ciclocondensación entre un aminoalcohol quiral y derivados de 2-oxociclohexanoacetatos, las cuales actúan como precursores sintéticos del núcleo de la octahidroindolona (Figura 25).<sup>44</sup>

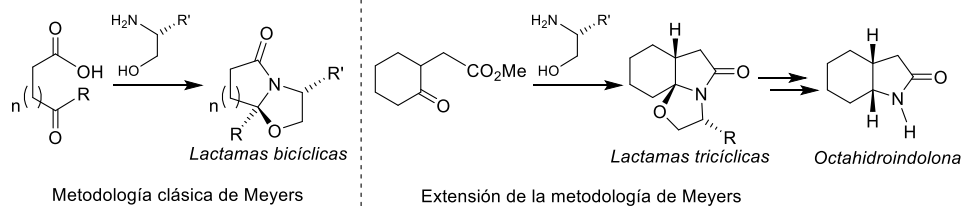
---

<sup>41</sup> Baran, P. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2018**, *140*, 4751–4755

<sup>42</sup> (a) Amat, M.; Pérez, M.; Bosch, J. *Synlett* **2011**, *2*, 143–160; (b) Amat, M.; Pérez, M.; Bosch, J. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 7724–7732; (c) Escolano, C.; Amat, M.; Bosch, J. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 8198–8207.

<sup>43</sup> (a) Groaning, M. D.; Meyers, A. I. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9843–9873; (b) Groaning, M. D.; Meyers, A. I. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 9843–9873; (c) Meyers, A. I.; Brengel, G. P. *Chem. Commun.* **1997**, 1–8; (d) Romo, D.; Meyers, A. I. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 9503–9469

<sup>44</sup> (a) Viveros-Ceballos, J. L.; Martínez-Toto, E.; Eustaquio-armenta, C.; Cativiela, C.; Ordóñez, M. *Eur. J. Org.* **2017**, 6781–6787; (b) Ghirardi, E.; Griera, R.; Picciche, M.; Molins, E.; Ferna, I.; Bosch, J.; Amat, M. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5836–5839; (c) Ennis, M. D.; Hoffman, R. L.; Ghazal, N. B.; Old, D. W.; Mooney, P. A. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5813–5817.



**Figura 25.** Comparación de la metodología clásica de Meyers y una modificación reciente para la síntesis de lactamas tricíclicas quirales.

Por otra parte, el núcleo de la octahidroisoindolona (isómero de la octahidroindolona) se encuentra frecuentemente en numerosas moléculas biológicamente activas<sup>45</sup> y también son intermediarios sintéticos valiosos.<sup>46</sup> Por mencionar algunos ejemplos, el compuesto **9** ha demostrado actividad inhibitoria contra la fosfatasa 1 y la cinasa fosfatidilinositol-3, ambas relacionadas con varios tipos de cáncer.<sup>47</sup> Adicionalmente, el compuesto **10** forma parte de una familia de metabolitos fúngicos denominados citocalasanos, los cuales han mostrado propiedades anticancerígenas, antivirales e inmunosupresoras.<sup>48</sup> El exiguaquinol **11** es un inhibidor selectivo de la glutamato racemasa, enzima que interviene en la construcción de la pared celular de *Helicobacter pylori*.<sup>45c,45d</sup>

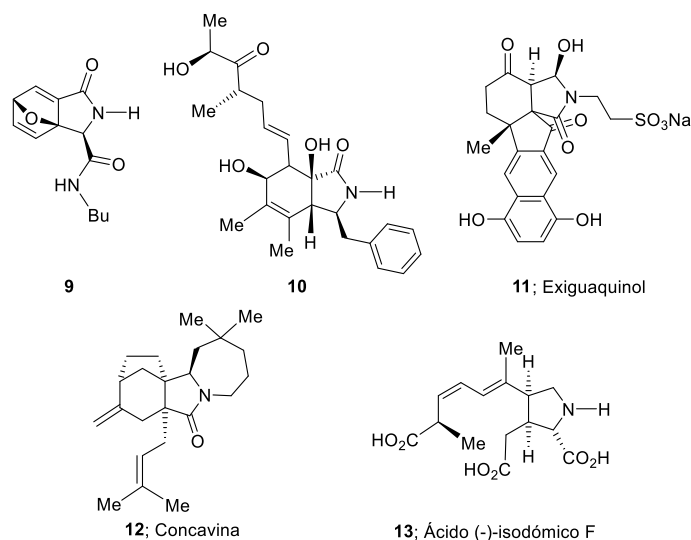
Por otra parte, en cuanto a la utilidad de las octahidroisoindolonas como intermediarios sintéticos, se ha descrito la síntesis estereoselectiva de la concavina **12** y el ácido (-)-isodómico F **13**, a través de estos precursores (Figura 26).<sup>46a,46b</sup>

<sup>45</sup> (a) Spare, L. K.; Harman, D. G.; Aldrich-Wright, J. R.; Nguyen, T. V.; Gordon, C. P. *Adv. Synth. Catal.* **2018**, *360*, 1209–1217; (b) Yang, M. H.; Gu, M. L.; Han, C.; Guo, X. J.; Yin, G. P.; Yu, P.; Kong, L. Y. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 3345–3348; (c) Schwarzwald, G. M.; Scott, D. R.; Vanderwal, C. D. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 17953–17957; (d) Wan, M.; Yao, M.; Gong, J. Y.; Yang, P.; Liu, H.; Li, A. *Chinese Chem. Lett.* **2013**, *15*, 6014–6017; (e) Haidle, A. M.; Myers, A. G. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2004**, *101*, 12048–12053.

<sup>46</sup> (a) Lemièrre, G.; Sedehizadeh, S.; Toueg, J.; Fleary-Roberts, N.; Clayden, J. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3745–3747; (b) Saint-Dizier, F.; Simpkins, N. S. *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 3384–3389. (c) Arizpe, A.; Sayago, F. J.; Jiménez, A. I.; Ordóñez, M.; Cativiela, C. *European J. Org. Chem.* **2011**, 6732–6738.

<sup>47</sup> (a) Wright, D. L.; Robotham, C. V.; Aboud, K. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 943–946; (b) Gordon, C. P.; Young, K. A.; Robertson, M. J.; Hill, T. A.; McCluskey, A. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 554–561.

<sup>48</sup> (a) Lin, Z. J.; Zhang, G. J.; Zhu, T. J.; Liu, R.; Wei, H. J.; Gu, Q. Q. *Helv. Chim. Acta* **2009**, *92*, 1538–1544; (b) Ding, G.; Song, Y. C.; Chen, J. R.; Xu, C.; Ge, H. M.; Wang, X. T.; Tan, R. X. *J. Nat. Prod.* **2006**, *69*, 302–304.



**Figura 26.** Ejemplos de moléculas biológicamente activas que incorporan el núcleo de la octahidroisoindolona y su utilidad como intermediarios sintéticos.

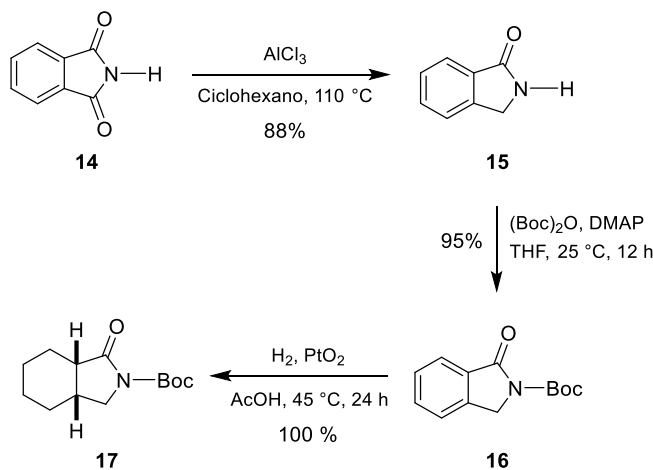
Resulta interesante que a pesar de las múltiples aplicaciones biológicas y sintéticas de los compuestos que incorporan el núcleo de la octahidroisoindolona, se encuentran descritos pocos procesos para su síntesis estereoselectiva y, hasta donde sabemos, aún no se ha descrito su obtención en forma enantioméricamente pura.<sup>46c, 49</sup>

Considerando lo anterior, la utilidad de las lactamas policíclicas quirales como intermediarios sintéticos y el interés reciente de nuestro grupo de investigación en la preparación de octahidroisoindolonas quirales como potenciales agentes antifúngicos, en este trabajo proponemos expandir la metodología de Meyers para la generación de lactamas tricíclicas quirales de tipo oxazoloisoindolona, como precursores de octahidroisoindolonas enantiopuras.

<sup>49</sup> (a) Laborda, P.; Sayago, F. J.; Cativiela, C.; Gotor, V. *Lett. Org. Chem.* **2018**, *15*, 404–411; (b) Punniyamurthy, T.; Katsuki, T. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 9439–9454; (c) Punniyamurthy, T.; Miyafuji, A.; Katsuki, T. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8295–8298.

## 2.2. Antecedentes

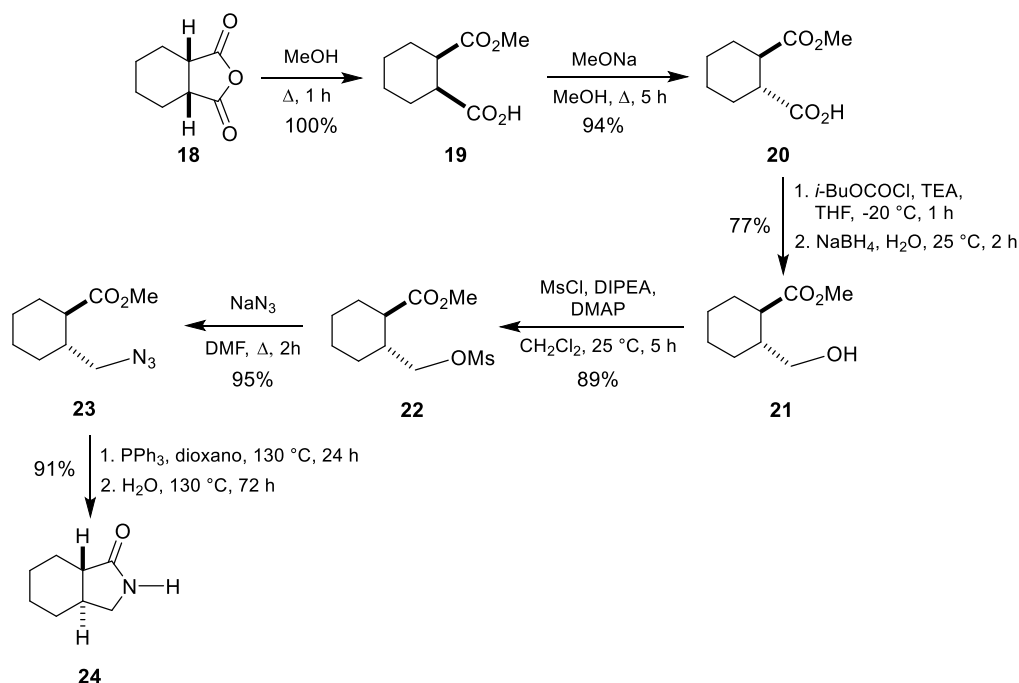
Existen pocos métodos en la literatura que describen la síntesis estereoselectiva de octahidroisoindolonas, y de estos, la mayoría involucra procesos diastereoselectivos. Por ejemplo, Ordóñez y colaboradores,<sup>46c</sup> describieron la síntesis de la  $\gamma$ -lactama bicíclica **17** *cis*-fusionada con alta diastereoselectividad. Así, a partir de la ftalimida **14**, se llevó a cabo la reducción de uno de los grupos carbonilo, utilizando tricloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ) en ciclohexano a 110 °C, generando la isoindolin-1-ona **15** con un rendimiento químico del 88%. A continuación, se realizó la reacción de *N*-protección de **15** por reacción con dicarbonato de di-*ter*-butilo  $[(\text{Boc})_2\text{O}]$  y cantidades catalíticas de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) en tetrahidrofurano (THF) a temperatura ambiente, obteniendo **16** con un rendimiento químico del 95%. Finalmente, la hidrogenación catalítica del anillo aromático de **16** con  $\text{PtO}_2$  y  $\text{AcOH}$  a 45 °C, permitió obtener la lactama **17** como único diastereoisómero y con un rendimiento químico cuantitativo (Esquema 2).



Esquema 2.

Por otra parte, Cativiela y colaboradores,<sup>49a</sup> desarrollaron un método para la obtención diastereoselectiva de la octahidroisoindolona *trans*-fusionada **24**, como parte de su línea de investigación enfocada en la síntesis estereoselectiva de análogos conformacionalmente restringidos de  $\alpha$ -aminoácidos naturales. De esta forma, la reacción de metanólisis del anhídrido *cis*-ciclohexano-1,2-dicarboxílico a reflujo, produjo el éster **19** con un rendimiento químico cuantitativo, el cual por reacción de epimerización catalizada con metóxido de sodio

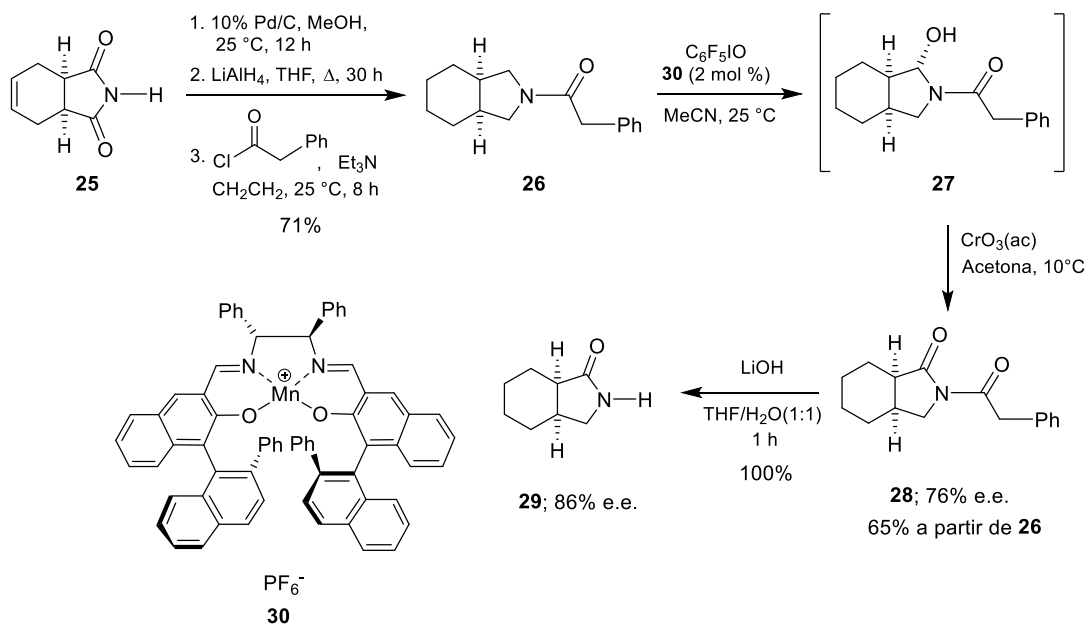
(MeONa) en metanol a reflujo, proporcionó el éster *trans*-**20** con un rendimiento químico del 94%. El tratamiento de **20** con cloroformiato de isobutilo y trietilamina (Et<sub>3</sub>N) en THF a -20 °C, dio lugar a la formación de un anhídrido mixto intermediario que, después de la reducción con borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>) en agua a temperatura ambiente por 2 horas, originó el alcohol **21** con un rendimiento químico del 77%. Posteriormente, se preparó el mesilato **21**, a través de la reacción con cloruro de metansulfonilo (MsCl), *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) y cantidades catalíticas de DMAP en diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) a temperatura ambiente, generando el mesilato **22** con un 89% de rendimiento químico, que al reaccionar con azida de sodio (NaN<sub>3</sub>) en *N,N*-dimetilformamida (DMF) a temperatura de reflujo por 2 horas, produjo el compuesto **23** con un rendimiento químico del 95%. En la siguiente etapa, el compuesto **23** se sometió a las condiciones de la reacción de reducción de Staudinger con trifenilfosfina (PPh<sub>3</sub>) en dioxano a 130 °C y posterior hidrólisis del iminofosforano intermediario, obteniendo la lactama *trans*-fusionada **24** con un rendimiento químico del 91% (Esquema 3).



Esquema 3.

Considerando la importancia de las lactamas policíclicas quirales como intermediarios sintéticos, también se han descrito algunas rutas enantioselectivas para la obtención de

octahidroisindolonas. Por ejemplo, la hidrogenación catalítica de la imida **25** con Pd/C en metanol a 25 °C, seguido de la reacción con hidruro de litio y aluminio (LiAlH<sub>4</sub>) en THF a reflujo, y posterior reacción con cloruro de 2-fenilacetilo y Et<sub>3</sub>N en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a 25 °C, generó el compuesto *meso* *N*-acilado **26** con un rendimiento químico del 71%. Después se realizó la reacción oxidación utilizando el complejo Mn(III)-salen **30** y pentafluoriodosilbenceno (C<sub>6</sub>F<sub>5</sub>IO) en acetonitrilo a 25 °C, para obtener el alcohol quiral **27** que, sin purificación adicional, se sometió a las condiciones de oxidación de Jones [CrO<sub>3</sub>(ac) en acetona a 10 °C], para obtener la lactama **28** con un 76% de exceso enantiomérico (e.e.) y un rendimiento químico del 65% a partir de **26**. Finalmente, la reacción de **28** con hidróxido de litio en una mezcla THF/H<sub>2</sub>O (1:1), generó la molécula objetivo **29** con un 76% de e.e. y un rendimiento químico cuantitativo (Esquema 4).<sup>49b,49c</sup>

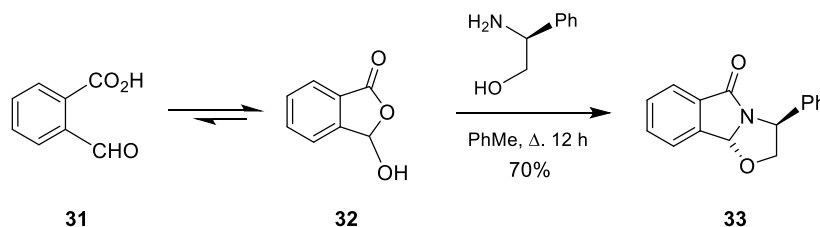


**Esquema 4.**

Por otra parte, en este trabajo de investigación se propone la preparación de lactamas tricíclicas quirales de tipo oxazoloisindolona como intermediarios clave en la síntesis de octahidroisindolonas enantiopuras, por lo que a continuación se presentan algunos ejemplos representativos de la preparación de estos sistemas. En uno de los trabajos pioneros en la

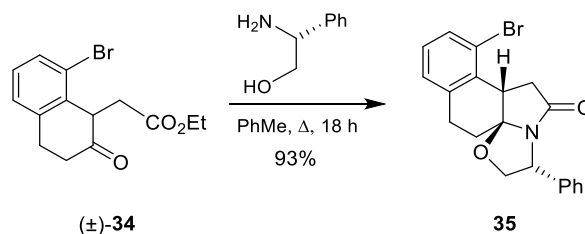


síntesis estereoselectiva de estos heterociclos, Allin y colaboradores,<sup>50</sup> realizaron la reacción del *orto*-ftalaldehído **31** (en equilibrio tautomérico anillo-cadena con la hidroxilactona **32**) con el (*S*)-fenilglicinol, en tolueno a reflujo durante 12 horas, obteniendo la oxazoloisindolona **33** como único diastereoisómero y con un rendimiento químico del 70%, a través de un proceso controlado cinéticamente que determina la configuración en el nuevo centro estereogénico que se forma (Esquema 5).



**Esquema 5.**

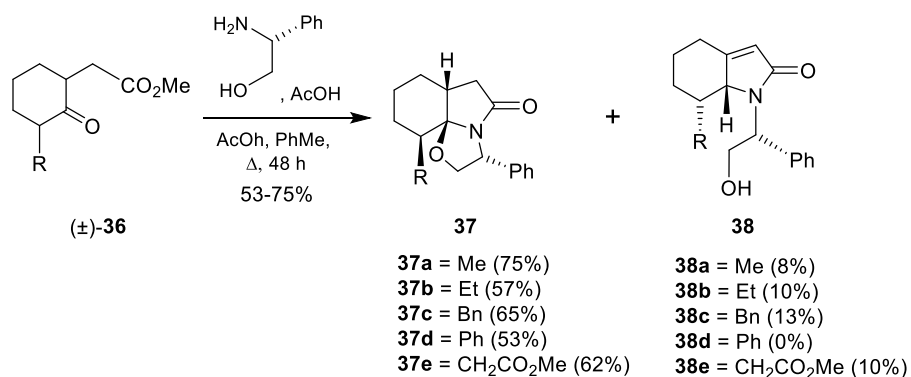
El proceso se ha extendido para ejercer control en la formación de dos nuevos centros estereogénicos. De esta manera, la oxazoloindolona **35** fue obtenida a través de la reacción de ciclocondensación entre el  $\gamma$ -cetoéster racémico **34** y (*R*)-fenilglicinol, en tolueno a reflujo durante 18 horas, obteniendo un único producto con un rendimiento químico del 93%. Estudios demostraron que el proceso de lactamización se encuentra controlado cinéticamente y favorece la ciclocondensación de una de las cuatro posibles oxazolidinas diastereoisoméricas, las cuales se encuentran en equilibrio entre sí a través de una enamina intermediaria (Esquema 6).<sup>44c</sup>



**Esquema 6.**

<sup>50</sup> Allin, S. M.; Northfield, C. J.; Page, M. I.; Slawin, A. M. Z. A. *Tetrahedron Lett.* **1997**, 38, 3627–3630.

Por otro lado, Ghirardi y colaboradores,<sup>44b</sup> lograron generar simultáneamente tres centros estereogénicos contiguos a través de un proceso de resolución cinética y dinámica. De esta manera, llevaron a cabo la reacción de ciclocondensación de diversos  $\gamma$ -cetoésteres racémicos ( $\pm$ )-**36a-e** con (*R*)-fenilglicinol, en presencia de ácido acético como catalizador, en benceno a reflujo, obteniendo en todos los casos un único producto **37a-e** con buenos rendimientos químicos (53-75%). Además, lograron identificar la formación del producto de isomerización **38a-e** con rendimientos químicos del 8 al 13% (Esquema 7).

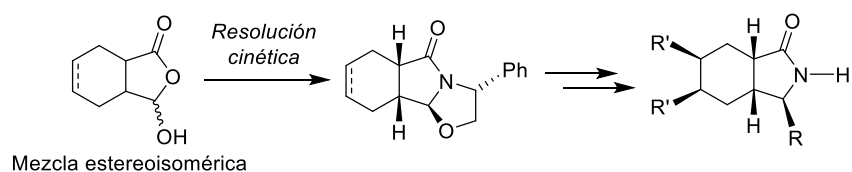


**Esquema 7.**

## 2.3. Objetivos

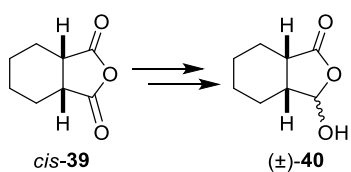
### 2.3.1. Objetivo general

Desarrollar un método práctico y eficiente para la síntesis estereoselectiva de lactamas tricíclicas quirales de tipo oxazoloisindolona y su aplicación como precursores sintéticos en la preparación de octahidroisindolonas *cis*-fusionadas enantiopuras.

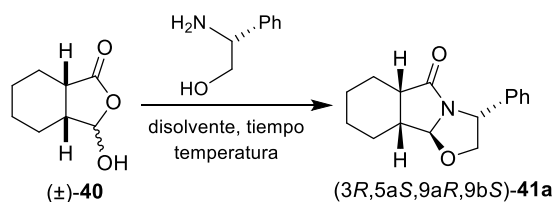


### 2.3.2. Objetivos específicos

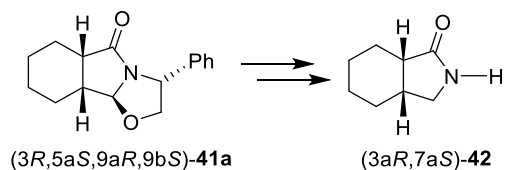
Sintetizar la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40** a partir del anhídrido *cis*-1,2-ciclohexanodicarboxílico ( $\pm$ )-**39**.



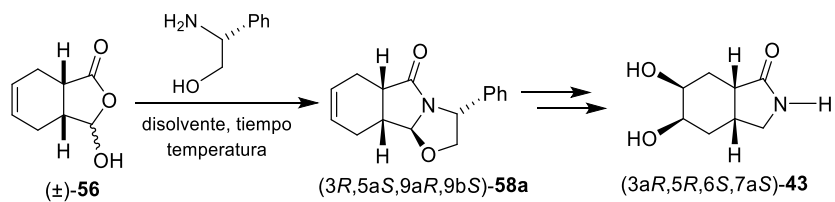
Diseñar y establecer las condiciones óptimas para la reacción de ciclocondensación controlada cinéticamente entre la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40** (mezcla de estereoisómeros y tautómeros anillo-cadena) y (*R*)-fenilglicinol, para obtener la lactama tricíclica quiral tipo oxazoloisindolona (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**41a** con alta diastereoselectividad.



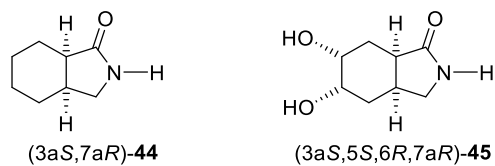
Explorar la utilidad sintética de la lactama tricíclica quiral (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**41a** como precursor de la octahidroisindolona enantioméricamente enriquecida (*3aR,7aS*)-**42**, a través de reacciones estereocontroladas.



Extender la metodología desarrollada para realizar la síntesis de la octahidroisoindolona *cis*-fusionada  $(3aR,5R,6S,7aS)$ -**58a** en forma enantioméricamente pura, la cual incorpora grupos hidroxilos en las posiciones C-5 y C-6.

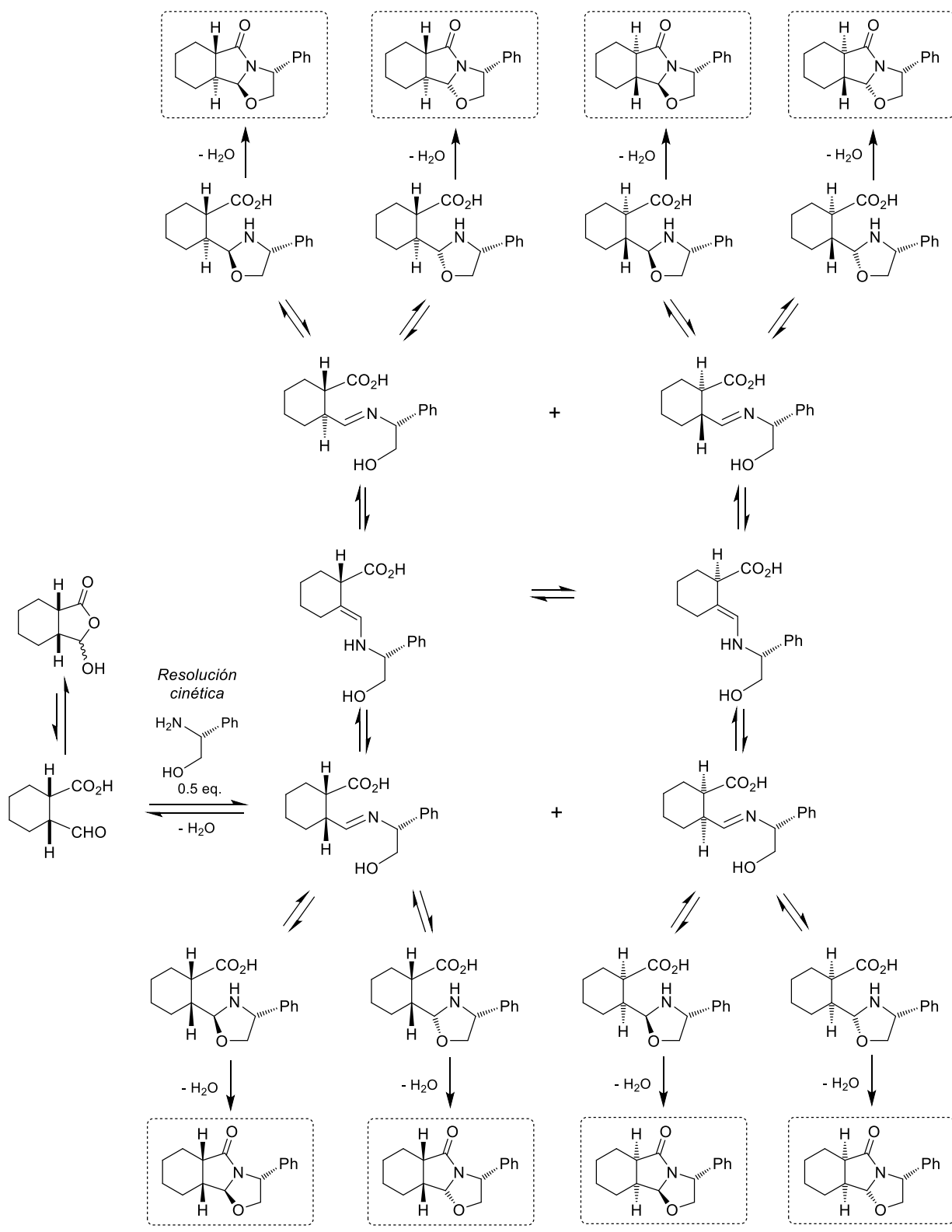


Preparar las octahidroisoindolonas enantioméricas  $(3aS,7aR)$ -**44** y  $(3aS,5S,6R,7aR)$ -**45** haciendo uso del reactivo quiral de configuración opuesta [*(S)*-fenilglicinol].



## 2.4. Resultados y Discusión

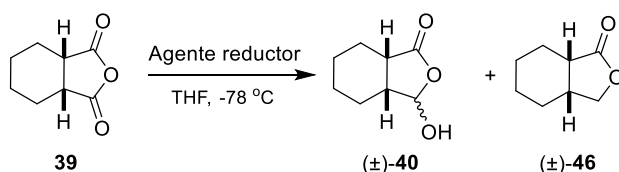
Para la síntesis de las oxazoloisindolonas tricíclicas quirales, se planteó la hipótesis que se presenta en el esquema 8. Así, la reacción de ciclocondensación del (*R*)-fenilglicinol con la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40**, la cual se encuentra en un equilibrio tautomérico anillo-cadena con el ácido ( $\pm$ )-*cis*-2-formilciclohexano-1-carboxílico, daría lugar a la formación de ocho oxazolidinas diastereoisoméricas, cuatro a partir de cada aldo-ácido enantiomérico, las cuales se encontrarían en equilibrio a través de un tautomerismo imina-enamina, previo a la etapa de ciclación intramolecular. Por lo tanto, en principio, un proceso de lactamización irreversible controlado cinéticamente, selectivamente proporcionaría una de las ocho posibles oxazoloisindolonas tricíclicas diastereoisoméricas, estableciendo simultáneamente hasta tres centros estereogénicos bien definidos, vía resolución cinética.



Esquema 8.

Considerando lo anterior, inicialmente se propuso sintetizar la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40** a partir del anhídrido **39**. Con esta intención, el anhídrido **39** se hizo reaccionar con  $\text{NaBH}_4$  en THF a  $-50\text{ }^\circ\text{C}$ ; sin embargo, bajo estas condiciones no se observó la formación del compuesto deseado, aislando la lactona ( $\pm$ )-**46** con un rendimiento químico del 62% (Tabla 9, ensayo 1). Con la finalidad de tener un mayor control sobre el proceso de reducción, se decidió cambiar el agente reductor. Así, cuando la reacción se llevó a cabo con super hidruro ( $\text{LiBHEt}_3$ ) en THF a  $-78\text{ }^\circ\text{C}$ , se obtuvieron la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40** y la lactona ( $\pm$ )-**46**, con rendimientos químicos de 13 y 44%, respectivamente (Tabla 9, ensayo 2). En un último ensayo, el uso de un agente reductor más débil como el hidruro de tri(*t*-butoxi)aluminio y litio [ $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$ ], favoreció la formación de ( $\pm$ )-**40**, la cual logró aislarse con un rendimiento químico del 87% (Tabla 9, ensayo 3).

**Tabla 9.** Síntesis de la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40**, a partir del anhídrido **39**.



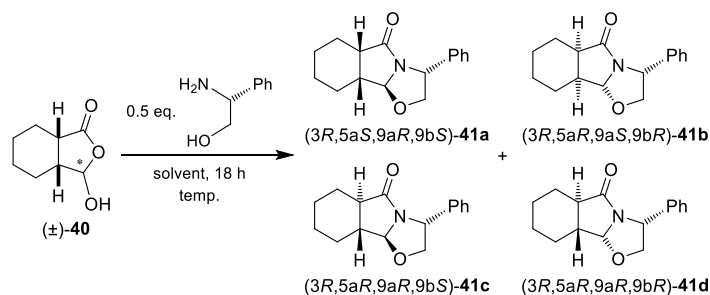
Ensayo	Agente Reductor	( $\pm$ )- <b>40</b> (%)	( $\pm$ )- <b>46</b> (%)
1	$\text{NaBH}_4$	0	62
2	$\text{LiBHEt}_3$	13	44
3	$\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$	87	ND

Una vez obtenida la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40**,<sup>51</sup> se hizo reaccionar con 0.5 equivalentes de (*R*)-fenilglicinol a  $40\text{ }^\circ\text{C}$ , la cual procede con alta diastereoselectividad en un amplio rango de disolventes no polares (disolventes etéreos, Tabla 10, ensayos 1 y 2; halogenados, Tabla

<sup>51</sup> Moser, W. H.; Hegedus, L. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7873–7879.

10, ensayos 3-5; aromáticos, Tabla 10, ensayo 6); sin embargo, el rendimiento químico más alto de las  $\gamma$ -lactamas tricíclicas (52%), se registró al utilizar PhMe como disolvente (Tabla 10, ensayo 6). Después de evaluar diferentes tiempos y temperaturas de reacción para esta transformación, con las condiciones optimizadas, se observó que al realizar la reacción de ciclocondensación en PhMe a 60 °C durante 18 horas, únicamente se detectaron cuatro de las ocho posibles oxazoloisindolonas diastereoisoméricas (**41a-d**) con un rendimiento químico de 90% y en una relación 8:3:1:1, respectivamente. Es de llamar la atención que la oxazoloisindolona (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** se formó con un amplio exceso y logró aislarse diastereoisoméricamente pura con un rendimiento químico del 55% (Tabla 10, ensayo 7).

**Tabla 10.** Reacción de ciclocondensación diastereoselectiva.



Ensayo	Solvente	Temp. (°C)	Rendimiento (%) <sup>[a]</sup>	r.d. <sup>[b]</sup>
1	THF	40	8	8:2:1:4:0:0:0:0
2	TBME	40	19	9:3:1:3:0:0:0:0
3	CHCl <sub>3</sub>	40	23	9:1:1:1:0:0:0:0
4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	40	24	15:2:1:1:0:0:0:0
5	ClCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl	40	28	20:1:3:3:0:0:0:0
6	PhMe	40	52	11:2:1:2:0:0:0:0
7	PhMe	60	90	8:3:1:1:0:0:0:0

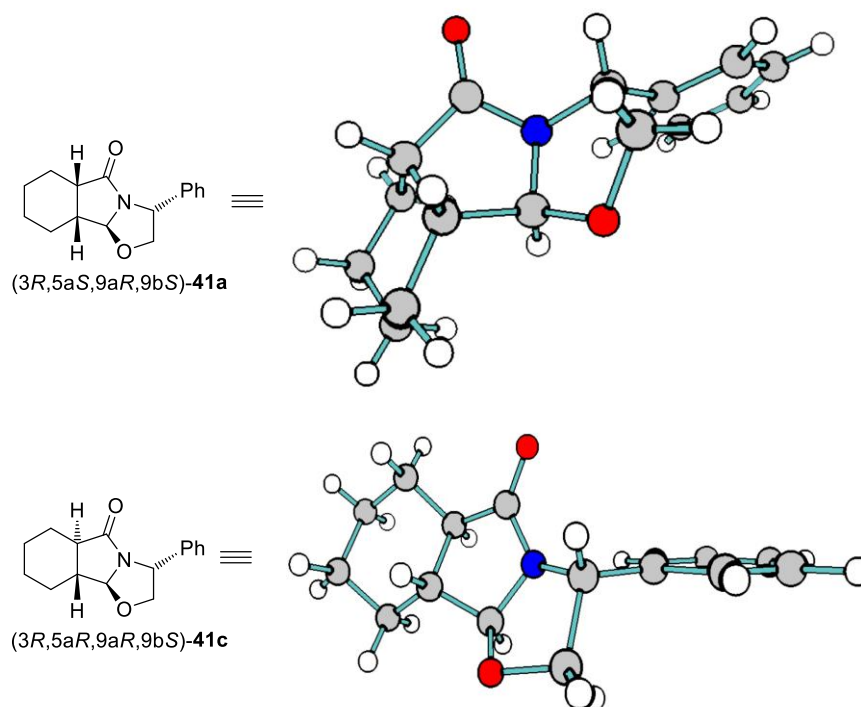
<sup>[a]</sup> Los rendimientos están basados en el (*R*)-fenilglicinol como reactivo limitante.

<sup>[b]</sup> El relación diastereoisomérica fue determinada por RMN <sup>1</sup>H del crudo de reacción.

Por otra parte, la asignación de la configuración de las oxazoloisindolonas (**41a-d**) se realizó a través del análisis de los experimentos de RMN de dos dimensiones. Además, se



corroboró la configuración absoluta de (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** y (3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-**41c** por cristalografía de difracción de Rayos X (Figura 27).<sup>52</sup>



**Figura 27.** Estructuras de Rayos X de (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** y (3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-**41c**.<sup>53</sup>

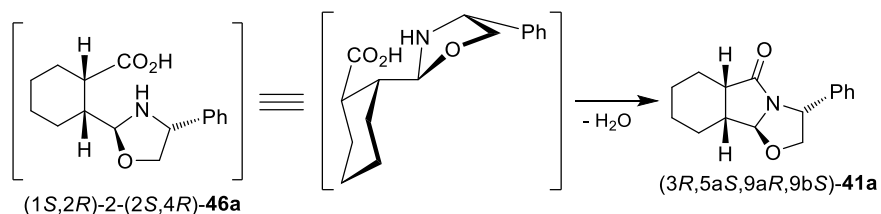
Tal como se había anticipado en nuestra hipótesis, la formación diastereoselectiva de (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** podría explicarse al considerar que la fusión *cis* del anillo del ciclohexano es más estable debido a una menor tensión anular,<sup>44c,54</sup> y que el paso de lactamización irreversible y determinante de la velocidad de la reacción, ocurre más rápidamente a partir de la oxazolidina intermediaria (1*S*,2*R*)-2-(2*S*,4*R*)-**46a**, que permite una aproximación con menor impedimento estérico del átomo de nitrógeno al grupo carboxílico,

<sup>52</sup> Los datos cristalográficos de CCDC 2094227 y 2094228 para (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** y (3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-**41c**, se encuentran en el Apéndice Experimental. Así, estos datos se pueden obtener de la base de datos The Cambridge Crystallographic Data Centre.

<sup>53</sup> Las representaciones de las estructuras cristalográficas fueron procesadas en el *software* Chemcraft. graphical software for visualization of quantum chemistry computations. Recuperado de <https://www.chemcraftprog.com>

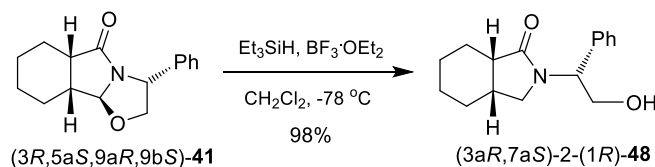
<sup>54</sup> (a) Pinto, A.; Griera, R.; Molins, E.; Fernández, I.; Bosch, J.; Amat, M. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 1714–1717; (b) Amat, M.; Navío, L.; Llor, N.; Molins, E.; Bosch, J. A. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 210–213; (c) Jida, M.; Deprez-Poulain, R.; Malaquin, S.; Roussel, P.; Agbossou-Niedercorn, F.; Deprez, B.; Laconde, G. *Green Chem.* **2010**, *12*, 961–964.

evitando la interacción repulsiva con el grupo fenilo (Esquema 9). Por otra parte, como se puede observar en la Figura 27, los tres anillos fusionados y el grupo fenilo en el producto mayoritario (*(3R,5aS,9aR,9bS)*-**41a**) adoptan una conformación plegada favorecida por consideraciones estéricas.



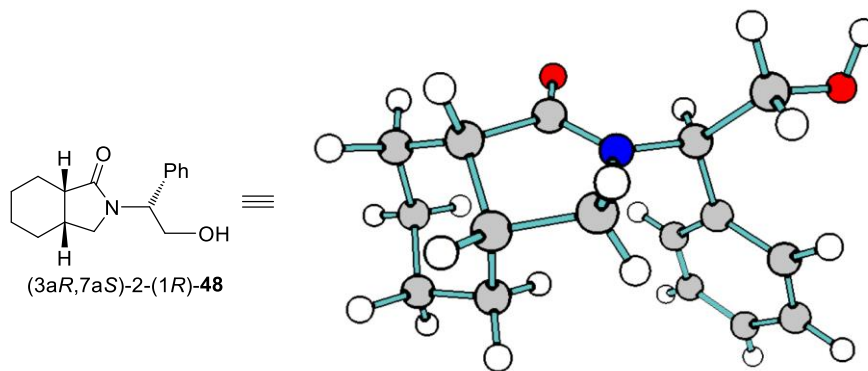
**Esquema 9.**

Una vez que se consiguió obtener el intermediario avanzado de tipo oxazoloisindolona (*(3R,5aS,9aR,9bS)*-**41a**), se evaluó su utilidad sintética en la preparación de octahidroisindolonas enantioméricamente puras. Por lo consiguiente, se realizó la apertura reductiva del anillo de la oxazolidina en (*(3R,5aS,9aR,9bS)*-**41a**) al hacerse reaccionar con hidruro de trietilsilano ( $\text{Et}_3\text{SiH}$ ) y trifluoruro de boro eterato ( $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ ) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a temperatura ambiente, obteniendo la octahidroisindolona (*(3aR,7aS)*-2-(1*R*)-**48**) *cis*-fusionada con un rendimiento químico del 98% (Esquema 10).<sup>55</sup> La configuración absoluta de (*(3aR,7aS)*-2-(1*R*)-**48**) se logró corroborar por cristalografía de difracción de Rayos X (Figura 28).



**Esquema 10**

<sup>55</sup> Ragan, J. A.; Claffey, M. C. *Heterocycles* **1995**, *41*, 57–70.



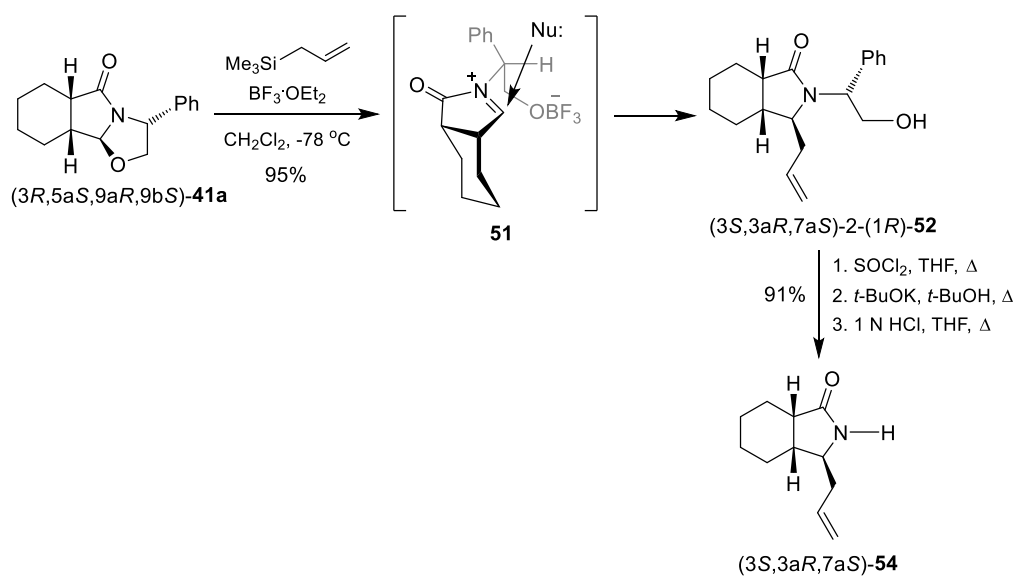
**Figura 28.** Representación ORTEP al 50% de probabilidad de (3aR,7aS)-2-(1R)-48.<sup>53</sup>

En la siguiente etapa, se realizó la remoción del fragmento del fenilglicinol sin comprometer la integridad estereoquímica del resto de la molécula. De esta manera, el grupo hidroxilo en (3aR,7aS)-2-(1R)-48, se convirtió en el correspondiente cloruro con un rendimiento químico prácticamente cuantitativo (99%), al hacerse reaccionar con cloruro de tionilo (SOCl<sub>2</sub>) en THF a reflujo, durante 1.5 horas. A continuación, se realizó una β-eliminación inducida por *t*-BuOK/*t*-BuOH bajo condiciones de reflujo durante 1.3 horas, generando la enamina (3aR,7aS)-50, la cual por una reacción de hidrólisis con 1.0 N HCl en THF a reflujo durante 2 horas, proporcionó la octahidroisindolona (3aR,7aS)-42 con un rendimiento químico del 94% a partir de (3aR,7aS)-2-(1R)-49 (Esquema 11).<sup>56</sup> La octahidroisindolona (3aR,7aS)-42 presentó una rotación óptica específica de  $[\alpha]_D^{20} = +18.04^\circ$  ( $c = 1.0$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) consistente con la descrita en la literatura para su enantiómero  $[\alpha]_D^{20} = -24.00^\circ$  ( $c = 0.5$ , CHCl<sub>3</sub>, 88% e.e.),<sup>49c</sup> y además su estructura fue confirmada por cristalografía de difracción de Rayos X, donde se encontró que en el estado sólido, con respecto a la posición relativa de los sustituyentes del ciclohexano, el carbonilo de la amida adopta una posición axial y el metileno, la ecuatorial (Figura 29).

<sup>56</sup> (a) Amat, M.; Arróniz, C.; Molins, E.; Escolano, C.; Bosch, J. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 2175–2184; (b) Bragg, R. A.; Clayden, J.; Bladon, M.; Ichihara, O. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3411–3414.



convexa del sistema bicíclico (cara *si*).<sup>58</sup> Finalmente, utilizando las condiciones previamente establecidas, se consiguió remover el fragmento del fenilglicinol, a través de la generación e hidrólisis de una enamina intermediaria, lo que produjo la octahidroisoindolona sustituida (3*S*,3*aR*,7*aS*)-**54** enantioméricamente pura con un rendimiento químico 91% (Esquema 12).

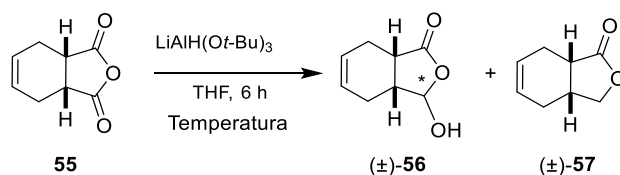


Por otra parte, con el objetivo de explorar el potencial sintético de la metodología desarrollada, se planteó la síntesis del compuesto (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-**58a**, el cual es una octahidroisoindolona *cis*-fusionada hidroxilada en las posiciones C-5 y C-6, que constituye el núcleo de un grupo de productos naturales conocidos como citocalasanos.<sup>59</sup> Así, para la síntesis de la hidroxilactona (±)-**56** de partida, se extrapoló la metodología optimizada previamente y se llevó a cabo la reacción del anhídrido *cis*-1,2,3,6-tetrahidroftálico **55** con hidruro de tri(*t*-butoxi)aluminio y litio [LiAlH(*Ot*-Bu)<sub>3</sub>] en THF a -40 °C, obteniendo el compuesto (±)-**56** con un rendimiento químico del 24%. Cuando la reacción se realizó a -78 °C, la hidroxilactona (±)-**56** logró obtenerse con un rendimiento químico del 30% (Tabla 11).

<sup>58</sup> (a) Chen, M. D.; He, M. Z.; Zhou, X.; Huang, L. Q.; Ruan, Y. P.; Huang, P. Q. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1335–1344; (b) Hoffmann, R. W. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1841–1860.

<sup>59</sup> Scherlach, K.; Boettger, D.; Remme, N.; Hertweck, C. *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 869–886

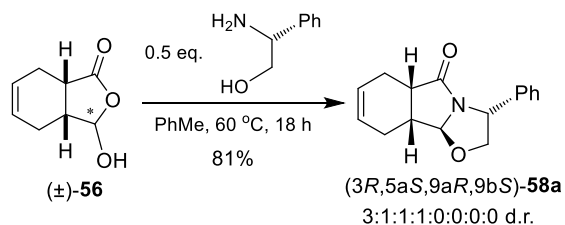
**Tabla 11.** Condición de reacción para obtener la hidroxilactona (±)-**56**.



Ensayo	Temperatura	(±)- <b>56</b> (%)	(±)- <b>57</b> (%)
1	-40 °C	24	N.D.
2	-78 °C	30	N.D.

N.D.= No determinado.

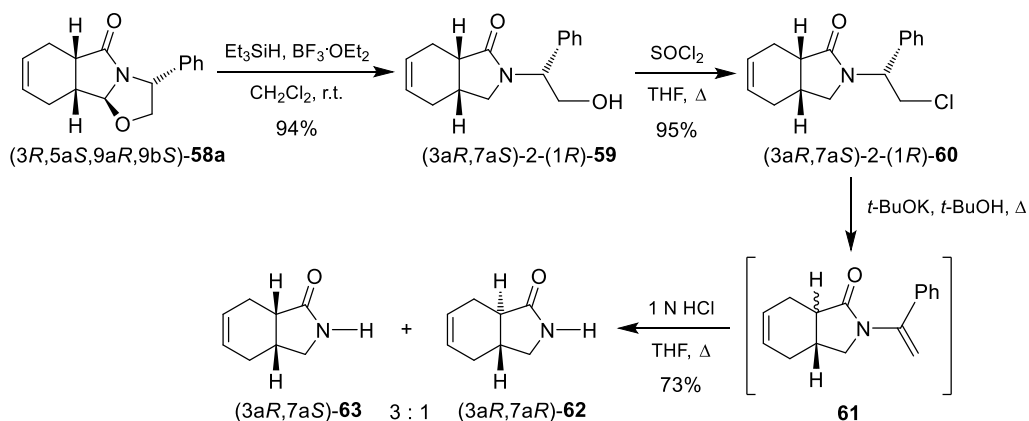
Una vez obtenida la hidroxilactona (±)-**56** (mezcla de estereoisómeros y tautomerismo anillo-cadena), se hizo reaccionar con 0.5 equivalentes de (*R*)-fenilglicinol bajo las condiciones optimizadas, obteniendo selectivamente cuatro  $\gamma$ -lactamas tricíclicas **58a-d** con un rendimiento químico del 81% y en una relación diastereoisomérica de 3:1:1:1, mostrando el mismo patrón estereoquímico que sus análogos **41a-d**, y aislando la oxazoloisindolona (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**58a** diastereoisoméricamente pura como producto principal (41% de rendimiento químico) (Esquema 13). La disminución de la diastereoselectividad de la reacción, a diferencia de su análogo saturado (±)-**40** que puede adoptar una conformación de silla, se debe a que en la hidroxilactona (±)-**56** se genera un menor impedimento estérico al adoptar una semisilla,<sup>60</sup> lo que incrementa la proporción de los otros diastereoisómeros durante el paso de lactamización irreversible.



**Esquema 13**

<sup>60</sup> Jensen, F. R.; Bushweller, C. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 5774-5782.

Con la oxazoloisindolona (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**58a** en mano, se realizó la apertura reductiva del anillo de la oxazolidina utilizando Et<sub>3</sub>SiH y BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> a temperatura ambiente durante 6 horas, obteniendo la  $\gamma$ -lactama bicíclica (3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-**59** con un rendimiento químico del 94%. Inesperadamente, la remoción del fragmento del auxiliar quiral a partir de (3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-**59**, generó una mezcla de las  $\gamma$ -lactamas epiméricas (3*aR*,7*aS*)-**63** y (3*aR*,7*aR*)-**62**, con un rendimiento químico del 73% y en una relación diastereoisomérica 3:1, respectivamente; presumiblemente, a través de un proceso de isomerización termodinámico promovido por la base (Esquema 14).<sup>61</sup>



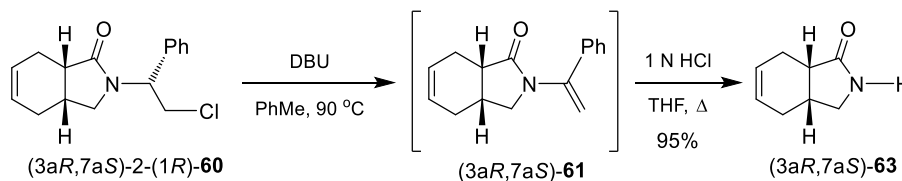
**Esquema 14.**

Lo anterior logró resolverse al modificar las condiciones de reacción asociadas a la etapa de eliminación inducida por la base. Así, el cloruro (3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-**60** se hizo reaccionar con 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), en PhMe a 90 °C durante 1.5 horas,<sup>62</sup> seguido de una hidrólisis ácida, para obtener la  $\gamma$ -lactama (3*aR*,7*aS*)-**63** con un rendimiento químico del 90%. El compuesto (3*aR*,7*aS*)-**63** presentó una rotación específica de  $[\alpha]_D^{20} = -29.10^\circ$  (c 1.0, CHCl<sub>3</sub>) que concuerda con lo descrito previamente en la

<sup>61</sup> Nöth, J.; Frankowski, K. J.; Neuenswander, B.; Aubé, J.; Reiser, O. *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 456–459.

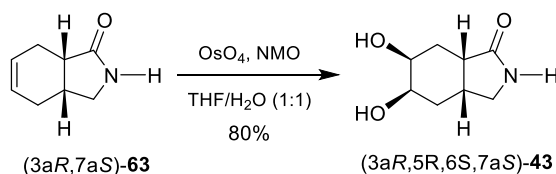
<sup>62</sup> Quick, M. P.; Fröhlich, R.; Schepmann, D.; Wunsch, B. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 7265–7281.

literatura  $\{[\alpha]_D^{25} = -24.0^\circ \text{ (c 0.5, CHCl}_3\text{, 88\% e.e.)}\}$ , confirmando así la asignación de la configuración absoluta en (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**58a** (Esquema 15).<sup>49c</sup>



**Esquema 15.**

La dihidroxilación de la  $\gamma$ -lactama (3*aR*,7*aS*)-**63** se realizó por reacción con óxido de la *N*-metilmorfolina (NMO) y cantidades catalíticas de tetraóxido de osmio (OsO<sub>4</sub>), en una mezcla de THF/H<sub>2</sub>O durante 4 horas, obteniendo diastereoselectivamente la octahidroisindolona (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-**43** con un rendimiento químico del 80% (Esquema 16).<sup>63</sup>



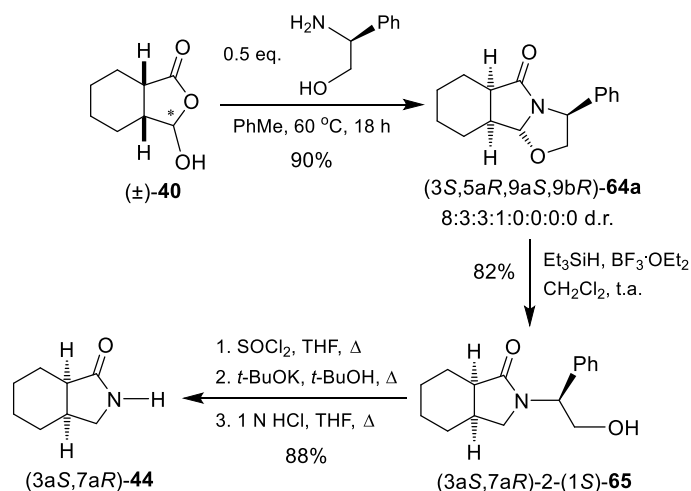
**Esquema 16.**

Por otro lado, con la finalidad de preparar los enantiómeros de las octahidroisindolonas (3*aR*,7*aS*)-**42** y (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-**43**, se utilizaron las condiciones ya optimizadas, pero haciendo uso del reactivo quiral de configuración opuesta, el (*S*)-fenilgicinol. Por lo tanto, la hidroxilactona ( $\pm$ )-**40** se hizo reaccionar con 0.5 equivalentes de (*S*)-fenilgicinol, obteniendo las  $\gamma$ -lactamas tricíclicas **64a-d** con un rendimiento químico del 90% y una relación diastereoisomérica de 8:3:1:1, aislando el compuesto (3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-**64a** en forma diastereoisoméricamente pura con un rendimiento químico del 55%. A continuación, se realizó la apertura reductiva del anillo de la oxazolidina por tratamiento con Et<sub>3</sub>SiH y

<sup>63</sup> Amon, T.; Irifune, Y.; Tanaka, T.; Yoshimitsu, T. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2674–2677.

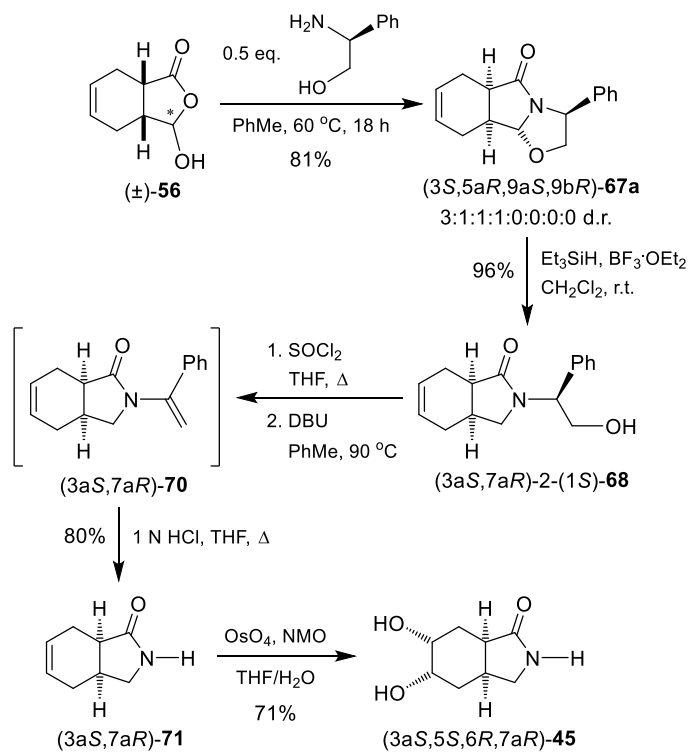


BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, generando la  $\gamma$ -lactama bicíclica (3*aS*,7*aR*)-2-(1*S*)-**65** con un rendimiento químico del 82%. Finalmente, utilizando las condiciones optimizadas, se eliminó satisfactoriamente el fragmento del fenilglicinol, a través de la generación e hidrólisis de la enamina intermediaria, obteniendo el enantiómero (3*aS*,7*aR*)-**44** con un rendimiento del 88% a partir de (3*aS*,7*aR*)-2-(1*S*)-**65** (Esquema 17).



**Esquema 17**

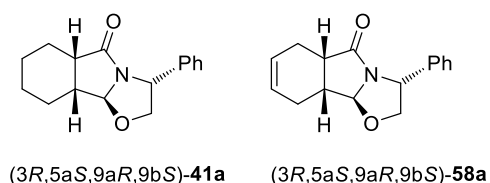
Así mismo, se llevó a cabo la reacción de la hidroxilactona ( $\pm$ )-**56** con 0.5 equivalentes de (*S*)-fenilglicinol en PhMe a 60 °C, obteniendo las  $\gamma$ -lactamas tricíclicas **67a-d** con un rendimiento químico del 90% y una relación diastereoisomérica de 8:3:1:1, aislando la lactama de interés (3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-**67a** con un rendimiento químico del 41%. A continuación, se realizó la apertura del anillo de oxazolidina a través del tratamiento con Et<sub>3</sub>SiH y BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, generando la  $\gamma$ -lactama bicíclica (3*aS*,7*aR*)-2-(1*S*)-**68** con un rendimiento químico del 96%, que, a través de la secuencia optimizada de halogenación,  $\beta$ -eliminación e hidrólisis de la enamina intermediaria, permitió remover el fragmento del fenilglicinol, dando lugar al compuesto (3*aS*,7*aR*)-**71** con un rendimiento químico del 80% a partir de (3*aS*,7*aR*)-2-(1*S*)-**68**. Posteriormente, la reacción de dihidroxilación de (3*aS*,7*aR*)-**71** con OsO<sub>4</sub> y NMO en una mezcla de THF/H<sub>2</sub>O, proporcionó la octahidroisindolona (3*aS*,5*aS*,6*R*,7*aR*)-**45** en su forma enantioméricamente pura con un rendimiento químico del 71% (Esquema 18).



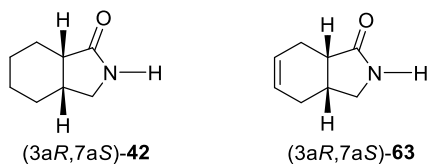
**Esquema 18**

## 2.5. Conclusiones

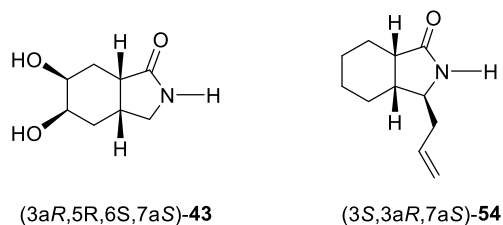
**2.5.1.** Se logró desarrollar un método eficiente para la síntesis de lactamas tricíclicas enantioméricamente puras a partir de la correspondiente hidroxilactona y un aminoalcohol quiral, a través de un proceso de resolución cinética, generando las oxazoloisindolonas (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** y (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**58a**.



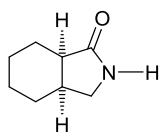
**2.5.2.** Se removió el auxiliar quiral sin afectar la integridad de los centros estereogénicos, aislando las octahidroisindolonas (3*aR*,7*aS*)-**42** y (3*aR*,7*aS*)-**63**.



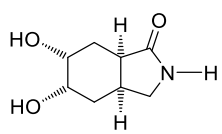
**2.5.3.** Se aprovechó la arquitectura de los intermediarios sintetizados (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** y (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**58a**, para realizar transformaciones estereoselectivas y obtener las octahidroisindolonas (3*S*,3*aR*,7*aS*)-**54** y (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-**43**, respectivamente.



**2.5.3.** Se logró extender la metodología optimizada para la obtención de las estructuras enantioméricas (3*aS*,7*aR*)-**44** y (3*aS*,5*S*,6*R*,7*aR*)-**45**, haciendo uso del reactivo quiral de configuración opuesta [(*S*)-fenilglicinol].



(3aS,7aR)-44



(3aS,5S,6R,7aR)-45

### 3. Parte experimental

#### 3.1. Información general

Los reactivos utilizados se adquirieron de Sigma-Aldrich y no se manipularon de ninguna forma antes de su uso. El material para las reacciones en condiciones anhidras fue secado con antelación. Por otro lado, los disolventes usados en condiciones anhidras tuvieron un tratamiento; el disolvente THF se secó con sodio metálico y benzofenona como indicador, mientras que las reacciones que utilizaron  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  se removi6 la humedad remanente con  $\text{CaH}_2$ .

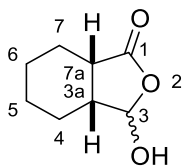
La purificación de los productos obtenidos se llev6 a cabo por cromatografía en columna flash, empleando como fase estacionaria gel de sílice Merck 60® (malla 230-400). Las reacciones se monitorearon por cromatografía en capa fina usando cromatofolios 60 F<sub>254</sub> de Merck y como reveladores se utilizaron radiación ultravioleta (254 nm), vapores de  $\text{I}_2$ , o disolución de  $\text{KMnO}_4/\text{K}_2\text{CO}_3/\text{NaOH}/\text{H}_2\text{O}$ .

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Johns utilizando cubreobjetos y no están corregidos. Los experimentos de resonancia magnética nuclear (RMN) se determinaron en los espectrofotómetros Varian Mercury 200 MHz para  $^1\text{H}$ , en un INOVA 400 MHz para  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , en un Bruker Avance III HD 500 MHz para  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y en un JOEL 600 MHz para  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ . Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) se reportaron en partes por millón (ppm) con respecto a la referencia interna tetrametilsilano (TMS) o las señales residuales del disolvente como metanol deuterado para  $^1\text{H}$ ; las constantes de acoplamiento ( $J$ ) se reportan en Hertz (Hz). La multiplicidad de las señales se denota con los siguientes símbolos: sa (señal ancha), s (singlete), d (doblete), dd (doble de doble), ddd (doble de doble de doble), dddd (doble de doble de doble de doble), ddddd (doble de doble de doble de doble de doble), t (triplete), dt (doble de triples), m (multiplete), q (cuádruplete), quin (quíntuplete),  $\text{H}_{\text{arom}}$  (señales de prot6n en un anillo aromático). Las rotaciones 6pticas fueron medidas a temperatura ambiente en un polarímetro Perkin-Elmer 341 y los valores de rotación específica  $[\alpha]_D^{20}$  son dados en  $\text{deg}\cdot\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dm}^{-1}$ . Se utilizaron  $\text{CDCl}_3$ , MeOD y  $\text{D}_2\text{O}$  como disolventes deuterados durante el análisis de RMN.

Los análisis de masas de alta resolución se determinaron en un equipo JEOL HM-MStation MS-700. Las técnicas de ionización fueron por bombardeo de átomos rápidos ( $\text{FAB}^+$ ) que

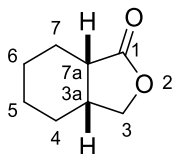
utiliza una matriz de alcohol 3-nitrobencílico y la ionización química ( $\text{Cl}^+$ ) con metano a 250 °C. Las estructuras de rayos X se adquirieron en un equipo Bruker D8 con detector PHOTON II CPAD.

## 4. Métodos sintéticos



### 4.1. (±)-3-Hidroxihexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona **40**.

En un matraz redondo de 50 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno, se colocaron 0.25 g (1.62 mmol) del anhidrido *cis*-ciclohexanodicarboxílico **39** en 7 mL de THF anhidro y se enfrió a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  en un baño de acetona/ $\text{CO}_2$ . Entonces, se le adicionó gota a gota una disolución de 14 mL de THF que contenía 0.64 g (2.12 mmol) de  $\text{LiAlH}(\text{O}t\text{-Bu})_3$  a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  a través de una cánula. Después de la adición, la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 6 horas. Al transcurrir el tiempo de reacción, se le adicionó lentamente una disolución 1.0 N HCl hasta disolver el precipitado de la mezcla de reacción, y se dejó calentar a temperatura ambiente con agitación durante 12 horas. Transcurrido este tiempo, se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $4 \times 15\text{ mL}$ ), se combinaron las fases orgánicas resultantes, se lavaron con salmuera ( $1 \times 15\text{ mL}$ ), y la fase orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. Se filtró y removió el disolvente bajo presión reducida, produciendo un aceite amarillo que fue purificado por cromatografía en columna, utilizando como eluyente una mezcla de AcOEt/Hexano (1:1) para aislar la (±)-3-hidroxihexanohidroisobenzofuran-1(3H)-ona **40** (0.22 g, 87%) como un sólido blanco. p.f.  $78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . **RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88-1.31 (m, 3H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.51-1.72 (m, 3H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.79-1.96 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.00-2.21 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.32-2.48 (m, 1H, H-3a), 2.94-3.04 (m, 1H, H-7a), 4.04 (sa, 1H, OH), 5.30-5.60 (m, 1H, H-3) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.8 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.2 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 25.8 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 37.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 41.6 (C-7a), 51.0 (C-3a), 101.0 (C-3), 178.7 (C=O) ppm. HRMS ( $\text{CI}^+$ ): calculado para  $\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  157.0865; encontrado  $m/z$  157.0867.



#### 4.2. (3aR,7aS)-Hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona 46.

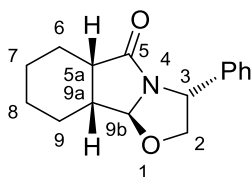
En un matraz redondo de 25 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno, se colocaron 0.308 g (2.00 mmol) del anhídrido *cis*-ciclohexanodicarboxílico **39** en 6 mL de una mezcla MeOH/H<sub>2</sub>O, seguido de la adición de 0.227 g (6.00 mmol) de NaBH<sub>4</sub> en un baño de acetona a -50 °C durante 4 horas. Al terminar el tiempo de reacción, la mezcla de reacción se filtró y se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se diluyó en 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se lavó con 3 mL de una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (ac) y una disolución saturada de NaCl (5 mL), posteriormente se secó la fase orgánica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó la fase orgánica a presión reducida, obteniendo un aceite amarillo que fue purificado por cromatografía en columna, utilizando como eluyente una mezcla de AcOEt/Hexano (3:7) para aislar (3aR,7aS)-hexahidroisobenzofuran-1(3H)-ona **46** (0.193 g, 62%) como un aceite transparente. **RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.15-1.31 (m, 3H, H-5, H-4), 1.52-1.70 (m, 3H, H-6, H-7), 1.75-1.86 (m, 1H, H-4), 2.05-2.15 (m, 1H, H-7), 2.43-2.50 (m, 1H, H-3a), 2.64 (ddd, *J* = 6.5, 6.4, 3.0 Hz, 1H, H-7a) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 22.5 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 22.9 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.4 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 27.2 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 35.4 (C-3a), 39.5 (C-7a), 178.5 (C=O) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 141.0910; encontrado *m/z* 141.0916.

#### 4.3. 3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5aH)-onas 41a-d.

En un matraz redondo de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se agregaron 0.087 g (0.64 mmol) de (*R*)-Fenilglicinol a una disolución que contenía 0.2 g (1.28 mmol) de (±)-3-hidroxihexanohidroisobenzofuran-1(3H)-ona **44** en 12 mL de PhMe. La mezcla de reacción se calentó a 60 °C en un baño de aceite durante 18 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y se concentró bajo presión reducida. Mediante el análisis de espectroscopía de <sup>1</sup>H RMN del crudo de reacción, se determinó que la mezcla de reacción tenía cuatro diastereoisómeros **41a-d** con un radio diastereoisomérico

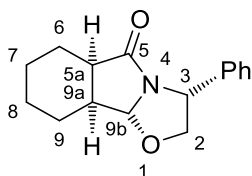


de 8:3:1:1, respectivamente. Posteriormente, se purificó el crudo de reacción por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt/Hexano (85:15) hasta AcOEt/Hexano (7:3), obteniendo cuatro  $\gamma$ -lactamas tricíclicas (desde la menos polar hasta la más polar): **41d**, **41b**, **41c** y **41a** (0.147 g, 90%).



#### 4.3.1. (3R,5aS,9aR,9bS)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5a*H*)-ona **41a**.

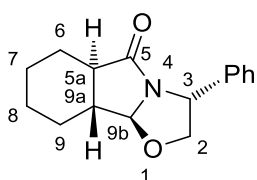
El aceite amarillo se logró cristalizar por evaporación lenta en una disolución de EtOH/hexano (1:3), obteniendo un sólido cristalino transparente. p.f. 109-111°.  $[\alpha]_D^{20} = -124.26$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.29-1.41 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.45-1.56 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.56-1.80 (m, 5H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.94-2.08 (m, 1H, H-6), 2.46 (dddd,  $J = 7.8, 5.1, 5.1, 4.3$  Hz, 1H, H-9a), 2.67 (ddd,  $J = 9.2, 7.8, 6.5$  Hz, 1H, H-5a), 3.90 (dd,  $J = 8.7, 6.7$  Hz, 1H, H-2), 4.55 (dd,  $J = 8.7, 7.4$  Hz, 1H, H-2), 5.10 (dd,  $J = 7.0, 6.7$  Hz, 1H, H-3), 5.15 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H, H-9b), 7.22-7.30 (m, 3H, H-Ar), 7.32-7.38 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.2 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 24.9 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 26.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 39.2 (C-9a), 45.0 (C-5a), 57.7 (C-3), 75.5 (C-2), 95.4 (C-9b), 125.9 (C-Ar), 127.8 (C-Ar), 129.0 (C-Ar), 139.8 (C-Ar), 181.5 (C=O) ppm. HRMS ( $\text{CI}^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1497.



#### 4.3.2. (3R,5aR,9aS,9bR)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5a*H*)-ona **41b**.

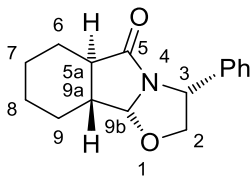
Sólido blanco. p.f. 107-109 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -236.07$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.03-1.19 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.25 (dddd,  $J = 12.8, 12.8, 12.8, 3.4, 3.4$  Hz, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.43 (dddd,  $J = 14.0, 12.8, 6.1, 4.6$  Hz, 1H, H-6), 1.54-1.62

(m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.68-1.81 (m, 2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.11-2.18 (m, 1H, H-6), 2.67 (dddd,  $J = 11.3, 5.6, 5.5, 5.1$  Hz, 1H, H-9a), 2.94-3.04 (m, 1H, H-5a), 4.02 (dd,  $J = 8.6, 6.3$  Hz, 1H, H-2), 4.55 (dd,  $J = 8.6, 7.1$  Hz, 1H, H-2), 5.05 (dd,  $J = 7.1, 6.3$  Hz, 1H, H-3), 5.49 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H, H-9b), 7.25-7.30 (m, 3H, H-Ar), 7.31-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  22.5 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 22.7 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 22.8 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.5 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 40.8 (C-9a), 44.2 (C-5a), 56.5 (C-3), 76.6 (C-2), 93.0 (C-9b), 126.2 (C-Ar), 127.8 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 139.6 (C-Ar), 175.8 (C=O) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>): calculado para C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1497.



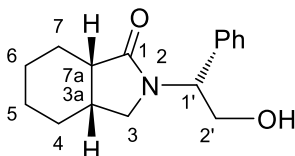
#### 4.3.3. (3R,5aR,9aR,9bS)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 41c.

El sólido blanco se logró cristalizar por evaporación lenta en una disolución de AcOEt/hexano (1:3), obteniendo un sólido cristalino transparente. p.f. 103-104 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -139.12$  ( $c = 1.0$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). **RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.17-1.47 (m, 4H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.78 (dddd,  $J = 13.2, 11.9, 6.6, 3.2$  Hz, 1H, H-9a), 1.82-1.89 (m, 2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.08-2.17 (m, 2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.40 (ddd,  $J = 13.4, 12.1, 3.3$  Hz, 1H, H-5a), 4.01 (dd,  $J = 8.8, 6.0$  Hz, 1H, H-2), 4.50 (dd,  $J = 8.8, 6.9$  Hz, 1H, H-2), 5.05 (dd,  $J = 6.9, 6.0$  Hz, 1H, H-3), 5.20 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-9b), 7.23-7.29 (m, 3H, H-Ar), 7.31-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  25.3 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 25.4 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 25.7 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 28.0 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 49.5 (C-9a), 52.0 (C-5a), 56.1 (C-3), 75.9 (C-2), 95.4 (C-9b), 126.1 (C-Ar), 127.8 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 139.6 (C-Ar), 176.5 (C=O) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>): calculado para C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1488.



#### 4.3.4. (3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bR*)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5*aH*)-ona 41d.

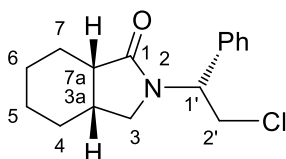
Aceite transparente.  $[\alpha]_D^{20} = -132.90$  ( $c = 0.8$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.22-1.41 (m, 3H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.43-1.55 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.86-1.97 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.98-2.08 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.13 (ddd,  $J = 11.6, 11.4, 3.1$  Hz, 1H, H-5a), 2.22-2.28 (m, 1H, H-9a), 3.81 (dd,  $J = 8.5, 6.4$  Hz, 1H, H-2), 4.51 (dd,  $J = 8.5, 8.3$  Hz, 1H, H-2), 4.93 (d,  $J = 3.8$  Hz, 1H, H-9b), 5.09 (dd,  $J = 8.3, 6.4$  Hz, 1H, H-3), 7.25-7.31 (m, 3H, H-Ar), 7.33-7.38 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  25.9 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 26.2 (2C, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 26.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 41.4 (C-9a), 45.7 (C-5a), 60.4 (C-3), 74.7 (C-2), 93.0 (C-9b), 126.0 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 140.7 (C-Ar), 184.6 (C=O) ppm. HRMS ( $\text{CI}^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1499.



#### 4.4. (3*aR*,7*aS*)-2-((*R*)-2-Hidroxi-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona 48.

En un matraz redondo de 100 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno se adicionaron gota a gota 1.48 g, 2 mL (12.69 mmol) de  $\text{Et}_3\text{SiH}$  y 5.42 g, 4.7 mL (38.22 mmol) de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  a una disolución que contenía 0.66 g (2.56 mmol) de (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** en 20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 6 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se detuvo la reacción por la adición de 10 mL de disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . La mezcla de reacción se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 15$  mL). Se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con salmuera ( $1 \times 5$  mL) y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La mezcla se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente  $\text{AcOEt/Hexano}$  (7:3) para obtener la (3*aR*,7*aS*)-2-((*R*)-2-hidroxi-1-

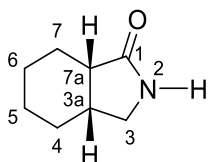
feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **48** (0.668 g, 98%) como un sólido blanco. p.f. 103-104 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -138.90$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.02-1.12 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.13-1.27 (m, 2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.46-1.62 (m, 4H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.00-2.08 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.28 (dddd,  $J = 12.5, 5.9, 3.7, 3.0, 2.3$  Hz, 1H, H-3a), 2.60 (ddd,  $J = 6.6, 6.5, 3.7$  Hz, 1H, H-7a), 2.66 (dd,  $J = 9.6, 2.3$  Hz, 1H, H-3), 3.34 (dd,  $J = 9.6, 5.9$  Hz, 1H, H-3), 3.77 (dd,  $J = 6.6, 4.7$  Hz, 1H, OH), 4.05 (ddd,  $J = 11.8, 4.7, 4.6$  Hz, 1H, H-2'), 4.13 (ddd,  $J = 11.8, 8.8, 6.6$  Hz, 1H, H-2'), 4.98 (dd,  $J = 8.8, 4.6$  Hz, 1H, H-1'), 7.22-7.26 (m, 2H, H-Ar), 7.27-7.31 (m, 1H, H-Ar), 7.32-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN <sup>13</sup>C** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  23.0 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.5 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.7 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 27.9 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 32.7 (C-3a), 42.8 (C-7a), 50.3 (C-3), 60.4 (C-1'), 63.1 (C-2'), 127.6 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 137.3 (C-Ar), 177.4 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>  $m/z$  260.1651; encontrado  $m/z$  260.1617.



#### 4.5. (3a*R*,7a*S*)-2-((*R*)-2-Cloro-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **49**.

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador y bajo atmosfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota 0.2 g, 0.12 mL ( 1.70 mmol) de SOCl<sub>2</sub> a una disolución que contenía 0.22 g (0.84 mmol) de (3a*R*,7a*S*)-2-(1*R*)-**48** en 10 mL de THF anhidro a 0 °C y se dejó en agitación por 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo de THF en baño de aceite durante 1.5 horas. La reacción se finalizó al agregar 2 mL de una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, empleando como eluyente AcOEt/Hexano (3:7) para asilar la (3a*R*,7a*S*)-2-((*R*)-2-cloro-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **49** (0.236 g, 99%) como un sólido blanco. p.f. 104-106 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -121.50$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.91-1.01 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.10-1.23 (m, 2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.43-1.60 (m, 4H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.98-2.09 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.26-2.35 (m, 1H, H-3a), 2.58 (ddd,  $J = 6.5, 6.4,$

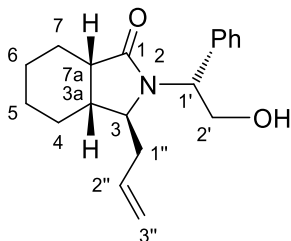
3.6 Hz, 1H, H-7a), 2.67 (dd,  $J = 9.1, 2.3$  Hz, 1H, H-3), 3.38 (dd,  $J = 9.1, 5.9$  Hz, 1H, H-3), 3.98 (dd,  $J = 11.4, 5.7$  Hz, 1H, H-2'), 4.07 (dd,  $J = 11.4, 9.7$  Hz, 1H, H-2'), 5.45 (dd,  $J = 9.7, 5.7$  Hz, 1H, H-1'), 7.28-7.40 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  23.1 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.7 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 27.8 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 32.6 (C-3a), 42.1 (C-7a), 43.2 (C-2'), 47.7 (C-3), 56.3 (C-1'), 127.6 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 137.0 (C-Ar), 176.4 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{ClNO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  278.1312; encontrado  $m/z$  278.1305.



#### 4.6. (3aR,7aS)-Octahidro-1H-isoindol-1-ona **42**.

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se colocaron 0.065 g (0.57 mmol) de *t*-BuOK a una disolución que contenía 0.08 g (0.28 mmol) de (3aR,7aS)-2-(1R)-**49** en 2 mL de *t*-BuOH. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de *t*-BuOH durante 2.5 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El sólido resultante se disolvió en 3 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10$  mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para obtener un aceite transparente. Posteriormente, en un matraz de 50 mL provisto de un agitador magnético y un condensador, se disolvió el aceite en 4 mL de THF y 1 mL de 1.0 N HCl. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de THF durante 2 horas. Después se dejó enfriar, y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. Así, el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt para aislar (3aR,7aS)-octahidro-1H-isoindol-1-ona **42** (0.031 g, 94%) como un sólido blanco. p.f. 95-97 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +18.04$  ( $c = 1.0, \text{CH}_2\text{Cl}_2$ ). **RMN**  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.17-1.40 (m, 3H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.46-1.63 (m, 3H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.66-1.75 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.96-2.06 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.32-2.50 (m, 2H, H-3a, H-7a), 2.95 (ddd,  $J = 9.4, 1.9, 1.9$  Hz, 1H, H-3), 3.37 (dd,  $J = 9.4, 5.5$  Hz, 1H, H-3), 6.44 (sa, 1H, NH) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  23.1

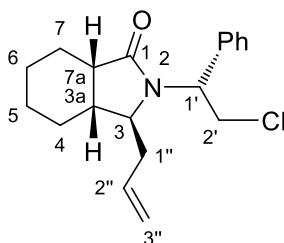
(ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.3 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.8 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 27.9 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 35.0 (C-3a), 41.1 (C-7a), 46.4 (C-3), 179.9 (C=O) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>NO [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 140.1075; encontrado *m/z* 140.1075.



#### 4.7. (3*S*,3*aR*,7*aS*)-3-Alil-2-((*R*)-2-hidroxi-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **52**.

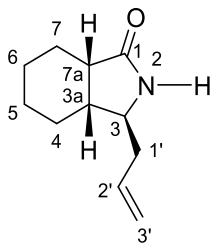
En un matraz redondo de 50 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno se adicionaron gota a gota 0.44 g, 0.62 mL (3.85 mmol) de aliltrimetilsilano y 51.64 g, 1.43 mL (11.58 mmol) de BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> a una disolución que contenía 0.2 g (0.77 mmol) de (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**41a** en 5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 20 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se detuvo la reacción por la adición de 10 mL de disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla de reacción se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 15 mL). Se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con salmuera (1 × 5 mL) y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La mezcla se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente AcOEt/Hexano (1:1) para obtener la (3*S*,3*aR*,7*aS*)-3-alil-2-((*R*)-2-hidroxi-1-fenyletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **52** (0.22 g, 95%) como un sólido café claro. p.f. 105-106 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +82.98 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>). **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.95-1.20 (m, 3H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.38-1.52 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.52-1.63 (m, 3H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.05-2.23 (m, 4H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>, H-3a, H-7a, H-1''), 2.78 (ddd, *J* = 6.5, 6.4, 2.3 Hz, 1H, H-3), 2.86-2.91 (m, 1H, H-1''), 4.08 (dd, *J* = 11.5, 4.7 Hz, 1H, H-2'), 4.24 (dd, *J* = 11.5, 7.8 Hz, 1H, H-2'), 4.82 (dd, *J* = 7.8, 4.7 Hz, 1H, H-1'), 4.92-5.04 (m, 2H, H-3''), 5.59 (dddd, *J* = 17.0, 10.3, 6.9, 6.9 Hz, 1H, H-2''), 7.25-7.37 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23.1 (2C, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 24.0 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 29.1 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 36.5 (C-1''), 37.0 (C-3a), 40.0 (C-7a), 62.1 (C-3), 64.4 (C-1'), 65.6 (C-2'), 118.0 (C-3''), 127.9 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 134.1 (C-2''), 137.7 (C-Ar), 177.4 (C=O)

ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 300.1964; encontrado *m/z* 300.1970.



#### 4.8. (3*S*,3*aR*,7*aS*)-3-Alil-2-((*R*)-2-cloro-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **53**.

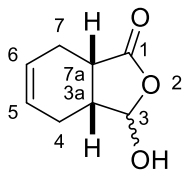
En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético, un condensador y bajo atmosfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota 0.139 g, 0.08 mL (1.17 mmol) de SOCl<sub>2</sub> a una disolución que contenía 0.176 g (0.58 mmol) de (3*S*,3*aR*,7*aS*)-2-((*R*)-**52** en 6 mL de THF anhidro a 0 °C y se dejó en agitación por 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de THF durante 1.5 horas. La reacción se finalizó al agregar 2 mL de una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, empleando como eluyente AcOEt/Hexano (3:7) para aislar la (3*S*,3*aR*,7*aS*)-3-alilo-2-((*R*)-2-cloro-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **53** (0.186 g, 99%) como un aceite transparente. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +75.65 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>). **RMN** <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.06-1.23 (m, 3H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.39-1.49 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.51-1.63 (m, 3H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.07-2.23 (m, 4H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>, H-3*a*, H-7*a*, H-1''), 2.70 (ddd, *J* = 6.6, 6.6, 2.4 Hz, 1H, H-3), 2.94-2.98 (m, 1H, H-1''), 3.86 (dd, *J* = 11.0, 6.4 Hz, 1H, H-2'), 4.67 (dd, *J* = 11.0, 9.4 Hz, 1H, H-2''), 4.84 (dd, *J* = 9.4, 6.4 Hz, 1H, H-1'), 4.96 (dd, *J* = 17.1, 1.6 Hz, 1H, H-3''), 5.01 (dd, *J* = 10.3, 1.6 Hz, 1H, H-3''), 5.59 (dddd, *J* = 17.1, 10.3, 7.4, 6.5 Hz, 1H, H-2''), 7.29-7.44 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23.2 (2C, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 24.1 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 29.0 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 36.9 (C-1''), 37.2 (C-3*a*), 40.2 (C-7*a*), 44.5 (C-2''), 61.8 (C-3), 65.6 (C-1'), 118.2 (C-3''), 128.1 (C-Ar), 128.4 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 134.0 (C-2''), 138.0 (C-Ar), 176.4 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>ClNO [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 318.1625; found *m/z* 318.1625.



#### 4.9. (3S,3aR,7aS)-3-Aliloctahidro-1H-isoindol-1-ona **54**.

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se colocaron 0.1 g (0.44 mmol) de *t*-BuOK a una disolución que contenía 0.14 g (0.44 mmol) de (3*S*,3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-**53** en 2 mL de *t*-BuOH. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de *t*-BuOH durante 2.5 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El sólido resultante se disolvió en 3 mL de H<sub>2</sub>O y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para obtener un aceite transparente. Posteriormente, en un matraz de 50 mL provisto de un agitador magnético y un condensador, se disolvió el aceite en 4 mL de THF y 1 mL de 1.0 N HCl. La mezcla de reacción se calentó a en un baño de aceite temperatura de reflujo de THF durante 2 horas. Después se dejó enfriar, y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. Así, el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluyente Hexano/*i*-PrOH (9:1) para aislar (3*S*,3*aR*,7*aS*)-3-aliloctahidro-1*H*-isoindol-1-ona **54** (0.072 g, 92%) como un sólido blanco. p.f. 40-41 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -3.05$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>). **RMN <sup>1</sup>H** (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.25-1.56 (m, 5H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.59-1.69 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.68-1.75 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.84-1.91 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.06-2.20 (m, 2H, H-3a, H-1'), 2.29-2.39 (m, 1H, H-1'), 2.51 (ddd,  $J = 6.3, 6.3, 6.3$  Hz, 1H, H-7a), 3.21-3.27 (m, 1H, H-3), 5.09-5.12 (m, 1H, H-3'), 5.13 (t,  $J = 1.2, 1.2$  Hz, 1H, H-3'), 5.70-5.81 (m, 2H, NH, H-2') ppm. **RMN <sup>13</sup>C** (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  23.3 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.5 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.7 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 27.6 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 38.6 (C-1'), 39.4 (C-3a), 39.9 (C-7a), 57.3 (C-3), 118.2 (C-3'), 134.4 (C-2'), 179.2 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>  $m/z$  180.1388; encontrado  $m/z$  180.1371.





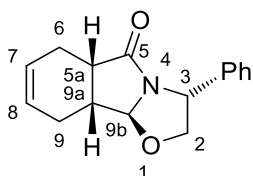
#### 4.10. (±)-3-Hidroxi-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1(3H)-ona **56**.

En un matraz redondo de 250 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno, se colocaron 1.0 g (6.57 mmol) del anhídrido *cis*-1,2,3,6-Tetrahidroftálico **55** en 80 mL de THF anhidro y se enfrió a -78 °C en un baño de acetona/CO<sub>2</sub>. Entonces, se le adicionó gota a gota una disolución de 60 mL de THF que contenía 2.19 g (8.61 mmol) de LiAlH(O*t*-Bu)<sub>3</sub> a -78 °C a través de una cánula, y la mezcla de reacción se dejó en agitación durante 6 horas. Al transcurrir el tiempo de reacción, se le adicionó lentamente una disolución 1.0 N HCl hasta disolver el precipitado de la mezcla de reacción, y se dejó calentar a temperatura ambiente con agitación durante 12 horas. Transcurrido este tiempo, se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 × 60 mL), se combinaron las fases orgánicas resultantes, se lavaron con salmuera (1x50 mL), y la fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Se filtró y removió el disolvente bajo presión reducida, produciendo un aceite amarillo que fue purificado por cromatografía en columna, utilizando como eluyente una mezcla de AcOEt/Hexano (1:1) para aislar el (±)-3-hidroxi-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1(3H)-ona **56** (0.334 g, 33%) como un aceite transparente. **RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.26-2.42 (m, 3H, H-4, H-7), 2.43-2.54 (m, 1H, H-7), 2.61-2.74 (m, 1H, H-3a), 3.04-3.17 (m, 1H, H-7a), 5.70-5.77 (m, 3H, H-3, H-5, H-6) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23.0 (C-4, C-7), 36.5 (C-3a, C-7a), 102.2 (C-3), 124.7 (C-6), 125.7 (C-5), 179.3 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 155.0708; encontrado *m/z* 155.0699.

#### 4.11. 3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5aH)-onas **58a-d**.

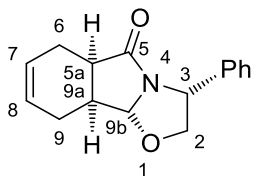
En un matraz redondo de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se agregaron 0.132 g (0.96 mmol) de (*R*)-Fenilglicinol a una disolución que contenía 0.297 g (1.92 mmol) de (±)-3-hidroxi-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1(3H)-ona **56** en 12 mL de PhMe. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a 60 °C durante 18 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y se concentró bajo presión reducida. Mediante el análisis de espectroscopía de <sup>1</sup>H RMN del crudo de reacción, se

determinó que la mezcla de reacción tenía cuatro diastereómeros **58a-d** con un radio diastereoisomérico de 3:1:1:1, respectivamente. Posteriormente, se purificó el crudo de reacción por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt/Hexano (85:15) hasta AcOEt/Hexano (7:3), obteniendo cuatro  $\gamma$ -lactamas tricíclicas (desde la menos polar hasta la más polar): **58d**, **58b**, **58c** y **58a** (0.206 g, 81%).



**4.11.1. (3R,5aS,9aR,9bS)-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 58a.**

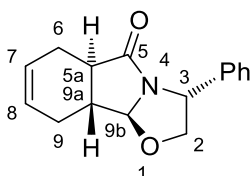
Aceite transparente.  $[\alpha]_D^{20} = -39.33$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.26-2.33 (m, 2H, H-9), 2.33-2.42 (m, 2H, H-6), 2.72 (dddd,  $J = 9.5, 6.6, 3.6, 3.1$  Hz, 1H, H-9a), 2.96 (ddd,  $J = 9.4, 7.6, 5.8$  Hz, 1H, H-5a), 3.80 (dd,  $J = 8.7, 6.9$  Hz, 1H, H-2), 4.54 (dd,  $J = 8.7, 7.6$  Hz, 1H, H-2), 4.90 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, H-9b), 5.11 (dd,  $J = 7.6, 6.9$  Hz, 1H, H-3), 5.85-6.06 (m, 2H, H-7, H-8), 7.15-7.41 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  24.5 (C-6), 25.0 (C-9), 37.8 (C-9a), 43.3 (C-5a), 57.9 (C-3), 74.8 (C-2), 98.4 (C-9b), 125.9 (C-Ar), 126.7 (C-7), 127.7 (C-Ar), 128.1 (C-8), 128.9 (C-Ar), 139.8 (C-Ar), 181.9 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1343.



**4.11.2. (3R,5aR,9aS,9bR)-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 58b.**

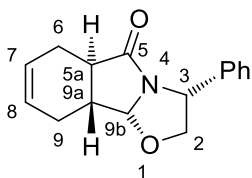
Sólido blanco. p.f. 82-83 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -102.73$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.92-2.15 (m, 2H, H-9), 2.15-2.27 (m, 1H, H-6), 2.49-2.60 (m, 1H, H-6), 2.78-2.90 (m, 1H, H-9a), 3.15 (ddd,  $J = 8.1, 8.0, 2.8$  Hz, 1H, H-5a), 3.98 (dd,  $J = 8.7, 6.6$  Hz, 1H, H-2), 4.53 (dd,  $J = 8.7, 7.2$  Hz, 1H, H-2), 5.05 (dd,  $J = 7.2, 6.6$  Hz, 1H, H-3), 5.51 (d,  $J = 5.4$

Hz, 1H, H-9b), 5.71-5.86 (m, 2H, H-7, H-8), 7.24-7.31 (m, 3H, H-Ar), 7.31-7.38 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  20.0 (C-6), 21.8 (C-9), 36.5 (C-9a), 42.5 (C-5a), 57.0 (C-3), 75.9 (C-2), 93.4 (C-9b), 125.8, 126.1 (2C), 127.9, 129.0, 139.5, 177.7 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1343.



**4.11.3. (3R,5aR,9aR,9bS)-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 58c.**

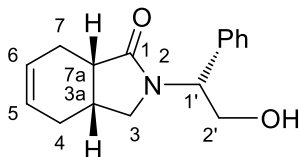
Sólido blanco. p.f. 97-99 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -255.47$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN**  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.06 (dddd,  $J = 13.5, 11.2, 6.3, 5.0$  Hz, 1H, H-9a), 2.18-2.30 (m, 2H, H-9), 2.35-2.52 (m, 2H, H-6), 2.72 (ddd,  $J = 13.3, 11.2, 5.4$  Hz, 1H, H-5a), 4.02 (dd,  $J = 8.8, 6.2$  Hz, 1H, H-2), 4.54 (dd,  $J = 8.8, 7.0$  Hz, 1H, H-2), 5.08 (dd,  $J = 7.0, 6.2$  Hz, 1H, H-3), 5.27 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-9b), 5.67-5.81 (m, 2H, H-7, H-8), 7.25-7.31 (m, 3H, H-Ar), 7.32-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  25.7 (C-6), 28.3 (C-9), 45.5 (C-9a), 46.9 (C-5a), 56.2 (C-3), 76.0 (C-2), 95.9 (C-9b), 126.1, 126.2, 126.7, 127.8, 128.9, 139.4, 176.2 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1343.



**4.11.4. (3R,5aR,9aR,9bR)-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 58d.**

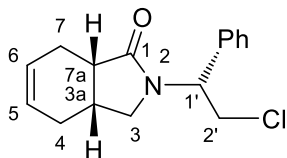
Aceite transparente.  $[\alpha]_D^{20} = -20.87$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN**  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.15-2.62 (m, 6H, H-5a, H-6, H-9, H-9a), 3.83 (dd,  $J = 8.5, 6.4$  Hz, 1H, H-2), 4.53 (dd,  $J = 8.5, 8.1$  Hz, 1H, H-2), 5.03 (d,  $J = 3.7$  Hz, 1H, H-9b), 5.14 (dd,  $J = 8.1, 6.4$  Hz, 1H, H-3), 5.75-5.85 (m, 2H, H-7, H-8), 7.24-7.32 (m, 3H, H-Ar), 7.33-7.40 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN**

$^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  26.2 (C-6), 26.3 (C-9), 37.2 (C-9a), 41.9 (C-5a), 60.5 (C-3), 74.6 (C-2), 92.6 (C-9b), 125.9, 126.9, 127.4, 127.7, 129.0, 140.6, 184.2 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1343.



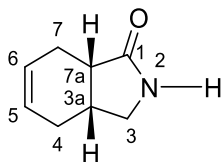
#### 4.12. (3aR,7aS)-2-((R)-2-Hidroxi-1-feniletíl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1H-isoindol-1-ona **59**.

En un matraz redondo de 50 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno se adicionaron gota a gota 0.36 g, 0.49 mL (3.08 mmol) de  $\text{Et}_3\text{SiH}$  y 1.31 g, 1.14 mL (9.25 mmol) de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  a una disolución que contenía 0.16 g (0.61 mmol) de (3R,5aS,9aR,9bS)-**58a** en 5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 6 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se detuvo la reacción por la adición de 10 mL de disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . La mezcla de reacción se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3  $\times$  15 mL). Se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con salmuera (1  $\times$  5 mL) y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La mezcla se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente  $\text{AcOEt}/\text{Hexano}$  (7:3) para obtener la (3aR,7aS)-2-((R)-2-hidroxi-1-feniletíl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1H-isoindol-1-ona **59** (0.15 g, 94%) como un sólido blanco. p.f. 109-111  $^\circ\text{C}$ .  $[\alpha]_D^{20} = -207.70$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.56-1.70 (m, 1H, H-4), 1.98-2.12 (m, 1H, H-4), 2.23-2.52 (m, 3H, H-7, H-3a), 2.72 (dd,  $J = 9.5, 2.5$  Hz, 1H, H-3), 2.77 (ddd,  $J = 8.6, 7.6, 3.0$  Hz, 1H, H-7a), 3.48 (dd,  $J = 9.5, 6.0$  Hz, 1H, H-3), 3.93 (sa, 1H, OH), 4.02-4.17 (m, 2H, H-2'), 5.08 (dd,  $J = 8.4, 5.3$  Hz, 1H, H-1'), 5.62-5.70 (m, 1H, H-5), 5.70-5.80 (m, 1H, H-6), 7.20-7.37 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.1 (C-7), 25.8 (C-4), 29.4 (C-3a), 40.4 (C-7a), 50.8 (C-3), 59.3 (C-1'), 62.5 (C-2'), 125.4 (C-6), 126.1 (C-5), 127.6 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 137.1 (C-Ar), 177.9 (C=O) ppm. HRMS (CI $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1493.



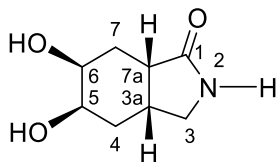
**4.13. (3aR,7aS)-2-((R)-2-Cloro-1-feniletíl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1H-isoindol-1-ona 60.**

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador y bajo atmosfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota 0.124 g, 0.076 mL (1.04 mmol) de  $\text{SOCl}_2$  a una disolución que contenía 0.135 g (0.52 mmol) de (3aR,7aS)-2-(1R)-**59** en 6 mL de THF anhidro a 0 °C y se dejó en agitación por 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de THF durante 1.5 horas. La reacción se finalizó al agregar 2 mL de una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3 × 10 mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, empleando como eluyente AcOEt/Hexano (3:7) para aislar la ((3aR,7aS)-2-((R)-2-cloro-1-feniletíl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1H-isoindol-1-ona **60** (0.138 g, 95%) como un sólido blanco. p.f. 110-112 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -120.33$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.47-1.60 (m, 1H, H-4), 1.93-2.09 (m, 1H, H-4), 2.21-2.36 (m, 1H, H-7), 2.38-2.55 (m, 2H, H-7, H-3a), 2.68-2.80 (m, 2H, H-3, H-7a), 3.49 (dd,  $J = 9.1, 5.9$  Hz, 1H, H-3), 3.99 (dd,  $J = 11.4, 5.8$  Hz, 1H, H-2'), 4.06 (dd,  $J = 11.4, 9.7$  Hz, 1H, H-2'), 5.46 (dd,  $J = 9.7, 5.8$  Hz, 1H, H-1'), 5.57-5.67 (m, 1H, H-5), 5.68-5.78 (m, 1H, H-6), 7.21-7.43 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.0 (C-7), 25.6 (C-4), 29.3 (C-3a), 39.8 (C-7a), 43.1 (C-2'), 48.7 (C-3), 56.2 (C-1'), 125.1 (C-6), 126.0 (C-5), 127.4 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 136.8 (C-Ar), 176.9 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{ClNO}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  276.1155; encontrado  $m/z$  276.1155.



#### 4.14. (3aR,7aS)-2,3,3a,4,7,7a-Hexahidro-1H-isoindol-1-ona **63**.

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se colocaron 0.06 g (0.39 mmol) de DBU a una disolución que contenía 0.09 g (0.32 mmol) de (3aR,7aS)-2-(1R)-**60** en 2 mL de PhMe. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a 90 °C durante 1.5 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El sólido resultante se disolvió en 3 mL de H<sub>2</sub>O y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para obtener un aceite transparente. Posteriormente, en un matraz de 50 mL provisto de un agitador magnético y un condensador, se disolvió el aceite en 4 mL de THF y 1 mL de 1.0 N HCl. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de THF durante 2 horas. Después se dejó enfriar, y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. Así, el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt para aislar (3aR,7aS)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1H-isoindol-1-ona **63** (0.043 g, 95%) como un sólido blanco. p.f. 112-114 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -29.10$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>). **RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.84-1.98 (m, 1H, ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.16-2.34 (m, 2H, ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.38-2.49 (m, 1H, ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.52-2.64 (m, 2H, H-3a, H-7a), 3.00 (dd,  $J = 9.5, 2.6$  Hz, 1H, H-3), 3.49 (dd,  $J = 9.5, 5.8$  Hz, 1H, H-3), 5.65-5.86 (m, 2H, H-5, H-6), 6.60 (sa, 1H, NH) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  21.8 (C-7), 25.9 (C-4), 31.6 (C-3a), 38.9 (C-7a), 47.8 (C-3), 125.6 (C-6), 126.0 (C-5), 180.6 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>NO  $[M+H]^+$   $m/z$  138.0919; encontrado  $m/z$  138.0909.



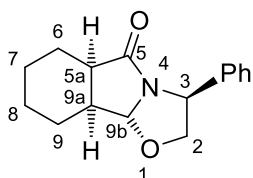
#### 4.15. (3aR,5R,6S,7aS)-5,6-Dihydroxioctahidro-1H-isoindol-1-ona **43**.

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético se le adicionaron 0.055 g (0.47 mmol) de NMO a una disolución que contiene 0.043 g (0.31 mmol) de (3aR,7aS)-**63** en una mezcla de 4 mL THF/H<sub>2</sub>O (1:1). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación por 10 minutos, y se enfrió a 0 °C, entonces se agregaron 2.4 mg, 0.24 mL, 0.04 M de OsO<sub>4</sub> (0.0094 mmol) gota a gota por 15 minutos. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 4 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionó 0.051 g (0.4 mmol) de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> y se dejó en agitación por 1 hora. Después, se filtró y se concentró la mezcla de reacción a presión reducida, y el residuo resultante fue purificado por recristalización por evaporación (Hexano/MeOH), obteniendo (3aR,5R,6S,7aS)-5,6-dihydroxioctahidro-1H-isoindol-1-ona **43**. (0.064 g, 80%) como un sólido cristalino. p.f. 186-187 °C (decomp.).  $[\alpha]_D^{20} = -34.66$  (*c* = 1.0, MeOH). **RMN** <sup>1</sup>H (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.47 (ddd, *J* = 14.2, 9.9, 2.6 Hz, 1H, Ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 1.84-2.07 (m, 3H, Ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.54-2.67 (m, 2H, H-3a, H-7a), 2.92 (dd, *J* = 9.9, 1.3 Hz, 1H, H-3), 3.42 (dd, *J* = 9.9, 6.0 Hz, 1H, H-3), 3.48 (ddd, *J* = 10.7, 4.8, 2.4 Hz, 1H, H-5), 3.85 (ddd, *J* = 4.8, 2.2, 2.2 Hz, 1H, H-6) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (151 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  26.1 (C-4), 31.5 (C-3a), 33.3 (C-7), 41.8 (C-7a), 46.9 (C-3), 69.5 (C-5), 69.8 (C-6), 181.2 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 172.0974; encontrado *m/z* 172.0944.

#### 4.16. 3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5aH)-onas **64a-d**.

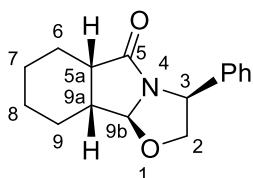
En un matraz redondo de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se agregaron 0.092 g (0.67 mmol) de (*S*)-fenilglicinol a una disolución que contenía 0.21 g (1.34 mmol) de (±)-3-hidroxihexanohidroisobenzofuran-1(3H)-ona **44** en 12 mL de PhMe. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a 60 °C durante 18 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y se concentró bajo presión reducida. Mediante el análisis de espectroscopía de <sup>1</sup>H RMN del crudo de reacción, se determinó que

la mezcla de reacción tenía cuatro diastereómeros **64a-d** con un radio diastereoisomérico de 8:3:1:1, respectivamente. Posteriormente, se purificó el crudo de reacción por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt/Hexano (85:15) hasta AcOEt/Hexano (7:3), obteniendo cuatro  $\gamma$ -lactamas tricíclicas (desde la menos polar hasta la más polar): **64d**, **64b**, **64c** y **64a** (0.153 g, 88%).



#### 4.16.1. (3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5*aH*)-ona **64a**.

Aceite amarillo.  $[\alpha]_D^{20} = +133.3$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.29-1.40 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.45-1.57 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.57-1.80 (m, 5H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.97-2.0 (m, 1H, H-6), 2.42-2.50 (m, 1H, H-9a), 2.67 (ddd,  $J = 9.06, 7.7, 6.4$  Hz, 1H, H-5a), 3.89 (dd,  $J = 8.7, 6.6$  Hz, 1H, H-2), 4.55 (dd,  $J = 8.7, 7.2$  Hz, 1H, H-2), 5.09 (dd,  $J = 7.0, 6.7$  Hz, 1H, H-3), 5.15 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H, H-9b), 7.23-7.32 (m, 3H, H-Ar), 7.32-7.40 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.3 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 24.9 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 26.5 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 39.3 (C-9a), 45.1 (C-5a), 57.8 (C-3), 75.5 (C-2), 95.4 (C-9b), 125.9 (C-Ar), 127.8 (C-Ar), 129.0 (C-Ar), 139.9 (C-Ar), 181.6 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1493.

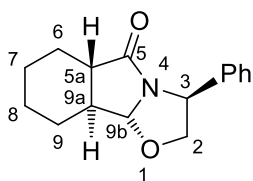


#### 4.16.2. (3*S*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5*aH*)-ona **64b**.

Sólido blanco. p.f. 114-116 °C.  $[\alpha]_D^{20} = +152.8$  ( $c = 0.95$ ,  $\text{HCCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.03-1.19 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.22-1.30 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.43 (dddd,  $J = 14.0, 12.8, 6.1, 4.6$  Hz, 1H, H-6), 1.55-1.63 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.69-1.79 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.11-2.18 (m, 1H, H-6), 2.67 (dddd,  $J = 11.4, 6.0, 5.8, 5.3$

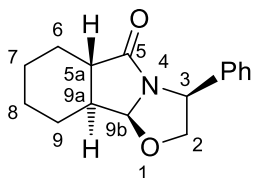


Hz, 1H, H-9a), 2.97-3.02 (m, 1H, H-5a), 4.02 (dd,  $J = 8.7, 6.3$  Hz, 1H, H-2), 4.55 (dd,  $J = 8.7, 7.1$  Hz, 1H, H-2), 5.05 (dd,  $J = 6.6, 6.5$  Hz, 1H, H-3), 5.49 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H, H-9b), 7.25-7.30 (m, 3H, H-Ar), 7.31-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.5 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 22.7 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 22.9 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.5 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 40.8 (C-9a), 44.2 (C-5a), 56.5 (C-3), 76.6 (C-2), 93.0 (C-9b), 126.2 (C-Ar), 127.9 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 139.6 (C-Ar), 175.9 (C=O) ppm. HRMS ( $\text{CI}^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1495.



#### 4.16.3. (3S,5aS,9aS,9bR)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 64c.

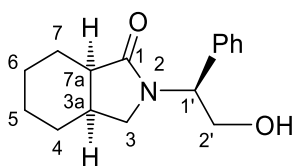
Sólido blanco. p.f. 101-103 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +156.2$  ( $c = 1.06$ ,  $\text{HCCl}_3$ ). **RMN**  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.17-1.47 (m, 4H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.77 (dddd,  $J = 13.2, 11.9, 6.6, 3.2$  Hz, 1H, H-9a), 1.82-1.89 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.09-2.16 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.39 (ddd,  $J = 12.9, 11.9, 3.3$  Hz, 1H, H-5a), 4.0 (dd,  $J = 8.8, 6.0$  Hz, 1H, H-2), 4.49 (dd,  $J = 8.8, 6.9$  Hz, 1H, H-2), 5.05 (dd,  $J = 6.29, 6.33$  Hz, 1H, H-3), 5.19 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-9b), 7.24-7.29 (m, 3H, H-Ar), 7.31-7.36 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  25.3 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 25.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 25.7 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 28.0 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 49.5 (C-9a), 52.0 (C-5a), 56.2 (C-3), 75.9 (C-2), 95.4 (C-9b), 126.2 (C-Ar), 127.8 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 139.6 (C-Ar), 176.5 (C=O) ppm. HRMS ( $\text{CI}^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1508.



#### 4.16.4. (3S,5aS,9aS,9bS)-3-Feniloctahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 64d.

Aceite transparente.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +134.7$  ( $c = 1.18$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN**  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.22-1.41 (m, 3H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.43-1.54 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.86-1.97 (m,

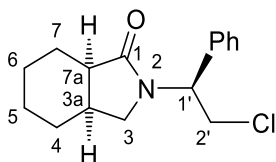
2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.98-2.06 (m, 2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.13 (ddd,  $J = 11.6, 11.4, 3.2$  Hz, 1H, H-5a), 2.21-2.28 (m, 1H, H-9a), 3.81 (dd,  $J = 8.5, 6.4$  Hz, 1H, H-2), 4.50 (dd,  $J = 8.3, 8.2$  Hz, 1H, H-2), 4.93 (d,  $J = 3.9$  Hz, 1H, H-9b), 5.09 (dd,  $J = 7.4, 6.9$  Hz, 1H, H-3), 7.25-7.30 (m, 3H, H-Ar), 7.33-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  25.9 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 26.2 (2C, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 26.4 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 41.5 (C-9a), 45.7 (C-5a), 60.4 (C-3), 74.8 (C-2), 93.0 (C-9b), 126.0 (C-Ar), 127.7 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 140.8 (C-Ar), 184.6 (C=O) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>): calculado para C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1508.



#### 4.17. (3a*S*,7a*R*)-2-((*S*)-2-Hidroxi-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **65**.

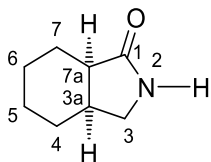
En un matraz redondo de 50 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno se adicionaron gota a gota 0.46 g, 0.63 mL (3.99 mmol) de Et<sub>3</sub>SiH y 1.70 g, 1.5 mL (11.99 mmol) de BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> a una disolución que contenía 0.2 g (0.79 mmol) de (3*S*,5a*R*,9a*S*,9b*R*)-**64a** en 5 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 6 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se detuvo la reacción por la adición de 10 mL de disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla de reacción se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 15 mL). Se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con salmuera (1 × 5 mL) y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. La mezcla se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente AcOEt/Hexano (7:3) para obtener (3a*S*,7a*R*)-2-((*S*)-2-hidroxi-1-feniletil)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **65** (0.169 g, 82%) como un sólido blanco. p.f. 93-95 °C.  $[\alpha]_D^{20} = +138.3$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN** <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  0.98-1.10 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.11-1.27 (m, 2H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.45-1.61 (m, 4H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.98-2.05 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.28 (dddd,  $J = 12.5, 6.1, 6.09, 3.0, 2.9$  Hz, 1H, H-3a), 2.60 (ddd,  $J = 6.5, 6.2, 4.1$  Hz, 1H, H-7a), 2.65 (dd,  $J = 9.6, 2.3$  Hz, 1H, H-3), 3.36 (dd,  $J = 9.5, 5.8$  Hz, 1H, H-3), 3.94-5.09 (m, 1H, OH), 3.94-5.09 (m, 1H, H-2'), 3.94-5.09 (m, 1H, H-2'), 5.02-5.09 (m, 1H, H-1'), 7.22-7.26 (m, 2H, H-Ar), 7.27-7.31 (m, 1H, H-Ar),

7.32-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  23.0 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.5 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.7 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 27.8 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 32.7 (C-3a), 42.7 (C-7a), 49.8 (C-3), 59.7 (C-1'), 62.7 (C-2'), 127.7 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 137.3 (C-Ar), 177.5 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}_2$  [M+H] $^+$   $m/z$  260.1651; encontrado  $m/z$  260.1551.



#### 4.18. (3a*S*,7a*R*)-2-((*S*)-2-Cloro-1-feniletíl)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **66**.

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador y bajo atmosfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota 0.12 g, 0.07 mL (0.9 mmol) de  $\text{SOCl}_2$  a una disolución que contenía 0.128 g (0.49 mmol) de (3a*S*,7a*R*)-2-(1*S*)-**65** en 6 mL de THF anhidro a 0 °C y se dejó en agitación por 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó a temperatura de reflujo de THF en baño de aceite durante 1.5 horas. La reacción se finalizó al agregar 2 mL de una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 10$  mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, empleando como eluyente AcOEt/Hexano (3:7) para asilar la (3a*S*,7a*R*)-2-((*S*)-2-cloro-1-feniletíl)octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **66** (0.132 g, 96%) como un sólido blanco. p.f. 103-105 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -129.7$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN**  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.88-1.01 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.12-1.23 (m, 2H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.43-1.60 (m, 4H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 1.98-2.09 (m, 1H, ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 2.24-2.35 (m, 1H, H-3a), 2.58 (ddd,  $J = 6.5, 6.4, 3.8$  Hz, 1H, H-7a), 2.67 (dd,  $J = 9.1, 2.2$  Hz, 1H, H-3), 3.37 (dd,  $J = 9.1, 5.8$  Hz, 1H, H-3), 3.97 (dd,  $J = 11.4, 5.8$  Hz, 1H, H-2'), 4.07 (dd,  $J = 11.4, 9.8$  Hz, 1H, H-2'), 5.45 (dd,  $J = 9.7, 5.8$  Hz, 1H, H-1'), 7.27-7.40 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  23.0 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.4 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 23.7 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 27.8 (ciclohexano- $\text{CH}_2$ ), 32.6 (C-3a), 42.1 (C-7a), 43.2 (C-2'), 47.6 (C-3), 56.3 (C-1'), 127.5 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 137.0 (C-Ar), 176.4 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{ClNO}$  [M+H] $^+$   $m/z$  278.1312; encontrado  $m/z$  278.1307.

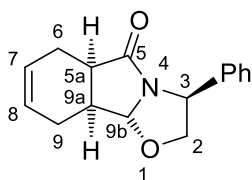


#### 4.19. (3a*S*,7a*R*)-Octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **44**.

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se colocaron 0.085 g (0.75 mmol) de *t*-BuOK a una disolución que contenía 0.105 g (0.37 mmol) de (3a*S*,7a*R*)-2-(1*S*)-**66** en 2 mL de *t*-BuOH. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de *t*-BuOH durante 2.5 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El sólido resultante se disolvió en 3 mL de H<sub>2</sub>O y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para obtener un aceite transparente. Posteriormente, en un matraz de 50 mL provisto de un agitador magnético y un condensador, se disolvió el aceite en 4 mL de THF y 1 mL de 1.0 N HCl. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de THF durante 2 horas. Después se dejó enfriar, y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. Así, el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt para aislar (3a*S*,7a*R*)-octahidro-1*H*-isoindol-1-ona **44** (0.046 g, 92%) como un sólido blanco. p.f. 98-99 °C.  $[\alpha]_D^{20} = -24.92$  ( $c = 1.0$ , CHCl<sub>3</sub>). **RMN** <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.18-1.39 (m, 3H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.45-1.63 (m, 3H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.66-1.75 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 1.96-2.04 (m, 1H, ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 2.35-2.47 (m, 2H, H-3a, H-7a), 2.95 (ddd,  $J = 9.4, 1.8, 1.7$  Hz, 1H, H-3), 3.37 (dd,  $J = 9.5, 5.7$  Hz, 1H, H-3), 6.74 (sa, 1H, NH) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  23.1 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.3 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 23.8 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 27.9 (ciclohexano-CH<sub>2</sub>), 35.0 (C-3a), 41.2 (C-7a), 46.5 (C-3), 180.0 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>NO [M+H]<sup>+</sup>  $m/z$  140.1075; encontrado  $m/z$  140.1053.

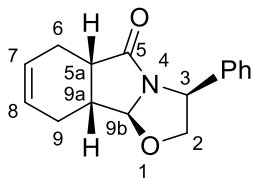
#### 4.20. 3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-onas 67a-d.

En un matraz redondo de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se agregaron 0.094 g (0.69 mmol) de (*S*)-Fenilglicinol a una disolución que contenía 0.2 g (1.38 mmol) de ( $\pm$ )-3-hidroxi-3a,4,7,7a-tetrahidroisobenzofuran-1(3*H*)-ona **56** en 12 mL de PhMe. La mezcla de reacción se calentó a 60 °C durante 18 h. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y se concentró bajo presión reducida. Mediante el análisis de espectroscopía de  $^1\text{H}$  RMN del crudo de reacción, se determinó que la mezcla de reacción tenía cuatro diastereómeros **67a-d** con un radio diastereoisomérico de 3:1:1:1, respectivamente. Posteriormente, se purificó el crudo de reacción por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt/Hexano (85:15) hasta AcOEt/Hexano (7:3), obteniendo cuatro  $\gamma$ -lactamas tricíclicas (desde la menos polar hasta la más polar): **67d**, **67b**, **67c** y **67a** (0.143 g, 81%).



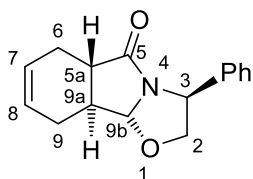
##### 4.20.1. (3*S*,5a*R*,9a*S*,9b*R*)-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5a*H*)-ona **67a**.

Aceite transparente.  $[\alpha]_D^{20} = +39.96$  ( $c = 0.96$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.27-2.35 (m, 2H, H-9), 2.36-2.43 (m, 2H, H-6), 2.71 (dddd,  $J = 9.5, 6.7, 3.5, 3.4$  Hz, 1H, H-9a), 2.96 (ddd,  $J = 9.4, 7.7, 5.8$  Hz, 1H, H-5a), 3.80 (dd,  $J = 8.7, 6.9$  Hz, 1H, H-2), 4.54 (dd,  $J = 8.7, 7.6$  Hz, 1H, H-2), 4.90 (d,  $J = 3.0$  Hz, 1H, H-9b), 5.11 (dd,  $J = 7.2, 7.0$  Hz, 1H, H-3), 5.90-6.02 (m, 2H, H-7, H-8), 7.20-7.36 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  24.6 (C-6), 25.1 (C-9), 37.8 (C-9a), 43.3 (C-5a), 58.0 (C-3), 74.8 (C-2), 98.4 (C-9b), 125.9 (C-Ar), 126.7 (C-7), 127.8 (C-Ar), 128.1 (C-8), 129.0 (C-Ar), 139.8 (C-Ar), 182.0 (C=O) ppm. HRMS (FAB $^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1328.



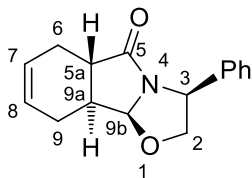
**4.20.2. (3S,5aS,9aR,9bS)-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 67b.**

Sólido blanco. p.f. 82-83 °C.  $[\alpha]_D^{20} = +104.3$  ( $c = 0.98$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.94-2.05 (m, 1H, H-9), 2.05-2.13 (m, 1H, H-9), 2.16-2.25 (m, 1H, H-6), 2.51-2.59 (m, 1H, H-6), 2.81-2.88 (m, 1H, H-9a), 3.15 (ddd,  $J = 8.2, 8.1, 2.8$  Hz, 1H, H-5a), 3.98 (dd,  $J = 8.7, 6.6$  Hz, 1H, H-2), 4.53 (dd,  $J = 8.7, 7.2$  Hz, 1H, H-2), 5.05 (dd,  $J = 7.2, 7.1$  Hz, 1H, H-3), 5.51 (d,  $J = 5.4$  Hz, 1H, H-9b), 5.74-5.83 (m, 2H, H-7, H-8), 7.25-7.30 (m, 3H, H-Ar), 7.32-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  20.0 (C-6), 21.9 (C-9), 36.6 (C-9a), 42.6 (C-5a), 57.0 (C-3), 75.9 (C-2), 93.5 (C-9b), 125.9, 126.2 (2C), 127.9, 129.0, 139.6, 177.8 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1324.



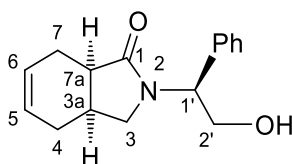
**4.20.3. (3S,5aS,9aS,9bR)-3-Fenil-2,3,6,9,9a,9b-hexahidrooxazolo[2,3-a]isoindol-5(5aH)-ona 67c.**

Sólido blanco. p.f. 100-102 °C.  $[\alpha]_D^{20} = +264.18$  ( $c = 1.04$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.01-2.10 (m, 1H, H-9a), 2.18-2.30 (m, 2H, H-9), 2.37-2.52 (m, 2H, H-6), 2.72 (ddd,  $J = 13.1, 11.2, 5.4$  Hz, 1H, H-5a), 4.02 (dd,  $J = 8.8, 6.2$  Hz, 1H, H-2), 4.54 (dd,  $J = 8.8, 7.0$  Hz, 1H, H-2), 5.08 (dd,  $J = 6.8, 6.7$  Hz, 1H, H-3), 5.27 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-9b), 5.70-5.80 (m, 2H, H-7, H-8), 7.25-7.30 (m, 3H, H-Ar), 7.32-7.37 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  25.8 (C-6), 28.3 (C-9), 45.6 (C-9a), 47.0 (C-5a), 56.3 (C-3), 76.0 (C-2), 95.9 (C-9b), 126.2, 126.2, 126.7, 127.9, 128.9, 139.4, 176.3 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1345.



**4.20.4. (3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bR*)-3-Fenil-2,3,6,9,9*a*,9*b*-hexahidrooxazolo[2,3-*a*]isoindol-5(5*aH*)-ona 67d.**

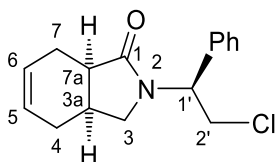
Aceite transparente.  $[\alpha]_D^{20} = +20.98$  ( $c = 0.74$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2.17-2.59 (m, 6H, H-5a, H-6, H-9, H-9a), 3.83 (dd,  $J = 8.5, 6.4$  Hz, 1H, H-2), 4.53 (dd,  $J = 8.5, 8.4$  Hz, 1H, H-2), 5.02 (d,  $J = 3.9$  Hz, 1H, H-9b), 5.14 (dd,  $J = 7.5, 7.4$  Hz, 1H, H-3), 5.76-5.84 (m, 2H, H-7, H-8), 7.26-7.31 (m, 3H, H-Ar), 7.34-7.38 (m, 2H, H-Ar) ppm. **RMN  $^{13}\text{C}$**  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  26.3 (C-6), 26.4 (C-9), 37.2 (C-9a), 41.9 (C-5a), 60.5 (C-3), 74.7 (C-2), 92.6 (C-9b), 125.9, 126.9, 127.5, 127.7, 129.0, 140.6, 184.2 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  256.1338; encontrado  $m/z$  256.1324.



**4.21. (3*aS*,7*aR*)-2-((*S*)-2-Hidroxi-1-feniletíl)-2,3,3*a*,4,7,7*a*-hexahidro-1*H*-isoindol-1-ona 68.**

En un matraz redondo de 100 mL provisto de un agitador magnético bajo atmósfera de nitrógeno se adicionaron gota a gota 0.93 g, 1.28 mL (8.02 mmol) de  $\text{Et}_3\text{SiH}$  y 3.41 g, 2.9 mL (24.08 mmol) de  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  a una disolución que contenía 0.41 g (1.6 mmol) de (3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-**67a** en 20 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  seco. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 6 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, se detuvo la reacción por la adición de 15 mL de disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ . La mezcla de reacción se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 20$  mL). Se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con salmuera ( $1 \times 5$  mL) y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. La mezcla se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, usando como eluyente  $\text{AcOEt}/\text{Hexano}$  (7:3) para obtener la (3*aS*,7*aR*)-2-((*S*)-2-hidroxi-1-feniletíl)-2,3,3*a*,4,7,7*a*-hexahidro-1*H*-isoindol-1-ona **68** (0.398 g, 96%) como un sólido blanco. p.f. 111-112 °C.  $[\alpha]_D^{20} = +148.3$  ( $c = 1.04$ ,  $\text{MeOH}$ ). **RMN  $^1\text{H}$**  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.60-1.68

(m, 1H, H-4), 2.01-2.123(m, 1H, H-4), 2.24-2.33 (m, 1H, H-3a), 2.40-2.52 (m, 2H, H-7), 2.67-2.74 (m, 1H, H-3), 2.75-2.81 (m, 1H, H-7a), 3.47 (dd,  $J = 9.5, 6.0$  Hz, 1H, H-3), 3.93 (sa, 1H, OH), 4.03-4.15 (m, 2H, H-2'), 5.00-5.09 (m, 1H, H-1'), 5.63-5.70 (m, 1H, H-5), 5.73-5.80 (m, 1H, H-6), 7.20-7.36 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  22.0 (C-7), 25.7 (C-4), 29.3 (C-3a), 40.4 (C-7a), 51.0 (C-3), 59.6 (C-1'), 62.6 (C-2'), 125.3 (C-6), 126.0 (C-5), 127.5 (C-Ar), 127.9 (C-Ar), 128.7 (C-Ar), 137.0 (C-Ar), 177.8 (C=O) ppm. **HRMS** ( $\text{CI}^+$ ): calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{20}\text{NO}_2$   $[\text{M}+\text{H}]^+$   $m/z$  258.1494; encontrado  $m/z$  258.1479.

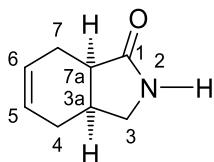


#### 4.22. (3a*S*,7a*R*)-2-((*S*)-2-Cloro-1-feniletíl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1*H*-isoindol-1-ona **69**.

En un matraz de 100 mL provisto de un agitador magnético y un condensador y bajo atmosfera de nitrógeno, se adicionó gota a gota 0.39 g, 0.23 mL (3.28 mmol) de  $\text{SOCl}_2$  a una disolución que contenía 0.042 g (1.64 mmol) de (3a*S*,7a*R*)-2-(1*S*)-**68** en 18 mL de THF anhidro a 0 °C y se dejó en agitación por 15 minutos. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de THF durante 1.5 horas. La reacción se finalizó al agregar 5 mL de una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y se extrajo con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 15$  mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, empleando como eluyente  $\text{AcOEt/Hexano}$  (3:7) para aislar la ((3a*S*,7a*R*)-2-((*S*)-2-cloro-1-feniletíl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1*H*-isoindol-1-ona **69** (0.42 g, 93%) como un sólido blanco. p.f. 94-95 °C.  $[\alpha]_D^{20} = +120.67$  ( $c = 1.03$ ,  $\text{CHCl}_3$ ). **RMN**  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.50-1.57 (m, 1H, H-4), 1.98-2.07 (m, 1H, H-4), 2.24-2.33 (m, 1H, H-7), 2.43-2.54 (m, 2H, H-7, H-3a), 2.71-2.78 (m, 2H, H-3, H-7a), 3.49 (dd,  $J = 9.1, 5.9$  Hz, 1H, H-3), 3.99 (dd,  $J = 11.4, 5.7$  Hz, 1H, H-2'), 4.06 (dd,  $J = 11.4, 9.8$  Hz, 1H, H-2'), 5.46 (dd,  $J = 9.7, 5.7$  Hz, 1H, H-1'), 5.60-5.65 (m, 1H, H-5), 5.71-5.76 (m, 1H, H-6), 7.25-7.40 (m, 5H, H-Ar) ppm. **RMN**  $^{13}\text{C}$  (151 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  21.9 (C-7), 25.6 (C-4), 29.3 (C-3a), 39.7 (C-7a), 43.0 (C-2'), 48.6 (C-3), 56.1 (C-1'), 125.0 (C-6), 125.9 (C-5), 127.4 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 136.7 (C-Ar), 176.8

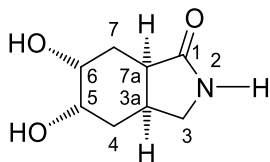


(C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>ClNO [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 276.1155; encontrado *m/z* 276.1155.



#### 4.23. (3a*S*,7a*R*)-2,3,3a,4,7,7a-Hexahidro-1*H*-isoindol-1-ona **71**.

En un matraz de 100 mL provisto de un agitador magnético y un condensador se colocaron 0.212 g (1.39 mmol) de DBU a una disolución que contenía 0.32 g (1.16 mmol) de (3a*S*,7a*R*)-2-(1*S*)-**69** en 8 mL de PhMe. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a 90 °C durante 2.5 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, la mezcla se dejó enfriar y el disolvente se evaporó bajo presión reducida. El sólido resultante se disolvió en 5 mL de H<sub>2</sub>O y se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 15 mL). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida para obtener un aceite transparente. Posteriormente, en un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético y un condensador, se disolvió el aceite en 6 mL de THF y 2 mL de 1.0 N HCl. La mezcla de reacción se calentó en un baño de aceite a temperatura de reflujo de THF durante 2 horas. Después se dejó enfriar, y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. Así, el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna, utilizando como eluyente AcOEt para aislar (3a*S*,7a*R*)-2,3,3a,4,7,7a-hexahidro-1*H*-isoindol-1-ona **71** (0.139 g, 87%) como un sólido blanco. p.f. 107-109 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +35.78 (*c* = 0.9, CHCl<sub>3</sub>). **RMN** <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.85-1.95 (m, 1H, ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.16-2.34 (m, 2H, ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.40-2.48 (m, 1H, ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.51-2.63 (m, 2H, H-3a, H-7a), 3.00 (dd, *J* = 9.5, 1.24 Hz, 1H, H-3), 3.49 (dd, *J* = 9.5, 5.8 Hz, 1H, H-3), 5.70-5.81 (m, 2H, H-5, H-6), 6.58 (sa, 1H, NH) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.9 (C-7), 26.0 (C-4), 31.8 (C-3a), 38.9 (C-7a), 47.8 (C-3), 125.7 (C-6), 126.2 (C-5), 180.6 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>NO [M+H]<sup>+</sup> *m/z* 138.0919; encontrado *m/z* 138.0915.



#### 4.24. (3a*S*,5*S*,6*R*,7a*R*)-5,6-Dihidroxiocetahidro-1*H*-isoindol-1-ona **45**

En un matraz de 25 mL provisto de un agitador magnético se le adicionaron 0.157 g (1.34 mmol) de NMO a una disolución que contiene 0.123 g (0.898 mmol) de (3a*S*,7a*R*)-**71** en una mezcla de 4 mL THF/H<sub>2</sub>O (3:1). La mezcla de reacción se dejó bajo agitación por 10 minutos, y se enfrió a 0 °C, entonces se agregaron 6.8 mg, 0.6 mL, 0.04 M de OsO<sub>4</sub> (0.02 mmol) gota a gota por 15 minutos. La mezcla de reacción se dejó en agitación durante 4 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se adicionó 168 g (1.33 mmol) de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> y se dejó en agitación por 1 hora. Después, se filtró y se concentró la mezcla de reacción a presión reducida, y el residuo resultante fue purificado por recristalización (Hexano/MeOH), obteniendo (3a*S*,5*S*,6*R*,7a*R*)-5,6-dihidroxiocetahidro-1*H*-isoindol-1-ona **45** (0.108 g, 71%) como un sólido cristalino. p.f. 182-183 °C (descomp.).  $[\alpha]_D^{20} = +35.77$  ( $c = 1.0$ , MeOH). **RMN** <sup>1</sup>H (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  1.47 (ddd,  $J = 14.7, 9.6, 2.3$  Hz, 1H, Ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 1.87-2.02 (m, 3H, Ciclohexeno-CH<sub>2</sub>), 2.58-2.65 (m, 2H, H-3a, H-7a), 2.92 (dd,  $J = 9.8, 1.0$  Hz, 1H, H-3), 3.42 (dd,  $J = 9.9, 5.5$  Hz, 1H, H-3), 3.47 (ddd,  $J = 10.6, 4.5, 2.2$  Hz, 1H, H-5), 3.84 (ddd,  $J = 4.9, 2.4, 2.4$  Hz, 1H, H-6) ppm. **RMN** <sup>13</sup>C (151 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  26.3 (C-4), 31.7 (C-3a), 33.4 (C-7), 41.9 (C-7a), 47.0 (C-3), 69.7 (C-5), 69.9 (C-6), 181.3 (C=O) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>): calculado para C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup>  $m/z$  172.0974; encontrado  $m/z$  172.0958.

## 5. Apéndice Teórico

### Información de I-TASSER sobre la construcción de la estructura 3D de la secuencia consenso de los hongos del género *Aspergillus* (grupo I).

**Tabla 12.** Secuencia consenso del género *Aspergillus* (grupo I).

SGYRSVAYFVNWAIYGRNHNPDQLPIDQLTHVLYAFANVRPETGEVYMTDSWADIEKH  
YPGDSWSDPGNNVYGCIKQMYLLKKNRNLKVLLSIGGWTYSPNFAPAASDAGRKNF  
ADTSVKLLQDLGFDGLDIDWEYPENDQQANDFVLLLKEIRTALDSYSAANAGGQHFLLT  
VASPAGPDKIKKLHLKMDAQLDFWNLMA YDYAGSLFSSLTGHQANVYNDTSNPLSTP  
FNTQTAIDL YLAGGVPANKIVLGMPLYGRSFANTDGLGKPYNGVGQGSWENGVWDYK  
ALPQAGAEHVMENIMASYSYDATNKR LISYDNP KVAQLKAGYIKKLGLGGAMWWES  
SSDKTGTSDSLITTVNAL

**Tabla 13.** Plantillas utilizadas por I-TASSER.

Rango	PDB hit	Porcentaje de identidad 1 <sup>a</sup>	Porcentaje de identidad 2 <sup>b</sup>	Porcentaje de cobertura <sup>c</sup>	Z-score normal <sup>d</sup>
1	2a3eA	0.93	0.92	0.99	3.33
2	1d2kA	0.68	0.68	0.99	5.09
3	3chcA	0.93	0.92	0.99	4
4	3g6l	0.55	0.56	0.99	1.75
5	3oa5	0.26	0.29	0.96	1.29
6	3g6lA	0.56	0.56	0.99	3.89
7	3oa5	0.24	0.29	0.98	1.93
8	1w9pA	0.92	0.92	0.99	7.5
9	3g6lA	0.56	0.56	0.99	3.41
10	1w9pA	0.93	0.92	0.99	5.23

a Porcentaje de identidad 1 de la secuencia consenso con cada plantilla.

b Porcentaje de identidad 2 de la secuencia consenso con todas las plantillas.

c Porcentaje de cobertura viene dado por el alineamiento del número de residuos divididos por la longitud de la secuencia consenso.

d Z-score normal es el valor normalizado del Z-score con los alineamientos; un adecuado valor es mayor 1 (mejor alineamiento).

**Tabla 14.** Estructuras identificadas como análogos en PDB.

Rango	PDB Hit	TM-score <sup>a</sup>	RMSD <sup>b</sup>	Porcentaje de conversión <sup>c</sup>	Porcentaje de identidad <sup>d</sup>
1	3chcA	0.989	0.51	0.926	0.995
2	1ll6A	0.983	0.72	0.678	0.992
3	3g6lA	0.982	0.7	0.562	0.992
4	1itxA	0.945	1.37	0.373	0.975

5	1ctn_	0.935	1.56	0.326	0.973
6	3b9dA	0.934	1.55	0.321	0.97
7	5dezA2	0.933	1.64	0.329	0.973
8	1rd6A2	0.932	1.65	0.326	0.973
9	1kfwA	0.932	1.6	0.349	0.97
10	3oa5A	0.906	2.02	0.256	0.962

a TM-score es una medida global de la similitud estructural entre la secuencia consenso y la plantilla.

b RMSD es el alineamiento de los residuos por TM-align (conjunto de proteínas similares estructuralmente a la secuencia consenso).

c Porcentaje de identidad de la secuencia estructuralmente alineada.

d Porcentaje de cobertura del alineamiento por TM-align que viene dado por el número de residuos alineados estructuralmente dividido por la longitud de la secuencia consenso.

**Tabla 15.** El mejor modelo predicho por I-TASSER.

Modelo 1
C-score=1.50
Estimated TM-score = 0.92±0.06
Estimated RMSD = 3.6±2.5Å

### Información de I-TASSER sobre la construcción de la estructura 3D de la secuencia consenso de los hongos del género *Aspergillus* (grupo II).

**Tabla 16.** Secuencia consenso del género *Aspergillus* (grupo II).

LQPNPAPTTDTNATIPAMSSGLKSVAYFVNWAIYGRNYPQDIPADKLTHVLYAFANVR  
PDSGEVYLSDTWSDIEKHYP TDSWNDVGTNVYGCVKQLFLLKQQRKLVLLSIGGWT  
YSPNFAQAASDAGRTKFAETATKLVTDLGF DGIDIDWEYPKDDTEAQNMVLLLQKCR  
ETLDAAGANRKFLLTIACPAGPANYTKLKL SQMTPYLD FYNLMAYDYAGSWDTVAG  
HQANLYPSADKPASTPFSTNEAVNYIYQKGGVPSKILGMPLYGRAFTNTDGPFTA FSG  
VGEGSWEQGVWDYKALPRPGATEYVDANLGASWSYDPTARTMVS YDTVAMGEMKLD  
FITKHQLGGGMWWETSGDKGGKTANKADGSLIGTFVEGIGGV

**Tabla 17.** Plantillas utilizadas por I-TASSER.

Rango	PDB hit	Porcentaje de identidad 1 <sup>a</sup>	Porcentaje de identidad 2 <sup>b</sup>	Porcentaje de cobertura <sup>c</sup>	Z-score normal <sup>d</sup>
1	2a3eA	0.62	0.59	0.94	3.07
2	1d2kA	0.63	0.6	0.93	5.18
3	3chcA	0.62	0.59	0.94	3.82
4	3g6l	0.58	0.55	0.93	1.71
5	4txg	0.29	0.37	0.99	1.31
6	3g6lA	0.59	0.55	0.93	3.62
7	4dws	0.27	0.33	0.93	1.93
8	1itxA	0.36	0.37	0.94	6.47
9	3g6lA	0.59	0.55	0.93	3.17

10	1w9vA	0.63	0.59	0.94	4.94
----	-------	------	------	------	------

a Porcentaje de identidad 1 de la secuencia consenso con cada plantilla.

b Porcentaje de identidad 2 de la secuencia consenso con todas las plantillas.

c Porcentaje de cobertura viene dado por el alineamiento del número de residuos divididos por la longitud de la secuencia consenso.

c Z-score normal es el valor normalizado del Z-score con los alineamientos; un adecuado valor es mayor 1 (mejor alineamiento).

**Tabla 18.** Estructuras identificadas como análogos en PDB.

Rango	PDB Hit	TM-score <sup>a</sup>	RMSD <sup>b</sup>	Porcentaje de conversión <sup>c</sup>	Porcentaje de identidad <sup>d</sup>
1	3chcA	0.933	0.66	0.62	0.939
2	1ll7B	0.925	0.56	0.634	0.931
3	3g6mA	0.923	0.65	0.584	0.931
4	1ctn_	0.916	1.71	0.307	0.959
5	3arpA	0.914	1.9	0.293	0.962
6	1rd6A2	0.914	1.69	0.306	0.956
7	5dezA2	0.904	1.78	0.295	0.949
8	1itxA	0.89	1.65	0.36	0.926
9	4txgA	0.875	2.5	0.27	0.941
10	4dwsA	0.87	2.45	0.267	0.939

a TM-score es una medida global de la similitud estructural entre la secuencia consenso y la plantilla.

b RMSD es el alineamiento de los residuos por TM-align (conjunto de proteínas similares estructuralmente a la secuencia consenso).

c Porcentaje de identidad de la secuencia estructuralmente alineada.

d Porcentaje de cobertura del alineamiento por TM-align que viene dado por el número de residuos alineados estructuralmente dividido por la longitud de la secuencia consenso.

**Tabla 19.** El mejor modelo predicho por I-TASSER.

Modelo 1
C-score=0.98
Estimated TM-score = 0.85±0.08
Estimated RMSD = 4.7±3.1Å

### Información de I-TASSER sobre la construcción de la estructura 3D de la secuencia consenso del grupo de hongos del género *Cryptococcus*.

**Tabla 20.** Secuencia consenso del género *Cryptococcus*.

FLAVLLAAIVFLFAQTDFAFPSRPWKAVGEPLKGDEIEMNNPKRTVGYFVNWGIYGRK  
 FFPQNIPGQHLTHINYAFGNVKADSGEVVLSDTWADVEIHVDGDSWDEPPGTNLYGCFK  
 AIYLMKKQNRNLKVLSSIGGWSFSPNFAGIVHPAKWRSTFVQSAVKLVEDVGLDGLDID  
 YEYKPTPRDAEAYVDLLREL RQGLEQLAQSKGKPKQGQYQLTVAAPCGWEQMQLVRVR  
 EMDQVLDFWNLMAYDFAGPSWDSVAGHQANLYSDKPDGQATDFSVDRSVRFYLEAG  
 GVHPTKL VIGLPVYGRAFANTKGIGSPFSGTGESAGGSWEAGMWDYKALPQPQTNAQE

TNDHRLGASYSYDPAKRLLLITYDTQAI AHQKASYIAYHGLGGAMWWELSDSKP EEQTG  
 QSLVRTVREALGGCAQLEWRENELDYPGSKYDNLRRRMEDE

**Tabla 21.** Plantillas utilizadas por I-TASSER.

Rango	PDB hit	Porcentaje de identidad 1 <sup>a</sup>	Porcentaje de identidad 2 <sup>b</sup>	Porcentaje de cobertura <sup>c</sup>	Z-score normal <sup>d</sup>
1	2a3eA	0.51	0.47	0.88	3.26
2	1d2kA	0.52	0.47	0.87	5.24
3	3chcA	0.52	0.47	0.88	3.9
4	1ll6	0.53	0.47	0.87	1.86
5	3g6l	0.43	0.4	0.87	1.28
6	2a3eA	0.52	0.47	0.88	3.93
7	2a3e	0.52	0.47	0.88	1.97
8	1w9pA	0.51	0.47	0.88	7.82
9	2a3eA	0.51	0.47	0.88	3.33
10	1w9vA	0.51	0.47	0.88	4.9

a Porcentaje de identidad 1 de la secuencia consenso con cada plantilla.

b Porcentaje de identidad 2 de la secuencia consenso con todas las plantillas.

c Porcentaje de cobertura viene dado por el alineamiento del número de residuos divididos por la longitud de la secuencia consenso.

d Z-score normal es el valor normalizado del Z-score con los alineamientos; un adecuado valor es mayor 1 (mejor alineamiento).

**Tabla 22.** Estructuras identificadas como análogos en PDB.

Rango	PDB Hit	TM-score <sup>a</sup>	RMSD <sup>b</sup>	Porcentaje de conversión <sup>c</sup>	Porcentaje de identidad <sup>d</sup>
1	3chcA	0.88	0.49	0.514	0.884
2	1ll4D	0.872	0.62	0.52	0.877
3	3g6mA	0.859	0.77	0.443	0.868
4	4txgA	0.79	2.89	0.226	0.859
5	1kfwA	0.787	2.37	0.326	0.837
6	1itxA	0.782	1.67	0.312	0.81
7	1eibA	0.781	2.18	0.283	0.821
8	1rd6A2	0.779	1.99	0.299	0.814
9	3b9eA2	0.778	1.88	0.272	0.812
10	5gztB	0.765	3.27	0.245	0.848

a TM-score es una medida global de la similitud estructural entre la secuencia consenso y la plantilla.

b RMSD es el alineamiento de los residuos por TM-align (conjunto de proteínas similares estructuralmente a la secuencia consenso).

c Porcentaje de identidad de la secuencia estructuralmente alineada.

d Porcentaje de cobertura del alineamiento por TM-align que viene dado por el número de residuos alineados estructuralmente dividido por la longitud de la secuencia consenso.

**Tabla 23.** El mejor modelo predicho por I-TASSER.

Modelo 1
C-score=0.16
Estimated TM-score = 0.73±0.11
Estimated RMSD = 6.7±4.0Å

**Información de I-TASSER sobre la construcción de la estructura 3D de la secuencia consenso de humanos como resultado de una segunda búsqueda en el servidor Web NCBI a partir de la secuencia consenso de los hongos del género *Aspergillus* (grupo I).**

**Tabla 24.** Secuencia consenso de humanos a partir del género de *Aspergillus* (grupo I).

SAAKLVCYFTNWAQYRQGEARFLPKDLDPSTLCTHLYAFAGMTNHQLSTTEWNETLY  
QEFNGLKKNPKLKTLLAIGGWNFGTQKFTDMVATANNRQTFVNSAIRFLRKYSFDGL  
DLDWEYPGSQGSPAVDKERFTTLVQDLANAFQQEAQTSGKERLLLSAAVPAGQTYVDA  
GYEVDKIAQNLDVNLMA YDFHGSWEKVTGHNSPLYKRQEESGAAASLNVDAAVQQW  
LQKGPASKLILGMPYGRSFTLASSSDTRVGAPATGSGTGPFTKEGGMLAYYEVCSW  
KGATKQRIQDQKVPYIFRDNQWVGFDDVESFKTKVSYLKQKGLGGAMVWALDLDFA  
GFSCNQGRYPLIQTLRQEL

**Tabla 25.** Plantillas utilizadas por I-TASSER.

Rango	PDB hit	Porcentaje de identidad 1 <sup>a</sup>	Porcentaje de identidad 2 <sup>b</sup>	Porcentaje de cobertura <sup>c</sup>	Z-score normal <sup>d</sup>
1	1lq0A	1	0.99	0.99	3.82
2	1vf8A	0.48	0.48	0.99	5.06
3	4wjxA	1	0.99	0.99	4.21
4	1vf8	0.48	0.48	0.99	1.78
5	1vf8	0.48	0.48	0.99	1.3
6	1lq0A	1	0.99	0.99	4.23
7	3fxy	0.58	0.57	0.99	1.99
8	3fy1A	0.58	0.57	0.99	9.15
9	1lq0A	1	0.99	0.99	3.7
10	3fxyA	0.58	0.57	0.99	5.32

a Porcentaje de identidad 1 de la secuencia consenso con cada plantilla.

b Porcentaje de identidad 2 de la secuencia consenso con todas las plantillas.

c Porcentaje de cobertura viene dado por el alineamiento del número de residuos divididos por la longitud de la secuencia consenso.

c Z-score normal es el valor normalizado del Z-score con los alineamientos; un adecuado valor es mayor 1 (mejor alineamiento).

**Tabla 26.** Estructuras identificadas como análogos en PDB.

Rango	PDB Hit	TM-score <sup>a</sup>	RMSD <sup>b</sup>	Porcentaje de conversión <sup>c</sup>	Porcentaje de identidad <sup>d</sup>
1	2ybuA	0.994	0.41	0.575	0.997
2	1vf8A	0.991	0.42	0.484	0.995
3	1hkkA	0.991	0.42	0.997	0.995
4	5wupA	0.979	0.72	0.525	0.989
5	5wusA	0.97	0.85	0.475	0.984
6	1la7A	0.97	0.67	0.531	0.978
7	4ay1A	0.958	1.12	0.532	0.981
8	3w4rA	0.957	1.06	0.419	0.978
9	1ljyA	0.956	0.98	0.525	0.973
10	5y2aA	0.947	1.15	0.408	0.97

a TM-score es una medida global de la similitud estructural entre la secuencia consenso y la plantilla.

b RMSD es el alineamiento de los residuos por TM-align (conjunto de proteínas similares estructuralmente a la secuencia consenso).

c Porcentaje de identidad de la secuencia estructuralmente alineada.

d Porcentaje de cobertura del alineamiento por TM-align que viene dado por el número de residuos alineados estructuralmente dividido por la longitud de la secuencia consenso.

**Tabla 27.** El mejor modelo predicho por I-TASSER.

Modelo 1
C-score=1.82
TM-score estimado = 0.97±0.05
RMSD estimado = 3.0±2.1Å

**Información de I-TASSER sobre la construcción de la estructura 3D de la secuencia consenso de humanos como resultado de una segunda búsqueda en el servidor Web NCBI a partir de la secuencia consenso de los hongos del género *Aspergillus* (grupo II).**

**Tabla 28.** Secuencia consenso de humanos a partir del género de *Aspergillus* (grupo II).

VKASQTGFVVLLVLLQCCSAYKLVCCYYTSWSQYREGDGSCFPDALDRFLCTHIIYSFANIS  
 NDHIDTWEWNDVTLYGMLNLTKNRNPNLKTLLSVGGWNFGSQRFSKIASNTQSRRTFIK  
 SVPPFLRTHGFDGLDLAWLYPGRRDQKHFTTLIKEMKAEFIKEAQPQGGKQLLLSAALSA  
 GKVTIDSSYDIAKISQHLDLDFISIMTYDFHGAWRGTTGHHSPLFRGQEDASPDRFSNTDYA  
 VGYMLRLGAPASKLVMGIPTFGRSFTLASSETGVGAPISGPGIPGRFTKEAGTLAYYEICD  
 FLRGATVHRILGQQVPYATKGNQWVGYYDDQESVKSQVQYLKDRQLAGAMVWALDLD  
 DFQGSFCGQDLRFPLTNAIKDAL



**Tabla 29.** Plantillas utilizadas por I-TASSER.

Rango	PDB hit	Porcentaje de identidad 1 <sup>a</sup>	Porcentaje de identidad 2 <sup>b</sup>	Porcentaje de cobertura <sup>c</sup>	Z-score normal <sup>d</sup>
1	1llyA	0.82	0.78	0.95	3.57
2	1owqA	0.83	0.79	0.95	5.36
3	4ay1A	0.52	0.49	0.95	3.84
4	1vf8	0.47	0.45	0.95	1.76
5	3fxy	0.51	0.49	0.95	1.28
6	1llyA	0.82	0.78	0.95	4.03
7	4ay1	0.52	0.49	0.94	1.92
8	3fy1A	0.52	0.49	0.95	8.06
9	4ay1A	0.52	0.49	0.95	3.58
10	4ay1A	0.52	0.49	0.95	5.13

a Porcentaje de identidad 1 de la secuencia consenso con cada plantilla.

b Porcentaje de identidad 2 de la secuencia consenso con todas las plantillas.

c Porcentaje de cobertura viene dado por el alineamiento del número de residuos divididos por la longitud de la secuencia consenso.

d Z-score normal es el valor normalizado del Z-score con los alineamientos; un adecuado valor es mayor 1 (mejor alineamiento).

**Tabla 30.** Estructuras identificadas como análogos en PDB.

Rango	PDB Hit	TM-score <sup>a</sup>	RMSD <sup>b</sup>	Porcentaje de conversión <sup>c</sup>	Porcentaje de identidad <sup>d</sup>
1	5wupA	0.946	0.71	0.446	0.955
2	2ybuA	0.943	0.61	0.515	0.95
3	1owqA	0.941	0.57	0.835	0.947
4	1vf8A	0.938	0.69	0.469	0.947
5	1nwtA	0.939	0.92	1	0.95
6	1hkkA	0.938	0.61	0.549	0.944
7	5wusA	0.934	0.84	0.441	0.947
8	4ay1A	0.934	0.95	0.518	0.95
9	3w4rA	0.915	1.05	0.365	0.934
10	5y29A	0.906	1.45	0.448	0.934

a TM-score es una medida global de la similitud estructural entre la secuencia consenso y la plantilla.

b RMSD es el alineamiento de los residuos por TM-align (conjunto de proteínas similares estructuralmente a la secuencia consenso).

c Porcentaje de identidad de la secuencia estructuralmente alineada.

d Porcentaje de cobertura del alineamiento por TM-align que viene dado por el número de residuos alineados estructuralmente dividido por la longitud de la secuencia consenso.

**Tabla 31.** El mejor modelo predicho por I-TASSER.

Modelo 1
C-score=0.22
TM-score estimado = 0.74±0.11
RMSD estimado = 6.2±3.8Å

**Información de I-TASSER sobre la construcción de la estructura 3D de la secuencia consenso de humanos como resultado de una segunda búsqueda en el servidor Web NCBI a partir de la secuencia consenso de los hongos del género *Cryptococcus*.**

**Tabla 32.** Secuencia consenso de humanos a partir del género de *Cryptococcus*.

MTKLILLTGLVLILNLQLGSAYQLTCYFTNWAQYRPGLGRFMPDNIDPCLCTHLYAFAG  
RQNNEITTIEWNDVTLYQAFNGLKNKNSQLKTLAIGGWNFGTAPFTAMVSTPENRQTFI  
TSVIKFLRQYEFDGLDFDWEYPSGRGSPQDKHLFTVLVQEMREAFEQEAKQINKPRLM  
VTAAVAAGISNIQSGYEIPQLSQYLDYIHVMTYDLHGWSWEGYTGENSPLYKYPTDTGSN  
AYLNVDYVMNYWKDNGAPAEKLIVGFPTYGHNFILSNPSNTGIGAPTSAGAGPAGPYAKE  
SGIWAYYEICTFLKNGATQGWDAPEVQYAYQGNVWVGVDNVKSFDIKAQWLKHNKF  
GGAMVWAILDDFTGTCNQGKFLISTLKKALGLQASCTAPAQPIEPITAAPSGS

**Tabla 33.** Plantillas utilizadas por I-TASSER.

Rango	PDB hit	Porcentaje de identidad 1 <sup>a</sup>	Porcentaje de identidad 2 <sup>b</sup>	Porcentaje de cobertura <sup>c</sup>	Z-score normal <sup>d</sup>
1	3fxyA	0.99	0.92	0.92	3.46
2	3fxyA	0.99	0.92	0.92	5.23
3	3fy1A	0.99	0.91	0.92	4.01
4	3fxy	0.99	0.92	0.92	1.88
5	3fxy	0.99	0.92	0.92	1.33
6	3fxyA	0.99	0.92	0.92	4.02
7	3fxy	0.99	0.92	0.92	2.04
8	3fy1A	0.99	0.91	0.92	11.52
9	5wusA	0.47	0.43	0.91	3.53
10	3fxyA	0.99	0.92	0.92	5.22

a Porcentaje de identidad 1 de la secuencia consenso con cada plantilla.

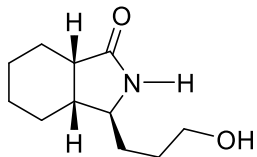
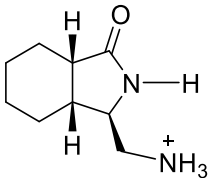
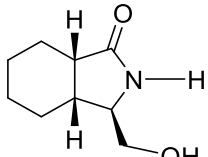
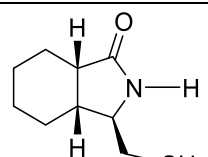
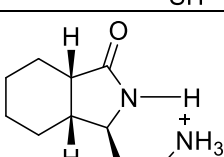
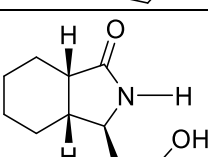
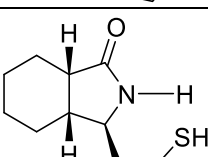
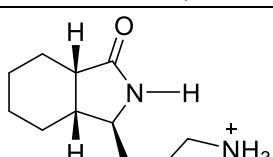
b Porcentaje de identidad 2 de la secuencia consenso con todas las plantillas.

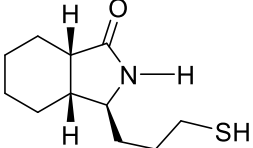
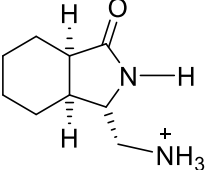
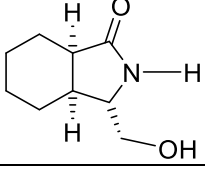
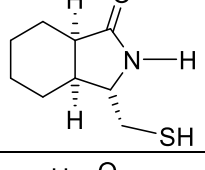
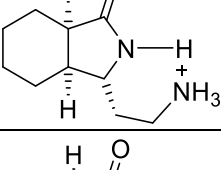
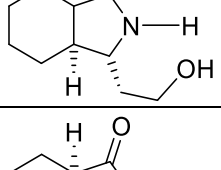
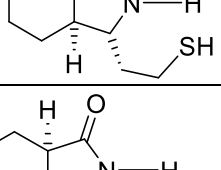
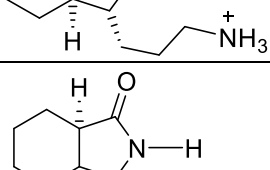
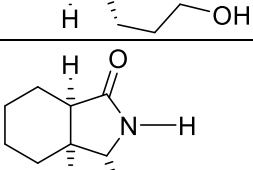
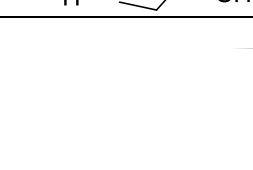
c Porcentaje de cobertura viene dado por el alineamiento del número de residuos divididos por la longitud de la secuencia consenso.

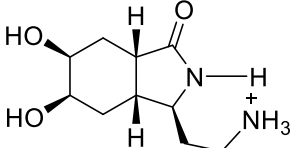
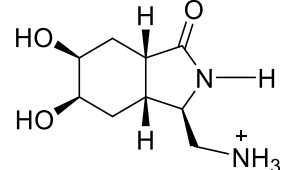
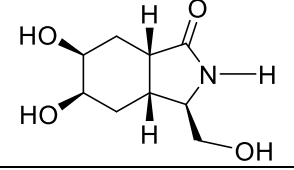
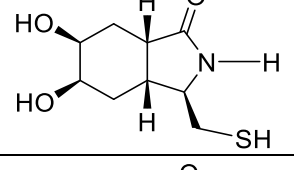
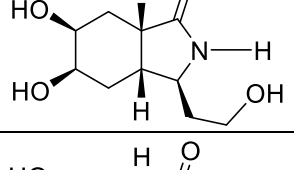
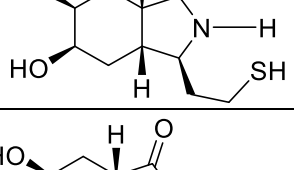
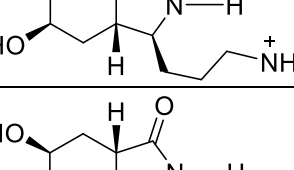
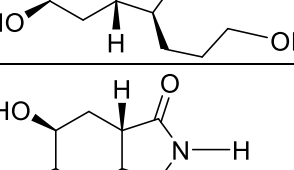
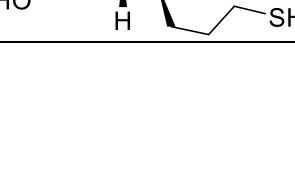
c Z-score normal es el valor normalizado del Z-score con los alineamientos; un adecuado valor es mayor 1 (mejor alineamiento).

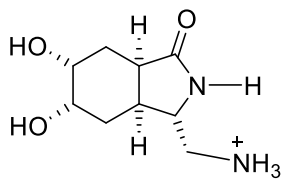
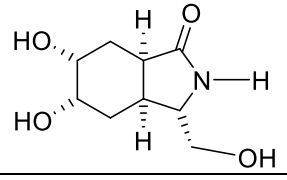
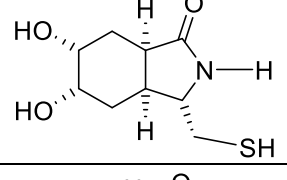
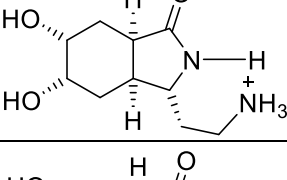
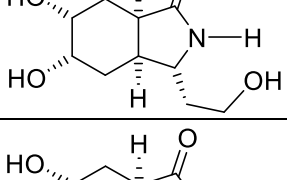
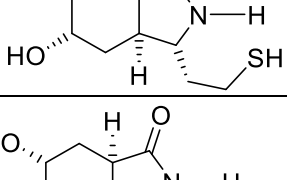
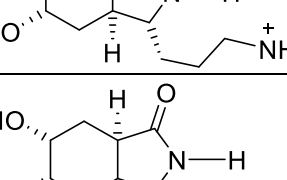
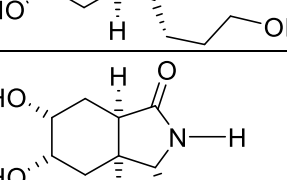
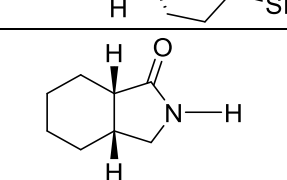



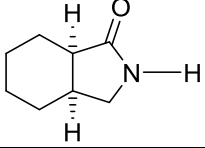
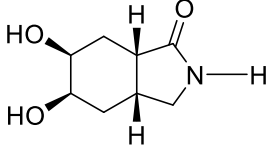
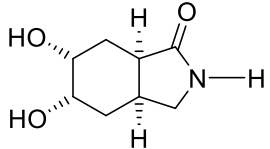
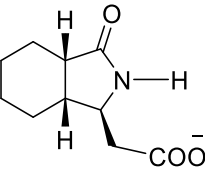
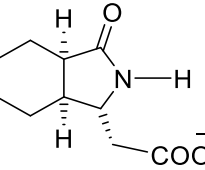
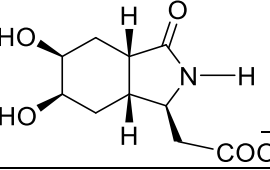
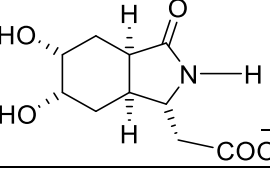
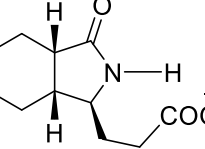
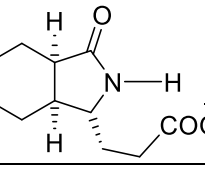
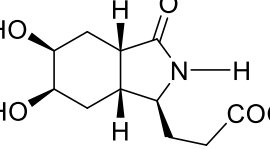
**Tabla 36.** Resultados del docking rígido en AfChiB1 con los ligandos diseñados.

Ligando	Número de poses encontradas en cada corrida	Promedio de MolDock score (kcal/mol)	aLogP
	2	-58.1533	1.08
	3	-80.3685	-0.01
	3	-65.4547	0.19
	3	-64.8757	1.47
	2	-81.255	0.41
	3	-69.3732	0.62
	3	-63.8972	1.83
	3	-73.7296	0.77

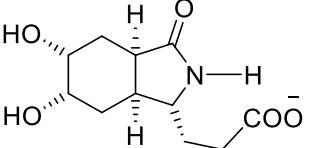
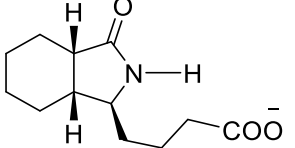
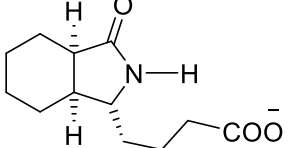
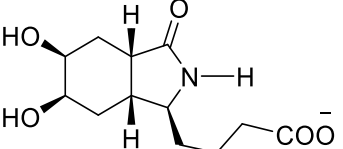
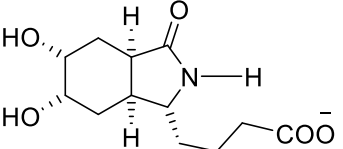
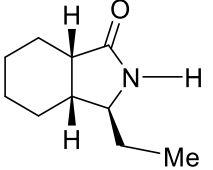
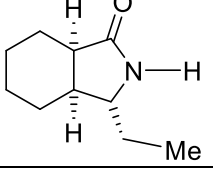
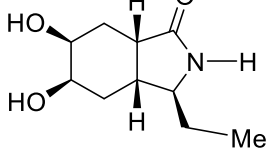
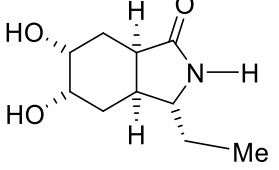
	2	-52.895	2.27
	4	-77.7355	-0.01
	0	-68.5139	0.19
	3	-68.6307	1.47
	1	-70.771	0.41
	2	-61.2393	0.62
	4	-65.3343	1.83
	2	-67.6936	0.77
	2	-49.8199	1.08
	2	-50.8565	2.27

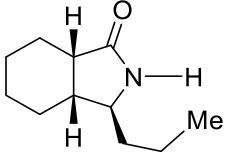
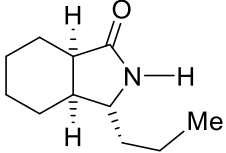
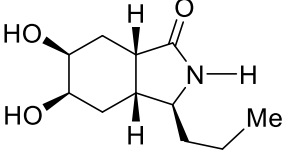
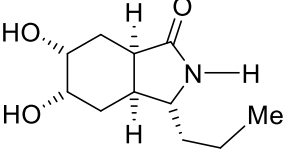
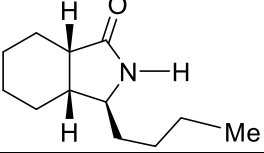
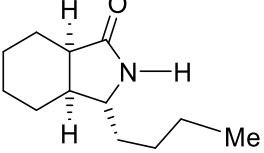
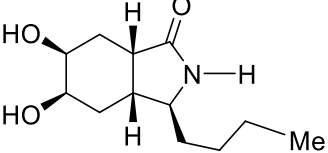
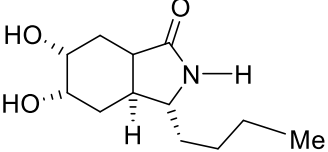
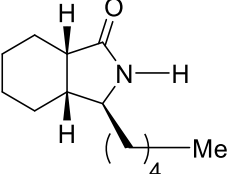
	3	-88.8226	-1.56
	4	-88.1804	-2
	4	-74.7063	-1.8
	3	-71.47643	-0.21
	4	-71.7987	-1.56
	4	-79.5695	0.11
	0	No encontrada	-1.18
	0	No encontrada	-1.17
	1	-81.9783	0.46

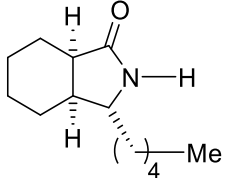
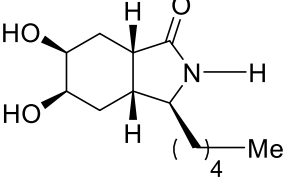
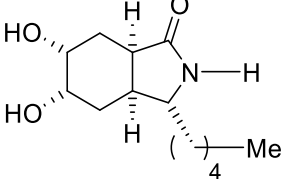
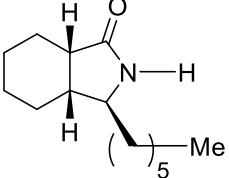
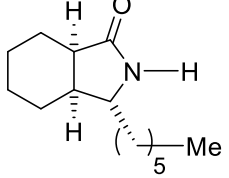
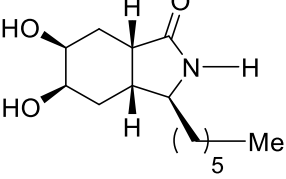
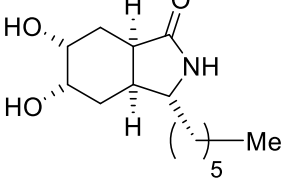
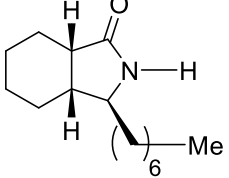
	4	-78.4431	-2
	4	-68.871	-1.8
	4	-73.368	-0.21
	4	-82.297	-1.56
	4	-77.0589	-1.56
	4	-79.916	0.11
	4	-93.8966	-1.18
	4	-91.2347	-1.17
	4	-86.68	0.46
	4	-52.0628	0.82

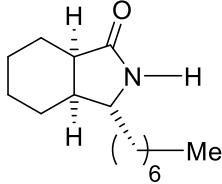
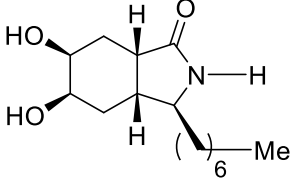
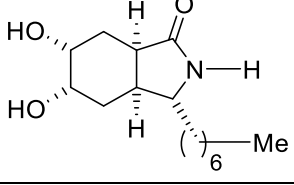
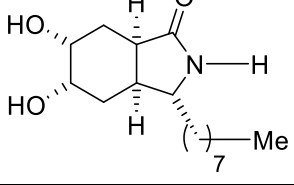
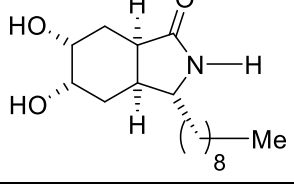
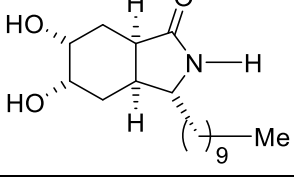
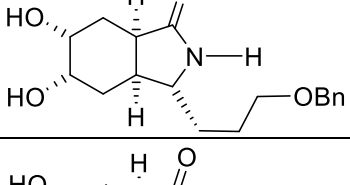
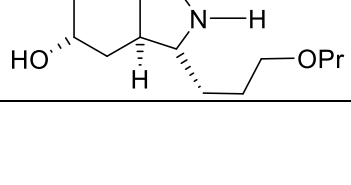
	4	-58.3412	0.82
	4	-56.3282	-1.32
	4	-68.1698	-1.32
	4	-64.4492	0.8
	1	-69.8683	0.8
	1	-53.025	-1.67
	4	-78.4123	-1.67
	3	-56.8632	1.09
	3	-54.1251	1.09
	0	No encontrada	-1.41

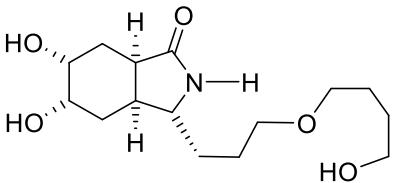
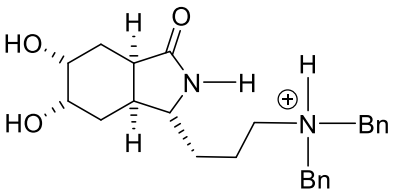
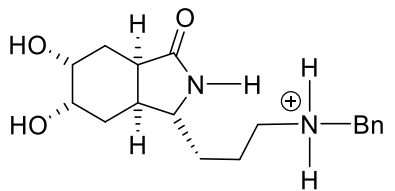
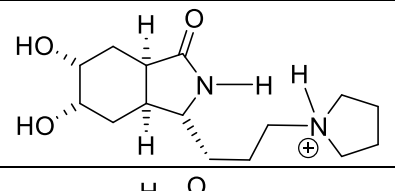
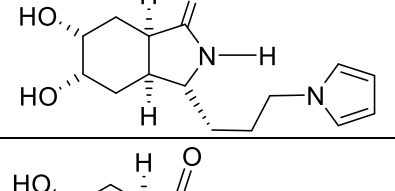
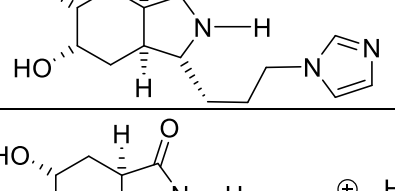
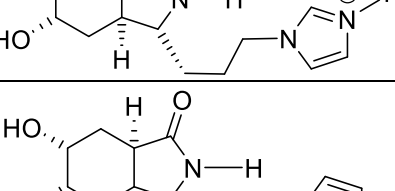
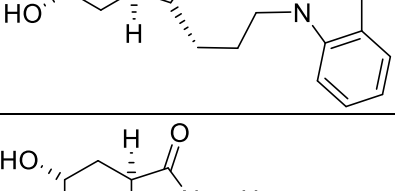
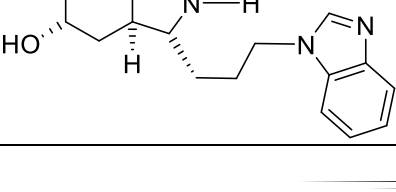


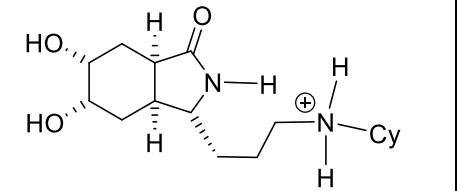
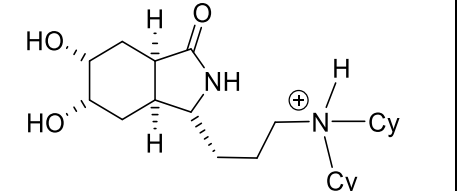
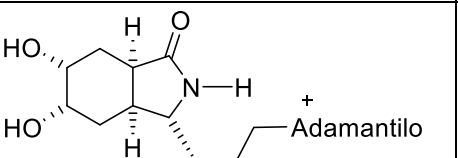
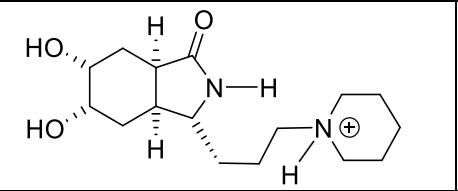
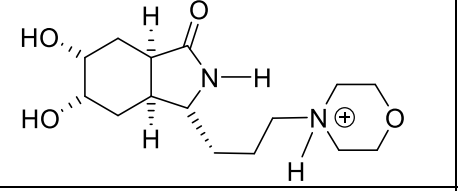
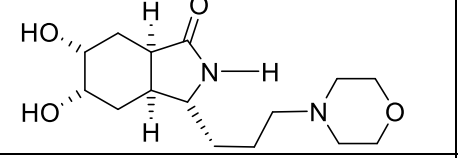
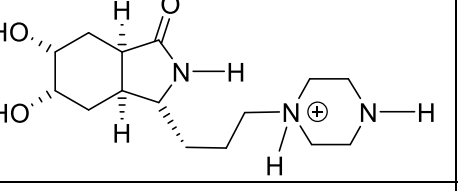
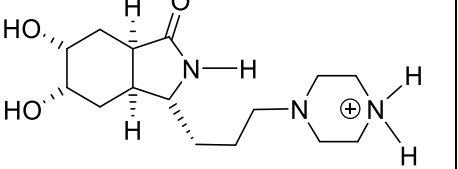
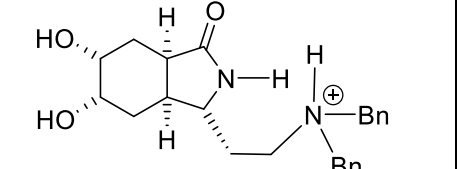
	4	-87.944	-1.41
	3	-60.6396	1.49
	3	-50.7148	1.49
	0	No encontrada	-1.06
	4	-91.4785	-1.06
	4	-65.8144	2.1
	4	-74.8016	2.1
	3	-68.8856	-0.58
	4	-72.21065	-0.58

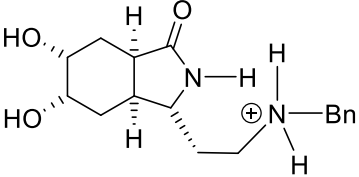
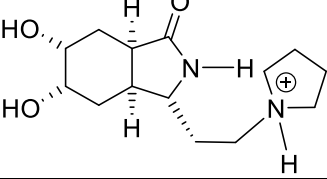
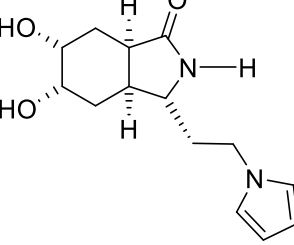
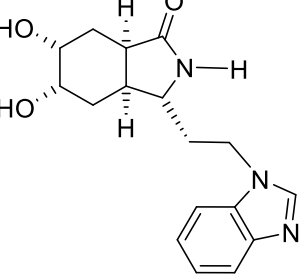
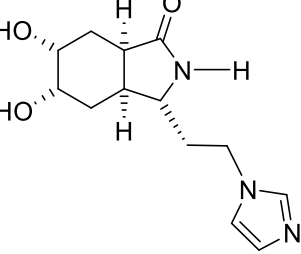
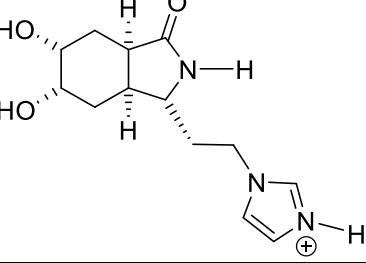
	2	-70.23215	2.57
	4	-74.173575	2.57
	3	-70.9063	-0.23
	4	-81.0510	-0.23
	3	-63.6774	3.08
	4	-81.3260	3.08
	2	-78.8410	0.27
	4	-86.0773	0.27
	3	-48.8082	3.58

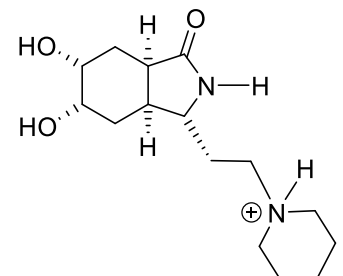
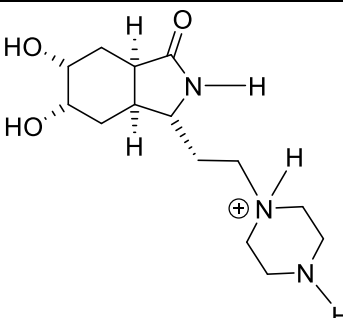
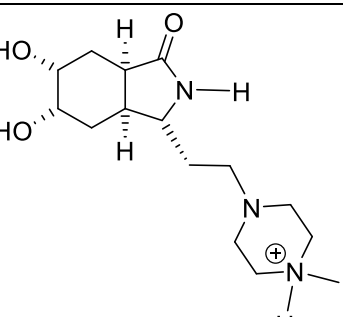
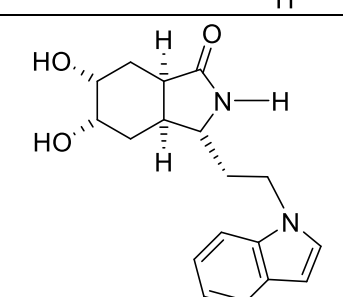
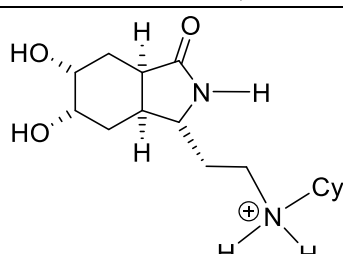
	4	-84.2085	3.58
	0	No encontrada	0.64
	4	-90.64115	0.64
	0	No encontrada	4.14
	1	-96.3333	4.14
	1	No encontrada	1.12
	3	-107.89175	1.12
	0	No encontrada	4.69

	0	No encontrada	4.69
	0	No encontrada	1.6
	3	-107.5303333	1.6
	2	-94.4984	2.23
	2	-95.1704	2.78
	4	-106.7670	3.31
	1	-90.5388	0.65
	2	-109.885	0.12

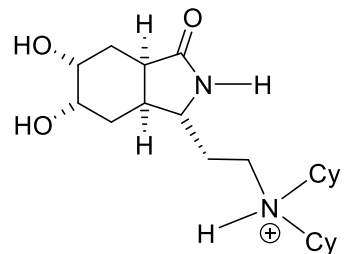
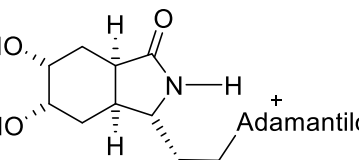
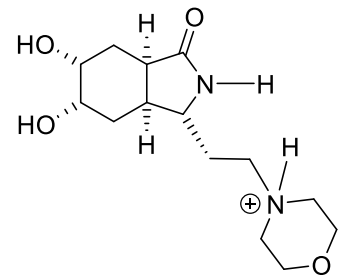
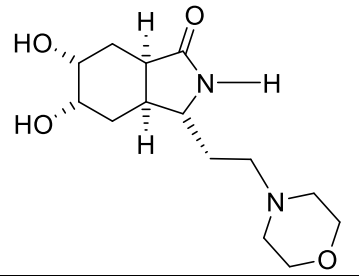
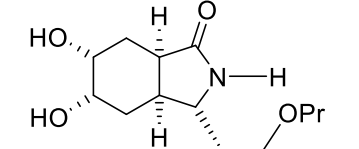
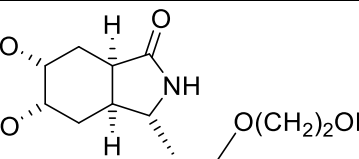
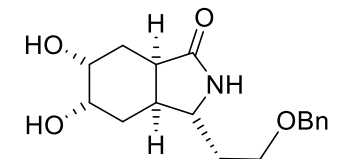
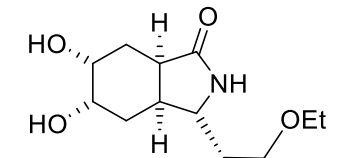
	1	-115.376	-1.12
	3	-122.93	2.28
	2	-122.5165	1.11
	3	-112.910	0.44
	4	-114.8825	0.29
	0	No encontrada	-0.52
	0	No encontrada	-0.52
	0	No encontrada	1.65
	0	No encontrada	0.72

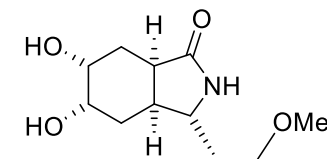
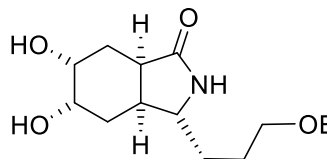
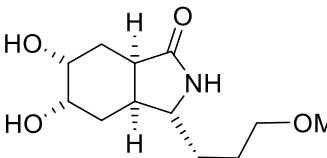
	3	-101.5601333	1.14
	1	-107.622	3.69
	1	-103.583	2.04
	0	No encontrada	0.81
	3	-120.147	-0.36
	0	No encontrada	-0.36
	4	-120.207	-1.17
	0	No encontrada	-1.17
	0	No encontrada	1.92

	4	-123.31375	0.25
	4	-102.02625	-0.12
	3	-103.627	0.05
	0	No encontrada	0.38
	0	No encontrada	-0.81
	0	No encontrada	-0.81

	0	No encontrada	0.51
	4	-107.4735	-1.51
	0	No encontrada	-1.51
	0	No encontrada	1.33
	4	-123.2392	0.66



	0	No encontrada	4.05
	0	No encontrada	1.68
	0	No encontrada	-0.79
	0	No encontrada	-0.79
	4	-96.82515	-0.09
	0	No encontrada	-1.46
	2	-123.233	0.39
	4	-91.450875	-0.63

	4	-87.2996	-1.01
	4	-109.0805	-0.14
	4	-98.42235	-0.72

**Tabla 37.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **4** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	384	-29.0818	-29.0818		
Trp	137	-17.527	-17.527		
Phe	76	-15.7162	-15.7162		
Glu	177	-13.4926	-10.4461	-1.03823	-2.0083
Thr	138	-12.1323	-12.1323		
Trp	52	-11.5397	-11.5397		
Tyr	139	-10.8028	-10.8028		
Asp	246	-10.0862	-9.50607	-1.5513	0.971138
Asp	175	-7.56112	-7.4445	-1.1953	1.07868
Gly	136	-7.5581	-7.5581		
Met	243	-6.69166	-6.69166		
Tyr	245	-5.18425	-5.18425		
Tyr	48	-5.15289	-5.15289		
Glu	322	-5.13877	-3.32816	-1.8106	
Gly	135	-2.16696	-2.16696		
Asp	385	-0.98667	0	-0.98667	
Ala	217	-0.966115	-0.966115		
Tyr	299	-0.805855	-0.805855		
Tyr	178	-0.583219	-0.583219		
Met	382	-0.445702	-0.445702		
Arg	57	0.688037	0	0.688037	

**Tabla 38.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **5** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	384	-21.1793	-21.1793		
Trp	137	-16.9929	-16.9929		
Phe	76	-16.4578	-16.4578		
Thr	138	-12.5796	-12.5796		
Tyr	139	-10.6595	-10.6595		
Glu	177	-9.84444	-8.02492	-1.06017	-0.759355
Tyr	245	-9.51937	-9.51937		
Trp	52	-9.02308	-9.02308		
Asp	175	-8.15766	-7.43463	-0.605857	-0.117174
Gly	136	-8.05947	-8.05947		
Asp	246	-5.27243	-4.97304	-0.805846	0.506462
Tyr	48	-5.08551	-5.08551		
Met	243	-4.63916	-4.63916		
Gly	135	-1.55817	-1.55817		
Glu	322	-1.35444	0	-1.35444	
Ala	217	-0.905758	-0.905758		
Asp	385	-0.876229	0	-0.876229	
Tyr	178	-0.830515	-0.830515		
Met	382	-0.510592	-0.510592		
Arg	57	0.6738	0	0.6738	
Arg	301	0.851369	0	0.851369	

**Tabla 39.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **6** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	384	-30.4486	-30.4486		
Trp	137	-14.2574	-14.2574		
Glu	177	-11.6066	-7.32135	-2.27611	-2.00913
Tyr	245	-9.5998	-9.5998		
Asp	175	-7.64883	-6.82407	-0.147902	-0.676867
Phe	76	-6.20945	-6.20945		
Glu	322	-5.79197	-3.9232	-1.52883	-0.339936
Met	243	-5.30891	-5.30891		
Trp	52	-5.26909	-5.26909		
Asp	246	-5.03691	-4.49123	-1.57314	1.02746
Tyr	48	-4.86504	-4.86504		
Gly	136	-3.86255	-3.86255		
Asp	385	-1.68281	-0.515937	-1.16688	
Thr	138	-1.31347	-1.31347		

Tyr	178	-0.793236	-0.793236		
Ala	217	-0.78956	-0.78956		
Met	382	-0.496319	-0.496319		
Val	50	-0.443876	-0.443876		
Arg	57	-0.434485	-0.434485		
Arg	301	0.462819	0	0.462819	

**Tabla 40.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **7** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	384	-21.9013	-21.9013		
Trp	137	-15.2879	-15.2879		
Phe	76	-12.8413	-12.8413		
Glu	177	-11.786	-8.28824	-0.767571	-2.73016
Thr	138	-11.0739	-11.0739		
Tyr	139	-10.7439	-10.7439		
Asp	246	-9.11196	-8.66937	-1.38043	0.937835
Tyr	245	-8.53967	-8.53967		
Trp	52	-7.57687	-7.57687		
Gly	136	-7.47833	-7.47833		
Met	243	-5.47695	-5.47695		
Asp	175	-4.74932	-4.12859	-2.43385	1.81312
Tyr	48	-3.25918	-3.25918		
Gly	135	-2.10734	-2.10734		
Glu	322	-1.23188	0	-1.23188	
Asp	385	-0.910039	0	-0.910039	
Tyr	178	-0.823499	-0.823499		
Ala	217	-0.528891	-0.528891		
Arg	57	0.637264	0	0.637264	
Arg	301	0.833902	-0.0258415	0.859744	

**Tabla 41.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **8** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	384	-21.4893	-21.4893		
Trp	137	-16.645	-16.645		
Phe	76	-15.6587	-15.6587		
Thr	138	-12.798	-12.798		
Tyr	139	-10.9705	-10.9705		
Glu	177	-9.90266	-7.69997	-0.375085	-1.8276
Tyr	245	-9.82267	-9.82267		
Trp	52	-8.83312	-8.83312		

Gly	136	-8.21529	-8.21529		
Asp	175	-7.31786	-7.54054	1.31687	-1.09419
Met	243	-5.23135	-5.23135		
Tyr	48	-5.03628	-5.03628		
Asp	246	-3.58222	-4.36767	0.037445	0.748006
Gly	135	-1.47181	-1.47181		
Ala	217	-0.85295	-0.85295		
Tyr	178	-0.735283	-0.735283		
Met	382	-0.518115	-0.518115		

**Tabla 42.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **4** en el complejo de CHIT1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Asp	213	-33.4181	-29.0185	-1.03325	-3.3664
Trp	99	-27.8759	-27.8759		
Trp	358	-17.3255	-17.3255		
Tyr	212	-14.6678	-14.6678		
Met	210	-12.7853	-12.7853		
Tyr	141	-11.3983	-11.3983		
Tyr	267	-11.2183	-11.2183		
Ala	186	-10.1261	-10.1261		
Phe	214	-8.8203	-8.8203		
Trp	218	-8.29445	-8.29445		
Tyr	190	-6.65345	-6.65345		
Glu	140	-5.85524	-3.43638	-2.51199	0.093123
Pro	185	-5.66524	-5.66524		
Gly	187	-4.33288	-4.33288		
Asp	138	-0.755269	-0.364759	-0.39051	
Glu	219	-0.717877	0	-0.717877	
Leu	241	-0.536074	-0.536074		
Met	300	-0.459899	-0.459899		
Leu	362	-0.31709	-0.31709		
Lys	253	0.377347	0	0.377347	
Lys	343	0.446324	0	0.446324	

**Tabla 43.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **5** en el complejo de CHIT1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	99	-33.1063	-33.1063		
Asp	213	-24.9518	-20.7377	-3.22875	-0.985356
Trp	358	-15.4112	-15.4112		
Tyr	267	-14.1911	-14.1911		
Glu	140	-13.3553	-7.53858	-1.40943	-4.40728
Met	210	-12.1978	-12.1978		
Tyr	141	-9.54924	-9.54924		

Tyr	212	-9.01046	-9.01046		
Pro	185	-5.66591	-5.66591		
Ala	186	-3.57854	-3.57854		
Val	184	-1.41866	-1.41866		
Asp	138	-0.999762	-0.14069	-0.859072	
Tyr	190	-0.911348	-0.911348		
Gly	187	-0.710759	-0.710759		
Leu	362	-0.63994	-0.63994		
Glu	297	-0.348929	-	-0.347082	
			0.00184695		
Lys	253	0.339007	0	0.339007	
Lys	343	0.432074	0	0.432074	
Arg	269	0.551869	0	0.551869	
Met	300	1.99947	1.99947		

**Tabla 44.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **6** en el complejo de CHIT1.

Residuo	ID	Total	E <sub>Pair</sub>	E <sub>Elec</sub> (r > 4.5)	E <sub>Elec</sub> (r < 4.5)
Trp	99	-22.4892	-22.4892		
Asp	213	-20.8316	-17.4773	-1.90671	-1.44763
Trp	358	-18.8656	-18.8656		
Tyr	212	-17.3011	-17.3011		
Met	210	-13.5573	-13.5573		
Tyr	267	-10.2605	-10.2605		
Glu	140	-9.71609	-6.19552	-2.20811	-1.31246
Phe	214	-7.16865	-7.16865		
Ala	186	-6.61337	-6.61337		
Tyr	141	-5.63077	-5.63077		
Pro	185	-5.15822	-5.15822		
Gly	187	-3.28651	-3.28651		
Tyr	190	-2.52143	-2.52143		
Asp	138	-1.40696	-0.509549	-0.897406	
Met	300	-1.30312	-1.30312		
Glu	219	-0.616962	0	-0.616962	
Lys	253	0.368472	0	0.368472	
Lys	343	0.488932	0	0.488932	
Arg	269	0.864277	0	0.864277	

**Tabla 45.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **7** en el complejo de CHIT1.

Residuo	ID	Total	E <sub>Pair</sub>	E <sub>Elec</sub> (r > 4.5)	E <sub>Elec</sub> (r < 4.5)
---------	----	-------	-------------------	-----------------------------	-----------------------------

Asp	213	-28.8588	-22.2599	-0.683194	-5.91573
Trp	99	-25.8435	-25.8435		
Trp	358	-18.6255	-18.6255		
Tyr	212	-17.2824	-17.2824		
Met	210	-14.8065	-14.8065		
Tyr	267	-11.3155	-11.3155		
Glu	140	-8.65371	-4.8129	-1.2326	-2.60821
Pro	185	-4.89694	-4.89694		
Tyr	141	-4.83949	-4.83949		
Ala	186	-3.10926	-3.10926		
Gly	187	-1.53145	-1.53145		
Phe	214	-1.18177	-1.18177		
Asp	138	-1.16051	-0.263148	-0.897366	
Val	184	-1.05398	-1.05398		
Met	300	-0.482245	-0.482245		
Tyr	190	-0.312125	-0.312125		
Glu	219	-0.300206	0	-0.300206	
Lys	253	0.337956	0	0.337956	
Arg	269	0.42259	-0.983544	1.92331	-0.517179
Lys	343	0.476754	0	0.476754	

**Tabla 46.** Datos utilizados para la construcción del modelo.

Ligando	CI <sub>50</sub>	MolDock score	aLogP
<b>Cafeína</b>	469	-68.3453	-1.78
<b>PTX</b>	126	-129.992	-1
<b>THP</b>	1500	-67.5685	-1.22
<b>Dicaffeine</b>	4.8	-185.573	-1.26
<b>DGU</b>	500	-68.2	-1.05
<b>3</b>	520	-125.137	2.07
<b>1</b>	92.9	-154.145	3.13
<b>2</b>	51.8	-175.6	4.19

**Tabla 47.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **Cafeína** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair
Trp	137	-14.7543	-14.7543
Glu	177	-12.9188	-12.9188
Tyr	245	-11.7931	-11.7931
Trp	384	-10.2368	-10.2368
Asp	246	-7.67069	-7.67069
Met	243	-6.90224	-6.90224

Asp	175	-4.06906	-4.06906
Phe	76	-2.28276	-2.28276
Gly	136	-1.30334	-1.30334
Tyr	178	-1.12867	-1.12867

**Tabla 48.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **PTX** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	137	-19.4407	-19.4407		
Trp	384	-12.4779	-12.4779		
Glu	177	-11.847	-11.4025	1.68571	-2.1302
Asp	246	-11.7394	-12.2205	-0.738627	1.21976
Met	243	-9.04744	-9.04744		
Asp	175	-8.44357	-7.60456	-0.574233	-0.264776
Tyr	48	-7.31853	-7.31853		
Arg	301	-5.1076	-3.90797	-0.622204	-0.577419
Phe	251	-3.82638	-3.82638		
Tyr	245	-3.68348	-3.68348		
Gly	136	-2.85439	-2.85439		
Ala	217	-0.774556	-0.774556		
Met	382	-0.54296	-0.54296		
Tyr	178	-0.454263	-0.454263		
Phe	76	0.355588	0.355588		

**Tabla 49.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **DGU** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	384	-13.0256	-13.0256		
Trp	137	-9.42954	-9.42954		
Glu	177	-8.57023	-9.06635	1.03895	-0.542824
Tyr	245	-6.31521	-6.31521		
Met	243	-5.12098	-5.12098		
Tyr	48	-4.24297	-4.24297		
Asp	175	-3.97196	-4.21733	-0.376202	0.621571
Phe	76	-3.24909	-3.24909		
Asp	246	-1.65218	-1.37531	0.415706	-0.692578
Gly	136	-0.899272	-0.899272		
Ala	217	-0.720333	-0.720333		

**Tabla 50.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **TFL** en el complejo de AfChiB1.



Residuo	ID	Total	EPair
Trp	137	-13.2897	-13.2897
Glu	177	-12.6916	-12.6916
Trp	384	-12.0463	-12.0463
Met	243	-7.21599	-7.21599
Asp	175	-6.70417	-6.70417
Tyr	245	-4.72696	-4.72696
Asp	246	-3.80021	-3.80021
Tyr	48	-3.72834	-3.72834
Gly	136	-3.36767	-3.36767
Phe	76	-2.97139	-2.97139
Ala	217	-0.500805	-0.500805

**Tabla 51.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **3** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Trp	137	-34.9374	-34.9374		
Phe	251	-16.5709	-16.5709		
Glu	177	-13.6533	-13.2409	1.42487	-1.83724
Tyr	245	-13.181	-13.181		
Asp	246	-11.3111	-11.1518	1.17631	-1.3356
Trp	384	-10.8192	-10.8192		
Met	243	-4.83062	-4.83062		
Asp	175	-4.20281	-3.84319	0.83266	-1.19229
Phe	76	-2.0928	-2.0928		
Tyr	178	-1.22348	-1.22348		
Arg	301	-0.731935	-0.696286	-0.03565	
Gly	136	-0.408465	-0.408465		

**Tabla 52.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **1** en el complejo de AfChiB1.

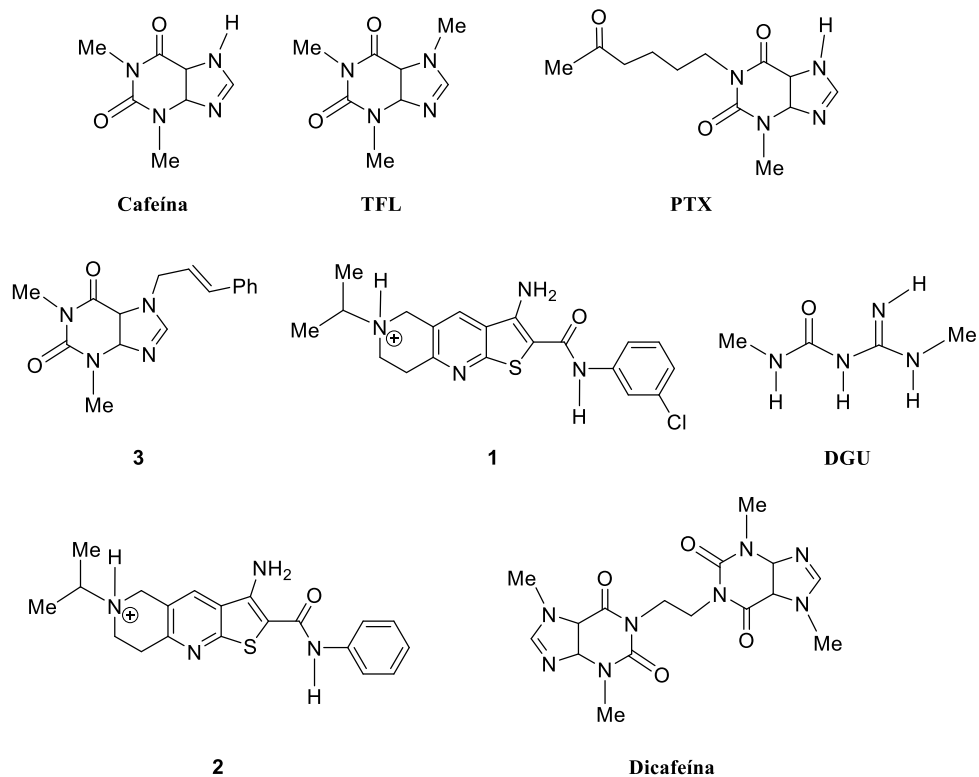
Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Asp	246	-26.6469	-23.9636	-1.39038	-1.29288
Trp	137	-16.4748	-16.4748		
Trp	384	-15.5906	-15.5906		
Glu	177	-15.2386	-10.9332	-1.93999	-2.36543
Tyr	247	-11.0955	-11.0955		
Phe	273	-10.9115	-10.9115		
Tyr	245	-10.5104	-10.5104		
Tyr	178	-10.4277	-10.4277		
Met	243	-9.38134	-9.38134		

Ala	220	-6.18543	-6.18543		
Phe	251	-6.13878	-6.13878		
Phe	76	-2.87919	-2.87919		
Gly	221	-2.30278	-2.30278		
Gly	136	-2.29873	-2.29873		
Pro	219	-2.24794	-2.24794		
Lys	224	-1.37386	-1.32875	-0.0451065	
Tyr	48	-1.06001	-1.06001		
Glu	322	-0.931856	0	-0.931856	
Asp	385	-0.902851	0	-0.902851	
Asp	173	-0.82098	0	-0.82098	
Ala	248	-0.401551	-0.401551		
Ala	217	-0.303865	-0.303865		
Arg	57	0.331846	0	0.331846	
Lys	369	0.40519	0	0.40519	
Arg	301	0.490135	0	0.490135	

**Tabla 53.** Contribución de los residuos de aminoácidos de **2** en el complejo de AfChiB1.

Residuo	ID	Total	EPair	EElec (r > 4.5)	EElec (r < 4.5)
Asp	246	-23.5734	-21.198	-2.14784	-0.227577
Met	243	-15.9	-15.9		
Tyr	245	-15.725	-15.725		
Trp	384	-12.2138	-12.2138		
Trp	137	-11.4885	-11.4885		
Glu	177	-9.00304	-7.47583	-1.47912	-0.0480973
Tyr	178	-5.79061	-5.79061		
Tyr	247	-5.46925	-5.46925		
Tyr	48	-5.24261	-5.24261		
Phe	76	-5.22875	-5.22875		
Phe	251	-4.61487	-4.61487		
Phe	273	-3.53128	-3.53128		
Gly	136	-1.58066	-1.58066		
Lys	224	-1.27584	-2.04321	0.693146	0.0742283
Gly	221	-1.24643	-1.24643		
Asp	173	-1.01986	0	-1.01986	
Asp	385	-1.00436	0	-1.00436	
Glu	322	-0.854423	0	-0.854423	
Ala	217	-0.817627	-0.817627		
Ala	248	-0.58401	-0.58401		
Tyr	299	-0.43768	-0.43768		
Ser	252	-0.372601	-0.372601		

Ala	220	-0.315677	-0.315677		
Arg	57	0.336843	0	0.336843	
Lys	369	0.367628	0	0.367628	
Arg	301	1.06002	0	1.06002	
Asp	175	2.30133	6.12296	-1.85074	-1.97089



**Figura 31.** Estructuras utilizadas para la construcción del modelo: Cafeína (PDB: 2A3B), PTX (PDB: 2A3C), DGU (PDB: 3CH9), inhibidores **6**, **7**, **8** y TFL (PDB: 2A3A)

**Tabla 54.** Parámetros estadísticos de la construcción del modelo.

Variables	Q2loo	R2	R2adj	Kx	Kxy	s		
2	78.88	92.09	88.93	57.37	56.59	0.2606		
Object	Y Exp.	Y- Calc	Y- Pred	Hat	Err.Calc.	Err.Pred.	Std.Err.Calc.	Std.Err.Pred.
<b>6</b>	2.72	2.43	2.34	0.223	-0.29	-0.37	-1.26	-1.63
<b>Cafeína</b>	2.67	2.85	2.94	0.314	0.18	0.27	0.84	1.23
<b>DGU</b>	2.7	2.97	3.09	0.297	0.27	0.39	1.25	1.78

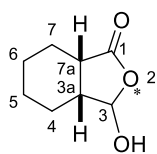
<b>Dicaféina</b>	0.68	0.78	1.19	0.813 *	0.09	0.51	0.84	4.48
<b>PTX</b>	2.1	1.84	1.77	0.229	-0.26	-0.33	-1.13	-1.46
<b>TFL</b>	3.18	2.96	2.86	0.301	-0.22	-0.31	-1	-1.44
<b>7</b>	1.71	1.84	1.96	0.504	0.12	0.25	0.67	1.35
<b>8</b>	1.97	2.06	2.11	0.319	0.09	0.14	0.44	0.64

**Tabla 55.** Valores del servidor Swiss ADME para los ligandos **4-8**.

<b>Ligando</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
MW	408.53	318.41	304.38	296.41	305.37
Número de átomos pesados	30	23	22	21	22
Número de átomos pesados aromáticos	12	6	6	0	6
Fracción Csp <sup>3</sup>	0.48	0.61	0.59	0.94	0.59
Número de enlaces rotacionales	8	6	5	4	5
Número de aceptores de enlaces de hidrógeno	4	4	4	4	4
Número de donadores de enlaces de hidrógeno	3	4	4	4	3
Refractividad molar	121.49	92.1	87.29	84.73	85.58
Área de superficie polar topológica	72.8	81.59	81.59	81.59	78.79
iLogP	3.36	2.07	2.17	2.31	1.99
XLogP3	2.6	0.64	0.28	0.6	0.56
WLogP	2.03	0.27	-0.12	0.16	0.31
MLogP	2.31	1.02	0.78	0.83	0.78
Silicos-IT Log P	2.98	1.54	1.16	0.89	1.48
Log P consenso	2.65	1.11	0.86	0.96	1.02
ESOL Log S	-3.78	-2.01	-1.78	-1.79	-1.96
ESOL Solubilidad (mg/ml)	6.80E-02	3.08E+00	5.11E+00	4.79E+00	3.36E+00
ESOL Solubilidad (mol/l)	1.66E-04	9.67E-03	1.68E-02	1.62E-02	1.10E-02
ESOL Clase	Soluble	Soluble	Muy soluble	Muy soluble	Muy soluble
Ali Log S	-3.78	-1.93	-1.56	-1.89	-1.79
Ali Solubilidad (mg/ml)	6.81E-02	3.75E+00	8.48E+00	3.84E+00	4.99E+00
Ali Solubilidad (mol/l)	1.67E-04	1.18E-02	2.79E-02	1.30E-02	1.63E-02
Ali Clase	Soluble	Muy soluble	Muy soluble	Muy soluble	Muy soluble

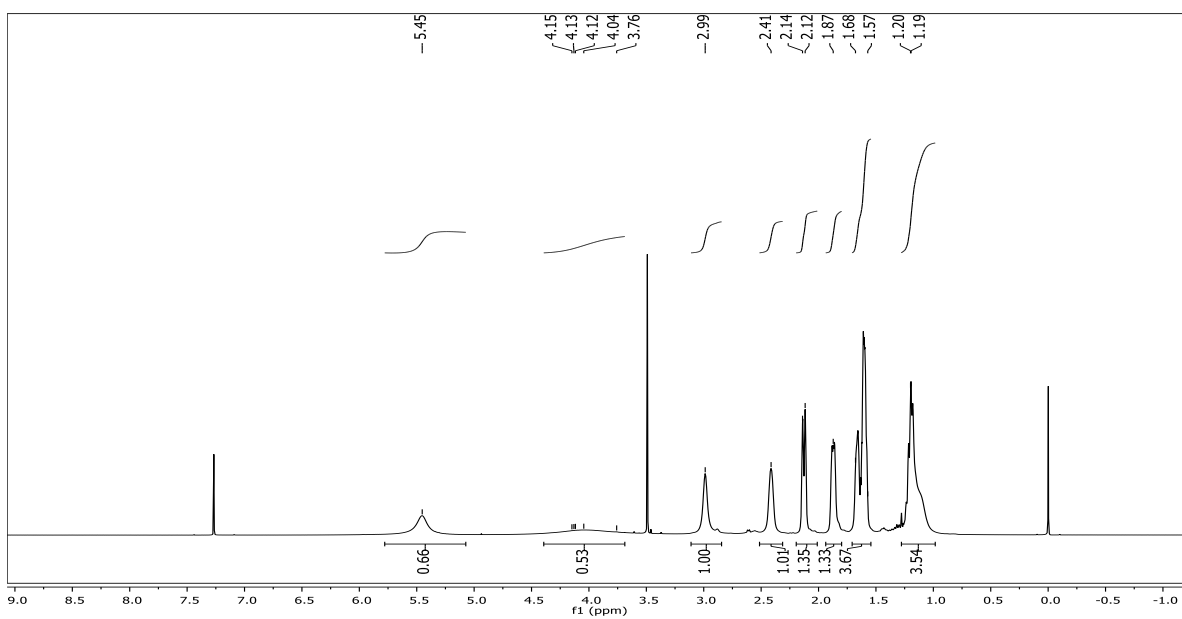
Silicos-IT LogSw	-6.04	-3.9	-3.51	-2.02	-3.19
Silicos-IT Solubilidad (mg/ml)	3.68E-04	3.97E-02	9.49E-02	2.80E+00	1.95E-01
Silicos-IT Solubilidad (mol/l)	9.02E-07	1.25E-04	3.12E-04	9.44E-03	6.38E-04
Silicos-IT clase	Pobremente soluble	Soluble	Soluble	Soluble	Soluble
GI absorción	Alto	Alto	Alto	Alto	Alto
BBB permeabilidad	Si	No	No	No	No
Pgp sustrato	Si	Si	Si	Si	Si
CYP1A2 inhibidor	No	No	No	No	No
CYP2C19 inhibidor	No	No	No	No	No
CYP2C9 inhibidor	No	No	No	No	No
CYP2D6 inhibidor	Si	No	No	No	No
CYP3A4 inhibidor	No	No	No	No	No
log Kp (cm/s)	-6.95	-7.79	-7.96	-7.68	-7.77
Lipinski (violaciones)	0	0	0	0	0
Ghose (violaciones)	0	0	0	0	0
Veber (violaciones)	0	0	0	0	0
Egan (violaciones)	0	0	0	0	0
Muegge (violaciones)	0	0	0	0	0
Biodisponibilidad	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
PAINS (alertas)	0	0	0	0	0
Brenk (alertas)	0	0	0	0	0
Similitud a un fármaco (violaciones)	2	0	0	0	0
Accesibilidad sintética	3.93	3.41	3.34	3.74	3.67

## 6. Apéndice Experimental

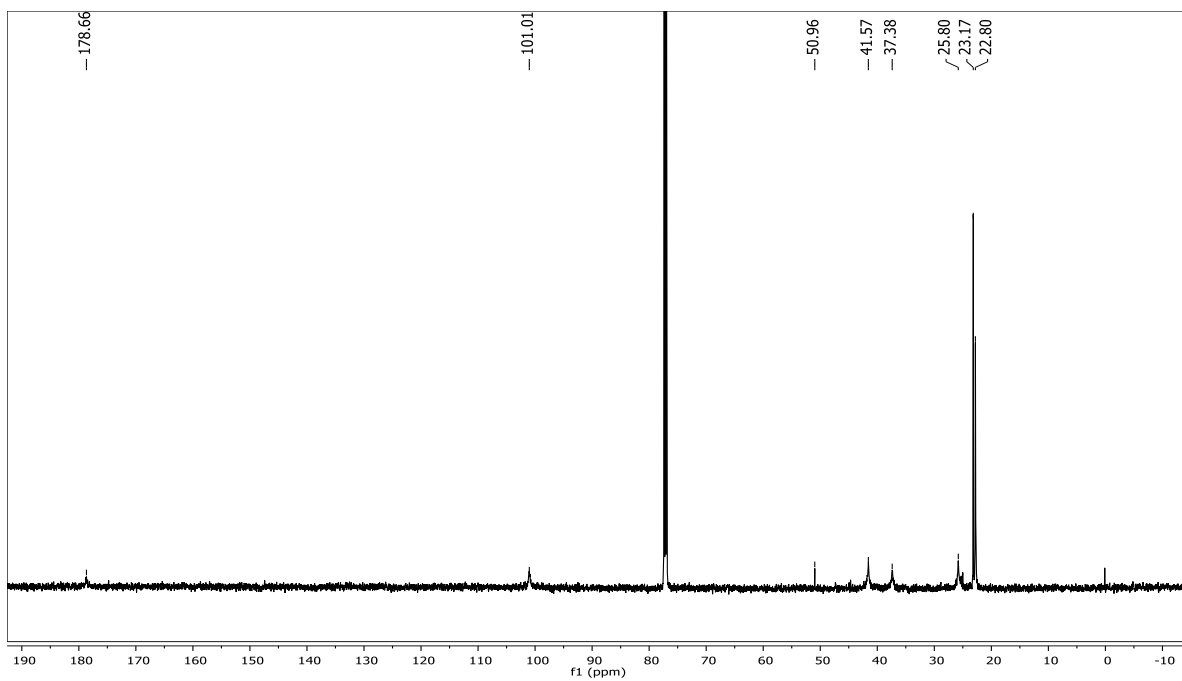


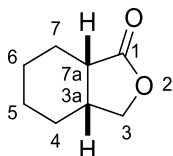
(±)-40

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



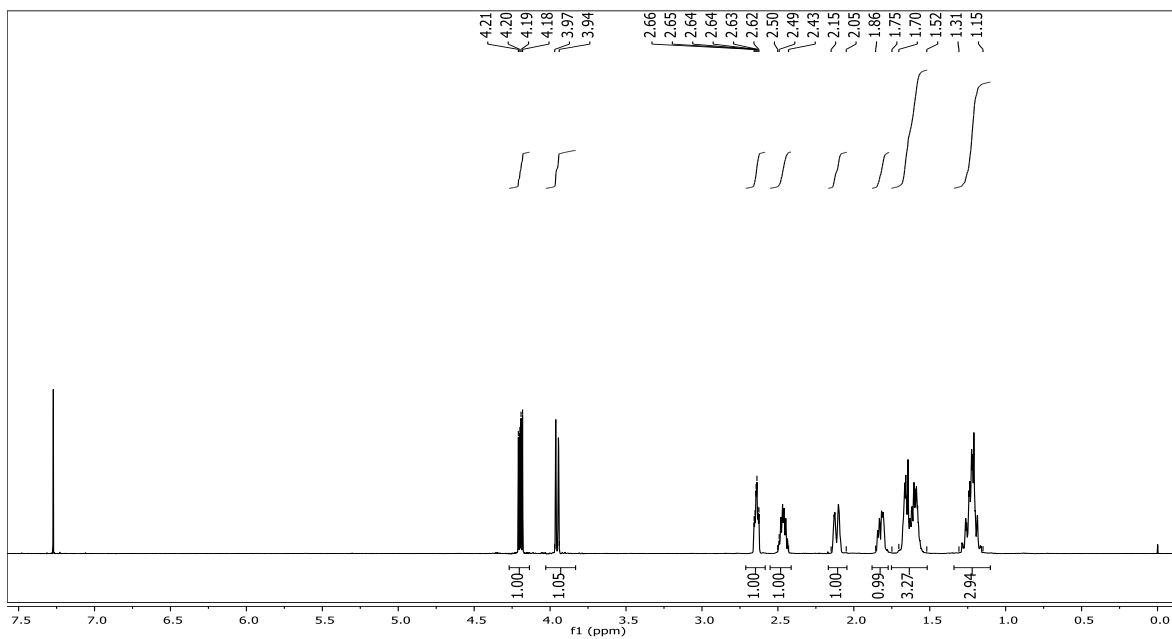
RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



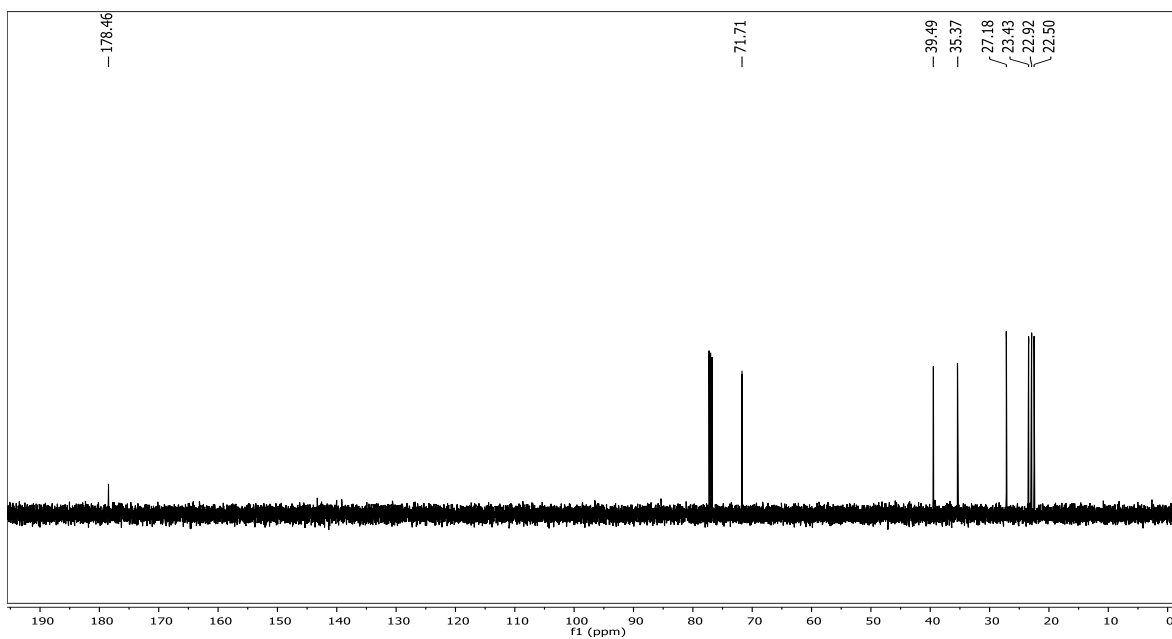


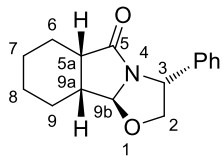
(±)-46

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



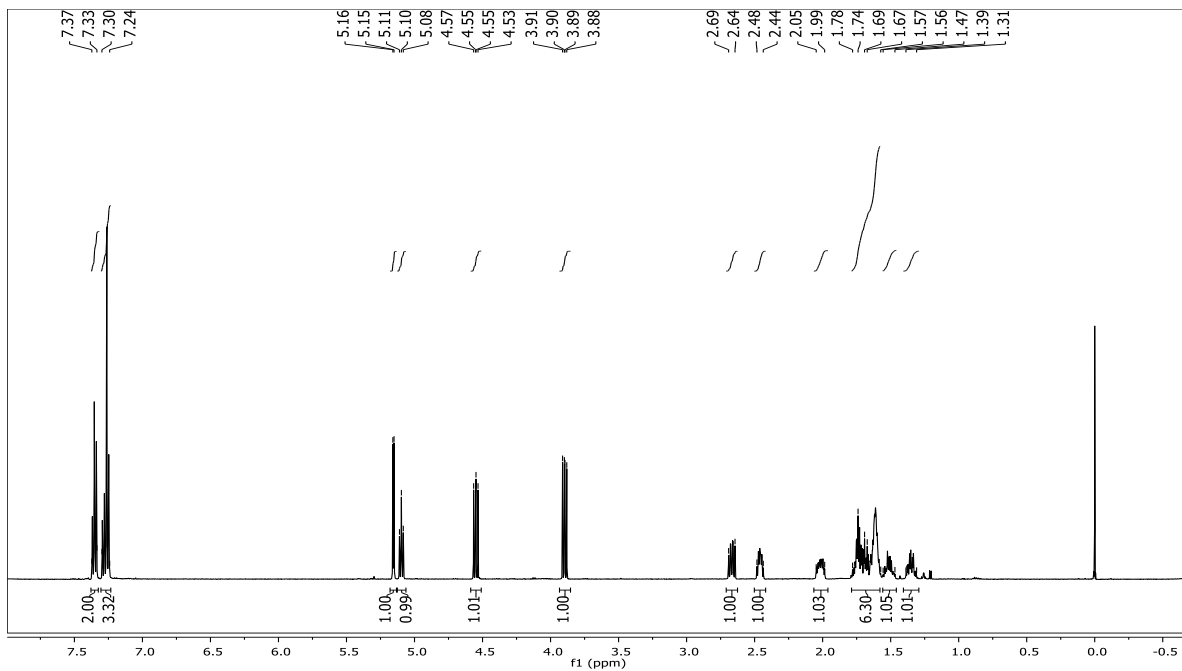
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



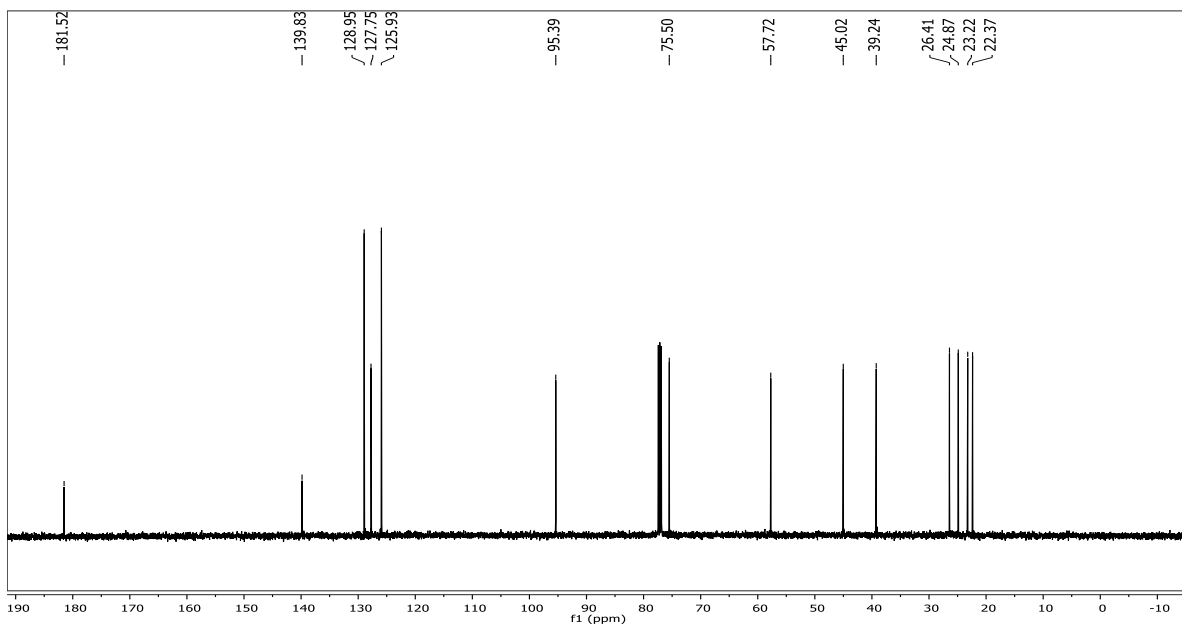


**(3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-41a**

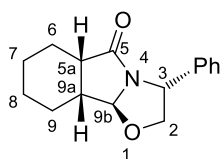
RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

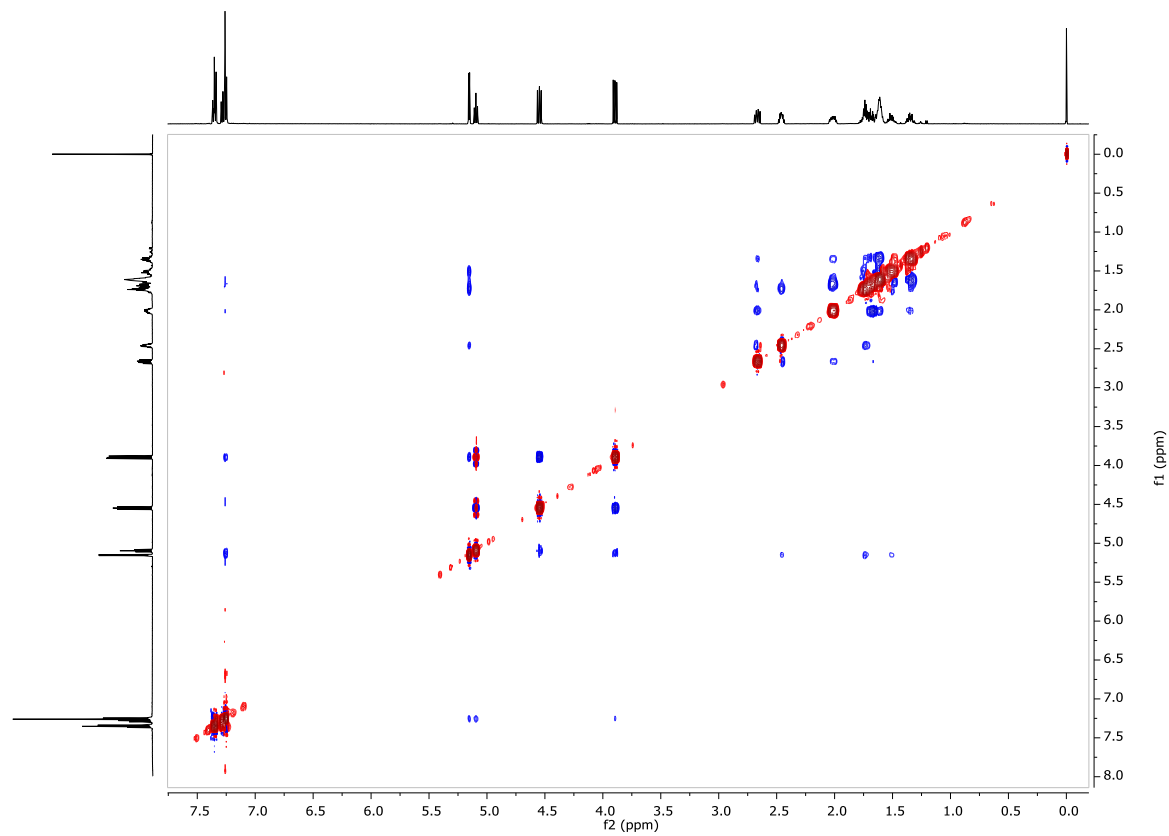


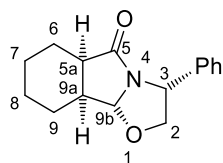




**(3R,5aS,9aR,9bS)-41a**

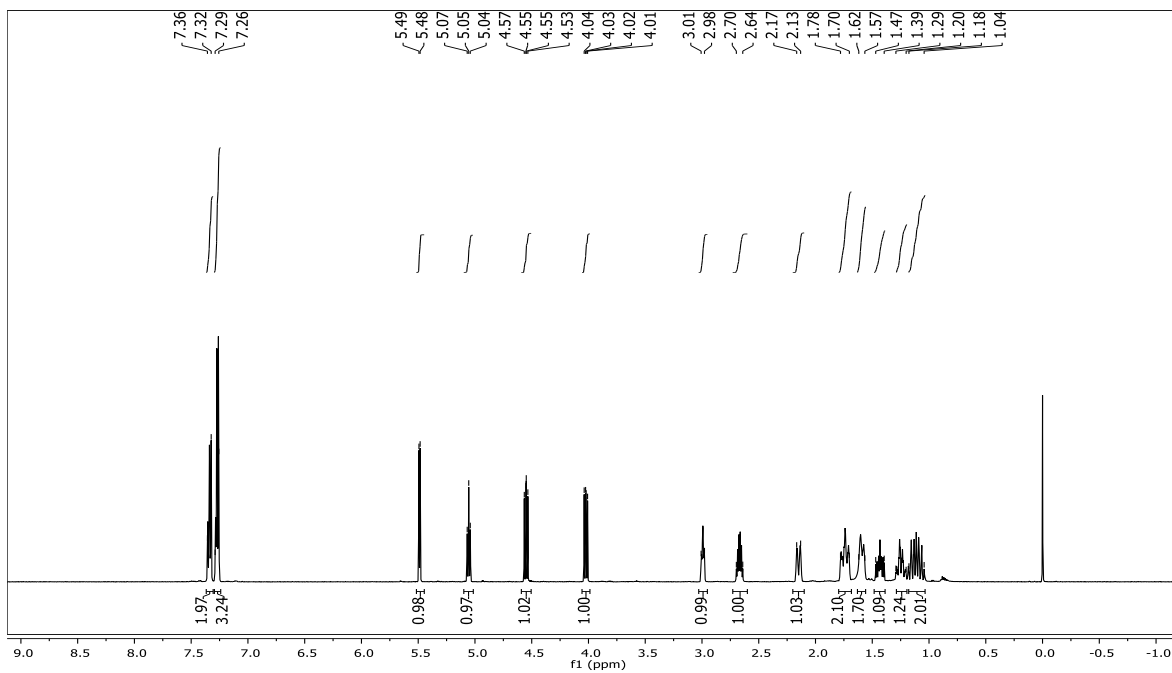
Espectro NOESY 2D (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)



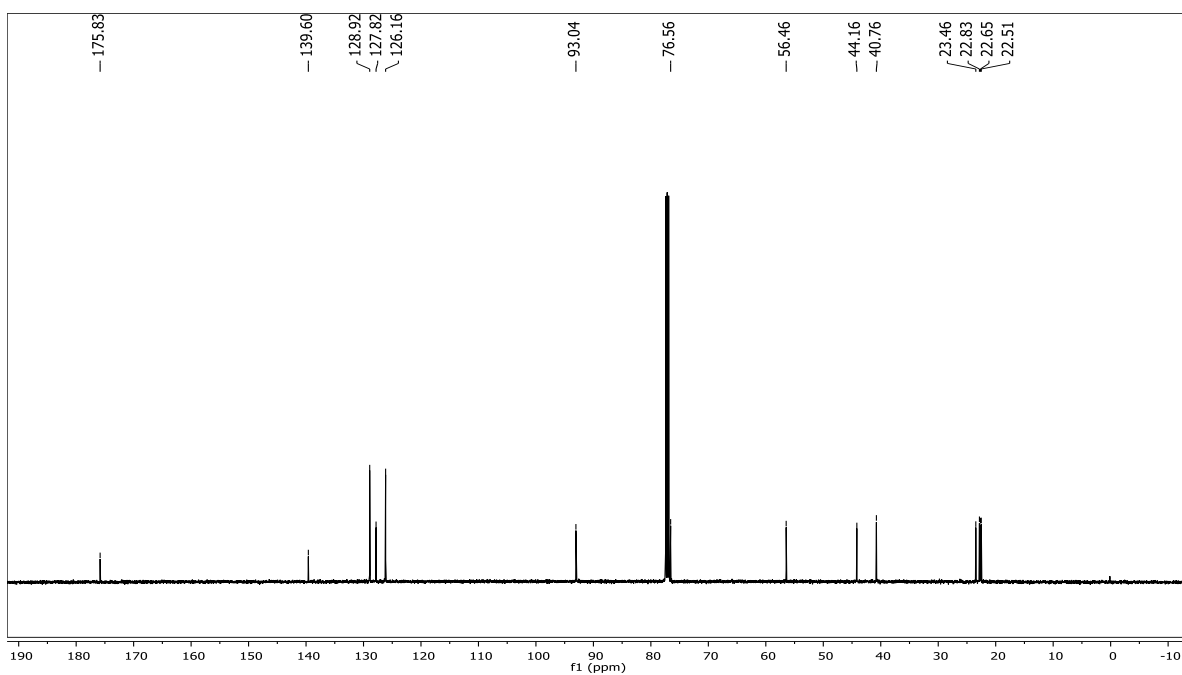


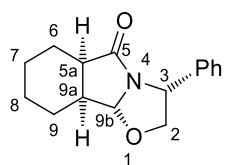
(3*R*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-41**b**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



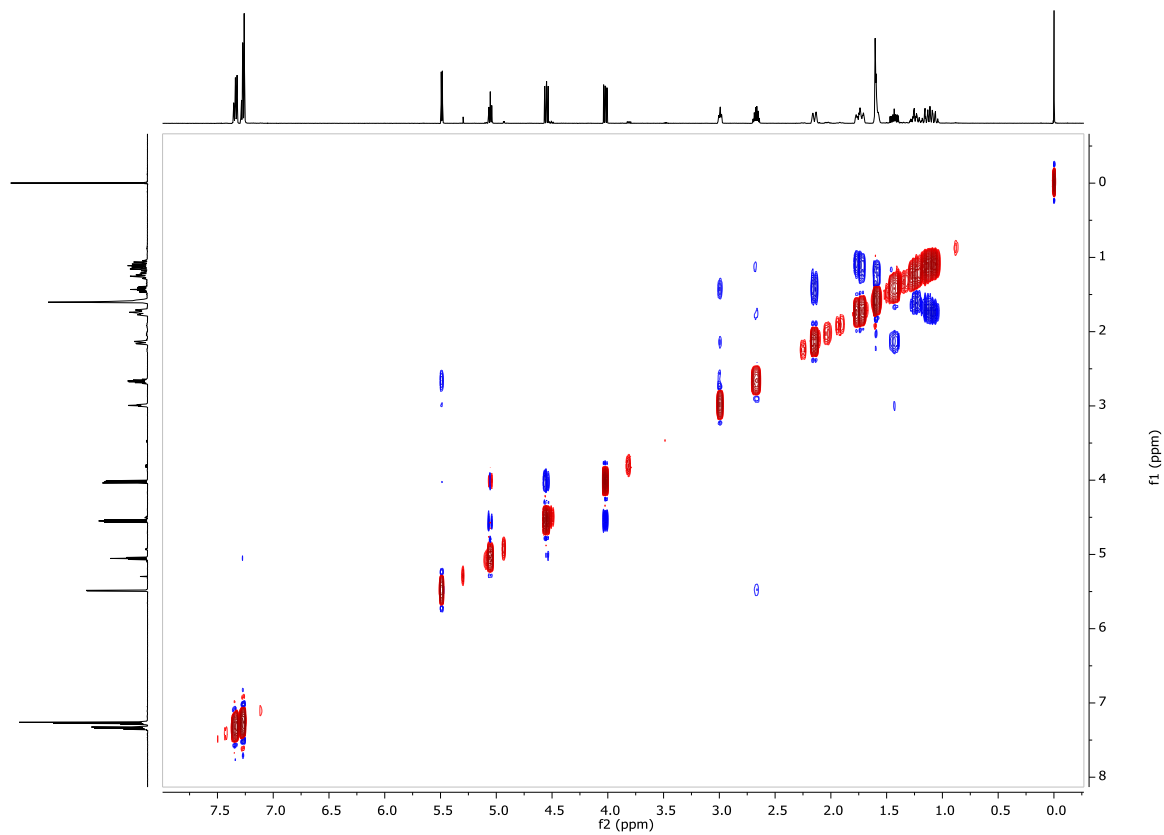
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

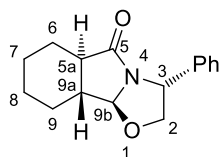




**(3R,5aR,9aS,9bR)-41b**

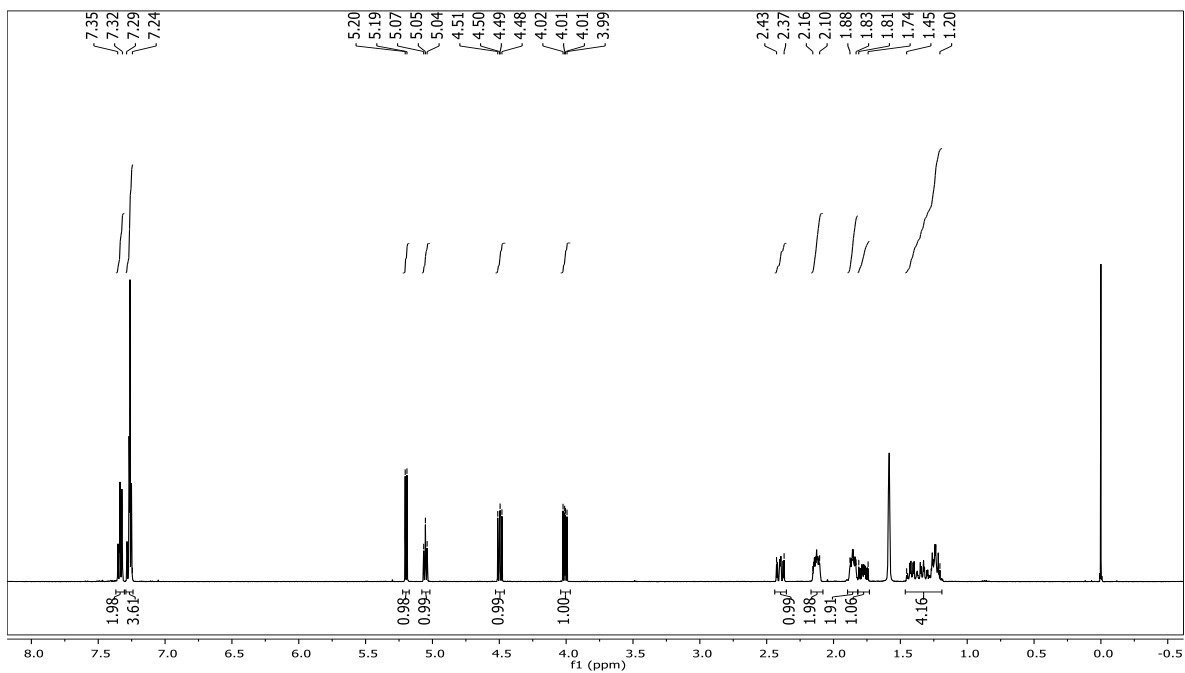
Espectro NOESY 2D (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)



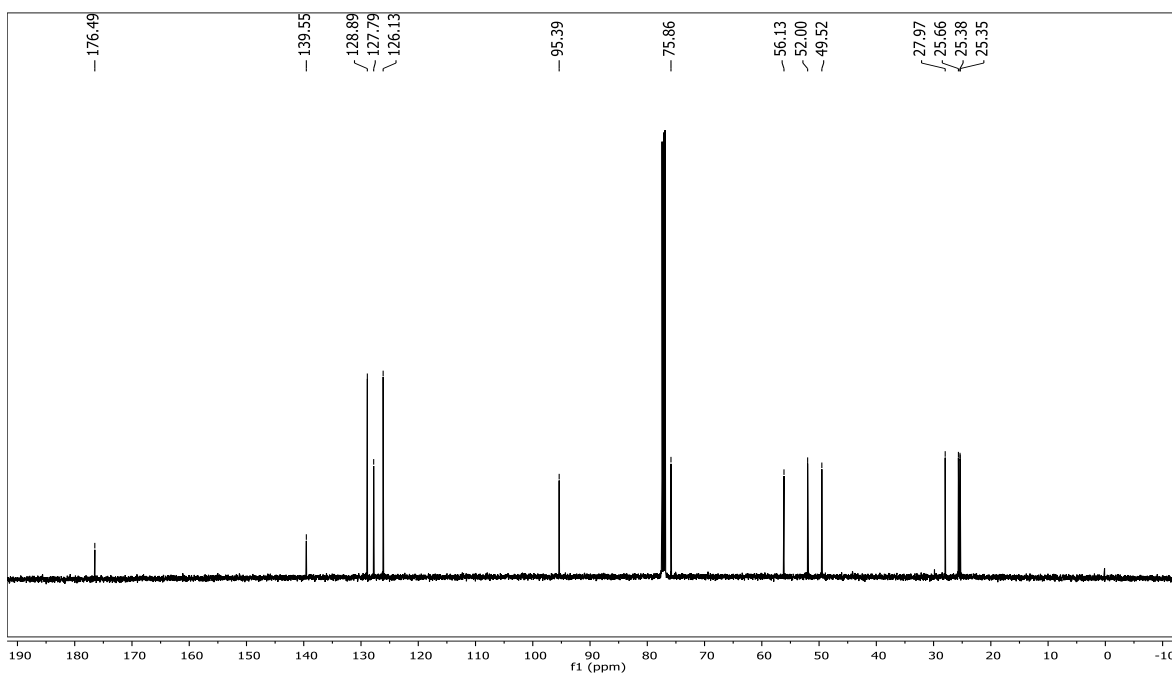


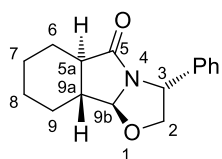
**(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-41c**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



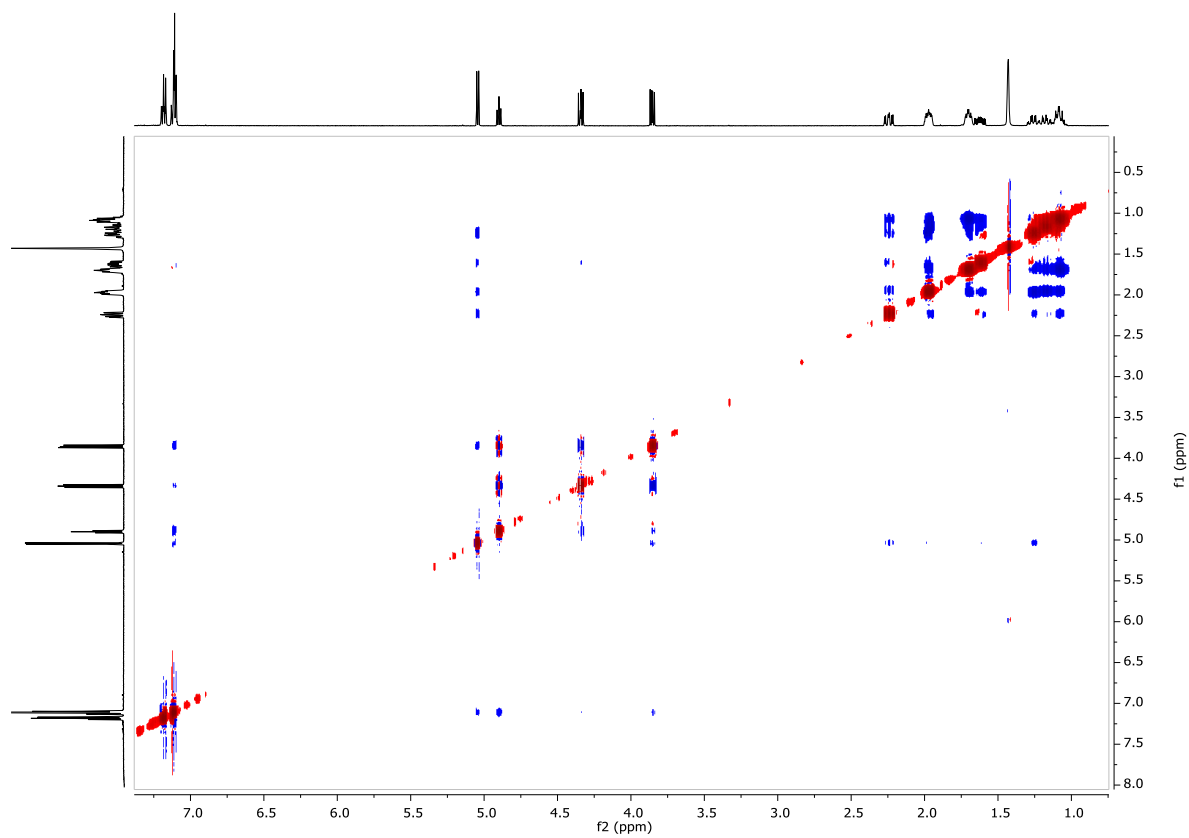
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

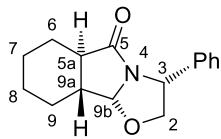




**(3R,5aR,9aR,9bS)-41c**

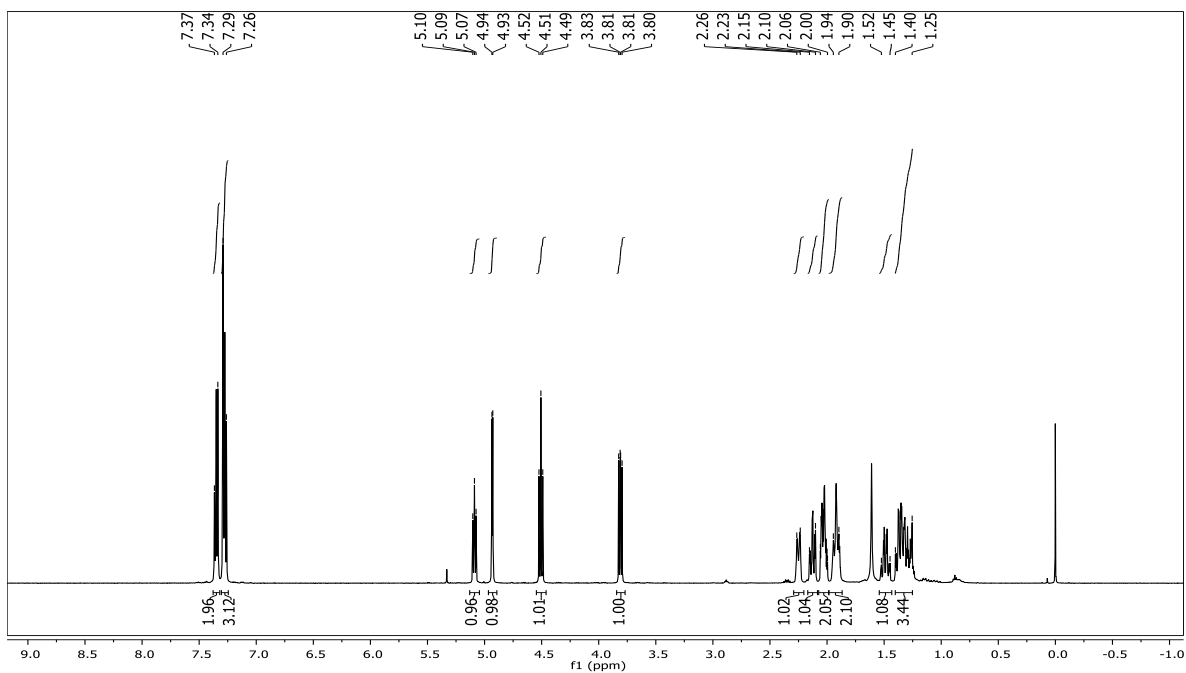
Espectro NOESY 2D (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)



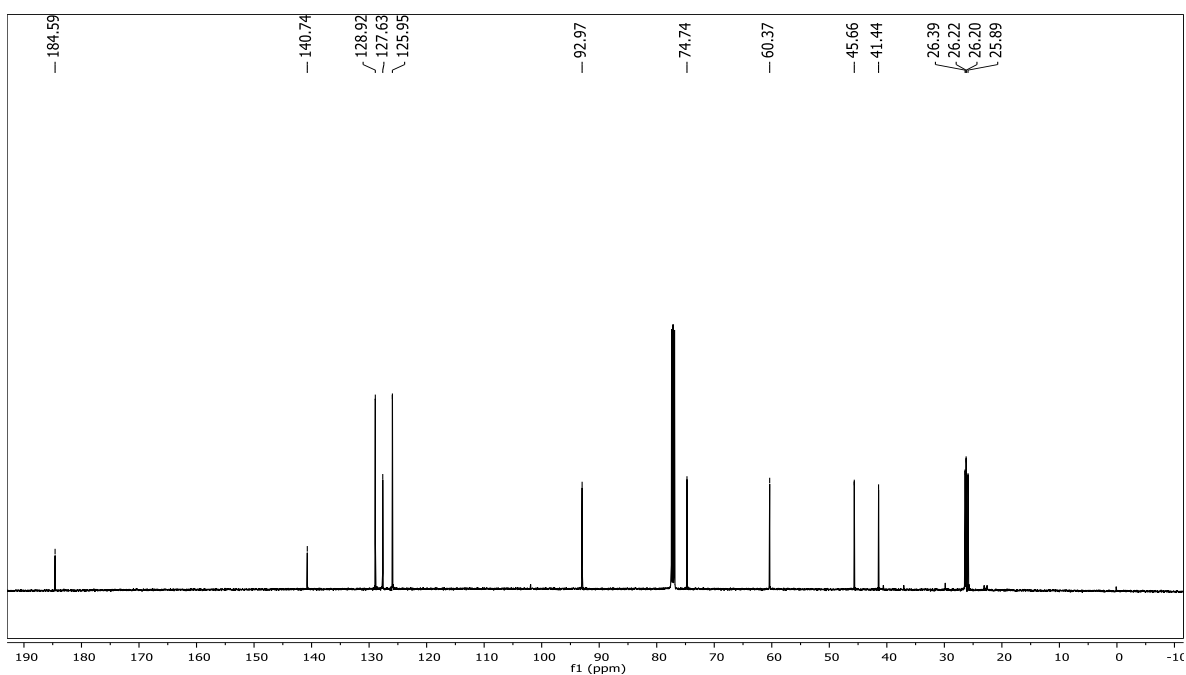


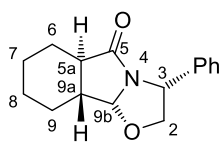
**(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bR*)-41d**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



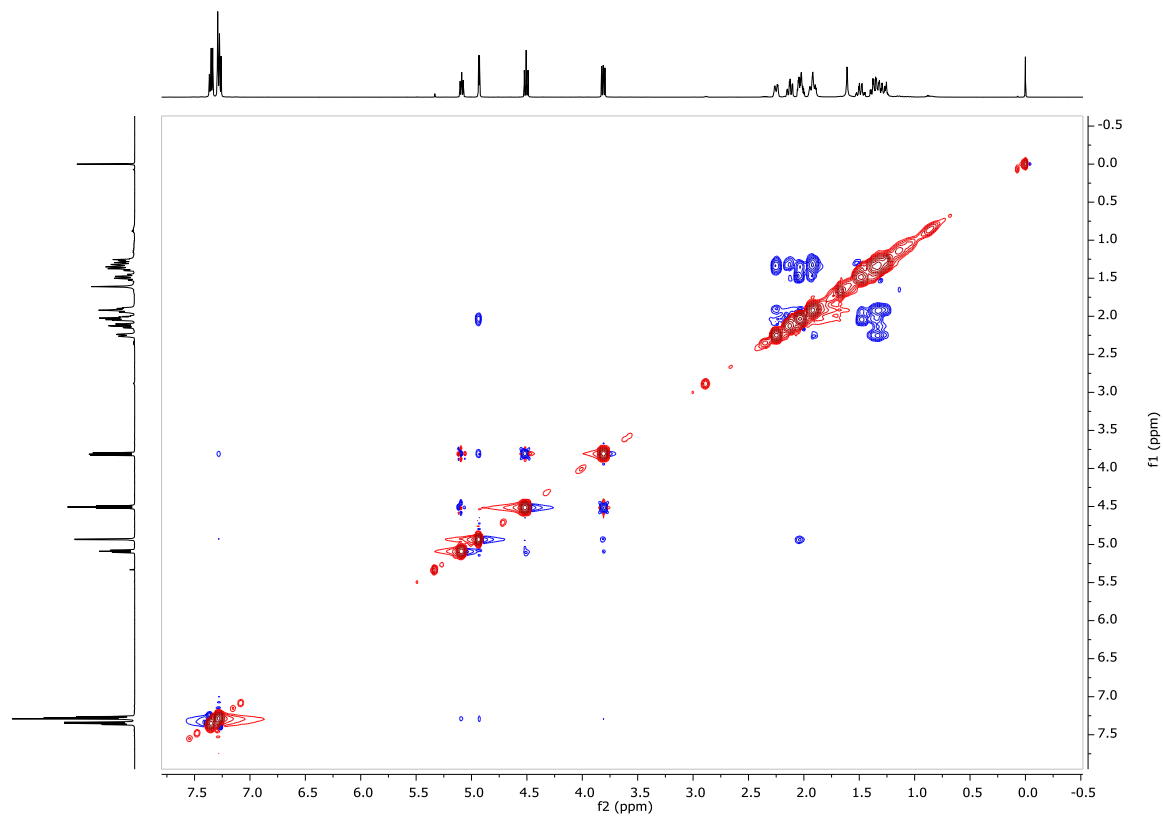
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

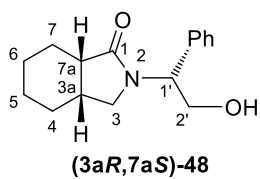




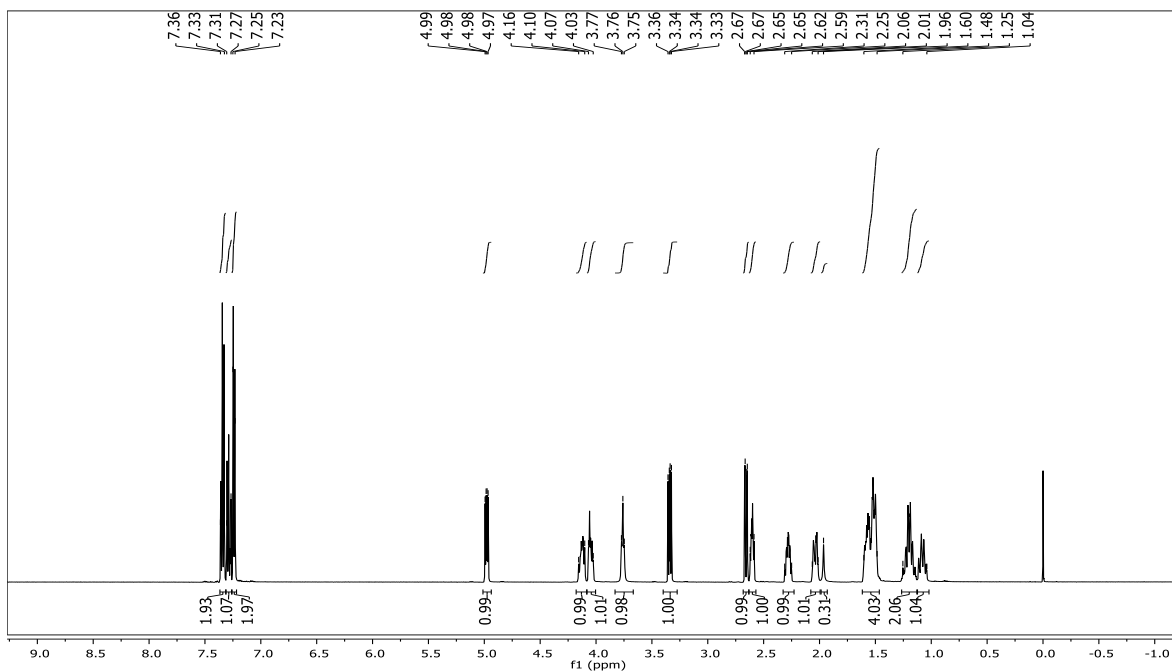
**(3R,5aR,9aR,9bR)-41d**

Espectro NOESY 2D (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)

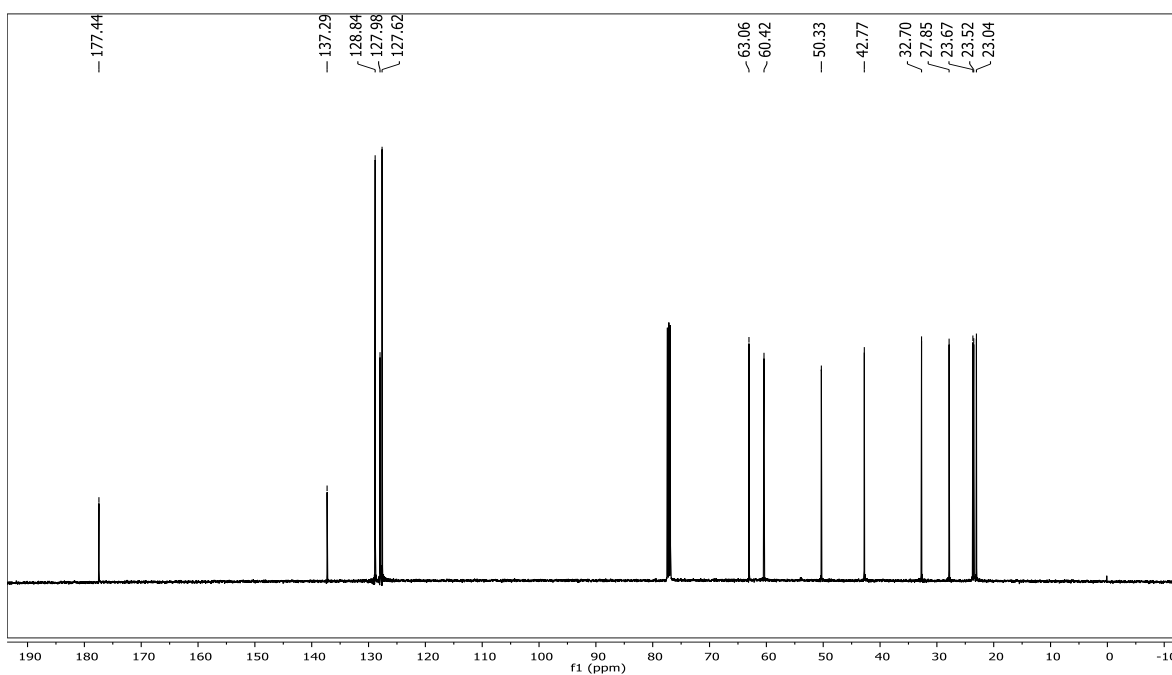




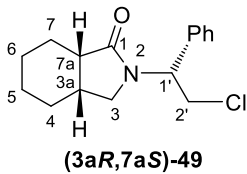
RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



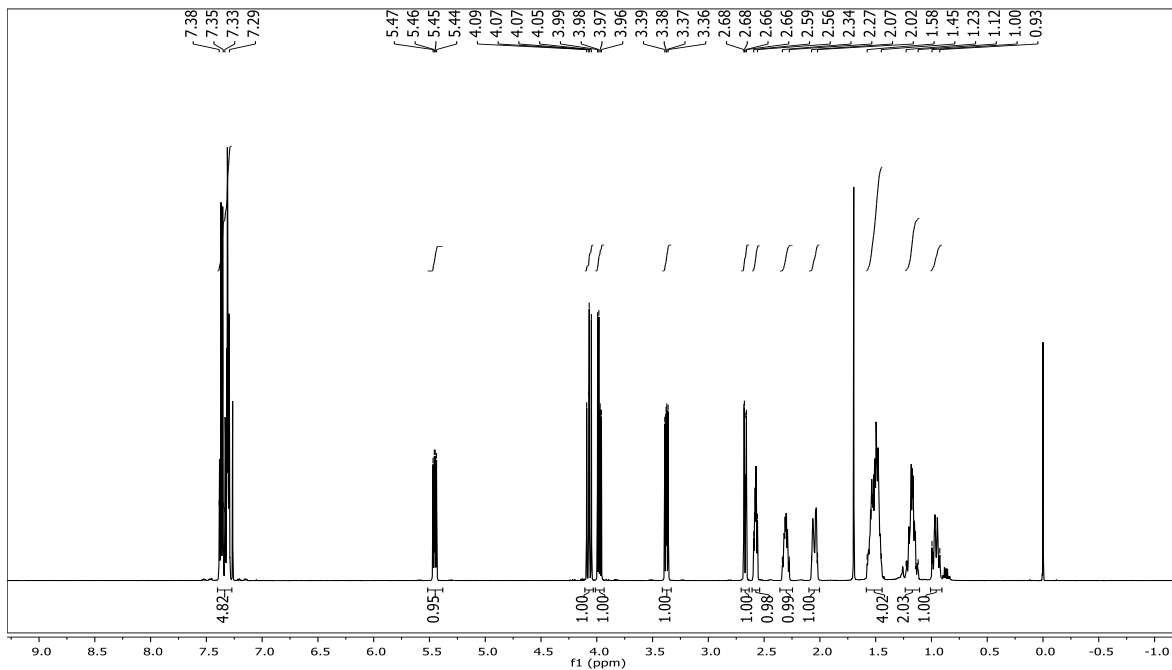
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



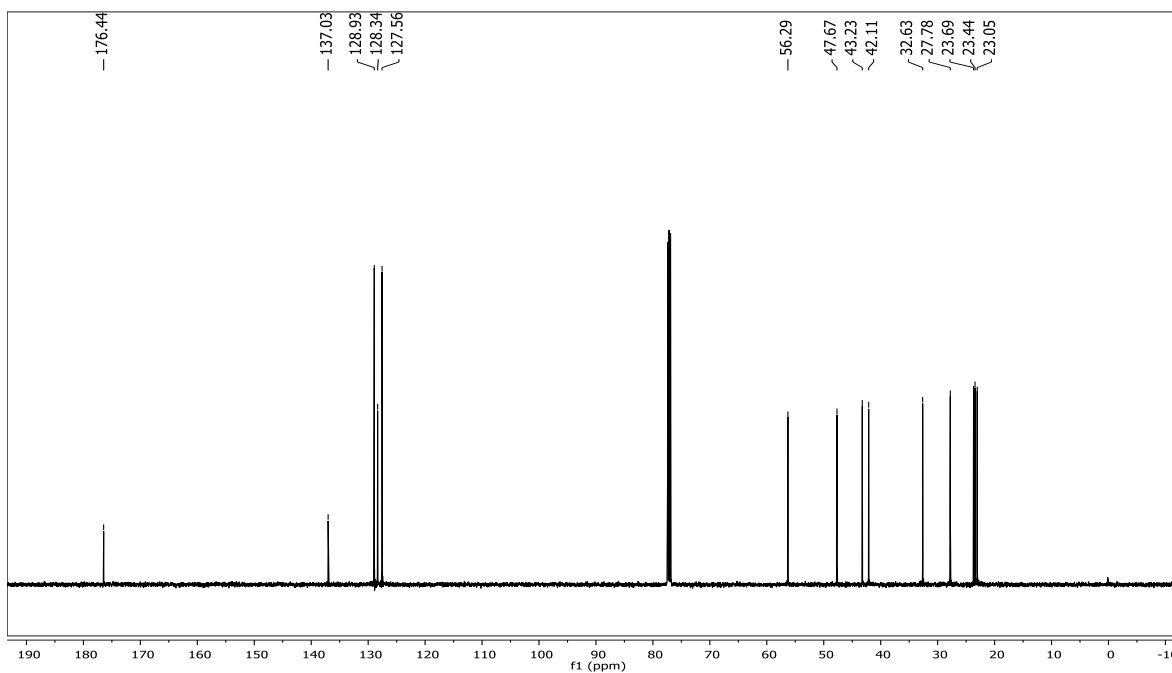


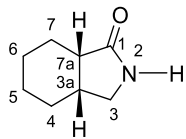


RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



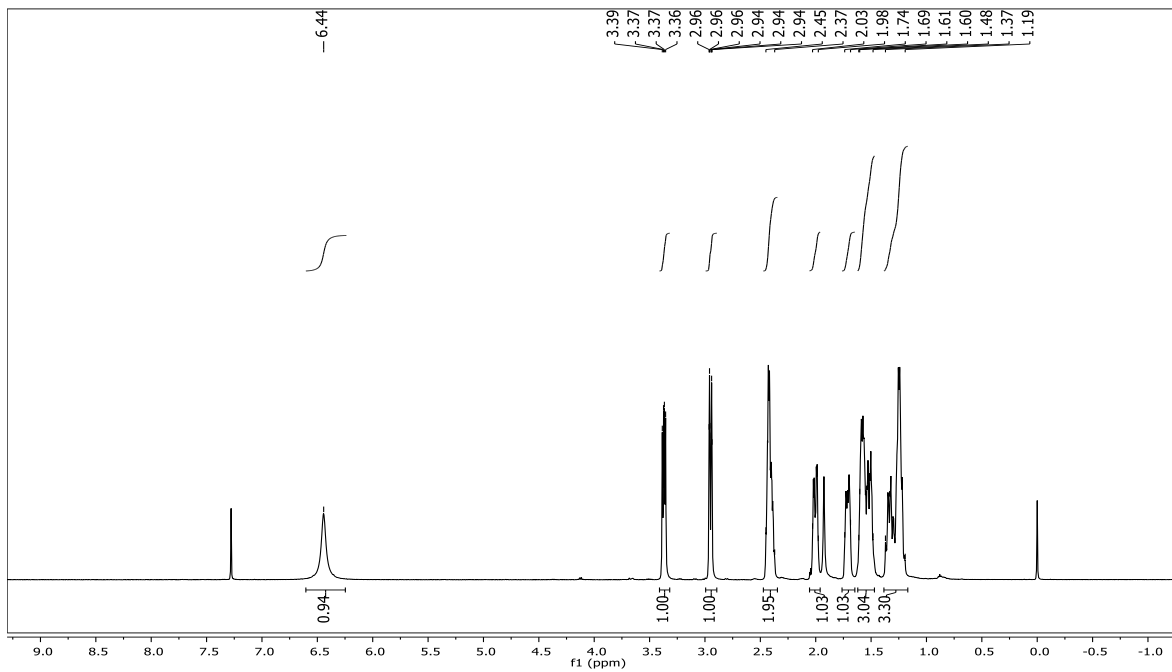
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



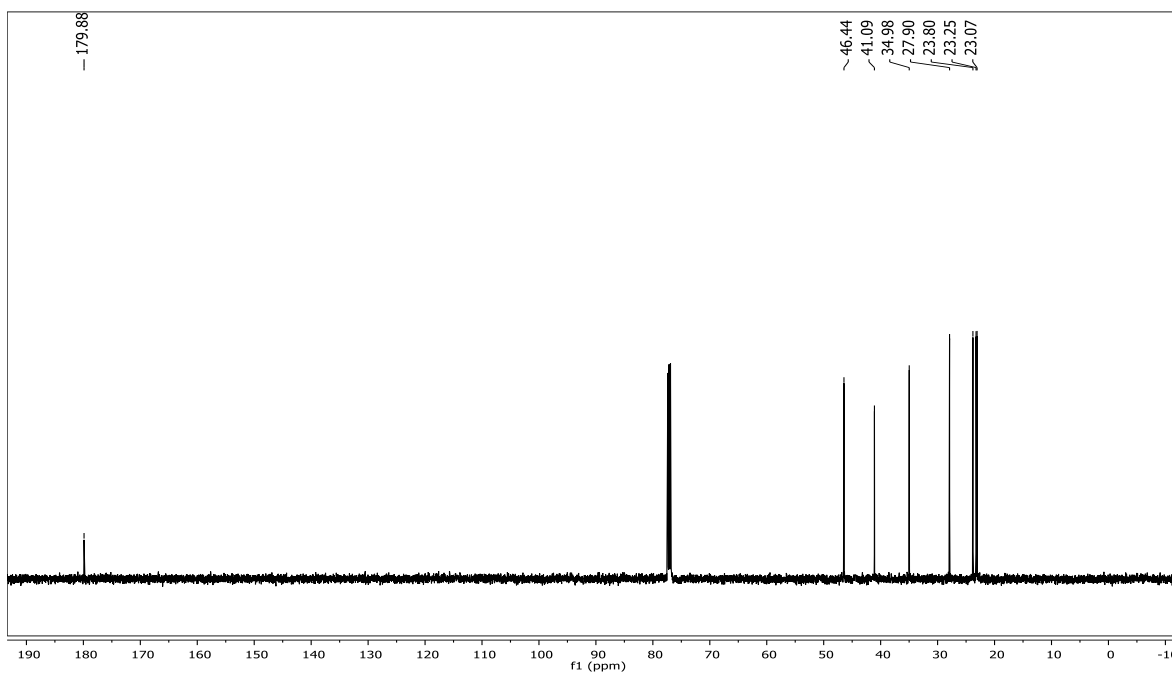


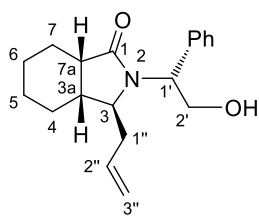
**(3aR,7aS)-42**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



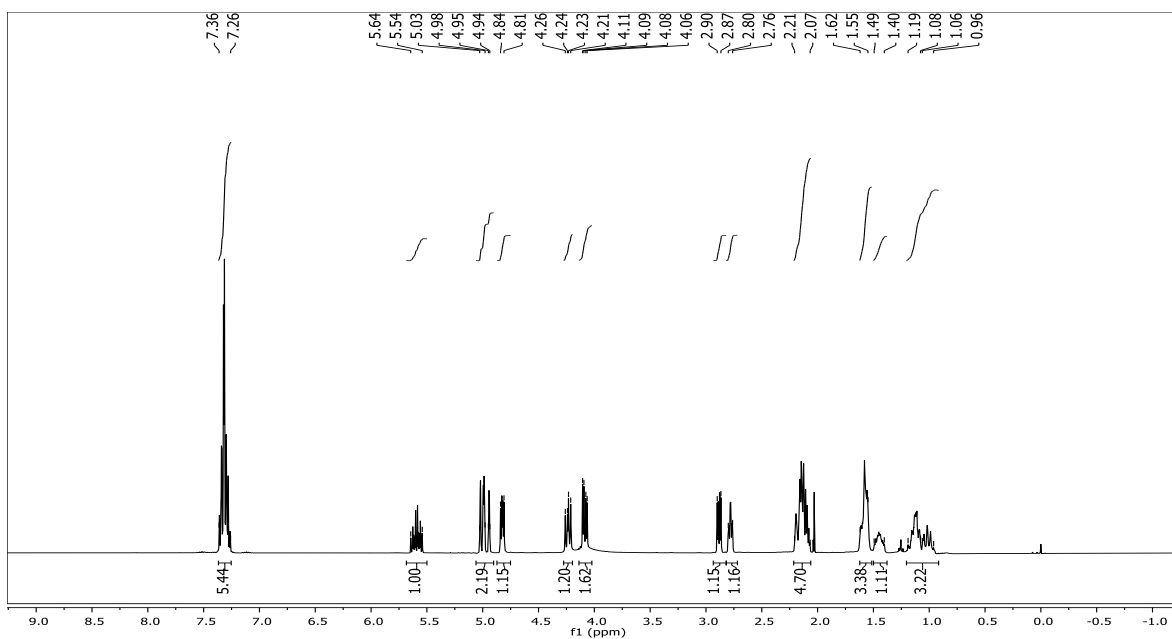
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



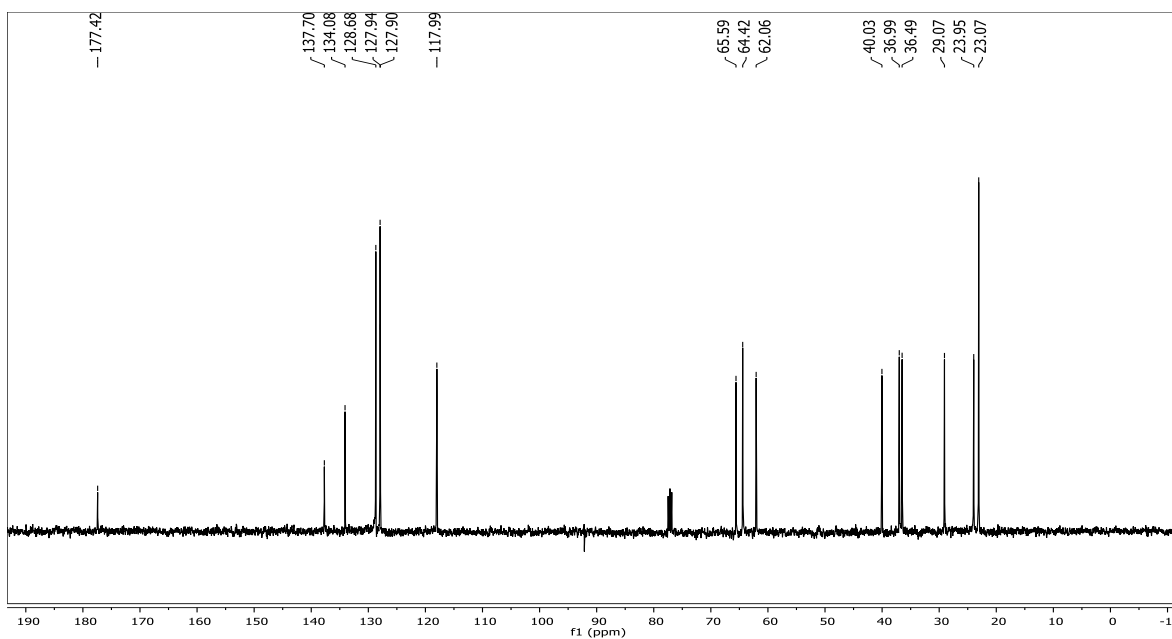


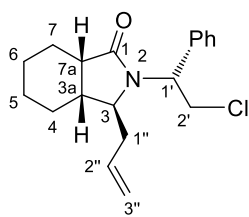
**(3S,3aR,7aS)-52**

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



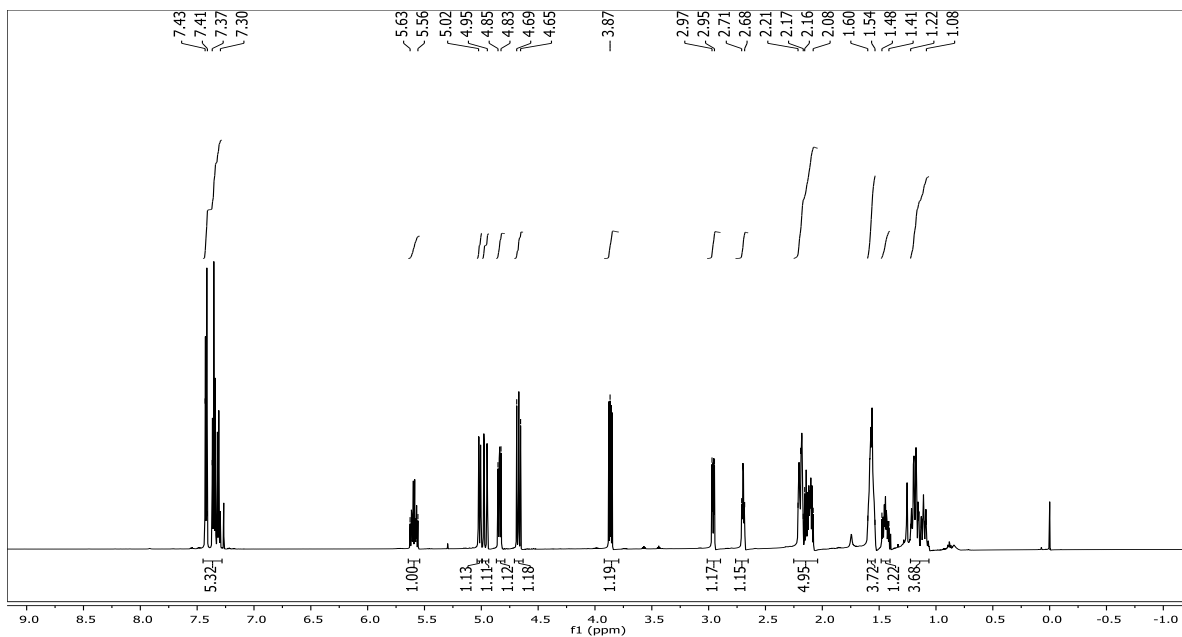
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



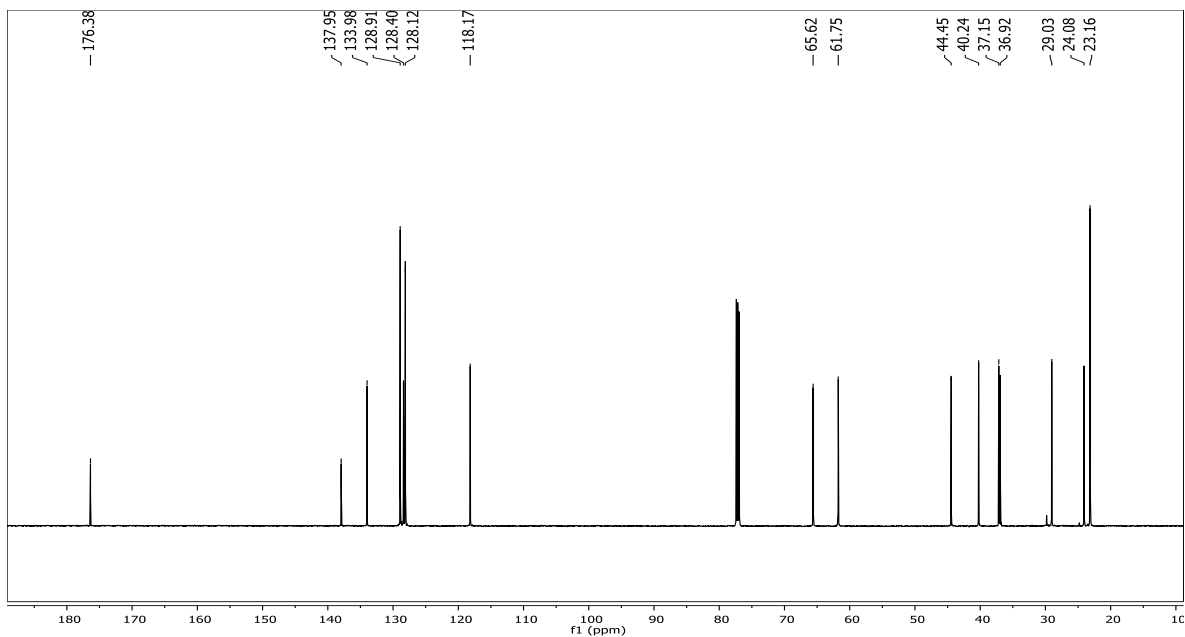


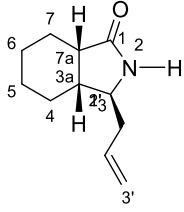
**(3S,3aR,7aS)-53**

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



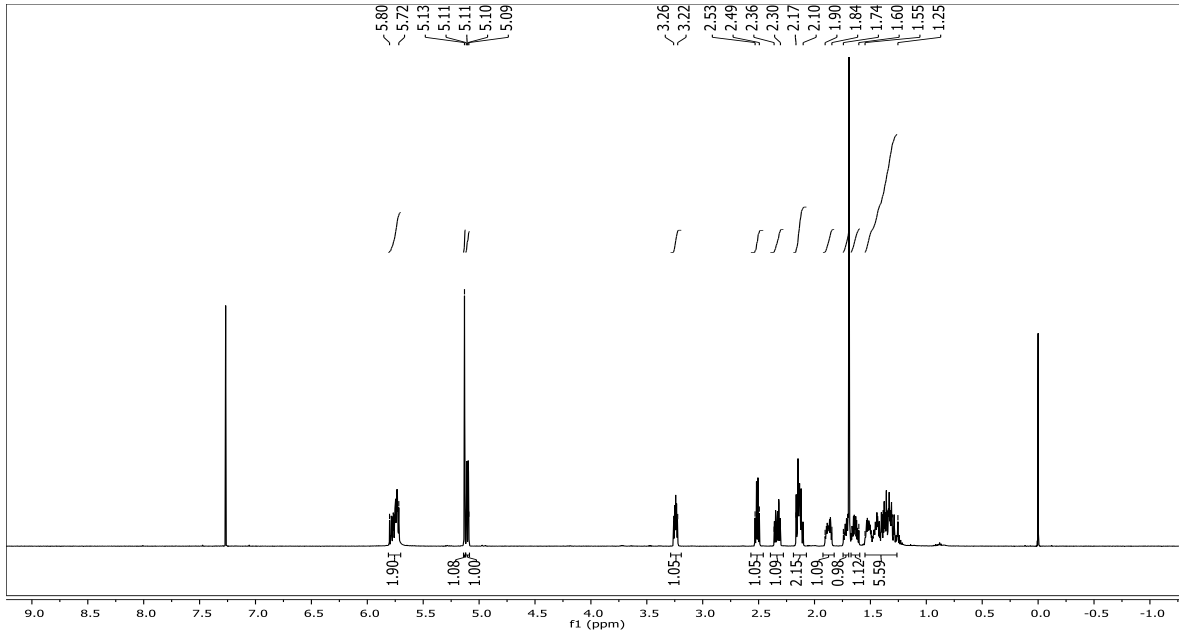
RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



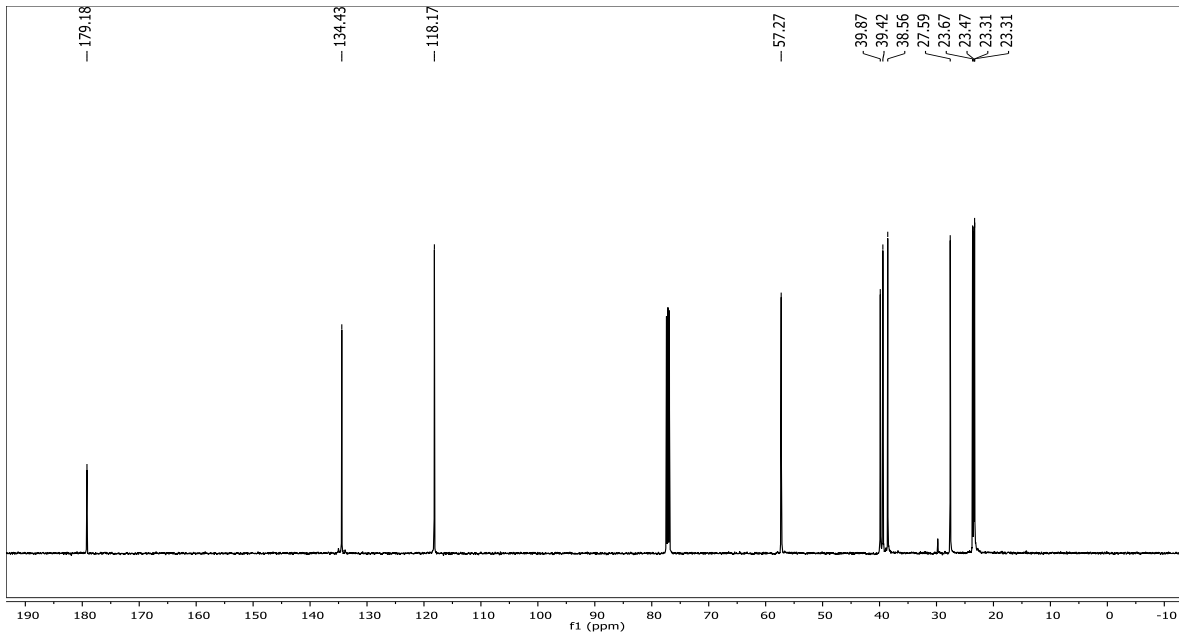


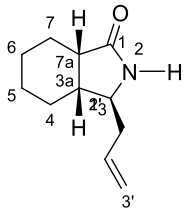
**(3S,3aR,7aS)-54**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



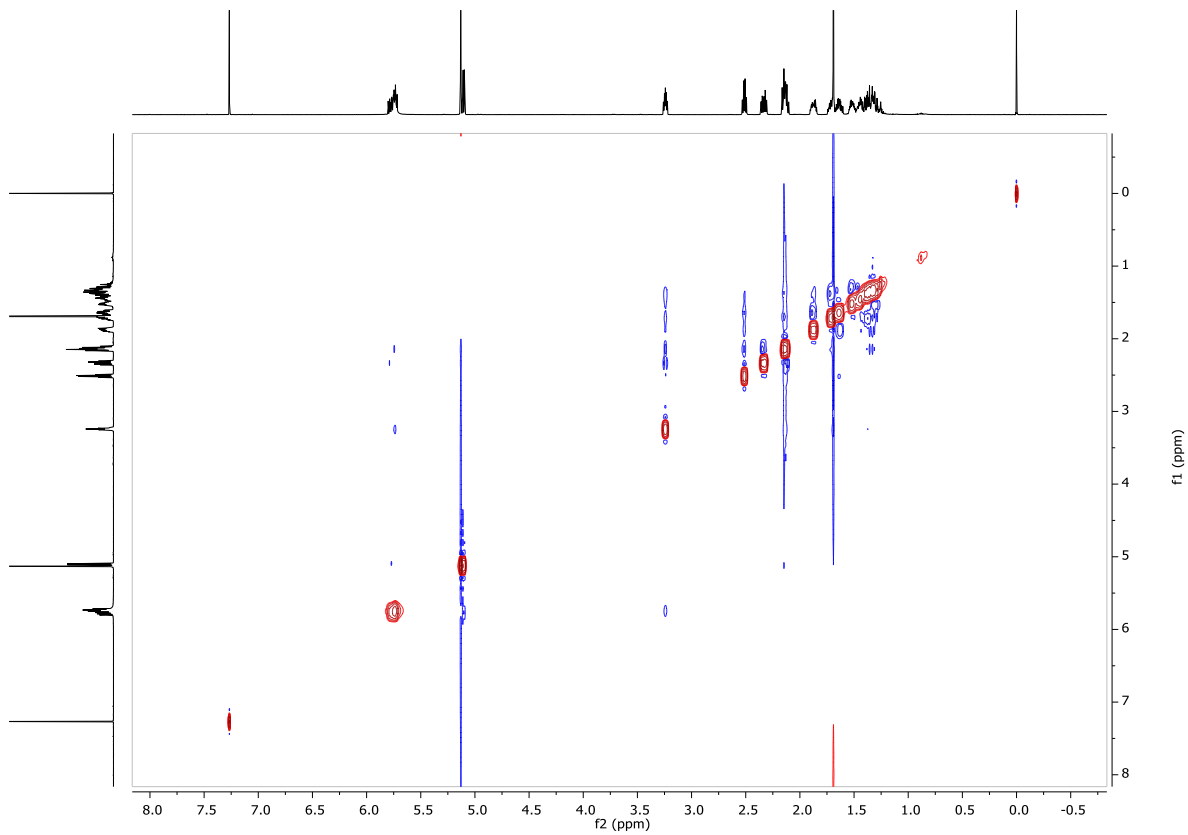
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

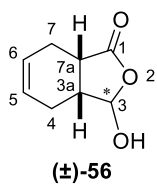




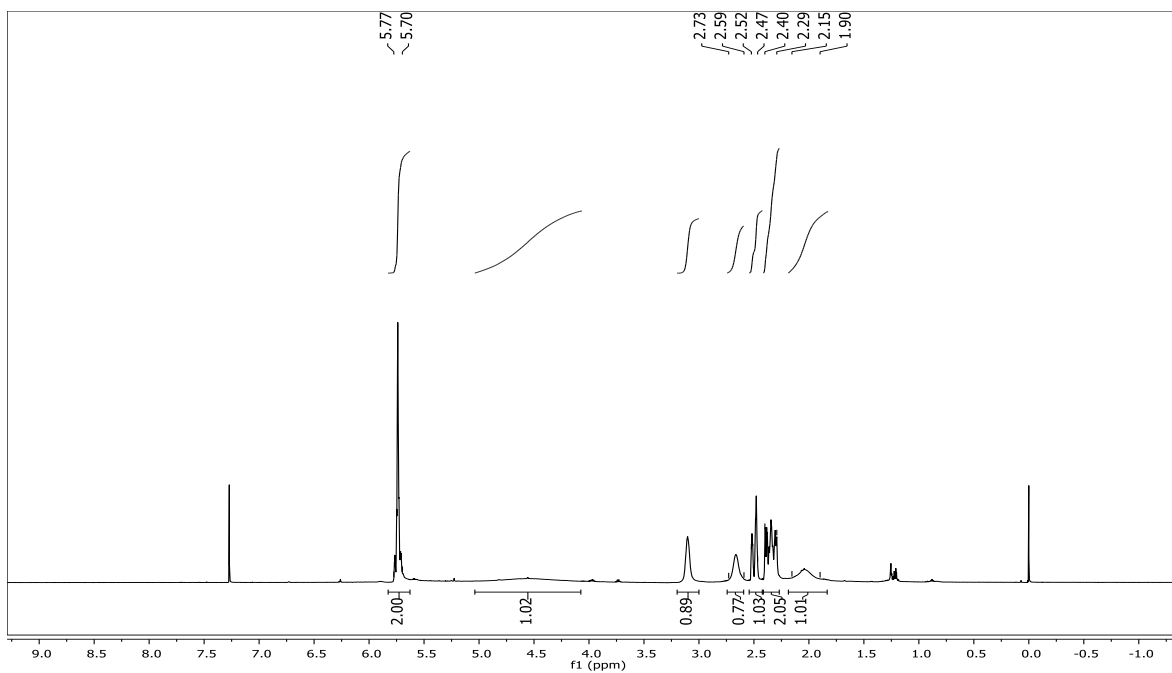
**(3S,3aR,7aS)-54**

Espectro NOESY 2D (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)

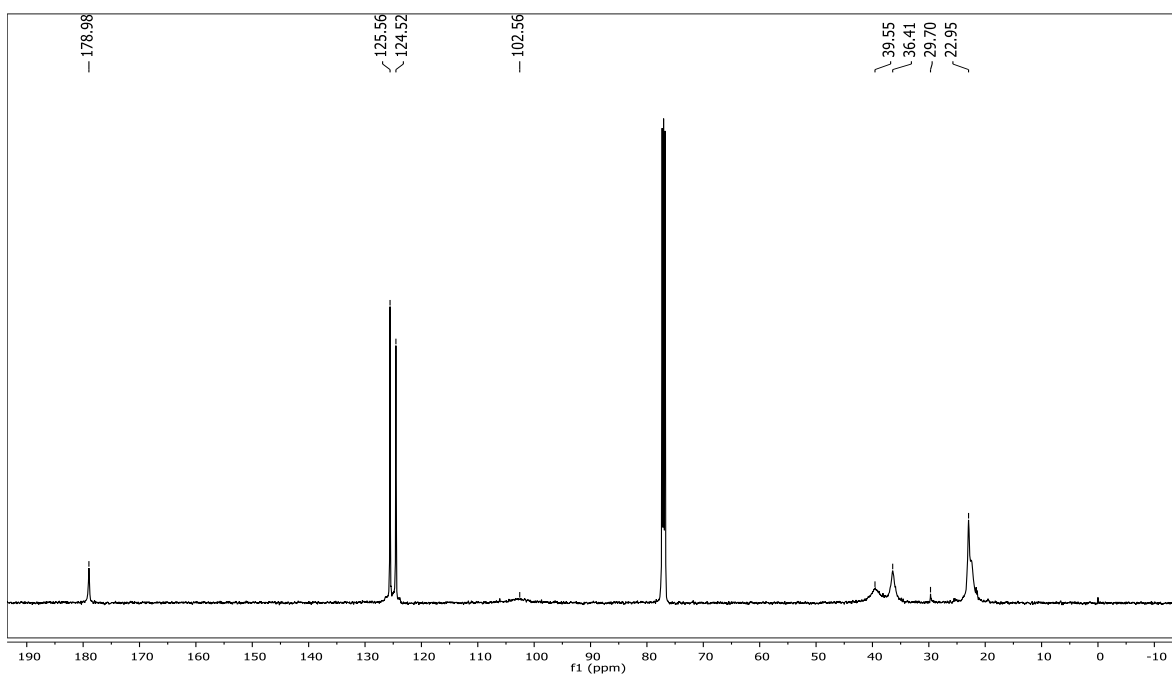


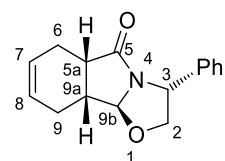


RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



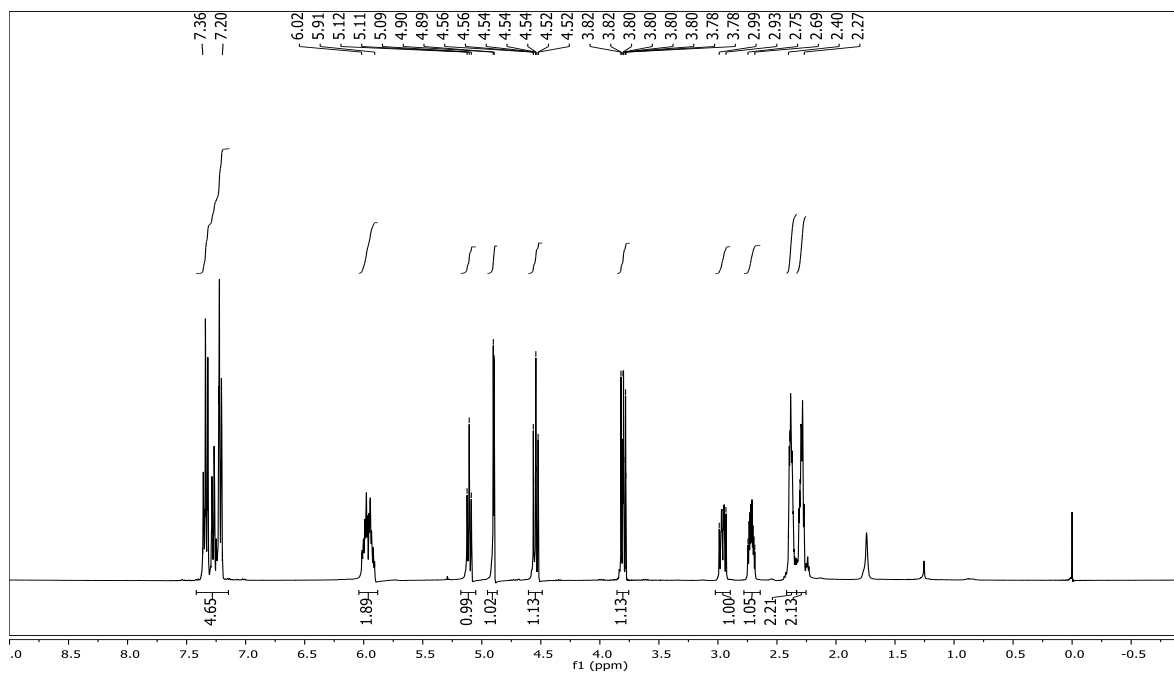
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



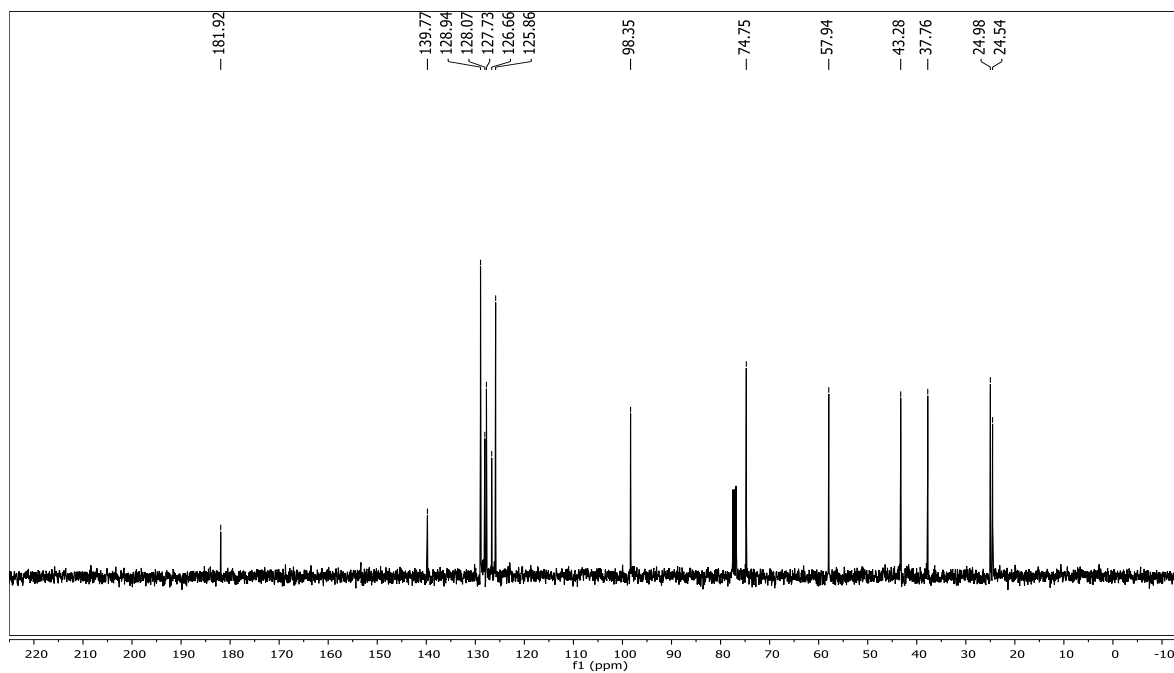


**(3R,5aS,9aR,9bS)-58a**

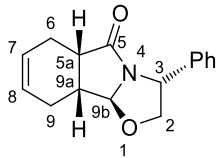
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

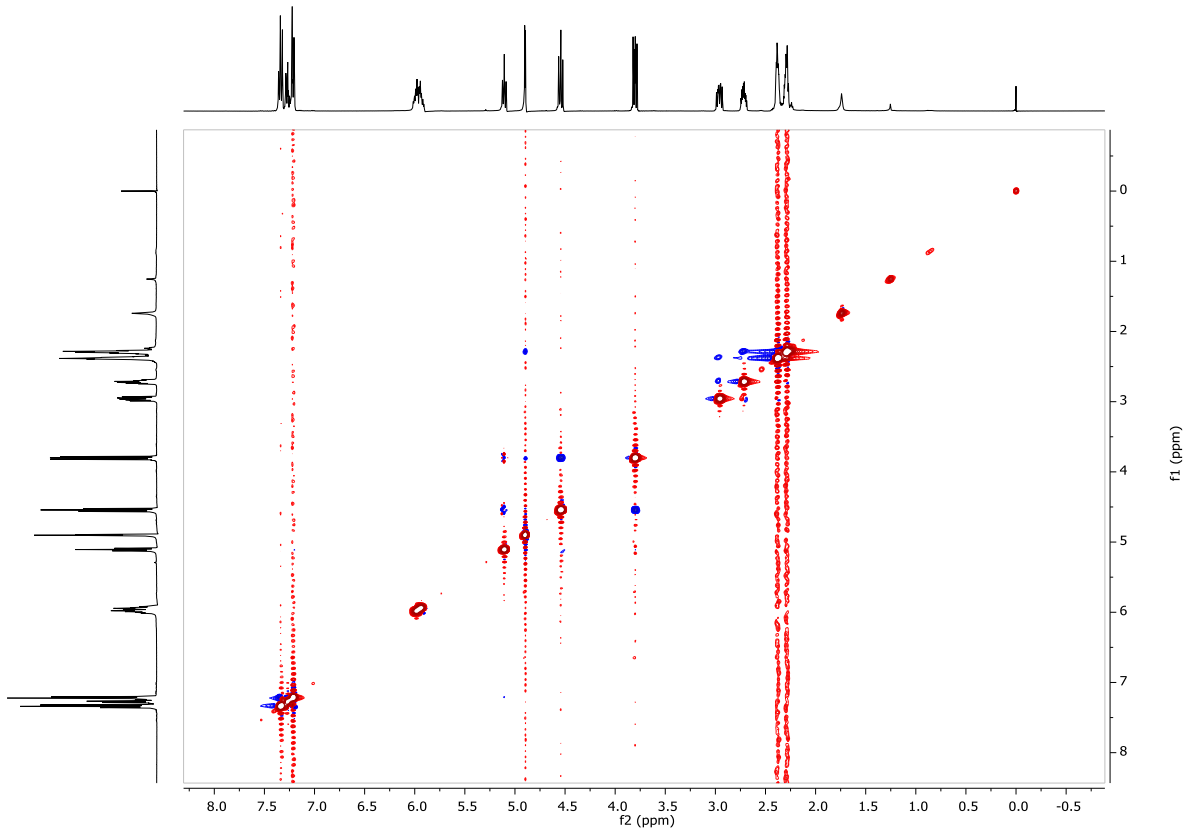


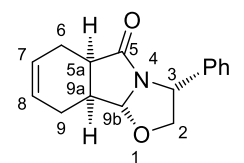




**(3R,5aS,9aR,9bS)-58a**

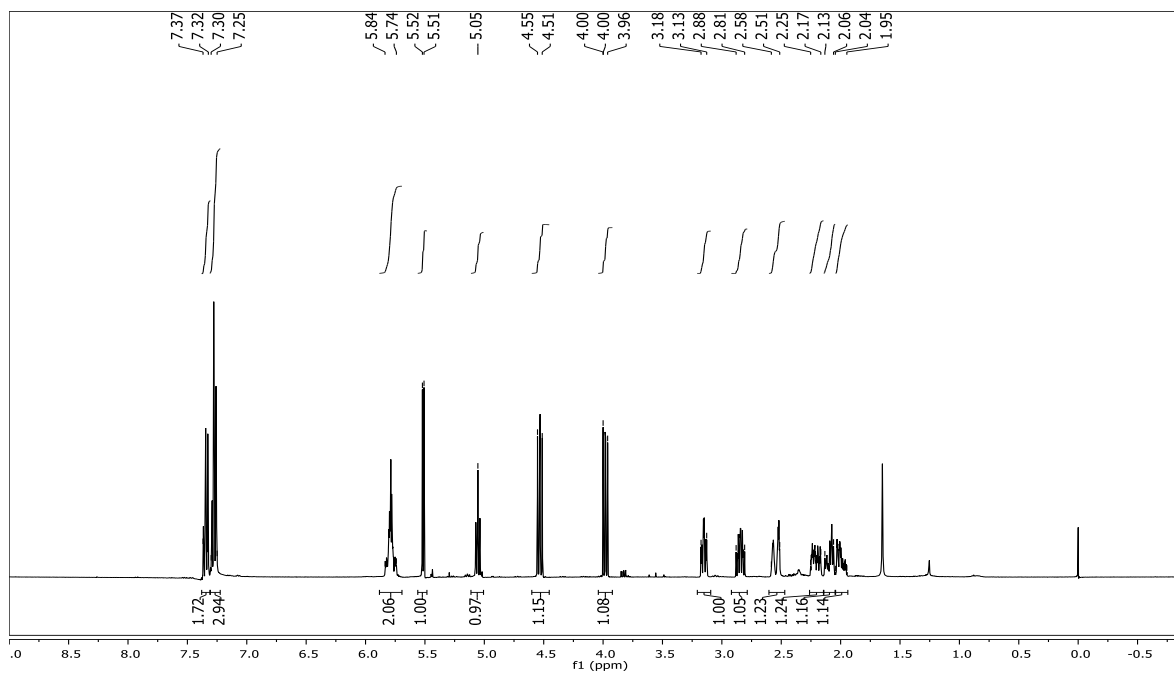
Espectro NOESY 2D (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)



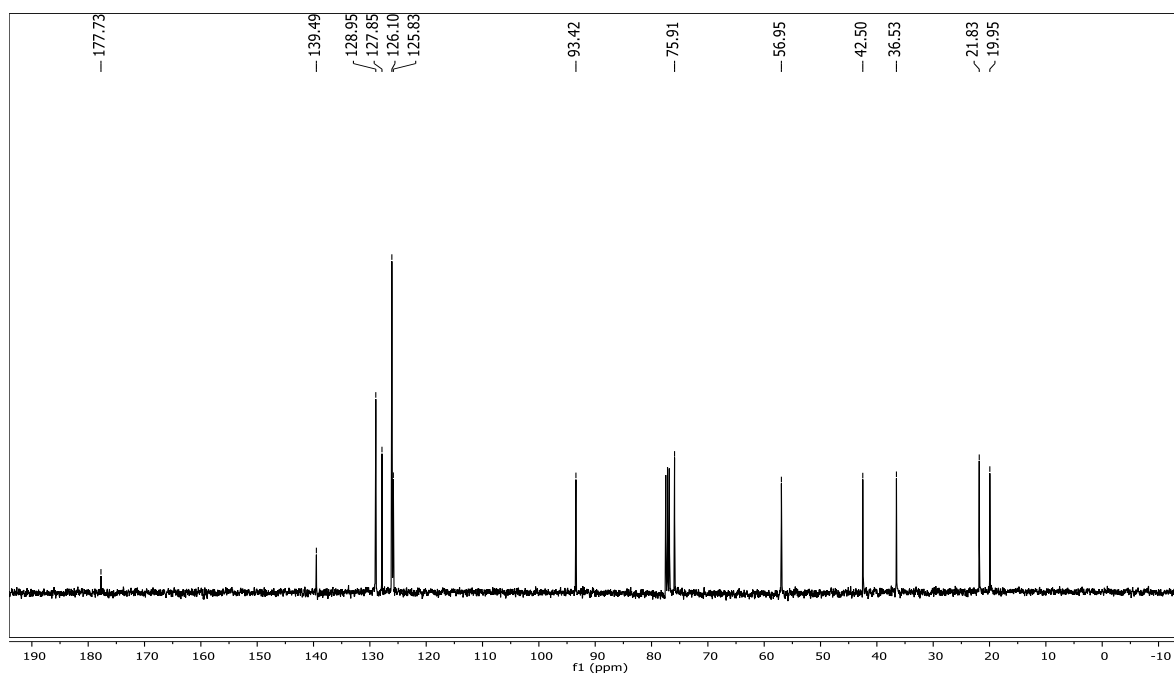


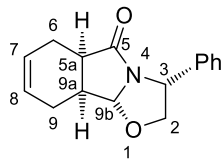
**(3R,5aR,9aS,9bR)-58b**

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



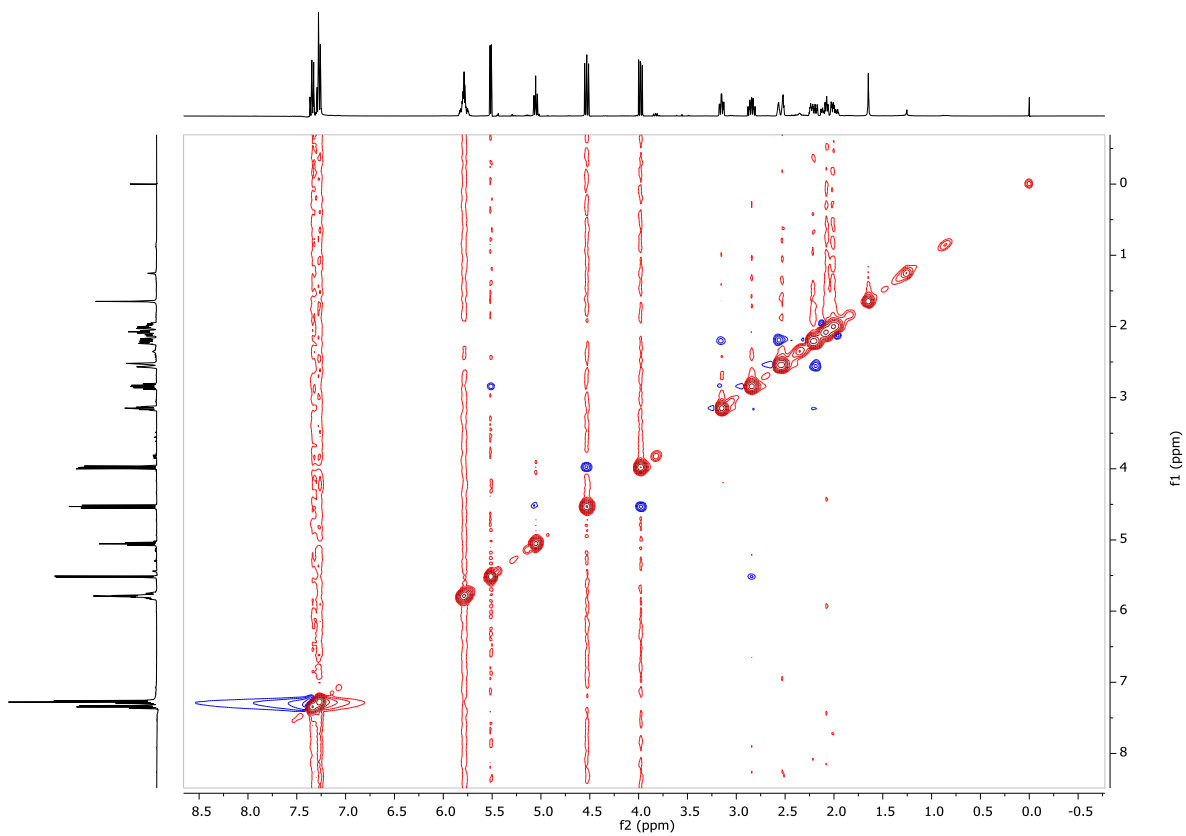
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

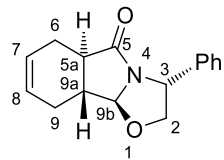




(3*R*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-58b

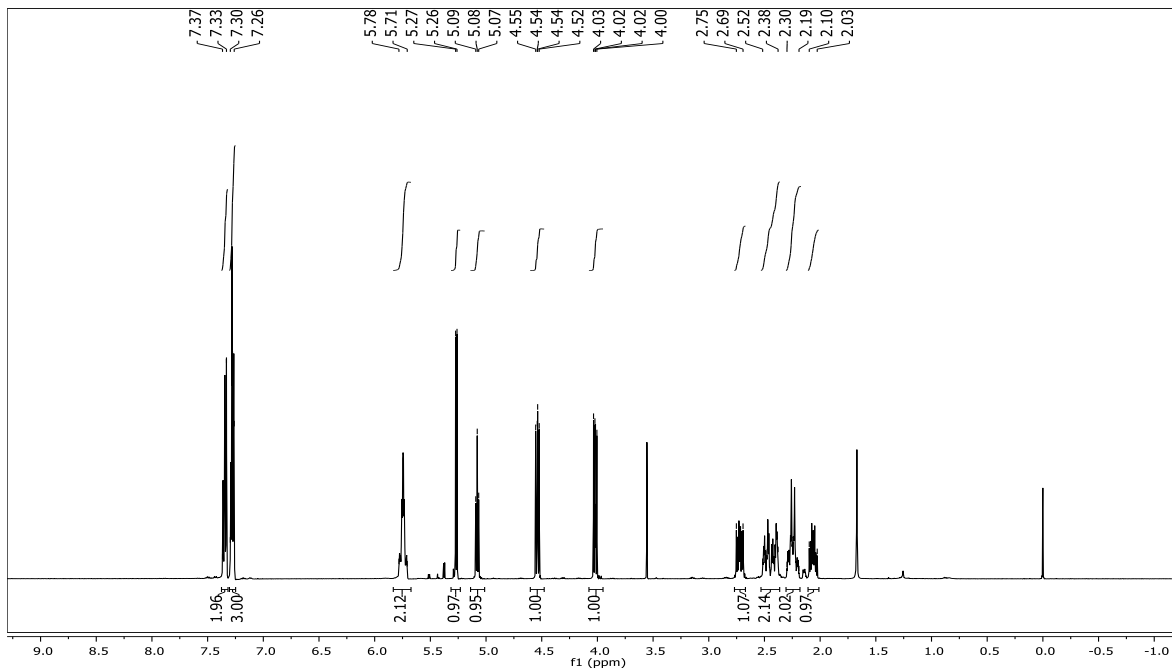
Espectro NOESY 2D (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)



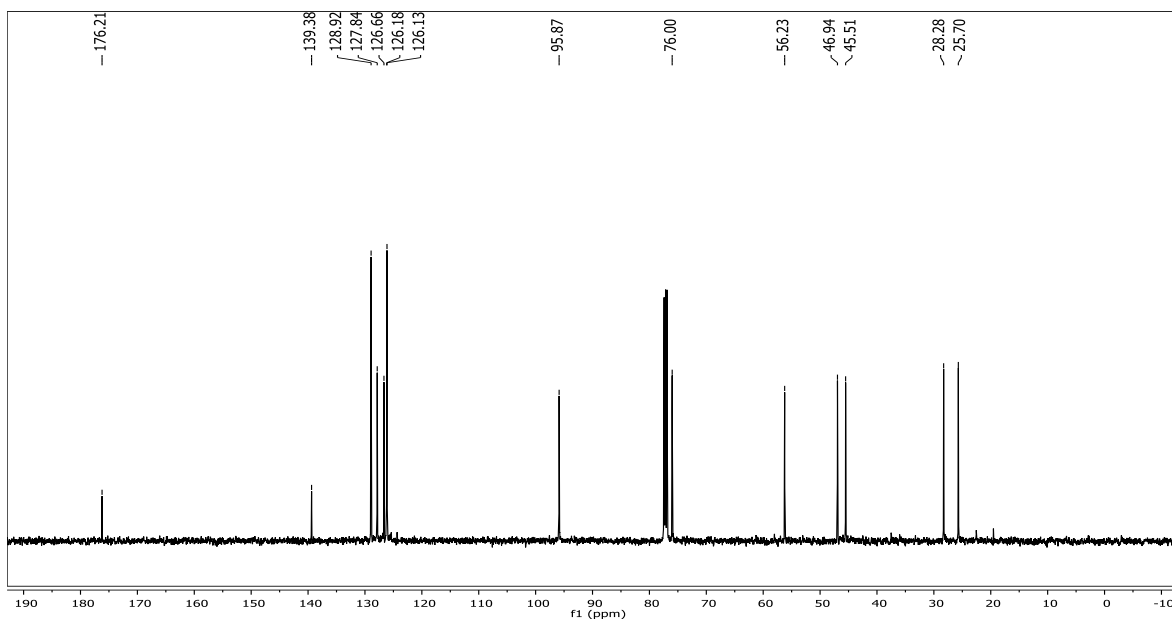


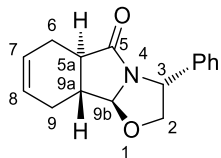
**(3R,5aR,9aR,9bS)-58c**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



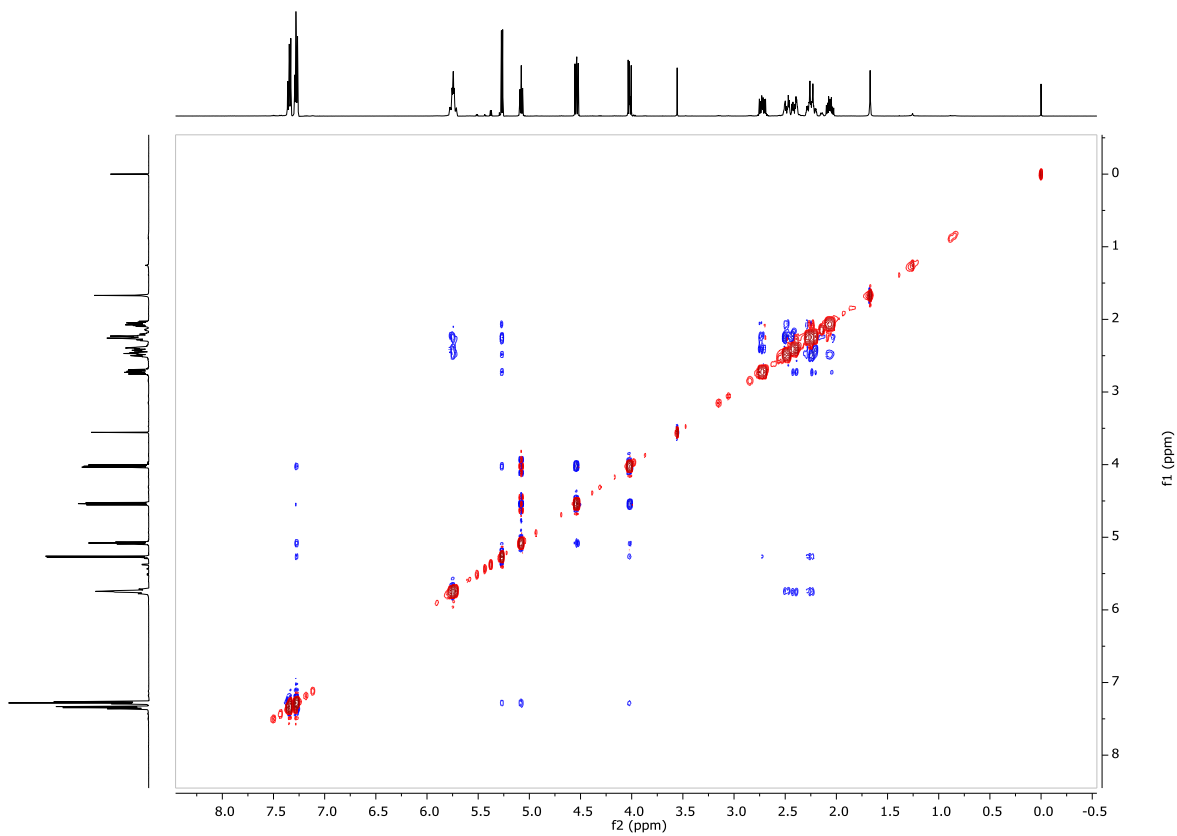
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

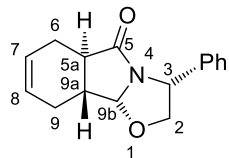




(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-58c

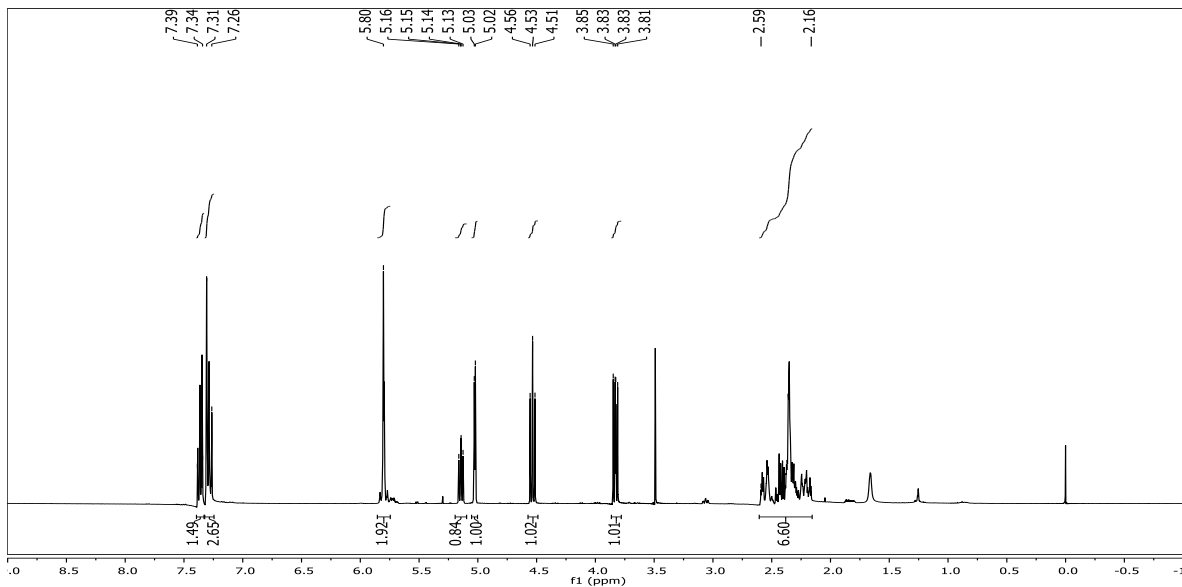
Espectro NOESY 2D (500 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)



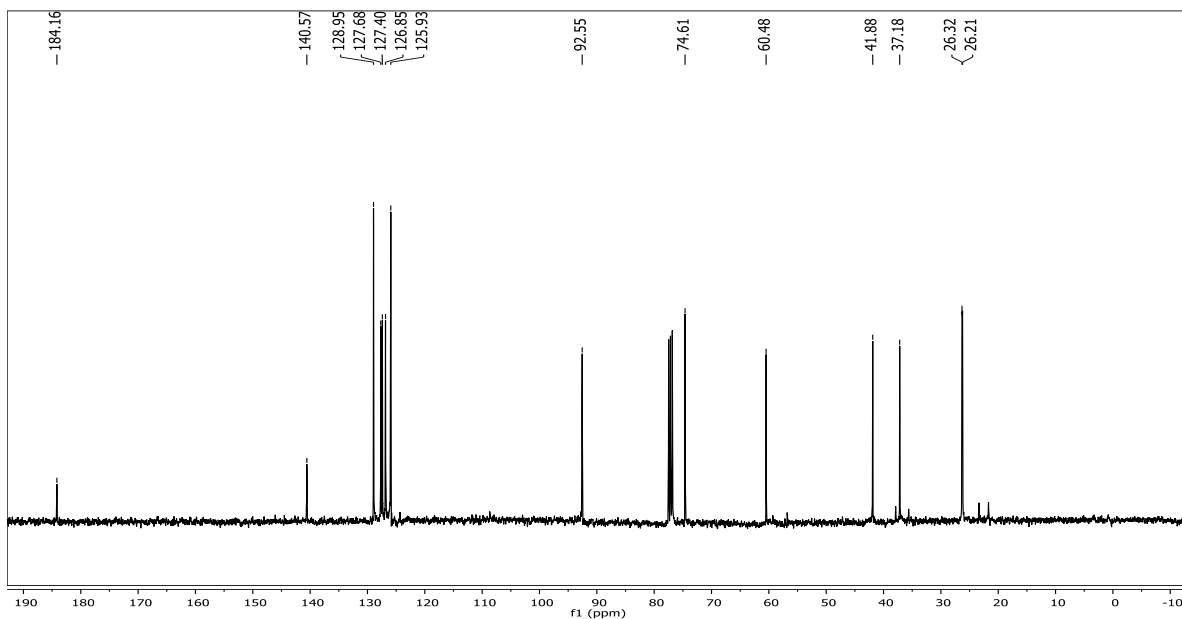


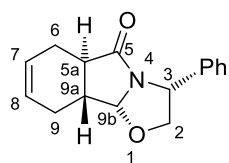
**(3R,5aR,9aR,9bR)-58d**

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



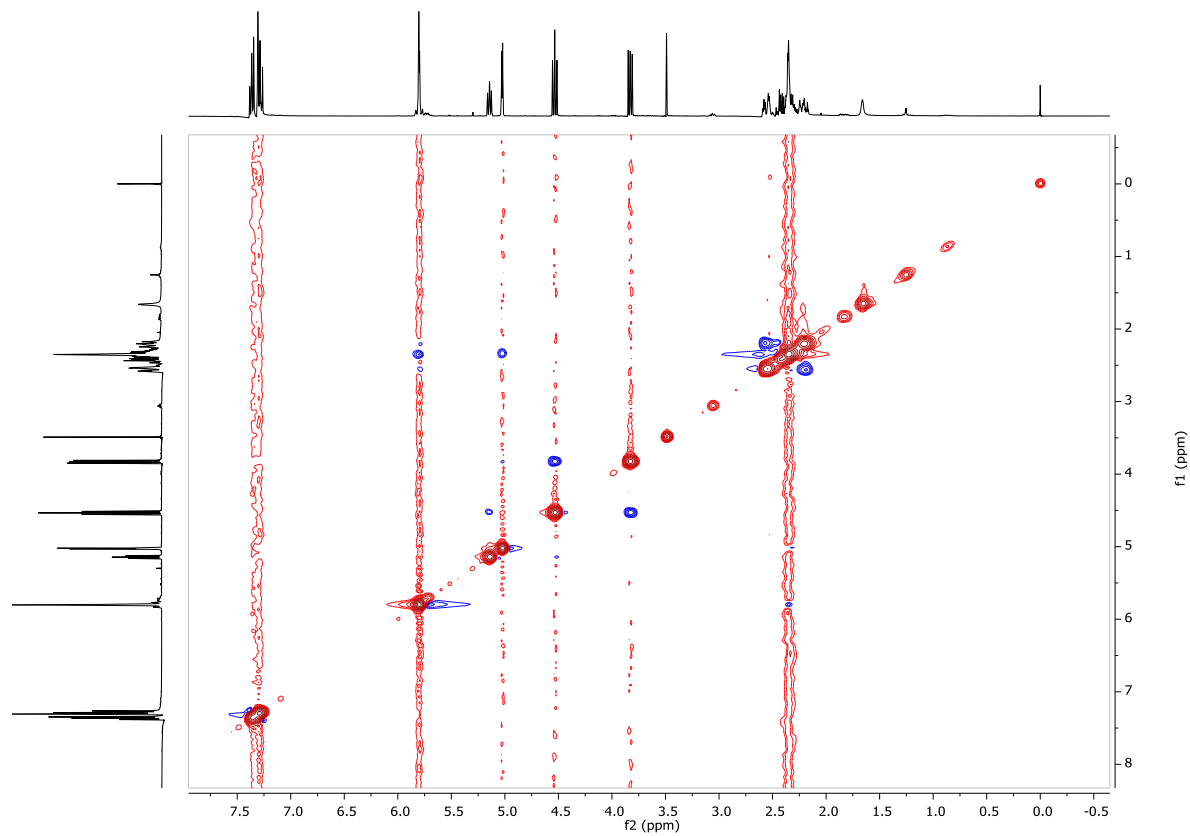
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

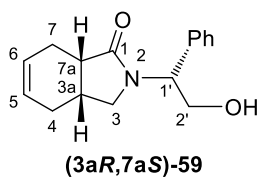




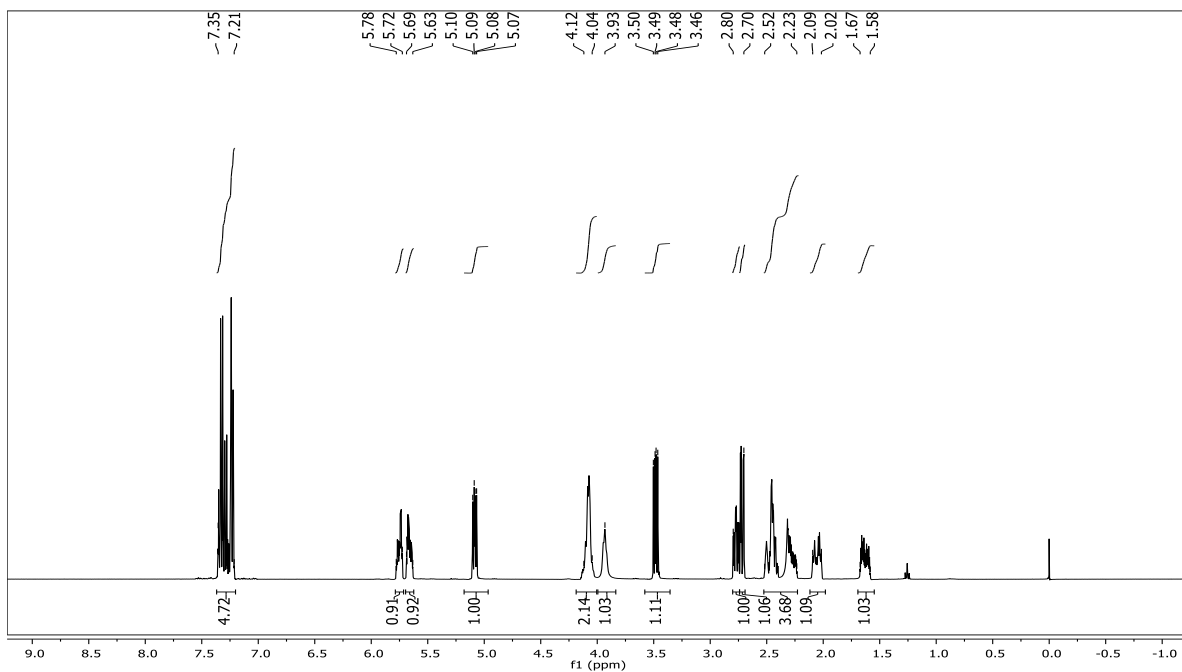
(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bR*)-58d

Espectro NOESY 2D (400 MHz; CDCl<sub>3</sub>; Me<sub>4</sub>Si)

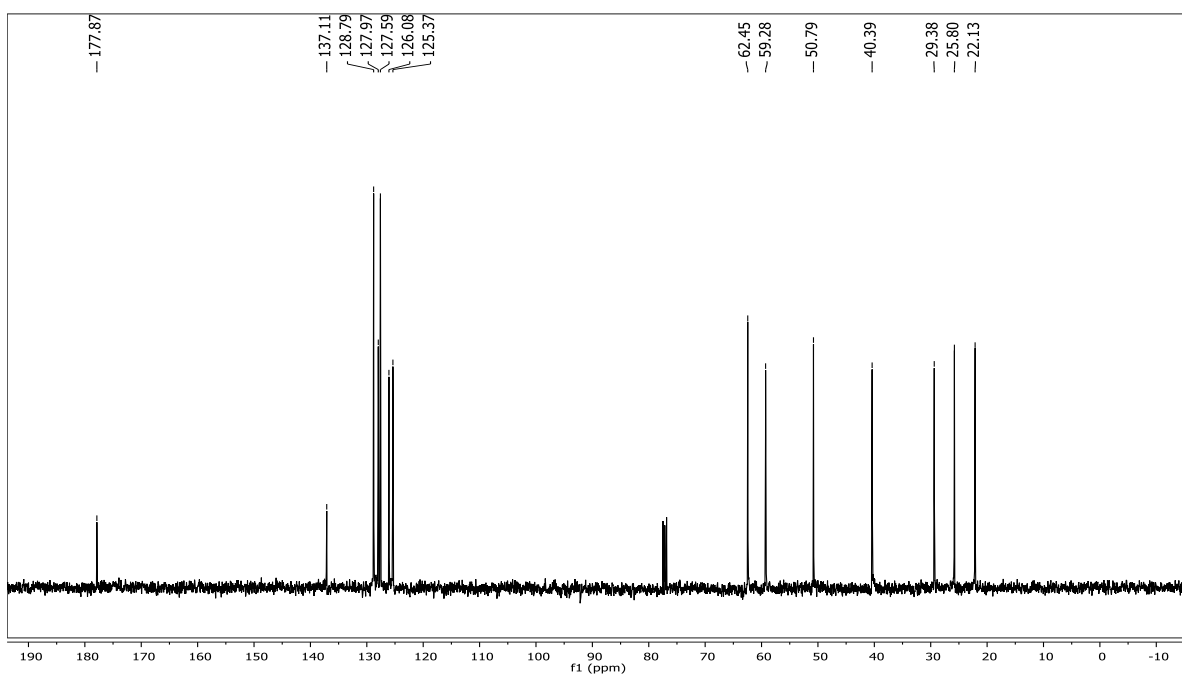




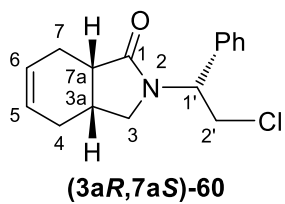
RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



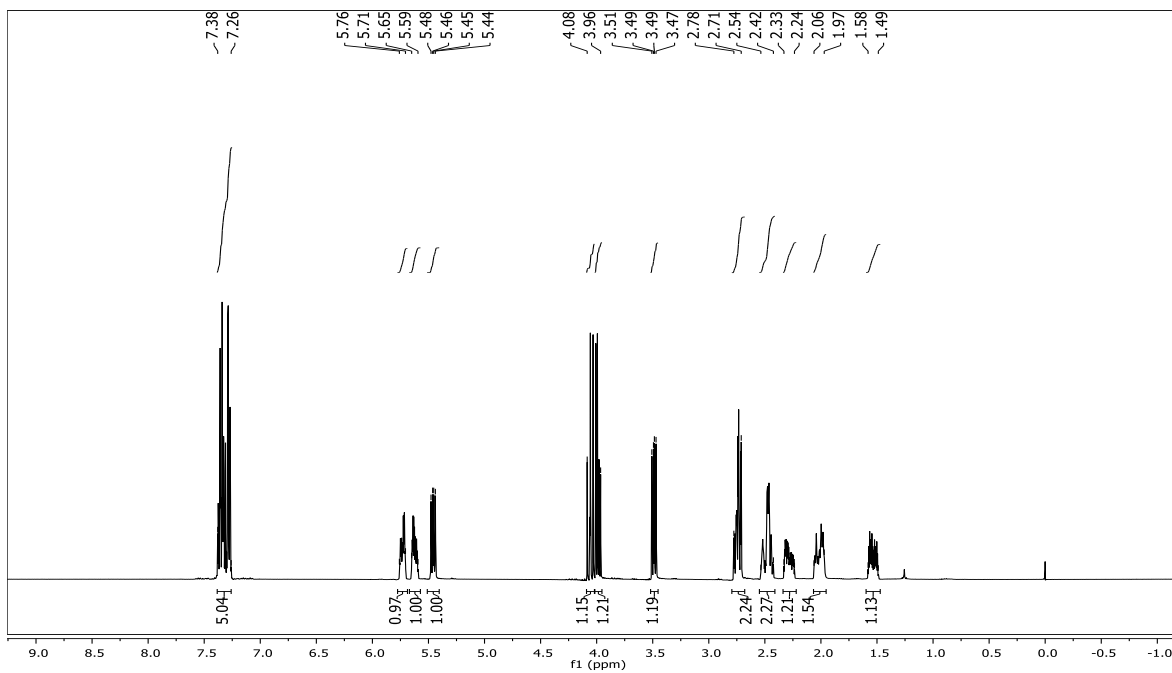
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



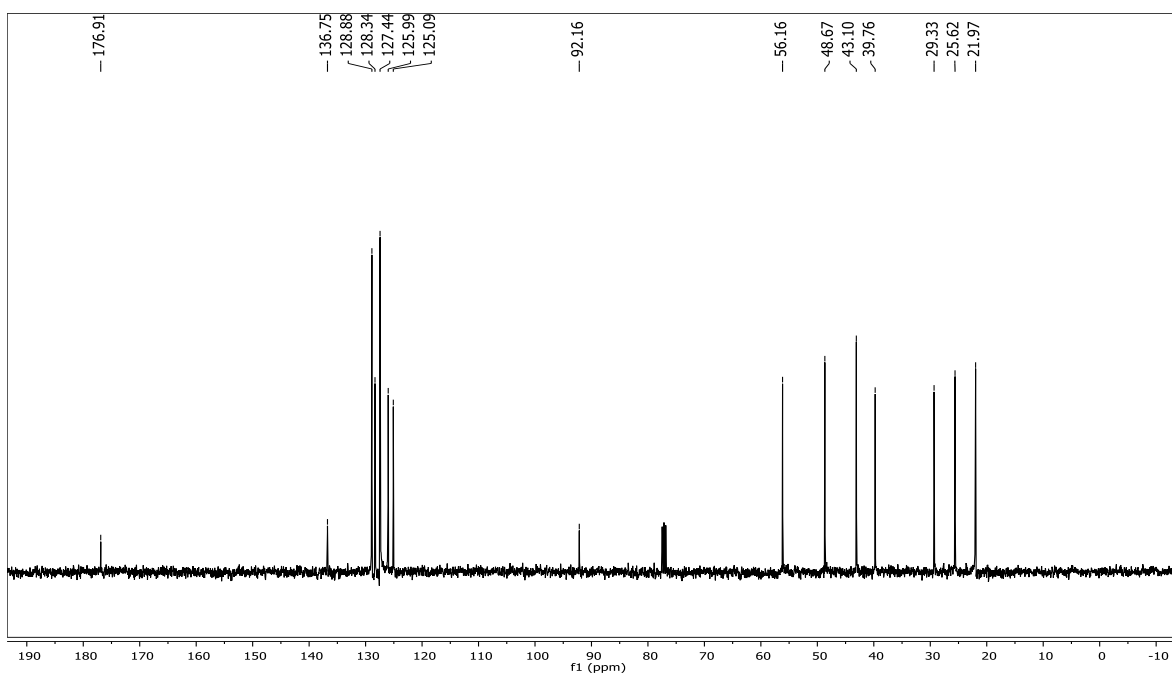


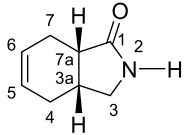


RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



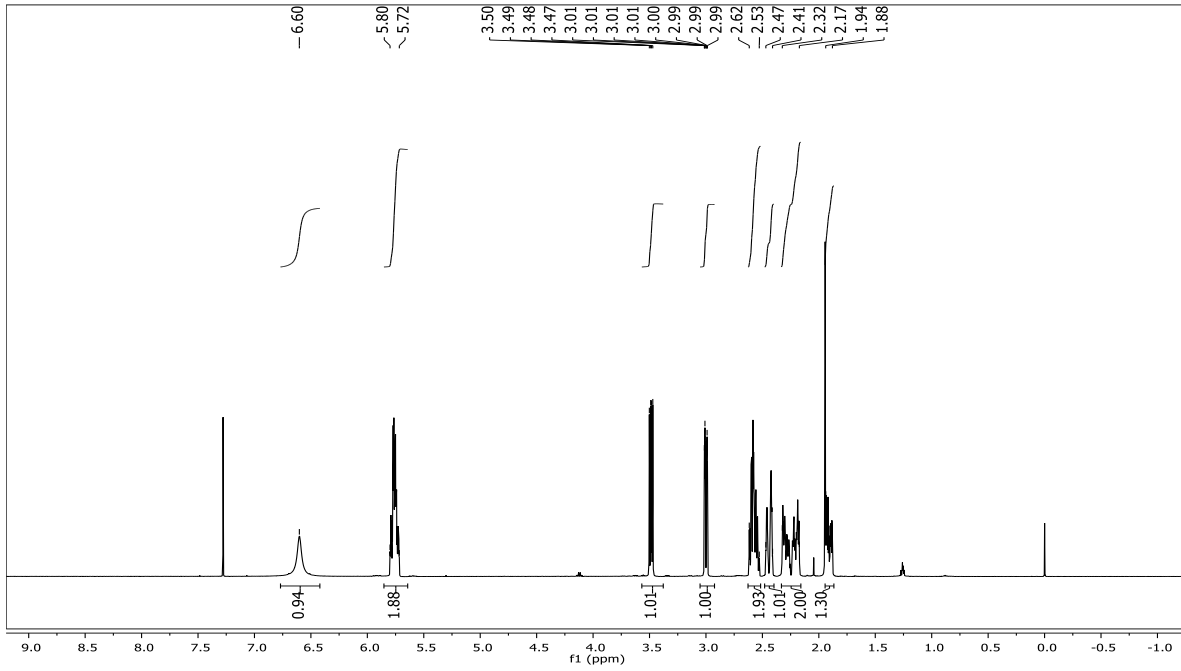
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



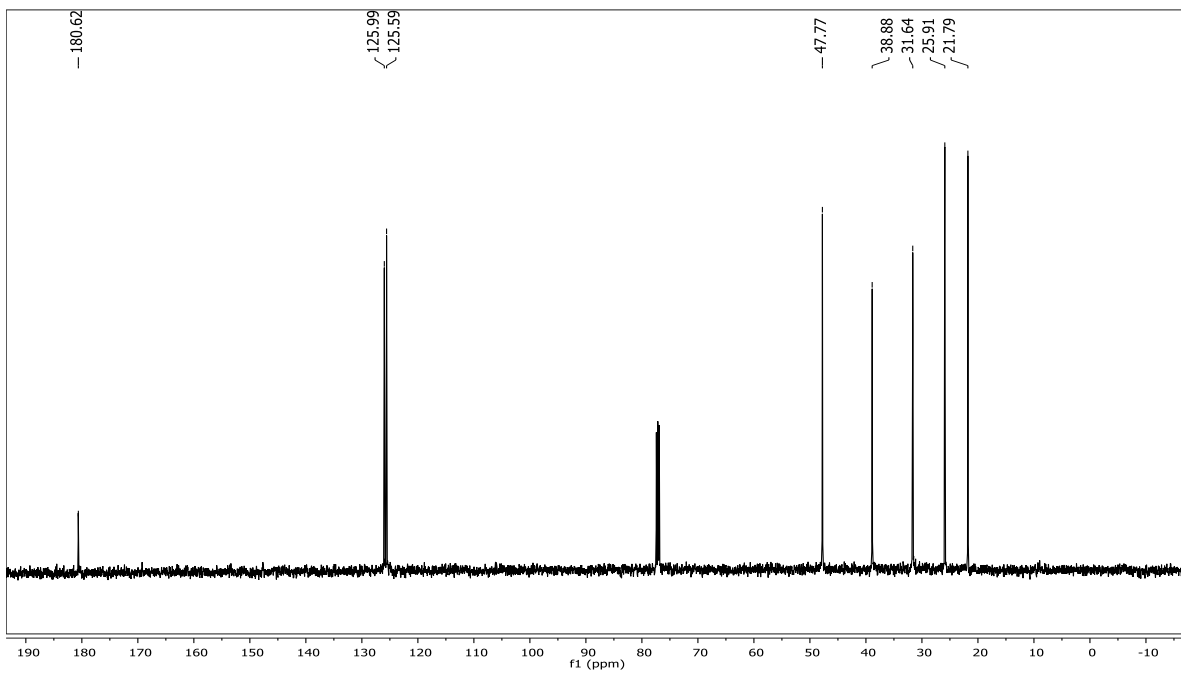


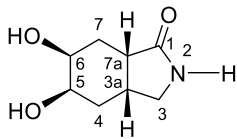
**(3aR,7aS)-63**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



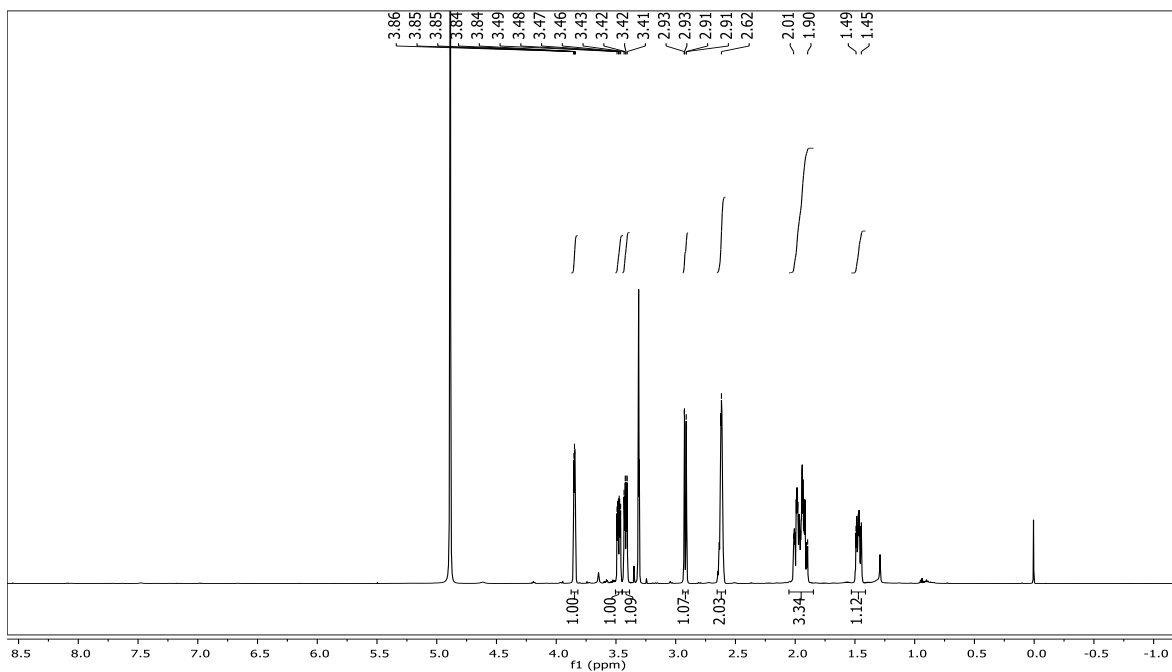
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



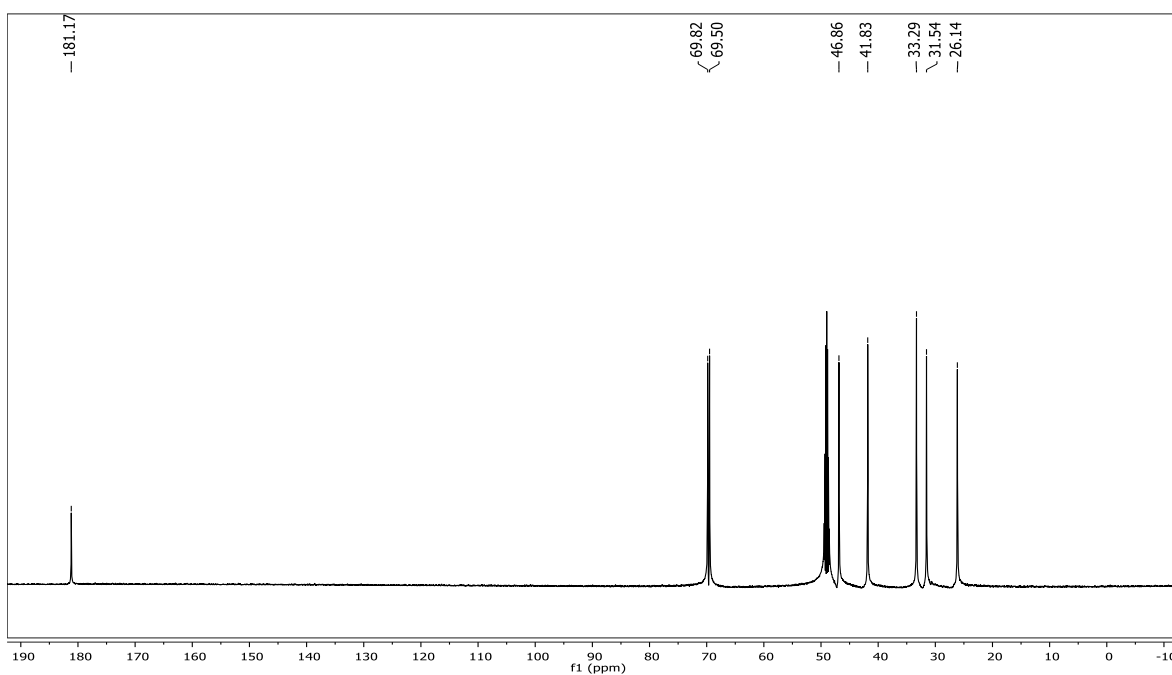


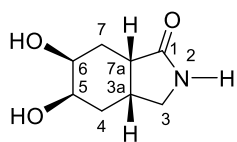
(3aR,5R,6S,7aS)-43

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  drops)



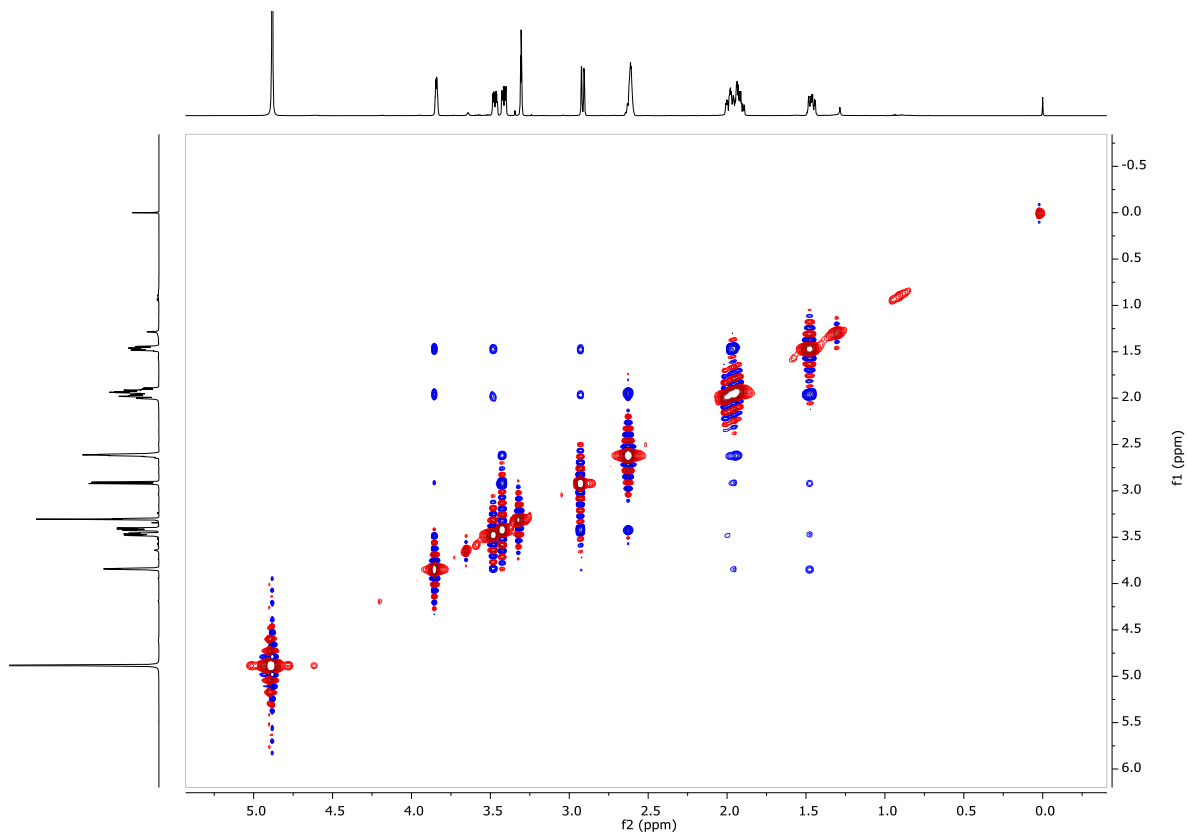
RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}/\text{D}_2\text{O}$  gotas)

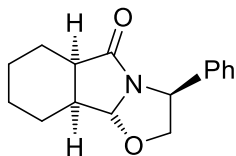




(3aR,5R,6S,7aS)-43

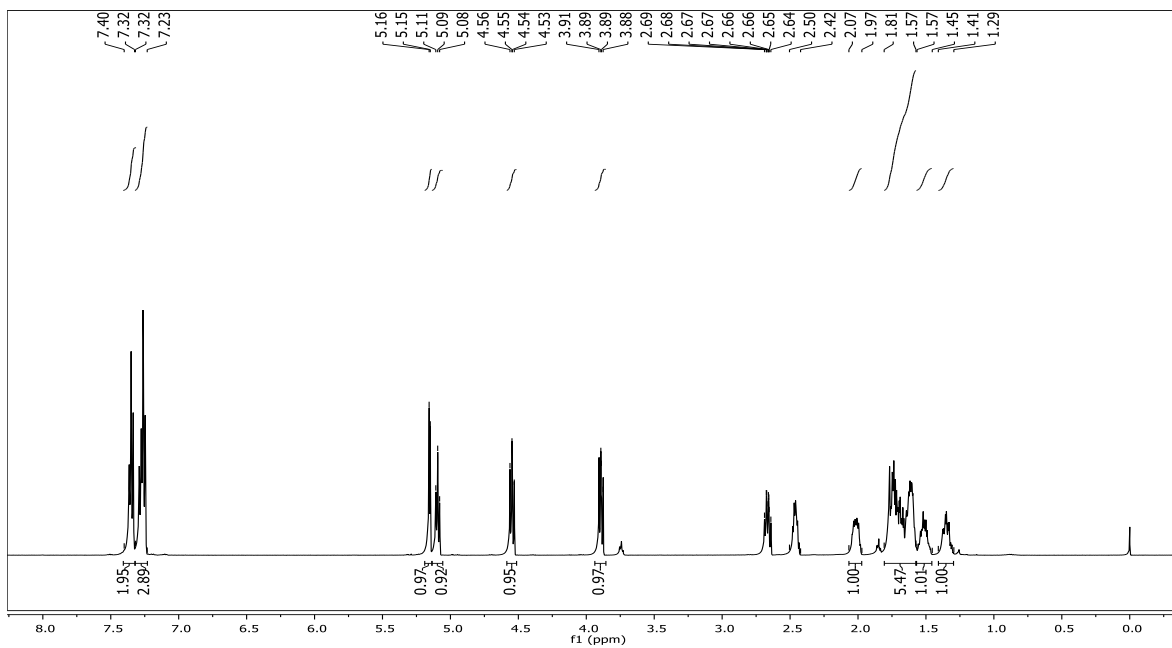
Espectro NOESY 2D (600 MHz; CD<sub>3</sub>OD/D<sub>2</sub>O gotas)



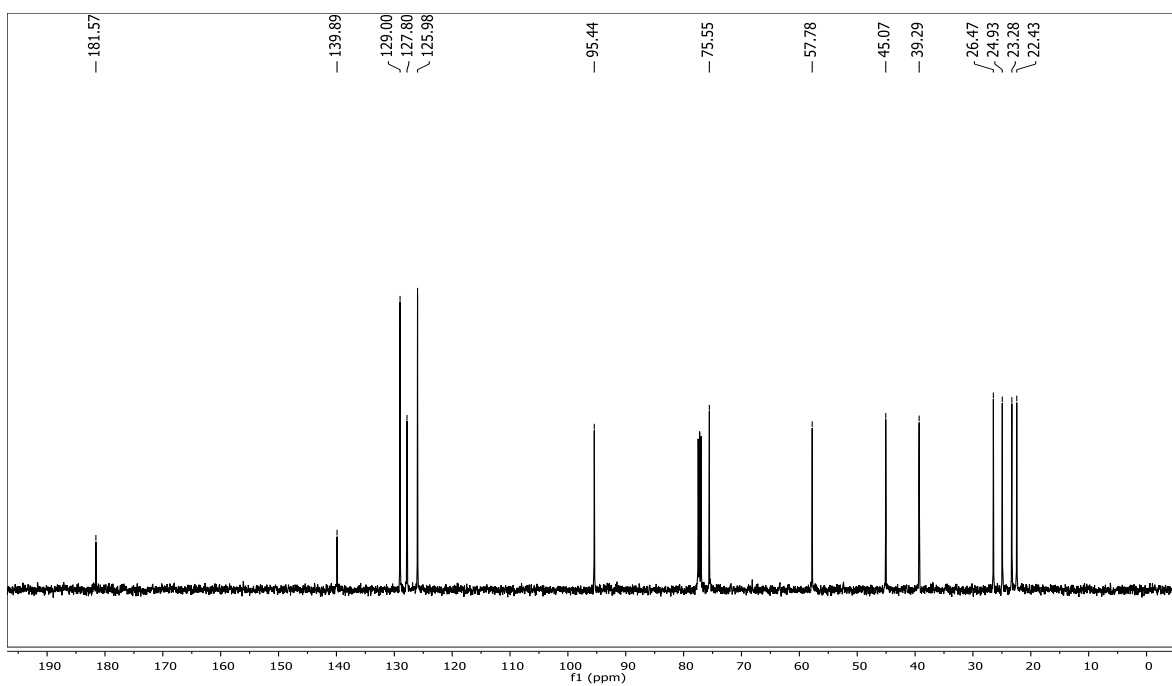


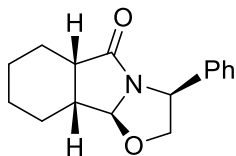
(3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-**64a**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



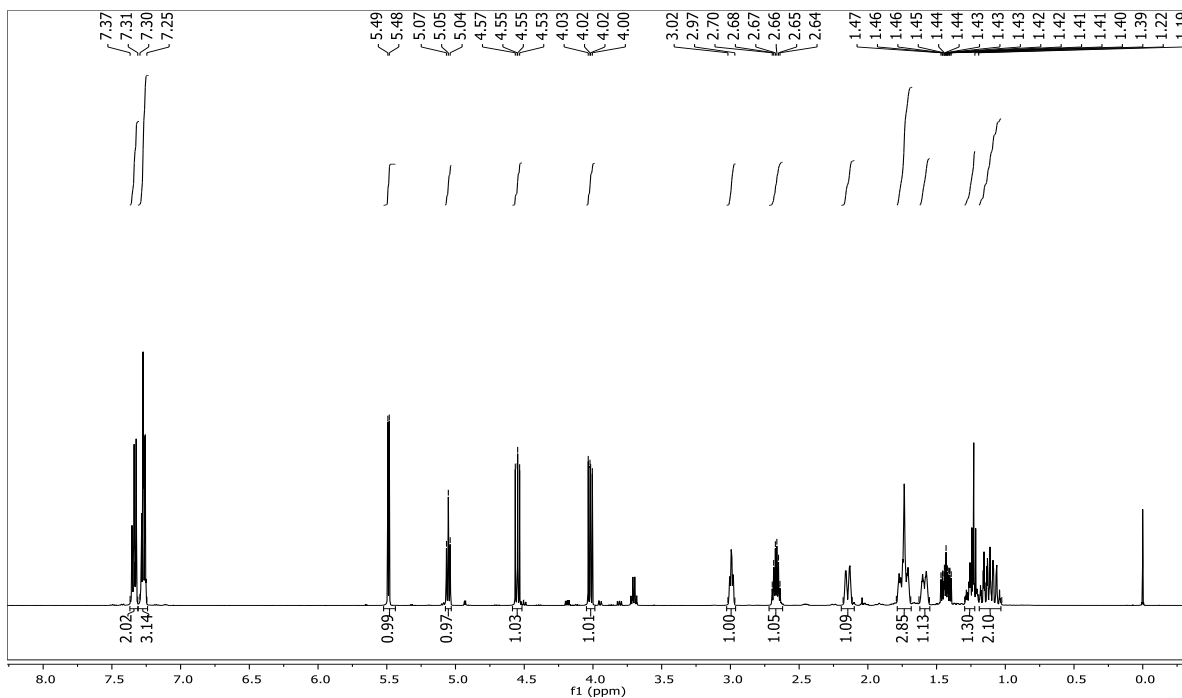
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



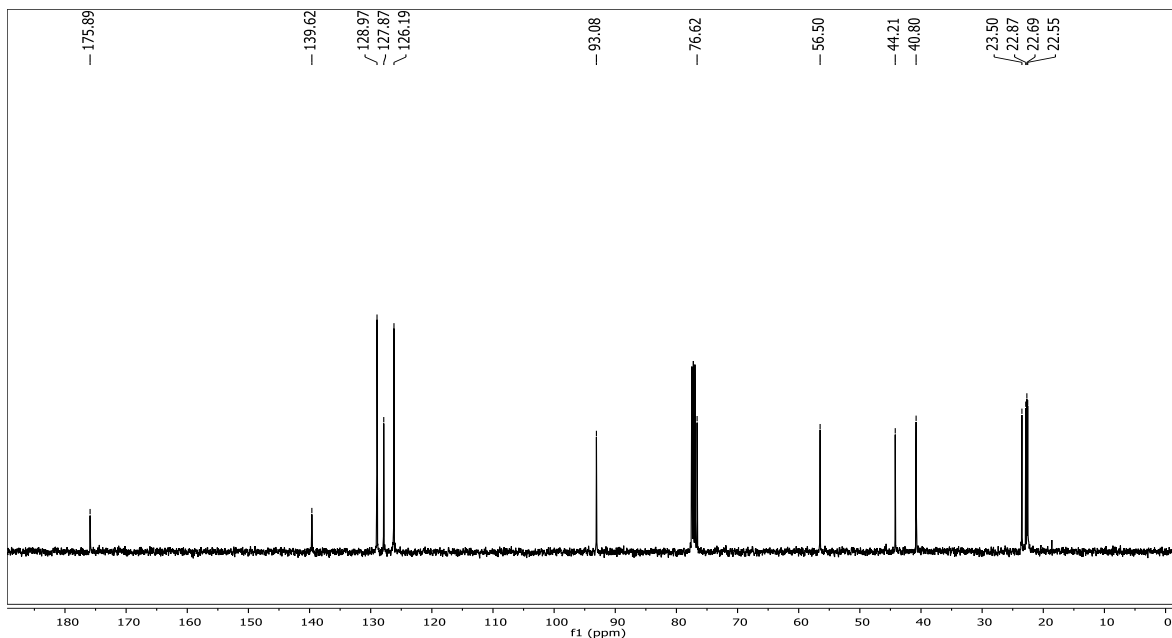


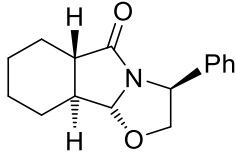
(3S,5aS,9aR,9bS)-**64b**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



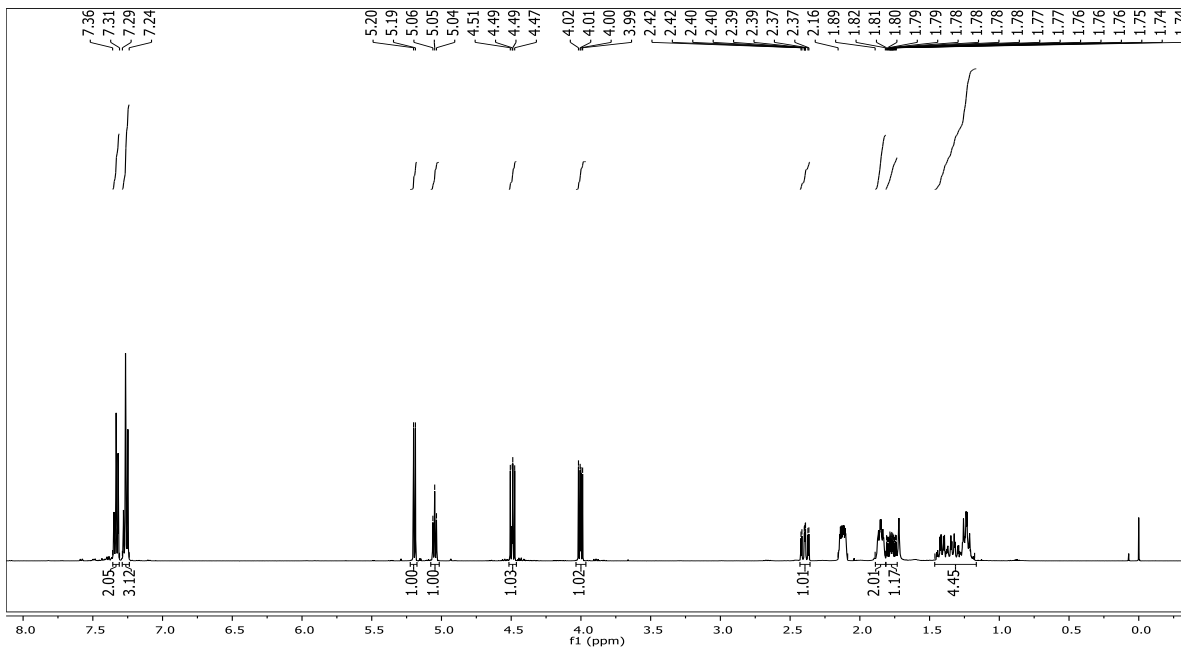
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



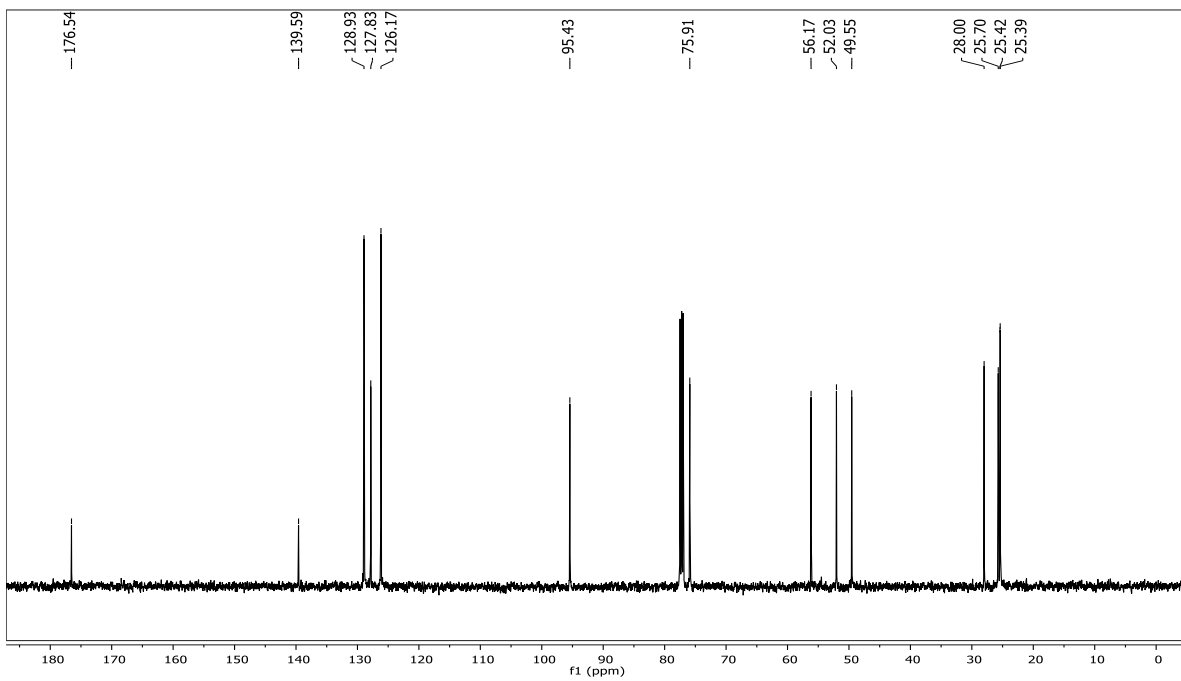


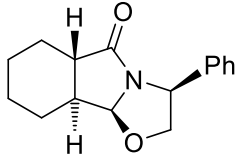
(3*S*,5*aS*,9*aS*,9*bR*)-**64c**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



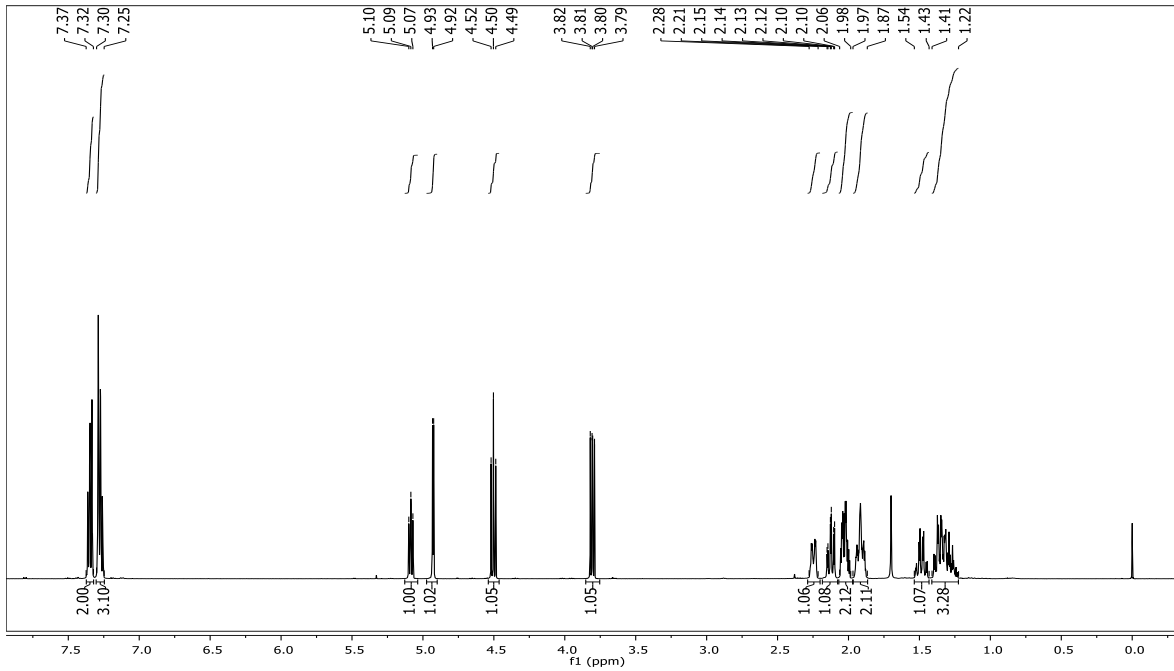
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



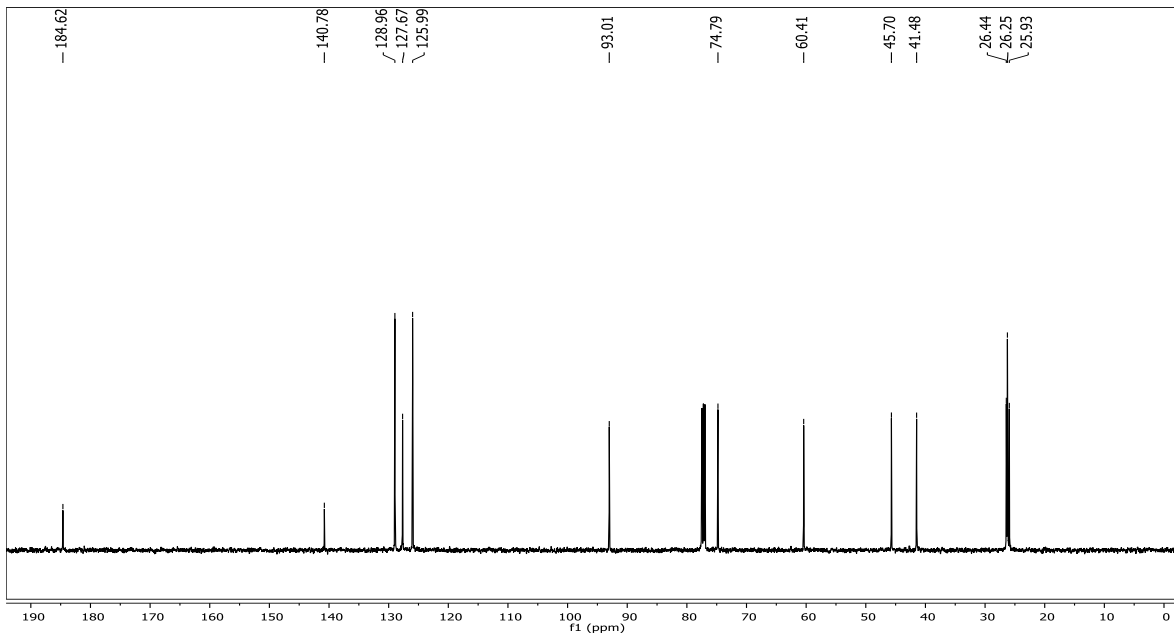


(3S,5aS,9aS,9bS)-64d

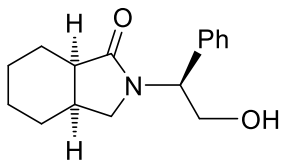
RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )

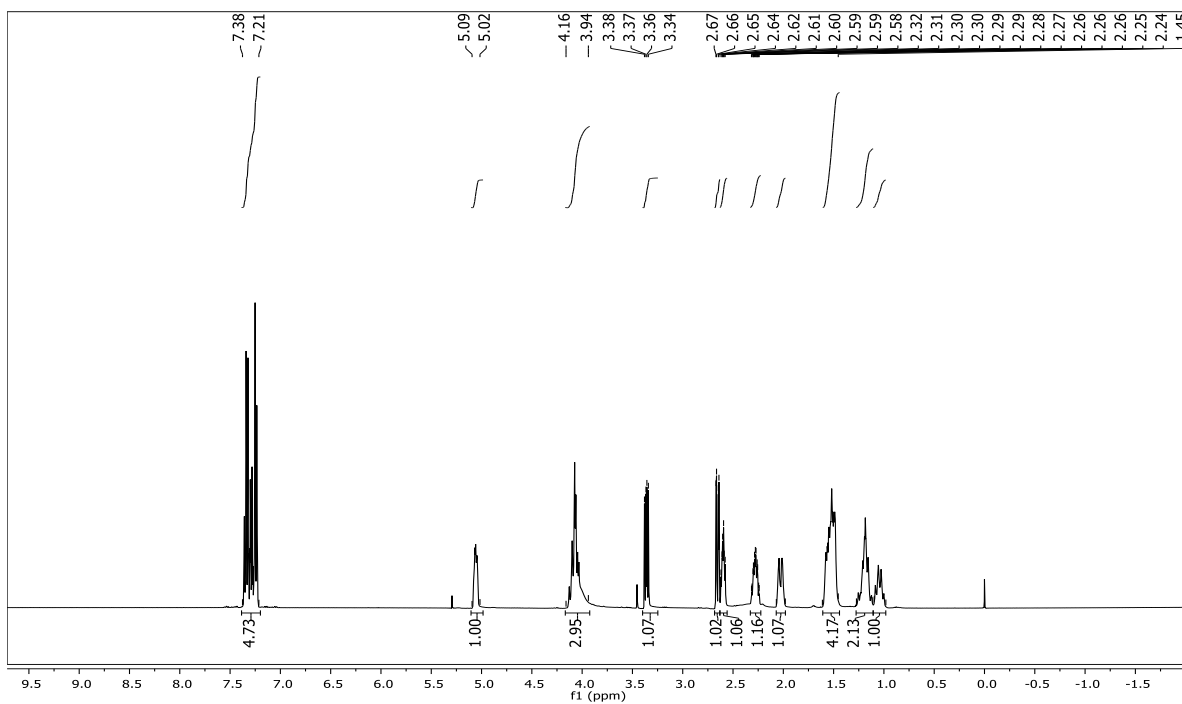




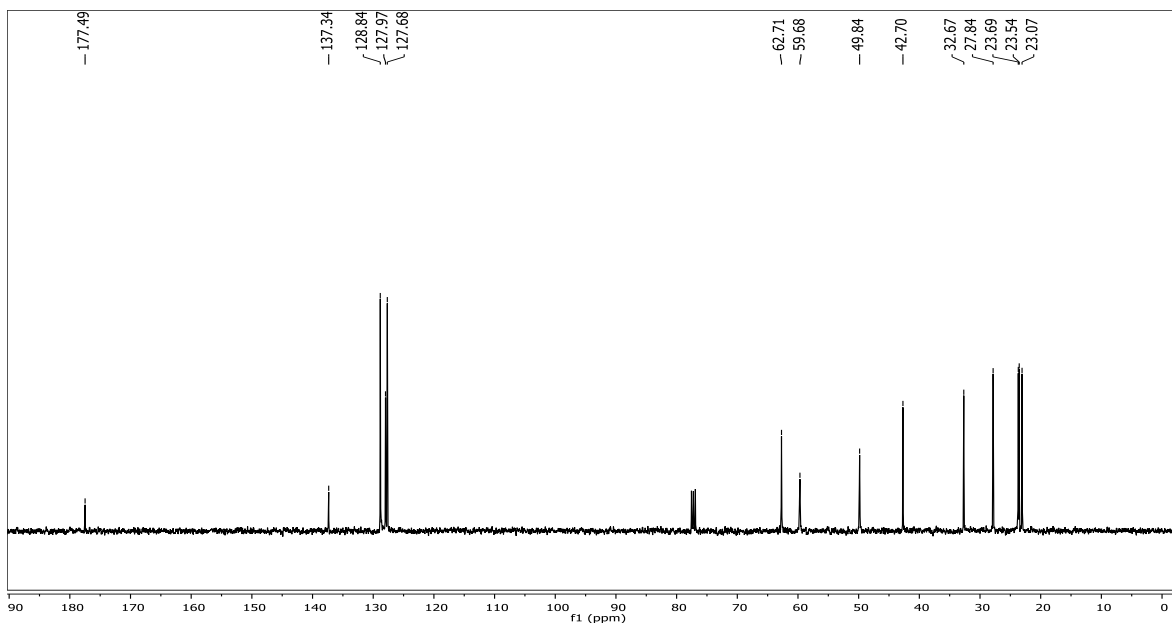


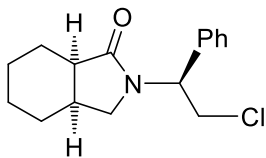
(3a*S*,7a*R*)-2-(1*S*)-65

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



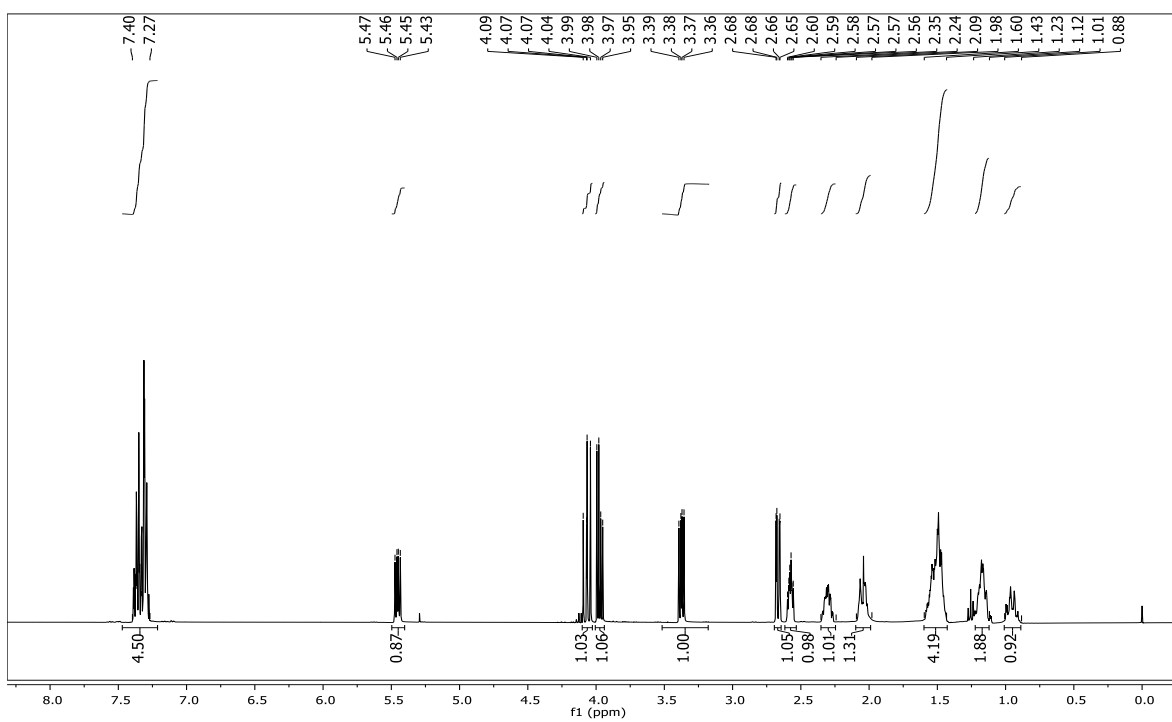
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



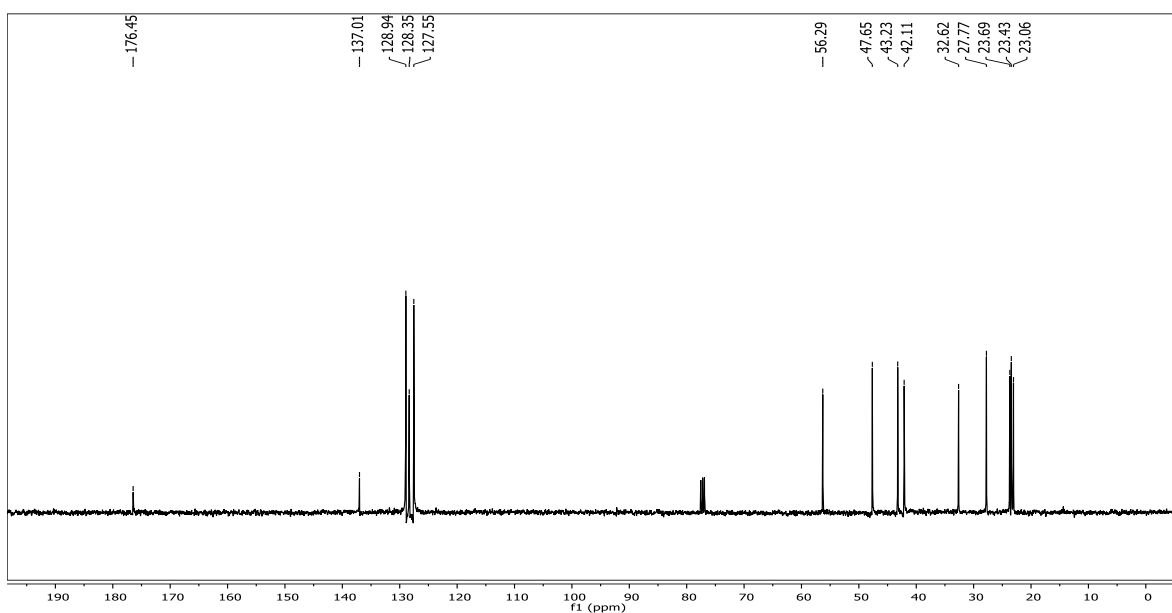


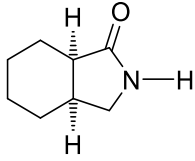
(3aS,7aR)-2-(1S)-66

RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



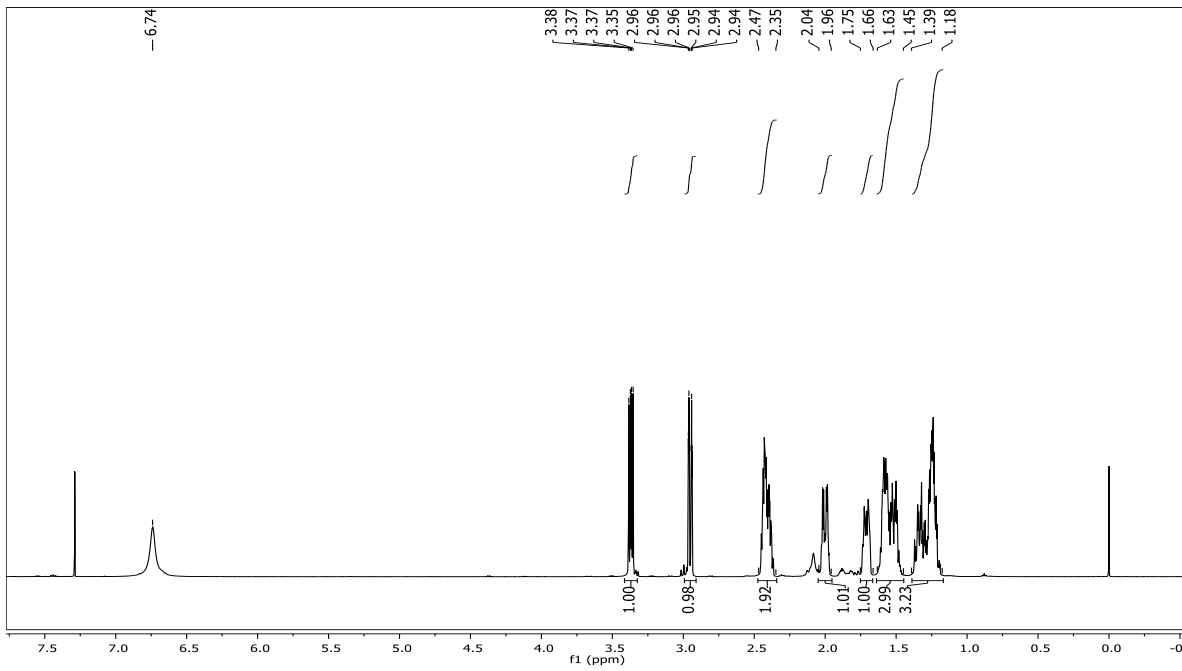
RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



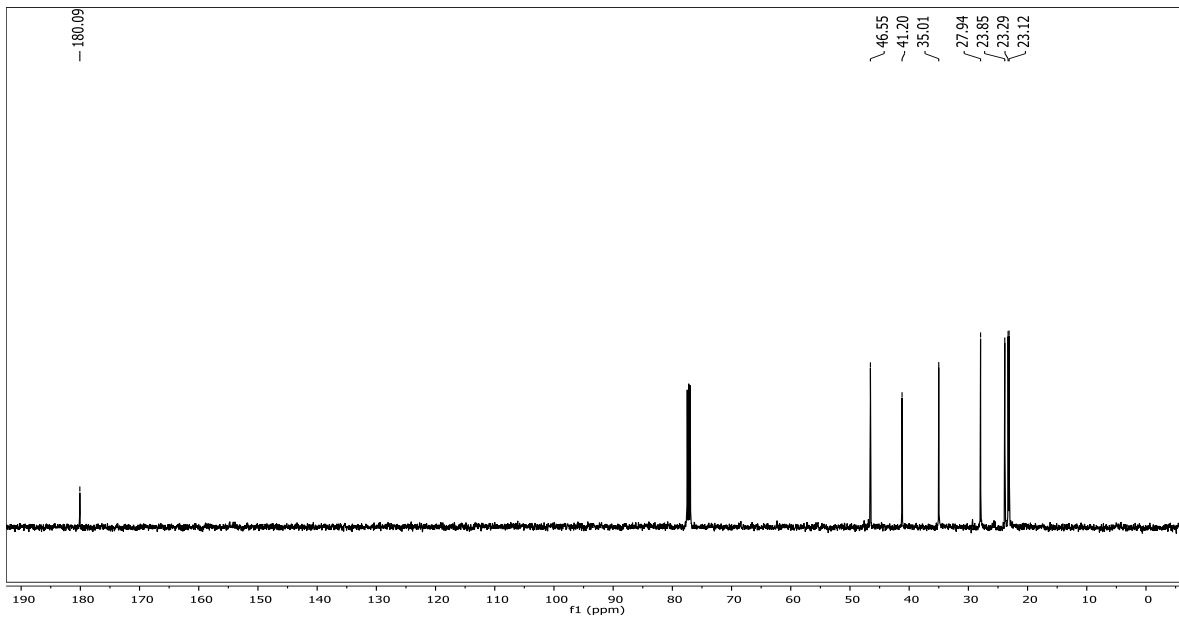


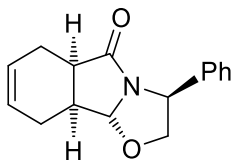
(3a*S*,7a*R*)-**44**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



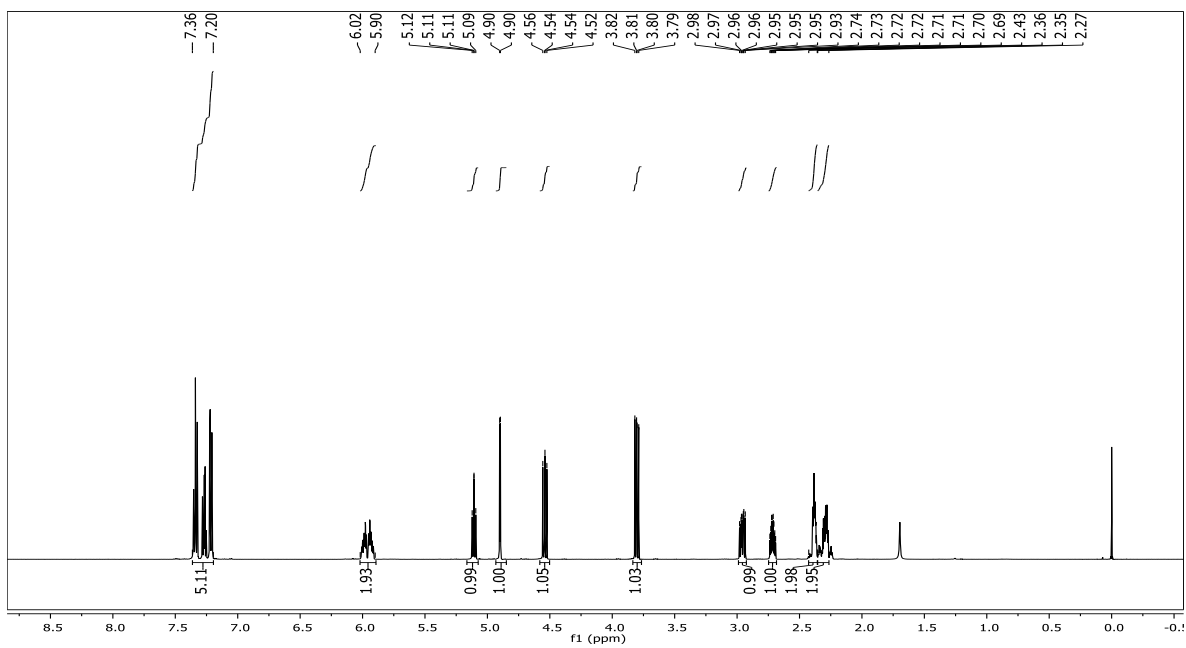
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



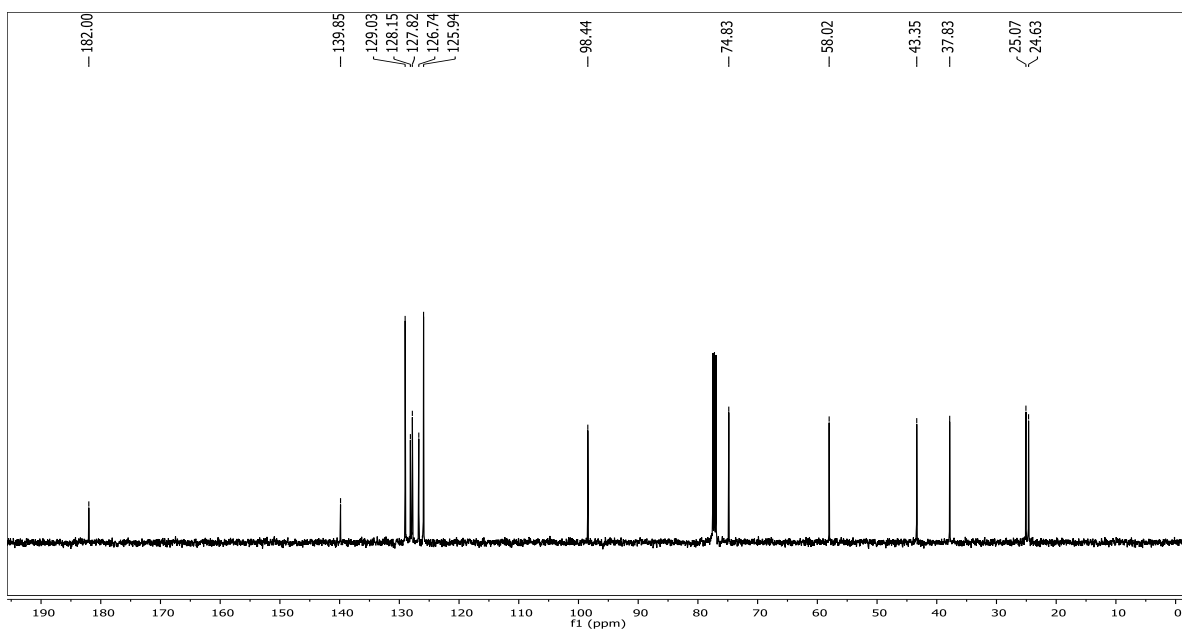


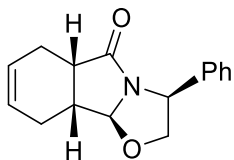
(3*S*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-**67a**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



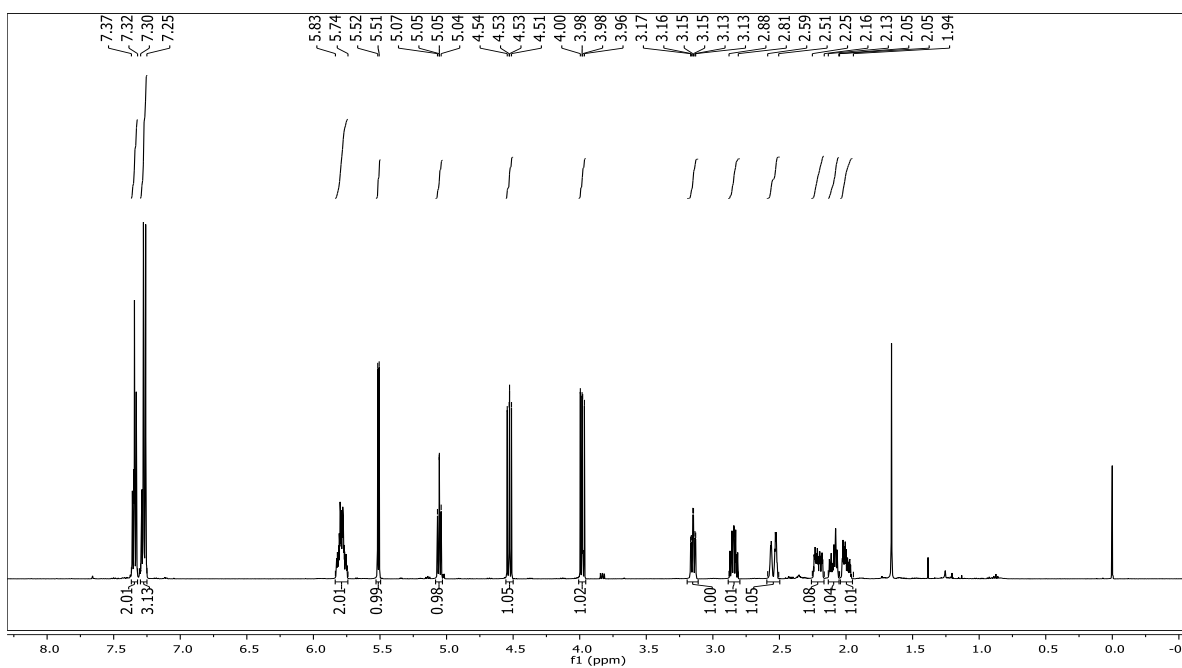
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



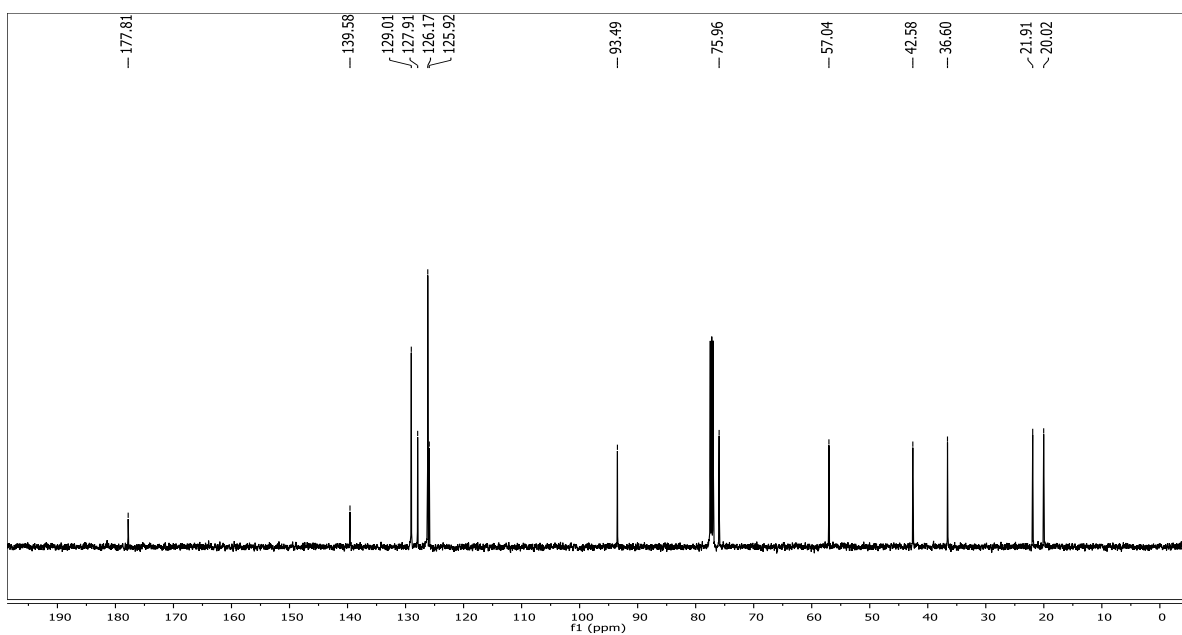


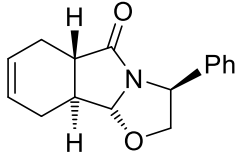
(3S,5aS,9aR,9bS)-67b

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



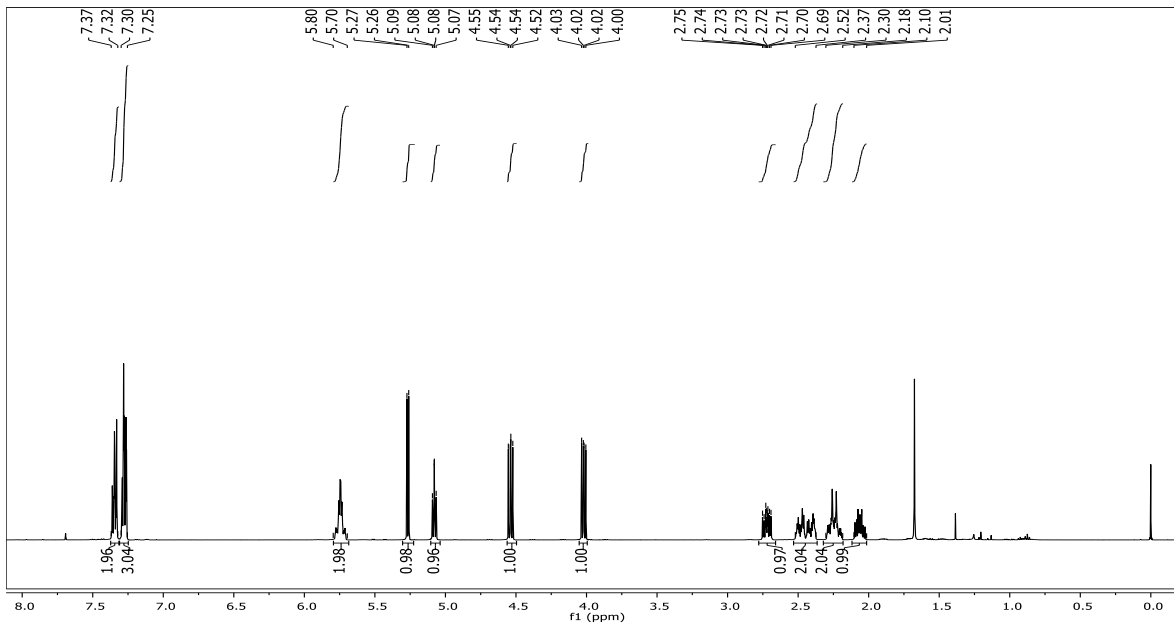
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



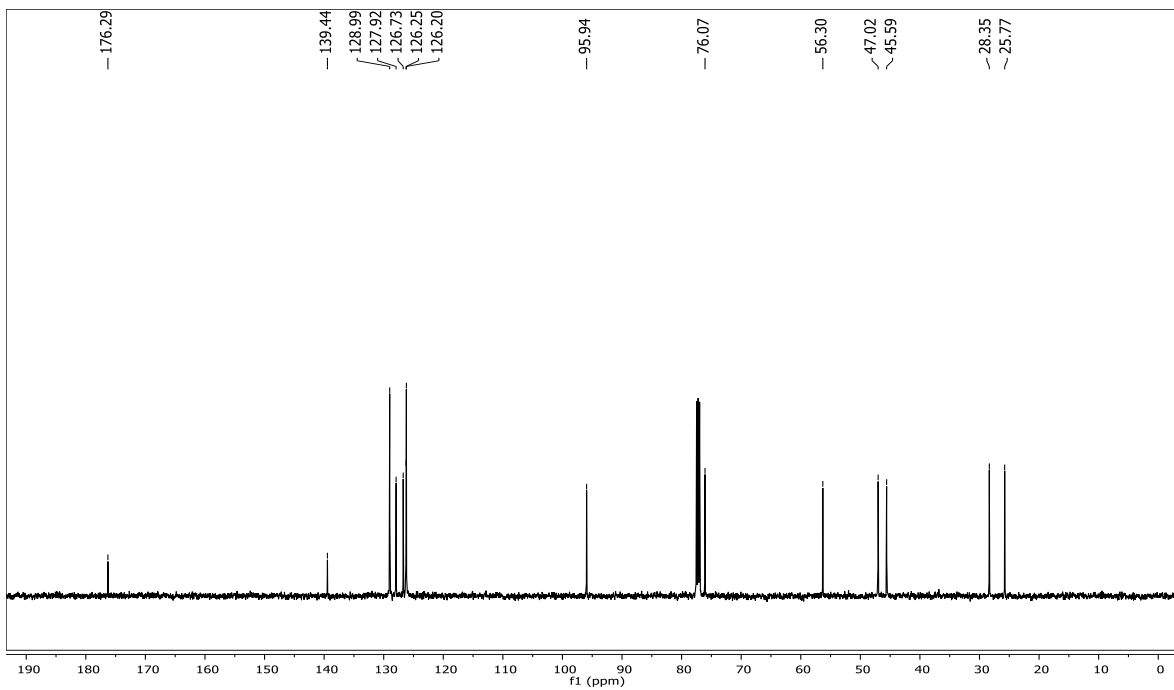


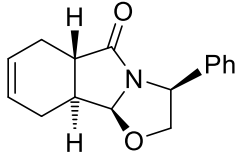
(3*S*,5*aS*,9*aS*,9*bR*)-**67c**

RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



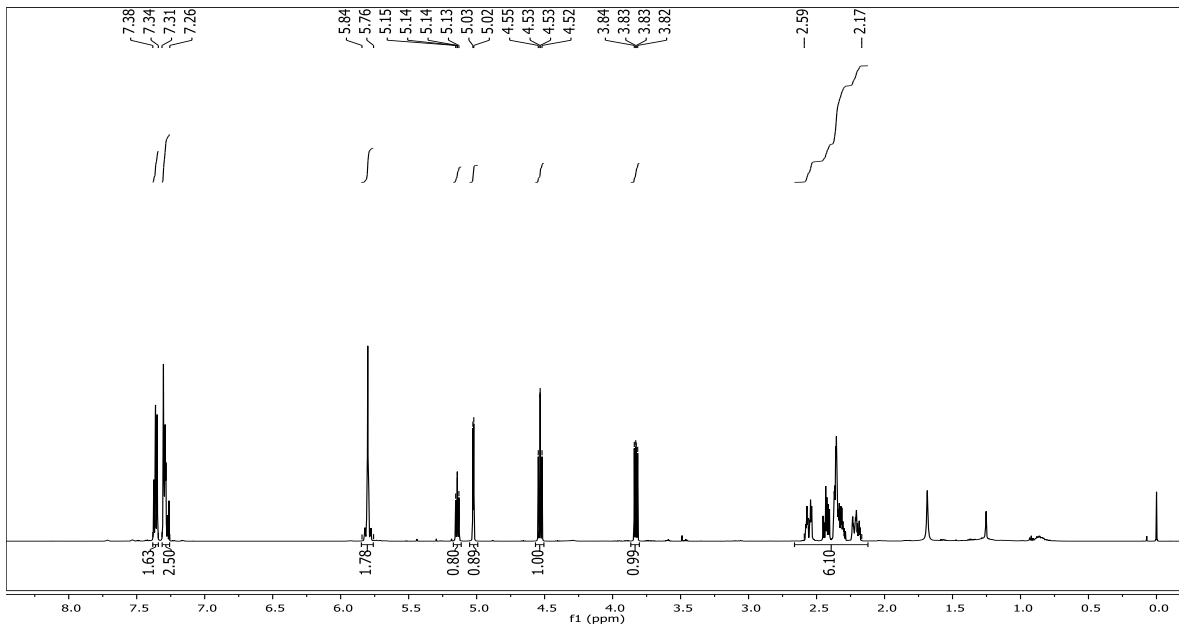
RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz;  $\text{CDCl}_3$ ;  $\text{Me}_4\text{Si}$ )



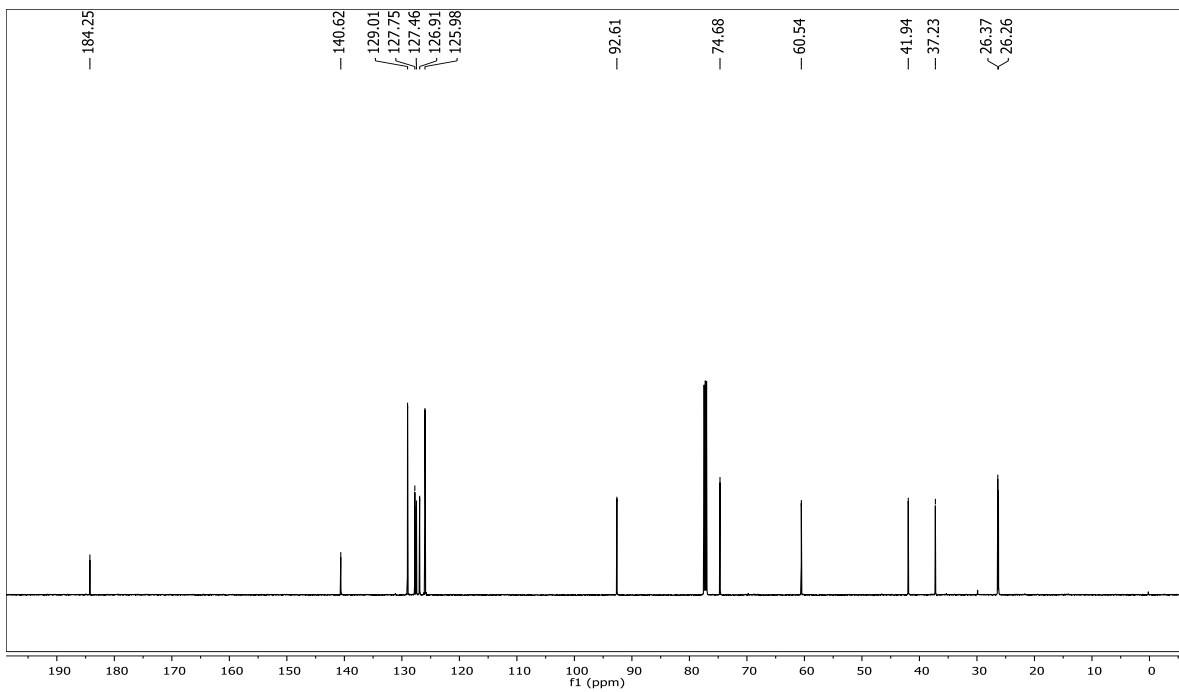


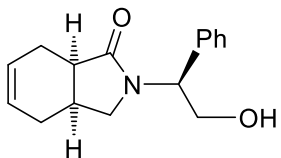
(3S,5aS,9aS,9bS)-67d

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz; Me $_4\text{Si}$ )



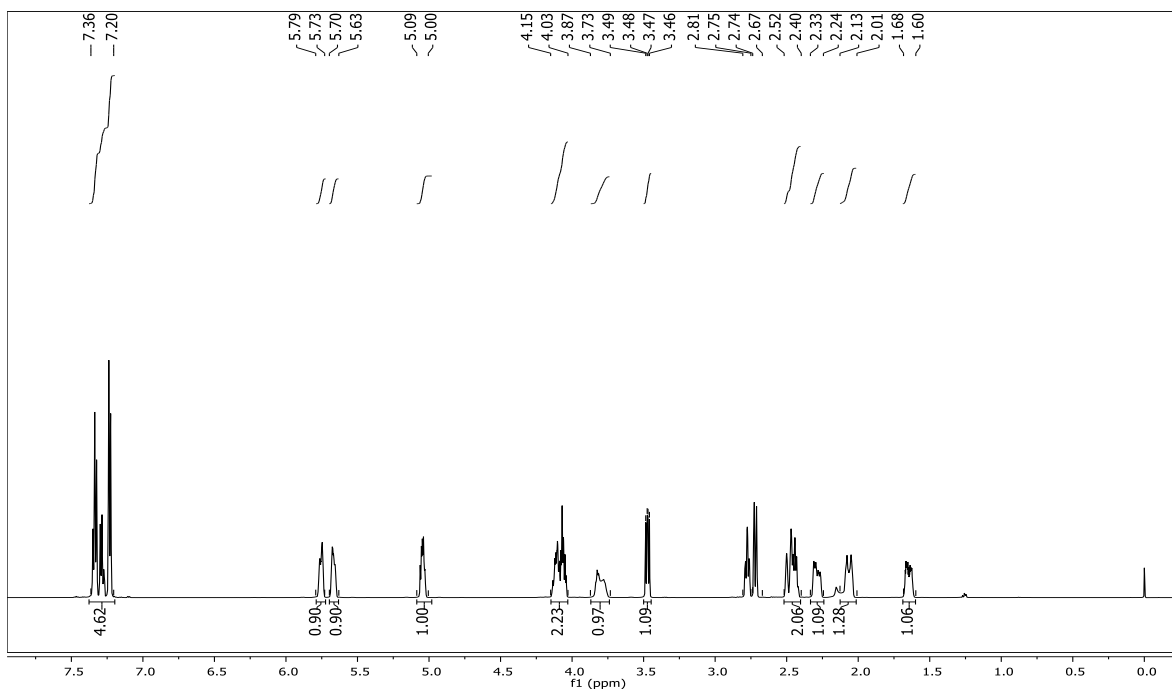
RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz; Me $_4\text{Si}$ )



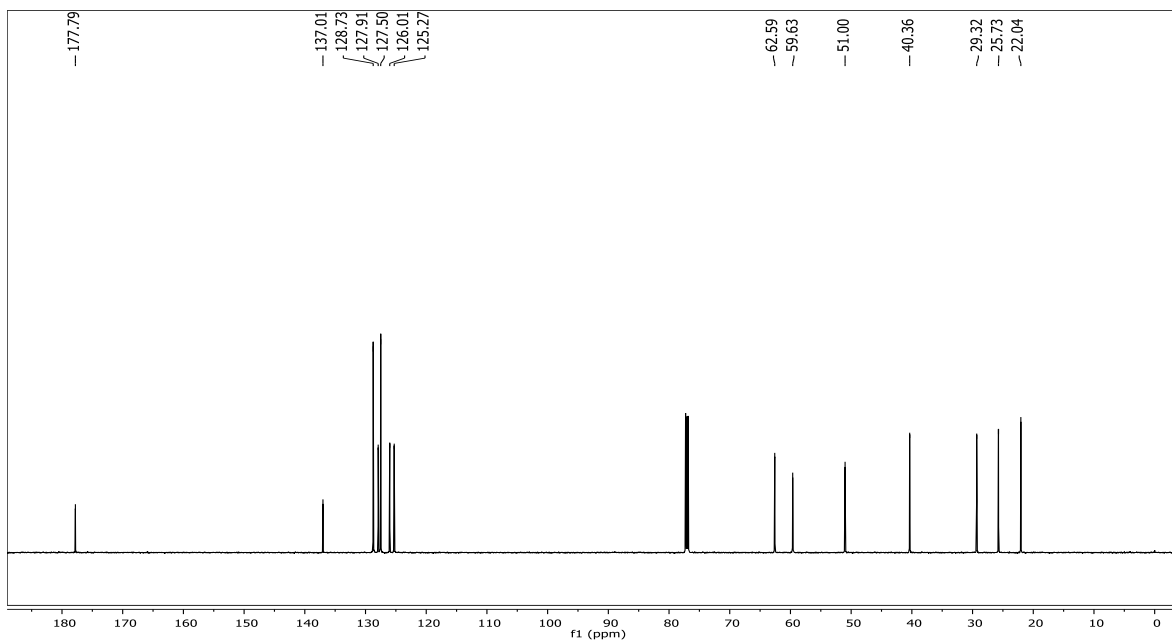


(3a*S*,7a*R*)-2-(1*S*)-**68**

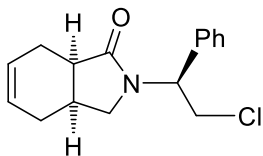
RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz; Me $_4$ Si)



RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz; Me $_4$ Si)

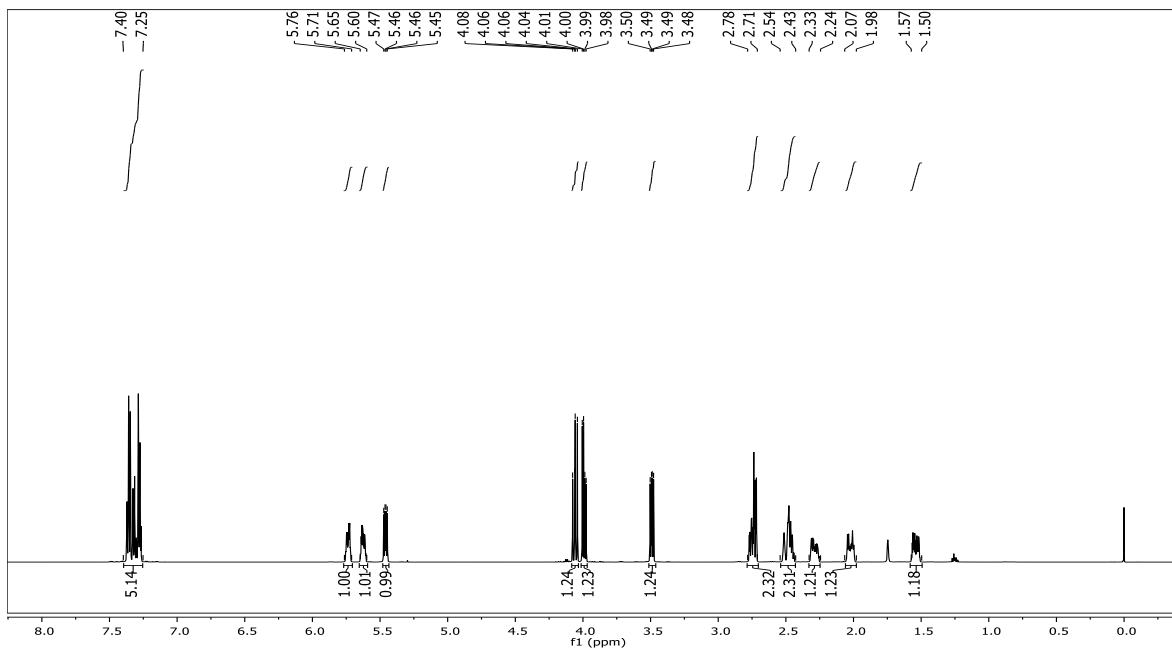




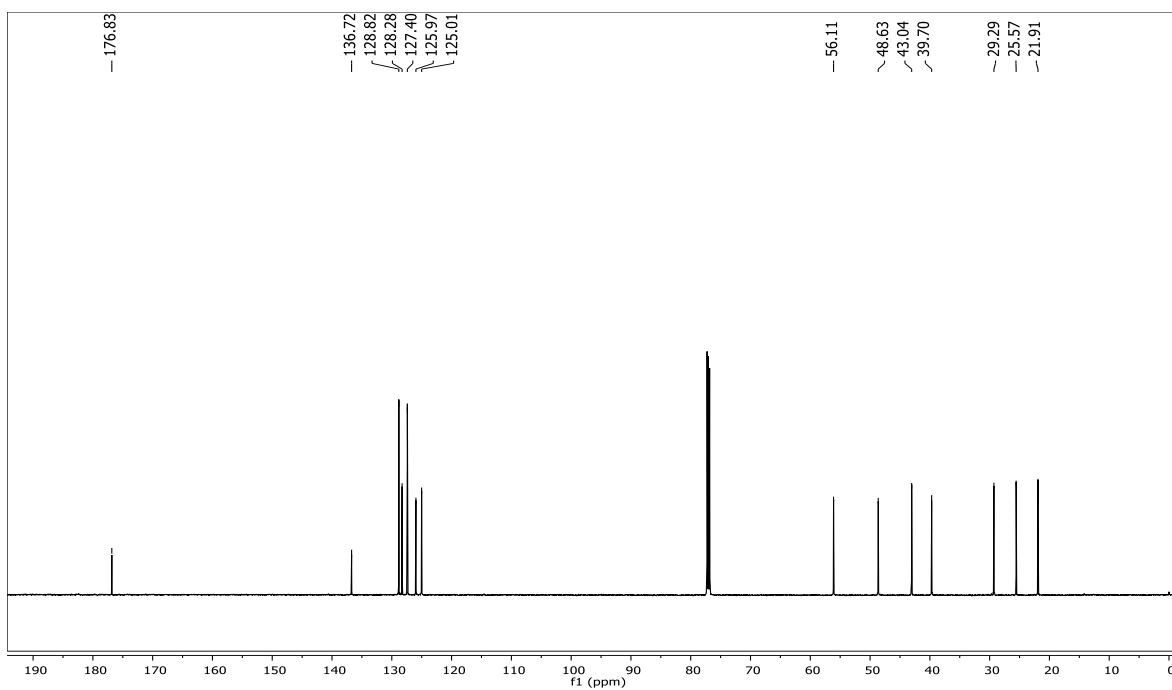


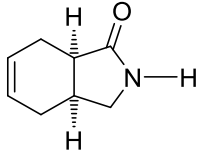
(3a*S*,7a*R*)-2-(1*S*)-69

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz; Me $_4\text{Si}$ )



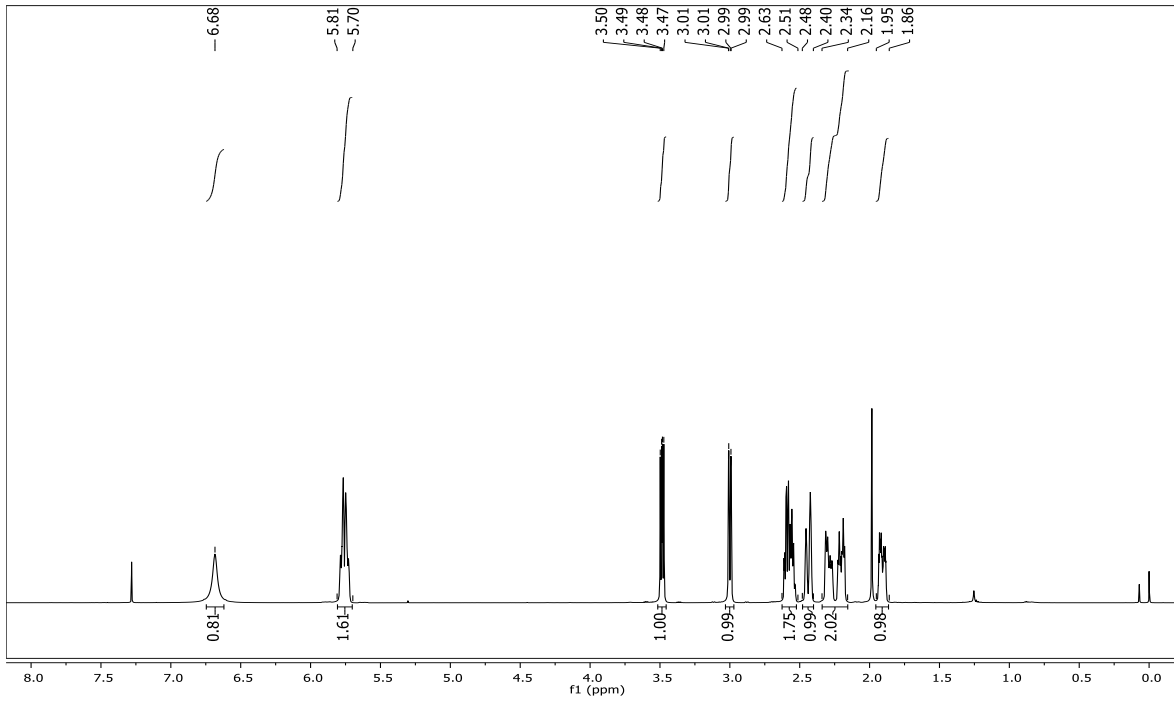
RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz; Me $_4\text{Si}$ )



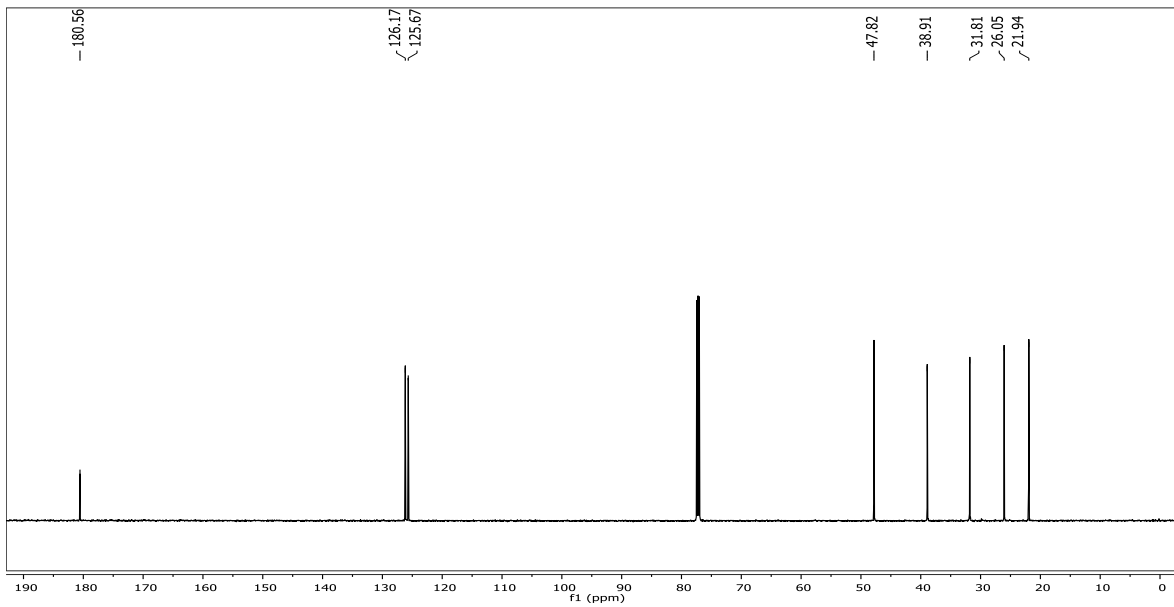


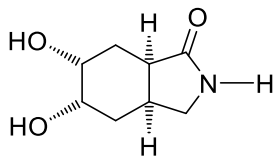
(3a*S*,7a*R*)-71

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz; Me<sub>4</sub>Si)



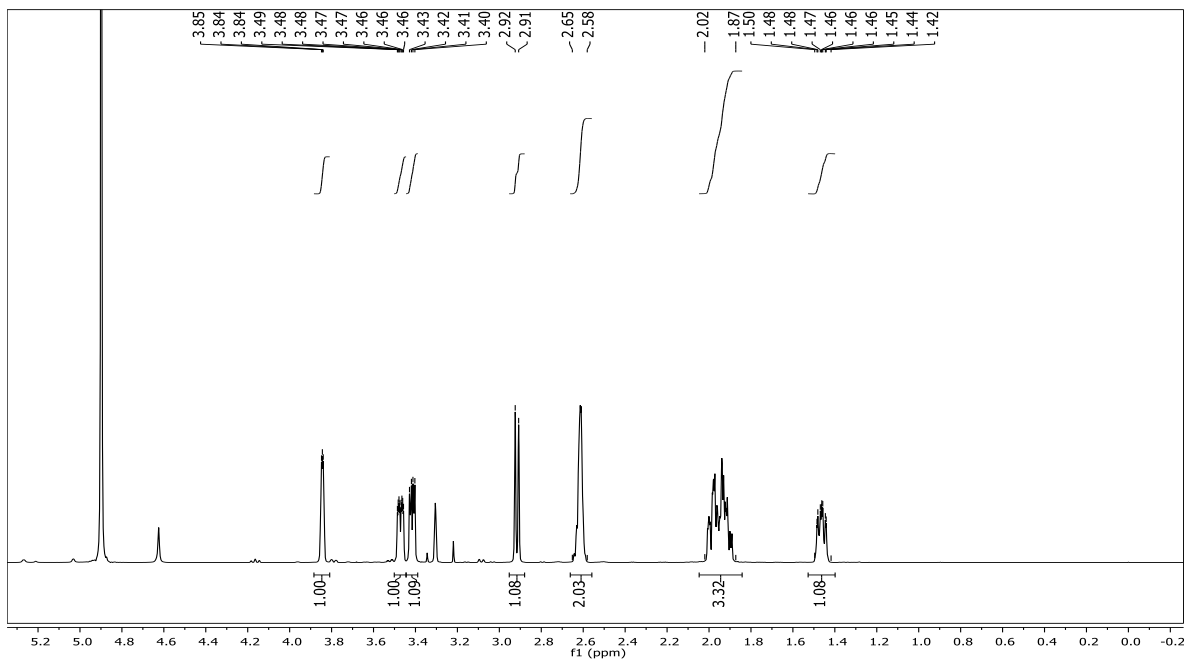
RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz; Me<sub>4</sub>Si)



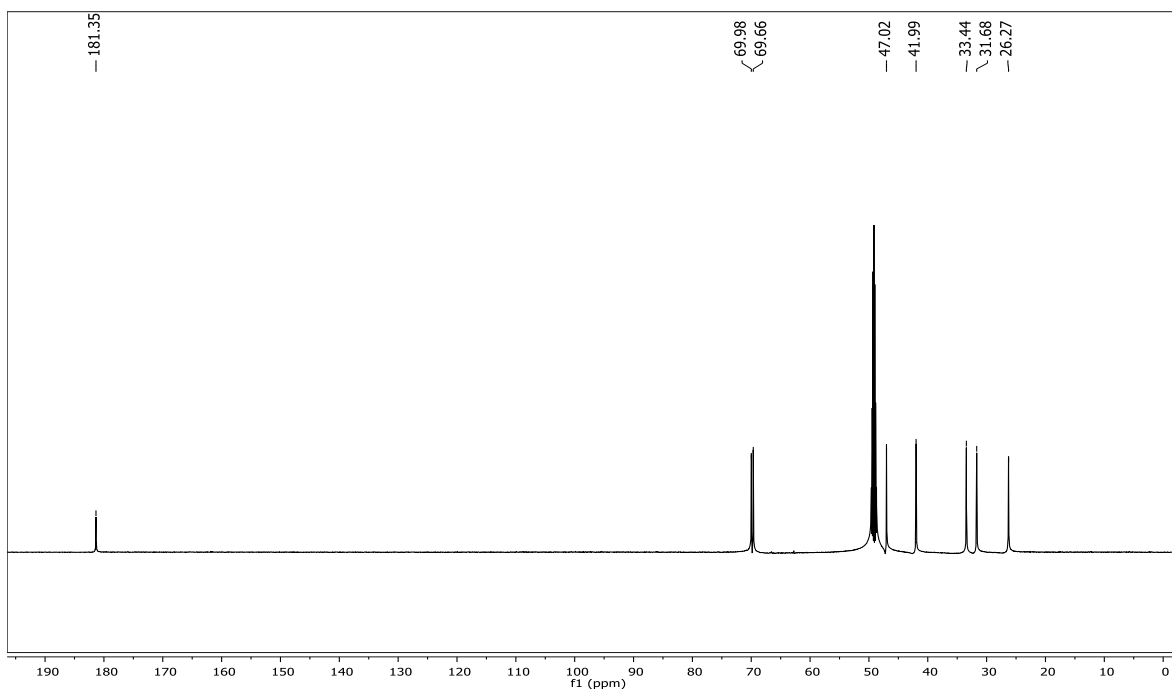


(3a*S*,5*S*,6*R*,7a*R*)-45

RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz; MeOD/D $_2$ O)



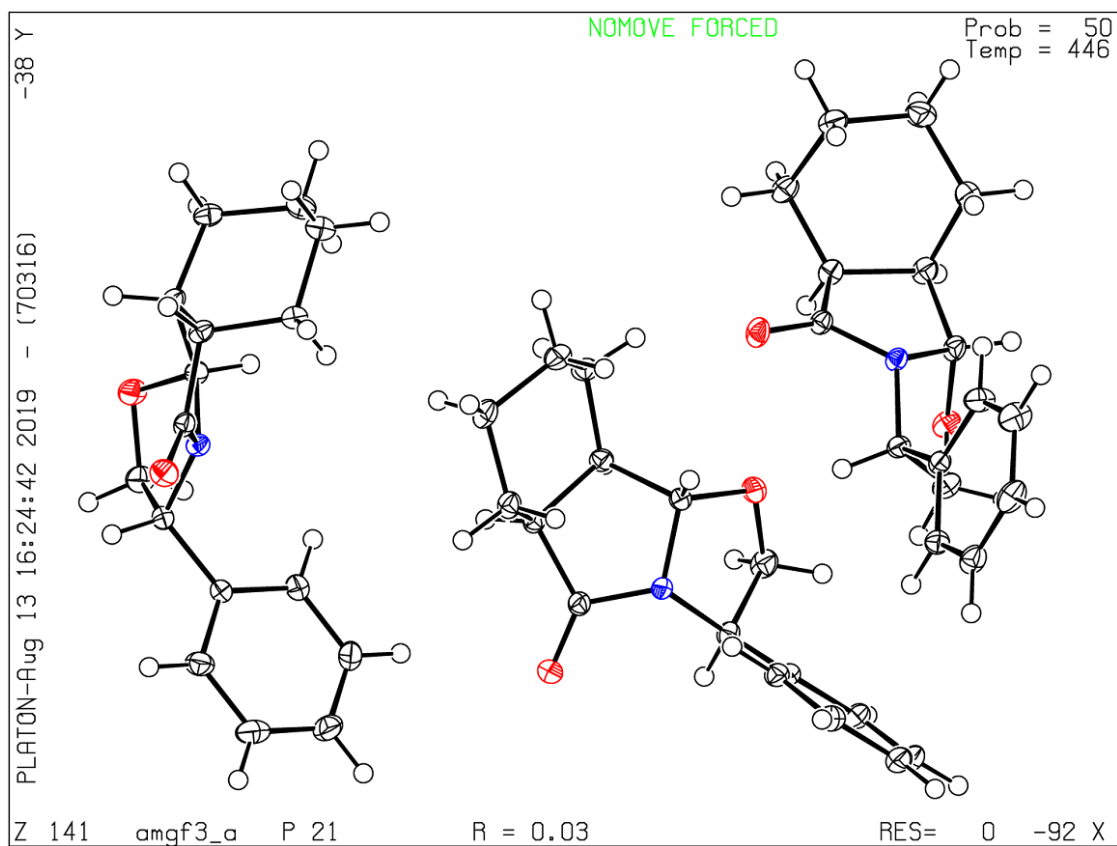
RMN  $^{13}\text{C}$  (151 MHz; MeOD/D $_2$ O)



I) Datos cristalográficos de rayos X para los compuestos:

Datos cristalográficos de rayos X para los compuestos (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-41*a*,  
(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-41*c* (3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-48 and (3*aR*,7*aS*)-42.

Compuesto (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-41*a* (amgf3\_a)



*Datos del cristal*

$C_{16}H_{19}NO_2$

$M_r = 257.32$

Monoclónica,  $P2_1$

$a = 13.3423$  (6) Å

$b = 6.4831$  (3) Å

$c = 23.9636$  (10) Å

$F(000) = 828$

$D_x = 1.270$  Mg m<sup>-3</sup>

Radiación Sincrotrón,  $\lambda = 0.7288$  Å

Parámetros de celda de 14780 reflexiones.

$\theta = 1.0$ – $1.0^\circ$

$\mu = 0.09$  mm<sup>-1</sup>

$\beta = 103.120 (2)^\circ$	$T = 446 \text{ K}$
$V = 2018.73 (16) \text{ \AA}^3$	Barras, incoloras.
$Z = 6$	$0.20 \times 0.04 \times 0.02 \text{ mm}$

### Colección de datos

Bruker D8 con detector PHOTON II CPAD difractor	15279 reflexiones independientes.
Fuente de radiación: Advanced Light Source, Beamline 12.2.1	14780 reflexiones con $I > 2\sigma(I)$
Resolución del detector: $7.39 \text{ pixels mm}^{-1}$	$R_{\text{int}} = 0.037$
$\phi$ y $\omega$ escaneos sin obturador	$\theta_{\text{max}} = 34.1^\circ$ , $\theta_{\text{min}} = 0.9^\circ$
Corrección de absorción: multi-scan SADABS2016/2 - Bruker AXS, Madison WI	$h = -20 \rightarrow 20$
	$k = -9 \rightarrow 9$
84027 reflexiones medidas	$l = -36 \rightarrow 36$

### Refinamiento

Refinamiento sobre $F^2$	Ubicación del sitio del átomo secundario: diffmap
Matriz de mínimos cuadrados: completo	Ubicación del sitio de hidrógeno: inferido de sitios vecinos
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.033$	Parámetros del átomo de H restringidos
$wR(F^2) = 0.088$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0549P)^2 + 0.1184P]$ donde $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$S = 1.09$	$(\Delta/\sigma)_{\text{max}} < 0.001$
15279 reflexiones	$\Delta_{\text{max}} = 0.34 \text{ e \AA}^{-3}$
514 parámetros	$\Delta_{\text{min}} = -0.38 \text{ e \AA}^{-3}$
1 restricción	Estructura absoluta: Flack x determinado usando 6562 cocientes [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B69 (2013) 249-259).
Ubicación del sitio del átomo primario: espacio dual	Parámetro de estructura absoluta: -0.01 (12)

### Detalles especiales

*Geomtría.* Todas las esds (excepto la esd en el ángulo diedro entre dos planos l.s.) se estiman utilizando la matriz de covarianza completa. Los esds de celda se tienen en cuenta individualmente en la estimación de esds en distancias, ángulos y ángulos de torsión; las correlaciones entre los esds en los parámetros de la celda solo se utilizan cuando están definidas por la simetría del cristal. Se utilizó un tratamiento aproximado (isotrópico) de las celdas esds para estimar las esds que involucran los planos l.s.

*Coordenadas atómicas fraccionales y parámetros de desplazamiento isotrópico o isotrópico equivalente ( $\text{\AA}^2$ ) para (amgf3\_a)*

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
O1	0.69905 (6)	0.51385 (16)	0.16439 (4)	0.02154 (17)
O2	0.45626 (7)	0.06782 (14)	0.17860 (4)	0.02073 (16)
O3	0.76867 (7)	1.36900 (13)	0.42925 (4)	0.01932 (15)
O4	0.95348 (6)	0.84936 (15)	0.49243 (4)	0.01982 (16)
O5	0.27480 (7)	0.23624 (13)	0.25978 (4)	0.02010 (16)
O6	0.23797 (6)	-0.18489 (14)	0.13322 (3)	0.01862 (15)
N1	0.54244 (7)	0.36106 (15)	0.16232 (4)	0.01455 (15)
N2	0.82911 (7)	1.03507 (14)	0.43335 (4)	0.01382 (15)
N3	0.17388 (7)	0.04532 (14)	0.18714 (4)	0.01340 (14)
C1	0.63405 (8)	0.45114 (17)	0.18898 (4)	0.01523 (17)
C2	0.63714 (8)	0.45408 (16)	0.25285 (4)	0.01441 (17)
H2	0.708158	0.442062	0.275210	0.017*
C3	0.58586 (9)	0.64910 (17)	0.27028 (5)	0.01711 (18)
H3A	0.630690	0.766876	0.270245	0.021*
H3AB	0.521815	0.675101	0.242618	0.021*
C4	0.56424 (9)	0.62311 (19)	0.33006 (5)	0.0196 (2)
H4A	0.628545	0.602187	0.357949	0.024*
H4AB	0.532346	0.747475	0.340429	0.024*
C5	0.49320 (9)	0.4392 (2)	0.33115 (5)	0.0205 (2)
H5A	0.427755	0.463627	0.304561	0.025*
H5AB	0.480401	0.425331	0.369234	0.025*
C6	0.54031 (9)	0.23900 (18)	0.31486 (5)	0.01891 (19)
H6A	0.598702	0.201666	0.345349	0.023*
H6AB	0.489789	0.129378	0.311391	0.023*
C7	0.57564 (8)	0.25619 (16)	0.25880 (4)	0.01452 (17)
H7	0.620070	0.137629	0.256471	0.017*
C8	0.49124 (8)	0.26193 (16)	0.20346 (4)	0.01483 (17)
H8	0.432959	0.345593	0.208808	0.018*
C9	0.51122 (10)	0.02443 (18)	0.13497 (5)	0.0210 (2)
H9A	0.470758	-0.062975	0.105406	0.025*
H9AB	0.576024	-0.043730	0.151134	0.025*
C10	0.52967 (8)	0.23739 (17)	0.11044 (4)	0.01568 (17)
H10	0.594786	0.234670	0.098045	0.019*

---

C11	0.44479 (8)	0.31224 (17)	0.06139 (4)	0.01447 (17)
C12	0.39257 (8)	0.49657 (17)	0.06428 (4)	0.01647 (18)
H12	0.405788	0.572144	0.098151	0.020*
C13	0.32042 (9)	0.5685 (2)	0.01654 (5)	0.0200 (2)
H13	0.286568	0.692723	0.018552	0.024*
C14	0.29914 (9)	0.4548 (2)	-0.03395 (5)	0.0219 (2)
H14	0.251130	0.502900	-0.065695	0.026*
C15	0.34992 (9)	0.2685 (2)	-0.03692 (5)	0.0220 (2)
H15	0.335237	0.191268	-0.070507	0.026*
C16	0.42248 (9)	0.19834 (19)	0.01038 (5)	0.01848 (19)
H16	0.456585	0.074560	0.008158	0.022*
C17	0.77332 (8)	1.19331 (16)	0.44854 (4)	0.01428 (17)
C18	0.71739 (8)	1.10424 (16)	0.49210 (4)	0.01459 (17)
H18	0.705675	1.210824	0.518914	0.018*
C19	0.61493 (8)	1.00680 (17)	0.46038 (4)	0.01551 (17)
H19A	0.565057	1.115225	0.447253	0.019*
H19B	0.625579	0.933070	0.426980	0.019*
C20	0.57212 (8)	0.85808 (19)	0.49869 (5)	0.01905 (19)
H20A	0.557213	0.933006	0.530901	0.023*
H20B	0.508363	0.798339	0.477136	0.023*
C21	0.64928 (9)	0.68638 (19)	0.52072 (5)	0.01920 (19)
H21A	0.662574	0.608675	0.488563	0.023*
H21B	0.620594	0.592739	0.544562	0.023*
C22	0.75020 (9)	0.77666 (19)	0.55551 (5)	0.01899 (19)
H22A	0.738088	0.836330	0.590511	0.023*
H22B	0.799875	0.666147	0.566156	0.023*
C23	0.79565 (8)	0.94173 (17)	0.52300 (4)	0.01520 (17)
H23	0.848941	1.014904	0.550843	0.018*
C24	0.84443 (8)	0.86576 (17)	0.47484 (4)	0.01416 (16)
H24	0.812894	0.737268	0.457754	0.017*
C25	0.99000 (8)	0.8879 (2)	0.44167 (5)	0.0202 (2)
H25A	0.984867	0.764333	0.418368	0.024*
H25B	1.061265	0.932383	0.451398	0.024*
C26	0.91994 (8)	1.06089 (17)	0.40912 (4)	0.01499 (17)
H26	0.951489	1.195163	0.420862	0.018*
C27	0.89629 (7)	1.04602 (17)	0.34450 (4)	0.01494 (17)
C28	0.91255 (9)	1.21796 (19)	0.31280 (5)	0.0207 (2)
H28	0.939641	1.337729	0.331725	0.025*
C29	0.88877 (11)	1.2128 (2)	0.25313 (5)	0.0269 (2)

---

---

H29	0.899097	1.329095	0.232399	0.032*
C30	0.84973 (9)	1.0341 (3)	0.22483 (5)	0.0270 (3)
H30	0.834188	1.030000	0.185001	0.032*
C31	0.83365 (10)	0.8606 (2)	0.25581 (5)	0.0260 (2)
H31	0.807795	0.740308	0.236694	0.031*
C32	0.85625 (9)	0.8669 (2)	0.31543 (5)	0.0209 (2)
H32	0.844623	0.751154	0.336017	0.025*
C33	0.24252 (8)	0.07041 (16)	0.23950 (4)	0.01402 (16)
C34	0.27449 (8)	-0.14089 (17)	0.26473 (4)	0.01540 (17)
H34	0.342853	-0.168932	0.257849	0.018*
C35	0.28461 (9)	-0.15520 (19)	0.32947 (5)	0.01928 (19)
H35A	0.328826	-0.270634	0.344447	0.023*
H35B	0.316902	-0.030488	0.347461	0.023*
C36	0.18057 (9)	-0.18330 (19)	0.34491 (5)	0.0206 (2)
H36A	0.139351	-0.059921	0.334717	0.025*
H36B	0.190806	-0.204093	0.385902	0.025*
C37	0.12395 (11)	-0.3686 (2)	0.31316 (5)	0.0253 (2)
H37A	0.165810	-0.491555	0.322580	0.030*
H37B	0.059903	-0.390264	0.325021	0.030*
C38	0.10154 (10)	-0.3311 (2)	0.24867 (5)	0.0232 (2)
H38A	0.055731	-0.213689	0.239416	0.028*
H38B	0.066315	-0.450596	0.229079	0.028*
C39	0.19932 (9)	-0.29028 (17)	0.22642 (5)	0.01773 (18)
H39	0.233692	-0.419845	0.220943	0.021*
C40	0.16807 (8)	-0.17151 (17)	0.17033 (4)	0.01583 (17)
H40	0.098091	-0.208250	0.149919	0.019*
C41	0.21324 (9)	-0.00516 (19)	0.09812 (5)	0.01905 (19)
H41A	0.155088	-0.032172	0.066463	0.023*
H41B	0.271472	0.035957	0.082731	0.023*
C42	0.18599 (8)	0.16829 (17)	0.13781 (4)	0.01442 (17)
H42	0.245150	0.260725	0.149549	0.017*
C43	0.09226 (8)	0.29333 (17)	0.11024 (4)	0.01423 (16)
C44	0.09985 (8)	0.43178 (18)	0.06684 (5)	0.01723 (18)
H44	0.161610	0.443573	0.055301	0.021*
C45	0.01628 (9)	0.55226 (19)	0.04064 (5)	0.0207 (2)
H45	0.022208	0.643232	0.011556	0.025*
C46	-0.07632 (9)	0.5370 (2)	0.05785 (5)	0.0231 (2)
H46	-0.132099	0.618954	0.040781	0.028*
C47	-0.08466 (9)	0.3984 (2)	0.10076 (5)	0.0253 (2)

---



H47	-0.146486	0.386858	0.112248	0.030*
C48	-0.00079 (8)	0.2763 (2)	0.12677 (5)	0.0210 (2)
H48	-0.007210	0.183137	0.155272	0.025*

*Parámetros de desplazamiento atómico ( $\text{\AA}^2$ ) para (amgf3\_a)*

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
O1	0.0204 (3)	0.0271 (4)	0.0172 (3)	-0.0076 (3)	0.0045 (3)	0.0015 (3)
O2	0.0283 (4)	0.0156 (4)	0.0188 (3)	-0.0089 (3)	0.0062 (3)	-0.0029 (3)
O3	0.0248 (4)	0.0116 (3)	0.0212 (4)	0.0007 (3)	0.0044 (3)	0.0028 (3)
O4	0.0157 (3)	0.0250 (4)	0.0177 (3)	0.0034 (3)	0.0013 (3)	0.0063 (3)
O5	0.0264 (4)	0.0136 (4)	0.0180 (3)	-0.0028 (3)	0.0003 (3)	-0.0029 (3)
O6	0.0226 (3)	0.0173 (4)	0.0165 (3)	0.0030 (3)	0.0057 (3)	-0.0026 (3)
N1	0.0174 (4)	0.0144 (4)	0.0118 (3)	-0.0038 (3)	0.0033 (3)	-0.0015 (3)
N2	0.0159 (3)	0.0122 (4)	0.0131 (3)	0.0011 (3)	0.0029 (3)	0.0018 (3)
N3	0.0164 (3)	0.0117 (4)	0.0114 (3)	0.0003 (3)	0.0018 (3)	-0.0007 (3)
C1	0.0173 (4)	0.0135 (4)	0.0140 (4)	-0.0020 (3)	0.0018 (3)	0.0004 (3)
C2	0.0156 (4)	0.0138 (4)	0.0128 (4)	-0.0007 (3)	0.0012 (3)	0.0006 (3)
C3	0.0205 (4)	0.0127 (4)	0.0168 (4)	-0.0007 (3)	0.0014 (3)	-0.0009 (3)
C4	0.0240 (5)	0.0175 (5)	0.0160 (4)	0.0002 (4)	0.0017 (4)	-0.0043 (4)
C5	0.0242 (5)	0.0226 (5)	0.0158 (4)	-0.0012 (4)	0.0066 (4)	-0.0029 (4)
C6	0.0256 (5)	0.0170 (5)	0.0145 (4)	-0.0016 (4)	0.0054 (4)	0.0028 (4)
C7	0.0182 (4)	0.0113 (4)	0.0139 (4)	0.0000 (3)	0.0032 (3)	0.0014 (3)
C8	0.0183 (4)	0.0124 (4)	0.0139 (4)	-0.0032 (3)	0.0040 (3)	-0.0006 (3)
C9	0.0298 (5)	0.0141 (5)	0.0185 (4)	-0.0006 (4)	0.0042 (4)	-0.0024 (4)
C10	0.0186 (4)	0.0151 (4)	0.0134 (4)	-0.0012 (3)	0.0040 (3)	-0.0032 (3)
C11	0.0167 (4)	0.0150 (4)	0.0125 (4)	-0.0030 (3)	0.0047 (3)	-0.0016 (3)
C12	0.0195 (4)	0.0158 (4)	0.0148 (4)	-0.0017 (3)	0.0054 (3)	-0.0012 (3)
C13	0.0197 (4)	0.0219 (5)	0.0190 (4)	0.0003 (4)	0.0055 (4)	0.0020 (4)
C14	0.0192 (4)	0.0303 (6)	0.0154 (4)	-0.0033 (4)	0.0023 (4)	0.0015 (4)
C15	0.0227 (5)	0.0295 (6)	0.0138 (4)	-0.0062 (4)	0.0039 (4)	-0.0049 (4)
C16	0.0209 (4)	0.0205 (5)	0.0150 (4)	-0.0033 (4)	0.0060 (3)	-0.0049 (4)
C17	0.0165 (4)	0.0121 (4)	0.0129 (4)	-0.0005 (3)	0.0004 (3)	-0.0006 (3)
C18	0.0204 (4)	0.0115 (4)	0.0119 (4)	0.0019 (3)	0.0039 (3)	-0.0005 (3)
C19	0.0171 (4)	0.0156 (4)	0.0145 (4)	0.0018 (3)	0.0050 (3)	0.0013 (3)
C20	0.0192 (4)	0.0191 (5)	0.0204 (5)	0.0019 (4)	0.0076 (4)	0.0040 (4)
C21	0.0219 (5)	0.0153 (4)	0.0217 (5)	0.0009 (4)	0.0075 (4)	0.0040 (4)
C22	0.0224 (5)	0.0195 (5)	0.0150 (4)	0.0018 (4)	0.0041 (3)	0.0054 (4)
C23	0.0188 (4)	0.0144 (4)	0.0116 (4)	0.0003 (3)	0.0018 (3)	0.0007 (3)

C24	0.0155 (4)	0.0119 (4)	0.0141 (4)	0.0013 (3)	0.0014 (3)	0.0022 (3)
C25	0.0165 (4)	0.0242 (5)	0.0197 (5)	0.0034 (4)	0.0035 (4)	0.0039 (4)
C26	0.0150 (4)	0.0152 (4)	0.0144 (4)	-0.0022 (3)	0.0023 (3)	0.0003 (3)
C27	0.0136 (4)	0.0168 (4)	0.0146 (4)	-0.0024 (3)	0.0034 (3)	-0.0003 (3)
C28	0.0247 (5)	0.0191 (5)	0.0196 (5)	-0.0023 (4)	0.0081 (4)	0.0024 (4)
C29	0.0319 (6)	0.0312 (7)	0.0199 (5)	-0.0007 (5)	0.0106 (4)	0.0056 (5)
C30	0.0220 (5)	0.0446 (8)	0.0153 (4)	-0.0040 (5)	0.0060 (4)	-0.0018 (5)
C31	0.0228 (5)	0.0355 (7)	0.0197 (5)	-0.0111 (5)	0.0052 (4)	-0.0080 (5)
C32	0.0225 (5)	0.0218 (5)	0.0186 (5)	-0.0082 (4)	0.0055 (4)	-0.0029 (4)
C33	0.0156 (4)	0.0129 (4)	0.0130 (4)	0.0010 (3)	0.0019 (3)	-0.0006 (3)
C34	0.0174 (4)	0.0130 (4)	0.0150 (4)	0.0030 (3)	0.0018 (3)	0.0002 (3)
C35	0.0220 (5)	0.0195 (5)	0.0148 (4)	0.0033 (4)	0.0008 (3)	0.0019 (4)
C36	0.0274 (5)	0.0189 (5)	0.0160 (4)	0.0006 (4)	0.0061 (4)	0.0013 (4)
C37	0.0343 (6)	0.0204 (5)	0.0224 (5)	-0.0065 (5)	0.0089 (4)	0.0029 (4)
C38	0.0275 (5)	0.0208 (5)	0.0208 (5)	-0.0084 (4)	0.0041 (4)	-0.0003 (4)
C39	0.0252 (5)	0.0111 (4)	0.0164 (4)	0.0004 (4)	0.0037 (4)	-0.0017 (3)
C40	0.0196 (4)	0.0135 (4)	0.0140 (4)	-0.0008 (3)	0.0029 (3)	-0.0034 (3)
C41	0.0219 (4)	0.0210 (5)	0.0147 (4)	0.0036 (4)	0.0051 (3)	-0.0012 (4)
C42	0.0150 (4)	0.0158 (4)	0.0123 (4)	0.0003 (3)	0.0029 (3)	0.0008 (3)
C43	0.0152 (4)	0.0148 (4)	0.0121 (4)	-0.0001 (3)	0.0018 (3)	-0.0002 (3)
C44	0.0201 (4)	0.0159 (4)	0.0150 (4)	-0.0022 (4)	0.0024 (3)	0.0018 (3)
C45	0.0267 (5)	0.0160 (5)	0.0168 (4)	0.0005 (4)	-0.0008 (4)	0.0022 (4)
C46	0.0236 (5)	0.0241 (6)	0.0184 (4)	0.0078 (4)	-0.0017 (4)	-0.0003 (4)
C47	0.0188 (5)	0.0351 (7)	0.0223 (5)	0.0076 (4)	0.0053 (4)	0.0031 (5)
C48	0.0178 (4)	0.0278 (6)	0.0182 (5)	0.0036 (4)	0.0060 (4)	0.0060 (4)

*Parámetros geométricos (Å, °) para (amgf3\_a)*

O1—C1	1.2234 (13)	C20—H20B	0.9700
O2—C8	1.4248 (13)	C21—C22	1.5301 (17)
O2—C9	1.4345 (14)	C21—H21A	0.9700
O3—C17	1.2255 (13)	C21—H21B	0.9700
O4—C24	1.4239 (13)	C22—C23	1.5278 (16)
O4—C25	1.4313 (14)	C22—H22A	0.9700
O5—C33	1.2176 (13)	C22—H22B	0.9700
O6—C40	1.4300 (13)	C23—C24	1.5293 (15)
O6—C41	1.4311 (15)	C23—H23	0.9800
N1—C1	1.3743 (13)	C24—H24	0.9800
N1—C10	1.4565 (13)	C25—C26	1.5520 (16)

---

N1—C8	1.4690 (13)	C25—H25A	0.9700
N2—C17	1.3646 (14)	C25—H25B	0.9700
N2—C24	1.4638 (13)	C26—C27	1.5114 (14)
N2—C26	1.4674 (13)	C26—H26	0.9800
N3—C33	1.3848 (13)	C27—C28	1.3935 (16)
N3—C40	1.4595 (14)	C27—C32	1.3966 (16)
N3—C42	1.4650 (13)	C28—C29	1.3930 (17)
C1—C2	1.5219 (14)	C28—H28	0.9300
C2—C3	1.5398 (15)	C29—C30	1.383 (2)
C2—C7	1.5469 (15)	C29—H29	0.9300
C2—H2	0.9800	C30—C31	1.391 (2)
C3—C4	1.5335 (16)	C30—H30	0.9300
C3—H3A	0.9700	C31—C32	1.3922 (16)
C3—H3AB	0.9700	C31—H31	0.9300
C4—C5	1.5269 (18)	C32—H32	0.9300
C4—H4A	0.9700	C33—C34	1.5190 (15)
C4—H4AB	0.9700	C34—C35	1.5292 (15)
C5—C6	1.5310 (17)	C34—C39	1.5390 (16)
C5—H5A	0.9700	C34—H34	0.9800
C5—H5AB	0.9700	C35—C36	1.5265 (17)
C6—C7	1.5254 (15)	C35—H35A	0.9700
C6—H6A	0.9700	C35—H35B	0.9700
C6—H6AB	0.9700	C36—C37	1.5271 (18)
C7—C8	1.5330 (14)	C36—H36A	0.9700
C7—H7	0.9800	C36—H36B	0.9700
C8—H8	0.9800	C37—C38	1.5254 (17)
C9—C10	1.5421 (17)	C37—H37A	0.9700
C9—H9A	0.9700	C37—H37B	0.9700
C9—H9AB	0.9700	C38—C39	1.5403 (17)
C10—C11	1.5151 (15)	C38—H38A	0.9700
C10—H10	0.9800	C38—H38B	0.9700
C11—C12	1.3929 (15)	C39—C40	1.5228 (15)
C11—C16	1.4010 (14)	C39—H39	0.9800
C12—C13	1.3976 (16)	C40—H40	0.9800
C12—H12	0.9300	C41—C42	1.5678 (16)
C13—C14	1.3898 (17)	C41—H41A	0.9700
C13—H13	0.9300	C41—H41B	0.9700
C14—C15	1.3949 (19)	C42—C43	1.5108 (14)
C14—H14	0.9300	C42—H42	0.9800

---

C15—C16	1.3895 (17)	C43—C48	1.3905 (14)
C15—H15	0.9300	C43—C44	1.3948 (15)
C16—H16	0.9300	C44—C45	1.3891 (16)
C17—C18	1.5275 (15)	C44—H44	0.9300
C18—C19	1.5407 (15)	C45—C46	1.3921 (17)
C18—C23	1.5484 (15)	C45—H45	0.9300
C18—H18	0.9800	C46—C47	1.3889 (19)
C19—C20	1.5288 (15)	C46—H46	0.9300
C19—H19A	0.9700	C47—C48	1.3969 (16)
C19—H19B	0.9700	C47—H47	0.9300
C20—C21	1.5268 (16)	C48—H48	0.9300
C20—H20A	0.9700		
C8—O2—C9	107.75 (8)	H22A—C22—H22B	107.8
C24—O4—C25	104.92 (8)	C22—C23—C24	116.45 (9)
C40—O6—C41	102.73 (8)	C22—C23—C18	114.69 (9)
C1—N1—C10	123.37 (9)	C24—C23—C18	102.39 (8)
C1—N1—C8	111.96 (8)	C22—C23—H23	107.6
C10—N1—C8	110.49 (8)	C24—C23—H23	107.6
C17—N2—C24	112.52 (8)	C18—C23—H23	107.6
C17—N2—C26	124.71 (9)	O4—C24—N2	103.46 (8)
C24—N2—C26	110.72 (8)	O4—C24—C23	112.45 (8)
C33—N3—C40	110.24 (8)	N2—C24—C23	104.68 (8)
C33—N3—C42	119.72 (9)	O4—C24—H24	111.9
C40—N3—C42	108.07 (8)	N2—C24—H24	111.9
O1—C1—N1	124.77 (10)	C23—C24—H24	111.9
O1—C1—C2	128.31 (10)	O4—C25—C26	105.72 (9)
N1—C1—C2	106.92 (8)	O4—C25—H25A	110.6
C1—C2—C3	111.76 (8)	C26—C25—H25A	110.6
C1—C2—C7	100.86 (8)	O4—C25—H25B	110.6
C3—C2—C7	112.23 (8)	C26—C25—H25B	110.6
C1—C2—H2	110.5	H25A—C25—H25B	108.7
C3—C2—H2	110.5	N2—C26—C27	113.51 (8)
C7—C2—H2	110.5	N2—C26—C25	100.13 (8)
C4—C3—C2	110.64 (9)	C27—C26—C25	115.51 (9)
C4—C3—H3A	109.5	N2—C26—H26	109.1
C2—C3—H3A	109.5	C27—C26—H26	109.1
C4—C3—H3AB	109.5	C25—C26—H26	109.1
C2—C3—H3AB	109.5	C28—C27—C32	118.85 (10)

---

H3A—C3—H3AB	108.1	C28—C27—C26	119.04 (10)
C5—C4—C3	110.55 (9)	C32—C27—C26	122.09 (10)
C5—C4—H4A	109.5	C29—C28—C27	120.88 (12)
C3—C4—H4A	109.5	C29—C28—H28	119.6
C5—C4—H4AB	109.5	C27—C28—H28	119.6
C3—C4—H4AB	109.5	C30—C29—C28	119.73 (12)
H4A—C4—H4AB	108.1	C30—C29—H29	120.1
C4—C5—C6	111.42 (9)	C28—C29—H29	120.1
C4—C5—H5A	109.3	C29—C30—C31	120.16 (11)
C6—C5—H5A	109.3	C29—C30—H30	119.9
C4—C5—H5AB	109.3	C31—C30—H30	119.9
C6—C5—H5AB	109.3	C30—C31—C32	120.00 (12)
H5A—C5—H5AB	108.0	C30—C31—H31	120.0
C7—C6—C5	112.92 (9)	C32—C31—H31	120.0
C7—C6—H6A	109.0	C31—C32—C27	120.37 (12)
C5—C6—H6A	109.0	C31—C32—H32	119.8
C7—C6—H6AB	109.0	C27—C32—H32	119.8
C5—C6—H6AB	109.0	O5—C33—N3	124.52 (10)
H6A—C6—H6AB	107.8	O5—C33—C34	126.55 (9)
C6—C7—C8	116.77 (9)	N3—C33—C34	108.84 (9)
C6—C7—C2	114.72 (9)	C33—C34—C35	114.25 (9)
C8—C7—C2	101.60 (8)	C33—C34—C39	104.12 (8)
C6—C7—H7	107.7	C35—C34—C39	117.55 (9)
C8—C7—H7	107.7	C33—C34—H34	106.8
C2—C7—H7	107.7	C35—C34—H34	106.8
O2—C8—N1	105.30 (8)	C39—C34—H34	106.8
O2—C8—C7	116.54 (9)	C36—C35—C34	112.18 (9)
N1—C8—C7	103.24 (8)	C36—C35—H35A	109.2
O2—C8—H8	110.4	C34—C35—H35A	109.2
N1—C8—H8	110.4	C36—C35—H35B	109.2
C7—C8—H8	110.4	C34—C35—H35B	109.2
O2—C9—C10	104.75 (9)	H35A—C35—H35B	107.9
O2—C9—H9A	110.8	C35—C36—C37	110.33 (10)
C10—C9—H9A	110.8	C35—C36—H36A	109.6
O2—C9—H9AB	110.8	C37—C36—H36A	109.6
C10—C9—H9AB	110.8	C35—C36—H36B	109.6
H9A—C9—H9AB	108.9	C37—C36—H36B	109.6
N1—C10—C11	114.07 (9)	H36A—C36—H36B	108.1
N1—C10—C9	99.51 (8)	C38—C37—C36	109.90 (10)

---

C11—C10—C9	115.25 (9)	C38—C37—H37A	109.7
N1—C10—H10	109.2	C36—C37—H37A	109.7
C11—C10—H10	109.2	C38—C37—H37B	109.7
C9—C10—H10	109.2	C36—C37—H37B	109.7
C12—C11—C16	119.08 (10)	H37A—C37—H37B	108.2
C12—C11—C10	122.03 (9)	C37—C38—C39	113.04 (10)
C16—C11—C10	118.78 (10)	C37—C38—H38A	109.0
C11—C12—C13	120.32 (10)	C39—C38—H38A	109.0
C11—C12—H12	119.8	C37—C38—H38B	109.0
C13—C12—H12	119.8	C39—C38—H38B	109.0
C14—C13—C12	120.16 (11)	H38A—C38—H38B	107.8
C14—C13—H13	119.9	C40—C39—C34	102.66 (9)
C12—C13—H13	119.9	C40—C39—C38	107.98 (9)
C13—C14—C15	119.88 (11)	C34—C39—C38	112.97 (9)
C13—C14—H14	120.1	C40—C39—H39	111.0
C15—C14—H14	120.1	C34—C39—H39	111.0
C16—C15—C14	119.88 (11)	C38—C39—H39	111.0
C16—C15—H15	120.1	O6—C40—N3	103.22 (8)
C14—C15—H15	120.1	O6—C40—C39	115.57 (9)
C15—C16—C11	120.67 (11)	N3—C40—C39	104.88 (8)
C15—C16—H16	119.7	O6—C40—H40	110.9
C11—C16—H16	119.7	N3—C40—H40	110.9
O3—C17—N2	125.60 (10)	C39—C40—H40	110.9
O3—C17—C18	128.19 (10)	O6—C41—C42	106.36 (8)
N2—C17—C18	106.19 (9)	O6—C41—H41A	110.5
C17—C18—C19	109.52 (8)	C42—C41—H41A	110.5
C17—C18—C23	101.71 (8)	O6—C41—H41B	110.5
C19—C18—C23	112.55 (9)	C42—C41—H41B	110.5
C17—C18—H18	110.9	H41A—C41—H41B	108.6
C19—C18—H18	110.9	N3—C42—C43	114.38 (8)
C23—C18—H18	110.9	N3—C42—C41	100.51 (8)
C20—C19—C18	111.90 (8)	C43—C42—C41	113.74 (8)
C20—C19—H19A	109.2	N3—C42—H42	109.3
C18—C19—H19A	109.2	C43—C42—H42	109.3
C20—C19—H19B	109.2	C41—C42—H42	109.3
C18—C19—H19B	109.2	C48—C43—C44	118.96 (10)
H19A—C19—H19B	107.9	C48—C43—C42	122.46 (9)
C21—C20—C19	110.66 (9)	C44—C43—C42	118.57 (9)
C21—C20—H20A	109.5	C45—C44—C43	120.81 (10)

---

C19—C20—H20A	109.5	C45—C44—H44	119.6
C21—C20—H20B	109.5	C43—C44—H44	119.6
C19—C20—H20B	109.5	C44—C45—C46	120.10 (11)
H20A—C20—H20B	108.1	C44—C45—H45	119.9
C20—C21—C22	110.51 (10)	C46—C45—H45	119.9
C20—C21—H21A	109.5	C47—C46—C45	119.39 (11)
C22—C21—H21A	109.5	C47—C46—H46	120.3
C20—C21—H21B	109.5	C45—C46—H46	120.3
C22—C21—H21B	109.5	C46—C47—C48	120.43 (11)
H21A—C21—H21B	108.1	C46—C47—H47	119.8
C23—C22—C21	113.09 (9)	C48—C47—H47	119.8
C23—C22—H22A	109.0	C43—C48—C47	120.29 (11)
C21—C22—H22A	109.0	C43—C48—H48	119.9
C23—C22—H22B	109.0	C47—C48—H48	119.9
C21—C22—H22B	109.0		
C10—N1—C1—O1	31.72 (17)	C26—N2—C24—C23	141.02 (8)
C8—N1—C1—O1	167.57 (11)	C22—C23—C24—O4	-98.61 (11)
C10—N1—C1—C2	-147.85 (10)	C18—C23—C24—O4	135.45 (9)
C8—N1—C1—C2	-12.01 (12)	C22—C23—C24—N2	149.77 (9)
O1—C1—C2—C3	92.77 (14)	C18—C23—C24—N2	23.82 (10)
N1—C1—C2—C3	-87.68 (10)	C24—O4—C25—C26	38.21 (11)
O1—C1—C2—C7	-147.80 (12)	C17—N2—C26—C27	-97.19 (12)
N1—C1—C2—C7	31.76 (10)	C24—N2—C26—C27	123.33 (10)
C1—C2—C3—C4	165.02 (9)	C17—N2—C26—C25	139.11 (10)
C7—C2—C3—C4	52.54 (11)	C24—N2—C26—C25	-0.37 (11)
C2—C3—C4—C5	-59.52 (12)	O4—C25—C26—N2	-22.58 (11)
C3—C4—C5—C6	59.05 (12)	O4—C25—C26—C27	-144.88 (9)
C4—C5—C6—C7	-51.70 (13)	N2—C26—C27—C28	116.53 (11)
C5—C6—C7—C8	-73.11 (12)	C25—C26—C27— C28	-128.62 (11)
C5—C6—C7—C2	45.59 (13)	N2—C26—C27—C32	-61.88 (14)
C1—C2—C7—C6	-165.27 (9)	C25—C26—C27— C32	52.97 (14)
C3—C2—C7—C6	-46.17 (12)	C32—C27—C28— C29	0.46 (17)
C1—C2—C7—C8	-38.35 (9)	C26—C27—C28— C29	-178.01 (11)
C3—C2—C7—C8	80.75 (10)	C27—C28—C29— C30	-0.84 (19)

---

C9—O2—C8—N1	17.45 (11)	C28—C29—C30— C31	0.4 (2)
C9—O2—C8—C7	-96.25 (10)	C29—C30—C31— C32	0.4 (2)
C1—N1—C8—O2	-135.99 (9)	C30—C31—C32— C27	-0.79 (19)
C10—N1—C8—O2	5.62 (11)	C28—C27—C32— C31	0.36 (17)
C1—N1—C8—C7	-13.28 (11)	C26—C27—C32— C31	178.78 (11)
C10—N1—C8—C7	128.32 (9)	C40—N3—C33—O5	168.07 (10)
C6—C7—C8—O2	-87.50 (11)	C42—N3—C33—O5	41.84 (15)
C2—C7—C8—O2	146.93 (9)	C40—N3—C33—C34	-8.60 (11)
C6—C7—C8—N1	157.64 (9)	C42—N3—C33—C34	-134.83 (9)
C2—C7—C8—N1	32.07 (10)	O5—C33—C34—C35	42.76 (15)
C8—O2—C9—C10	-32.78 (11)	N3—C33—C34—C35	-140.65 (9)
C1—N1—C10—C11	-124.29 (11)	O5—C33—C34—C39	172.28 (11)
C8—N1—C10—C11	99.32 (10)	N3—C33—C34—C39	-11.13 (11)
C1—N1—C10—C9	112.44 (11)	C33—C34—C35— C36	80.49 (12)
C8—N1—C10—C9	-23.95 (11)	C39—C34—C35— C36	-41.97 (13)
O2—C9—C10—N1	33.86 (10)	C34—C35—C36— C37	54.15 (13)
O2—C9—C10—C11	-88.58 (10)	C35—C36—C37— C38	-62.81 (13)
N1—C10—C11—C12	7.00 (14)	C36—C37—C38— C39	58.03 (15)
C9—C10—C11—C12	121.26 (11)	C33—C34—C39— C40	25.11 (10)
N1—C10—C11—C16	-176.82 (9)	C35—C34—C39— C40	152.62 (9)
C9—C10—C11—C16	-62.56 (13)	C33—C34—C39— C38	-90.92 (11)
C16—C11—C12— C13	-1.23 (15)	C35—C34—C39— C38	36.59 (13)
C10—C11—C12— C13	174.94 (10)	C37—C38—C39— C40	-156.94 (10)
C11—C12—C13— C14	0.98 (17)	C37—C38—C39— C34	-44.13 (14)
C12—C13—C14— C15	0.03 (17)	C41—O6—C40—N3	-44.12 (10)
C13—C14—C15— C16	-0.76 (17)	C41—O6—C40—C39	-158.00 (9)



---

C14—C15—C16— C11	0.50 (17)	C33—N3—C40—O6	-96.34 (9)
C12—C11—C16— C15	0.50 (16)	C42—N3—C40—O6	36.20 (10)
C10—C11—C16— C15	-175.79 (10)	C33—N3—C40—C39	25.08 (11)
C24—N2—C17—O3	162.78 (10)	C42—N3—C40—C39	157.61 (8)
C26—N2—C17—O3	23.92 (16)	C34—C39—C40—O6	82.55 (11)
C24—N2—C17—C18	-18.79 (11)	C38—C39—C40—O6	-157.89 (9)
C26—N2—C17—C18	-157.65 (9)	C34—C39—C40—N3	-30.38 (11)
O3—C17—C18—C19	91.94 (13)	C38—C39—C40—N3	89.19 (10)
N2—C17—C18—C19	-86.43 (10)	C40—O6—C41—C42	36.07 (10)
O3—C17—C18—C23	-148.79 (11)	C33—N3—C42—C43	-123.80 (10)
N2—C17—C18—C23	32.84 (10)	C40—N3—C42—C43	108.96 (10)
C17—C18—C19— C20	161.91 (9)	C33—N3—C42—C41	113.95 (10)
C23—C18—C19— C20	49.55 (11)	C40—N3—C42—C41	-13.29 (10)
C18—C19—C20— C21	-58.28 (12)	O6—C41—C42—N3	-13.88 (10)
C19—C20—C21— C22	59.84 (12)	O6—C41—C42—C43	-136.58 (9)
C20—C21—C22— C23	-53.72 (12)	N3—C42—C43—C48	-6.25 (15)
C21—C22—C23— C24	-73.32 (12)	C41—C42—C43— C48	108.46 (12)
C21—C22—C23— C18	46.19 (13)	N3—C42—C43—C44	173.35 (9)
C17—C18—C23— C22	-160.85 (9)	C41—C42—C43— C44	-71.93 (12)
C19—C18—C23— C22	-43.74 (12)	C48—C43—C44— C45	0.45 (17)
C17—C18—C23— C24	-33.77 (10)	C42—C43—C44— C45	-179.17 (10)
C19—C18—C23— C24	83.33 (10)	C43—C44—C45— C46	0.48 (17)
C25—O4—C24—N2	-37.44 (11)	C44—C45—C46— C47	-0.94 (19)
C25—O4—C24—C23	-149.82 (9)	C45—C46—C47— C48	0.5 (2)
C17—N2—C24—O4	-121.60 (9)	C44—C43—C48— C47	-0.93 (18)
C26—N2—C24—O4	23.08 (11)	C42—C43—C48— C47	178.68 (11)

---

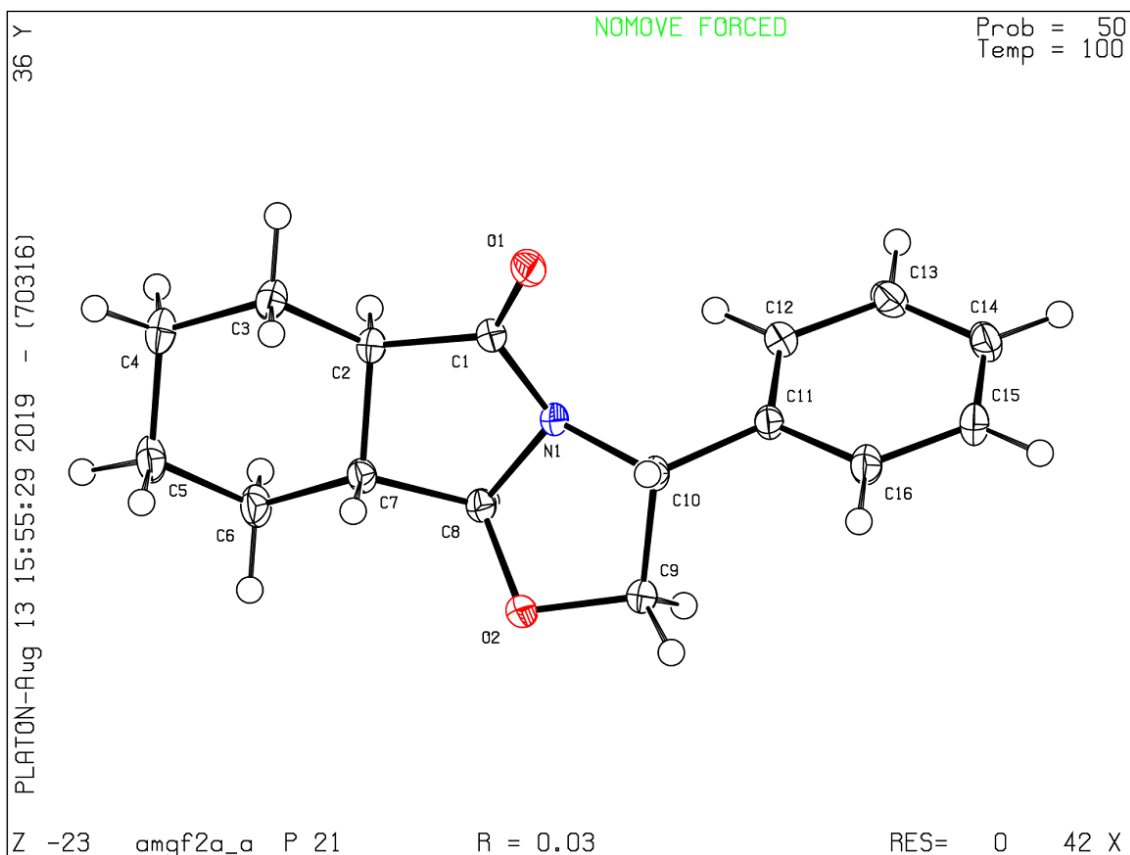
---

C17—N2—C24—C23 -3.65 (11)

C46—C47—C48—  
C43 0.5 (2)

---

**Compuesto (3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-41c (amgf2a\_a)**



**Datos del cristal**

$C_{16}H_{19}NO_2$

$M_r = 257.32$

Monoclínica,  $P2_1$

$a = 8.1125 (5) \text{ \AA}$

$b = 9.6253 (6) \text{ \AA}$

$c = 8.8493 (5) \text{ \AA}$

$\beta = 104.230 (2)^\circ$

$V = 669.80 (7) \text{ \AA}^3$

$Z = 2$

$F(000) = 276$

$D_x = 1.276 \text{ Mg m}^{-3}$

Radiación sincrotrón,  $\lambda = 0.7288 \text{ \AA}$

Parámetros de celda de 4905 reflexiones

$\theta = 1.0\text{--}1.0^\circ$

$\mu = 0.09 \text{ mm}^{-1}$

$T = 100 \text{ K}$

plato, incoloro

$0.15 \times 0.10 \times 0.02 \text{ mm}$

**Colección de datos**

Bruker D8 con detector PHOTON II CPAD difractor	5106 reflexiones independientes
Fuente de radiación: Advanced Light Source, Beamline 12.2.1	4905 reflexiones con $I > 2\sigma(I)$
Resolución de detector: 7.39 píxeles $\text{mm}^{-1}$	$R_{\text{int}} = 0.030$
$\phi$ y $\omega$ escaneos sin obturador	$\theta_{\text{max}} = 34.1^\circ$ , $\theta_{\text{min}} = 2.7^\circ$
Corrección de absorción: multi-scan SADABS2016/2 - Bruker AXS, Madison WI	$h = -12 \rightarrow 12$
	$k = -14 \rightarrow 14$
26326 Reflexiones medidas	$l = -13 \rightarrow 13$

### Refinamiento

Refinamiento sobre $F^2$	Ubicación del sitio del átomo secundario: diffmap
Matriz de mínimos cuadrados: completo	Ubicación del sitio de hidrógeno: inferida de sitios vecinos
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.029$	Parámetros del átomo de H restringidos
$wR(F^2) = 0.083$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0529P)^2 + 0.034P]$ donde $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$S = 1.07$	$(\Delta/\sigma)_{\text{max}} < 0.001$
5106 reflexiones	$\Delta_{\text{max}} = 0.23 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
172 parámetros	$\Delta_{\text{min}} = -0.25 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
1 restricción	Estructura absoluta: Flack x determinado usando 2226 cocientes $[(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)]$ (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B69 (2013) 249-259).
Ubicación del sitio del átomo primario: espacio dual	Parámetro de estructura absoluta: -0.08 (19)

### Detalles especiales

*Geometría.* Todas las esds (excepto la esd en el ángulo diedro entre dos planos l.s.) se estiman utilizando la matriz de covarianza completa. Los esds de celda se tienen en cuenta individualmente en la estimación de esds en distancias, ángulos y ángulos de torsión; las correlaciones entre los esds en los parámetros de la celda solo se utilizan cuando están definidas por la simetría del cristal. Se utilizó un tratamiento aproximado (isotrópico) de las celdas esds para estimar las esds que involucran los planos l.s.

*Coordenadas atómicas fraccionales y parámetros de desplazamiento isotrópico o isotrópico equivalente ( $\text{\AA}^2$ ) para (amgf2a\_a)*

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
O1	0.48620 (10)	0.55480 (10)	0.70074 (9)	0.02161 (16)
O2	0.12101 (10)	0.29723 (9)	0.38278 (10)	0.01984 (16)
N1	0.28285 (11)	0.48574 (9)	0.48309 (10)	0.01529 (15)
C1	0.33799 (12)	0.53016 (10)	0.63461 (12)	0.01604 (17)
C2	0.18046 (12)	0.54080 (10)	0.69760 (11)	0.01590 (17)
H2	0.121117	0.629737	0.659118	0.019*
C3	0.19883 (13)	0.53236 (12)	0.87248 (12)	0.01930 (18)
H3A	0.264791	0.612780	0.925144	0.023*
H3AB	0.259588	0.446174	0.914673	0.023*
C4	0.01945 (13)	0.53284 (13)	0.90122 (12)	0.0212 (2)
H4A	-0.032677	0.625230	0.873005	0.025*
H4AB	0.028848	0.518144	1.013748	0.025*
C5	-0.09821 (15)	0.42083 (14)	0.80792 (14)	0.0238 (2)
H5A	-0.213978	0.433176	0.823685	0.029*
H5AB	-0.056772	0.328146	0.848818	0.029*
C6	-0.10773 (13)	0.42571 (13)	0.63199 (13)	0.0211 (2)
H6A	-0.174344	0.345840	0.578720	0.025*
H6AB	-0.164209	0.512434	0.586100	0.025*
C7	0.07286 (12)	0.41997 (11)	0.61130 (11)	0.01561 (16)
H7	0.125230	0.331756	0.660491	0.019*
C8	0.10882 (12)	0.42908 (10)	0.45053 (11)	0.01574 (17)
H8	0.025450	0.490748	0.378994	0.019*
C9	0.24957 (13)	0.31168 (11)	0.29797 (12)	0.01863 (18)
H9A	0.201811	0.354509	0.194774	0.022*
H9AB	0.298340	0.220046	0.282450	0.022*
C10	0.38645 (12)	0.40660 (10)	0.39960 (11)	0.01523 (17)
H10	0.469788	0.348334	0.475555	0.018*
C11	0.47989 (12)	0.48999 (11)	0.30224 (11)	0.01528 (16)
C12	0.45197 (14)	0.63133 (11)	0.27357 (13)	0.01820 (18)
H12	0.375179	0.680147	0.319888	0.022*
C13	0.53680 (15)	0.70156 (12)	0.17667 (14)	0.0223 (2)
H13	0.517851	0.798112	0.157802	0.027*
C14	0.64864 (16)	0.63076 (13)	0.10792 (14)	0.0240 (2)
H14	0.705529	0.678606	0.041612	0.029*
C15	0.67709 (15)	0.48960 (14)	0.13645 (14)	0.0241 (2)

H15	0.754094	0.441100	0.090091	0.029*
C16	0.59278 (14)	0.41911 (12)	0.23301 (13)	0.02081 (19)
H16	0.612122	0.322599	0.251816	0.025*

*Parámetros de desplazamiento atómico ( $\text{\AA}^2$ ) para (amgf2a\_a)*

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
O1	0.0161 (3)	0.0281 (4)	0.0212 (3)	-0.0056 (3)	0.0057 (3)	-0.0044 (3)
O2	0.0192 (3)	0.0190 (3)	0.0246 (4)	-0.0053 (3)	0.0116 (3)	-0.0061 (3)
N1	0.0140 (3)	0.0172 (3)	0.0165 (4)	-0.0014 (3)	0.0071 (3)	-0.0023 (3)
C1	0.0162 (4)	0.0163 (4)	0.0171 (4)	-0.0017 (3)	0.0068 (3)	-0.0009 (3)
C2	0.0150 (4)	0.0177 (4)	0.0165 (4)	0.0004 (3)	0.0067 (3)	-0.0007 (3)
C3	0.0170 (4)	0.0261 (5)	0.0158 (4)	0.0015 (4)	0.0059 (3)	-0.0015 (4)
C4	0.0187 (4)	0.0289 (5)	0.0179 (4)	0.0046 (4)	0.0085 (3)	0.0018 (4)
C5	0.0185 (4)	0.0344 (6)	0.0216 (5)	-0.0014 (4)	0.0108 (4)	0.0018 (4)
C6	0.0141 (4)	0.0305 (5)	0.0205 (4)	-0.0015 (4)	0.0076 (3)	-0.0013 (4)
C7	0.0134 (4)	0.0182 (4)	0.0164 (4)	-0.0010 (3)	0.0057 (3)	-0.0002 (3)
C8	0.0137 (4)	0.0179 (4)	0.0167 (4)	-0.0008 (3)	0.0057 (3)	-0.0017 (3)
C9	0.0188 (4)	0.0189 (4)	0.0208 (4)	-0.0028 (3)	0.0099 (3)	-0.0041 (4)
C10	0.0150 (4)	0.0162 (4)	0.0164 (4)	0.0004 (3)	0.0073 (3)	0.0002 (3)
C11	0.0141 (4)	0.0183 (4)	0.0146 (4)	-0.0012 (3)	0.0056 (3)	-0.0003 (3)
C12	0.0187 (4)	0.0182 (4)	0.0188 (4)	-0.0025 (3)	0.0068 (3)	-0.0002 (4)
C13	0.0248 (5)	0.0215 (5)	0.0214 (5)	-0.0073 (4)	0.0073 (4)	0.0008 (4)
C14	0.0257 (5)	0.0297 (5)	0.0191 (5)	-0.0101 (4)	0.0101 (4)	-0.0004 (4)
C15	0.0239 (5)	0.0305 (5)	0.0223 (5)	-0.0041 (4)	0.0141 (4)	-0.0032 (4)
C16	0.0212 (4)	0.0222 (5)	0.0221 (5)	0.0000 (4)	0.0113 (4)	-0.0005 (4)

*Parámetros geométricos ( $\text{\AA}$ ,  $^\circ$ ) para (amgf2a\_a)*

O1—C1	1.2241 (12)	C6—H6AB	0.9900
O2—C8	1.4174 (13)	C7—C8	1.5234 (14)
O2—C9	1.4335 (12)	C7—H7	1.0000
N1—C1	1.3733 (13)	C8—H8	1.0000
N1—C10	1.4621 (12)	C9—C10	1.5445 (15)
N1—C8	1.4743 (13)	C9—H9A	0.9900
C1—C2	1.5181 (13)	C9—H9AB	0.9900
C2—C3	1.5200 (14)	C10—C11	1.5107 (13)
C2—C7	1.5395 (14)	C10—H10	1.0000
C2—H2	1.0000	C11—C12	1.3922 (15)
C3—C4	1.5376 (14)	C11—C16	1.3983 (14)

C3—H3A	0.9900	C12—C13	1.3985 (15)
C3—H3AB	0.9900	C12—H12	0.9500
C4—C5	1.5387 (17)	C13—C14	1.3889 (17)
C4—H4A	0.9900	C13—H13	0.9500
C4—H4AB	0.9900	C14—C15	1.3909 (18)
C5—C6	1.5404 (15)	C14—H14	0.9500
C5—H5A	0.9900	C15—C16	1.3949 (16)
C5—H5AB	0.9900	C15—H15	0.9500
C6—C7	1.5215 (14)	C16—H16	0.9500
C6—H6A	0.9900		
C8—O2—C9	105.66 (7)	C6—C7—H7	107.3
C1—N1—C10	124.46 (8)	C8—C7—H7	107.3
C1—N1—C8	111.86 (8)	C2—C7—H7	107.3
C10—N1—C8	110.51 (8)	O2—C8—N1	104.53 (8)
O1—C1—N1	124.96 (9)	O2—C8—C7	113.13 (8)
O1—C1—C2	128.90 (9)	N1—C8—C7	103.46 (8)
N1—C1—C2	106.14 (8)	O2—C8—H8	111.7
C1—C2—C3	119.31 (8)	N1—C8—H8	111.7
C1—C2—C7	101.11 (7)	C7—C8—H8	111.7
C3—C2—C7	111.50 (8)	O2—C9—C10	105.31 (8)
C1—C2—H2	108.1	O2—C9—H9A	110.7
C3—C2—H2	108.1	C10—C9—H9A	110.7
C7—C2—H2	108.1	O2—C9—H9AB	110.7
C2—C3—C4	107.96 (8)	C10—C9—H9AB	110.7
C2—C3—H3A	110.1	H9A—C9—H9AB	108.8
C4—C3—H3A	110.1	N1—C10—C11	116.28 (8)
C2—C3—H3AB	110.1	N1—C10—C9	100.49 (7)
C4—C3—H3AB	110.1	C11—C10—C9	111.84 (8)
H3A—C3—H3AB	108.4	N1—C10—H10	109.3
C3—C4—C5	113.37 (9)	C11—C10—H10	109.3
C3—C4—H4A	108.9	C9—C10—H10	109.3
C5—C4—H4A	108.9	C12—C11—C16	119.45 (10)
C3—C4—H4AB	108.9	C12—C11—C10	122.77 (9)
C5—C4—H4AB	108.9	C16—C11—C10	117.72 (9)
H4A—C4—H4AB	107.7	C11—C12—C13	120.11 (10)
C4—C5—C6	113.04 (9)	C11—C12—H12	119.9
C4—C5—H5A	109.0	C13—C12—H12	119.9
C6—C5—H5A	109.0	C14—C13—C12	120.28 (11)

C4—C5—H5AB	109.0	C14—C13—H13	119.9
C6—C5—H5AB	109.0	C12—C13—H13	119.9
H5A—C5—H5AB	107.8	C13—C14—C15	119.80 (10)
C7—C6—C5	108.06 (9)	C13—C14—H14	120.1
C7—C6—H6A	110.1	C15—C14—H14	120.1
C5—C6—H6A	110.1	C14—C15—C16	120.13 (11)
C7—C6—H6AB	110.1	C14—C15—H15	119.9
C5—C6—H6AB	110.1	C16—C15—H15	119.9
H6A—C6—H6AB	108.4	C15—C16—C11	120.24 (11)
C6—C7—C8	121.43 (9)	C15—C16—H16	119.9
C6—C7—C2	110.99 (8)	C11—C16—H16	119.9
C8—C7—C2	101.79 (8)		
C10—N1—C1—O1	27.24 (16)	C10—N1—C8—C7	133.43 (8)
C8—N1—C1—O1	164.40 (11)	C6—C7—C8—O2	-93.51 (11)
C10—N1—C1—C2	-152.69 (9)	C2—C7—C8—O2	142.69 (8)
C8—N1—C1—C2	-15.54 (11)	C6—C7—C8—N1	153.99 (9)
O1—C1—C2—C3	-23.41 (16)	C2—C7—C8—N1	30.19 (9)
N1—C1—C2—C3	156.52 (9)	C8—O2—C9—C10	37.96 (10)
O1—C1—C2—C7	-145.99 (11)	C1—N1—C10—C11	-94.05 (12)
N1—C1—C2—C7	33.94 (10)	C8—N1—C10—C11	128.31 (9)
C1—C2—C3—C4	-175.00 (9)	C1—N1—C10—C9	145.06 (9)
C7—C2—C3—C4	-57.70 (11)	C8—N1—C10—C9	7.43 (10)
C2—C3—C4—C5	53.14 (12)	O2—C9—C10—N1	-27.06 (10)
C3—C4—C5—C6	-53.04 (13)	O2—C9—C10—C11	-151.06 (8)
C4—C5—C6—C7	53.54 (13)	N1—C10—C11—C12	-9.08 (14)
C5—C6—C7—C8	-177.37 (9)	C9—C10—C11—C12	105.54 (11)
C5—C6—C7—C2	-57.97 (12)	N1—C10—C11—C16	173.98 (9)
C1—C2—C7—C6	-169.24 (8)	C9—C10—C11—C16	-71.40 (12)
C3—C2—C7—C6	62.91 (11)	C16—C11—C12— C13	-0.21 (16)
C1—C2—C7—C8	-38.65 (9)	C10—C11—C12— C13	-177.10 (10)
C3—C2—C7—C8	-166.50 (8)	C11—C12—C13— C14	0.31 (17)
C9—O2—C8—N1	-32.49 (10)	C12—C13—C14— C15	-0.41 (18)
C9—O2—C8—C7	-144.33 (8)	C13—C14—C15— C16	0.41 (18)
C1—N1—C8—O2	-128.44 (9)	C14—C15—C16—	-0.31 (18)

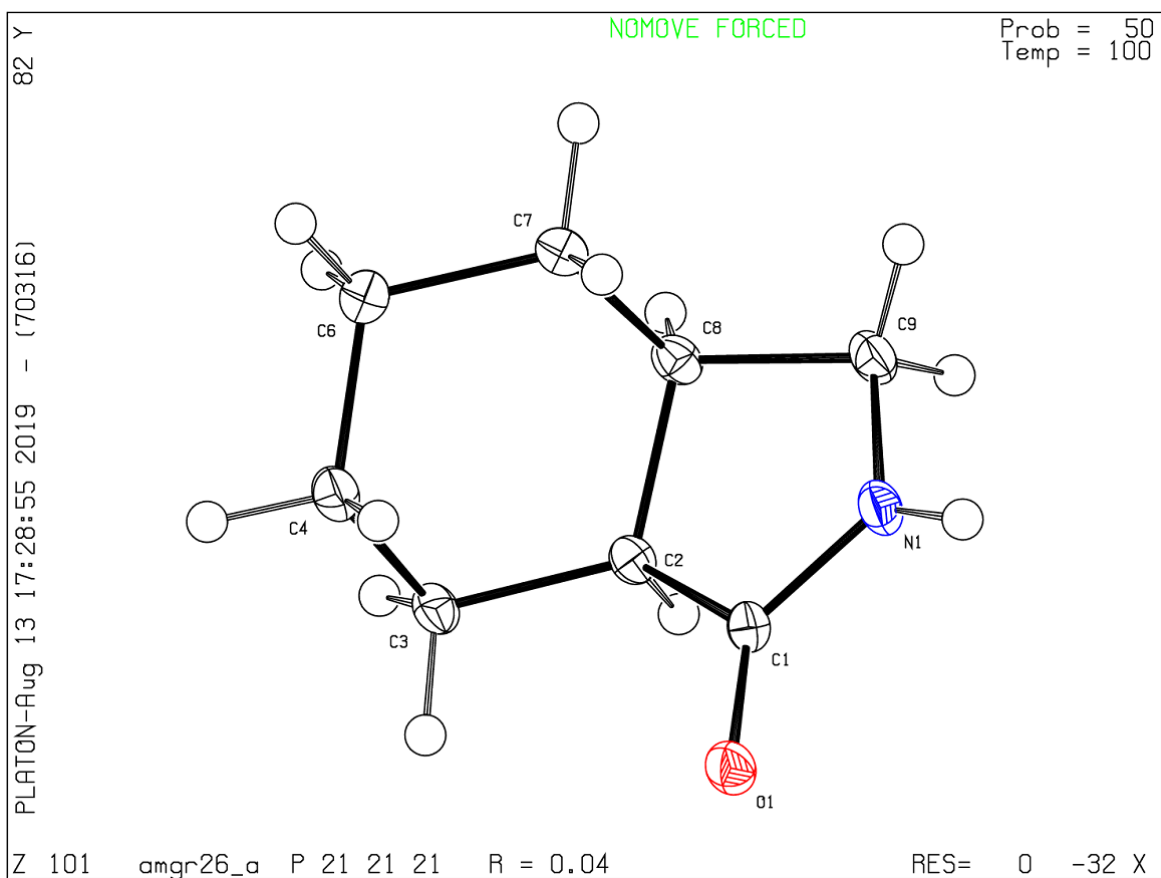


---

C10—N1—C8—O2	14.79 (10)	C11	
		C12—C11—C16— C15	0.21 (17)
C1—N1—C8—C7	-9.80 (11)	C10—C11—C16— C15	177.25 (10)

---

## Compuesto (3aR,7aS)-42 (amgr26\_a)



### Datos de cristal

$C_8H_{13}NO$

$M_r = 139.19$

Ortorrónica,  $P2_12_1$

$a = 5.0702(2) \text{ \AA}$

$b = 8.1758(3) \text{ \AA}$

$c = 18.1903(7) \text{ \AA}$

$V = 754.04(5) \text{ \AA}^3$

$Z = 4$

$F(000) = 304$

$D_x = 1.226 \text{ Mg m}^{-3}$

Radiación sincrotrón,  $\lambda = 0.7288 \text{ \AA}$

Parámetros de celda de 2821 reflexiones

$\theta = 1.0\text{--}1.0^\circ$

$\mu = 0.08 \text{ mm}^{-1}$

$T = 100 \text{ K}$

Tablata, incoloro

$0.22 \times 0.10 \times 0.04 \text{ mm}$

### Collección de datos

Bruker D8 con detector PHOTON II CPAD difractor	2861 reflexiones independientes
Fuente de radiación: Advanced Light Source, Beamline 12.2.1	2821 reflections with $I > 2\sigma(I)$
Resolución del detector: 7.39 píxeles mm <sup>-1</sup>	$R_{\text{int}} = 0.044$
$\phi$ y $\omega$ escaneos sin obturador	$\theta_{\text{max}} = 34.1^\circ$ , $\theta_{\text{min}} = 2.8^\circ$
Corrección de absorción: multi-scan SADABS2016/2 - Bruker AXS, Madison WI	$h = -7 \rightarrow 7$
	$k = -12 \rightarrow 12$
16539 reflexiones medidas	$l = -27 \rightarrow 26$

### Refinamiento

Refinamiento sobre $F^2$	Ubicación del sitio de hidrógeno: inferida de sitios vecinos
Matriz de mínimos cuadrados: completo	Parámetros del átomo de H restringidos
$R[F^2 > 2\sigma(F^2)] = 0.038$	$w = 1/[\sigma^2(F_o^2) + (0.0512P)^2 + 0.0604P]$ donde $P = (F_o^2 + 2F_c^2)/3$
$wR(F^2) = 0.090$	$(\Delta/\sigma)_{\text{max}} < 0.001$
$S = 1.17$	$\Delta_{\text{max}} = 0.44 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
2861 reflexiones	$\Delta_{\text{min}} = -0.37 \text{ e } \text{Å}^{-3}$
92 reflexiones	Corrección de extinción: <i>SHELXL2018/3</i> (Sheldrick 2018), $F_c^* = kFc[1 + 0.001 \times Fc^2 \lambda^3 / \sin(2\theta)]^{-1/4}$
0 restricciones	Extinction coefficient: 0.15 (2)
Ubicación del sitio del átomo primario: espacio dual	Estructura absoluta: Flack x determinado usando 1156 cocientes [(I+)-(I-)]/[(I+)+(I-)] (Parsons, Flack and Wagner, Acta Cryst. B69 (2013) 249-259).
Ubicación del sitio del átomo secundario: diffmap	Parámetro de estructura absoluta: 0.2 (2)

### Detalles especiales

*Geometría.* Todas las esds (excepto la esd en el ángulo diedro entre dos planos l.s.) se estiman utilizando la matriz de covarianza completa. Los esds de celda se tienen en cuenta individualmente en la estimación de esds en distancias, ángulos y ángulos de torsión; las correlaciones entre los esds en los parámetros de la celda solo se utilizan cuando están definidas por la simetría del cristal. Se utilizó un tratamiento aproximado (isotrópico) de las celdas esds para estimar las esds que involucran los planos l.s.

*Coordenadas atómicas fraccionales y parámetros de desplazamiento isotrópico o isotrópico equivalente (Å<sup>2</sup>) para (amgr26\_a)*

	<i>x</i>	<i>y</i>	<i>z</i>	$U_{\text{iso}}^*/U_{\text{eq}}$
O1	0.94711 (14)	0.58344 (9)	0.23973 (4)	0.01757 (16)
N1	0.80625 (17)	0.79237 (9)	0.31425 (5)	0.01619 (16)
H1	0.926830	0.864631	0.301757	0.019*
C1	0.79756 (17)	0.63900 (10)	0.28697 (5)	0.01311 (16)
C2	0.56602 (17)	0.55062 (10)	0.32225 (5)	0.01291 (16)
H2	0.410351	0.564976	0.289113	0.015*
C3	0.60531 (19)	0.36703 (10)	0.33354 (5)	0.01507 (17)
H3A	0.431142	0.314844	0.340970	0.018*
H3AB	0.684302	0.319717	0.288538	0.018*
C4	0.7815 (2)	0.32750 (11)	0.39888 (5)	0.01925 (19)
H4A	0.964050	0.363474	0.388344	0.023*
H4AB	0.783989	0.207791	0.407036	0.023*
C6	0.6812 (2)	0.41316 (12)	0.46797 (5)	0.0216 (2)
H6A	0.498943	0.377001	0.478758	0.026*
H6AB	0.794048	0.383632	0.510363	0.026*
C7	0.68598 (19)	0.59801 (11)	0.45669 (5)	0.01640 (17)
H7A	0.870112	0.633488	0.448110	0.020*
H7AB	0.622685	0.652221	0.502047	0.020*
C8	0.51500 (17)	0.65310 (11)	0.39189 (5)	0.01449 (17)
H8	0.323926	0.649926	0.405441	0.017*
C9	0.5947 (2)	0.82611 (11)	0.36668 (5)	0.01700 (18)
H9A	0.445414	0.883225	0.342769	0.020*
H9AB	0.658888	0.892783	0.408441	0.020*

*Parámetros de desplazamiento atómico (Å<sup>2</sup>) para (amgr26\_a)*

	$U^{11}$	$U^{22}$	$U^{33}$	$U^{12}$	$U^{13}$	$U^{23}$
O1	0.0188 (3)	0.0144 (3)	0.0195 (3)	0.0018 (2)	0.0059 (2)	-0.0001 (2)
N1	0.0179 (3)	0.0104 (3)	0.0202 (3)	-0.0009 (3)	0.0035 (3)	-0.0001 (3)
C1	0.0130 (3)	0.0111 (3)	0.0152 (3)	0.0009 (3)	-0.0003 (3)	0.0009 (3)
C2	0.0117 (3)	0.0120 (3)	0.0151 (3)	-0.0004 (3)	-0.0007 (3)	-0.0011 (3)
C3	0.0171 (4)	0.0111 (3)	0.0170 (4)	-0.0025 (3)	-0.0003 (3)	-0.0018 (3)
C4	0.0266 (4)	0.0128 (4)	0.0184 (4)	0.0030 (3)	-0.0026 (3)	-0.0003 (3)
C6	0.0333 (5)	0.0156 (4)	0.0158 (4)	0.0001 (4)	0.0001 (4)	0.0015 (3)
C7	0.0193 (4)	0.0148 (3)	0.0151 (3)	-0.0003 (3)	-0.0002 (3)	-0.0024 (3)
C8	0.0127 (3)	0.0134 (3)	0.0173 (4)	0.0004 (3)	0.0021 (3)	-0.0023 (3)
C9	0.0194 (4)	0.0115 (3)	0.0201 (4)	0.0027 (3)	0.0027 (3)	-0.0016 (3)

*Parámetros geométricos (Å, °) para (amgr26\_a)*

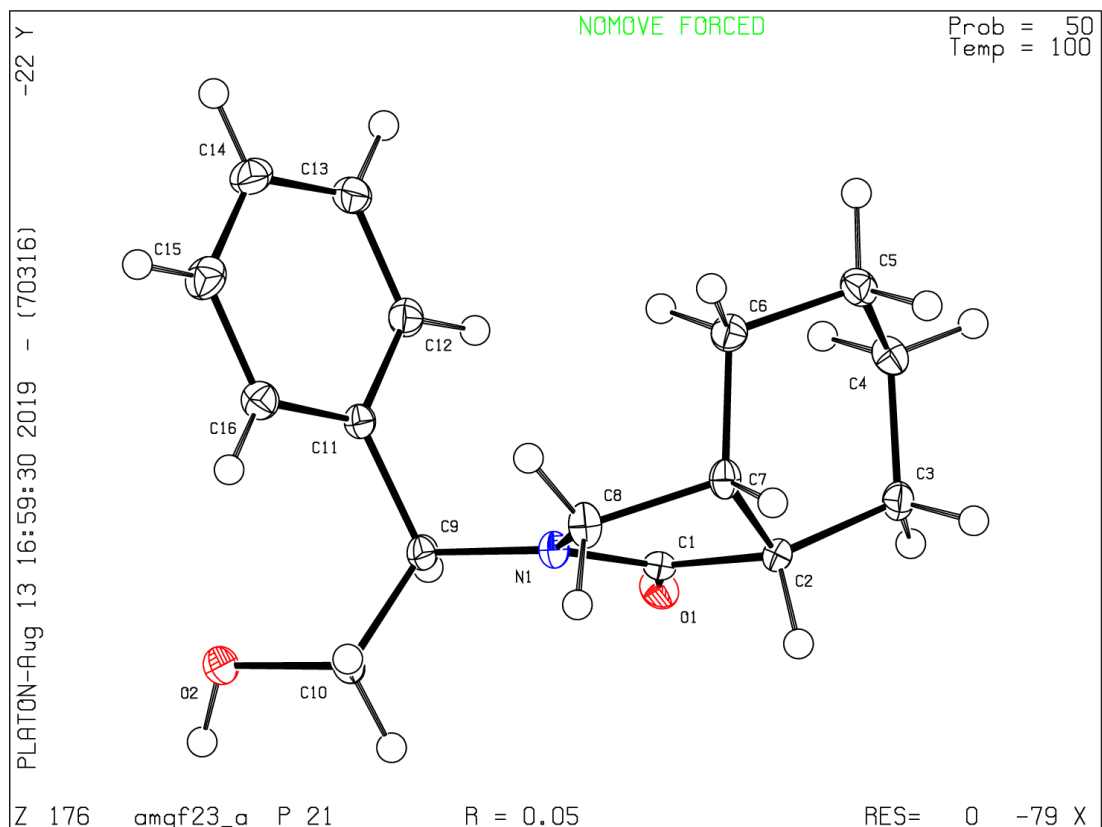
O1—C1	1.2327 (11)	C4—H4A	0.9900
N1—C1	1.3492 (11)	C4—H4AB	0.9900
N1—C9	1.4617 (13)	C6—C7	1.5254 (14)
N1—H1	0.8800	C6—H6A	0.9900
C1—C2	1.5206 (12)	C6—H6AB	0.9900
C2—C3	1.5280 (12)	C7—C8	1.5309 (13)
C2—C8	1.5407 (12)	C7—H7A	0.9900
C2—H2	1.0000	C7—H7AB	0.9900
C3—C4	1.5215 (13)	C8—C9	1.5409 (13)
C3—H3A	0.9900	C8—H8	1.0000
C3—H3AB	0.9900	C9—H9A	0.9900
C4—C6	1.5258 (14)	C9—H9AB	0.9900
C1—N1—C9	113.04 (7)	C7—C6—C4	109.80 (8)
C1—N1—H1	123.5	C7—C6—H6A	109.7
C9—N1—H1	123.5	C4—C6—H6A	109.7
O1—C1—N1	125.36 (8)	C7—C6—H6AB	109.7
O1—C1—C2	126.44 (8)	C4—C6—H6AB	109.7
N1—C1—C2	108.16 (7)	H6A—C6—H6AB	108.2
C1—C2—C3	115.02 (7)	C6—C7—C8	112.71 (8)
C1—C2—C8	102.60 (7)	C6—C7—H7A	109.0
C3—C2—C8	116.46 (7)	C8—C7—H7A	109.0
C1—C2—H2	107.4	C6—C7—H7AB	109.0
C3—C2—H2	107.4	C8—C7—H7AB	109.0
C8—C2—H2	107.4	H7A—C7—H7AB	107.8
C4—C3—C2	112.97 (7)	C7—C8—C2	112.21 (7)
C4—C3—H3A	109.0	C7—C8—C9	110.53 (8)
C2—C3—H3A	109.0	C2—C8—C9	102.15 (7)
C4—C3—H3AB	109.0	C7—C8—H8	110.6
C2—C3—H3AB	109.0	C2—C8—H8	110.6
H3A—C3—H3AB	107.8	C9—C8—H8	110.6
C3—C4—C6	110.51 (8)	N1—C9—C8	102.32 (7)
C3—C4—H4A	109.5	N1—C9—H9A	111.3
C6—C4—H4A	109.5	C8—C9—H9A	111.3
C3—C4—H4AB	109.5	N1—C9—H9AB	111.3
C6—C4—H4AB	109.5	C8—C9—H9AB	111.3
H4A—C4—H4AB	108.1	H9A—C9—H9AB	109.2
C9—N1—C1—O1	176.79 (9)	C4—C6—C7—C8	59.44 (11)

---

C9—N1—C1—C2	-0.92 (10)	C6—C7—C8—C2	-47.99 (10)
O1—C1—C2—C3	34.67 (12)	C6—C7—C8—C9	-161.30 (8)
N1—C1—C2—C3	-147.65 (8)	C1—C2—C8—C7	-86.52 (8)
O1—C1—C2—C8	162.12 (9)	C3—C2—C8—C7	40.02 (10)
N1—C1—C2—C8	-20.20 (9)	C1—C2—C8—C9	31.87 (8)
C1—C2—C3—C4	77.00 (10)	C3—C2—C8—C9	158.41 (8)
C8—C2—C3—C4	-43.07 (11)	C1—N1—C9—C8	21.62 (10)
C2—C3—C4—C6	52.89 (11)	C7—C8—C9—N1	87.28 (8)
C3—C4—C6—C7	-61.17 (11)	C2—C8—C9—N1	-32.30 (9)

---

**Compuesto (3*R*,7*aS*)-2-(1*R*)-48 (amgf2a\_a**



precisión de enlace: C-C = 0.0018 Å Longitud de onda=0.72880

Celda: a=8.7174 (4) b=6.1836 (3) c=12.9840 (6)  
 alfa=90 beta=102.879 (2) gamma=90

Temperatura: 100 K

	Calculado	Reportado
Volumen	682.29 (6)	682.29 (6)
Grupo espacial	P 21	P 21
Hall group	P 2yb	P 2yb
Fórmula	C16 H21 N O2	?
Suma de	C16 H21 N O2	C16 H21 N O2
Mr	259.34	259.34
Dx, g cm <sup>-3</sup>	1.262	1.262
Z	2	2
Mu (mm <sup>-1</sup> )	0.086	0.086

F000	280.0	280.0
F000'	280.13	
h, k, lmax	13, 9, 19	13, 9, 19
Nref	5209 [ 2809]	5020
Tmin, Tmax	0.985, 0.986	0.689, 0.747
Tmin'	0.985	

Método de corrección= # Reportados límites T: Tmin=0.689  
Tmax=0.747

AbsCorr = MULTI-SCAN

Compleitud de los datos = 1.79/0.96          Theta(max)= 34.076

R(reflexiones)= 0.0492(4889)          wR2(reflexiones)= 0.1191(5020)

S = 1.124                                  Npar= 175

---



## Stereocontrolled Synthesis of Enantiopure *cis*-Fused Octahydroisoindolones via Chiral Oxazoloisoindolone Lactams

Alberto Marbán-González, Gaspar Maravilla-Moreno, Josué Vazquez-Chavez, Marcos Hernández-Rodríguez, Rodrigo Said Razo-Hernández, Mario Ordóñez, and José Luis Viveros-Ceballos\*

Cite This: <https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01757>

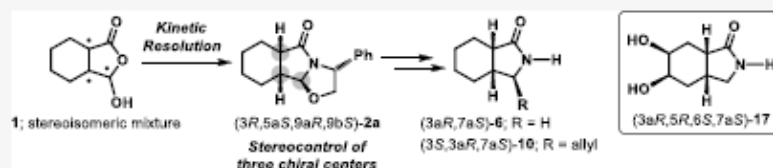
Read Online

ACCESS |

Metrics & More

Article Recommendations

Supporting Information



**ABSTRACT:** Kinetically controlled cyclocondensation of stereoisomeric and ring–chain tautomeric mixture of ( $\pm$ )-hydroxylactone **1** and 0.5 equiv of (*R*)-phenylglycinol provided tricyclic oxazoloisoindolone lactam (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**2a**, a versatile intermediate for further stereocontrolled transformations to access enantiopure *cis*-fused octahydroisoindolones. An extension of this methodology was successfully applied to the synthesis of the 5,6-dihydroxy derivative (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-**17**.

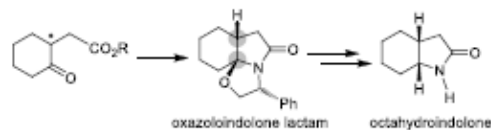
### INTRODUCTION

The development of new routes for the stereoselective construction of complex organic frameworks still remains as a challenging area in both academic and pharmaceutical research.<sup>1</sup> In this regard, Meyers' pioneering work has established the synthetic utility of bicyclic lactams as chiral building blocks for the stereoselective synthesis of nitrogen containing heterocycles.<sup>2</sup> Recently, this methodology has been extended to tricyclic oxazoloindolone lactams, easily obtained by stereoselective cyclocondensation reaction between a chiral nonracemic aminoalcohol and 2-oxocyclohexaneacetate derivatives, as templates of the octahydroindolone nucleus.<sup>3</sup> Interestingly, the isomeric octahydroisoindolone core is frequently found in numerous biologically active molecules<sup>4</sup> and valuable synthetic intermediates;<sup>5</sup> however, only a few processes are available for its stereoselective preparation.<sup>6,5c</sup> With this in mind, we envisaged to expand the scope of Meyers' methodology to the generation of a chiral, nonracemic tricyclic oxazoloisoindolone lactam as precursor of enantiopure octahydroisoindolones (Scheme 1).

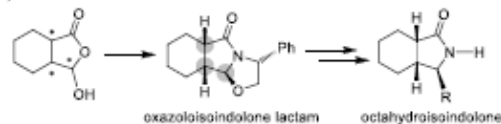
In this work, we describe a highly stereoselective reaction that simultaneously generates three contiguous stereogenic centers via kinetic resolution of a stereoisomeric and tautomeric mixture of ( $\pm$ )-*cis*-hydroxylactones with (*R*)-phenylglycinol through diastereoselective cyclocondensation. This methodology has been applied for the stereocontrolled access to natural product-like (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-**17**.

### Scheme 1. Chiral Tricyclic Lactams as Advanced Chiral Materials

i) Previous work: stereocontrol of two chiral centers



ii) This work: stereocontrol of three chiral centers

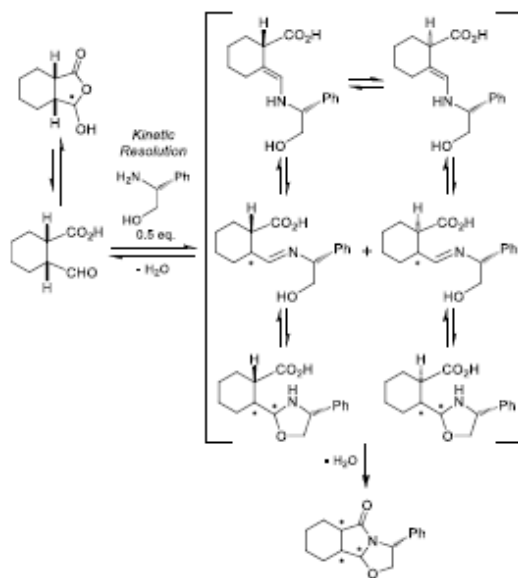


### RESULTS AND DISCUSSION

The synthesis of the key chiral tricyclic oxazoloisoindolone was hypothesized as depicted in Scheme 2. Cyclocondensation

Received: July 24, 2021

Scheme 2. Predicted Synthesis of the Key Chiral Tricyclic Oxazoloisindolone



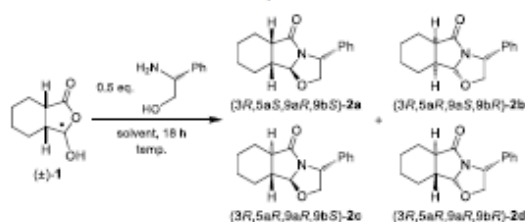
reaction of (*R*)-phenylglycine with ( $\pm$ )-*cis*-2-formylcyclohexane-1-carboxylic acid in equilibrium with its hydroxylactone form (ring-chain tautomerism) would afford eight diastereoisomeric oxazolidines, four from each enantiomeric aldol, which would be in equilibrium through imine-enamine tautomerism before the intramolecular cyclization. Therefore, in principle, the irreversible and kinetically controlled lactamization process would selectively furnish one of the eight possible diastereoisomeric tricyclic oxazoloisindolones, establishing up to three well-defined stereogenic centers via kinetic resolution in a single transformation.

Consequently, according to our observations, cyclocondensation of stereoisomeric and tautomeric mixture of ( $\pm$ )-hydroxylactone **1**<sup>7</sup> with 0.5 equiv of (*R*)-phenylglycine proceeds at 40 °C in a wide range of nonpolar solvents, such as ethereal (Table 1, entries 1 and 2), chlorinated (Table 1, entries 3–5), and aromatic solvents (Table 1, entry 6) with very high diastereoselectivities, whereas higher yields of tricyclic  $\gamma$ -lactams were obtained in toluene (Table 1, entry 6). After screening the reaction time and temperature, when the condensation was performed in toluene at 60 °C for 18 h, only four of the eight possible diastereoisomeric oxazoloisindolones (**2a–d**) could be detected in 90% yield and 8:3:1:1 ratio, respectively; one stereoisomer (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**2a** was formed in large excess and isolated diastereomerically pure in a satisfactory 55% yield (Table 1, entry 7).

Configurational assignment of **2a–d** was established on the basis of two-dimensional NMR analysis (see Supporting Information). In addition, the absolute configuration of **2a** and **2c** was corroborated by X-ray crystal diffraction (Figure 1).<sup>8</sup>

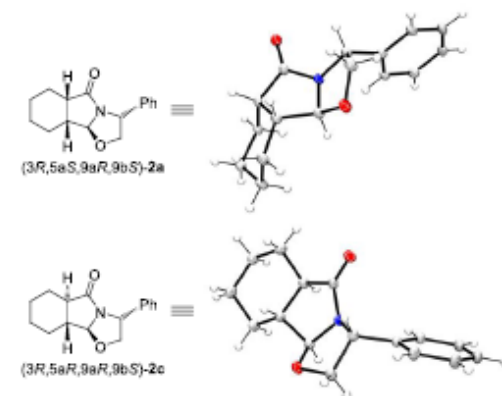
As anticipated, the highly diastereoselective formation of (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**2a** could be explained by assuming that *cis*-fused tricyclic lactams are more stable due to reduced ring strain<sup>9,3c</sup> and that the rate-determining and irreversible

Table 1. Diastereoselective Cyclocondensation Reaction



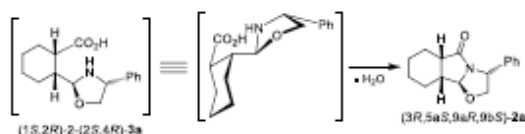
entry	solvent	°C	% <sup>a</sup>	d.r. <sup>b</sup>
1	THF	40	8	8:2:1:4:0:0:0:0
2	TBME	40	19	9:3:1:3:0:0:0:0
3	CHCl <sub>3</sub>	40	23	9:1:1:1:0:0:0:0
4	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	40	24	15:2:1:1:0:0:0:0
5	ClCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl	40	28	20:1:3:3:0:0:0:0
6	PhMe	40	52	11:2:1:2:0:0:0:0
7	PhMe	60	90	8:3:1:1:0:0:0:0

<sup>a</sup>Chemical yields are based on (*R*)-phenylglycine as the limiting reagent. <sup>b</sup>Diastereomeric ratio was determined by NMR analysis of crude product.

Figure 1. ORTEP drawing of (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**2a** and (*3R,5aR,9aR,9bS*)-**2c** showing thermal ellipsoids at the 50% probability level.

lactamization step occurs more rapidly from intermediate oxazolidine (*1S,2R*)-2-(*2S,4R*)-**3a**, which allows a less sterically hindered approach of the nitrogen atom to the carboxylic moiety, avoiding the repulsive interaction with the phenyl moiety (Scheme 3). As can be seen from Figure 1, the three rings sequence and the phenyl substituent in the major product (*3R,5aS,9aR,9bS*)-**2a** adopt a pleated shape favored by steric considerations.

Scheme 3. Origin of the Stereochemical Outcome of the Cyclocondensation



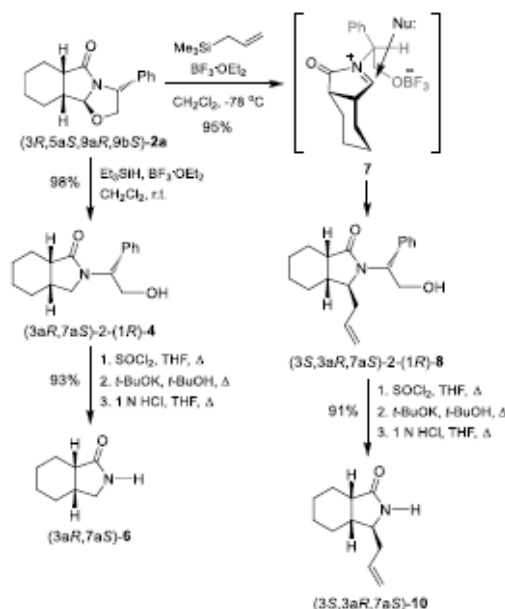
B

<https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01757>  
J. Org. Chem. XXXX, XXX, XXX–XXX

Having the advanced chiral oxazoloisindolone intermediate (3*R*,5*S*,9*aR*,9*bS*)-2*a* in hand, we next examined its synthetic utility in the preparation of challenging enantiopure octahydroisindolones. Accordingly, the reductive oxazolidine ring-opening of (3*R*,5*S*,9*aR*,9*bS*)-2*a*, by treatment with Et<sub>3</sub>SiH/BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at room temperature,<sup>10</sup> gave the *cis*-fused octahydroisindolone (3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-4 in 98% yield. Removal of the phenylglycinol fragment was achieved without loss of stereochemical integrity by the conversion of the alcohol moiety in (3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-4 to the corresponding chloride, followed by the base-induced elimination to generate an enamide, which by acid hydrolysis gave the octahydroisindolone (3*aR*,7*aS*)-6 in 93% overall yield for the three steps.<sup>11</sup> Most importantly, (3*aR*,7*aS*)-6 obtained in this manner displayed an optical rotation consistent with that reported in the literature for its enantiomer<sup>12</sup> and its structure was confirmed by X-ray crystallographic analysis.<sup>13</sup> Additionally, the BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> mediated allylation of (3*R*,5*S*,9*aR*,9*bS*)-2*a* with allyl(trimethyl)silane (allyl-TMS) in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> at -78 °C provided the desired 3-substituted octahydroisindolone (3*S*,3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-8 in 95% yield as a single diastereoisomer with retention of configuration.<sup>14</sup> The high diastereoselectivity of this transformation can be rationalized by considering the formation of intermediate *N*-acyliminium species 7, which undergoes a kinetic controlled nucleophilic attack from the less hindered convex face of the bicyclic system.<sup>15</sup> Finally, removal of the phenylglycinol auxiliary via enamide hydrolysis gave the enantiomerically pure substituted lactam (3*S*,3*aR*,7*aS*)-10 in 91% yield (Scheme 4).

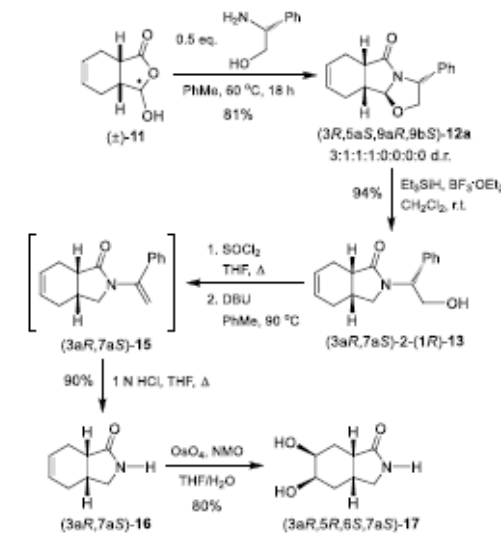
To further explore the synthetic value of this protocol, we extended it to the synthesis of natural product-like (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-17, which can be considered as a C-5 and

**Scheme 4. Synthesis of Enantiopure Octahydroisindolones from (3*R*,5*S*,9*aR*,9*bS*)-2*a***



C-6 hydroxy disubstituted *ds*-fused octahydroisindolone.<sup>16</sup> Thus, the requisite unsaturated ( $\pm$ )-*ds*-hydroxylactone 11<sup>7</sup> (a mixture of stereoisomeric and tautomeric structures) was reacted with 0.5 equiv of (*R*)-phenylglycinol under the optimized conditions to diastereoselectively provide only four tricyclic  $\gamma$ -lactams 12*a*–*d* in 81% yield, 3:1:1:1 ratio and with the same stereochemical pattern, isolating the required (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-12*a* in 41% yield. Then, the reductive oxazolidine ring opening of (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-12*a* by treatment with Et<sub>3</sub>SiH and BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> as activating Lewis acid proceeded smoothly in 94% yield. Surprisingly, the course of the chiral auxiliary removal from (3*aR*,7*aS*)-2-(1*R*)-13 differed from that observed in the previous examples, providing a 3:1 epimeric mixture of bicyclic lactams in 73% yield, presumably via base-promoted thermodynamic isomerization.<sup>17</sup> This was overcome by changing the reaction conditions associated with the base-induced elimination step (DBU, PhMe, 90 °C),<sup>18</sup> obtaining the  $\gamma$ -lactam (3*aR*,7*aS*)-16 in 90% yield. Compound (3*aR*,7*aS*)-16 had an optical rotation that matched the previously reported values, thereby further confirming the absolute configuration of (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-12*a*.<sup>19</sup> Dihydroxylation of the 5,6-double bond in (3*aR*,7*aS*)-16 by catalytic OsO<sub>4</sub> oxidation led diastereoselectively to the target octahydroisindolone (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-17 in 80% yield (Scheme 5).<sup>20</sup>

**Scheme 5. Stereoselective Synthesis of (3*aR*,5*R*,6*S*,7*aS*)-17**



## CONCLUSION

In summary, cyclocondensation of a stereoisomeric and tautomeric mixture of ( $\pm$ )-*cis*-hydroxylactones with half equivalent of (*R*)-phenylglycinol diastereoselectively provided advanced chiral oxazoloisindolone intermediates via kinetic resolution, establishing three stereogenic centers in a single step, while subsequent stereocontrolled synthetic manipulation gave access to enantiopure *cis*-fused octahydroisindolones. Studies aimed at further exploration of the synthetic potential of this approach are currently underway.

C

https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01757  
J. Org. Chem. XXXX, XXX, XXX–XXX

## EXPERIMENTAL SECTION

**General Remarks.** Commercially sourced materials were used as received unless otherwise noted. All moisture sensitive reactions were carried out under a nitrogen atmosphere with freshly distilled and dried solvents using standard procedures. Flash chromatography was carried out with 230–400 mesh Silica Flash 60. Thin-layer chromatography was carried out on TLC plates precoated with silica gel (60 F<sub>254</sub>; Merck); plates were visualized with UV light or by staining with potassium permanganate solution, ninhydrin, or iodine vapor. Melting points were determined with a Fisher–Johns apparatus and are uncorrected. NMR spectra were recorded with a Varian instrument (400 MHz for <sup>1</sup>H), Bruker Avance III HD (500 MHz for <sup>1</sup>H) or JEOL (600 MHz for <sup>1</sup>H), and were calibrated using tetramethylsilane and the residual solvent signal as internal standards. Chemical shifts ( $\delta$ ) are expressed in parts per million (ppm), and coupling constants ( $J$ ) in Hertz. Stereochemical determinations are derived from two-dimensional NMR analysis (NOESY, COSY, HSQC). Optical rotations were measured with a PerkinElmer 341 polarimeter and  $[\alpha]_D^{25}$  values are given in deg·mL·g<sup>-1</sup>·dm<sup>-1</sup>. High-resolution FAB<sup>+</sup> and CI<sup>+</sup> mass spectra (HRMS) were recorded with a JEOL MSStation MS-700.

(±)-3-Hydroxyhexahydroisobenzofuran-1(3H)-one (**1**). *cis*-Cyclohexanedicarboxylic anhydride (0.25 g, 1.62 mmol) was taken up in dry THF (7 mL) and cooled to –78 °C in an acetone/CO<sub>2</sub> bath. This was added to a –78 °C solution of LiAlH(O<sup>t</sup>Bu)<sub>3</sub> (0.54 g, 2.12 mmol) in dry THF (14 mL) via cannula, and the resultant solution was stirred for 6 h. Aqueous 10% HCl solution was then added until all solids were dissolved and the mixture was allowed to slowly warm to room temperature with stirring over 12 h. The solution was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4 × 15 mL) and the combined organic layers were washed with brine (1 × 15 mL) and dried over Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Filtration and removal of solvents under reduced pressure gave the crude product as a yellow oil. Purification via flash chromatography (1:1 hexane:AcOEt) afforded (±)-**1** (0.22 g, 87% yield) as a white powder. mp 78 °C. <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.60–5.30 (m, 1H, H-3), 4.04 (bs, 1H, OH), 3.04–2.94 (m, 1H, H-7a), 2.48–2.32 (m, 1H, H-3a), 2.21–2.00 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.96–1.79 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.72–1.51 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.31–0.88 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  178.7 (C=O), 101.0 (C-3), 51.0 (C-3a), 41.6 (C-7a), 37.4 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 25.8 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.2 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 22.8 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  157.0865, found  $m/z$  157.0867.

**3-Phenylhydroxazolo[2,3-*a*]isindol-5(5aH)-ones 2a–d.** (R)-Phenylglycinol (0.087 g, 0.64 mmol) was added to a solution of (±)-**1** (0.2 g, 1.28 mmol) in toluene (12 mL). The mixture was heated in an oil bath at 60 °C for 18 h. After cooling, the volatiles were evaporated. Spectroscopic <sup>1</sup>H NMR analysis of reaction crude mixture indicates the presence of diastereoisomeric products **2a–d** in an 8:3:1:1 ratio, respectively. Flash chromatography (from 85:15 to 7:3 hexane:AcOEt) afforded tricyclic  $\gamma$ -lactams (from least to most polar): **2d**, **2b**, **2c** and **2a** (0.147 g, 90% yield).

(3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-3-Phenylhydroxazolo[2,3-*a*]isindol-5(5aH)-one (**2a**). Crystals suitable for X-ray diffraction studies were obtained from an acetone–hexane solution (1:3) by slow evaporation. White powder. mp 109–111 °C.  $[\alpha]_D^{25} = -124.26$  ( $c = 1.0$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.38–7.32 (m, 2H, H–Ar), 7.30–7.22 (m, 3H, H–Ar), 5.15 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H, H-9b), 5.10 (dd,  $J = 7.4$ , 6.7 Hz, 1H, H-3), 4.55 (dd,  $J = 8.7$ , 7.4 Hz, 1H, H-2), 3.90 (dd,  $J = 8.7$ , 6.7 Hz, 1H, H-2), 2.67 (ddd,  $J = 9.2$ , 7.8, 6.5 Hz, 1H, H-5a), 2.46 (dddd,  $J = 7.8$ , 5.1, 5.1, 4.3 Hz, 1H, H-9a), 2.08–1.94 (m, 1H, H-6), 1.80–1.56 (m, 5H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.56–1.45 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.41–1.29 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  181.5 (C=O), 139.8 (C–Ar), 129.0 (C–Ar), 127.8 (C–Ar), 125.9 (C–Ar), 95.4 (C-9b), 75.5 (C-2), 57.7 (C-3), 45.0 (C-5a), 39.2 (C-9a), 26.4 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 24.9 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.2 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 22.4 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494, found  $m/z$  258.1497.

(3*R*,5*aR*,9*aS*,9*bR*)-3-Phenylhydroxazolo[2,3-*a*]isindol-5(5aH)-one (**2b**). White powder. mp 107–109 °C.  $[\alpha]_D^{25} = -236.07$  ( $c = 1.0$ , MeOH). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.37–7.31 (m, 2H, H–Ar), 7.30–7.25 (m, 3H, H–Ar), 5.49 (d,  $J = 5.1$  Hz, 1H, H-9b), 5.05 (dd,  $J = 7.1$ , 6.3 Hz, 1H, H-3), 4.55 (dd,  $J = 8.6$ , 7.1 Hz, 1H, H-2), 4.02 (dd,  $J = 8.6$ , 6.3 Hz, 1H, H-2), 3.04–2.94 (m, 1H, H-5a), 2.67 (ddd,  $J = 11.3$ , 5.6, 5.5, 5.1 Hz, 1H, H-9a), 2.18–2.11 (m, 1H, H-6), 1.81–1.68 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.62–1.54 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.43 (dddd,  $J = 14.0$ , 12.8, 6.1, 4.6 Hz, 1H, H-6), 1.25 (dddd,  $J = 12.8$ , 12.8, 12.8, 3.4, 3.4 Hz, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.19–1.03 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  175.8 (C=O), 139.6 (C–Ar), 128.9 (C–Ar), 127.8 (C–Ar), 126.2 (C–Ar), 93.0 (C-9b), 76.6 (C-2), 56.5 (C-3), 44.2 (C-5a), 40.8 (C-9a), 23.5 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 22.8 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 22.7 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 22.5 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494, found  $m/z$  258.1497.

(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bS*)-3-Phenylhydroxazolo[2,3-*a*]isindol-5(5aH)-one (**2c**). Crystals suitable for X-ray diffraction studies were obtained from an ethyl acetate–hexane solution (1:3) by slow evaporation. White powder. mp 103–104 °C.  $[\alpha]_D^{25} = -139.12$  ( $c = 1.0$ , CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.37–7.31 (m, 2H, H–Ar), 7.29–7.23 (m, 3H, H–Ar), 5.20 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-9b), 5.05 (dd,  $J = 6.9$ , 6.0 Hz, 1H, H-3), 4.50 (dd,  $J = 8.8$ , 6.9 Hz, 1H, H-2), 4.01 (dd,  $J = 8.8$ , 6.0 Hz, 1H, H-2), 2.40 (ddd,  $J = 13.4$ , 12.0, 3.3 Hz, 1H, H-5a), 2.17–2.08 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.89–1.82 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.78 (dddd,  $J = 13.2$ , 12.0, 6.6, 3.2 Hz, 1H, H-9a), 1.47–1.17 (m, 4H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  176.5 (C=O), 139.6 (C–Ar), 128.9 (C–Ar), 127.8 (C–Ar), 126.1 (C–Ar), 95.4 (C-9b), 75.9 (C-2), 56.1 (C-3), 52.0 (C-5a), 49.5 (C-9a), 28.0 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 25.7 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 25.4 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 25.3 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494, found  $m/z$  258.1488.

(3*R*,5*aR*,9*aR*,9*bR*)-3-Phenylhydroxazolo[2,3-*a*]isindol-5(5aH)-one (**2d**). Clear oil.  $[\alpha]_D^{25} = -132.90$  ( $c = 0.8$ , CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.38–7.33 (m, 2H, H–Ar), 7.31–7.25 (m, 3H, H–Ar), 5.09 (dd,  $J = 8.3$ , 6.4 Hz, 1H, H-3), 4.93 (d,  $J = 3.8$  Hz, 1H, H-9b), 4.51 (dd,  $J = 8.5$ , 8.3 Hz, 1H, H-2), 3.81 (dd,  $J = 8.5$ , 6.4 Hz, 1H, H-2), 2.28–2.22 (m, 1H, H-9a), 2.13 (ddd,  $J = 11.6$ , 11.4, 3.1 Hz, 1H, H-5a), 2.08–1.98 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.97–1.86 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.55–1.43 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.41–1.22 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  184.6 (C=O), 140.7 (C–Ar), 128.9 (C–Ar), 127.6 (C–Ar), 126.0 (C–Ar), 93.0 (C-9b), 74.7 (C-2), 60.4 (C-3), 45.7 (C-5a), 41.4 (C-9a), 26.4 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 26.2 (2C, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 25.9 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494, found  $m/z$  258.1499.

(3*aR*,7*aS*)-2-((*R*)-2-Hydroxy-1-phenylethyl)octahydro-1*H*-isindol-1-one (**4**). Et<sub>3</sub>SiH (1.48 g, 2 mL, 12.69 mmol) and BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (5.42 g, 4.7 mL, 38.22 mmol) were added dropwise to a solution of (3*R*,5*aS*,9*aR*,9*bS*)-**2a** (0.66 g, 2.56 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) under nitrogen atmosphere. The mixture was stirred at room temperature for 6 h, then the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (10 mL). The mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 15 mL). The combined organic layers were washed with brine (1 × 5 mL), dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under a vacuum. The residue was purified by flash chromatography (3:7 hexane:AcOEt) to afford (3*aR*,7*aS*)-**2**-(**1R**)-**4** (0.668 g, 98% yield) as a white powder. mp 95–98 °C.  $[\alpha]_D^{25} = -138.90$  ( $c = 1.0$ , MeOH). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  7.37–7.32 (m, 2H, H–Ar), 7.31–7.27 (m, 1H, H–Ar), 7.26–7.22 (m, 2H, H–Ar), 4.98 (dd,  $J = 8.8$ , 4.6 Hz, 1H, H-1'), 4.13 (ddd,  $J = 11.8$ , 8.8, 6.6 Hz, 1H, H-2'), 4.05 (ddd,  $J = 11.8$ , 4.7, 4.6 Hz, 1H, H-2'), 3.77 (dd,  $J = 6.6$ , 4.7 Hz, 1H, OH), 3.34 (dd,  $J = 9.6$ , 5.9 Hz, 1H, H-3), 2.66 (dd,  $J = 9.6$ , 2.3 Hz, 1H, H-3), 2.60 (ddd,  $J = 6.6$ , 6.5, 3.7 Hz, 1H, H-7a), 2.28 (dddd,  $J = 12.5$ , 5.9, 3.7, 3.0, 2.3 Hz, 1H, H-3a), 2.08–2.00 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.62–1.46 (m, 4H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.27–1.13 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.12–1.02 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  177.4 (C=O),

D

https://doi.org/10.1021/acs.joc.1c01757  
J. Org. Chem. XXXX, XXX, XXX–XXX

137.3 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 63.1 (C-2'), 60.4 (C-1'), 50.3 (C-3), 42.8 (C-7a), 32.7 (C-3a), 27.9 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.7 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.5 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.0 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup> *m/z* 260.1651, found *m/z* 260.1667.

**(3*a*R,7*a*S)-2-((*R*)-2-chloro-1-phenylethyl)octahydro-1*H*-isoindol-1-one (5).** SOCl<sub>2</sub> (0.2 g, 0.12 mL, 1.70 mmol) was added dropwise to a solution of (3*a*R,7*a*S)-2-(1*R*)-4 (0.22 g, 0.84 mmol) in dry THF (10 mL) at 0 °C under nitrogen atmosphere. The mixture was stirred at 0 °C for 15 min, and then it was heated in an oil bath at reflux for 1.5 h. The mixture was cooled, quenched by the addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (2 mL) and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under a vacuum. The resulting residue was purified by flash chromatography (7:3 hexane:AcOEt) to afford (3*a*R,7*a*S)-2-(1*R*)-5 (0.236 g, 99% yield) as a white powder. mp 104–106 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -121.50 (*c* = 1.0, MeOH). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.40–7.28 (m, 5H, H-Ar), 5.45 (dd, *J* = 9.7, 5.7 Hz, 1H, H-1'), 4.07 (dd, *J* = 11.4, 9.7 Hz, 1H, H-2'), 3.98 (dd, *J* = 11.4, 5.7 Hz, 1H, H-2'), 3.38 (dd, *J* = 9.1, 5.9 Hz, 1H, H-3), 2.67 (dd, *J* = 9.1, 2.3 Hz, 1H, H-3), 2.58 (ddd, *J* = 6.5, 6.4, 3.6 Hz, 1H, H-7a), 2.35–2.26 (m, 1H, H-3a), 2.09–1.98 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.60–1.43 (m, 4H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.23–1.10 (m, 2H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.01–0.91 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 176.4 (C=O), 137.0 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 56.3 (C-1'), 47.7 (C-3), 43.2 (C-2'), 42.1 (C-7a), 32.6 (C-3a), 27.8 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.7 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.4 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.1 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>16</sub>H<sub>21</sub>ClNO [M + H]<sup>+</sup> *m/z* 278.1312, found *m/z* 278.1305.

**(3*a*R,7*a*S)-Octahydro-1*H*-isoindol-1-one (6).** *t*-BuOK (0.065 g, 0.57 mmol) was added to a solution of (3*a*R,7*a*S)-2-(1*R*)-5 (0.08 g, 0.28 mmol) in *t*-BuOH (2 mL). The reaction mixture was heated in an oil bath at reflux for 2.5 h. The mixture was then cooled and the solvent was evaporated in vacuo. The resulting solid was dissolved in H<sub>2</sub>O (3 mL) and the mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under a vacuum to obtain a clear oil that was dissolved in THF (4 mL) and aqueous 10% HCl solution (1 mL). The reaction mixture was then heated in an oil bath at reflux for 2 h, cooled and the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (AcOEt) to afford (3*a*R,7*a*S)-6 (0.031 g, 94% yield) as a white powder. Crystals suitable for X-ray diffraction studies were obtained from an ethyl acetate–hexane solution (1:3) by slow evaporation. mp 95–97 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +18.04 (*c* = 1.0, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.44 (bs, 1H, NH), 3.37 (dd, *J* = 9.4, 5.5 Hz, 1H, H-3), 2.95 (ddd, *J* = 9.4, 1.9, 1.9 Hz, 1H, H-3), 2.50–2.32 (m, 2H, H-3a, H-7a), 2.06–1.96 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.75–1.66 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.63–1.46 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.40–1.17 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 179.9 (C=O), 46.4 (C-3), 41.1 (C-7a), 35.0 (C-3a), 27.9 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.8 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.3 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.1 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>NO [M + H]<sup>+</sup> *m/z* 140.1075, found *m/z* 140.1073.

**(3*S*,3*a*R,7*a*S)-3-Allyl-2-((*R*)-2-hydroxy-1-phenylethyl)octahydro-1*H*-isoindol-1-one (8).** Allyltrimethylsilane (0.44 g, 0.62 mL, 3.85 mmol) and BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (1.64 g, 1.43 mL, 11.58 mmol) were added dropwise to a solution of (3*R*,5*a*S,9*a*R,9*b*S)-2a (0.2 g, 0.77 mmol) in dry CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5 mL) under nitrogen atmosphere. The mixture was stirred at room temperature for 20 h, then the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (10 mL). The mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under a vacuum. The residue was purified by flash chromatography (1:1 hexane:AcOEt) to afford (3*S*,3*a*R,7*a*S)-2-(1*R*)-8 (0.22 g, 95% yield) as a slightly brown solid. mp 105–106 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +82.98 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.37–7.25 (m, 5H, H-Ar), 5.59 (dddd, *J* = 17.0, 10.3, 6.9, 6.9 Hz, 1H, H-2'), 5.04–4.92 (m, 2H, H-3'), 4.82 (dd, *J* = 7.8, 4.7 Hz, 1H, H-1'), 4.24

(dd, *J* = 11.5, 7.8 Hz, 1H, H-2'), 4.08 (dd, *J* = 11.5, 4.7 Hz, 1H, H-2'), 2.91–2.85 (m, 1H, H-1'), 2.78 (ddd, *J* = 6.5, 6.4, 2.3 Hz, 1H, H-3), 2.23–2.05 (m, 4H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>, H-3a, H-7a, H-1'), 1.63–1.52 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.38–1.52 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.20–0.95 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 177.4 (C=O), 137.7 (C-Ar), 134.1 (C-2'), 128.7 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 127.9 (C-Ar), 118.0 (C-3'), 65.6 (C-2'), 64.4 (C-1'), 62.1 (C-3), 40.0 (C-7a), 37.0 (C-3a), 36.5 (C-1'), 29.1 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 24.0 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.1 (2C, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>2</sub> [M + H]<sup>+</sup> *m/z* 300.1964, found *m/z* 300.1970.

**(3*S*,3*a*R,7*a*S)-3-Allyl-2-((*R*)-2-chloro-1-phenylethyl)octahydro-1*H*-isoindol-1-one (9).** SOCl<sub>2</sub> (0.139 g, 0.08 mL, 1.17 mmol) was added dropwise to a solution of (3*S*,3*a*R,7*a*S)-2-(1*R*)-8 (0.176 g, 0.58 mmol) in dry THF (6 mL) at 0 °C under nitrogen atmosphere. The mixture was stirred at 0 °C for 15 min, and then it was heated in an oil bath at reflux for 1.5 h. The mixture was cooled, quenched by the addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (2 mL) and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under a vacuum. The resulting residue was purified by flash chromatography (7:3 hexane:AcOEt) to afford (3*S*,3*a*R,7*a*S)-2-(1*R*)-9 (0.186 g, 99% yield) as a clear oil. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +75.65 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.44–7.29 (m, 5H, H-Ar), 5.59 (dddd, *J* = 17.1, 10.3, 7.4, 6.5 Hz, 1H, H-2'), 5.01 (dd, *J* = 10.3, 1.6 Hz, 1H, H-3'), 4.96 (dd, *J* = 17.1, 1.6 Hz, 1H, H-3'), 4.84 (dd, *J* = 9.4, 6.4 Hz, 1H, H-1'), 4.67 (dd, *J* = 11.0, 9.4 Hz, 1H, H-2'), 3.86 (dd, *J* = 11.0, 6.4 Hz, 1H, H-2'), 2.98–2.94 (m, 1H, H-1'), 2.70 (ddd, *J* = 6.6, 6.6, 2.4 Hz, 1H, H-3), 2.23–2.07 (m, 4H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>, H-3a, H-7a, H-1'), 1.63–1.51 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.49–1.39 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.23–1.06 (m, 3H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 176.4 (C=O), 138.0 (C-Ar), 134.0 (C-2'), 128.9 (C-Ar), 128.4 (C-Ar), 128.1 (C-Ar), 118.2 (C-3'), 65.6 (C-1'), 61.8 (C-3), 44.5 (C-2'), 40.2 (C-7a), 37.2 (C-3a), 36.9 (C-1'), 29.0 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 24.1 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.2 (2C, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>ClNO [M + H]<sup>+</sup> *m/z* 318.1625, found *m/z* 318.1625.

**(3*S*,3*a*R,7*a*S)-3-Allyloctahydro-1*H*-isoindol-1-one (10).** *t*-BuOK (0.1 g, 0.88 mmol) was added to a solution of (3*S*,3*a*R,7*a*S)-2-(1*R*)-9 (0.14 g, 0.44 mmol) in *t*-BuOH (2 mL). The reaction mixture was heated in an oil bath at reflux for 2.5 h. The mixture was then cooled and the solvent was evaporated in vacuo. The resulting solid was dissolved in H<sub>2</sub>O (3 mL) and the mixture was extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 × 10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtered, and concentrated under a vacuum to obtain a clear oil that was dissolved in THF (4 mL) and aqueous 10% HCl solution (1 mL). The reaction mixture was then heated in an oil bath at reflux for 2 h, cooled and the solvent was concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (9:1 hexane:*i*-PrOH) to afford (3*S*,3*a*R,7*a*S)-10 (0.072 g, 92% yield) as a white powder. mp 40–41 °C. [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = -3.05 (*c* = 1.0, CHCl<sub>3</sub>). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.81–5.70 (m, 2H, NH, H-2'), 5.13 (t, *J* = 1.2, 1.2 Hz, 1H, H-3'), 5.12–5.09 (m, 1H, H-3'), 3.27–3.21 (m, 1H, H-3), 2.51 (ddd, *J* = 6.3, 6.3, 6.3 Hz, 1H, H-7a), 2.39–2.29 (m, 1H, H-1'), 2.20–2.06 (m, 2H, H-3a, H-1'), 1.91–1.84 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.75–1.68 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.69–1.59 (m, 1H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 1.56–1.25 (m, 5H, cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 179.2 (C=O), 134.4 (C-2'), 118.2 (C-3'), 57.3 (C-3), 39.9 (C-7a), 39.4 (C-3a), 38.6 (C-1'), 27.6 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.7 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.5 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>), 23.3 (cyclohexane-CH<sub>2</sub>) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>NO [M + H]<sup>+</sup> *m/z* 180.1388, found *m/z* 180.1371.

**(±)-3-Hydroxy-3*a*,4,7,7*a*-tetrahydroisobenzofuran-1(3*H*)-one (11).** *cis*-1,2,3,6-Tetrahydrophthalic anhydride (1.0 g, 6.57 mmol) was taken up in dry THF (80 mL) and cooled to -78 °C in an acetone/CO<sub>2</sub> bath. This was added to a -78 °C solution of LiAlH(O*t*-Bu)<sub>3</sub> (2.19 g, 8.61 mmol) in dry THF (160 mL) via cannula, and the resultant solution was stirred for 6 h. Aqueous 10% HCl solution was then added until all solids were dissolved and the mixture was allowed to slowly warm to room temperature with stirring over 12 h. The

solution was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3  $\times$  60 mL) and the combined organic layers were washed with brine (1  $\times$  50 mL) and dried over  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Filtration and removal of solvents under reduced pressure gave the crude product as a yellow oil. Purification via flash chromatography (1:1 hexane:AcOEt) afforded ( $\pm$ )-11 (0.334 g, 33% yield) as a clear oil.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.77–5.70 (m, 3H, H-3, H-5, H-6), 3.17–3.04 (m, 1H, H-7a), 2.74–2.61 (m, 1H, H-3a), 2.54–2.43 (m, 1H, H-7), 2.42–2.26 (m, 3H, H-4, H-7) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  179.3 (C=O), 125.7 (C-5), 124.7 (C-6), 102.2 (C-3), 36.5 (C-3a, C-7a), 23.0 (C-4, C-7) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{O}_3$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  155.0708, found  $m/z$  155.0699.

**3-Phenyl-2,3,6,9,9a,9b-hexahydrooxazol[2,3-*a*]isoindol-5-(5aH)-ones 12a–d.** (R)-Phenylglycinol (0.132 g, 0.96 mmol) was added to a solution of ( $\pm$ )-11 (0.297 g, 1.92 mmol) in toluene (12 mL). The mixture was heated in an oil bath at 60 °C for 18 h. After cooling, the volatiles were evaporated. Spectroscopic  $^1\text{H}$  NMR analysis of reaction crude mixture indicates the presence of diastereoisomeric products 12a–d in a 3:1:1:1 ratio, respectively. Flash chromatography (from 85:15 to 7:3 hexane:AcOEt) afforded tricyclic  $\gamma$ -lactams (from least to most polar): 12d, 12b, 12c, and 12a (0.206 g, 81% yield).

**(R,Sa,S9aR,9bS)-3-Phenyl-2,3,6,9,9a,9b-hexahydrooxazol[2,3-*a*]isoindol-5(5aH)-one (12a).** Clear oil.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -39.33$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.41–7.15 (m, 5H, H-Ar), 6.06–5.85 (m, 2H, H-7, H-8), 5.11 (dd,  $J = 7.6, 6.9$  Hz, 1H, H-3), 4.90 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, H-9b), 4.54 (dd,  $J = 8.7, 7.6$  Hz, 1H, H-2), 3.80 (dd,  $J = 8.7, 6.9$  Hz, 1H, H-2), 2.96 (ddd,  $J = 9.4, 7.6, 5.8$  Hz, 1H, H-5a), 2.72 (ddd,  $J = 9.4, 6.6, 3.6, 3.1$  Hz, 1H, H-9a), 2.42–2.33 (m, 2H, H-6), 2.33–2.26 (m, 2H, H-9) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  181.9 (C=O), 139.8 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 128.1 (C-8), 127.7 (C-Ar), 126.7 (C-7), 125.9 (C-Ar), 98.4 (C-9b), 74.8 (C-2), 57.9 (C-3), 43.3 (C-5a), 37.8 (C-9a), 25.0 (C-9), 24.5 (C-6) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_2$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  256.1338, found  $m/z$  256.1343.

**(R,Sa,R9aS,9bR)-3-Phenyl-2,3,6,9,9a,9b-hexahydrooxazol[2,3-*a*]isoindol-5(5aH)-one (12b).** White solid. mp 82–83 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -102.73$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.38–7.31 (m, 2H, H-Ar), 7.31–7.24 (m, 3H, H-Ar), 5.86–5.71 (m, 2H, H-7, H-8), 5.51 (d,  $J = 5.4$  Hz, 1H, H-9b), 5.05 (dd,  $J = 7.2, 6.6$  Hz, 1H, H-3), 4.53 (dd,  $J = 8.7, 7.2$  Hz, 1H, H-2), 3.98 (dd,  $J = 8.7, 6.6$  Hz, 1H, H-2), 3.15 (ddd,  $J = 8.1, 8.0, 2.8$  Hz, 1H, H-5a), 2.90–2.78 (m, 1H, H-9a), 2.60–2.49 (m, 1H, H-6), 2.27–2.15 (m, 1H, H-6), 2.15–1.92 (m, 2H, H-9) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  177.7 (C=O), 139.5, 129.0, 127.9, 126.1 (2C), 125.8, 93.4 (C-9b), 75.9 (C-2), 57.0 (C-3), 42.5 (C-5a), 36.5 (C-9a), 21.8 (C-9), 20.0 (C-6) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_2$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  256.1338, found  $m/z$  256.1343.

**(R,Sa,R9aR,9bR)-3-Phenyl-2,3,6,9,9a,9b-hexahydrooxazol[2,3-*a*]isoindol-5(5aH)-one (12c).** White solid. mp 97–99 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -255.47$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.37–7.32 (m, 2H, H-Ar), 7.31–7.25 (m, 3H, H-Ar), 5.81–5.67 (m, 2H, H-7, H-8), 5.27 (d,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-9b), 5.08 (dd,  $J = 7.0, 6.2$  Hz, 1H, H-3), 4.54 (dd,  $J = 8.8, 7.0$  Hz, 1H, H-2), 4.02 (dd,  $J = 8.8, 6.2$  Hz, 1H, H-2), 2.72 (ddd,  $J = 13.3, 11.2, 5.4$  Hz, 1H, H-5a), 2.52–2.35 (m, 2H, H-6), 2.30–2.18 (m, 2H, H-9), 2.06 (ddd,  $J = 13.5, 11.2, 6.3, 5.0$  Hz, 1H, H-9a) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  176.2 (C=O), 139.4, 128.9, 127.8, 126.7, 126.2, 126.1, 95.9 (C-9b), 76.0 (C-2), 56.2 (C-3), 46.9 (C-5a), 45.5 (C-9a), 28.3 (C-9), 25.7 (C-6) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_2$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  256.1338, found  $m/z$  256.1343.

**(R,Sa,R9aR,9bR)-3-Phenyl-2,3,6,9,9a,9b-hexahydrooxazol[2,3-*a*]isoindol-5(5aH)-one (12d).** Clear oil.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -20.87$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.40–7.33 (m, 2H, H-Ar), 7.32–7.24 (m, 3H, H-Ar), 5.85–5.75 (m, 2H, H-7, H-8), 5.14 (dd,  $J = 8.1, 6.4$  Hz, 1H, H-3), 5.03 (d,  $J = 3.7$  Hz, 1H, H-9b), 4.53 (dd,  $J = 8.5, 8.1$  Hz, 1H, H-2), 3.83 (dd,  $J = 8.5, 6.4$  Hz, 1H, H-2), 2.62–2.15 (m, 6H, H-5a, H-6, H-9, H-9a) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  184.2 (C=O), 140.6, 129.0, 127.7, 127.4, 126.9, 125.9, 92.6 (C-9b), 74.6 (C-2), 60.5 (C-3), 41.9 (C-5a), 37.2 (C-9a), 26.3

(C-9), 26.2 (C-6) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_2$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  256.1338, found  $m/z$  256.1343.

**(3aR,7aS)-2-((R)-2-Hydroxy-1-phenylethyl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-1H-isoindol-1-one (13).** Et<sub>3</sub>SiH (0.36 g, 0.49 mL, 3.08 mmol) and BF<sub>3</sub>·OEt<sub>2</sub> (1.31 g, 1.14 mL, 9.25 mmol) were added dropwise to a solution of (3R,5a,S,9aR,9bS)-12a (0.16 g, 0.61 mmol) in dry  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5 mL) under nitrogen atmosphere. The mixture was stirred at room temperature for 6 h, then the reaction was quenched by the addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (10 mL). The mixture was extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3  $\times$  15 mL). The combined organic layers were washed with brine (1  $\times$  5 mL), dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated under a vacuum. The residue was purified by flash chromatography (3:7 hexane:AcOEt) to afford (3aR,7aS)-2-(1R)-13 (0.15 g, 94% yield) as a white powder. mp 109–111 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -207.70$  ( $c = 1.0$ , MeOH).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.37–7.20 (m, 5H, H-Ar), 5.80–5.70 (m, 1H, H-6), 5.70–5.62 (m, 1H, H-5), 5.08 (dd,  $J = 8.4, 5.3$  Hz, 1H, H-1'), 4.17–4.02 (m, 2H, H-2'), 3.93 (bs, 1H, OH), 3.48 (dd,  $J = 9.5, 6.0$  Hz, 1H, H-3), 2.77 (ddd,  $J = 8.6, 7.6, 3.0$  Hz, 1H, H-7a), 2.72 (dd,  $J = 9.5, 2.5$  Hz, 1H, H-3), 2.52–2.23 (m, 3H, H-7, H-3a), 2.12–1.98 (m, 1H, H-4), 1.70–1.56 (m, 1H, H-4) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  177.9 (C=O), 137.1 (C-Ar), 128.8 (C-Ar), 128.0 (C-Ar), 127.6 (C-Ar), 126.1 (C-5), 125.4 (C-6), 62.5 (C-2'), 59.3 (C-1'), 50.8 (C-3), 40.4 (C-7a), 29.4 (C-3a), 25.8 (C-4), 22.1 (C-7) ppm. HRMS (CI<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{NO}_2$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  258.1494, found  $m/z$  258.1493.

**(3aR,7aS)-2-((R)-2-Chloro-1-phenylethyl)-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-1H-isoindol-1-one (14).** SOCl<sub>2</sub> (0.124 g, 0.076 mL, 1.04 mmol) was added dropwise to a solution of (3aR,7aS)-2-(1R)-13 (0.135 g, 0.52 mmol) in dry THF (6 mL) at 0 °C under nitrogen atmosphere. The mixture was stirred at 0 °C for 15 min, and then it was heated in an oil bath at reflux for 1.5 h. The mixture was cooled, quenched by the addition of saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> solution (2 mL) and extracted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (3  $\times$  10 mL). The combined organic layers were dried over anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , filtered, and concentrated under a vacuum. The resulting residue was purified by flash chromatography (7:3 hexane:AcOEt) to afford (3aR,7aS)-2-(1R)-14 (0.138 g, 95% yield) as a white powder. mp 110–112 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -120.33$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.43–7.21 (m, 5H, H-Ar), 5.78–5.68 (m, 1H, H-6), 5.67–5.57 (m, 1H, H-5), 5.46 (dd,  $J = 9.7, 5.8$  Hz, 1H, H-1'), 4.06 (dd,  $J = 11.4, 9.7$  Hz, 1H, H-2'), 3.99 (dd,  $J = 11.4, 5.8$  Hz, 1H, H-2'), 3.49 (dd,  $J = 9.1, 5.9$  Hz, 1H, H-3), 2.80–2.68 (m, 2H, H-3, H-7a), 2.55–2.38 (m, 2H, H-7, H-3a), 2.36–2.21 (m, 1H, H-7), 2.09–1.93 (m, 1H, H-4), 1.60–1.47 (m, 1H, H-4) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  176.9 (C=O), 136.8 (C-Ar), 128.9 (C-Ar), 128.3 (C-Ar), 127.4 (C-Ar), 126.0 (C-5), 125.1 (C-6), 56.2 (C-1'), 48.7 (C-3), 43.1 (C-2'), 39.8 (C-7a), 29.3 (C-3a), 25.6 (C-4), 22.0 (C-7) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{ClNO}$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  276.1155, found  $m/z$  276.1155.

**(3aR,7aS)-2,3,3a,4,7,7a-Hexahydro-1H-isoindol-1-one (16).** DBU (0.06 g, 0.39 mmol) was added to a solution of (3aR,7aS)-2-(1R)-14 (0.09 g, 0.32 mmol) in toluene (2 mL). The reaction mixture was heated in an oil bath at 90 °C for 1.5 h. The mixture was then cooled and the solvent was evaporated in vacuo. The resulting oil was dissolved in THF (4 mL) and aqueous 10% HCl solution (1 mL). The reaction mixture was then heated in an oil bath at reflux for 2 h, cooled and the solvent was evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (AcOEt) to afford (3aR,7aS)-16 (0.043 g, 95% yield) as a white powder. mp 112–114 °C.  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -29.10$  ( $c = 1.0$ ,  $\text{CHCl}_3$ ).  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.60 (bs, 1H, NH), 5.86–5.65 (m, 2H, H-5, H-6), 3.49 (dd,  $J = 9.5, 5.8$  Hz, 1H, H-3), 3.00 (dd,  $J = 9.5, 2.6$  Hz, 1H, H-3), 2.64–2.52 (m, 2H, H-3a, H-7a), 2.49–2.38 (m, 1H, cyclohexene-CH<sub>2</sub>), 2.34–2.16 (m, 2H, cyclohexene-CH<sub>2</sub>), 1.98–1.84 (m, 1H, cyclohexene-CH<sub>2</sub>) ppm.  $^{13}\text{C}$  NMR (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  180.6 (C=O), 126.0 (C-5), 125.6 (C-6), 47.8 (C-3), 38.9 (C-7a), 31.6 (C-3a), 25.9 (C-4), 21.8 (C-7) ppm. HRMS (FAB<sup>+</sup>) calcd. for  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}$  [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  138.0919, found  $m/z$  138.0909.

**(3aR,5R,6S,7aS)-5,6-Dihydroxyoctahydro-1H-isoindol-1-one (17).** To a stirred solution of (3aR,7aS)-16 (0.043 g, 0.31 mmol) in THF (2 mL) and H<sub>2</sub>O (2 mL) was added NMO (0.055 g, 0.47

mmol). The mixture was stirred for 10 min, then it was cooled at 0 °C and OsO<sub>4</sub> (0.04 M in THF, 2.4 mg, 0.24 mL, 0.0094 mmol) was added dropwise for 15 min. After 5 h of stirring at room temperature, Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (0.051 g, 0.40 mmol) was added and the mixture was stirred for further 1 h, filtered, and concentrated under a vacuum. The resulting residue was recrystallized by evaporation from hexane/methanol to afford (3*a*R,5*R*,6*S*,7*a*S)-17 (0.064 g, 80% yield) as a crystalline solid. mp 186–187 °C (decomp.).  $[\alpha]_D^{20} = -34.66$  ( $c = 1.0$ , MeOH). <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  3.85 (ddd,  $J = 4.8, 2.2, 2.2$  Hz, 1H, H-6), 3.48 (ddd,  $J = 10.7, 4.8, 2.4$  Hz, 1H, H-5), 3.42 (dd,  $J = 9.9, 6.0$  Hz, 1H, H-3), 2.92 (dd,  $J = 9.9, 1.3$  Hz, 1H, H-3), 2.67–2.54 (m, 2H, H-3*a*, H-7*a*), 2.07–1.84 (m, 3H, cyclohexene-CH<sub>2</sub>), 1.47 (ddd,  $J = 14.2, 9.9, 2.6$  Hz, 1H, cyclohexene-CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} NMR (151 MHz, CD<sub>3</sub>OD)  $\delta$  181.2 (C=O), 69.8 (C-6), 69.5 (C-5), 46.9 (C-3), 41.8 (C-7*a*), 33.3 (C-7), 31.5 (C-3*a*), 26.1 (C-4) ppm. HRMS (Cl<sup>+</sup>) calcd. for C<sub>9</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub> [M + H]<sup>+</sup>  $m/z$  172.0974, found  $m/z$  172.0975.

## ■ ASSOCIATED CONTENT

### ● Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.joc.1c01757>.

Complete experimental procedures, copies of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} spectra of all compounds and selected two-dimensional NMR analysis; crystallographic data for compounds (3*R*,5*a*S,9*a*R,9*b*S)-2*a*, (3*R*,5*a*R,9*a*R,9*b*S)-2*c*, and (3*a*R,7*a*S)-6 (PDF)

### Accession Codes

CCDC 2094226–2094228 contain the supplementary crystallographic data for this paper. These data can be obtained free of charge via [www.ccdc.cam.ac.uk/data\\_request/cif](http://www.ccdc.cam.ac.uk/data_request/cif), or by emailing [data\\_request@ccdc.cam.ac.uk](mailto:data_request@ccdc.cam.ac.uk), or by contacting The Cambridge Crystallographic Data Centre, 12 Union Road, Cambridge CB2 1EZ, UK; fax: +44 1223 336033.

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

José Luis Viveros-Ceballos – Centro de Investigaciones Químicas–IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico; [orcid.org/0000-0003-02-02-4180](https://orcid.org/0000-0003-02-02-4180); Email: [jlvcc@uaem.mx](mailto:jlvcc@uaem.mx)

### Authors

Alberto Marbán-González – Centro de Investigaciones Químicas–IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico; [orcid.org/0000-0003-4380-751X](https://orcid.org/0000-0003-4380-751X)

Gaspar Maravilla-Moreno – Centro de Investigaciones Químicas–IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico; [orcid.org/0000-0003-4298-7985](https://orcid.org/0000-0003-4298-7985)

Josué Vázquez-Chavez – Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Coyoacán, Mexico City, Mexico; [orcid.org/0000-0002-7898-7410](https://orcid.org/0000-0002-7898-7410)

Marcos Hernández-Rodríguez – Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 Coyoacán, Mexico City, Mexico; [orcid.org/0000-0001-8686-160X](https://orcid.org/0000-0001-8686-160X)

Rodrigo Saúl Razo-Hernández – Centro de Investigación en Dinámica Celular–IICBA, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico; [orcid.org/0000-0002-9716-9376](https://orcid.org/0000-0002-9716-9376)

Mario Ordóñez – Centro de Investigaciones Químicas–IICBA, Universidad Autónoma del Estado de

Morelos, 62209 Cuernavaca, Morelos, Mexico; [orcid.org/0000-0001-9395-7079](https://orcid.org/0000-0001-9395-7079)

Complete contact information is available at: <https://pubs.acs.org/10.1021/acs.joc.1c01757>

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ■ ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for financial support through projects 256985 and 286614. We also thank Victoria Labastida for their valuable technical support in obtaining MS spectra and Laboratorio Nacional de Estructura de Macromoléculas (CONACYT 315896) for the spectroscopic analyses. A.M.G. and G.M.M. also wish to thank CONACYT for Graduate Scholarships 706529 and 785972, respectively.

## ■ REFERENCES

- Baran, P. S. Natural Product Total Synthesis: As Exciting as Ever and Here To Stay. *J. Am. Chem. Soc.* 2018, 140, 4751–4755.
- For reviews, see: (a) Amat, M.; Pérez, M.; Bosch, J. Enantioselective Synthesis of Indole Alkaloids from Chiral Lactams. *Synlett* 2011, 2011, 143–160. (b) Grooming, M. D.; Meyers, A. I. Chiral Non-Racemic Bicyclic Lactams. Auxiliary-Based Asymmetric Reactions. *Tetrahedron* 2000, 56, 9843–9873. (c) Meyers, A. I.; Brengel, G. P. Chiral bicyclic lactams: useful precursors and templates for asymmetric syntheses. *Chem. Commun.* 1997, 1–8.
- (a) Viveros-Ceballos, J. L.; Martínez-Tobón, E. I.; Eustaquio-Armenta, C.; Cativiela, C.; Ordóñez, M. First and Highly Stereoselective Synthesis of Both Enantiomers of Octahydroindole-2-phosphonic Acid (Oic<sup>+</sup>). *Eur. J. Org. Chem.* 2017, 2017, 6781–6787. (b) Ghirardi, E.; Grier, R.; Picciche, M.; Molins, E.; Fernández, I.; Bosch, J.; Amat, M. Sterecontrolled Access to Enantiopure 7-Substituted *cis*- and *trans*-Octahydroindoles. *Org. Lett.* 2016, 18, 5836–5839. (c) Ennis, M. D.; Hoffman, R. L.; Ghazal, N. B.; Old, D. W.; Mooney, P. A. Asymmetric Synthesis of *Cis*-Fused Bicyclic Pyrrolidines and Pyrrolidinones via Chiral Polycyclic Lactams. *J. Org. Chem.* 1996, 61, 5813–5817.
- (a) Spare, L. K.; Harman, D. G.; Aldrich-Wright, J. R.; Nguyen, T. V.; Gordon, C. P. Chemoselective Flow Hydrogenation Approaches to Diversify the Cytotoxic Tetrahydroepoxyindole Carboxamide Scaffold. *Adv. Synth. Catal.* 2018, 360, 1209–1217. (b) Yang, M.-H.; Gu, M.-L.; Han, C.; Guo, X.-J.; Yin, G.-P.; Yu, P.; Kong, L.-Y. Aureochaetoglobosins A–C, Three [4 + 2] Adducts of Chaetoglobosin and Aureonitol Derivatives from *Chaetomium globosum*. *Org. Lett.* 2018, 20, 3345–3348. (c) Schwarzwald, G. M.; Scott, D. R.; Vanderwal, C. D. A Synthesis of Exiguquinol Desulfate. *Chem. - Eur. J.* 2016, 22, 17953–17957. (d) Schwarzwald, G. M.; Steinhart, S. E.; Pham, H. V.; Houk, K. N.; Vanderwal, C. D. Synthesis of the Tetracyclic Core of Exiguquinol. *Org. Lett.* 2013, 15, 6014–6017. (e) Haidle, A. M.; Myers, A. G. An Enantioselective, Modular, and General Route to the Cytochalasins: Synthesis of L-696,474 and Cytochalasin B. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004, 101, 12048–12053.
- (a) Saint-Dizier, F.; Simpkins, N. S. First Total Synthesis of Concavine. *Chem. Sci.* 2017, 8, 3384–3389. (b) Lemiere, G.; Sedelzadeh, S.; Toueg, J.; Fleary-Roberts, N.; Clayden, J. A General Synthetic Approach to the Amnesic Shellfish Toxins: Total Synthesis of (–)-Isodomoic Acid B, (–)-Isodomoic Acid E and (–)-Isodomoic Acid F. *Chem. Commun.* 2011, 47, 3745–3747. (c) Arizpe, A.; Sayago, F. J.; Jiménez, A. I.; Ordóñez, M.; Cativiela, C. Synthesis of Phosphoroline Derivatives with an Octahydroindole Structure. *Eur. J. Org. Chem.* 2011, 2011, 6732–6738.
- Laborda, P.; Sayago, F. J.; Cativiela, C.; Gotor, V. Synthesis of *trans*-Fused Octahydroindole-1-carboxylic Acids. *Lett. Org. Chem.* 2018, 15, 404–411.

- (7) Moser, W. H.; Hegedus, L. S. Photoreactions of  $\gamma\delta$ -Unsaturated Chromium Carbene Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7873–7879.
- (8) CCDC 2094227 and 2094228 contain the supplementary crystallographic data for compounds (3*R*,5*a*S,9*a*R,9*b*S)-2*a* and (3*R*,5*a*R,9*a*R,9*b*S)-2*c*, respectively. These data can be obtained free of charge from the Cambridge Crystallographic Data Centre.
- (9) (a) Pinto, A.; Grier, R.; Molins, E.; Fernández, I.; Bosch, J.; Amat, M. Access to Enantiopure 5-, 7-, and 5,7-Substituted *cis*-Decahydroquinolines: Enantioselective Synthesis of (–)-Cermizine B. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 1714–1717. (b) Amat, M.; Navío, L.; Llor, N.; Molins, E.; Bosch, J. A Practical Synthetic Route to Enantiopure 6-Substituted *cis*-Decahydroquinolines. *Org. Lett.* **2012**, *14*, 210–213. (c) Jida, M.; Deprez-Poulain, R.; Malaquin, S.; Roussel, P.; Agbossou-Niedercorn, F.; Deprez, B.; Laconde, G. Solvent-Free Microwave-Assisted Meyers' Lactamization. *Green Chem.* **2010**, *12*, 961–964. (d) Allin, S. M.; Northfield, C. J.; Page, M. I.; Slawin, A. M. Z. A Highly Diastereoselective Synthesis of Tricyclic Lactams and their Application as Novel *N*-Acyl Iminium Ion Precursors in the Synthesis of Isoindolinone Derivatives. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 3627–3630.
- (10) Ragan, J. A.; Claffey, M. C. Studies on the Alkylation of Chiral, Non-Racemic, Tricyclic Pyrrolidinones. *Heterocycles* **1995**, *41*, 57–70.
- (11) (a) Amat, M.; Arróniz, C.; Molins, E.; Escolano, C.; Bosch, J. Highly Stereoselective Double (*R*)-Phenylglycinol-Induced Cyclocondensation Reactions of Symmetric Aryl Bis(oxoacids). *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 2175–2184. (b) Bragg, R. A.; Clayden, J.; Bladon, M.; Ichihara, O. Dearomatising Cyclisation of Lithiated 1-Naphthamides with a Phenylglycinol-Derived Chiral Auxiliary: Asymmetric Synthesis of an Arylkainoid and a Kainoid-Like Pyroglutamate. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 3411–3414. (c) Gericke, R.; Wagler, J. Ruthenium Complexes of Diphenylphosphino Derivatives of Carboxylic Amides: Synthesis and Characterization of Bidentate P,N- and P,O-Chelate Ligands and their Reactivity Towards [RuCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]. *Polyhedron* **2016**, *120*, 134–141.
- (12) Punniyamurthy, T.; Miyafuji, A.; Katsuki, T. Chiral Mn-Salen Catalyzed Enantioselective C-H Oxidation of *meso*-Pyrrolidine Derivatives. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8295–8298.
- (13) CCDC 2094226 contains the supplementary crystallographic data for compound (3*a*R,7*a*S)-6. These data can be obtained free of charge from the Cambridge Crystallographic Data Centre.
- (14) Allin, S. M.; Northfield, C. J.; Page, M. I.; Slawin, A. M. Z. Approaches to the Synthesis of Non-Racemic 3-Substituted Isoindolinone Derivatives. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **2000**, 1715–1721.
- (15) (a) Chen, M. D.; He, M. Z.; Zhou, X.; Huang, L.-Q.; Ruan, Y.-P.; Huang, P.-Q. Studies on the Diastereoselective Reductive Alkylation of (*R*)-Phenylglycinol Derived Phthalimide: Observation of Stereoelectronic Effects. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1335–1344. (b) Hoffmann, R. W. Allylic 1,3-Strain as a Controlling Factor in Stereoselective Transformations. *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1841–1860.
- (16) Scherlach, K.; Boettger, D.; Remme, N.; Hertweck, C. The Chemistry and Biology of Cytochalasins. *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 869–886.
- (17) Nöth, J.; Frankowski, K. J.; Neuenswander, B.; Aubé, J.; Reiser, O. Efficient Synthesis of  $\gamma$ -Lactams by a Tandem Reductive Amination/Lactamization Sequence. *J. Comb. Chem.* **2008**, *10*, 456–459.
- (18) Quick, M. P.; Fröhlich, R.; Schepmann, D.; Wunsch, B. Asymmetric Synthesis of 3-Substituted Tetrahydro-2-Benzazepines. *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 7265–7281.
- (19) Punniyamurthy, T.; Katsuki, T. Symmetric Desymmetrization of *meso*-Pyrrolidine Derivatives by Enantioselective C-H Hydroxylation Using (Salen)Manganese(III) Complexes. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 9439–9454.
- (20) Kamon, T.; Irihara, Y.; Tanaka, T.; Yoshimitsu, T. Total Synthesis of (±)-Kainic Acid: A Photochemical C-H Carbonylation Approach. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2674–2677.



## Article

# Discovery of Octahydroisoindolone as a Scaffold for the Selective Inhibition of Chitinase B1 from *Aspergillus fumigatus*: In Silico Drug Design Studies

 Alberto Marbán-González <sup>1</sup>, Armando Hernández-Mendoza <sup>2</sup>, Mario Ordóñez <sup>1</sup>,  
 Rodrigo Said Razo-Hernández <sup>2,\*</sup> and José Luis Viveros-Ceballos <sup>1,\*</sup>
<sup>1</sup> Centro de Investigaciones Químicas, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Cuernavaca 62209, Mexico; alberto.marbangon@uaem.edu.mx (A.M.-G.); palacios@uaem.mx (M.O.)

<sup>2</sup> Centro de Investigación en Dinámica Celular, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Av. Universidad 1001, Cuernavaca 62209, Mexico; ahm@uaem.mx

\* Correspondence: rodrigo.razo@uaem.mx (R.S.R.-H.); jlvc@uaem.mx (J.L.V.-C.)



Citation: Marbán-González, A.; Hernández-Mendoza, A.; Ordóñez, M.; Razo-Hernández, R.S.; Viveros-Ceballos, J.L. Discovery of Octahydroisoindolone as a Scaffold for the Selective Inhibition of Chitinase B1 from *Aspergillus fumigatus*: In Silico Drug Design Studies. *Molecules* **2021**, *26*, 7606. <https://doi.org/10.3390/molecules26247606>

Academic Editor: James Gault

Received: 22 November 2021

Accepted: 13 December 2021

Published: 15 December 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Chitinases represent an alternative therapeutic target for opportunistic invasive mycosis since they are necessary for fungal cell wall remodeling. This study presents the design of new chitinase inhibitors from a known hydrolysis intermediate. Firstly, a bioinformatic analysis of *Aspergillus fumigatus* chitinase B1 (AfChiB1) and chitotriosidase (CHIT1) by length and conservation was done to obtain consensus sequences, and molecular homology models of fungi and human chitinases were built to determine their structural differences. We explored the octahydroisoindolone scaffold as a potential new antifungal series by means of its structural and electronic features. Therefore, we evaluated several synthesis-safe octahydroisoindolone derivatives by molecular docking and evaluated their AfChiB1 interaction profile. Additionally, compounds with the best interaction profile (1–5) were docked within the CHIT1 catalytic site to evaluate their selectivity over AfChiB1. Furthermore, we considered the interaction energy (MolDock score) and a lipophilic parameter (aLogP) for the selection of the best candidates. Based on these descriptors, we constructed a mathematical model for the IC<sub>50</sub> prediction of our candidates (60–200 μM), using experimental known inhibitors of AfChiB1. As a final step, ADME characteristics were obtained for all the candidates, showing that 5 is our best designed hit, which possesses the best pharmacodynamic and pharmacokinetic character.

**Keywords:** bioinformatic analysis; chitinase AfChiB1; molecular docking; molecular similarity; oxazolinium ion

## 1. Introduction

Invasive fungal diseases are a significant cause of morbidity and mortality in the growing population of immunosuppressed patients, such as transplant recipients, patients with hematological malignancies, and more recently, patients with severe COVID-19 [1]. In this high-risk population, the opportunistic pathogens of *Aspergillus* genera have emerged as the most frequent cause of invasive fungal diseases [2,3]. Although triazole drugs are commonly used as the first line of clinical therapy for invasive aspergillosis [4], numerous adverse clinical effects, such as neurotoxicity, nausea, vomiting and kidney damage, have been reported. Triazoles are inhibitors of the cytochrome P450 14 $\alpha$ -sterol demethylase (CYP51), an essential enzyme in ergosterol biosynthesis in fungi. Still, they also interfere with the human CYP3A4 enzyme, increasing toxicity and the risk of drug-drug interactions in immunocompromised patients [5,6]. In addition, the occurrence of drug resistance in fungal pathogens is still a significant clinical problem, and ubiquitous fungi like *Aspergillus fumigatus* have exhibited drug resistance due to agrochemicals [7,8].

Hence, attention has turned to the discovery of new antifungal agents and finding other possible therapeutic targets. In this context, glycosyl hydrolase family 18 (GH 18) chitinases are enzymes that hydrolyze *N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide (1–4)- $\beta$ -linkages, of the highly abundant biopolymer chitin, interfering in fungal cell wall morphogenesis, remodeling and dynamic rigidity [9]. For example, the pseudotrisaccharide allosamidin is a transition-state mimetic and a selective inhibitor of family 18 [10,11] that inhibits cell separation in growing yeast of *C. albicans*, giving rise to clumps of cells [12], while its derivative, demethylallosamidin (DMT), causes an abnormal cell cluster formation affecting the growth of *S. cerevisiae* [13]. However, despite the potency of allosamidin, it is not commercially available and its synthesis remains complex and challenging [14]. Further evidence points out that some other chitinase inhibitors can also affect the hyphae morphology drastically in *A. fumigatus*, having a significant protective effect in invasive pulmonary aspergillosis [15], and also several inhibitors have been reported against chitinases from *A. fumigatus* [16–20] and *C. albicans* [21–23].

Unfortunately, few inhibitors exhibit good “hit-” or “lead-like” features. Recently, a virtual screening identified bioisosteric inhibitors with similar shape and electronic properties to the chitinase substrate,  $\beta$ -1,4-linked *N*-acetylglucosamine. Employing structure-based virtual screening combined with bioactivity assays, two new scaffold series were discovered—thienopyridine and furoquinoline—which exhibited inhibitory activity toward AfChiB1 at the micromolar range [24]. On the other hand, a virtual screening-based approach identified a novel purine-based AfChiB1 inhibitor, acting in the low micromolar range in a competitive mode. X-ray structural studies revealed that ligand stabilization relies on extensive  $\pi$ - $\pi$  stacking interactions with conserved, solvent-exposed tryptophan’s (Trp137, Trp384, and Trp52). Thus, compound C2-dicaffeine exhibited favorable chemical properties and proved to be a valuable scaffold for the design of family 18 chitinase inhibitors [17]. In addition, ligands consisting of two linked caffeine moieties with a different number of methylene groups in the linker connecting the two xanthine ring systems showed  $IC_{50}$  values lesser than 10  $\mu$ M for AfChiB1 and were selective compared to other human chitinases [18]. Moreover, the fungal natural product argifin is a broad-spectrum inhibitor of several family 18 chitinases [25]. Additionally, a structure-based dissection study identified dimethylguanylylurea (DGU) as the minimal fragment of argifin necessary for competitive inhibition of a bacterial type chitinase through hydrogen bond formation, with the highly conserved residues Asp175, Glu177, Tyr178, Asp246 and Tyr245. Indeed, all the DGU-containing peptides showed  $IC_{50}$  values in the micromolar range [26].

This study presents the hydrolysis intermediate and AfChiB1 structure-based drug design of potential inhibitors, employing molecular docking—in a well-conserved crystal binding site and physicochemical properties of solvation—for selection of the best ligand, through energy stability in the binding site and selectivity over CHIT1. Thus, this scaffold proposal could serve as a basis for the future modification of the octahydroisoindolone bicyclic core to make promising chitinase inhibitors.

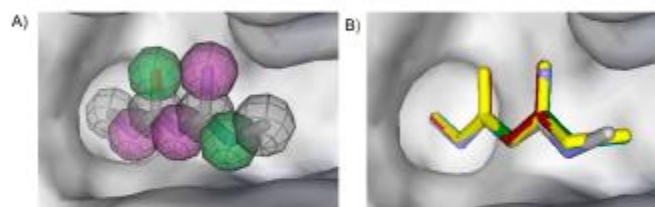
## 2. Computational Details

### 2.1. Bioinformatic Analysis

The protein sequence was chosen from the crystal structure of the AfChiB1-inhibitor complex [24]. We used this amino acid sequence to search in the Protein-NCBI webserver for similar length sequences and retrieved 4254 results. JalView 2.11.1.3 software [27] was used for multiple sequence alignment and clustering. All the sequences of chitinases were clustered in two *Aspergillus* genera and one *Cryptococcus* variant, with 22 and 7 sequences respectively (Figure S1, see Supplementary Data). As described in Figure 1, the active site is highly conserved for all consensus sequences, except for the *Cryptococcus* group. Then, we submitted each fungi consensus sequence in the Protein-NCBI webserver for *Homo sapiens* searching; these afforded three clusters, generating three human consensus sequences.



We used the crystal structure of AfChiB1 from the protein data bank (PDB) with code 3CH9, and a 2.20 Å resolution. All water molecules were removed, and structure details were corrected. The co-crystallized ligand of 3CH9 was set up as a template for molecular docking (atoms were specified as in Figure 2), considering the amide group orientated to ( $\alpha/\beta$ )-barrel fold in the binding site (volume cavity is 386.11 Å<sup>3</sup>). Different scoring functions and search algorithm parameters (such as the number of runs, maximum iterations, and population size) were tried, to reproduce the structural conformation of the ligand in the cocrystal complex. Finally, the ligand electrostatic partial charges, as well as the MolDock score (GRID) scoring function (with 0.2 Å (grid resolution), 12 Å radius of search sphere) and the MolDock optimizer search algorithm (with 20 runs and a maximum of 4000 iterations for a population size of 200 individuals) were the best to reproduce DGU's conformation. The docking process was validated with conformer reproducibility of DGU with a root mean square deviation (RMSD) less than 1 Å, and the poses selected according to orientation at the cavity, as described in Figure 2. Molegro Virtual Docker (MVD) 6.0 was used to perform all the docking calculations [34].



**Figure 2.** (A) Ligand template set up for docking; spheres indicate hydrogen acceptor (green), hydrogen donors (purple) and steric (gray). (B) Dimethylguanylylurea (DGU) conformer reproducibility of four independent runs in the AfChiB1 active site.

### 2.5. Construction of Ligands Derivatives

On the other side, to discriminate scaffold proposals, poses were inspected visually by considering orientation, and intramolecular and intermolecular clashes. Several modifications of the four scaffold proposals (easily accessible through organic synthesis, mainly C-3 substituted derivatives) gave 76 structures. As a result, from these rigid docking calculations, we identified a preferred scaffold stereochemical configuration in the AfChiB1 complex. Next, we designed new C-3 substituents with the aliphatic chain (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>R and its homolog structure (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>R, where R represents a heterocyclic or heteroaromatic fragment, giving 38 derivatives. Partition coefficient octanol-water (aLogP) was also employed to select the best ligands in correlation with their interaction energy [35]. To contrast chitinase selectivity, the best ligands were evaluated in human chitotriosidase-1 (CHIT1, PDB: 5NR8) using the same rigid docking method as described above. This chitinase is relevant because it is produced mainly by macrophages and could play a role in defense against fungal infections [36,37].

### 2.6. Re-Docking and Selectivity Analysis over CHIT1

The best poses from our previous analysis were submitted to a flexible docking calculation by setting a template based on the best results obtained in the first docking. Then, amino acid residues were selected to be flexible and parameters such as tolerance were set to 0.9 for all residues and strength was applied as described in the Supplementary Data (Table S29). The strength parameter points out that zero values are set to very flexible sidechains [38]. This approach was extended to CHIT1, then the resulting interaction energies and cavities were analyzed. Additionally, the aLogP value was determined for all candidates.

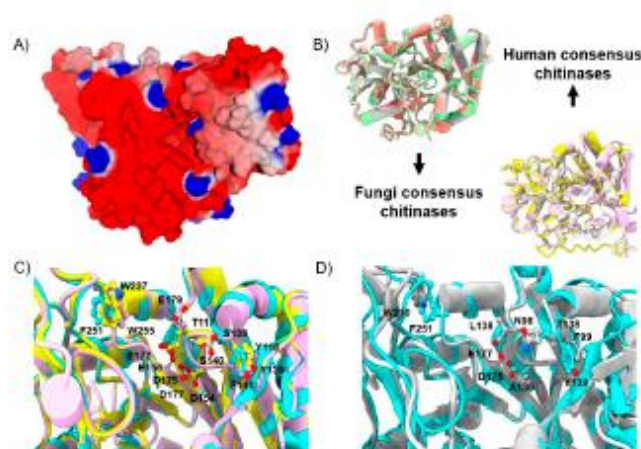
### 2.7. Mathematical Model for IC<sub>50</sub> Prediction

The same approach was applied to AfChiB1 inhibitors (caffeine, dicaffeine, PTX, DGU, TPH, 6, 7 and 8), and their MolDock score and aLogP [39] values were used for the construction of a mathematical model for the IC<sub>50</sub> prediction. Therefore, these values were considered as independent variables, and experimental IC<sub>50</sub> values as the dependent variables. Nevertheless, to generate a quality model, a logarithmic transformation over IC<sub>50</sub> was done; this model was constructed with Excel Microsoft Office 365. Standard deviation (s), Fishers F-test (F), and the coefficient of determination (R<sup>2</sup>) were used for the model validation. For the predictive ability evaluation of the model, we used the cross-validation coefficient (Q<sub>LOO</sub><sup>2</sup>) with the Leave-One-Out (LOO) method; due to the small number of compounds used for this model, Q<sub>LOO</sub><sup>2</sup> gives us a quality evaluation of its prediction ability [40].

## 3. Results and Discussion

### 3.1. 3D Structure Protein Analysis

We constructed chitinase 3D homology models for each consensus sequence, with good I-TASSER C-scores, within positive values indicating good quality. C-score values for the *Cryptococcus* group, *Aspergillus* group I, and *Aspergillus* group II were 0.16, 1.5, and 0.98, respectively. The three structures were aligned with the crystal structure of AfChiB1 (RMSD less than 1 Å). The catalytic site is very conserved and is exposed to the solvent. According to its molecular electrostatic potential (MEP) surface, most of the cavity display a negative MEP value, and only a small region displays a positive MEP value, where Arg57 and Arg301 are located (Figure 3A). After the structural alignment of the *Cryptococcus* group, there were two residue differences detected: Thr138 changed to Ser140 and Tyr139 to Phe141 (Figure 3C); aside from these, there were no significant changes in amino acids between the two groups.



**Figure 3.** AfChiB1 crystal structure protein data bank with code 3CH9 (PDB: 3CH9) and structural alignment with consensus homology models. (A) Molecular electrostatic potential (MEP) surface and catalytic cavity (highlighted by a rectangular form) of chitinase AfChiB1; blue, red and white colored regions indicate positive, negative and zero values of MEP, respectively. (B) Structural alignment of the fungi consensus model, and human consensus chitinases. (C) Catalytic site of fungi-predicted structures; 3CH9 representation is colored in blue. (D) Structural alignment of human consensus model against 3CH9 colored in blue. Key residue differences are highlighted by ball and stick representation.

Figure 3D shows the structural alignment of human consensus chitinases with AfChiB1 (3CH9), and some differences in amino acid residues close to the binding site, heightening mutants in AfChiB1 and the three human consensus structures: Thr138 (all sequences had Asn), Tyr139 (all sequences had Phe), Asp175 (only Ala 136 in human sequence from *Aspergillus* group II), Glu177 (Leu 138 from *Aspergillus* group II) and Phe251 (all sequences had Trp).

### 3.2. Scaffold Design

We analyzed the reaction intermediate proposed during the hydrolysis mechanism in the GH 18 family, given by an acetamide intramolecular nucleophilic attack at the C-3a position (glycosidic bond carbon) that generates an intermediate oxazolinium ion, giving rise to a constrained pyranose ring fused to an oxazole ring (Figure 4). This skeleton was maintained with cyclohexane and a five-member ring lactam. The bioisosteric replacement to an amide group was thought to electronically mimic the oxazolinium ion formed due to glycosidic bond rupture. Then, some scaffolds could have hydroxyl groups in carbon C-5 and C-6 to maintain a glycosidic-like structure (Figure 5).

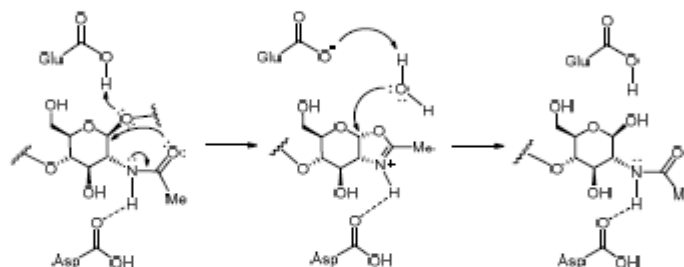


Figure 4. Hydrolysis mechanism for GH 18 chitinases.

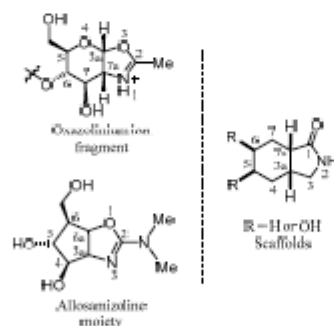
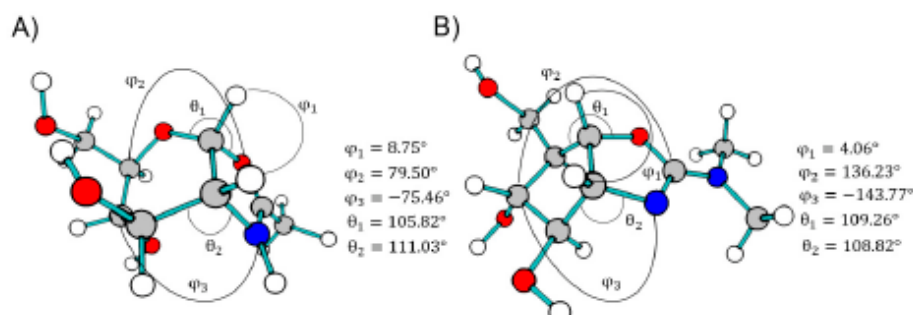


Figure 5. Reaction intermediate, allosamizoline crystal structure, and scaffold structures.

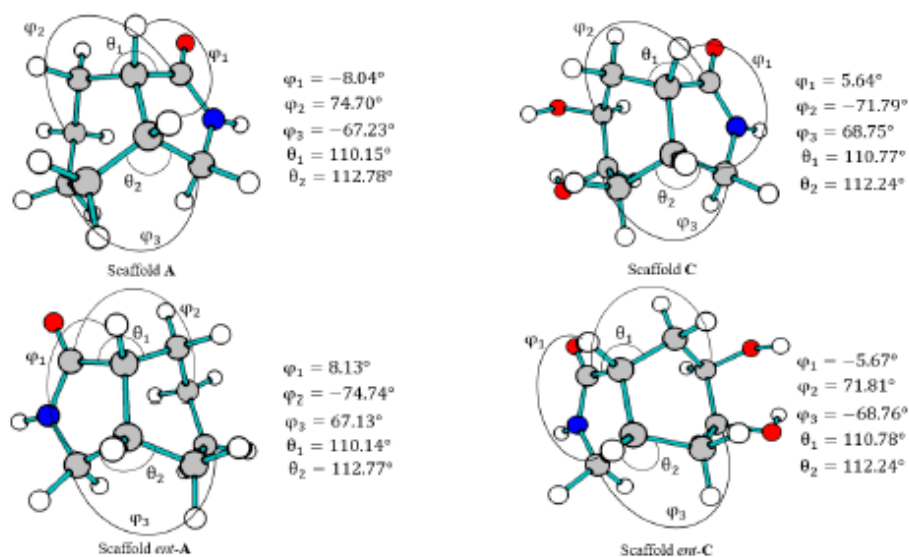
We performed a conformer analysis of this hydrolysis intermediate, using PM6 approximation, obtaining 19 conformers. From these geometries, the angles were analyzed and considered for the ligand-based design, and the minimal energy conformation was selected which had a geometry-like bowl (Figure 6 and Table S25, see Supplementary Data). Besides, electronic properties were examined by single-point energy calculations of each conformer with DFT, used to explore frontier molecular orbitals and molecular electrostatic potential of organic compounds [41–45]. Thus, we used the allosamizoline ligand (PDB: 2A3E) as a reference because it shares structural characteristics with the oxazolinium ion intermediate (Figures 5 and 6) [46]. We found the molecular geometry of the oxazolinium ion in its minimum energy conformation with dihedral angles of  $\varphi_1 =$

$8.75^\circ$ ,  $\theta_1 = 105.82^\circ$  (O4-C3a-O3) and  $\theta_2 = 110.03^\circ$  (C7-C7a-N1), which were similar to the allosamizoline conformation.



**Figure 6.** Values for dihedral angles:  $\varphi_1$  (H-3a-7a-H),  $\varphi_2$  (C5-O4-C3a-O3) and  $\varphi_3$  (C6-C7-C7a-N1) for oxazolinium ion minimum energy (A), and  $\varphi_1$  (H-6a-3a-H),  $\varphi_2$  (C5-C6-C6a-O1) and  $\varphi_3$  (C5-C4-C3a-N3) for allosamizoline crystal moiety (B, PDB: 2A3E) and  $\theta$  fused ring angles.

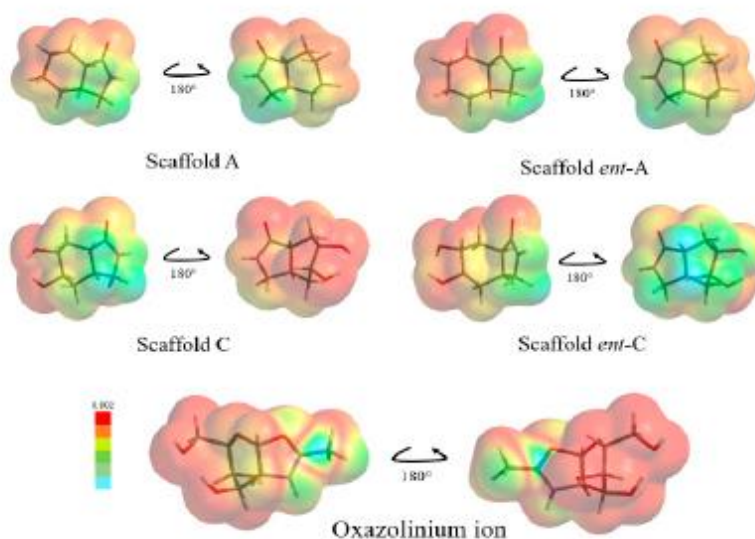
On the other side, scaffold design was performed on the basis of reliable synthetic methods, like those described in Meyers's lactams synthesis for the preparation of *cis*- and *trans*-fused lactams [47–49]. As a result, from conformational analysis in comparison to oxazolinium ion and allosamizoline moiety, only in Figure 7, the *cis*-fused scaffolds and their enantiomers had similar angles (Table S26, see Supplementary Data). Geometry gets closer to the oxazolinium ion because scaffolds and intermediates had six-five fused rings and allosamizoline had a five-five fused system. Further,  $\varphi_1$ ,  $\theta_1$ , and  $\theta_2$  angles indicate similar amide orientation in scaffolds, as oxazole shows in the structure references.



**Figure 7.** Values for dihedral angles:  $\varphi_1$  (H-3a-7a-H),  $\varphi_2$  (C6-C7-C7a-C1) and  $\varphi_3$  (C5-C4-C3a-C3) and  $\theta$  fused ring angles of each scaffold conformer, similar to the allosamizoline moiety and the oxazolinium ion fragment.

Additionally, electronic properties were explored. We found similarity of the oxazolinium ion by the lowest molecular orbital (LUMO) region located in oxazole ring, same region for the electron acceptor site. This agreed with the chitinase GH 18 hydrolysis mechanism, that involves an intramolecular nucleophilic attack by the oxygen of the acetamide to the anomeric carbon (Figure 4) [50–53].

Moreover, the scaffold proposals had a similar LUMO map in Figure 8, depicted by the amide group that mimics the oxazole ring electronically, forming the electrophilic region on the five-membered ring-like intermediate.



**Figure 8.** Lowest molecular orbital (LUMO) map of scaffold proposals in comparison with the oxazolinium ion fragment. Colors go from red (minimum value) to blue (maximum value) according to the absolute value of the LUMO on the electron density surface.

This electronic similarities are more evident when LUMO orbital graphics are displayed, as illustrated in Figure 9. LUMO graphics are located in the five membered ring.

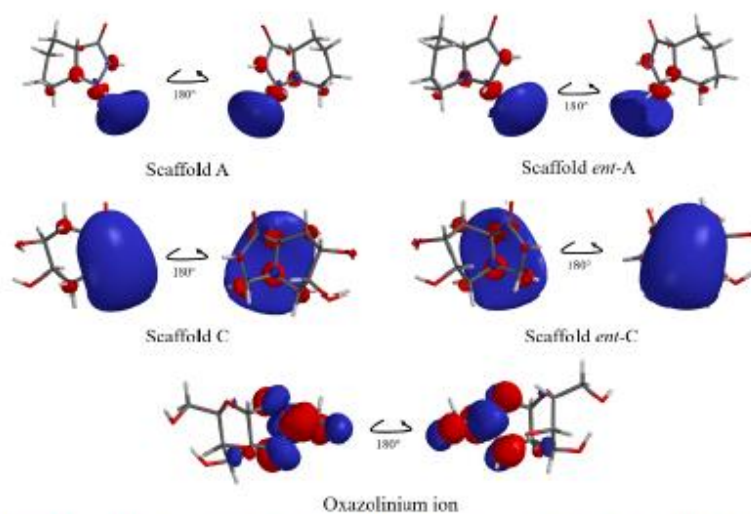
On the other hand, scaffolds and oxazole rings have three types of atoms that showed correlated Mulliken partial charges; carbon ( $sp^2$  hybridization) had positive charges, thereby nitrogen and oxygen had negative charges for all scaffolds and the oxazolinium ion (Table S27, see Supplementary Data). In summary, the scaffold conformers presented similar geometry to the oxazolinium ion. Some electronic parameters correlate our proposals with the reaction intermediate, suggesting similar interactions on the atoms in the five-membered rings. Thus, the next step was to seek scaffold derivatives through a structure-based design that relied on docking calculations.

### 3.3. Structure-Based Drug Design

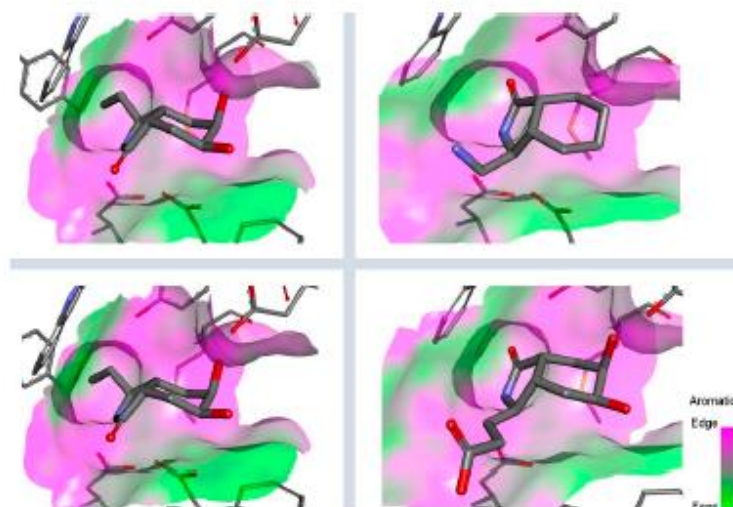
For this set analysis we employed a rigid docking approach; hence, Figure 10 shows the scaffold derivatives design that consisted of the substitution in the C-3 position, because the access to enantiomerically pure compounds was rationalized by a nucleophilic attack via the acyliminium ion as a reaction intermediate furnishing the substituted lactams [48,54]. The first design step explored the functional groups effect by placing hydrocarbon chains by one to three carbons, and bound to functional groups like amines, thiols, alcohols, or carboxylic acids (group I). On the other hand, the hydrophobic substituents were set by one to six carbons homologation to seek possible clashes or to increase chain stability



through interactions with aromatic residues like Trp137, Tyr48, and Trp384 in the active site (group II).



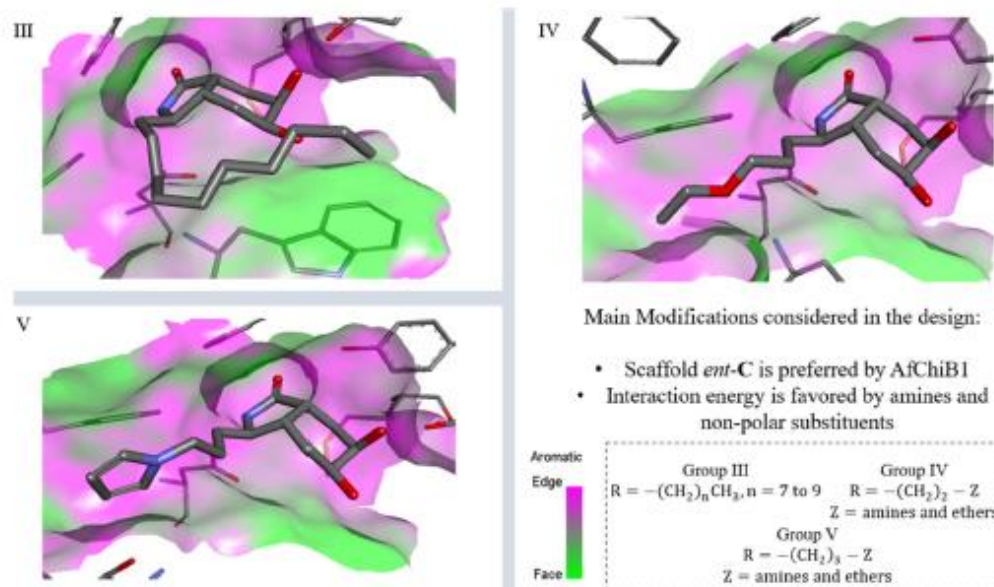
**Figure 9.** Lowest Unoccupied Molecular Orbital graphic of the scaffold pro posals and the oxazolinium ion. Shape and size of the graphics shows the contribution to the LUMO of each atom in the molecule.



**Figure 10.** Scaffold modifications A, *ent*-A, C, and *ent*-C in the C-3 position for group I and II. Surface plot of the catalytic site, showing the aromatic interaction profile. Group I ( $R = -(CH_2)_n - Z$ ,  $n = 1$  to 3,  $Z =$  functional group) and group II ( $R = -(CH_2)_n - CH_3$ ,  $n = 1$  to 6). The face label indicates a face interaction between amino acid residues and ligands' hydrophobic fragments, and the edge label shows the noncoplanar amino acid residues orientation to the protein surface.

Ligands were discriminated according to their interaction energies and selected by visual inspection of their binding modes [55], as well by the ligand orientation of the bioisosteric group towards the  $(\alpha/\beta)_8$  barrel fold. As mentioned above, *ent*-C derivatives from group I in Figure 10 had a slight preference by AfChiB1 interacting mainly with Tyr48, Gly136, Trp137, Asp175, Glu177, Asp246, Tyr245, Met243 and Trp384. Hence, most stable poses were derived from scaffolds with primary amines, followed by thiol and alcohol chains; this suggests that protonation at the physiological pH of amines provides stability. In addition, *ent*-C substituted carboxylates showed more stability by hydrophobic interaction enhancement between Trp384 and the scaffold lactam ring, than the previously mentioned derivatives. Additionally, in Figure 10, the scaffold modification of *ent*-C presented a noticeable preference of AfChiB1 in group II, since they showed better interaction through Trp384 and Trp137 stabilization, and hydrogen bonds with Glu177 and Tyr245.

From this screening, we identified a stereochemical preference of AfChiB1 and promising auxophoric groups like amines, ethers, and non-polar chains, by constructing group III to V of derivatives based on scaffold *ent*-C. In Figure 11, the derivatives in group III were designed to elongate the hydrocarbon chain to 7–10 carbons; nevertheless, they showed similar affinity energies to group II.



**Figure 11.** Scaffold *ent*-C modifications in the C-3 position for groups III, IV and V. Surface plot of the catalytic site, showing the aromatic interaction. The face label indicates a face interaction between amino acid residues and ligands' hydrophobic fragments, and the edge label shows the noncoplanar amino acid residues orientation to the protein surface.

Furthermore, structures of Figure 11 showed groups IV and V with amine substituents generally with better energies than groups I–III. Then, derivatives with amines directly bonded to aromatic or aliphatic rings presented the lowest energy, predominantly through stronger interactions by Phe76, Trp137, Thr138, Tyr 139, Glu177, Tyr245 and Trp384.

Then, all proposed derivatives constituted a large set to discriminate based on their interaction energy, without considering the pharmacokinetic criteria. Therefore, aLogP was considered for the selection of the final candidates, taking the best value range between

0 and 3 for acceptable drug absorption, as was highlighted in Figure 12, identifying five structures as the best candidates.

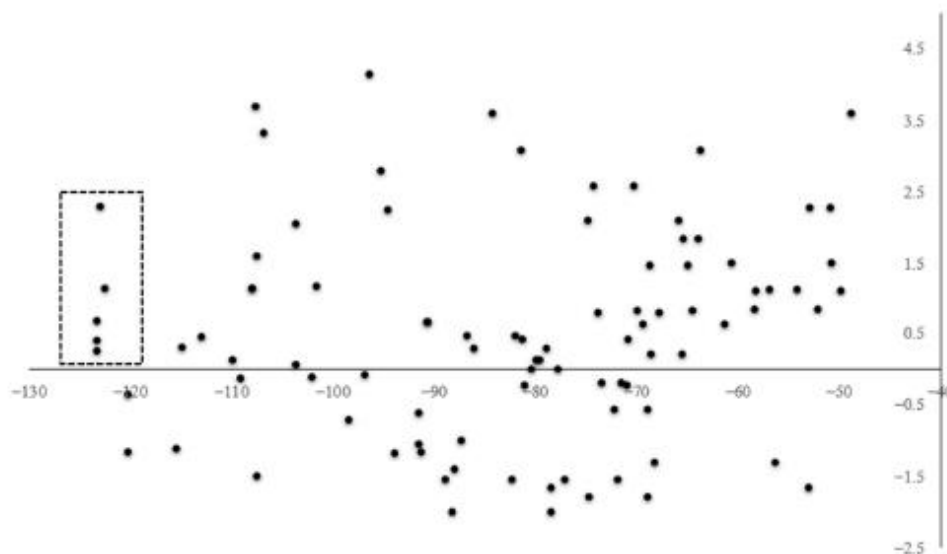


Figure 12. MolDock score (kcal/mol, x-axis) vs. aLogP (y-axis). The marked region indicates the final candidates.

#### 3.4. Selectivity Analysis over *AfChIB1* and *CHIT1*

Each pose from the previously selected five structures was submitted to a second docking calculation and examined, identifying hydrogen bonds and other important non-covalent interactions (Table 1). In this way, **1** had interactions with Trp384, Asp246, Glu177, Trp137, Thr138, Tyr 139, Gly136, Phe76, Tyr245, Met243, Tyr48, and Asp175. Ligand **1** showed a hydrogen bond from amide NH and the carboxylate Asp175. Furthermore, amide carbonyl interacts through hydrogen bonding to the hydroxyl Tyr245, and hydroxyl in the C-5 position of **1** forms a hydrogen bond to Asp246. The phenyl ring A was orientated towards Trp137 and exposed to the solvent. On the other hand, aromatic ring B was orientated to Phe76, Trp52, Gly136, Thr138, and Tyr139 residues. Ligand **2** had a phenyl ring proximity identical to aromatic non-polar residues as the orientation of ring B in pose **1** and hydrogen bonds with Asp175 and Tyr245, besides C-5 and C-6 hydroxyl groups interacted with Glu177 and Asp246, respectively. On the other side, **3** only presented hydrogen bonding to Tyr245, Asp246 and Glu177, but the phenyl was exposed to solvent and orientated to Trp52 and Trp384. Thus, **4** kept the hydrogen bond to Tyr245 and hydroxyls formed two hydrogen bonds with Asp246, and the cyclohexyl ring was orientated, as **1** and **2** did. Finally, **5** presented a similar pose as **2**, keeping hydrogen bonding to Asp175, Glu177, Tyr245 and Asp246, as well as the phenyl orientation (Tables S30–S34, see Supplementary Data).



the AfChiB1 sequence by structural alignment near the active site. Furthermore, from bioinformatic analysis, mutations between *A. fumigatus* and human were identified since there were null interactions in flexible docking for AfChiB1 with Phe251 and Tyr247. In contrast, **1**, **2**, **3** and **4** had non-polar stabilization interactions by residues Trp218 and Phe214, which are the analogue mutants' residues for CHIT1 (PDB: 5NRS).

The main interactions in the docking calculations of all the tried ligands with CHIT1 were Asp213, Trp99, Trp458, Met210, Tyr141, Tyr267, Trp218, Tyr212, Ala186, Phe214, Glu140, Tyr190, Pro185 and Gly187. In Table 2, we inspected **1**, thereby amine presented a salt bridge with Tyr141, and carbonyl formed a hydrogen bond to Tyr212. Its phenyl ring A was positioned close to Gly187, Ala186, Tyr141, Phe214, and Tyr190, while phenyl ring B was near Trp218 and exposed to solvent. **2** presented a salt bridge with Tyr141, besides hydrogen bonding to Trp358 with the same substituent orientation. On the other side, **3** had the same carbonyl interactions as **1**, but hydroxyl C-5 made a hydrogen bond to Asp213, and the phenyl substituent had a similar orientation to the phenyl ring A. For the last ligand, **4**, Asp213 presented a salt bridge between amine and hydrogen bonding with hydroxyl C-5, and carbonyl kept the same hydrogen bond interaction, while cyclohexyl had a similar orientation to **1**, **2** and **3** (Tables S35–S38, see Supplementary Data).

**Table 2.** Best pose of scaffold derivatives (ligands) in *Homo sapiens* CHIT1.

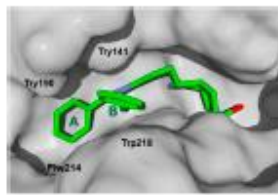
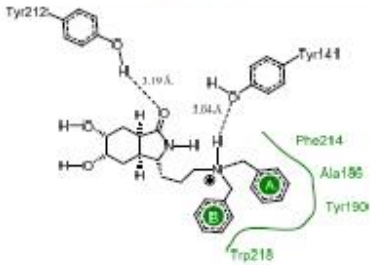
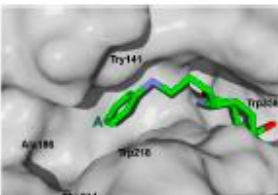
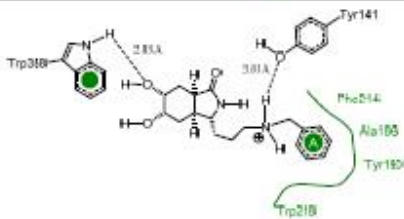
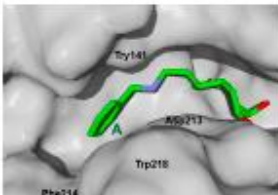
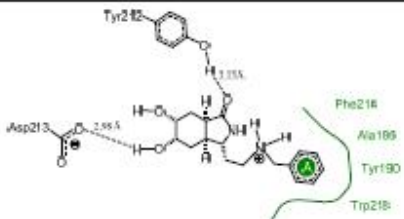
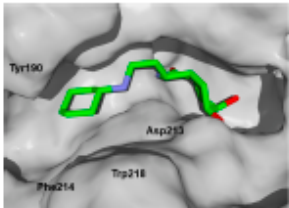
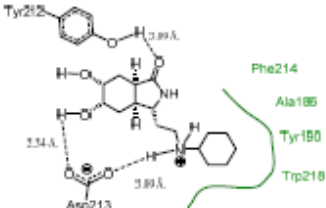
Ligand	Pose in Cavity	Interactions
<b>1</b>		
<b>2</b>		
<b>3</b>		

Table 2. Cont.

Ligand	Pose in Cavity	Interactions
4		

On the other hand, *A. fumigatus* had the major interaction energy because of stronger interactions with Trp384, Trp137, Phe76, Thr138, Trp52, Tyr139 and Asp246 residues; 2, 4 and 5 displayed similar complex energy but lesser than 1, while 3 only had the main interactions with Trp384, Trp137, Glu177 and Tyr245. In comparison, 1 in CHIT1 showed slightly stronger interactions with Asp213, Trp99, Trp358, Tyr212, Met210, Tyr141, Tyr267 and Ala 186 residues, while 2–4 kept lesser strong interactions with Asp213, Trp99, Trp358, and Tyr212 (energy interaction values of the final candidates from flexible docking with AfChiB1 and chitotriosidase with aLogP values are displayed in Table S47, see Supplementary Data). However, we cannot correlate these designed ligands' binding energies for the estimation of drug potency, like Glide or Vina can perform. Then, a predictive model was developed, using the experimental  $IC_{50}$  values of AfChiB1 inhibitors and their MolDock score and aLogP values.

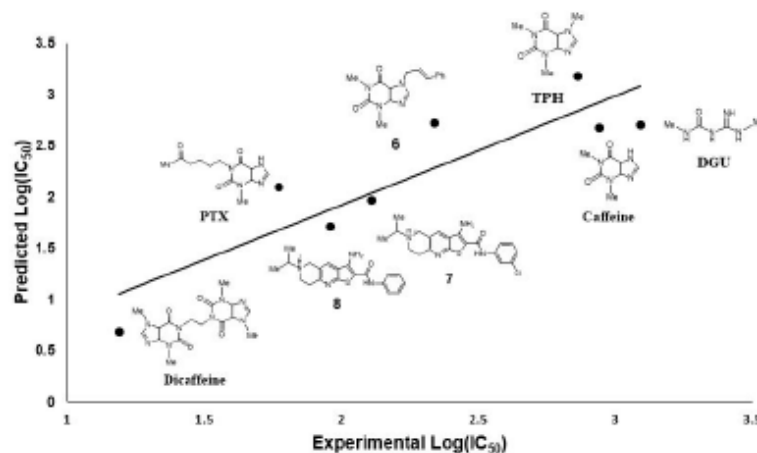
### 3.5. Mathematical Model for the $IC_{50}$ Prediction over AfChiB1

Flexible docking parameters were set up in an identical way for reported inhibitors (considering the ligand DGU as a template, like was established for the drug-based design in AfChiB1), interactions were reviewed and verified for inhibitors with xanthine moieties (Tables S39–S48, see Supplementary Data). For example, available crystals and calculated poses kept most of interactions (Caffeine, PTX, DGU and TPH), while 6, 7 and 8 were checked for amide orientation towards the active site.

Then, using logarithm transformation over  $IC_{50}$  helped us to find a linear correlation with MolDockscore (interaction energy) and aLogP as independent variables, generating Equation (1). The linear correlation between  $IC_{50\text{pred}}$  and  $IC_{50}$  is displayed in Figure 13. According to  $Q_{LOO}^2$ , our model has a good predictive capability ( $IC_{50\text{pred}}$  values are shown in Table S48, see Supplementary Data). From Equation (1), the importance of the interaction energy with AfChiB1 is displayed; according to its coefficient, highly negative MolDockscore values (more stable complexes) will increase the potency of the inhibitors. In addition, the aLogP coefficient indicates that hydrophilic compounds are preferred to increase the potency of the compounds. Nevertheless, we need to consider the type of the biological test for the determination of the  $IC_{50}$  values, which do not consider a biological barrier. Therefore, we propose values of aLogP close to 1 for the design of this class of inhibitors. It is worth mentioning that the presence of these two variables in our model allowed us to study the inhibitors potency in two separated ways, its pharmacodynamic (MolDockscore), and the pharmacokinetic (aLogP) character.

$$\text{Log}(IC_{50}) = 0.01843\text{Mol Dockscore} + 0.1609\text{aLogP} + 4.3994 \quad (1)$$

$$s = 0.26 \quad F = 29.11 \quad R^2 = 92.1 \quad Q_{LOO}^2 = 78.9 \quad n = 8$$



**Figure 13.** Inhibitors structures used for the model construction: caffeine (PDB: 2A3B), pentoxifylline (PTX; PDB: 2A3C), DGU (PDB: 3CH9), inhibitors **6** [15], **7** [22], **8** [22] and theophylline (TPH; PDB: 2A3A), and the linear relationship between  $IC_{50\text{pred}}$  and  $IC_{50}$ .

Nevertheless, the model is limited to bicyclic derivatives, and rigid molecules, preferably. This assumption is based on the ability of our model to predict, in a better way,  $IC_{50}$  values for caffeine, TPH, **7** and **8** (Figure 13, vide supra). Then, using Equation (1), we predicted the  $IC_{50}$  values for our designed ligands in Table 1, estimating the concentrations of them to be around 60–200  $\mu\text{M}$  for 1–5.

For a complete drug design scheme, we determined the toxicity and drug-likeness of these candidates through the SwissADME webserver [56]. According to these calculations, final designed ligands will not inhibit cytochrome p450 isoforms and can be substrates for P-gp, a glycoprotein involved in pumping xenobiotics out [57]. Only **1** could permeate the blood–brain barrier (BBB), and it is predicted to be poorly soluble in water. Further, the expected bioavailability would be around 55% for all ligands; in general, they satisfied the main rules for drug design, like Veber, Lipinski, and Ghose.

In summary, docking in fungi and human chitinase suggests that **5** is a potential inhibitor of AfChiB1, since **5** could have a different orientation in the CHIT1 active site. At the same time, **1** will have the highest potency for AfChiB1 and CHIT1, and also possesses a good drug-likeness and pharmacokinetic profile, but the possibility of crossing the BBB will not be desirable for its biological application (Table S50, see Supplementary Data).

#### 4. Conclusions

The bioinformatic analysis revealed that chitinases from different pathogenic *Aspergillus* taxa, including *A. fumigatus*, *A. novifumigatus*, *A. niger*, *A. candidus*, *A. fisheri*, *A. flavus*, and the *Cryptococcus* taxon of the *grubii* variant, are well conserved. A comparison of amino acid changes around the active site reported in human chitinases have also been documented. Eventually, we showed that the proposed scaffolds could mimic the oxazolinium ion concerning its conformation and electronic properties. On the other hand, we made a structure-based drug design, identifying the *ent*-C scaffold as preferred by the enzyme AfChiB1, allowing the selection of **1** to **5** ligands according to their  $\text{aLogP}$  values. In contrast, analysis with human chitotriosidase indicated that the most promising inhibitor is **5** for AfChiB1. The employed structure-based drug design and virtual screening protocol not only demonstrates its efficiency, but also provides novel and selective compounds for developing AfChiB1 inhibitors to protect against opportunistic invasive mycosis.

**Supplementary Materials:** The following are available online, Figure S1: Phylogenetic profile for fungi, Figure S2: Pose of each compound obtained from the re-docking analysis, Figure S3: Pose of each compound obtained from the re-docking analysis, Figure S4: Structures used for model construction, Table S1: Consensus sequence of *Aspergillus* genera (group I), Table S2: Top 10 threading templates used by I-TASSER, Table S3: Top 10 Identified structural analogs in PDB, Table S4: Best model predicted by I-TASSER, Table S5: Consensus sequence of *Aspergillus* genera (group II), Table S6: Top 10 threading templates used by I-TASSER, Table S7: Top 10 Identified structural analogs in PDB, Table S8: Best model predicted by I-TASSER, Table S9: Consensus sequence of *Cryptococcus* group, Table S10: Top 10 threading templates used by I-TASSER, Table S11: Top 10 Identified structural analogs in PDB, Table S12: Best model predicted by I-TASSER, Table S13: Human consensus sequence from *Aspergillus* genera (group I), Table S14: Top 10 threading templates used by I-TASSER, Table S15: Top 10 Identified structural analogs in PDB, Table S16: Best model predicted by I-TASSER, Table S17: Human consensus sequence from *Aspergillus* genera (group II), Table S18: Top 10 threading templates used by I-TASSER, Table S19: Top 10 Identified structural analogs in PDB, Table S20: Best model predicted by I-TASSER, Table S21: Human consensus sequence from *Cryptococcus* group, Table S22: Top 10 threading templates used by I-TASSER, Table S23: Top 10 Identified structural analogs in PDB, Table S24: Best model predicted by I-TASSER, Table S25: Conformational analysis of hydrolysis intermediate, Table S26: Scaffold proposals and number of conformations from the conformational analysis calculus, Table S27: Mulliken partial charges for Scaffold A, C and Oxazolinium ion. Scaffold enantiomers showed identical partial charges, Table S28: Rigid docking results in AChIB1 with the designed ligands, Table S29: Strength of sidechains selected for flexible docking, Table S30: Amino acid residues contribution to 1 in AChIB1, Table S31: Amino acid residues contribution to 2 in AChIB1, Table S32: Amino acid residues contribution to 3 in AChIB1, Table S33: Amino acid residues contribution to 4 in AChIB1, Table S34: Amino acid residues contribution to 5 in AChIB1, Table S35: Amino acid residues contribution to 1 in CHIT1, Table S36: Amino acid residues contribution to 2 in CHIT1, Table S37: Amino acid residues contribution to 3 in CHIT1, Table S38: Amino acid residues contribution to 4 in CHIT1, Table S39: Data used for model construction, Table S40: Amino acid residues contribution to Caffeine in AChIB1, Table S41: Amino acid residues contribution to Pentoxifylline (PTX) in AChIB1, Table S42: Amino acid residues contribution to Dimethylguanylyurea (DGU) in AChIB1, Table S43: Amino acid residues contribution to Theophylline (TPH) in AChIB1, Table S44: Amino acid residues contribution to 6 in AChIB1, Table S45: Amino acid residues contribution to 7 in AChIB1, Table S46: Amino acid residues contribution to 8 in AChIB1, Table S47: Energy interaction values (kcal/mol) of the final candidates from flexible docking with AChIB1 and CHIT1. Candidates aLogP values are also displayed, Table S48: Statistical parameters from model construction, Table S49: Estimation of predicted  $IC_{50}$  from equation 1 for ligand 1–5, Table S50: Swiss ADME values for each ligand 1–5.

**Author Contributions:** Conceptualization, A.M.-G., R.S.R.-H. and J.L.V.-C.; methodology, A.M.-G., A.H.-M., R.S.R.-H. and J.L.V.-C.; software, A.M.-G., A.H.-M. and R.S.R.-H.; validation, A.M.-G. and R.S.R.-H.; formal analysis, A.M.-G., R.S.R.-H. and J.L.V.-C.; investigation, A.M.-G., R.S.R.-H. and J.L.V.-C.; resources, M.O. and J.L.V.-C.; data curation, A.M.-G. and R.S.R.-H.; writing—original draft preparation, A.M.-G., R.S.R.-H. and J.L.V.-C.; writing—review and editing, A.M.-G., R.S.R.-H., M.O. and J.L.V.-C.; visualization, A.M.-G., R.S.R.-H. and J.L.V.-C.; supervision, R.S.R.-H. and J.L.V.-C.; project administration, M.O. and J.L.V.-C.; funding acquisition, M.O. and J.L.V.-C. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research was funded by the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) through projects 256985 and 286614 and grant number 706529 (A.M.-G.).

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are openly available in PDB database, ID: 3CH9 and 5NR8.



**Acknowledgments:** A.M.G., R.S.R.H. and J.L.V.C. thank Mario A. Leyva-Peralta from the University of Sonora and Zeferino Gómez Sandoval from the University of Colima for allowing access to their software resources. The authors thank the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for financial support through projects 256985 and 286614. A.M.G. also wishes to thank CONACYT for the Graduate Scholarship 706529.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no competing financial interest.

## References

- Marr, K.A.; Platt, A.; Tornheim, J.A.; Zhang, S.X.; Datta, K.; Cardozo, C.; Garcia-vidal, C. Aspergillosis complicating severe coronavirus disease. *Emerg. Infect. Dis.* **2021**, *27*, 18–25. [\[CrossRef\]](#)
- Brown, G.D.; Denning, D.W.; Gow, N.A.R.; Levitz, S.M.; Netea, M.G.; White, T.C. Hidden killers: Human fungal infections. *Sci. Transl. Med.* **2012**, *4*, 165rv13. [\[CrossRef\]](#)
- Firacative, C. Invasive fungal disease in humans: Are we aware of the real impact? *Memórias Inst. Oswaldo Cruz* **2020**, *115*, 1–9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Karthus, M. Leitliniengerechte Therapie der invasiven Aspergillose. *Mycoses* **2010**, *53*, 36–43. [\[CrossRef\]](#)
- François, I.E.J.A.; Cammue, B.P.A.; Borgers, M.; Ausma, J.; Dispersyn, G.D.; Thevissen, K. Azoles: Mode of antifungal action and resistance development effect of miconazole on endogenous reactive oxygen species production in *Candida albicans*. *Antifungal Agents Med. Chem.* **2006**, *5*, 3–13. [\[CrossRef\]](#)
- Groll, A.H.; Townsend, R.; Desai, A.; Azie, N.; Jones, M.; Engelhardt, M.; Schmitt-Hoffman, A.H.; Brüggemann, R.J.M. Drug-drug interactions between triazole antifungal agents used to treat invasive aspergillosis and immunosuppressants metabolized by cytochrome P450 3A4. *Transpl. Infect. Dis.* **2017**, *19*, e12751. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Mohamed, A.; Rogers, T.R.; Talento, A.F. COVID-19 associated invasive pulmonary aspergillosis: Diagnostic and therapeutic challenges. *J. Fungi* **2020**, *6*, 115. [\[CrossRef\]](#)
- Resendiz-sharpe, A.; Mercier, T.; Lestrade, P.P.A.; Beek, M.T.; Borne, P.A.; Cornelissen, J.J.; Kort, E.; Rijnders, B.J.A.; Schauvlieghe, A.F.A.D.; Verweij, P.E.; et al. Prevalence of voriconazole-resistant invasive aspergillosis and its impact on mortality in haematology patients. *J. Antimicrob. Chemother.* **2019**, *74*, 2759–2766. [\[CrossRef\]](#)
- Hartl, L.; Zach, S.; Seidl-Seiboth, V. Fungal chitinases: Diversity, mechanistic properties and biotechnological potential. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2012**, *93*, 533–543. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Sakuda, S.; Inoue, H.; Nagasawa, H. Novel biological activities of allosamidins. *Molecules* **2013**, *18*, 6952–6968. [\[CrossRef\]](#)
- Suzuki, S.; Nakanishi, E.; Ohira, T.; Kawachi, R.; Nagasawa, H.; Sakuda, S. Chitinase inhibitor allosamidin is a signal molecule for chitinase production in its producing *Streptomyces*. I. Analysis of the chitinase whose production is promoted by allosamidin and growth accelerating activity of allosamidin. *J. Antibiot.* **2006**, *59*, 402–409. [\[CrossRef\]](#)
- Goody, G.W.; Zhu, W.Y.; O'Donnell, R.W. What are the roles of chitinases in the growing fungus? *FEMS Microbiol. Lett.* **1992**, *100*, 387–391. [\[CrossRef\]](#)
- Sakuda, S.; Nishimoto, Y.; Ohi, M.; Watanabe, M.; Takayama, S.; Isogai, A.; Yamada, Y. Effects of demethylallosamidin, a potent yeast chitinase inhibitor, on the cell division of yeast. *Agric. Biol. Chem.* **1990**, *54*, 1333–1335.
- Huang, G.; Huang, H. Synthesis, antiasthmatic, and insecticidal/antifungal activities of allosamidins. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2019**, *34*, 1226–1232. [\[CrossRef\]](#)
- Birilakis, K.; Kim, C.; Vicente, A.G.; Andrade, C.; Casadevall, A.; Goldman, D.L. Methyloxanthine inhibit fungal chitinases and exhibit antifungal activity. *Mycopathologia* **2012**, *173*, 83–91. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Rao, F.V.; Andersen, O.A.; Vora, K.A.; DeMartino, J.A.; Van Aalten, D.M.F. Brief communication are chitinase inhibitors: Investigation of inhibition and binding modes. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 973–980.
- Schüttelkopf, A.W.; Andersen, O.A.; Rao, F.V.; Allwood, M.; Lloyd, C.; Eggleston, I.M.; Van Aalten, D.M.F. Screening-based discovery and structural dissection of a novel family 18 chitinase inhibitor. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 27278–27285. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Schüttelkopf, A.W.; Andersen, F.O.A.; Rao, V.; Allwood, M.; Rush, C.L.; Eggleston, I.M.; Van Aalten, D.M.F. Bisidionin C-A rationally designed, submicromolar inhibitor of family 18 chitinases. *ACS Med. Chem. Lett.* **2011**, *2*, 428–432. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Schüttelkopf, A.W.; Gros, L.; Blair, D.E.; Frearson, J.A.; Van Aalten, D.M.F.; Gilbert, I.H. Acetazolamide-based fungal chitinase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 8334–8340. [\[CrossRef\]](#)
- Lockhart, D.E.A.; Schuettkopf, A.; Blair, D.E.; Van Aalten, D.M.F. Screening-based discovery of *Aspergillus fumigatus* plant-type chitinase inhibitors. *FEBS Lett.* **2014**, *588*, 3282–3290. [\[CrossRef\]](#)
- Dickinson, K.; Keer, V.; Hitchcock, C.A.; Adams, D.J. Chitinase activity from *Candida albicans* and its inhibition by allosamidin. *J. Gen. Microbiol.* **1989**, *135*, 1417–1421.
- Nishimoto, Y.; Sakuda, S.; Takayama, S.; Yasuhiro, Y. Isolation and characterization of new allosamidins. *J. Antibiot.* **1991**, *44*, 716–722. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Batran, R.Z.; Khedr, M.A.; Abdel Latif, N.A.; Abd El Aty, A.A.; Shehata, A.N. Synthesis, homology modeling, molecular docking, dynamics, and antifungal screening of new 4-hydroxycoumarin derivatives as potential chitinase inhibitors. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1180*, 260–271. [\[CrossRef\]](#)

24. Jiang, X.; Kumar, A.; Liu, T.; Zhang, K.Y.J.; Yang, Q. A novel scaffold for developing specific or broad-spectrum chitinase inhibitors. *J. Chem. Inf. Model.* **2016**, *56*, 2413–2420. [CrossRef]
25. Omura, S.; Arai, N.; Yamaguchi, Y.; Masuma, R.; Iwai, Y.; Namikoshi, M.; Turberg, A.; Kölbl, H.; Shiomi, K. Argifin, a new chitinase inhibitor, produced by *Gliocladium* sp. FTD-0668. *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 603–608. [CrossRef] [PubMed]
26. Andersen, O.A.; Nathubhai, A.; Dixon, M.J.; Eggleston, L.M.; Van Aalten, D.M.F. Structure-based dissection of the natural product cyclopentapeptide chitinase inhibitor Argifin. *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 295–301. [CrossRef]
27. Waterhouse, A.M.; Procter, J.B.; Martin, D.M.A.; Clamp, M.; Barton, G.J. Jalview Version 2—A multiple sequence alignment editor and analysis workbench. *Bioinformatics* **2009**, *25*, 1189–1191. [CrossRef] [PubMed]
28. Yang, J.; Yan, R.; Roy, A.; Xu, D.; Poisson, J.; Zhang, Y. The I-TASSER Suite: Protein structure and function prediction. *Nat. Methods* **2015**, *12*, 7–8. [CrossRef]
29. Zhang, Y. I-TASSER server for protein 3D structure prediction. *BMC Bioinform.* **2000**, *9*, 40. [CrossRef]
30. Stewart, J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *J. Mol. Model.* **2007**, *13*, 1173–1213. [CrossRef] [PubMed]
31. Becke, A.D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5648–5652. [CrossRef]
32. MacKie, I.D.; Dilabio, G.A. Accurate dispersion interactions from standard density-functional theory methods with small basis sets. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2010**, *12*, 6092–6098. [CrossRef] [PubMed]
33. Wavefunction Inc. LA. Spartan. 2018. Available online: [www.wavefun.com](http://www.wavefun.com) (accessed on 14 December 2020).
34. Thomsen, R.; Christensen, M.H. MolDock: A new technique for high-accuracy molecular docking. *J. Med. Chem.* **2008**, *49*, 3315–3321. [CrossRef]
35. Tetko, I.V.; Tanchuk, V.Y. Application of associative neural networks for prediction of lipophilicity in ALOGPS 2.1 program. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2002**, *42*, 1136–1145. [CrossRef]
36. Labadaridis, I.; Dimitriou, E.; Theodorakis, M.; Kafalidis, G.; Velegraki, A.; Michelakakis, H. Chitotriosidase in neonates with fungal and bacterial infections. *Arch. Dis. Child.* **2005**, *90*, 531–532. [CrossRef]
37. Van Dyken, S.J.; Locksley, R.M. Chitins and chitinase activity in airway diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2018**, *142*, 364–369. [CrossRef]
38. Pérez, D.J.; Zakai, U.I.; Guo, S.; Guzei, I.A.; Gómez-Sandoval, Z.; Razo-Hernández, R.S.; West, R.; Ramos-Organillo, A. Synthesis and biological screening of silicon-containing ibuprofen derivatives: A study of their NF- $\beta$  inhibitory activity, cytotoxicity, and their ability to bind IKK $\beta$ . *Aust. J. Chem.* **2016**, *69*, 662–671. [CrossRef]
39. ALOGPS 2.1. Virtual Computational Chemistry Laboratory. 2016. Available online: <http://www.vcclab.org/lab/alogps/> (accessed on 14 June 2021).
40. Hernández-López, H.; Leyva-Ramos, S.; Gómez-Durán, C.D.A.; Pedraza-Alvarez, A.; Rodríguez-Gutiérrez, I.R.; Leyva-Peralta, M.A.; Razo-Hernández, R.S. Synthesis of 1,4-biphenyl-triazole derivatives as possible 17 $\beta$ -HSD1 inhibitors: An in Silico Study. *ACS Omega* **2020**, *5*, 14061–14068. [CrossRef]
41. Raftani, M.; Abram, T.; Azaid, A.; Kacimi, R.; Bennani, M.N.; Bouachrine, M. Theoretical design of new organic compounds based on diketopyrrolopyrrole and phenyl for organic bulk heterojunction solar cell applications: DFT and TD-DFT study. *Mater. Today Proc.* **2021**, *45*, 7334–7343. [CrossRef]
42. Bourass, M.; Touimi Benjelloun, A.; Hamidi, M.; Benzakour, M.; Mcharfi, M.; Sfaira, M.; Serein-Spirau, F.; Lère-Porte, J.P.; Sotiropoulos, J.M.; Bouzzine, S.M.; et al. DFT theoretical investigations of  $\pi$ -conjugated molecules based on thienopyrazine and different acceptor moieties for organic photovoltaic cells. *J. Saudi Chem. Soc.* **2016**, *20*, S415–S425. [CrossRef]
43. Kerru, N.; Gummidu, L.; Bhaskaruni, S.V.H.S.; Maddala, S.N.; Singh, P.; Jonnalagadda, S.B. A comparison between observed and DFT calculations on structure of 5-(4-chlorophenyl)-2-amino-1,3,4-thiadiazole. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 19280. [CrossRef] [PubMed]
44. Marquina, S.; Maldonado-Santiago, M.; Sánchez-Carranza, J.N.; Antúnez-Mojca, M.; González-Maya, L.; Razo-Hernández, R.S.; Alvarez, L. Design, synthesis and QSAR study of 2'-hydroxy-4'-alkoxy chalcone derivatives that exert cytotoxic activity by the mitochondrial apoptotic pathway. *Bioorg. Med. Chem.* **2019**, *27*, 43–54. [CrossRef] [PubMed]
45. Zhao, Y.; Truhlar, D.G. Applications and validations of the Minnesota density functionals. *Chem. Phys. Lett.* **2011**, *502*, 1–13. [CrossRef]
46. Rao, F.V.; Houston, D.R.; Boot, R.G.; Aerts, J.M.F.G.; Hodgkinson, M.; Adams, D.J.; Shiomi, K.; Omura, S.; Van Aalten, D.M.F. Specificity and affinity of natural product cyclopentapeptide inhibitors against *A. fumigatus*, human, and bacterial chitinases. *Chem. Biol.* **2005**, *12*, 65–76. [CrossRef]
47. Laborda, P.; Sayago, E.J.; Cativiela, C.; Gotor, V. Synthesis of trans-fused octahydroindole-1-carboxylic acids. *Lett. Org. Chem.* **2018**, *15*, 404–411. [CrossRef]
48. Viveros-Ceballos, J.L.; Martínez-Toto, E.; Eustaquio-Armenta, C.; Cativiela, C.; Ordóñez, M. First and highly stereoselective synthesis of both enantiomers of octahydroindole-2-phosphonic acid (Oic P). *Eur. J. Org. Chem.* **2017**, *45*, 6781–6787. [CrossRef]
49. Ghirardi, E.; Griera, R.; Picciche, M.; Molins, E.; Fernández, I.; Bosch, J.; Amat, M. Stereocontrolled access to enantiopure 7-substituted cis- and trans-octahydroindoles. *Org. Lett.* **2016**, *18*, 5836–5839. [CrossRef]
50. Brameld, K.A.; Shrader, W.D.; Imperiali, N.; Goddard, W.A. Substrate assistance in the mechanism of family 18 chitinases: Theoretical studies of potential intermediates and inhibitors. *J. Mol. Biol.* **1998**, *280*, 913–923. [CrossRef]

51. Jitnonn, J.; Lee, V.S.; Nimmanpipug, P.; Rowlands, H.A.; Mulholland, A.J. Quantum mechanics/molecular mechanics modeling of substrate-assisted catalysis in family 18 chitinases: Conformational changes and the role of Asp142 in catalysis in ChiB. *Biochemistry* **2011**, *50*, 4697–4711. [[CrossRef](#)]
52. Van Aalten, D.M.F.; Komander, D.; Synstad, B.; Gåseidnes, S.; Peter, M.G.; Eijsink, V.G.H. Structural insights into the catalytic mechanism of a family 18 exo-chitinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *98*, 8979–8984. [[CrossRef](#)]
53. Coines, J.; Alfonso-Prieto, M.; Biarnés, X.; Planas, A.; Rovira, C. Oxazoline or oxazolinium ion? The protonation state and conformation of the reaction intermediate of chitinase enzymes revisited. *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 19258–19265. [[CrossRef](#)]
54. Pinto, A.; Griera, R.; Molins, E.; Fernández, I.; Bosch, J.; Amat, M. Access to enantiopure 5-, 7-, and 5,7-substituted cis-decalhydroquinolines: Enantioselective synthesis of (-)-Cermizine B. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 1714–1717. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Fischer, A.; Smiesko, M.; Sellner, M.; Lill, M.A. Decision making in structure-based drug discovery: Visual inspection of docking results. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 2489–2500. [[CrossRef](#)]
56. Antoine, D.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness, and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 42717.
57. Elmeligy, M.; Vourvahis, M.; Guo, C.; Wang, D.D. Effect of P-glycoprotein (P-gp) Inducers on Exposure of P-gp Substrates: Review of Clinical Drug-Drug Interaction Studies. *Clin. Pharmacokinet.* **2020**, *59*, 699–714. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]