



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS
DEPARTAMENTO DE SÍNTESIS ORGÁNICA, INSTITUTO DE QUÍMICA

QUÍMICA ORGÁNICA

“SÍNTESIS DE LA CAULERPINA Y SUS ANÁLOGOS. EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA Y ANTITUBERCULOSA”

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA

M. en C. CRISTINA ISABEL CANCHÉ CHAY

TUTOR

DR. ROBERTO MARTÍNEZ
INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

DR. JOSÉ GUSTAVO ÁVILA ZÁRRAGA
FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

DR. EDUARDO GONZÁLEZ ZAMORA
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIA QUÍMICAS

MÉXICO, D.F., ENERO DE 2015

El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio 2-11 del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la asesoría del Dr. Roberto Martínez, con el apoyo económico de la beca de doctorado otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (No. de becario 223436), de igual manera se contó con el financiamiento proporcionado por CONACyT (Proyecto No. 131295).

Los resultados de este trabajo fueron presentados en el:

- *46° Congreso Mexicano de Química Organizado por la Sociedad Química de México llevado a cabo en Querétaro en el 2011.*
- *Simposio interno del Instituto de Química, UNAM, en el 2011, 2012 y 2014.*
- *“QUIMIUNAM” organizado por el Posgrado en Ciencias Químicas de la UNAM en el 2013.*
- *15th Tetrahedron Symposium “Challenges in Bioorganic & Organic Medicinal Chemistry” llevado a cabo en Londres, Inglaterra en el 2014.*

Asimismo, los resultados de este proyecto de investigación fueron publicados en la revista Marine Drugs con el título:

“Synthesis and Anti-Tuberculosis Activity of the Marine Natural Product Caulerpin and Its Analogues”. Mar. Drugs. 2014, 12, 1757-1772.

A Dios por brindarme fortaleza y perseverancia en los momentos más difíciles.

A mi esposo, por apoyarme a realizar cada uno de mis sueños, por caminar a mi lado y por sus palabras de aliento en los momentos que más los necesitaba.

Con mucho cariño a mi madre María Chay Canul, mis hermanas y a Elsa Ma. Canul Poot.[†]

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roberto Martínez por toda la asesoría y la especial dedicación brindada durante mis estudios de posgrado, así como por permitirme formar parte de su grupo de trabajo.

A los miembros de mi comité tutor: Dr. Gustavo Ávila Zárraga y Dr. Eduardo González Zamora, por las observaciones y recomendaciones brindadas en el transcurso del desarrollo de este trabajo.

A los miembros del H. jurado: Dr. Luis Gerardo Zepeda Vallejo, Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez, Dr. Rubén Trinidad Sánchez Obregón, Dr. Gustavo Ávila Zárraga y al Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano por los comentarios y la revisión cuidadosa que contribuyeron a enriquecer este trabajo.

Al M. en C. Antonio Nieto Camacho por su amable colaboración en las pruebas de actividad antiinflamatoria.

A la Dra. Clara I. Espitia Pinzón, M. en C. Erika Segura Salinas y a la Bióloga Rocío Gómez Cancino por su valiosa colaboración en las pruebas antimicobacterianas.

Al personal técnico-académico del Instituto de Química de la UNAM por las facilidades brindadas para el uso de los equipos, así como por la entrega oportuna de los resultados: Ángeles Peña y Elizabeth Huerta (RMN), Rocío Patiño (IR), Javier Pérez y L. Velasco (EM) y M. P. Orta (Análisis elemental).

A la Q.F.B. Josefina Tenopala y al personal del posgrado en Ciencias Químicas por el apoyo eficaz en cada trámite que se presentó durante mis estudios de posgrado.

Al Dr. Rubén Omar Torres Ochoa y Dr. Paul E. Reyes Gutiérrez por la asesoría brindada y por compartir una parte de sus conocimientos.

A mi grupo de trabajo: Carmen y Maricela Morales, Marlene Hernández, Lizbeth Triana, Yaquelinne Nieves, Salomón Jacinto, Ever Blé, Diego Gallegos, Daniel Maldonado,

Gustavo Pretelín, Rosa Chávez y Anielka Rosado por el apoyo y amistad brindada durante mi estancia en el Instituto de Química.

A Estela Lazo por su amistad, el tiempo, la ayuda y los consejos en los momentos más difíciles.

A la Dra. Delia Lucas y familia por abrir las puertas de su hogar y por las atenciones otorgadas en todo momento.

A la Dra. Gaby Torres por los consejos, los comentarios asertivos, las estrategias, por ayudarme a establecer metas y objetivos, por ayudar a levantarme y no dejar que me diera por vencida, mi más profundo agradecimiento.

A CONACyT por la beca otorgada (No. 223436) para realizar mis estudios de posgrado.

A la UNAM por permitirme formar parte de su comunidad universitaria, por las facilidades brindadas para la consulta de material bibliográfico, así como por el uso de sus instalaciones.

"Por mi raza hablará el espíritu"

ÍNDICE

Abreviaturas y fórmulas	i
Resumen	iv
Abstract	v
I. Introducción	1
II. Antecedentes	3
1. Un producto natural marino: la Caulerpina	3
2. Reactividad del indol frente a electrófilos	5
3. Reactividad del indol frente a los radicales libres	6
4. Formación de enlaces C-C mediante el uso de los xantatos	7
5. Sustitución radical-oxidativa aromática	9
6. La tuberculosis	11
7. La inflamación	14
III. Hipótesis	17
IV. Objetivo	17
1. Objetivo general	17
2. Objetivos específicos	17
V. Análisis retrosintético	18
VI. Discusión de resultados	19
1. Síntesis de la Caulerpina (1a)	19
2. Síntesis de los análogos de la Caulerpina (1b–1h)	26
VII. Pruebas biológicas	31
1. Actividad antiinflamatoria	31
2. Actividad antituberculosa	32
VIII. Conclusiones	34
IX. Sección experimental	35
1. Detalles generales	35
2. Metodología:	36
2. 1. Síntesis del 1-bencil- <i>1H</i> -indol-3-carbaldehído (14b)	36
2. 2. Procedimiento general para la síntesis de los indoles-3-carbaldehídos (29b y 29e–29i)	37

2. 3. Síntesis del 2-(etoxicarbonil) malonato de dietilo (28)	39
2. 4. Síntesis del 2-(etoxicarbonil) acetato de metilo (33)	40
2. 5. Procedimiento general para la síntesis de los derivados 2-(3-formil-1 <i>H</i> -indo-2-il) malonato de dietilo (27a–27h)	40
2. 6. Síntesis del 2-(3-formil-5-nitro-1 <i>H</i> -indol-2-il) malonato de dietilo (27i)	45
2. 7. Procedimiento general para la síntesis de los derivados de 2-(3-formil-1 <i>H</i> -indol-2-il) acetato de metilo (26a–26d y 26f–26g)	45
2. 8. Procedimiento general para la síntesis de 26d y 26e	48
2. 9. Reacción de dimerización del 2-(1-bencil-3-formil-1 <i>H</i> -indol-2-il) acetato de metilo (34)	49
2. 10. Procedimiento general para la síntesis de la Caulerpina (1a) y sus análogos (1b–1g)	50
2. 11. Síntesis del análogo 1h	54
X. Pruebas biológicas	55
1. Metodología para la evaluación de la actividad anti-inflamatoria	55
2. Metodología para la evaluación de la actividad antituberculosa	56
XI. Anexo	59
XII. Anexos de espectros	76

Abreviaturas y fórmulas

AcOEt	Acetato de etilo
AIBN	2,2'-Azobisisobutironitrilo
AINEs	Anti-inflamatorios no esteroideos
BBr ₃	Bromuro de boro (III)
Bu ₃ SnH	Hidruro de tri- <i>n</i> -butilestaño
BnBr	Bromuro de bencilo
°C	Grados Celsius
CaCl ₂	Cloruro de calcio
ccf	Cromatografía en capa fina
CDCl ₃	Cloroformo deuterado
CD ₃ COCD ₃	Acetona hexadeuterada
CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
CH ₃ CN	Acetonitrilo
COX	Ciclooxigenasa
δ	Desplazamiento químico
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCE	Dicloroetano
DLP	Peróxido de dilauroílo
DMF	<i>N,N</i> -Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMSO- <i>d</i> ₆	Dimetilsulfóxido hexadeuterado
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
EMFAB	Espectrometría de masas por bombardeo rápido de electrones
EMIE	Espectrometría de masas por impacto electrónico
Et ₃ B	Trietilborano
eV	Electrón voltios
FDA	Siglas en inglés de "Food and Drug Administration" (Agencia de Alimentos y Drogas)
g	Gramos
h	Hora

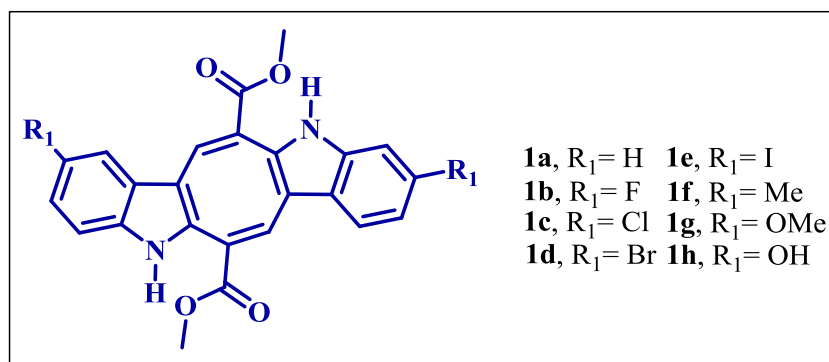
HCl	Ácido clorhídrico
H ₂ O	Agua
Hx	Hexano
IC ₅₀	Concentración inhibitoria 50
IR	Espectroscopía de infrarrojo
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
KBr	Bromuro de potasio
KHCO ₃	Bicarbonato de potasio
KHSO ₄	Bisulfato de potasio
KMnO ₄	Permanganato de potasio
KOH	Hidróxido de potasio
log	Logaritmo
LT	Leucotrienos
M	Molar
[M] ⁺	Ión molecular M ⁺
MDR-TB	Cepas de TB multi-resistentes a los fármacos de primera línea
MeI	Yoduro de metilo
MeOH	Metanol
µg	Microgramos
mg	Miligramos
MgSO ₄	Sulfato de magnesio
MHz	Megahertz
min	Minutos
µL	Microlitros
mL	Mililitros
µm	Micrómetro
µM	Micromolar
µmol	Micromol
mm	Milímetro
mmol	Milimol
<i>m/z</i>	Relación masa carga

NaCl	Cloruro de sodio
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sodio
NaH	Hidruro de sodio
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NaOMe	Metóxido de Sodio
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sodio
nm	Nanómetro
nM	Nanomolar
OMS	Organización Mundial de la Salud
p.f.	Punto de fusión
PG	Prostaglandinas
POCl ₃	Oxicloruro de fósforo
ppm	Partes por millón
RMN- ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN- ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
t.a.	Temperatura ambiente
TB	Tuberculosis
THF	Tetrahidrofurano
TMS	Tetrametilsilano
TPA	Acetato de 12- <i>O</i> -tetradecanoilforbol
TX	Tromboxanos
ufc	Unidades formadoras de colonias
UV	Radiación ultravioleta
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
% v/v	Porcentaje volumen/volumen
XDR-TB	Cepas de TB extremadamente resistentes a los fármacos de primera y segunda línea.

Resumen

La Caulerpina (**1a**) es un alcaloide bis-indólico aislado del alga *Caulerpa racemosa* y *C. serrulata* en cantidades muy pequeñas, de la cual únicamente se ha descrito una síntesis con bajo rendimiento. También se ha informado que tiene diversas actividades biológicas y que es de baja toxicidad.

El presente trabajo describe la síntesis de **1a** en tres pasos, con un rendimiento global del 25%, y seis análogos (**1b–1g**) con rendimientos globales entre 5 y 17%, mediante una secuencia que involucra una reacción de Vilsmeier-Haack, una reacción de sustitución radical oxidativa aromática, descarboxilación y transesterificación y finalmente una condensación aldólica. El compuesto bis-indólico **1h** se preparó mediante la desmetilación del análogo metoxilado **1g**.



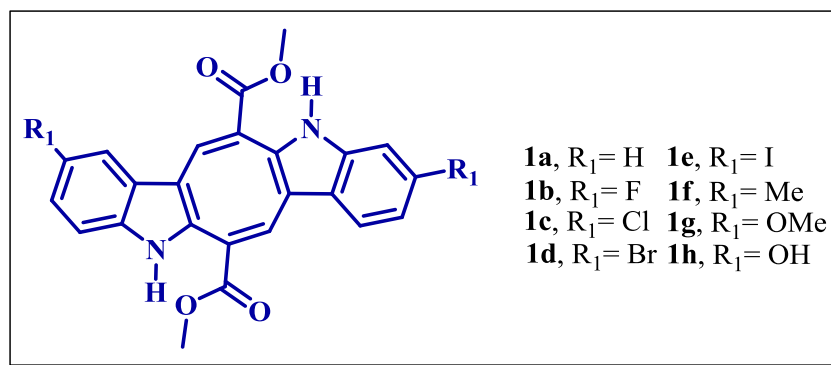
También se evaluó la actividad anti-inflamatoria de **1a** y de sus análogos (**1b–1h**); no obstante, únicamente **1a** provocó una inhibición de la inflamación del 50% en modelo de edema inducido por TPA en oreja de ratón.

Asimismo, se realizó el estudio de la actividad antituberculosa de los compuestos **1a–1h** sobre la cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*. La IC₅₀ de **1a**, **1b**, **1d** y **1e** está en el intervalo de 0.24 μM a 3.98 μM, resultando la Caulerpina dos veces más activo (IC₅₀ = 0.24 μM) que el fármaco de referencia rifampicina (IC₅₀ = 0.55 μM).

Abstract

Caulerpin (**1a**) is a bis-indolic alkaloid isolated from *Caulerpa racemosa* and *C. serrulata* in small quantities. Only one synthesis has been reported in low yield, also it was reported to have many biological activities and low toxicity.

In this work, **1a** was synthesized in three steps sequence with an overall yield of 25%. Similarly, its analogues (**1b–1g**) were prepared with overall yields between 5 and 17%; the synthetic pathway started from the Vilsmeier-Haack reaction, followed by a radical oxidative aromatic substitution reaction, decarboxylation and transesterification and an aldolic condensation. On the other hand, the bis-indolic compound **1h** was prepared from analogue **1g** through a demethylation reaction.



Furthermore, the anti-inflammatory activity of **1a** and its analogues (**1b–1g**) was evaluated; nevertheless only **1a** reduced the inflammation in a 50 percent by the TPA-induced ear edema in mice.

Likewise, in this work the first evaluation of anti-tuberculosis activity in **1a–1h** was informed against *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv. Compounds **1a**, **1b**, **1d** and **1e** displayed IC₅₀ values ranging from 0.24 μM to 3.98 μM. The compound **1a** showed the best result (IC₅₀ = 0.24 μM) being twice more potent than rifampin (IC₅₀ = 0.55 μM).

I. Introducción

El desarrollo de cepas resistentes y los efectos secundarios de los fármacos actualmente disponibles para el tratamiento de las enfermedades, han hecho necesaria la búsqueda de nuevos fármacos que eventualmente pudieran tener una mayor eficacia. En este contexto, desde tiempos remotos los productos naturales han sido utilizados como una fuente para la obtención de compuestos para tratar diferentes enfermedades, un ejemplo bien conocido es el aislamiento de salicina a partir de la corteza de *Salix alba* L., cuya modificación sintética generó el ácido acetilsalicílico (aspirina), actualmente utilizado como un anti-inflamatorio.¹

Como ejemplo de un producto natural de origen marino se puede mencionar a la Caulerpina (**1a**), la cual posee diversas actividades biológicas, entre ellas actividad antiviral;² no obstante, únicamente se ha descrito una síntesis de ella, en bajos rendimientos.³ Actualmente, **1a** es extraída del alga *Caulerpa* sp para lo cual son necesarias grandes cantidades de esta para sólo obtenerla en cantidades pequeñas (Figura 1).

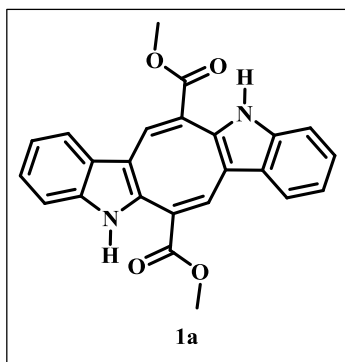


Figura 1. Estructura de la Caulerpina (**1a**).

Por otra parte, la tuberculosis (TB) es una enfermedad declarada, desde 1993, por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como un problema de salud emergente a nivel

¹ Dias, D. A.; Urban, S.; Roessner, U. *Metabolites*. **2012**, *2*, 303-336.

² a) Porto Vieira Macedo, N. R.; Ribeiro, M. S.; Villaça, R. C.; Ferreira, W.; Pinto, A. M.; Teixeira, V. L.; Cirne-Santos, C.; Paixão, I. C. N. P.; Giongo, V. *Braz. J. Pharmacogn.* **2012**, *22*, 861-867. b) Pinto, A. M.; Leite, J. P. G.; Ferreira, W. J.; Diana N.; Cavalcanti, D. N.; Villaça, R. C.; Giongo, V.; Teixeira, V. L.; Paixão I. C. N. P. *Braz. J. Pharmacogn.* **2012**, *22*, 813-817.

³ a) Maiti, B. C.; Thomson, R. H.; Mahendran, M. *J. Chem. Res. Synop.* **1978**, *4*, 126-127. b) Maiti, B. C.; Thomson, R. H.; Mahendran, M. *J. Chem. Res. (M)*. **1978**, 1682-1690.

mundial. Esta enfermedad ocasiona anualmente la muerte de millones de personas. Uno de sus principales problemas es el desarrollo de cepas resistentes a los fármacos de primera y segunda línea utilizados para su tratamiento, lo que hace necesario la administración a dosis mayores así como del uso de fármacos con mayor toxicidad. Adicionalmente, esta es una enfermedad presente en pacientes co-infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), lo que hace complicado el tratamiento de la TB.⁴

Por otro lado, los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) son utilizados para inhibir la inflamación, la cual es una forma en que se manifiestan diversas enfermedades como la artritis reumatoide, la osteoartritis, el asma, la aterosclerosis. Algunos mediadores de la inflamación han sido relacionados con diferentes tipos de cánceres, con enfermedades del sistema nervioso central; no obstante, el uso prolongado de los AINEs pueden llegar a ocasionar problemas gástricos, toxicidad renal o problemas cardiovasculares, entre otros, lo que genera la necesidad de encontrar nuevos compuestos que minimicen estos efectos colaterales.⁵

Por lo anterior, la búsqueda de fármacos que pudieran ser utilizados para tratar estas enfermedades representa una necesidad.

El presente trabajo describe la síntesis de la Caulerpina (**1a**) y sus análogos (**1b–1h**), usando como paso clave una reacción de sustitución radical oxidativa aromática. También, se describe la evaluación de su actividad anti-inflamatoria y su actividad antituberculosa sobre la cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*.

⁴ Global Tuberculosis Report **2013**. Disponible en línea: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (Consultado el 19 de marzo de 2014).

⁵ a) Praveen Rao, P. N.; Knaus, E. E. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **2008**, *11*, 81s-110s. b) Harrak, Y.; Casula, G.; Basset, J.; Rosell, G.; Plescia, S.; Raffa, D.; Cusimano, M. G.; Pouplana, R.; Pujol, M. *D. J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6560–6571.

II. Antecedentes

1. Un producto natural marino: la Caulerpina

Una fuente alternativa para la búsqueda de compuestos con actividad biológica son los productos naturales de origen marino. Hasta la fecha, la FDA (por sus siglas en inglés: Food and Drug Administration, Agencia de Alimentos y Drogas,) únicamente ha aprobado tres fármacos derivados de productos naturales marinos: cytarabine, ziconotide y vidarabine empleados para el tratamiento del cáncer, analgésico y antiviral, respectivamente.⁶

Por otra parte, entre los compuestos que han sido aislados de productos naturales marinos están los alcaloides indólicos o bis-indólicos, los cuales han atraído la atención ya que exhiben diversas actividades biológicas como la antiviral o la antibacteriana.⁷

En este contexto, la Caulerpina (**1a**) es un alcaloide de origen marino, que en su estructura posee dos grupos indólicos unidos por un anillo de ocho miembros, que contiene dos grupos carboximetilo, este producto fue aislado en 1970 del alga *Caulerpa racemosa*, *C. serrulata* y *C. sertularioides* con un rendimiento sobre peso seco de 0.55 a 0.63%.⁸ Adicionalmente, **1a** se ha logrado detectar en otras algas verdes, por ejemplo, *Codium decorticatum* y *Halimeda incrassate*,⁹ así como en el alga roja *Chondria armata*.¹⁰

Su síntesis, a partir del 2-(3-formil-1*H*-indol-2-il) acetato de metilo (**2**) con un rendimiento del 5% en un periodo de 2 días de reacción,³ permitió corregir su estructura (Esquema 1). Después se informó que **1a** tiene baja toxicidad¹¹ y posteriormente se ha

⁶ Mayer, A. M. S.; Glaser, K. B.; Cuevas, C.; Jacobs, R. S.; Kem, W.; Little, R. D.; McIntosh, J. M.; Newman, D. J.; Potts, B. C.; Shuster, D. E. *Trends. Pharmacol. Sci.* **2010**, *31*, 255-265.

⁷ a) Stevenson, C. S.; Capper, E. A.; Roshak, A. K.; Marquez, B.; Grace, K.; Gerwick, W. H.; Jacobs, R. S.; Marshall, L. A. *Inflamm. Res.* **2002**, *51*, 112-114. b) Oh, K. B.; Mar, W.; Kim, S.; Kim, J. Y.; Oh, M. N.; Kim, J. G.; Shin, D.; Sim, C. J.; Shin, J. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4927-4931. c) Wu, S. J.; Fotso, S.; Li, F.; Qin, S.; Kelter, G.; Fiebig, H. H.; Laatsch, H. *J. Antibiot (Tokyo)*. **2006**, *59*, 331-337. d) McArthur, K. A.; Mitchell, S. S.; Tsueng, G.; Rheingold, A.; White, D. J.; Grodberg, J.; Lam, K. S.; Potts, B. C. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1732-1737. e) Mayer, A. M. S.; Rodríguez, A. D.; Tagliatalata-Scafati, O.; Fusetani, N. *Mar. Drugs*. **2013**, *11*, 2510-2573.

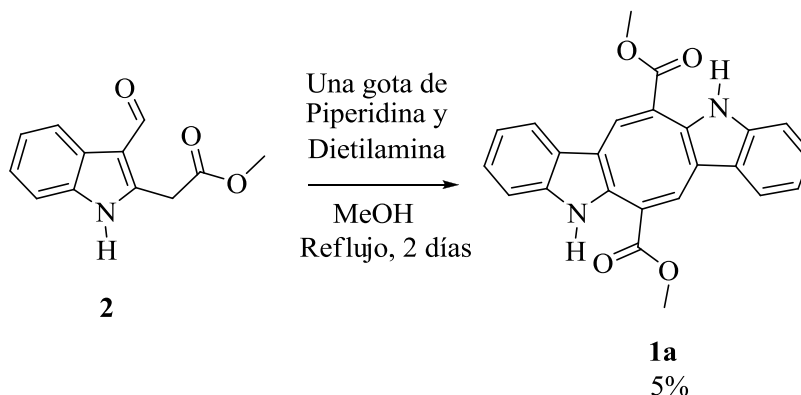
⁸ Aguilar-Santos, G. *J. Chem. Soc. C.* **1970**, 842-843.

⁹ a) Anjaneyulu, A. S. R.; Prakash, C. V. S.; Mallavadhani, U. V. *J. Indian Chem. Soc.* **1991**, *68*, 480. b) Yan, S.; Su, J.; Wang, Y.; Zeng, L. *Trop. Ocean.* **1999**, *18*, 91-94.

¹⁰ Govenkar, M. B.; Wahidulla, S. *Phytochemistry* **2000**, *54*, 979-981.

¹¹ Vidal, J. P.; Laurent, D.; Kabore, A.; Rechencg, E.; Boucard, M.; Girard, J. P.; Escale, R.; Rossi, J. C. *Bot. Mar.* **1984**, *27*, 533-537.

notificado que actúa como: regulador de crecimiento,¹² antitumoral,¹³ anti-inflamatorio y antinociceptivo,¹⁴ insecticida,¹⁵ inhibidor de la corrosión,¹⁶ antiherpes y antidiarreico.² Adicionalmente, en el 2013 se reportó su efecto espasmolítico.¹⁷



Esquema 1. Síntesis de **1a** reportada por Maiti y colaboradores.³

La simetría C_2 de **1a** y su estructura, aparentemente sencilla, así como las actividades biológicas informadas, han motivado a los químicos sintéticos a intentar realizar su síntesis. La descrita por Talaz utiliza cicloocta-1,5-diona y fenilhidrazina para obtener el esqueleto base de la Caulerpina (**4**), mediante una reacción de Fisher. Posteriormente, **4** fue transformado al análogo tetrasustituido (**6**) en dos pasos (Esquema 2).¹⁸

¹² Raub, M. F.; Cardellina II, J. H.; Schwede, J. G. *Phytochemistry*. **1987**, *26*, 619–620.

¹³ Ayyad, S. E. N.; Badria, F. A. Alex. *J. Pharm. Sci.* **1994**, *8*, 217.

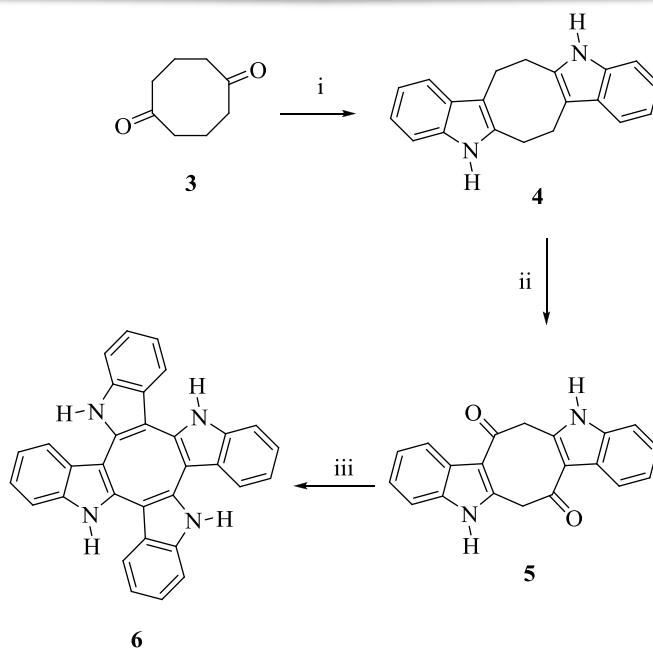
¹⁴ Tenório de Souza, E.; Pereira de Lira, D.; Cavalcanti de Queiroz, A.; Costa da Silva, D. J.; Bezerra de Aquino, A.; Campessato-Mella, E. A.; Prates-Lorenzo, V. C.; De Miranda, G. E.; Araújo-Júnior, J. X.; De Oliveira Chaves, M. C.; Barbosa-Filho, J. M.; De Athayde-Filho, P. F.; De Oliveira-Santos, B. V.; Alexandre-Moreira, M. S. *Mar. Drugs*. **2009**, *7*(4), 689-704.

¹⁵ Walied, M. A.; Zeinab S. A.; Seif-Eldin, N. A.; Sultan, S. A. *Clean-Soil. Air. Water*. **2010**, *38* (5–6), 548-557.

¹⁶ Kamal, C.; Sethuraman, M. G. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2012**, *51*, 10399-10407.

¹⁷ Cavalcante-Silva, L. H. A.; de Carvalho Correia, A. C.; Barbosa-Filho, J. M.; Araújo da Silva, B.; de Oliveira Santos, B. V.; Pereira de Lira, D.; Ferreira Sousa, J. C.; de Miranda, G. E. C.; de Andrade Cavalcante, F.; Alexandre-Moreira, M. S. *Mar. Drugs*. **2013**, *11*, 1553-1564.

¹⁸ Talaz, O.; Saracoglu, N. *Tetrahedron*. **2010**, *66*, 1902–1910.



Esquema 2. Síntesis del esqueleto de la Caulerpina (**4**) y su análogo tetrasustituido (**6**). Condiciones de reacción: (i) PhNHNH₂, AcOH-ZnCl₂ (53%); (ii) DDQ, THF-H₂O (90%); (iii) PhNHNH₂, ZnCl₂, EtOH (82%).

2. Reactividad del indol frente a electrófilos

Los indoles son bases muy débiles. El indol posee un pKa de 16.2. Su química es dominada por la sustitución electrofílica. De sus dos anillos, el anillo heterocíclico es muy rico en electrones en comparación con el anillo de benceno, por lo que el ataque de los electrófilos siempre se lleva a cabo en el anillo de cinco miembros, excepto en circunstancias especiales. El ataque electrofílico en la posición α del anillo de indol genera un intermediario que es estabilizado mediante un catión bencílico; sin embargo, su forma de resonancia asistida por el átomo de nitrógeno destruye la aromaticidad del ion benzonio. Por otra parte, el ataque electrofílico en la posición β del anillo genera un intermediario más estable debido a que forma una carga que puede ser estabilizada por los pares de electrones del átomo de nitrógeno sin interrumpir la aromaticidad en el anillo de benceno (Figura 2).¹⁹

¹⁹ Joule, J. A.; Mills, K. *Heterocyclic Chemistry*, Fifth Edition, Wiley, United Kingdom, 2010, pp. 369, 370, 373.



Intermediarios generados por el ataque de un electrófilo en la posición β del anillo de indol.

Intermediarios generados por el ataque de un electrófilo en la posición α del anillo de indol.

Figura 2. Intermediarios generados por ataque de un electrófilo en el anillo de indol.

A pesar de que la posición tres del anillo de indol es la favorecida en las reacciones de sustitución electrofílica, se ha reportado que el C-2 reacciona regioselectivamente mediante acoplamientos cruzados tanto en indoles activados o desactivados, utilizando diferentes catalizadores como Cu, Pd, Rh o Sn.²⁰

3. Reactividad del indol frente a los radicales libres

Los indoles reaccionan frente a los radicales libres de diferentes maneras, entre las que destacan las adiciones radicalarias intramoleculares y ciclaciones vía radicales. Con respecto a las adiciones intermoleculares para la creación de enlaces C-C en la posición C-2 o C-3 del anillo de indol, existen algunos métodos que utilizan Bu_3SnH y AIBN, y otros oxidantes con Mn(III), Fe(II), Cu (II) o Ce (IV); no obstante, la mayoría presentan inconvenientes como el uso de metales tóxicos, exceso de reactivos y los productos se generan en bajos rendimientos.²¹

²⁰ Boorman, T. C.; Larrosa, I. *Progress in Heterocyclic Chemistry*. **2011**, 22, 1-20.

²¹ a) Moody, C. J.; Norton, C. L. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 9051. b) Flanagan, S. R.; Harrowven, D. C.; Bradley, M. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 1795–1798. c) Bennasar, M. L.; Roca, T.; Ferrando, F. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 5605–5609. d) Chuang, C. P.; Wu, Y. L. *Tetrahedron*. **2004**, 60, 1841–1847. e) Androsov, D. A.; Kishbaugh, T. L. S.; Gribble, G. W. *Tetrahedron Lett.* **2008**, 49, 6621–6623. f) Pan, X. Q.; Lei, M. Y.; Zou, J. P.; Zhang, W. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 347–349. g) Badenock, J. C. Heterocyclic Scaffolds II: Reactions and Applications of Indoles. *Topics in Heterocyclic Chemistry*, ed. Gribble, G. W., Springer. **2010**, 26, pp, 235, 236. h) Wu, W.; Su, W. J. *Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 11924. i) Lopchuk, J. M.; Montgomery, W. L.; Jasinski, J. P.; Gorjifard, S.; Gribble, G. W. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 6142–6145.

Una alternativa para la creación de enlaces C-C mediante reacciones intermoleculares utilizando alquenos no activados, o en ciclaciones para generar diversos heterociclos aromáticos, es el uso de los xantatos y sus derivados. Estos compuestos han abierto el camino para la síntesis de nuevas estructuras aromáticas en rutas cortas de síntesis. Esta diversidad es consecuencia del amplio número de grupos funcionales que pueden estar presentes tanto en el xantato como en el sistema aromático y debido a que las condiciones de reacción son neutras y suaves. Adicionalmente, otra ventaja de los xantatos es que son accesibles económicamente.²²

La sal de potasio de ditiocarbonato de *O*-etilo, comercialmente disponible, es un excelente nucleófilo y una gran variedad de xantatos pueden ser preparados mediante el desplazamiento de un grupo saliente apropiado (por ejemplo haluros de alquilo, tosilatos, metilsulfonato, etc).²³

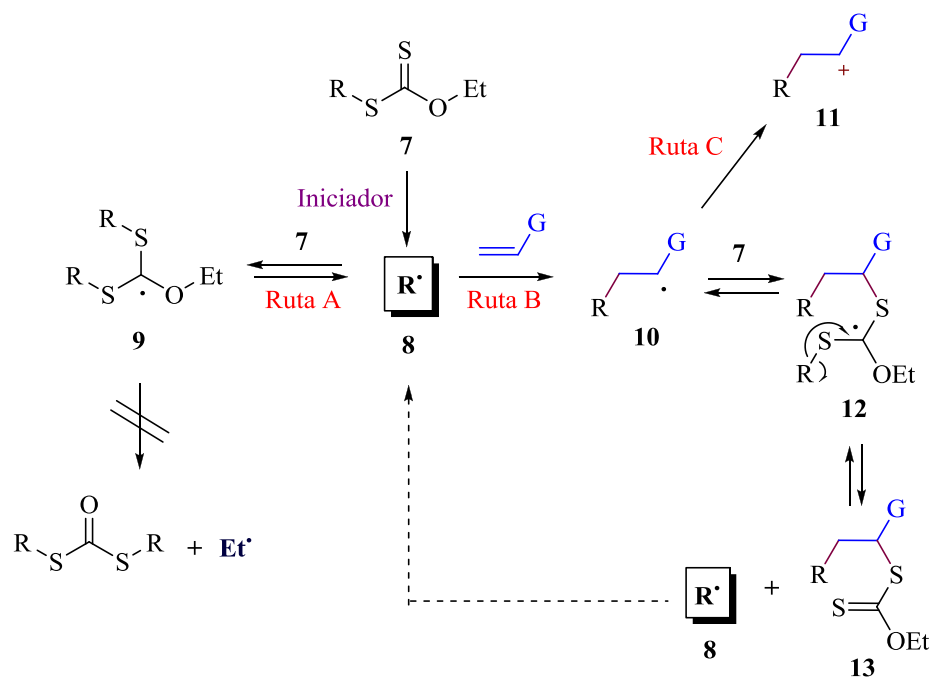
4. Formación de enlaces C-C mediante el uso de los xantatos

La química radicalaria de los xantatos ofrece una alternativa al uso de estaño para la formación de enlaces C-C mediante radicales libres y fue originalmente reportado por Zard.²³ La mayor ventaja en el uso de los xantatos es la adición-fragmentación reversible del radical alquilo del xantato, así como de otros tiocarbonilos relacionados, como se muestra en el mecanismo general (Esquema 3). Un iniciador produce el radical alquilo (**8**), el cual tiene tres posibles destinos, en la ruta A el radical **8** puede adicionarse a una segunda molécula del xantato **7** para dar el radical estabilizado **9**, este radical está demasiado impedido para dimerizarse, así que este paso puede ser reversible. Posteriormente, **9** puede fragmentarse tanto en el enlace C-S como en C-O, sin embargo, este último es raro debido a la fuerza del enlace C-O, así como la inestabilidad del radical etilo resultante. Por lo tanto, la ruptura homolítica del enlace C-S es la única ruta viable y en consecuencia, la formación de **9** es reversible y degenerativa. En la ruta B, la adición del radical **8** a un aceptor produce el radical **10** y la subsecuente adición de otro equivalente de **7** resulta en la generación del aducto **12**, este paso también puede ser reversible o bien puede formar el aducto **13** y el

²² El Qacemi, M.; Petit, L.; Quiclet-Sire, B.; Zard, S. Z. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5707–5719.

²³ Zard, S. Z. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, 672-685.

radical **8**. Para que la reacción en cadena tenga éxito, el radical **8** debe ser más estable que el aducto **10** a fin de que el equilibrio sea desplazado hacia la formación de **13**. Si el aducto **10** es menos estable, entonces la reacción puede ser forzada a continuar utilizando cantidades estequiométricas del iniciador. Adicionalmente, en la ruta C el radical **10** puede ser oxidado mediante la transferencia de electrones hacia un oxidante, pasando de un radical a una especie catiónica (**11**). Esta ruta es favorecida cuando el grupo G es una entidad que estabiliza al carbocatión formado y hay una especie oxidante en el medio.



Esquema 3. Mecanismo de reacción propuesto para la adición de los xantatos sobre olefinas.

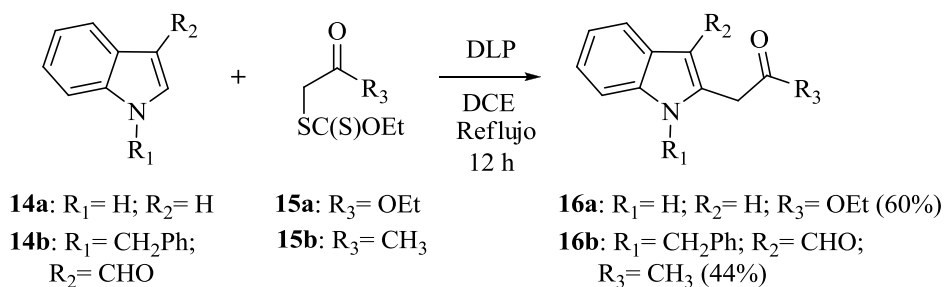
De acuerdo al mecanismo propuesto en el esquema **3**, la aparente prolongación del tiempo de vida del radical alquilo permite que sucedan las reacciones que son lentas o difíciles de llevar a cabo, incluyendo las adiciones intermoleculares, las cuales podrían proceder sin reacciones secundarias. Aunque los peróxidos orgánicos son generalmente empleados como iniciadores, también pueden ser usados otros iniciadores como los

diazocompuestos, una combinación de trietilborano (Et_3B) y oxígeno, y fotoquímicamente.²⁴

5. Sustitución radical-oxidativa aromática

Un método atractivo para la generación de enlaces C-C en heterociclos aromáticos es la reacción denominada sustitución radical oxidativa aromática, que es un proceso radical-iónico; en donde se forma un radical centrado en un átomo de carbono promovida por la fragmentación homolítica de un peróxido, la posterior transferencia de electrones hacia el peróxido genera una especie catiónica, la cual finaliza con la formación de sistemas aromáticos.

Este tipo de reacción fue reportada por Miranda y colaboradores,²⁵ quienes llevaron a cabo la alquilación radical oxidativa intermolecular sobre diferentes sistemas heterociclos como el indol, el pirrol, el furano y el tiofeno usando diversos xantatos. Cuando los indoles **14a** y **14b** se hicieron reaccionar con los xantatos **15a** y **15b**, utilizando el peróxido de dilauroílo (DLP) como agente iniciador de radicales libres y como un agente oxidante, se generaron los indoles **16a** y **16b** sustituidos en la posición C-2 con buena regioselectividad (Esquema 4).

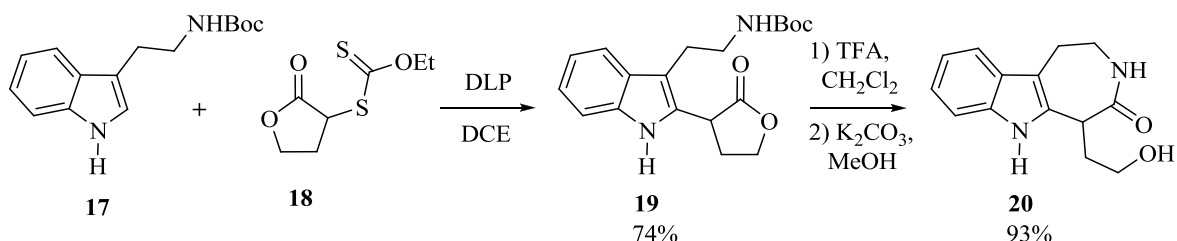


Esquema 4. Ejemplos de la sustitución radical oxidativa aromática en indoles.

²⁴ a) Quiclet-Sire, B.; Zard, S. Z. *Chem. Eur. J.* **2006**, *12*, 6002 – 6016. b) Rowlands, G. J. *Tetrahedron*. **2009**, *65*, 8603–8655.

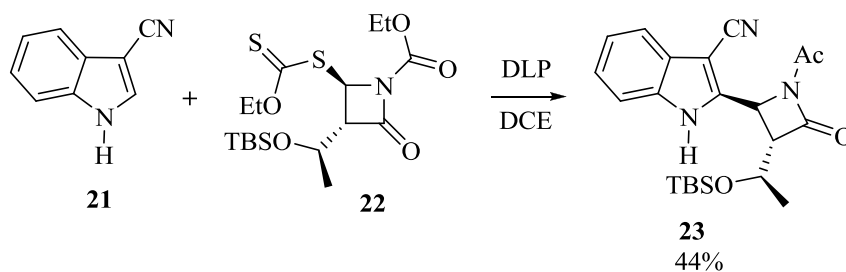
²⁵ Osornio, Y. M.; Cruz-Almanza, R.; Jiménez-Montaño, V.; Miranda, L. D. *Chem. Commun.* **2003**, 2316–2317.

También, en nuestro grupo de trabajo se prepararon diversas indoloazepinonas utilizando como materia prima la triptamina protegida (**17**), y cuando se usó el xantato (**18**) se obtuvo el indol *C*-2 alquilado (**19**) en un 74% de rendimiento, cuya posterior desprotección y ciclación generó la azepinona **20**, en excelente rendimiento (Esquema 5).²⁶



Esquema 5. Obtención de una azepinona **20** partiendo de la triptamina protegida (**17**) mediante la sustitución radical oxidativa aromática.

Otro ejemplo de la síntesis de una molécula compleja, llevada a cabo mediante la sustitución radicalaria, es la formación de **23**, cuya estructura contiene una β -lactama unida a la posición *C*-2 de un indol (Esquema 6).²⁷



Esquema 6. Obtención de una β -lactama (**23**) partiendo del indol (**21**) mediante la sustitución radicalaria.

²⁶ Reyes-Gutiérrez, P. E.; Torres-Ochoa, R. O.; Martínez, R.; Miranda, L. D. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1388–1396.

²⁷ Quiclet-Sire, B.; Zard, S. Z. *Heterocycles*. **2010**, *82*, 263.

6. La tuberculosis

La tuberculosis (TB) es una enfermedad crónica ocasionada principalmente por *Mycobacterium tuberculosis* que causa la muerte de millones de personas cada año y es la segunda causa de muerte a nivel mundial ocasionado por un solo agente infeccioso, después del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). En el 2012, la OMS (Organización Mundial de la Salud) informó que alrededor de 8.6 millones de personas fueron infectadas con el bacilo de TB, de los cuales 1.3 millones fueron muertes ocasionadas por TB y 320 000 fueron muertes resultantes de la co-infección del VIH y TB.⁴

Los fármacos que se utilizan para el tratamiento de TB se han clasificado: en fármacos de primera, segunda y tercera línea. Los fármacos de primera línea son: la estreptomina, la rifampicina, la pirazinamida, el etambutol y la isoniazida; entre sus efectos colaterales se pueden mencionar intolerancia o toxicidad, dando como resultado la interrupción del tratamiento o cambios en el régimen.²⁸ Los fármacos de segunda línea son menos efectivos que los de primera línea y se han clasificado en seis tipos: 1) los aminoglicósidos inyectables: amikacina y kanamicina, 2) polipéptidos inyectables: capreomicina, viomicina, y enviomicina, 3) fluoroquinolonas orales o inyectables: ciprofloxacino, moxifloxacino y levofloxacino, 4) tioamidas de aplicación oral (protionamida, etionamida), 5) cicloserina, y 6) ácido *p*-aminosalicílico de uso oral. Los fármacos de tercera línea se consideran no muy eficientes o cuya eficacia aún no está bien establecida. Entre éstos se encuentran el linezolid, la rifabutina, la claritromicina, la vitamina D, la tioacetazona, la tioridazina y la arginina (Figura 3).²⁹

²⁸ Zumla, A.; Nahid, P.; Cole, S. T. *Nature Reviews: Drug Discovery*. **2013**, *12*, 388-404.

²⁹ Rawat, B.; Rawat, D. S. *Med. Res. Rev.* **2013**, *33*, 693–764.

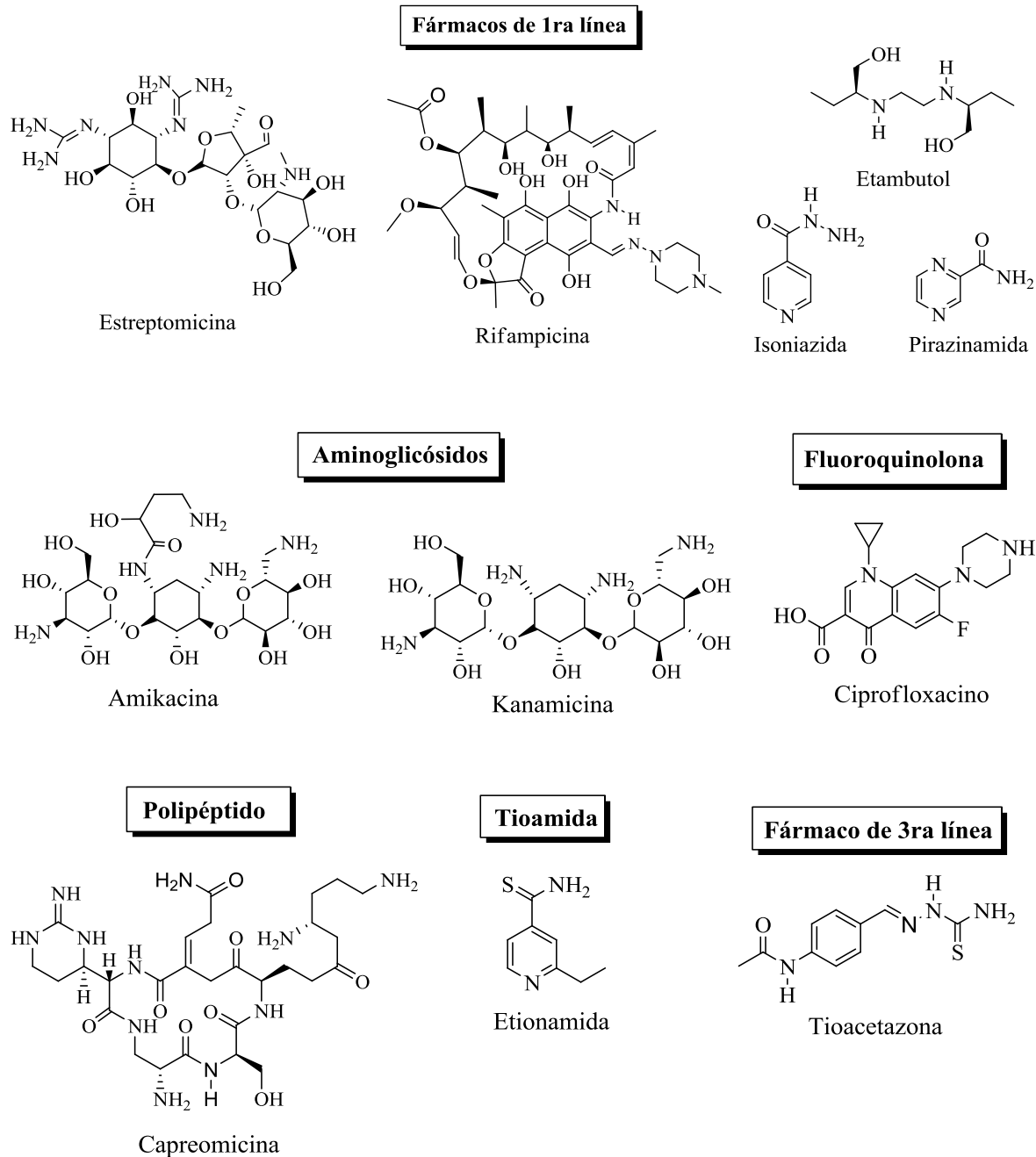


Figura 3. Ejemplos de fármacos de primera, segunda y tercera línea utilizados para el tratamiento de la TB.

Cabe mencionar que uno de los principales problemas para el tratamiento de esta enfermedad es la generación de cepas multi-resistentes a los fármacos de primera línea (MDR-TB). En el 2012, la OMS reportó que a nivel mundial aproximadamente 450 000 personas desarrollaron MDR-TB, mientras que 170 000 fueron muertes ocasionadas por MDR-TB.⁴ Adicionalmente, han surgido cepas que son extremadamente resistentes (XDR-TB) a la isoniazida, la rifampicina y al menos tres de los seis tipos de fármacos clasificados como los de segunda línea.³⁰ Asimismo, recientemente se ha reportado la resistencia total de las cepas de *M. tuberculosis* hacia todos los fármacos de primera y segunda línea (TDR-TB) que actualmente se encuentran disponibles.³¹

Aunado a esto, en el 2013 Muhammaad y colaboradores reportaron que los fármacos de primera línea contra *M. tuberculosis* son potencialmente citotóxicos y mutagénicos, principalmente si son administrados en combinación.³²

Para el control global de esta epidemia, hay una urgente necesidad del desarrollo de nuevos fármacos, las cuales permitan un tiempo corto de tratamiento, que tengan como blanco a las cepas MDR-TB o XDR-TB, además de que simplifiquen el tratamiento mediante la reducción de la cantidad de fármaco administrado y que puedan ser co-administrados con los medicamentos anti-retrovirales.

³⁰ Kumar, P.; Rawat, P.; Singh, P. *Int. J. Pharma. Sci. Res.* **2013**, *4*, 2080-2093.

³¹ Udhwadia, Z. F.; Amale, R. A.; Ajbani, K. K.; Rodrigues, C. *Clin. Infect. Dis.* **2012**, *54*, 579–581.

³² Riffat, F.; Muhammad, A.; Sohail, E.; Muhammad, A. R.; Imran, A.; Misbah, A.; Zainab, B.; Umer, S.; Khaleeq, A. *Environ. Toxic. Pharma.* **2013**, *36*, 501-513.

7. La inflamación

La inflamación es una respuesta defensiva fisiológica, a través del cual un tejido vascularizado responde a los estímulos internos o externos que han lesionado su integridad. Esta respuesta puede ser provocada por muchas y variadas causas. Las más comunes son todos aquellos factores externos o internos, que pueden dañar las células del cuerpo. Se pueden clasificar en varios grupos: 1) las infecciones por virus, hongos, bacterias o parásitos, 2) los golpes y las fracturas, 3) el calor excesivo, 4) las heridas, 5) las radiaciones, 6) el daño tisular causado por sustancias químicas o las cirugías y 7) numerosas enfermedades degenerativas o autoinmunes, por ejemplo, la artritis reumatoide.

En el curso de las reacciones inflamatorias participan un conjunto pequeño de mediadores lipídicos, entre estos se encuentran las prostaglandinas (PG), los tromboxanos (TX) o los leucotrienos (LT). Los PG y TX se forman por acción de las isoenzimas conocidas como las ciclooxigenasas (COX).³³

Para el tratamiento de la inflamación generalmente se utilizan fármacos esteroidales, no esteroidales, o una combinación de ambos.³⁴ Entre los fármacos antiinflamatorios no esteroidales (AINEs o NSAIDs en inglés) se encuentran la aspirina, la indometacina, el diclofenaco, entre otros. Estos producen su efecto terapéutico por la inhibición de la COX, la cual cataliza la conversión del ácido araquidónico en PG. Entre los inconvenientes de los AINEs se pueden mencionar que la mayoría de ellos tienen una vida media corta, lo cual induce a su administración a elevadas dosis, mientras que algunos de ellos son hepatotóxicos o pueden ocasionar problemas gástricos.³⁵

Por otra parte, a principios de 1990's se reportó la presencia de una forma inducible de la enzima ciclooxigenasa, actualmente conocida como la COX-2; este descubrimiento guió a la hipótesis de que los efectos secundarios de los AINEs tales como irritación, úlceras y perforación gástrica son debidas a la inhibición no selectiva de la COX-1, la cual es una

³³ a) Rosenberg, H. F.; Gallin, J. J.; Inflammation, In: Paul, W. E. *Fundamental Immunology*. 4th Lippincott Williams & Wilkins, **1996**. Chap. 32. b) Reyes García, M. G.; Izquierdo Sánchez T.; García Tamayo, F. *Inflamación: Mecanismos bioquímicos e inmunológicos del daño tisular y bases farmacológicas de su tratamiento*. Serie académicos CBS. Talleres Gráficos del Departamento de Publicaciones de Rectoría General de la Universidad Autónoma Metropolitana. **2006**, pp. 11-17. c) Iwasaki, A.; Medzhitov, R. *Science*. **2010**, 327, 291-295.

³⁴ Rainsford, K. D. *Sub-cellular Biochemistry*. **2007**, 42, 3-27.

³⁵ a) Vane, J. R.; Botting, R. M. *Am. J. Med.* **1998**, 104, 2s-8s. b) Praveen, P. N. R.; Saad, N. K.; Tarek, M. *Pharmaceuticals*. **2010**, 3, 1530-1549.

isoenzima constitutiva. La expresión de la COX-2, la cual es inducida en los procesos inflamatorios, ha llevado a la búsqueda de nuevos inhibidores selectivos con la finalidad de evitar los efectos colaterales gástricos. Entre los inhibidores selectivos de la COX-2 más relevantes se encuentran el celecoxib, el rofecoxib y valdecoxib (Figura 4).³⁶ No obstante, en 2004 y posteriormente en 2005, rofecoxib y valdecoxib fueron retirados del mercado debido a que éstos incrementan el riesgo de eventos cardiovasculares trombóticos.^{5,37}

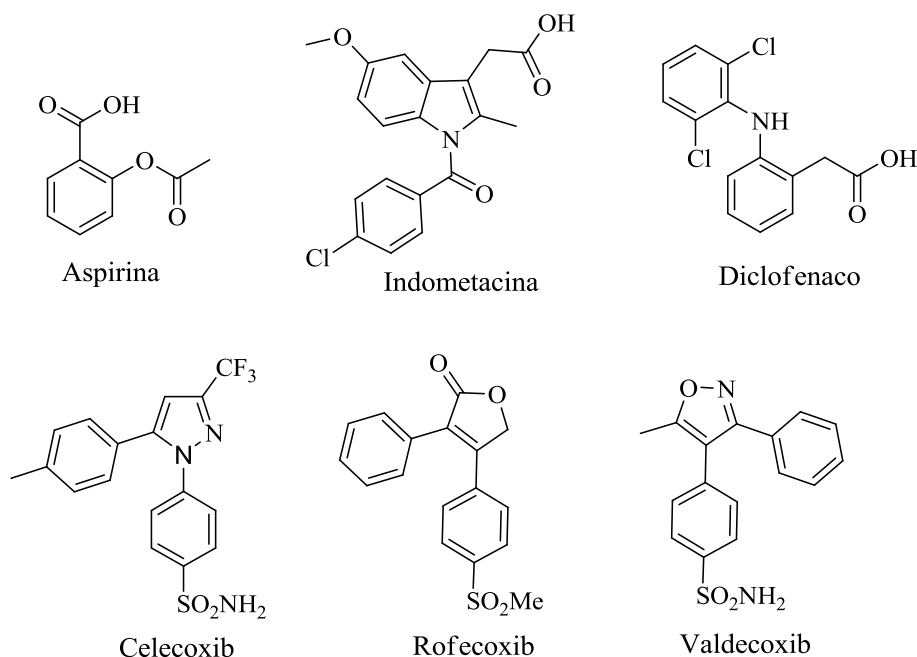


Figura 4. Ejemplos de fármacos antiinflamatorios.

Es oportuno mencionar que en 2003 se reportó la síntesis de los derivados del indol sustituidos en la posición 5 (**24a–24e** y **25a–25d**), a los cuales se le determinó su IC₅₀ *in vitro* contra la COX-1 y 2, observando una selectividad hacia la COX-2 para algunos de los compuestos sintetizados, siendo **24a** el más activo comparado con el fármaco de referencia celecoxib; demostrando con esto que el anillo del indol puede ser considerado una

³⁶ a) Raz, A.; Wyche, A.; Siegel, N.; Needleman, P. *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 3022-3028. b) Fu, J. Y.; Masferrer, J. L.; Siebert, K.; Raz, A.; Needleman, P. *J. Biol. Chem.* **1990**, *265*, 16737-16740. c) Kurumbail, R. G.; Stevens, A. M.; Gierse, J. K.; McDonald, J. J.; Stegeman, R. A.; Pak, J. Y.; Gildehaus, D.; Miyashiro, J. M.; Penning, T. D.; Seibert, K.; Isakson, P. C.; Stallings, W. C. *Nature*. **1996**, *384*, 644-648. d) Vane, J. R.; Bakhle, Y. S.; Botting, R. M. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **1998**, *38*, 97-120. e) Garavito, R. M.; Mulichak, A. M. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **2003**, *32*, 183-206. f) Smith, W. L.; Urade, Y.; Jakobsson, Per-Johan. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 5821-5865.

³⁷ Oitate, M.; Hirota, T.; Murai, T.; Miura, S.; Ikeda, T. *Drug. Metab. Dispos.* **2007**, *35*, 1846-1852.

estructura clave para una nueva clase de inhibidores potenciales selectivos de la COX-2 (Tabla 1).³⁸ Adicionalmente, el núcleo del indol ha sido considerado como una estructura privilegiada ya que forma parte de diversos compuestos que poseen una amplia gama de actividades biológicas.³⁹

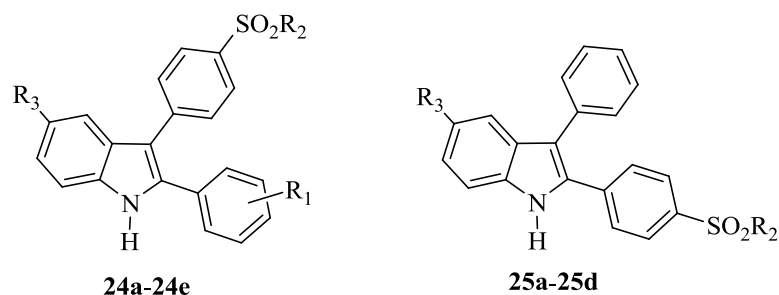


Tabla 1. IC₅₀ de los derivados del indol contra la COX-1 y 2.

Compuesto	Sustituyentes			IC ₅₀ (nM) COX-2	IC ₅₀ (μM) COX-1
	R ₁	R ₂	R ₃		
24a	H	CH ₃	5-Cl	0.27	>10
24b	2-F	CH ₃	5-Cl	1.76	>10
24c	4-CH ₃	CH ₃	5-Cl	1.68	>10
24d	4-OCH ₃	CH ₃	5-Cl	2.81	>10
24e	4-SO ₂ CH ₃	CH ₃	5-Cl	1.48	>10
25a	CH ₃		5-F	5	>10
25b	NH ₂		5-Cl	0.14	>10
25c	CH ₃		5-Cl	0.36	>10
25d	CH ₃		5-CH ₃	0.28	>10
Celecoxib				0.52	>10

³⁸ a) Hu, W.; Guo, Z.; Yi, X.; Guo, C.; Chu, F.; Cheng, G. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 5539–5544. b) Hu, W.; Guo, Z.; Chu, F.; Bai, A.; Yi, X.; Cheng, G.; Li, J. *Bioorg. Med. Chem.* **2003**, *11*, 1153–1160.

³⁹ a) Rodrigues de Sá Alves, F.; Barreiro, E. J.; Manssour Fraga, C. A. *Mini-Review. Med. Chem.* **2009**, *9*, 782-793. b) Sharma, V.; Kumar, P.; Pathak, D. *J. Heterocyclic Chem.* **2010**, *47*, 491-502.

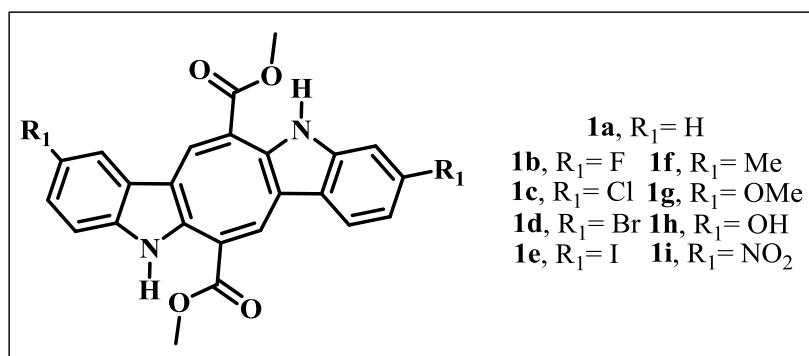
III. Hipótesis

Es posible encontrar un método de síntesis que permita obtener la Caulerpina (**1a**) y sus análogos (**1b–1i**) en buenos rendimientos y entonces realizar la evaluación de su actividad antiinflamatoria y antituberculosa.

IV. Objetivo

1. Objetivo general

Desarrollar una metodología para la síntesis de la Caulerpina (**1a**) y sus análogos (**1b–1i**), y realizar la evaluación de su actividad antiinflamatoria y antituberculosa.

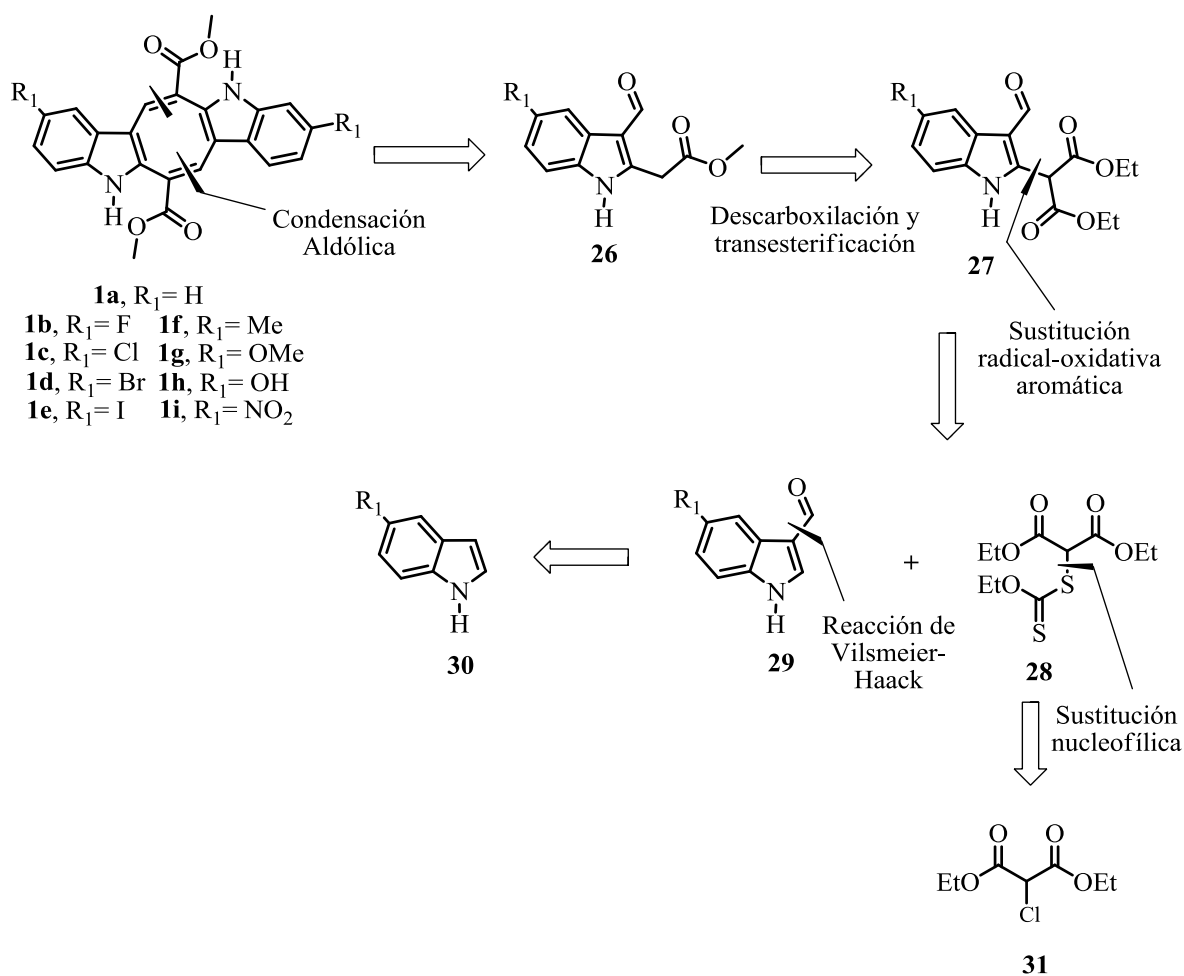


2. Objetivos específicos

- 1) Sintetizar la Caulerpina (**1a**) y sus análogos (**1b–1i**) de una manera eficiente partiendo de materias primas comercialmente asequibles.
- 2) Evaluar la actividad antiinflamatoria de **1a** y sus análogos (**1b–1i**) mediante el método del edema inducido por acetato de tetradecanoilforbol (TPA) en oreja de ratón.
- 3) Evaluar la actividad antituberculosa de **1a** y sus análogos (**1b–1i**) sobre la cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*.

V. Análisis retrosintético

El siguiente esquema retrosintético para la obtención de la Caulerpina (**1a**), y sus análogos (**1b–1i**), se basa en la simetría C_2 que poseen los compuestos. Así, la condensación aldólica de los indoles **26**, generaría los compuestos **1a–1i**. Por otra parte, los indoles **26** podrían obtenerse del compuesto **27** por medio de una descarboxilación y transesterificación; estos últimos provendrían de una reacción de sustitución radical oxidativa aromática en C-2 sobre los indoles **29** utilizando el xantato **28**. Los carboxialdehídos **29** podrían ser preparados mediante una reacción de Vilsmeier-Haack sobre los indoles sustituidos **30**. El xantato **28** podría generarse del cloromalonato de dietilo (**31**) mediante una reacción de sustitución nucleofílica (Esquema 7).



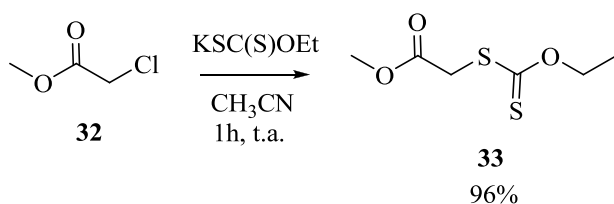
Esquema 7. Análisis retrosintético para obtener los compuestos **1a–1i**.

VI. Discusión de resultados

1. Síntesis de la Caulerpina (1a)

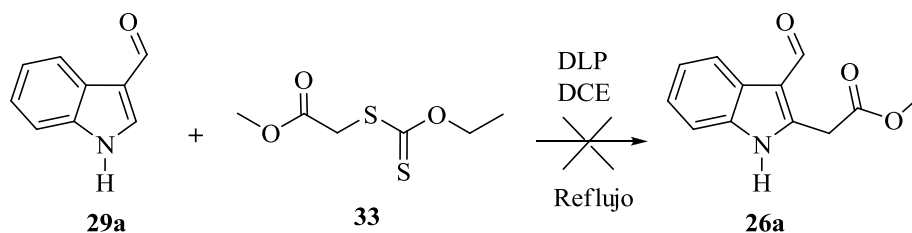
La parte experimental de este trabajo primero se enfocó en encontrar un método de síntesis para obtener la Caulerpina (**1a**). De acuerdo al análisis retrosintético propuesto, se pensó que la alquilación radical oxidativa aromática, sobre el C-2 del indol correspondiente, podría ser una reacción útil para acceder al intermediario **26**, que sometido a una reacción de condensación aldólica generaría **1a** y sus análogos **1b-1i**.

Inicialmente, se realizó la síntesis del xantato **33**, el cual sería utilizado posteriormente como agente alquilante, mediante la sustitución nucleofílica del α -cloro éster **32** por el anión de la sal de potasio del ditiocarbonato de *O*-etilo, en acetonitrilo a 0 °C, obteniendo **33** en un 96% de rendimiento (Esquema 8).



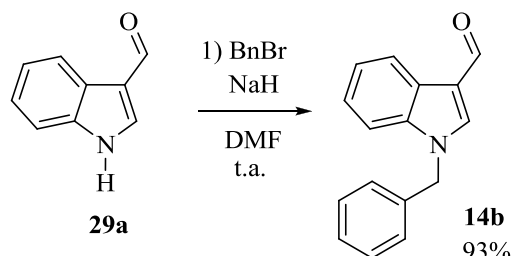
Esquema 8. Condiciones de reacción para la síntesis de **33**.

A continuación, el xantato **33** se hizo a reaccionar con el indolcarbaldehído **29a** en dicloroetano, usando como agente iniciador y oxidante al peróxido de dilauroilo (DLP), para generar **26a**; sin embargo, la reacción no procedió (Esquema 9), por lo que se propusieron dos posibles explicaciones: que el hidrógeno unido al nitrógeno 1 del indol de (**29a**) influyera en la reactividad de la posición C-2; o que el xantato **33** no es lo suficientemente electrofílico para reaccionar con el indol (**29a**) a pesar de la presencia de un grupo electroattractor en la posición C-3, el cual teóricamente favorecería la alquilación.



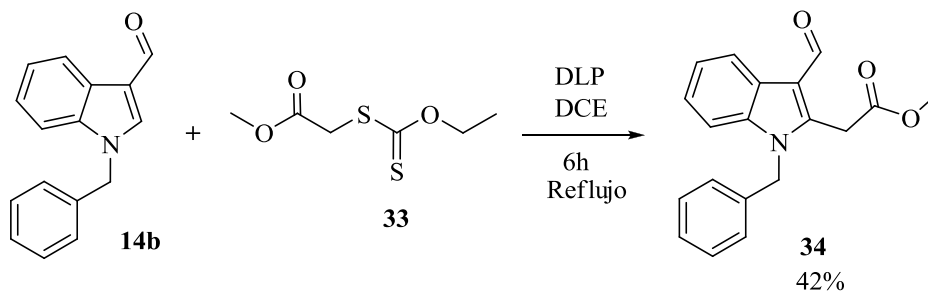
Esquema 9. Condiciones de reacción para la síntesis del indolcarbardehído (**26a**).

Para tratar de probar si la primera explicación era correcta, se procedió a proteger el formilindol (**29a**) con el bromuro de bencilo, usando NaH como base y DMF como disolvente, obteniendo el indol *N*-bencilado **14b** en un 93% de rendimiento (Esquema 10).



Esquema 10. Condiciones de reacción para la protección de **29a**.

Una vez preparados los intermediarios **14b** y **33**, se llevó a cabo la reacción de alquilación oxidativa aromática del primero, usando como agente iniciador y oxidante al DLP, esta reacción generó el compuesto **34** en un 42% de rendimiento (Esquema 11).



Esquema 11. Condiciones de reacción para la síntesis de **34**.

Teniendo en cuenta este resultado, se procedió a realizar la condensación aldólica del indol **34**, utilizando como bases piperidina o NaH; como disolventes THF o dioxano. También se varió la temperatura de reacción, desde ambiente hasta 0 °C. Sin embargo, no fue posible obtener **35**, recuperando en la mayoría de los ensayos la materia prima (Tabla 2).

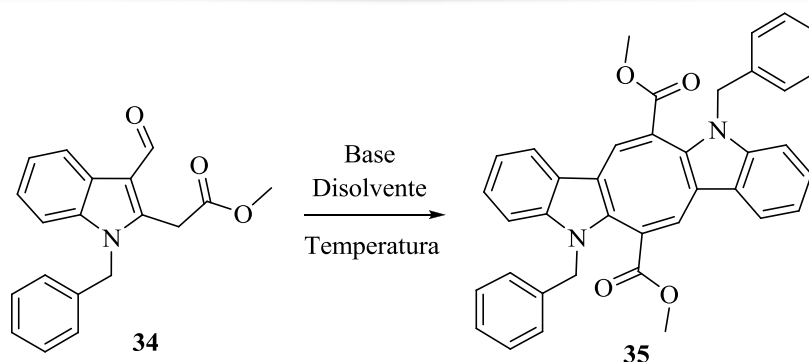
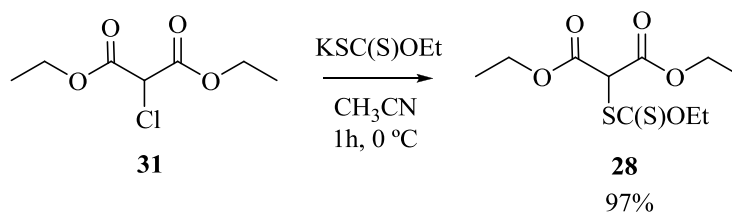


Tabla 2. Condiciones de reacción para obtener **35**, usando como bases piperidina y NaH.

Ensayo	Base	Temperatura	Tiempo de Rx (h)	Disolvente	Rendimiento de 35 (%)
1	Piperidina (2 equiv)	t.a.	4	Dioxano	0
2	NaH (6 equiv)	t.a.	6	THF	0
3	NaH (3 equiv)	0°C	7	THF	0
4	NaH (6 equiv)	0°C	5	THF	0
5	NaH (9 equiv)	0°C	7	THF	0

La falta de reactividad en el compuesto **34** puede deberse al impedimento estérico que ocasiona la presencia del sustituyente bencílico en la posición 1 del anillo del indol, lo cual impide la aproximación hacia los centros reactivos. Esto hizo que los esfuerzos se centraran de nueva cuenta en llevar a cabo la alquilación del indol **26a**, pero ahora utilizando un xantato que diera lugar a una especie radicalaria más electrofílica. Fue por ello que se optó por utilizar el xantato derivado del malonato de etilo (**28**), el cual ya ha sido empleado en reacciones de este tipo, aunque con éste, más adelante se tendría que realizar el proceso de descarboxilación y transesterificación. Para ello, primero se realizó su síntesis a partir del cloromalonato de dietilo (**31**), obteniendo **28** con excelentes rendimientos (Esquema **12**).



Esquema 12. Obtención del xantato **28**.

Una vez sintetizado **28** se le hizo reaccionar con el 3-formilindol (**29a**), usando las mismas condiciones de reacción para obtener **34**, generando el compuesto alquilado **27a** en un 30% de rendimiento. Posteriormente, se optimizaron las condiciones de reacción haciendo modificaciones tanto en la cantidad de xantato y DLP, como del tiempo de reacción, consiguiendo obtener **27a** con un 63% de rendimiento, en 6 horas de reacción; con un tiempo mayor de reacción se observó la formación de subproductos (Tabla 3).

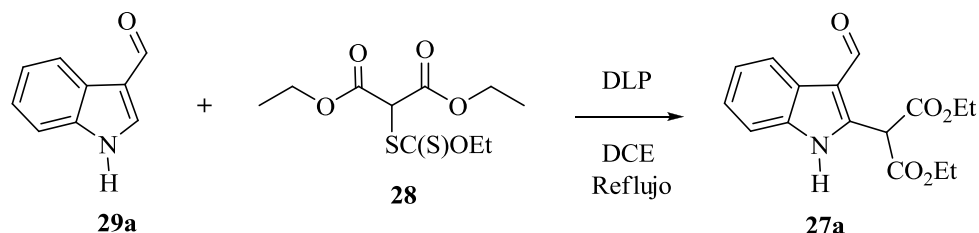


Tabla 3. Optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de **27a**.

Ensayo	Equivalentes de xantato (28)	Equivalentes de DLP	Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento 27a (%)
1	1.3	2	DCE	6	30
2	1.5	1.75	DCE	7	42
3	1.75	2	DCE	8	56
4	1.75	2	DCE	12	55
5	1.8	2.5	DCE	6	63

Una vez producido el indol **27a**, se planteó obtener el monoéster **26a** en un solo paso, mediante la secuencia de reacciones de transesterificación y descarboxilación utilizando como base NaOMe y MeOH anhidro como disolvente. En los diversos experimentos llevados a cabo se variaron la cantidad de la base y el tiempo de reacción, logrando la síntesis de **26a** con un 64% de rendimiento (Tabla 4).⁴⁰ Cabe mencionar que entre los subproductos de esta reacción se observó la formación del producto de transesterificación.

⁴⁰ Somei, M.; Yamada, F.; Yamamura, G. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 191–198.

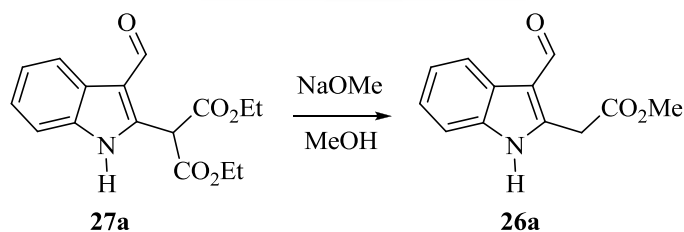


Tabla 4: Optimización de las condiciones de reacción para la síntesis de **26a**.

Ensayo	Equivalente de NaOMe	Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento 26a (%)
1	2.5	MeOH	30 min	61
2	3.5	MeOH	1	64
3	4	MeOH	1.15	49

El último paso para sintetizar la Caulerpina consistió en someter a **26a** a la reacción de condensación aldólica, en primera instancia, siguiendo la metodología descrita por Maiti y colaboradores,³ utilizando como bases una mezcla de piperidina y dietilamina en reflujo de metanol, con lo cual se obtuvo **1a** con un rendimiento del 2% en un tiempo de reacción de dos días. Posteriormente, considerando que la temperatura podría jugar un papel importante en la reacción debido al tiempo requerido para la obtención de **1a**; así como por los primeros experimentos que se realizaron en la condensación aldólica, se decidió utilizar xileno como disolvente. También se variaron las concentraciones de las bases utilizando desde 0.01 hasta 0.23M tanto de piperidina como de dietilamina. En la tabla **5** se puede observar que no hay un aumento significativo en la formación de **1a** al utilizar una mayor concentración de las bases y en un mayor tiempo de reacción; no obstante, al utilizar 0.023M de las bases en un tiempo de reacción de 3 horas se logró obtener **1a** con un 63% de rendimiento.

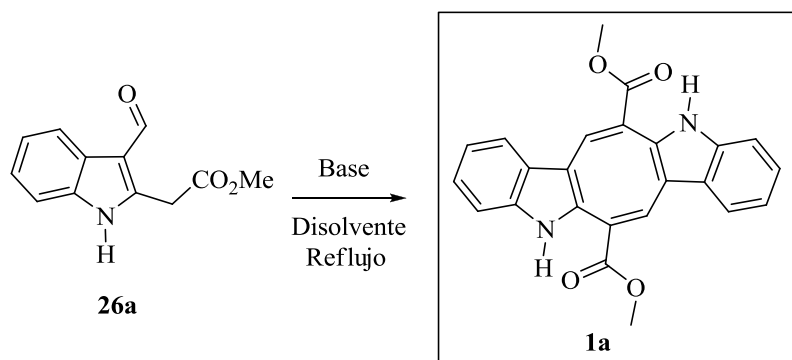


Tabla 5. Búsqueda de las mejores condiciones para la síntesis de **1a**.

Ensayo	Bases	Concentración de bases	Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento 1a (%)
1	Piperidina, dietilamina	0.01	Metanol	48	2
2	Piperidina, dietilamina	0.01	Xileno	3	24
3	Piperidina, dietilamina	0.023	Xileno	3	63
4	Piperidina, dietilamina	0.038	Xileno	3	61
5	Piperidina, dietilamina	0.076	Xileno	4	63
6	Piperidina, dietilamina	0.230	Xileno	6	30
7	Piperidina, dietilamina	0.076	Tolueno	4.5	48
8	Piperidina, dietilamina	0.230	Tolueno	7.5	24

Por otra parte, al utilizar tolueno como disolvente no se observó una variación significativa en los rendimientos de **1a**. Cabe mencionar que tanto para el tolueno como para el xileno al aumentar la base y el tiempo de reacción hay una disminución en la formación de **1a**. Asimismo, se puede observar que en todos los experimentos realizados, el tiempo de reacción para la obtención de **1a** fue menor al reportado, indicando con ello que la temperatura y el tiempo de reacción juegan un papel importante en la reacción.

La identificación de **1a** se realizó mediante el análisis de sus espectros de RMN-¹H y ¹³C, IR, EM (IE) y EM AR (FAB) y Difracción de rayos-X así como por comparación con los datos espectroscópicos reportados para el producto natural. En la figura 5 se puede observar el espectro de RMN-¹H de la Caulerpina, la cual al poseer una simetría C-2 nos permite identificar la señal a 3.8 ppm como la correspondiente a los protones de metilo (6H, O-CH₃), entre 7.03 a 7.41 ppm se puede observar la señales de los protones correspondientes a la región aromática (8H, CH- Ar), en 8.18 ppm se puede observar las señales de los protones de metino (2H, CH=CCO₂Me) y, finalmente, en 10.74 ppm se observan las señales de los protones del NH del indol (2H).

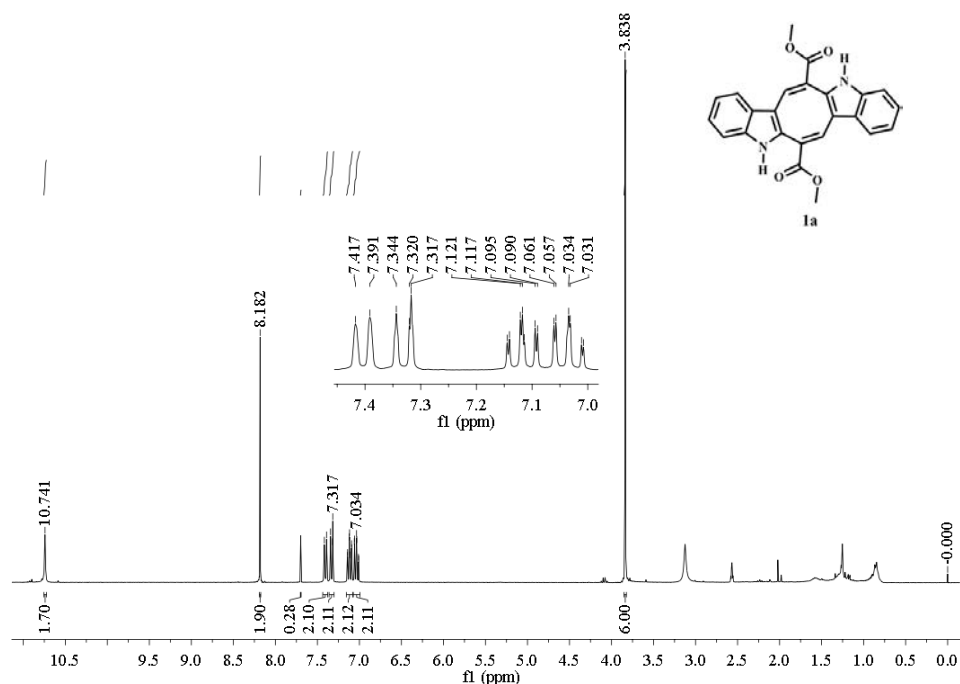


Figura 5. Espectro de RMN-¹H de **1a** obtenido mediante su síntesis (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆).

Con la finalidad de mejorar los rendimientos en la obtención de **1a**, se propuso que el uso de una base con un *pKa* mayor podría facilitar la formación del anión α al grupo carbonilo el cual podría favorecer la condensación aldólica; con base a esto, se utilizó como base la pirrolidina (*pKa*= 11) a una concentración de 0.023M en reflujo de xileno obteniendo **1a** con un 17% de rendimiento. De igual manera se utilizó el DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno) (*pKa*= 24); sin embargo, con esta base no se observó la formación de **1a**, probablemente debido a que la primera reacción ácido-base que ocurre es la desprotonación del *NH* del indol (Tabla 6).

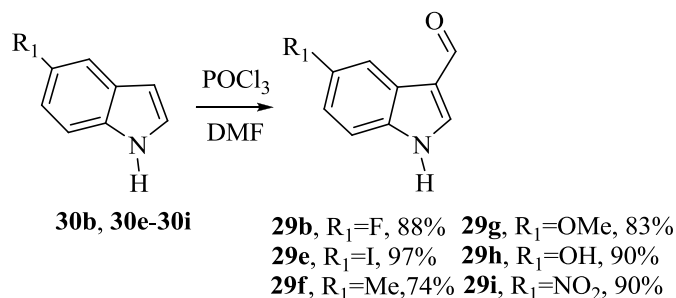
Tabla 6. Uso de otras bases para la síntesis de **1a**.

Ensayo	Base	Concentración	Disolvente	Temperatura	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento 1a (%)
1	Pirrolidina	0.023	Xileno	Reflujo	3	17
2	DBU	0.023	Xileno	Reflujo	3	0

Con este último experimento se concluyó la síntesis de **1a**.

2. Síntesis de los análogos de la Caulerpina (1b–1h)

La siguiente fase de este trabajo se enfocó en realizar la síntesis de los análogos de la Caulerpina (**1b–1i**), la cual inició con la obtención de los derivados formilados (**29b, 29e–29i**), vía la reacción de los indoles sustituidos (**30b, 30e–30i**) con POCl₃ en DMF, con rendimientos de buenos a excelentes (Esquema 13).⁴¹ En cuanto a los aldehídos **29c** y **29d**, éstos fueron adquiridos comercialmente.



Esquema 13. Formilación de los indoles **29b, 29e–29i**.

Posteriormente, se realizó la alquilación aromática radicalica oxidativa sobre los 3-carboxaldehídos **29b–29i**, usando las mismas condiciones de reacción para obtener **27a**, generando los indoles **27b–27h** con rendimientos de bajos a buenos. En el caso del aldehído 5-yodo-1*H*-indol-3-carbaldehído (**29e**), debido a su poca solubilidad, fue necesario utilizar una mezcla de DCE y tolueno como disolvente, obteniendo **27e** en un 53% de rendimiento. En cuanto al indol **29h**, a pesar de utilizar la misma mezcla de disolventes, únicamente fue posible obtenerlo en un 8% de rendimiento, recuperando materia prima. Al intentar alquilar el nitroindol **29i**, utilizando las mismas condiciones de reacción, no se observó la formación de **27i** (Tabla 7).

⁴¹ Coowar, D.; Bouissac, J.; Hanbali, M.; Paschaki, M.; Mohier, E.; Luu, B. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6270–6282.

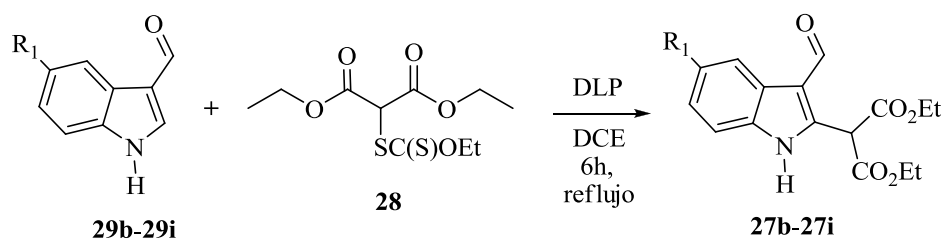
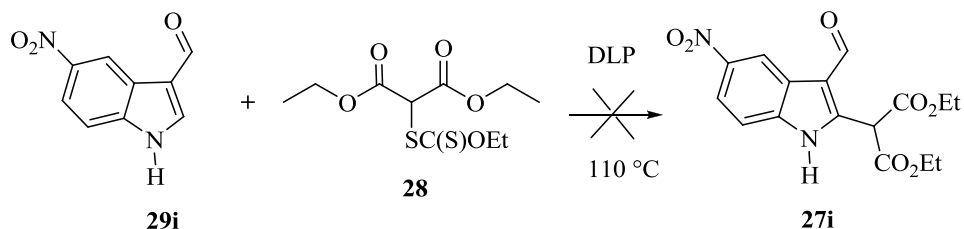


Tabla 7. Condiciones de reacción para la síntesis de 27b–27i.

Compuesto	R ₁	Equivalentes de xantato (28)	Equivalentes de DLP	Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento (%)
27b	F	2.2	2.5	DCE	6	40
27c	Cl	2.2	2.5	DCE	6	48
27d	Br	2.2	2.5	DCE	6	56
27e	I	2.2	2.5	DCE/Tolueno	6	53
27f	Me	2.2	2.5	DCE	6	63
27g	OMe	2.2	2.5	DCE	6	68
27h	OH	2.5	2.5	DCE/Tolueno	6	8
27i	NO ₂	2.2	2.5	DCE	6	0

La nula reactividad del indol **29i** en la reacción de alquilación podría ser atribuida a su escasa solubilidad, por lo tanto se realizó una revisión bibliográfica y se encontró que esta reacción podría realizarse a elevadas temperaturas, en condiciones libre de disolvente;⁴² no obstante, cuando **29i** fue sometido a estas condiciones tampoco fue posible obtener **27i** (Esquema 14). Por lo que, probablemente la falta de reactividad puede atribuirse a la presencia del grupo nitro que inhibe alquilación aromática radicalica oxidativa.⁴³



Esquema 14. Sustitución radical oxidativa aromática en condiciones libre de disolvente.

⁴² Flórez-López, E.; Gómez-Pérez L. B.; Miranda, L. D. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 6000-6002.

⁴³ Zelentsov, S. V.; Simdyanov, I. V. *Russian Chemical Bulletin, International Edition.* **2006**, *55*, 207-211.

Las condiciones optimizadas para la reacción de descarboxilación y transesterificación de **27a** fueron aplicadas sobre los indoles **27b–27d** y **27f–27g** utilizando 3.5 equivalentes de NaOMe en MeOH, lo que permitió generar los intermediarios **26b–26d** y **26f–26g**, con rendimientos de bajos a moderados (Tabla 8). Vale la pena mencionar que para el caso de **27e** se observó la hidrólisis completa del diéster.

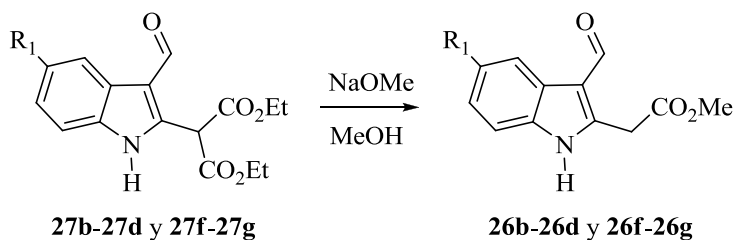
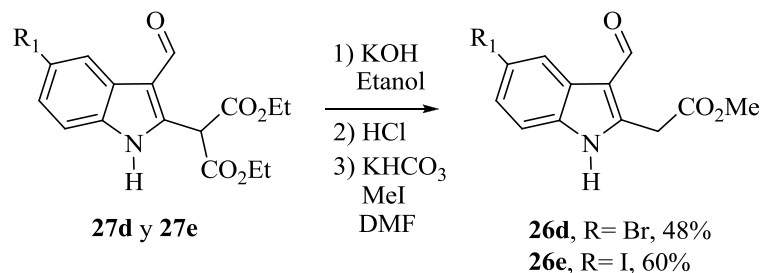


Tabla 8. Condiciones de reacción para la síntesis de **26b–26d** y **26f–26g**.

Compuesto	R ₁	Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento (%)
26b	F	MeOH	1	52
26c	Cl	MeOH	1	54
26d	Br	MeOH	1	31
26f	Me	MeOH	1	23
26g	OMe	MeOH	1	64

Ya que con la metodología anterior no fue posible obtener el éster **26e**, se decidió realizar la hidrólisis directa de **27e** utilizando como base KOH (2M) en etanol, posteriormente, se efectuó su descarboxilación con HCl (2N). Finalmente, se realizó su esterificación con MeI, logrando obtener **26e** con un 60% de rendimiento global.⁴⁴ También el indol **27d** fue sometido a las mismas condiciones de reacción que **27e**, y de esta manera se logró obtener el monoéster **26d** con un 48% de rendimiento global (Esquema 15).

⁴⁴ a) Hauck Newman, A.; Grundt, P.; Cyriac, G.; Deschamps, J.R.; Taylor, M.; Kumar, R.; Ho, D.; Luedtke, R.R. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 2559–2570. b) Shioiri, T.; Sasaki, S.; Hamada, Y. *ARKIVOC* **2003**, 2003, 103–122.



Esquema 15. Condiciones de reacción para la hidrólisis y alquilación de **27d** y **27e**.

Una vez que se obtuvieron los monoésteres **26b–26g**, se procedió a realizar su condensación aldólica utilizando 0.023M de piperidina y 0.023M de dietilamina, en reflujo de xileno, que fueron las mejores condiciones de reacción con las que fue posible obtener **1a**. Cabe mencionar que para **1b** y **1g** fue necesario un tiempo de reacción de 10 horas ya que la materia prima no se consumía en su totalidad (Tabla 9). De esta manera, la metodología utilizada para la obtención de **1a** fue extrapolada para la síntesis de seis nuevos análogos; obteniéndolas con rendimientos de bajos a moderados.

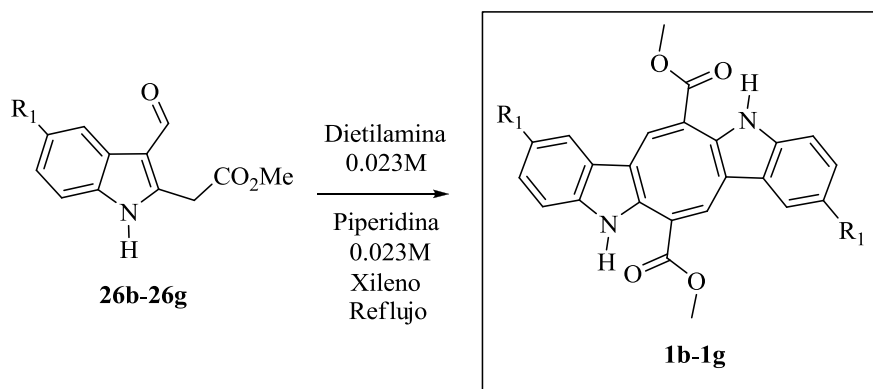
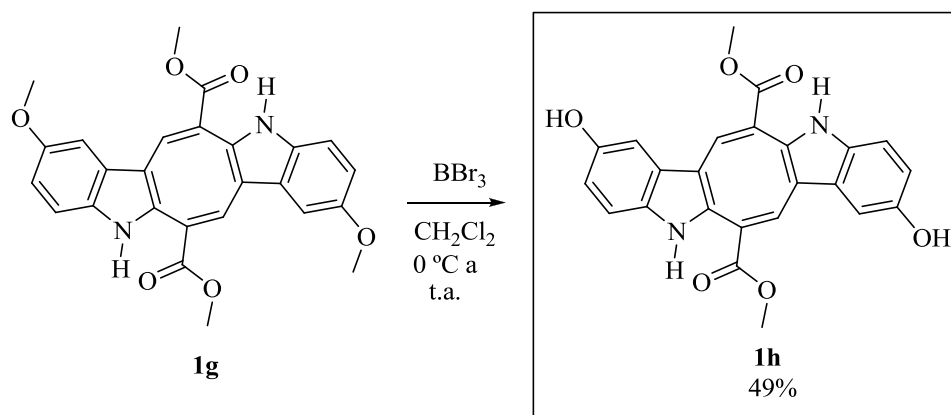


Tabla 9. Condiciones de reacción para la síntesis de **1b–1g**.

Compuesto	Sustituyente (R ₁)	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
1b	F	10	48
1c	Cl	3	33
1d	Br	3	64
1e	I	5	20
1f	Me	3	48
1g	OMe	10	45

Dado que la reacción de sustitución radical oxidativa aromática sobre el indol **27h** dio bajos rendimientos, se procedió a realizar una desmetilación del análogo dimetoxilado **1g**, utilizando BBr₃ en DCM obteniendo el compuesto dihidroxilado (**1h**) en rendimientos moderados (Esquema 16).⁴⁵



Esquema 16. Condiciones de reacción para la síntesis del análogo **1h**.

⁴⁵ Pieroni, M.; Girmay, S.; Sun, D.; Sahu, R.; Tekwani, B. L.; Tan, G. T. *Chem. Med. Chem.* **2012**, *7*, 1895–1900.

VII. Pruebas biológicas

1. Actividad antiinflamatoria⁴⁶

La actividad anti-inflamatoria de los compuestos **1a–1h** se determinó mediante la disminución de la inflamación en oreja de ratón cuando fue inducida por el acetato de tetradecanoilforbol (TPA). Para ello se utilizó una concentración de 0.31 μM , en la mayoría de los compuestos, en una mezcla de DMSO, acetona y diclorometano como disolvente debido a su escasa solubilidad, a excepción de **1a** la cual fue soluble en una mezcla de acetona y diclorometano (1:1). Los resultados mostraron que **1a** produce un 50% de inhibición del edema, mientras que sus análogos (**1b–1h**) exhibieron una escasa inhibición que fluctúa entre el 8 al 33%. Como referencia se utilizó la indometacina que a una concentración de 0.31 μM produce una inhibición de la inflamación del 54% (Tabla 10).

Tabla 10. Porcentaje de inhibición de la inflamación de **1a–1h**.

Compuesto	Sustituyente (R ₁)	Dosis ($\mu\text{mol/oreja}$)	Peso de oreja (mg) \pm S.E.M.	Porcentaje de inhibición de edema (%)
Control (DMSO 10% Acetona:diclorometano, 1:1)		–	11.20 \pm 0.17	–
1a	H	0.31	6.15 \pm 1.62	50.50
1b	F	0.31	10.32 \pm 0.18	23.33
1c	Cl	0.31	7.20 \pm 1.65	33.74
1d	Br	1	8.07 \pm 1.26	24.61
1e	I	0.31	9.08 \pm 1.35	25.31
1f	Me	0.31	6.35 \pm 0.26	8.63
1g	OMe	0.31	11.48 \pm 0.92	14.71
1h	OH	0.31	9.08 \pm 0.24	18.37
Indometacina		0.31	6.82 \pm 1.27	54.53

Cabe resaltar que el DMSO utilizado como disolvente podría tener un papel importante en la inhibición de la inflamación por lo que podría ser necesario convertir los compuestos

⁴⁶ Realizado por el M. en C. Antonio Nieto Camacho en el laboratorio de pruebas biológicas del Instituto de Química, UNAM.

sintetizados a las sales correspondientes y medir su actividad en otro disolvente para elucidar el efecto que éstos tendrían en dicha actividad.

2. Actividad antituberculosa⁴⁷

La Caulerpina (**1a**) y sus análogos (**1b–1h**) fueron evaluados contra el bacilo de *Mycobacterium tuberculosis* en la cepa H37Rv a una concentración de 50 μM como un ensayo primario. Los compuestos **1a**, **1b**, **1d** y **1e** inhibieron el crecimiento del bacilo en un porcentaje mayor al 75%, mientras que **1c**, **1f**, **1g** y **1h** lo hicieron en un porcentaje menor al 50% (Figura 6).

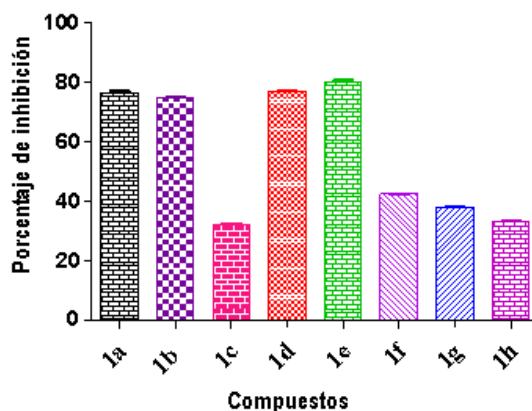


Figura 6. Porcentaje de inhibición del crecimiento en *M. tuberculosis* cepa H37Rv por los compuestos **1a–1h**, a una concentración de 50 μM .

Posteriormente, los compuestos que mostraron una inhibición del crecimiento bacilar mayor al 50%, se les determinó la concentración inhibitoria 50 (IC_{50}), que reveló que la Caulerpina (**1a**) es el compuesto con mayor actividad con un $\text{IC}_{50} = 0.24 \mu\text{M}$, mientras que **1b** reportó un $\text{IC}_{50} = 1.68 \mu\text{M}$, **1d** de $\text{IC}_{50} = 1.98$ y **1e** de $\text{IC}_{50} = 3.89 \mu\text{M}$, lo cual parece indicar que la introducción de halógenos en la estructura de la Caulerpina modifica de

⁴⁷ Realizada por la Bióloga Rocío Gómez Cancino, en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

manera significativa la actividad antituberculosa. Como referencia se utilizó la rifampicina, que tiene un IC_{50} de $0.55 \mu M$ (Figura 7). Este resultado es de gran relevancia para considerar a la Caulerpina como un compuesto líder para el desarrollo de un posible fármaco antituberculoso, sin embargo, para ello es indispensable determinar el mecanismo por medio del cual se inhibe el crecimiento de *M. tuberculosis* y de igual forma precisar si este compuesto pudiera tener un cierto grado de toxicidad a nivel celular.

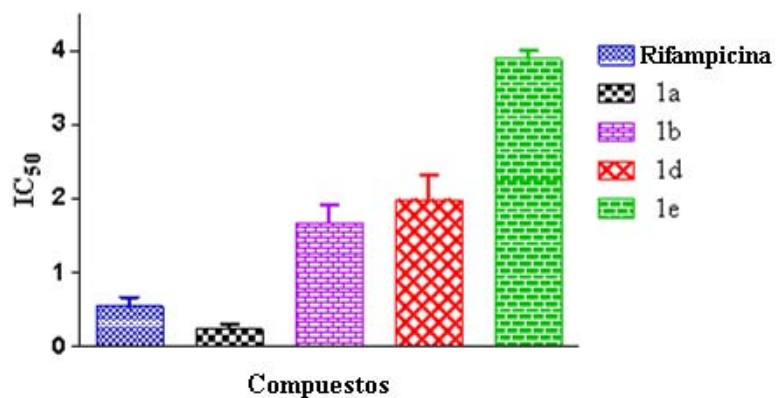


Figura 7. Valores de IC_{50} sobre *M. tuberculosis* cepa H37Rv de **1a**, **1b**, **1d** y **1e**.

VIII. Conclusiones

- Se llevó a cabo la síntesis de la Caulerpina (**1a**) en tres pasos, utilizando la sustitución radical oxidativa aromática para la obtención de un indol C-2 sustituido como etapa clave del proceso, con un rendimiento total del 25%, logrando que el último paso se efectúe en menos tiempo y con un mayor rendimiento que el reportado.
- El alcance de la metodología usada para la síntesis de **1a** se demostró al preparar los primeros análogos de la Caulerpina (**1b–1g**), con grupos halogenados y grupos electrodonadores en la posición 5 del anillo del indol, obteniéndolos en cuatro pasos con rendimientos totales entre el 5 al 17%.
- Asimismo, un nuevo análogo dihidroxilado de la Caulerpina (**1h**) fue preparado mediante la desmetilación del análogo dimetoxilado (**1g**) con un rendimiento del 49%, y en cinco pasos partiendo del 5-metoxiindol con un rendimiento total del 8%.
- La evaluación de la actividad anti-inflamatoria, en el modelo de edema inducido por TPA en oreja de ratón, de los compuestos **1b–1h** no dio resultados significativos, únicamente **1a** presentó una inhibición del 50%, siendo equiparable a la indometacina, fármaco usado como referencia.
- En cuanto a la actividad antituberculosa sobre *M. tuberculosis*, se encontró que los compuestos **1a**, **1b**, **1d** y **1e** inhiben el crecimiento bacilar en un porcentaje mayor al 75%; sin embargo, al determinar su IC₅₀ únicamente la Caulerpina mostró una actividad sobresaliente, siendo esta dos veces mayor que la rifampicina, medicamento de uso contra la tuberculosis, mientras que sus análogos mostraron un IC₅₀ significativamente menor al de la Caulerpina, por lo tanto, la introducción de halógenos en la posición 5 del anillo del indol modifica de manera significativa la actividad antituberculosa.

IX. Sección experimental

1. Detalles generales

Los espectros de RMN ^1H fueron obtenidos en instrumentos Varian Gemini de 200 MHz y Eclipse de 300 MHz Jeol, al igual que los espectros de RMN ^{13}C , éstos últimos a 50 y 75 MHz, respectivamente. Las muestras fueron disueltas en cloroformo deuterado (CDCl_3) en el que se usó tetrametilsilano (TMS) como referencia interna (0 ppm), dimetil sulfóxido hexadeuterado ($\text{DMSO-}d_6$) y acetona hexadeuterada (CD_3COCD_3) según el caso. Los desplazamientos químicos (δ) se informan en partes por millón (ppm), las constantes de acoplamiento (J) están expresadas en Hertz (Hz) y para indicar la multiplicidad de las señales en los espectros de RMN ^1H se utilizó la siguiente terminología: c, cuarteto; d, doblete; dd, doble de dobles; dt, doble de tripletes; m, señal múltiple; s, singulete; s.a., singulete ancho; t, triplete. Las asignaciones en los espectros de RMN ^{13}C se realizaron con la ayuda de experimentos DEPT.

Los espectros de IR fueron obtenidos en un espectrómetro FT-IR Tensor 27 Bruker y las técnicas para obtenerlos fueron en pastilla de KBr.

Los espectros de masas se realizaron en un espectrómetro JEOL JMS-AX505HA de baja resolución mediante la técnica de impacto electrónico (IE), a 70 eV, y por la técnica de ionización por bombardeo de átomos rápidos (FAB^+) en un espectrómetro JEOL 5X102A.

El seguimiento de las reacciones fue llevado a cabo por cromatografía en capa fina usando cromatoplasmas de sílica gel 60 ($\text{ALUGRAM}^{\text{®}}$ SIL G/UV $_{254}$) y el revelado se hizo con radiación UV y usando soluciones etanólicas ácidas de vainillina o *p*-anisaldehído y ninhidrina. La purificación de los compuestos se realizó por cromatografía en columna de sílice gel 60 (0.040-0.060 mm, malla 230-400 ASTM) marca Macherey-Nagel GMBH & Co. y como eluyentes Hexano y AcOEt.

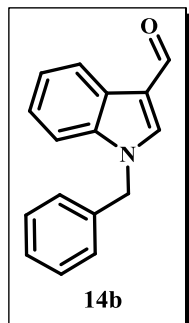
El tolueno y xileno fueron secados por destilación bajo atmósfera de nitrógeno, empleando sodio como agente desecante y benzofenona como indicador. El MeOH fue secado con magnesio metálico y yodo. La purificación del AcOEt y del CH_2Cl_2 utilizados en extracción y purificación de los productos se realizó mediante destilación fraccionada en presencia de CaCl_2 anhidro. El hexano fue tratado previamente con solución ácida de KMnO_4 y posteriormente fue destilado en presencia de KOH. La DMF fue secada con

MgSO₄ y posteriormente destilada. El DCE, CH₃CN y todos los otros reactivos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich. Los puntos de fusión se determinaron en un equipo marca MEL-TEMP II y no están corregidos.

2. Metodología:

2. 1. Síntesis del 1-bencil-1*H*-indol-3-carbaldehído (14b)

A una solución del 1*H*-indol-3-carbaldehído (**29a**) (0.100g; 0.69 mmol) en DMF (3.5mL) se le adicionó hidruro de sodio (NaH) al 60% en aceite mineral (0.028g; 1.15 mmol) y se dejó en agitación a temperatura ambiente por una hora. Transcurrido este tiempo, se agregó BnBr (0.14g; 0.83 mmol) y la reacción se agitó durante 1.5 horas. Posteriormente, al crudo de reacción se le añadió agua y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL); la fase orgánica fue concentrada a presión reducida, el residuo se disolvió en AcOEt y se lavó con una solución acuosa saturada de NaCl; la fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hx-AcOEt (9:1 y 8:2) para obtener 0.152g de **14b**; rendimiento: 93%.



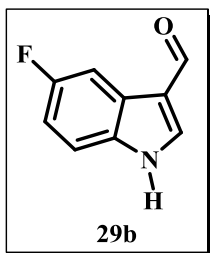
1-bencil-1*H*-indol-3-carbaldehído (14b). Sólido amarillo. P.f.: 102-104°C. **IR** (KBr) ν_{\max} 1659 cm⁻¹; **RMN** ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.00 (s, 1H), 8.31-8.36 (m, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.16-7.40 (m, 8H), 5.37 (s, 2H); **EM (IE)** m/z 91 (100), 235 (61) [M]⁺.⁴⁸

⁴⁸ Faler, C. A.; Joullie, M. M. *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1987-1990.

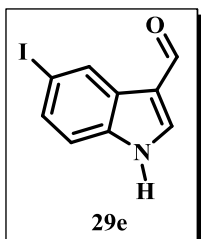
2. 2. Procedimiento general para la síntesis de los indoles-3-carbaldehídos (29b y 29e–29i)

En un matraz balón se preparó una solución del indol **30b** o **30e–30i** (0.30g; 2.29 mmol) en DMF (0.84g; 11.4 mmol), seguidamente se adicionó gota a gota el POCl₃ (0.42 g; 2.74 mmol) a 0 °C durante 30 min. Después de este tiempo, el crudo de reacción fue calentado por una hora a 40 °C. Posteriormente, se le agregó hielo e NaOH (2M) y se reflujo por 40 min. Transcurrido este tiempo, se dejó enfriar y se extrajo con AcOEt (3 x 20 mL). La fase orgánica fue lavada con una solución saturada de NaCl, secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hx-AcOEt para obtener los formilindoles deseados.⁴¹

Los formilindoles **29a**, **29c** y **29d** fueron adquiridos comercialmente de Sigma-Aldrich.



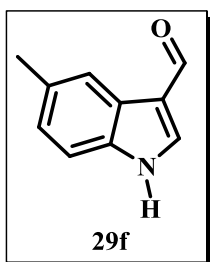
5-Flúor-1H-indol-3-carbaldehído (29b). Se obtuvo a partir de 0.60g (4.4 mmol) de 5-flúor-1H-indol (**30b**), generando 0.639g de **29b** como un sólido amarillo p.f. de 158–160 °C y con un rendimiento del 88%. **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11.72 (s.a., 1H), 9.96 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J* = 2.4, 9.4 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 4.2, 8.8 Hz, 1H), 7.01 (dt, *J* = 2.4, 9.0 Hz, 1H).⁴⁹



5-Yodo-1H-indol-3-carbaldehído (29e). Se obtuvo a partir de 1g (4.11 mmol) de 5-yodo-1H-indol (**30e**), generando 1.08g de **29e** como un sólido amarillo con un p.f. de 192–194 °C y con un rendimiento del 97%. **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11.72 (s, 1H), 9.95 (s.a., 1H), 8.59 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* =

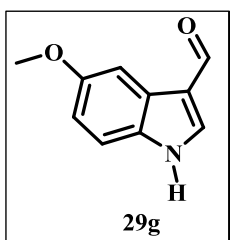
⁴⁹ Min-Na, Y.; Lebouvier, N.; Le Borgne, M.; Pagniez, F.; Alvarez, N.; Le Pape, P.; Le Baut, G. *Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2004**, *19*, 451–457.

1.8, 8.5 Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H).⁵⁰



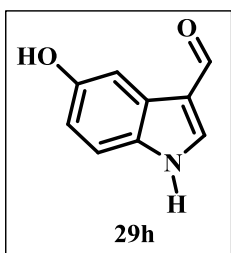
5-Metil-1H-indol-3-carbaldehído (29f). Se obtuvo a partir de 0.30g (2.29 mmol) de 5-metil-1H-indol (**30f**), generando 0.27g de **29f** como un sólido amarillo con un p.f. de 144–146 °C y con un rendimiento del 74%. **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.02 (s, 1H), 9.21 (s.a., 1H), 8.13 (s, 1H), 7.81 (d, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H),

7.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 2.47 (s, 3H).⁵¹



5-Metoxi-1H-indol-3-carbaldehído (29g). Se obtuvo a partir de 0.20g (1.35 mmol) de 5-metoxi-1H-indol (**30g**), generando 0.197g de **29g** como un sólido café claro con un p.f. de 176–178 °C y con un rendimiento del 83%. **RMN ¹H** (200 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ (ppm): 12.08 (s.a., 1H), 9.93 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.62 (d, $J = 2.6$ Hz,

1H), 7.44 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.92 (dd, $J = 2.6, 8.8$ Hz, 1H), 3.82 (s, 3H).⁴¹



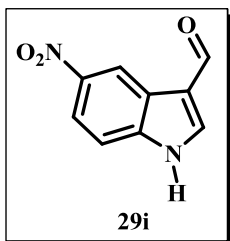
5-Hidroxi-1H-indol-3-carbaldehído (29h). Se obtuvo a partir de 0.20g (1.50 mmol) de 5-hidroxi-1H-indol (**30h**), generando 0.22g de **29h** como un sólido café claro con un p.f. de 244–246 °C y con un rendimiento del 90%. **RMN ¹H** (300 MHz, CD₃COCD₃ + DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11.70 (s.a., 1H), 9.87 (s, 1H), 8.88 (s.a., 1H), 7.92 (s, 1H), 7.56 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.76 (dd, $J = 2.4,$

8.7 Hz, 1H).⁵²

⁵⁰ Li, L. T.; Huang, J.; Li, H. Y.; Wen, L. J.; Wang, P.; Wang, B. *Chem. Commun.* **2012**, 48, 5187–5189.

⁵¹ Xu, Q.; Huang, L.; Liu, J.; Ma, L.; Chen, T.; Chen, J.; Peng, F.; Cao, D.; Yang, Z.; Qiu, N.; Qiu, J.; Wang, G.; Liang, X.; Peng, A.; Xiang, M.; Wei, Y.; Chen, L. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, 52, 70–81.

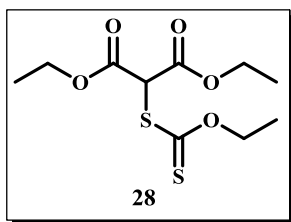
⁵² Sauleau, P.; Martin, Marie-Thérèse.; Tran Huu Dau, Marie-Elise.; Youssef, Diaa T. A.; Bourguet-Kondracki, Marie-Lise. *J. Nat. Prod.* **2006**, 69, 1676-1679.



5-Nitro-1H-indol-3-carbaldehído (29i). Se obtuvo a partir de 0.60g (3.70 mmol) de 5-nitro-1H-indol (**30i**), generando 0.635g de **29i** como un sólido amarillo con un p.f. de 304–306 °C y con un rendimiento del 90%. **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ (ppm): 12.24 (s.a., 1H), 10.07 (s, 1H), 9.14 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 8.17 (dd, *J* = 2.4, 9.0 Hz, 1H), 8.08 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.57 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H).⁵³

2. 3. Síntesis del 2-(etoxicarboniltilio) malonato de dietilo (28)

En un matraz balón se preparó una solución de cloromalonato de dietilo (**31**) (1g; 5.14 mmol) en CH₃CN (6.4 mL) se llevó a 0 °C y se adicionó la sal de potasio de *O*-etiltditiocarbonato (0.99g; 6.17 mmol) dejándola en agitación durante una hora. Después de este tiempo, el crudo de reacción fue concentrado a presión reducida, el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ y se lavó en dos ocasiones con una solución saturada de NaCl. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hx: AcOEt (9:1) obteniendo 1.40g de **28**; rendimiento: 97%.

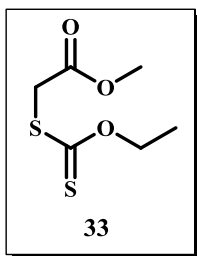


Aceite amarillo. **RMN ¹H** (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 5.28 (s, 1H), 4.65 (c, *J* = 7.2 Hz, 2H), 4.27 (c, *J* = 7.2 Hz, 4H), 1.42 (t, *J* = 7.2 Hz, 3H), 1.30 (t, *J* = 7.2 Hz, 6H). **RMN ¹³C** (75 MHz, CDCl₃) δ: 210.2, 165.1, 71.0, 62.8, 56.3, 13.9, 13.6.²⁶

⁵³ Friedrich, A.; Bräse, S.; O'Connor, S. E. *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 75–76.

2. 4. Síntesis del 2-(etoxicarboniltio) acetato de metilo (33)

En un matraz balón se preparó una solución de 2-cloroacetato de metilo (**32**) (0.200g; 1.84 mmol) en CH₃CN (6 mL), se agregó la sal de potasio de *O*-etil-ditiocarbonato (0.35 g; 2.21 mmol) y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una hora. Transcurrido este tiempo, el crudo de reacción se lavó con NaHCO₃ al 2% (10 mL) y se extrajo con AcOEt (3 x 20 mL). La fase orgánica se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró a presión reducida. El crudo de reacción fue purificado por cromatografía en columna de gel de sílice usando como eluyente una mezcla de Hx:AcOEt (9:1) para obtener 0.345g de **33**; rendimiento: 96%.⁵⁴



Aceite amarillo. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 4.65 (c, *J* = 7 Hz, 2H), 3.94 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 1.43 (t, *J* = 7 Hz, 3H).

2. 5. Procedimiento general para la síntesis de los derivados 2-(3-formil-1*H*-indol-2-il) malonato de dietilo (27a–27h)

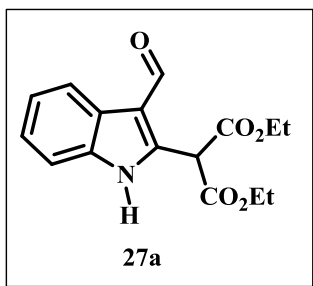
En un matraz balón de dos bocas se preparó una solución del indol correspondiente **29a–29h** (0.353 g; 2.21 mmol) disuelto en 1,2-dicloroetano desgasificado (DCE) (9 mL), se agregó el xantato **28** (1.37 g; 4.87 mmol) y la mezcla de reacción fue burbujeada con N₂ con ayuda de una cánula por 30 minutos, transcurrido este tiempo se llevó a reflujo y se adicionó el peróxido de dilauroílo (DLP) (2.21 g; 5.54 mmol), en porciones de 0.92 mmol/h. La reacción fue monitoreada por ccf y detenida después de 6 h. El disolvente fue removido a presión reducida, el residuo se disolvió en CH₃CN (100 mL) y se extrajo con Hx (3 x 50mL). La fase polar fue concentrada a presión reducida y purificada mediante cromatografía en columna de gel de sílice, usando como eluyente una mezcla de Hx:AcOEt (8:2).²⁵

⁵⁴ Osornio, Y. M. (2004). Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

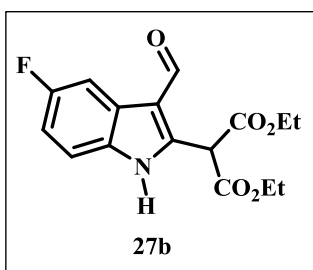
La búsqueda de las mejores condiciones para la síntesis de **27a** se siguió con la metodología descrita con anterioridad, variando la cantidad de **29a**, **28** y DLP así como el tiempo de reacción. Las cantidades utilizadas en cada experimento se resumen en la tabla 11.

Tabla 11. Condiciones de reacción para la síntesis de **27a**.

Ensayo	mmol de 29a	mmol de 28	mmol de DLP	Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento 27a (%)
1	3.44	4.48	6.88	DCE (7mL)	6	30
2	0.344	0.517	0.603	DCE (2mL)	7	42
3	3.44	6.03	6.88	DCE (7mL)	8	56
4	3.44	6.03	6.88	DCE (7mL)	12	55
5	6.88	12.40	17.22	DCE (28mL)	6	63

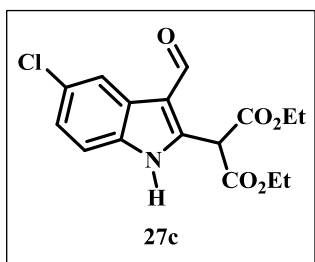


2-(3-Formil-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27a). Se obtuvo a partir de 1g (6.88 mmol) de **29a** generando 1.31g de **27a** como un sólido amarillo con un p.f. de 70–72 °C y con un rendimiento del 63%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1624, 1728, 3187 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.30 (s, 1H), 10.00 (s.a., 1H), 8.20–8.17 (m, 1H), 7.46–7.26 (m, 3H), 5.74 (s, 1H), 4.35–4.19 (m, 4H), 1.29 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.4, 166.3, 136.8, 135.3, 125.8, 124.2, 122.9, 120.2, 115.1, 111.8, 63.0, 49.0, 13.9; **EM (IE)** m/z 157 (73), 303 $[\text{M}]^+$ (100).



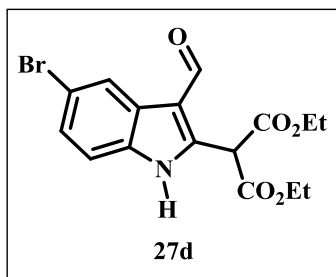
2-(5-Flúor-3-formil-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27b). Se obtuvo a partir de 0.30g (1.84 mmol) de **29b** generando 0.235g de **27b** como un sólido amarillo con un p.f. de 98–100 °C y con un rendimiento del 40% (58% rendimiento calculado sobre la materia prima recuperada). **IR** (KBr) ν_{\max} 1637, 1738, 2933, 2983, 3108, 3149 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ

(ppm): 10.23 (s, 1H), 10.10 (s.a., 1H), 7.86 (dd, $J = 9.3, 2.7$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 8.9, 4.2$ Hz, 1H), 7.05 (dt, $J = 9.0, 2.7$ Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.30 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.0, 166.2, 159.7 (d, $J_{\text{CF}} = 237.8$ Hz, Ar-cuat), 138.2, 131.7, 126.4 (d, $J_{\text{CF}} = 10.5$ Hz, Ar-cuat), 115.3 (d, $J_{\text{CF}} = 4.5$ Hz, Ar-cuat), 112.8 (d, $J_{\text{CF}} = 5.3$ Hz, Ar-CH), 112.6 (d, $J_{\text{CF}} = 11.3$ Hz, Ar-CH), 105.9 (d, $J_{\text{CF}} = 25$ Hz, Ar-CH), 63.1, 49.0, 13.9; **EM (EI)** m/z 115 (100), 181 (70), 321 $[\text{M}]^+$ (37); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $[\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{NF} + \text{H}]$: 322.1091; observado: 322.1082.



2-(5-Cloro-3-formil-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27c).

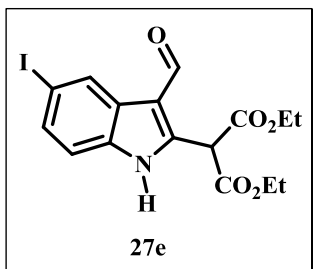
Se obtuvo a partir de 0.30g (1.67 mmol) de **29c** generando 0.272g de **27c** como un sólido amarillo con un p.f. de 102–104 °C y con un rendimiento del 48% (69% Rendimiento calculado sobre la materia prima recuperada). **IR** (KBr) ν_{max} 1633, 1734, 2826, 2979, 3139 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.24 (s, 1H), 10.00 (s.a., 1H), 8.19 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.25 (dd, $J = 8.7$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.0, 166.1, 137.9, 133.6, 128.9, 126.7, 124.6, 120.1, 114.8, 112.8, 63.2, 48.9, 13.9; **EM (IE)** m/z 340 (11), 339 (34), 338 (22), 337 $[\text{M}]^+$ (84); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $[\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{NCl} + \text{H}]$: 338.0795; observado: 338.0801.



2-(5-Bromo-3-formil-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27d).

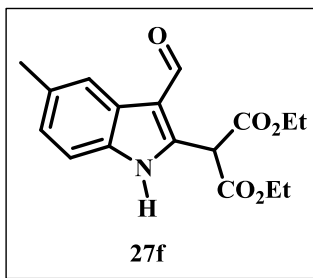
Se obtuvo a partir de 0.787g (3.51 mmol) de **29d** generando 0.754g de **27d** como un sólido amarillo con un p.f. de 108–110 °C y con un rendimiento del 56%. **IR** (KBr) ν_{max} 1634, 1732, 2989, 3159 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.23 (s, 1H), 10.08 (s.a., 1H), 8.35 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.39 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.0, 166.1, 137.8, 133.9, 127.3,

123.1, 116.5, 114.7, 113.2, 63.2, 48.9, 13.9; **EM (IE)** m/z 381 $[M]^+$ (66), 383 (65); **EM AR (FAB⁺)** calculada para $C_{16}H_{16}O_5NBr$, 381.0212; observada: 381.0213.



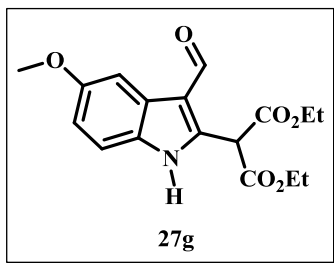
2-(3-Formil-5-yodo-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27e).

Se obtuvo a partir de 0.80g (2.95 mmol) de **29e** utilizando como disolvente DCE: Tolueno (7:3) generando 0.671g de **27e** como un sólido amarillo con un p.f. de 90–92 °C y con un rendimiento del 53%. **IR** (KBr) ν_{max} 1629, 1732, 2929, 2977, 3166 cm^{-1} ; **RMN ¹H** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 10.22 (s, 1H), 10.06 (s.a., 1H), 8.56 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.67 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.31 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H); **RMN ¹³C** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 184.0, 166.1, 137.4, 134.4, 132.8, 129.3, 127.9, 114.4, 113.6, 87.0, 63.2, 48.9, 13.9; **EM (EI)** m/z 383 (87), 429 $[M]^+$ (100); **EM AR (FAB⁺)** calculado para $[C_{16}H_{17}O_5NI + H]$: 430.0151; observado: 430.0163.

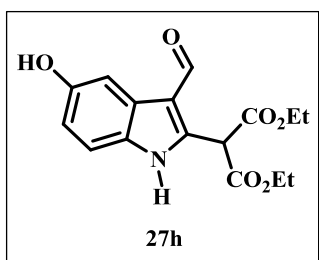


2-(3-Formil-5-metil-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27f).

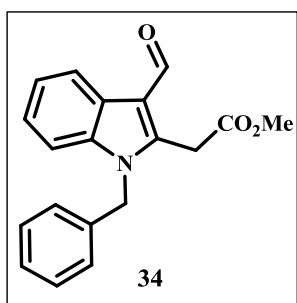
Se obtuvo a partir de 0.353g (2.22 mmol) de **29f** generando 0.44g de **27f** como un sólido amarillo con un p.f. de 84–86 °C y con un rendimiento del 63%. **IR** (KBr) ν_{max} 1636, 1734, 2986, 3218 cm^{-1} ; **RMN ¹H** (300 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 10.27 (s, 1H), 9.84 (s.a., 1H), 8.00 (s, 1H), 7.33 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 8.4, 1.5$ Hz, 1H), 5.70 (s, 1H), 4.36–4.19 (m, 4H), 2.48 (s, 3H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); **RMN ¹³C** (75 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 184.3, 166.4, 136.8, 133.5, 132.7, 126.0, 125.8, 120.0, 114.8, 111.4, 63.0, 49.0, 21.5, 13.9; **EM (EI)** m/z 271 (62), 317 $[M]^+$ (100); **EM AR (FAB⁺)** calculado para $[C_{17}H_{20}O_5N + H]$: 318.1341; observado: 318.1340.



2-(3-Formil-5-metoxi-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27g). Se obtuvo a partir de 0.40g (2.28 mmol) de **29g** generando 0.520g de **27g** como un sólido beige con un p.f. de 112–114 °C y con un rendimiento del 68%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1628, 1732, 2980, 3176 cm^{-1} ; **RMN ^1H** (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.24 (s, 1H), 9.94 (s.a., 1H), 7.69 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.94 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.36–4.19 (m, 4H), 3.88 (s, 3H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); **RMN ^{13}C** (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.1, 166.3, 156.6, 137.1, 130.1, 126.4, 115.2, 114.7, 112.6, 102.0, 63.0, 55.8, 48.9, 13.9; **EM (EI) m/z** 241 (100), 333 $[\text{M}]^+$ (64); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{O}_6\text{N}$: 333.1212; observado: 333.1211.



2-(3-Formil-5-hidroxi-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (27h). Se obtuvo a partir de 0.470g (2.91 mmol) de **29h** utilizando como disolvente DCE: Tolueno (7:3) generando 0.080g de **27h** como un sólido amarillo con un p.f. de 146–148 °C y con un rendimiento del 8%. **RMN ^1H** (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 10.66 (s.a., 1H), 10.18 (s, 1H), 7.65 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.87 (dd, $J = 8.7, 2.7$ Hz, 1H), 5.65 (s, 1H), 4.34–4.18 (m, 4H), 1.29 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); **RMN ^{13}C** (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 184.0, 166.1, 153.5, 136.9, 129.9, 126.7, 114.4, 113.9, 112.5, 104.4, 62.50, 49.23, 13.71.



2-(1-Bencil-3-formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (34). Se preparó utilizando el 1-bencil-1H-indol-3-carbaldehído (**14b**) (0.300 g; 1.28 mmol), el xantato (**33**) (0.465 g; 2.40 mmol) y el DLP (0.915 g; 2.30 mmol) en DCE (5mL), siguiendo la

metodología descrita para síntesis de los derivados de malonato de dietilo, obteniendo 0.164g de **34** con un rendimiento del 42%. El producto es un sólido amarillo, con p.f.: 136-138°C. **IR** (Solución: CHCl₃) ν_{\max} 1655, 1740, 3021, 3455 cm⁻¹; **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 10.29 (s, 1H), 8.26-8.29 (m, 1H), 7.28-7.34 (m, 6H), 6.98-7.00 (m, 2H), 5.44 (s, 2H), 4.16 (s, 2H), 3.60 (s, 3H); **RMN** ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 184.6, 168.7, 141.4, 137.1, 135.7, 129.2, 128.1, 126.1, 124.1, 123.3, 120.8, 115.5, 110.4, 52.8, 47.2, 31.1.

2. 6. Síntesis del 2-(3-formil-5-nitro-1H-indol-2-il) malonato de dietilo (**27i**)

En un matraz balón se agregó **29i** (0.048g; 0.25 mmol) y el xantato **28** (0.28g; 1.01 mmol), la mezcla fue burbujeada con N₂ con ayuda de una cánula durante 30 minutos, transcurrido este tiempo se calentó a 110 °C y posteriormente se le adicionó el DLP (0.402g; 1.01 mmol) en porciones durante 10 minutos (0.101mmol/min).⁴²

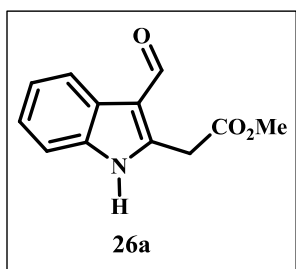
2. 7. Procedimiento general para la síntesis de los derivados de 2-(3-formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (**26a–26d** y **26f–26g**)⁴⁰

En un matraz balón se preparó una solución con 1.30 mmol del malonato de dietilo correspondiente (**27a–27d** y **27f–27g**) en 14 mL de MeOH anhidro, después se le adicionó una solución de NaOMe (preparada a partir de 4.56 mmol de sodio metálico en 5 mL de MeOH anhidro). Esta mezcla se llevó a reflujo durante una hora; transcurrido este tiempo se dejó enfriar, se le agregó una solución saturada de NaHCO₃ y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 mL). La fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada a presión reducida. El residuo fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice, usando como eluyente una mezcla de Hx: AcOEt (7:3).

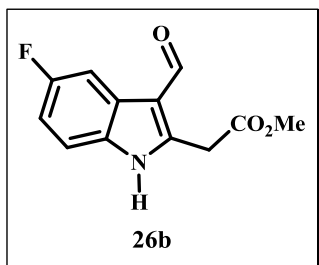
La búsqueda de las mejores condiciones para la síntesis de **26a** se siguió con la metodología descrita con anterioridad variando la cantidad de NaOMe y el tiempo de reacción. Las cantidades utilizadas en cada experimento se resumen en la tabla **12**.

Tabla 12. Condiciones de reacción para la síntesis de **26a**.

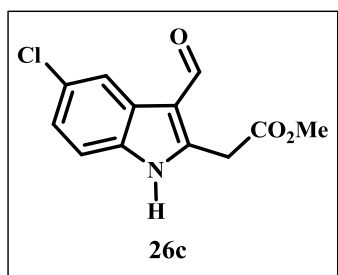
Ensayo	mmol de 27a	mmol de Na	Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento 26a (%)
1	1.32	3.29	MeOH (4mL)	30 min	61
2	3.29	11.54	MeOH (13mL)	1	64
3	1.32	5.28	MeOH (6mL)	1.15	49



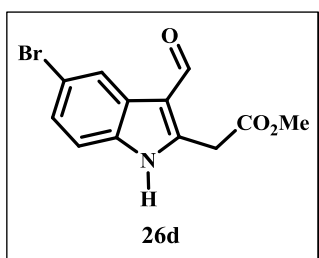
2-(3-Formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (26a). Se obtuvo a partir de 1g (3.29 mmol) de **27a** generando 0.455g de **26a** como un sólido café con un p.f. de 114–116 °C y con un rendimiento del 64%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1629, 1745, 2946, 3187 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.22 (s, 1H), 10.03 (s.a., 1H), 8.19–8.14 (m, 1H), 7.42–7.24 (m, 3H), 4.25 (s, 2H), 3.79 (s, 3H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.4, 170.3, 140.2, 135.1, 126.0, 123.7, 122.8, 120.0, 114.6, 111.5, 52.7, 31.3; **EM (EI)** m/z 185 (100), 217 $[\text{M}]^+$ (23).



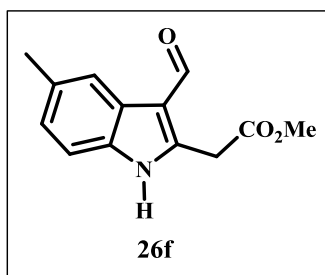
2-(5-Flúor-3-formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (26b). Se obtuvo a partir de 0.20g (0.62 mmol) de **27b** generando 0.076g de **26b** como un sólido amarillo con un p.f. de 168–170 °C y con un rendimiento del 52%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1623, 2952, 3159 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 11.78 (s.a., 1H), 10.10 (s, 1H), 7.81 (dd, $J = 9.6, 2.4$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 8.7, 4.5$ Hz, 1H), 6.97 (dt, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 183.3, 168.4, 158.6 (d, $J_{\text{CF}} = 235.5$ Hz, Ar-cuat), 142.2, 131.5, 125.7 (d, $J_{\text{CF}} = 11.3$ Hz, Ar-cuat), 114.1 (d, $J_{\text{CF}} = 4.5$ Hz, Ar-cuat), 112.0 (d, $J_{\text{CF}} = 9.8$ Hz, Ar-CH), 110.6 (d, $J_{\text{CF}} = 26.3$ Hz, Ar-CH), 105.0 (d, $J_{\text{CF}} = 25$ Hz, Ar-CH), 51.8, 31.4; **EM (EI)** m/z 235 $[\text{M}]^+$ (100); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $[\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{NF} + \text{H}]$: 236.0723; observado: 236.0723.

**2-(5-Cloro-3-formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (26c).**

Se obtuvo a partir de 0.10g (0.29 mmol) de **27c** generando 0.040g de **26c** como un sólido amarillo con un p.f. de 160–162 °C y con un rendimiento del 54%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1637, 1745, 2945, 3140 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 11.60 (s.a., 1H), 10.12 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 183.7, 168.9, 142.1, 133.8, 127.8, 126.6, 123.3, 119.6, 114.0, 112.5, 52.2, 31.7; **EM (EI)** m/z 251 $[\text{M}]^+$ (85), 252 (20), 253 (34), 254 (7); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $[\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{NCl} + \text{H}]$: 252.0427; observado: 252.0422.

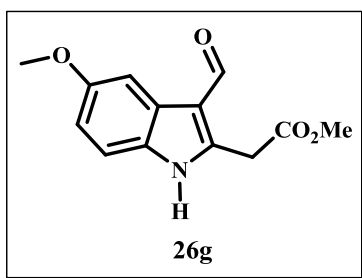
**2-(5-Bromo-3-formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (26d).**

Se obtuvo a partir de 0.65g (1.70 mmol) de **27d** generando 0.154g de **26d** como un sólido amarillo con un p.f. de 172–174 °C y con un rendimiento del 31%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1637, 1745, 2945, 3132 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 11.06 (s.a., 1H), 10.15 (s, 1H), 8.33 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.28 (dd, $J = 8.7, 0.6$ Hz, 1H), 4.19 (s, 2H), 3.77 (s, 3H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 183.9, 169.4, 141.6, 134.1, 127.5, 126.3, 122.9, 116.0, 114.1, 113.0, 52.6, 31.7; **EM (EI)** m/z 295 $[\text{M}]^+$ (76), 297 (72); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $[\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{NBr} + \text{H}]$: 295.9922; observado: 295.9926.

**2-(3-Formil-5-metil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (26f).**

Se obtuvo a partir de 0.413g (1.30 mmol) de **27f** generando 0.069g de **26f** como un sólido amarillo con un p.f. de 124–126 °C y con un rendimiento del 23%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1617, 1738, 2920, 3164 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.20

(s, 1H), 9.85 (s.a., 1H), 7.98 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.24 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.46 (s, 3H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.3, 170.4, 140.1, 133.4, 132.5, 126.2, 125.2, 119.9, 114.3, 111.1, 52.7, 31.3, 21.5; **EM (EI)** m/z 199 (85), 231 $[\text{M}]^+$ (100); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_3\text{N}$: 231.0895; observado: 231.0898.



2-(3-Formil-5-metoxi-1H-indol-2-il) acetato de metilo

(26g). Se obtuvo a partir de 0.260g (0.78 mmol) de **27g** generando 0.124g de **26g** como un sólido beige con un p.f. de 126–128 °C y con un rendimiento del 64%. **IR** (KBr) ν_{max} 1641, 1727, 2950, 3314 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 10.16 (s, 1H), 9.92 (s.a., 1H), 7.67 (d, $J = 2.4$ Hz,

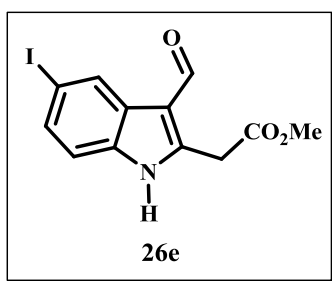
1H), 7.27 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.89 (dd, $J = 8.8, 2.7$ Hz, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.79 (s, 3H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 184.1, 170.2, 156.5, 140.5, 129.9, 126.7, 114.7, 113.9, 112.2, 102.1, 55.7, 52.7, 31.2; **EM (EI)** m/z 215 (100), 247 $[\text{M}]^+$ (82); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{O}_4\text{N}$: 247.0845; observado: 247.0836.

2. 8. Procedimiento general para la síntesis de 26d y 26e

A una solución de 0.815 mmol del indoil malonato de dietilo (**27d** o **27e**) en 2.3 mL de etanol se le adicionaron 3.67 mmol de una solución de KOH (2M) manteniéndola en agitación por 21 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se añadieron 2 mL de una solución de HCl (2N) y se llevó a reflujo por 2 h. Subsecuentemente, se agregaron 20 mL de una solución saturada de Na_2CO_3 y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica fue secada con Na_2SO_4 anhidro y concentrada a presión reducida.

Para realizar la esterificación se disolvieron 0.647 mmol del crudo de reacción, el cual contenía el derivado de ácido 5-bromo o 5-yodoindol acético, en 1.5 mL de DMF y posteriormente se agregaron 0.970 mmol de KHCO_3 y 0.970 mmol de MeI agitando por 5 h a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se agregaron 20 mL de una solución de

bisulfato de potasio (KHSO₄) 1M y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica fue lavada con una solución saturada de bicarbonato de sodio (NaHCO₃) y una solución saturada de NaCl, después fue secada con Na₂SO₄ anhidro y concentrada a presión reducida, el crudo de reacción fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice, usando como eluyente una mezcla de Hx:AcOEt (7:3 y 6:4).⁴⁴



2-(3-Formil-5-yodo-1H-indol-2-il) acetato de metilo (26e).

Se obtuvo a partir de 0.350g (0.815 mmol) de **27e** generando 0.169g de **26e** como un sólido amarillo con un p.f. de 168–170 °C y con un rendimiento del 60%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1637, 1747, 2922, 2947, 3129, cm^{-1} ; **RMN** ¹H (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ (ppm): 11.73 (s.a., 1H), 10.11 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.49 (dd, *J* = 8.5, 1.5 Hz, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); **RMN** ¹³C (75 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ (ppm): 183.6, 168.6, 141.6, 134.4, 131.2, 128.7, 127.6, 113.4, 113.3, 86.0, 52.1, 31.5; **EM (EI)** *m/z* 311 (93), 343 [M]⁺ (100); **EM AR (FAB⁺)** calculado para [C₁₂H₁₁O₃NI + H]: 343.9784; observado: 343.9786.

2-(5-Bromo-3-formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (26d). Se preparó a partir de 1g (2.61 mmol) de **27d**, generando 0.366g de **26d** como un sólido amarillo con un p.f. de 172–174 °C y con un rendimiento del 48%.

2. 9. Reacción de dimerización del 2-(1-bencil-3-formil-1H-indol-2-il) acetato de metilo (34)

A una solución del derivado **34** (0.050g; 0.16 mmol) en THF (3 mL) o en dioxano (0.6mL) se le agregó NaH al 60% en aceite mineral (0.01 g; 0.49 mmol), o piperidina según el caso y se dejó en agitación por 4, 5, 6 o 7 h a 0 °C o a temperatura ambiente, después de

este tiempo si no se observó la formación del producto de interés la reacción fue detenida. Las cantidades utilizadas en cada experimento se resumen en la tabla 13.

Tabla 13. Condiciones de reacción para la síntesis de **35**.

Ensayo	mmol de 34	mmol de base	Temperatura	Tiempo de Rx (h)	Disolvente	Rendimiento de 35 (%)
1	0.146	Piperidina (0.293)	t.a.	4	Dioxano (0.6 mL)	0
2	0.163	NaH (0.976)	t.a.	6	THF (3mL)	0
3	0.163	NaH (0.488)	0°C	7	THF (3mL)	0
4	0.163	NaH (0.976)	0°C	5	THF (3mL)	0
5	0.163	NaH (1.46)	0°C	7	THF (3mL)	0

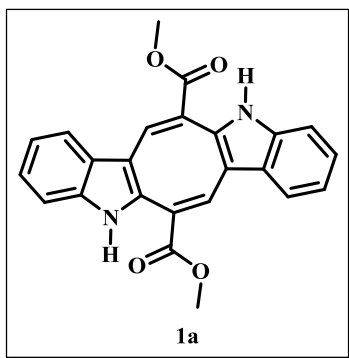
2. 10. Procedimiento general para la síntesis de la Caulerpina (1a) y sus análogos (1b–1g)

En un matraz balón de dos bocas se agregó el indol correspondiente **26a–26g** (0.100 g; 0.432 mmol) en xileno anhidro (56 mL), cuando el sólido se disolvió en su totalidad se adicionó la piperidina (0.128 mL; 1.30 mmol) y la dietilamina (0.134 mL; 1.30 mmol) posteriormente, la mezcla se llevó a reflujo usando una trampa de Dean-Stark. La reacción fue monitoreada mediante ccf y se detuvo cuando la materia prima se consumió. El disolvente fue eliminado a presión reducida y el extracto crudo fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice, usando como eluyente una mezcla de Hx:AcOEt (8:2).

La búsqueda de las mejores condiciones para la síntesis de **1a** se siguió con la metodología descrita con anterioridad variando la cantidad de las bases (Piperidina, dietilamina, pirrolidina o DBU), el disolvente (tolueno o xileno anhidro) así como el tiempo de reacción. Las cantidades utilizadas en cada experimento se resumen en la tabla 14. Cabe resaltar que los rendimientos fueron calculados asumiendo que teóricamente por cada dos moles de **26a–26g** se generaría 1 mol de **1a–1g**.

Tabla 14. Condiciones de reacción para la síntesis de **1a**.

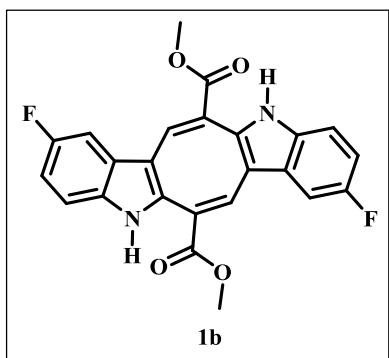
Ensayo	mmol de 26a	mmol de Base		Disolvente	Tiempo de Reacción (h)	Rendimiento (%) y mmol de 1a
1	0.230	Piperidina, dietilamina	0.690	Xileno (60mL)	3	24; 0.028
2	0.230	Piperidina, dietilamina	0.690	Xileno (30mL)	3	63; 0.073
3	0.230	Piperidina, dietilamina	1.15	Xileno (30mL)	3	61; 0.070
4	0.230	Piperidina, dietilamina	2.30	Xileno (30mL)	4	63; 0.073
5	0.690	Piperidina, dietilamina	6.90	Xileno (30mL)	6	30; 0.103
6	0.230	Piperidina, dietilamina	2.30	Tolueno (30mL)	4.5	48; 0.055
7	0.690	Piperidina, dietilamina	6.90	Tolueno (30mL)	7.5	24; 0.083
8	0.230	Pirrolidina	0.690	Xileno (30mL)	3	17; 0.020
9	0.230	DBU	0.690	Xileno (30mL)	3	0



5,12-Dihidrocicloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-di carboxilato de dimetilo (1a**).**

Se obtuvo a partir de 0.050g (0.230 mmol) de **26a** generando 0.029g de **1a** como un sólido rojo con un p.f. de 318 °C y con un rendimiento del 63%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1681, 2917, 3377 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 10.74 (s.a., 2H), 8.18 (s, 2H), 7.42–7.32 (m, 4H), 7.12–7.03 (m, 4H), 3.84 (s, 6H); **RMN**

^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 165.8, 141.7, 137.3, 132.5, 127.0, 125.3, 122.2, 119.6, 117.2, 111.3, 111.1, 51.7; **EM (EI)** m/z 398 $[\text{M}]^+$ (100); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{N}_2$: 398.1267; observado: 398.1266.

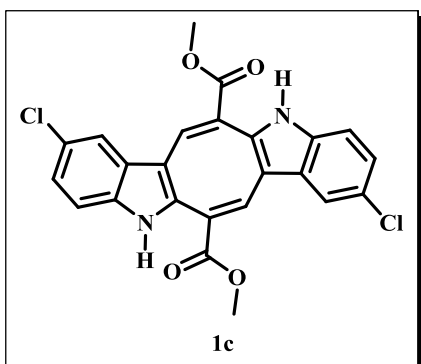


2,9-Difluoro-5,12-dihidrocicloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-dicarboxilato de dimetilo (1b**).**

Se obtuvo a partir de 0.096g (0.408 mmol) de **26b** generando 0.043g de **1b** como un sólido rojo con un p.f. de 340–342 °C y con un rendimiento del 48%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1678, 2918, 2952, 3373 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 11.16 (s.a., 2H), 8.09 (s, 2H), 7.32 (dd, $J = 8.7, 4.5$

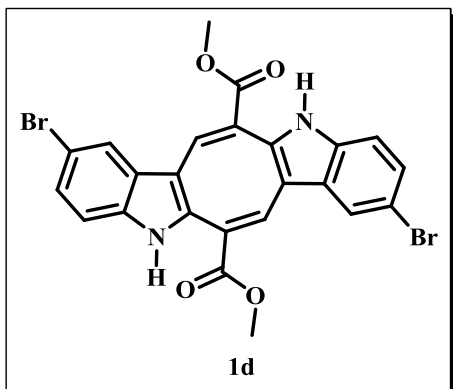
Hz, 2H), 7.07 (dd, $J = 9.3, 2.4$ Hz, 2H), 6.90 (dt, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 2H), 3.83 (s, 6H); **RMN**

^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 164.5, 158.0, 154.9, 140.0, 133.0 (d, $J_{\text{CF}} = 15$ Hz, Ar-cuat), 126.0 (d, $J_{\text{CF}} = 9.8$ Hz, Ar-cuat), 124.3, 111.5 (d, $J_{\text{CF}} = 9$ Hz, Ar-CH), 109.9 (d, $J_{\text{CF}} = 4.5$ Hz, Ar-cuat), 109.4 (d, $J_{\text{CF}} = 26$ Hz, Ar-CH), 101.3 (d, $J_{\text{CF}} = 23.3$ Hz, Ar-CH), 50.8; **EM (EI)** m/z 434 $[\text{M}]^+$ (100); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{F}_2$: 434.1078; observado: 434.1081.



2,9-Dicloro-5,12-dihidrocicloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-dicarboxilato de dimetilo (1c). Se obtuvo a partir de 0.185g (0.735 mmol) de **26c** generando 0.057g de **1c** como un sólido rojo con un p.f. de 350–352 °C y con un rendimiento del 33%. **IR** (KBr) ν_{max} 1686, 2922, 2955, 3378 cm^{-1} ; **RMN ^1H** (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 10.67 (s.a., 2H), 8.09 (s,

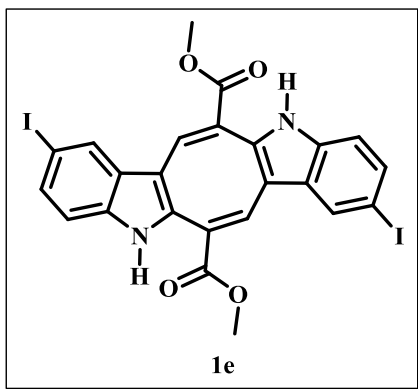
2H), 7.38 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.08 (dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, 2H), 3.86 (s, 6H); **RMN ^{13}C** (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 165.6, 141.2, 135.7, 133.6, 127.9, 125.4, 125.2, 122.4, 116.7, 112.5, 110.7, 51.8; **EM (IE)** m/z 466 $[\text{M}]^+$ (100), 467 (30), 468 (67), 469 (20), 470 (14); **EM AR (FAB $^+$)** calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{Cl}_2$: 466.0487; observado: 466.0484.



2,9-Dibromo-5,12-dihidrocicloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-dicarboxilato de dimetilo (1d). Se obtuvo a partir de 0.100g (0.337 mmol) de **26d** generando 0.060g de **1d** como un sólido rojo con un p.f. de 340–342 °C y con un rendimiento del 64%. **IR** (KBr) ν_{max} 1679, 2850, 2919, 3374 cm^{-1} ; **RMN ^1H** (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 11.01 (s.a., 2H), 8.10 (s, 2H), 7.53 (d, $J = 1.5$ Hz, 2H), 7.26

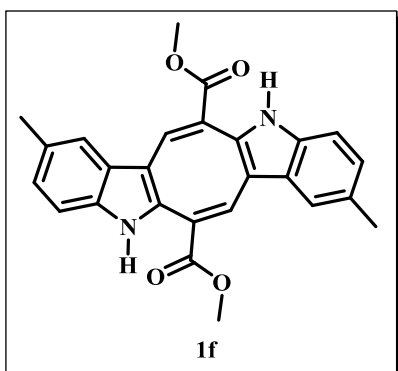
(d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.19 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 2H), 3.85 (s, 6H); **RMN ^{13}C** (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 164.9, 140.5, 135.5, 133.0, 127.9, 125.1, 124.4, 119.3, 112.6, 112.2,

110.0, 51.3; **EM (EI)** m/z 554 $[M]^+$ (54), 556 (100), 558 (53); **EM AR (FAB⁺)** calculado para $C_{24}H_{16}O_4N_2^{79}Br^{81}Br$: 555.9456; observado: 555.9466.



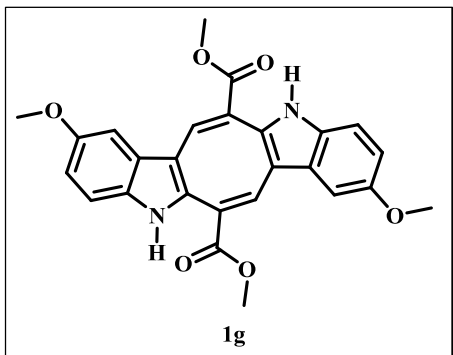
2,9-Diiodo-5,12-dihidrociocloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-dicarboxilato de dimetilo (1e). Se obtuvo a partir de 0.177g (0.516 mmol) de **26e** generando 0.034g de **1e** como un sólido rojo con un p.f. de 318–320 °C y con un rendimiento del 20%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1677, 2850, 2917, 3377 cm^{-1} ; **RMN ¹H** (300 MHz, $CDCl_3 + DMSO-d_6$) δ (ppm): 11.03 (s.a., 2H), 8.09 (s, 2H), 7.72 (s, 2H), 7.36 (dd, $J = 8.4, 1.5$ Hz, 2H), 7.16

(d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.84 (s, 6H); **RMN ¹³C** (75 MHz, $CDCl_3 + DMSO-d_6$) δ (ppm): 164.8, 140.4, 135.8, 132.6, 129.7, 128.7, 125.5, 125.0, 113.0, 109.6, 82.5, 51.2; **EM (IE)** m/z 649 (100), 650 $[M]^+$ (28); **EM AR (FAB⁺)** calculado para $C_{24}H_{16}O_4N_2I_2$: 649.9200; observado: 649.9208.



2,9-Dimetil-5,12-dihidrociocloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-dicarboxilato de dimetilo (1f). Se obtuvo a partir de 0.100g (0.432 mmol) de **26f** generando 0.044g de **1f** como un sólido rojo con un p.f. de 288–290 °C y con un rendimiento del 48%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1680, 2852, 2913, 3382 cm^{-1} ; **RMN ¹H** (300 MHz, $CDCl_3 + DMSO-d_6$) δ (ppm): 10.56 (s.a., 2H), 8.13 (s, 2H), 7.22 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.18 (s, 2H), 6.94 (dd, $J = 8.3, 1.5$ Hz, 2H), 3.83

(s, 6H), 2.39 (s, 6H); **RMN ¹³C** (75 MHz, $CDCl_3 + DMSO-d_6$) δ (ppm): 165.3, 141.1, 135.1, 131.9, 128.2, 126.7, 124.5, 123.3, 116.4, 110.5, 110.2, 51.1, 20.4; **EM (IE)** m/z 426 $[M]^+$ (100); **EM AR (FAB⁺)** calculado para $C_{26}H_{22}O_4N_2$: 426.1580; observado: 426.1573.

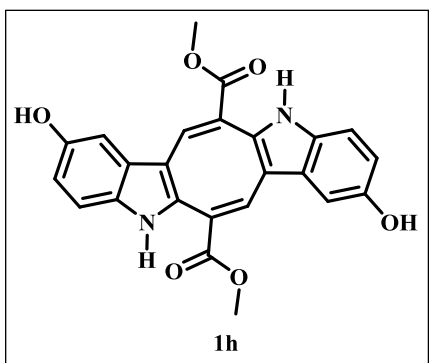


2,9-Dimetoxi-5,12-dihidrocicloocta [1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-dicarboxilato de dimetilo (1g**).** Se obtuvo a partir de 0.150g (0.607 mmol) de **26g** generando 0.063g de **1g** como un sólido rojo con un p.f. de 306–308 °C y con un rendimiento del 45%. **IR** (KBr) ν_{\max} 1695, 2924, 2947, 3343 cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 10.43

(s.a., 2H), 8.11 (s, 2H), 7.24 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.77 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.82 (s, 6H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 165.7, 153.8, 141.3, 132.6, 132.1, 127.2, 124.5, 112.3, 111.9, 110.6, 98.8, 54.9, 51.4; **EM** (**IE**) m/z 458 $[\text{M}]^+$ (100); **EM AR** (**FAB** $^+$) calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{N}_2$: 458.1478; observado: 458.1479.

2. 11. Síntesis del análogo 1h

A una solución de **1g** (0.08g; 0.174 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (8 mL) se le agregó BBr_3 (0.05 mL; 0.52 mmol) a 0 °C, después se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, a la mezcla de reacción se le adicionó H_2O (10 mL) y una solución saturada de NaCl, posteriormente se extrajo con AcOEt (3 x 10 mL). La fase orgánica se secó con Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida.⁴⁴ El extracto crudo fue purificado mediante cromatografía en columna de gel de sílice, usando como eluyente una mezcla de Hx:AcOEt (5:5).⁴⁵ Obteniendo 0.037g de **1h** como un sólido rojo con un p.f. de 330-332 °C y con un rendimiento de 49%.



2,9-Dihidroxi-5,12-dihidrocicloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindol-6,13-dicarboxilato de dimetilo (1h**).** **IR** (KBr) 1685, 2848, 2922, 2950, 3286, 3435 ν_{\max} cm^{-1} ; **RMN** ^1H (300 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 10.60 (s.a., 2H), 8.54 (s, 2H), 8.04 (s, 2H), 7.13 (d, $J =$

8.7 Hz, 2H), 6.74 (d, $J = 1.8$ Hz, 2H), 6.68 (dd, $J = 8.6, 2.1$ Hz, 2H), 3.81 (s, 6H); **RMN** ^{13}C (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ (ppm): 165.0, 150.4, 140.5, 131.9, 130.9, 127.0, 123.7, 111.6, 110.9, 109.3, 100.6, 50.7; **EM (IE)** m/z 430 $[\text{M}]^+$ (6); **EM AR (FAB⁺)** calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_6\text{N}_2$: 430.1165; observado: 430.1162.

X. Pruebas biológicas

1. Metodología para la evaluación de la actividad anti-inflamatoria⁴⁶

El ensayo de edema inducido en oreja de ratón está basado en la metodología reportada por Merlos y colaboradores.⁵⁵ Para realizar la prueba se utilizó un grupo de seis ratones quienes fueron anestesiados con Imalgen® y posteriormente se les aplicó de manera tópica en ambas caras de la oreja derecha del ratón (5 μL en cada cara) una solución de acetato de 12-*O*-tetradecanoilforbol (TPA) (2.5 μg) en etanol (10 μL). La oreja izquierda recibió únicamente etanol (10 μL). Después de 10 minutos de tratamiento con el TPA, se le aplicó una solución de 0.31 μmol o 1 μmol del compuesto a evaluar disuelto en DMSO al 10% en acetona: CH_2Cl_2 (1:1). La misma dosis fue utilizada en la referencia de indometacina disuelta en 20 μL de acetona y aplicada a ambas caras de la oreja del ratón (10 μL en cada cara). A los animales que fueron utilizados como control se les aplicó únicamente DMSO al 10% en acetona: CH_2Cl_2 (1:1). Después de cuatro horas los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y una muestra de 7 mm de diámetro fue removida de cada oreja.

La respuesta edematosa fue medida como la diferencia en peso de la muestra del control con la de aquellos que fueron sometidos a tratamiento. La actividad anti-inflamatoria fue expresada como el porcentaje de inhibición del edema en ratones tratados en comparación a los ratones usados como control.

⁵⁵ a) Merlos, M.; Gomez, L. A.; Giral, M.; Vencat, M. L.; Garcia, R. J.; Form, J. *British Journal of Pharmacology*. **1991**, *104*, 990–994. b) Jiménez-Estrada, M.; Reyes Chilpa, R.; Ramírez Apan, T.; Lledias, F.; Hansberg, W.; Arrieta, D.; Alarcon Aguilar, F. J. *J. Ethnopharma*. **2006**, *105*, 34–38.

2. Metodología para la evaluación de la actividad antituberculosa⁴⁷

La actividad antimicobacteriana de la Caulerpina (**1a**) y sus análogos (**1b–1h**) se evaluó sobre la cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*, en cada experimento fue incluida la curva de calibración del fármaco de referencia rifampicina.

Stock de los compuestos a evaluar. Se prepararon soluciones stock de los compuestos (**1a–1h**) en DMSO a una concentración de 20,000 μM , las soluciones fueron esterilizadas utilizando filtros de jeringa con membrana de PTFE de 0.22 μm de poro y 13 mm de diámetro (Millex-LCR, Millipore). Para la prueba de susceptibilidad bacteriana todas las soluciones fueron diluidas en caldo estéril Middlebrock 7H9 hasta obtener una solución de trabajo de 100 μM .

La actividad antimicobacteriana de los compuestos se evaluó según lo descrito por Collins y Franzblau *et al.*⁵⁶ Placas de 96 pozos fueron utilizadas para los experimentos, en los pozos de las orillas de las placas se colocaron 200 μL de agua destilada estéril para evitar la evaporación de los pozos de tratamiento durante el periodo de incubación, la columna 2 (pozos B a G) fue utilizada para evaluar el fármaco de referencia mediante una dilución seriada en base dos (2.0 a 0.006 $\mu\text{g}/\text{mL}$), los pozos 10E y F se utilizaron para el control del DMSO. 4 pozos (11B-E) se utilizaron como control de revelado, los cuales recibieron 100 μL de medio de cultivo 7H9 y 100 μL de inóculo bacteriano (1×10^6 cfu/mL), 2 pozos (10 y 11G) como control con medio de cultivo y 1 pozo (11F) como control diluido 1:100 para garantizar el crecimiento del 1% de la población bacilar total.

Los pozos de prueba recibieron 100 μL de solución de trabajo (100 μM) y 100 μL de inóculo bacteriano. La concentración final de las sustancias a evaluar fue de 50 μM mientras que la concentración final de DMSO en cada pozo fue 1.0% v/v. Los valores de IC_{50} fueron calculados solo para los compuestos que presentaran una inhibición ≥ 75 del crecimiento de la población bacilar. Estos compuestos fueron evaluados a diferentes concentraciones (**1a**: 50–0.097 μM ; **1b**: 50–0.78 μM ; **1d**: 25–0.78 μM y **1e**: 50–3.125 μM) con incrementos de 0.3 log. Las placas fueron incubadas por 7 días a 37°C, transcurrido este tiempo se reveló un pozo de control con 20 μL de AlamarBlue (ABD Serotec) y 5 μL

⁵⁶ Franzblau, S. G.; Witzig, R.; McLaughlin, J.; Torres, P.; Madico, G.; Hernández, A.; Gilman, R. J. *Clin. Microbiol.* **1998**, *36*, 362–366.

de una solución de Tween estéril al 20%. Las placas fueron incubadas nuevamente a 37°C por 24 h. Después de este periodo de incubación, si el pozo control cambiaba azul a rosa (azul = inhibición de crecimiento bacilar; rosa = indicativo de crecimiento bacilar) toda la placa era revelada con una mezcla de Alamar-Tween y se incubaba por 24 h más (Figura 8).

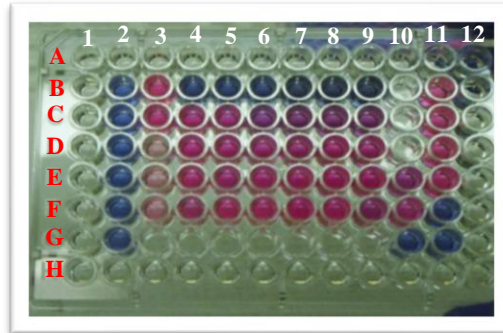


Figura 8. Placa después del periodo de incubación.

El porcentaje de reducción del azul de Alamar fue calculado de acuerdo al protocolo del fabricante. La densidad óptica de las muestras se midió usando un espectrofotómetro a 540 y 600 nm. El porcentaje de inhibición de los compuestos fue definido como 100 menos el porcentaje de reducción del azul de Alamar.

Para procesar los datos fue necesario calcular el factor de corrección (R_o) del colorante para su uso con diferentes filtros tal como lo indica el fabricante.

$$R_o = AO_{LW} / AO_{HW}$$

En donde:

AO_{LW} = absorbancia del AlamarBlue en el medio de cultivo – Absorbancia del medio de cultivo (Filtro de longitud de onda corta).

AO_{HW} = absorbancia del AlamarBlue en el medio de cultivo – Absorbancia del medio de cultivo (Filtro de longitud de onda larga).

El porcentaje de reducción del colorante se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de reducción} = A_{LW} - (A_{HW} \times R_o) \times 100$$

En donde:

A_{LW} = absorbancia a longitud de onda corta del pozo de prueba –Absorbancia del medio de cultivo.

A_{HW} = absorbancia a longitud de onda larga del pozo de prueba –Absorbancia del medio de cultivo.

R_o = factor de corrección del alamar azul.

XI. ANEXO

Article

Synthesis and Anti-Tuberculosis Activity of the Marine Natural Product Caulerpin and Its Analogues

Cristina I. Canché Chay¹, Rocío Gómez Cansino¹, Clara I. Espitia Pinzón²,
Rubén O. Torres-Ochoa¹ and Roberto Martínez^{1,*}

¹ Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Circuito Exterior, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, México D.F. C.P. 04510, Mexico; E-Mails: qfbcicc@hotmail.com (C.I.C.C.); chio746_@hotmail.com (R.G.C.); rube_to83@hotmail.com (R.O.T.-O.)

² Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, México D.F. C.P. 04510, Mexico.; E-Mail: espitia@biomedicas.unam.mx

* Author to whom correspondence should be addressed; E-Mail: robmar@unam.mx; Tel.: +52-55-5622-4441.

Received: 7 January 2014; in revised form: 6 February 2014 / Accepted: 27 February 2014 / Published: 27 March 2014

Abstract: Caulerpin (**1a**), a bis-indole alkaloid from the marine algal *Caulerpa* sp., was synthesized in three reaction steps with an overall yield of 11%. The caulerpin analogues (**1b–1g**) were prepared using the same synthetic pathway with overall yields between 3% and 8%. The key reaction involved a radical oxidative aromatic substitution involving xanthate (**3**) and 3-formylindole compounds (**4a–4g**). All bis-indole compounds synthesized were evaluated against the *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv, and **1a** was found to display excellent activity (IC₅₀ 0.24 μM).

Keywords: synthesis; caulerpin; analogues; anti-tuberculosis activity

1. Introduction

Tuberculosis (TB), caused mainly by the bacillus *Mycobacterium tuberculosis*, is the second cause of death worldwide due to an infectious disease, after human immunodeficiency virus (HIV/AIDS). In 2012, the World Health Organization (WHO, Geneva, Switzerland) reported almost nine million

new cases of TB, 1.3 million deaths due to TB and 0.3 million deaths resulting from a co-infection with HIV and TB [1].

Natural products are sources of active compounds that may be useful in the development of new drugs. Bis-indole-based alkaloids are an important family of alkaloid compounds that are widespread in nature and display diverse and interesting biological activities as anti-tumor or antibacterial agents, showing particular activity against different species of Mycobacteria. Some of these compounds have been obtained from marine natural products [2–6]. The importance of marine metabolites may be appreciated in view of the fact that three approved drugs for the U.S. FDA (Food and Drug Administration, Silver Spring, MD, USA) have been isolated from marine species, and thirteen additional natural compounds (or their synthetic derivatives) are in different phases of clinical trials [7].

Caulerpin (**1a**) is a bis-indole alkaloid isolated from *Caulerpa racemosa* and *C. serrulata* in 1970 in a yield of 0.55%–0.63% the algal dry weight [8]. Only one synthetic route to **1a** has been reported from the 3-formylindol-2-yl acetic ester, providing a 5% yield [9]. In 1984, it was described that the compound had a low toxicity [10] and a variety of biological activities have been reported [11–18].

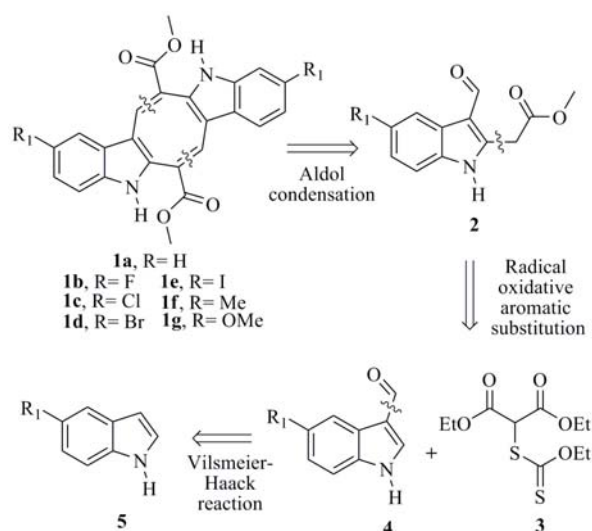
Despite showing a wide range of promising biological activities, the only source of this compound has been the marine alga, *Caulerpa* sp. Thus far, no accessible synthetic methods have been described for obtaining **1a** in good yields. With these considerations in mind, the present investigation was undertaken to develop an efficient method for synthesizing **1a** and its analogues (**1b–1g**). The activities of these compounds against the *M. tuberculosis* strain, H37Rv, were evaluated.

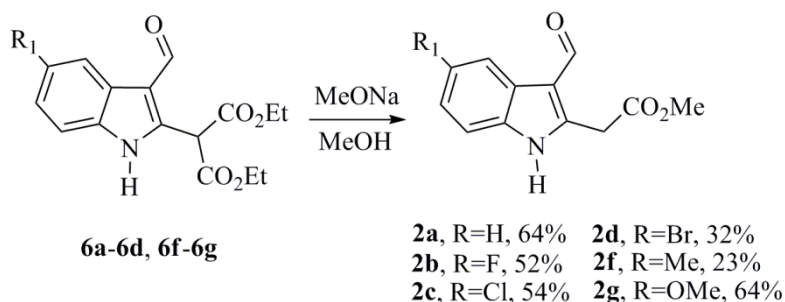
2. Results and Discussion

2.1. Chemistry

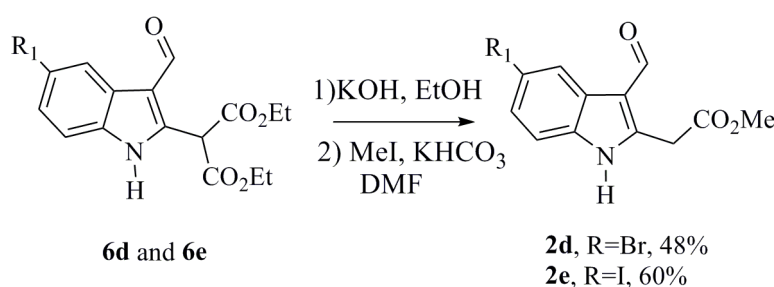
Since **1a** and its analogues (**1b–1g**) possessed C-2 symmetry, their synthesis could be achieved through an aldol condensation from the ester derivatives (**2**). The indoles **2** could be formed via a radical oxidative aromatic substitution reaction between the 3-formylindoles (**4**) and xanthate (**3**). Finally, the indoles-3-carboxaldehydes could be obtained from the indole through a Vilsmeier-Haack reaction (**5**) (Scheme 1).

Scheme 1. Retrosynthetic analysis of **1a** and its analogues (**1b–1g**).



Scheme 4. Optimal reaction conditions for the synthesis of **2a–2d** and **2f–2g**.

The indoles **2d** and **2e** were obtained from the decarboxylation and transesterification step in low yields. In an effort to increase the yields, the hydrolysis reactions were conducted using KOH, and the alkylation reaction was performed using MeI. The desired compounds **2d** and **2e** were thereby synthesized in an optimal manner (Scheme 5) [22,23].

Scheme 5. Alternative synthesis of the indoles **2d** and **2e**.

Once the ester **2a** had been prepared, we focused our attention on the synthesis of the natural product **1a** based on the reaction conditions that allowed Maiti *et al.* [9] to achieve the first synthesis of the natural product. For this purpose, several experiments were carried out in which certain factors were modified, such as the solvent, the amount of piperidine and diethylamine, and the concentration of the substrate. Temperature was thought to play an important role in the transformation, and high temperatures favored the condensation and dehydration steps. For this reason, xylene and toluene were tested as solvents. The results improved for the reaction conducted with piperidine (0.023 M) and diethylamine (0.023 M): the yield increased to 32% and the reaction time decreased to only 3 h. The preparation of **1a** was corroborated by comparing the spectroscopic data of the synthetic and isolated products. No changes in the yield were detected, and the reaction was achieved at higher concentrations, 0.038 or 0.23 M. The highest substrate concentration produced a considerable decrease in the yield due to the formation of many by-products, thereby supporting the importance of the dilution factor. Unexpectedly, the use of toluene provided a lower yield. It is important to note that the best dimerization yield was low (32%), although remarkably better than the results obtained previously (see Supplementary Information).

Our next task was to employ the best reaction conditions in the preparation of the caulerpin analogues (**1b–1g**). The six novel compounds were obtained in similar yields, except that the chloro and iodo analogues (**1c**, **1e**) provided low yields. During the syntheses of **1b** and **1g**, the starting

materials were not consumed until the reaction had proceeded for 10 h (Scheme 6 and Table 1). All synthesized compounds were characterized using spectroscopic methods.

Scheme 6. Reaction conditions for the synthesis of **1a–1g**.

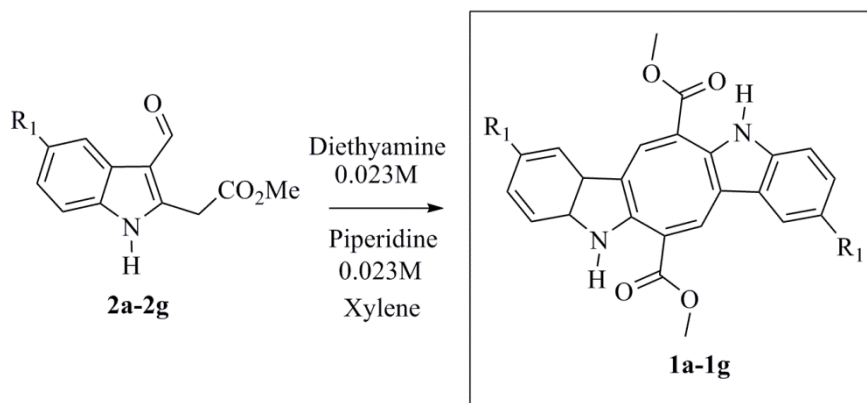


Table 1. Reaction conditions for the synthesis of **1a–1g**.

Compound	Substituent (R ₁)	Temperature (°C)	Time (h)	Yield (%)
1a	H	reflux	3	32
1b	F	reflux	10	24
1c	Cl	reflux	3	17
1d	Br	reflux	3	32
1e	I	reflux	5	10
1f	Me	reflux	3	24
1g	OMe	reflux	10	23

2.2. Anti-Tuberculosis Activity

We evaluated the activities of compounds **1a–1g** as inhibitors of the growth of the *Mycobacterium tuberculosis* strain, H37Rv, at a 50 μM concentration. Compounds **1a**, **1b**, **1d**, and **1e** showed a percentage of inhibition exceeding 70% (Figure 1). These compounds displayed IC_{50} values as low as 0.24 μM for caulerpin, and as high as 3.89 μM for **1e** (Figure 2). Rifampin (RIF) is usually indicated for the treatment of *Mycobacterium* infections, including tuberculosis, and the anti-tuberculosis activities of the synthesized compounds **1a–1g** were compared with the activity of rifampin. As shown in Figure 2, RIF ($\text{IC}_{50} = 0.55 \mu\text{M}$) was more active than the synthesized bis-indoles **1b** ($\text{IC}_{50} = 1.68 \mu\text{M}$), **1d** ($\text{IC}_{50} = 1.98 \mu\text{M}$), and **1e** ($\text{IC}_{50} = 3.89 \mu\text{M}$), whereas caulerpin **1a** showed a potency that was more than twice that of RIF ($\text{IC}_{50} = 0.24 \mu\text{M}$).

Figure 1. The percent of growth inhibition of the compounds **1a–1g** against the *M. tuberculosis* strain H37Rv. Values are the means \pm S.E.M., $n = 5$. Assay concentration 50 μ M.

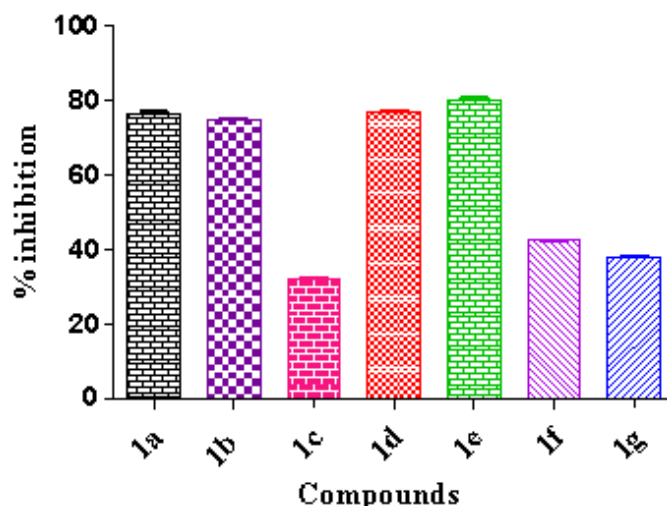
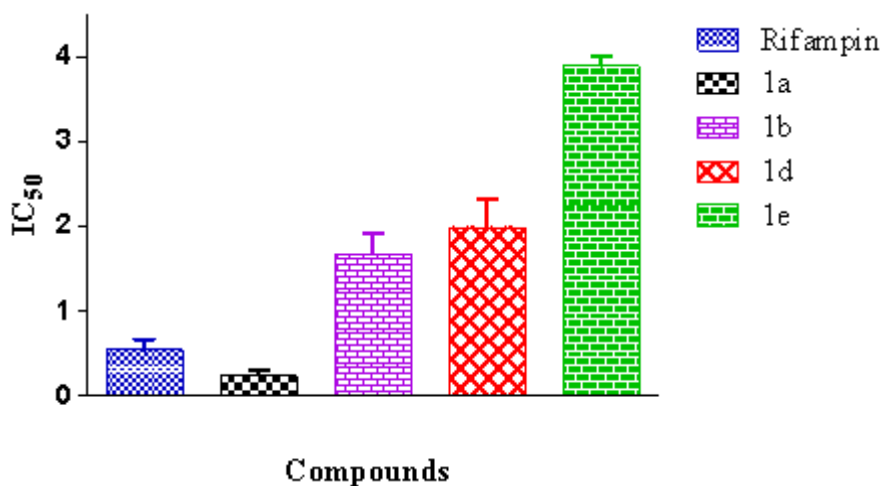


Figure 2. IC_{50} values of compounds **1a**, **1b**, **1d** and **1e** against the *M. tuberculosis* strain H37Rv. Values are the means \pm S.E.M., $n = 5$.



3. Experimental Section

3.1. Materials and Synthetic Procedure

Melting points were determined using a Melt-Temp II melting point apparatus and are uncorrected. IR spectra were recorded using a Nicolet FT Magna-IR 750 spectrometer (Thermo, Madison, WI, USA). The $^1\text{H-NMR}$ spectra were recorded using the Gemini-200 MHz Varian (Varian, Palo Alto, CA, USA) and a Jeol Eclipse 300 (Jeol Ltd., Tokyo, Japan), and samples were prepared in deuterated chloroform solutions containing tetramethylsilane or deuterated dimethylsulfoxide. $^{13}\text{C-NMR}$ spectra were recorded at 75 MHz on the same instruments. The peak patterns are indicated as follows: s, singlet; d, doublet; t, triplet; q, quartet; m, multiplet; bs, broad singlet. The coupling constants (J) are reported in Hertz (Hz). Mass spectra were obtained using a Jeol JMS-AX505HA and Jeol 5X102A mass spectrometers (Jeol Ltd.) by electronic impact (EI) and fast atom bombardment (FAB+) ionization.

The purification of compounds by column chromatography was performed on Silica Gel 60 F254 Merck (Merck, Darmstadt, Germany). Commercial-grade reagents were used with further purification.

3.1.1. General Procedure for Synthesizing the Indoles-3-Carboxaldehydes (**4b** and **4e–4g**)

Phosphorus oxychloride (0.42 g, 2.74 mmol) was added dropwise to a solution of the indole **5b**, **5e–5g** (0.30 g, 2.29 mmol) in DMF (0.84 g, 11.4 mmol) at 0 °C for 30 min. The solution was then heated at 40 °C for 1 h. Ice was added to the reaction vessel, followed by a solution of sodium hydroxide (2 M). The solution was refluxed for 40 min. The mixture was cooled and extracted using ethyl acetate, and the organic phase was washed with brine. The organic extracts were combined, dried over Na₂SO₄, and concentrated. The crude residue was purified by chromatography on a silica gel column using hexane-ethyl acetate as an eluent to obtain the desired product [19].

The indole derivatives **4a**, **4c**, and **4d** were purchased from Sigma-Aldrich (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

5-Fluoro-1*H*-indole-3-carbaldehyde (**4b**)

Yellow solid; yield 88%; mp 158–160 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ 11.72 (bs, 1H), 9.96 (s, 1H), 7.92 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.88 (dd, *J* = 9.4, 2.4 Hz, 1H), 7.42 (dd, *J* = 8.8, 4.2 Hz, 1H), 7.01 (dt, *J* = 9.0, 2.4 Hz, 1H) [24].

5-Iodo-1*H*-indole-3-carbaldehyde (**4e**)

Yellow solid; yield 97%; mp 192–194 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ 11.72 (s, 1H), 9.95 (bs, 1H), 8.59 (d, *J* = 1.8 Hz, 1H), 7.84 (d, *J* = 3.0 Hz, 1H), 7.53 (dd, *J* = 8.5, 1.8 Hz, 1H), 7.27 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H) [25].

5-Methyl-1*H*-indole-3-carbaldehyde (**4f**)

Yellow solid; yield 74%; mp 144–146 °C; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.02 (s, 1H), 9.21 (bs, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.81 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.15 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 2.47 (s, 3H) [26].

5-Methoxy-1*H*-indole-3-carbaldehyde (**4g**)

Light brown solid; yield 83%; mp 176–178 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ 12.08 (bs, 1H), 9.93 (s, 1H), 8.25 (s, 1H), 7.62 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 7.44 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.92 (dd, *J* = 8.8, 2.6 Hz, 1H), 3.82 (s, 3H) [27].

3.1.2. Procedure for Synthesizing the Xanthate of Diethyl Malonate (**3**)

To a solution of diethyl chloromalonate (1 g, 5.14 mmol) in acetonitrile (6.4 mL) was added potassium ethyl xanthogenate (0.99 g, 6.17 mmol) at 0 °C, and the mixture was stirred for 1 h. The crude product was then concentrated under reduced pressure, washed with brine, and extracted with CH₂Cl₂. The organic extracts were combined, dried over Na₂SO₄, and concentrated in vacuum. The

crude residue was purified by chromatography on a silica gel column using hexane-ethyl acetate as the eluent to obtain the desired product.

Diethyl 2-(Ethoxycarbonothioylthio)malonate (**3**)

Yellow oil; yield 97%; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 5.28 (s, 1H), 4.65 (q, $J = 7.2$ Hz, 2H), 4.27 (q, $J = 7.2$ Hz, 4H), 1.42 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 210.2, 165.1, 71.0, 62.8, 56.3, 13.9, 13.6 [28].

3.1.3. General Procedure for Synthesizing the Diethyl 2-(3-formyl-1*H*-indol-2-yl)malonate Derivatives (**6a–6g**)

A solution of the xanthate **3** (1.37 g, 4.87 mmol) and the corresponding indole (**4a–4g**) (0.353 g, 2.21 mmol) in degassed 1,2-dichloroethane (DCE) (9 mL) was heated at reflux, and dilauroyl peroxide (DLP) (2.21 g, 5.54 mmol) in solid form was added in several portions (0.92 mmol/h). The reaction was monitored by TLC and was stopped after 6 h. The solvent was removed under reduced pressure, and the crude residues were extracted with acetonitrile and washed with hexane. The polar phase was then concentrated under reduced pressure and purified by chromatography on a silica gel column using hexane-ethyl acetate as the eluent to obtain the desired products.

Diethyl 2-(3-Formyl-1*H*-indol-2-yl)malonate (**6a**)

Yellow solid; yield 52%; mp 70–72 °C; IR (KBr) ν_{max} 3187, 1728, 1624 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 10.30 (s, 1H), 10.00 (bs, 1H), 8.20–8.17 (m, 1H), 7.46–7.26 (m, 3H), 5.74 (s, 1H), 4.35–4.19 (m, 4H), 1.29 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 184.4, 166.3, 136.8, 135.3, 125.8, 124.2, 122.9, 120.2, 115.1, 111.8, 63.0, 49.0, 13.9; EIMS m/z 303 $[\text{M}]^+$ (100), 157 (73).

Diethyl 2-(5-Fluoro-3-formyl-1*H*-indol-2-yl)malonate (**6b**)

Yellow solid; yield 40% (58% Based on Recovered Starting Material); mp 98–100 °C; IR (KBr) ν_{max} 3149, 3108, 2983, 2933, 1738, 1637 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 10.23 (s, 1H), 10.10 (bs, 1H), 7.86 (dd, $J = 9.3, 2.7$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 8.9, 4.2$ Hz, 1H), 7.05 (dt, $J = 9.0, 2.7$ Hz, 1H), 5.69 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.30 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 184.0, 166.2, 159.7 (d, $J_{\text{CF}} = 237.8$ Hz, Ar-quat), 138.2, 131.7, 126.4 (d, $J_{\text{CF}} = 10.5$ Hz, Ar-quat), 115.3 (d, $J_{\text{CF}} = 4.5$ Hz, Ar-quat), 112.8 (d, $J_{\text{CF}} = 5.3$ Hz, Ar-CH), 112.6 (d, $J_{\text{CF}} = 11.3$ Hz, Ar-CH), 105.9 (d, $J_{\text{CF}} = 25$ Hz, Ar-CH), 63.1, 49.0, 13.9; EIMS m/z 321 $[\text{M}]^+$ (37), 181 (70), 115 (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{O}_5\text{NF}$, 322.1091; found: 322.1082.

Diethyl 2-(5-Chloro-3-formyl-1*H*-indol-2-yl)malonate (**6c**)

Yellow solid; yield 48% (69% Based on Recovered Starting Material); mp 102–104 °C; IR (KBr) ν_{max} 3139, 2979, 2826, 1734, 1633 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 10.24 (s, 1H), 10.00 (bs, 1H), 8.19 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.25 (dd, $J = 8.7$ Hz, 2.1 Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 184.0, 166.1, 137.9, 133.6,

128.9, 126.7, 124.6, 120.1, 114.8, 112.8, 63.2, 48.9, 13.9; EIMS m/z 337 $[M]^+$ (84), 338 (22), 339 (34), 340 (11); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{16}H_{17}O_5NCl$, 338.0795; found: 338.0801.

Diethyl 2-(5-Bromo-3-formyl-1*H*-indol-2-yl)malonate (**6d**)

Yellow solid; yield 56%; mp 108–110 °C; IR (KBr) ν_{max} 3159, 2989, 1732, 1634 cm^{-1} ; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10.23 (s, 1H), 10.08 (bs, 1H), 8.35 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.39 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 5.68 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.31 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 184.0, 166.1, 137.8, 133.9, 127.3, 123.1, 116.5, 114.7, 113.2, 63.2, 48.9, 13.9; EIMS m/z 381 $[M]^+$ (66), 383 (65); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{16}H_{16}O_5NBr$, 381.0212; found: 381.0213.

Diethyl 2-(3-Formyl-5-iodo-1*H*-indol-2-yl)malonate (**6e**)

Yellow solid; yield 53%; mp 90–92 °C; IR (KBr) ν_{max} 3166, 2977, 2929, 1732, 1629 cm^{-1} ; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10.22 (s, 1H), 10.06 (bs, 1H), 8.56 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.57 (dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.67 (s, 1H), 4.37–4.20 (m, 4H), 1.31 (t, $J = 6.9$ Hz, 6H); ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 184.0, 166.1, 137.4, 134.4, 132.8, 129.3, 127.9, 114.4, 113.6, 87.0, 63.2, 48.9, 13.9; EIMS m/z 429 $[M]^+$ (100), 383 (87); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{16}H_{17}O_5NI$, 430.0151; found: 430.0163.

Diethyl 2-(3-Formyl-5-methyl-1*H*-indol-2-yl)malonate (**6f**)

Yellow solid; yield 63%; mp 84–86 °C; IR (KBr) ν_{max} 3218, 2986, 1734, 1636 cm^{-1} ; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10.27 (s, 1H), 9.84 (bs, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.33 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.13 (dd, $J = 8.4, 1.5$ Hz, 1H), 5.70 (s, 1H), 4.36–4.19 (m, 4H), 2.48 (s, 3H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 184.3, 166.4, 136.8, 133.5, 132.7, 126.0, 125.8, 120.0, 114.8, 111.4, 63.0, 49.0, 21.5, 13.9; EIMS m/z 317 $[M]^+$ (100), 271 (62); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{17}H_{20}O_5N$, 318.1341; found: 318.1340.

Diethyl 2-(3-Formyl-5-methoxy-1*H*-indol-2-yl)malonate (**6g**)

Beige solid; yield 68%; mp 112–114 °C; IR (KBr) ν_{max} 3176, 2980, 1732, 1628 cm^{-1} ; 1H -NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 10.24 (s, 1H), 9.94 (bs, 1H), 7.69 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 6.94 (dd, $J = 8.9, 2.4$ Hz, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.36–4.19 (m, 4H), 3.88 (s, 3H), 1.30 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); ^{13}C -NMR (75 MHz, $CDCl_3$) δ 184.1, 166.3, 156.6, 137.1, 130.1, 126.4, 115.2, 114.7, 112.6, 102.0, 63.0, 55.8, 48.9, 13.9; EIMS m/z 333 $[M]^+$ (64), 241 (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{17}H_{19}O_6N$, 333.1212; found: 333.1211.

3.1.4. General Procedure for Synthesizing the Methyl 2-(3-Formyl-1*H*-indol-2-yl) Acetate Derivatives (**2a–2d** and **2f–2g**). This Reaction Procedure Was Designed Based on the Method Described by Somei *et al.* [21], with Slight Changes

To a solution of NaOMe (prepared from sodium, 0.105 g, 4.56 mmol, and anhydrous MeOH, 5 mL) was added a solution containing the corresponding diethyl malonates (**6a–6d** and **6f–6g**) (0.413 g, 1.30 mmol) in anhydrous MeOH (14 mL). The mixture was then refluxed for 1 h with stirring. After

cooling, a saturated solution of NaHCO₃ was added to the reaction mixture, and the crude product was extracted with CH₂Cl₂. The crude extract was washed with anhydrous Na₂SO₄ and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by column chromatography on a silica gel column using hexane-ethyl acetate as the eluent to obtain the desired product.

Methyl 2-(3-Formyl-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2a**)

Brown solid; yield 64%; mp 114–116 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3187, 2946, 1745, 1629 cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.22 (s, 1H), 10.03 (bs, 1H), 8.19–8.14 (m, 1H), 7.42–7.24 (m, 3H), 4.25 (s, 2H), 3.79 (s, 3H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 184.4, 170.3, 140.2, 135.1, 126.0, 123.7, 122.8, 120.0, 114.6, 111.5, 52.7, 31.3; EIMS m/z 217 [M]⁺ (23), 185 (100) [22].

Methyl 2-(5-Fluoro-3-formyl-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2b**)

Yellow solid; yield 52%; mp 168–170 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3159, 2952, 1746, 1623 cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 11.78 (bs, 1H), 10.10 (s, 1H), 7.81 (dd, $J = 9.6, 2.4$ Hz, 1H), 7.37 (dd, $J = 8.7, 4.5$ Hz, 1H), 6.97 (dt, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 1H), 4.17 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 183.3, 168.4, 158.6 (d, $J_{CF} = 235.5$ Hz, Ar-quat), 142.2, 131.5, 125.7 (d, $J_{CF} = 11.3$ Hz, Ar-quat), 114.1 (d, $J_{CF} = 4.5$ Hz, Ar-quat), 112.0 (d, $J_{CF} = 9.8$ Hz, Ar-CH), 110.6 (d, $J_{CF} = 26.3$ Hz, Ar-CH), 105.0 (d, $J_{CF} = 25$ Hz, Ar-CH), 51.8, 31.4; EIMS m/z 235 [M]⁺ (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for C₁₂H₁₁O₃NF, 236.0723; found: 236.0723.

Methyl 2-(5-Chloro-3-formyl-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2c**)

Yellow solid; yield 54%; mp 160–162 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3140, 2945, 1745, 1637 cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ 11.60 (bs, 1H), 10.12 (s, 1H), 8.16 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.35 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 8.7, 2.1$ Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ 183.7, 168.9, 142.1, 133.8, 127.8, 126.6, 123.3, 119.6, 114.0, 112.5, 52.2, 31.7; EIMS m/z 251 [M]⁺ (85), 252 (20), 253 (34), 254 (7); HRMS (FAB+) m/z calcd. for C₁₂H₁₁O₃NCl, 252.0427; found: 252.0422.

Methyl 2-(5-Bromo-3-formyl-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2d**)

Yellow solid; yield 32%; mp 172–174 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3132, 2945, 1745, 1637 cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ 11.06 (bs, 1H), 10.15 (s, 1H), 8.33 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.34 (dd, $J = 8.5, 1.8$ Hz, 1H), 7.28 (dd, $J = 8.7, 0.6$ Hz, 1H), 4.19 (s, 2H), 3.77 (s, 3H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆) δ 183.9, 169.4, 141.6, 134.1, 127.5, 126.3, 122.9, 116.0, 114.1, 113.0, 52.6, 31.7; EIMS m/z 295 [M]⁺ (76), 297 (72); HRMS (FAB+) m/z calcd. for C₁₂H₁₁O₃NBr, 295.9922; found: 295.9926.

Methyl 2-(3-Formyl-5-methyl-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2f**)

Yellow solid; yield 23%; mp 124–126 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3164, 2920, 1738, 1617 cm⁻¹; ¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 10.20 (s, 1H), 9.85 (bs, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.28 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.09 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.24 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 2.46 (s, 3H); ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃) δ 184.3, 170.4,

140.1, 133.4, 132.5, 126.2, 125.2, 119.9, 114.3, 111.1, 52.7, 31.3, 21.5; EIMS m/z 231 $[M]^+$ (100), 199 (85); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{13}H_{13}O_3N$, 231.0895; found: 231.0898.

Methyl 2-(3-Formyl-5-methoxy-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2g**)

Beige solid; yield 64%; mp 126–128 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3314, 2950, 1727, 1641 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 10.16 (s, 1H), 9.92 (bs, 1H), 7.67 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H), 7.27 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.89 (dd, $J = 8.8, 2.7$ Hz, 1H), 4.21 (s, 2H), 3.87 (s, 3H), 3.79 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, CDCl_3) δ 184.1, 170.2, 156.5, 140.5, 129.9, 126.7, 114.7, 113.9, 112.2, 102.1, 55.7, 52.7, 31.2; EIMS m/z 247 $[M]^+$ (82), 215 (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{13}H_{13}O_4N$, 247.0845; found: 247.0836.

3.1.5. General Procedure for Synthesizing **2d** and **2e**

To a solution of the diethyl indole malonate (**6d** or **6e**) (0.350 g, 0.815 mmol) in ethanol (2.3 mL) was added a solution of KOH (2 M) (1.8 mL, 3.67 mmol). The solution was then stirred at room temperature for 21 h. A solution of HCl 2 N was then added and refluxed for 2 h. Subsequently, 20 mL of a saturated solution of Na_2CO_3 were added to the reaction mixture. The crude product was extracted with ethyl acetate, and the organic phases were combined and concentrated under reduced pressure. The esterification step was accomplished by hydrolyzing and decarboxylating the residue. This transformation was accomplished by dissolving crude acetic acid (0.213 g, 0.647 mmol) in DMF (1.5 mL). Potassium bicarbonate (KHCO_3) (0.097 g, 0.970 mmol) and MeI (0.137 g, 0.970 mmol) were added, and the reaction was stirred for 5 h at room temperature. To the reaction mixture was added 20 mL of a solution containing 1 M potassium bisulfate (KHSO_4), followed by the addition of ethyl acetate. The crude product was then extracted. The organic phases were combined and washed with an aqueous saturated solution of sodium bicarbonate (NaHCO_3) and brine. The organic extract was dried over Na_2SO_4 and concentrated under reduced pressure, and the crude product was purified by column chromatography using silica gel and a mixture hexane–ethyl acetate as the eluent to obtain the desired product [22,23].

Methyl 2-(5-Bromo-3-formyl-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2d**)

Yellow solid; yield 48%; mp 172–174 °C.

Methyl 2-(3-Formyl-5-iodo-1*H*-indol-2-yl)acetate (**2e**)

Yellow solid; yield 60%; mp 168–170 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3129, 2947, 2922, 1747, 1637 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 11.73 (bs, 1H), 10.11 (s, 1H), 8.53 (s, 1H), 7.49 (dd, $J = 8.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.22 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.75 (s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 183.6, 168.6, 141.6, 134.4, 131.2, 128.7, 127.6, 113.4, 113.3, 86.0, 52.1, 31.5; EIMS m/z 343 $[M]^+$ (100), 311 (93); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $C_{12}H_{11}O_3NI$, 343.9784; found: 343.9786.

3.1.6. General Procedure for Synthesizing Caulerpin **1a** and Its Analogues (**1b–1g**)

To a solution of the corresponding indole (**2a–2g**) (0.100 g, 0.432 mmol) in anhydrous xylene (14 mL/0.1mmol) were added piperidine (0.128 mL, 1.30 mmol) and diethylamine (0.134 mL, 1.30 mmol), and the mixture was refluxed during the removal of water using a Dean-Stark separator. After the starting material had been consumed, as indicated by TLC analysis, the solvent was concentrated in vacuum. The residue was purified by column chromatography using silica gel and a mixture of hexane-ethyl acetate as the eluent to obtain the desired product.

Dimethyl 5,12-Dihydrocycloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindole-6,13-dicarboxylate (**1a**)

Red solid; yield 32%; mp 318 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3377, 2917, 1681 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 10.74 (bs, 2H), 8.18 (s, 2H), 7.42–7.32 (m, 4H), 7.12–7.03 (m, 4H), 3.84 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 165.8, 141.7, 137.3, 132.5, 127.0, 125.3, 122.2, 119.6, 117.2, 111.3, 111.1, 51.7; EIMS m/z 398 $[\text{M}]^+$ (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{18}\text{O}_4\text{N}_2$, 398.1267; found: 398.1266.

Dimethyl 2,9-Difluoro-5,12-dihydrocycloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindole-6,13-dicarboxylate (**1b**)

Red solid; yield 24%; mp 340–342 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3373, 2952, 2918, 1678 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 11.16 (bs, 2H), 8.09 (s, 2H), 7.32 (dd, $J = 8.7, 4.5$ Hz, 2H), 7.07 (dd, $J = 9.3, 2.4$ Hz, 2H), 6.90 (dt, $J = 9.0, 2.4$ Hz, 2H), 3.83 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 164.5, 158.0, 154.9, 140.0, 133.0 (d, $J_{\text{CF}} = 15$ Hz, Ar-quat), 126.0 (d, $J_{\text{CF}} = 9.8$ Hz, Ar-quat), 124.3, 111.5 (d, $J_{\text{CF}} = 9$ Hz, Ar-CH), 109.9 (d, $J_{\text{CF}} = 4.5$ Hz, Ar-quat), 109.4 (d, $J_{\text{CF}} = 26$ Hz, Ar-CH), 101.3 (d, $J_{\text{CF}} = 23.3$ Hz, Ar-CH), 50.8; EIMS m/z 434 $[\text{M}]^+$ (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{F}_2$, 434.1078; found: 434.1081.

Dimethyl 2,9-Chloro-5,12-dihydrocycloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindole-6,13-dicarboxylate (**1c**)

Red solid; yield 17%; mp 350–352 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3378, 2955, 2922, 1686 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 10.67 (bs, 2H), 8.09 (s, 2H), 7.38 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 7.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.08 (dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, 2H), 3.86 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 165.6, 141.2, 135.7, 133.6, 127.9, 125.4, 125.2, 122.4, 116.7, 112.5, 110.7, 51.8; EIMS m/z 466 $[\text{M}]^+$ (100), 467 (30), 468 (67), 469 (20), 470 (14); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{Cl}_2$, 466.0487; found: 466.0484.

Dimethyl 2,9-Bromo-5,12-dihydrocycloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindole-6,13-dicarboxylate (**1d**)

Red solid; yield 32%; mp 340–342 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3374, 2919, 2850, 1679 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 11.01 (bs, 2H), 8.10 (s, 2H), 7.53 (d, $J = 1.5$ Hz, 2H), 7.26 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 7.19 (dd, $J = 8.7, 1.8$ Hz, 2H), 3.85 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 164.9, 140.5, 135.5, 133.0, 127.9, 125.1, 124.4, 119.3, 112.6, 112.2, 110.0, 51.3; EIMS m/z 554 $[\text{M}]^+$ (54), 556 (100), 558 (53); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2^{79}\text{Br}^{81}\text{Br}$, 555.9456; found: 555.9466.

Dimethyl 2,9-Iodo-5,12-dihydrocycloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindole-6,13-dicarboxylate (**1e**)

Red solid; yield 10%; mp 318–320 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3377, 2917, 2850, 1677 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 11.03 (bs, 2H), 8.09 (s, 2H), 7.72 (s, 2H), 7.36 (dd, $J = 8.4, 1.5$ Hz, 2H), 7.16 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 3.84 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 164.8, 140.4, 135.8, 132.6, 129.7, 128.7, 125.5, 125.0, 113.0, 109.6, 82.5, 51.2; EIMS m/z 650 $[\text{M}]^+$ (28), 649 (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_4\text{N}_2\text{I}_2$, 649.9200; found: 649.9208.

Dimethyl 2,9-Dimethyl-5,12-dihydrocycloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindole-6,13-dicarboxylate (**1f**)

Red solid; yield 24%; mp 288–290 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3382, 2913, 2852, 1680 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 10.56 (bs, 2H), 8.13 (s, 2H), 7.22 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.18 (s, 2H), 6.94 (dd, $J = 8.3, 1.5$ Hz, 2H), 3.83 (s, 6H), 2.39 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 165.3, 141.1, 135.1, 131.9, 128.2, 126.7, 124.5, 123.3, 116.4, 110.5, 110.2, 51.1, 20.4; EIMS m/z 426 $[\text{M}]^+$ (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{N}_2$, 426.1580; found: 426.1573.

Dimethyl 2,9-Dimethoxy-5,12-dihydrocycloocta[1,2-*b*:5,6-*b'*]-diindole-6,13-dicarboxylate (**1g**)

Red solid; yield 23%; mp 306–308 °C; IR (KBr) ν_{\max} 3343, 2947, 2924, 1695 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 10.43 (bs, 2H), 8.11 (s, 2H), 7.24 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 6.83 (d, $J = 2.4$ Hz, 2H), 6.77 (dd, $J = 8.7, 2.4$ Hz, 2H), 3.85 (s, 6H), 3.82 (s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO-}d_6$) δ 165.7, 153.8, 141.3, 132.6, 132.1, 127.2, 124.5, 112.3, 111.9, 110.6, 98.8, 54.9, 51.4; EIMS m/z 458 $[\text{M}]^+$ (100); HRMS (FAB+) m/z calcd. for $\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{O}_6\text{N}_2$, 458.1478; found: 458.1479.

3.2. Anti-Tuberculosis Activity

Stock and working solutions. Stock solutions of all compounds were prepared in 100% dimethyl sulfoxide (DMSO) at a concentration of 20,000 μM and were sterilized by filtration through a 0.22 μm PTFE membrane. The susceptibility tests were conducted using Microplate alamar Blue by preparing the working solutions from stock solutions diluted in sterile 7H9 broth to a final concentration of 100 μM .

Antimycobacterial activity. Antimicrobial susceptibility tests were performed in 96-well microplates according to the methods described by Collins and Franzblau (1998) [29]. Outer perimeter wells were filled with sterile distilled water (200 μL) to prevent the dehydration of the experimental wells. Column 2 (B to G wells) was used to evaluate the reference drug rifampin. Serial two-fold dilutions were prepared in 100 μL of the Middlebrook 7H9 medium (2.0 to 0.006 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in the microplates. Wells 10E and 10F were used as DMSO controls. Four wells (11B–11E) were used as drug-free controls and received 100 μL of the supplemented 7H9 broth and 100 μL of the bacterial inoculum (1×10^6 cfu/mL). A 1:100 diluted control was prepared from the bacterial suspension to test the growth of a 1% bacterial solution.

All other wells received 100 μL of the working solution (100 μM) and 100 μL bacterial inoculum. The final concentration of DMSO in each well was 1.0% v/v. All compounds were first tested at 50 μM , and the IC_{50} values were calculated only for extracts that inhibited $\geq 75\%$ of the mycobacterial growth. These compounds were tested at different concentrations (**1a**: 50–0.097 μM ; **1b**: 50–0.78 μM ; **1d**: 25–0.78 μM ; **1e**: 50–3.125 μM) in increments of 0.3 logs. Each microplate was incubated for 7 days at

37 °C. After incubation, one control sample was diluted into a mixture of 20 µL alamar Blue (ABD Serotec) and 5 µL of a sterile 20% Tween 80 solution. The plates were re-incubated at 37 °C for 24 h. After this incubation period, any wells that changed from blue to pink received a mixture of alamar-Tween and were incubation for an additional 24 h.

The percent reduction of alamar Blue was calculated according to the manufacturer's protocol. The optical densities of the microplate wells were measured at 540 and 600 nm using a spectrophotometer. The percent inhibition of the compounds was defined as the concentration that yielded complete reduction of the alamar Blue.

4. Conclusions

We successfully developed a synthetic approach for the preparation of **1a** in three steps with an overall yield of 11%. Six new analogues of **1a** were synthesized from the indoles in four steps with overall yields between 3% and 8%. Although these yields are relatively low, this is the first report of the synthesis of a series of bis-indole analogues of **1a** in a few reaction steps. Our biological results indicated that **1a** may be useful as a lead compound for the development of novel anti-tuberculosis agents. Unfortunately, the compounds **1b–1g** did not display appreciable anti-tuberculosis activities. Therefore, future studies will focus on determining the mechanism by which these new compounds inhibit anti-tuberculosis growth. We will additionally test the effects of combinations of appropriately positioned substituents.

Acknowledgments

This work was supported by CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología), Project No. 131295 and Fellowship No. 223436. The authors are grateful to E. Huerta, A. Peña, R. Patiño, L. Velasco, J. Pérez, M. P. Orta and E. Segura for technical support.

Author Contributions

Cristina I. Canché Chay carried out the synthesis of the compounds described, their identification and wrote the first version of the article. Rocío Gómez Cansino and Clara I. Espitia Pinzón carried out the anti-tuberculosis tests. Rubén O. Torres-Ochoa supervised all the synthesis reactions described. Roberto Martinez is the head of this group.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Global Tuberculosis Report 2013. Available online: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/ (accessed on 4 December 2013).
2. McArthur, K.A.; Mitchell, S.S.; Tsueng, G.; Rheingold, A.; White, D.J.; Grodberg, J.; Lam, K.S.; Potts, B.C. Lynamycin A–E, chlorinated bisindole pyrrole antibiotics from a novel marine actinomycete. *J. Nat. Prod.* **2008**, *71*, 1732–1737.

3. Wu, S.J.; Fotso, S.; Li, F.; Qin, S.; Kelter, G.; Fiebig, H.H.; Laatsch, H. *N*-carboxamido-staurosporine and selina-4(14), 7(11)-diene-8,9-diol, new metabolites from a marine *Streptomyces* sp. *J. Antibiot.* **2006**, *59*, 331–337.
4. Oh, K.B.; Mar, W.; Kim, S.; Kim, J.Y.; Oh, M.N.; Kim, J.G.; Shin, D.; Sim, C.J.; Shin, J. Bis (indole) alkaloids as sortase A inhibitors from the sponge *Spongosorites* sp. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2005**, *15*, 4927–4931.
5. Stevenson, C.S.; Capper, E.A.; Roshak, A.K.; Marquez, B.; Grace, K.; Gerwick, W.H.; Jacobs, R.S.; Marshall, L.A. Scytonemin—A marine natural product inhibitor of kinases key in hyperproliferative inflammatory diseases. *Inflamm. Res.* **2002**, *51*, 112–114.
6. Rastogi, N.; Abaul, J.; Goh, K.S.; Devallois, A.; Philogene, E.; Bourgeois, P. Antimycobacterial activity of chemically defined natural substances from the Caribbean flora in Guadeloupe. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **1998**, *20*, 267–273.
7. Mayer, A.M.S.; Glaser, K.B.; Cuevas, C.; Jacobs, R.S.; Kem, W.; Little, R.D.; McIntosh, J.M.; Newman, D.J.; Potts, B.C.; Shuster, D.E. The odyssey of marine pharmaceuticals: A current pipeline perspective. *Trends Pharmacol. Sci.* **2010**, *31*, 255–265.
8. Aguilar-Santos, G. Caulerpin, a new red pigment from green algae of the genus *Caulerpa*. *J. Chem. Soc. C* **1970**, *6*, 842–843.
9. Maiti, B.C.; Thomson, R.H.; Mahendran, M. The structure of caulerpin, a pigment from *Caulerpa* algae. *J. Chem. Res. Synop.* **1978**, *4*, 126–127.
10. Vidal, J.P.; Laurent, D.; Kabore, A.; Rechencg, E.; Boucard, M.; Girard, J.P.; Escale, R.; Rossi, J.C. Caulerpin, caulerpicin, *Caulerpa scalpelliformis*: Comparative acute toxicity study. *Bot. Mar.* **1984**, *27*, 533–537.
11. Ayyad, S.E.N.; Badria, F.A. Caulerpine: An antitumor indole alkaloid from *Caulerpa racemosa*. *Alex. J. Pharm. Sci.* **1994**, *8*, 217–219.
12. Raub, M.F.; Cardellina, J.H., II; Schwede, J.G. The green algal pigment caulerpin as a plant growth regulator. *Phytochemistry* **1987**, *26*, 619–620.
13. Schröder, H.C.; Badria, F.A.; Ayyad, S.N.; Batel, R.; Wiens, M.; Hassanein, H.M.A.; Kurelec, B.; Müller, W.E.G. Inhibitory effects of extracts from the marine alga *Caulerpa taxifolia* and of toxin from *Caulerpa racemosa* on multixenobiotic resistance in the marine sponge *Geodia cydonium*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **1998**, *5*, 119–126.
14. Walied, M.A.; Zeinab, S.A.; Seif-Eldin, N.A.; Sultan, S.A. Insecticidal metabolites from the green alga *Caulerpa racemosa*. *Clean—Soil Air Water* **2010**, *38*, 548–557.
15. Kamal, C.; Sethuraman, M.G. Caulerpin-A bis-indole alkaloid as a green inhibitor for the corrosion of mild steel in 1 M HCl solution from the marine alga *Caulerpa racemosa*. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2012**, *51*, 10399–10407.
16. Tenório de Souza, E.; Pereira de Lira, D.; Cavalcanti de Queiroz, A.; Costa da Silva, D.J.; Bezerra de Aquino, A.; Campessato-Mella, E.A.; Prates-Lorenzo, V.C.; de Miranda, G.E.; Araújo-Júnior, J.X.; de Oliveira Chaves, M.C.; *et al.* The antinociceptive and anti-inflammatory activities of caulerpin, a bisindole alkaloid isolated from seaweeds of the genus *Caulerpa*. *Mar. Drugs* **2009**, *7*, 689–704.

17. Porto Vieira Macedo, N.R.; Ribeiro, M.S.; Villaça, R.C.; Ferreira, W.; Pinto, A.M.; Teixeira, V.L.; Cirne-Santos, C.; Paixão, I.C.N.P.; Giongo, V. Caulerpin as a potential antiviral drug against herpes simplex virus type 1. *Braz. J. Pharmacogn.* **2012**, *22*, 861–867.
18. Pinto, A.M.; Leite, J.P.G.; Ferreira, W.J.; Diana, N.; Cavalcanti, D.N.; Villaça, R.C.; Giongo, V.; Teixeira, V.L.; Paixão, I.C.N.P. Marine natural seaweed products as potential antiviral drugs against bovine viral diarrhoea virus. *Braz. J. Pharmacogn.* **2012**, *22*, 813–817.
19. Coowar, D.; Bouissac, J.; Hanbali, M.; Paschaki, M.; Mohier, E.; Luu, B. Effects of indole fatty alcohols on the differentiation of neural stem cell derived neurospheres. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6270–6282.
20. Osornio, Y.M.; Cruz-Almanza, R.; Jiménez-Montaña, V.; Miranda, L.D. Efficient, intermolecular, oxidative radical alkylation of heteroaromatic systems under “tin-free” conditions. *Chem. Commun.* **2003**, 2316–2317; doi:10.1039/B306966D.
21. Somei, M.; Yamada, F.; Yamamura, G. Novel and simple syntheses of 5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole (γ -carboline) derivatives having a methoxycarbonyl group at the 4-position based on 1-hydroxyindole chemistry. *Chem. Pharm. Bull.* **1998**, *46*, 191–198.
22. Hauck Newman, A.; Grundt, P.; Cyriac, G.; Deschamps, J.R.; Taylor, M.; Kumar, R.; Ho, D.; Luedtke, R.R. *N*-(4-(4-(2,3-dichloro- or 2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)butyl)heterobiaryl carboxamides with functionalized linking chains as high affinity and enantioselective D3 receptor antagonists. *J. Med. Chem.* **2009**, *52*, 2559–2570.
23. Shioiri, T.; Sasaki, S.; Hamada, Y. Synthetic approach to microsclerodermins: Construction of three building blocks. *ARKIVOC* **2003**, *2003*, 103–122.
24. Min-Na, Y.; Lebouvier, N.; Le Borgne, M.; Pagniez, F.; Alvarez, N.; Le Pape, P.; Le Baut, G. Synthesis and antileishmanial activity of 3-imidazolylalkylindoles. Part I. *J. Enzym. Inhib. Med. Chem.* **2004**, *19*, 451–457.
25. Li, L.T.; Huang, J.; Li, H.Y.; Wen, L.J.; Wang, P.; Wang, B. *n*Bu₄Ni-catalyzed C3-formylation of indoles with *N*-methylaniline. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 5187–5189.
26. Xu, Q.; Huang, L.; Liu, J.; Ma, L.; Chen, T.; Chen, J.; Peng, F.; Cao, D.; Yang, Z.; Qiu, N.; *et al.* Design, synthesis and biological evaluation of thiazole- and indole-based derivatives for the treatment of type II diabetes. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *52*, 70–81.
27. Praveen-Rao, P.N.; Knaus, E.E. Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **2008**, *11*, 81s–110s.
28. Reyes-Gutiérrez, P.E.; Torres-Ochoa, R.O.; Martínez, R.; Miranda, L.D. Synthesis of azepino[4,5-*b*]indolones via an intermolecular radical oxidative substitution of *N*-Boc tryptamine. *Org. Biomol. Chem.* **2009**, *7*, 1388–1396.
29. Franzblau, S.G.; Witzig, R.; McLaughlin, J.; Torres, P.; Madico, G.; Hernández, A.; Gilman, R. Rapid, low-technology MIC determination with clinical *Mycobacterium tuberculosis* isolates by using the microplate Alamar Blue assay. *J. Clin. Microbiol.* **1998**, *36*, 362–366.

XII. ANEXO DE ESPECTROS

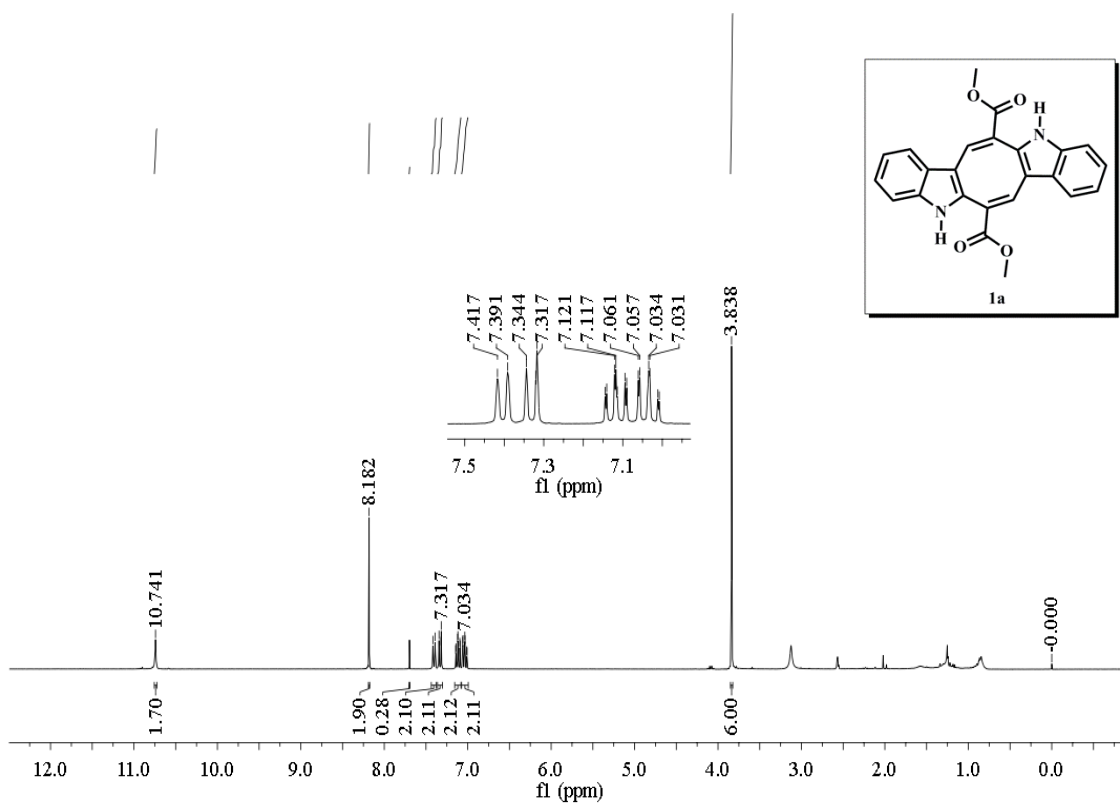


Figura 9. Espectro de RMN ¹H de **1a** (300 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆).

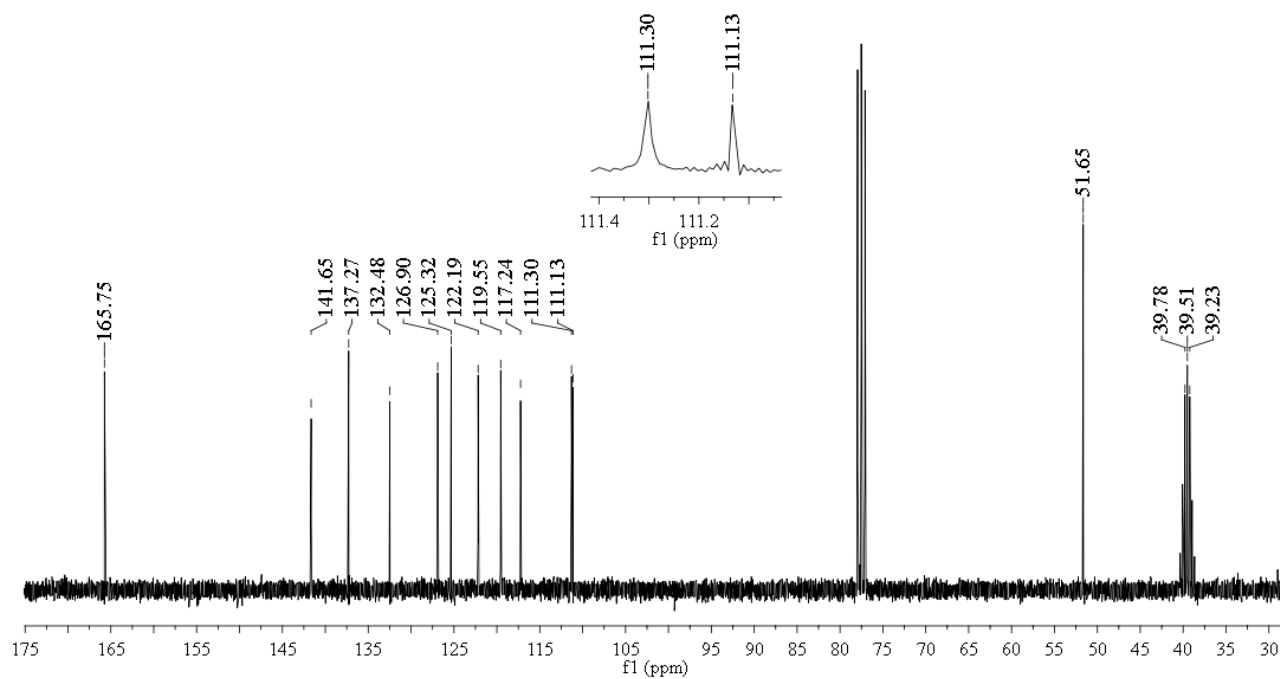


Figura 10. Espectro de RMN ¹³C de **1a** (75 MHz, CDCl₃ + DMSO-*d*₆).

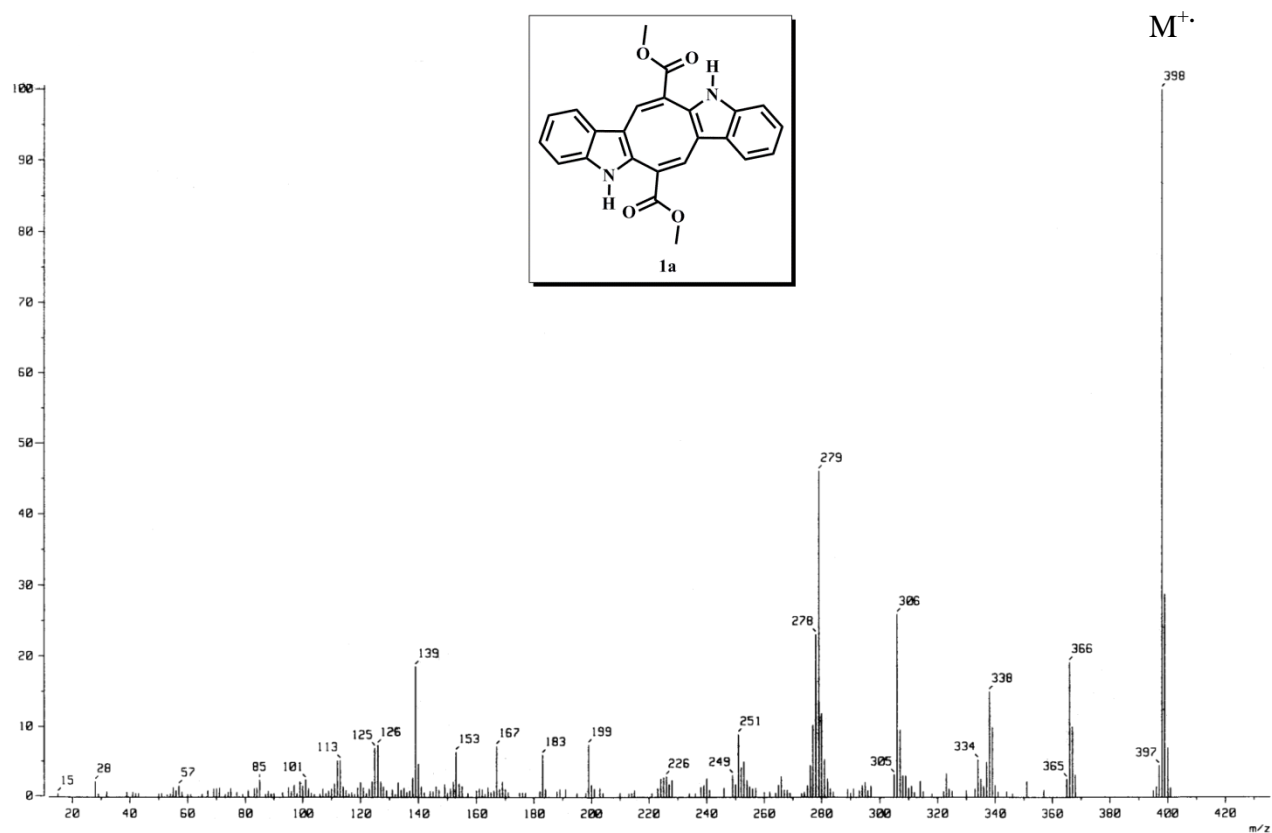


Figura 11. Espectro de masas de **1a** por la técnica de impacto electrónico.

Inlet : Direct
 RT : 1.04 min
 Elements : C 40/0, H 49/0, O 5/0, N 3/1
 Mass Tolerance : 1000ppm, 1mmu if $m/z > 1$
 Unsaturation (U.S.) : -0.5 - 20.0

Ion Mode : FAB+
 Scan#: (2,7)

Observed m/z	Int%	U.S.	C	H	O	N
398.1266	100.0					
Estimated m/z	Error[ppm]					
398.1267	-0.3	17.0	24	18	4	2

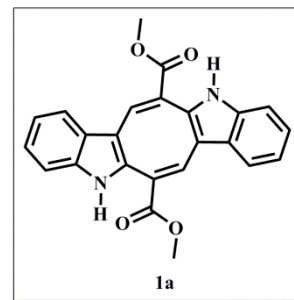


Figura 12. Composición elemental de **1a** por la técnica de FAB.

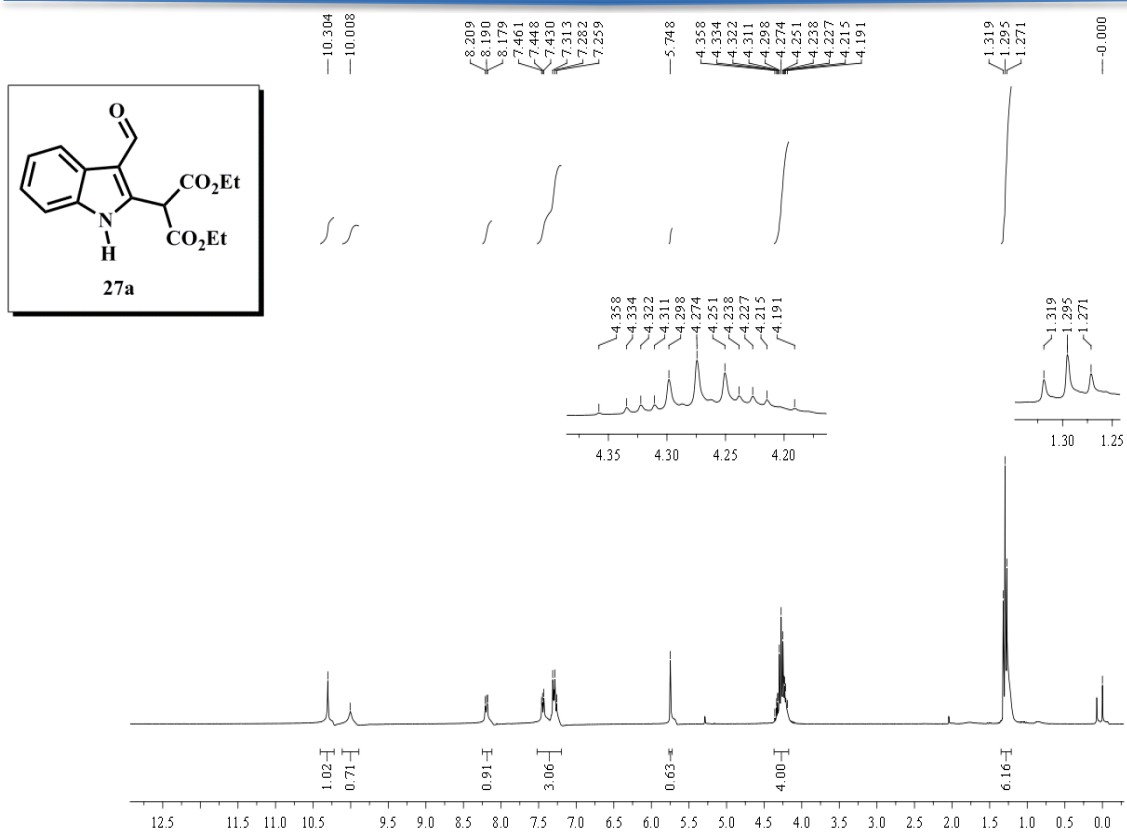


Figura 13. Espectro de RMN ^1H de **27a** (300 MHz, CDCl_3).

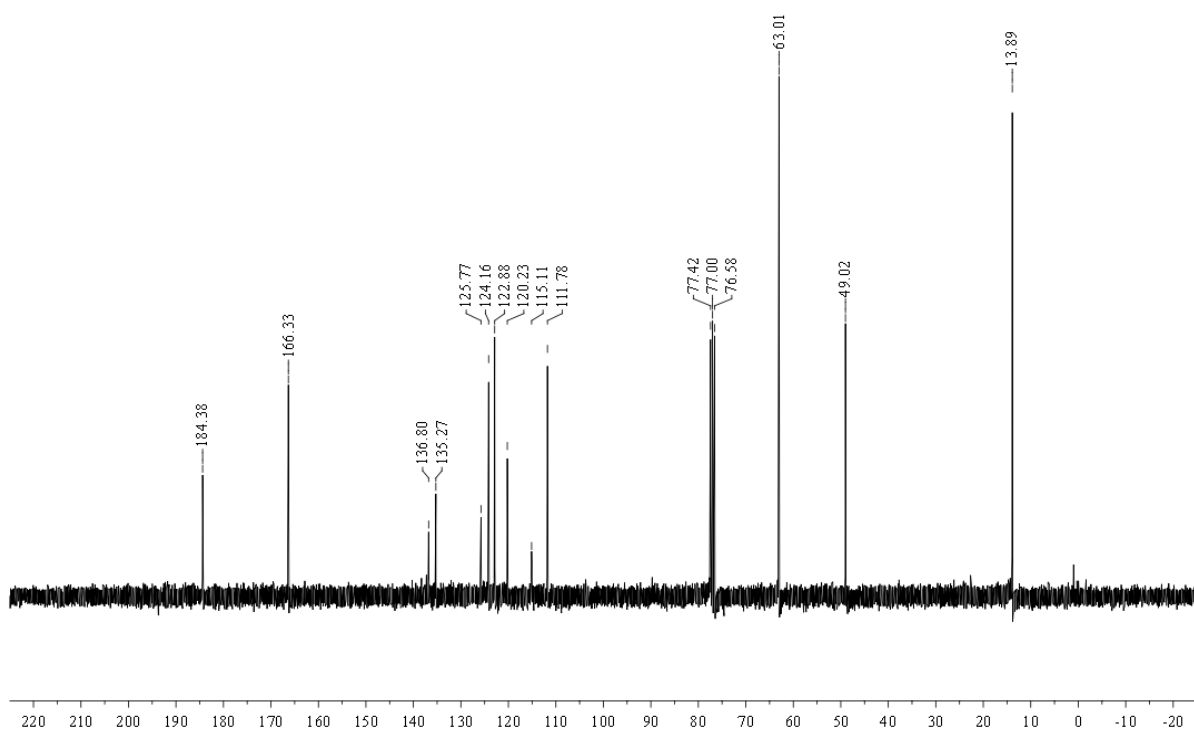


Figura 14. Espectro de RMN ^{13}C de **27a** (75 MHz, CDCl_3).

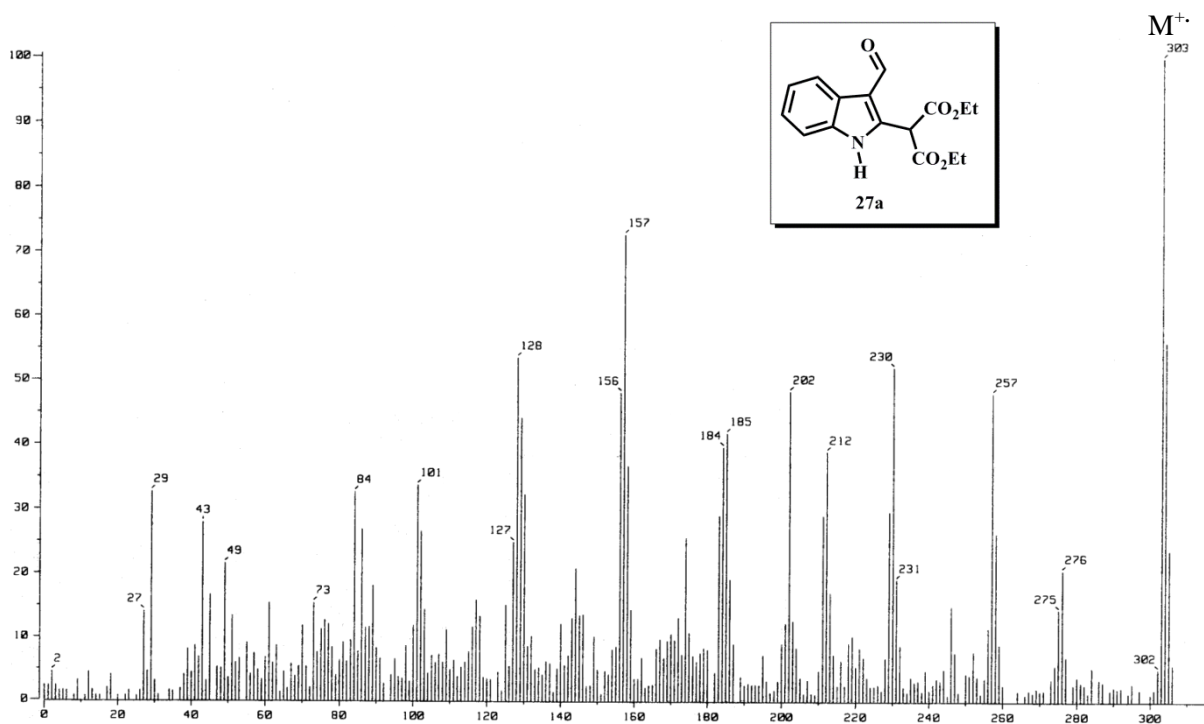


Figura 15. Espectro de masas de **27a** por la técnica de impacto electrónico.

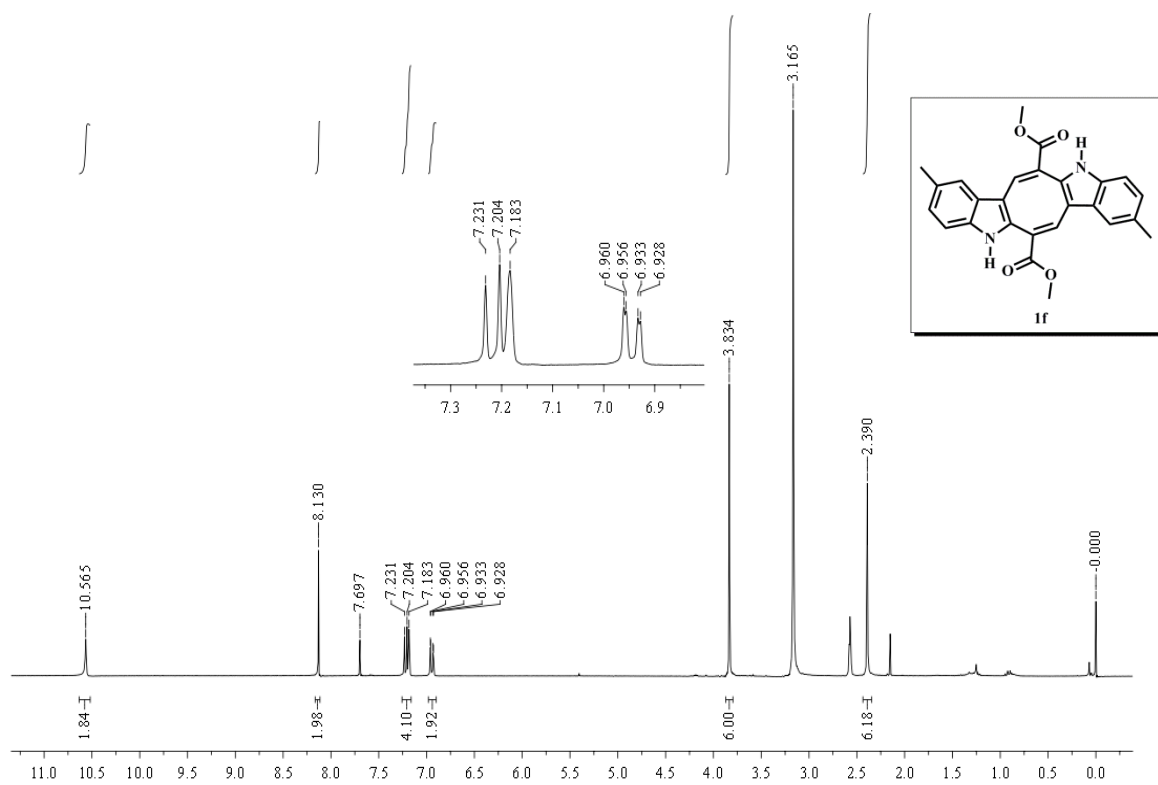


Figura 16. Espectro de RMN ^1H de **1f** (300 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO-}d_6$).

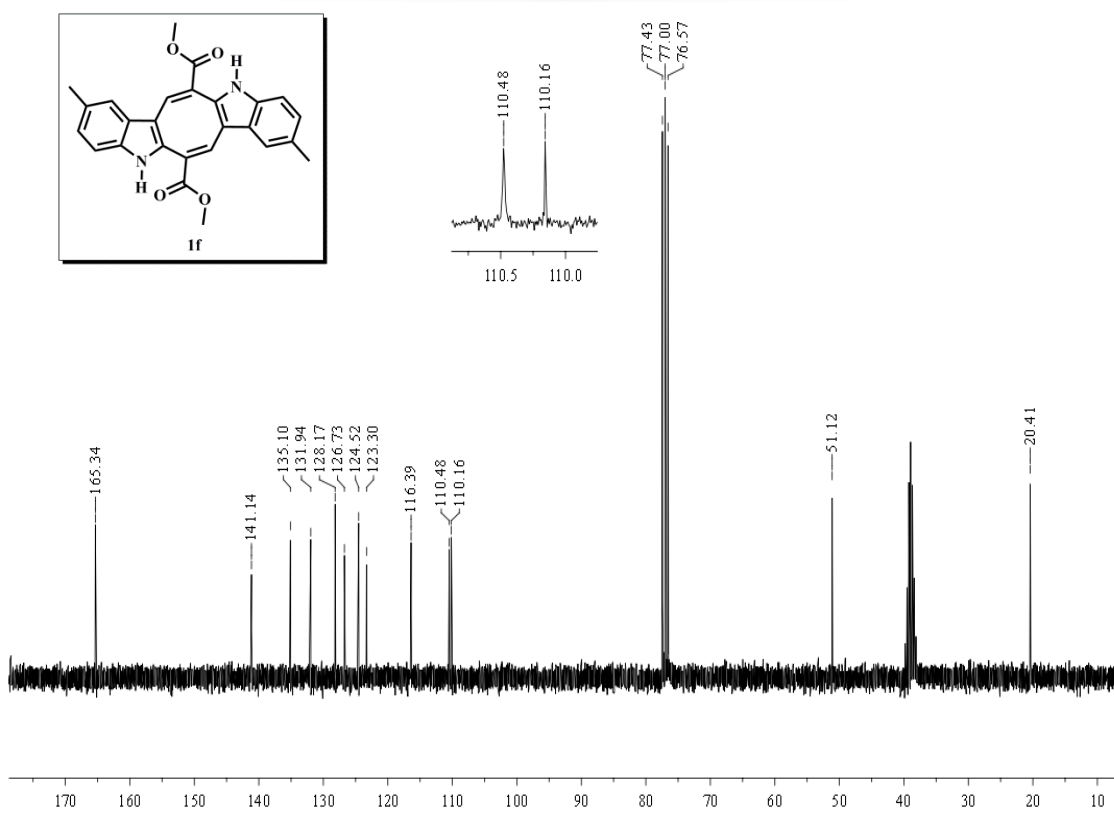


Figura 17. Espectro de RMN ^{13}C de **1f** (75 MHz, CDCl_3 + $\text{DMSO}-d_6$).

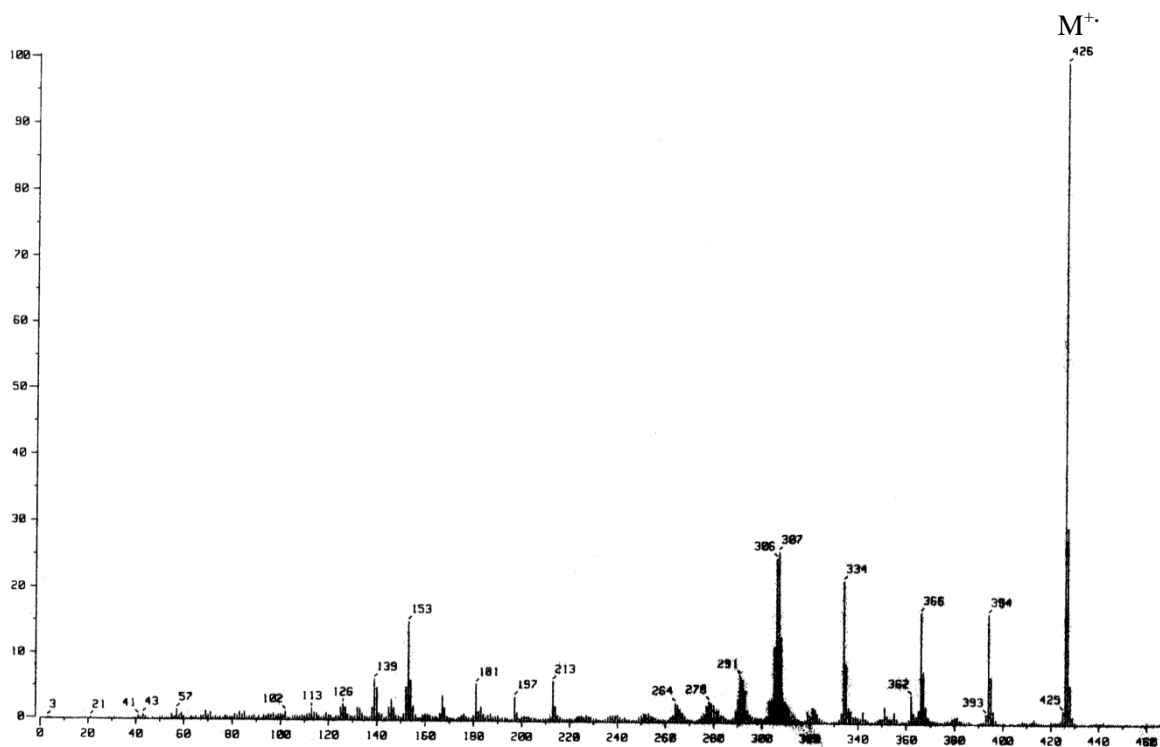


Figura 18. Espectro de masas de **1f** por la técnica de impacto electrónico.

[Elemental Composition]

Inlet : Direct Ion Mode : FAB+
 RT : 2.67 min Scan#: (9,13)+(4,6)
 Elements : C 40/0, H 49/0, O 7/0, N 3/0
 Mass Tolerance : 1000ppm, 1mmu if m/z > 1
 Unsaturation (U.S.) : 0.0 - 34.0

Observed m/z	Int%	U.S.	C	H	O	N
426.1573	100.0					
Estimated m/z	Error[ppm]					
426.1580	-1.6	17.0	26	22	4	2

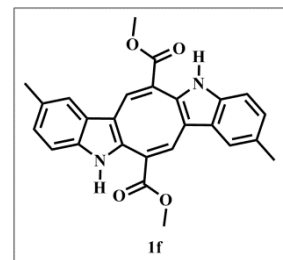


Figura 19. Composición elemental de **1f** por la técnica de FAB.

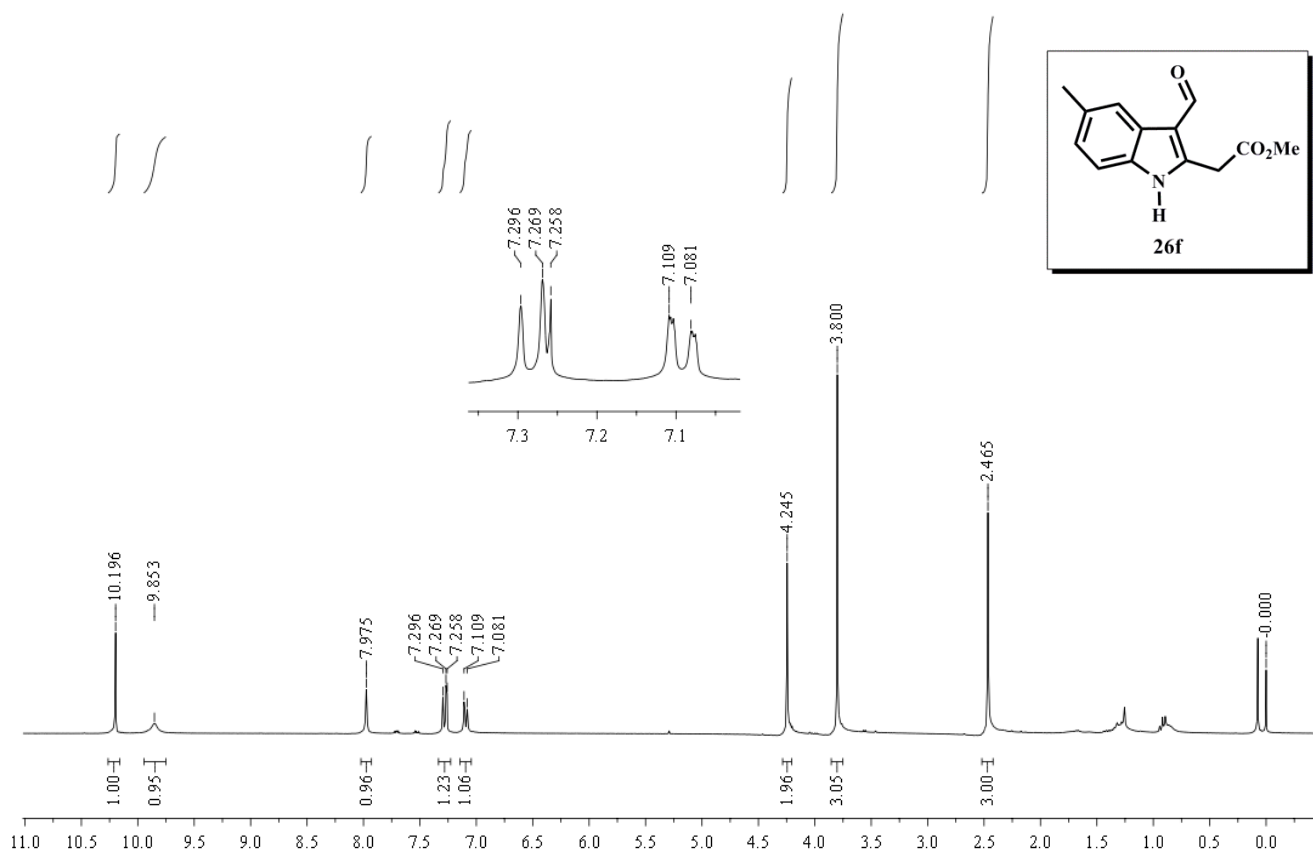


Figura 20. Espectro de RMN ^1H de **26f** (300 MHz, CDCl_3).

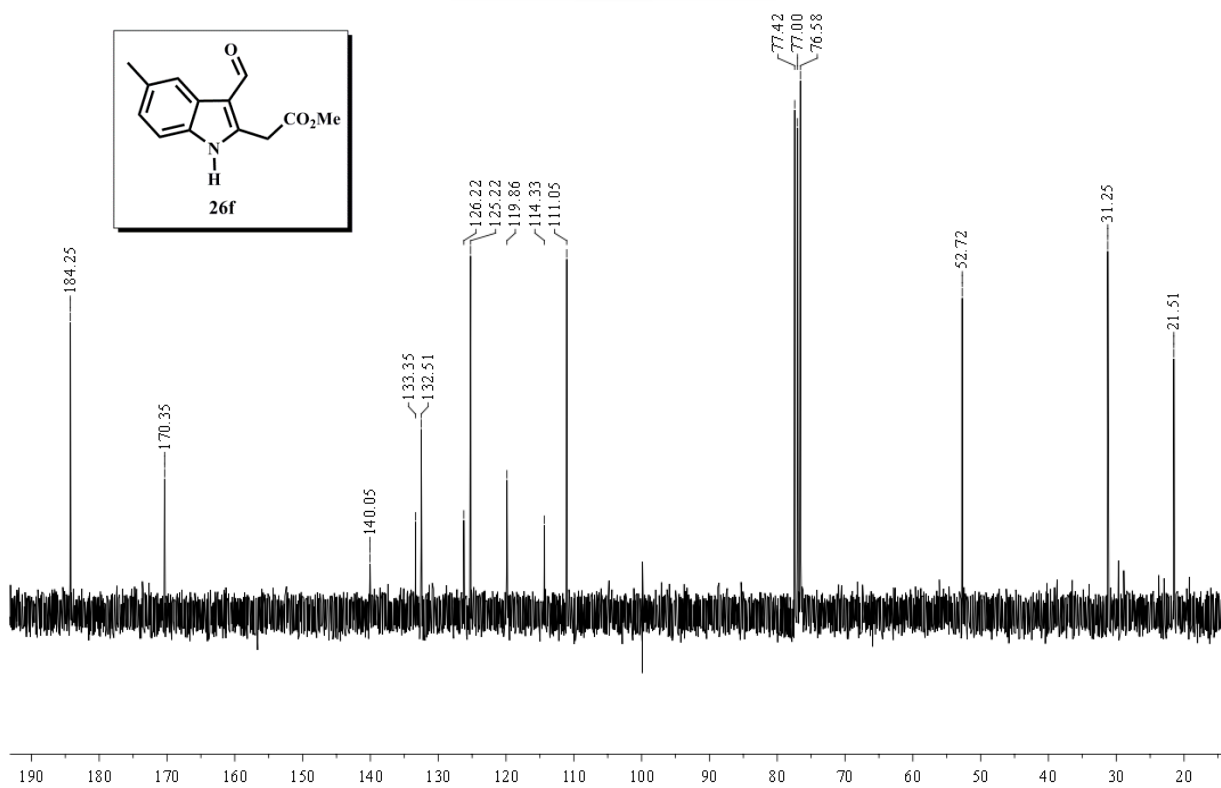


Figura 21. Espectro de RMN ^{13}C de **26f** (75 MHz, CDCl_3).

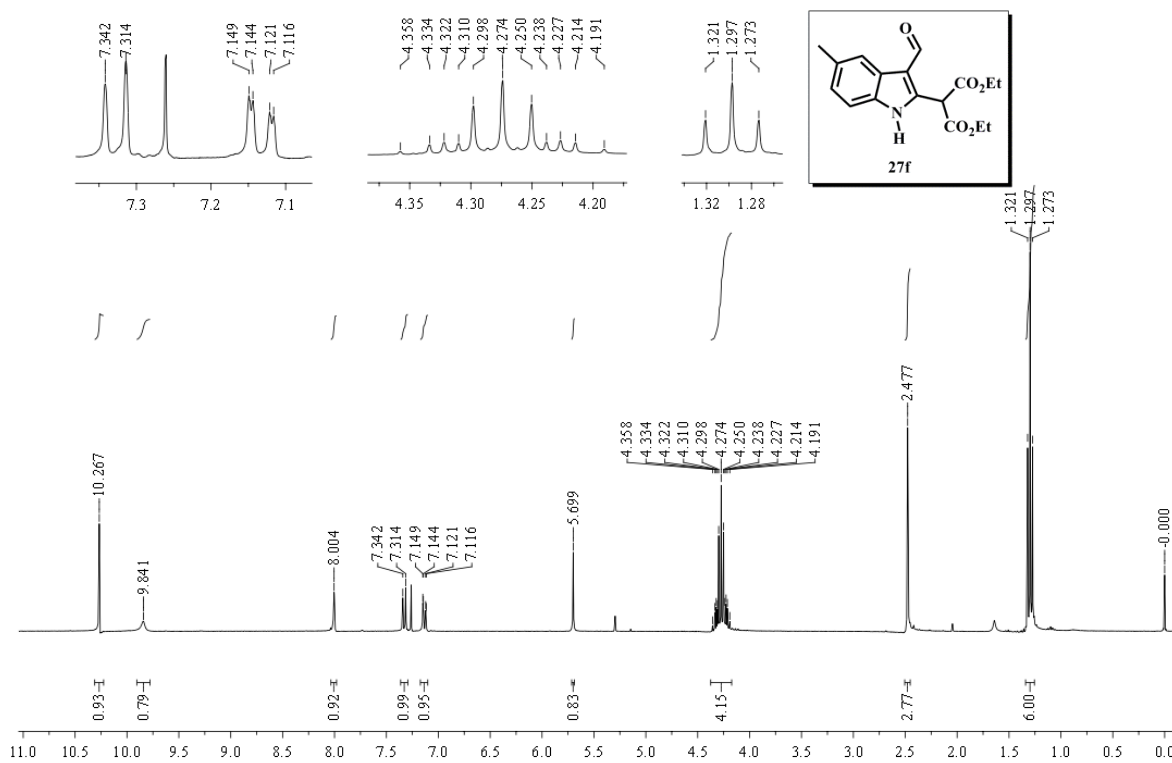


Figura 22. Espectro de RMN ^1H de **27f** (300 MHz, CDCl_3).

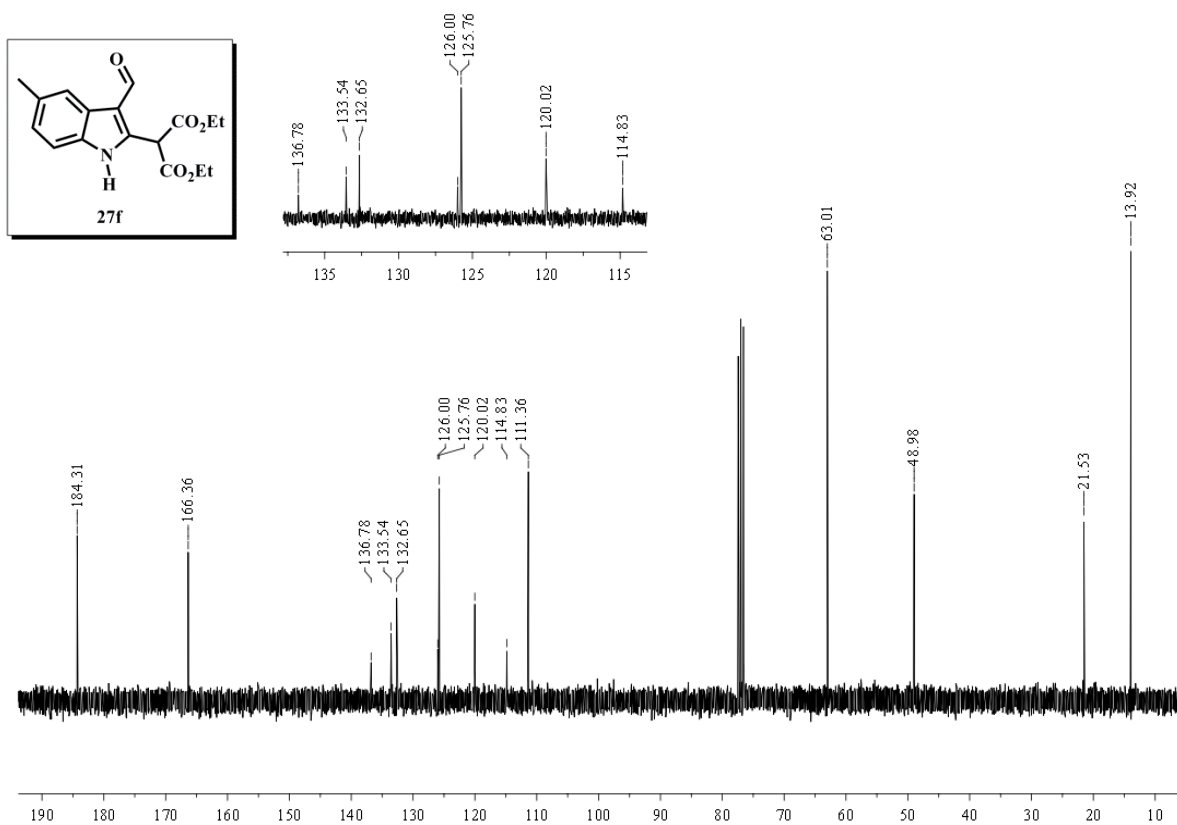


Figura 23. Espectro de RMN ^{13}C de **27f** (75 MHz, CDCl_3).

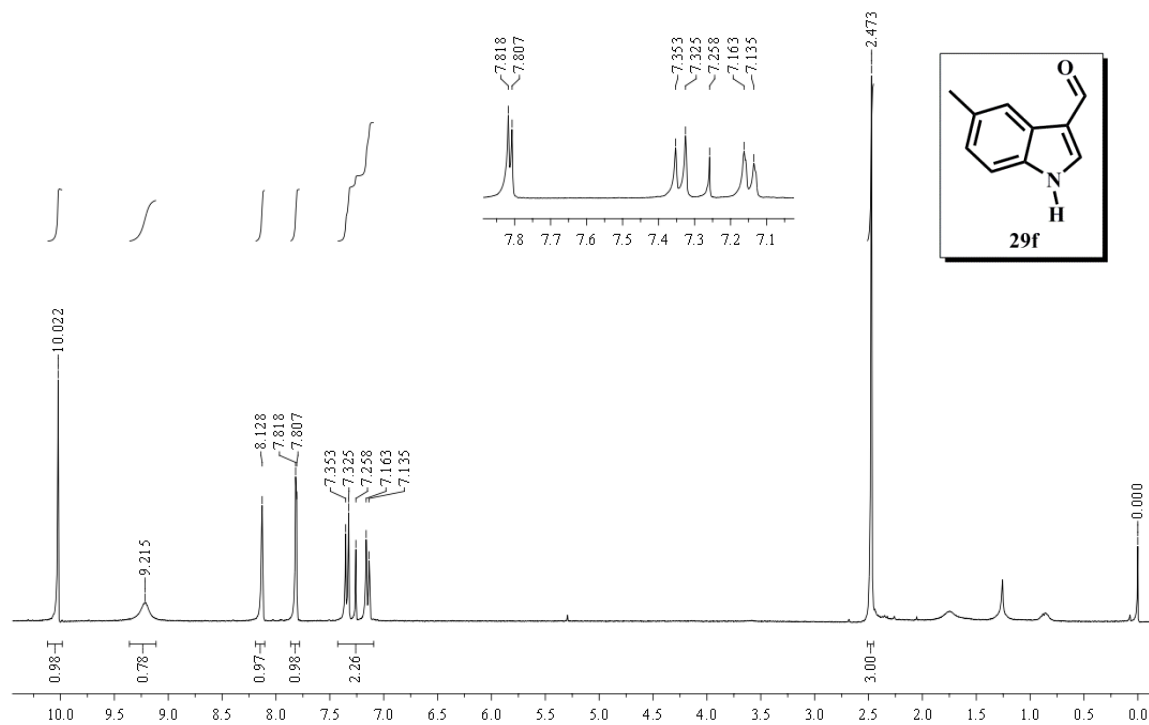


Figura 24. Espectro de RMN ^1H de **29f** (300 MHz, CDCl_3).

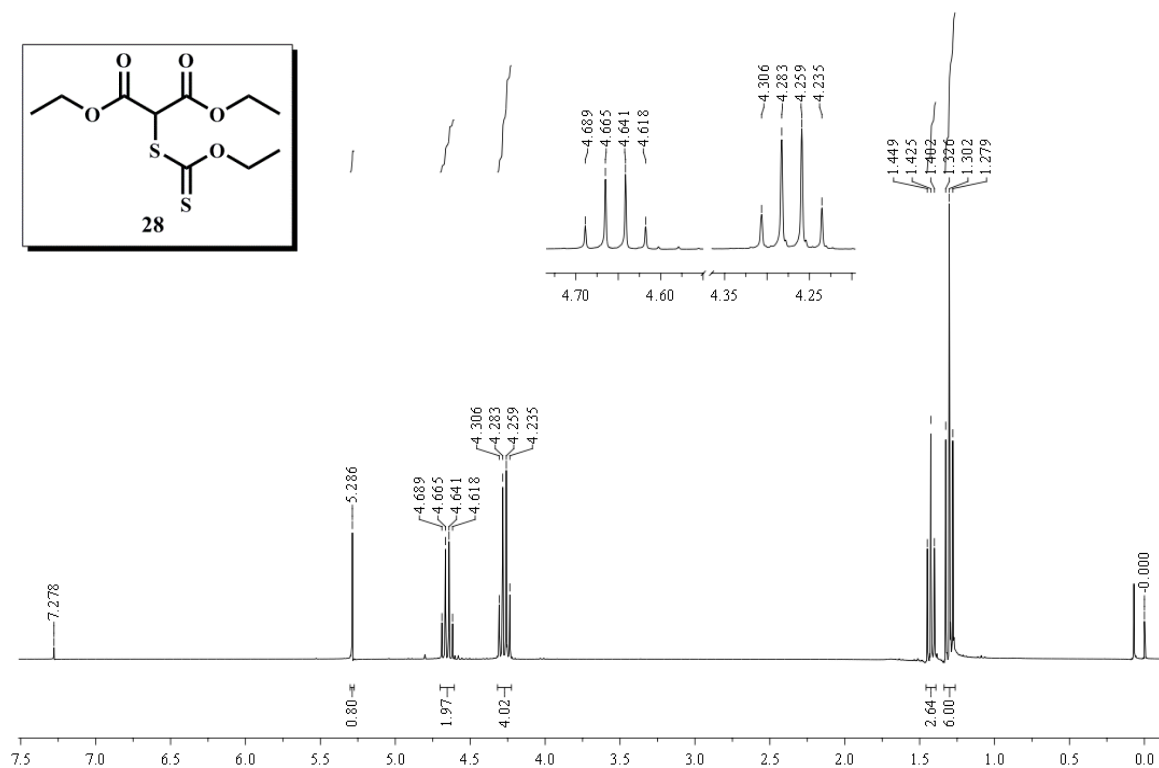


Figura 25. Espectro de RMN ^1H de **28** (300 MHz, CDCl_3).

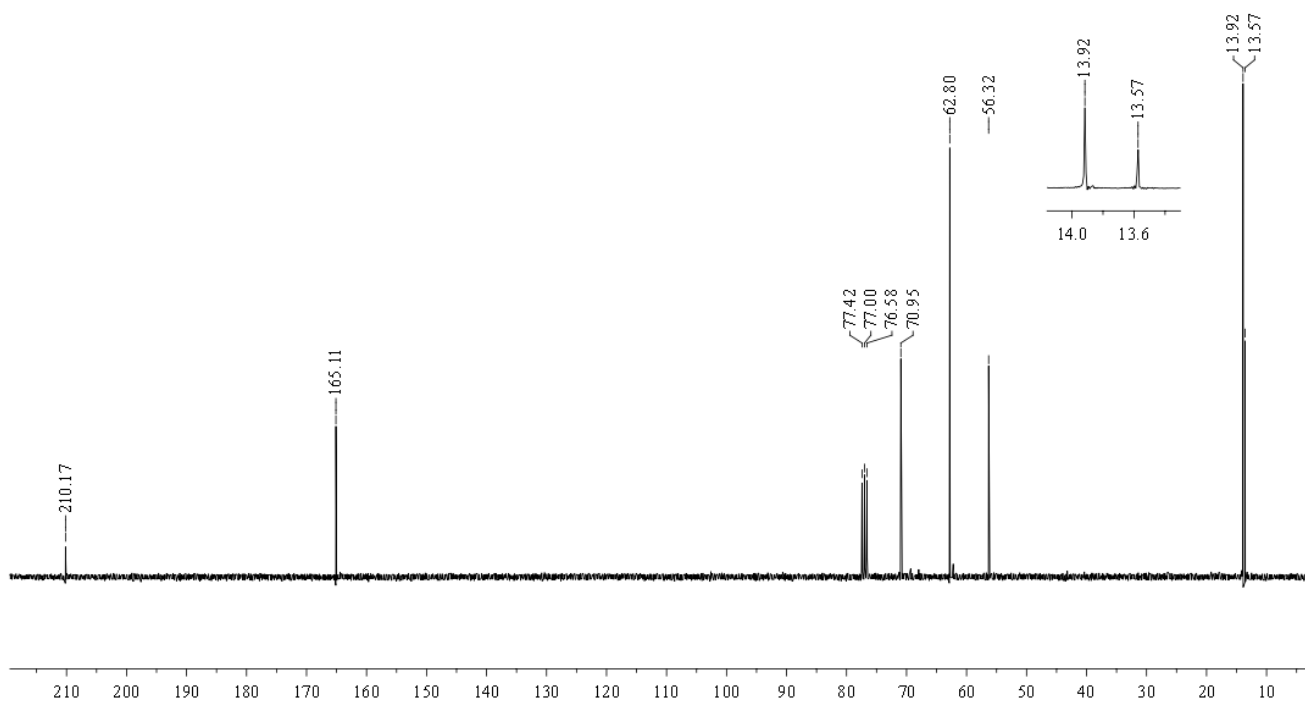


Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C de **28** (75 MHz, CDCl_3).