

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ**



---

**DESARROLLO DE REACCIONES DE OXIDACIÓN  
DE ENLACES C-H. APLICACIÓN A LA SÍNTESIS  
DE GUAYANOLIDAS**

---

**RUBÉN MARÍN BARRIOS**

Puerto Real, Enero de 2015.



**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
UNIVERSIDAD DE CÁDIZ**



---

**DESARROLLO DE REACCIONES DE OXIDACIÓN  
DE ENLACES C-H. APLICACIÓN A LA SÍNTESIS  
DE GUAYANOLIDAS**

---

Memoria que presenta el Lcdo.

**D. Rubén Marín Barrios**

Para optar al grado de Doctor en Ciencias.

Puerto Real, Enero de 2015.



**FRANCISCO MIGUEL GUERRA MARTÍNEZ**, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ, Y **FRANCISCO JAVIER MORENO DORADO**, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

**CERTIFICAN:** Que el presente trabajo de investigación, titulado **DESARROLLO DE REACCIONES DE OXIDACIÓN DE ENLACES C-H. APLICACIÓN A LA SÍNTESIS DE GUAYANOLIDAS**, constituye la Memoria que presenta D. Rubén Marín Barrios para aspirar al grado de Doctor en Ciencias, y ha sido realizado íntegramente en los laboratorios del Departamento de Química Orgánica de esta Universidad bajo nuestra dirección. Ha sido supervisada por ambos y consideramos que reúne los requisitos legales vigentes para optar al grado de Doctor.

Y para que conste, expedimos y firmamos la presente certificación en Puerto Real, a Enero de 2015.

Fdo.: Francisco M. Guerra Martínez

Fdo.: F. Javier Moreno Dorado



**JOSÉ MARÍA GONZÁLEZ MOLINILLO**, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA DE LA UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

**CERTIFICA:** Que el presente trabajo de investigación, titulado **DESARROLLO DE REACCIONES DE OXIDACIÓN DE ENLACES C-H. APLICACIÓN A LA SÍNTESIS DE GUAYANOLIDAS**, constituye la Memoria que presenta D. Rubén Marín Barrios para aspirar al grado de Doctor en Ciencias, y ha sido realizado íntegramente en los laboratorios del Departamento de Química Orgánica de esta Universidad bajo la dirección de los profesores D. Francisco Miguel Guerra Martínez y D. Francisco Javier Moreno Dorado.

Y para que conste, expido y firmo la presente certificación en Puerto Real, a Enero de 2015.

Fdo.: José María González Molinillo



Gracias a mi familia, amigos, compañeros, profesores y jefes  
Gracias por educarme, apoyarme, enseñarme y soportarme  
Por ayudarme, comprenderme, corregirme y estimularme  
De veras, gracias.

*Life has meaning only in the struggle  
Triumph or defeat is in the hands of Gods*

*So let us celebrate the struggle!*

Canción de guerra swahili.



# ÍNDICE

## INTRODUCCIÓN

---

|   |          |
|---|----------|
| <b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN .....</b>   | <b>1</b> |
| <b>CAPÍTULO 2. OBJETIVOS.....</b>   | <b>5</b> |
| 2.1 OBJETIVOS GENERALES.....  | 5        |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....   | 5        |
| <b>CAPÍTULO 3. PRODUCTOS NATURALES Y NUEVAS OXIDACIONES DE ENLACES C-H.....</b>   | <b>7</b> |
| 3.1 LOS PRODUCTOS NATURALES COMO FUENTE DE NUEVOS FÁRMACOS .7                     |          |
| 3.1.1 LAS LACTONAS SESQUITERPÉNICAS .....   | 13       |
| 3.1.2 LA TAPSIGARGINA Y EL CÁNCER .....   | 15       |
| 3.1.3 APROXIMACIONES A LA SÍNTESIS DE TAPSIGARGINAS Y ANÁLOGOS NO NATURALES ..... | 25       |
| 3.2 LAS OXIDACIONES DE ENLACES C-H COMO HERRAMIENTA EFICIENTE EN SÍNTESIS.....    | 32       |
| 3.2.1 EJEMPLOS DE APLICACIÓN EN SÍNTESIS TOTAL .....                              | 45       |
| 3.3 LA NECESIDAD DE OPTIMIZAR EN SÍNTESIS ORGÁNICA .....                          | 48       |
| 3.3.1 OPTIMIZACIÓN EN QUÍMICA .....   | 48       |
| 3.3.2 EL MÉTODO SIMPLEX.....  | 50       |
| 3.3.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS .....  | 53       |

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

---

|   |           |
|---|-----------|
| <b>CAPÍTULO 4. OPTIMIZACIÓN DE LA OXIDACIÓN ALÍLICA DE ALQUENOS MEDIANTE LA REACCIÓN DE KHARASCH-SOSNOVSKY.....</b> | <b>59</b> |
| 4.1 PRECEDENTES. LA OXIDACIÓN ALÍLICA DE ALQUENOS.....  | 59        |
| 4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....   | 67        |
| 4.2.1 OPTIMIZACIÓN DE LA BENZOILOXILACIÓN DE CICLOHEXENO .....  | 67        |
| 4.2.2 EXTENSIÓN DE LA METODOLOGÍA A OTROS SUSTRATOS.....  | 74        |
| 4.2.3 APROXIMACIÓN A LA SÍNTESIS DE TAPSIGARGINA MEDIANTE OXIDACIONES ALÍLICAS .....                                | 77        |
| 4.3 RESUMEN .....   | 79        |
| <b>CAPÍTULO 5. LA HIDROXICARVONA COMO SINTÓN EN LA SÍNTESIS DE GUAYANOS.....</b>                                    | <b>81</b> |
| 5.1 PRECEDENTES. EL INTERÉS DE LA HIDROXICARVONA COMO SINTÓN ..   | 81        |

|  |            |
|--|------------|
| 5.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....  | 85         |
| 5.2.1 OPTIMIZACIÓN DE LA OXIDACIÓN DE CARVONA EN POSICIÓN $\gamma$ .....   | 85         |
| 5.2.2 APROXIMACIÓN A LA SÍNTESIS DE TAPSIGARGINA A PARTIR DE 4-HIDROXICARVONA.....   | 92         |
| 5.2.3 OBTENCIÓN DE 8-HIDROXIGUAYANOS A PARTIR DE 4-HIDROXICARVONA .  | 101        |
| 5.3 RESUMEN .....  | 103        |
| <b>CAPÍTULO 6. ACILOXILACIÓN DE ENONAS EN POSICIÓN <math>\alpha'</math>. APLICACIÓN A LA SÍNTESIS DE GUAYANOLIDAS FUNCIONALIZADAS EN C2.....</b> | <b>105</b> |
| 6.1 PRECEDENTES. LA ACILOXILACIÓN DE ENONAS EN POSICIÓN $\alpha'$ .....  | 105        |
| 6.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....  | 109        |
| 6.2.1 OPTIMIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA .....   | 109        |
| 6.2.2 EXTENSIÓN DEL ALCANCE DE LA REACCIÓN .....   | 116        |
| 6.2.3 PREPARACIÓN DE GUAYANOLIDAS FUNCIONALIZADAS EN C2 .....  | 117        |
| 6.3 RESUMEN .....  | 121        |
| <b>CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES GENERALES.....</b>   | <b>123</b> |

## **PARTE EXPERIMENTAL**

---

|  |            |
|--|------------|
| <b>CAPÍTULO 8. PARTE EXPERIMENTAL.....</b>   | <b>127</b> |
| 8.1 MATERIALES Y MÉTODOS .....   | 127        |
| 8.1.1 TÉCNICAS INSTRUMENTALES .....  | 127        |
| 8.1.2 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS .....   | 129        |
| 8.1.3 DISOLVENTES Y REACTIVOS .....  | 131        |
| 8.2 DESCRIPCIÓN DE REACCIONES Y PRODUCTOS .....  | 132        |
| 8.2.1 Optimización de la fuente de cobre en la reacción de Kharasch-Sosnovsky .....  | 132        |
| 8.2.2 Efecto de los aditivos sobre la reacción de Kharasch-Sosnovsky.....  | 133        |
| 8.2.3 Estudio de la estequiometría cobre/DBU .....   | 134        |
| 8.2.4 Optimización por el método <i>simplex</i> para el ciclohexeno .....  | 134        |
| 8.2.5 Procedimiento general optimizado de benzoioxilación del ciclohexeno .....  | 135        |
| 8.2.6 Estudio cinético comparativo.....  | 136        |
| 8.2.7 Extensión de la reacción de Kharasch-Sosnovsky a otros sustratos .....   | 137        |
| 8.2.8 Experimentos exploratorios para la $\gamma$ -hidroxilación de ( <i>R</i> )-carvona, <b>124</b> .....                             | 145        |
| 8.2.9 Ensayos con distintos oxidantes para la $\gamma$ -hidroxilación de ( <i>R</i> )-carvona, <b>124</b> .....                        | 145        |
| 8.2.10 Ensayos para la comprobación del papel de cada reactivo en la $\gamma$ -hidroxilación de ( <i>R</i> )-carvona, <b>124</b> ..... | 146        |
| 8.2.11 Estudio cinético de la $\gamma$ -hidroxilación de ( <i>R</i> )-carvona, <b>124</b> .....  | 147        |
| 8.2.12 Efecto de distintos aditivos nitrogenados en la $\gamma$ -hidroxilación de ( <i>R</i> )-carvona, <b>124</b> .....               | 147        |
| 8.2.13 $\gamma$ -Hidroxilación de la ( <i>R</i> )-carvona, <b>124</b> . Procedimiento optimizado .....                                 | 148        |

|  |            |
|--|------------|
| 8.2.14 Obtención de la 4-hidroxi-1,2-dihidrocárbona <b>135</b> .....   | 149        |
| 8.2.15 Síntesis de la $6\alpha,8\alpha$ -dihidroxi-7-epi-ciperona, <b>136</b> .....  | 149        |
| 8.2.16 Protección en C8 de la $6\alpha,8\alpha$ -dihidroxi-7-epi-ciperona, <b>136</b> , con TBDPSCI .....                        | 150        |
| 8.2.17 Protección de la 4-hidroxi-1,2-dihidrocárbona <b>135</b> con MOMCl .....  | 151        |
| 8.2.18 Síntesis de la $6\alpha$ -hidroxi- $8\alpha$ -metoximetoxi-7-epi-ciperona, <b>139</b> .....                               | 152        |
| 8.2.19 Preparación de la 8-metoximetoxitrienoна <b>140</b> .....   | 153        |
| 8.2.20 Obtención de la 8-butanoiloxitrienoна <b>141</b> .....  | 154        |
| 8.2.21 Epoxidación y apertura de <b>141</b> para dar 8-butanoiloxidienonadiol <b>142</b> .....                                   | 155        |
| 8.2.22 Formación del acetónido de <b>142</b> y deshidrogenación con DDQ.....   | 156        |
| 8.2.23 Obtención de la $8\alpha$ -metoximetoxi-7-epi-ciperona <b>145</b> .....   | 157        |
| 8.2.24 Deshidrogenación con DDQ de <b>145</b> para dar la dienona <b>146</b> .....   | 158        |
| 8.2.25 Reagrupamiento fotoquímico de <b>146</b> para dar el $8\alpha$ -metoximetoxiguayano <b>147</b> ..                         | 159        |
| 8.2.26 Desprotección de <b>147</b> para dar el $8\alpha$ -hidroxiguayano <b>148</b> .....  | 160        |
| 8.2.27 Diseño de Experimentos para la $\alpha'$ -acetiloxilación de la isoforona, <b>149</b> .....                               | 161        |
| 8.2.28 Procedimiento general para la aciloxilación en posición $\alpha'$ de enonas .....   | 162        |
| 8.2.29 Descripción de los productos de aciloxilación en posición $\alpha'$ .....   | 162        |
| 8.2.30 Obtención de la lactona O-acetilisofotosantónica, <b>167</b> , a partir de $\alpha$ -santonina, <b>166</b> .....          | 166        |
|  | 171        |
| 8.2.31 Reagrupamiento fotoquímico de la trienonadiol <b>42</b> para la preparación del guayanodiol <b>43</b> .....               | 171        |
| 8.2.32 Protección del guayanodiol <b>43</b> con TBDMSCl .....  | 172        |
| 8.2.33 Desprotección del 2-octanoiloxiguayanodiol protegido <b>175</b> para obtener el 2-octanoiloxiguayanodiol <b>176</b> ..... | 173        |
| 8.2.34 Síntesis de la 2-octanoiloxiguayanolida <b>178</b> .....  | 174        |
| <b>ANEXO DE ESPECTROS.....</b>   | <b>177</b> |



## LISTA DE ABREVIATURAS

|                                 |   |
|---------------------------------|---|
| Ac <sub>2</sub> O               | Anhídrido acético   |
| AcOEt                           | Acetato de etilo  |
| AcOH                            | Ácido acético   |
| AD-mix                          | Asymmetric dihydroxylation mixture                          |
| AIBN                            | Azo- <i>bis</i> -isobutironitrilo                           |
| ANOVA                           | Analysis of variance  |
| APGC                            | Atmospheric Pressure Chemical Ionization Gas Chromatography |
| ATP                             | Adenosín trifosfato   |
| BIOS                            | Biology-oriented synthesis                                  |
| Bpin                            | Pinacolborilo   |
| B <sub>2</sub> pin <sub>2</sub> | Bis(pinacolato)diboro                                       |
| tBu                             | <i>tert</i> -butilo   |
| tBuOH                           | <i>tert</i> -butanol  |
| bpy                             | 2,2'-bispiridina  |
| Bz                              | Benzoilo  |
| CCF                             | Cromatografía en capa fina                                  |
| CG                              | Cromatografía de gases                                      |
| CI                              | Chemical Ionization   |
| COD                             | Ciclooctadieno  |
| col.                            | Colaboradores   |
| con.                            | Concentrado   |
| gCOSY                           | Gradient Correlation Spectroscopy                           |
| Cp*                             | pentametilciclopentadienilo                                 |
| DABCO                           | 1,4-diazabiciclo[2.2.2]octano                               |
| DBN                             | 1,5-diazabiciclo[4.3.0]non-5-eno                            |
| DBU                             | 1,8-diazabiciclo[5.4.0]undeca-7-eno                         |
| DDQ                             | 2,3-dicloro-5,6-diciano- <i>para</i> -benzoquinona          |
| DHP                             | 2,3-dihidropirano   |
| DIB                             | Diacetoxiiodobenceno  |
| DIBAL                           | Hidruro de diisobutilaluminio                               |
| DIPA                            | N,N-diisopropilamina  |
| DIPEA                           | N,N-diisopropiletilamina                                    |
| DMAP                            | 4-(dimetilamino)piridina                                    |
| DMDO                            | Dimetildioxirano  |
| DMF                             | N,N-dimetilformamida  |

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| 3,5-dmp                           | 3,5-dimetilpirazol                                |
| DMSO                              | Dimetilsulfóxido                                  |
| DoE                               | Design of Experiments                             |
| DOS                               | Diversity-oriented synthesis                      |
| S-dosp                            | (S)-N-( <i>para</i> -dodecilfenilsulfonil)prolina |
| EDTA                              | Ethylenediaminetetraacetic acid                   |
| ee                                | Exceso enantiomérico                              |
| EM                                | Espectrometría de Masas                           |
| eq.                               | Equivalentes                                      |
| ESI                               | Electrospray Ionization                           |
| Et <sub>3</sub> N                 | Trietilamina                                      |
| Et <sub>2</sub> O                 | Éter dietílico                                    |
| EtOH                              | Etanol  |
| Fmoc                              | Fluorenilmetoxicarbonilo                          |
| hK2                               | Human kallikreine type 2                          |
| gHMBC                             | Gradient Heteronuclear Multiple Bond Correlation  |
| HPLC                              | High Performance Liquid Chromatography            |
| HRMS                              | High Resolution Mass Spectroscopy                 |
| gHSQC                             | Gradient Heteronuclear Single Quantum Correlation |
| HTS                               | High throughput screening                         |
| Hz                                | Hertzios  |
| IP <sub>3</sub>                   | Inositol-1,4,5-trifosfato                         |
| IR                                | Infrarrojo  |
| LiHMDS                            | Hexametildisilazano de litio                      |
| M                                 | Molar   |
| MCPBA                             | Ácido <i>meta</i> -cloroperbenzóico               |
| Me                                | Metilo  |
| MeCN                              | Acetonitrilo                                      |
| MeOH                              | Metanol   |
| MeOK                              | Metóxido potásico                                 |
| MeSO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> | Metanosulfonamida                                 |
| MMPP                              | Monoperoxiftalato de magnesio                     |
| MOMCI                             | Cloruro de metoximetilo                           |
| MS                                | Tamiz molecular ( <i>molecular sieves</i> )       |
| Mu                                | 4-morfolinacarbonilo                              |
| N                                 | Normal  |
| NBS                               | N-bromosuccinimida                                |

|                      |   |
|----------------------|---|
| NMO                  | <i>N</i> -óxido de <i>N</i> -metilmorfolina         |
| nOe                  | Nuclear Overhauser Enhancement                      |
| NOESY                | Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy              |
| nttI                 | <i>N</i> -1,8-naftoil- <i>tert</i> -leucina         |
| OTf                  | Trifluorometanosulfonato, triflato                  |
| PCC                  | Clorocromato de piridinio                           |
| Pd(OAc) <sub>2</sub> | Acetato de paladio                                  |
| S,S-pdp              | (S,S)-1,1'-bis(2-piridinilmetil)-2,2'-bipirrolidina |
| Ph                   | Fenilo  |
| PhH                  | Benceno   |
| PhMe                 | Tolueno   |
| PMCA                 | Plasmic membrane Ca(II)-ATPase                      |
| ppm                  | Partes por millón                                   |
| PPTS                 | <i>para</i> -toluensulfonato de piridinio           |
| PSA                  | Prostatic Specific Antigen                          |
| PSMA                 | Prostatic Specific Membrane Antigen                 |
| py                   | Piridina  |
| RMN                  | Resonancia Magnética Nuclear                        |
| SEM                  | (2-trimetilsilil)etoximetilo                        |
| SERCA                | Sarco and endoplasmic reticulum Ca(II)-ATPase       |
| t. a.                | Temperatura ambiente                                |
| TBAF                 | Fluoruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio            |
| TBDMSCI              | Cloruro de <i>tert</i> -butildimetsililo            |
| TBDPSCI              | Cloruro de <i>tert</i> -butildifenilsililo          |
| TBHP                 | <i>tert</i> -butilhidroperóxido                     |
| TBPB                 | perbenzoato de <i>tert</i> -butilo                  |
| THF                  | Tetrahidrofurano                                    |
| TFDO                 | Metil(trifluorometil)dioxirano                      |
| TMSCHN <sub>2</sub>  | Trimetilsilildiazometano                            |
| TMSCl                | Cloruro de trimetilsililo                           |
| TOCSY                | Total Correlation Spectroscopy                      |
| <i>p</i> -TsOH       | Ácido <i>para</i> -toluensulfónico                  |
| USAN                 | United States Adopted Names Council                 |
| UV                   | Ultravioleta  |
| VO(acac)             | Acetilacetonato de vanadilo                         |
| Δ                    | Calor   |



***INTRODUCCIÓN***

***Capítulo 1. Introducción.***

***Capítulo 2. Objetivos.***

***Capítulo 3. Productos Naturales y Nuevas Oxidaciones de***

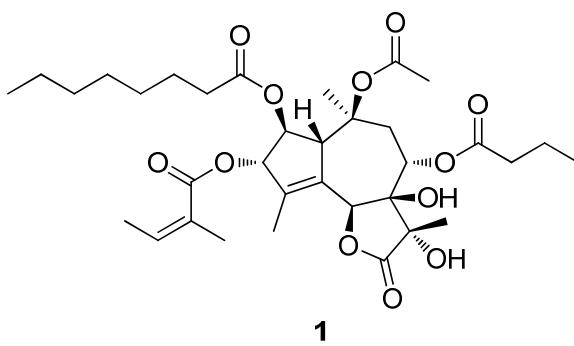
***Enlaces C-H.***



## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existen diversas moléculas orgánicas de un peso molecular inferior a las biomoléculas básicas para la vida, llamadas productos naturales o metabolitos secundarios. Estos compuestos orgánicos parecen no desempeñar funciones imprescindibles para la supervivencia de los organismos que los producen, pero suponen una ventaja para la misma. Así, los productos naturales han ido modificando sus estructuras a lo largo de la evolución, y sus funciones suelen asociarse a una interacción con determinadas dianas biológicas, por lo general proteínas. El gran interés que suscitan estos metabolitos secundarios viene de sus potentes actividades biológicas, que derivan de un proceso de coevolución en el que los organismos productores han ido adaptándolos a las estructuras de las dianas biológicas de los organismos con los que interactúan.

Consciente de su valor, el ser humano ha sacado partido de los productos naturales de muy diversas formas, empleándolos como aromas, pigmentos, venenos, entre otros usos; pero principalmente como remedios y tratamientos para enfermedades, en forma de extractos o ungüentos en medicina tradicional, y, de una forma más moderna, como inspiración para el desarrollo de nuevos fármacos (química médica) y de herramientas para el estudio de sistemas biológicos (química biológica).



**Figura 1.1.** Estructura de la tapsigargina, 1.

Un interesante ejemplo lo constituye la tapsigargina, **1** (Figura 1.1), una lactona sesquiterpénica con esqueleto de guayanolida, producida por *Thapsia garganica*, y que muestra una elevada capacidad inhibitoria de las bombas SERCA, lo que se traduce en una acumulación de grandes cantidades de Ca(II) en el citoplasma induciendo apoptosis celular. Este fenómeno puede ser empleado para el tratamiento del cáncer, en lo cual se está trabajando en la actualidad, como se detallará en

apartados posteriores, a través de una terapia basada en un profármaco de tapsigargina.

Sin embargo, aunque dicho profármaco ha superado con éxito las fases iniciales de ensayos clínicos, será complicado que continúe los siguientes pasos hasta su comercialización, pues la fuente natural de la que se obtiene la tapsigargina, **1**, es limitada y sólo existe una síntesis total en la literatura, difícil de llevar a cabo en la industria farmacéutica al contar con más de 40 pasos de reacción.

Por todo ello, parece necesario realizar esfuerzos de investigación dirigidos, por un lado, a la búsqueda de nuevas aproximaciones sintéticas hacia la tapsigargina, **1**, y por otro lado, al desarrollo de análogos que, contando con un esqueleto parecido, puedan presentar perfiles similares de actividad biológica y sean más sencillos de obtener.

En este sentido, las reacciones de oxidación directa de enlaces C-H constituyen una valiosa herramienta. Una estrategia a considerar en la preparación eficiente de compuestos de este tipo consiste en la elaboración del esqueleto carbonado y su posterior funcionalización mediante estas reacciones, de tal manera que las secuencias sintéticas se vean sustancialmente acortadas.

En esta memoria se presenta el estudio y optimización de tres tipos diferentes de oxidaciones de enlaces C-H y su aplicación a la síntesis de guyanos y guayanolidas estructuralmente próximos a la tapsigargina, **1**, así como una aproximación a la síntesis total de la misma. Este trabajo ha sido estructurado en tres partes diferenciadas:

- Una introducción, que se compone de los capítulos 1, 2 y 3. En esta sección se presenta una perspectiva general de la investigación realizada, se plantean los objetivos iniciales y se revisan los antecedentes.
- Una segunda parte, constituida por los capítulos 4, 5, 6 y 7, aborda la discusión de los resultados obtenidos en el estudio de tres reacciones de oxidación de enlaces C-H: la oxidación alílica de alquenos, la  $\gamma$ -hidroxilación de enonas y la aciloxilación en posición  $\alpha'$  de enonas, así como sus aplicaciones en la síntesis de guyanos y guayanolidas funcionalizados en distintas posiciones. El desarrollo de metodología sintética se apoyó en el empleo de técnicas estadísticas para la optimización

multivariante de los rendimientos. Esta sección acaba con las conclusiones del trabajo.

- Por último, una parte experimental (capítulo 8) donde se recogen las técnicas instrumentales empleadas y los procedimientos experimentales, junto con la caracterización de los productos obtenidos, seguida de un anexo de espectros de RMN.



## CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GENERALES

La presente memoria de tesis doctoral tiene como objetivos generales:

- Desarrollar y optimizar reacciones de oxidación directa de enlaces C-H empleando técnicas de análisis multivariante.
- Aplicar las reacciones optimizadas a la síntesis de guayanos y guayanolidas funcionalizados en las posiciones C2 y C8, análogos de tapsigarginas que puedan mostrar perfiles de actividad biológica de interés farmacológico.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para la consecución de los objetivos generales, se han planteado los siguientes objetivos específicos:

- Estudio de la oxidación alílica de alquenos con perésteres mediada por cobre (reacción de Kharasch-Sosnovsky).
- Puesta a punto de unas condiciones eficientes de la reacción de Kharasch-Sosnovsky, aplicables a sustratos de complejidad estructural media.
- Desarrollo de condiciones de reacción para la hidroxilación directa en posición  $\gamma$  de carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados (enonas).
- Síntesis de guayanos y guayanolidas funcionalizados en C8, empleando la reacción de  $\gamma$ -hidroxilación de enonas previamente optimizada como punto de partida.
- Estudio y optimización de condiciones de reacción para la aciloxilación en posición  $\alpha'$  de carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados (enonas).
- Aplicación de la aciloxilación en  $\alpha'$  de enonas a la síntesis de guayanolidas funcionalizadas en C2, análogas a las tapsigarginas.



## CAPÍTULO 3. PRODUCTOS NATURALES Y NUEVAS OXIDACIONES DE ENLACES C-H

### 3.1 LOS PRODUCTOS NATURALES COMO FUENTE DE NUEVOS FÁRMACOS

3.1.1 Las lactonas sesquiterpénicas

3.1.2 La tapsigargina y el cáncer

3.1.3 Aproximaciones a la síntesis de tapsigarginas y análogos no naturales

### 3.2 LAS OXIDACIONES DE ENLACES C-H COMO HERRAMIENTA EFICIENTE EN SÍNTESIS

3.2.1 Ejemplos de aplicación en síntesis total

### 3.3 LA NECESIDAD DE OPTIMIZAR EN SÍNTESIS ORGÁNICA

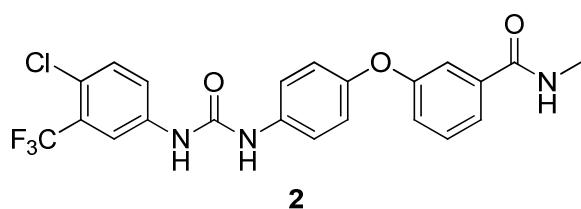
3.3.1 Optimización en química

3.3.2 El método *simplex*

3.3.3 Diseño de experimentos

### 3.1 LOS PRODUCTOS NATURALES COMO FUENTE DE NUEVOS FÁRMACOS

A pesar de la aparición en los años 80 de la química combinatoria como herramienta para la obtención de extensas librerías de compuestos químicos para ensayos de actividad biológica y campañas de *high-throughput screening* (HTS), en las últimas décadas sólo un compuesto *de novo* procedente únicamente de esta herramienta ha sido aprobado como fármaco por las distintas agencias nacionales e internacionales (sorafenib, **2**, inhibidor de enzimas quinasas, para el tratamiento del carcinoma renal, Figura 3.1).<sup>1</sup>

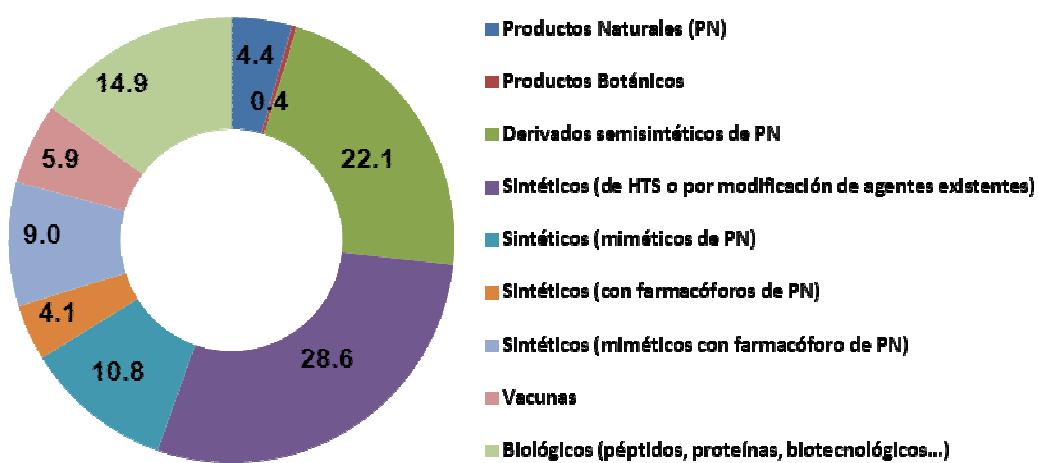


**Figura 3.1.** Sorafenib, **2** (Nexavar).

De todos los fármacos aprobados entre 1981 y 2010 (Figura 3.2), un 29% son totalmente sintéticos, principalmente procedentes de campañas de HTS o por

<sup>1</sup> Newman, D. J. Natural Products as Leads to Potential Drugs: An Old Process or the New Hope for Drug Discovery? *J. Med. Chem.* **2008**, 51, 2589–2599.

modificación de algún agente existente, mientras que el resto son derivados de productos naturales o pueden encuadrarse en categorías en algún modo relacionadas con ellos.<sup>2</sup> Esto pone de manifiesto la gran oportunidad que los productos naturales ofrecen para la identificación de nuevos esqueletos activos o estructuras privilegiadas, dejando a la química combinatoria el papel de optimización estructural, en sus diversas manifestaciones modernas, como son la síntesis orientada a la diversidad (DOS)<sup>3</sup> o la síntesis orientada por la biología (BIOS),<sup>4</sup> de las que se hablará más adelante.



**Figura 3.2.** Fármacos aprobados de 1981 a 2010 (porcentajes sobre un total de 1355).

Esto puede explicarse atendiendo a que la complejidad estructural que ofrecen los productos naturales (número de centros quirales, estructuras policíclicas, heteroátomos, etc.) resulta difícilmente alcanzable en una librería combinatorial sin que haya cierta inspiración en la naturaleza. Dicha complejidad estructural parece ser favorable para que una entidad química muestre actividad biológica, es decir,

<sup>2</sup> Newman, D. J.; Cragg, G. M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* **2012**, 75, 311–335.

<sup>3</sup> (a) Collins, I.; Jones, A. M. Diversity-Oriented Synthetic Strategies Applied to Cancer Chemical Biology and Drug Discovery. *Molecules* **2014**, 19, 17221–17255. (b) Schreiber, S. L. Organic Synthesis toward Small-Molecule Probes and Drugs. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, 108, 6699–6702. (b) Galloway, W. R. J. D.; Isidro-Llobet, A.; Spring, D. R. Diversity-Oriented Synthesis as a Tool for the Discovery of Novel Biologically Active Small Molecules. *Nat. Commun.* **2010**, 1, 80. (c) Burke, M. D.; Schreiber, S. L. A Planning Strategy for Diversity-Oriented Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, 43, 46–58.

<sup>4</sup> (a) van Hattum, H.; Waldmann, H. Biology-Oriented Synthesis: Harnessing the Power of Evolution. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, 136, 11853–11859. (b) Wetzel, S.; Bon, R. S.; Kumar, K.; Waldmann, H. Biology-Oriented Synthesis. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2011**, 50, 10800–10826. (c) Bon, R. S.; Waldmann, H. Bioactivity-Guided Navigation of Chemical Space. *Acc. Chem. Res.* **2010**, 43, 1103–1114. (d) Wilk, W.; Zimmermann, T. J.; Kaiser, M.; Waldmann, H. Principles, Implementation, and Application of Biology-Oriented Synthesis (BIOS). *Biol. Chem.* **2010**, 391, 491–497.

interactúe con biomoléculas también complejas. Por otro lado, los productos naturales presentan una cierta rigidez conformacional que puede asociarse a una menor promiscuidad en la interacción con dianas biológicas, lo que se traduce en menores efectos secundarios e inferior toxicidad molecular.<sup>5</sup> Según los datos publicados en la literatura,<sup>2</sup> es muy probable que en el futuro aparezca un buen número de fármacos basados en variaciones sintéticas de productos naturales complejos, gracias al gran potencial de la síntesis orgánica actual, unido al vertiginoso avance de las técnicas de ensayos de actividad biológica. Para que todo ello sea posible es necesaria una aproximación multidisciplinar al descubrimiento y desarrollo de fármacos, teniendo en cuenta el papel de los productos naturales como fuente de estructuras privilegiadas.

### **Distintas aproximaciones al desarrollo de agentes activos a partir de productos naturales**

A principios de los años 90, la baja productividad de la química combinatoria como herramienta para la obtención de cabezas de serie comenzaba a decepcionar a la comunidad científica, que volvió a ver en los productos naturales una fuente de nuevos agentes activos.<sup>2</sup> Se comenzó a trabajar en la síntesis de librerías focalizadas, más pequeñas e inspiradas en estructuras privilegiadas, es decir, estructuras próximas a esqueletos naturales cuya bioactividad era conocida.

La observación de que, en general, los productos naturales más bioactivos tienen estructuras complejas, llevó a plantear el desarrollo de librerías en las que se buscara mayor complejidad estructural. Además, para incrementar la probabilidad de éxito en los ensayos de bioactividad, teniendo en cuenta que ésta se correlaciona con la interacción en un sitio activo de una diana biológica, se buscó en dichas librerías de compuestos, la mayor diversidad estructural posible, lo que podría permitir además encontrar nuevas dianas terapéuticas y nuevos modos de acción. Así, de forma independiente, pero más o menos simultánea, Schreiber<sup>6</sup> y Nicolaou<sup>7</sup> acuñaron el

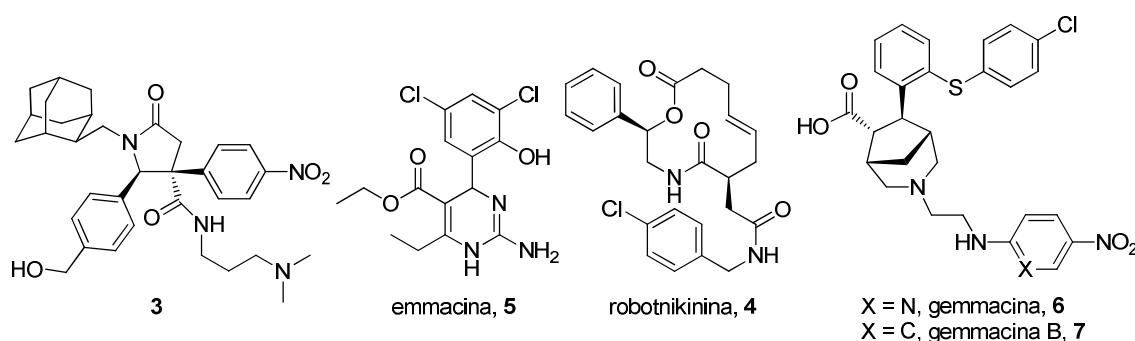
<sup>5</sup> Szychowski, J.; Truchon, J.-F.; Bennani, Y. L. Natural Products in Medicine: Transformational Outcome of Synthetic Chemistry. *J. Med. Chem.* **2014**, ASAP.

<sup>6</sup> Schreiber, S. L. Target-Oriented and Diversity-Oriented Organic Synthesis in Drug Discovery. *Science* **2000**, 287, 1964–1969.

<sup>7</sup> (a) Nicolaou, K. C.; Pfefferkorn, J. A.; Roecker, A. J.; Cao, G.-Q.; Barluenga, S.; Mitchell, H. J. Natural Product-like Combinatorial Libraries Based on Privileged Structures. 1. General Principles and Solid-Phase Synthesis of Benzopyrans. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9939–9953. (b) Nicolaou, K. C.; Pfefferkorn, J. A.; Mitchell, H. J.; Roecker, A. J.; Barluenga, S.; Cao, G.-Q.; Affleck, R. L.; Lillig, J. E. Natural Product-like Combinatorial Libraries Based on Privileged Structures. 2. Construction of a 10 000-Membered Benzopyran Library by Directed Split-and-Pool Chemistry Using NanoKans and Optical Encoding. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**,

concepto de síntesis orientada a la diversidad (*diversity-oriented synthesis*, DOS).<sup>3</sup> Esta aproximación comienza con materiales de partida similares y sencillos para llegar a productos diversos y complejos. Una librería obtenida mediante DOS tiene dos características fundamentales:

- Complejidad estructural. Para conseguirla la estrategia consiste en tomar como modelo la complejidad propia de los productos naturales.
- Diversidad estructural. Se consigue empleando por una lado reacciones estereoespecíficas y estereoselectivas (que aportarán diversidad estereoquímica a la librería), y por otro lado reacciones que den lugar a diferenciación y plegamiento estructural (lo cual permitirá obtener diversidad de esqueletos).



**Figura 3.3.** Ejemplos de compuestos bioactivos descubiertos a través de DOS.

En la literatura se pueden encontrar múltiples trabajos de síntesis orientada a la diversidad que han conducido a la obtención de compuestos biológicamente activos (Figura 3.3).<sup>8</sup>

122, 9954–9967. (c) Nicolaou, K. C.; Pfefferkorn, J. A.; Barluenga, S.; Mitchell, H. J.; Roecker, A. J.; Cao, G.-Q. Natural Product-like Combinatorial Libraries Based on Privileged Structures. 3. The “Libraries from Libraries” Principle for Diversity Enhancement of Benzopyran Libraries. *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 9968–9976.

<sup>8</sup> (a) Di Micco, S.; Vitale, R.; Pellecchia, M.; Rega, M. F.; Riva, R.; Basso, A.; Bifulco, G. Identification of Lead Compounds As Antagonists of Protein Bcl-xL with a Diversity-Oriented Multidisciplinary Approach. *J. Med. Chem.* **2009**, 52, 7856–7867. (b) Stanton, B. Z.; Peng, L. F.; Maloof, N.; Nakai, K.; Wang, X.; Duffner, J. L.; Taveras, K. M.; Hyman, J. M.; Lee, S. W.; Koehler, A. N.; Chen, J. K.; Fox, J. L.; Mandinova, A.; Schreiber, S. L. A Small Molecule That Binds Hedgehog and Blocks its Signaling in Human Cells. *Nat. Chem. Biol.* **2009**, 5, 154–156. (c) Wyatt, E. E.; Galloway, W. R. J. D.; Thomas, G. L.; Welch, M.; Loiseleur, O.; Plowright, A. T.; Spring, D. R. Identification of an Anti-MRSA Dihydrofolate Reductase Inhibitor from a Diversity-Oriented Synthesis. *Chem. Commun.* **2008**, 4962–4964. (d) Ng, P. Y.; Tang, Y.; Knosp, W. M.; Stadler, H. S.; Shaw, J. T. Synthesis of Diverse Lactam Carboxamides Leading to the Discovery of a New Transcription-Factor Inhibitor. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 5352–5355. (e) Koehler, A. N.; Shamji, A. F.; Schreiber, S. L. Discovery of an Inhibitor of a Transcription Factor Using Small Molecule Microarrays and Diversity-Oriented Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 8420–8421. (f) Kuruvilla, F. G.; Shamji, A. F.; Sternson, S. M.;

Más tarde, Waldmann<sup>9</sup> desarrolló un nuevo concepto para la preparación de librerías focalizadas en estructuras inspiradas en productos naturales, y que denominó síntesis orientada por la biología (*biology-oriented synthesis*, BIOS).<sup>4</sup> Observó que tanto los esqueletos básicos de los productos naturales como los plegamientos ( $\alpha$ -hélices y láminas  $\beta$  principalmente) de los sitios activos de las proteínas se han ido conservando en la naturaleza durante la evolución. Esto llevó a plantear dos hipótesis:

- Independientemente de la secuencia de aminoácidos, proteínas con plegamientos similares en sus sitios activos interaccionan con productos naturales (ligandos) con esqueletos básicos similares.
- La selectividad en la unión proteína-ligando y la diversidad de actividades biológicas vienen dadas por la variación de las cadenas laterales de los aminoácidos y los distintos sustituyentes y grupos funcionales en el ligando.

Así, se realizó una clasificación estructural de los productos naturales disgregando sus complejas estructuras hasta llegar a esqueletos básicos conservando patrones de actividad biológica, lo que dio lugar a una representación en forma de árbol.<sup>10</sup> El desplazamiento por las ramas de este diagrama de árbol permitiría el diseño y la síntesis de librerías inspiradas en estructuras de productos naturales, lo que aseguraría un buen índice de éxito en el hallazgo de moléculas bioactivas. La diversidad de grupos funcionales y sustituyentes colocados en dichos esqueletos básicos sería el factor determinante de la selectividad, que viene dada por las interacciones de éstos con las cadenas laterales de los aminoácidos de la secuencia proteica.

Como fruto de la aplicación de la BIOS se han publicado diversas librerías en las que se hallaron moléculas activas además de moduladores de funciones proteicas para estudios de química biológica.<sup>11</sup> En la Figura 3.4 se muestran algunos ejemplos.

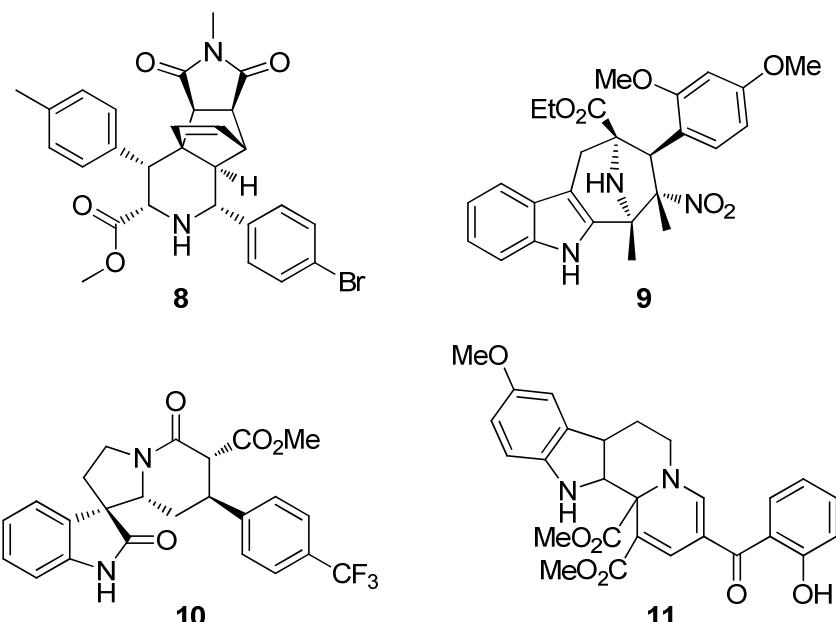
---

Hergenrother, P. J.; Schreiber, S. L. Dissecting Glucose Signalling with Diversity-Oriented Synthesis and Small-Molecule Microarrays. *Nature* **2002**, 416, 653–657.

<sup>9</sup> Breinbauer, R.; Manger, M.; Scheck, M.; Waldmann, H. Natural Product Guided Compound Library Development. *Curr. Med. Chem.* **2002**, 9, 2129–2145.

<sup>10</sup> Koch, M. A.; Schuffenhauer, A.; Scheck, M.; Wetzel, S.; Casaulta, M.; Odermatt, A.; Ertl, P.; Waldmann, H. Charting Biologically Relevant Chemical Space: A Structural Classification of Natural Products (SCONP). *Proc. Natl. Acad. Sci. United States Am.* **2005**, 102, 17272–17277.

<sup>11</sup>(a) Antonchick, A. P.; López-Tosco, S.; Parga, J.; Sievers, S.; Schürmann, M.; Preut, H.; Höing, S.; Schöler, H. R.; Sterneckert, J.; Rauh, D.; Waldmann, H. Highly Enantioselective Catalytic Synthesis of Neurite Growth-Promoting Secoyohimbanes. *Chem. Biol.* **2014**, 20,



**Figura 3.4.** Algunos compuestos activos obtenidos por BIOS.

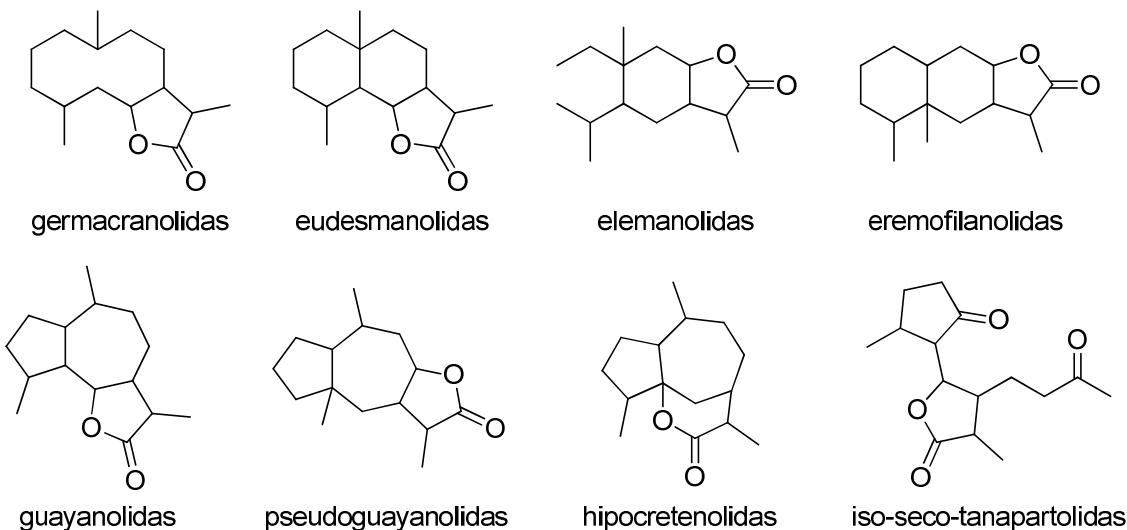
Ambas estrategias para la síntesis de librerías de compuestos inspirados en productos naturales (DOS y BIOS) junto con el diseño racional asistido por ordenador de moléculas *de novo*,<sup>12</sup> conforman las herramientas modernas para el descubrimiento de fármacos.

500–509. (b) Eschenbrenner-Lux, V.; Küchler, P.; Ziegler, S.; Kumar, K.; Waldmann, H. An Enantioselective Inverse-Electron-Demand Imino Diels–Alder Reaction. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 2134–2137. (c) Dakas, P.-Y.; Parga, J. A.; Höing, S.; Schöler, H. R.; Sterneckert, J.; Kumar, K.; Waldmann, H. Discovery of Neuritogenic Compound Classes Inspired by Natural Products. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9576–9581. (d) Dückert, H.; Pries, V.; Khedkar, V.; Menninger, S.; Bruss, H.; Bird, A. W.; Maliga, Z.; Brockmeyer, A.; Janning, P.; Hyman, A.; Grimme, S.; Schürmann, M.; Preut, H.; Hübel, K.; Ziegler, S.; Kumar, K.; Waldmann, H. Natural Product–inspired Cascade Synthesis Yields Modulators of Centrosome Integrity. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 179–184. (e) Potowski, M.; Schürmann, M.; Preut, H.; Antonchick, A. P.; Waldmann, H. Programmable Enantioselective One-Pot Synthesis of Molecules with Eight Stereocenters. *Nat. Chem. Biol.* **2012**, *8*, 428–430. (f) Liu, W.; Khedkar, V.; Baskar, B.; Schürmann, M.; Kumar, K. Branching Cascades: A Concise Synthetic Strategy Targeting Diverse and Complex Molecular Frameworks. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 6900–6905.

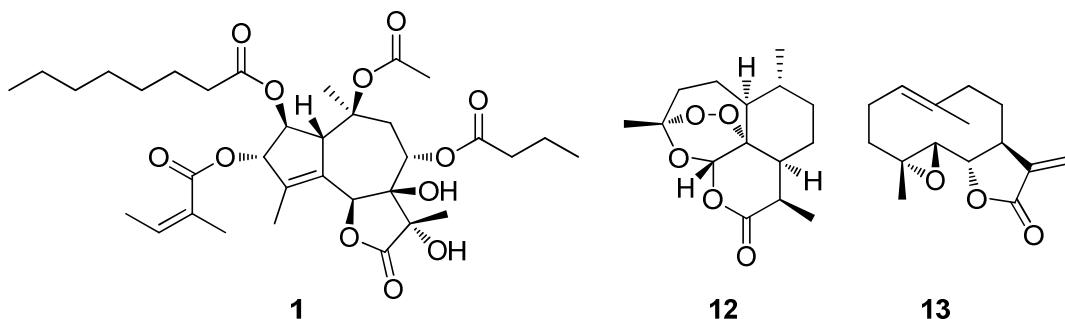
<sup>12</sup>(a) Schneider, G. *De Novo Molecular Design*; Wiley-VCH, Weinheim: New York, 2013. (b) Schneider, G.; Baringhaus, K.-H. *Molecular Design, Concepts and Applications*; Wiley-VCH, Weinheim: New York, 2008.

### 3.1.1 LAS LACTONAS SESQUITERPÉNICAS

Las lactonas sesquiterpénicas constituyen un diverso grupo de productos naturales principalmente de origen botánico, empleadas en la medicina tradicional para el tratamiento de la inflamación y el cáncer,<sup>13</sup> entre otras dolencias como la malaria<sup>14</sup> o la migraña.<sup>15</sup> Estos metabolitos secundarios, con 15 átomos de carbono, se clasifican como terpenoides y se aislan fundamentalmente de plantas compuestas, umbelíferas y magnoliáceas. Según su esqueleto carbonado se distinguen distintos subgrupos de lactonas sesquiterpénicas (Figura 3.5).



**Figura 3.5.** Subgrupos de lactonas sesquiterpénicas.



**Figura 3.6.** Lactonas sesquiterpénicas en ensayos clínicos contra el cáncer.

<sup>13</sup>(a) Mann, J. *Secondary Metabolism*, Calderon Press: Oxford, 1987. (b) Zhang, S.; Won, Y. K.; Ong, C. N.; Shen, H. M. Anti-Cancer Potential of Sesquiterpene Lactones: Bioactivity and Molecular Mechanisms. *Curr. Med. Chem. Anticancer Agents* **2005**, 5, 239-249. (c) Gurib-Fakim, A. Medicinal Plants: Traditions of Yesterday and Drugs of Tomorrow. *Mol. Aspects Med.* **2006**, 27, 1-93.

<sup>14</sup>Bhare, S.; Gulati, A.; Abdin, M. Z., Srivastava P. S. , Jain S. K. Structure, biosynthesis and function of artemisin. *Fitoterapia*, **1996**, 67, 387-399.

<sup>15</sup>Murphy, J. J.; Heptinstall, S.; Mitchell, J. R. A. Randomised Double-Blind Placebo-Controlled Trial of Feverfew in Migraine Prevention. *Lancet* **1988**, 332, 189–192.

Algunas de las propiedades químicas de estos metabolitos resultan tan interesantes que han hecho que varias lactonas sesquiterpénicas (como tapsigargina, **1**, artemisinina, **12**, o partenolido, **13**,<sup>16</sup> junto con derivados sintéticos de ellos, Figura 3.6) se encuentren en fases avanzadas de ensayos clínicos contra el cáncer.<sup>17</sup> Entre ellas cabe destacar:

- La lipofilia, aportada por la presencia de cadenas laterales y que determina el transporte a través de la membrana celular.
- La presencia de aceptores de Michael, como carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados que puedan reaccionar con grupos nucleofílicos en las dianas biológicas.
- Ciertas características estéricas y electrónicas, como la flexibilidad conformacional, la distribución de cargas ocasionada por la presencia de átomos de oxígeno y dobles enlaces, o la geometría cóncava.

Estas propiedades químicas se traducen en un amplio rango de modos de acción que operan sobre las células cancerígenas permitiendo un tratamiento efectivo de la enfermedad.<sup>18</sup> Por ello las lactonas sesquiterpénicas son consideradas como estructuras privilegiadas y por tanto pueden ser tomadas como punto de partida para la búsqueda de nuevos fármacos.<sup>19</sup>

---

<sup>16</sup>Long, J.; Zhang, S.-F.; Wang, P.-P.; Zhang, X.-M.; Yang, Z.-J.; Zhang, Q.; Chen, Y. Total Syntheses of Parthenolide and Its Analogues with Macroyclic Stereocontrol. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 7098–7112.

<sup>17</sup>Ghantous, A.; Gali-Muhtasib, H.; Vuorela, H.; Saliba, N. A.; Darwiche, N. What Made Sesquiterpene Lactones Reach Cancer Clinical Trials? *Drug Discov. Today* **2010**, 15, 668–678.

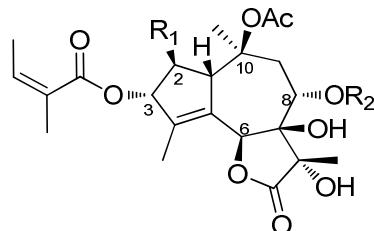
<sup>18</sup>Konaklieva, M. I.; Plotkin, B. J. Lactones: Generic Inhibitors of Enzymes? *Mini Rev. Med. Chem.* **2005**, 5, 73–95.

<sup>19</sup>Welsch, M. E.; Snyder, S. a; Stockwell, B. R. Privileged Scaffolds for Library Design and Drug Discovery. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, 14, 347–361.

### 3.1.2 LA TAPSIGARGINA Y EL CÁNCER

La tapsigargina, **1**, es una lactona sesquiterpénica, concretamente una guayanolida, aislada de los extractos de las raíces de *Thapsia garganica* L. (Linnaeus).<sup>20</sup> Esta planta perenne se distribuye en el litoral mediterráneo (sur de Europa, de España a Grecia, y norte de África) y pertenece a la familia de las umbelíferas.<sup>21</sup>

**Tabla 3.1.** Familia de las tapsigarginas.



| Compuesto         | R <sub>1</sub> ; R <sub>2</sub> | Compuesto        | R <sub>1</sub> ; R <sub>2</sub> |
|-------------------|---------------------------------|------------------|---------------------------------|
| Tapsigargina      | O-Oct; But                      | Tapsivillosina F | H; Sen                          |
| Tapsigargicina    | O-Hex; But                      | Tapsivillosina G | O-6-MeHept; 2-MeBut             |
| Tapsitranstagrina | O-iVal; 2-MeBut                 | Tapsivillosina H | O-Sen; Ang                      |
| Tapsivillosina A  | O-Ang; Sen                      | Tapsivillosina I | O-Ang; But                      |
| Tapsivillosina B  | O-Ang; 2-MeBut                  | Tapsivillosina J | O-iVal; But                     |
| Tapsivillosina C  | O-Oct; 2-MeBut                  | Tapsivillosina K | O-Sen; 2-MeBut                  |
| Tapsivillosina D  | O-6-MeOct; Sen                  | Tapsivillosina L | O-But; But                      |
| Tapsivillosina E  | O-6-MeOct; 2-MeBut              | Trilobolido      | H; 2-MeBut                      |
|                   |                                 | Nortrilobolido   | H; But                          |

Ya en la medicina tradicional europea y árabe se empleaban extractos de *Thapsia garganica* para el tratamiento de afecciones pulmonares, catarros y alivio de dolores reumáticos.<sup>22</sup> Las raíces de *Thapsia garganica* contienen poderosos agentes irritantes para la piel, que provocan dermatitis por contacto, la cual se manifiesta como un eritema, con picor y formación de pequeñas vesículas. Estas observaciones despertaron el interés por conocer los compuestos responsables, que fueron identificados por Christensen como una familia de metabolitos a la que se denominó

<sup>20</sup>(a) Rasmussen, U.; Christensen, S. B.; Sandberg, F. Thapsigargin and thapsigargicina, two new histamine liberators from *Thapsia garganica* L. *Acta Pharm. Suec.* **1978**, 15, 133-140. (b) Patkar, S. A.; Rasmussen, U.; Diamant, B. On the mechanism of histamine release induced by thapsigargin from *Thapsia garganica* L. *Agents Actions* **1979**, 9, 53-57. (c) Christensen, S. B.; Rasmussen, U.; Christophersen, C. Thapsigargin, Constitution of a Sesquiterpene Lactone Histamine Liberator from *Thapsia Garganica*. *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 3829-3830.

<sup>21</sup>Valdés, B.; Talavera, S.; Ferández-Galiano, E. Flora Vascular de Andalucía Occidental, Vol. 2, Kretes Editora S. A., **1987**.

<sup>22</sup>(a) Perrot, E., *Martiéres Premières usuelles du Régne Végétal* **1943**, p. 1630-1632, Ed. Mason, París. (b) French, D. H., *Ethnobotany of the Umbelliferae*. In: The biology and chemistry of the Umbelliferae (Heywood VH, ed.), **1971**, p. 385-412. Academic press Inc. LTD, London.

tapsigarginas, cuyos miembros más activos son tapsigargina, **1**, y tapsigargicina, **14** (Tabla 3.1).<sup>23</sup>

Poco después se realizaron estudios dirigidos a comprender el modo de acción de la tapsigargina, **1**. Así, se determinó su papel como estimulador de la liberación de histamina, lo que explica sus efectos alergénicos y su intervención en procesos inflamatorios.<sup>24</sup> También se le atribuyen otras actividades como estimulación del sistema inmune<sup>25</sup> y promotor tumoral de tipo no-TPA (no 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato).<sup>26</sup> En estos estudios se observó que las células tratadas con tapsigargina, **1**, experimentaban un aumento rápido, pronunciado y sostenido de los niveles de Ca(II) en el citoplasma, lo que permitió establecerla como agente inhibidor de las Ca(II)-ATPasas de los retículos sarco y endoplasmáticos provocando el vaciado de los mismos.<sup>27</sup> Con estos hallazgos comenzó su utilización como herramienta para el estudio del metabolismo del Ca(II), un mensajero secundario implicado en la

<sup>23</sup>Estudios fitoquímicos del género *Thapsia*: (a) Rasmussen, U.; Christensen, S. B.; Sandberg, F. Phytochemistry of the Genus *Thapsia*. *Planta Med.* **1981**, 43, 336–341. (b) Brøgger Christensen, S.; Norup, E.; Rasmussen, U.; Øgaard Madsen, J. Structure of Histamine Releasing Guaianolides from *Thapsia* Species. *Phytochemistry* **1984**, 23, 1659–1663. (c) Christensen, S. B.; Andersen, A.; Smitt, U. W. Sesquiterpenoids from *Thapsia* Species and Medicinal Chemistry of the Thapsigargins. *Prog. Chem. Org. Nat. Prod.* **1997**, 71, 129–167. Estudios estructurales de tapsigarginas: (a) Broegger Christensen, S.; Kjeller Larsen, I.; Rasmussen, U.; Christophersen, C. Thapsigargin and Thapsigargicin, Two Histamine Liberating Sesquiterpene Lactones from *Thapsia Garganica*. X-Ray Analysis of the 7,11-Epoxide of Thapsigargin. *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 649–652. (b) Christensen, S. B.; Schaumburg, K. Stereochemistry and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance of the Histamine liberating Sesquiterpene Lactone Thapsigargin. A Modification of Horeau's Method. *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 396–399. (c) Christensen, S. B.; Norup, E. Absolute Configurations of the Histamine Liberating Sesquiterpene Lactones Thapsigargin and Trilobolide. *Tetrahedron Lett.* **1985**, 26, 107–110.

<sup>24</sup>Ali, H.; Christensen, S. B.; Foreman, J. C.; Pearce, F. L.; Piotrowski, W.; Thastrup, O. The Ability of Thapsigargin and Thapsigargicin to Activate Cells Involved in the Inflammatory Response. *Br. J. Pharmacol.* **1985**, 85, 705–712.

<sup>25</sup>(a) Thastrup, O.; Linnebjerg, H.; Bjerrum, P.; Knudsen, J.; Christensen, S. The Inflammatory and Tumor-Promoting Sesquiterpene Lactone, Thapsigargin, Activates Platelets by Selective Mobilization of Calcium as Shown by Protein Phosphorylations. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **1987**, 927, 65–73. (b) Scharff, O.; Foder, B.; Thastrup, O.; Hofmann, B.; Møller, J.; Ryder, L. P.; Jacobsen, K. D.; Langhoff, E.; Dickneiss, E.; Brøgger Christensen, S.; Skinhøj, P.; Svegaard, A. Effect of Thapsigargin on Cytoplasmic Ca<sup>2+</sup> and Proliferation of Human Lymphocytes in Relations to AIDS. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **1988**, 972, 257–264.

<sup>26</sup>Hakii, H.; Fujiki, H.; Suganuma, M.; Nakayasu, M.; Tahira, T.; Sugimura, T.; Scheuer, P. J.; Christensen, S. B. Thapsigargin, a Histamine Secretagogue, Is a Non-12-O-Tetradecanolphorbol-13-Acetate (TPA) Type Tumor Promoter in Two-Stage Mouse Skin Carcinogenesis. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **1986**, 111, 177–181.

<sup>27</sup>(a) Inesi, G.; Sagara, Y. Thapsigargin, a High Affinity and Global Inhibitor of Intracellular Ca<sup>2+</sup> Transport ATPases. *Arch. Biochem. Biophys.* **1992**, 298, 313–317. (b) Lytton, J.; Westlin, M.; Hanley, M. R. Thapsigargin Inhibits the Sarcoplasmic or Endoplasmic Reticulum Ca-ATPase Family of Calcium Pumps. *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 17067–17071. (c) Thastrup, O.; Cullen, P. J.; Drøbak, B. K.; Hanley, M. R.; Dawson, A. P. Thapsigargin, a Tumor Promoter, Discharges Intracellular Ca<sup>2+</sup> Stores by Specific Inhibition of the Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1990**, 87, 2466–2470.

señalización celular y que coordina procesos vitales como la división celular, el crecimiento, la diferenciación, el metabolismo y la comunicación con el entorno.<sup>28</sup>

### **La regulación del Ca(II), las SERCAs y el modo de acción de la tapsigargina**

El Ca(II) es un mensajero secundario cuya concentración debe estar regulada de forma muy precisa para el correcto funcionamiento de la célula, pues variaciones en sus niveles se traducen en distintas respuestas celulares.<sup>29</sup> La concentración en el citosol se mantiene en el orden de 100 nM, unas 20000 veces inferior a la concentración extracelular, evitando la formación de sales insolubles por la presencia de fosfatos inorgánicos, que precipitarían provocando la muerte celular. Así, el Ca(II) se acumula en el retículo endoplasmático (sarcoplasmático en células musculares), que sirve como lugar de reserva y mecanismo de control de este ión.<sup>30</sup>

Cuando un mensajero primario, como son algunas hormonas, indica a la célula que debe alterar su función, la señal se transmite a través de cambios en la concentración de Ca(II) en el citosol. Este ión es un mensajero que la célula no puede producir ni destruir, únicamente controla sus niveles utilizando como fuente principal el Ca(II) presente en el medio extracelular. Recibida la señal, la célula induce la hidrólisis de inositolfosfolípidos para la formación de inositol-1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>), un mensajero intracelular que provoca la liberación del Ca(II) secuestrado, desencadenando la activación de diversas enzimas dependientes de este ión, entre otras respuestas celulares. Cuando la señal cesa, los niveles de Ca(II) deben re establecerse, transportando el excedente hacia el medio extracelular o hacia los lugares de reserva.

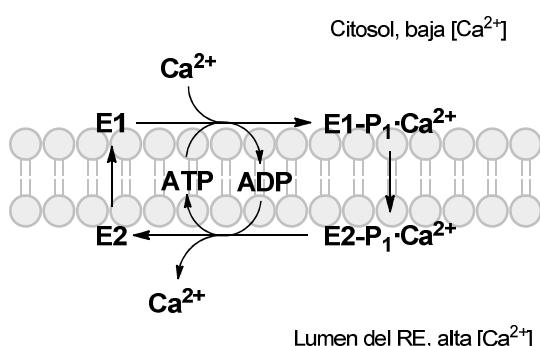
Dada la naturaleza lipídica de las membranas biológicas y la necesidad de transportar Ca(II) en contra de un gradiente electroquímico (desde el citosol, a muy baja concentración, hacia el lumen del retículo endoplasmático o al exterior de la célula, con mayores concentraciones) es necesario llevar a cabo un transporte activo, que implica consumo de energía mediante la hidrólisis de ATP. Este transporte es efectuado por bombas de tipo ATPasas que se sitúan tanto en la membrana plasmática (*plasmic membrane Ca(II)-ATPase, PMCA*) como en los retículos sarco y endoplasmáticos (*sarcoplasmic and endoplasmic reticulum Ca(II)-ATPase, SERCA*).

<sup>28</sup>Treiman, M.; Caspersen, C.; Christensen, S. B. A Tool Coming of Age: Thapsigargin as an Inhibitor of Sarco-Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPases. *Trends Pharmacol. Sci.* **1998**, 19, 131–135.

<sup>29</sup>Clapham, D. E. Calcium Signaling. *Cell* **1995**, 80, 259–268.

<sup>30</sup>Carafoli, E. Intracellular Calcium Homeostasis. *Annu. Rev. Biochem.* **1987**, 56, 395–433.

Estas bombas, tanto las SERCAs como las PMCA, se clasifican como ATPasas tipo-P, ya que fosforilan un resto de aspártico durante su ciclo catalítico para transportar Ca(II) (Figura 3.7). Dicho ciclo comienza con una conformación E1, desfosforilada y abierta hacia el citosol, con alta afinidad por el ión Ca(II), que se une a la enzima. En este punto, se produce la hidrólisis de una molécula de ATP, con la subsecuente liberación de energía, lo que da lugar a la fosforilación, induciendo un cambio conformacional hacia el estado E2 y el paso del Ca(II) a través de la membrana. La conformación E2, fosforilada, abierta hacia el lado opuesto de la membrana (lumen del retículo endoplasmático en el caso de las SERCAs o medio extracelular en las PMCA) es menos afín al ión Ca(II) y éste se separa de la enzima.



**Figura 3.7.** Ciclo catalítico de las SERCAs para transportar Ca(II).

Tanto las SERCAs como las PMCA son proteínas integrales de membrana formadas por una única cadena polipeptídica. Ambas tienen estructuras y modos de acción muy parecidos, si bien las primeras transportan dos iones Ca(II) por cada ATP hidrolizado mientras las segundas solo transportan uno. El funcionamiento correcto de las Ca(II)-ATPasas es fundamental para mantener el contenido óptimo de Ca(II) en el citosol, permitiendo a las células desarrollar su ciclo de forma normal.

Como ya se ha mencionado, se observó que la tapisigargina, 1, provocaba un aumento pronunciado de los niveles de Ca(II) citosólico.<sup>27</sup> Estudios posteriores permitieron concluir que este producto natural provocaba la descarga directa de los depósitos intracelulares, sin la intervención del inositol-1,4,5-trifosfato (IP<sub>3</sub>), el mensajero intracelular involucrado en la liberación del Ca(II) del retículo endoplasmático en condiciones fisiológicas normales.<sup>31</sup> Esto hizo pensar que la tapisigargina, 1, debía

<sup>31</sup>(a) Jackson, T. R.; Patterson, S. I.; Thastrup, O.; Hanley, M. R. A Novel Tumour Promoter, Thapsigargin, Transiently Increases Cytoplasmic Free Ca<sup>2+</sup> without Generation of Inositol Phosphates in NG115-401L Neuronal Cells. *Biochem. J.* **1988**, 253, 80–81. (b) Thastrup, O.; Foder, B.; Scharff, O. The Calcium Mobilizing and Tumor Promoting Agent, Thapsigargin

actuar directamente sobre algún punto de reconocimiento asociado a los lugares de reserva del Ca(II) y no sobre otros mecanismos de activación del mismo. Así pues, en los años 90 quedó constatada la acción de este metabolito sobre las bombas Ca(II)-ATPasas de los retículos sarco y endoplasmáticos (SERCAs), de forma totalmente selectiva, pues no afecta a bombas análogas en la membrana plasmática ni en las membranas mitocondriales.<sup>27</sup>

La tapsigargina, **1**, presenta una alta afinidad por las SERCAs, inhibiendo a concentraciones subnanomolares el bombeo de Ca(II) por parte de las mismas. La interacción con estas ATPasas es rápida, estequiométrica (una molécula de tapsigargina, **1**, por molécula del enzima) y esencialmente irreversible.<sup>32</sup> Su unión fija a la proteína en una conformación similar a la del estado E2, poco afín al Ca(II), por lo que bloquea su función transportadora. Gracias a una estructura con varios restos acilo, la tapsigargina, **1**, cuenta con una alta liposolubilidad que le permite atravesar las membranas biológicas hasta llegar a su diana, ejerciendo su actividad inhibitoria de forma eficaz. Además, esta eficacia en la inhibición selectiva de las bombas de Ca(II) de los retículos endoplasmáticos ha hecho de este compuesto una útil herramienta para el estudio de la homeostasis del Ca(II), cuya comprensión es fundamental para la investigación en fisiología celular, dada su implicación en diversos procesos celulares.

### **Estrategia profármaco para el tratamiento del cáncer de próstata**

El aumento de los niveles de Ca(II) citosólico, producido por la actividad de la tapsigargina, **1**, como inhibidor selectivo de las SERCAs, conduce a la apoptosis celular. Este hecho atrajo la atención de la comunidad científica, que vio en este producto natural un potencial agente terapéutico contra el cáncer. Investigaciones posteriores en esta dirección han confirmado su aplicabilidad en el tratamiento del cáncer de próstata.

El cáncer de próstata es el segundo más frecuente en varones, según la Asociación Española Contra el Cáncer. Aparece cuando células anormales, impulsadas por hormonas sexuales masculinas (andrógenos como la testosterona) crecen

---

Elevates the Platelet Cytoplasmic Free Calcium Concentration to a Higher Steady State Level. A Possible Mechanism of Action for the Tumor Promotion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, 142, 654–660.

<sup>32</sup>(a) Toyoshima, C.; Nomura, H. Structural Changes in the Calcium Pump Accompanying the Dissociation of Calcium. *Nature* **2002**, 418, 605–611. (b) Sagara, Y.; Inesi, G. Inhibition of the Sarcoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup> Transport ATPase by Thapsigargin at Subnanomolar Concentrations. *J. Biol. Chem.* **1991**, 266, 13503–13506.

descontroladamente. Los andrógenos regulan el número total de células prostáticas estimulando la proliferación de las mismas e inhibiendo la muerte celular, y son por tanto, el principal factor de crecimiento para dichas células.<sup>33</sup> Así, la ablación androgénica en cáncer de próstata metastático permitió desarrollar una serie de terapias consistentes en privar de andrógenos a las células cancerosas, evitando así su proliferación.<sup>34</sup> Esta terapia hormonal o de privación de andrógeno solo afecta a células cancerosas dependientes de andrógeno para su crecimiento, por lo que no es totalmente efectiva ya que existen otras células de este cáncer que no requieren de andrógenos para su reproducción, y que acaban ocasionando la muerte.<sup>35</sup> En estos casos se habla de cáncer de próstata andrógeno-independiente u hormono-refractario,<sup>36</sup> y hasta el momento no cuenta con un tratamiento más allá de la quimioterapia para alargar la vida de los afectados.<sup>37</sup>

En este contexto, los investigadores han visto una oportunidad para el tratamiento de la enfermedad en la activación de apoptosis por mecanismos no relacionados con la proliferación de estas células andrógeno-independientes.<sup>38</sup> La capacidad de la tapsigargina, **1**, para elevar rápidamente y de forma sostenida la concentración de Ca(II) en el citosol es un mecanismo interesante que provoca muerte celular,<sup>39</sup> por lo que se vio en ella un alto potencial como terapia para el cáncer de próstata.

Sin embargo, la tapsigargina, **1**, es una molécula muy potente pero no específica para células prostáticas, por lo que actúa en las bombas SERCA tanto de células enfermas como sanas. Esto implicaría una toxicidad significativa para un paciente tratado de forma sistemática con este compuesto. Por otro lado, la elevada lipofilia de la tapsigargina, **1**, implica una muy baja solubilidad en agua de la misma, originando

<sup>33</sup>(a) Isaacs, J. T. Roles of adrogens in prostatic cancer. *Vitamins and Hormones* **1994**, *49*, 433–502. (b) Isaacs, J. T. Antagonistic effect of androgen on prostatic cell death. *Prostate* **1984**, *5*, 545–557.

<sup>34</sup>Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T. A History of Prostate Cancer Treatment. *Nat. Rev. Cancer* **2002**, *2*, 389–396.

<sup>35</sup>Isaacs, J. T. The biology of hormone refractory prostate cancer. Why does it develop? *Urol. Clin. North Am.* **1999**, *26*, 263–273.

<sup>36</sup>Arnold, J. T.; Isaacs, J. T. Mechanisms Involved in the Progression of Androgen-Independent Prostate Cancers: It Is Not Only the Cancer Cell's Fault. *Endocr. Relat. Cancer* **2002**, *9*, 61–73.

<sup>37</sup>(a) Arnold, J. T.; Isaacs, J. T. Mechanisms Involved in the Progression of Androgen-Independent Prostate Cancers: It Is Not Only the Cancer Cell's Fault. *Endocrine-Related Cancer* **2002**, *9*, 61–73. (b) Pinski, J.; Parikh, A.; Bova, G. S.; Isaacs, J. T. Therapeutic Implications of Enhanced G0/G1 Checkpoint Control Induced by Coculture of Prostate Cancer Cells with Osteoblasts. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 6372–6376.

<sup>38</sup>Isaacs, J. T. New Strategies for the Medical Treatment of Prostate Cancer. *BJU Int.* **2005**, *96*, 35–40.

<sup>39</sup>Randriamampita, C.; Tsien, R. Y. Emptying of Intracellular Ca<sup>2+</sup> Stores Releases a Novel Small Messenger That Stimulates Ca<sup>2+</sup> Influx. *Nature* **1993**, *364*, 809–814.

problemas de biodisponibilidad. Por todo ello, se diseñó una estrategia basada en un profármaco, con el fin de conferir selectividad al agente terapéutico frente a células cancerosas de próstata y, de esta forma, mejorar su perfil de solubilidad permitiéndole llegar a su lugar de acción.

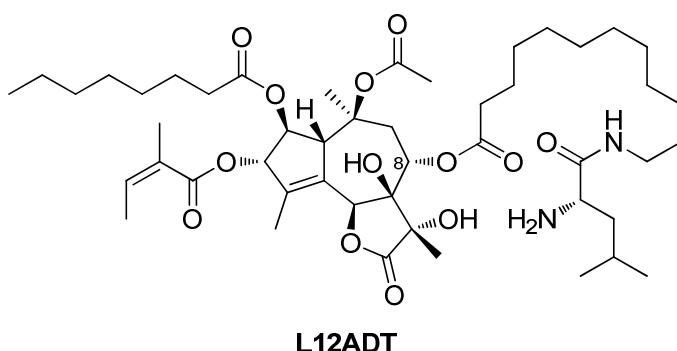
Una posibilidad consiste en la bioconjugación de la tapsigargina, 1, o de un análogo igualmente activo, a una cadena peptídica que actúe como portador del principio activo. Así, el profármaco obtenido sería inactivo, ya que el péptido portador impediría su paso a través de las membranas celulares; a la vez que soluble, permitiendo su administración sistémica. Para realizar su función, este profármaco debería hidrolizarse selectivamente en la superficie de las células cancerosas sobre las que se desea actuar. Esto llevaría a la liberación del principio activo, el cual penetraría al interior celular ejerciendo la acción anti-SERCA.

Para el diseño de un profármaco con estas características, se pensó en el antígeno prostático específico (PSA). Esta glicoproteína se produce de forma casi exclusiva en las células del epitelio glandular de la próstata y presenta actividad enzimática de tipo proteasa, responsable de la licuefacción del líquido seminal. Aunque el PSA se origina en la próstata y ejerce su acción en el líquido extracelular que la circunda, una parte se libera al torrente sanguíneo, donde queda inactivado por unión a inhibidores de proteasas, como la  $\alpha$ -1-antiquimotripsina o la  $\alpha$ -2-macroglobulina. Por tanto, la combinación de tapsigargina, 1, a un péptido que sea hidrolizado específicamente por el PSA daría lugar a un profármaco selectivo para el tratamiento del cáncer de próstata, al liberarse el principio activo únicamente en el entorno de la zona enferma, donde se manifiesta la actividad proteasa del PSA.

Con este fin, el grupo de investigación de Christensen desarrolló una serie de análogos donde el grupo butanoilo en O-8 fue sustituido por aminas primarias de cadena larga que pudieran servir de anclaje a péptidos específicos del PSA.<sup>40</sup> Así sintetizaron el compuesto L12ADT, un análogo de tapsigargina, 1, que muestra el mismo perfil de actividad biológica (Figura 3.8). Este análogo cuenta en O-8 con una

<sup>40</sup>(a) Brøgger Christensen, S.; Andersen, A.; Kromann, H.; Treiman, M.; Tombal, B.; Denmeade, S.; Isaacs, J. T. Thapsigargin Analogues for Targeting Programmed Death of Androgen-Independent Prostate Cancer Cells. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1273–1280. (b) Jakobsen, C. M.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; Gady, A.; Olsen, C. E.; Christensen, S. B. Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of Thapsigargin Analogues for Targeting Apoptosis to Prostatic Cancer Cells. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 4696–4703. (c) Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T. The SERCA Pump as a Therapeutic Target: Making a “Smart Bomb” for Prostate Cancer. *Cancer Biol. Ther.* **2005**, *4*, 21–29.

cadena de 12-aminododecanoilo unido al  $\alpha$ -aminoácido L-leucina. La cadena larga implica una alta liposolubilidad y por tanto una mejor actividad frente a otros análogos de cadena más corta, y el aminoácido final se aprovecharía para su anclaje al péptido que conformará el profármaco.



**Figura 3.8.** L12ADT, análogo de tapsigargina, 1.

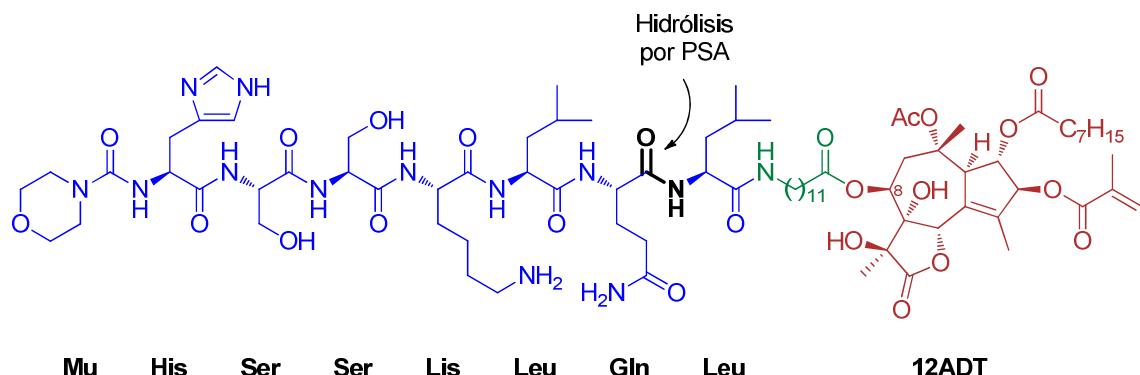
En un siguiente paso fue necesaria la búsqueda del péptido adecuado para la bioconjugación con el análogo L12ADT, de forma que tuviera la secuencia de aminoácidos específica para su hidrólisis por el PSA, evitando que otras enzimas pudieran liberar el principio activo en zonas no deseadas. Basándose en el análisis de la acción del PSA sobre las semenoglobinas I y II,<sup>41</sup> dos proteínas formadas tras la eyaculación y que constituyen el sustrato principal de la actividad proteasa de dicho antígeno, se sintetizaron y caracterizaron péptidos pequeños para ensayarlos como sustratos no naturales. De este modo se identificó un péptido con la secuencia de aminoácidos His-Ser-Ser-Lis-Leu-Gln (HSSKLQ), que presentó una elevada especificidad por el PSA, y que no fue hidrolizado por otras proteasas como la quimiotripsina.<sup>42</sup> El péptido HSSKLQ fue acoplado a una aminometilcumarina para seguir los ensayos de hidrólisis por PSA mediante fluorescencia. Como resultado, se confirmó la especificidad de dicho sustrato por el PSA secretado por células cancerosas a la vez que se constataba la inhibición de la actividad proteasa en la fracción de PSA presente en el suero.

Por último, con el fin de obtener el profármaco para el tratamiento del cáncer de próstata, Christensen y col. prepararon un derivado del péptido, Mu-HSSK(Fmoc)LQ

<sup>41</sup>Lilja, H.; Abrahamsson, P. A.; Lundwall, A. Semenogelin, the Predominant Protein in Human Semen. Primary Structure and Identification of Closely Related Proteins in the Male Accessory Sex Glands and on the Spermatozoa. *J. Biol. Chem.* **1989**, 264, 1894–1900.

<sup>42</sup>Denmeade, S. R.; Lou, W.; Lövgren, J.; Malm, J.; Lilja, H.; Isaacs, J. T. Specific and Efficient Peptide Substrates for Assaying the Proteolytic Activity of Prostate-Specific Antigen. *Cancer Res.* **1997**, 57, 4924–4930.

(con 4-morfolinacarbonilo, Mu, como protector del grupo amino terminal, y Fmoc para el grupo amino de la lisina) y lo acopló con el análogo L12ADT. La posterior desprotección del Fmoc dio lugar al profármaco Mu-HSSKLQ//L12ADT (Figura 3.9).<sup>43</sup>



**Figura 3.9.** Mu-HSSKLQ//L12ADT, profármaco basado en tapsigargina.

Este profármaco mostró *in vitro* las propiedades farmacológicas deseadas. Así, hidrolizado específicamente por el PSA, fue selectivamente tóxico para células cancerosas prostáticas, productoras de dicho antígeno. Los resultados preclínicos indicaron que menos del 1% de Mu-HSSKLQ//L12ADT sufre hidrólisis inespecífica en la sangre, lo que evita efectos secundarios. Experimentos *in vivo*, condujeron a la inhibición del crecimiento de tumores de la línea LNCaP en ratones portadores, sin reflejar síntomas importantes de toxicidad.

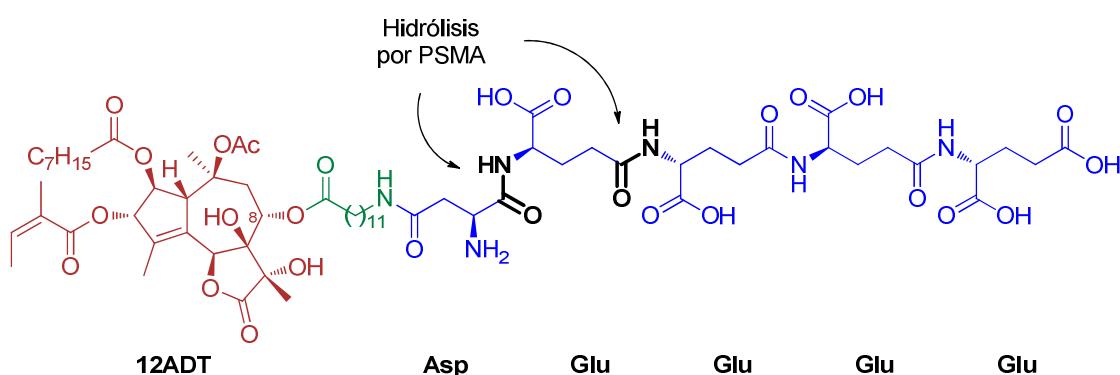
Poco después se desarrollaron otros profármacos basados en el mismo mecanismo empleando otras proteasas que se expresan casi exclusivamente en la próstata. Así, se ha empleado tanto la kalikreína humana tipo 2 (hK2),<sup>44</sup> como el antígeno prostático específico de membrana (PSMA).<sup>45</sup> En este último se han producido importantes avances, obteniéndose el fármaco G202 (Figura 3.10, registrado como Mipsagargin en

<sup>43</sup>Denmeade, S. R.; Jakobsen, C. M.; Janssen, S.; Khan, S. R.; Garrett, E. S.; Lilja, H.; Christensen, S. B.; Isaacs, J. T. Prostate-Specific Antigen-Activated Thapsigargin Prodrug as Targeted Therapy for Prostate Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **2003**, 95, 990–1000.

<sup>44</sup>(a) Janssen, S.; Jakobsen, C. M.; Rosen, D. M.; Ricklis, R. M.; Reineke, U.; Christensen, S. B.; Lilja, H.; Denmeade, S. R. Screening a Combinatorial Peptide Library to Develop a Human Glandular Kallikrein 2-activated Prodrug as Targeted Therapy for Prostate Cancer. *Mol. Cancer Ther.* **2004**, 3, 1439–1450. (b) Janssen, S.; Rosen, D. M.; Ricklis, R. M.; Dionne, C. A.; Lilja, H.; Christensen, S. B.; Isaacs, J. T.; Denmeade, S. R. Pharmacokinetics, Biodistribution, and Antitumor Efficacy of a Human Glandular Kallikrein 2 (hK2)-Activated Thapsigargin Prodrug. *Prostate* **2006**, 66, 358–368.

<sup>45</sup>(a) Aggarwal, S.; Ricklis, R. M.; Williams, S. A.; Denmeade, S. R. Comparative Study of PSMA Expression in the Prostate of Mouse, Dog, Monkey, and Human. *Prostate* **2006**, 66, 903–910. (b) Mhaka, A.; Gady, A. M.; Rosen, D. M.; Lo, K.-M.; Gillies, S. D.; Denmeade, S. R. Use of Methotrexate-Based Peptide Substrates to Characterize the Substrate Specificity of Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA). *Cancer Biol. Ther.* **2004**, 3, 551–558.

el USAN, *United States Adopted Names Council*). Este fármaco redujo los tumores por xenoinjerto de varios tipos de cánceres humanos en ratones, entre ellos próstata, mama, riñón y vejiga. Además, superó los estudios de seguridad previos al ensayo del profármaco en humanos. En este sentido, G202 solo causó toxicidad renal transitoria y reversible en ratas y monos; a la vez que no produjo toxicidad en médula ósea de ratones, ratas y monos, un efecto secundario frecuente en quimioterapia.<sup>46</sup> Estos resultados permitieron llevar a cabo los ensayos clínicos de fase I para el escalado de la dosis en pacientes con cáncer avanzado, estando actualmente el fármaco en fase II.<sup>47</sup>



**Figura 3.10.** Fármaco G202, en fase II de ensayos clínicos.

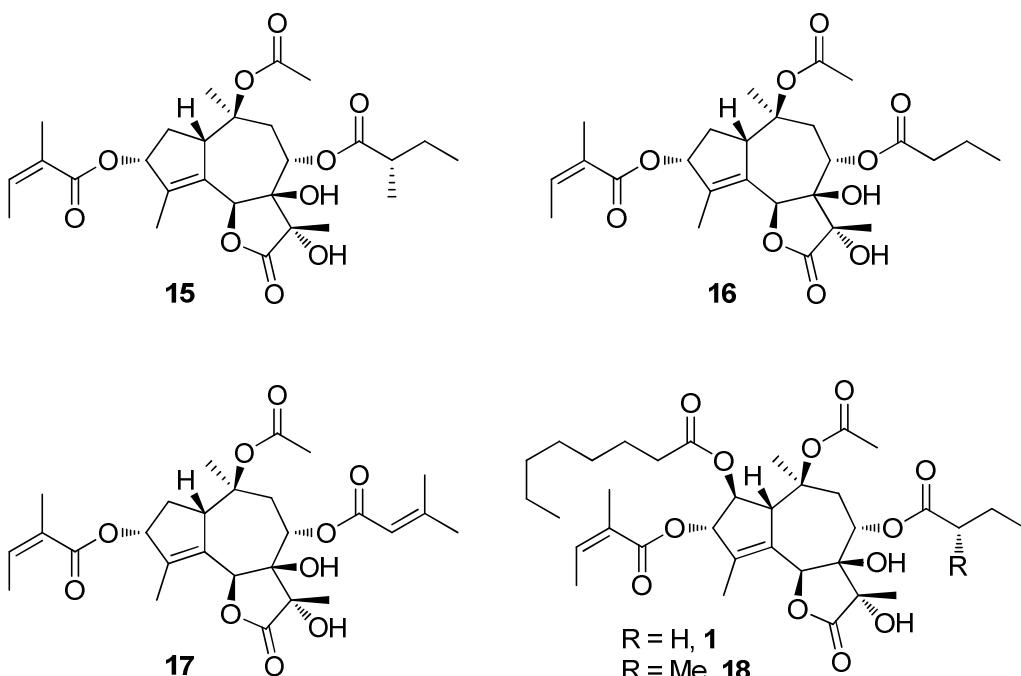
Sin embargo, la falta de una síntesis total eficiente de tapsigargina, **1**, con un número de pasos reducido (en el apartado posterior se discuten distintas aproximaciones) hace depender de su fuente natural para la elaboración del profármaco G202. Este hecho está dificultando y encareciendo las investigaciones clínicas, al no poder contar con cantidades sustanciales de material. Además, aún son necesarios estudios de estructura-actividad que permitan esclarecer qué zonas de la molécula son importantes y cuáles son prescindibles para su bioactividad, lo que implica la preparación de otros análogos para su posterior evaluación. Todo ello parece indicar que la investigación en este campo debe seguir siendo activa.

<sup>46</sup>(a)Denmeade, S. R.; Mhaka, A. M.; Rosen, D. M.; Brennen, W. N.; Dalrymple, S.; Dach, I.; Olesen, C.; Gurel, B.; DeMarzo, A. M.; Wilding, G.; Carducci, M. A.; Dionne, C. A.; Moeller, J. V.; Nissen, P.; Christensen, S. B.; Isaacs, J. T. Engineering a Prostate-Specific Membrane Antigen-Activated Tumor Endothelial Cell Prodrug for Cancer Therapy. *Sci. Transl. Med.* **2012**, 4, 140ra86, 13 pp. (b) Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T. Engineering Enzymatically Activated “Molecular Grenades” for Cancer. *Oncotarget* **2012**, 3, 666–667. (c) Dubois, C.; Vanden Abeele, F.; Sehgal, P.; Olesen, C.; Junker, S.; Christensen, S. B.; Prevarska, N.; Moller, J. V. Differential Effects of Thapsigargin Analogs on Apoptosis of Prostate Cancer Cells Complex Regulation by Intracellular Calcium. *FEBS J.* **2013**, 280, 5430–5440.

<sup>47</sup>Doan, N. T. Q.; Paulsen, E. S.; Sehgal, P.; Møller, J. V.; Nissen, P.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; Dionne, C. A.; Christensen, S. B. Targeting Thapsigargin towards Tumors. *Steroids* **2014**, *in press*.

### 3.1.3 APROXIMACIONES A LA SÍNTESIS DE TAPSIGARGINAS Y ANÁLOGOS NO NATURALES

La primera, y hasta el momento única, síntesis total de la tapsigargina, **1**, fue publicada en 2007 por el grupo de investigación de Steven V. Ley.<sup>48</sup> En dos trabajos anteriores del mismo grupo, se presentó la síntesis de otros miembros de la familia de las tapsigarginas: tribolido, **15**, nortribolido, **16**, y tapsivillosina F, **17**,<sup>49</sup> en los cuales se sentaron las bases metodológicas que culminarían con la mencionada síntesis total de **1**, y posteriormente de tapsivillosina C, **18** (Figura 3.11).<sup>50</sup>



**Figura 3.11.** Tapsigarginas sintetizadas por Ley y colaboradores.

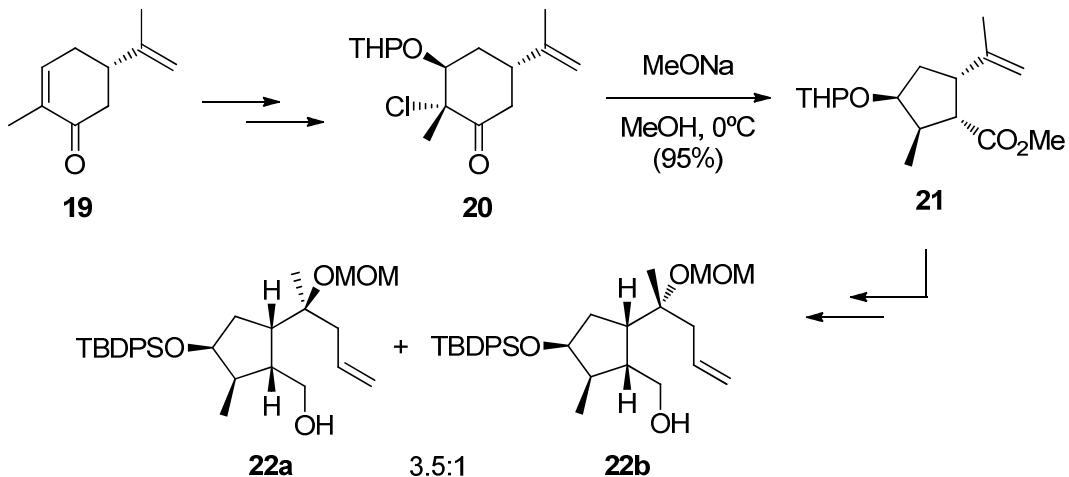
Para obtener el esqueleto de guayano, constituido por dos ciclos fusionados de 5 y 7 miembros, la estrategia sintética elegida consistió en elaborar un derivado de ciclopentano sobre el que construir el segundo ciclo mediante metátesis de cierre de

<sup>48</sup>Ball, M.; Andrews, S. P.; Wierschem, F.; Cleator, E.; Smith, M. D.; Ley, S. V. Total Synthesis of Thapsigargin, a Potent SERCA Pump Inhibitor. *Org. Lett.* **2007**, 9, 663–666.

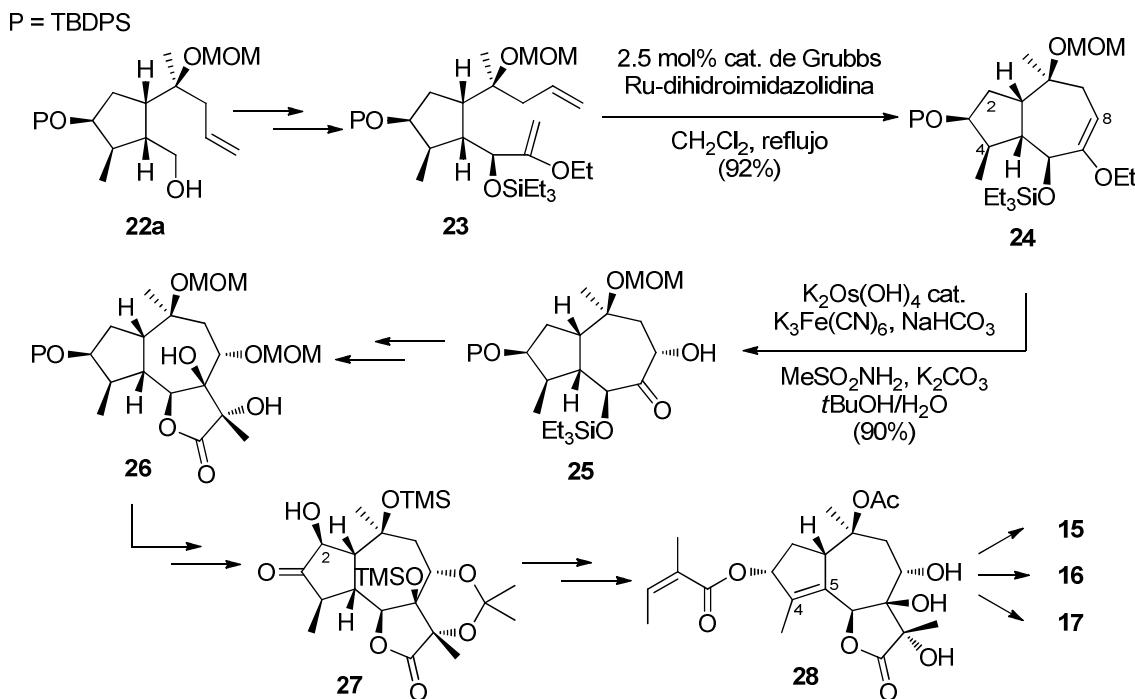
<sup>49</sup>(a) Oliver, S. F.; Högenauer, K.; Simic, O.; Antonello, A.; Smith, M. D.; Ley, S. V. A Route to the Thapsigargin from (*S*)-Carvone Providing a Substrate-Controlled Total Synthesis of Trilobolide, Nortrilobolide, and Thapsivillosin F. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 5996–6000. (b) Ley, S. V.; Antonello, A.; Balskus, E. P.; Booth, D. T.; Christensen, S. B.; Cleator, E.; Gold, H.; Högenauer, K.; Hünger, U.; Myers, R. M.; Oliver, S. F.; Simic, O.; Smith, M. D.; Søhoel, H.; Woolford, A. J. A. Synthesis of the Thapsigargin. *Proc. Natl. Acad. Sci. United States Am.* **2004**, 101, 12073–12078.

<sup>50</sup>Andrews, S. P.; Ball, M.; Wierschem, F.; Cleator, E.; Oliver, S.; Högenauer, K.; Simic, O.; Antonello, A.; Hünger, U.; Smith, M. D.; Ley, S. V. Total Synthesis of Five Thapsigargin: Guianolide Natural Products Exhibiting Sub-Nanomolar SERCA Inhibition. *Chem. – A Eur. J.* **2007**, 13, 5688–5712.

anillo. De este modo, partiendo de (*S*)-(+)-carvona, **19**, un producto comercial, se llegó al intermedio **20**, el cual se sometió a un reagrupamiento de Favorskii conducente a **21**. Tras algunos pasos más, se obtuvo la mezcla de epímeros **22**, con una relación diasteromérica de 3.5:1 a favor del epímero deseado **22a** (Figura 3.12).



**Figura 3.12.** Primera parte de la síntesis de Ley.

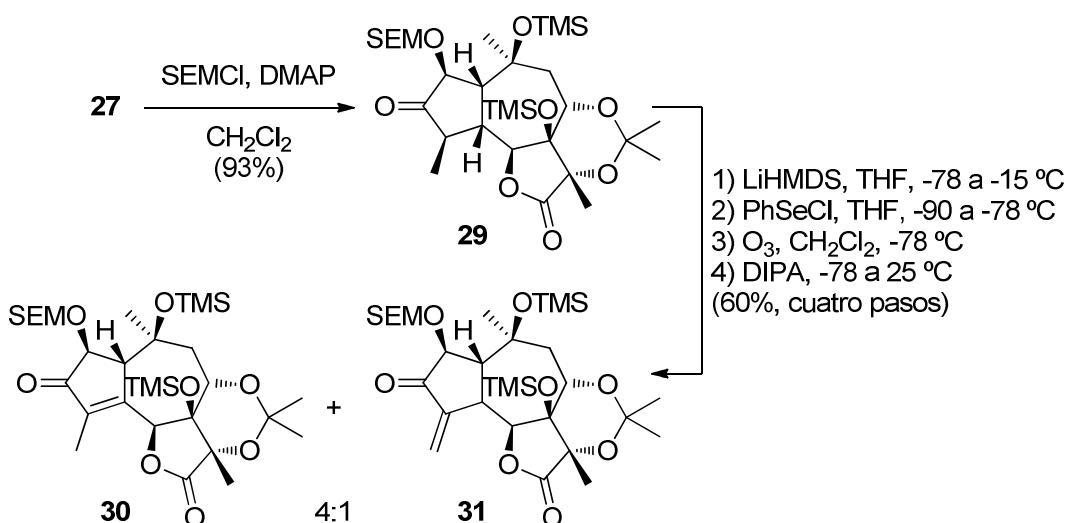


**Figura 3.13.** Segunda parte de la síntesis de Ley.

Seguidamente, el compuesto **22a** se modificó convenientemente para dar el compuesto **23**, el cual sería el sustrato para el paso clave de la síntesis, la metátesis de cierre de anillo conducente al esqueleto de guayano, dando el producto **24**.

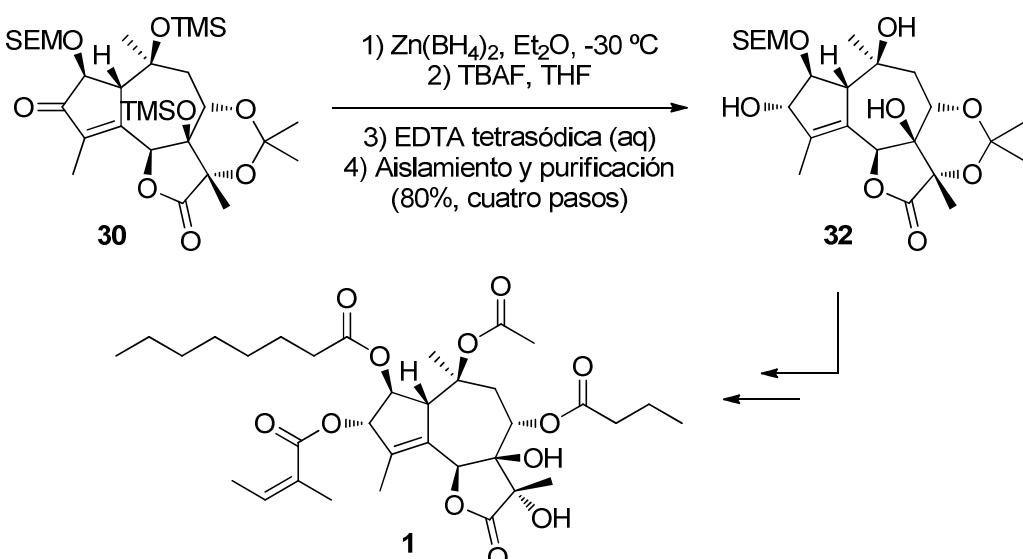
Subsecuentes pasos permitieron transformar este intermedio en el derivado **27**, el cual presenta la posición C2 hidroxilada, con la estereoquímica propia de las tapsigarginas. Sin embargo, los intentos para introducir el doble enlace en C4-C5 provocaban la desoxigenación de C2, lo que llevó a concluir la síntesis de tribolido **15**, nortribolido **16** y tapsivillosina F **17**, todas ellas desaciloxiladas en C2 (Figura 3.13).

Más adelante, el grupo de Ley realizó un esfuerzo adicional para concluir la molécula objetivo **1**, partiendo del intermedio **27** ya conseguido. Las investigaciones realizadas llevaron a establecer un procedimiento que les permitió la introducción del doble enlace C4-C5 evitando la desoxigenación en C2. Para ello, protegieron dicha posición con el grupo SEM para luego generar el doble enlace deseado mediante una secuencia de oxidación-eliminación de un grupo fenilselenuro previamente introducido en C4 (posición  $\alpha$  a carbonilo). Los dos productos obtenidos, **30** y **31**, se obtuvieron en una proporción 4:1 a favor del deseado (Figura 3.14).



**Figura 3.14.** Continuación de la síntesis de Ley.

A partir del compuesto **30**, era clave realizar la reducción estereoselectiva del carbonilo en C3 para conseguir el 3 $\alpha$ -OH característico de la molécula objetivo. El impedimento estérico impuesto por el grupo voluminoso en C2, con orientación  $\beta$ , dificultaba la entrada del hidruro por la cara adecuada, por lo que decidieron emplear como agente reductor Zn(BH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>. Este reactivo fue selectivo a favor del epímero 3 $\alpha$ -OH en C3, presumiblemente gracias al control por coordinación que efectúa el ión Zn(II). A partir del intermedio **32** obtenido, una estratégica secuencia de desprotecciones y esterificaciones permitió concluir la síntesis total de la tapsigargina, **1** (Figura 3.15).



**Figura 3.15.** Finalización de la síntesis total de Ley.

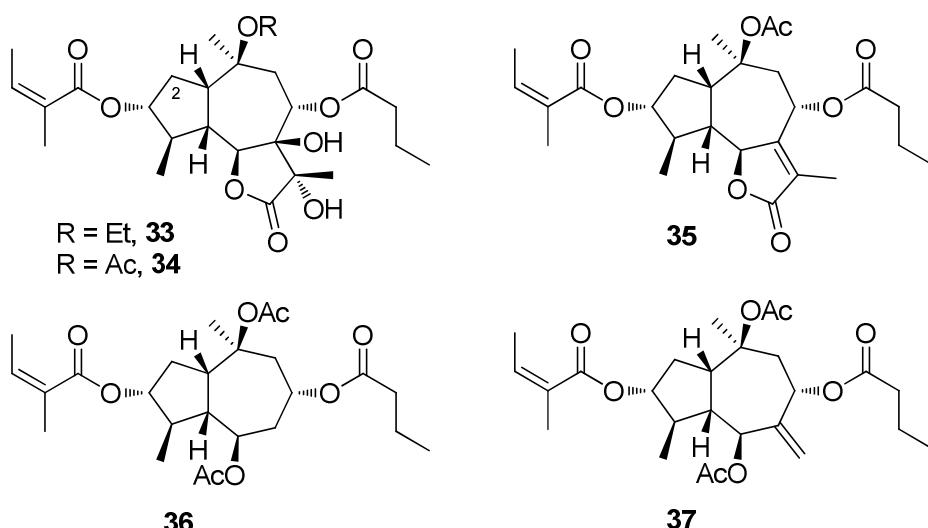
En conjunto, este trabajo consta de secuencias lineales demasiado largas, con un elevado número de protecciones y desprotecciones. En el caso concreto de la taspigargina, **1**, la obtención de la molécula objetivo implica 42 pasos de reacción con un rendimiento global de 0.61% (88.6% de media por cada paso). Aunque los autores describieron la obtención de los intermedios clave a escala de multigramo, estas limitaciones dificultan la implementación de esta síntesis en la industria farmacéutica.

Conscientes de la necesidad de análogos activos no naturales, cuya síntesis pueda ser más sencilla, y de la posibilidad que éstos ofrecen para el estudio de las relaciones estructura-actividad, surgió una colaboración entre Ley y Christensen (Figura 3.16). Ya era conocido que el papel del grupo octanoiloxilo en C2 no era fundamental para la bioactividad,<sup>51</sup> por lo que apoyándose en este hecho, junto con cálculos computacionales, y aprovechando las rutas previamente establecidas, realizaron la síntesis y evaluación de dos nuevos análogos, los compuestos **33** y **34**, de tipo 2-desoxitaspigargina.<sup>52</sup> Estos compuestos mostraron actividades 3 y 10 veces mayores que la taspigargina, **1**, respectivamente, confirmando que la funcionalización de la posición C2 no interviene en la capacidad de inhibición de las SERCAs.

<sup>51</sup> Søhoel, H.; Jensen, A.-M. L.; Møller, J. V.; Nissen, P.; Denmeade, S. R.; Isaacs, J. T.; Olsen, C. E.; Christensen, S. B. Natural Products as Starting Materials for Development of Second-Generation SERCA Inhibitors Targeted towards Prostate Cancer Cells. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 2810–2815.

<sup>52</sup> Søhoel, H.; Liljefors, T.; Ley, S. V.; Oliver, S. F.; Antonello, A.; Smith, M. D.; Olsen, C. E.; Isaacs, J. T.; Christensen, S. B. Total Synthesis of Two Novel Subpicomolar Sarco/Endoplasmatic Reticulum  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase Inhibitors Designed by an Analysis of the Binding Site of Thapsigargin. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 7005–7011.

Posteriormente prepararon otros análogos (**35**, **36** y **37**) con el fin de mejorar los perfiles de actividad y profundizar en los modos de acción.<sup>53</sup>



**Figura 3.16.** Análogos no naturales preparados por Ley y Christensen.

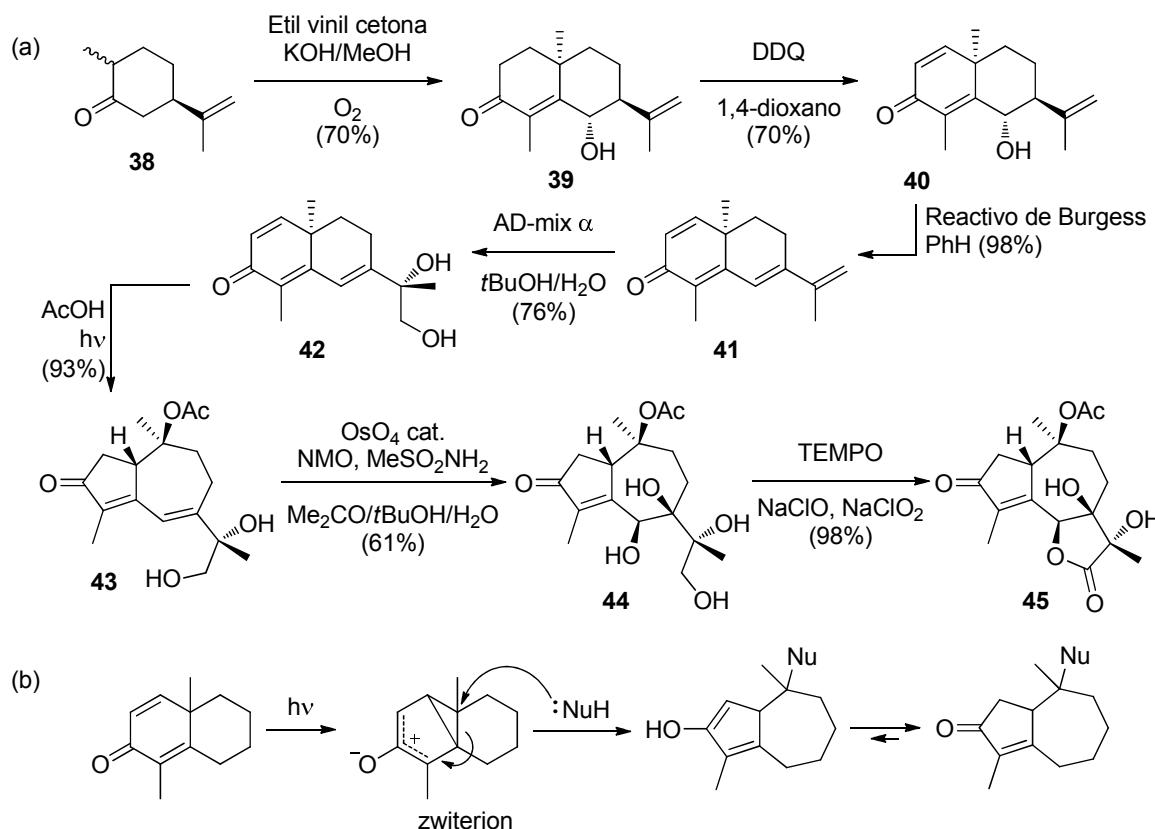
A pesar del ingente trabajo realizado y de la destacada actividad encontrada para **33** y **34**, tal vez debido a la complejidad que conllevan las aproximaciones sintéticas planteadas por Ley y Christensen, parece que los investigadores clínicos están dirigiendo sus esfuerzos hacia el desarrollo de un fármaco basado en la tapsigargina, **1**, obtenida de su fuente natural (G202, véase apartado anterior).

De forma paralela al de Ley, nuestro grupo de investigación llevó a cabo otra aproximación a la tapsigargina, **1** (Figura 3.17, a).<sup>54</sup> En ella, una anelación de Robinson seguida de hidroxilación con oxígeno atmosférico llevó a la obtención de la  $6\alpha$ -hidroxi-7-epi-ciperona **39**. Posteriormente, un reagrupamiento fotoquímico en ácido acético permitió obtener con buen rendimiento el guayano **43** a partir de un esqueleto de eudesmano con un sistema de dienona con conjugación cruzada, compuesto **42**. El mecanismo de dicho reagrupamiento podría transcurrir por medio de la formación de un zwiterión, promovida por la irradiación de luz ultravioleta, al que ataca un nucleófilo (ácido acético en este caso) para generar el producto (Figura 3.17, b).<sup>55</sup>

<sup>53</sup> Andrews, S. P.; Tait, M. M.; Ball, M.; Ley, S. V. Design and Total Synthesis of Unnatural Analogs of the Sub-Nanomolar SERCA Inhibitor Thapsigargin. *Org. Biomol. Chem.* **2007**, 5, 1427–1436.

<sup>54</sup> Manzano, F. L.; Guerra, F. M.; Moreno-Dorado, F. J.; Jorge, Z. D.; Massanet, G. M. Toward the Synthesis of Thapsigargin: Enantioselective Synthesis of 7,11-Dihydroxyguianolides. *Org. Lett.* **2006**, 8, 2879–2882.

<sup>55</sup>(a) Zimmerman, H. E.; Schuster, D. J. The Photochemical Rearrangement of 4,4-Diphenylcyclohexadienone. Paper I On a General Theory of Photochemical Reactions I. *J.*



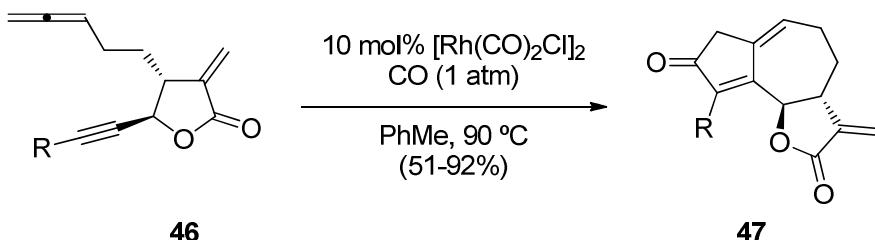
**Figura 3.17.** (a) Aproximación de nuestro grupo a la síntesis de tapsigargina, **1**. (b) Mecanismo propuesto para el reagrupamiento fotoquímico de dienonas.

A continuación, unas suaves condiciones de oxidación y lactonización *in situ* sobre el tetraol **44**, mediante tratamiento con TEMPO, NaClO<sub>2</sub> y NaClO, dieron lugar a la guayanolidina **45** de forma regioselectiva, sin experimentar rupturas oxidativas en ausencia de protectores. De esta manera se obtuvo un intermedio bastante avanzado, **45**, con 5 de los 8 centros quirales de la tapsigargina, **1**, de forma enantioselectiva y en tan solo 7 pasos de reacción partiendo de (*R*)-(+)-dihidrocavrona, **38**, disponible comercialmente (Figura 3.17, a).

Otra alternativa para la construcción del esqueleto de guayanolidina consiste en la utilización de la reacción alénica de Pauson-Khand, que en un solo paso daría lugar a dicho esqueleto base. Partiendo de  $\alpha$ -metilenbutirolactonas correctamente sustituidas con un resto alénico y un resto propargílico, **46**, se obtuvieron las correspondientes 6,12-guayanolidas **47**, mediante tratamiento con CO (1 atm) empleando [Rh(CO)<sub>2</sub>Cl]<sub>2</sub>

*Am. Chem. Soc.* **1961**, 83, 4486–4488. (b) Zimmerman, H. E.; Schuster, D. I. A New Approach to Mechanistic Organic Photochemistry. IV. Photochemical Rearrangements of 4,4-Diphenylcyclohexadienone. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 84, 4527–4540.

como catalizador (Figura 3.18).<sup>56</sup> La reacción transcurrió con buen rendimiento en menos de 30 minutos en la mayoría de los casos, gracias a la restricción conformacional que impone la butirolactona y que mantiene el sistema alene-ino en la disposición adecuada para la ciclocarbonilación.



**Figura 3.18.** 6,12-guayanolidas obtenidas por reacción alénica de Pauson-Khand.

Algunas aproximaciones a la tapsigargina, **1**, han aplicado la reacción de Pauson-Khand, pero los intermedios alcanzados no son muy avanzados y requieren un número elevado de pasos para su obtención.<sup>57</sup> Recientemente ha aparecido una estrategia para la construcción del biciclo[5.3.0], esqueleto básico de guayano, empleando como pasos clave la reacción de Morita-Baylis-Hillman, la sustitución alílica y por último la reacción de Pauson-Khand.<sup>58</sup>

A la vista de estos antecedentes sintéticos, sigue siendo necesario encontrar rutas más cortas y eficientes hacia la tapsigargina, **1**, así como la preparación de derivados no naturales. En este sentido, la aproximación llevada a cabo por nuestro grupo supone un gran avance, ya que la secuencia establecida cuenta con un número razonable de pasos, quedando por terminar la funcionalización de solo tres posiciones: la posición C8 (que podría realizarse mediante oxidaciones alílicas), la posición C2 (accesible a través de la aciloxilación en  $\alpha'$  de la enona contigua) y la posición C3 (resuelta por la reducción y subseciente angeloilación previamente descrita por Ley). Así, el desarrollo de metodologías de oxidación de enlaces C-H realizado en la presente memoria constituye una continuación del trabajo previo del grupo, y se enmarca dentro de una línea dirigida a la obtención de análogos de guayanos y guyanolidas.

<sup>56</sup>Grillet, F.; Huang, C.; Brummond, K. M. An Allenic Pauson–Khand Approach to 6,12-Guaianolides. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 6304–6307.

<sup>57</sup>Tap, A.; Jouanneau, M.; Galvani, G.; Sorin, G.; Lannou, M.-I.; Ferezou, J.-P.; Ardisson, J. Asymmetric Synthesis of a Highly Functionalized Enantioenriched System close to Thapsigargin Framework. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 8140–8146.

<sup>58</sup>Raji Reddy, C.; Kumaraswamy, P.; Singaraju, K. K. Sequential Allylic Substitution/Pauson–Khand Reaction: A Strategy to Bicyclic Fused Cyclopentenones from MBH-Acetates of Acetylenic Aldehydes. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 7880–7888.

### 3.2 LAS OXIDACIONES DE ENLACES C-H COMO HERRAMIENTA EFICIENTE EN SÍNTESIS

En la constante búsqueda de entidades químicas que puedan manifestar propiedades biológicas de interés terapéutico, es necesario el desarrollo paralelo de nuevas reacciones químicas que permitan, de forma eficiente, alcanzar mediante secuencias sintéticas más cortas, la gran diversidad y complejidad presente en la naturaleza. En este sentido, se ha producido un importante avance en áreas como la química *click*,<sup>59</sup> los acoplamientos deshidrogenativos cruzados,<sup>60</sup> la activación de enlaces C-H<sup>61</sup> o las oxidaciones de enlaces C-H.<sup>62</sup>

Este último tipo de reacciones ha recibido una especial atención por dos motivos principales. En primer lugar, su aplicación supone un impacto en la economía química, aproximando el diseño sintético a lo que se ha denominado *idealidad* en química orgánica.<sup>63</sup> En segundo lugar, la naturaleza emplea reacciones de oxidación de enlaces C-H en su estrategia biosintética,<sup>64</sup> por lo que no es sorprendente que la comunidad científica la imite y tome ejemplo de ella.

Actualmente se reconoce que las diferencias entre enlaces C-H son suficientemente grandes para que determinados reactivos y catalizadores puedan distinguirlos

<sup>59</sup>(a) Tang, W.; Becker, M. L. “Click” Reactions: A Versatile Toolbox for the Synthesis of Peptide-Conjugates. *Chem. Soc. Rev.* **2014**. (b) Beal, D. M.; Jones, L. H. Molecular Scaffolds Using Multiple Orthogonal Conjugations: Applications in Chemical Biology and Drug Discovery. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 6320–6326. (c) Becer, C. R.; Hoogenboom, R.; Schubert, U. S. Click Chemistry beyond Metal-Catalyzed Cycloaddition. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 4900–4908.

<sup>60</sup>(a) Li, C.-J. Cross-Dehydrogenative Coupling (CDC): Exploring C–C Bond Formations beyond Functional Group Transformations. *Acc. Chem. Res.* **2008**, 42, 335–344. (b) Girard, S. A.; Knauber, T.; Li, C.-J. The Cross-Dehydrogenative Coupling of C(sp<sup>3</sup>)-H Bonds: A Versatile Strategy for C–C Bond Formations. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 74–100. (c) Zheng, C.; You, S.-L. Recent Development of Direct Asymmetric Functionalization of Inert C–H Bonds. *RSC Adv.* **2014**, 4, 6173–6214.

<sup>61</sup>(a) Shilov, A. E.; Shul’pin, G. B. Activation of C–H Bonds by Metal Complexes. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 2879–2932. (b) Crabtree, R. H. Alkane C–H Activation and Functionalization with Homogeneous Transition Metal Catalysts: A Century of Progress—a New Millennium in Prospect. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, 2437–2450. (c) Davies, H. M. L.; Manning, J. R. Catalytic C–H Functionalization by Metal Carbenoid and Nitrenoid Insertion. *Nature* **2008**, 451, 417–424. (d) Giri, R.; Shi, B.-F.; Engle, K. M.; Maugel, N.; Yu, J.-Q. Transition Metal-Catalyzed C–H Activation Reactions: Diastereoselectivity and Enantioselectivity. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 3242–3272.

<sup>62</sup>(a) White, M. C. C–H Bond Functionalization and Synthesis in the 21st Century: A Brief History and Prospectus. *Synlett* **2012**, 23, 2746–2748. (b) Newhouse, T.; Baran, P. S. If C–H Bonds Could Talk: Selective C–H Bond Oxidation. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, 50, 3362–3374.

<sup>63</sup>Gaich, T.; Baran, P. S. Aiming for the Ideal Synthesis. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 4657–4673.

<sup>64</sup>Yoder, R. A.; Johnston, J. N. A Case Study in Biomimetic Total Synthesis: Polyolefin Carbocyclizations to Terpenes and Steroids. *Chem. Rev.* **2005**, 105, 4730–4756.

permitiendo su funcionalización selectiva.<sup>65</sup> Para utilizar estratégicamente pasos de oxidación de enlaces C-H en síntesis de moléculas complejas, es crucial el conocimiento previo de tales diferencias, es decir, de la reactividad intrínseca de los enlaces. Entre los factores que afectan a la reactividad preferencial de unos enlaces frente a otros destacan los efectos inductivos, la conjugación, la hiperconjugación, el impedimento estérico y la liberación de tensiones.

### Efectos inductivos

El carácter electrónico, y a su vez la facilidad de oxidación, de los enlaces C-H depende fuertemente de efectos inductivos. De este modo, cuanto mayor es la densidad electrónica sobre un enlace C-H, más fácilmente será oxidado, pues la mayoría de reactivos de oxidación son electrofílicos. La presencia de grupos donadores o atractores de electrones en el sustrato condicionará la selectividad en la oxidación. Así, para oxidaciones que transcurren por un mecanismo de inserción no metálica, la tendencia de reactividad de los enlaces C-H es: terciario > secundario > primario; y se observará una mayor reactividad cuanto más alejado esté el enlace de grupos atractores de electrones en la molécula.<sup>66</sup>

Esto explica que la oxidación del compuesto **48** con dimetildioxirano (DMDO) discrimine entre dos posiciones terciarias electrónicamente diferentes (Figura 3.19, a).<sup>67</sup> Además, se puede conseguir selectividad hacia grupos metino o metileno en función del sistema oxidante empleado. Así, el *cis*-1,2-dimetilciclohexano **50** se oxida selectivamente en la posición terciaria, más rica en electrones, si se emplea un reactivo de pequeño tamaño, como el metil(trifluorometil)dioxirano (TFDO);<sup>68</sup> mientras que reactivos más voluminosos, como un polioxometalato,<sup>69</sup> preferirán oxidar la posición secundaria, menos impedida (Figura 3.19, b).

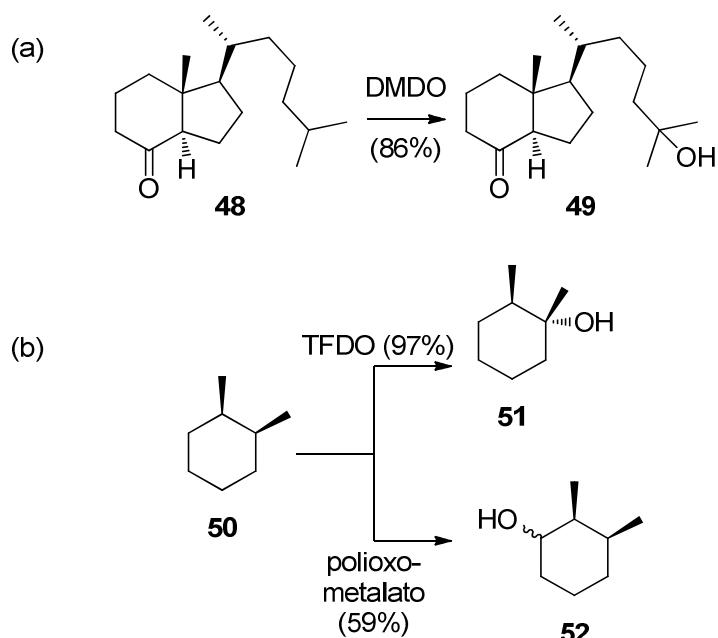
<sup>65</sup>White, M. C. Chemistry. Adding Aliphatic C-H Bond Oxidations to Synthesis. *Science* **2012**, 335, 807–809.

<sup>66</sup>(a) Hass, H. B.; McBee, E. T.; Weber, P. Chlorination of Paraffins I. *Ind. Eng. Chem.* **1936**, 28, 333–339. (b) Singh, H.; Tedder, J. M. 914. Free-Radical Substitution in Aliphatic Compounds. Part VII. The Halogenation of Derivatives of N-Valeric Acid. *J. Chem. Soc.* **1964**, 4737–4741.

<sup>67</sup>Bovicelli, P.; Lupattelli, P.; Mincione, E.; Prencipe, T.; Curci, R. Oxidation of Natural Targets by Dioxiranes. 2. Direct Hydroxylation at the Side Chain C-25 of Cholestan Derivatives and of Vitamin D3 Windaus-Grundmann Ketone. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 5052–5054.

<sup>68</sup>Mello, R.; Fiorentino, M.; Fusco, C.; Curci, R. Oxidations by Methyl(trifluoromethyl)dioxirane. 2. Oxyfunctionalization of Saturated Hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 6749–6757.

<sup>69</sup>Kamata, K.; Yonehara, K.; Nakagawa, Y.; Uehara, K.; Mizuno, N. Efficient Stereo- and Regioselective Hydroxylation of Alkanes Catalysed by a Bulky Polyoxometalate. *Nat. Chem.* **2010**, 2, 478–483.



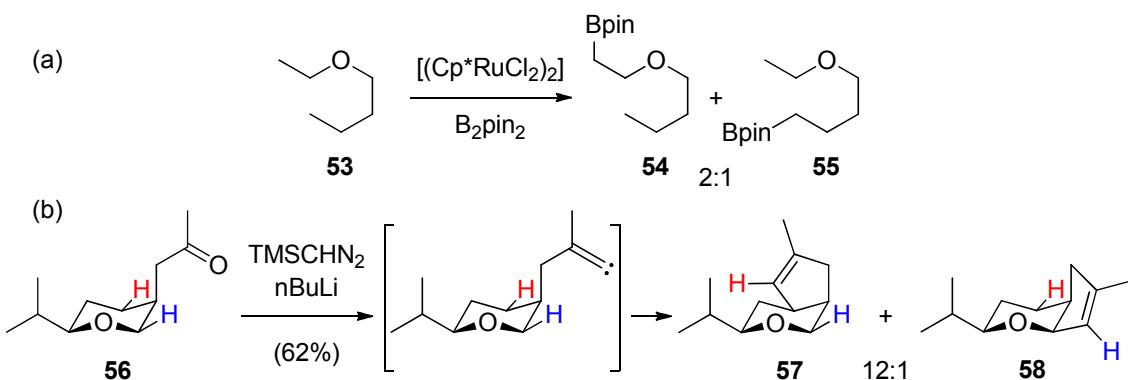
**Figura 3.19.** Efectos inductivos en la oxidación de enlaces C-H. DMDO: dimetildioxirano; TFDO: metil(trifluorometil)dioxirano.

Las reacciones de oxidación mediadas por metales de transición, en las que el metal se enlaza al sustrato, muestran una tendencia de reactividad contraria. Aunque existen excepciones, los efectos estéricos suelen dominar en la selectividad del enlace C-H, que se establece como: primario > secundario >> terciario.<sup>70</sup> Además, en algunos ejemplos esta tendencia contraria puede deberse a una labilidad acentuada de los enlaces C-H que tienen un hidrógeno geminal, disponible para participar mediante interacciones agósticas con el metal (situación imposible en un enlace C-H terciario).<sup>71</sup> Este es el caso de la borilación mediada por rutenio del compuesto **53**, donde existe además preferencia por la posición más deficiente, es decir, más cercana al heteroátomo (Figura 3.20, a).<sup>72</sup>

<sup>70</sup>Jones, W. Activation of C-H Bonds: Stoichiometric Reactions. In *Activation of Unreactive Bonds and Organic Synthesis SE - 2*; Murai, S.; Alper, H.; Gossage, R. A.; Grushin, V. V.; Hidai, M.; Ito, Y.; Jones, W. D.; Kakiuchi, F.; van Koten, G.; Lin, Y.-S.; Mizobe, Y.; Murai, S.; Murakami, M.; Richmond, T. G.; Sen, A.; Suginome, M.; Yamamoto, A., Eds.; Topics in Organometallic Chemistry; Springer Berlin Heidelberg, 1999; Vol. 3, pp. 9–46.

<sup>71</sup>(a) Brookhart, M.; Green, M. L. H.; Parkin, G. Agostic Interactions in Transition Metal Compounds. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104*, 6908–6914. (b) Brookhart, M.; Green, M. L. H. Carbon-hydrogen-Transition Metal Bonds. *J. Organomet. Chem.* **1983**, *250*, 395–408.

<sup>72</sup>(a) Murphy, J. M.; Lawrence, J. D.; Kawamura, K.; Incarvito, C.; Hartwig, J. F. Ruthenium-Catalyzed Regiospecific Borylation of Methyl C–H Bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 13684–13685. (b) Wei, C. S.; Jiménez-Hoyos, C. A.; Videau, M. F.; Hartwig, J. F.; Hall, M. B. Origins of the Selectivity for Borylation of Primary over Secondary C–H Bonds Catalyzed by Cp\*-Rhodium Complexes. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 3078–3091.



**Figura 3.20.** Efectos inductivos en la oxidación de enlaces C-H. Cp\*:C<sub>5</sub>Me<sub>5</sub>; B<sub>2</sub>pin<sub>2</sub>: bis(pinacolato)diboro; Bpin: pinacolborilo; TMSCHN<sub>2</sub>: trimetilsilildiazometano.

Cuando el mecanismo implica la inserción de nitrenoides o carbenoides metálicos, la reactividad se ve fuertemente influida por la presencia de grupos dadores de electrones que puedan estabilizar la carga parcial positiva que se genera en el estado de transición, como consecuencia del carácter electrofílico de estos intermedios. Por ello la selectividad en estos casos es, de nuevo: terciario > secundario > primario. La cetona **56**, por razones geométricas, solo puede dar la inserción en dos posiciones, ambas secundarias, formándose mayoritariamente el producto de reacción con la posición más alejada del átomo de oxígeno, electronegativo, donde el efecto inductivo es menor (Figura 3.20, b).<sup>73</sup>

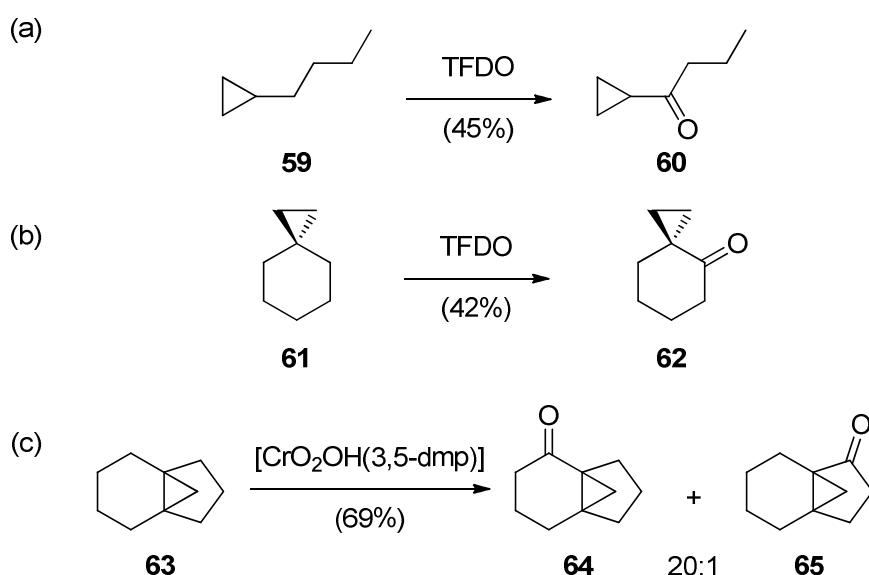
## Conjugación e hiperconjugación

Los efectos de hiperconjugación no son tan pronunciados como los efectos inductivos, pero en algunos casos pueden ser determinantes para la selectividad de unos enlaces C-H frente a otros. Es el caso de sustratos con un resto ciclopropano, que dirige la oxidación a la posición vecinal. Se produce un solapamiento entre el orbital  $\sigma$  enlazante del enlace C-C del ciclopropano, con cierto carácter  $\pi$  y por tanto donador, y el orbital  $\sigma^*$  antienlazante del enlace C-H vecinal, que se ve debilitado por la deslocalización de la carga.<sup>74</sup> Esto lo hace más propenso a la oxidación cuando se emplean reactivos electrofílicos como el TFDO. Ejemplos de ello son los compuestos

<sup>73</sup>Yun, S. Y.; Zheng, J.-C.; Lee, D. Stereoelectronic Effect for the Selectivity in C–H Insertion of Alkylidene Carbenes and Its Application to the Synthesis of Platensimycin. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 8413–8415.

<sup>74</sup>(a) de Meijere, A. Bonding Properties of Cyclopropane and Their Chemical Consequences. *Angew. Chem. Int. Ed. English* **1979**, 18, 809–826. (b) Hehre, W. J. Theoretical Approaches to the Structure of Carbocations. *Acc. Chem. Res.* **1975**, 8, 369–376. (c) Olah, G. A.; Reddy, V. P.; Prakash, G. K. S. Long-Lived Cyclopropylcarbinyl Cations. *Chem. Rev.* **1992**, 92, 69–95.

**59** y **61**, donde es preferida la oxidación de la posición vecinal al ciclopropano (Figura 3.21, a y b).<sup>75</sup>



**Figura 3.21.** Efectos de hiperconjugación en la oxidación de enlaces C-H. 3,5-dmp: 3,5-dimetilpirazol.

En el caso del compuesto **63**, el anillo de ciclopropano está situado de tal forma que dona preferencialmente al enlace C-H vecinal en el ciclohexano, lo que se traduce en selectividad hacia el producto **64** (Figura 3.21, c).<sup>76</sup>

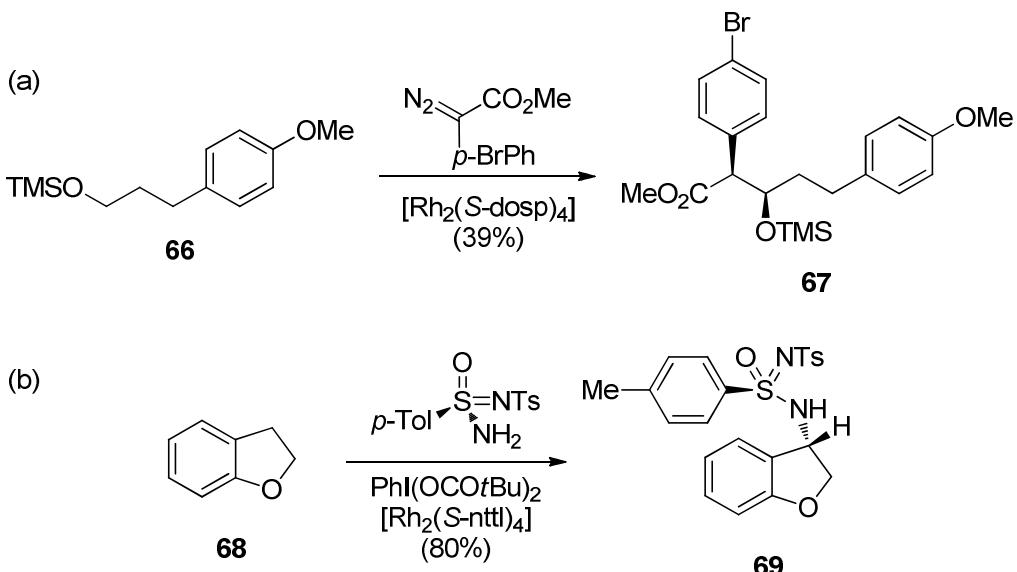
A pesar del efecto inductivo que ejercen los heteroátomos, los pares de electrones no enlazantes de oxígeno o nitrógeno pueden ser donados por hiperconjugación a enlaces C-H vecinales dirigiendo así la oxidación. Es el caso de la inserción de carbenoide al compuesto **66**, que en vez de ocurrir en posición bencílica ocurre en la posición contigua al oxígeno (Figura 3.22, a).<sup>77</sup> En cambio, la inserción de un nitrenoide en **68** ocurre principalmente en posición bencílica, probablemente porque

<sup>75</sup>(a) D'Accolti, L.; Dinoi, A.; Fusco, C.; Russo, A.; Curci, R. Oxyfunctionalization of Non-Natural Targets by Dioxiranes. 5. Selective Oxidation of Hydrocarbons Bearing Cyclopropyl Moieties. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 7806–7810. (b) Chen, M. S.; White, M. C. Combined Effects on Selectivity in Fe-Catalyzed Methylenic Oxidation. *Science* **2010**, 327, 566–571.

<sup>76</sup>Banwell, M. G.; Haddad, N.; Huglin, J. A.; MacKay, M. F.; Reum, M. E.; Ryan, J. H.; Turner, K. A. The Chromium Trioxide-3,5-Dimethylpyrazole Complex: A Mild and Selective Reagent for the Oxidation of Cyclopropyl Hydrocarbons. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1993**, 954–957.

<sup>77</sup>Davies, H. M. L.; Beckwith, R. E. J.; Antoulinakis, E. G.; Jin, Q. New Strategic Reactions for Organic Synthesis: Catalytic Asymmetric C–H Activation A to Oxygen as a Surrogate to the Aldol Reaction. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 6126–6132.

los pares de electrones no enlazantes del oxígeno se deslocalizan en el anillo aromático (Figura 3.22, b).<sup>78</sup>



**Figura 3.22.** Efectos de hiperconjugación en la oxidación de enlaces C-H. S-dosp: (S)-N-(*p*-dodecilfenilsulfonil)prolina; nttl: *N*-1,8-naftoil-*tert*-leucina.

La oxidación de enlaces C-H en compuestos insaturados está especialmente favorecida por la deslocalización de las cargas generadas por conjugación con los dobles enlaces en los intermedios de reacción. Se han desarrollado metodologías basadas en oxidaciones de enlaces C-H en posición alílica de olefinas, que se tratarán con mayor extensión en el capítulo 4, o en  $\gamma$ -hidroxilaciones y  $\alpha'$ -aciloxilaciones de carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados, que se discuten en los capítulos 5 y 6 respectivamente.

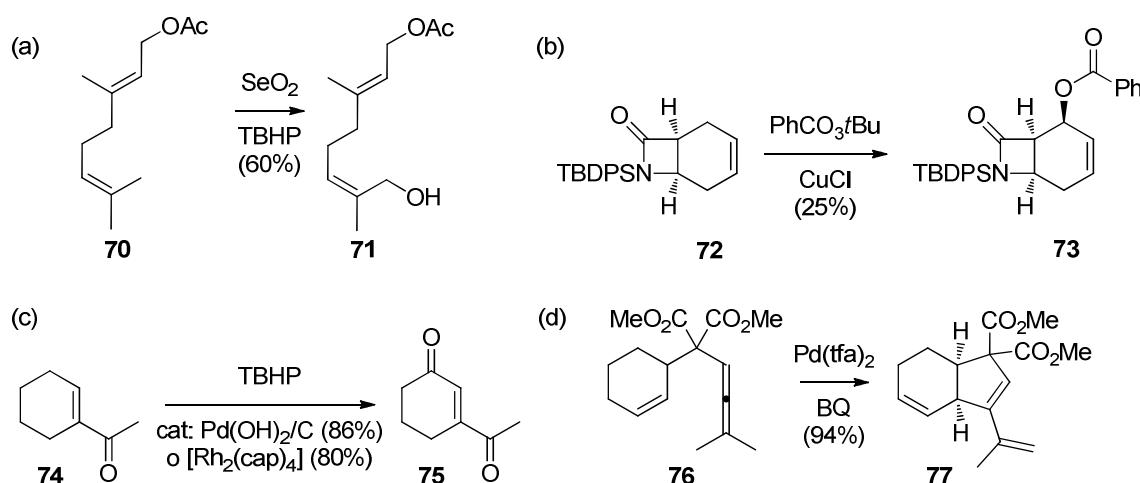
Se muestran aquí algunos ejemplos. El geranil acetato **70** se oxida con  $\text{SeO}_2$  selectivamente en la posición más rica en electrones (Figura 3.23, a).<sup>79</sup> Por otro lado, el tratamiento del compuesto **72** con las condiciones de Kharasch-Sosnovsky (Figura 3.23, b) resulta en una oxidación selectiva, dándose mayoritariamente en una de las posiciones alílicas debido al impedimento estérico que el grupo protector ejerce en la otra (entre los subproductos se detectó isomerización del doble enlace como consecuencia de un intermedio con la carga deslocalizada).<sup>80</sup> También es posible

<sup>78</sup>Liang, C.; Robert-Peillard, F.; Fruit, C.; Müller, P.; Dodd, R. H.; Dauban, P. Efficient Diastereoselective Intermolecular Rhodium-Catalyzed C-H Amination. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 4641–4644.

<sup>79</sup>Umbreit, M. A.; Sharpless, K. B. Allylic Oxidation of Olefins by Catalytic and Stoichiometric Selenium Dioxide with Tert-Butyl Hydroperoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5526–5528.

<sup>80</sup>Bateson, J. H.; Robins, A. M.; Southgate, R. Olivanic Acid Analogs. Part 9. Allylic Oxidative Functionalization of Substituted Azetidinones: Synthesis of Some 4-Acyloxy-7-Oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-Ene-2-Carboxylates. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1991**, 2399–2405.

activar enonas en posición  $\gamma$  mediante catalizadores de rodio<sup>81</sup> o paladio,<sup>82</sup> como es el caso del acetilciclohexeno **74** (Figura 3.23, c). Otros catalizadores de paladio permiten efectuar la ciclación oxidativa de alenos como **76** mediante formación de enlace C-C (Figura 3.23, d).<sup>83</sup> En este último ejemplo, el metal coordina primero a la olefina formando un complejo  $\pi$  que luego dará una inserción en el enlace C-H alílico.



**Figura 3.23.** Oxidaciones alílicas. TBHP: *tert*-butilhidroperóxido; cap: caprolactamato; tfa: ácido trifluoroacético; BQ: *p*-benzoquinona.

### Factores estéricos

Se ha observado una velocidad de oxidación menor para enlaces C-H con mayor impedimento estérico. Este fenómeno ha permitido la oxidación selectiva en sustratos como el cedrano **78**, donde a pesar de haber cuatro posiciones terciarias, electrónicamente similares, la oxidación con rutenio ocurre preferiblemente en la menos impedida, dando el producto **79** (Figura 3.24, a).<sup>84</sup> En el caso de la inserción intermolecular catalizada por rodio del compuesto **80**, se observa una preferencia por la posición primaria frente a la posición bencílica, lo cual fue justificado por el menor

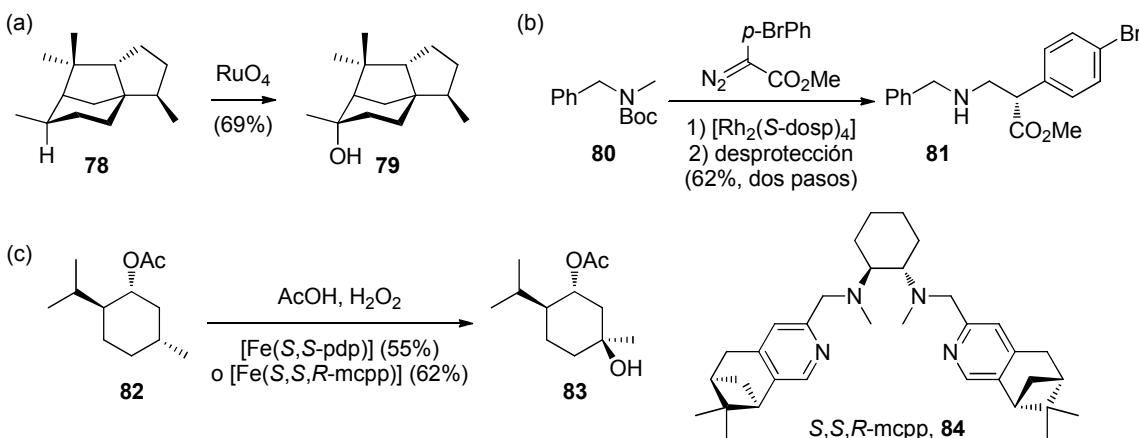
<sup>81</sup>Catino, A. J.; Forslund, R. E.; Doyle, M. P. Dirhodium(II) Caprolactamate: An Exceptional Catalyst for Allylic Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13622–13623.

<sup>82</sup>Yu, J.-Q.; Corey, E. J. A Mild, Catalytic, and Highly Selective Method for the Oxidation of  $\alpha,\beta$ -Enones to 1,4-Enediones. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 3232–3233.

<sup>83</sup>Franzén, J.; Bäckvall, J.-E. Carbon–Carbon Bond Formation in Palladium(II)-Catalyzed Allylic Oxidation: A Novel Oxidative Carbocyclization of Allene-Substituted Olefins. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 6056–6057.

<sup>84</sup>Tenaglia, A.; Terranova, E.; Waegell, B. Ruthenium-Catalyzed Carbon–Hydrogen Bond Activation. Oxyfunctionalization of Nonactivated Carbon–Hydrogen Bonds in the Cedrane Series with Ruthenium Tetraoxide Generated in Situ. *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 5523–5528.

impedimento estérico en el entorno del metilo (Figura 3.24, b).<sup>85</sup> La oxidación catalizada por hierro del derivado de mentol **82** también presenta selectividad gobernada por efectos estéricos.<sup>86</sup> En el sustrato hay dos posiciones terciarias electrónicamente similares, pero la oxidación ocurre preferentemente en el anillo de ciclohexano frente al resto isopropilo, que está más impedido (Figura 3.24, c).



**Figura 3.24.** Factores estéricos en la oxidación de enlaces C-H. S-dosp: (S)-N-(*p*-dodecilfenilsulfonil)prolina; S,S-pdp: (S,S)-1,1'-bis(2-piridinilmetil)-2,2'-bipirrolidina; (S,S,R)-mcpp: ligando **84**.

### Liberación de tensiones

En los años 50, Schreiber y Eschenmoser propusieron que la liberación de tensiones debidas a interacciones 1,3-diaxiales en el estado de transición favorecía la oxidación de alcoholos axiales en anillos de ciclohexano sustituidos, explicando así la mayor velocidad de reacción de éstos respecto de alcoholos ecuatoriales.<sup>87</sup>

Esta teoría puede extenderse para explicar la reactividad relativa de los compuestos **85** y **86**.<sup>88</sup> Así, el compuesto **86** reacciona entre 3 y 4 veces más lento que **85** en la oxidación del enlace C-H indicado, posiblemente debido a que sus interacciones 1,3-

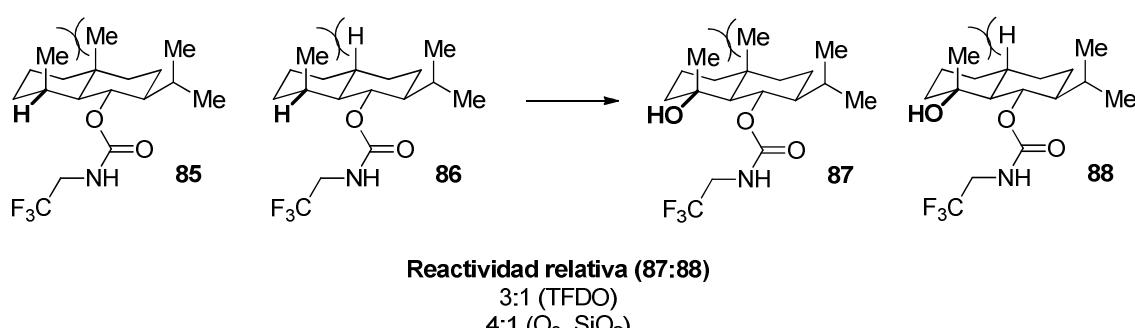
<sup>85</sup> Davies, H. M. L.; Venkataramani, C. Catalytic Enantioselective Synthesis of  $\beta$ 2-Amino Acids. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 2197–2199.

<sup>86</sup> (a) Vermeulen, N. A.; Chen, M. S.; Christina White, M. The Fe(PDP)-Catalyzed Aliphatic C-H Oxidation: A Slow Addition Protocol. *Tetrahedron* **2009**, 65, 3078–3084. (b) Gómez, L.; Garcia-Bosch, I.; Company, A.; Benet-Buchholz, J.; Polo, A.; Sala, X.; Ribas, X.; Costas, M. Stereospecific C-H Oxidation with  $H_2O_2$  Catalyzed by a Chemically Robust Site-Isolated Iron Catalyst. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 5720–5723.

<sup>87</sup> Schreiber, J.; Eschenmoser, A. The Relative Velocities of the Chromic Acid Oxidation of Secondary Alicyclic Alcoholos. *Helv. Chim. Acta* **1955**, 38, 1529–1536.

<sup>88</sup> Chen, K.; Eschenmoser, A.; Baran, P. S. Strain Release in C-H Bond Activation? *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 9705–9708.

diaxiales son menores; en otras palabras, tiene menos *urgencia* por liberar tensión en su estructura (Figura 3.25).



**Figura 3.25.** Liberación de tensiones como factor controlante de la velocidad de oxidación de enlaces C-H.

### Oxidaciones dirigidas

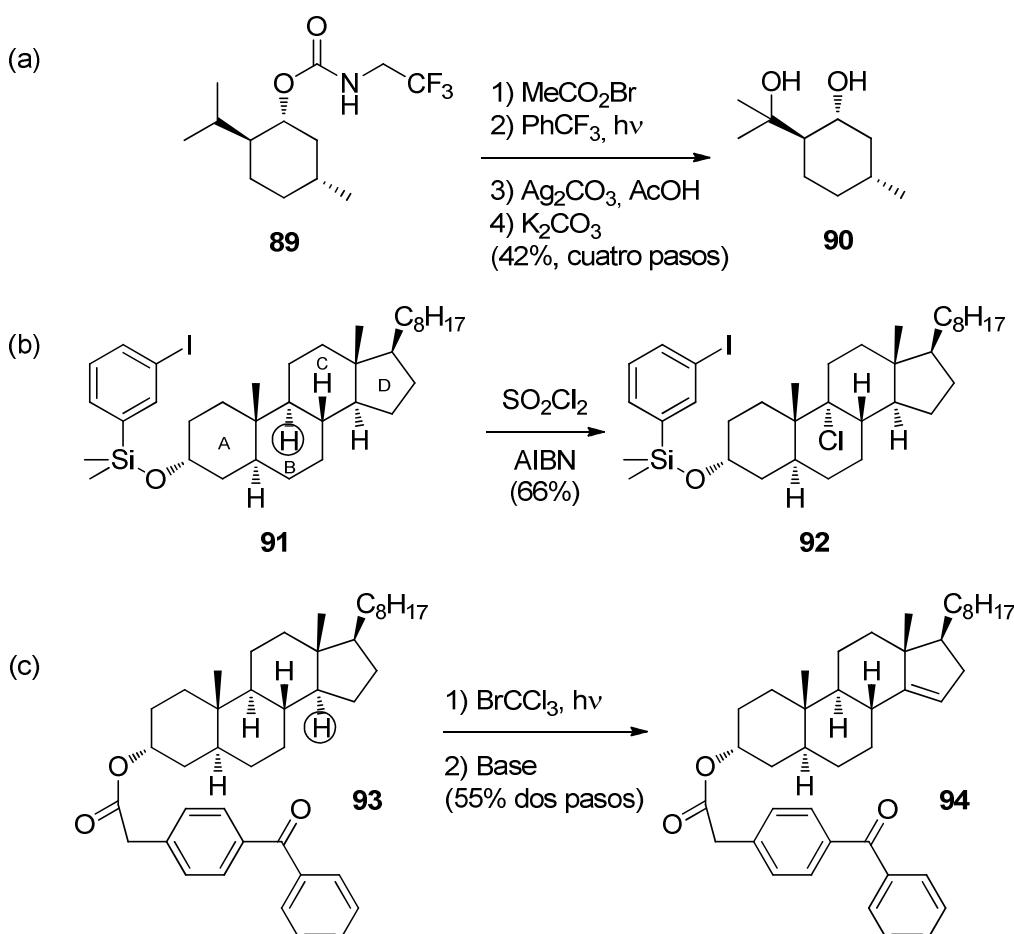
Cuando en un sustrato particular los efectos esteroelectrónicos activan un enlace C-H no deseado, es posible invertir su reactividad intrínseca mediante el empleo de grupos directores. Un grupo director es un grupo funcional específico que se asocia al catalizador incrementando la reactividad de un enlace C-H concreto, y por tanto haciendo selectiva la oxidación. No obstante, esta estrategia implica la manipulación de grupos funcionales tanto para la introducción como para la eliminación del grupo director. Un ejemplo es la oxidación del sustrato **89**, que a diferencia de **82** (Figura 3.24), reacciona en la posición terciaria del isopropilo como resultado del efecto director del carbamato introducido (Figura 3.26, a).<sup>89</sup>

También se han empleado grupos directores en la oxidación selectiva de enlaces C-H en esteroides como el compuesto **91**. El empleo de un silano modificado como grupo protector y director a la vez, cuya eliminación posterior es sencilla, induce selectividad en la oxidación preferencial del enlace C-H en la unión de los anillos B/C debido a la disposición espacial que adopta la molécula (Figura 3.26, b).<sup>90</sup> La sustitución del silano por otro grupo como en el compuesto **93** conlleva un cambio en la selectividad hacia

<sup>89</sup>Chen, K.; Richter, J. M.; Baran, P. S. 1,3-Diol Synthesis via Controlled, Radical-Mediated C–H Functionalization. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 7247–7249.

<sup>90</sup>(a) Breslow, R.; Corcoran, R. J.; Snider, B. B.; Doll, R. J.; Khanna, P. L.; Kaley, R. Selective Halogenation of Steroids Using Attached Aryl Iodide Templates. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 905–915. (b) Breslow, R.; Heyer, D. Catalytic Multiple Template-Directed Steroid Chlorinations. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 2045–2046.

un enlace C-H más alejado, en la unión de los anillos C/D. El intermedio bromado no se aísla sino que se obtiene el producto de eliminación **94** (Figura 3.26, c).<sup>91</sup>



**Figura 3.26.** Efecto de grupos directores.

Además de los mencionados, se han utilizado otros grupos directores junto con catalizadores de metales como paladio o rodio. Destacan carbamatos,<sup>92</sup> aminoácidos,<sup>93</sup> ácidos carboxílicos,<sup>94</sup> sulfamatos,<sup>95</sup> 2-oxazolinas<sup>96</sup> y amidas,<sup>97</sup> entre otros.

<sup>91</sup>(a) Breslow, R.; Dale, J. A.; Kalicky, P.; Liu, S. Y.; Washburn, W. N. Introduction of a 9(11) Double Bond into Steroids by Selective Free-Radical Halogenation. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 3276–3278. (b) Breslow, R.; Baldwin, S.; Flechtner, T.; Kalicky, P.; Liu, S.; Washburn, W. Remote Oxidation of Steroids by Photolysis of Attached Benzophenone Groups. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 3251–3262.

<sup>92</sup>Chen, K.; Baran, P. S. Total Synthesis of Eudesmane Terpenes by Site-Selective C–H Oxidations. *Nature* **2009**, *459*, 824–828.

<sup>93</sup>Dangel, B. D.; Godula, K.; Youn, S. W.; Sezen, B.; Sames, D. C–C Bond Formation via C–H Bond Activation: Synthesis of the Core of Teleocidin B4. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11856–11857.

<sup>94</sup>(a) Taber, D. F.; Petty, E. H. General Route to Highly Functionalized Cyclopentane Derivatives by Intramolecular C–H Insertion. *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 4808–4809. (b) Giri, R.; Maugel, N.; Li, J.-J.; Wang, D.-H.; Breazzano, S. P.; Saunders, L. B.; Yu, J.-Q. Palladium-Catalyzed

## Activación de centros sp<sup>2</sup>

La selectividad observada en la activación de enlaces C(sp<sup>2</sup>)-H sigue tendencias similares a la selectividad de enlaces C(sp<sup>3</sup>)-H, a pesar de sus diferentes naturalezas. La ausencia de tridimensionalidad reduce el efecto de factores estereoelectrónicos, si bien en el caso de reacciones mediadas por metales de transición los efectos conformacionales en intermedios de tipo metalacírculo tienen una importancia vital sobre el curso de la reacción.<sup>98</sup>

En la activación de anillos aromáticos, las posiciones menos impedidas suelen ser las más reactivas, como en la reacción de borilación de **95**, que muestra selectividad hacia la posición *meta* (Figura 3.27, a).<sup>99</sup> El uso de determinados ligandos, como 2,6-bis(2-ethylhexil)piridina, puede permitir modular la selectividad. Tal es el caso del sustrato **97**, donde la olefinación catalizada por paladio genera los productos *meta* y *para* en proporción 5:1 (Figura 3.27, b).<sup>100</sup> Otros grupos, como hidroxilos

---

Methylation and Arylation of sp<sup>2</sup> and sp<sup>3</sup> C–H Bonds in Simple Carboxylic Acids. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 3510–3511. (c) Chiong, H. A.; Pham, Q.-N.; Daugulis, O. Two Methods for Direct Ortho-Arylation of Benzoic Acids. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 9879–9884.

<sup>95</sup>(a) Espino, C. G.; Wehn, P. M.; Chow, J.; Du Bois, J. Synthesis of 1,3-Difunctionalized Amine Derivatives through Selective C–H Bond Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 6935–6936. (b) Fleming, J. J.; Du Bois, J. A Synthesis of (+)-Saxitoxin. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 3926–3927.

<sup>96</sup>(a) Chen, X.; Li, J.-J.; Hao, X.-S.; Goodhue, C. E.; Yu, J.-Q. Palladium-Catalyzed Alkylation of Aryl C–H Bonds with sp<sup>3</sup> Organotin Reagents Using Benzoquinone as a Crucial Promoter. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 128, 78–79. (b) Giri, R.; Liang, J.; Lei, J.-G.; Li, J.-J.; Wang, D.-H.; Chen, X.; Naggar, I. C.; Guo, C.; Foxman, B. M.; Yu, J.-Q. Pd-Catalyzed Stereoselective Oxidation of Methyl Groups by Inexpensive Oxidants under Mild Conditions: A Dual Role for Carboxylic Anhydrides in Catalytic C–H Bond Oxidation. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 7420–7424. (c) Giri, R.; Wasa, M.; Breazzano, S. P.; Yu, J.-Q. Converting Gem-Dimethyl Groups into Cyclopropanes via Pd-Catalyzed Sequential C–H Activation and Radical Cyclization. *Org. Lett.* **2006**, 8, 5685–5688. (d) Giri, R.; Maugel, N.; Foxman, B. M.; Yu, J.-Q. Dehydrogenation of Inert Alkyl Groups via Remote C–H Activation: Converting a Propyl Group into a π-Allylic Complex. *Organometallics* **2008**, 27, 1667–1670.

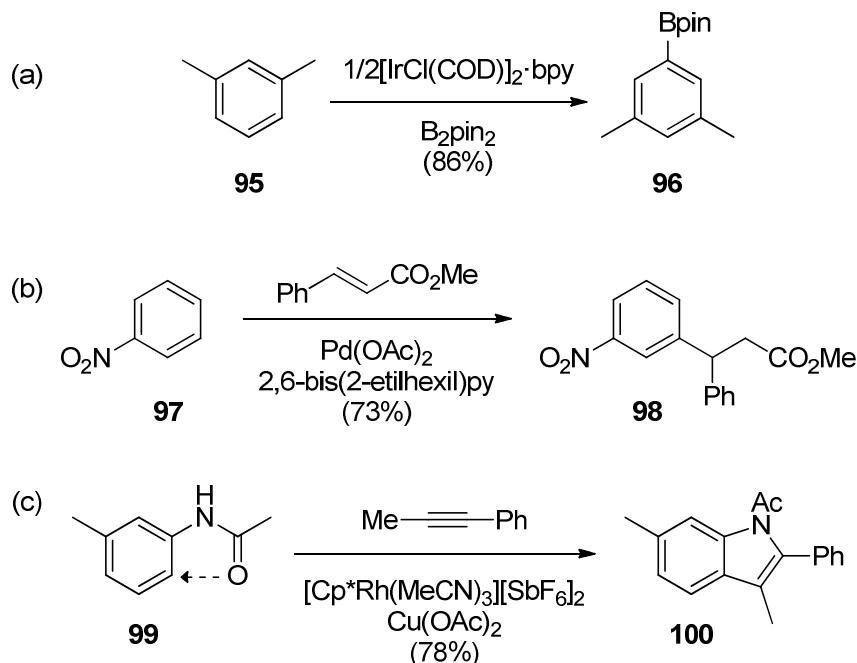
<sup>97</sup>(a) Wasa, M.; Engle, K. M.; Yu, J.-Q. Pd(II)-Catalyzed Olefination of sp<sup>3</sup> C–H Bonds. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 3680–3681. (b) Yoo, E. J.; Wasa, M.; Yu, J.-Q. Pd(II)-Catalyzed Carbonylation of C(sp<sup>3</sup>)-H Bonds: A New Entry to 1,4-Dicarbonyl Compounds. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 17378–17380.

<sup>98</sup>Arndtsen, B. A.; Bergman, R. G.; Mobley, T. A.; Peterson, T. H. Selective Intermolecular Carbon-Hydrogen Bond Activation by Synthetic Metal Complexes in Homogeneous Solution. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 154–162.

<sup>99</sup>(a) Ishiyama, T.; Takagi, J.; Ishida, K.; Miyaura, N.; Anastasi, N. R.; Hartwig, J. F. Mild Iridium-Catalyzed Borylation of Arenes. High Turnover Numbers, Room Temperature Reactions, and Isolation of a Potential Intermediate. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 124, 390–391. (b) Ishiyama, T.; Takagi, J.; Hartwig, J. F.; Miyaura, N. A Stoichiometric Aromatic C–H Borylation Catalyzed by Iridium(I)/2,2'-Bipyridine Complexes at Room Temperature . *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, 41, 3056–3058.

<sup>100</sup>Zhang, Y.-H.; Shi, B.-F.; Yu, J.-Q. Pd(II)-Catalyzed Olefination of Electron-Deficient Arenes Using 2,6-Dialkylpyridine Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 5072–5074.

secundarios<sup>101</sup> y acetanilidas,<sup>102</sup> dirigen la activación C-H en la posición *ortho*, como por ejemplo en la reacción de **99** con 1-fenilprop-1-ino para formar el indol **100**, donde además se observa preferencia por el enlace con menor impedimento estérico (Figura 3.27, c).



**Figura 3.27.** Activación de enlaces C(sp<sup>2</sup>)-H. COD: ciclooctadieno; bpy: 2,2'-bipiridina; B<sub>2</sub>Pin<sub>2</sub>: bis(pinacolato)diboro; Cp\*: C<sub>5</sub>Me<sub>5</sub>.

A pesar de todo el conocimiento que en los últimos años se ha acumulado acerca de la reactividad de los enlaces C-H, existen aún varios retos importantes para la generalización de dichas reacciones como herramientas útiles en síntesis total.<sup>103</sup> Entre ellos se encuentra el desarrollo de catalizadores que permitan:

- La oxidación quimioselectiva de enlaces C-H en presencia de grupos funcionales con mayor densidad electrónica.

<sup>101</sup>(a) Lu, Y.; Wang, D.-H.; Engle, K. M.; Yu, J.-Q. Pd(II)-Catalyzed Hydroxyl-Directed C–H Olefination Enabled by Monoprotected Amino Acid Ligands. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 5916–5921. (b) Wang, X.; Lu, Y.; Dai, H.-X.; Yu, J.-Q. Pd(II)-Catalyzed Hydroxyl-Directed C–H Activation/C–O Cyclization: Expedient Construction of Dihydrobenzofurans. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 12203–12205.

<sup>102</sup>(a) Stuart, D. R.; Alsabeh, P.; Kuhn, M.; Fagnou, K. Rhodium(III)-Catalyzed Arene and Alkene C–H Bond Functionalization Leading to Indoles and Pyrroles. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 18326–18339. (b) Stuart, D. R.; Bertrand-Laperle, M.; Burgess, K. M. N.; Fagnou, K. Indole Synthesis via Rhodium Catalyzed Oxidative Coupling of Acetanilides and Internal Alkynes. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 16474–16475.

<sup>103</sup>White, M. C. C–H Bond Functionalization and Synthesis in the 21st Century: A Brief History and Prospectus. *Synlett* **2012**, 23, 2746–2748.

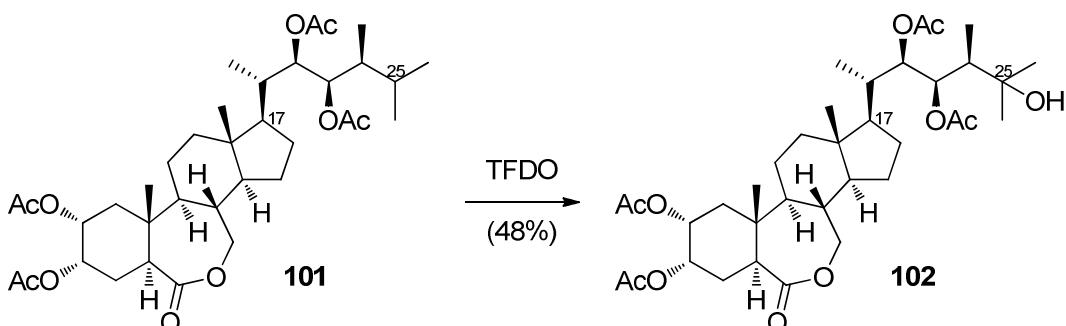
- Llevar a cabo procesos intermoleculares de aminación, alquilación y halogenación sobre enlaces C-H.
- Sortear los efectos impuestos por el sustrato sin necesidad de grupos directores.

Se hace necesario, pues, continuar la investigación en oxidaciones de enlaces C-H, orientada a profundizar en los factores que gobiernan dichos procesos, con el fin de aplicarlos activamente en síntesis orgánica.

### 3.2.1 EJEMPLOS DE APLICACIÓN EN SÍNTESIS TOTAL

Las oxidaciones de enlaces C-H se han utilizado para la síntesis total de productos naturales, si bien la selectividad observada no siempre puede ser racionalizada, debido a la complejidad estructural de los sustratos sobre los que se llevan a cabo tales reacciones y a la falta de información conformacional en solución que dicta los efectos estéricos y electrónicos.

Un interesante ejemplo de alto grado de selectividad lo muestra la preparación de análogos de brasinoesteroides.<sup>104</sup> En presencia de 12 posiciones terciarias, el compuesto **101** es oxidado selectivamente en una sola de ellas, con un 85% de rendimiento, empleando TFDO como oxidante (Figura 3.28). El efecto atractivo de los grupos acetato y de la lactona provoca un efecto inductivo que evita la oxidación de las posiciones cercanas. Por otro lado, los efectos estéricos impiden la oxidación en la posición C17. Finalmente, la preferencia del TFDO por la oxidación de C-H terciario frente a secundario conlleva la oxidación casi exclusiva en C25.

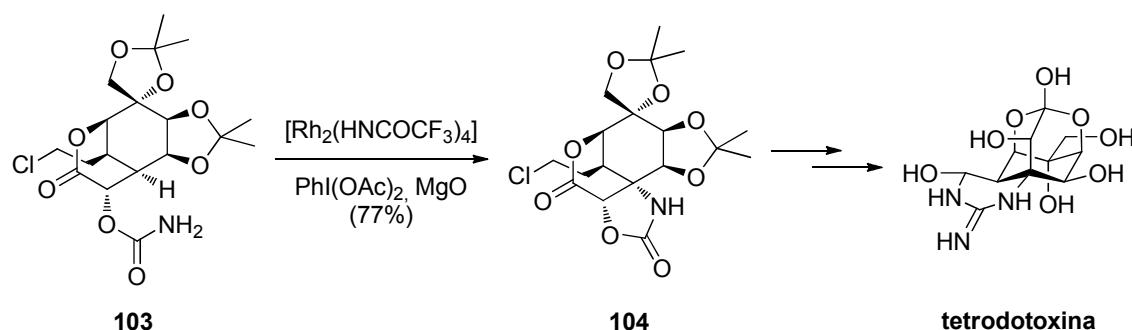


**Figura 3.28.** Oxidación selectiva de C-H en la síntesis de análogos de brasinoesteroides.

En la síntesis total de la tetrodotoxina se utilizó una activación selectiva gracias a la incorporación de un grupo director, dando lugar a la aminación del enlace C-H cabeza de puente en el compuesto **103**, para la obtención del intermedio **104**, sin afectar a

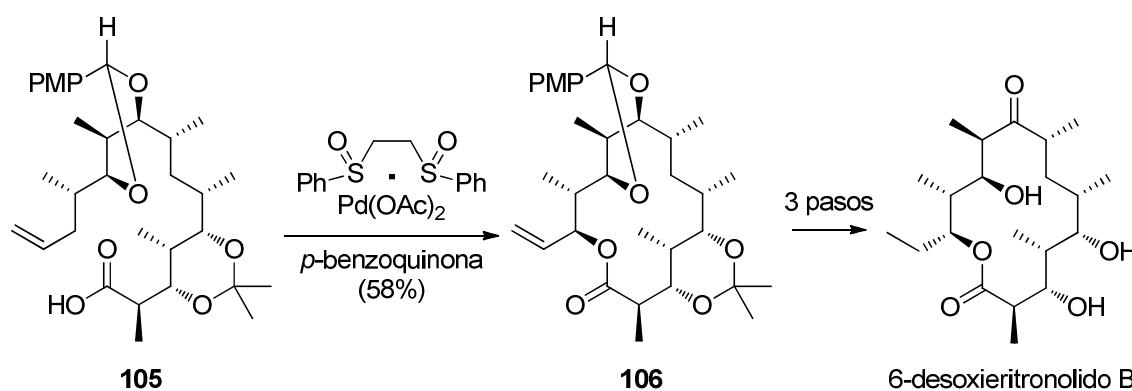
<sup>104</sup>(a) Voigt, B.; Porzel, A.; Golsch, D.; Adam, W.; Adam, G. Regioselective Oxyfunctionalization of Brassinosteroids by Methyl(trifluoromethyl)dioxirane: Synthesis of 25-Hydroxy-Brassinolide and 25-Hydroxy-24-Epibrassinolide by Direct C-H Insertion. *Tetrahedron* **1996**, *52*, 10653–10658. (b) Seto, H.; Fujioka, S.; Koshino, H.; Yoshida, S.; Tsubuki, M.; Honda, T. Synthesis and Biological Evaluation of Extra-Hydroxylated Brassinolide Analogs. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 8341–8352.

otras posiciones terciarias o activadas por hiperconjugación con átomos de oxígeno (Figura 3.29).<sup>105</sup>



**Figura 3.29.** Aminación selectiva de enlace C-H en la síntesis de tetrodotoxina.

Las oxidaciones alílicas también han sido incorporadas en secuencias de síntesis de total, como la del 6-desoxieritronolido B, un antibiótico macrólido con un elevado número de estereocentros. Para su obtención se utilizó una oxidación alílica intramolecular a partir del ácido alquenoico **105**, que con el sistema *p*-benzoquinona/paladio(II) dio el producto macrocíclico **106**, por medio de un intermedio tipo carboxilato de  $\pi$ -alilpaladio (Figura 3.30)<sup>106</sup>.



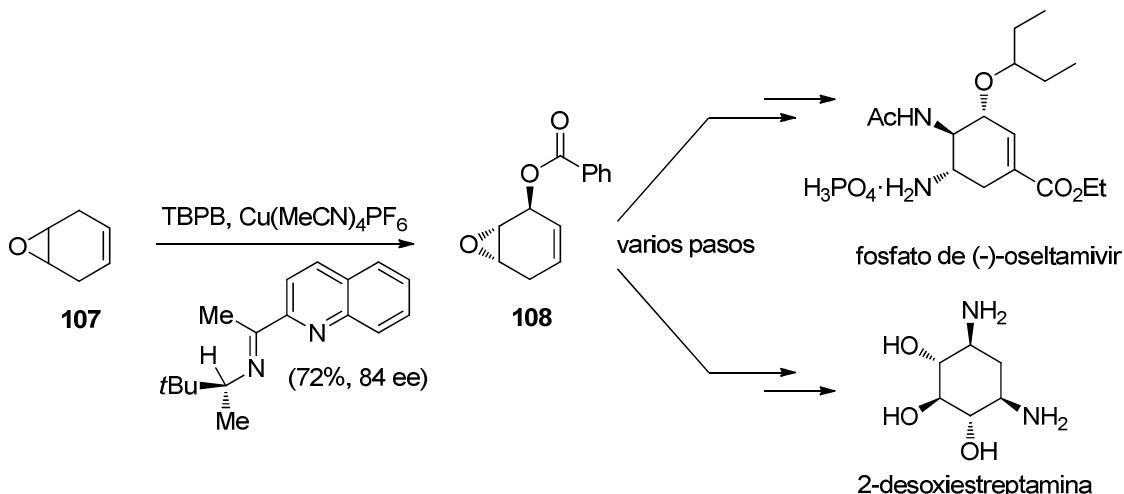
**Figura 3.30.** Síntesis del antibiótico 6-desoxieritronolido B por medio de oxidación alílica intramolecular.

La oxidación alílica con perbenzoato de *tert*-butilo (TBPB), catalizada por cobre (reacción de Kharasch-Sosnovsky, véase capítulo 4), constituye un paso clave en la

<sup>105</sup> Hinman, A.; Du Bois, J. A Stereoselective Synthesis of (-)-Tetrodotoxin. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11510–11511.

<sup>106</sup> Stang, E. M.; Christina White, M. Total Synthesis and Study of 6-Deoxyerythronolide B by Late-Stage C–H Oxidation. *Nat. Chem.* **2009**, 1, 547–551.

síntesis de fármacos como la 2-desoxiestreptamina, un antibiótico aminoglicósido,<sup>107</sup> o el fosfato de (-)-oseltamivir<sup>108</sup> (Tamiflu, antiviral comercializado contra la gripe A). Así, partiendo del epóxido racémico **107**, se llevó a cabo la desimetrización asimétrica empleando un ligando *N,N*-bidentado quiral, para dar lugar al intermedio **108** en un 84% ee, que puede ser convenientemente transformado en ambos fármacos (Figura 3.31).



**Figura 3.31.** Obtención de **108** mediante la aplicación de la reacción de Kharasch-Sosnovsky, clave en la síntesis de algunos fármacos.

En la bibliografía se pueden encontrar revisiones con más ejemplos de funcionalización y oxidación de enlaces C-H en la síntesis de productos naturales.<sup>109</sup>

<sup>107</sup>Tan, Q.; Hayashi, M. Asymmetric Desymmetrization of 4,5-Epoxyhex-1-Ene by Enantioselective Allylic Oxidation. *Org. Lett.* **2009**, 11, 3314–3317.

<sup>108</sup>Tanaka, T.; Tan, Q.; Kawakubo, H.; Hayashi, M. Formal Total Synthesis of (-)-Oseltamivir Phosphate. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 5477–5479.

<sup>109</sup>(a) Gutekunst, W. R.; Baran, P. S. C-H Functionalization Logic in Total Synthesis. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 1976–1991. (b) Yamaguchi, J.; Yamaguchi, A. D.; Itami, K. C-H Bond Functionalization: Emerging Synthetic Tools for Natural Products and Pharmaceuticals. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 8960–9009. (c) Nakamura, A.; Nakada, M. Allylic Oxidations in Natural Product Synthesis. *Synthesis* **2013**, 45, 1421–1451.

### 3.3 LA NECESIDAD DE OPTIMIZAR EN SÍNTESIS ORGÁNICA

Las reacciones químicas son procesos en los que se encuentra implicado un gran número de variables. Entre ellas, las más frecuentes son la concentración de los reactivos, la carga catalítica, la polaridad del disolvente, la acidez o basicidad del medio, la temperatura, el tiempo, la naturaleza del catalizador, etc.; variables tanto numéricas como categóricas, muchas veces difíciles de estimar. Manipular todas estas variables para conseguir una buena respuesta, generalmente asociada al rendimiento de reacción o a la pureza de los productos, es complejo y requiere el uso de herramientas estadísticas de análisis multivariante.

Tradicionalmente el análisis multivariante ha sido aplicado a la química, a través de la quimiometría, principalmente en análisis químicos o en procesos industriales; siendo muy pocos los ejemplos publicados en los que se haya realizado un estudio de estas características en la optimización de reacciones de síntesis orgánica. De forma más habitual, el desarrollo de metodología sintética se ha basado en el ensayo-error y en la intuición del investigador. Sin embargo, la optimización de reacciones orgánicas es un buen escenario donde aplicar el arsenal estadístico que el científico tiene a su disposición, a través de los paquetes informáticos que facilitan el cálculo y la interpretación de los datos.

#### 3.3.1 OPTIMIZACIÓN EN QUÍMICA<sup>110</sup>

En esencia, el proceso de optimización consiste en encontrar un máximo o un mínimo en una función matemática que representa la variable respuesta de interés. El proceso consta de tres etapas fundamentales: en primer lugar, identificar en el sistema la variable respuesta que interesa optimizar; después, elegir las variables, de entre todas de las que depende la respuesta, con las que se va a llevar a cabo la optimización; por último, seleccionar y poner en marcha un método de optimización.

Los métodos de optimización pueden clasificarse en dos categorías:

- Métodos de optimización univariante: consisten en estudiar las variables implicadas en el sistema de forma individual, una a una, manteniendo constantes

---

<sup>110</sup>Carlson, R.; Carlson, J. E. Design and Optimization in Organic Synthesis. In *Data Handling in Science and Technology*; Elsevier: Amsterdam, 2005.

las demás. Este tipo de métodos ignora la interdependencia de las variables que influyen en el sistema. Además, la selección de distintas condiciones iniciales llevan a distintas condiciones óptimas, por lo que no se puede asegurar que el óptimo alcanzado sea el real. Por otro lado, estos métodos suelen implicar un gran número de experimentos de los que se obtiene información de poca calidad. Por todo ello, pese a su uso extendido, en química suelen ser poco recomendables.

- Métodos de optimización multivariante: son aquellos que buscan optimizar la función respuesta manipulando todas las variables (o al menos las seleccionadas como más influyentes) a la vez. Son los más útiles para resolver problemas de naturaleza química, ya que suelen implicar una aproximación organizada y racional a la optimización. Permiten obtener gran cantidad de información con un reducido número de experimentos, entre los cuales es posible realizar un análisis del error experimental que permita evaluar la bondad del óptimo alcanzado. Implican, por tanto, un esfuerzo de cálculo mayor, pero asequible gracias a la informática.

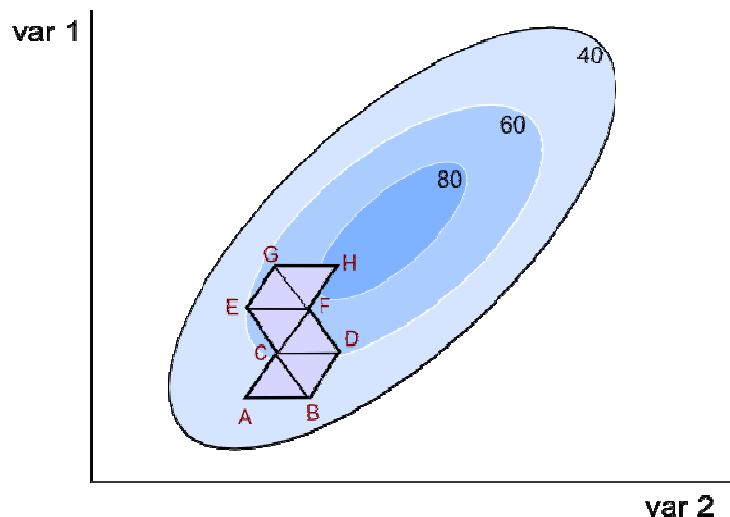
En ambos grupos de métodos puede seleccionarse una estrategia de optimización secuencial o una estrategia simultánea:

- Estrategia secuencial: es aquella en la que se diseña una serie de experimentos iniciales cuyos resultados determinarán las condiciones de los siguientes experimentos para acercarse paulatinamente a las condiciones óptimas.
- Estrategia simultánea: todos los experimentos que van a realizarse en la búsqueda del óptimo se establecen desde el principio, pudiendo llevarse a cabo todos a la vez, o por el contrario agrupados en bloques o aleatorizados en días sucesivos con el fin de compensar errores debidos a factores no controlados.

### 3.3.2 EL MÉTODO SIMPLEX<sup>111</sup>

El método *simplex* es el método secuencial más extendido en optimización multivariante, por su sencillez y su eficacia. *Simplex* es el nombre de una figura geométrica de número de vértices igual al número de variables consideradas más uno, de tal manera que si se optimizan dos variables éste será un triángulo, si se optimizan tres, será un tetraedro, y así sucesivamente (Figura 3.31). De este modo, cada uno de los vértices de la figura representa un experimento. En el caso de una reacción química, el *simplex* inicial estará definido por unos puntos o experimentos con condiciones seleccionadas a partir del conocimiento previo de la reacción, de forma intuitiva, o en base a un análisis univariante previo.

Tras la realización de los experimentos iniciales, se evalúa el rendimiento de cada uno y se calculan las condiciones de un nuevo experimento mediante una operación de reflexión a través del vértice que representa al peor de los experimentos iniciales. De esta forma se construye un nuevo *simplex* con los vértices retenidos y el nuevo punto calculado (Figura 3.31). El proceso es iterativo, de modo que se evalúa el nuevo vértice y se calcula un nuevo punto repitiendo el procedimiento anterior. Si el nuevo experimento proporciona una respuesta peor, es posible volver al *simplex* anterior y descartar el segundo peor vértice para repetir el cálculo.



**Figura 3.31.** Representación gráfica de una optimización por el método *simplex* para dos variables.

<sup>111</sup>Betteridge, D.; Wade, A. P.; Howard, A. G. Reflections on the Modified simplex—I. *Talanta* 1985, 32, 709–722.

Es importante seleccionar correctamente los puntos iniciales del *simplex* ya que cuanto más cercanos estén del óptimo, menor número de iteraciones serán necesarias, por lo que es deseable un conocimiento previo extenso del sistema. Otro parámetro a tener en cuenta es el tamaño del *simplex* inicial, relacionado con la diferencia entre los valores de las variables que definen los experimentos iniciales. Si este tamaño es demasiado grande, el óptimo queda incluido en la figura geométrica y resulta imposible de detectar. Igualmente, si el *simplex* inicial es demasiado pequeño, será necesario un número elevado de iteraciones para llegar al óptimo. Para soslayar estas posibles situaciones, existe el método *simplex* modificado, que incluye algoritmos de *expansión*, *contracción* y *supercontracción*. El método *simplex* es además un método flexible, ya que permite hacer las modificaciones que se deseen en base a la experiencia previa del investigador. Por tanto, se incluyen dentro del proceso todos los experimentos que el investigador considere oportuno probar.

Teóricamente, en la optimización de una reacción química, el método acaba cuando se alcanza un rendimiento del 100%; sin embargo, esto no tiene porqué ocurrir, ya que es posible que la máxima extensión en que una reacción pueda darse no se acerque al 100% de rendimiento, o que el *simplex* se encuentre en el entorno de un máximo local en una superficie respuesta bimodal, para lo cual el método no presenta ningún algoritmo específico (habría que seleccionar un nuevo *simplex* inicial y empezar desde el principio). Por ello existen criterios para determinar cuándo ha finalizado el proceso de optimización:

- En sistemas sencillos, el proceso termina cuando los nuevos *simplex* giran en torno a un punto, que serán las condiciones más cercanas al óptimo que el método pueda conseguir. En un sistema de dos variables esto se puede observar gráficamente al formarse un hexágono cuyo punto central es el óptimo alcanzado.
- Cuando la respuesta no varía significativamente en los nuevos experimentos calculados por el método, significa que el *simplex* se está moviendo en torno a la cima de la superficie respuesta, muy próxima al óptimo (o a un máximo local en una superficie polimodal). Por tanto, ante esta situación se puede dar por finalizado el proceso.
- Cuando los valores calculados en los nuevos vértices varían poco entre sí también implica un movimiento en torno al óptimo, por lo que el *simplex* se da por finalizado.
- Cuando la varianza del último *simplex* elaborado y la propia varianza del experimento no difieren significativamente. Este criterio para determinar el fin del

proceso es el más apropiado porque se basa en un cálculo estadístico, el test de Fisher. Que la varianza del *simplex* sea significativamente igual a la varianza del experimento implica que los vértices que lo componen no difieren entre sí, sino que formalmente representan distintas repeticiones del mismo experimento, por lo que se considera que se ha alcanzado el óptimo.

Aunque el método *simplex* es ampliamente utilizado en química para desarrollar métodos analíticos, su aplicación a la síntesis orgánica no está especialmente extendida. Existen pocos ejemplos de aplicación de este método a reacciones orgánicas.<sup>112</sup>

---

<sup>112</sup>(a) Chubb, F. L.; Edward, J. T.; Wong, S. C. Simplex Optimization of Yields in the Bucherer-Bergs Reaction. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 2315–2320. (b) Andrew Corkan, L.; Plouvier, J.-C.; Lindsey, J. S. Application of an Automated Chemistry Workstation to Problems in Synthetic Chemistry. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* **1992**, *17*, 95–105.

### 3.3.3 DISEÑO DE EXPERIMENTOS<sup>113</sup>

Entre los métodos simultáneos de optimización multivariante, el más utilizado es el Diseño de Experimentos (*Design of Experiments*, DoE). Esta herramienta ofrece un procedimiento para explorar de forma ordenada y sistemática un sistema del que se quiere conocer la influencia de ciertas variables sobre una función respuesta cuyo valor se pretende optimizar. De este modo, es posible desarrollar protocolos y procesos robustos, donde el valor de la respuesta óptima obtenida esté garantizado por un soporte estadístico. Los diseños de experimentos constan de matrices en las que se representan los ensayos que deben realizarse conforme al número de variables que se estudien y los distintos valores o niveles que se les asigne a las mismas, dentro de un rango o dominio experimental que delimitará la región del sistema en estudio. Estas matrices se elaboran a partir de criterios estadísticos y pueden ser consultadas en la bibliografía o sugeridas por un software dependiendo del tipo de sistema a optimizar. En el estudio de un sistema mediante DoE, se suceden las siguientes cuatro etapas:

#### 1) Selección de la variable respuesta y las variables independientes

Una vez definidos el sistema a estudiar y la variable respuesta (o conjunto de ellas) que se quiere optimizar, como puede ser el rendimiento de una reacción química, se identifican todas las variables independientes que puedan influir en el valor de dicha respuesta. En primer lugar, se selecciona un número elevado de variables que se estudiarán mediante un diseño exploratorio o de *screening*, en el cual con un número reducido de experimentos se descartarán las variables de menor importancia y se retendrán aquéllas cuya influencia en la respuesta es significativa y deberían estudiarse en mayor profundidad. Los diseños iniciales, exploratorios o de *screening* que se emplean en esta etapa son principalmente factoriales fraccionados (en los que se realiza solo una fracción del total de combinaciones experimentales posibles con

<sup>113</sup>(a) Araujo, P. W.; Brereton, R. G. Experimental Design I. Screening. *TrAC Trends Anal. Chem.* **1996**, 15, 26–31. (b) Araujo, P. W.; Brereton, R. G. Experimental Design II. Optimization. *TrAC Trends Anal. Chem.* **1996**, 15, 63–70. (c) Bezerra, M. A.; Santelli, R. E.; Oliveira, E. P.; Villar, L. S.; Escaleira, L. A. Response Surface Methodology (RSM) as a Tool for Optimization in Analytical Chemistry. *Talanta* **2008**, 76, 965–977. (d) Leardi, R. Experimental Design in Chemistry: A Tutorial. *Anal. Chim. Acta* **2009**, 652, 161–172. (e) Murray, P. M.; Tyler, S. N. G.; Moseley, J. D. Beyond the Numbers: Charting Chemical Reaction Space. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, 17, 40–46. (f) Weissman, S. Design of Experiments (DoE) and Process Optimization. A Review of Recent Publications. *Org. Process Res. Dev.* **2014**, ASAP.

certos valores para cada variable) y diseños de Plackett-Burman (donde el número de experimentos es aun inferior y están recogidos en matrices previamente diseñadas).

## **2) Selección del diseño experimental, generación de la matriz de experimentos y realización de los mismos**

Una vez descartadas las variables cuya influencia no es significativa, se selecciona un diseño experimental concreto, de acuerdo al número de variables conservadas tras el primer paso y a los valores o niveles que se les vaya a dar. Si se tienen pocas variables y se sabe de antemano que entre ellas no hay interacciones, es decir, efectos de segundo orden debidos a interdependencia entre las variables, se puede escoger un diseño factorial completo a dos niveles, con un número de experimentos igual a  $2^k$ , donde k es el número de variables. En este caso se obtendrá un modelo de carácter lineal. Dicho modelo puede definirse como la ecuación matemática que describe el comportamiento de la respuesta medida en función de las variables independientes estudiadas.

Cuando existen interacciones de segundo orden (o superior), son preferibles diseños que incluyan al menos tres niveles de cada variable (alto, bajo y un valor o punto central). En estos casos, será posible incluir en la ecuación de ajuste términos cuadráticos que den cuenta del efecto de las interacciones de variables entre sí o consigo mismas, y emplear métodos de superficie respuesta que permitan un análisis visual y sencillo del modelo obtenido. En este caso, se puede emplear un diseño factorial completo a tres niveles, con  $3^k$  experimentos, que no resulta recomendable para más de dos factores, ya que el número de experimentos sería muy alto. Los diseños preferidos son los de Box-Behnken (tres niveles), central compuesto (cinco niveles) y Doehlert (distintos niveles para cada variable), que con menor número de ensayos permiten estimar modelos bastante acertados del comportamiento de la respuesta estudiada en función de las variables consideradas.

## **3) Tratamiento estadístico de los datos, ajuste a un modelo y evaluación**

Una vez ejecutados los experimentos propuestos por el diseño seleccionado, se obtiene un conjunto de datos experimentales que será ajustado a una ecuación por el método de los mínimos cuadrados. En el caso de diseños de segundo orden, será posible representar dicha ecuación mediante gráficas de superficie respuesta, diagramas de contorno, etc., que facilitarán la interpretación de los datos.

Generalmente los efectos de orden superior a dos no son significativos y pueden despreciarse para simplificar el tratamiento matemático. Además, los resultados deben ser analizados mediante técnicas de análisis estadístico, principalmente realizando el análisis de la varianza (ANOVA), que se basa en una comparación entre las respuestas experimentales obtenidas y las respuestas que predice el modelo ajustado. Así, es posible evaluar la bondad del ajuste, el efecto del error aleatorio y la significación del modelo ajustado, junto con la capacidad de predicción del mismo.

#### 4) Búsqueda del óptimo

Dado que un óptimo es un punto crítico en una función matemática, la respuesta óptima del sistema en estudio se encuentra mediante el cálculo de las derivadas parciales de la ecuación obtenida en el ajuste del paso anterior. Cuando el número de variables es mayor que 2, es preferible utilizar un software que realice el cálculo. Así, el modelo permite establecer unas condiciones óptimas para el sistema, que serán reproducidas experimentalmente para asegurar su validez. En un sistema complejo es posible que el óptimo predicho por el modelo no coincida con las mejores condiciones encontradas experimentalmente.

A pesar de las ventajas que supone su uso, los ejemplos de reacciones químicas orgánicas optimizadas por DoE, publicados en la bibliografía, son escasos.<sup>114</sup>

En el desarrollo del presente trabajo, se ha optado por llevar a cabo optimizaciones multivariantes de las reacciones de oxidación de enlace C-H en estudio. En concreto

<sup>114</sup>(a) Kindahl, T.; Chorell, E.; Chorell, E. Development and Optimization of Simple One-Step Methods for the Synthesis of 4-Amino-Substituted 1,8-Naphthalimides. *European J. Org. Chem.* **2014**, n/a–n/a. (b) Rosenthal, I.; Wolfram, E.; Peter, S.; Meier, B. Validated Method for the Analysis of Frangulins A and B and Glucofrangulins A and B Using HPLC and UHPLC. *J. Nat. Prod.* **2014**, 77, 489–496. (c) Fan, J.; Yi, C.; Lan, X.; Yang, B. Optimization of Synthetic Strategy of 4'4"(5")-Di-Tert-Butyldibenzo-18-Crown-6 Using Response Surface Methodology. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, 17, 368–374. (d) Tang, H.; Xiao, Q.; Xu, H.; Zhang, Y. Optimization of Reaction Parameters for the Synthesis of Chromium Methionine Complex Using Response Surface Methodology. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, 17, 632–640. (e) Gooding, O. W.; Vo, L.; Bhattacharyya, S.; Labadie, J. W. Use of Statistical Design of Experiments in the Optimization of Amide Synthesis Utilizing Polystyrene-Supported N-Hydroxybenzotriazole Resin. *J. Comb. Chem.* **2002**, 4, 576–583. (f) Evans, M. D.; Ring, J.; Schoen, A.; Bell, A.; Edwards, P.; Berthelot, D.; Nicewonger, R.; Baldino, C. M. The Accelerated Development of an Optimized Synthesis of 1,2,4-Oxadiazoles: Application of Microwave Irradiation and Statistical Design of Experiments. *Tetrahedron Lett.* **2003**, 44, 9337–9341. (g) McLean, N. J.; Tye, H.; Whittaker, M. Microwave Assisted Petasis Boronic-Mannich Reactions. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 993–995. (h) Tye, H.; Whittaker, M. Use of a Design of Experiments Approach for the Optimisation of a Microwave Assisted Ugi Reaction. *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 813–815.

se puso en práctica el método *simplex* (capítulo 4) y el Diseño de Experimentos (capítulos 5 y 6). La complejidad de los sistemas implicados y el desconocimiento de un mecanismo de reacción preciso, hizo preferible el empleo de dichos métodos estadísticos frente a la aproximación clásica de *una variable cada vez*. Los buenos resultados obtenidos dan cuenta de la efectividad de estos métodos de optimización y alientan a continuar empleándolos en el desarrollo de metodología sintética.

## ***DISCUSIÓN DE RESULTADOS***

***Capítulo 4. Optimización de la Oxidación Alílica de Alquenos mediante la Reacción de Kharasch-Sosnovsky.***

***Capítulo 5. La Hidroxicarvona como Sintón en la Síntesis de Guayanos.***

***Capítulo 6. Aciloxilación de Enonas en Posición  $\alpha'$ . Aplicación a la Síntesis de Guayanolidas Funcionalizadas en C2.***

***Capítulo 7. Conclusiones generales.***



## CAPÍTULO 4. OPTIMIZACIÓN DE LA OXIDACIÓN ALÍLICA DE ALQUENOS MEDIANTE LA REACCIÓN DE KHARASCH-SOSNOVSKY

### 4.1 PRECEDENTES. LA OXIDACIÓN ALÍLICA DE ALQUENOS

#### 4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

##### 4.2.1 Optimización de la benzoiloxilación de ciclohexeno

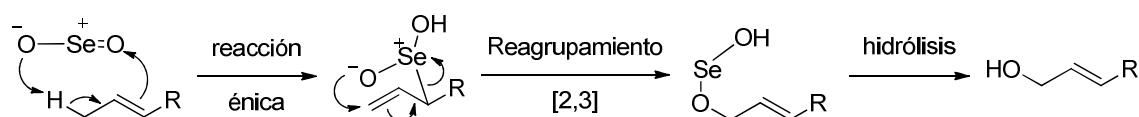
##### 4.2.2 Extensión de la metodología a otros sustratos

##### 4.2.3 Aproximación a la síntesis total de tapsigargina mediante oxidaciones alílicas

#### 4.3 RESUMEN

### 4.1 PRECEDENTES. LA OXIDACIÓN ALÍLICA DE ALQUENOS

Uno de los métodos de oxidación alílica más extendidos en síntesis orgánica se basa en el uso de  $\text{SeO}_2$ .<sup>115</sup> Se puede emplear en cantidad estequiométrica, pero la toxicidad tanto de este reactivo como de sus subproductos hace preferible su empleo en cantidad catalítica junto con *tert*-butilhidroperóxido (TBHP) como oxidante estequiométrico. El mecanismo transcurre mediante una reacción énica seguida de un reagrupamiento sigma-trópico [2,3] (Figura 4.1).



**Figura 4.1.** Mecanismo de oxidación alílica con  $\text{SeO}_2$ .

También es posible realizar oxidaciones alílicas mediante reactivos de cromo tales como el complejo de  $\text{CrO}_3$  con piridina (reactivo de Collins), clorocromato de piridinio (PCC) o el complejo de  $\text{CrO}_3$  con 3,5-dimetilpirazol. Estos reactivos permiten obtener cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas a partir de alquenos cíclicos,<sup>116</sup> así como lactonas a partir de

<sup>115</sup>(a) Rabjohn, N. Selenium Dioxide Oxidation. *Org. React. (New York)* **1976**, 24, 261–415. (b) Umbreit, M. A.; Sharpless, K. B. Allylic Oxidation of Olefins by Catalytic and Stoichiometric Selenium Dioxide with *tert*-Butyl Hydroperoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 5526–5528.

<sup>116</sup>Smith III, A. B.; Konopelski, J. P. Total Synthesis of (+)-Quadrone: Assignment of Absolute Stereochemistry. *J. Org. Chem.* **1984**, 49, 4094–4095.

éteres alílicos cíclicos.<sup>117</sup> Una alternativa más moderna y menos dañina para el medio ambiente puede ser el diacetoxiiodobenceno (DIB), que en presencia de TBHP da lugar a la oxidación alílica de un alqueno dando la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada correspondiente de forma eficiente cuando el disolvente es un éster de cadena larga como butanoato de butilo.<sup>118</sup>

Alternativamente existen otros métodos basados en compuestos de metales de transición tales como los acetatos de plomo(IV), mercurio(II) y manganeso(III).<sup>119</sup> Se solían utilizar en cantidades estequiométricas; sin embargo, en las últimas décadas se ha optado por procesos catalíticos, más eficientes y de menor riesgo ambiental y para la salud, en los que se emplean metales como cobalto, cobre o paladio en pequeñas cantidades. Especialmente interesante es la acetoxilación alílica de olefinas mediante acetato de paladio(II) y *p*-benzoquinona como aditivo, empleando ácido acético como nucleófilo a la vez que como disolvente.<sup>120</sup> La química del paladio ha sido extensamente empleada para este tipo de oxidaciones de enlaces C-H, si bien hoy en día continúa siendo un campo muy activo.<sup>121</sup>

<sup>117</sup> Srikanth, G. S. C.; Krishna, U. M.; Trivedi, G. K.; Cannon, J. F. RCM/PCC Oxidation Strategy for Synthesis of Functionalized Cyclic  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Lactones: Synthesis of (+)-Triacetoxygoniotriol and Its Diastereomers. *Tetrahedron* **2006**, 62, 11165–11171.

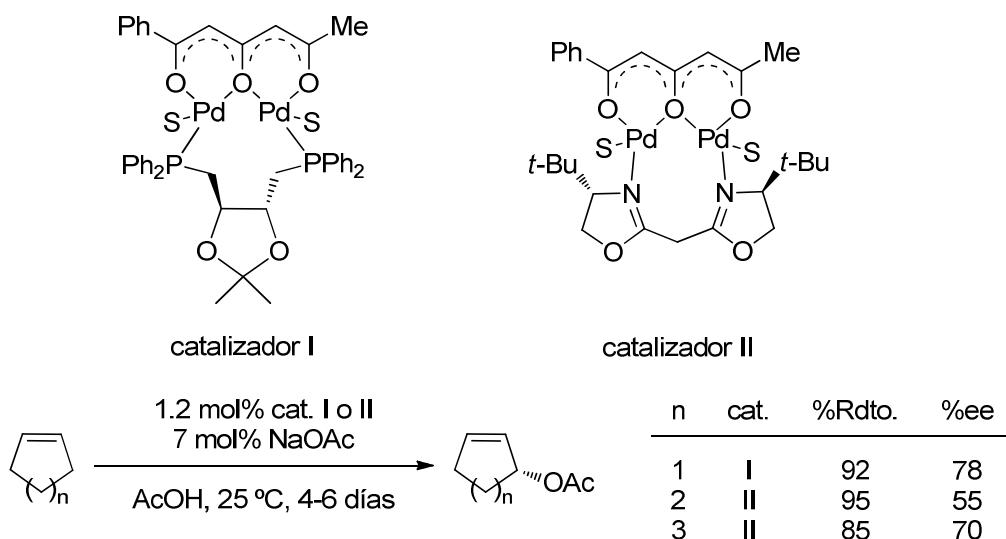
<sup>118</sup> Zhao, Y.; Yeung, Y.-Y. An Unprecedented Method for the Generation of *Tert*-Butylperoxy Radical Using DIB/TBHP Protocol: Solvent Effect and Application on Allylic Oxidation. *Org. Lett.* **2010**, 12, 2128–2131.

<sup>119</sup> Rawlinson, D. J.; Sosnovsky, G. One-Step Substitutive Acyloxylation at Carbon. II. Reactions Involving Metal Salts. *Synthesis*. **1973**, 567–603.

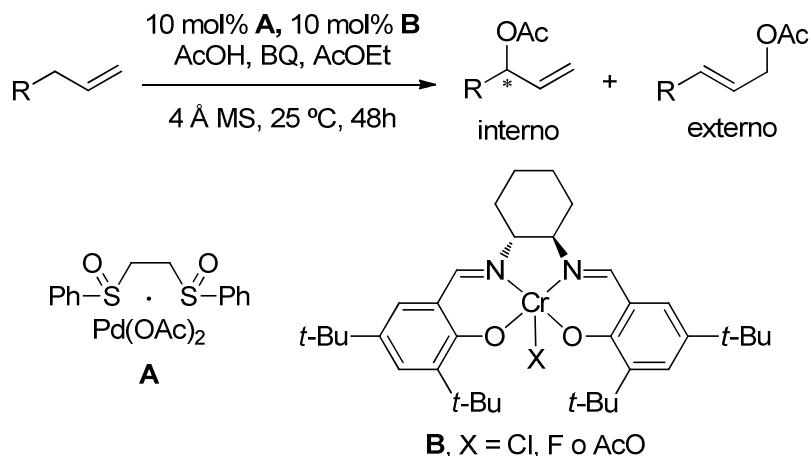
<sup>120</sup> (a) Grennberg, H.; Backvall, J.-E. Mechanism of Palladium-Catalyzed Allylic Acyloxylation of Cyclohexene. *Chem. Eur. J.* **1998**, 4, 1083–1089. (b) Grennberg, H.; Simon, V.; Baeckvall, J. E. Evidence for a ( $\pi$ -Allyl)palladium Intermediate in the Quinone-Based Palladium-Catalyzed Allylic Acyloxylation. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 265–266. (c) Baeckvall, J. E.; Hopkins, R. B.; Grennberg, H.; Mader M., M.; Awasthi, A. K. Multistep Electron Transfer in Palladium-Catalyzed Aerobic Oxidations via a Metal Macrocycle Quinone System. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 5160–5166.

<sup>121</sup> (a) Pilarski, L. T.; Janson, P. G.; Szabó, K. J. Palladium-Catalyzed Selective Acyloxylation Using Sodium Perborate as Oxidant. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 1503–1506. (b) Henderson, W. H.; Check, C. T.; Proust, N.; Stambuli, J. P. Allylic Oxidations of Terminal Olefins Using a Palladium Thioether Catalyst. *Org. Lett.* **2010**, 12, 824–827. (c) Campbell, A. N.; White, P. B.; Guzei, I. a; Stahl, S. S. Allylic C-H Acyloxylation with a 4,5-Diazafluorenone-Ligated Palladium Catalyst: A Ligand-Based Strategy to Achieve Aerobic Catalytic Turnover. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 15116–15119. (d) Thiery, E.; Aouf, C.; Belloy, J.; Harakat, D.; Le Bras, J.; Muzart, J. Palladium-Catalyzed Allylic Acyloxylation of Terminal Alkenes in the Presence of a Base. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 1771–1774. (e) Giri, R.; Shi, B.-F.; Engle, K. M.; Maugel, N.; Yu, J.-Q. Transition Metal-Catalyzed C-H Activation Reactions: Diastereoselectivity and Enantioselectivity. *Chem. Soc. Rev.* **2009**, 38, 3242–3272. (f) Pilarski, L. T.; Selander, N.; Böse, D.; Szabó, K. J. Catalytic Allylic C-H Acyloxylation and Benzoyloxylation via Suggested ( $\eta^3$ -Allyl)palladium(IV) Intermediates. *Org. Lett.* **2009**, 11, 5518–5521. (g) Delcamp, J. H.; White, M. C. Sequential Hydrocarbon Functionalization: Allylic C-H Oxidation/vinylic C-H Arylation. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 15076–15077. (h) Mitsudome, T.; Umetani, T.; Nosaka, N.; Mori, K.; Mizugaki, T.; Ebitani, K.; Kaneda, K. Convenient and Efficient Pd-Catalyzed Regioselective Oxyfunctionalization of Terminal Olefins by Using Molecular Oxygen as Sole Reoxidant. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2006**, 45, 481–485.

Una de las primeras versiones asimétricas que surgió para este tipo de transformación consiste en el uso de un complejo dinuclear de tricetona-paladio(II) con un ligando puente quiral de tipo bisfosfina o bis-oxazolina, que permite obtener los acetatos alílicos de ciclos de cinco, seis y siete miembros con enantioselectividad de moderada a buena (Figura 4.2).<sup>122</sup>



**Figura 4.2.** Primeros desarrollos de acetoxilaciones alílicas enantioselectivas con paladio.



| R  | %Rdto. | Relación interno:externo | %ee del interno |
|--|--------|--------------------------|-----------------|
| n-C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>                         | 92     | 5.3:1                    | 59              |
| (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CO <sub>2</sub> Me       | 89     | 4.8:1                    | 57              |
| (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CO <sub>2</sub> N(OMe)Me | 81     | 4.4:1                    | 54              |
| (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>2</sub> OTDBPS   | 84     | 4.4:1                    | 63              |
| (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>2</sub> OH       | 83     | 4.4:1                    | 50              |

**Figura 4.3.** Acetoxilación alílica enantioselectiva de alquenos terminales.

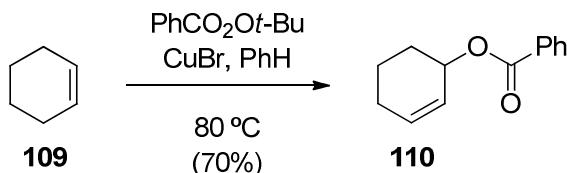
<sup>122</sup>El-Qisbari, A. K.; Qaseer, H. A.; Henry, P. M. An Air Oxidizable Bimetallic palladium(II) Catalyst for Asymmetric Allylic Oxidation of Olefins in Acetic Acid. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*, 4229–4231.

Posteriormente, White y col. desarrollaron un método enantioselectivo para alquenos lineales terminales con un sistema catalítico a base de un ligando bis-sulfóxido con acetato de paladio(II), **A**, en combinación con un complejo quiral de tipo ácido de Lewis, (salen)cromo(III), **B**.<sup>123</sup> La Figura 4.3 muestra los resultados más significativos de esta metodología.

También es de destacar el papel del rodio, un metal extensamente utilizado en catálisis homogénea pero poco eficiente en reacciones de oxidación alílica hasta que Doyle desarrolló un complejo de caprolactamato de dirrodio(II) capaz de proporcionar rendimientos del 60 al 94% cuando se tratan olefinas con TBHP como oxidante en cantidades estequiométricas, generando la cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada.<sup>124</sup>

### Oxidación alílica con perésteres catalizada por cobre. La reacción de Kharasch-Sosnovsky<sup>125</sup>

La reacción de Kharasch-Sosnovsky es una interesante opción para llevar a cabo oxidaciones alílicas de alquenos. Publicada por los autores de los que toma su nombre en los años 50,<sup>126</sup> esta reacción consiste en el tratamiento de una olefina con un peréster, típicamente perbenzoato de *tert*-butilo (PhCO<sub>2</sub>O*t*-Bu, TBPB), en presencia de una fuente de cobre (aunque también de cobalto), para instalar un grupo benzoiloxilo en posición alílica (Figura 4.4).



**Figura 4.4.** Reacción de Kharasch-Sosnovsky sobre ciclohexeno, **109**.

<sup>123</sup>(a) Covell, D. J.; White, M. C. A Chiral Lewis Acid Strategy for Enantioselective Allylic C-H Oxidation. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 6448–6451. (b) Chen, M. S.; White, M. C. A Sulfoxide-Promoted, Catalytic Method for the Regioselective Synthesis of Allylic Acetates from Monosubstituted Olefins via C-H Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1346–1347.

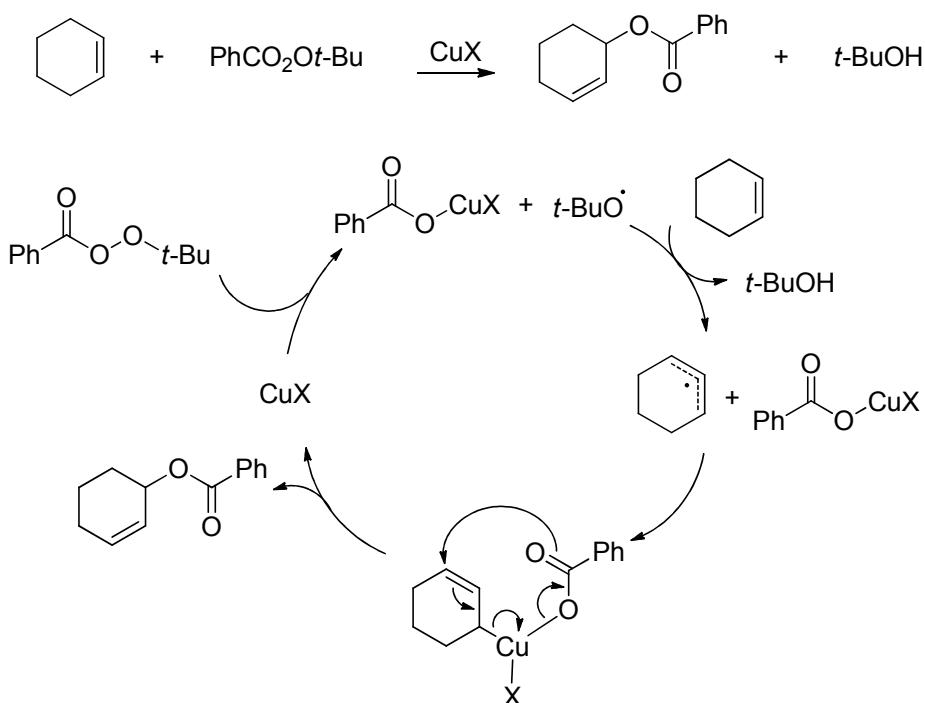
<sup>124</sup>Catino, A. J.; Forslund, R. E.; Doyle, M. P. Dirhodium(II) Caprolactamate: An Exceptional Catalyst for Allylic Oxidation. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 13622–13623.

<sup>125</sup>(a) Andrus, M. B.; Lashley, J. C. Copper Catalyzed Allylic Oxidation with Peresters. *Tetrahedron* **2002**, 58, 845–866. (b) Eames, J.; Watkinson, M. Catalytic Allylic Oxidation of Alkenes Using an Asymmetric Kharasch–Sosnovsky Reaction. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, 40, 3567–3571.

<sup>126</sup>(a) Kharasch, M. S.; Sosnovsky, G. Reactions of *Tert*-Butyl Perbenzoate and Olefins-a Stereospecific Reaction. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 756. (b) Kharasch, M. S.; Sosnovsky, G.; Yang, N. C. Reactions of *t*-Butyl Peresters. I. The Reaction of Peresters with Olefins. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 5819–5824.

Desde su publicación, esta reacción ha sido estudiada en profundidad, con ciclohexeno, **109**, como sustrato modelo, tanto desde un punto de vista mecanístico como metodológico, empleando principalmente cobre(I) como catalizador acompañado de distintos tipos de contraiones y aditivos, generalmente aminas. Incluso se han desarrollado alternativas para incorporar diferentes ésteres. Sin embargo, no existen aún unas condiciones generales que permitan su implementación en síntesis total.

Estudios iniciales realizados sobre alquenos lineales,<sup>127</sup> así como estudios teóricos posteriores, permitieron esclarecer algunos aspectos del mecanismo de reacción (Figura 4.5).



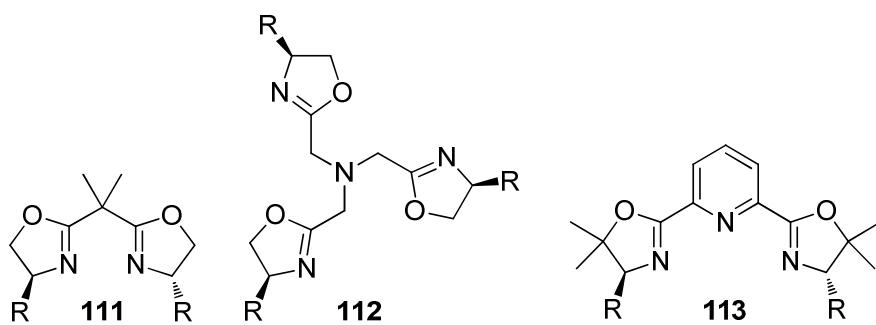
**Figura 4.5.** Mecanismo propuesto para la reacción de Kharasch-Sosnovsky.

Si bien todavía no existe un consenso al respecto, la mayoría de las propuestas aceptan un primer paso consistente en la homolisis del peréster promovida por la fuente de cobre(I) generando un carboxilato de cobre(II) y un radical *tert*-butoxilo. Este radical abstraería un hidrógeno alílico de la olefina de partida, dando lugar a *tert*-

<sup>127</sup>(a) Denney, D. Z.; Appelbaum, A.; Denney, D. B. Copper Ion-Catalyzed Reactions of *Tert*-Alkyl Peresters with Several Olefins. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 4969–4971. (b) Goering, H. L.; Mayer, U. Stereochemistry of the Copper-Salt-Catalyzed Reaction of *Tert*-Butyl Perbenzoate with Optically Active bicyclo[3.2.1.]oct-2-Ene. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 3753–3756. (c) Hathaway, B. J.; Billing, D. E. Electronic Properties and Stereochemistry of Mononuclear Complexes of the copper(II) Ion. *Coord. Chem. Rev.* **1970**, *5*, 143–207. (d) Beckwith, A. L. J.; Zavitsas, A. A. Allylic Oxidations by Peroxy Esters Catalyzed by Copper Salts. The Potential for Stereoselective Syntheses. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 8230–8234.

butanol y un radical alílico estabilizado por resonancia. A partir de aquí existen diferentes alternativas,<sup>128</sup> pero el camino de reacción más aceptado, por ser el que mejor explica los datos experimentales observados y estar justificado por cálculos teóricos actuales,<sup>129</sup> consiste en la formación de un intermedio de cobre(III) con un enlace  $\sigma$  Cu-C, en el que se produce un reagrupamiento pericíclico para liberar el producto y regenerar el catalizador.<sup>130</sup>

**Tabla 4.1.** Ligandos *box* **111**, *tris*-oxazolina **112** y *py*-*box* **113** empleados en la reacción de Kharasch-Sosnovsky.



|                     |              |             |              |
|---------------------|--------------|-------------|--------------|
| Tiempos de reacción | 15 – 22 días | 2 – 10 días | 4 h – 3 días |
| Rendimientos        | 61 – 90%     | 11 – 68%    | 28 – 80%     |
| Selectividades      | 13 – 90% ee  | 18 – 93% ee | 60 – 81% ee  |

El hecho de estar catalizada por un metal como el cobre, en cuya esfera de coordinación ocurriría la transformación, inspiró el desarrollo de numerosas versiones asimétricas. En un primer momento se emplearon complejos de tipo canforato de cobre<sup>131</sup> y aminoácidos como aditivos quirales,<sup>132</sup> para después prestar atención a

<sup>128</sup>(a) Walling, C.; Zavitsas, A. A. The Copper-Catalyzed Reaction of Peresters with Hydrocarbons. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2084–2090. (b) Kochi, J. K.; Bemis, A. Catalytic Reactions of Peroxides. Direct Initiation by Cuprous Species. *Tetrahedron* **1968**, *24*, 5099–5113.

<sup>129</sup>Mayoral, J. A.; Rodriguez-Rodriguez, S.; Salvatella, L. Theoretical Insights into Enantioselective Catalysis: The Mechanism of the Kharasch-Sosnovsky Reaction. *Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 9274–9285.

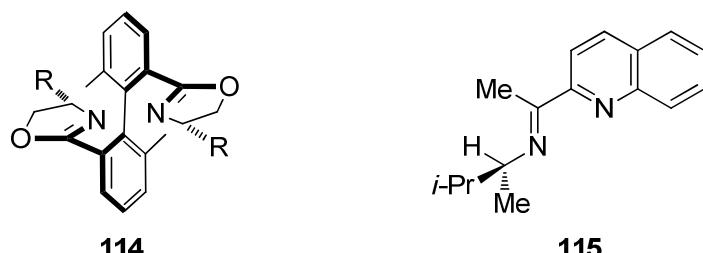
<sup>130</sup>Beckwith, A. L. J.; Zavitsas, A. A. Allylic Oxidations by Peroxy Esters Catalyzed by Copper Salts. The Potential for Stereoselective Syntheses. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 8230–8234.

<sup>131</sup>Denney, D. B.; Napier, R.; Cammarata, A. A Convenient Method for the Preparation of Some Optically Active Allylic Alcohols. *J. Org. Chem.* **1965**, *30*, 3151–3153.

<sup>132</sup>(a) Rispens, M. T.; Zondervan, C.; Feringa, B. L. Catalytic Enantioselective Allylic Oxidation. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 661–664. (b) Levina, A.; Muzart, J. Enantioselective Allylic Oxidation in the Presence of the Catalytic System. *Tetrahedron: Asymmetry* **1995**, *6*, 147–156. (c) Levina, A.; Hénin, F.; Muzart, J. On the Stability of the Copper- (S)-Proline Catalyst in the Enantioselective Allylic Acyloxylation of Alkenes. *J. Organomet. Chem.* **1995**, *494*, 165–168. (d) Muzart, J. Enantioselective Copper-Catalyzed Allylic Acetoxylation of Cyclohexene. *J. Mol. Catal.* **1991**, *64*, 381–384.

ligandos algo más sofisticados como los de tipo *bis*-oxazolina **111** (*box*) con simetría  $C_2$ , empleados por Pfaltz y Andrus.<sup>133</sup> Posteriormente aparecieron nuevas generaciones de ligandos quirales, como son las *tris*-oxazolinas **112** de Katsuki<sup>134</sup> o las piridil-*bis*-oxazolinas **113** (*py-box*) de Singh.<sup>135</sup> Aunque se consiguieron buenos excesos enantioméricos, los rendimientos y tiempos de reacción aun necesitan ser mejorados (Tabla 4.1).

A continuación fueron desarrollándose ligandos de tipo biarilo como los llamados bi-*o*-toluil-*bis*-oxazolinas **114**, en los que además de las cadenas laterales se incorpora el fenómeno de la atropoisomería para llevar a cabo la inducción quiral en la reacción. En este caso, tras 5 días de reacción se consiguieron rendimientos en torno al 70% con selectividad moderada (del 22 al 73% ee).<sup>136</sup>



**Figura 4.6.** Nuevos ligandos quirales para la reacción de Kharasch-Sosnovsky enantioselectiva.

<sup>133</sup>(a) Gokhale, A. S.; Minidis, A. B. E.; Pfaltz, A. Enantioselective Allylic Oxidation Catalyzed by Chiral Bisoxazoline-Copper Complexes. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 1831–1834. (b) Andrus, M. B.; Argade, A. B.; Chen, X.; Pamment, M. G. The Asymmetric Kharasch Reaction - Catalytic Enantioselective Allylic Acyloxylation of Olefins with Chiral Copper(I) Complexes and Tert-Butyl Perbenzoate. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 2945–2948.

<sup>134</sup>(a) Kawasaki, K.; Tsumura, S.; Katsuki, T. Enantioselective Allylic Oxidation Using Biomimetic Tris(oxazolines)-copper(II) Complex. *Synlett* **1995**, 1245–1246. (b) Kawasaki, K.; Katsuki, T. Enantioselective Allylic Oxidation of Cycloalkenes by Using Cu(II)-Tris(oxazoline) Complex as a Catalyst. *Tetrahedron* **1997**, 53, 6337–6350.

<sup>135</sup>(a) DattaGupta, A.; Singh, V. K. Catalytic Enantioselective Allylic Oxidation of Olefins with Copper Complexes of Chiral Nonracemic Bis(oxazolinyl)pyridine Type Ligands. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2633–2636. (b) Sekar, G.; DattaGupta, A.; Singh, V. K. Asymmetric Kharasch Reaction: Catalytic Enantioselective Allylic Oxidation of Olefins Using Chiral Pyridine Bis(diphenyloxazoline)-Copper Complexes and Tert-Butyl Perbenzoate. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 2961–2967. (c) Ginotra, S. K.; Singh, V. K. Studies on Enantioselective Allylic Oxidation of Olefins Using Peresters Catalyzed by Cu(I)-Complexes of Chiral Pybox Ligands. *Org. Biomol. Chem.* **2006**, 4, 4370–4374.

<sup>136</sup>(a) Samadi, S.; Nazari, S.; Arvinnezhad, H.; Jadidi, K.; Notash, B. A Significant Improvement in Enantioselectivity, Yield, and Reactivity for the Copper-Bi-O-Tolyl Bisoxazoline-Catalyzed Asymmetric Allylic Oxidation of Cyclic Olefins Using Recoverable SBA-15 Mesoporous Silica Material. *Tetrahedron* **2013**, 69, 6679–6686. (b) Van Leeuwen, P. W. N. M.; Kamer, P. C. J.; Reek, J. N. H.; Dierkes, P. Ligand Bite Angle Effects in Metal-Catalyzed C-C Bond Formation. *Chem. Rev.* **2000**, 100, 2741–2769. (c) Andrus, M. B.; Asgari, D. Asymmetric Allylic Oxidation with Biarylbisoxazoline-Copper(I) Catalysis. *Tetrahedron* **2000**, 56, 5775–5780.

Además, es de destacar el empleo de ligandos *N,N*-bidentados derivados de quinolina, **115**, que han proporcionado selectividades de hasta el 84% ee con buenos rendimientos en pocas horas de reacción.<sup>137</sup> Este último tipo de ligandos ha sido empleado para preparar intermedios clave en síntesis de fármacos (véase capítulo 3).

---

<sup>137</sup>Tan, Q.; Hayashi, M. Novel *N,N*-Bidentate Ligands for Enantioselective copper(I)-Catalyzed Allylic Oxidation of Cyclic Olefins. *Adv. Synth. Catal.* **2008**, 350, 2639–2644.

## 4.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo con los antecedentes descritos en la literatura, la reacción de Kharasch-Sosnovsky parece una buena alternativa para su empleo en síntesis total de productos naturales. Sin embargo, existen una serie de inconvenientes que deben ser resueltos con anterioridad. Entre dichos problemas se pueden enumerar:

- El empleo de la olefina de partida en exceso, entre 5 y 10 equivalentes, lo cual es inviable en una síntesis donde los intermedios son de gran valor.
- Los tiempos de reacción son prolongados, oscilando entre 48 horas y semanas, y la reproducibilidad es pobre.
- Las condiciones de reacción requieren en ocasiones atmósfera inerte por la sensibilidad de los catalizadores empleados, enfriamiento o calentamiento, y con reactivos a veces complejos y de alto coste.
- La aplicabilidad hasta el momento se limita a sustratos sencillos, generalmente cicloalcanos.

Por ello se decidió abordar el estudio y optimización de esta oxidación alílica mediada por cobre, para después proceder a aplicarla en una aproximación a la síntesis de tapsigarginas.

### 4.2.1 OPTIMIZACIÓN DE LA BENZOILOXILACIÓN DE CICLOHEXENO

#### Ensayos preliminares

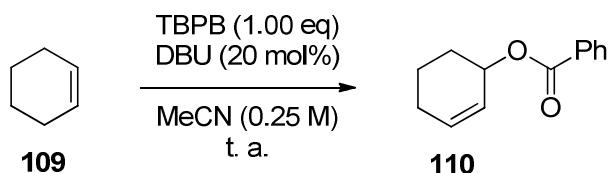
Se empleó ciclohexeno, **109**, como sustrato modelo para optimizar la oxidación alílica de alquenos con TBPB como oxidante en presencia de una fuente de cobre para dar benzoato de ciclohexenilo, **110**. Tras unos ensayos preliminares se determinó que acetona y acetonitrilo eran los mejores disolventes y que tiempos de reacción entre 24 y 48 horas a temperatura ambiente proporcionaban el producto deseado. Se limitó la cantidad de alqueno de partida a solo un equivalente, con la idea de poder extender la metodología a sustratos más complejos y de mayor valor. Estas condiciones fueron tomadas como punto de partida para el estudio de optimización, la cual se llevó a cabo empleando la cromatografía de gases como técnica analítica para determinar los rendimientos de forma rápida mediante un calibrado previo.

## Optimización univariante

En la bibliografía se ha establecido una dependencia entre el rendimiento obtenido en el éster benzoico y la fuente de cobre empleada en la reacción.<sup>138</sup> Además, en la literatura se encuentra que la presencia de ciertos aditivos como DBN, DBU o L-prolina pueden acelerar el curso de la reacción al evitar la formación de especies trinucleares de cobre que precipitan retirando el metal del ciclo catalítico.<sup>139</sup> Por tanto, se seleccionaron tres variables para realizar un estudio inicial univariante: la fuente de cobre, la presencia de aditivos derivados de aminas y la relación estequiométrica cobre/aditivo.

Para evaluar las fuentes de cobre más habituales, se realizaron ensayos de oxidación de ciclohexeno, **109**, en acetonitrilo a una concentración de 0.25 M empleando 1.00 equivalente de TBPB y un 20 mol% de DBU como aditivo (según precedentes en la literatura). El rendimiento de benzoato de ciclohexenilo, **110**, se evaluó por cromatografía de gases tras 48 horas a temperatura ambiente. En la Tabla 4.2 se muestran los resultados obtenidos.

**Tabla 4.2.** Optimización de la fuente de cobre.



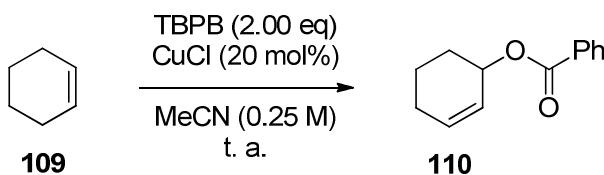
| Fuente de cobre (10 mol%)       | Rdto. 48 h (%)          |
|---------------------------------|-------------------------|
| <chem>[Cu]([MeCN])4[OTf]</chem> | 5                       |
| <chem>[Cu]([MeCN])4[PF6]</chem> | 2                       |
| <chem>[Cu]([MeCN])4[BF4]</chem> | 16                      |
| <chem>[Cu](OTf)·1/2PhH</chem>   | 10                      |
| <chem>[Cu](OTf)2</chem>         | 9                       |
| <b>CuCl</b>                     | <b>23</b>               |
| <chem>CuCl2</chem>              | 19 (4 días de reacción) |

<sup>138</sup> Andrus, M. B.; Chen, X. Catalytic Enantioselective Allylic Oxidation of Olefins with copper(I) Catalysts and New Perester Oxidants. *Tetrahedron* **1997**, 53, 16229–16240.

<sup>139</sup>(a) Muzart, J. Enantioselective Copper-Catalyzed Allylic Acetoxylation of Cyclohexene. *J. Mol. Catal.* **1991**, 64, 381–384. (b) Sekar, G.; DattaGupta, A.; Singh, V. K. Cu(OTf)<sub>2</sub> - DBN/DBU Complex as an Efficient Catalyst for Allylic Oxidation of Olefins with *Tert*-Butyl Perbenzoate. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 8435–8436. (c) Le Bras, J.; Muzart, J. Selective Copper-Catalyzed Allylic Oxidations Using a 1/1 Ratio of Cycloalkene and *Tert*-Butyl Perbenzoate. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2002**, 185, 113–117.

Como se observa, las fuentes de cobre(II) más complejas (triflato, hexafluorofosfato y tetrafluoroborato) proporcionaron los peores resultados. Por otro lado, el cobre(II) tampoco tuvo un buen comportamiento. El CuCl fue el que condujo al mejor rendimiento, lo que llevó a seleccionarlo como catalizador para subsecuentes estudios ya que además es barato y su envejecimiento al ser almacenado no afectó a la actividad.

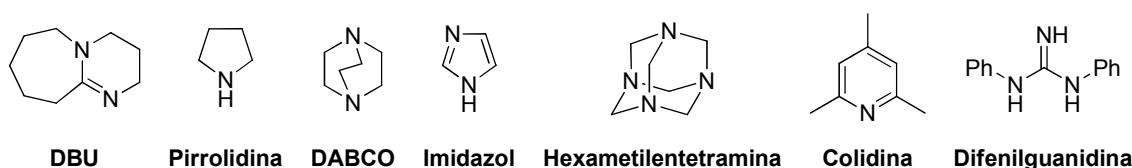
**Tabla 4.3.** Efecto de distintos aditivos.



| Aditivo (20 mol%)  | Rdto. 48 h (%) | Aditivo (20 mol%)        | Rdto. 48 h (%) |
|--------------------|----------------|--------------------------|----------------|
| DBU                | 100            | DBN                      | 47             |
| Pirrolidina        | 100            | DABCO                    | 1              |
| L-prolina          | 80             | Imidazol                 | 24             |
| Et <sub>3</sub> N  | 67             | Hexametilentetramina     | 1              |
| DIPEA              | 7              | 4-(dimetilamino)piridina | 17             |
| DIPA               | 25             | 2-(metilamino)piridina   | 10             |
| D-Valina           | 10             | Colidina                 | 5              |
| L-Tirosina         | 9              | Difenilguanidina         | 16             |
| PhNNH <sub>2</sub> | 33*            |                          |                |

\*44% en acetona.

Se decidió estudiar el efecto de distintos aditivos nitrogenados sobre la reacción. Los experimentos realizados (Tabla 4.3), con 2.00 equivalentes de TBPB, 20 mol% de CuCl y a una concentración de 0.25 M en acetonitrilo, con un 20 mol% de los distintos aditivos, se midieron tras 48 horas a temperatura ambiente. Los resultados parecen indicar que los aditivos que más aceleran la reacción son aquellos cuyo carácter de donador σ es más fuerte: DBU, pirrolidina y aminas terciarias poco impedidas.<sup>139</sup>

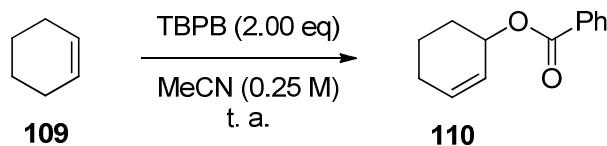


**Figura 4.7.** Algunos de los aditivos nitrogenados empleados en la optimización.

Además, parece que la formación de un quelato con el cobre(I) lleva a rendimientos superiores, pues aminas como DABCO o hexametilentetramina, con varios átomos de nitrógeno, proporcionan peores resultados, posiblemente al tener los orbitales  $sp^3$ , con el par de electrones sin compartir, orientados en diferentes direcciones. Este hecho impediría una donación simultánea de ambos átomos de nitrógeno evitando la formación de dicho quelato. Algo parecido podría pasar con los aditivos que tienen el par de electrones deslocalizado por resonancia o con impedimento estérico, factores que también dificultan la donación  $\sigma$  (imidazol, colidina, difenilguanidina, 2-(metilamino)piridina y 4-(dimetilamino)piridina). Dada la existencia de precedentes bibliográficos y su menor toxicidad, entre los mejores se escogió DBU.

Aunque se encontraron unas condiciones de reacción que ofrecían un rendimiento cuantitativo (DBU y pirrolidina), para que el proceso fuera más eficiente se estableció el tiempo de reacción en 24 horas. Así, el DBU proporcionó solo un 64% del producto **110** para este tiempo de reacción, por lo que se decidió inspeccionar la estequiometría cobre/DBU para intentar alcanzar rendimientos mayores a 24 horas.

**Tabla 4.4.** Estudio de la estequiometría cobre/DBU.



| CuCl (mol%) | DBU (mol%) | Rdto. 24 h (%) |
|-------------|------------|----------------|
| 10          | 10         | 22             |
| <b>20</b>   | <b>20</b>  | <b>64</b>      |
| 30          | 30         | 45             |
| 70          | 70         | 31             |
| 100         | 100        | 17             |
| 40          | 20         | 37             |
| 20          | 40         | 49             |

A continuación se llevaron a cabo distintos ensayos sobre ciclohexeno, **109** (0.25 M en acetonitrilo) con 2.00 equivalentes de TBPB a temperatura ambiente, variando las cantidades de CuCl y DBU (Tabla 4.4). Después de 24 horas se determinaron los rendimientos por cromatografía de gases.

A la vista de los resultados, parece necesaria una cantidad mínima del sistema catalítico para dar un rendimiento aceptable (20 mol% de CuCl y DBU), ya que tanto por debajo como por encima de esa cantidad los rendimientos disminuyen. Esto puede deberse a que al elevar la cantidad del metal se favorece la formación de especies polinucleares de cobre que no catalizan la reacción, sino que retiran la especie catalítica del sistema.<sup>140</sup>

Todos estos experimentos de optimización univariante demuestran la gran complejidad del sistema en estudio y sugieren la necesidad de una optimización más exhaustiva para encontrar mejores condiciones de reacción.

### **Optimización multivariante. El método *simplex***

Tras el estudio realizado inicialmente con ciclohexeno, **109**, se concluyó que era necesario realizar una optimización multivariante, que permitiera ajustar todas las variables simultáneamente. Debido a la complejidad del mecanismo, que implica formación de radicales libres, coordinación a especies metálicas en diferentes estados de oxidación y un reagrupamiento pericíclico, parece necesario acoplar la homólisis del TBPB con la formación del quelato entre el DBU y la especie de cobre(I) y la coordinación del radical alílico formado a partir de ciclohexeno, **109**.

Se seleccionó como técnica de optimización multivariante el método *simplex* modificado (véase capítulo 3), ya que se contaba con un buen punto de partida y en pocas iteraciones se podría alcanzar un valor óptimo.

Para ello, se decidió fijar varios factores con valores constantes, como la temperatura (25 °C), la concentración en acetonitrilo (0.25 M) y el tiempo de reacción (24 horas); y tomar tres variables, los equivalentes de TBPB, CuCl y DBU, lo que implica cuatro vértices en el *simplex* inicial, es decir, un tetraedro.

Después de 10 iteraciones, con un total de 13 experimentos (Tabla 4.5), se alcanzó un rendimiento del 100% en 24 horas, empleando 3.54 equivalentes de TBPB, 0.49 equivalentes de CuCl y 0.29 equivalentes de DBU.

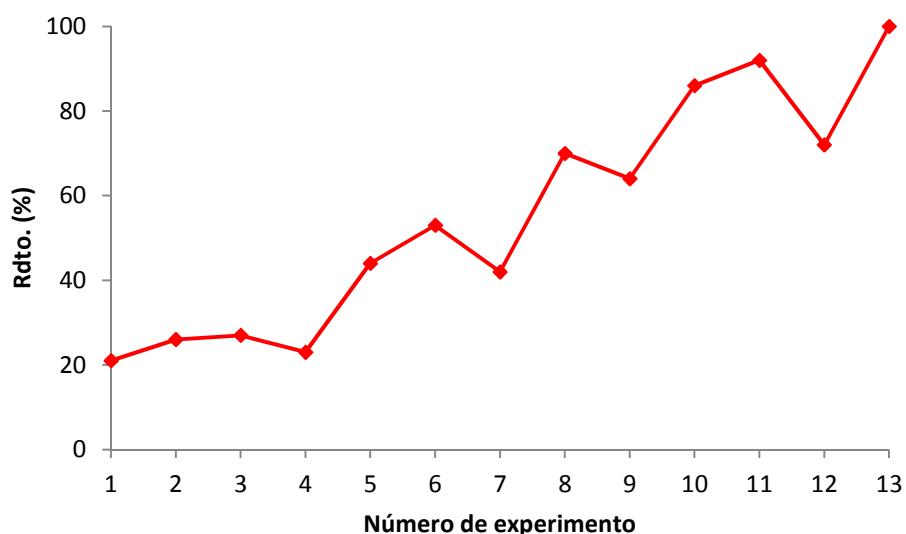
---

<sup>140</sup>Le Bras, J.; Muzart, J. Amino Acid/copper-Catalyzed Enantioselective Allylic Benzoyloxylation of Olefins in Water Promoted by Diethylene Glycol. *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, *14*, 1911–1915.

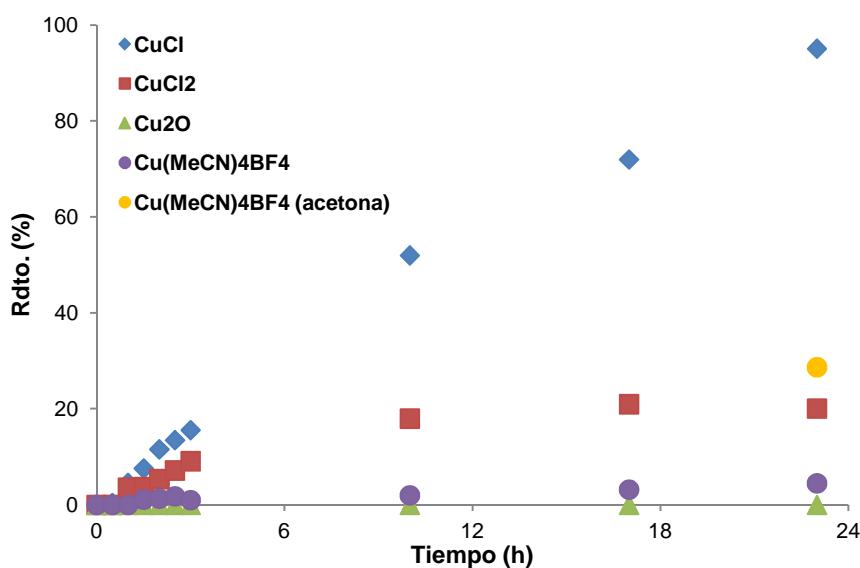
**Tabla 4.5.** Experimentos de optimización mediante el método *simplex* modificado.

| Vértice | TBPB (eq.)  | CuCl (eq.)  | DBU (eq.)   | Rdto. (%)  |
|---------|-------------|-------------|-------------|------------|
| 1       | 1.50        | 0.20        | 0.20        | 21         |
| 2       | 2.00        | 0.20        | 0.20        | 26         |
| 3       | 1.75        | 0.29        | 0.20        | 27         |
| 4       | 1.75        | 0.23        | 0.28        | 23         |
| 5       | 2.17        | 0.28        | 0.25        | 44         |
| 6       | 2.50        | 0.32        | 0.28        | 53         |
| 7       | 2.42        | 0.31        | 0.17        | 42         |
| 8       | 2.44        | 0.41        | 0.24        | 70         |
| 9       | 2.67        | 0.51        | 0.25        | 64         |
| 10      | 1.75        | 0.29        | 0.20        | 86         |
| 11      | 3.86        | 0.45        | 0.29        | 92         |
| 12      | 3.45        | 0.48        | 0.37        | 72         |
| 13      | <b>3.54</b> | <b>0.49</b> | <b>0.29</b> | <b>100</b> |

Aunque la cantidad de TBPB es alta, éste es un reactivo barato y de poca peligrosidad, por lo que la reacción optimizada se puede considerar eficiente. Por otro lado, la mayor cantidad de cobre necesaria se puede justificar por el hecho de que una mayor cantidad de oxidante requiere una mayor cantidad de cobre para su homolisis, la cual ocurriría en su esfera de coordinación, para iniciar el ciclo catalítico.<sup>129</sup>

**Figura 4.8.** Evolución del *simplex* para la oxidación alílica del ciclohexeno, 109.

En la Figura 4.8 se representa la evolución del rendimiento a medida que se realizan los experimentos sugeridos por el método *simplex*. Adicionalmente, para comprobar la efectividad de las condiciones de reacción encontradas, se llevó a cabo un estudio cinético comparativo empleando distintas fuentes de cobre. De este modo, se realizaron ensayos en los que el rendimiento se midió a diferentes tiempos de reacción (Figura 4.9). Como puede observarse, el CuCl es la especie que mejor actividad catalítica presentó, proporcionando un 95% del producto **110** en 23 horas, mientras que las otras fuentes de cobre no superaron el 29%.

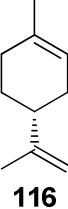
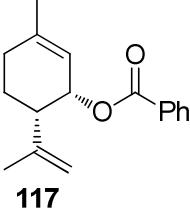
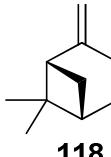
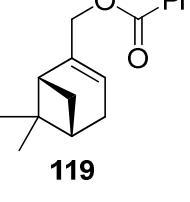
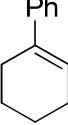
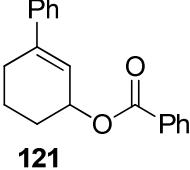
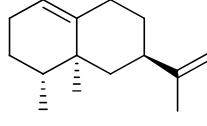
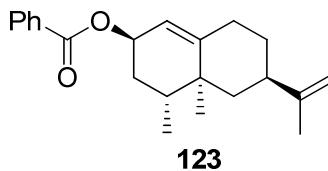


**Figura 4.9.** Estudio cinético comparativo de la oxidación alílica del ciclohexeno, **109**.

#### 4.2.2 EXTENSIÓN DE LA METODOLOGÍA A OTROS SUSTRATOS

Una vez optimizada la reacción de Kharasch-Sosnovsky para el ciclohexeno, **109**, se extendió el alcance de la reacción a otros sustratos de mayor complejidad. Sin embargo, la aplicación directa de las condiciones encontradas para el sustrato modelo no dieron los mismos resultados. Este hecho llevó a plantear una optimización individual para cada sustrato, empleando el método *simplex* dado el buen funcionamiento mostrado con anterioridad.

**Tabla 4.6.** Aplicación de la oxidación de Kharasch-Sosnovsky a sustratos complejos.

| Sustrato  | TBPB; CuCl; DBU<br>(equivalentes) | Producto   | Rdto.<br>(%) |
|---|-----------------------------------|--|--------------|
|   | 3.51; 0.22; 0.23                  |   | 46           |
|  | 3.92; 0.14; 0.36                  |  | 56           |
|  | 4.17; 0.47; 0.59                  |  | 45           |
|  | 1.81; 0.27; 0.38                  |  | 55*          |

\*75% basado en material de partida recuperado.

De la misma manera, se mantuvieron constantes la temperatura (25 °C), la concentración (0.25 M en acetonitrilo) y el tiempo de reacción (24 horas). La

optimización se llevó a cabo con tres variables: equivalentes de TBPB, CuCl y DBU. En la Tabla 4.6 se representan los sustratos utilizados, las mejores condiciones de reacción encontradas y los productos obtenidos. En la parte experimental se detallan las tablas con las distintas iteraciones realizadas (experimentos propuestos por el método con los rendimientos obtenidos en cada uno de ellos) y las gráficas de evolución del *simplex* en cada caso.

Aunque los rendimientos no fueron excelentes, se ha conseguido llevar a cabo la oxidación alílica de sustratos de mayor complejidad a los típicamente utilizados en la bibliografía, siendo la olefina el reactivo limitante en lugar del oxidante. Además, las condiciones de reacción fueron suaves, con reactivos asequibles y respetuosos con el medio ambiente, proporcionando el producto en tan solo 24 horas.

Es de destacar que únicamente se aisló un isómero del producto en cada caso, siendo la reacción diastereoselectiva cuando el material de partida es quiral. Por otro lado, la reacción también mostró regioselectividad gobernada principalmente por factores estéricos y de resonancia.<sup>141</sup>

Así, se observó una preferencia por la oxidación del enlace C-H alílico secundario frente a primario y terciario. Esto puede deberse a que cuanto mayor es la sustitución mejor se estabiliza el posible intermedio deficiente generado en el mecanismo, pero al producirse éste en la esfera de coordinación del átomo de cobre con un oxidante voluminoso, el impedimento estérico tiene un efecto relevante evitando la formación del producto de oxidación en posición terciaria.

En los casos de limoneno, **116**, y valenceno, **122**, no se produjo reacción en el isopropenilo, que daría intermedios desfavorecidos (resonancia entre posiciones primaria y terciaria), y los productos aislados, **117** y **123**, correspondieron con la oxidación alílica en una posición secundaria, procedente de un intermedio deficiente estabilizado por resonancia con una posición terciaria.

En cuanto al 1-fenilciclohex-1-eno, **120**, el producto aislado también procede de un intermedio deficiente estabilizado por al menos una forma resonante en posición terciaria, y además deslocalización por el anillo aromático, lo que condujo al producto **121**, oxidado en posición secundaria, menos impedida.

---

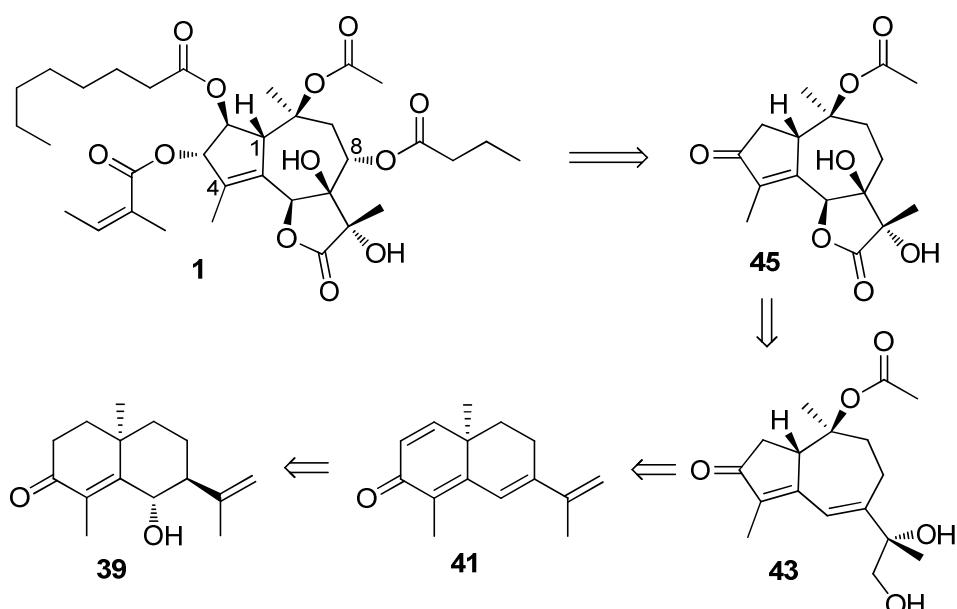
<sup>141</sup>Los factores que controlan la selectividad en las oxidaciones de enlaces C-H se discutieron de forma general en la sección 3.2 del capítulo 3.

En el caso del  $\beta$ -pineno, **118**, se obtuvo un resultado inesperado, ya que se oxidó mayoritariamente en posición primaria, posiblemente porque la posición secundaria, favorecida por factores electrónicos, se ve muy impedida por un puente metilénico por una de las caras de la molécula, y un puente dimetilmotilénico por la otra, lo que obliga a generar el producto **119**.

Todos los productos fueron caracterizados con las técnicas espectroscópicas habituales. Para determinar tanto la posición como la orientación espacial del grupo benzoiloxilo en las estructuras obtenidas, se emplearon experimentos TOCSY-1D y NOESY-1D de RMN, junto con técnicas bidimensionales (gCOSY y gHSQC).

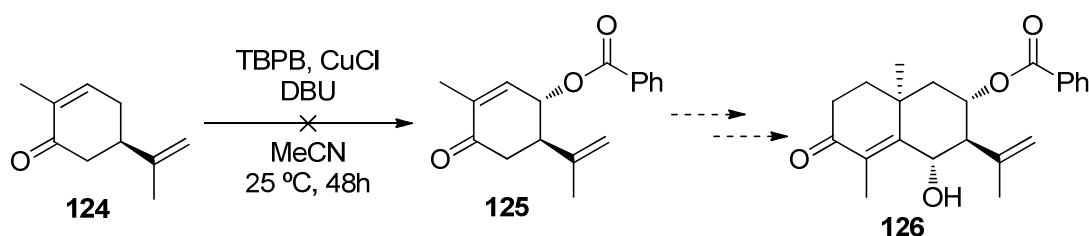
#### 4.2.3 APROXIMACIÓN A LA SÍNTESIS DE TAPSIGARGINA MEDIANTE OXIDACIONES ALÍICAS

Con la reacción de Kharasch-Sosnovsky optimizada para un número suficiente de sustratos de cierta complejidad, se decidió probar una aproximación sintética a la tapsigargina, **1**, incorporando esta transformación en la secuencia. De acuerdo a los estudios iniciales realizados por nuestro grupo, el análisis retrosintético para **1** es el representado en la Figura 4.10. Así, hay diferentes puntos en los que se podría poner a prueba la oxidación de Kharasch-Sosnovsky para funcionalizar en la posición que corresponde al C8 en la molécula objetivo.

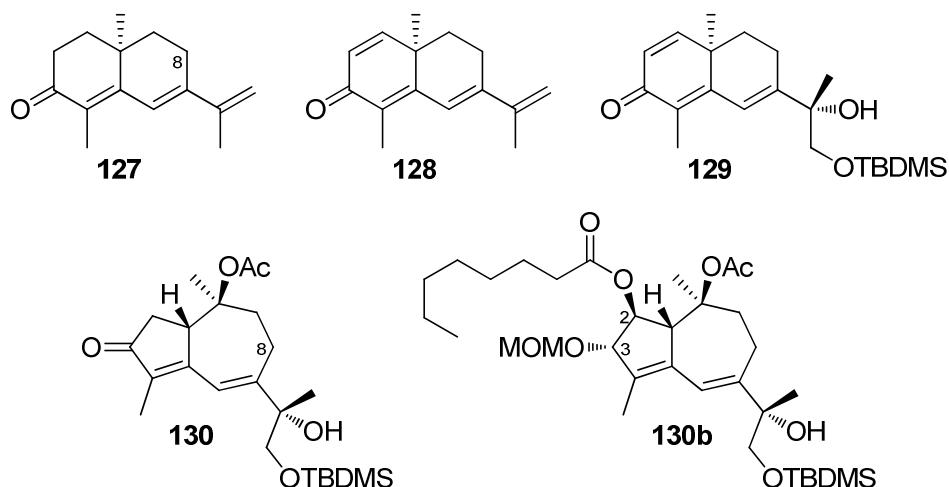


**Figura 4.10.** Análisis retrosintético de la tapsigargina, **1**.

Como primera aproximación se intentó poner a prueba las condiciones optimizadas para ciclohexeno, **109**, sobre un sustrato algo diferente, la (*R*)-carvona, **124**. El producto esperado, **125**, podría ser transformado en un derivado de la  $6\alpha$ -hidroxi-7-epi-ciperona, **39**, con un grupo benzoiloxilo en C8, compuesto **126**, con el que la secuencia sintética continuaría hasta terminar la síntesis. Tras 48 horas de reacción (Figura 4.11) solo se recuperó material de partida, lo cual confirmó que este tipo de oxidaciones requiere un doble enlace rico en electrones para funcionar, y no deficiente como en este caso, al estar conjugado a un carbonilo.

**Figura 4.11.** Ensayo de Kharasch-Sosnovsky sobre (*R*)-carvona, **124**.

Se prepararon diferentes intermedios de la secuencia establecida con anterioridad por el grupo, que fueran susceptibles de oxidación alílica en la posición C8 (Figura 4.12). Se realizaron ensayos sobre los eudesmanos **127**, **128** y **129**; y el guayano **130**, en el que el doble enlace C6-C7 no participa de forma efectiva en la conjugación al no haber coplanariedad con la enona, según estudios previos de nuestro laboratorio. Con todos ellos se pusieron a prueba las condiciones de reacción de Kharasch-Sosnovsky.

**Figura 4.12.** Sustratos ensayados con la reacción de Kharasch-Sosnovsky.

Los experimentos realizados condujeron a la recuperación del material de partida sin reaccionar (casos de **127** y **129**) o a mezclas complejas (**128** y **130**). Este hecho, junto al difícil acceso a estos intermedios sintéticos, hizo descartar una optimización individualizada de las condiciones de reacción. La posición C8, por tanto, no es fácilmente oxidable debido a la presencia de otros dobles enlaces y carbonilos en las moléculas **127-130**, lo que explica la ineffectividad de la oxidación alílica en estas condiciones de reacción. Los efectos inductivos parecen significativos sobre esta posición, y no se produce reacción con el oxidante, TBPB.

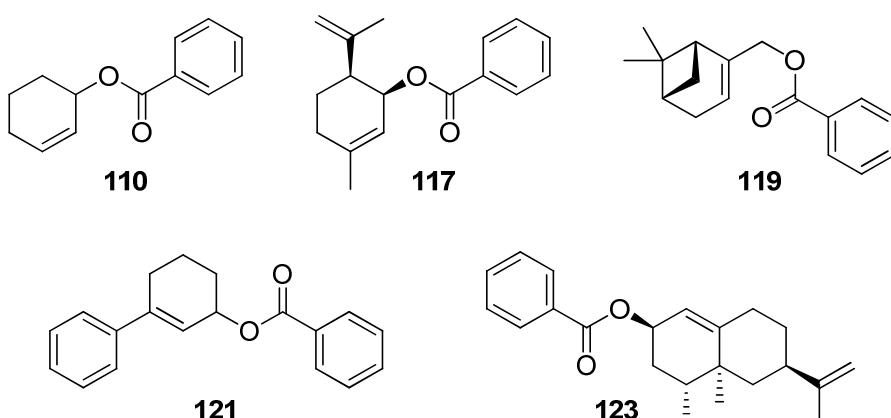
Adicionalmente, se realizaron ensayos de reacción de Kharasch-Sosnovsky sobre un derivado del guayano **130**, con un grupo hidroxilo protegido en C3 y un grupo octanoiloxilo en C2 (compuesto **130b**, véase capítulo 6 para la introducción de la

cadena de 8 átomos de carbono), para comprobar si de este modo se sorteaban los efectos de la conjugación con el carbonilo, pero tampoco dio resultados satisfactorios.

#### 4.3 RESUMEN

Después de estudiar los efectos de la fuente de cobre, los aditivos nitrogenados y la estequiometría entre ambos en la reacción de oxidación alílica de Kharasch-Sosnovsky sobre ciclohexeno, **109**, se llevó a cabo una optimización multivariante de la misma mediante el método *simplex* modificado.

El buen funcionamiento de esta herramienta, proporcionando un rendimiento del 100% del producto benzoiloxilado **110**, alentó su aplicación en la optimización de condiciones para sustratos más complejos, obteniéndose los productos **117**, **119**, **121** y **123** (Figura 4.13).<sup>142</sup> Aunque los rendimientos obtenidos fueron moderados, las suaves condiciones de oxidación, en un tiempo razonable (24 horas), con la olefina siendo el reactivo limitante, hacen interesante su aplicación en síntesis de productos naturales.



**Figura 4.13.** Productos obtenidos mediante oxidación alílica de Kharasch-Sosnovsky.

No obstante, los ensayos realizados para incorporar esta reacción en una secuencia de síntesis dirigida a la tapsigargina, **1**, no fueron fructíferos, posiblemente por la presencia de dobles enlaces conjugados con carbonilos en los sustratos ensayados, que ejercen un efecto inductivo sobre la posición C8 que se desea oxidar, haciéndola deficiente en electrones e impidiendo su reacción con el oxidante, TBPB.

<sup>142</sup>Marín-Barrios, R.; Guerra, F. M.; García-Cabeza, A. L.; Moreno-Dorado, F. J.; Massanet, G. M. Multivariate Optimization of the Kharasch–Sosnovsky Allylic Oxidation of Olefins. *Tetrahedron* **2012**, 68, 1105–1108.



## CAPÍTULO 5. LA HIDROXICARVONA COMO SINTÓN EN LA SÍNTESIS DE GUAYANOS

### 5.1 PRECEDENTES. EL INTERÉS DE LA HIDROXICARVONA COMO SINTÓN

#### 5.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

##### 5.2.1 Optimización de la oxidación de carvona en posición $\gamma$

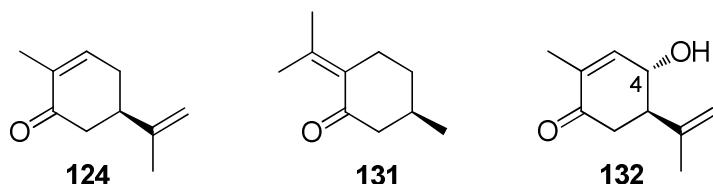
##### 5.2.2 Aproximación a la síntesis de tapsigargina a partir de 4-hidroxicarvona

##### 5.2.3 Obtención de 8-hidroxiguayanos a partir de 4-hidroxicarvona

#### 5.3 RESUMEN

### 5.1 PRECEDENTES. EL INTERÉS DE LA HIDROXICARVONA COMO SINTÓN

En la síntesis de productos naturales, y particularmente en la de sesquiterpenos, se han empleado como materiales de partida monoterpenos como la (*R*)-carvona, **124**,<sup>143</sup> o la (*R*)-pulegona, **131**,<sup>144</sup> disponibles en la naturaleza en cantidades suficientes como para facilitar su uso comercial (Figura 5.1).



**Figura 5.1.** Monoterpenos como materiales de partida en síntesis.

<sup>143</sup>(a) Ibrahim, A. A.; Golonka, A. N.; Lopez, A. M.; Stockdill, J. L. Rapid Access to the Heterocyclic Core of the Calyciphylline A and Daphnicyclidin A-Type Daphniphyllum Alkaloids via Tandem Cyclization of a Neutral Aminyl Radical. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1072–1075. (b) Wang, L.; Xu, C.; Chen, L.; Hao, X.; Wang, D. Z. Asymmetric Synthesis of the Tricyclic Core of Calyciphylline A-Type Alkaloids via Intramolecular [3 + 2] Cycloaddition. *Org. Lett.* **2014**, *16*, 1076–1079. (c) Ravindar, K.; Caron, P.-Y.; Deslongchamps, P. Total Synthesis of (+)-Cassaine Utilizing an Anionic Polycyclization Strategy. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 6270–6273. (d) Selaimia-Ferdjani, O.; Kar, A.; Chavan, S. P.; Horeau, M.; Viault, G.; Pouessel, J.; Guillory, X.; Blot, V.; Tessier, A.; Planchat, A.; Jacquemin, D.; Dubreuil, D.; Pipelier, M. Stereoselective Synthesis of a Bicyclic Norsesquiterpene Backbone - A Possible Route to Nardosinane Derivatives. *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 7083–7094.

<sup>144</sup>(a) White, J. D.; Li, Y.; Kim, J.; Terinek, M. A Novel Synthesis of (–)-Huperzine A via Tandem Intramolecular Aza-Prins Cyclization–Cyclobutane Fragmentation. *Org. Lett.* **2013**, *15*, 882–885. (b) Yuan, C.; Chang, C.-T.; Siegel, D. Syntheses of (+)-Complanadine A and Lycodine Derivatives by Regioselective [2 + 2 + 2] Cycloadditions. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5647–5668. (c) Tun, M. K. M.; Herzon, S. B. Synthesis of (R)-(+)–4-Methylcyclohex-2-Ene-1-One. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 9422–9425. (d) Williams, D. R.; Kammler, D. C.; Donnell, A. F.; Goundry, W. R. F. Total Synthesis of (+)-Apiosporamide: Assignment of Relative and Absolute Configuration. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2005**, *44*, 6715–6718.

La tendencia habitual en síntesis total de sesquiterpenos consiste en la construcción del esqueleto carbonado para su posterior funcionalización mediante oxidación selectiva de enlaces C-H, de forma similar a como ocurre en la naturaleza en las rutas biosintéticas (ver capítulo 3). No obstante, cuando la posición a funcionalizar es de difícil acceso (por ejemplo el carbono C8 en la tapsigargina, **1**), una buena estrategia podría ser la conveniente instalación del grupo funcional requerido en uno de los enlaces C-H de tales materiales de partida. De hecho, existen ya en la literatura síntesis de productos naturales en las que aparece la 4-hidroxicarvona **132** como material de partida.<sup>145</sup> Sin embargo, la preparación de este sintón, no disponible comercialmente, a partir de (*R*)-carvona, **124**, hasta el momento, es tediosa y basada en dos rutas alternativas (Figura 5.2): la primera opción implica una secuencia de nueve pasos publicada por Yoshikoshi y col. en 1985;<sup>146</sup> y como segunda opción, Yang y col. publicaron en 2010 la formación de un silyl dienol éter a partir de **124**, cuya oxidación con nitrosobenceno daría lugar a la 4-hidroxicarvona **132**.<sup>147</sup>

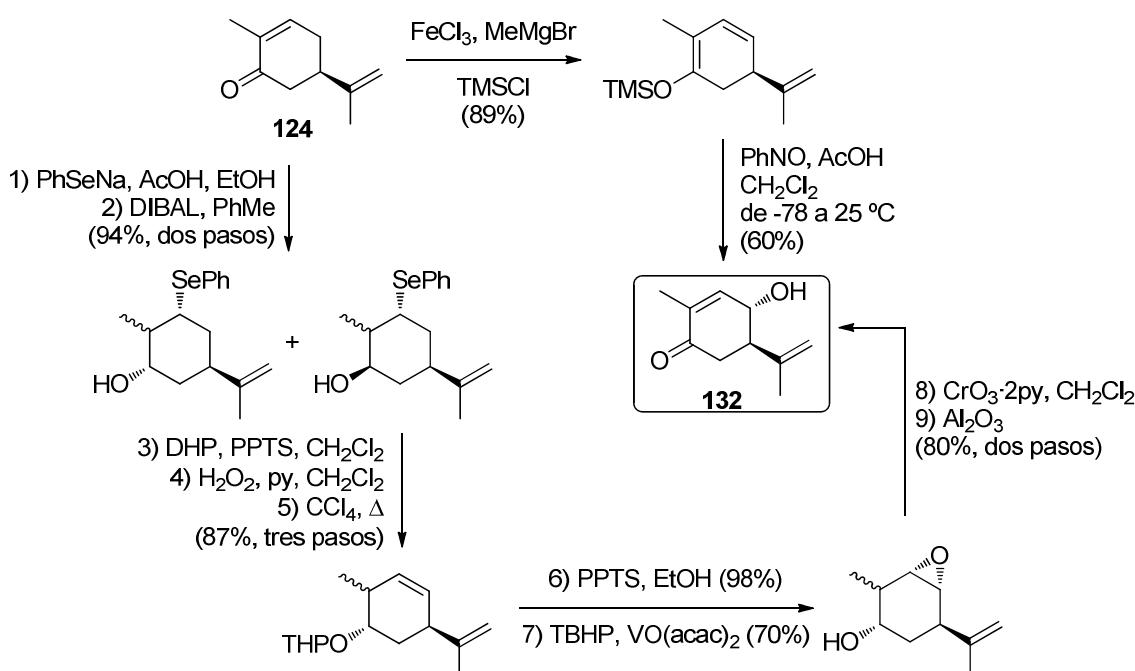


Figura 5.2. Síntesis de 4-hidroxicarvona **132** a partir de (*R*)-carvona, **124**.

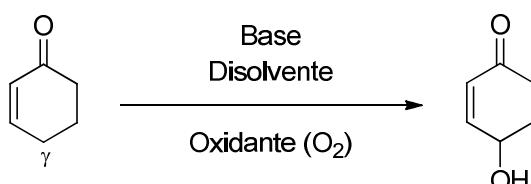
<sup>145</sup>(a) Huang, J.; Yang, J. R.; Zhang, J.; Yang, J. Total Synthesis and Structure-Activity Relationship Study of the Potent cAMP Signaling Agonist (-)-Alotaketal A. *Org. Biomol. Chem.* **2013**, *11*, 3212–3222. (b) Huang, J.; Yang, J. R.; Zhang, J.; Yang, J. Total Synthesis of the Potent cAMP Signaling Agonist (-)-Alotaketal A. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 8806–8809. (c) Miyashita, M.; Suzuki, T.; Yoshikoshi, A. Stereoselective Total Synthesis of (-)-Picrotoxinin and (-)-Picrotin. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 3728–3734.

<sup>146</sup>Miyashita, M.; Suzuki, T.; Yoshikoshi, A. Highly Efficient Conversion of (-)-Carvone to (+)-5β-Hydroxycarvone. *J. Org. Chem.* **1985**, *50*, 3377–3380.

<sup>147</sup>Tian, G.-Q.; Yang, J.; Rosa-Perez, K.  $\gamma$ -Oxygenation of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Esters by Vinylogous O-Nitroso Mukaiyama Aldol Reaction. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 5072–5074.

Teniendo en cuenta que la (*R*)-carvona, **124**, presenta un carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado en su estructura, la hidroxilación directa del enlace C-H en la posición  $\gamma$  podría servir como método de obtención en un solo paso de la 4-hidroxicarvona **132**. De este modo, una síntesis planteada a partir de este sintón resultaría más eficiente, pero es necesario conseguir unas condiciones de reacción que permitan llevar a cabo esta transformación con un rendimiento aceptable.

### Antecedentes de la hidroxilación con oxígeno atmosférico de carbonilos $\alpha,\beta$ -insaturados



**Figura 5.3.** Hidroxilación de enonas en posición  $\gamma$ .

Tradicionalmente la hidroxilación de carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados (enonas) con oxígeno molecular como oxidante para dar lugar a la  $\gamma$ -hidroxienona se ha llevado a cabo en presencia de una base (Figura 5.3).<sup>148</sup> En los años 50, los trabajos de Hawkins<sup>149</sup> y McQuillin<sup>150</sup> acerca del mecanismo de esta reacción indicaron que la formación del enolato termodinámico es necesaria para la posterior incorporación de la función oxigenada, mediante el ataque electrofílico de oxígeno singlete.

A pesar de las potenciales ventajas que esta transformación puede presentar, su aplicación en síntesis de productos naturales no está muy extendida, ya que la reacción suele conducir a mezclas complejas, formadas por epóxidos, productos de sobreoxidación o moléculas con enlace O-O que sufren reacciones laterales. Todo ello dificulta el aislamiento del producto deseado, conduciendo además a bajos rendimientos.<sup>151</sup>

<sup>148</sup>(a) Treibs, W. Zur Autoxydation  $\alpha,\beta$ -Ungesättigter Ketone (II. Mitteil). *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft (A B Ser.)* **1931**, 64, 2178–2184. (b) Zur Kenntniss Der Reactionen Ungesättigter Ketone. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1904**, 330, 185–228. (c) Harries, C. Ueber Autoxydation Des Carbons. *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft* **1901**, 34, 2105–2106.

<sup>149</sup>Hawkins, E. G. E. Autoxidation of  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3288–3290.

<sup>150</sup>Howe, R.; McQuillin, F. J. 303. The Hydroxylation of Some  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones by Molecular Oxygen. *J. Chem. Soc.* **1958**, 1513–1518.

<sup>151</sup>A. A. Frimer en *The Oxygenation of Enones* (Eds.: S. Patai, Z. Rappoport), John Wiley & Sons, Chichester, UK, **1989**, pp. 781-921.

Cabe destacar la metodología de oxidación de ciperonas desarrollada por nuestro grupo de investigación, donde el tratamiento del material de partida con una disolución de potasa metanólica permitió obtener 6-hidroxiciperonas por agitación en atmósfera abierta durante 18 horas.<sup>152</sup> En un estudio de nuestro grupo, paralelo al presente trabajo, se ha conseguido la hidroxilación de enonas promovida por un óxido mixto de cobre y aluminio (Cu-Al Ox), en la que la catálisis heterogénea fue optimizada mediante Diseño de Experimentos.<sup>153</sup>

Recientemente, la química del cobre ha recibido una especial atención, como se puede deducir del creciente número de metodologías sintéticas que están apareciendo en la literatura, basadas en catalizadores de este metal.<sup>154</sup> Destacan reacciones donde el cobre cataliza oxidaciones aeróbicas,<sup>155</sup> de forma particular la  $\gamma$ -hidroxilación de enonas. En estas reacciones, este metal actúa tanto acelerando la formación de la  $\gamma$ -hidroxienona como reduciendo el número de subproductos, evitando entre otros la aparición de epóxidos,<sup>156</sup> lo cual conduce a mezclas de reacción más fáciles de procesar. Por todo ello, se ve acentuado el interés como herramienta sintética de la  $\gamma$ -hidroxilación, ya que esta reacción, catalizada por cobre y empleando oxígeno del aire como oxidante, puede ser optimizada para incrementar su eficiencia.

---

<sup>152</sup> Aladro, F. J.; Guerra, F. M.; Moreno-Dorado, F. J.; Bustamante, J. M.; Jorge, Z. D.; Massanet, G. M. Enantioselective Synthesis of (+)-Decipienin A. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 2171–2178.

<sup>153</sup> García-Cabeza, A. L.; Marín-Barrios, R.; Azarken, R.; Moreno-Dorado, F. J.; Ortega, M. J.; Vidal, H.; Gatica, J. M.; Massanet, G. M.; Guerra, F. M. DoE (Design of Experiments) Assisted Allylic Hydroxylation of Enones Catalysed by a Copper-Aluminium Mixed Oxide. *European J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 8307–8314.

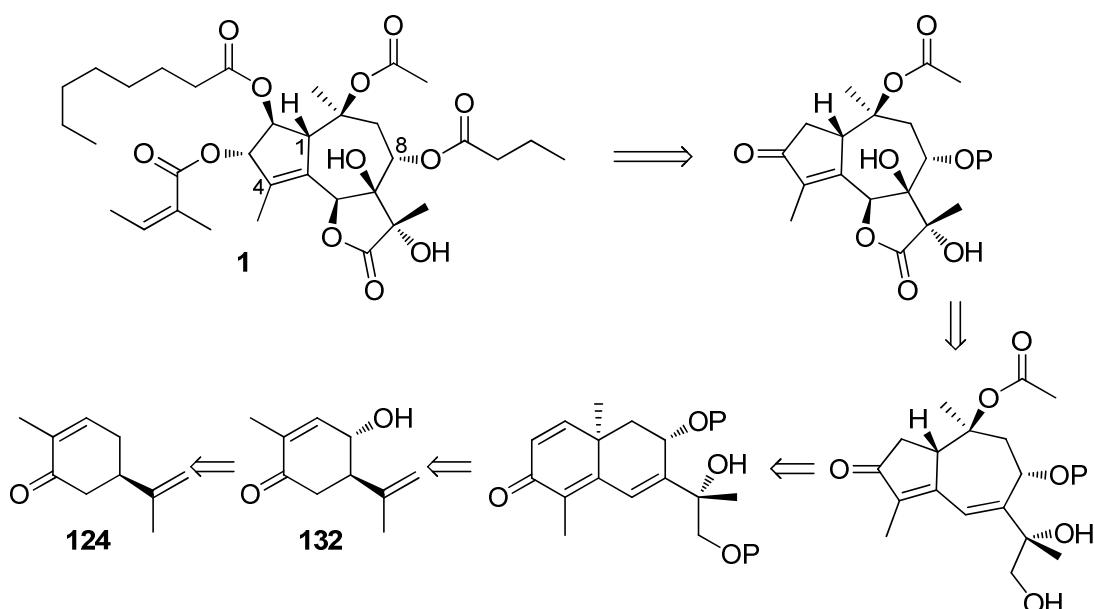
<sup>154</sup> (a) Yang, D.; Fu, H. Copper-Mediated Cyclization Reactions. New Entries to Heterocycles. In *Copper-Mediated Cross-Coupling React.*; John Wiley & Sons, Inc., 2014; pp. 533–588. (b) Casitas, A.; Ribas, X. The Role of Organometallic copper(III) Complexes in Homogeneous Catalysis. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 2301–2318. (c) Zhao, X.; Zhang, Y.; Wang, J. Recent Developments in Copper-Catalyzed Reactions of Diazo Compounds. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 10162–10173. (d) Diez-Gonzalez, S. N-Heterocyclic Carbenes in Copper-Catalyzed Reactions. In *Ideas Chem. Mol. Sci.: Adv. Synth. Chem.*; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010; pp. 43–66. (e) Surry, D. S.; Buchwald, S. L. Diamine Ligands in Copper-Catalyzed Reactions. *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 13–31.

<sup>155</sup> Allen, S. E.; Walvoord, R. R.; Padilla-Salinas, R.; Kozlowski, M. C. Aerobic Copper-Catalyzed Organic Reactions. *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 6234–6458.

<sup>156</sup> Richardson, W. H. Metal Ion Decomposition of Hydroperoxides. IV. Kinetics and Products of Copper Salt Catalyzed Decomposition of *t*-Butyl Hydroperoxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88*, 975–979.

## 5.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

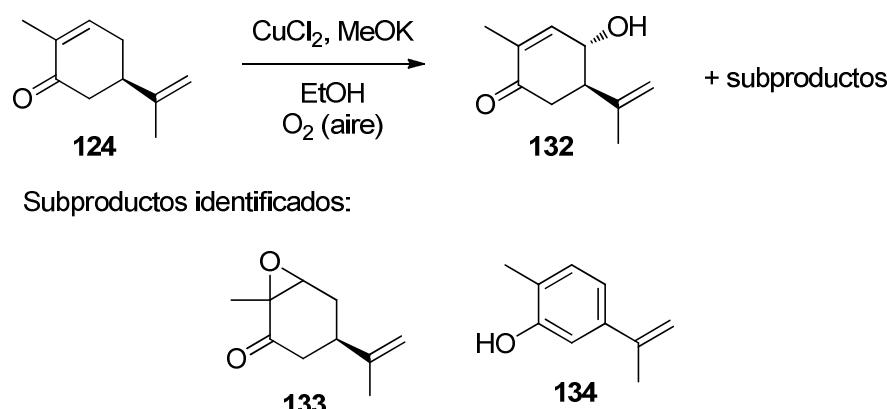
Dado que los intentos de funcionalización alílica tanto del esqueleto de eudesmano como del de guayano a través de la reacción de Kharasch-Sosnovsky no dieron resultado en la aproximación a la síntesis de tapsigargina, **1** (capítulo 4), se planteó una ligera variación del análisis retrosintético, incorporando la oxidación de la (*R*)-carvona, **124**, en posición  $\gamma$  como primera etapa (Figura 5.4). De este modo, el grupo hidroxilo deseado en la posición C8 de la molécula objetivo sería introducido en el primer paso de la síntesis, siendo la 4-hidroxicarvona **132** el sintón clave. No obstante, esta transformación no cuenta con una metodología general y es por tanto necesaria una optimización previa.



**Figura 5.4.** Análisis retrosintético modificado para la tapsigargin, **1**.

### 5.2.1 OPTIMIZACIÓN DE LA OXIDACIÓN DE CARVONA EN POSICION $\gamma$

Estudios iniciales de nuestro grupo de investigación permitieron obtener unas condiciones de reacción en las que la (*R*)-carvona, **124**, se oxidaba al aire dando 4-hidroxicarvona **132** en presencia de metóxido potásico y  $\text{CuCl}_2$  en etanol como disolvente (Figura 5.5). Sin embargo, los bajos rendimientos y la escasa reproducibilidad hicieron necesario acometer una optimización que garantizara la utilidad de esta reacción como paso inicial de una síntesis total.



**Figura 5.5.** Hidroxilación al aire con  $\text{CuCl}_2$  de la (*R*)-carvona, **124**.

### Ensayos exploratorios

Como primer paso, se realizó una serie de ensayos exploratorios para observar cómo afectan las distintas variables en la reacción. Las variables y los rangos seleccionados fueron los siguientes:

- Equivalentes de  $\text{CuCl}_2$ : aunque pueda actuar como catalizador de la reacción, su oxidación aeróbica está favorecida por lo que la especie catalítica podría salir del ciclo haciendo necesario adicionar una cantidad estequiométrica. Se estableció 0.20 equivalentes como mínimo y 2.00 equivalentes como máximo.
- Equivalentes de metóxido potásico: de la misma manera, se deseaba comprobar si su papel es o no catalítico, ya que según la bibliografía la base actúa formando el enolato termodinámico. Sin embargo, su consumo en reacciones laterales podría hacer necesaria la adición de un exceso. El límite inferior por tanto se estableció en 0.50 equivalentes y el superior en 5.00.
- Concentración en etanol: se tomó como mínimo 0.16 molar y como máximo 0.64 molar, valores que aseguran la solubilidad de las especies reaccionantes.

La temperatura no se incorporó en el estudio y se mantuvo a 25 °C ya que previamente se observó que el calentamiento conduce a la desaparición del producto deseado, provocando la aromatización del mismo (producto **134**). Además se realizaron pruebas de reacciones bajo atmósfera enriquecida en oxígeno, mediante burbujeo de este gas, pero no se encontró una diferencia notable con respecto a los

ensayos preliminares en atmósfera abierta al aire, por lo que el estudio se llevó a cabo de este modo.

Se plantearon 4 experimentos de acuerdo a una matriz de Plackett-Burman, a la que se adicionaron 3 experimentos más para incluir puntos centrales. El tiempo de reacción no se incorporó en el estudio pero se realizaron medidas a las 24 y a las 48 horas, para ver su efecto. Todas las reacciones (correspondientes a 7 experimentos en total) se realizaron de forma simultánea, agitando al aire y a una escala de 1.60 mmoles de material de partida. Los rendimientos fueron determinados mediante cromatografía de gases empleando como estándar interno octadecano. Los resultados se muestran en la Tabla 5.1.

**Tabla 5.1.** Resultados de los experimentos exploratorios.

| Exp. | CuCl <sub>2</sub> (eq.) | MeOK (eq.) | Conc. (M) | Rdto. (%) |      |
|------|-------------------------|------------|-----------|-----------|------|
|      |                         |            |           | 24 h      | 48 h |
| 1    | 2.00                    | 0.50       | 0.16      | 0         | 0    |
| 2    | 2.00                    | 5.00       | 0.16      | 18        | 17   |
| 3    | 0.20                    | 5.00       | 0.64      | 0*        | 0*   |
| 4    | 0.20                    | 0.50       | 0.64      | 8         | 10   |
| 5    | 1.10                    | 0.50       | 0.64      | 0         | 0    |
| 6    | 0.20                    | 2.75       | 0.64      | 0*        | 0*   |
| 7    | 0.20                    | 5.00       | 0.40      | 0*        | 0*   |

\*Se detectó la formación del derivado epoxidado **133**.

A la vista de los resultados, parece necesaria una mínima cantidad de cobre para que la reacción transcurra con un rendimiento moderado, así como para evitar la formación del epóxido, según los ensayos 2 y 3 en la Tabla 5.1. Por otro lado, el rendimiento parece verse favorecido por un incremento de la cantidad de metóxido potásico (comparando los ensayos 1 y 2), y por una disminución de la concentración en etanol. Además, el aumento de rendimiento con el tiempo en los experimentos, en los que ha sido medible la cantidad de 4-hidroxicarvona **132** formada, no parece significativo al pasar de 24 a 48 horas.

### Selección y optimización del sistema oxidante

Estos resultados, poco alentadores en principio, hicieron plantear la posibilidad de emplear un sistema oxidante, complementario al oxígeno del aire, con el objeto de

incrementar los rendimientos. Dado que el epóxido **133** se había detectado en algunos experimentos, y ya que existen referencias que apoyan la hipótesis de un mecanismo vía epoxidación del enolato termodinámico y posterior apertura para conducir a la  $\gamma$ -hidroxienona,<sup>155</sup> se pusieron a prueba cuatro sistemas oxidantes que pueden dar lugar a dicha epoxidación.

Así, se seleccionaron monopersulfato de potasio ( $\text{KHSO}_5$ , Oxone), monoperoxiftalato de magnesio (MMPP), *tert*-butilhidroperóxido (TBHP) y la combinación agua oxigenada/yoduro sódico ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaI}$ ). Los dos primeros oxidantes son reactivos típicos de epoxidación de dobles enlaces. El TBHP es un oxidante clásico en reacciones de oxidación catalizadas por metales de transición. La combinación  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaI}$  induce a la formación *in situ* de oxígeno molecular, lo que podría favorecer la reacción deseada conduciendo a mayores rendimientos.

**Tabla 5.2.** Ensayos con distintos oxidantes.

| Exp. | Oxidante                          | Rdto. (%) |
|------|-----------------------------------|-----------|
| 1    | Oxone                             | 16        |
| 2    | MMPP                              | 0         |
| 3    | TBHP                              | 9         |
| 4    | $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaI}$ | 44        |

Se realizaron 4 ensayos simultáneos, con 1.00 mmol de (*R*)-carvona de partida, **124**, 2.00 equivalentes de  $\text{CuCl}_2$ , 5.00 equivalentes de metóxido potásico en etanol a una concentración de 0.16 M, y cada uno de ellos con 1.00 equivalente del oxidante correspondiente, excepto para la combinación  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaI}$  que fue de 2.00 y 1.00 respectivamente. Los rendimientos de 4-hidroxicarvona **132**, determinados por cromatografía de gases a las 24 horas, se muestran en la Tabla 5.2.

Como puede observarse, solo el par  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaI}$  ofreció un rendimiento moderado, de un 44%. En el caso del Oxone, solo se detectó un 16% de rendimiento, acompañado únicamente de material de partida, sin observarse ningún subproducto epoxidado. MMPP y TBHP ofrecieron mezclas complejas.

Una vez seleccionado el par  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{NaI}$  como mejor sistema oxidante, se realizaron una serie de ensayos para estudiar el papel de cada reactivo en la hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**. En un total de 6 experimentos se fue suprimiendo cada uno de los reactivos, de acuerdo con la Tabla 5.3, obteniéndose los resultados que se muestran.

Todas las reacciones se llevaron a cabo con 1.00 mmol de material de partida, a una concentración de 0.16 M en etanol. Los rendimientos se midieron por cromatografía de gases a las 24 horas.

**Tabla 5.3.** Estudio del papel de cada reactivo.

| Exp. | CuCl <sub>2</sub> (eq.) | MeOK (eq.) | Nal (eq.) | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (eq.) | Rdto. (%) |
|------|-------------------------|------------|-----------|-------------------------------------|-----------|
| 1    | 2.00                    | 5.00       | 1.00      | 2.00                                | 44        |
| 2    | -                       | 5.00       | 1.00      | 2.00                                | 1*        |
| 3    | 2.00                    | -          | 1.00      | 2.00                                | 0**       |
| 4    | 2.00                    | 5.00       | -         | 2.00                                | 28        |
| 5    | 2.00                    | 5.00       | 1.00      | -                                   | 30        |
| 6    | -                       | -          | 1.00      | 2.00                                | 0**       |

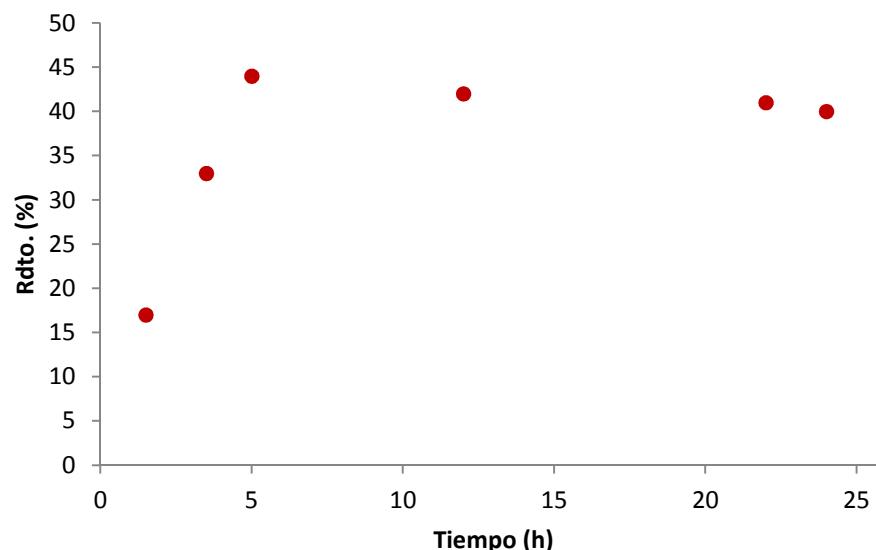
\*Se detecta el epóxido **133**.

\*\*No hay reacción.

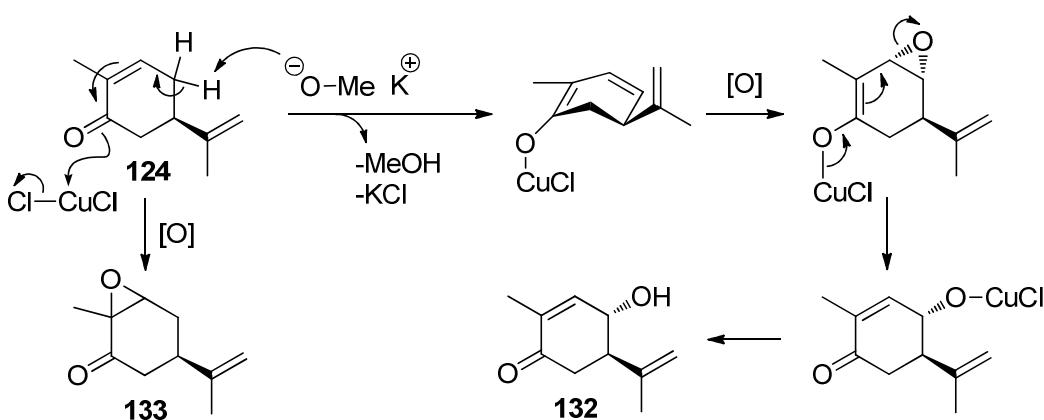
Los datos obtenidos parecen indicar que sólo son imprescindibles para la reacción el CuCl<sub>2</sub> y el metóxido potásico, sin los cuales la reacción no comienza. De acuerdo con el experimento 2 en la Tabla 5.3, la función del CuCl<sub>2</sub> consistiría en evitar la epoxidación directa de la enona por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en medio básico; ya que, en su ausencia, se detectó el correspondiente producto **133**. Los experimentos 3 y 6 confirman la necesidad de metóxido potásico para formar el enolato termodinámico como paso previo para la obtención de la 4-hidroxicarvona **132**.

Aunque tanto el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como el Nal se pueden suprimir (según los experimentos 4 y 5, en los que también se obtuvo el producto **132**), su papel como aditivos es importante en tanto que incrementan el rendimiento, por separado (comparando con el experimento 2 de la Tabla 5.1) y más aún en conjunto (experimento 1 en la Tabla 5.3). El papel de ambos aditivos podría consistir en la formación de una alta concentración local de oxígeno molecular.

Para intentar reducir el tiempo de reacción, se estudió la cinética del proceso mediante medidas de rendimiento a distintos intervalos de tiempo (Figura 5.6). Para ello, se realizó un ensayo con las mejores condiciones encontradas hasta el momento y se tomaron alícuotas para medir el rendimiento por cromatografía de gases. Los resultados parecen indicar que la conversión se estabiliza después de 5 horas.



**Figura 5.6.** Estudio cinético de la  $\gamma$ -hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**.



**Figura 5.7.** Propuesta mecanística para la  $\gamma$ -hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**.

Con estos resultados, y a partir de la información presente en la literatura,<sup>157</sup> fue posible realizar una propuesta mecanística (Figura 5.7). Si bien ningún intermediario de reacción ha sido identificado, la formación del epóxido **133** como subproducto mayoritario y las observaciones recogidas en las Tablas 5.2 y 5.3, llevaron a plantear la hipótesis de una epoxidación del enolato termodinámico como paso clave de oxigenación del material de partida.

<sup>157</sup>(a) Russell, G. A.; Bemis, A. G. The Oxidation of Carbanions. I. Oxidation of Triaryl Carbanions and Other Tertiary Carbanions. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, 88, 5491-5497. (b) Gersmann, H. R.; Nieuwenhuis, H. J. W.; Bickel, A. F. The Mechanism of Autoxidations in Alkaline Media. *Tetrahedron Lett.* **1963**, 4, 1383-1385. (c) Volger, H. C.; Brackman, W.; Lemmers, J. W. F. M. The Copper-Catalysed Oxidation of Unsaturated Carbonyl Compounds Part III: Oxidation of  $\alpha,\beta$ - and  $\beta,\gamma$ -Unsaturated Aldehydes and Ketones by Oxygen in the Presence of Cupric Complexes. *Recl. des Trav. Chim. des Pays-Bas* **1965**, 84, 1203-1229.

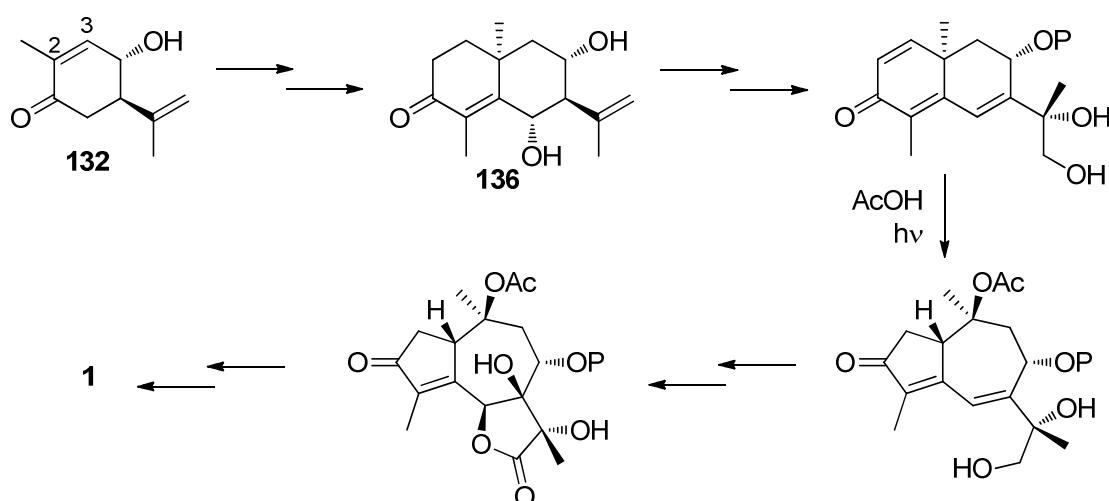
Así, el enolato termodinámico estabilizado por coordinación a un átomo de cobre sufriría tal epoxidación, presumiblemente radicalaria dada la participación de la molécula de oxígeno. La posterior apertura del enolato epoxidado regeneraría el grupo carbonilo, dando lugar al producto hidroxilado en posición  $\gamma$ . El impedimento estérico producido por el grupo isopropenilo en C5 explicaría la formación preferencial del diasteroisómero 4 $\alpha$ -OH. A su vez, dicho grupo isopropenilo no sufriría epoxidación dada la preferencia del sistema oxidante por actuar sobre el enolato formado, con mayor densidad electrónica.

Posteriormente se evaluaron distintos aditivos nitrogenados, ya que la formación de complejos por parte de estos aditivos con especies de cobre podría ayudar a incrementar los rendimientos estabilizando a la especie catalítica, la cual no se consumiría por oxidaciones laterales. Se realizaron ensayos con distintas bases nitrogenadas, entre ellas DBN, DBU, 2-(metilamino)piridina o imidazol (véase parte experimental). En ninguno de los ensayos realizados se superó el 1% de rendimiento, por lo que se descartó el empleo de aditivos nitrogenados en esta reacción.

En conclusión, después de la optimización, las mejores condiciones encontradas para la hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**, para dar 4-hidroxicarvona **132** fueron: 2.00 equivalentes de CuCl<sub>2</sub>, 5.00 equivalentes de metóxido potásico, 1.00 equivalente de NaI, 2.00 equivalentes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en etanol a 0.16 M de concentración agitando al aire durante 5 horas. El rendimiento medido por cromatografía de gases resultó del 44%, y del 40% de producto aislado, tras incrementar la escala hasta 4.00 mmoles de material de partida. El producto se obtuvo en una relación diasteromérica de 3:1 a favor del epímero 4 $\alpha$ -OH según experimentos nOe en RMN, que es el que tiene la configuración adecuada para continuar la secuencia hacia la tapsigargina, **1**. Mediante HPLC fue posible purificar el diasteroisómero mayoritario para su caracterización por métodos espectroscópicos.

### 5.2.2 APROXIMACIÓN A LA SÍNTESIS DE TAPSIGARGINA A PARTIR DE 4-HIDROXICARVONA

Para abordar la aproximación hacia la síntesis de la tapsigargina, **1**, de acuerdo con el análisis retrosintético planteado en la Figura 5.4, se decidió emplear la reacción de  $\gamma$ -hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**, optimizada en el apartado anterior. El rendimiento conseguido fue de un 40% de producto aislado, en tan solo 5 horas de reacción, por lo que resulta ventajoso frente a los dos métodos de obtención de 4-hidroxicarvona **132** publicados con anterioridad. Por un lado, la ruta de Yoshikoshi<sup>146</sup> implica 9 pasos de reacción con un rendimiento global del mismo orden. Por otro lado, la reacción nitroso-aldólica a partir del silil dienol éter, propuesta por Yang,<sup>147</sup> presentó no más de un 31% de rendimiento cuando se reprodujo en el laboratorio.

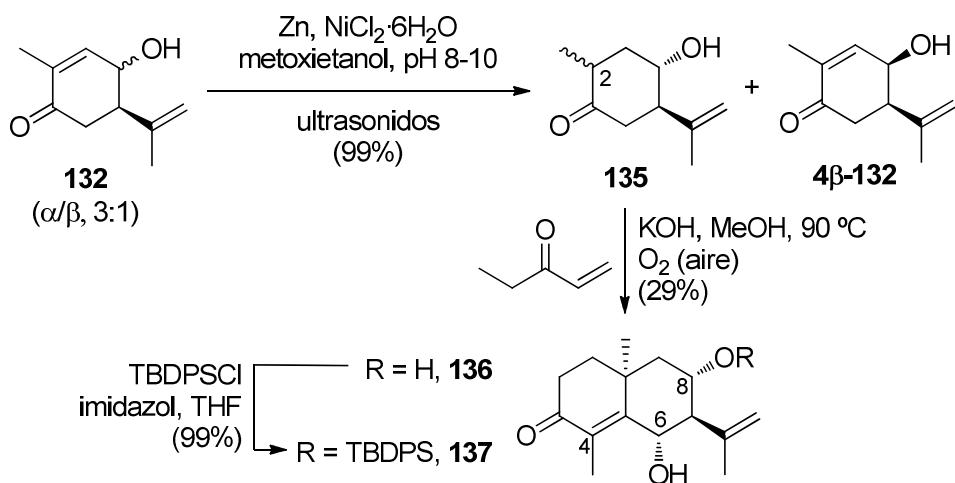


**Figura 5.8.** Propuesta de síntesis de la tapsigargina, **1**.

La ruta sintética planteada (Figura 5.8) implica un primer paso de reducción del doble enlace C2-C3 en **132** para poder llevar a cabo una posterior condensación con etil vinil cetona (anelación de Robinson), obteniéndose un derivado de ciperona hidroxilada en C6 y C8, compuesto **136**. Para ello, tras un sondeo en la literatura se encontraron unas condiciones en las que se puede llevar a cabo dicha reducción, de forma selectiva (sin afectar al doble enlace del isopropenilo), mediante tratamiento en un baño de ultrasonidos, en medio básico tamponado ( $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NH}_3$ , pH 8-10) con una combinación de zinc y  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , en metoxietanol como disolvente (Figura 5.9).<sup>158</sup> La reacción, que fue monitorizada mediante cromatografía de gases, alcanzó una alta

<sup>158</sup>Petrier, C.; Luche, J.-L. Ultrasonically Improved Reductive Properties of an Aqueous  $\text{Zn-NiCl}_2$  System. 2. Regioselectivity in the Reduction of (-)-Carvone. *Tetrahedron Lett.* **1987**, 28, 2351–2352.

conversión tras 4 horas, dando una mezcla de epímeros en C2 de la 4-hidroxi-2,3-dihidrocavona, **135**. La reacción se llevó a cabo partiendo de la mezcla 3:1 de los diastereoisómeros **132** obtenidos de la hidroxilación de la (*R*)-cavona, **124**, en la que el epímero minoritario, 4 $\beta$ -OH, no reaccionó. Los dos epímeros en C2 de **135** no fueron separados ya que ambos conducen al mismo enolato en las condiciones de anelación de Robinson, y por tanto al mismo diastereoisómero del derivado de ciperona; no obstante, la mezcla de epímeros **135** se caracterizó tras la purificación de una alícuota en HPLC.



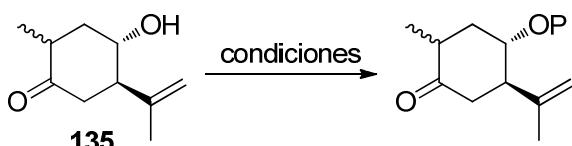
**Figura 5.9.** Obtención de 6,8-dihydroxyciperona **136** y **137**.

La obtención de la 6,8-dihydroxyciperona **136** a partir de **135**, tras hidroxilación en atmósfera de aire, se produjo con un 29% de rendimiento sobre producto aislado por cromatografía en columna, en la que se separaron los restos del epímero **4 $\beta$ -132**. Dado que los pasos siguientes implican una deshidratación del hidroxilo en C6 y una deshidrogenación con DDQ, se protegió de forma selectiva el grupo hidroxilo en la posición C8, empleando TBDPSCl, que al ser un reactivo voluminoso entró preferiblemente en la posición menos impedida, sin afectar al hidroxilo en C6, bloqueado por la cercanía del metilo en C4. Aunque se obtuvo una buena conversión, la purificación del producto **137** en esta reacción de protección resultó complicada, quedando restos del silano, que se adicionó en exceso.

El bajo rendimiento en la anelación con etil vinil cetona y las dificultades en la purificación del producto **137** llevaron a plantear la protección previa del alcohol **135**. De esta manera, con el grupo hidroxilo protegido se evitarían reacciones laterales en el medio básico de la anelación, y un grupo protector alternativo al silano podría proporcionar un producto más fácil de aislar. Se descartaron protectores inestables en

medios básicos, como otros silanos y ésteres, y se seleccionaron los que se muestran en la Tabla 5.4.

**Tabla 5.4.** Selección del grupo protector para 4-hidroxi-2,3-dihidrocavrona, 135.



| Protector           | Condiciones   | Comentarios            |
|---------------------|---|------------------------|
| <b>t</b> -Butilo    | Boc <sub>2</sub> O, Mg(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> cat., 40 °C            | 38% en 12 horas        |
| <b>Bencilo</b>      | BnBr, NaH, DMF, 0 °C  | Mezcla compleja        |
|                     | BnBr, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , dimetoxietano, 80 °C                   | Mezcla compleja        |
| <b>Metoximetilo</b> | MOMCl, DIPEA, DMAP, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 0 °C                    | 45% en 12 horas        |
|                     | MOMCl, NaI, THF, 25 °C  | No hay reacción        |
|                     | MOMCl, K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , DMF, 25 °C                            | No hay reacción        |
|                     | MOMCl, DIPEA, Et <sub>3</sub> N, NaI, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , 25 °C | 54% en 12 horas        |
|                     | MOMCl, DIPEA, DMAP, THF, 80 °C  | <b>94% en 12 horas</b> |

El grupo *tert*-butilo ofrece la ventaja de tener una gran estabilidad ante distintas condiciones de reacción, aunque ello también implicaría una dificultad añadida en el momento de su eliminación, que requiere el tratamiento con ácidos de Lewis.<sup>159</sup> Sin embargo, el rendimiento después de cromatografía en columna resultó tan solo de un 38%, demasiado bajo para una protección en la que se busca eficiencia.

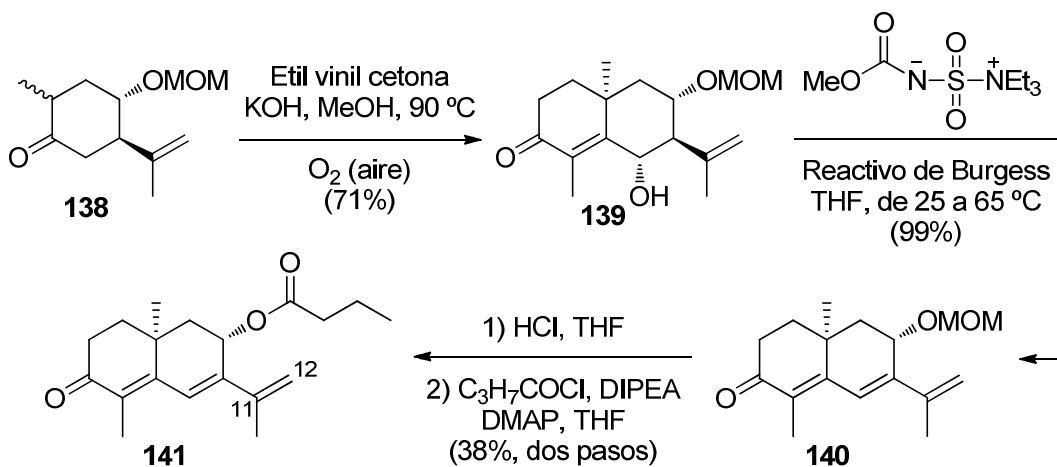
Como alternativa se seleccionó el grupo bencilo, otro protector de cierta estabilidad y que ofrece mayor versatilidad para su eliminación (se podría elegir llegar al momento entre hidrogenación catalítica, oxidación fotoquímica con DDQ, tratamiento con ácidos de Lewis...). Sin embargo, después de poner a prueba diferentes condiciones de reacción, sólo se obtuvieron mezclas complejas de las que no se pudo aislar el producto deseado, por lo que este protector también se descartó.

Por último se ensayaron distintas condiciones de protección con cloruro de metoximetilo (MOMCl). Los ensayos a 0 °C y a temperatura ambiente, a pesar de la habitual rapidez de las protecciones con este reactivo, no dieron buenos resultados,

<sup>159</sup> Bartoli, G.; Bosco, M.; Locatelli, M.; Marcantoni, E.; Melchiorre, P.; Sambri, L. Unusual and Unexpected Reactivity of *t*-Butyl Dicarbonate (Boc<sub>2</sub>O) with Alcohols in the Presence of Magnesium Perchlorate. A New and General Route to *t*-Butyl Ethers. *Org. Lett.* **2005**, 7, 427–430.

ofreciendo bajos rendimientos y recuperándose material de partida. Únicamente se obtuvo una conversión alta, con un rendimiento del 94%, cuando se adicionaron los reactivos a 0 °C, para luego calentar a 80 °C durante una noche. El producto, 4-metoximetoxi-2,3-dihidrocavrona, **138**, pudo aislarse como una mezcla de epímeros en C2, que fue utilizada sin mayor purificación para continuar la síntesis. Se purificó una porción en HPLC y para caracterizar por técnicas espectroscópicas el epímero mayoritario, que fue el 2β-Me.

La anelación de Robinson de los epímeros del compuesto **138**, seguida de hidroxilación con oxígeno atmosférico en medio básico, dio lugar a la 6,8-dihidrocicerona monoprotegida en C8-OH con el grupo MOM, producto **139**, con un 71% de rendimiento aislado, lo cual implicaba una notable mejoría frente a la misma reacción sobre el material de partida sin proteger. Posteriormente, se llevó a cabo la deshidratación selectiva del hidroxilo en C6, para lo que se empleó el reactivo de Burgess. En lugar de las condiciones típicas de deshidratación en medio ácido con calentamiento, se optó por un método más suave, que permitió obtener la trienona **140** en tan solo 5 horas con un rendimiento cuantitativo. Este intermedio pudo utilizarse sin necesidad de mayor purificación para el siguiente paso (se purificó en HPLC una muestra para la caracterización del producto).

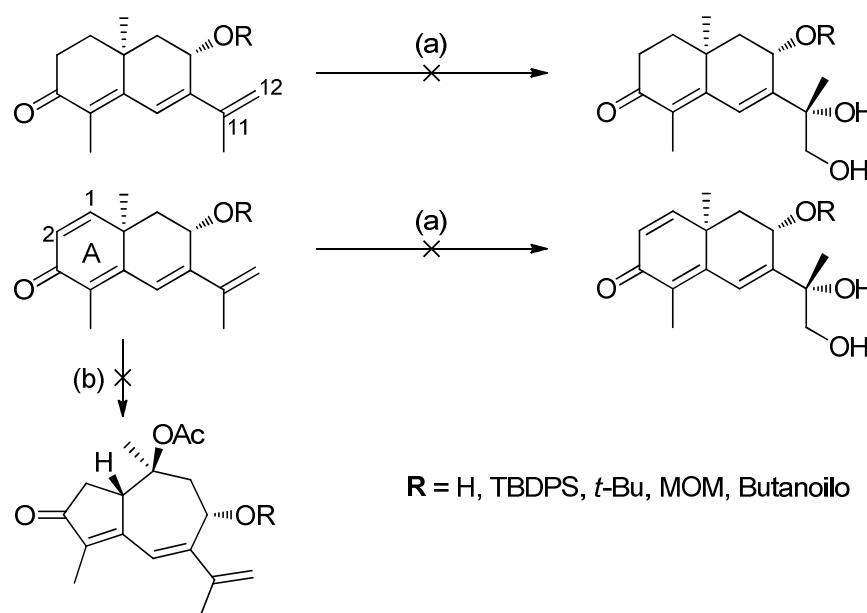


**Figura 5.10.** Secuencia hacia el intermedio **141**.

En este punto, se decidió cambiar el grupo protector por el grupo butanoilo presente en la molécula objetivo, ya que las siguientes reacciones que se plantearon en la estrategia sintética no implican medio básico que pudiera hidrolizar el éster correspondiente. Con este fin, el producto **140** se trató durante 2 horas con HCl en THF y directamente el alcohol presente en el crudo obtenido se esterificó con cloruro

de butanoilo en THF seco, empleando DIPEA y DMAP. Después de 3 horas de reacción se determinó el fin de la misma por CCF y se purificó el producto **141** por cromatografía en columna, dando un rendimiento global para las dos reacciones de un 38% (Figura 5.10).

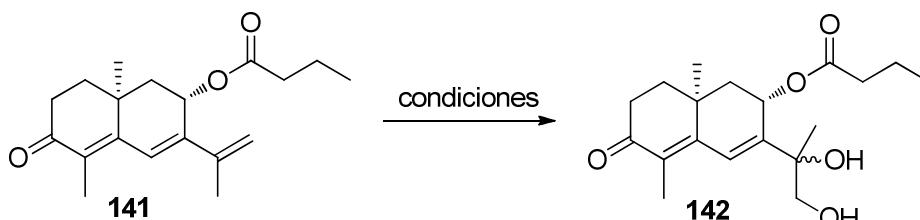
Una vez obtenida la trienona **141** correctamente funcionalizada en la posición C8, se intentó llevar a cabo la dihidroxilación del doble enlace C11-C12. Para ello, el primer ensayo realizado consistió en la dihidroxilación asimétrica de Sharpless con AD mix- $\alpha$ , que de acuerdo con los estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación, permitiría alcanzar el análogo de trienonadiol con la configuración adecuada en la posición C11.<sup>54</sup> La reacción no funcionó, recuperándose únicamente el material de partida íntegro. Este resultado contrasta con nuestra experiencia previa ya que la transformación es cuantitativa cuando la posición C8 está sin funcionalizar. Se optó por la preparación de distintos análogos del material de partida, con otros grupos protectores en la posición C8, deshidrogenados en C1-C2, o incluso sin grupo protector en el hidroxilo de C8 para comprobar si existía un problema de impedimento estérico. Sin embargo, ninguno de los ensayos condujo al producto dihidroxilado deseado (Figura 5.11, a).



**Figura 5.11.** (a) Intentos de dihidroxilación del doble enlace C11-C12 (condiciones de reacción: AD mix- $\alpha$ , *t*-BuOH/H<sub>2</sub>O (1:1), 0 °C, 12 h). (b) Ensayos de fotoquímica sobre tetraenonas (irradiación con lámpara de mercurio de media presión, en AcOH).

Por otro lado, se realizaron ensayos de reagrupamiento fotoquímico sobre algunos de los derivados de la tetraenona, deshidrogenada en C1-C2 sin dihidroxilar en C11-C12, para comprobar si un ligero cambio en el orden de la secuencia permitiera llegar a un esqueleto de guayano y poder continuar la ruta hacia la molécula diana, dihidroxilando después (Figura 5.11, b). Sin embargo el producto buscado no se formó y solo se observó descomposición del material de partida. La presencia de un tercer doble enlace conjugado con la dienona del anillo A provocaría la descomposición observada. Según estos resultados, se decidió buscar alternativas al AD mix- $\alpha$ , para realizar el reagrupamiento fotoquímico sobre un sustrato más adecuado. Así, se probaron distintos métodos de dihidroxilación junto con secuencias de epoxidación/apertura. Se seleccionó como sustrato el compuesto **141**, que daría el diol **142**. Los experimentos realizados se muestran en la Tabla 5.5.

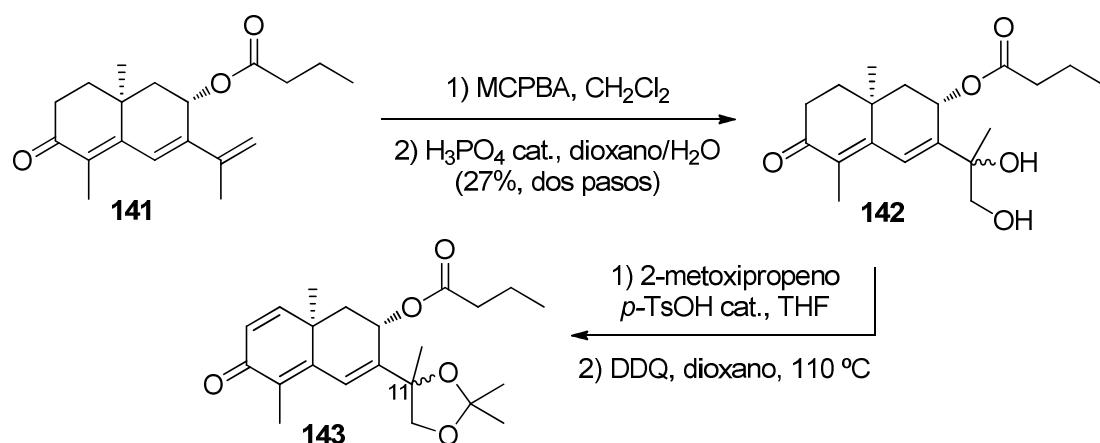
**Tabla 5.5.** Ensayos de dihidroxilación del doble enlace C11-C12.



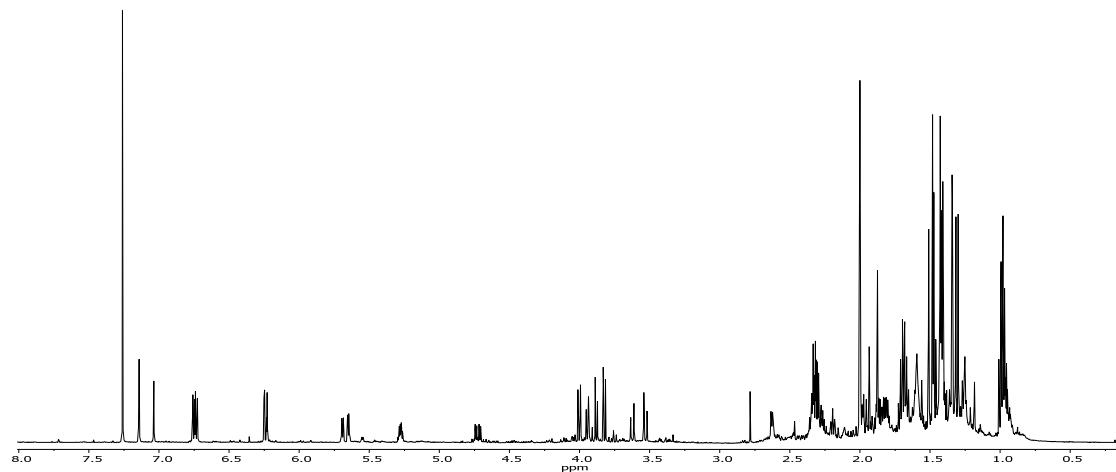
| Condiciones   | Comentarios   |
|---|---|
| Oxone, acetona, NaHCO <sub>3</sub> , MeCN;<br>después HClO <sub>4</sub> al 7%, THF                                | Mezcla compleja   |
| OsO <sub>4</sub> cat., NMO, MeSO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> ,<br>acetona/t-BuOH/H <sub>2</sub> O                | Mezcla compleja   |
| K <sub>2</sub> OsO <sub>4</sub> cat., NMO, ácido cítrico,<br>t-BuOH/H <sub>2</sub> O                              | Material de partida   |
| RuCl <sub>3</sub> cat., NaIO <sub>4</sub> , H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ,<br>AcOEt/MeCN                        | Mezcla compleja   |
| MCPBA, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ;<br>después HClO <sub>4</sub> al 7%, THF                                  | La epoxidación funcionó pero el paso<br>de apertura dio mezcla compleja |
| MCPBA, CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> ;<br>después H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> cat., dioxano/H <sub>2</sub> O | Alta conversión en ambos pasos, 27%<br>de rdto. de producto purificado  |

La mayoría de los métodos ensayados dieron lugar a mezclas complejas. La epoxidación con Oxone y posterior apertura con HClO<sub>4</sub> al 7% dio lugar a reacciones laterales e impidió la detección del producto buscado. Otros métodos de dihidroxilación directa del doble enlace tanto con osmio como con rutenio y NaIO<sub>4</sub> tampoco

permitieron detectar el producto, recuperándose parte del material de partida, y en ocasiones una mezcla compleja. El único método viable fue la epoxidación clásica con ácido *m*-cloroperbenzoico (MCPBA). En este caso el epóxido se genera de forma limpia, pero la apertura con  $\text{HClO}_4$  no dio un buen resultado, por lo que se ensayaron distintos ácidos en cantidades catalíticas. Se seleccionó el  $\text{H}_3\text{PO}_4$  como mejor reactivo para la apertura, en 1,4-dioxano/agua como disolvente, que proporcionó una mezcla prácticamente 1:1 de epímeros en C11. Aunque por CCF se observó una completa conversión del material de partida, el rendimiento fue moderado, 27% tras purificación por cromatografía en columna. Se continuó la secuencia con la mezcla de epímeros de **142** con el fin de llegar a un esqueleto de guayanolida donde la separación de los epímeros pudiera ser más factible, dada la experiencia previa del grupo.<sup>54</sup>



**Figura 5.12.** Obtención del intermedio **143**.

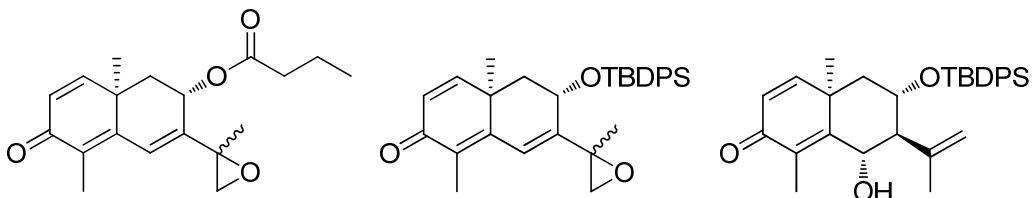
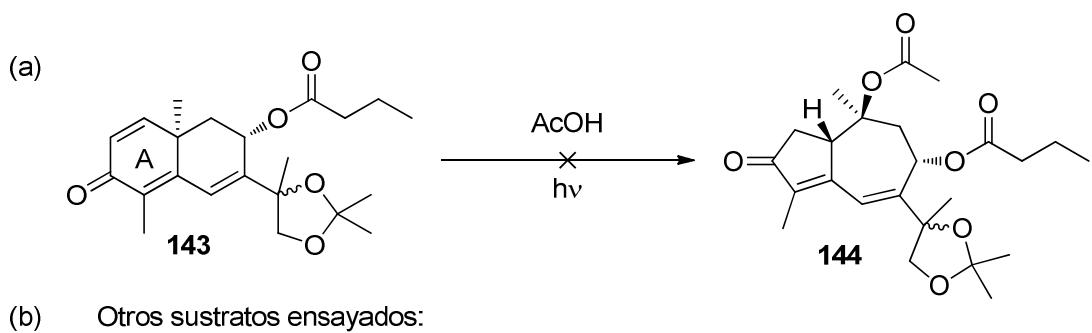


**Figura 5.13.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN de la mezcla de epímeros **143**.

A continuación se llevó a cabo la formación del acetónido en THF con 2-metoxipropeno y ácido *p*-toluensulfónico (*p*-TsOH) en cantidad catalítica, para después deshidrogenar el enlace C1-C2 con DDQ en 1,4-dioxano a reflujo (Figura 5.12). La protección del diol **142** fue cuantitativa en aproximadamente 1 hora y el crudo se trató

directamente con DDQ. Tras 24 horas de reacción, se recuperó un 86% de la masa esperada, correspondiente a la mezcla de epímeros del compuesto **143** en proporción 1:1. Sin embargo, la pureza del producto **143** no resultó suficientemente alta según su análisis por RMN (Figura 5.13), y no se consiguió realizar una mayor purificación debido a la inestabilidad de esta molécula en condiciones ácidas (como el gel de sílice empleado en la cromatografía en columna).

Esta cetona protegida **143** consta de una estructura adecuada para llevar a cabo el reagrupamiento fotoquímico. Así, se irradió con una lámpara de mercurio de media presión, empleando ácido acético como disolvente en un fotorreactor de cuarzo, para obtener el guayano **144**. Sin embargo, y en contra de los antecedentes bibliográficos, tras 2 horas y media de reacción se observó tanto por RMN como por cromatografía de gases la formación de una mezcla compleja en la que fue imposible detectar el producto deseado (Figura 5.14, a).



**Figura 5.14.** Intentos de obtención del guayano **144** y análogos.

La baja pureza con que se obtuvo el intermedio **143**, junto con el bajo rendimiento global de la secuencia hasta este punto, hicieron difícil la optimización de este paso de la síntesis. Se prepararon derivados del sustrato **143**, de tipo dienona en el anillo A con la posición C8 funcionalizada para realizar ensayos de reagrupamiento fotoquímico, pero ninguno de ellos dio el resultado esperado (Figura 5.14, b), teniendo en cuenta que el reagrupamiento sobre el sustrato análogo al intermedio **143** sin funcionalizar en C8 procede de forma limpia y con buen rendimiento (véase capítulo 3).

Alternativamente se prepararon sustratos diferentes para la reacción fotoquímica basados en un esqueleto de tipo eudesmanolida lactonizada en C8, pero tampoco se obtuvieron los resultados esperados. Todo ello llevó a posponer la aproximación a la tapsigargina, **1**, ya que, a pesar de que la secuencia sintética planteada parece eficiente, para culminarla sería necesario solventar los siguientes puntos:

- Optimizar los rendimientos y el nivel de pureza de cada intermedio en la secuencia para llegar al compuesto **143**.
- Preparar una cantidad suficiente de dicho intermedio **143** para acometer una optimización multivariante (Diseño de Experimentos y Métodos de Superficie Respuesta) del reagrupamiento fotoquímico.
- Conseguido un derivado del guayano **144**, clave para la síntesis total de la tapsigargina, **1**, dihidroxilar el doble enlace C6-C7 para después formar la lactona entre las posiciones C6 y C12, lo cual quedó resuelto en trabajos anteriores del grupo.
- Obtenida la guayanolida correspondiente, es decir, acabados los anillos B y C de la tapsigargina, **1**, funcionalizar la posición C2 con el éster de octanoilo (lo que constituye una aplicación de la metodología que se desarrollará en el capítulo 6). Por último, reducir en la posición C3 empleando  $Zn(BH_4)_2$  para obtener la configuración estereoquímica adecuada, y esterificar con angeloiilo.

### 5.2.3 OBTENCIÓN DE 8-HIDROXIGUAYANOS A PARTIR DE 4-HIDROXICARVONA

La ruta de acceso a la tapsigargina, **1**, planteada en este capítulo, no condujo a resultados satisfactorios ante la imposibilidad de llegar al sustrato en condiciones adecuadas para realizar una optimización del reagrupamiento fotoquímico, que daría lugar al esqueleto de guayano.

Por ello, se decidió plantear una secuencia alternativa que, en pocos pasos, permitiera llegar a un esqueleto de 8-hidroxiguayano menos funcionalizado. La obtención de este 8-hidroxiguayano permitiría, por un lado, validar la utilidad de la 4-hidroxicarvona **132** como sintón en la síntesis de este tipo de productos naturales, y por otro lado, abrir una ruta de acceso a una familia de compuestos relacionados estructuralmente con la tapsigargina, **1**, para realizar estudios de bioactividad.

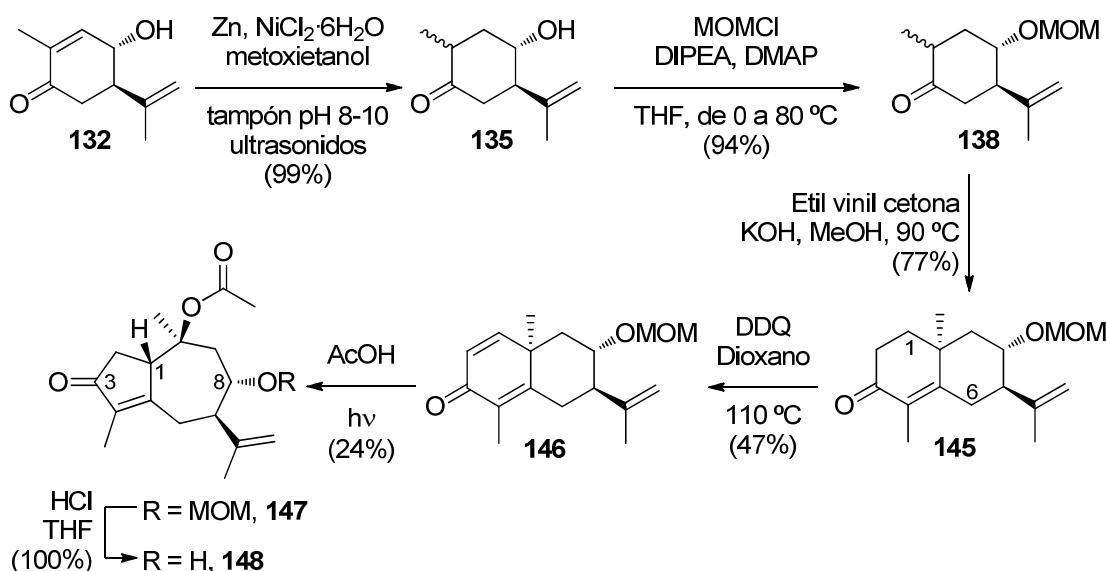
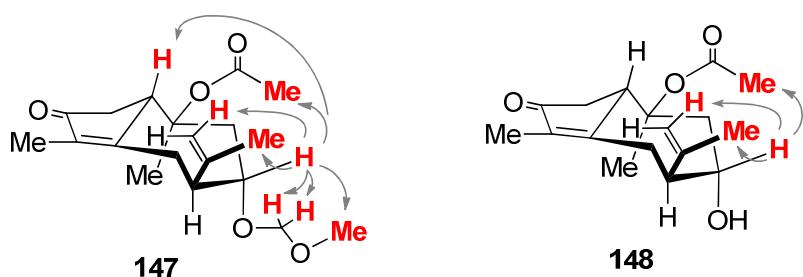


Figura 5.15. Obtención del 8-hidroxiguayano **148** a partir de 4-hidroxicarvona **132**.

Con este fin, se preparó 8-hidoxiciperona protegida con MOM, compuesto **145**, a partir de la 4-hidroxicarvona **132**. En un primer paso, el compuesto **132** fue reducido en el doble enlace C2-C3, mediante el tratamiento con zinc y  $NiCl_2 \cdot 6H_2O$  en baño de ultrasonidos descrito en el apartado anterior. La 4-hidroxi-2,3-dihidrocarvona, **135**, fue protegida con MOM en la posición  $4\alpha$ -OH (compuesto **138**, 94%), y tratada con etil vinil cetona en potasa metanólica. En esta ocasión, tras la anelación de Robinson, bajo atmósfera de argón, no se llevó a cabo la hidroxilación en la posición C6, aislándose el producto **145** en un 77%. Posteriormente, el compuesto **145** fue deshidrogenado con

DDQ en 1,4-dioxano a reflujo durante 24 horas para dar la dienona **146** en un 47% de rendimiento, que sería el sustrato para el reagrupamiento fotoquímico (Figura 5.15).

Después de algunos ensayos, la dienona **146** se trató bajo las condiciones típicas de la reacción fotoquímica, en ácido acético como disolvente, permitiendo obtener el guayano **147** con un 24% de rendimiento. El producto fue desprotegido con HCl en THF dando de forma cuantitativa el 8-hidroxiguayano **148**. En concreto, los productos **147** y **148** fueron asignados como  $8\alpha$ -OMOM y  $8\alpha$ -OH; respectivamente, mediante experimentos nOe en RMN (Figura 5.16).

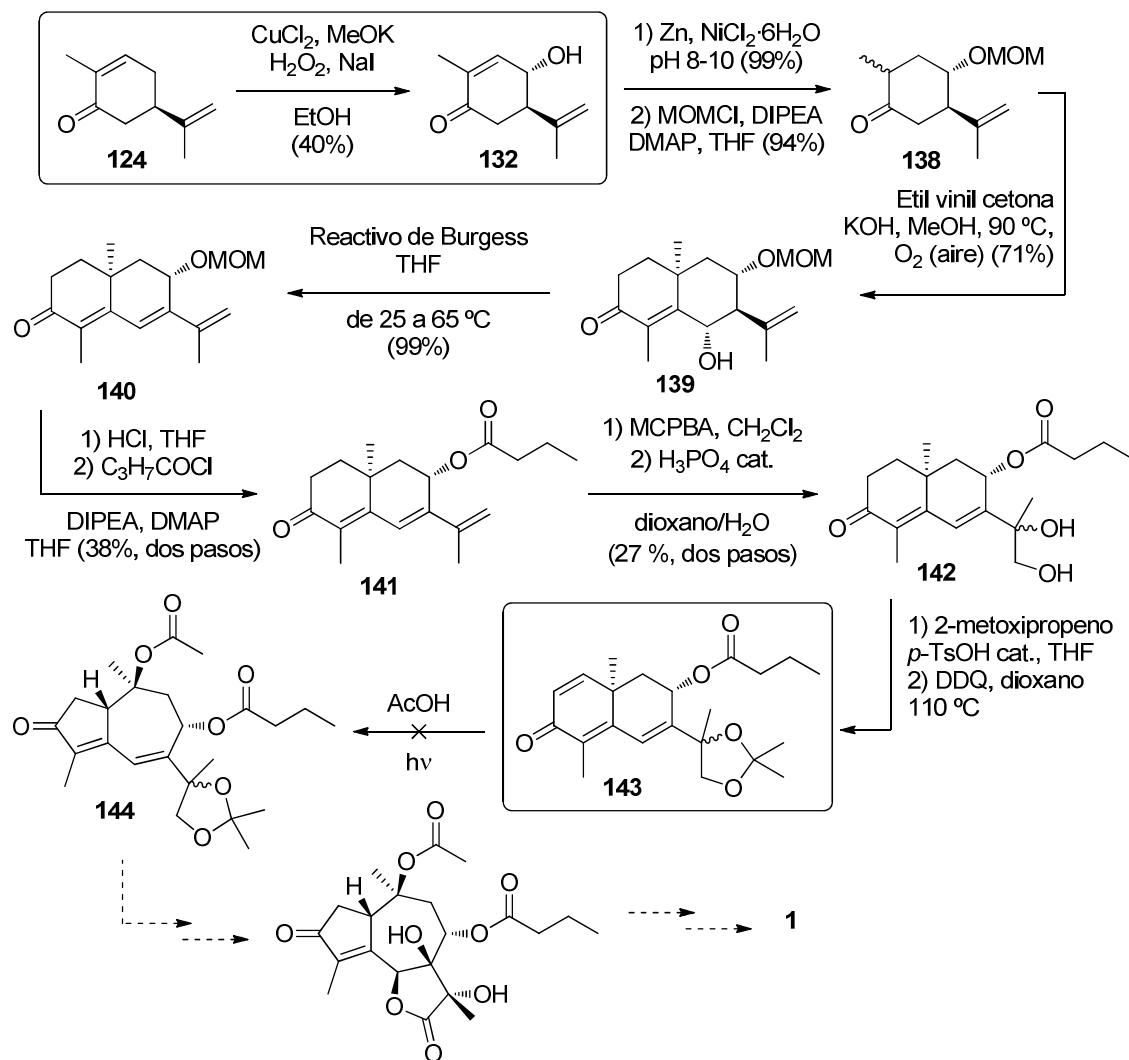


**Figura 5.16.** Efectos nOe más significativos en **147** y **148**.

De esta manera, la 4-hidroxicarvona **132** quedó validada como sintón en la síntesis de guayanos funcionalizados en la posición C8, si bien la síntesis de estructuras más complejas como la tapsigargina, **1**, continúa siendo un reto por conseguir.

### 5.3 RESUMEN

Después de optimizar las condiciones de reacción para la  $\gamma$ -hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**, se empleó el producto correspondiente, 4-hidroxicarvona **132**, como punto de partida para una aproximación a la síntesis de la tapsigargina, **1** (Figura 5.17).



**Figura 5.17.** Aproximación realizada a la tapsigargina, **1**.

Aunque no se llegó a la molécula objetivo, se consiguió alcanzar un intermedio avanzado, el compuesto **143**, que abre la puerta a futuras investigaciones dirigidas a la optimización de los rendimientos y purificación de los productos obtenidos hasta el momento, y a la consecución del producto final. Adicionalmente, se realizó la síntesis de los compuestos **147** y **148** (Figura 5.15), guayanos más sencillos, pero que permitieron corroborar la utilidad de la 4-hidroxicarvona **134** como punto de partida en la síntesis de guyanos y derivados hidroxilados en la posición C8.



## CAPÍTULO 6. ACILOXILACIÓN DE ENONAS EN POSICIÓN $\alpha'$ . APLICACIÓN A LA SÍNTESIS DE GUAYANOLIDAS FUNCIONALIZADAS EN C2

### 6.1 PRECEDENTES. LA ACILOXILACIÓN DE ENONAS EN POSICIÓN $\alpha'$

#### 6.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

##### 6.2.1 Optimización de la metodología

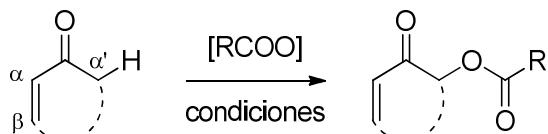
##### 6.2.2 Extensión del alcance de la reacción

##### 6.2.3 Preparación de guayanolidas funcionalizadas en C2

#### 6.3 RESUMEN

### 6.1 PRECEDENTES. LA ACILOXILACIÓN DE ENONAS EN POSICIÓN $\alpha'$

La aciloxilación de carbonilos  $\alpha,\beta$ -insaturados (enonas, generalmente cíclicas) en la posición  $\alpha'$  consiste en una reacción de oxidación de enlace C-H mediante la que se incorpora un grupo aciloxilo en la posición  $\alpha'$  del material de partida (Figura 6.1).



**Figura 6.1.** Reacción genérica de aciloxilación de enonas en posición  $\alpha'$ .

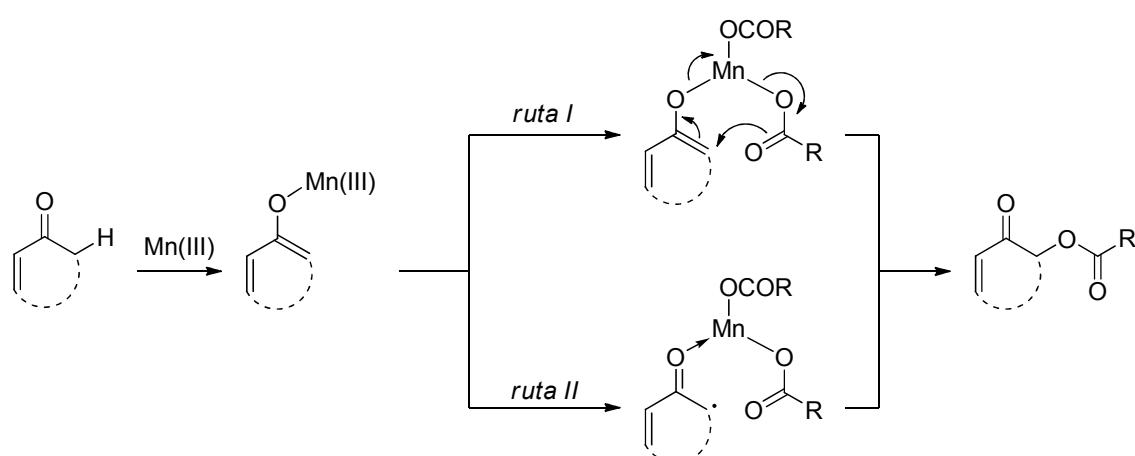
Se han realizado numerosos estudios entorno a la funcionalización de compuestos carbonílicos en posición  $\alpha$ , ya que muchos productos de interés biológico contienen en su estructura dicha posición oxidada bien con un hidroxilo o bien con un aciloxilo.<sup>160</sup>

<sup>160</sup>(a) Merino, P.; Tejero, T. Organocatalyzed Asymmetric A-Aminoxylation of Aldehydes and Ketones—An Efficient Access to Enantiomerically Pure A-Hydroxycarbonyl Compounds, Diols, and Even Amino Alcohols. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 2995–2997. (b) Adam, W.; Lazarus, M.; Saha-Möller, C. R.; Schreier, P. Biocatalytic Synthesis of Optically Active A-Oxyfunctionalized Carbonyl Compounds. *Acc. Chem. Res.* **1999**, *32*, 837–845. (c) Davis, F. A.; Chen, B.-C. In *Stereoselective Synthesis*; Helmchen, G., Hoffmann, R. W., Muzler, J., Schaumann, E., Eds.; Houben-Weyl Methods of Organic Chemistry; George Thieme: Stuttgart, 1996, Vol. E21. (d) Fuhrhop, J.; Penalin, G. *Organic Synthesis*, 2<sup>nd</sup> ed.; VCH: Weinheim, 1994. (e) Davis, F. A.; Chen, B. C. Asymmetric Hydroxylation of Enolates with N-Sulfonyloxaziridines. *Chem. Rev.* **1992**, *92*, 919–934.

Sin embargo, no hay tantos precedentes en la literatura para la funcionalización selectiva de la posición  $\alpha'$  de una enona.<sup>161</sup>

En 1989, Watt y col. publicaron un método de oxidación directa del enlace C-H en  $\alpha'$  que permitía la obtención, en un solo paso, de productos funcionalizados en esta posición, de forma regioselectiva, mediante el tratamiento de enonas con diferentes ácidos carboxílicos en presencia de  $Mn(OAc)_3$ .<sup>162</sup>

El mecanismo, aún por determinar, podría implicar la formación de un enol o enolato coordinado a  $Mn(III)$ , el cual evolucionaría por dos rutas diferenciadas: bien por medio de una transferencia de ligando desde el metal al enolato (Figura 6.2, *ruta I*); o bien mediante la formación de un radical que se acoplaría con el grupo aciloxilo (Figura 6.2, *ruta II*).<sup>163</sup> Esta última es la más aceptada dado el reconocido papel del  $Mn(III)$  como oxidante de un solo electrón y su participación en mecanismos radicalarios.<sup>164</sup>



**Figura 6.2.** Mecanismo propuesto para la acyloxilación en posición  $\alpha'$  de enonas.

<sup>161</sup>(a) Solujić, S.; Sukdolak, S.; Ratković, Z. Stereospecific Acetoxylation of 4-Methyl-4-Dichloromethyl-5-(methoxycarbonyl)methyl-2-Cyclohexen-1-One with lead(IV) Acetate. *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 4577–4578. (b) Williams, G. J.; Hunter, N. R. Situselective  $\alpha'$ -Acetoxylation of Some  $\alpha,\beta$ -Enones by Manganic Acetate Oxidation. *Can. J. Chem.* **1976**, 54, 3830–3832.

<sup>162</sup>(a) Demir, A. S.; Jeganathan, A.; Watt, D. S. Synthesis of  $\alpha'$ -Acyloxy Enones from Enones Using manganese(III) Acetate in Combination with manganese(II) Carboxylates or Carboxylic Acids. *J. Org. Chem.* **1989**, 54, 4020–4022. (b) Dunlap, N. K.; Sabol, M. R.; Watt, D. S. Oxidation of Enones to  $\alpha'$ -Acetoxyenones Using Manganese Triacetate. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 5839–5842.

<sup>163</sup>Demir, A. S.; Reis, Ö.; Cigdem Igdir, A. Reinvestigation of the Synthetic and Mechanistic Aspects of  $Mn(III)$  Acetate Mediated Oxidation of Enones. *Tetrahedron* **2004**, 60, 3427–3432.

<sup>164</sup>(a) Melikyan, G. G. Manganese(III) Mediated Reactions of Unsaturated Systems. *Synthesis* **1993**, 1993, 833–850. (b) Iqbal, J.; Bhatia, B.; Nayyar, N. K. Transition Metal-Promoted Free-Radical Reactions in Organic Synthesis: The Formation of Carbon-Carbon Bonds. *Chem. Rev.* **1994**, 94, 519–564. (c) Snider, B. B. Manganese(III)-Based Oxidative Free-Radical Cyclizations. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 339–364

Esta metodología se aplicó con éxito en distintos sustratos, pero presenta algunos problemas, como son:

- La necesidad de grandes excesos del ácido carboxílico, así como del precursor de manganeso, que además debería utilizarse recién preparado<sup>165</sup> o previamente secado para su buen funcionamiento.
- El empleo de una trampa Dean-Stark para eliminar el agua que se genera durante el proceso, lo que dificulta el escalado de la reacción, tanto para fines preparativos como para la obtención de pequeñas cantidades dirigidas a la síntesis de librerías.
- La compatibilidad con grupos funcionales y la aplicación a sustratos de mayor complejidad, siendo escasas las aplicaciones a la síntesis de productos naturales.<sup>166</sup>

Posteriormente, Demir y col. consiguieron ciertas mejoras sustituyendo el Mn(OAc)<sub>3</sub> por una combinación de KMnO<sub>4</sub> con un ácido carboxílico, para generar la especie de Mn(III) *in situ*.<sup>167</sup> Aunque los autores proponen la generación de esta especie según la ecuación 6.1, no aportaron evidencias experimentales de esta transformación.

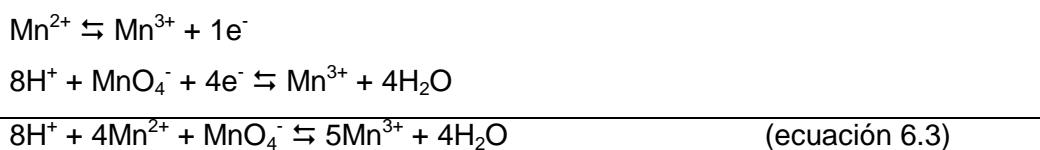
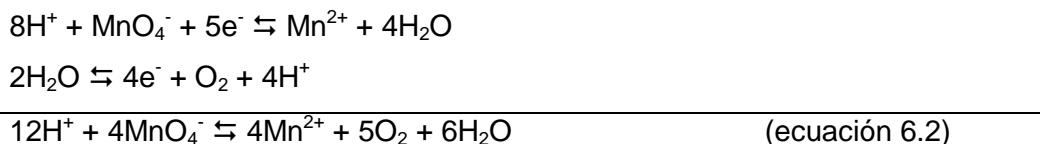


Para justificar la formación de Mn(III), se podría admitir la reducción previa de Mn(VII) a Mn(II), ya que, de acuerdo con los potenciales estándar de reducción para especies de Mn, este paso está muy favorecido (ecuación 6.2). Seguidamente se produciría la re-oxidación de Mn(II) a Mn(III), efectuada por el exceso de KMnO<sub>4</sub>, lo cual explicaría la necesidad de grandes cantidades de este oxidante y del ácido carboxílico en el medio (ecuación 6.3). La suma de ambos pasos representaría el proceso global, que coincide con la ecuación 6.1. Aun así, sería necesario estudiar el sistema en mayor profundidad para comprender el modo en que se genera la especie activa de Mn(III).

<sup>165</sup>Heiba, E.-A. I.; Dessau, R. M.; Koehl, W. J. Oxidation by Metal Salts. III. Reaction of Manganic Acetate with Aromatic Hydrocarbons and the Reactivity of the Carboxymethyl Radical. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, 91, 138–145.

<sup>166</sup>(a) Dunlap, N. K.; Sabol, M. R.; Watt, D. S. Synthesis of Quassinoids. 3. Oxidation of Enones to  $\alpha$ -Acetoxyenones Using Manganese Triacetate. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 5839–5842. (b) Demir, A. S.; Tanyeli, C.; Akguen, H.; Caliskan, Z.; Oezguel, E. Butenolide Annelations Using a manganese(III) Oxidation. A Synthesis of Jolkinolide E. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1995**, 132, 423–427. (c) Demir, A. S.; Gercek, Z.; Duygu, N.; Igdir, A. C.; Reis, O. Butenolide Annelation Using a manganese(III) Oxidation. A Synthesis of Chromolaenin (Laevigatin). *Can. J. Chem.* **1999**, 77, 1336–1339.

<sup>167</sup>Demir, A. S.; Findik, H. Potassium Permanganate/carboxylic Acid/organic Solvent: A Powerful Reagent for Enone Oxidation and Aryl Coupling Reactions. *Tetrahedron* **2008**, 64, 6196–6201.



A pesar de las mejoras aportadas por Demir, el gran exceso de  $\text{KMnO}_4$  (10 eq.) disuade de utilizar esta reacción como metodología de elección para la  $\alpha'$ -aciloxilación de enonas. Por otro lado, la necesidad de adicionar el ácido carboxílico como codisolvante limita su uso a la introducción de cadenas cortas, debido a los problemas de purificación que conllevaría el empleo de cadenas de mayor número de átomos de carbono.

Hasta el momento no se encuentran en la bibliografía aplicaciones de esta transformación en ninguna ruta sintética; además, problemas de reproducibilidad así como resultados contradictorios han impedido que esta metodología cuente con mayor aceptación entre la comunidad sintética.

## 6.2 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La existencia de algunas guayanolidas naturales funcionalizadas en la posición C2, como son los miembros de la familia de las tapsigarginas (véase capítulo 3, Tabla 3.1), llevó a plantear el estudio y optimización de la aciloxilación de enonas en posición  $\alpha'$ , ya que el acceso directo a dicha posición podría llevarse a cabo mediante esta transformación. Para garantizar la robustez del método desarrollado así como su reproducibilidad, se decidió abordar una optimización mediante Diseño de Experimentos (DoE). Una vez definidas unas condiciones de reacción adecuadas, se aplicó a la síntesis de análogos de guayanolidas estructuralmente próximas a la tapsigargina, **1**.

### 6.2.1 OPTIMIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA

#### Ensayos preliminares

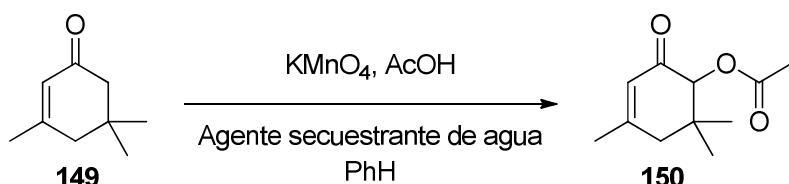
En trabajos anteriores se demostró la necesidad de retirar el agua generada durante la reacción para alcanzar buenas conversiones, lo cual se llevaba a cabo empleando trampas de tipo Dean-Stark.<sup>162</sup> Para optimizar las condiciones de reacción es preferible la realización de experimentos a pequeña escala, en este caso estas trampas no son efectivas al no formarse la cantidad de agua suficiente para constituir una fase diferenciada en el depósito lateral.

Por ello, como primer paso para resolver este problema y simplificar el montaje de los ensayos a realizar, se abordó un *screening* de condiciones con agentes que retirasen agua del medio de reacción. Como reacción modelo se seleccionó la  $\alpha'$ -acetiloxilación de la isoforona, **149**, para dar la 6-acetiloxyisoforona **150**, mediante tratamiento con ácido acético en presencia de KMnO<sub>4</sub>. Se tuvieron en cuenta 5 variables:

- Tiempo de reacción entre KMnO<sub>4</sub> y ácido acético para la formación de la especie de tipo carboxilato de Mn(III),<sup>163</sup> previo a la adición del sustrato.
- Temperatura, que debe ser alta para la formación de dicha especie.
- Equivalentes de KMnO<sub>4</sub>.
- Equivalentes de ácido acético.
- Agente secuestrante de agua, y cantidad de éste, para retirar el agua formada durante la reacción.

Todas las reacciones se llevaron a cabo agitando, a la temperatura indicada, el ácido acético con  $\text{KMnO}_4$  en benceno (4 mL) durante el tiempo indicado, para luego adicionar la isoforona, **149** (0.160 mmol) y mantener en agitación durante 12 horas. Los rendimientos (Tabla 6.1) se evaluaron por cromatografía de gases.

**Tabla 6.1.** Screening de condiciones de reacción.



| Tiempo previo (min) | T (°C)    | KMnO <sub>4</sub> (eq.) | AcOH (eq.) | Agente secuestrante                               | Rdto. (%) |
|---------------------|-----------|-------------------------|------------|---|-----------|
| 60                  | 85        | 1.20                    | 10         | MS 4 Å (60 mg)                                    | 30        |
| 30                  | 85        | 3.10                    | 25         | MS 4 Å (230 mg)                                   | 10        |
| 60                  | 50        | 2.10                    | 12         | MS 4 Å (230 mg)                                   | 1         |
| 45                  | 65        | 2.10                    | 17         | MS 4 Å (140 mg)                                   | 12        |
| 60                  | 85        | 3.10                    | 25         | MS 4 Å (230 mg)                                   | 30        |
| 45                  | 65        | 2.10                    | 170        | MS 4 Å (140 mg)                                   | 17        |
| 30                  | 85        | 3.10                    | 170        | $\text{Na}_2\text{SO}_4$ (10 eq.)                 | 37        |
| <b>30</b>           | <b>85</b> | <b>3.10</b>             | <b>170</b> | <b><math>\text{Ac}_2\text{O}</math> (100 eq.)</b> | <b>63</b> |
| 30                  | 85        | 3.10                    | 170        | $\text{AcCl}$ (100 eq.)                           | 32        |

Como puede observarse, el tamiz molecular de 4 Å (MS 4 Å) no parece efectivo, tal vez porque el calentamiento impide que capture las moléculas de agua.<sup>168</sup> También se realizaron ensayos con otros agentes secuestrantes de agua, como el sulfato sódico anhídrido o el anhídrido acético, siendo este último el que mejor resultado proporcionó (63%).

Parece ser que el anhídrido acético actúa capturando las moléculas de agua generadas en la reducción del Mn(VII) a Mn(III),<sup>167</sup> dando lugar a la formación de más moléculas de ácido acético. Por tanto la función del anhídrido acético sería dual: por un lado retirar agua y por otro podría donar grupos acetiloxilo junto con el ácido acético.

<sup>168</sup>Baghbanzadeh, M.; Kappe, C. O. Can Molecular Sieves Be Used as Water Scavengers in Microwave Chemistry? *Australian Journal of Chemistry*, 2009, 62, 244–249.

## Optimización multivariante. Diseño de Experimentos

Dado que el mecanismo real no está totalmente establecido, se decidió abordar la optimización de la reacción mediante una herramienta de análisis multivariante como el DoE, tomando como punto de partida el mejor resultado de la Tabla 6.1. De este modo, los resultados podrían ser ajustados a un modelo matemático que explicase el comportamiento del sistema, y además podrán ser evaluados estadísticamente, lo cual permitirá asegurar la reproducibilidad y robustez de las condiciones obtenidas.

Las variables seleccionadas para construir el modelo fueron los equivalentes de  $\text{KMnO}_4$ , los equivalentes de ácido acético y los equivalentes de anhídrido acético. Los demás factores se mantuvieron constantes: el tiempo previo a la adición del sustrato se fijó en 30 minutos y la temperatura a 85 °C, para asegurar la formación de la especie de Mn(III), en función de los resultados del estudio inicial. La concentración de sustrato en benceno se mantuvo a 0.04 M. Se seleccionó un diseño de Box-Behnken, con 3 niveles para cada variable (Tabla 6.2), ya que este tipo de diseños tiene una eficiencia contrastada.<sup>113</sup>

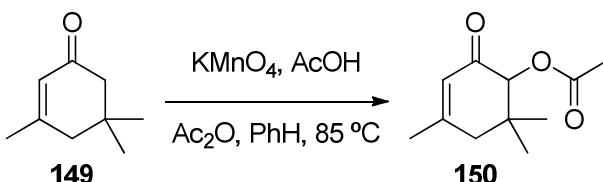
**Tabla 6.2.** Niveles para cada una de las variables seleccionadas.

| Variable                    | Código | Niveles |       |      |
|-----------------------------|--------|---------|-------|------|
|                             |        | Bajo    | Medio | Alto |
| $\text{MnKO}_4$ (eq.)       | A      | 1.05    | 2.10  | 3.15 |
| $\text{AcOH}$ (eq.)         | B      | 10.0    | 22.5  | 35.0 |
| $\text{Ac}_2\text{O}$ (eq.) | C      | 5.00    | 9.50  | 14.0 |

La matriz de experimentos está constituida por los 14 ensayos sugeridos por el diseño junto con 3 réplicas del punto central, que permitirán estimar la varianza del método. Estos ensayos se muestran en la Tabla 6.3 en el orden en que se llevaron a cabo, es decir, aleatorizados para minimizar errores. Los rendimientos (como respuesta del sistema) se midieron por cromatografía de gases tras una noche de reacción y se ajustaron a un modelo cuadrático, el cual es representado por la superficie respuesta mostrada en la Figura 6.3. De acuerdo a los resultados, las condiciones óptimas corresponden a 2.10 equivalentes de  $\text{KMnO}_4$ , 35.0 equivalentes de ácido acético y 9.50 equivalentes de anhídrido acético, con un 91% de rendimiento medido por cromatografía de gases. Estas condiciones fueron repetidas para aislar el producto **150**, que se obtuvo con un rendimiento del 100% tras su purificación cromatográfica

(posiblemente el producto se fragmenta parcialmente durante la cromatografía de gases detectándose un rendimiento algo inferior al real).

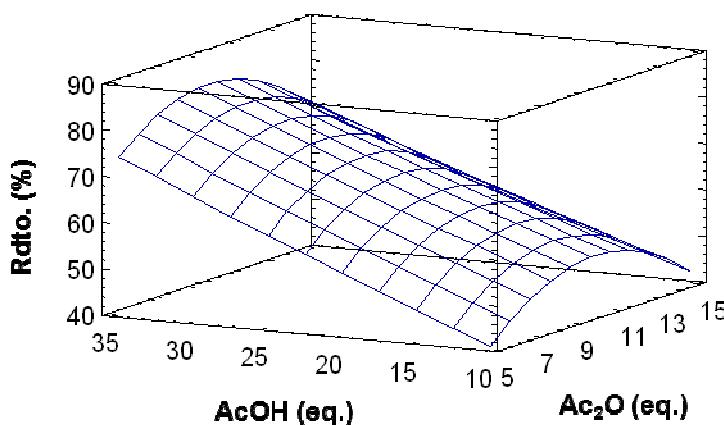
**Tabla 6.3.** Diseño de Box-Behnken para la optimización de la  $\alpha'$ -acetiloxilación de **149**.



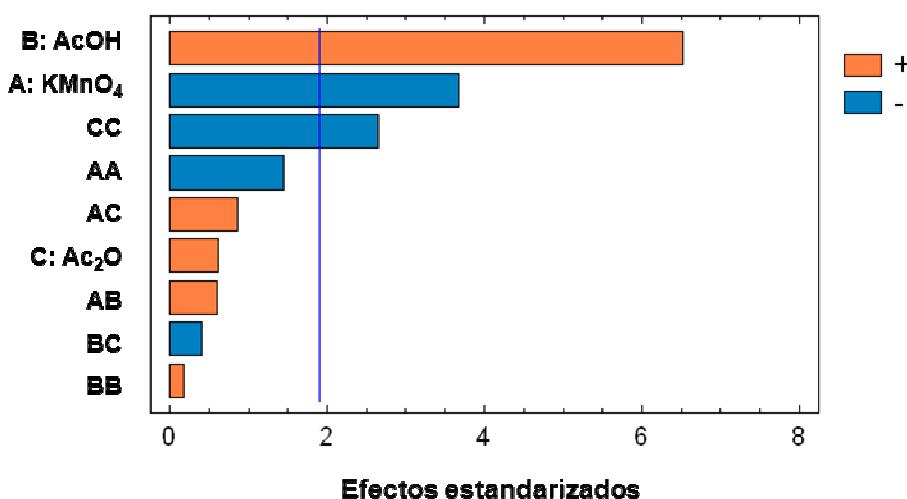
| Exp. | Variables                   |               |                            | Rdto. (%) |
|------|-----------------------------|---------------|----------------------------|-----------|
|      | A (MnKO <sub>4</sub> , eq.) | B (AcOH, eq.) | C (Ac <sub>2</sub> O, eq.) |           |
| 1    | 3.15                        | 22.5          | 5.00                       | 45        |
| 2    | 3.15                        | 10.0          | 9.50                       | 34        |
| 3    | 1.05                        | 35.0          | 9.50                       | 86        |
| 4    | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 56        |
| 5    | 1.05                        | 22.5          | 5.00                       | 63        |
| 6    | 3.15                        | 22.5          | 14.0                       | 51        |
| 7    | 2.10                        | 35.0          | 5.00                       | 71        |
| 8    | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 69        |
| 9    | 3.15                        | 35.0          | 9.50                       | 67        |
| 10   | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 75        |
| 11   | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 65        |
| 12   | 2.10                        | 10.0          | 14.0                       | 48        |
| 13   | 2.10                        | 10.0          | 5.00                       | 40        |
| 14   | <b>2.10</b>                 | <b>35.0</b>   | <b>9.50</b>                | <b>91</b> |
| 15   | 1.05                        | 22.5          | 14.0                       | 59        |
| 16   | 1.05                        | 10.0          | 9.50                       | 62        |
| 17   | 2.10                        | 35.0          | 14.0                       | 73        |

Según la Figura 6.3, para un nivel intermedio de KMnO<sub>4</sub> (2.10 equivalentes), la combinación de niveles intermedios de anhídrido acético con altos niveles del ácido conducirían a mejores respuestas. Esto está en consonancia con lo observado en el diagrama de Pareto (Figura 6.4). En este diagrama, las barras representan los efectos estandarizados de cada variable así como los de sus interacciones, de tal modo que aquéllos que sobrepasen la línea vertical tendrán un efecto significativo al 90% de confianza. Por tanto, se confirma la influencia del anhídrido acético sobre el sistema, con un efecto cuadrático (CC) significativo para el nivel de confianza indicado.

Además, se aprecia que un incremento de la cantidad de ácido acético afecta favorablemente al rendimiento.

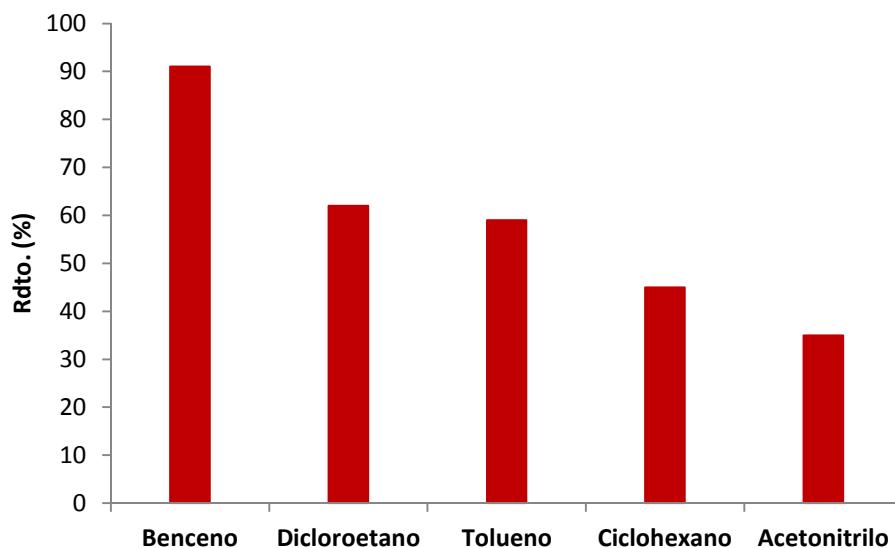


**Figura 6.3.** Superficie respuesta calculada para el rendimiento de 150 (para 2.10 eq. de  $\text{KMnO}_4$ ).



**Figura 6.4.** Diagrama de Pareto para los efectos estandarizados de cada variable sobre el rendimiento de 150.

Conscientes del riesgo que conlleva la exposición al benceno, se evaluó la efectividad de las condiciones halladas con otros disolventes. Para ello se realizaron algunos ensayos y se midieron los rendimientos por cromatografía de gases tras 12 horas de reacción. Como se aprecia en la Figura 6.5, el benceno es el que mejor rendimiento proporciona (91%), si bien podría ser sustituido por dicloroetano (62%) o tolueno (59%), aceptando una disminución en la efectividad de la  $\alpha'$ -acetiloxilación. Ciclohexano y acetonitrilo conducen a rendimientos algo menores (45% y 35% respectivamente).



**Figura 6.5.** Efecto de otros disolventes sobre la reacción.

La significación estadística del modelo obtenido en un DoE puede evaluarse mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y el cálculo del coeficiente de determinación  $R^2$ .<sup>113</sup> Para ello, se aplica el test de Fisher tanto al modelo ajustado como a la falta de ajuste. A partir de las respuestas experimentales y las respuestas predichas por el modelo, se calcula un valor de  $F$  para el modelo (comparando con los residuales del ajuste) y para la falta de ajuste (comparando con el error puro). Estos valores de  $F$  se comparan a su vez con los valores críticos,  $F_c$ , que están tabulados en función de los grados de libertad, para un 90% de confianza.

Cuando los valores calculados de  $F$  son mayores que los valores críticos  $F_c$  tabulados, se dice que la fuente de variación evaluada (el modelo o la falta de ajuste en cada caso) es significativa al 90% de confianza, en otras palabras, la variación observada en las respuestas está provocada por la fuente de variación en cuestión. En el caso del modelo, es deseable que sea una fuente de variación significativa (la variación en las variables ajustadas debe producir una variación en las respuestas), mientras que para la falta de ajuste se espera lo contrario (la variabilidad producida por la falta de ajuste no debe superar a la variabilidad producida por el error puro).

Tras realizar los cálculos de ANOVA para la optimización de la  $\alpha'$ -acetiloxilación de **149**, se obtuvo un valor  $F$  para el modelo de 3.46, lo cual no es suficientemente alto para asegurar significación al 90% de confianza ya que es más bajo que el valor crítico,  $F_c$ , 3.90. Sin embargo, el coeficiente  $R^2$  fue de 0.9122, lo que implica un buen ajuste entre los datos experimentales y predichos. Así, el modelo explicaría un 95.51%

de la varianza. En cuanto a la falta de ajuste, el valor  $F$  fue de 2.49, menor que el valor crítico,  $F_c = 5.54$ , lo que indica que no es significativa frente al error puro. Estos resultados permitieron asegurar la robustez del modelo y la reproducibilidad de las condiciones óptimas encontradas (Tabla 6.4).

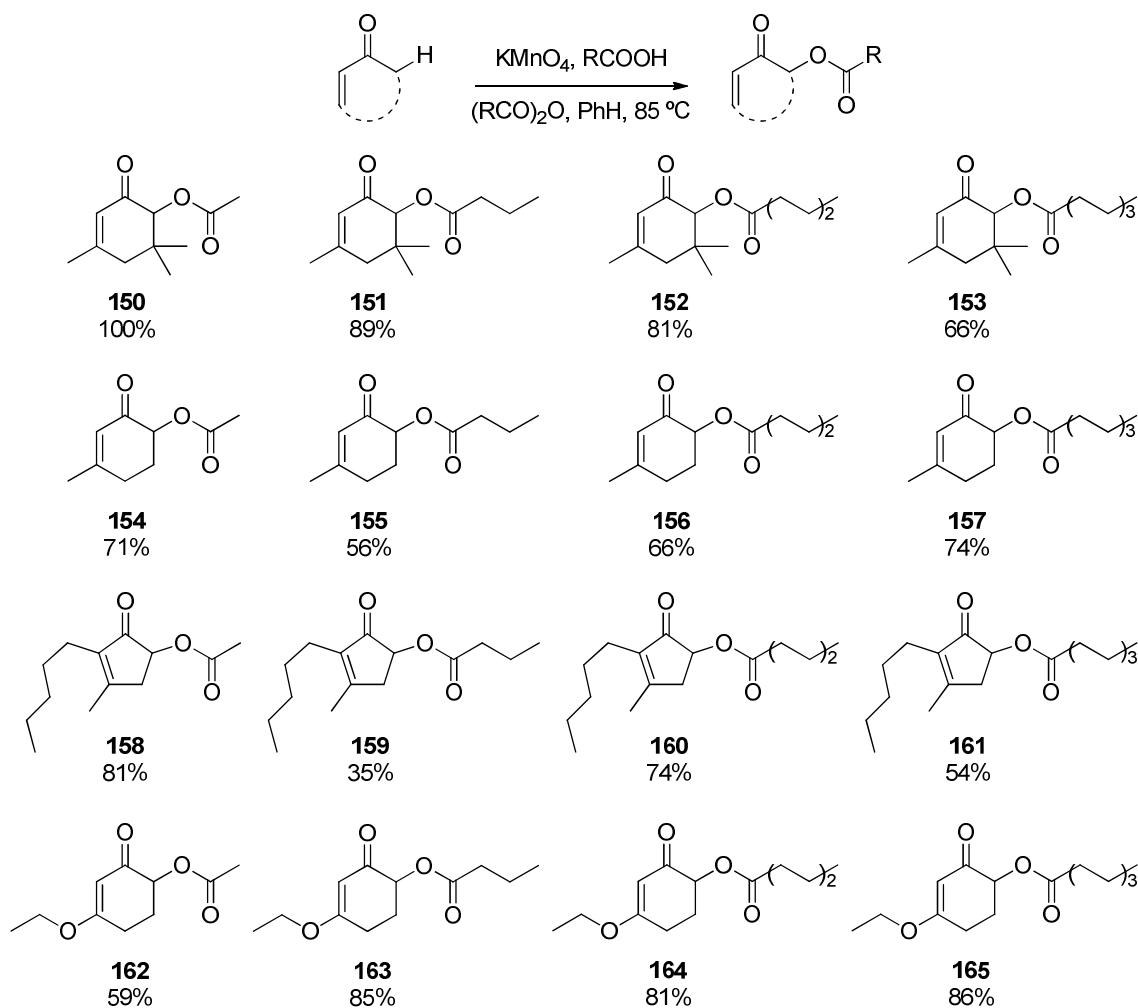
**Tabla 6.4.** ANOVA del modelo cuadrático obtenido para el rendimiento de 150.

| Fuente de variación    | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Media de los cuadrados | Valores $F$ | Valores $F_c$ |
|------------------------|-------------------|--------------------|------------------------|-------------|---------------|
| <b>Total</b>           | 3861.87           | 16                 |                        |             |               |
| <b>Modelo</b>          | 3522.67           | 12                 | 293.56                 | 3.46        | 3.90          |
| <b>Residuales</b>      | 339.20            | 4                  | 84.80                  |             |               |
| <b>Falta de ajuste</b> | 153.86            | 1                  | 153.86                 | 2.49        | 5.54          |
| <b>Error puro</b>      | 185.35            | 3                  | 61.78                  |             |               |

$R^2 = 0.9122$ ;  $R = 0.9551$ ; 95.51% de la varianza explicada por el modelo.

### 6.2.2 EXTENSIÓN DEL ALCANCE DE LA REACCIÓN

Las condiciones optimizadas para la  $\alpha'$ -acetiloxilación de la isoforona, **149**, se utilizaron para incorporar cadenas de distinta longitud en el mismo sustrato. Se emplearon ácidos carboxílicos en combinación con sus anhídridos correspondientes de 4, 6 y 8 átomos de carbono. Los rendimientos fueron altos y parecen seguir una tendencia decreciente al aumentar la longitud de cadena (Figura 6.6).



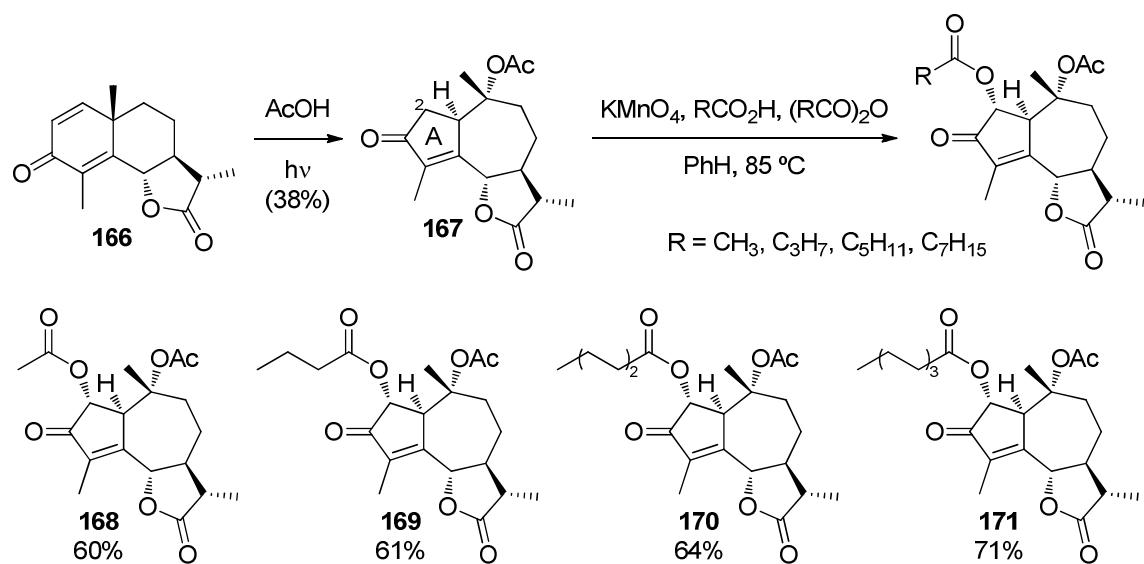
**Figura 6.6.** Extensi髇 del alcance de la reacci髇 con otras cadenas y otros sustratos.

Ademas, las condiciones de reacción se aplicaron a otros sustratos, con ácidos y anhridros carboxilicos de distintas longitudes (2, 4, 6 y 8 átomos de carbono). Los resultados se muestran en la Figura 6.6. Los rendimientos fueron en general buenos, aunque en algunos casos el producto se aisló en menor cantidad. No se observó para los sustratos ensayados una tendencia clara del rendimiento en función de la longitud de cadena. Todos los productos mostrados en la Figura 6.6 fueron caracterizados mediante las técnicas espectroscópicas habituales.

### 6.2.3 PREPARACIÓN DE GUAYANOLIDAS FUNCIONALIZADAS EN C2

El buen funcionamiento de la metodología optimizada llevó a aplicarla a la síntesis de productos más complejos. Así, se decidió preparar análogos de guayanolidas, ya que muchas de estas lactonas sesquiterpénicas, aisladas de plantas de la familia de las umbelíferas, presentan un grupo aciloxilo en la posición C2 del anillo A. Dicho grupo podría instalarse mediante esta metodología a partir del carbonilo  $\alpha,\beta$ -insaturado presente en C3. Además, la bioactividad de este tipo de productos naturales hace interesante la preparación de análogos más sencillos que puedan presentar actividades comparables.

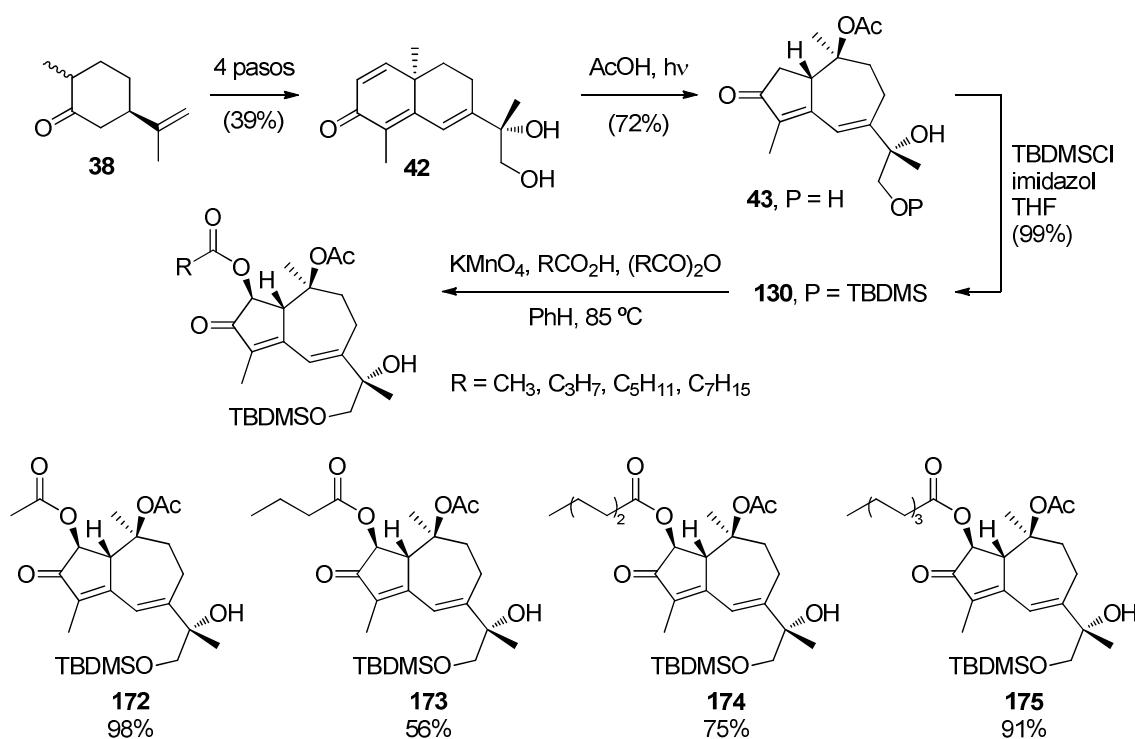
En primer lugar se prepararon derivados de la lactona O-acetilisotosantónica, **167**, que se obtiene a su vez por reagrupamiento fotoquímico de la  $\alpha$ -santonina, **166**, en ácido acético, con un 38% de rendimiento.<sup>169</sup> El compuesto **167** se trató con las condiciones de aciloxilación en  $\alpha'$  en presencia de diferentes ácidos y anhídridos carboxílicos, para dar, respectivamente, los productos **168**, **169**, **170** y **171**, con los rendimientos indicados en la Figura 6.7.



**Figura 6.7.** Guayanolidas funcionalizadas en C2 a partir de aciloxilación en posición  $\alpha'$  de **167**.

<sup>169</sup>Zhang, W.; Luo, S.; Fang; Chen, Q.; Hu, H.; Jia, X.; Zhai, H. Total Synthesis of Absinthin. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 127, 18–19.

Posteriormente, se empleó la aproximación a la tapsigargina, **1**, desarrollada con anterioridad por el grupo de investigación para preparar el guayano **43**. Así, a partir de (*S*)-dihidrocarvona, **38**, se obtuvo el intermedio **42** en 4 pasos, con un rendimiento global del 39%. El reagrupamiento fotoquímico en ácido acético de este intermedio proporcionó el guayano **43** en un 72% de rendimiento, el cual fue protegido de forma cuantitativa en el alcohol primario con TBDMSCl, generando el guayano **130**, sustrato adecuado para la aciloxilación en  $\alpha'$ . El tratamiento con ácidos y anhídridos carboxílicos de distintas cadenas dio lugar, respectivamente, a los guayanos **172**, **173**, **174** y **175** (Figura 6.8).

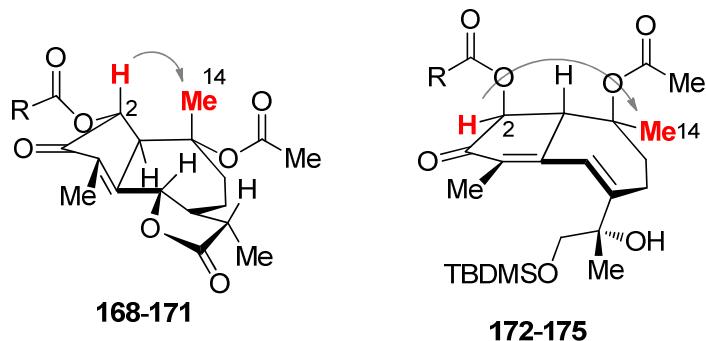


**Figura 6.8.** Guayanos funcionalizados en C2 a partir de la aciloxilación en posición  $\alpha'$  de **130**.

Como puede apreciarse en las Figuras 6.7 y 6.8, en la reacción de aciloxilación en  $\alpha'$  sobre sustratos quirales solo se aisló un diastereoisómero del producto en cada caso. Esto indica que el curso de la reacción se ve afectado por la estereoquímica del sustrato. Además, se puede observar la compatibilidad con grupos funcionales, ya que también se obtuvieron buenos rendimientos en presencia de dobles enlaces, otros ésteres, lactonas o grupos hidroxilos primarios protegidos con silanos.

Las estereoquímicas de los productos se determinaron mediante experimentos nOe. Así, en el conjunto de compuestos **168-171** se observó correlación espacial entre el

hidrógeno en la posición C2 y los hidrógenos sobre el metilo C14, cuya configuración absoluta venía determinada por el material de partida **167**. Lo mismo sucedió en los productos **172-175**, que mostraron correlación espacial entre el hidrógeno C2 y el metilo en C14, cuya configuración a su vez venía determinada por **43** (Figura 6.9).



**Figura 6.9.** Efectos nOe seleccionados en los productos **168-171** y **172-175**.

A partir del compuesto **175**, con la cadena de octanoiloxilo en C2, se decidió preparar un análogo de la tapsigargina, **1**. Hay dos motivos principales que justifican la preparación de análogos de este tipo:

- Por un lado, la actividad de las tapsigarginas como potentes inhibidores de las bombas SERCAs las hace interesantes desde un punto de vista farmacológico. De hecho existe un profármaco basado en tapsigargina, **1**, que está en segunda fase de ensayos clínicos (capítulo 3).
- Por otro lado, solo existe una síntesis total publicada de los miembros más destacados de la familia (capítulo 3). Sin embargo esta síntesis es compleja y está constituida por más de 40 pasos.

Por tanto, la obtención de análogos más sencillos, cuya preparación se efectúe en un número menor de pasos, podría facilitar el desarrollo de fármacos con actividades biológicas similares.

Con este fin, el compuesto **175** se desprotegió mediante tratamiento con TBAF, dando el guayano **176** en un 61%. La subsecuente dihidroxilación con OsO<sub>4</sub> catalítico y NMO condujo al tetraol **177**, pero la mezcla de reacción fue difícil de purificar, por lo que el crudo obtenido se sometió directamente a lactonización empleando TEMPO en combinación con NaClO y NaClO<sub>2</sub> para dar la guyanolida **178** en un 65% de rendimiento para los dos pasos (Figura 6.10). Todos los intermedios de esta secuencia

(excepto el tetraol **177**, que no se aisló) fueron purificados y debidamente caracterizados. El producto **178**, obtenido en un total de 10 pasos desde el compuesto **38**, cuenta con 6 de los 8 centros quirales de la tapisigargina, **1**, y por tanto es un análogo interesante para ensayos de actividad biológica. La configuración de estos centros quirales fue confirmada mediante experimentos nOe (Figura 6.11), en los que se observaron correlaciones espaciales entre el metilo en C14 con los hidrógenos en C2 y en C6. Este hecho confirmaba las orientaciones  $\alpha$  del hidrógeno y  $\beta$  del oxígeno en ambas posiciones C2 y C6, así como la orientación  $\beta$  del hidroxilo en C7 al proceder de una dihidroxilación 1,2-syn.

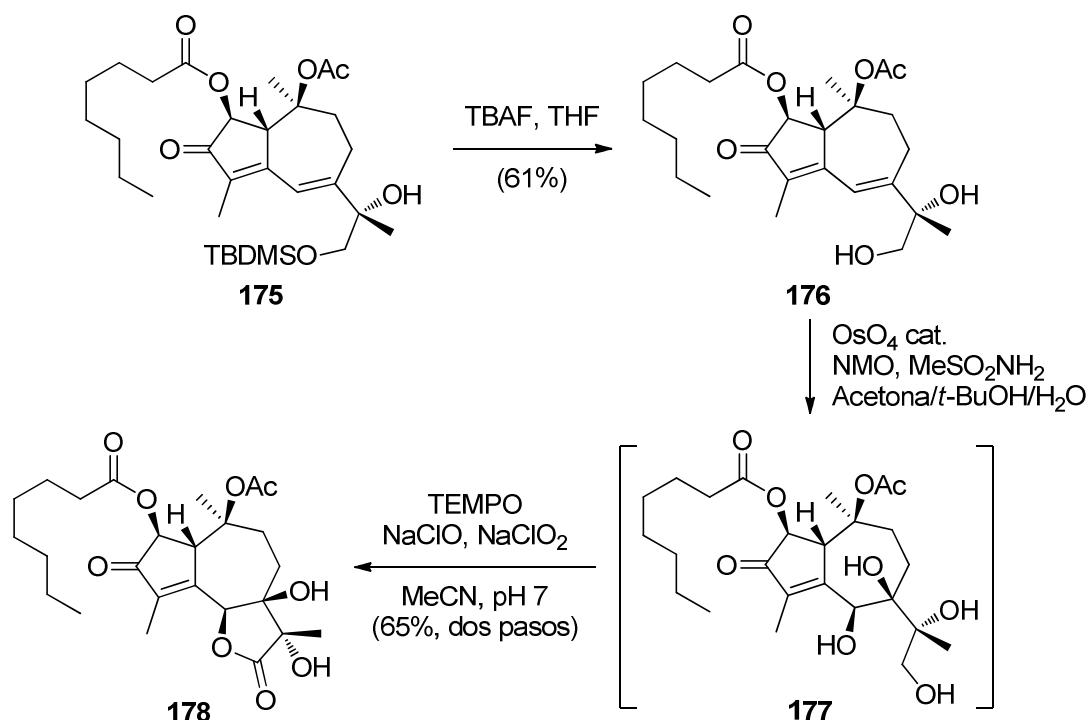
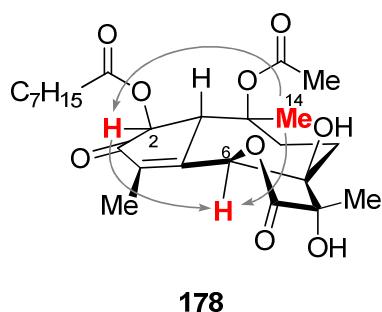


Figura 6.10. Síntesis de la guayanolida **178**.

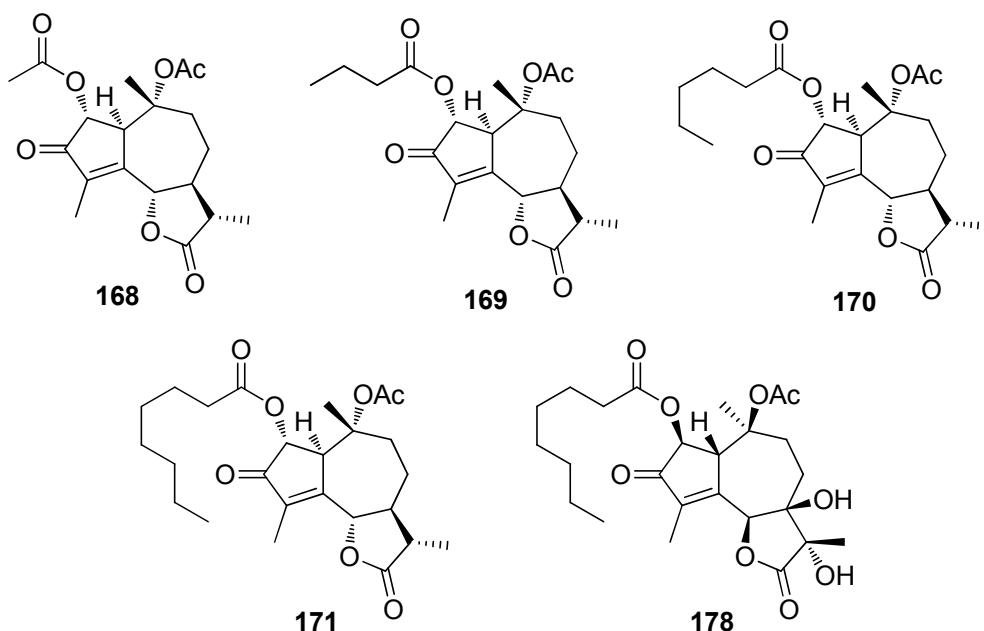


**178**

Figura 6.11. Efectos nOe seleccionados en la guayanolida **178**.

### 6.3 RESUMEN

Se han optimizado, mediante Diseño de Experimentos, las condiciones de reacción para la aciloxilación en posición  $\alpha'$  de enonas, empleando  $\text{KMnO}_4$  en presencia de distintos ácidos carboxílicos en combinación con sus correspondientes anhídridos, como agentes para capturar el agua generada en sustitución de las trampas Dean-Stark. La metodología desarrollada ha sido evaluada mediante ANOVA en términos de robustez y reproducibilidad. Posteriormente se ha extendido su alcance a distintos tipos de sustratos con buenos rendimientos (Figuras 6.6, 6.7 y 6.8).



**Figura 6.12.** Guayanolidas obtenidas a partir de aciloxilación en posición  $\alpha'$ .

Adicionalmente, se ha aplicado a sustratos de mayor complejidad, demostrando su tolerancia a distintos grupos funcionales y una diastereoselectividad inducida por el sustrato. Esto permitió obtener el conjunto de guayanolidas **168**, **169**, **170**, **171**, con estructuras privilegiadas para la evaluación de sus actividades biológicas; así como **178**, que constituye un análogo de tapsigargina, **1** (Figura 6.12).<sup>170</sup>

<sup>170</sup>Marín-Barrios, R.; García-Cabeza, A. L.; Moreno-Dorado, F. J.; Guerra, F. M.; Massanet, G. M. Acyloxylation of Cyclic Enones: Synthesis of Densely Oxygenated Guaianolides. *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 6501-6509.



## CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES GENERALES

1. Se ha optimizado la oxidación alílica de Kharasch-Sosnovsky mediante el método *simplex* modificado, un método secuencial de optimización multivariante, llegando a condiciones de reacción suaves, a temperatura ambiente y con 24 horas de duración, empleando TBPB en presencia de un sistema catalítico a base de CuCl y DBU.
2. Se han aplicado las condiciones encontradas a olefinas de complejidad estructural media, siendo el material de partida el reactivo limitante.
3. Se ha conseguido una alta regioselectividad en la reacción de Kharasch-Sosnovsky, y diastereoselectividad cuando el sustrato es de naturaleza quiral, obteniéndose un único producto en cada caso.
4. Se ha puesto a punto la reacción de  $\gamma$ -hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**, empleando CuCl<sub>2</sub>, MeOK como base y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NaI como aditivos, lo cual permitió obtener 4-hidroxicarvona, **132**, en un rendimiento moderado.
5. Se ha realizado una aproximación a la síntesis total de la tapsigargina, llegando a un intermedio avanzado, **143**, a partir de 4-hidroxicarvona.
6. Se ha llevado a cabo la síntesis de 8-hidroxiguayanos, validando así la utilidad de la 4-hidroxicarvona para su empleo como sintón clave en la síntesis de guayanos funcionalizados en la posición C8 (producto **148**).
7. Se han encontrado unas condiciones de reacción para la aciloxilación en posición  $\alpha'$  de enonas promovida por KMnO<sub>4</sub> en combinación con un ácido carboxílico y su anhídrido correspondiente.
8. Se ha optimizado la aciloxilación en posición  $\alpha'$  de enonas empleando Diseño de Experimentos, permitiendo llegar a unas condiciones óptimas que fueron evaluadas en términos de robustez y reproducibilidad mediante el análisis de la varianza (ANOVA).
9. Se ha aplicado a diversas enonas la reacción desarrollada para la aciloxilación en posición  $\alpha'$ , siendo la reacción regioselectiva así como diastereoselectiva en el caso de sustratos quirales, aislando un solo producto.
10. Se han obtenido 5 guayanolidas funcionalizadas en la posición C2 (**168**, **169**, **170**, **171** y **178**), mediante la aplicación de la aciloxilación en  $\alpha'$  de enonas. Estos productos constituyen un conjunto de análogos de tapsigarginas cuya actividad biológica será evaluada.



***PARTE EXPERIMENTAL***

***Capítulo 8. Parte Experimental.***

***Anexo de Espectros.***



## CAPÍTULO 8. PARTE EXPERIMENTAL

### 8.1 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 8.1.1 Técnicas instrumentales

#### 8.1.2 Técnicas cromatográficas

#### 8.1.3 Disolventes y reactivos

### 8.2 DESCRIPCIÓN DE REACCIONES Y PRODUCTOS

### 8.1 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 8.1.1 TÉCNICAS INSTRUMENTALES

##### Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los experimentos se realizaron en aparatos Agilent de 400 o 500 MHz, a temperatura ambiente (25 °C). Los desplazamientos químicos se expresan en la escala  $\delta$  en ppm y las constantes de acoplamiento ( $J$ ) en hertzios (Hz). Los valores de  $\delta$  están referenciados con respecto al pico residual de cloroformo (para  $^1\text{H}$  a 7.26 ppm, y para  $^{13}\text{C}$  a 77.16 ppm).<sup>171</sup>

La multiplicidad de las señales se indica con las siguientes abreviaturas: a (ancho), s (singlete), d (doblete), t (triplete), q (cuartete), m (multiplete), dd (doblete de doblete), dt (doblete de triplete), ddd (doblete de doblete de doblete), etc. Los multipletes se definen con el valor de  $\delta$  de su punto medio.

Los tipos de experimentos de RMN realizados fueron los siguientes:

- $^1\text{H}$ -RMN.
- $^{13}\text{C}$ -RMN.
- gCOSY (*gradient Correlation Spectroscopy*), correlación homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  a través de enlaces.

<sup>171</sup>Gottlieb, H. E.; Kotlyar, V.; Nudelman, A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7512–7515.

- Espectros de diferencias nOe (*nuclear Overhauser effect*) y NOESY (*Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy*), que establecen las correlaciones debidas a efectos nOe (correlaciones  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  a través del espacio).
- TOCSY (*Total Correlation Spectroscopy*), que permite establecer una secuencia completa de spin.
- gHSQC (*gradient Heteronuclear Single Quantum Coherence*), que determina la correlación heteronuclear  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  a través de un enlace.
- gHMBC (*gradient Heteronuclear Multiple-Bond Correlation*), que establece la correlación heteronuclear a largo alcance (habitualmente a dos o tres enlaces).

### **Espectrometría de Masas (EM)**

Los espectros de masas de alta resolución (*High Resolution Mass Spectrometry*, HRMS) se realizaron en un espectrómetro Waters Q-TOF (SYNAPT G2). Se llevaron a cabo mediante ionización química (*Chemical Ionization*, CI), ionización química a presión atmosférica (*Atmospheric Pressure Chemical Ionization Gas Chromatography*, APGC) o mediante electrospray (*Electrospray Ionization*, ESI).

### **Espectroscopia Infrarroja (IR)**

Los espectros se registraron en espectrofotómetros Perkin Elmer, modelos Spectrum BX y Spectrum Two. Las muestras se disolvieron en cloroformo o metanol Aldrich 99.9% A.C.S. grado espectrofotométrico, y se depositaron en película sobre celdas de NaCl.

### **Actividades ópticas**

Se midieron con un polarímetro Perkin Elmer 241, provisto de lámpara de sodio ( $\lambda = 589$  nm), con celda estándar de 1 dm de longitud y 1 mL de volumen. Se utilizaron cloroformo y metanol como disolventes (Aldrich 99.9% A.C.S. grado espectrofotométrico).

## 8.1.2 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

### Cromatografía en placa fina (CCF)

Se realizaron sobre cromatofolios de gel de sílice Merck Kiesegel 60 F254, con un espesor de 0.25 mm e indicador fluorescente. La elución de los compuestos en los cromatofolios fue evidenciada, bien por exposición a luz UV (254 y 360 nm), bien empleando un revelador químico de coloración:

- Disolución de ácido sulfúrico, etanol al 96% y vainillina, en proporción 4:29:2 (vainillina).
- Disolución de ácido sulfúrico, agua y ácido acético en proporción 4:16:80.
- Disolución de  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$  (4 g),  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot\text{H}_2\text{O}$  (100 g), ácido sulfúrico concentrado (100 mL) y agua (900 mL) (CAM).
- Disolución de anisaldehído (25 mL), etanol (75 mL), ácido sulfúrico concentrado (1 mL) y ácido acético (5 mL) (anisaldehído).

En todos los casos se llevó a cabo un posterior calentamiento de la placa a 100 °C durante unos minutos. La proporción de los eluyentes se expresa en tanto por ciento del componente más polar, de manera que, por ejemplo, una mezcla de AcOEt/Hex al 30% indica 30 mL de acetato de etilo y 70 mL de hexano.

### Cromatografía de gases (CG)

Se utilizó un cromatógrafo de gases Perkin-Elmer Clarus GC400, con una columna Perkin Elmer Elite-5. La preparación de las muestras se realizó pasando una alícuota, extraída de cada reacción, a través de una pequeña columna de gel de sílice, de dimensiones  $0.6 \times 7$  cm, para eliminar especies metálicas y sólidos en suspensión. Las temperaturas de inyección y detección y las rampas de calentamiento se adaptaron según los distintos compuestos.

Para determinar los rendimientos por CG, se realizó un calibrado previo, consistente en la inyección de tres disoluciones patrón de cantidades perfectamente conocidas del producto (previamente purificado mediante HPLC) con cantidades perfectamente conocidas del estándar interno (octadecano), empleando AcOEt/Hex 1:1 como disolvente. La comparación de áreas del producto frente a áreas del estándar con las

cantidades de ambos en dichos patrones permite efectuar una relación de las áreas obtenidas en muestras problema con las cantidades de producto, conocida la cantidad de estándar adicionada previamente a cada reacción. Determinada la cantidad de producto en las muestras, se calcula el rendimiento de cada reacción en función de la cantidad máxima esperada.

### **Cromatografía en columna**

Para las columnas a presión atmosférica se utilizó gel de sílice Merck de grano 60-200 micrones; las mezclas a separar se introdujeron disueltas en el mismo eluyente, o bien preadsorbidas sobre gel de sílice. Para las columnas a presión, flash, se empleó gel de sílice de las mismas características, en un aparato Armen Spot, con detector de absorción en UV.

### **Cromatografía líquida de alta eficacia (*High Performance Liquid Chromatography, HPLC*)**

Se utilizaron cromatógrafos Merck-Hitachi L-6270 y L-7100, equipados con índice de refracción. Las separaciones se llevaron a cabo en una columna de gel de sílice LiChrospher Si-60 con relleno de 10  $\mu\text{m}$  de 1  $\times$  25 cm (semipreparativa). La preparación de las muestras se realizó con una pequeña columna de gel de sílice, de dimensiones 0.6  $\times$  7 cm, para eliminar la línea base y posterior filtrado a través de filtros de nylon Teknokroma de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. Los eluyentes utilizados fueron hexano, acetato de etilo y mezclas de los mismos, previamente destilados y filtrados sobre filtros Millipore de 0.45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro.

### **8.1.3 DISOLVENTES Y REACTIVOS**

#### **Disolventes para cromatografía**

En cromatografía se utilizaron disolventes de grado técnico destilados. Como ya se ha destacado, para HPLC fueron además filtrados.

#### **Secado de disolventes**

Para reacciones químicas que requieren condiciones anhidras, el secado de disolventes (eliminación de trazas de agua) se llevó a cabo de la siguiente forma:

- Diclorometano: destilado y refluído sobre  $\text{CaH}_2$ .
- Tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, éter etílico, tolueno, benceno: destilado y refluído sobre sodio metálico, con benzofenona como indicador.

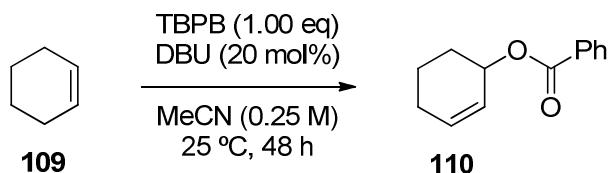
Alternativamente, tetrahidrofurano, éter etílico y diclorometano se obtuvieron secos de un sistema de purificación de disolventes modelo Pure Solv.

#### **Reactivos**

Los reactivos se consiguieron a través de las diferentes casas comerciales y fueron empleados sin mayor purificación.

## 8.2 DESCRIPCIÓN DE REACCIONES Y PRODUCTOS

### 8.2.1 Optimización de la fuente de cobre en la reacción de Kharasch-Sosnovsky

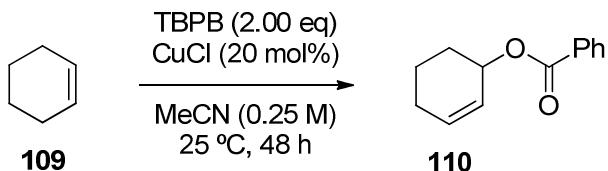


| Fuente de cobre (10 mol%)     | Rdto. (%) |
|-------------------------------|-----------|
| <chem>[Cu(MeCN)4]OTf</chem>   | 5         |
| <chem>[Cu(MeCN)4]PF6</chem>   | 2         |
| <chem>[Cu(MeCN)4]BF4</chem>   | 16        |
| <chem>[Cu(OTf)·1/2PhH]</chem> | 10        |
| <chem>Cu(OTf)2</chem>         | 9         |
| <chem>CuCl</chem>             | 23        |
| <chem>CuCl2</chem>            | 19*       |

\*4 días de reacción.

Excepto para CuCl y CuCl<sub>2</sub>, las reacciones se llevaron a cabo bajo atmósfera inerte, de forma simultánea en un carrusel Radley de síntesis en paralelo. Las correspondientes sales de cobre (0.10 mmol, 10 mol%) se disolvieron en acetonitrilo (4 mL), se les añadió DBU (0.031 mL, 0.20 mmol, 20 mol%) y se dejaron agitando durante 5 minutos. Se adicionó a cada una 10 mg de octadecano como estándar interno. Posteriormente se añadió ciclohexeno, **109** (0.101 mL, 1.00 mmol) y TBPB (0.188 mL, 1.00 mmol, 1.00 eq.). El rendimiento se determinó tras 48 horas de agitación a temperatura ambiente mediante CG. Los resultados se recogen en la Tabla 4.2.

### 8.2.2 Efecto de los aditivos sobre la reacción de Kharasch-Sosnovsky

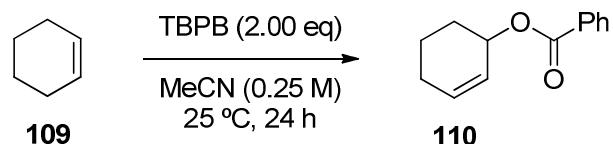


| Aditivo (20 mol%)  | Rdto. 48 h (%) | Aditivo (20 mol%)      | Rdto. (%) |
|--------------------|----------------|------------------------|-----------|
| DBU                | 100            | DBN                    | 47        |
| Pirrolidina        | 100            | DABCO                  | 1         |
| L-prolina          | 80             | Imidazol               | 24        |
| Et <sub>3</sub> N  | 67             | Hexametilentetramina   | 1         |
| DIPEA              | 7              | 4-DMAP                 | 17        |
| DIPA               | 25             | 2-(metilamino)piridina | 10        |
| D-Valina           | 10             | Colidina               | 5         |
| L-Tirosina         | 9              | Difenilguanidina       | 16        |
| PhNNH <sub>2</sub> | 33*            |                        |           |

\*44% en acetona.

Todas las reacciones se realizaron de forma simultánea en un carrusel Radley de síntesis en paralelo. Se prepararon disoluciones de CuCl (41 mg, 0.40 mmol) en acetonitrilo (8 mL) y se les añadió el aditivo nitrogenado correspondiente (0.40 mmol, 20 mol%). Se dejaron agitar durante 5 minutos y se adicionó a cada una 10 mg de octadecano como estándar interno. Posteriormente se añadió ciclohexeno (0.203 mL, 2.00 mmol) y TBPB (0.752 mL, 4.00 mmol, 2.00 eq.). El rendimiento se determinó tras 48 horas de agitación a temperatura ambiente mediante CG. Los resultados se recogen en la Tabla 4.3.

### **8.2.3 Estudio de la estequiometría cobre/DBU**



| CuCl (mol%) | DBU (mol%) | Rdto. (%) |
|-------------|------------|-----------|
| 10          | 10         | 22        |
| 20          | 20         | 64        |
| 30          | 30         | 45        |
| 70          | 70         | 31        |
| 100         | 100        | 17        |
| 40          | 20         | 37        |
| 20          | 40         | 49        |

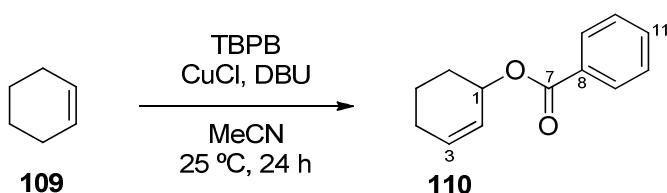
Todas las reacciones se realizaron de forma simultánea en un carrusel Radley de síntesis en paralelo. Se prepararon disoluciones de CuCl (cantidades variables según la tabla) en acetonitrilo (4 mL) y se les añadió DBU (cantidades variables). Se agitaron durante 5 minutos y se adicionó a cada una 10 mg de octadecano como estándar interno. Posteriormente se añadió ciclohexeno (0.101 mL, 1.00 mmol) y TBPB (0.376 mL, 2.00 mmol, 2.00 eq.). El rendimiento se determinó tras 24 horas de agitación a temperatura ambiente mediante CG. Los resultados se recogen en la Tabla 4.4.

#### 8.2.4 Optimización por el método *simplex* para el ciclohexeno

| Vértice | TBPB (eq.) | CuCl (eq.) | DBU (eq.) | Rdto. (%) |
|---------|------------|------------|-----------|-----------|
| 1       | 1.50       | 0.20       | 0.20      | 21        |
| 2       | 2.00       | 0.20       | 0.20      | 26        |
| 3       | 1.75       | 0.29       | 0.20      | 27        |
| 4       | 1.75       | 0.23       | 0.28      | 23        |
| 5       | 2.17       | 0.28       | 0.25      | 44        |
| 6       | 2.50       | 0.32       | 0.28      | 53        |
| 7       | 2.42       | 0.31       | 0.17      | 42        |
| 8       | 2.44       | 0.41       | 0.24      | 70        |
| 9       | 2.67       | 0.51       | 0.25      | 64        |
| 10      | 1.75       | 0.29       | 0.20      | 86        |
| 11      | 3.86       | 0.45       | 0.29      | 92        |
| 12      | 3.45       | 0.48       | 0.37      | 72        |
| 13      | 3.54       | 0.49       | 0.29      | 100       |

Se seleccionó como punto de partida 1.50 eq. de TBPB, 0.20 eq. de CuCl y 0.20 eq. de DBU. En el software para desarrollo del método *simplex*<sup>172</sup> se introdujo como *paso* (distancia entre los valores que toman las variables en los experimentos iniciales) 0.50 para el TBPB y 0.10 para CuCl y DBU, y se calcularon los otros tres experimentos para el *simplex* inicial: (2.00, 0.20, 0.20), (1.75, 0.29, 0.20) y (1.75, 0.23, 0.28) (siendo las coordenadas TBPB, CuCl y DBU, respectivamente). Los experimentos se llevaron a cabo disolviendo la cantidad de CuCl en acetonitrilo (4 mL) y adicionando la cantidad adecuada de DBU. Tras 5 minutos, se añadieron 10 mg de octadecano (estándar), ciclohexeno (0.101 mL, 1.00 mmol) y por último la cantidad necesaria de TBPB. Se determinó el rendimiento por CG tras 24 horas de agitación a temperatura ambiente y en función de los resultados obtenidos y empleando los algoritmos establecidos por el método *simplex* modificado se calcularon los nuevos vértices hasta alcanzar el rendimiento óptimo (Tabla 4.5).

### 8.2.5 Procedimiento general optimizado de benzoiloxilación del ciclohexeno



A una disolución de CuCl (50 mg, 0.49 mmol, 0.49 eq.) en acetonitrilo (4 mL) se adicionó DBU (0.043mL, 0.29 mmol, 0.29 eq.) y se agitó durante 5 minutos. A continuación se añadió ciclohexeno, **109** (0.101 mL, 1.00 mmol) y TBPB (0.665 mL, 3.54 mmol, 3.54 eq.). Tras 24 horas agitando a temperatura ambiente, la reacción se detuvo adicionando AcOEt (15 mL) y se lavó con una disolución acuosa de NH<sub>4</sub>Cl saturado para retirar el cobre (2 × 10 mL). La fase acuosa se extrajo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 5%) para dar benzoato de ciclohexenilo, **110** (100% de rendimiento en CG, 80% aislado). Los datos espectroscópicos coinciden con la literatura.<sup>173</sup>

<sup>172</sup>Software empleado: *SIMPLEXModificado\_1.2*, desarrollado en el Dpto. de Química Física de la Universidad de Cádiz.

<sup>173</sup>(a) Bellucci, G.; Bianchini, R.; Vecchiani, S. Comparison of Molecular Bromine and Tribromide Ion as Brominating Reagents. 2. Kinetic and Product Investigation of the Bromination of 3-Substituted Cyclohexenes. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 4224–4232. (b) Aakermark, B.; Larsson, E. M.; Oslob, J. D. Allylic Carboxylations and Lactonization Using Benzoquinone and Hydrogen Peroxide or Tert-Butyl Hydroperoxide as Oxidants. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 5729–5733.

**Benzoato de ciclohexenilo, 110:** aceite amarillo;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.05 (dd,  $J = 8.4, 1.3$  Hz, 2H, H-9 y H-13), 7.53 (tt,  $J = 7.4, 1.3$  Hz, 1H, H-11), 7.42 (dd,  $J = 8.1, 7.1$  Hz, 2H, H-10 y H-12), 5.99 (dddd,  $J = 10.0, 7.4, 3.7, 1.1$  Hz, 1H, H-2), 5.83 (dddd,  $J = 10.0, 3.9, 2.1, 2.1$  Hz, 1H, H-3), 5.51 (m, 1H, H-1), 2.14 (m, 1H, H-4), 2.04 (m, 1H, H'-4), 1.96 (m, 1H, H-6), 1.85 (m, 2H, H'-6 y H-5), 1.70 (m, 1H, H'-5);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.2 (C7), 132.8 (C11), 132.7 (C2), 130.8 (C8), 129.5 (C9 y C13), 128.2 (C10 y C12), 125.7 (C3), 68.5 (C1), 28.4 (C4), 24.9 (C6), 18.9 (C5); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2930, 1715, 1456, 1314, 1271, 1110, 925, 710, 691  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_2$   $[\text{M}]^+$  202.0994; encontrado 202.1029.

### 8.2.6 Estudio cinético comparativo

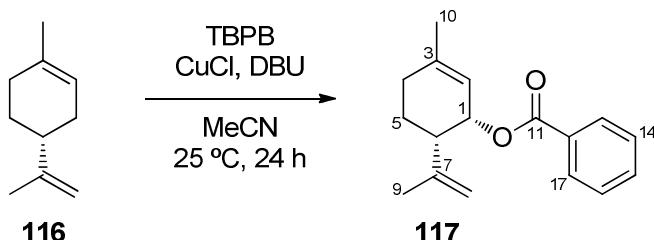
| Tiempo<br>(h) | Rendimientos (%) |                 |                       |                                       |
|---------------|------------------|-----------------|-----------------------|---------------------------------------|
|               | $\text{CuCl}$    | $\text{CuCl}_2$ | $\text{Cu}_2\text{O}$ | $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{BF}_4$ |
| 0.0           | 0.0              | 0.0             | 0                     | 0.0                                   |
| 0.5           | 0.4              | 0.0             | 0                     | 0.0                                   |
| 1.0           | 4.6              | 3.6             | 0                     | 0.0                                   |
| 1.5           | 7.6              | 3.7             | 0                     | 1.1                                   |
| 2.0           | 12               | 5.4             | 0                     | 1.3                                   |
| 2.5           | 14               | 7.2             | 0                     | 1.8                                   |
| 3.0           | 16               | 9.1             | 0                     | 1.0                                   |
| 10            | 52               | 18              | 0                     | 2.0                                   |
| 17            | 72               | 21              | 0                     | 3.2                                   |
| 23            | 95               | 20              | 0                     | 4.5*                                  |

\*29% en acetona.

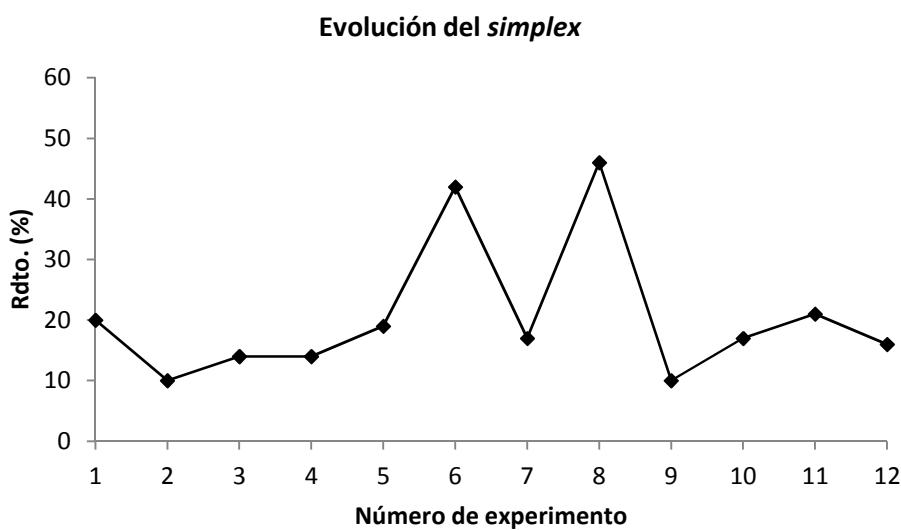
Se realizaron 4 ensayos en paralelo con distintas fuentes de cobre:  $\text{CuCl}$ ,  $\text{CuCl}_2$ ,  $\text{Cu}_2\text{O}$ ,  $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{BF}_4$ . Para cada uno de ellos, se disolvió la fuente de cobre (0.49 mmol, 0.49 eq.) en acetonitrilo (4 mL) y se adicionó DBU (0.043 mL, 0.29 mmol, 0.29 eq.). Se dejó agitar 5 minutos y se añadió a cada uno 10 mg de octadecano (estándar), ciclohexeno, **109** (0.101 mL, 1.00 mmol) y TBPB (0.665 mL, 3.54 mmol, 3.54 eq.). Se determinó el rendimiento de la reacción mediante CG a diferentes tiempos de reacción hasta las 23 horas, obteniéndose los resultados de la tabla anterior, representados en la Figura 4.9. Se realizó un ensayo adicional, en las mismas condiciones, empleando  $\text{Cu}(\text{MeCN})_4\text{BF}_4$  en acetona, que dio un 29% de rendimiento en CG tras 23 horas de reacción.

### 8.2.7 Extensión de la reacción de Kharasch-Sosnovsky a otros sustratos

#### Optimización por el método *simplex* para el limoneno, 116



| Vértice | TBPB (eq.) | CuCl (eq.) | DBU (eq.) | Rdto. (%) |
|---------|------------|------------|-----------|-----------|
| 1       | 4.00       | 0.20       | 0.20      | 20        |
| 2       | 4.50       | 0.20       | 0.20      | 10        |
| 3       | 4.25       | 0.37       | 0.20      | 14        |
| 4       | 4.25       | 0.26       | 0.36      | 14        |
| 5       | 3.83       | 0.35       | 0.31      | 19        |
| 6       | 3.81       | 0.17       | 0.38      | 42        |
| 7       | 3.58       | 0.07       | 0.47      | 17        |
| 8       | 3.51       | 0.22       | 0.23      | 46        |
| 9       | 3.14       | 0.21       | 0.16      | 10        |
| 10      | 3.66       | 0.20       | 0.31      | 17        |
| 11      | 3.80       | 0.28       | 0.29      | 21        |
| 12      | 3.41       | 0.24       | 0.40      | 16        |

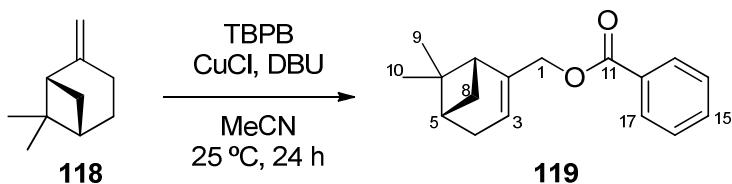


Se seleccionó como punto de partida 4.00 eq. de TBPB, 0.20 eq. de CuCl y 0.20 eq. de DBU. En el software para desarrollo del método *simplex*<sup>172</sup> se introdujo como *paso* 0.50 para el TBPB y 0.10 para CuCl y DBU, y se calcularon los otros tres experimentos para el *simplex* inicial: (4.50, 0.20, 0.20), (4.25, 0.37, 0.20) y (4.25, 0.26, 0.36) (siendo

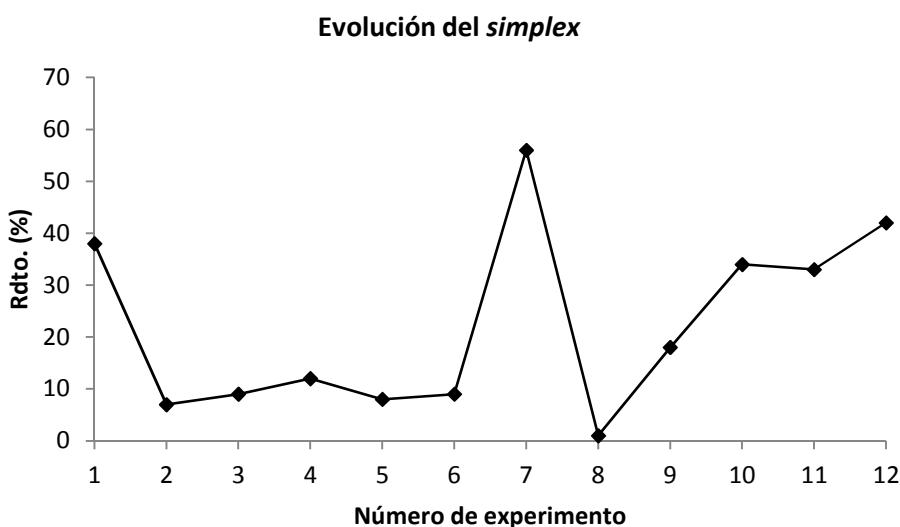
las coordenadas TBPB, CuCl y DBU). Los experimentos se llevaron a cabo disolviendo la cantidad de CuCl en acetonitrilo (8 mL) y adicionando la cantidad adecuada de DBU. Tras 5 minutos, se añadieron 10 mg de octadecano (estándar), (*R*)-limoneno, **116** (0.324 mL, 2.00 mmol) y por último la cantidad necesaria de TBPB. Se determinó el rendimiento por CG a las 24 horas y en función de los resultados obtenidos y empleando los algoritmos establecidos por el método *simplex* modificado se calcularon los nuevos vértices. Tras varias iteraciones, mostradas en la tabla anterior, se llegó a las condiciones óptimas, 3.51 eq. de TBPB, 0.22 eq. de CuCl y 0.23 eq. de DBU, dando el producto benzoiloxilimoneno **117** en un 46% de rendimiento. En la gráfica se representa la evolución del *simplex* a lo largo del proceso de optimización.

**Benzoiloxilimoneno 117:** aceite incoloro;  $[\alpha]_D^{20} -8.6$  (*c* 0.03, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.08 (dd, *J* = 8.4, 1.4 Hz, 2H, H-13 y H-17), 7.55 (tt, *J* = 7.4, 1.3 Hz, 1H, H-15), 7.44 (dd, *J* = 8.4, 7.4 Hz, 2H, H-14 y H-16), 5.80 (s a, 1H, H-2), 5.52 (s a, 1H, H-1), 4.74 (d a, *J* = 7.5 Hz, 2H, 2H-8), 2.43 (m, 1H, H-6), 2.29 (m, 1H, H-4), 2.25 (m, 1H, H'-4), 2.11 (ddd, *J* = 14.2, 4.1, 2.4 Hz, 1H, H-5), 1.93 (m, 1H, H'-5), 1.76 (s a, 3H, 3H-10), 1.74 (s a, 3H, 3H-9); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 166.3 (C11), 148.6 (C3), 132.8 (C15), 131.0 (C7), 130.7 (C12), 129.6 (C13 y C17), 128.3 (C14 y C16), 127.9 (C2), 109.2 (C8), 71.2 (C1), 36.0 (C6), 33.8 (C4), 30.9 (C5), 20.9 (C10), 20.7 (C9); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2932, 1714, 1450, 1314, 1268, 1110, 1025, 711 cm<sup>-1</sup>; HRMS (CI) calculado para C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub>[M]<sup>+</sup> 256.1463; encontrado 256.1458.

**Optimización por el método *simplex* para el  $\beta$ -pineno, 118**



| Vértice | TBPPB (eq.) | CuCl (eq.) | DBU (eq.) | Rdto. (%) |
|---------|-------------|------------|-----------|-----------|
| 1       | 4.00        | 0.20       | 0.20      | 38        |
| 2       | 4.50        | 0.20       | 0.20      | 7         |
| 3       | 4.25        | 0.37       | 0.20      | 9         |
| 4       | 4.25        | 0.26       | 0.36      | 12        |
| 5       | 3.83        | 0.35       | 0.31      | 8         |
| 6       | 4.00        | 0.32       | 0.28      | 9         |
| 7       | 3.92        | 0.14       | 0.36      | 56        |
| 8       | 3.75        | 0.03       | 0.45      | 1         |
| 9       | 4.11        | 0.08       | 0.34      | 18        |
| 10      | 3.96        | 0.17       | 0.28      | 34        |
| 11      | 3.81        | 0.26       | 0.23      | 33        |
| 12      | 3.88        | 0.21       | 0.25      | 42        |

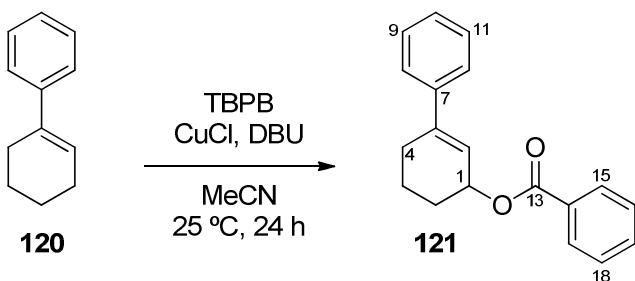


Se seleccionó como punto de partida 4.00 eq. de TBPPB, 0.20 eq. de CuCl y 0.20 eq. de DBU. En el software para desarrollo del método *simplex*<sup>172</sup> se introdujo como *paso* 0.50 para el TBPPB y 0.10 para CuCl y DBU, y se calcularon los otros tres experimentos para el simplex inicial: (4.50, 0.20, 0.20), (4.25, 0.37, 0.20) y (4.25, 0.26, 0.36) (siendo las coordenadas TBPPB, CuCl y DBU). Los experimentos se llevaron a cabo disolviendo la cantidad de CuCl en acetonitrilo (8 mL) y adicionando la cantidad adecuada de DBU. Tras 5 minutos, se añadieron 10 mg de octadecano (estándar), (1S)- $\beta$ -pineno,

**118** (0.317 mL, 2.00 mmol) y por último la cantidad necesaria de TBPB. Se determinó el rendimiento por CG a las 24 horas y en función de los resultados obtenidos y empleando los algoritmos establecidos por el método *simplex* modificado se calcularon los nuevos vértices. Tras varias iteraciones, mostradas en la tabla anterior, se llegó a las condiciones óptimas, 3.92 eq. de TBPB, 0.14 eq. de CuCl y 0.36 eq. de DBU, dando el producto benzoiloxipineno **119** en un 56% de rendimiento. En la gráfica se representa la evolución del *simplex* a lo largo del proceso de optimización.

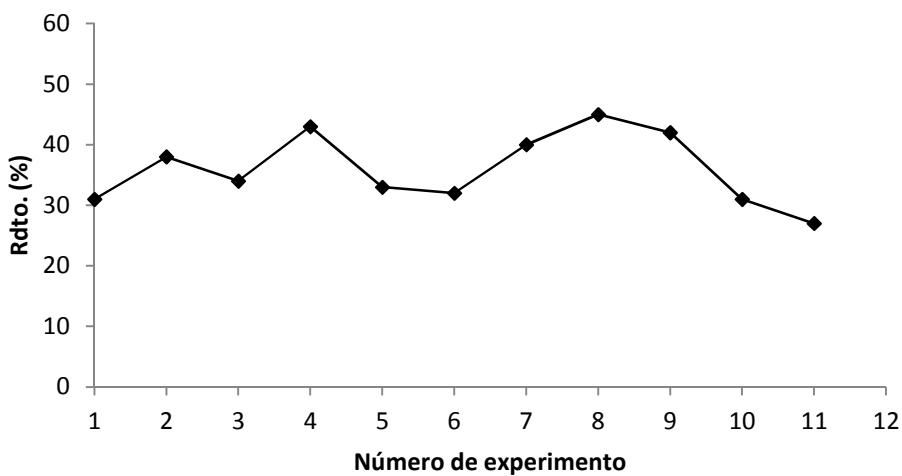
**Benzoiloxipineno 119:** aceite incoloro;  $[\alpha]_D^{20} -28.7$  (*c* 0.07,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.04 (dd, *J* = 8.4, 1.4 Hz, 2H, H-13 y H-17), 7.55 (tt, *J* = 7.4, 1.4 Hz, 1H, H-15), 7.43 (dd, *J* = 8.4, 7.4 Hz, 2H, H-14 y H-16), 5.66 (m, 1H, H-3), 4.70 (s a, 2H, 2H-1), 2.43 (ddd, *J* = 8.7, 5.7, 5.7 Hz, 1H, H-8), 2.34 (m, 1H, H-4), 2.30 (ddd, *J* = 4.4, 3.0, 1.6 Hz, 1H, H'-4), 2.22 (ddd, *J* = 5.7, 5.7, 1.5 Hz, 1H, H-5), 2.13 (m Hz, 1H, H-7), 1.30 (s, 3H, 3H-9), 1.24 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H, H'-8), 0.88 (s, 3H, 3H-10);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.4 (C11), 143.0 (C2), 132.8 (C15), 130.4 (C12), 129.5 (C13 y C17), 128.3 (C14 y C16), 121.6 (C3), 67.5 (C1), 43.6 (C5), 40.7 (C7), 38.1 (C6), 31.5 (C8), 31.3 (C4), 26.1 (C9), 21.1 (C10); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3034, 2832, 1719, 1451, 1366, 1270, 1176, 1111, 1070, 1026, 800, 711  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (CI) calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{O}_2$  [M] $^+$  256.1463; encontrado 256.1461.

### Optimización por el método *simplex* para 1-fenilciclohex-1-eno 120



| Vértice | TBPB (eq.) | CuCl (eq.) | DBU (eq.) | Rdto. (%) |
|---------|------------|------------|-----------|-----------|
| 1       | 3.75       | 0.56       | 0.46      | 31        |
| 2       | 4.25       | 0.56       | 0.46      | 38        |
| 3       | 4.00       | 0.73       | 0.46      | 34        |
| 4       | 4.00       | 0.62       | 0.62      | 43        |
| 5       | 4.42       | 0.71       | 0.57      | 33        |
| 6       | 3.92       | 0.60       | 0.49      | 32        |
| 7       | 4.00       | 0.62       | 0.50      | 40        |
| 8       | 4.17       | 0.47       | 0.59      | 45        |
| 9       | 3.67       | 0.59       | 0.79      | 42        |
| 10      | 3.89       | 0.50       | 0.84      | 31        |
| 11      | 3.92       | 0.53       | 0.75      | 27        |

Evolución del *simplex*

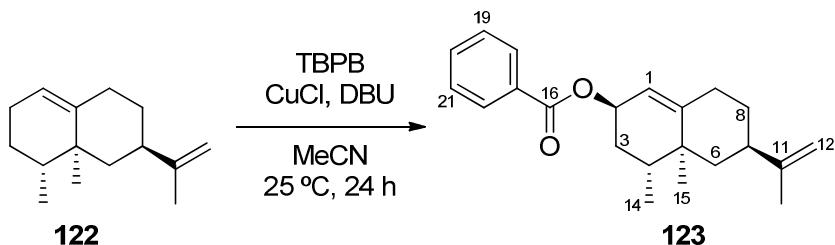


Se seleccionó como punto de partida 3.75 eq. de TBPB, 0.56 eq. de CuCl y 0.46 eq. de DBU. En el software para desarrollo del método *simplex*<sup>172</sup> se introdujo como *paso* 0.50 para el TBPB y 0.10 para CuCl y DBU, y se calcularon los otros tres experimentos para el *simplex* inicial: (4.25, 0.56, 0.46), (4.00, 0.73, 0.46) y (4.00, 0.62, 0.62) (siendo las coordenadas TBPB, CuCl y DBU). Los experimentos se llevaron a cabo disolviendo la cantidad de CuCl en acetonitrilo (4 mL) y adicionando la cantidad adecuada de

DBU. Tras 5 minutos, se añadieron 10 mg de octadecano (estándar), 1-fenilciclohex-1-eno **120** (0.168 mL, 1.00 mmol) y por último la cantidad necesaria de TBPB. Se determinó el rendimiento por CG a las 24 horas y en función de los resultados obtenidos y empleando los algoritmos establecidos por el método *simplex* modificado se calcularon los nuevos vértices. Tras varias iteraciones, mostradas en la tabla anterior, se llegó a las condiciones óptimas, 4.17 eq. de TBPB, 0.47 eq. de CuCl y 0.59 eq. de DBU, dando el producto benzoato de 3-fenilciclohex-2-enilo **121** en un 45% de rendimiento. En la gráfica se representa la evolución del *simplex* a lo largo del proceso de optimización.

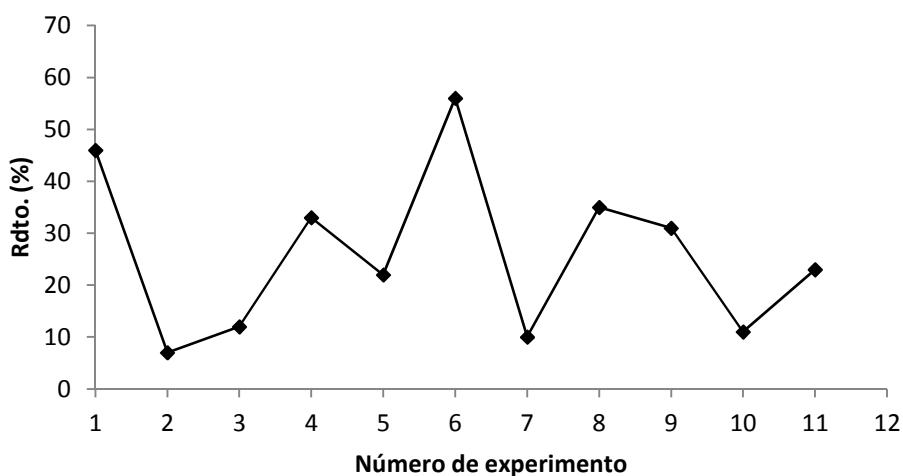
**Benzoato de 3-fenilciclohex-2-enilo, 121:** aceite amarillo;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.00 (dd,  $J = 8.4, 1.3$  Hz, 2H, H-15 y H-19), 7.47 (tt,  $J = 7.4, 1.4$  Hz, 1H, H-17), 7.37 (m, 4H, H-8, H-12, H-16 y H-18), 7.26 (m, 3H, H-9, H-10 y H-11), 6.15 (s a, 1H, H-2), 5.65 (s a, 1H, H-1), 2.52 (m, 1H, H-4), 2.36 (m, 1H, H'-4), 1.89 (m, 4H, 2H-5 y 2H-6);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.3 (C13), 142.3 (C3), 141.1 (C7), 132.8 (C17), 130.7 (C14), 129.6 (C15 y C19), 128.3 (C16 y C18), 128.3 (C8 y C12), 127.7 (C2), 125.4 (C9 y C11), 122.3 (C10), 69.5 (C1), 28.1 (C4), 27.4 (C6), 19.5 (C5); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2938, 1712, 1450, 1316, 1270, 1176, 1111, 1069, 1026, 915, 758, 712  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (CI) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_2$  [M] $^+$  278.1307; encontrado 278.1301.

### Optimización por el método *simplex* para (+)-valenceno, 122



| Vértice | TBPB (eq.) | CuCl (eq.) | DBU (eq.) | Rdto. (%) |
|---------|------------|------------|-----------|-----------|
| 1       | 2.00       | 0.30       | 0.20      | 46        |
| 2       | 2.50       | 0.30       | 0.20      | 7         |
| 3       | 2.25       | 0.47       | 0.20      | 12        |
| 4       | 2.25       | 0.36       | 0.36      | 33        |
| 5       | 1.83       | 0.45       | 0.31      | 22        |
| 6       | 1.81       | 0.27       | 0.38      | 56        |
| 7       | 2.39       | 0.03       | 0.32      | 10        |
| 8       | 2.20       | 0.17       | 0.32      | 35        |
| 9       | 1.76       | 0.13       | 0.24      | 31        |
| 10      | 1.88       | 0.19       | 0.27      | 11        |
| 11      | 2.13       | 0.30       | 0.33      | 23        |

Evolución del *simplex*

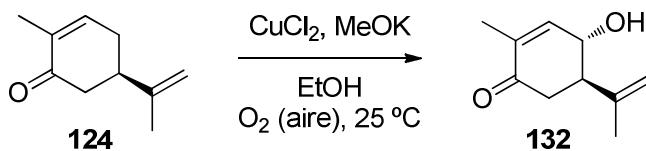


Se seleccionó como punto de partida 2.00 eq. de TBPB, 0.30 eq. de CuCl y 0.20 eq. de DBU. En el software para desarrollo del método *simplex*<sup>172</sup> se introdujo como *paso* 0.50 para el TBPB y 0.10 para CuCl y DBU, y se calcularon los otros tres experimentos para el simplex inicial: (2.50, 0.30, 0.20), (2.25, 0.47, 0.20) y (2.25, 0.36, 0.36) (siendo las coordenadas TBPB, CuCl y DBU). Los experimentos se llevaron a cabo disolviendo la cantidad de CuCl en acetonitrilo (4 mL) y adicionando la cantidad adecuada de DBU. Tras 5 minutos, se añadieron 10 mg de octadecano (estándar), (+)-valenceno,

**122** (0.267 mL, 1.00 mmol) y por último la cantidad necesaria de TBPB. Se determinó el rendimiento por CG a las 24 horas y en función de los resultados obtenidos y empleando los algoritmos establecidos por el método *simplex* modificado se calcularon los nuevos vértices. Tras varias iteraciones, mostradas en la tabla anterior, se llegó a las condiciones óptimas, 1.81 eq. de TBPB, 0.27 eq. de CuCl y 0.38 eq. de DBU, dando el producto benzoiloxivalenceno **123** en un 55% de rendimiento (75% basado en material de partida recuperado). En la gráfica se representa la evolución del *simplex* a lo largo del proceso de optimización.

**Benzoiloxivalenceno 123:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} +148.0$  (*c* 0.04,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.06 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H, H-18 y H-22), 7.54 (tt, *J* = 8.4, 1.4 Hz, 1H, H-20), 7.43 (m, 2H, H-19 y H-21), 5.59 (d a, *J* = 5.1 Hz, 1H, H-1), 5.38 (ddd, *J* = 7.0, 4.0, 2.0 Hz, 1H, H-2), 4.72 (s a, 2H, 2H-12), 2.37 (dddd, *J* = 14.2, 9.0, 4.6, 2.1 Hz, 1H, H-7), 2.28 (ddd, *J* = 12.6, 3.1, 3.1 Hz, 1H, H-3), 2.20 (ddd, *J* = 14.3, 4.2, 2.6, 1H, H'-3), 1.94 (m, 1H, H-9), 1.83 (m, 2H, 2H-8), 1.74 (s a, 3H, 3H-13), 1.21 (m, 4H, H-4, 2H-6 y H'-9), 0.96 (s, 3H, 3H-15), 0.93 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H, 3H-14);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.3 (C16), 150.9 (C10), 150.0 (C11), 132.6 (C20), 131.0 (C17), 129.6 (C18 y C22), 128.2 (C19 y C21), 117.7 (C1), 108.6 (C12), 68.5 (C2), 44.4 (C9), 40.5 (C7), 38.2 (C6), 35.8 (C4), 33.0 (C8), 32.4 (C5), 32.4 (C3), 20.9 (C13), 16.9 (C15), 15.1 (C14); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2926, 1718, 1450, 1313, 1269, 1175, 1109, 888, 712  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (CI) calculado para  $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_2$  [M] $^+$  324.2089; encontrado 324.2085.

### 8.2.8 Experimentos exploratorios para la $\gamma$ -hidroxilación de (*R*)-carvona, 124

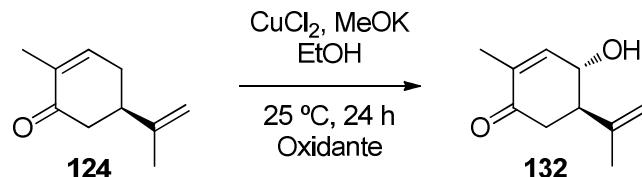


| Exp. | CuCl <sub>2</sub> (eq.) | MeOK (eq.) | Conc. (M) | Rdto. (%) |      |
|------|-------------------------|------------|-----------|-----------|------|
|      |                         |            |           | 24 h      | 48 h |
| 1    | 2.00                    | 0.50       | 0.16      | 0         | 0    |
| 2    | 2.00                    | 5.00       | 0.16      | 18        | 17   |
| 3    | 0.20                    | 5.00       | 0.64      | 0*        | 0*   |
| 4    | 0.20                    | 0.50       | 0.64      | 8         | 10   |
| 5    | 1.10                    | 0.50       | 0.64      | 0         | 0    |
| 6    | 0.20                    | 2.75       | 0.64      | 0*        | 0*   |
| 7    | 0.20                    | 5.00       | 0.40      | 0*        | 0*   |

\*Se detecta la formación del derivado epoxidado 133.

Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente y de forma simultánea en un carrusel Radley de síntesis en paralelo. Se prepararon disoluciones de CuCl<sub>2</sub> (cantidades según la tabla) en etanol (volúmenes de acuerdo a las concentraciones en la tabla) y se les adicionó (*R*)-carvona, 124 (0.250 mL, 1.60 mmol), 10 mg de octadecano (estándar para CG) y la cantidad indicada de MeOK (disolución al 25% en metanol). Las reacciones se agitaron vigorosamente al aire y tras 24 y 48 horas se tomaron alícuotas para determinar los rendimientos por CG. Los resultados se muestran en la Tabla 5.1.

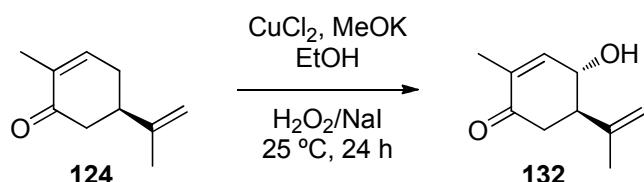
### 8.2.9 Ensayos con distintos oxidantes para la $\gamma$ -hidroxilación de (*R*)-carvona, 124



| Exp. | Oxidante                           | Rdto. (%) |
|------|------------------------------------|-----------|
| 1    | Oxone                              | 16        |
| 2    | MMPP                               | 0         |
| 3    | TBHP                               | 9         |
| 4    | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /NaI | 44        |

Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente y de forma simultánea en un carrusel Radley de síntesis en paralelo. Se prepararon disoluciones de CuCl<sub>2</sub> (269 mg, 2.00 mmol, 2.00 eq.) en etanol (6 mL) y se les adicionó (*R*)-carvona, **124** (0.157 mL, 1.00 mmol), 10 mg de octadecano (estándar para CG) y MeOK (0.702 mL, 2.50 mmol, 2.50 eq. disolución al 25% en metanol). Tras unos minutos de agitación se adicionó a cada ensayo el oxidante indicado en la tabla (1.00 eq., excepto para H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NaI que fue de 2.00 y 1.00 eq. respectivamente) y el resto de MeOK (otros 2.50 eq.). Las reacciones se agitaron vigorosamente al aire y tras 24 horas se tomaron alícuotas para determinar los rendimientos por CG, que se representan en la Tabla 5.2.

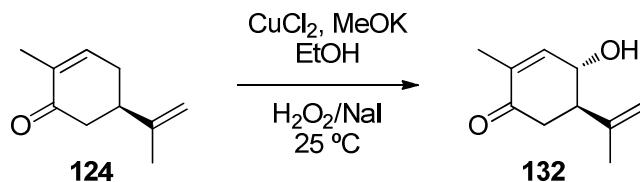
#### 8.2.10 Ensayos para la comprobación del papel de cada reactivo en la $\gamma$ -hidroxilación de (*R*)-carvona, **124**



| Exp. | CuCl <sub>2</sub> (eq.) | MeOK (eq.) | NaI (eq.) | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (eq.) | Rdto. (%) |
|------|-------------------------|------------|-----------|-------------------------------------|-----------|
| 1    | 2.00                    | 5.00       | 1.00      | 2.00                                | 44        |
| 2    | -                       | 5.00       | 1.00      | 2.00                                | 1         |
| 3    | 2.00                    | -          | 1.00      | 2.00                                | 0         |
| 4    | 2.00                    | 5.00       | -         | 2.00                                | 28        |
| 5    | 2.00                    | 5.00       | 1.00      | -                                   | 30        |
| 6    | -                       | -          | 1.00      | 2.00                                | 0         |

Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente y de forma simultánea en un carrusel Radley de síntesis en paralelo, suprimiendo en cada uno alguno de los reactivos según la tabla. Se prepararon disoluciones de CuCl<sub>2</sub> (269 mg, 2.00 mmol, 2.00 eq.) en etanol (6 mL) y se les adicionó (*R*)-carvona, **124** (0.157 mL, 1.00 mmol), 10 mg de octadecano (estándar para CG) y MeOK (0.702 mL, 2.50 mmol, 2.50 eq., disolución al 25% en metanol). Tras unos minutos de agitación se adicionó NaI (150 mg, 1.00 mmol, 1.00 eq.), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.227 mL, 2.00 mmol, 2.00 eq., disolución al 30% en agua) y el resto de MeOK (otros 2.50 eq.). Las reacciones se agitaron vigorosamente al aire y tras 24 horas se tomaron alícuotas para determinar los rendimientos por CG (Tabla 5.3).

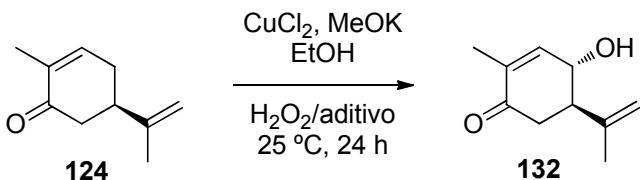
### 8.2.11 Estudio cinético de la $\gamma$ -hidroxilación de (*R*)-carvona, 124



| Tiempo (h) | Rdto. (%) |
|------------|-----------|
| 1.5        | 17        |
| 3.5        | 33        |
| 5.0        | 44        |
| 12         | 42        |
| 22         | 41        |
| 24         | 40        |

Se preparó una disolución de CuCl<sub>2</sub> (269 mg, 2.00 mmol, 2.00 eq.) en etanol (6 mL), a temperatura ambiente, y se le adicionó (*R*)-carvona, **124** (0.157 mL, 1.00 mmol), 10 mg de octadecano (estándar para CG) y MeOK (0.702 mL, 2.50 mmol, 2.50 eq. disolución al 25% en metanol). Tras unos minutos de agitación se adicionó NaI (150 mg, 1.00 mmol, 1.00 eq.), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.227 mL, 2.00 mmol, 2.00 eq., disolución al 30% en agua) y el resto de MeOK (otros 2.50 eq.). La reacción se agitó vigorosamente al aire y se fueron tomando alícuotas para determinar los rendimientos por CG en intervalos de tiempo para elaborar la Figura 5.6 según los datos presentados en la tabla anterior.

### 8.2.12 Efecto de distintos aditivos nitrogenados en la $\gamma$ -hidroxilación de (*R*)-carvona, 124

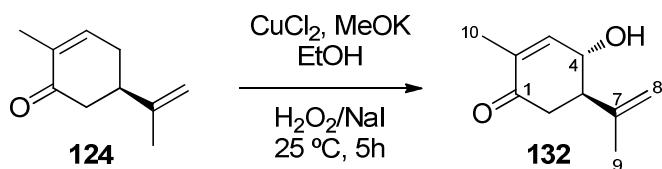


| Aditivo            | Rdto.(%) | Aditivo                | Rdto.(%) |
|--------------------|----------|------------------------|----------|
| 3,5-dimetilpirazol | 0.0      | 1,10-fenantrolina      | 0.2      |
| 2-picolinamina     | 0.0      | 2-(metilamino)piridina | 0.5      |
| 2-hidroxiquinolina | 0.2      | DBN                    | 0.6      |
| imidazol           | 0.7      | DBU                    | 0.0      |

Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente y de forma simultánea en un carrusel Radley de síntesis en paralelo. Se prepararon disoluciones de CuCl<sub>2</sub> (269 mg,

2.00 mmol, 2.00 eq.) en etanol (6 mL) y se les adicionó (*R*)-carvona, **124** (0.157 mL, 1.00 mmol), 10 mg de octadecano (estándar para CG) y MeOK (0.702 mL, 2.50 mmol, 2.50 eq. disolución al 25% en metanol). Tras unos minutos de agitación se adicionó el aditivo nitrogenado según la tabla (1.00 eq.) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.227 mL, 2.00 mmol, 2.00 eq., disolución al 30% en agua). Las reacciones se agitaron vigorosamente al aire y tras 24 horas se tomaron alícuotas para determinar los rendimientos por CG.

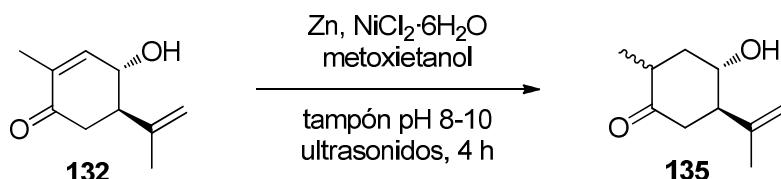
### 8.2.13 $\gamma$ -Hidroxilación de la (*R*)-carvona, **124**. Procedimiento optimizado



Se preparó una disolución de CuCl<sub>2</sub> (1.076 g, 8.00 mmol, 2.00 eq.) en etanol (25 mL) y, a temperatura ambiente, se le adicionó (*R*)-carvona, **124** (0.627 mL, 4.00 mmol), y MeOK (2.805 mL, 10.0 mmol, 2.50 eq. disolución al 25% en metanol). Tras unos minutos de agitación, cuando la suspensión adquirió un color marrón oscuro y uniforme, se adicionó NaI (600 mg, 4.00 mmol, 1.00 eq.), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.907 mL, 8.00 mmol, 2.00 eq., disolución al 30% en agua) y el resto de MeOK (otros 2.50 eq.), adquiriendo entonces un color marrón aún más oscuro. La reacción se agitó vigorosamente al aire durante 5 horas. Tras ese tiempo se adicionó AcOEt (40 mL) y se lavó con una disolución saturada de EDTA (4 × 20 mL, hasta retirar todo el cobre), agua (20 mL) y por último salmuera (20 mL). La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se evaporó el disolvente a presión reducida y el crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (gradiente de AcOEt/Hex hasta un 30%) para dar la 4-hidroxicarvona **132** (266 mg, 40%, mezcla de epímeros 3:1 a favor de 4 $\alpha$ -OH).

**4 $\alpha$ -hidroxicarvona, 132:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} +110.72$  (*c* 2.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  6.69 (s a, 1H, H-3), 4.96 (s a, 1H, H-8), 4.93 (s a, 1H, H'-8), 4.43 (d a, *J* = 9.7 Hz, 1H, H-4), 2.68 (ddd, *J* = 13.7, 9.7, 4.0 Hz, 1H, H-5), 2.49 (dd, *J* = 16.3, 4.0 Hz, 1H, H-6), 2.37 (dd, *J* = 16.3, 13.8 Hz, 1H, H'-6), 1.77 (s a, 3H, 3H-10), 1.74 (s, 3H, 3H-9); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  198.4 (C1), 147.4 (C3), 143.0 (C2), 135.0 (C7), 114.6 (C8), 68.4 (C4), 52.6 (C6), 40.8 (C5), 19.0 (C10), 15.3 (C9); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3411, 2922, 1668, 1321, 1260, 1100, 1037, 893, 796 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 167.1072, encontrado 167.1084.

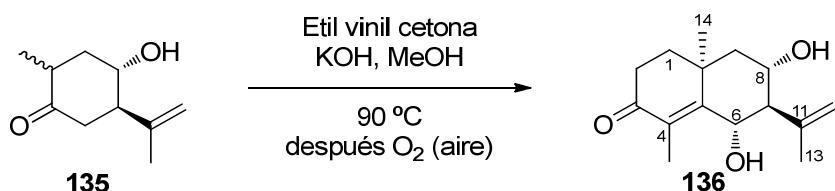
### 8.2.14 Obtención de la 4-hidroxi-1,2-dihidrocavrona 135



Se disolvió la 4-hidroxicavrona **132** (807 mg, 4.86 mmol) en metoxietanol (9 mL) y se adicionó una disolución tampón de NH<sub>4</sub>Cl/NH<sub>3</sub> de pH 8-10 (6.5 mL). La mezcla se colocó en un baño de ultrasonidos y se añadieron Zn (1.70 g, 26.2 mmol, 5.40 eq.) y NiCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O (462 mg, 1.94 mmol, 0.40 eq.). Tras 4 horas de reacción, la mezcla se filtró a través de celita lavando con AcOEt. La disolución obtenida se lavó con una disolución saturada de EDTA (20 mL) y la fase acuosa resultante se extrajo con AcOEt (10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico y el disolvente se eliminó a presión reducida, dando los dos epímeros en C2 de la 4-hidroxi-1,2-dihidrocavrona **135** (809 mg, 99%) en suficiente pureza para continuar la secuencia sintética.

**4-hidroxi-1,2-dihidrocavrona 135:** aceite amarillo, mezcla inseparable de epímeros en C2 (proporción 2S:2R, 1:2.2); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.97 (s, 1H), 4.91 (s a, 2H), 4.80 (s a, 1H), 4.16 (m, 1H), 3.96 (m, 1H), 2.73 (m, 1H), 2.63 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.37 (m, 4H), 1.93 (m, 1H), 1.84 (m, 1H), 1.74 (s a, 3H), 1.73 (s a, 3H), 1.45 (dd, J = 13.7, 10.9, 1.3 Hz, 1H), 1.23 (m, 1H), 1.09 (d, J = 7.0 Hz, 3H), 1.04 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 0.88 (m, 1H); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ (2S) 213.2, 144.8, 114.1, 66.5, 51.7, 40.6, 40.2, 37.8, 21.1, 15.7; δ (2R) 210.6, 143.9, 114.7, 69.0, 54.2, 43.4, 42.3, 41.6, 18.6, 14.3; IR (film) ν<sub>max</sub> 3445, 2970, 2933, 1714, 1646, 1455, 1378, 1087, 1033, 898 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> 169.1229, encontrado 169.1228.

### 8.2.15 Síntesis de la 6α,8α-dihidroxi-7-epi-ciperona, 136

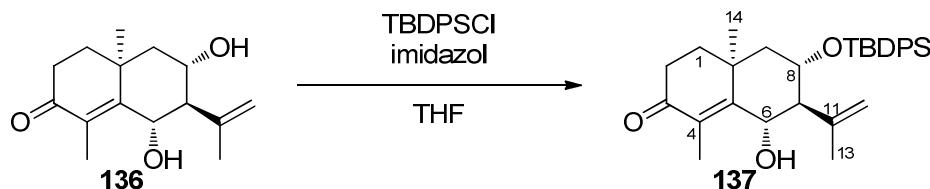


En atmósfera inerte y a 0 °C, se disolvió la 4-hidroxi-1,2-dihidrocavrona **135** (1.50 g, 8.92 mmol) en potasa metanólica al 10% (1.00 g de KOH, 2.00 eq., en 10 mL de metanol) y se agitó durante 15 minutos. Despues, se goteó durante un periodo de 10 minutos la etil vinil cetona (1.42 mL, 14.3 mmol, 1.60 eq.) y se dejó evolucionar a

temperatura ambiente agitando durante 30 horas. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se calentó a 90 °C durante 5 horas en atmósfera inerte y se volvió a llevar a temperatura ambiente con agitación vigorosa al aire durante una noche. A continuación, se adicionó a la mezcla una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (40 mL) y se extrajo con AcOEt (3 × 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 75%) para dar el producto 6 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -dihidroxi-7-epi-ciperona, **136** (648 mg, 29%).

**6 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -dihidroxi-7-epi-ciperona, 136:** aceite amarillo; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +1.65 (c 0.59, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.90 (s a, 2H, H-12), 4.68 (s a, 1H, H-6), 3.97 (ddd, *J* = 6.7, 6.6, 3.8 Hz, 1H, H-8), 2.71 (m, 1H, H-2), 2.66 (dd, *J* = 14.5, 5.5 Hz, 1H, H-7), 2.46 (ddd, *J* = 18.2, 5.2, 2.1 Hz, 1H, H'-2), 1.95 (m, 2H, H-1 y H-9), 1.88 (s, 3H, 3H-15), 1.78 (s, 3H, 3H-13), 1.73 (m, 2H, H'-1 y H'-9), 1.53 (s, 3H, 3H-14); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 199.6 (C3), 159.2 (C5), 143.8 (C11), 132.6 (C4), 113.7 (C12), 71.4 (C8), 68.1 (C6), 56.8 (C7), 43.4 (C2), 38.8 (C1), 34.6 (C10), 34.0 (C9), 29.0 (C14), 22.1 (C13), 11.1 (C15); IR (film)  $\nu$ <sub>max</sub> 3394, 2963, 2927, 1651, 1453, 1260, 1094, 1021, 799 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 251.1647, encontrado 251.1652.

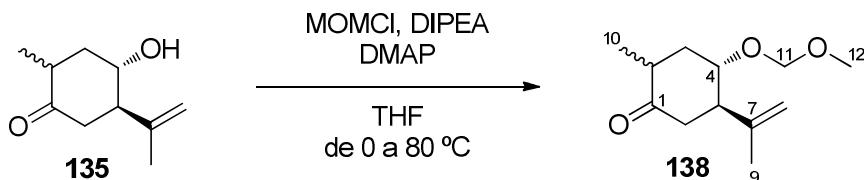
### 8.2.16 Protección en C8 de la 6 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -dihidroxi-7-epi-ciperona, 136, con TBDPSCI



En atmósfera inerte, la 6,8-dihidroxiciperona **136** (600 mg, 2.40 mmol) se disolvió en THF seco (10 mL) y se adicionó imidazol (490 mg, 7.20 mmol, 3.00 eq.). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota una disolución de TBDPSCI (990 mg, 3.60 mmol, 1.50 eq.) en THF seco (6 mL). La reacción se agitó durante 3 horas y después fue tratada adicionando una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (30 mL). La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O (3 × 15 mL), las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL) y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. El disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 25%) para dar el producto protegido **137** (1.16 g, 99%). Una muestra se purificó en HPLC (AcOEt/Hex al 25%) para caracterización.

**6 $\alpha$ ,8 $\alpha$ -dihidroxi-7-epi-ciperona monoprotegida, 137:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} +16.02$  ( $c$  0.56,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  7.73 (m, 4H,  $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 7.44 (m, 6H,  $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 4.84 (d,  $J = 7.4$  Hz, 1H, H-6), 4.67 (s, 1H, H-12), 4.37 (s, 1H, H'-12), 4.18 (dd,  $J = 7.9$ , 4.3 Hz, 1H, H-8), 2.71 (s a, 1H, H-7), 2.66 (m, 1H, H-2), 2.39 (ddd,  $J = 18.2$ , 5.0, 2.0 Hz, 1H, H'-2), 1.88 (s, 3H, 3H-15), 1.78 (ddd,  $J = 14.4$ , 4.7, 1.6 Hz, 1H, H-1), 1.64 (s, 3H, 3H-13), 1.55 (m, 2H, H'-1 y H-9), 1.50 (dd,  $J = 14.5$ , 3.2 Hz, 1H, H'-9), 1.30 (s, 3H, 3H-14), 1.11 (s, 9H,  $\underline{\text{Me}_3\text{CSi}}$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  199.7 (C3), 159.7 (C5), 143.7 (C11), 136.2 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 136.2 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 133.0 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 132.7 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 132.1 (C4), 130.4 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 130.3 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 128.0 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 128.0 ( $\underline{\text{Ph}_2\text{Si}}$ ), 112.8 (C12), 71.4 (C8), 70.8 (C6), 54.2 (C7), 41.5 (C2), 39.3 (C1), 34.0 (C10), 33.9 (C9), 29.1 (C14), 27.2 ( $\underline{\text{Me}_3\text{CSi}}$ ), 22.7 (C13), 19.2 ( $\underline{\text{Me}_3\text{CSi}}$ ), 10.7 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3424, 2932, 2858, 1655, 1428, 1112, 1054, 703  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI) calculado para  $\text{C}_{31}\text{H}_{41}\text{O}_3\text{Si}$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  489.2825, encontrado 489.2822.

### 8.2.17 Protección de la 4-hidroxi-1,2-dihidrocavrona 135 con MOMCl

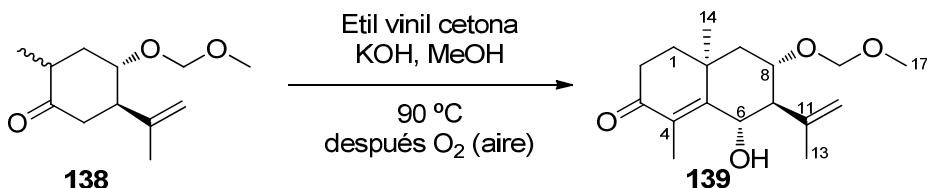


En atmósfera inerte y a 0 °C, se disolvió la 4-hidroxi-1,2-dihidrocavrona **135** (2.80 g, 16.6 mmol) en THF seco (70 mL). A la mezcla se le añadió DIPEA (gota a gota, 10.2 mL, 58.3 mmol, 3.50 eq.), DMAP (4.10 g, 33.2 mmol, 2.00 eq.) y MOMCl (gota a gota, 4.40 mL, 58.3 mmol, 3.50 eq.). La reacción se dejó evolucionar a temperatura ambiente y después se llevó a 80 °C. Tras agitar durante una noche, la mezcla de reacción se trató adicionando AcOEt (30 mL) y se lavó con disoluciones saturadas de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (40 mL),  $\text{NaHCO}_3$  (40 mL) y salmuera (40 mL). La fase orgánica resultante se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, el disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo obtenido (3.30 g, 94%) se utilizó directamente en el siguiente paso. Para la caracterización se purificó una porción por cromatografía en columna (gradiente de AcOEt/Hex hasta un 10%), y luego HPLC (10% AcOEt/Hex) dando como mayoritario el epímero 2 $\beta$ -Me de la 4-metoximetoxi-1,2-dihidrocavrona **138** (configuración 2S).

**4-metoximetoxi-1,2-dihidrocavrona 138:** aceite amarillo, mezcla de epímeros en C2, datos correspondientes al mayoritario (2S);  $[\alpha]_D^{20} +67.07$  ( $c$  2.24,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.82 (s a, 2H, 2H-8), 4.70 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H, H-11), 4.57 (d,  $J = 7.1$  Hz,

1H, H'-11), 3.91 (ddd,  $J = 10.5, 4.1, 4.1$  Hz, 1H, H-4), 3.33 (s, 3H, 3H-12), 2.51 (m, 1H, H-2), 2.43 (m, 1H, H-6), 2.36 (m, 2H, H-3 y H-5), 2.26 (dd,  $J = 13.6, 4.3$  Hz, 1H, H'-6), 1.73 (s, 3H, 3H-9), 1.42 (ddd,  $J = 12.8, 10.8, 10.8$  Hz, 1H, H'-3), 1.01 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H, 3H-10);  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  210.6 (C1), 144.6 (C7), 113.1 (C8), 95.6 (C11), 75.6 (C4), 55.7 (C12), 52.3 (C2), 44.4 (C6), 42.0 (C5), 39.9 (C3), 19.2 (C9), 14.3 (C10); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2969, 2933, 1717, 1648, 1455, 1261, 1226, 1152, 1102, 1039, 920  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI) calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{O}_3$  [M+H] $^+$  213.1491, encontrado 213.1473.

### 8.2.18 Síntesis de la $6\alpha$ -hidroxi- $8\alpha$ -metoximetoxi-7-epi-ciperona, 139

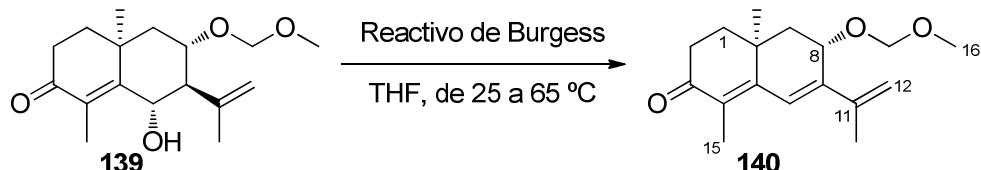


En atmósfera inerte y a 0 °C, se disolvió la 4-metoximetoxi-1,2-dihidrocavrona **138** (3.30 g, 15.5 mmol) en potasa metanólica al 10% (1.70 g de KOH, 2.00 eq., en 17 mL de metanol) y se agitó durante 15 minutos. Después, se goteó durante un periodo de 10 minutos la etil vinil cetona (2.50 mL, 24.9 mmol, 1.60 eq.) y se dejó evolucionar a temperatura ambiente agitando durante 30 horas. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se calentó a 90 °C durante 5 horas en atmósfera inerte y se volvió a llevar a temperatura ambiente con agitación vigorosa al aire durante una noche. A continuación, se adicionó a la mezcla una disolución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (40 mL) y se extrajo con AcOEt ( $3 \times 20$  mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhídrico y se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (gradiente de AcOEt/Hex hasta el 30%) para dar el producto  $6\alpha$ -hidroxi- $8\alpha$ -metoximetoxi-7-epi-ciperona, **139** (3.20 g, 71%)

**6α-hidroxi-8α-metoximetoxi-7-epi-ciperona, 139:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} +19.64$  ( $c$  0.46,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.85 (s a, 2H, H-6 y H-12), 4.74 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H, H-16), 4.67 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H, H'-16), 4.60 (s a, 1H, H'-12), 4.01 (dd,  $J = 5.9, 4.6, 3.6, 0.9$  Hz, 1H, H-8), 3.40 (s, 3H, 3H-17), 2.78 (dd,  $J = 5.1, 2.3$  Hz, 1H, H-7), 2.68 (ddd,  $J = 18.2, 14.6, 5.5$  Hz, 1H, H-2), 2.45 (ddd,  $J = 18.2, 5.2, 2.0$  Hz, 1H, H'-2), 1.92 (m, 2H, H-1 y H-9), 1.88 (s, 3H, 3H-15), 1.78 (s, 3H, 3H-13), 1.69 (m, 2H, H'-1 y H'-9), 1.50 (s, 3H, 3H-14);  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  199.6 (C3), 159.3 (C5), 143.8 (C11), 132.3 (C4), 113.2 (C12), 94.9 (C16), 73.3 (C8), 70.8 (C6), 55.9 (C17), 54.1 (C7), 39.7 (C2), 39.0 (C1), 34.3 (C10), 34.0 (C9), 28.5 (C14), 22.8 (C13), 11.0 (C15); IR

(film)  $\nu_{\text{max}}$  3445, 2932, 1665, 1453, 1376, 1327, 1213, 1148, 1102, 1036, 917  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI) calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  295.1909, encontrado 295.1891.

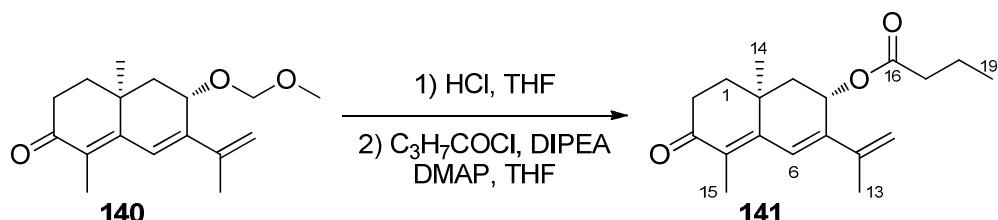
### 8.2.19 Preparación de la 8-metoximetoxitrienona 140



En atmósfera inerte, se disolvió la 6-hidroxi-8-metoximetoxiciperona **139** (1.10 g, 3.74 mmol) en THF seco (11 mL), y se goteó una disolución del reactivo de Burgess (1.23 g, 5.16 mmol, 1.38 eq.) en THF seco (11 mL). Se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y a 65 °C durante 3 horas más. Después, la mezcla se disolvió con agua (40 mL) y se extrajo con AcOEt ( $3 \times 20$  mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido de 8-metoximetoxitrienona **140** (1.17 g, 99%) se empleó sin mayor purificación en el siguiente paso.

**8-metoximetoxitrienona 140:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} -262.61$  ( $c$  0.93,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.73 (s, 1H, H-6), 5.43 (s, 1H, H-12), 5.27 (s, 1H, H'-12), 4.88 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H, H-16), 4.69 (d,  $J = 7.1$  Hz, 1H, H'-16), 4.61 (dd,  $J = 4.5, 1.6$  Hz, 1H, H-8), 3.43 (s, 3H, 3H-17), 2.68 (ddd,  $J = 18.0, 11.8, 8.4$  Hz, 1H, H-2), 2.48 (m, 1H, H'-2), 2.14 (dd,  $J = 14.7, 1.7$  Hz, 1H, H-9), 2.04 (s a, 3H, 3H-13), 1.90 (s, 3H, 3H-15), 1.80 (m, 2H, 2H-1), 1.60 (m, 1H, H'-9), 1.35 (s, 3H, 3H-14);  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  199.2 (C3), 154.6 (C5), 142.8 (C7), 141.7 (C11), 130.4 (C4), 124.0 (C6), 116.8 (C12), 96.2 (C16), 69.0 (C8), 56.7 (C17), 41.0 (C9), 36.9 (C1), 33.7 (C2), 32.5 (C10), 24.2 (C14), 21.4 (C13), 10.5 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2927, 1657, 1450, 1375, 1324, 1261, 1206, 1149, 1033, 800  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI) calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  277.1804, encontrado 277.1796.

### 8.2.20 Obtención de la 8-butanoiloxitrienona 141

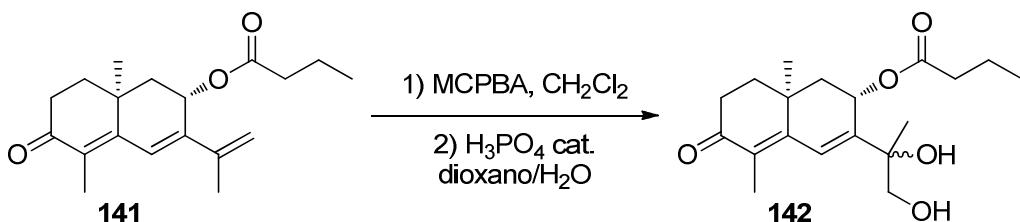


Primer paso: se disolvió la 8-metoximetoxitrienona **140** (1.00 g, 3.62 mmol) en THF (15 mL) y se adicionó gota a gota HCl concentrado (3.5 mL de disolución al 37% en agua, 10.0 eq.). Se agitó durante una hora a temperatura ambiente, se añadió de nuevo HCl concentrado (otros 3.5 mL) y se dejó agitar otra hora más. La reacción se detuvo adicionando una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (15 mL) y se extrajo con AcOEt (3 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico y el disolvente se evaporó a presión reducida.

Segundo paso: El crudo anterior se disolvió, en atmósfera inerte y a 0 °C, en THF seco (50 mL). Se adicionaron DIPEA (2.21 mL, 12.7 mmol, 3.50 eq.) y DMAP (2.20 g, 18.1 mmol, 5.00 eq.). Se goteó lentamente cloruro de butanoilo (1.33 mL, 12.7 mmol, 3.50 eq.) y se agitó la mezcla durante 2 horas. Transcurrido ese tiempo, se adicionó AcOEt (40 mL) y la disolución se lavó con disoluciones saturadas de NH<sub>4</sub>Cl (30 mL), NaHCO<sub>3</sub> (30 mL) y salmuera (30 mL). La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 10%) para obtener la 8-butanoiloxitrienona **141** (418 mg, 38%, 2 pasos).

**8-butanoiloxitrienona 141:** aceite amarillo; [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> −223.99 (*c* 0.60, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.80 (s, 1H, H-6), 5.86 (dd, *J* = 4.9, 1.7 Hz, 1H, H-8), 5.20 (s, 1H, H-12), 5.15 (s, 1H, H'-12), 2.67 (ddd, *J* = 18.0, 13.5, 6.7 Hz, 1H, H-2), 2.50 (ddd, *J* = 18.0, 4.7, 2.5 Hz, 1H, H'-2), 2.28 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H, 2H-17), 2.03 (s a, 3H, 3H-13), 1.96 (dd, *J* = 15.1, 1.7 Hz, 1H, H-9), 1.92 (s, 3H, 3H-15), 1.80 (m, 3H, 2H-1 y H'-9), 1.65 (m, 2H, 2H-18), 1.29 (s, 3H, 3H-14), 0.95 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 3H-19); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 199.0 (C3), 173.2 (C16), 153.8 (C5), 140.7 (C7), 140.5 (C11), 131.1 (C4), 125.1 (C6), 116.7 (C12), 64.7 (C8), 42.4 (C9), 36.8 (C1), 36.4 (C17), 33.7 (C2), 32.3 (C10), 24.1 (C14), 21.1 (C13), 18.6 (C18), 13.9 (C19), 10.7 (C15); IR (film) ν<sub>max</sub> 2965, 2933, 1732, 1660, 1453, 1320, 1260, 1180, 1097, 801 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 303.1960, encontrado 303.1954.

### 8.2.21 Epoxidación y apertura de 141 para dar 8-butanoiloxidienonadiol 142



Primer paso: a una disolución de la 8-butanoiloxitrienona **141** (130 mg, 0.43 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3.25 mL) se le añadió MCPBA (127 mg, 0.52 mmol, 1.20 eq.) y se agitó durante 2 horas. Después, se adicionó una disolución saturada de Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (10 mL) y se agitó otros 15 minutos. La mezcla se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) y se lavó con una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (2 × 15 mL) y salmuera (15 mL). La fase orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida.

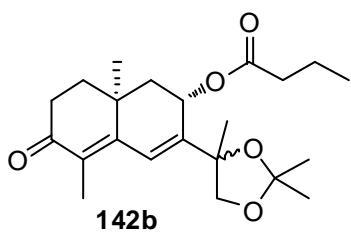
Segundo paso: el crudo anterior se disolvió en una mezcla de 1,4-dioxano/agua 1:1 (10 mL) y se goteó poco a poco H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0.200 mL, disolución comercial al 85%). Tras 2 horas de agitación, la reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con AcOEt (3 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (gradiente de Acetona/Hex desde 10% hasta 80%) para dar el producto 8-butanoiloxidienonadiol **142** (39 mg, 27%, 2 pasos) como una mezcla de epímeros 1:1 en C11.

**8-butanoiloxidienonadiol 142:** aceite amarillo, mezcla inseparable de epímeros en C11; <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.09 (s, 1H), 6.95 (s, 1H), 5.68 (dd, J = 4.8, 1.5 Hz, 1H), 5.59 (dd, J = 4.8, 1.5 Hz, 1H), 3.71 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 3.62 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 3.52 (d, J = 10.9 Hz, 1H), 3.48 (d, J = 11.4 Hz, 1H), 2.65 (m, 2H), 2.49 (m, 2H), 2.31 (m, 4H), 1.96 (m, 2H), 1.90 (s, 3H), 1.89 (s, 3H), 1.78 (m, 2H), 1.68 (m, 4H), 1.55 (m, 4H), 1.39 (s, 3H), 1.34 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.27 (s, 3H), 0.98 (t, J = 7.4 Hz, 3H), 0.97 (t, J = 7.4 Hz, 3H); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 199.1, 199.0, 173.0, 172.8, 152.8, 152.6, 145.7, 145.1, 131.3, 131.0, 126.4, 125.8, 75.8, 75.6, 69.7, 69.6, 65.9, 65.3, 42.5, 42.4, 36.9, 36.8, 36.4, 36.3, 33.7, 33.6, 32.3, 32.2, 25.5, 24.6, 24.2, 24.1, 18.5, 18.4, 13.9, 13.9, 10.7, 10.7; IR (film) ν<sub>max</sub> 3428, 2964, 2934, 1730, 1651, 1451, 1320, 1260, 1183, 1045, 799 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> 337.2015, encontrado 337.2016.

### 8.2.22 Formación del acetónido de 142 y deshidrogenación con DDQ



Primer paso: en atmósfera inerte, se disolvió el 8-butanoiloxidienonadiol **142** (100 mg, 0.30 mmol) en THF seco (6 mL) y se añadieron una cantidad catalítica de *p*-TsOH y gota a gota 2-metoxipropeno (0.090 mL, 1.19 mmol, 4.00 eq.). Después de 4 horas de agitación, se adicionó una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (20 mL) y se extrajo con AcOEt (2 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico y el disolvente se eliminó a presión reducida. Se guardó una pequeña muestra para caracterizar el acetónido **142b**.

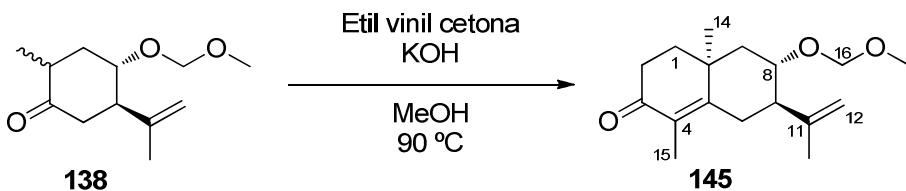


**Acetónido 142b:** aceite amarillo, mezcla inseparable de epímeros en C11; <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.04 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 5.62 (dd, *J* = 5.5, 1.5 Hz, 1H), 5.54 (dd, *J* = 4.7, 1.7 Hz, 1H), 3.98 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 3.91 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.85 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 3.84 (d, *J* = 8.6 Hz, 1H), 2.64 (m, 2H), 2.48 (m, 2H), 2.29 (m, 4H), 1.92 (m, 2H), 1.88 (s, 3H), 1.88 (s, 3H), 1.78 (m, 2H), 1.65 (m, 8H), 1.50 (s, 3H), 1.47 (s, 3H), 1.45 (s, 3H), 1.43 (s, 3H), 1.41 (s, 3H), 1.40 (s, 3H), 1.28 (s, 3H), 1.24 (s, 3H), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H), 0.97 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 199.1, 199.0, 173.0, 172.8, 153.0, 152.9, 145.6, 144.7, 131.0, 130.9, 125.3, 123.4, 110.3, 109.8, 82.8, 82.7, 75.4, 73.8, 65.5, 65.4, 42.7, 42.3, 36.9, 36.8, 36.3, 36.3, 33.7, 33.7, 32.4, 32.3, 27.6, 27.2, 26.6, 26.5, 26.2, 26.0, 24.1, 23.9, 18.5, 18.4, 13.9, 13.8, 10.7, 10.6; IR (film) ν<sub>max</sub> 2966, 2935, 1732, 1661, 1455, 1379, 1255, 1181, 1048, 802 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>22</sub>H<sub>33</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> 377.2328, encontrado 377.2319.

Segundo paso: bajo atmósfera inerte, se disolvió el crudo anterior en 1,4-dioxano seco (5 mL) y se adicionó DDQ (115 mg, 0.51 mmol, 1.70 eq.) disuelto en 1,4-dioxano seco (5 mL). La mezcla se agitó a 110 °C durante 24 horas. A continuación, se filtró a través de celita lavando con Et<sub>2</sub>O. La disolución obtenida se evaporó aproximadamente hasta la mitad de su volumen a presión reducida y se agitó 15 minutos con una disolución saturada de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (10 mL). Se adicionó Et<sub>2</sub>O (10 mL) y se separó la fase orgánica para lavarla repetidamente con NaOH 0.5 M (porciones de 10 mL) hasta retirar los restos de DDQ (la fase acuosa pasa de color amarillo a transparente). La fase

orgánica se secó sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, se evaporó a presión reducida y se obtuvo 95 mg de un crudo (86%) que contenía el compuesto **143**. La purificación por técnicas cromatográficas condujo a descomposición.

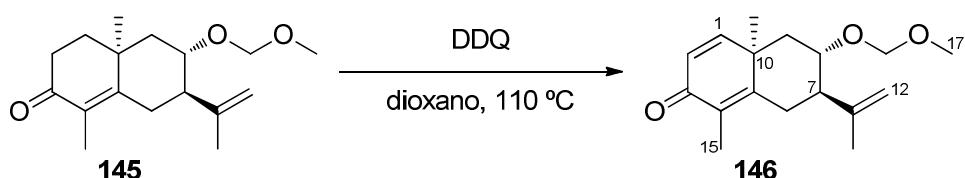
### 8.2.23 Obtención de la $8\alpha$ -metoximetoxi-7-epi-ciperona 145



En atmósfera inerte y a  $0^\circ\text{C}$ , se disolvió la 4-metoximetoxi-1,2-dihidrocavrona **138** (3.28 g, 15.5 mmol) en potasa metanólica al 10% (1.73 g de KOH, 2.00 eq., en 17.3 mL de metanol) y se agitó durante 15 minutos. Después, se goteó durante un periodo de 10 minutos la etil vinil cetona (2.50 mL, 24.8 mmol, 1.60 eq.) y se dejó evolucionar a temperatura ambiente agitando durante 30 horas. Transcurrido ese tiempo, la mezcla se calentó a  $90^\circ\text{C}$  durante 5 horas en atmósfera inerte. A continuación, se adicionó a la mezcla una disolución saturada de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (20 mL) y se extrajo con  $\text{AcOEt}$  ( $3 \times 10$  mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (20 mL), se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (gradiente de  $\text{AcOEt}/\text{Hex}$  hasta el 15%) para dar el producto  $8\alpha$ -metoximetoxi-7-epi-ciperona **145** (3.33 g, 77%).

**8 $\alpha$ -metoximetoxi-7-epi-ciperona 145:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} -25.07$  ( $c$  1.43,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H RMN}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  4.79 (s a, 1H, H-12), 4.74 (s a, 1H, H'-12), 4.71 (d,  $J = 6.8$  Hz, 1H, H-16), 4.64 (d,  $J = 6.9$  Hz, 1H, H'-16), 3.88 (dd,  $J = 8.5, 3.9$  Hz, 1H, H-8), 3.37 (s, 3H, 3H-17), 2.69 (s a, 1H, H-6), 2.68 (s a, 1H, H'-6), 2.63 (m, 1H, H-2), 2.56 (ddd,  $J = 14.6, 4.9, 1.6$  Hz, 1H, H-7), 2.40 (ddd,  $J = 17.9, 5.1, 2.2$  Hz, 1H, H'-2), 1.88 (ddd,  $J = 13.6, 13.6, 5.0$  Hz, 1H, H-1), 1.82 (s a, 1H, H-9), 1.79 (s, 3H, 3H-15), 1.74 (s, 3H, 3H-13), 1.69 (m, 1H, H'-1), 1.65 (dd,  $J = 3.8, 1.2$  Hz, 1H, H'-9), 1.34 (s, 3H, 3H-14);  $^{13}\text{C RMN}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  198.5 (C3), 162.9 (C5), 146.4 (C11), 129.6 (C4), 112.2 (C12), 95.0 (C16), 72.9 (C8), 55.6 (C17), 47.5 (C7), 41.0 (C1), 37.4 (C9), 35.6 (C2), 33.8 (C6), 28.5 (C10), 25.5 (C14), 22.3 (C13), 11.2 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2927, 1663, 1609, 1451, 1375, 1315, 1151, 1102, 1040, 916  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (ESI) calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{O}_3$  [ $\text{M}+\text{H}]^+$  279.1960, encontrado 279.1963.

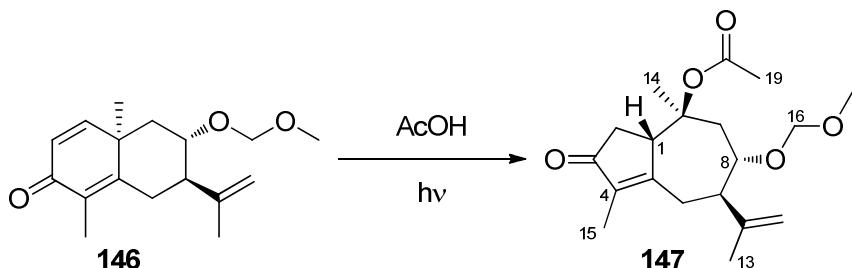
### 8.2.24 Deshidrogenación con DDQ de 145 para dar la dienona 146



En atmósfera inerte, se disolvió la 8-metoximetoxiciperona **145** (1.25 g, 4.50 mmol) en 1,4-dioxano seco (20 mL) y se adicionó DDQ (1.74 g, 7.65 mmol, 1.70 eq.) disuelto en 1,4-dioxano seco (18 mL). La mezcla se agitó a 110 °C durante 24 horas. A continuación, se filtró a través de celita lavando con Et<sub>2</sub>O. La disolución obtenida se evaporó a presión reducida hasta aproximadamente la mitad de su volumen y después se agitó 15 minutos con una disolución saturada de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (20 mL). Se adicionó Et<sub>2</sub>O (20 mL) y se separó la fase orgánica para lavarla repetidamente con NaOH 0.5 M (porciones de 10 mL) hasta retirar los restos de DDQ (la fase acuosa pasa de color amarillo a transparente). La fase orgánica se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhídrico y se evaporó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 15%) para dar la 8-metoximetoxidienona **146** (585 mg, 47%).

**8-metoximetoxidienona 146:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} -121.27$  (*c* 0.54, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.73 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-1), 6.17 (d, *J* = 9.8 Hz, 1H, H-2), 4.76 (s a, 1H, H-12), 4.75 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, H-16), 4.70 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H, H'-16), 4.60 (s a, 1H, H'-12), 3.95 (s a, 1H, H-8), 3.42 (s, 3H, 3H-17), 2.94 (d a, *J* = 14.7 Hz, 1H, H-6), 2.83 (ddd, *J* = 14.7, 6.4, 1.2 Hz, 1H, H'-6), 2.73 (s a, 1H, H-7), 1.95 (s, 3H, 3H-15), 1.88 (ddd, *J* = 14.4, 3.0, 1.5 Hz, 1H, H-9), 1.74 (s, 3H, 3H-13), 1.70 (dd a, *J* = 14.4, 3.8 Hz, 1H, H'-9), 1.42 (s, 3H, 3H-14); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 186.3 (C3), 159.1 (C5), 156.7 (C1), 145.3 (C11), 130.8 (C4), 125.7 (C2), 112.4 (C12), 95.2 (C16), 73.3 (C8), 55.7 (C17), 47.5 (C7), 40.3 (C10), 36.9 (C9), 28.1 (C6), 27.3 (C14), 23.4 (C13), 11.2 (C15); IR (film) ν<sub>max</sub> 2969, 2930, 1660, 1400, 1375, 1323, 1261, 1152, 1036, 799 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 277.1804, encontrado 277.1790.

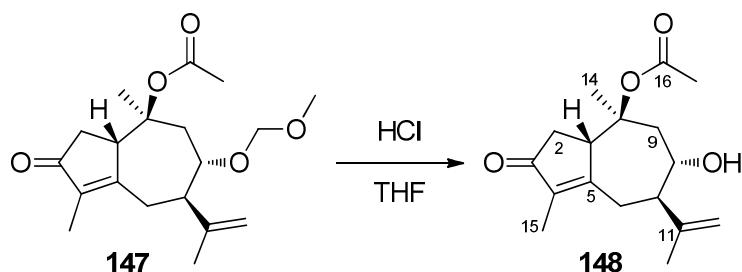
### 8.2.25 Reagrupamiento fotoquímico de 146 para dar el 8 $\alpha$ -metoximetoxiguayano 147



Una disolución de la 8-metoximetoxidienona **146** (200 mg, 0.72 mmol) en AcOH (225 mL) se irradió en un reactor de cuarzo Hanovia equipado con una lámpara de Hg de media presión durante 2 horas y media. Tras eliminar el disolvente a presión reducida, el crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 15%) para dar el 8 $\alpha$ -metoximetoxiguayano **147** (58 mg, 24%).

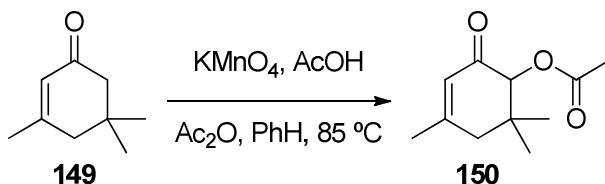
**8 $\alpha$ -metoximetoxiguayano 147:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} -15.28$  (*c* 0.51, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  4.87 (s a, 1H, H-12), 4.83 (s a, 1H, H'-12), 4.70 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, H-16), 4.49 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H, H'-16), 3.92 (ddd, *J* = 8.7, 8.7, 3.3 Hz, 1H, H-8), 3.49 (s a, 1H, H-1), 3.34 (s, 3H, 3H-17), 2.68 (dd, *J* = 13.9, 2.9 Hz, 1H, H-6), 2.61 (d a, *J* = 10.7 Hz, 1H, H'-6), 2.56 (dd, *J* = 22.3, 8.6 Hz, 1H, H-2), 2.50 (dd, *J* = 14.5, 3.3 Hz, 1H, H-9), 2.24 (ddd, *J* = 11.4, 11.4, 3.1 Hz, 1H, H-7), 2.10 (dd, *J* = 18.3, 3.8 Hz, 1H, H'-2), 2.06 (s, 3H, 3H-19), 1.83 (dd, *J* = 14.4, 8.4 Hz, 1H, H'-9), 1.79 (s, 3H, 3H-13), 1.72 (d, *J* = 2.1 Hz, 3H, 3H-15), 1.48 (s, 3H, 3H-14); <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  207.0 (C3), 172.2 (C5), 170.0 (C18), 146.5 (C11), 138.3 (C4), 112.7 (C12), 95.3 (C16), 84.2 (C10), 75.1 (C8), 56.0 (C17), 52.4 (C7), 50.9 (C1), 39.9 (C9), 38.3 (C2), 30.9 (C6), 23.8 (C14), 22.6 (C19), 19.9 (C13), 7.9 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2964, 1733, 1705, 1645, 1455, 1370, 1259, 1093, 1034, 800 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>19</sub>H<sub>29</sub>O<sub>5</sub> [M+H]<sup>+</sup> 337.2015, encontrado 337.1995.

### 8.2.26 Desprotección de **147** para dar el **8 $\alpha$ -hidroxiguayano 148**



Se disolvió el 8-metoximetoxiguayano **147** (40 mg, 0.12 mmol) en THF (0.5 mL) y se adicionó gota a gota HCl concentrado (0.125 mL de disolución al 37% en agua, 10.0 eq.). Se agitó durante una hora, se añadió de nuevo HCl concentrado (otros 0.125 mL) y se agitó otra hora más. Tras ese tiempo, se adicionó una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (5 mL) y se extrajo con AcOEt (3 × 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se evaporó el disolvente a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 55%) para dar el 8 $\alpha$ -hidroxiguayano **148** (34 mg, 99%).

**8 $\alpha$ -hidroxiguayano 148:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} -6.87$  (*c* 0.42, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 4.97 (s a, 1H, H-12), 4.92 (s a, 1H, H'-2), 3.86 (ddd, *J* = 9.8, 9.8, 3.3 Hz, 1H, H-8), 3.45 (s a, 1H, H-1), 2.66 (dd, *J* = 12.7, 2.4 Hz, 1H, H-6), 2.59 (dd, *J* = 18.0, 6.6 Hz, 1H, H-2), 2.52 (d a, *J* = 12.8 Hz, 1H, H'-6), 2.51 (m, 1H, H-9), 2.09 (s, 3H, 3H-17), 2.01 (m, 3H, H'-2, H'-9 y H-7), 1.79 (s, 3H, 3H-13), 1.72 (d, *J* = 2.2 Hz, 3H, 3H-15), 1.58 (s, 3H, 3H-14); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 206.5 (C3), 172.5 (C5), 170.1 (C16), 146.2 (C11), 138.2 (C4), 114.0 (C12), 83.8 (C10), 68.7 (C8), 55.7 (C7), 50.8 (C1), 41.8 (C9), 38.8 (C2), 30.5 (C6), 25.4 (C14), 22.6 (C17), 18.8 (C13), 7.9 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3477, 2962, 2924, 1730, 1703, 1639, 1370, 1260, 1086, 1018, 799 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>O<sub>4</sub> [M+H]<sup>+</sup> 293.1753, encontrado 293.1745.

8.2.27 Diseño de Experimentos para la  $\alpha'$ -acetiloxilación de la isoforona, 149

| Exp. | Variables                   |               |                            | Rdto. (%) |
|------|-----------------------------|---------------|----------------------------|-----------|
|      | A (MnKO <sub>4</sub> , eq.) | B (AcOH, eq.) | C (Ac <sub>2</sub> O, eq.) |           |
| 1    | 3.15                        | 22.5          | 5.00                       | 45        |
| 2    | 3.15                        | 10.0          | 9.50                       | 34        |
| 3    | 1.05                        | 35.0          | 9.50                       | 86        |
| 4    | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 56        |
| 5    | 1.05                        | 22.5          | 5.00                       | 63        |
| 6    | 3.15                        | 22.5          | 14.0                       | 51        |
| 7    | 2.10                        | 35.0          | 5.00                       | 71        |
| 8    | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 69        |
| 9    | 3.15                        | 35.0          | 9.50                       | 67        |
| 10   | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 75        |
| 11   | 2.10                        | 22.5          | 9.50                       | 65        |
| 12   | 2.10                        | 10.0          | 14.0                       | 48        |
| 13   | 2.10                        | 10.0          | 5.00                       | 40        |
| 14   | <b>2.10</b>                 | <b>35.0</b>   | <b>9.50</b>                | <b>91</b> |
| 15   | 1.05                        | 22.5          | 14.0                       | 59        |
| 16   | 1.05                        | 10.0          | 9.50                       | 62        |
| 17   | 2.10                        | 35.0          | 14.0                       | 73        |

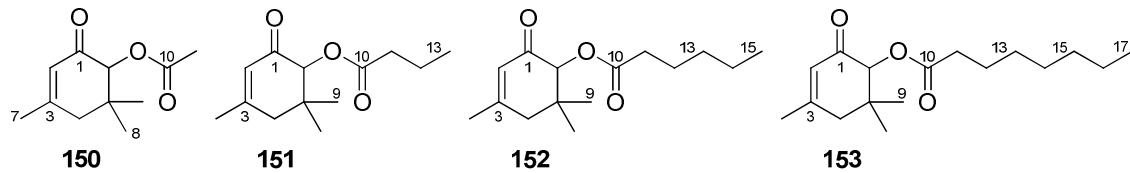
Todos los experimentos, de acuerdo a una matriz de Box-Behnken más 3 réplicas de un punto central, se llevaron a cabo simultáneamente en un carrusel Radley de síntesis en paralelo. En cada vial se adicionó KMnO<sub>4</sub> (cantidades según la tabla) y se agitó vigorosamente en benceno seco (3 mL). La mezcla se calentó a 85 °C y se añadieron las cantidades correspondientes de AcOH y Ac<sub>2</sub>O. Después de 30 minutos, el color cambió de violeta a marrón y se adicionó a cada vial una disolución de isoforona, **149** (0.025 mL, 0.160 mmol) y octadecano (estándar para CG, 5 mg) en benceno seco (1 mL). Las reacciones se agitaron vigorosamente a 85 °C durante una noche. Para determinar los rendimientos (Tabla 6.3), se tomaron alícuotas de cada reacción, se filtraron por gel de sílice y se analizaron por CG. Se utilizó *Statgraphics*

Plus 5.1 como software para el tratamiento estadístico de los datos (ajuste de mínimos cuadrados, representaciones gráficas y ANOVA).

### 8.2.28 Procedimiento general para la aciloxilación en posición $\alpha'$ de enonas

A una suspensión de  $\text{KMnO}_4$  (83 mg, 0.525 mmol, 2.10 eq.) en benceno seco (6.25 mL) a 85 °C se le adicionaron el correspondiente ácido carboxílico (8.750 mmol, 35.0 eq.) y su anhídrido (2.375 mmol, 9.50 eq.).<sup>174</sup> La mezcla se agitó vigorosamente hasta que la suspensión cambió de color violeta a marrón (30 minutos), adicionándose después la enona de partida (0.250 mmol, directamente o disuelta en la mínima cantidad de benceno). La reacción se agitó vigorosamente a 85 °C durante una noche, y después se dejó enfriar a temperatura ambiente para filtrar a través de un lecho de  $\text{Al}_2\text{O}_3$ /celita lavando con  $\text{AcOEt}$ . El disolvente se evaporó a presión reducida y el crudo se purificó por cromatografía en columna con mezclas de  $\text{AcOEt}/\text{Hex}$  como eluyentes, para dar los productos con los rendimientos indicados en las Figura 6.6, 6.7 y 6.8.

### 8.2.29 Descripción de los productos de aciloxilación en posición $\alpha'$



**6-acetiloxyisoforona 150:** aceite amarillo (49 mg, 100%);  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.87 (s a, 1H, H-2), 5.18 (s, 1H, H-6), 2.50 (d,  $J = 18.4$  Hz, 1H, H-4), 2.17 (s, 3H, 3H-11), 2.15 (d,  $J = 16.2$  Hz, 1H, H'-4), 1.92 (s, 3H, 3H-7), 1.06 (s, 3H, 3H-8), 0.95 (s, 3H, 3H-9);  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.2 (C1), 170.6 (C10), 159.5 (C3), 124.7 (C2), 80.6 (C6), 46.1 (C4), 37.7 (C5), 27.3 (C11), 24.4 (C7), 20.8 (C8), 20.0 (C9); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2970, 2933, 1749, 1688, 1634, 1380, 1234, 1069  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_3$  [M+H] $^+$  197.1178; encontrado 197.1177.

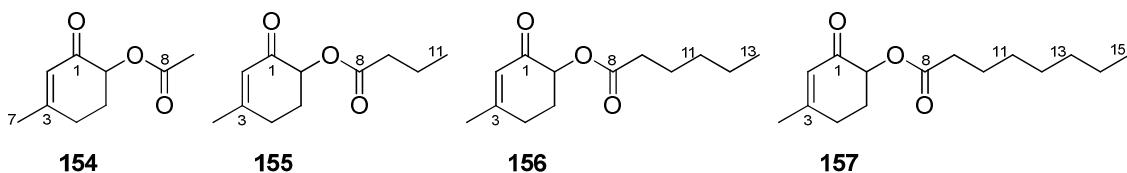
**6-butanoiloxyisoforona 151:** aceite amarillo, (50 mg, 89%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.89 (s a, 1H, H-2), 5.22 (s, 1H, H-6), 2.53 (d,  $J = 18.4$  Hz, 1H, H-4), 2.45 (m,

<sup>174</sup>Cuando el anhídrido del ácido carboxílico no es comercial, como en el caso del anhídrido octanóico, puede prepararse de acuerdo con la referencia: Selinger, Z.; Lapidot, Y. Synthesis of Fatty Acid Anhydrides by Reaction with Dicyclohexylcarbodiimide. *J. Lipid Res.* **1966**, 7, 174–175.

2H, 2H-11), 2.17 (d,  $J = 18.4$  Hz, 1H, H'-4), 1.94 (s, 3H, 3H-7), 1.73 (tq,  $J = 7.4, 7.4$  Hz, 2H, 2H-12), 1.08 (s, 3H, 3H-8), 1.00 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H, 3H-13), 0.97 (s, 3H, 3H-9);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.4 (C1), 173.3 (C10), 159.3 (C3), 124.9 (C2), 80.4 (C6), 46.2 (C4), 37.9 (C5), 36.2 (C12), 27.4 (C11), 24.4 (C7), 20.1 (C8), 18.9 (C9), 13.8 (C13); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2968, 2937, 2876, 1743, 1688, 1636, 1381, 1238, 1176, 1094  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{20}\text{O}_3$  [M] $^+$  224.1412; encontrado 224.1425.

**6-hexanoiloxiisoforona 152:** aceite amarillo (51 mg, 81%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.88 (s a, 1H, H-2), 5.20 (s, 1H, H-6), 2.51 (d,  $J = 19.1$  Hz, 1H, H-4), 2.45 (m, 2H, 2H-11), 2.16 (d,  $J = 18.4$  Hz, 1H, H'-4), 1.93 (s, 3H, 3H-7), 1.64 (tt,  $J = 7.5, 7.4$  Hz, 2H, 2H-12), 1.34 (m, 4H, 2H-13 y 2H-14), 1.06 (s, 3H, 3H-8), 0.96 (s, 3H, 3H-9), 0.88 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 3H-15);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.3 (C1), 173.4 (C10), 159.3 (C3), 124.8 (C2), 80.3 (C6), 46.2 (C4), 37.8 (C5), 34.2 (C11), 31.4 (C12), 27.4 (C13), 24.8 (C14), 24.4 (C7), 22.4 (C8), 20.1 (C9), 14.0 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2961, 2934, 2873, 1744, 1690, 1634, 1380, 1238, 1169, 1059  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}_3$  [M+H] $^+$  253.1804; encontrado 253.1808.

**6-octanoiloxiisoforona 153:** aceite amarillo (46 mg, 66%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.89 (s a, 1H, H-2), 5.21 (s, 1H, H-6), 2.52 (d,  $J = 18.4$  Hz, 1H, H-4), 2.45 (m, 2H, 2H-11), 2.16 (d,  $J = 18.4$  Hz, 1H, H'-4), 1.93 (s, 3H, 3H-7), 1.68 (tt,  $J = 7.5, 7.4$  Hz, 2H, 2H-12), 1.31 (m, 8H, 2H-13, 2H-14, 2H-15 y 2H-16), 1.07 (s, 3H, 3H-8), 0.97 (s, 3H, 3H-9), 0.86 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H, 3H-17);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.3 (C1), 173.4 (C10), 159.3 (C3), 124.9 (C2), 80.3 (C6), 46.2 (C4), 37.8 (C5), 34.3 (C11), 31.8 (C12), 29.2 (C13), 29.1 (C14), 27.4 (C15), 25.2 (C16), 24.4 (C7), 22.7 (C8), 20.1 (C9), 14.2 (C17); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2958, 2931, 2858, 1745, 1690, 1637, 1380, 1165, 1065  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{O}_3$  [M+H] $^+$  281.2117; encontrado 281.2108.



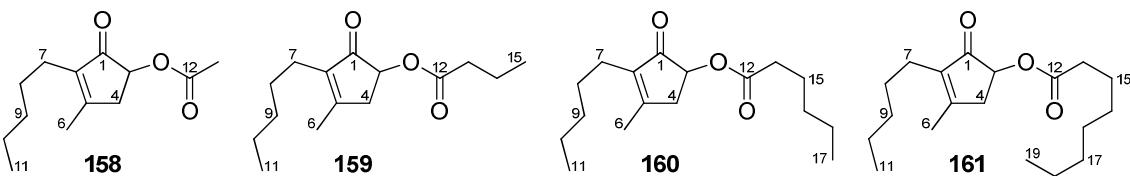
**6-acetiloxy-3-metilciclohex-2-enona 154:** aceite amarillo (30 mg, 71%);  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.90 (s a, 1H, H-2), 5.29 (d a,  $J = 13.3$  Hz, 1H, H-6), 2.55 (m, 1H, H-4), 2.39 (d a,  $J = 18.7$  Hz, 1H, H'-4), 2.23 (m, 1H, H-5), 2.16 (s, 3H, 3H-9), 2.09 (m, 1H, H'-5), 1.96 (s, 3H, 3H-7);  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.6 (C1), 170.4 (C8), 162.4

(C3), 125.5 (C2), 73.2 (C6), 30.5 (C4), 28.4 (C5), 24.3 (C7), 21.0 (C9); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2936, 1747, 1690, 1380, 1238, 1208, 1168  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_9\text{H}_{13}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  169.0865; encontrado 169.0868.

**6-butanoiloxi-3-metilciclohex-2-enona 155:** aceite amarillo (27 mg, 56%);  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.90 (s a, 1H, H-2), 5.31 (dd,  $J = 13.3, 5.3$  Hz, 1H, H-6), 2.55 (m, 1H, H-4), 2.40 (m, 3H, 2H-9 y H'-4), 2.22 (dddd,  $J = 7.8, 7.8, 5.2, 2.6$  Hz, 1H, H-5), 2.09 (dddd,  $J = 17.1, 12.7, 12.7, 5.2$  Hz, 1H, H'-5), 1.97 (s, 3H, 3H-7), 1.70 (tq,  $J = 7.4, 7.4$  Hz, 2H, 2H-10), 0.97 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H, 3H-11);  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.7 (C1), 173.0 (C8), 162.3 (C3), 125.6 (C2), 72.9 (C6), 36.2 (C9), 30.6 (C4), 28.4 (C5), 24.3 (C7), 18.6 (C10), 13.7 (C11); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2966, 2936, 2876, 1743, 1689, 1633, 1381, 1177, 1104  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  197.1178; encontrado 197.1178.

**6-hexanoiloxi-3-metilciclohex-2-enona 156:** aceite amarillo (37 mg, 66%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.89 (s a, 1H, H-2), 5.30 (dd,  $J = 13.3, 5.4$  Hz, 1H, H-6), 2.55 (m, 1H, H-4), 2.40 (m, 3H, 2H-9 y H'-4), 2.21 (dddd,  $J = 7.8, 7.8, 5.2, 2.6$  Hz, 1H, H-5), 2.08 (dddd,  $J = 16.9, 13.2, 11.7, 5.2$  Hz, 1H, H'-5), 1.96 (s, 3H, 3H-7), 1.66 (tt,  $J = 7.7, 7.7$  Hz, 2H, 2H-10), 1.33 (m, 4H, 2H-11 y 2H-12), 0.88 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 3H-13);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.7 (C1), 173.2 (C8), 162.3 (C3), 125.6 (C2), 72.9 (C6), 34.3 (C9), 31.4 (C10), 30.5 (C4), 28.4 (C5), 24.7 (C7), 24.2 (C11), 22.4 (C12), 14.0 (C13); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2956, 2933, 2872, 1743, 1690, 1633, 1380, 1208, 1167, 1103  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{21}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  225.1491; encontrado 225.1505.

**3-metil-6-octanoiloxiciclohex-2-enona 157:** aceite amarillo (47 mg, 74%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.90 (s a, 1H, H-2), 5.31 (dd,  $J = 13.3, 5.4$  Hz, 1H, H-6), 2.55 (m, 1H, H-4), 2.39 (m, 3H, 2H-9 y H'-4), 2.22 (dddd,  $J = 7.8, 7.8, 5.2, 2.6$  Hz, 1H, H-5), 2.09 (dddd,  $J = 16.9, 11.8, 11.8, 5.2$  Hz, 1H, H'-5), 1.97 (s, 3H, 3H-7), 1.67 (tt,  $J = 7.1, 7.1$  Hz, 2H, 2H-10), 1.31 (m, 8H, 2H-11, 2H-12, 2H-13 y 2H-14), 0.87 (t,  $J = 6.8$  Hz, 3H, 3H-15);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.7 (C1), 173.2 (C8), 162.3 (C3), 125.6 (C2), 72.9 (C6), 34.3 (C9), 31.8 (C10), 30.6 (C4), 29.2 (C11), 29.1 (C12), 28.4 (C5), 25.0 (C13), 24.3 (C7), 22.7 (C14), 14.2 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2930, 2856, 1743, 1691, 1633, 1380, 1162, 1105  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{15}\text{H}_{25}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  253.1804; encontrado 253.1797.



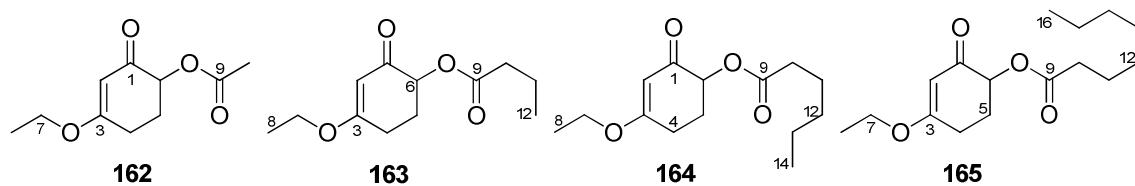
**5-acetiloxi-3-metil-2-pentilciclopent-2-enona 158:** aceite amarillo (45 mg, 81%); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.11 (dd, *J* = 6.9, 3.0 Hz, 1H, H-5), 2.97 (dd, *J* = 18.0, 6.9 Hz, 1H, H-4), 2.42 (d a, *J* = 18.0 Hz, 1H, H'-4), 2.18 (m, 2H, 2H-7), 2.12 (s, 3H, 3H-13), 2.05 (s, 3H, 3H-6), 1.38 (m, 2H, 2H-8), 1.28 (m, 4H, 2H-9 y 2H-10), 0.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, 3H-11); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 203.3 (C1), 170.8 (C12), 167.4 (C3), 139.6 (C2), 71.9 (C5), 38.9 (C4), 31.8 (C7), 28.0 (C8), 23.1 (C9), 22.6 (C10), 21.0 (C13), 17.3 (C6), 14.1 (C11); IR (film) ν<sub>max</sub> 2931, 2860, 1746, 1714, 1373, 1229, 1056 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 225.1491; encontrado 225.1513.

**5-butanoiloxi-3-metil-2-pentilciclopent-2-enona 159:** aceite amarillo (22 mg, 35%); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.12 (dd, *J* = 6.9, 3.0 Hz, 1H, H-5), 2.97 (dd, *J* = 18.0, 6.9 Hz, 1H, H-4), 2.36 (m, 3H, H'-4 y 2H-13), 2.18 (m, 2H, 2H-7), 2.05 (s, 3H, 3H-6), 1.67 (tq, *J* = 7.4, 7.1 Hz, 2H, 2H-14), 1.39 (tt, *J* = 7.8, 7.8 Hz, 2H, 2H-8), 1.27 (m, 4H, 2H-9 y 2H-10), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 3H-15), 0.86 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, 3H-11); <sup>13</sup>C RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 203.3 (C1), 173.4 (C12), 167.2 (C3), 139.6 (C2), 71.8 (C5), 38.9 (C4), 36.0 (C13), 31.8 (C7), 28.0 (C8), 23.1 (C9), 22.6 (C10), 18.5 (C14), 17.3 (C6), 14.1 (C15), 13.7 (C11); IR (film) ν<sub>max</sub> 2959, 2932, 2874, 1743, 1714, 1643, 1388, 1174, 1055 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>15</sub>H<sub>25</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 253.1804; encontrado 253.1844.

**5-hexanoiloxi-3-metil-2-pentilciclopent-2-enona 160:** aceite amarillo (52 mg, 74%); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.11 (dd, *J* = 6.9, 3.1 Hz, 1H, H-5), 2.96 (dd, *J* = 18.0, 6.9 Hz, 1H, H-4), 2.36 (m, 3H, H'-4 y 2H-13), 2.18 (m, 2H, 2H-7), 2.05 (s, 3H, 3H-6), 1.64 (tt, *J* = 7.5, 7.5 Hz, 2H, 2H-14), 1.38 (m, 2H, 2H-8), 1.27 (m, 8H, 2H-9, 2H-10, 2H-15 y 2H-16), 0.88 (m, 6H, 3H-11 y 3H-17); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 203.3 (C1), 173.6 (C12), 167.1 (C3), 139.6 (C2), 71.8 (C5), 38.9 (C4), 34.2 (C13), 31.8 (C7), 31.4 (C14), 28.0 (C8), 24.7 (C15), 23.1 (C9), 22.6 (C10), 22.4 (C16), 17.3 (C6), 14.1 (C11), 14.0 (C17); IR (film) ν<sub>max</sub> 2956, 2931, 2859, 1743, 1715, 1643, 1388, 1164, 1112 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>17</sub>H<sub>29</sub>O<sub>3</sub> [M+H]<sup>+</sup> 281.2117; encontrado 281.2126.

**3-metil-5-octanoiloxi-2-pentilciclopent-2-enona 161:** aceite amarillo (42 mg, 54%); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 5.11 (dd, *J* = 6.9, 3.0 Hz, 1H, H-5), 2.96 (dd, *J* = 18.0, 6.9 Hz, 1H, H-4), 2.36 (m, 3H, H'-4 y 2H-13), 2.18 (m, 2H, 2H-7), 2.04 (s, 3H, 3H-6), 1.63

(tt,  $J = 7.8, 7.8$  Hz, 2H, 2H-14), 1.38 (tt,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, 2H, 2H-8), 1.26 (m, 12H, 2H-9, 2H-10, 2H-15, 2H-16, 2H-17 y 2H-18), 0.86 (m, 6H, 3H-11 y 3H-19);  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  203.3 (C1), 173.6 (C12), 167.1 (C3), 139.6 (C2), 71.7 (C5), 38.9 (C4), 34.2 (C13), 31.8 (C7), 31.7 (C14), 29.2 (C15), 29.0 (C16), 28.0 (C8), 25.0 (C17), 23.1 (C9), 22.7 (C18), 22.6 (C10), 17.3 (C6), 14.2 (C19), 14.1 (C11); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2956, 2929, 2858, 1745, 1716, 1645, 1387, 1162, 1110  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{19}\text{H}_{33}\text{O}_3$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  309.2430; encontrado 309.2458.



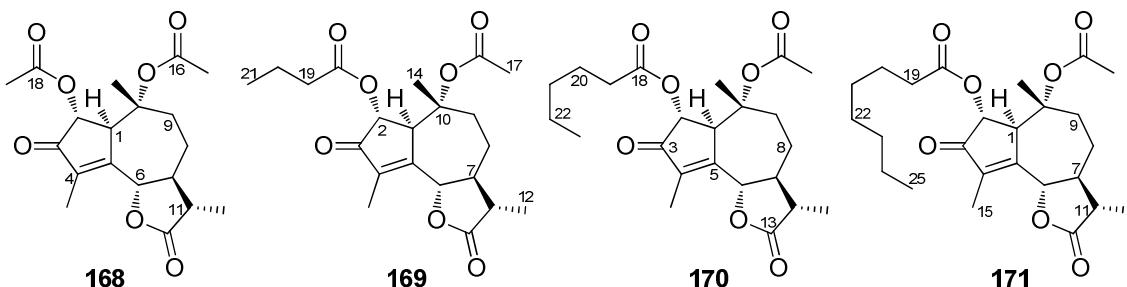
**6-acetiloxi-3-etoxiciclohex-2-enona 162:** aceite amarillo (29 mg, 59%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.36 (s, 1H, H-2), 5.28 (dd,  $J = 12.6, 5.2$  Hz, 1H, H-6), 3.90 (m, 2H, 2H-7), 2.64 (ddd,  $J = 17.1, 12.0, 5.1$  Hz, 1H, H-4), 2.49 (ddd,  $J = 17.8, 5.3, 2.9$  Hz, 1H, H'-4), 2.21 (dddd,  $J = 10.4, 5.2, 4.6, 3.0$  Hz, 1H, H-5), 2.16 (s, 3H, 3H-10), 2.08 (dddd,  $J = 17.6, 12.5, 12.5, 5.3$  Hz, 1H, H'-5), 1.36 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, 3H-8);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.3 (C1), 176.8 (C3), 170.5 (C9), 101.4 (C2), 72.6 (C6), 65.0 (C7), 28.1 (C4), 26.9 (C5), 21.1 (C10), 14.2 (C8); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2984, 1741, 1673, 1602, 1378, 1236, 1191, 1046  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  199.0970; encontrado 199.0986.

**6-butanoiloxi-3-etoxiciclohex-2-enona 163:** aceite amarillo (48 mg, 85%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.33 (s, 1H, H-2), 5.27 (dd,  $J = 12.5, 5.3$  Hz, 1H, H-6), 3.88 (m, 2H, 2H-7), 2.63 (ddd,  $J = 17.4, 11.9, 5.2$  Hz, 1H, H-4), 2.47 (ddd,  $J = 17.8, 5.3, 3.2$  Hz, 1H, H'-4), 2.37 (m, 2H, 2H-10), 2.18 (dddd,  $J = 8.3, 8.3, 5.2, 3.0$  Hz, 1H, H-5), 2.06 (dddd,  $J = 17.7, 12.4, 12.4, 5.3$  Hz, 1H, H'-5), 1.68 (tq,  $J = 7.4, 7.0$  Hz, 2H, 2H-11), 1.34 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, 3H-8), 0.95 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H, 3H-12);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.3 (C1), 176.6 (C3), 173.0 (C9), 101.4 (C2), 72.3 (C6), 64.9 (C7), 36.1 (C10), 28.1 (C4), 26.9 (C5), 18.5 (C11), 14.1 (C8), 13.7 (C12); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2966, 2940, 2877, 1743, 1678, 1605, 1380, 1187, 1101  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  227.1283; encontrado 227.1295.

**3-etoxi-6-hexanoiloxiciclohex-2-enona 164:** aceite amarillo (51 mg, 81%);  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.35 (s, 1H, H-2), 5.27 (dd,  $J = 12.6, 5.2$  Hz, 1H, H-6), 3.89 (m, 2H,

2H-7), 2.63 (ddd,  $J = 17.5, 12.0, 5.1$ , Hz, 1H, H-4), 2.48 (ddd,  $J = 17.8, 5.2, 2.9$  Hz, 1H, H'-4), 2.39 (m, 2H, 2H-10), 2.19 (dddd,  $J = 8.2, 8.2, 5.2, 3.0$  Hz, 1H, H-5), 2.07 (dddd,  $J = 17.8, 12.5, 12.5, 5.3$  Hz, 1H, H'-5), 1.66 (tt,  $J = 7.6, 7.6$  Hz, 2H, 2H-11), 1.34 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 3H-8), 1.31 (m, 4H, 2H-12 y 2H-13), 0.87 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H, 3H-14);  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.3 (C1), 176.7 (C3), 173.2 (C9), 101.4 (C2), 72.3 (C6), 65.0 (C7), 34.3 (C10), 31.3 (C11), 28.1 (C4), 26.9 (C5), 24.7 (C12), 22.4 (C13), 14.2 (C8), 14.0 (C14); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2954, 2933, 2872, 1744, 1667, 1604, 1379, 1196, 1169  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  255.1596; encontrado 255.1596.

**3-etoxi-6-octanoiloxiciclohex-2-enona 165:** aceite amarillo (61 mg, 86%);  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.35 (s, 1H, H-2), 5.27 (dd,  $J = 12.5, 5.2$  Hz, 1H, H-6), 3.88 (m, 2H, 2H-7), 2.63 (ddd,  $J = 17.4, 11.9, 5.0$  Hz, 1H, H-4), 2.48 (ddd,  $J = 17.6, 5.1, 2.8$  Hz, 1H, H'-4), 2.40 (m, 2H, 2H-10), 2.19 (dddd,  $J = 8.3, 8.3, 5.2, 3.0$  Hz, 1H, H-5), 2.07 (dddd,  $J = 17.8, 12.3, 12.3, 5.3$  Hz, 1H, H'-5), 1.65 (tt,  $J = 7.2, 7.4$  Hz, 2H, 2H-11), 1.34 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, 3H-8), 1.28 (m, 8H, 2H-12, 2H-13, 2H-14 y 2H-15), 0.85 (t,  $J = 6.9$  Hz, 3H, 3H-16);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  193.3 (C1), 176.7 (C3), 173.2 (C9), 101.4 (C2), 72.3 (C6), 64.9 (C7), 34.3 (C10), 31.7 (C11), 29.1 (C12), 29.0 (C13), 28.1 (C4), 26.9 (C5), 25.0 (C14), 22.7 (C15), 14.2 (C8), 14.1 (C16); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2951, 2917, 2852, 1744, 1661, 1605, 1470, 1170, 872  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}_4$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  283.1909; encontrado 283.1925.



**Lactona O-acetil-2-acetiloxyisofotosantónica 168:** sólido amorfó blanco (55 mg, 60%);  $[\alpha]_D^{20} +45.33$  ( $c 1.16, \text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.13 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H, H-2), 4.83 (d a,  $J = 11.0$  Hz, 1H, H-6), 4.05 (s a, 1H, H-1), 2.60 (ddd,  $J = 18.1, 13.6, 4.4$  Hz, 1H, H-9), 2.28 (m, 2H, H-11, H'-9), 2.14 (m, 1H, H-7), 2.09 (s, 3H, 3H-19), 2.06 (m, 1H, H-8), 1.95 (s, 3H, 3H-17), 1.95 (s, 3H, 3H-15), 1.46 (dddd,  $J = 14.8, 13.6, 11.3, 3.7$  Hz, 1H, H'-8), 1.27 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, 3H-12), 1.24 (s, 3H, 3H-14);  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  201.1 (C3), 176.7 (C13), 170.5 (C16), 169.8 (C18), 157.7 (C5), 140.6 (C4), 84.7 (C10), 81.1 (C6), 73.7 (C2), 52.5 (C7), 48.6 (C1), 41.3 (C11), 37.9 (C9), 25.7 (C8), 22.6 (C17), 20.8 (C14), 20.7 (C19), 12.6 (C12), 10.1 (C15); IR (film)

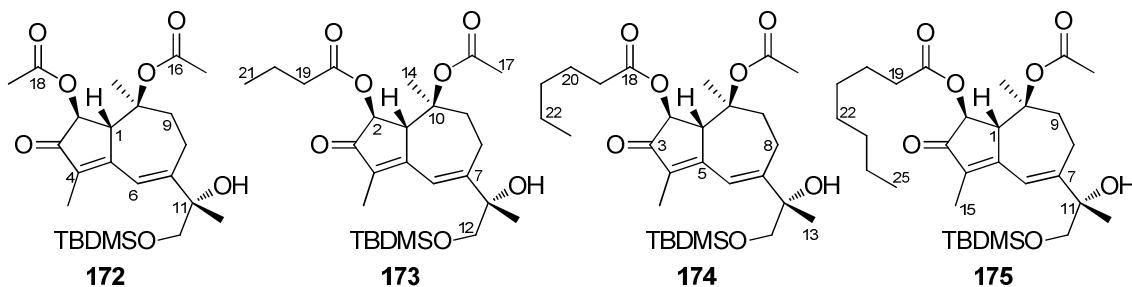
$\nu_{\text{max}}$  2931, 1784, 1728, 1235, 1017, 753 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>19</sub>H<sub>25</sub>O<sub>7</sub> [M+H]<sup>+</sup> 365.1600; encontrado 365.1612.

**Lactona O-acetil-2-butanoiloxiisofotosantónica 169:** sólido amorfó blanco (60 mg, 61%);  $[\alpha]_D^{20} +90.95$  (*c* 2.86, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.11 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H, H-2), 4.82 (d a, *J* = 11.0 Hz, 1H, H-6), 4.04 (s a, 1H, H-1), 2.59 (ddd, *J* = 18.0, 13.6, 4.4 Hz, 1H, H-9), 2.30 (m, 2H, H-11 y H'-9), 2.23 (t, *J* = 3.6 Hz, 2H, 2H-19), 2.15 (m, 1H, H-7), 2.06 (m, 1H, H-8), 1.94 (s, 3H, 3H-17), 1.93 (s, 3H, 3H-5), 1.64 (tq, *J* = 7.5, 7.5 Hz, 2H, 2H-20), 1.45 (dddd, *J* = 14.6, 14.6, 11.2, 3.6 Hz, 1H, H'-8), 1.25 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, 3H-12), 1.23 (s, 3H, 3H-14), 0.96 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H, 3H-21); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  201.2 (C3), 176.7 (C13), 172.5 (C16), 170.5 (C18), 157.8 (C5), 140.6 (C4), 84.6 (C10), 81.1 (C6), 73.6 (C2), 52.5 (C7), 48.5 (C1), 41.3 (C11), 37.9 (C9), 35.7 (C19), 25.6 (C8), 22.6 (C17), 20.8 (C14), 18.3 (C20), 13.7 (C21), 12.6 (C12), 10.1 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2967, 2876, 1785, 1724, 1250, 1171, 997 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>21</sub>H<sub>29</sub>O<sub>7</sub> [M+H]<sup>+</sup> 393.1913; encontrado 393.1904.

**Lactona O-acetil-2-hexanoiloxiisofotosantónica 170:** sólido amorfó blanco (67 mg, 64%);  $[\alpha]_D^{20} +50.97$  (*c* 0.42, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.10 (d, *J* = 3.1 Hz, 1H, H-2), 4.82 (d a, *J* = 11.0 Hz, 1H, H-6), 4.05 (s a, 1H, H-1), 2.60 (ddd, *J* = 18.0, 13.6, 4.4 Hz, 1H, H-9), 2.31 (m, 3H, 2H-19 y H-11), 2.25 (m, 1H, H-9), 2.15 (m, 1H, H-7), 2.06 (m, 1H, H-8), 1.94 (s, 3H, 3H-17), 1.93 (s, 3H, 3H-15), 1.61 (tt, *J* = 7.1, 7.1 Hz, 2H, 2H-20), 1.45 (dddd, *J* = 14.6, 14.6, 11.2, 3.6 Hz, 1H, H'-8), 1.31 (m, 4H, 2H-21 y 2H-22), 1.25 (d, *J* = 6.9 Hz, 3H, 3H-12), 1.23 (s, 3H, 3H-14), 0.87 (t, *J* = 7.1 Hz, 3H, 3H-23); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  201.2 (C3), 176.7 (C13), 172.6 (C16), 170.5 (C18), 157.7 (C5), 140.6 (C4), 84.6 (C10), 81.1 (C6), 73.6 (C2), 52.5 (C7), 48.5 (C1), 41.3 (C11), 37.9 (C9), 33.8 (C19), 31.2 (C20), 25.7 (C8), 24.4 (C21), 22.6 (C17), 22.4 (C22), 20.9 (C14), 14.0 (C23), 12.6 (C12), 10.1 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2935, 2873, 1787, 1727, 1249, 1170, 998 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>O<sub>7</sub> [M+H]<sup>+</sup> 421.2226; encontrado 421.2214.

**Lactona O-acetil-2-octanoiloxiisofotosantónica 171:** sólido amorfó blanco (80 mg, 71%);  $[\alpha]_D^{20} +44.34$  (*c* 0.99, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  5.13 (d, *J* = 3.3 Hz, 1H, H-2), 4.82 (d a, *J* = 11.2 Hz, 1H, H-6), 4.06 (s a, 1H, H-1), 2.61 (ddd, *J* = 18.1, 13.6, 4.4 Hz, 1H, H-9), 2.34 (m, 2H, 2H-19), 2.29 (m, 1H, H-9), 2.25 (m, 1H, H-11), 2.15 (m, 1H, H-7), 2.08 (m, 1H, H-8), 1.96 (s, 6H, 3H-15 y 3H-17), 1.62 (tt, *J* = 7.1, 7.1 Hz, 2H, 2H-20), 1.46 (dddd, *J* = 14.7, 14.7, 11.2, 3.6 Hz, 1H, H'-8), 1.32 (m, 8H, 2H-21,

2H-22, 2H-23 y 2H-24), 1.28 (d,  $J = 6.9$  Hz, 3H, 3H-12), 1.24 (s, 3H, 3H-14), 0.87 (t,  $J = 7.0$  Hz, 3H, 3H-25);  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  201.2 (C3), 176.8 (C13), 172.7 (C16), 170.5 (C18), 157.7 (C5), 140.7 (C4), 84.7 (C10), 81.2 (C6), 73.6 (C2), 52.6 (C7), 48.6 (C1), 41.4 (C11), 37.9 (C9), 33.9 (C19), 31.8 (C20), 29.1 (C21), 29.1 (C22), 25.7 (C8), 24.8 (C23), 22.7 (C24), 22.6 (C17), 20.9 (C14), 14.2 (C25), 12.6 (C12), 10.1 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  2929, 2859, 1785, 1734, 1728, 1233, 1093, 1016  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{37}\text{O}_7$  [M+H] $^+$  449.2539; encontrado 449.2575.



**2-acetiloxiguayano 172:** aceite amarillo (118 mg, 98%);  $[\alpha]_D^{20} -79.09$  ( $c$  1.77,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.80 (s a, 1H, H-6), 5.30 (d,  $J = 2.9$  Hz, 1H, H-2), 4.17 (s a, 1H, H-1), 3.67 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H, H-12), 3.50 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H, H'-12), 2.89 (m, 1H, H-8), 2.55 (ddd,  $J = 14.7, 6.4, 3.4$  Hz, 1H, H-9), 2.23 (ddd,  $J = 16.4, 6.5, 3.2$  Hz, 1H, H'-8), 2.14 (ddd,  $J = 14.1, 2.9, 2.7$  Hz, 1H, H'-9), 2.10 (s, 3H, 3H-19), 1.97 (s, 3H, 3H-17), 1.81 (d,  $J = 2.1$  Hz, 3H, 3H-15), 1.29 (s, 3H, 3H-13), 1.24 (s, 3H, 3H-14), 0.87 (s, 9H,  $\underline{\text{Me}_3\text{CSi}}$ ), 0.07 (s, 3H,  $\underline{\text{MeSi}}$ ), 0.05 (s, 3H,  $\underline{\text{MeSi}}$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  202.3 (C3), 170.8 (C16), 169.8 (C18), 161.1 (C5), 157.1 (C7), 135.7 (C4), 119.2 (C6), 83.0 (C10), 76.4 (C11), 73.3 (C2), 68.5 (C12), 51.8 (C1), 40.2 (C9), 25.9 ( $\underline{\text{Me}_3\text{CSi}}$ ), 25.1 (C8), 23.9 (C13), 22.8 (C14), 22.4 (C17), 20.9 (C19), 18.3 ( $\underline{\text{Me}_3\text{CSi}}$ ), 8.5 (C15), -5.3 ( $\underline{\text{Me}_2\text{Si}}$ ); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3447, 2930, 1749, 1707, 1626, 1246, 1093, 837  $\text{cm}^{-1}$ ; HRMS (APGC) calculado para  $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{O}_7\text{Si}$  [M+H] $^+$  481.2622; encontrado 481.2610.

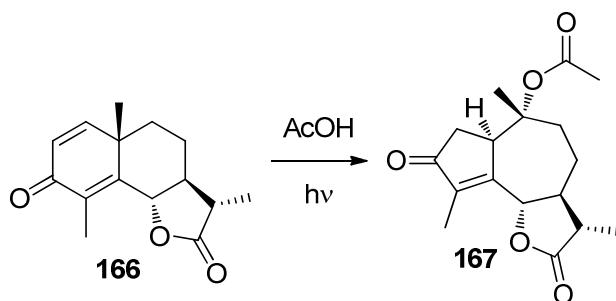
**2-butanoiloxyguayano 173:** aceite amarillo (71 mg, 56%);  $[\alpha]_D^{20} -75.79$  ( $c$  2.00,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6.80 (s a, 1H, H-6), 5.30 (d,  $J = 2.8$  Hz, 1H, H-2), 4.17 (s a, 1H, H-1), 3.67 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H, H-12), 3.50 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H, H'-12), 2.90 (m, 1H, H-8), 2.54 (ddd,  $J = 14.6, 6.4, 3.4$  Hz, 1H, H-9), 2.32 (m, 2H, 2H-19), 2.22 (ddd,  $J = 16.8, 6.4, 3.2$  Hz, 1H, H'-8), 2.11 (ddd,  $J = 14.7, 11.7, 3.1$  Hz, 1H, H'-9), 1.96 (s, 3H, 3H-17), 1.81 (d,  $J = 2.6$  Hz, 3H, 3H-15), 1.67 (tq,  $J = 7.4, 7.4$  Hz, 2H, 2H-20), 1.28 (s, 3H, 3H-13), 1.24 (s, 3H, 3H-14), 0.97 (t,  $J = 7.4$  Hz, 3H, 3H-21), 0.87 (s, 9H,  $\underline{\text{Me}_3\text{CSi}}$ ), 0.07 (s, 3H,  $\underline{\text{MeSi}}$ ), 0.05 (s, 3H,  $\underline{\text{MeSi}}$ );  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  202.4

(C3), 172.5 (C18), 170.8 (C16), 161.1 (C5), 157.1 (C7), 135.7 (C4), 119.2 (C6), 83.0 (C10), 76.4 (C11), 73.1 (C2), 68.5 (C12), 51.8 (C1), 40.2 (C9), 36.0 (C19), 25.9 (Me<sub>3</sub>CSi), 25.1 (C8), 24.0 (C13), 22.8 (C14), 22.4 (C17), 18.5 (C20), 18.3 (Me<sub>3</sub>CSi), 13.8 (C21), 8.5 (C15), -5.3 (Me<sub>2</sub>Si); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3496, 2960, 2932, 2858, 1743, 1705, 1626, 1249, 1092, 836 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O<sub>7</sub>Si [M]<sup>+</sup> 508.2856; encontrado 508.2859.

**2-hexanoiloxiguayano 174:** aceite amarillo (101 mg, 75%);  $[\alpha]_D^{20}$  -88.73 (c 2.00, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.79 (s a, 1H, H-6), 5.28 (d, J = 2.8 Hz, 1H, H-2), 4.16 (s a, 1H, H-1), 3.66 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-12), 3.49 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H'-12), 2.89 (m, 1H, H-8), 2.54 (ddd, J = 14.5, 6.2, 3.2 Hz, 1H, H-9), 2.32 (m, 2H, 2H-19), 2.22 (ddd, J = 16.3, 6.4, 3.0 Hz, 1H, H'-8), 2.11 (ddd, J = 16.5, 11.6, 3.1 Hz, 1H, H'-9), 1.95 (s, 3H, 3H-17), 1.81 (d, J = 2.3 Hz, 3H, 3H-15), 1.63 (m, 2H, 2H-20), 1.32 (m, 4H, 2H-21 y 2H-22), 1.28 (s, 3H, 3H-13), 1.23 (s, 3H, 3H-14), 0.87 (m, 12H, 3H-23 y Me<sub>3</sub>CSi), 0.06 (s, 3H, MeSi), 0.05 (s, 3H, MeSi); <sup>13</sup>C RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 202.4 (C3), 172.7 (C18), 170.8 (C16), 161.1 (C5), 157.1 (C7), 135.7 (C4), 119.2 (C6), 83.0 (C10), 76.4 (C11), 73.1 (C2), 68.5 (C12), 51.8 (C1), 40.2 (C9), 34.1 (C19), 31.3 (C20), 25.9 (Me<sub>3</sub>CSi), 25.1 (C8), 24.6 (C21), 23.9 (C13), 22.8 (C14), 22.4 (C22), 22.4 (C17), 18.3 (Me<sub>3</sub>CSi), 14.0 (C23), 8.5 (C15), -5.3 (Me<sub>2</sub>Si); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3488, 2956, 2932, 2860, 1743, 1707, 1625, 1246, 1092, 838 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>29</sub>H<sub>49</sub>O<sub>7</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> 537.3248; encontrado 537.3253.

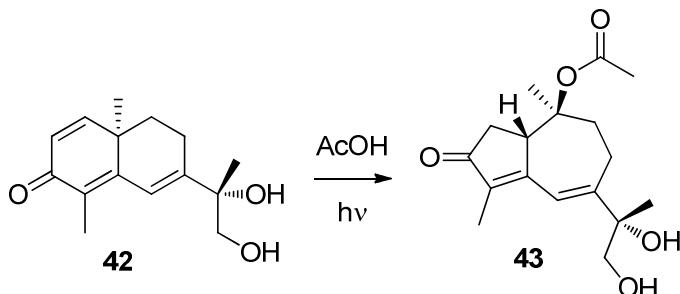
**2-octanoiloxiguayano 175:** aceite amarillo (128 mg, 91%);  $[\alpha]_D^{20}$  -91.91 (c 1.53, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.80 (s a, 1H, H-6), 5.30 (d, J = 2.8 Hz, 1H, H-2), 4.16 (s a, 1H, H-1), 3.67 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H-12), 3.50 (d, J = 9.7 Hz, 1H, H'-12), 2.90 (m, 1H, H-8), 2.54 (ddd, J = 14.7, 6.5, 3.4 Hz, 1H, H-9), 2.34 (m, 2H, 2H-19), 2.23 (ddd, J = 16.3, 6.5, 3.2 Hz, 1H, H'-8), 2.12 (ddd, J = 14.7, 11.6, 3.1 Hz, 1H, H'-9), 1.96 (s, 3H, 3H-17), 1.82 (d, J = 2.1 Hz, 3H, 3H-15), 1.63 (m, 2H, 2H-20), 1.32 (m, 4H, 2H-21 y 2H-22), 1.29 (s, 3H, 3H-13), 1.27 (m, 4H, 2H-23 y 2H-24), 1.24 (s, 3H, 3H-14), 0.88 (m, 12H, 3H-25 y Me<sub>3</sub>CSi), 0.07 (s, 3H, MeSi), 0.06 (s, 3H, MeSi); <sup>13</sup>C RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 202.4 (C3), 172.7 (C18), 170.8 (C16), 161.1 (C5), 157.1 (C7), 135.8 (C4), 119.2 (C6), 83.0 (C10), 76.4 (C11), 73.1 (C2), 68.5 (C12), 51.8 (C1), 40.2 (C9), 34.2 (C19), 31.8 (C20), 29.2 (C21), 29.1 (C22), 25.9 (Me<sub>3</sub>CSi), 25.1 (C8), 25.0 (C23), 24.0 (C24), 22.8 (C13), 22.7 (C14), 22.5 (C17), 18.3 (Me<sub>3</sub>CSi), 14.2 (C25), 8.5 (C15), -5.3 (Me<sub>2</sub>Si); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3467, 2930, 2859, 1740, 1706, 1624, 1248, 1092, 836 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>31</sub>H<sub>53</sub>O<sub>7</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> 565.3561; encontrado 565.3549.

### 8.2.30 Obtención de la lactona O-acetilisofotosantónica, 167, a partir de $\alpha$ -santonina, 166



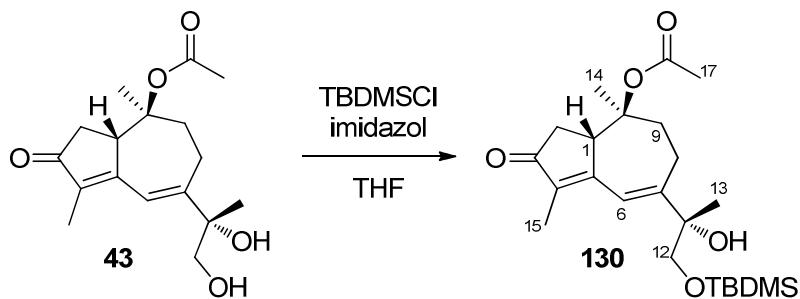
Una disolución de  $\alpha$ -santonina, **166** (500 mg, 2.03 mmol) en AcOH (200 mL) se irradió en un reactor de cuarzo Hanovia equipado con una lámpara de Hg de media presión durante 5 horas. El disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo obtenido se purificó por chromatografía en columna (AcOEt/Hex al 40%) dando el producto **167** como un sólido blanco (230 mg, 38%). Los datos espectroscópicos coincidieron con los encontrados en la literatura.<sup>169</sup>

### 8.2.31 Reagrupamiento fotoquímico de la trienonadiol 42 para la preparación del guayanadiol 43



Una disolución de **42** (570 mg, 2.30 mmol, preparado de acuerdo al procedimiento previamente establecido por nuestro grupo de investigación) en AcOH (200 mL) se irradió en un reactor de cuarzo Hanovia equipado con una lámpara de Hg de media presión durante 2 horas. Tras eliminar el disolvente a presión reducida, el crudo obtenido se purificó por chromatografía en columna (AcOEt/Hex al 75%) para dar el guayanadiol **43** como un aceite incoloro (510 mg, 72%). Los datos espectroscópicos coincidieron con los publicados en la bibliografía.<sup>54</sup>

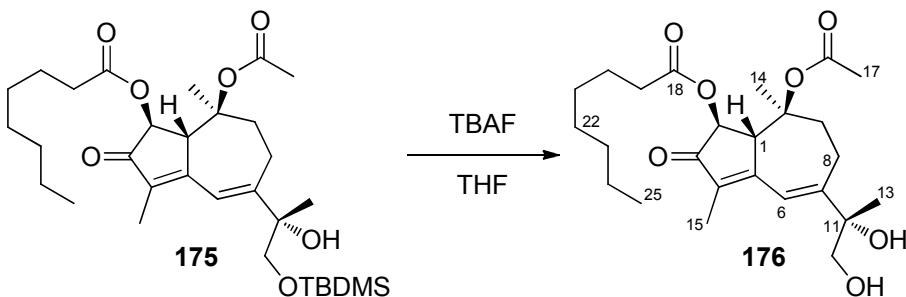
### 8.2.32 Protección del guayanodiol 43 con TBDMSCl



En atmósfera inerte, el guayanodiol **43** (500 mg, 1.62 mmol) se disolvió en THF seco (11 mL) y se adicionó imidazol (330 mg, 4.86 mmol, 3.00 eq.). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota una disolución de TBDMSCl (366 mg, 2.43 mmol, 1.50 eq.) en THF seco (5 mL). La reacción se agitó durante 3 horas y después se adicionó una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (30 mL). La mezcla se extrajo con Et<sub>2</sub>O (3 × 15 mL), las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 30%) para dar el guayanodiol protegido **130** (678 mg, 99%).

**Guayanodiol protegido 130:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} +28.19$  (*c* 1.73, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.77 (s, 1H, H-6), 4.14 (s a, 1H, H-1), 3.68 (d, *J* = 9.6 Hz, 1H, H-12), 3.49 (d, *J* = 9.7 Hz, 1H, H'-12), 2.93 (m, 1H, H-8), 2.59 (ddd, *J* = 15.1, 6.9, 2.7 Hz, 1H, H-9), 2.42 (dd, *J* = 19.1, 2.6 Hz, 1H, H-2), 2.37 (dd, *J* = 19.2, 2.6 Hz, 1H, H'-2), 2.23 (ddd, *J* = 17.1, 6.8, 2.5 Hz, 1H, H'-8), 2.00 (s, 3H, 3H-17), 1.94 (ddd, *J* = 14.8, 11.9, 2.7 Hz, 1H, H'-9), 1.78 (d, *J* = 1.8 Hz, 3H, 3H-15), 1.28 (s, 3H, 3H-13), 1.13 (s, 3H, 3H-14), 0.87 (s, 9H, Me<sub>3</sub>CSi), 0.07 (s, 3H, MeSi), 0.06 (s, 3H, MeSi); <sup>13</sup>C RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 208.5 (C3), 170.7 (C16), 163.5 (C5), 156.9 (C7), 137.7 (C4), 119.6 (C6), 84.7 (C10), 76.3 (C11), 68.5 (C12), 45.9 (C1), 40.1 (C9), 37.3 (C2), 25.9 (Me<sub>3</sub>CSi), 25.1 (C8), 22.9 (C13), 22.6 (C14), 22.4 (C17), 18.3 (Me<sub>3</sub>CSi), 8.4 (C15), -5.3 (Me<sub>2</sub>Si); IR (film) ν<sub>max</sub> 3457, 2930, 2857, 1732, 1694, 1627, 1464, 1368, 1250, 1093, 837 cm<sup>-1</sup>; HRMS (APGC) calculado para C<sub>23</sub>H<sub>39</sub>O<sub>5</sub>Si [M+H]<sup>+</sup> 423.2567; encontrado 423.2587.

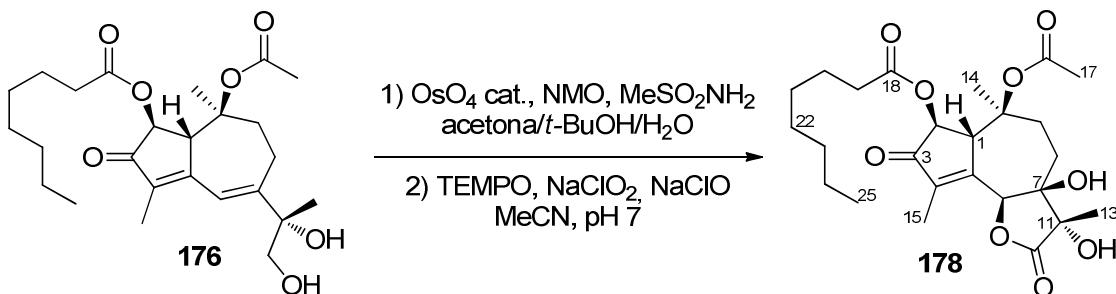
### 8.2.33 Desprotección del 2-octanoiloxiguayanodiol protegido 175 para obtener el 2-octanoiloxiguayanodiol 176



En atmósfera inerte y a 0 °C, se disolvió el 2-octanoiloxiguayanodiol protegido **175** (163 mg, 0.288 mmol) en THF seco (2 mL) y se le adicionó gota a gota TBAF (0.575 mL, disolución 1 M en THF, 0.575 mmol, 2 eq.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se trató con una disolución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (5 mL) y se extrajo con AcOEt (3 × 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida. El crudo obtenido se purificó por cromatografía en columna (AcOEt/Hex al 70%) para dar el producto 2-octanoiloxiguayanodiol **176** (74 mg, 61%).

**2-octanoiloxiguayanodiol 176:** aceite amarillo;  $[\alpha]_D^{20} -92.32$  (*c* 1.92, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.87 (s, 1H, H-6), 5.25 (d, *J* = 2.8 Hz, 1H, H-2), 4.22 (s a, 1H, H-1), 3.75 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, H-12), 3.52 (d, *J* = 11.0 Hz, 1H, H'-12), 2.94 (m, 1H, H-8), 2.80 (s a, OH), 2.57 (ddd, *J* = 14.8, 6.4, 3.4 Hz, 1H, H-9), 2.33 (m, 2H, 2H-19), 2.21 (ddd, *J* = 16.4, 6.4, 3.2 Hz, 1H, H'-8), 2.11 (ddd, *J* = 14.8, 11.7, 3.1 Hz, 1H, H'-9), 1.96 (s, 3H, 3H-17), 1.82 (d, *J* = 2.1 Hz, 3H, 3H-15), 1.62 (tt, *J* = 7.4, 7.4 Hz, 2H, 2H-20), 1.34 (s, 3H, 3H-13), 1.28 (m, 8H, 2H-21, 2H-22, 2H-23 y 2H-24), 1.24 (s, 3H, 3H-14), 0.86 (t, *J* = 7.0 Hz, 3H, 3H-25); <sup>13</sup>C RMN (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 202.6 (C3), 172.8 (C18), 170.8 (C16), 160.9 (C5), 156.8 (C7), 136.0 (C4), 119.6 (C6), 83.0 (C10), 77.4 (C11), 73.3 (C2), 68.1 (C12), 51.7 (C1), 40.3 (C9), 34.1 (C19), 31.8 (C20), 29.2 (C21), 29.1 (C22), 25.2 (C8), 24.9 (C23), 24.1 (C24), 23.0 (C13), 22.7 (C14), 22.5 (C17), 14.2 (C25), 8.6 (C15); IR (film) ν<sub>max</sub> 3449, 2931, 2858, 1739, 1704, 1623, 1370, 1244, 1163, 1045 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>25</sub>H<sub>37</sub>O<sub>7</sub> [M-H]<sup>-</sup> 449.2539; encontrado 449.2539.

### 8.2.34 Síntesis de la 2-octanoiloxiguayanolida 178



Primer paso: el 2-octanoiloxiguayanodiol **176** se disolvió en una mezcla 20:2.5:1 de acetona/ $t\text{-BuOH}/\text{H}_2\text{O}$  (8 mL, conc. 0.02 M) y se enfrió a 0 °C. Se adicionaron por orden  $\text{MeSO}_2\text{NH}_2$  (18 mg, 0.186 mmol, 1.20 eq.), NMO (22 mg, 0,186 mmol, 1.20 eq.) y  $\text{OsO}_4$  (2 mg, 0.008 mmol, 0.05 eq.) y se agitó la reacción durante 24 horas a temperatura ambiente. Después, la reacción se trató con una disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (5 mL) y tras 40 minutos de agitación se diluyó con agua (5 mL). La mezcla se extrajo con  $\text{AcOEt}$  ( $4 \times 10$  mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. El disolvente se eliminó a presión reducida y el crudo obtenido se empleó sin mayor purificación en el siguiente paso.

Segundo paso: el crudo obtenido (con el intermedio **177**, cantidad aproximada 75 mg, 0.155 mmol) se disolvió en una mezcla de  $\text{MeCN}$ /tampón pH 7, 1.3:1 (15 mL). A continuación se añadieron TEMPO (13 mg, 0.078 mmol, 0.50 eq.),  $\text{NaClO}_2$  (0.224 mL, 0.620 mmol, 4.00 eq., 25% en agua) y  $\text{NaClO}$  (0.04 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, y luego se adicionó una disolución saturada de  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  (4 mL). El pH se fijó a 3 adicionando HCl 2 N y la disolución resultante se extrajo con  $\text{AcOEt}$  ( $4 \times 10$  mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (15 mL) y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. El disolvente se eliminó a presión reducida dando la 2-octanoiloxiguayanolida **178** pura (48 mg, 65%).

**2-octanoiloxiguayanolida 178:** sólido amorfó blanco;  $[\alpha]_D^{20} -166.5$  ( $c$  0.30,  $\text{CH}_3\text{Cl}$ );  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  5.44 (s a, 1H, H-6), 5.14 (d,  $J = 3.6$  Hz, 1H, H-2), 4.34 (s a, 1H, H-1), 2.78 (m, 1H, H-8), 2.59 (s a, OH), 2.34 (m, 2H, 2H-19), 2.25 (ddd,  $J = 13.7$ , 3.9, 3.9 Hz, 1H, H-9), 2.01 (m, 1H, H'-8), 1.97 (d,  $J = 2.5$  Hz, 3H, 3H-15), 1.95 (s, 3H, 3H-17), 1.88 (ddd,  $J = 15.6$ , 4.2, 4.2 Hz, 1H, H'-9), 1.63 (m, 4H, 2H-20 y 2H-21), 1.44 (s, 3H, 3H-13), 1.31 (s, 3H, 3H-14), 1.27 (m, 6H, 2H-22, 2H-23 y 2H-24), 0.86 (t,  $J = 6.7$  Hz, 3H, 3H-25);  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  201.4 (C3), 175.6 (C12), 172.8 (C18), 170.6 (C16), 156.2 (C5), 141.7 (C4), 84.7 (C6), 82.5 (C10), 80.1 (C11), 77.8 (C7), 73.8 (C2), 52.7 (C1), 34.0 (C19), 31.8 (C9), 31.7 (C20), 29.1 (C21), 29.0 (C22),

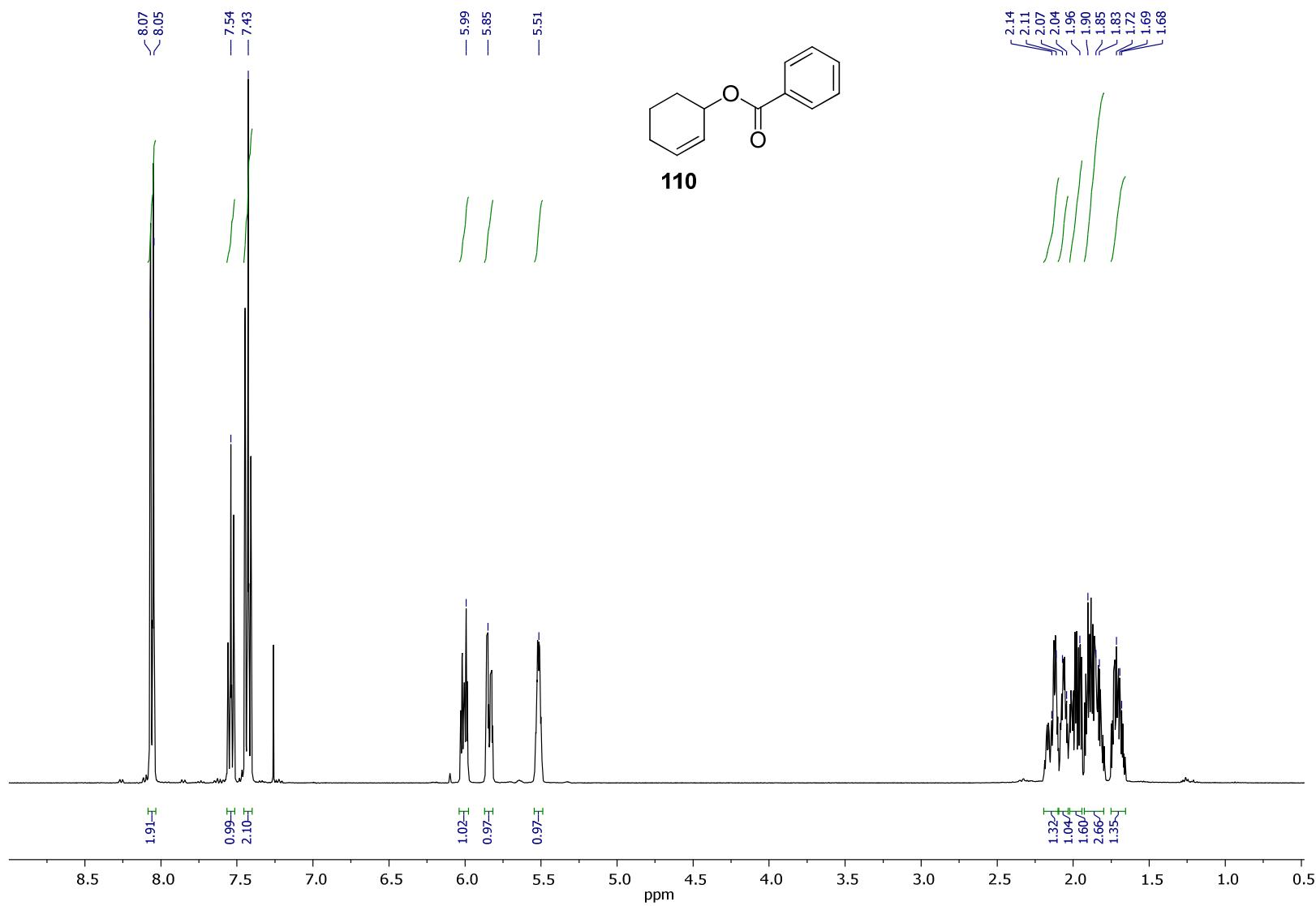
24.9 (C8), 24.6 (C23), 22.8 (C24), 22.7 (C13), 19.9 (C14), 15.9 (C17), 14.2 (C25), 10.2 (C15); IR (film)  $\nu_{\text{max}}$  3438, 2957, 2928, 2858, 1794, 1727, 1369, 1260, 1095, 1018, 804 cm<sup>-1</sup>; HRMS (ESI) calculado para C<sub>25</sub>H<sub>35</sub>O<sub>9</sub> [M-H]<sup>-</sup> 479.2281; encontrado 479.2287.



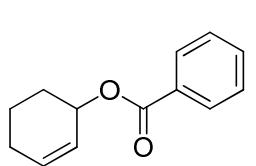
## **ANEXO DE ESPECTROS**

Espectros de  $^1\text{H}$ -RMN y  $^{13}\text{C}$ -RMN

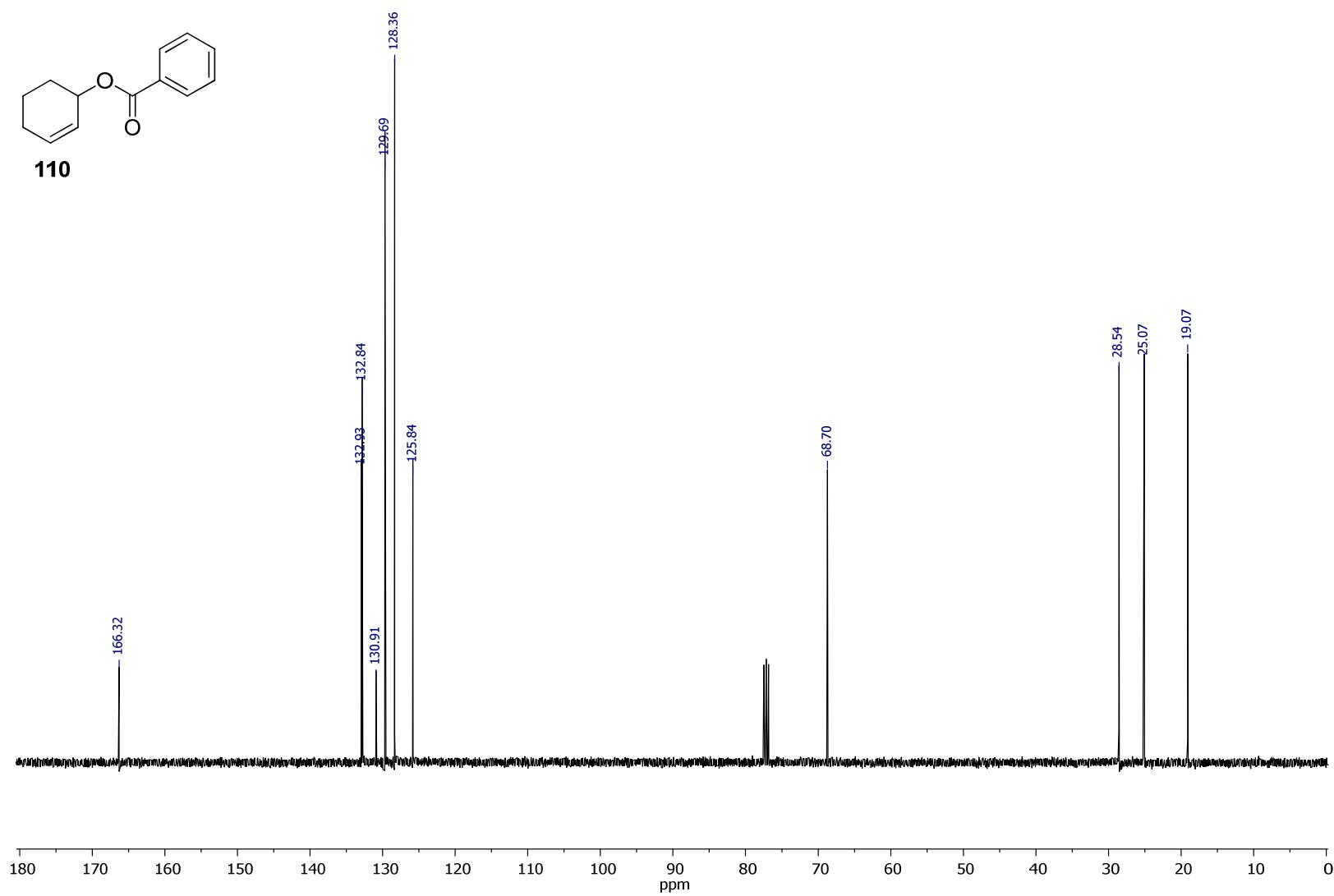


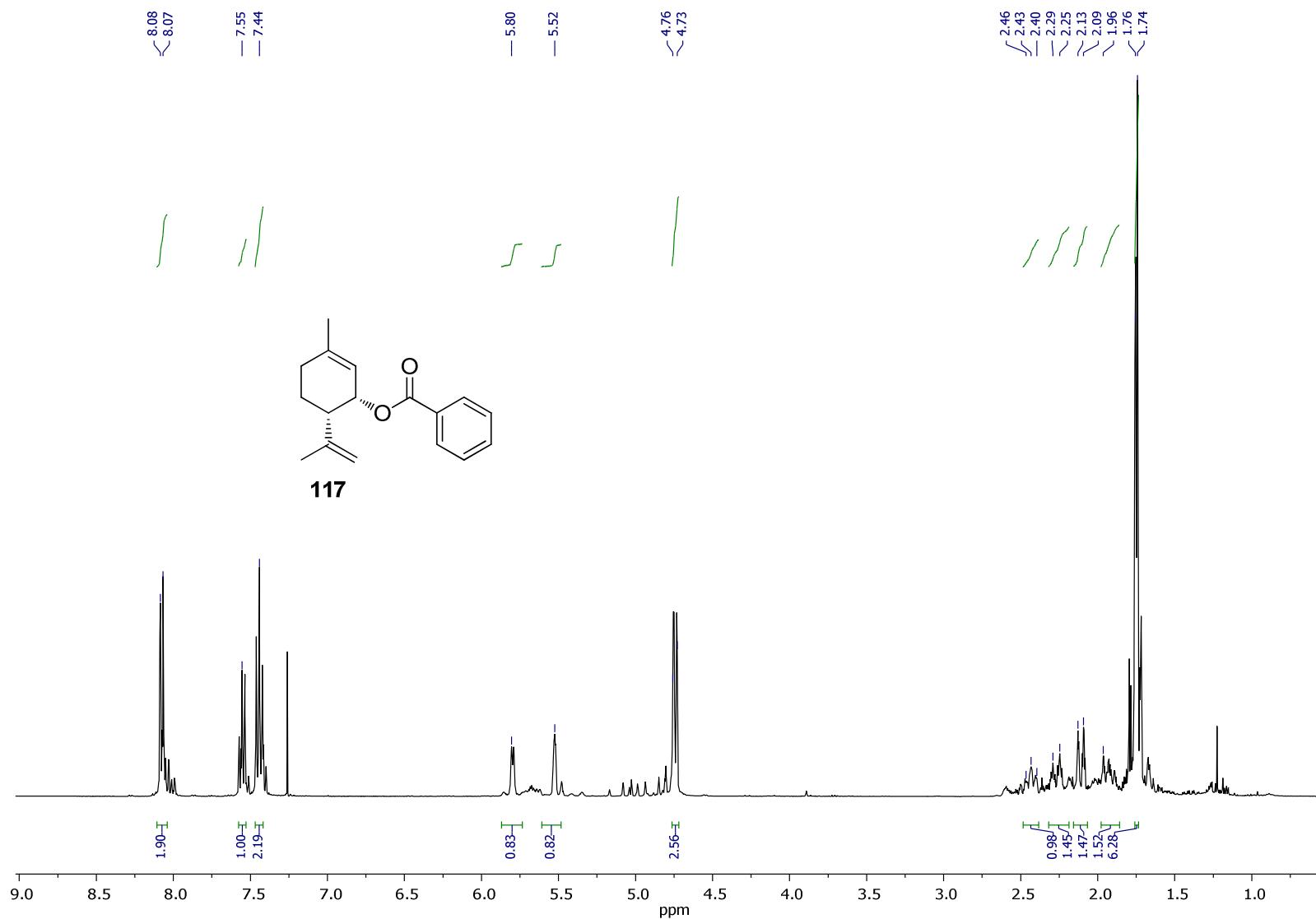


179

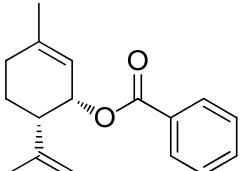


**110**

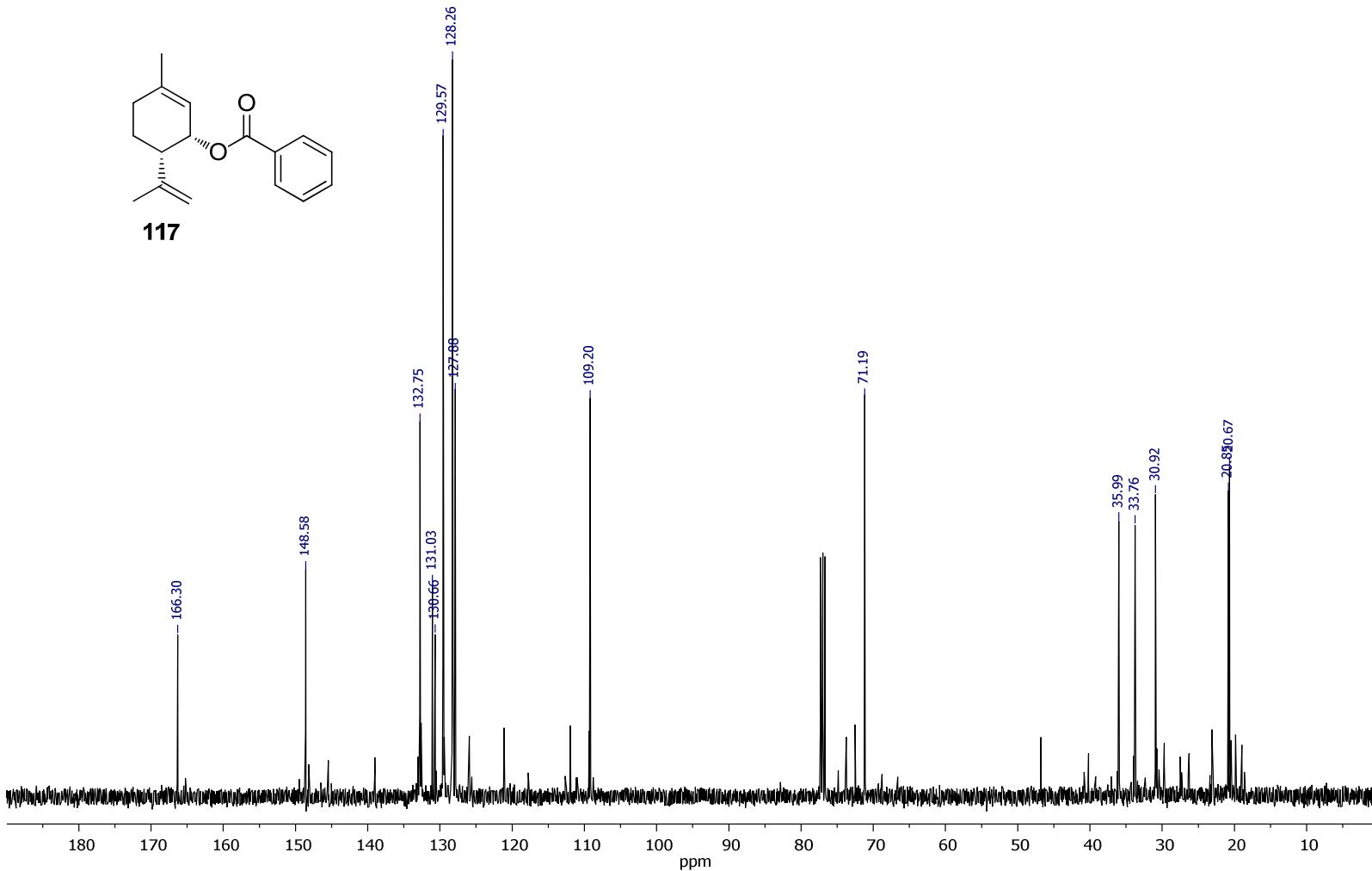




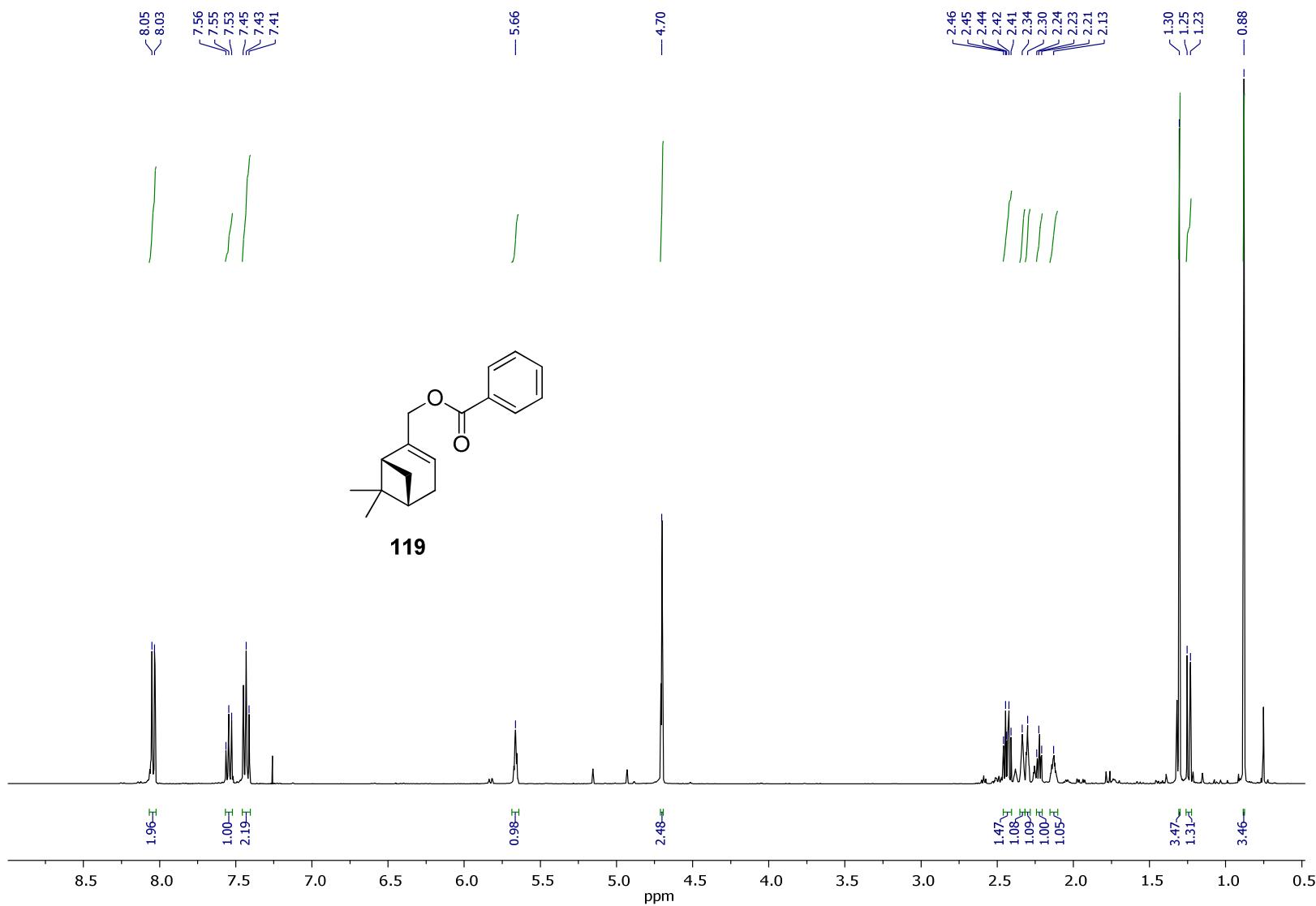
181

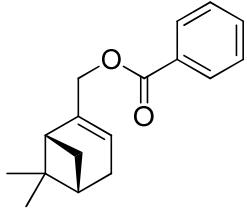


**117**

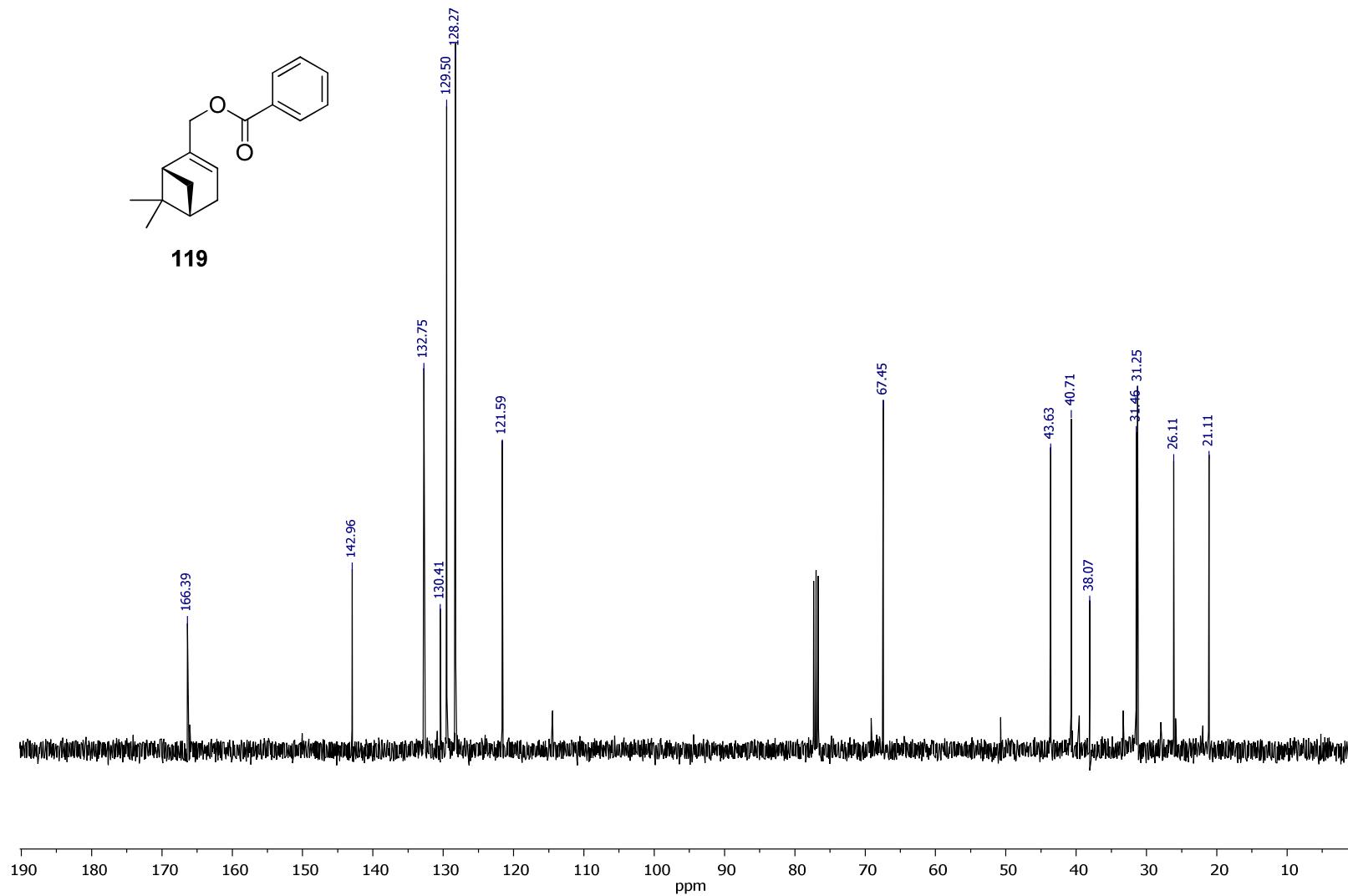


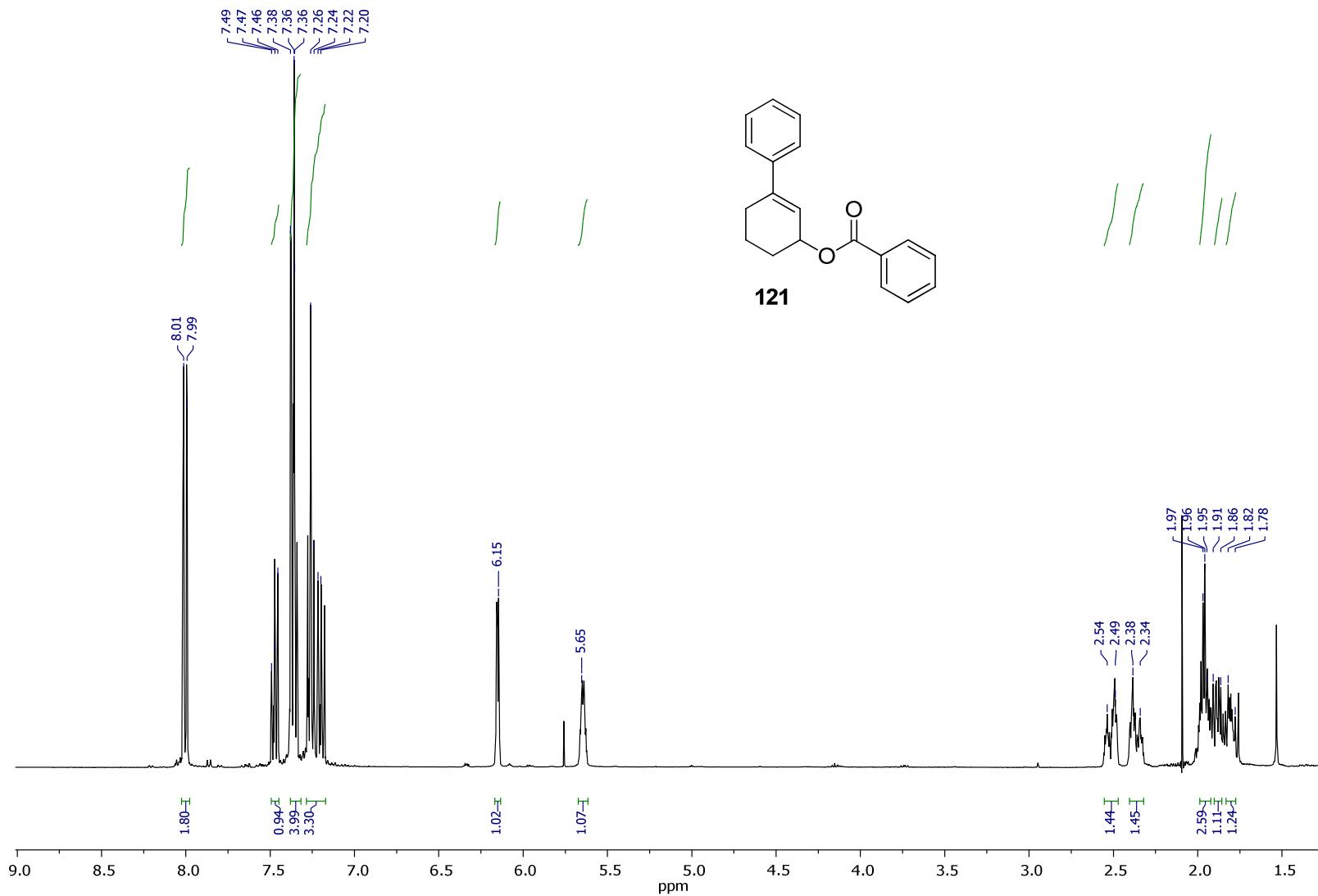
182

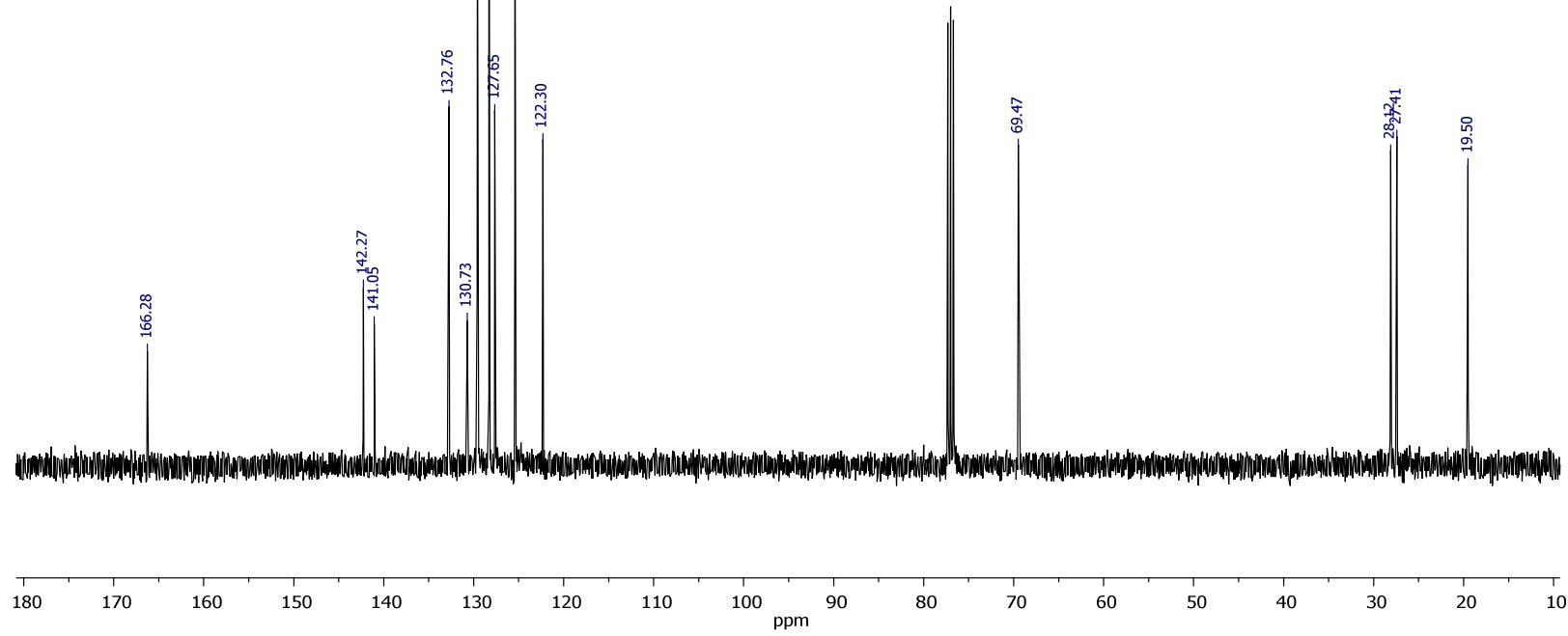
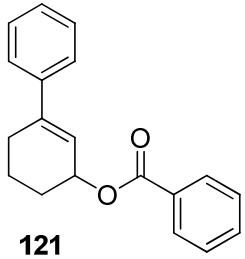


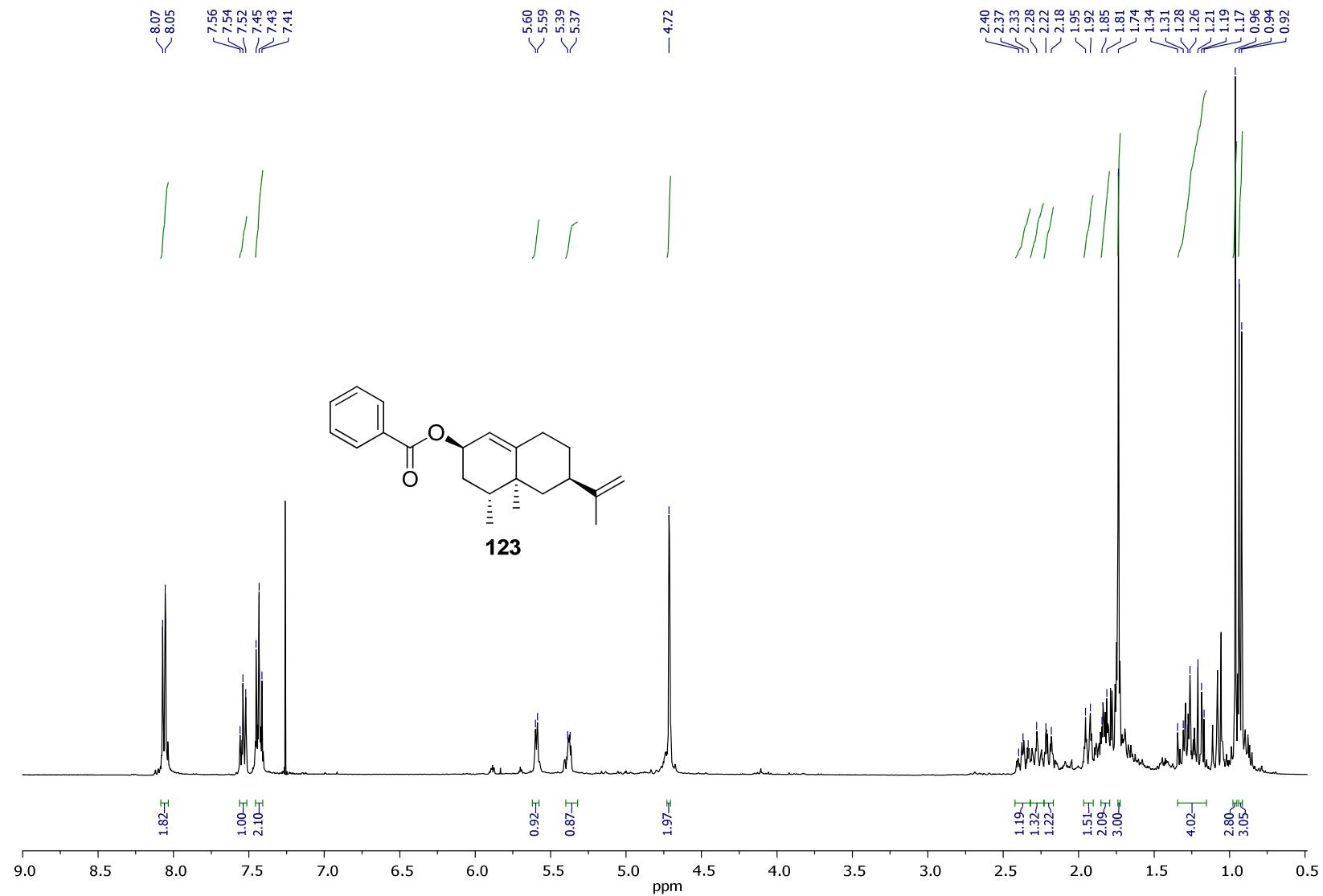


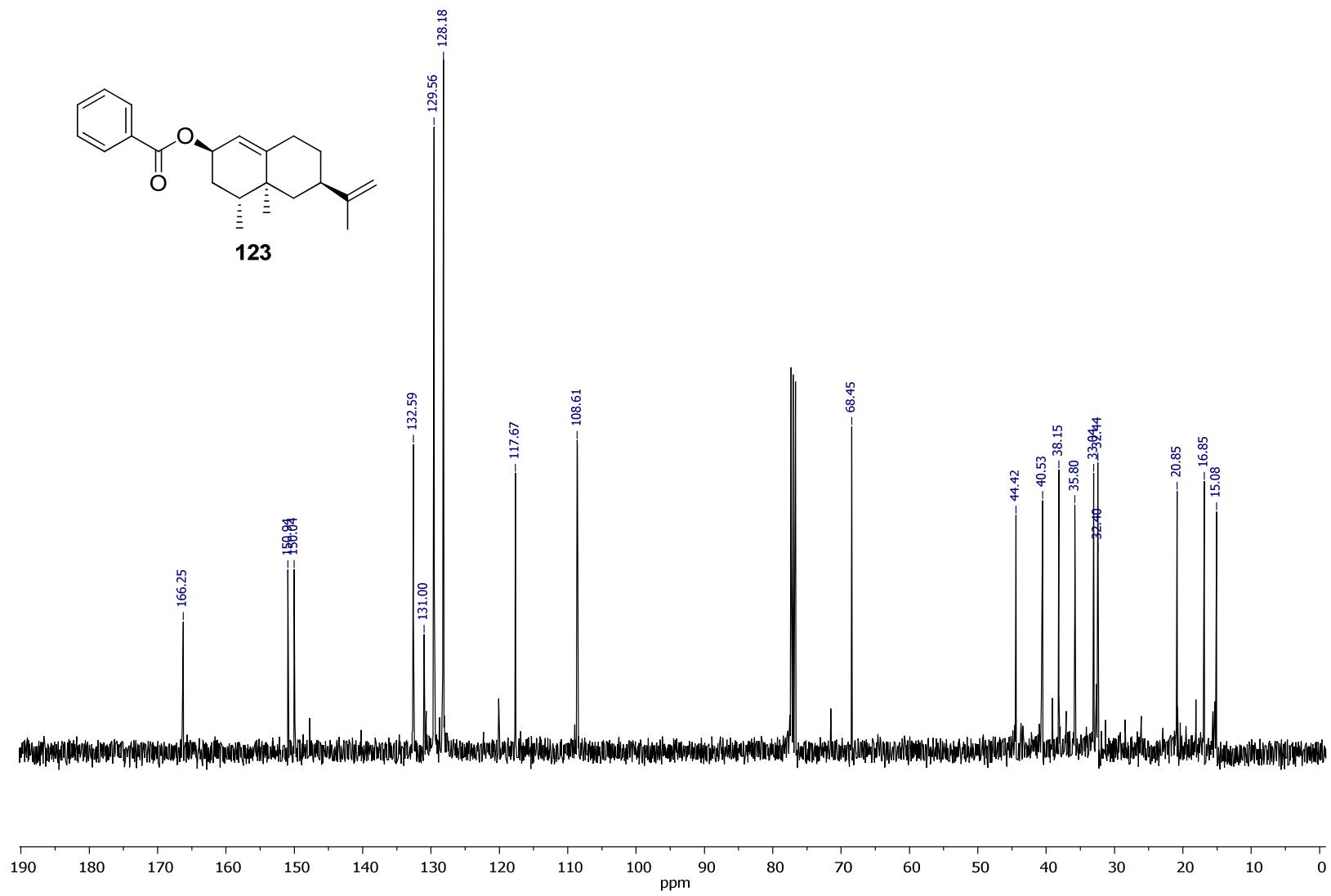
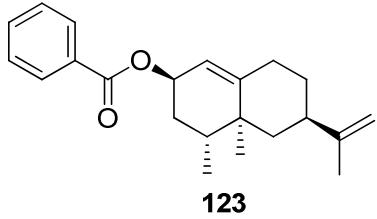
**119**

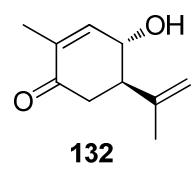




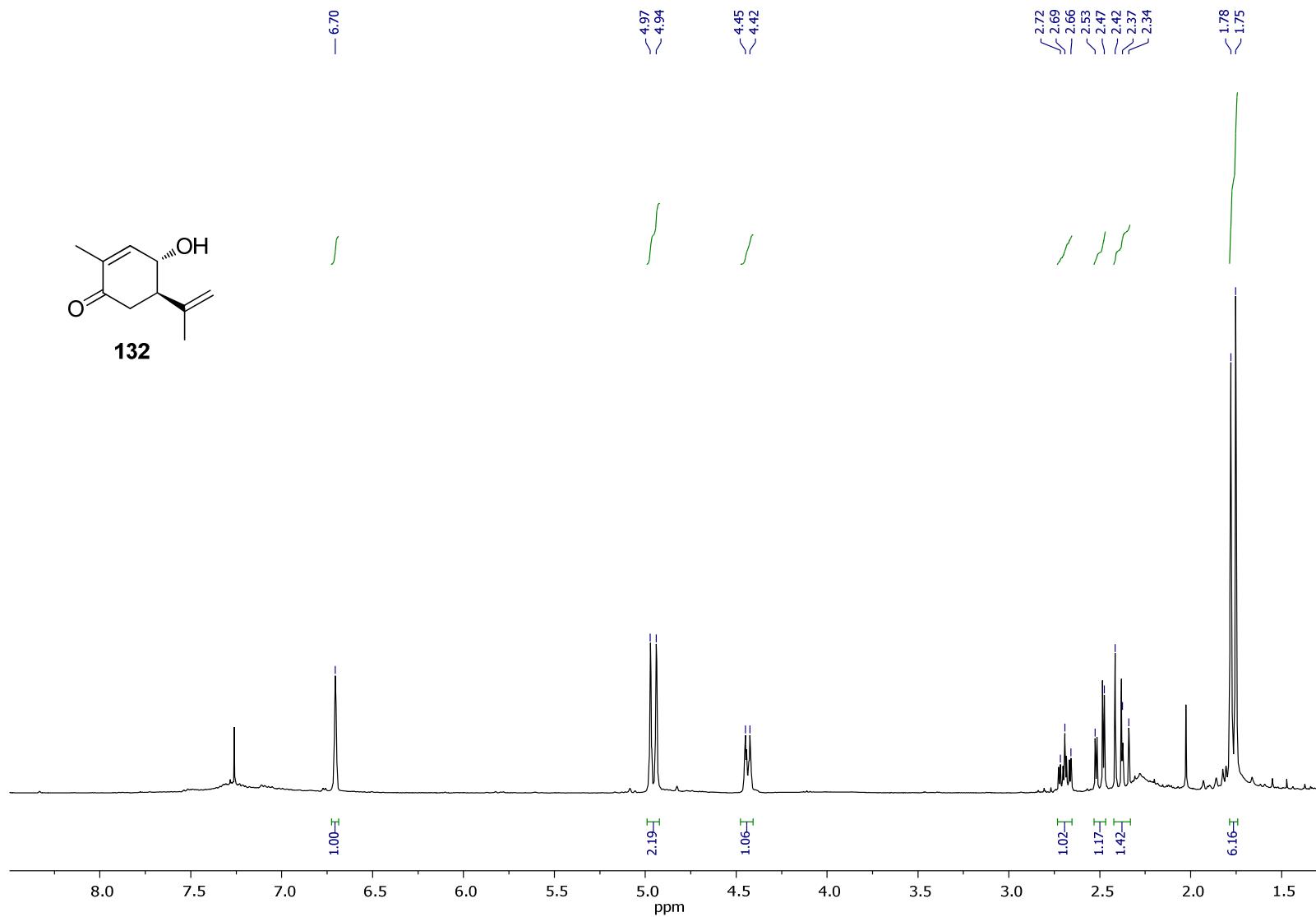




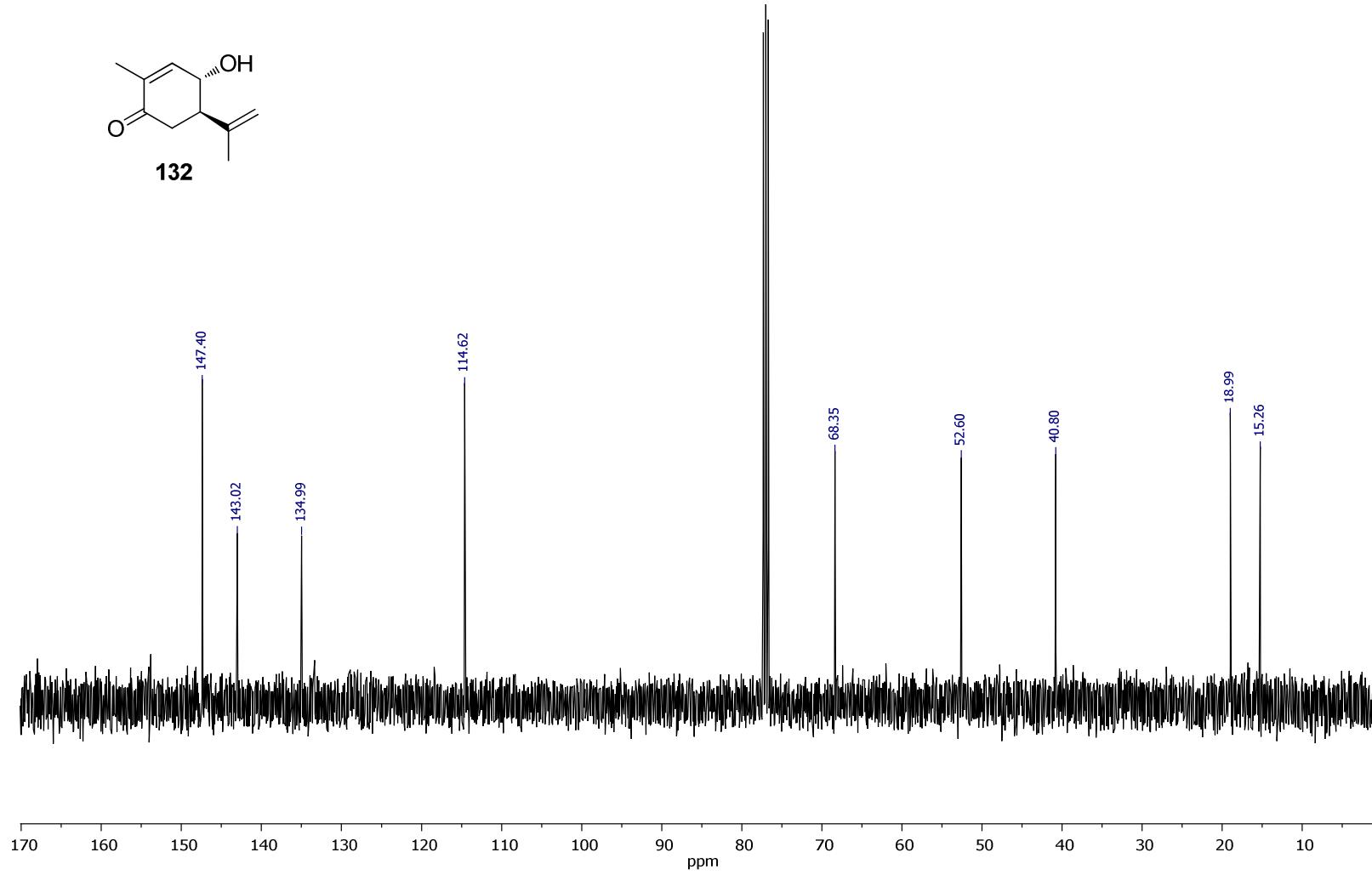
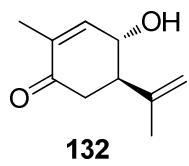


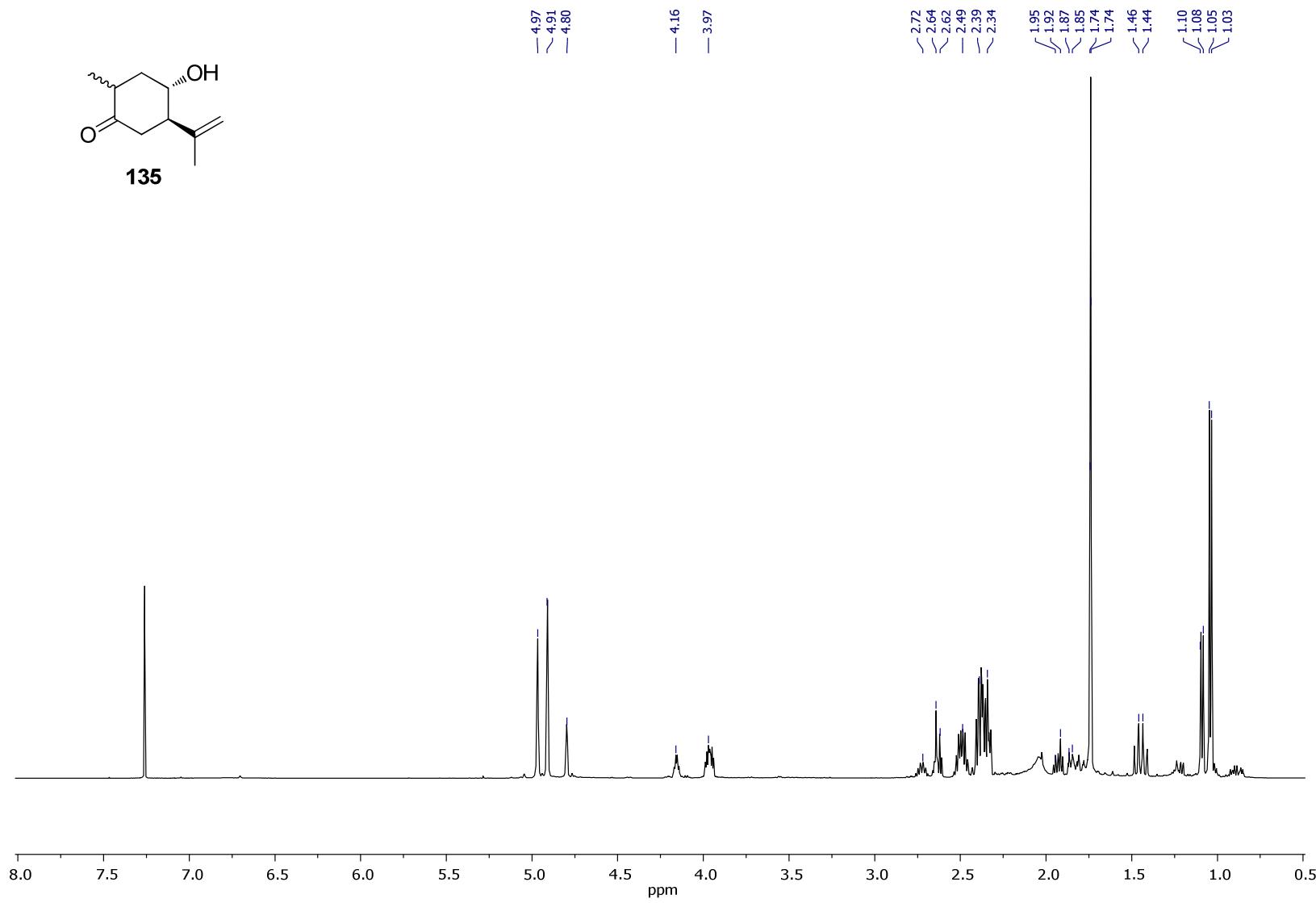
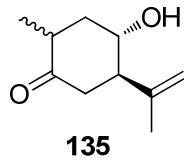


**132**

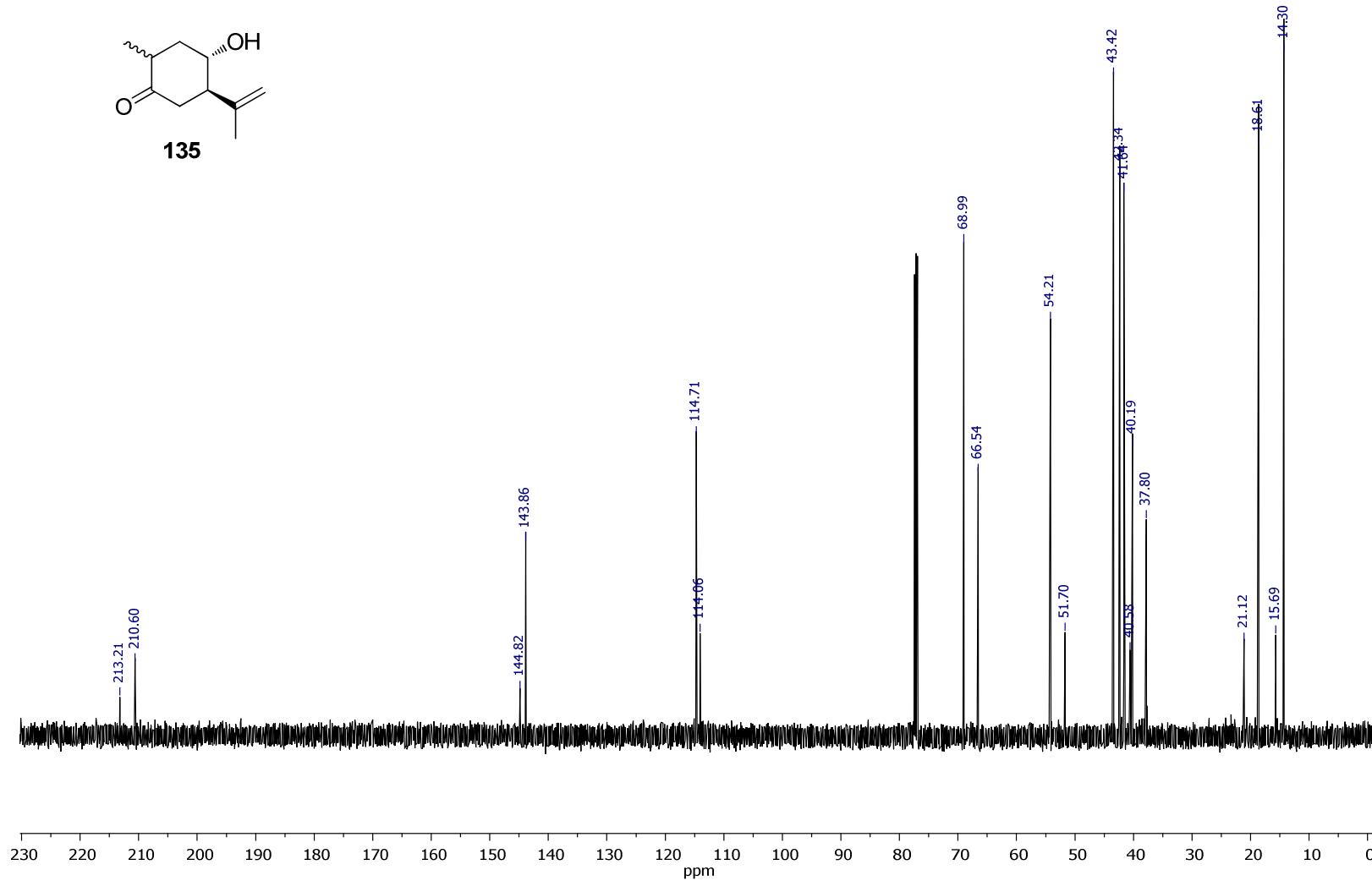
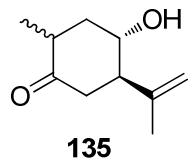


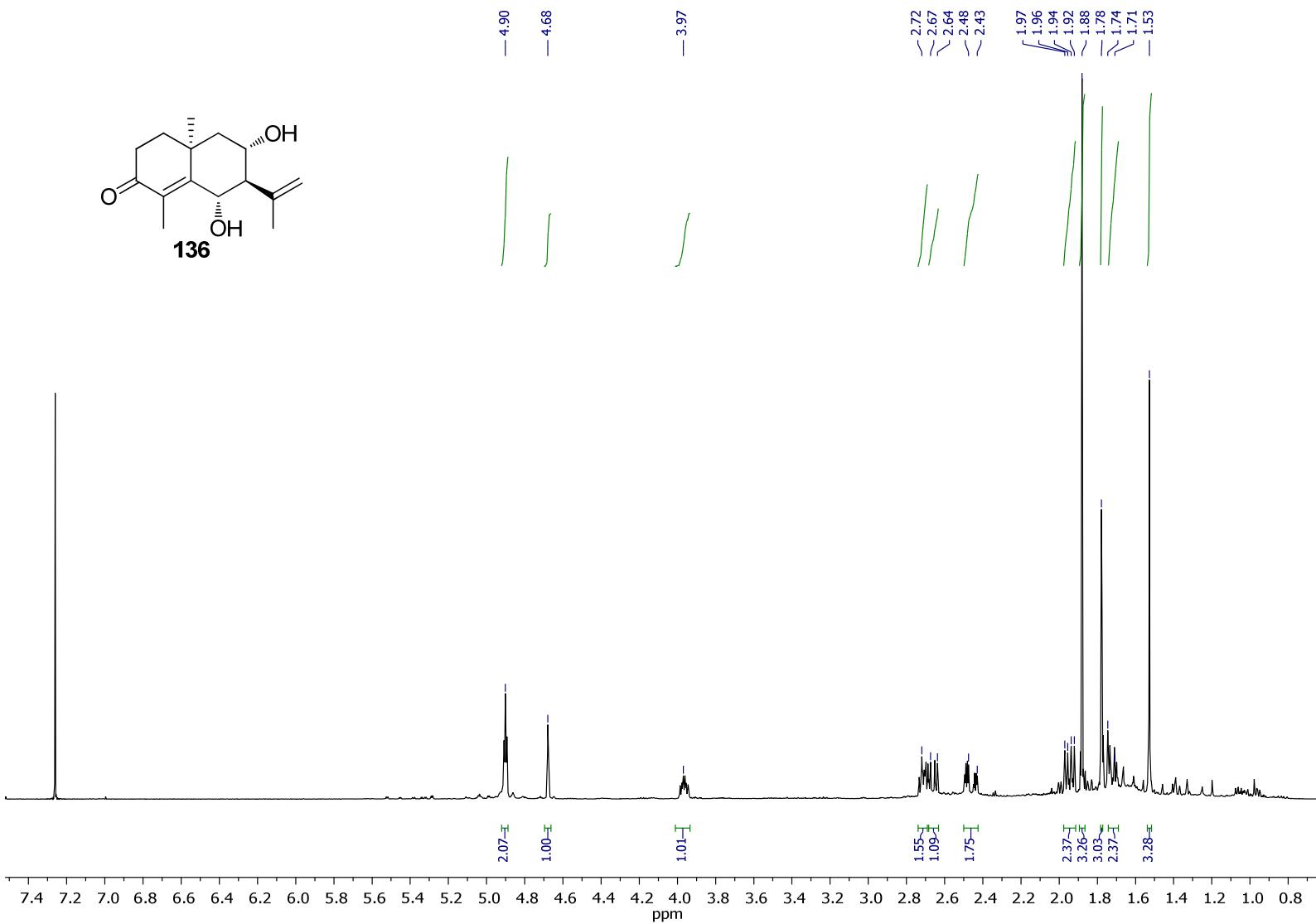
**189**

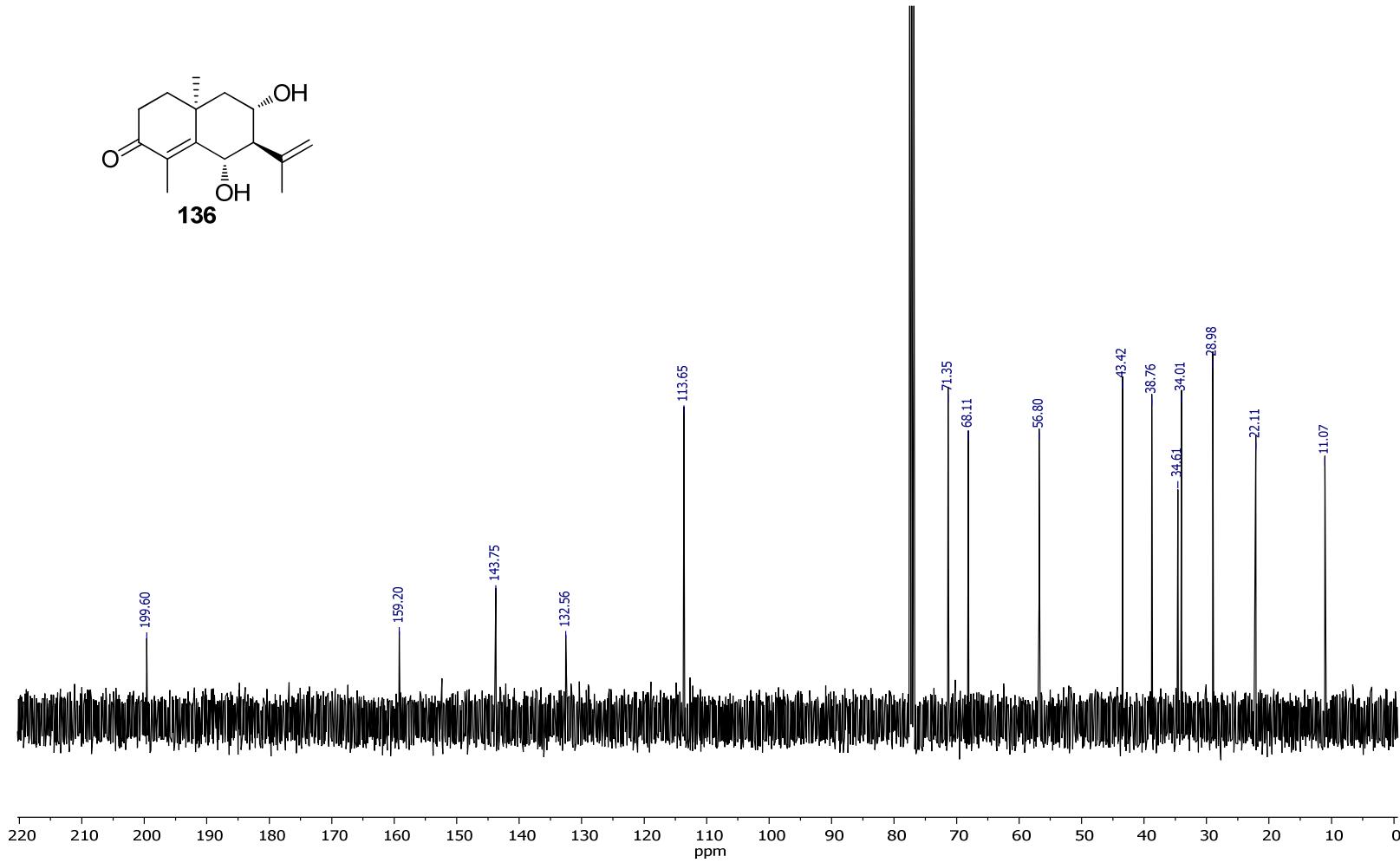
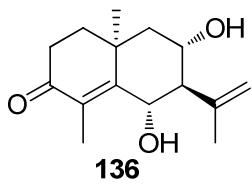


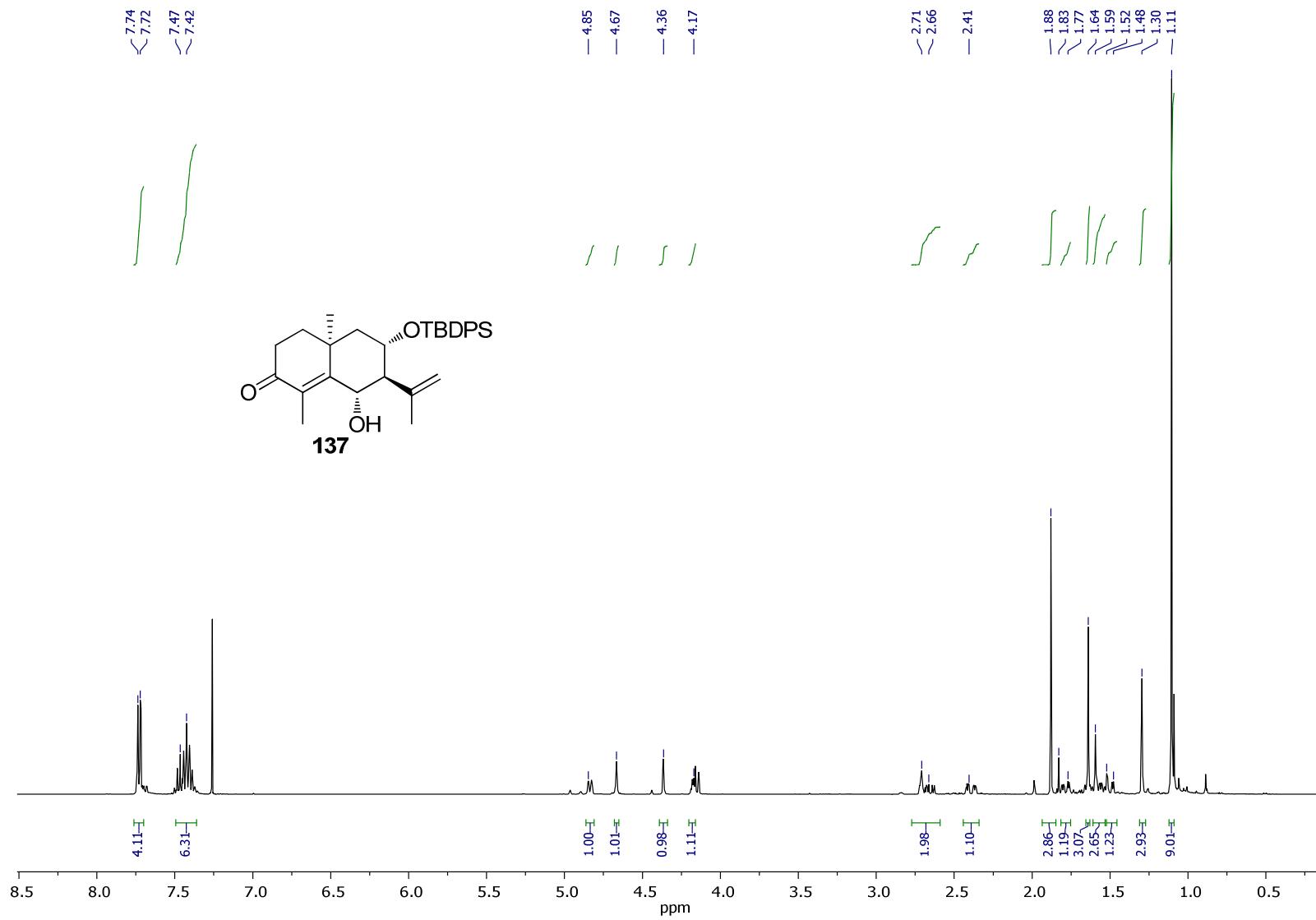


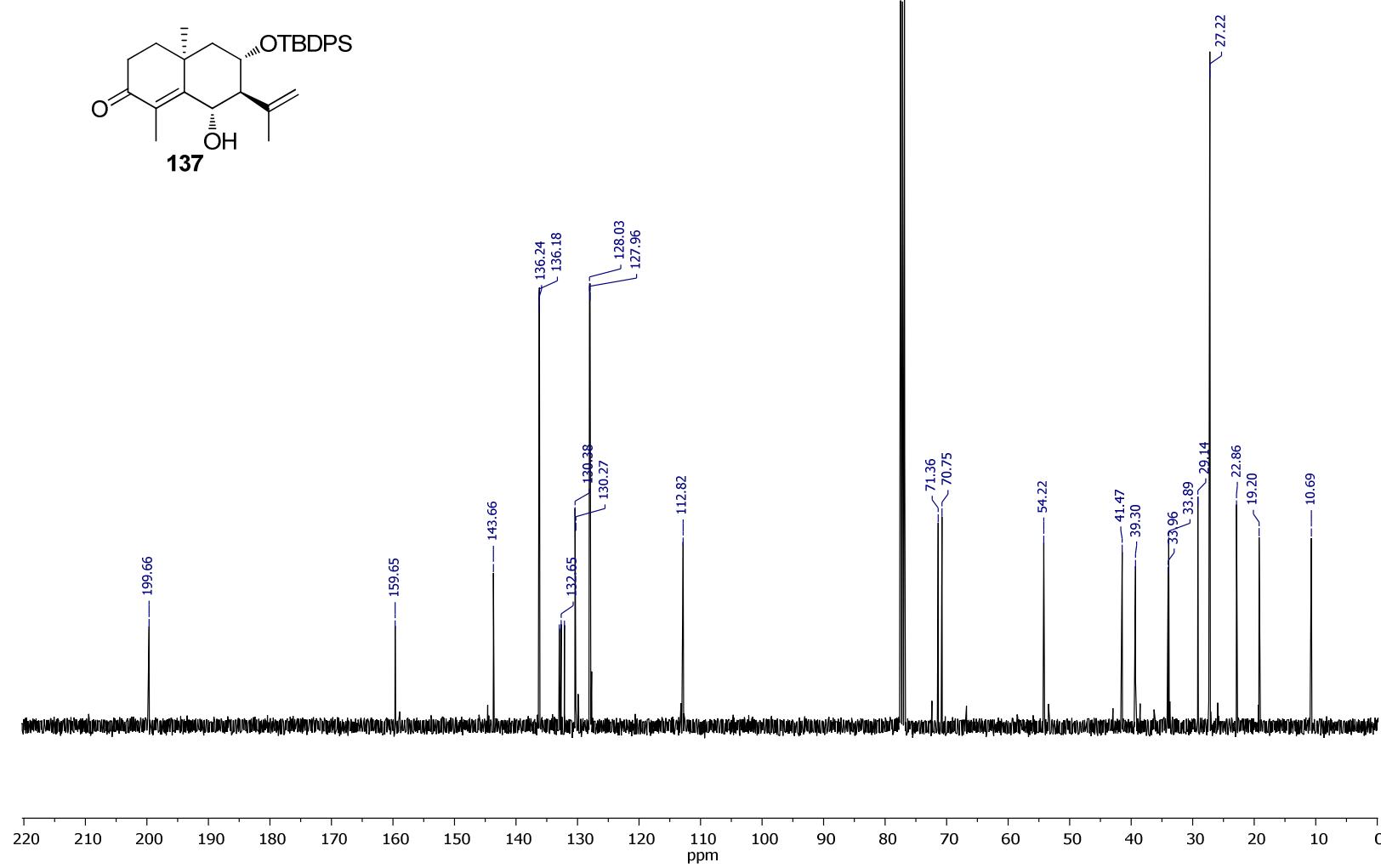
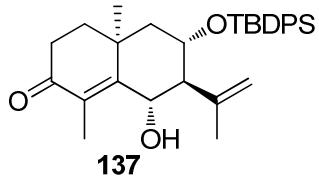
191

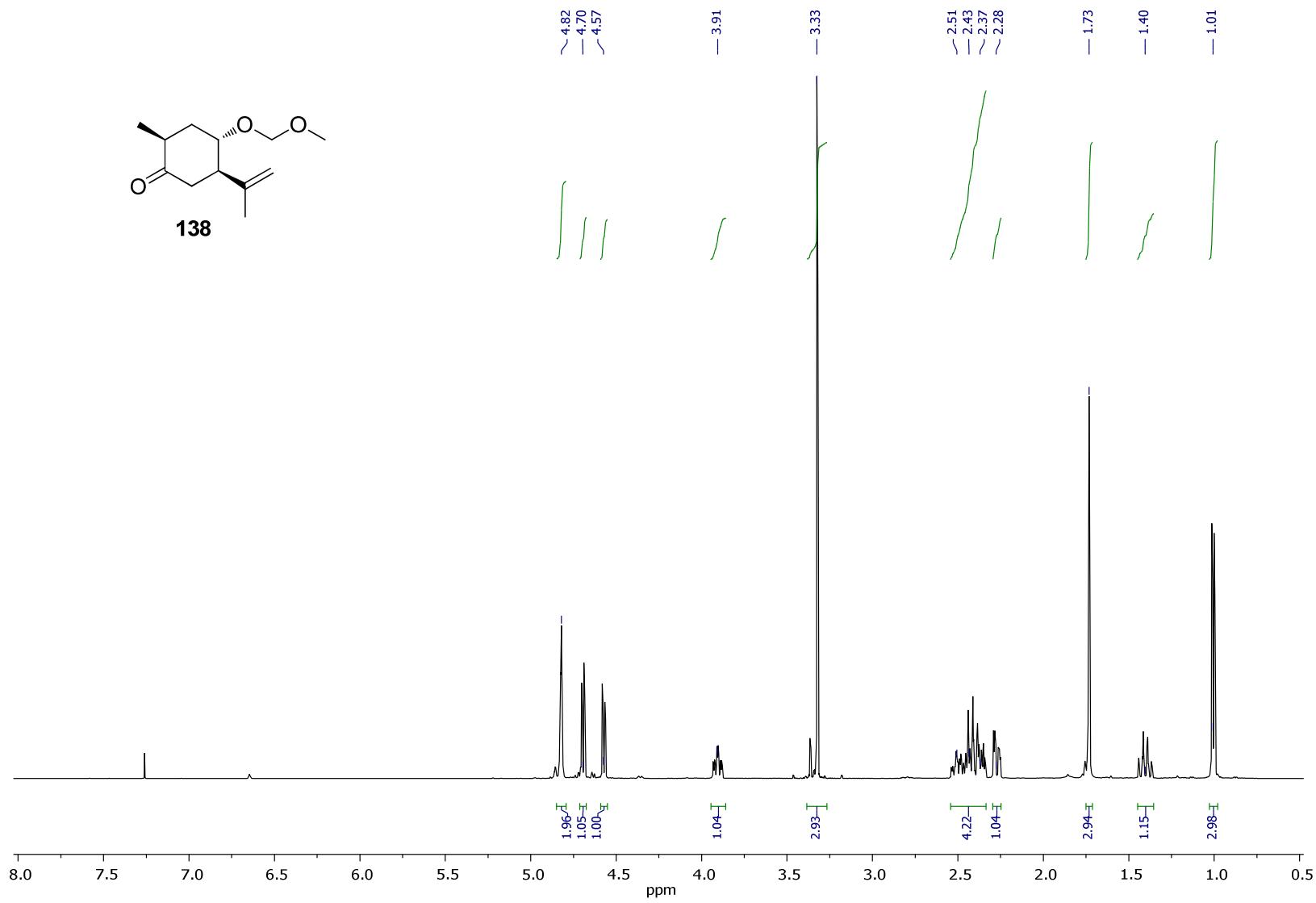
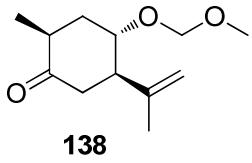


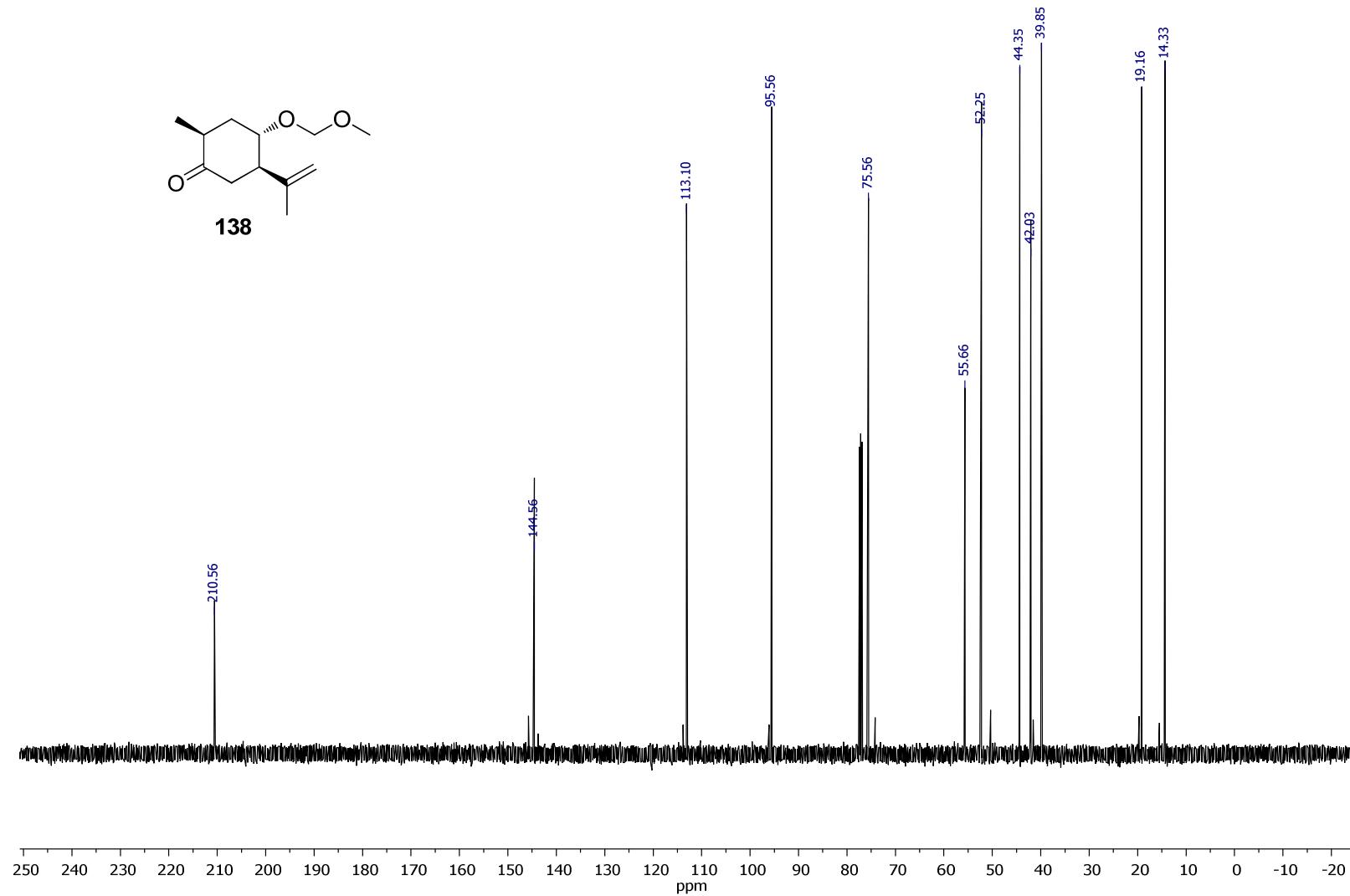
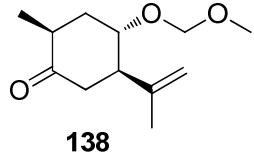


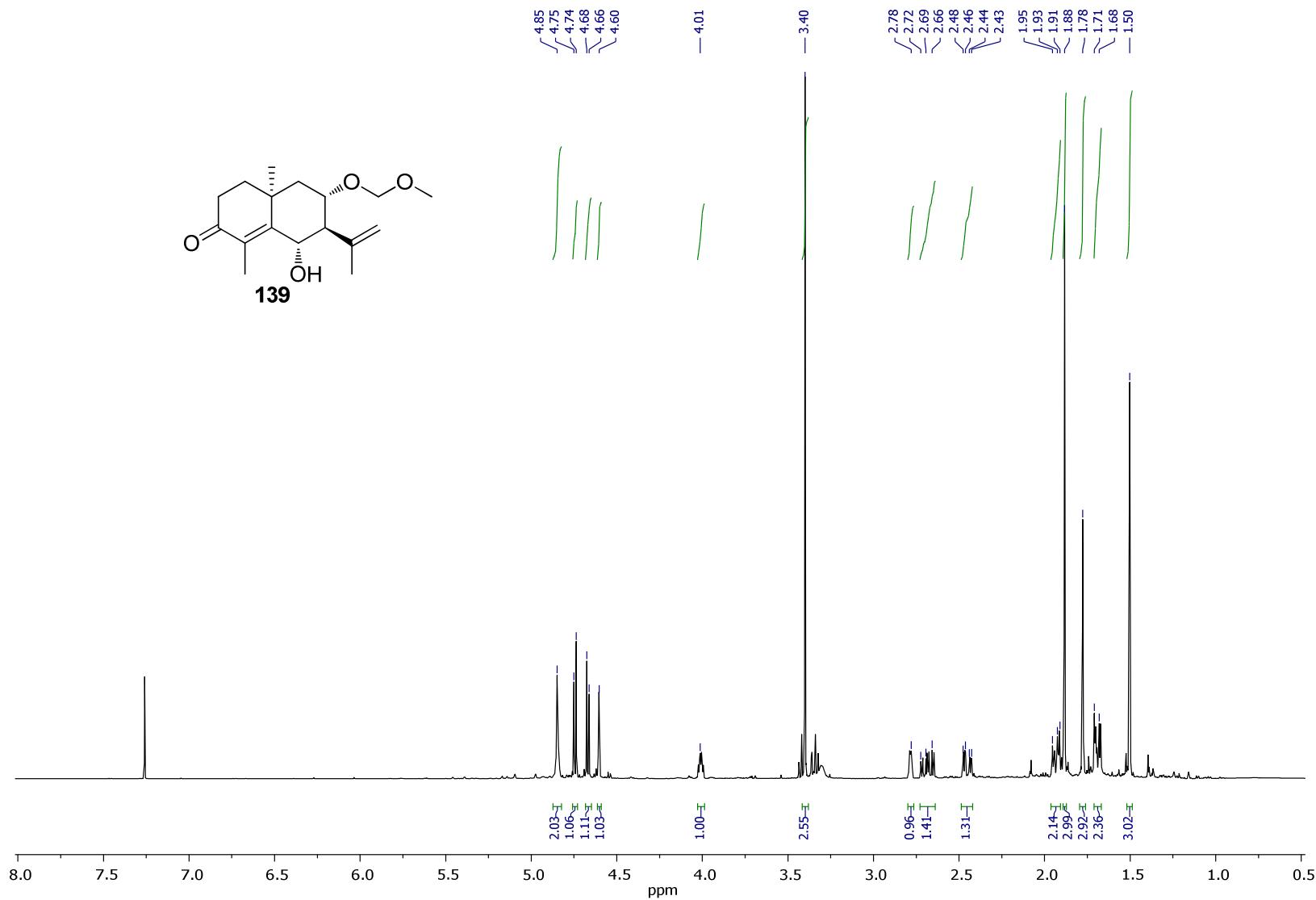




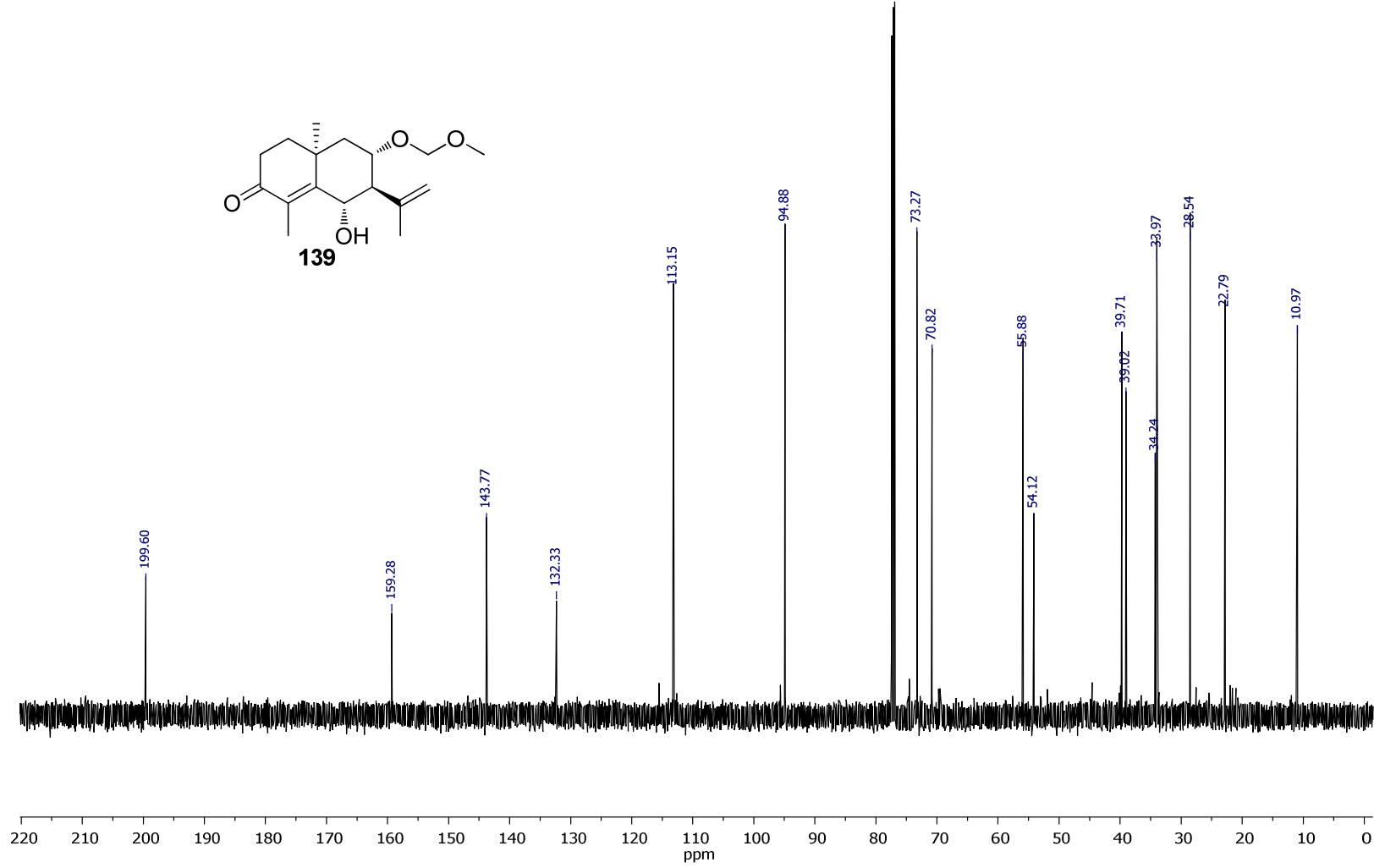


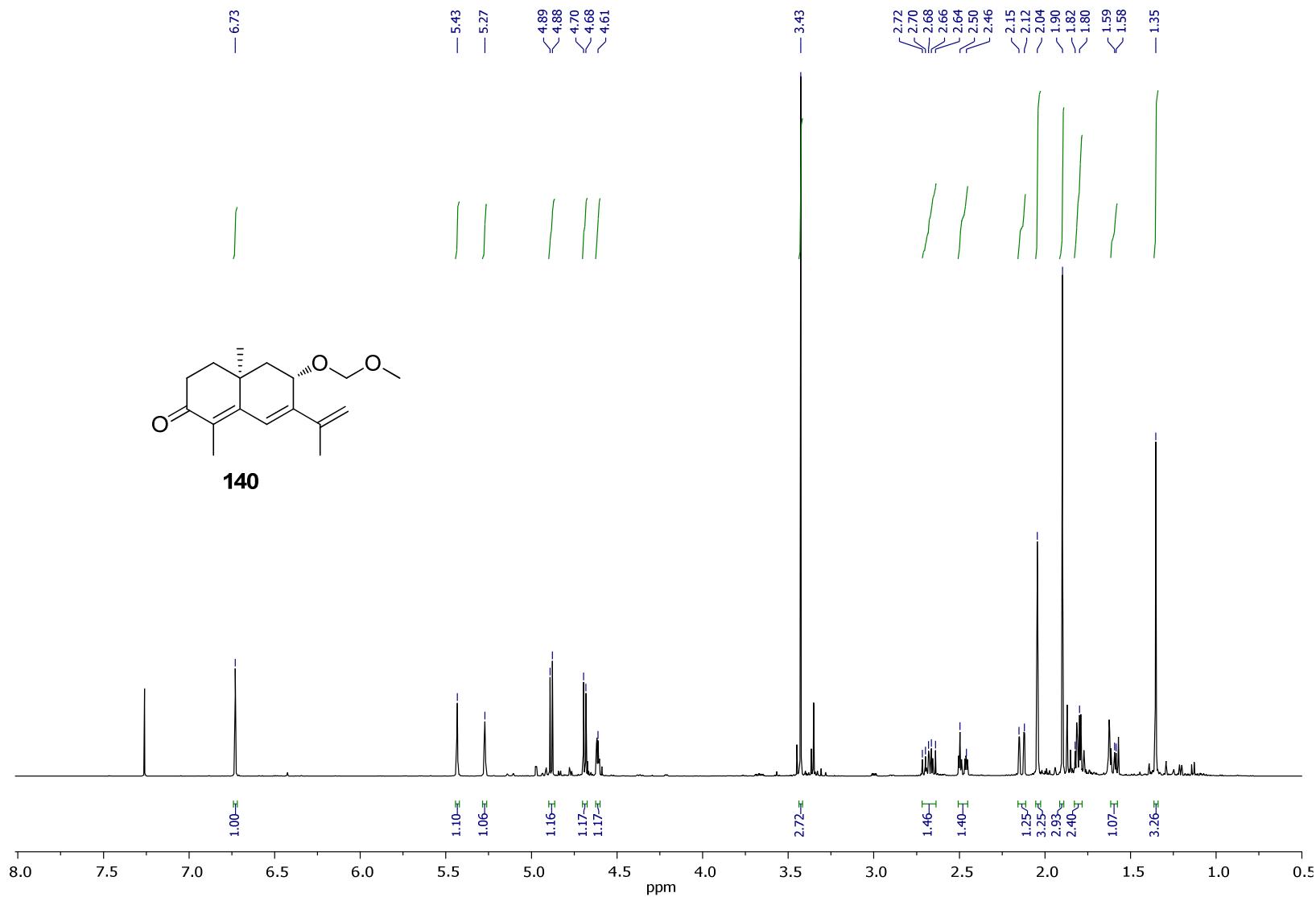




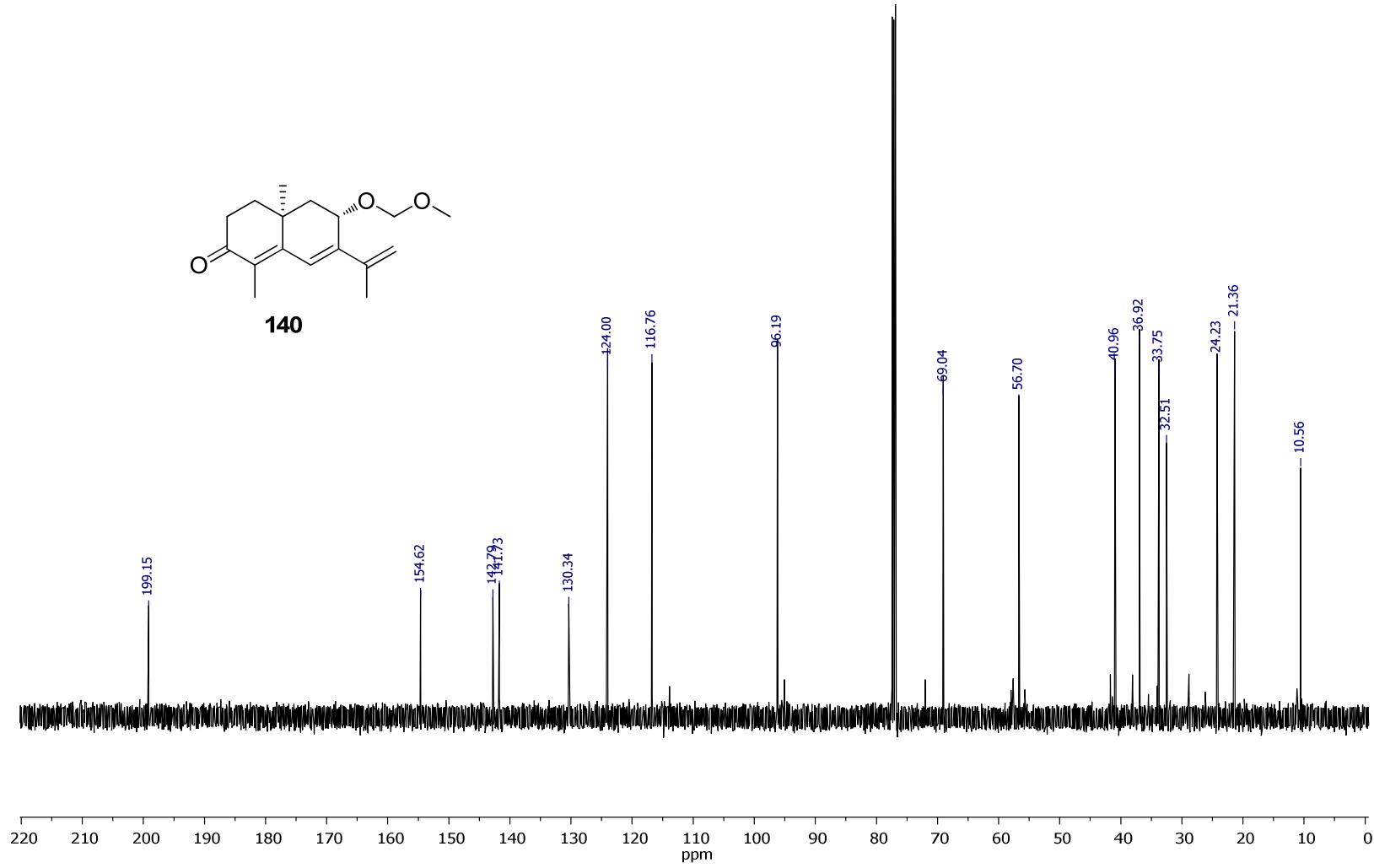
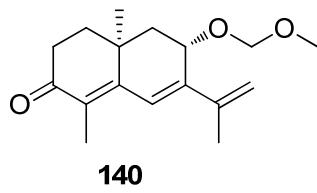


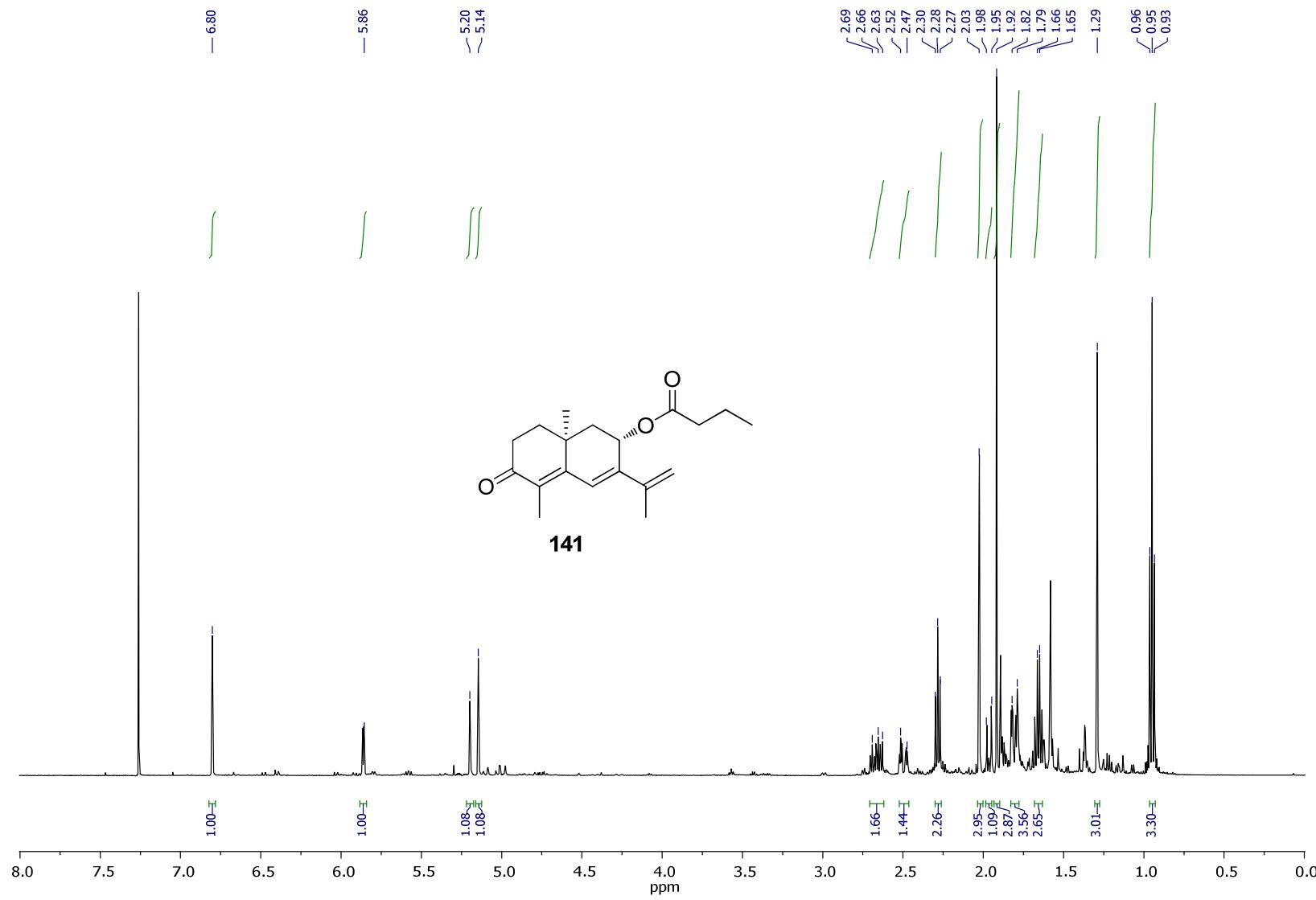
199



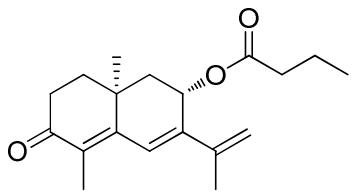


201

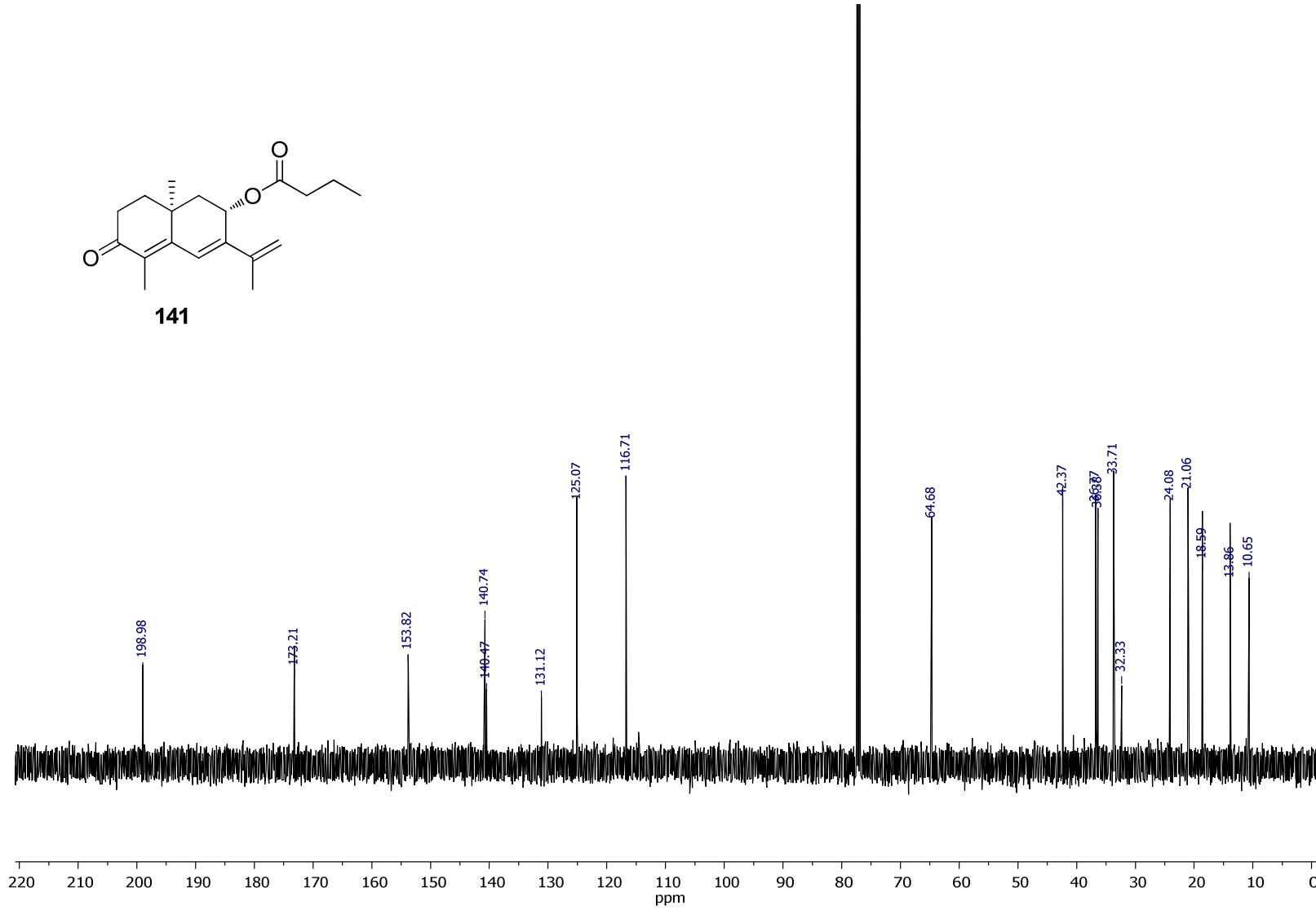


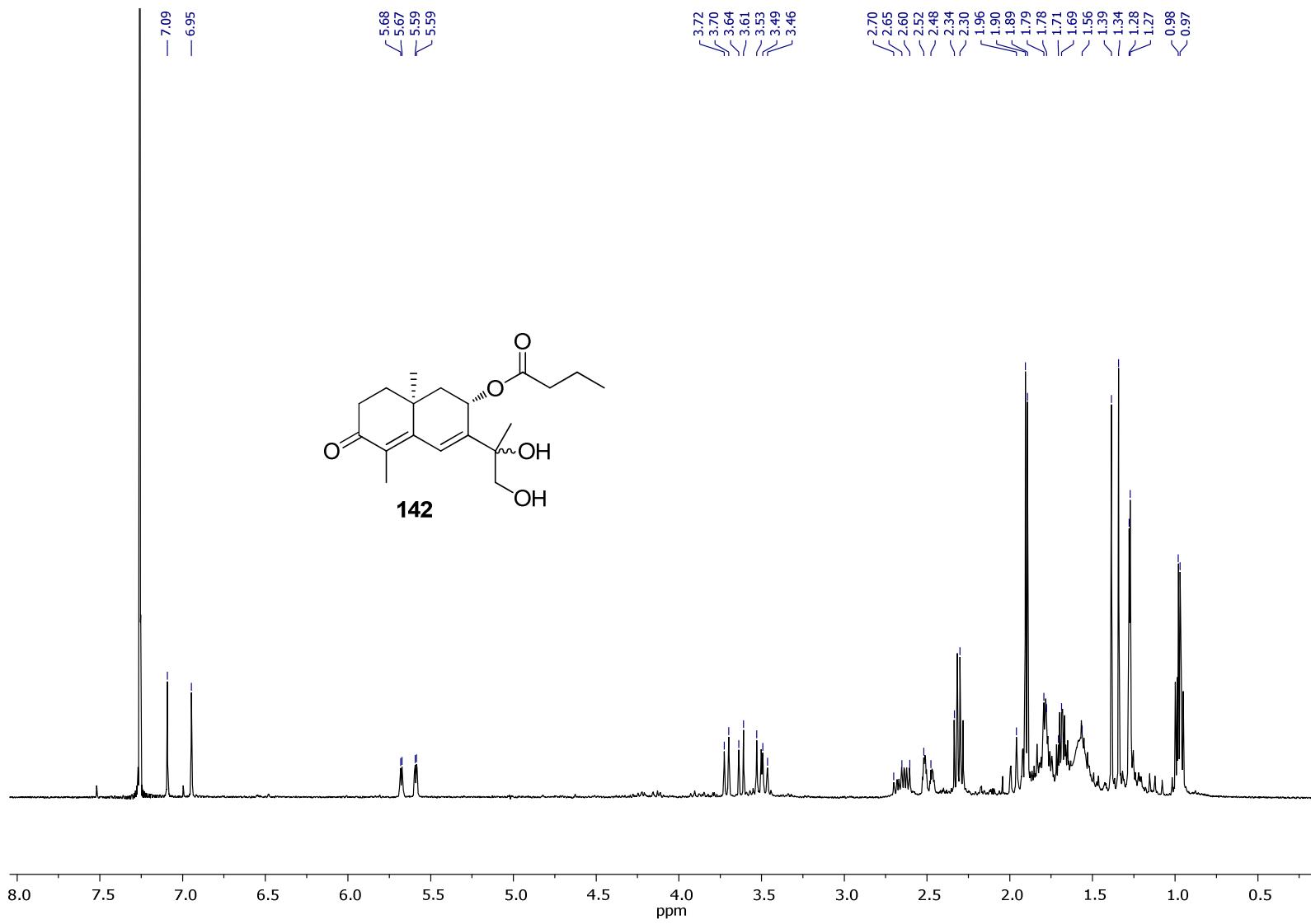


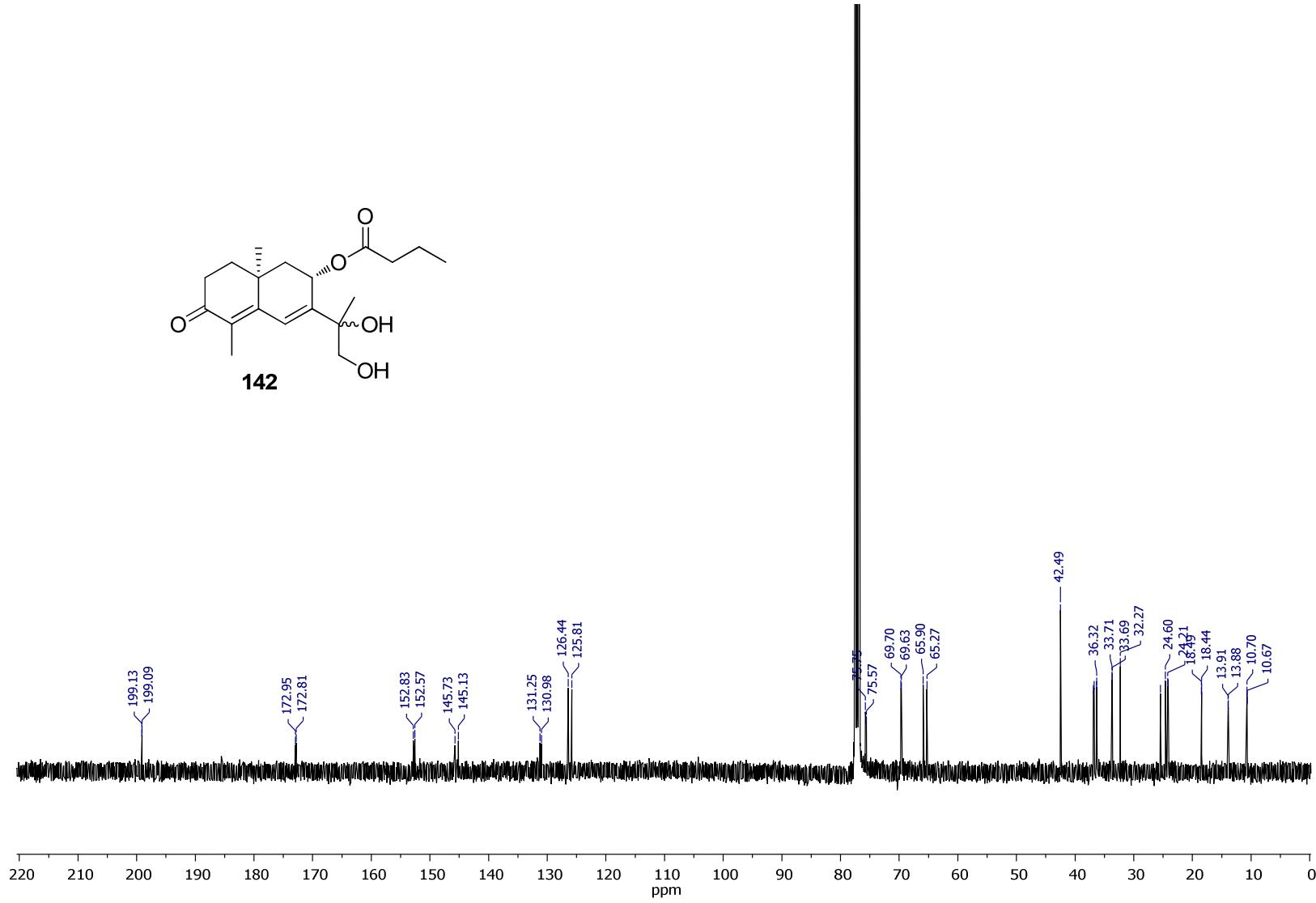
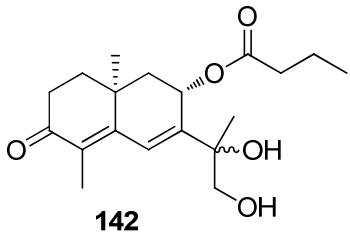
203

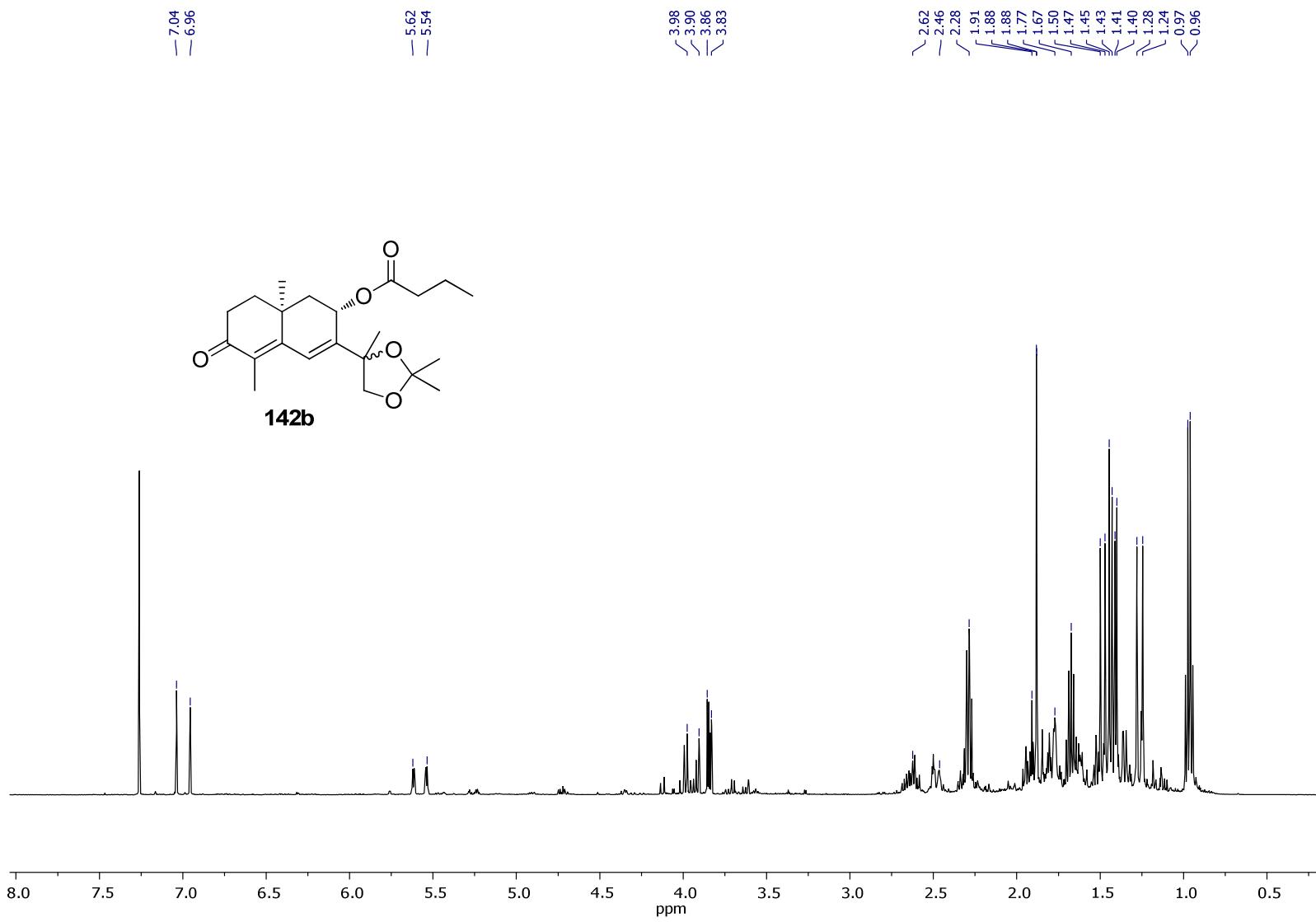


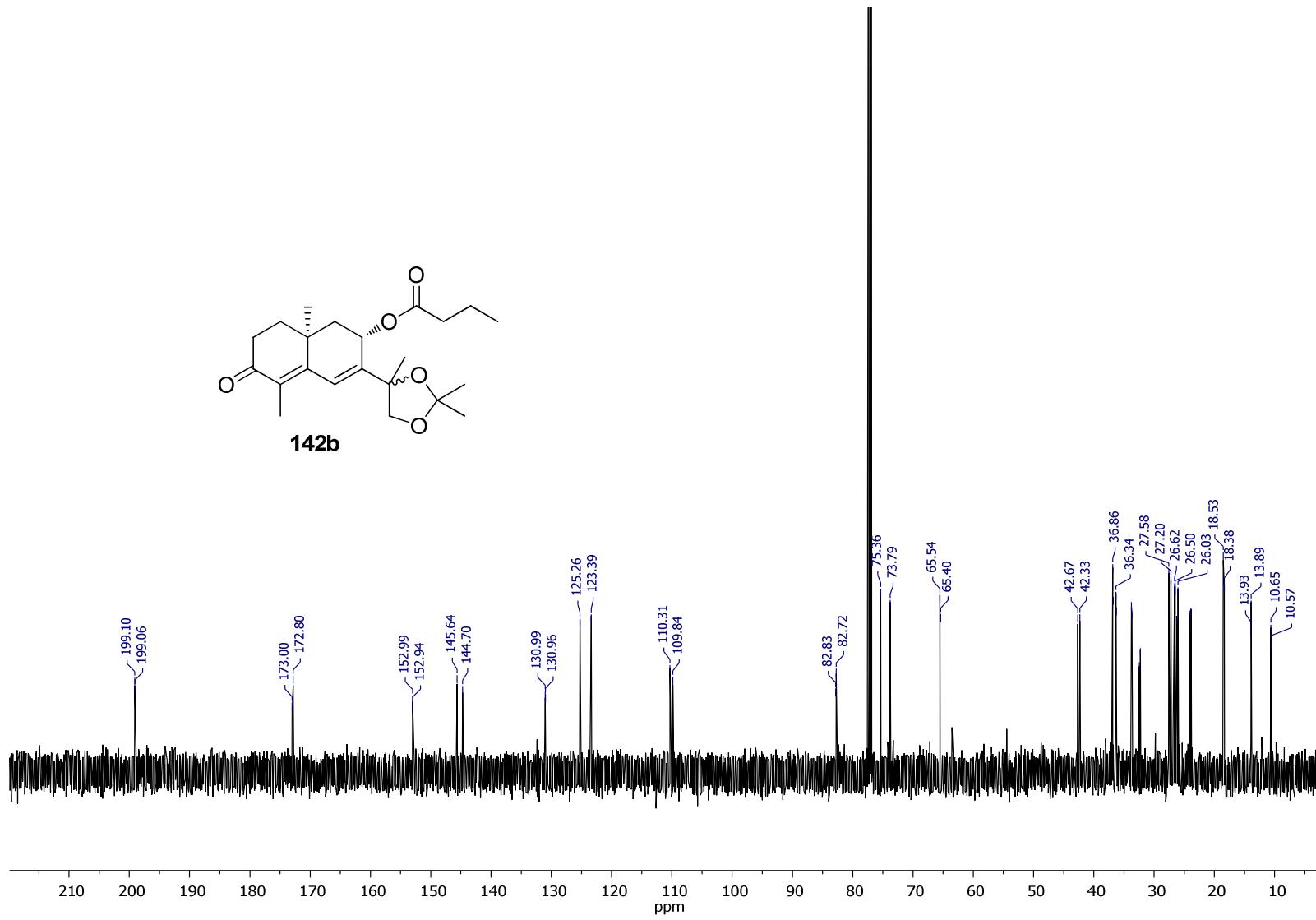
**141**

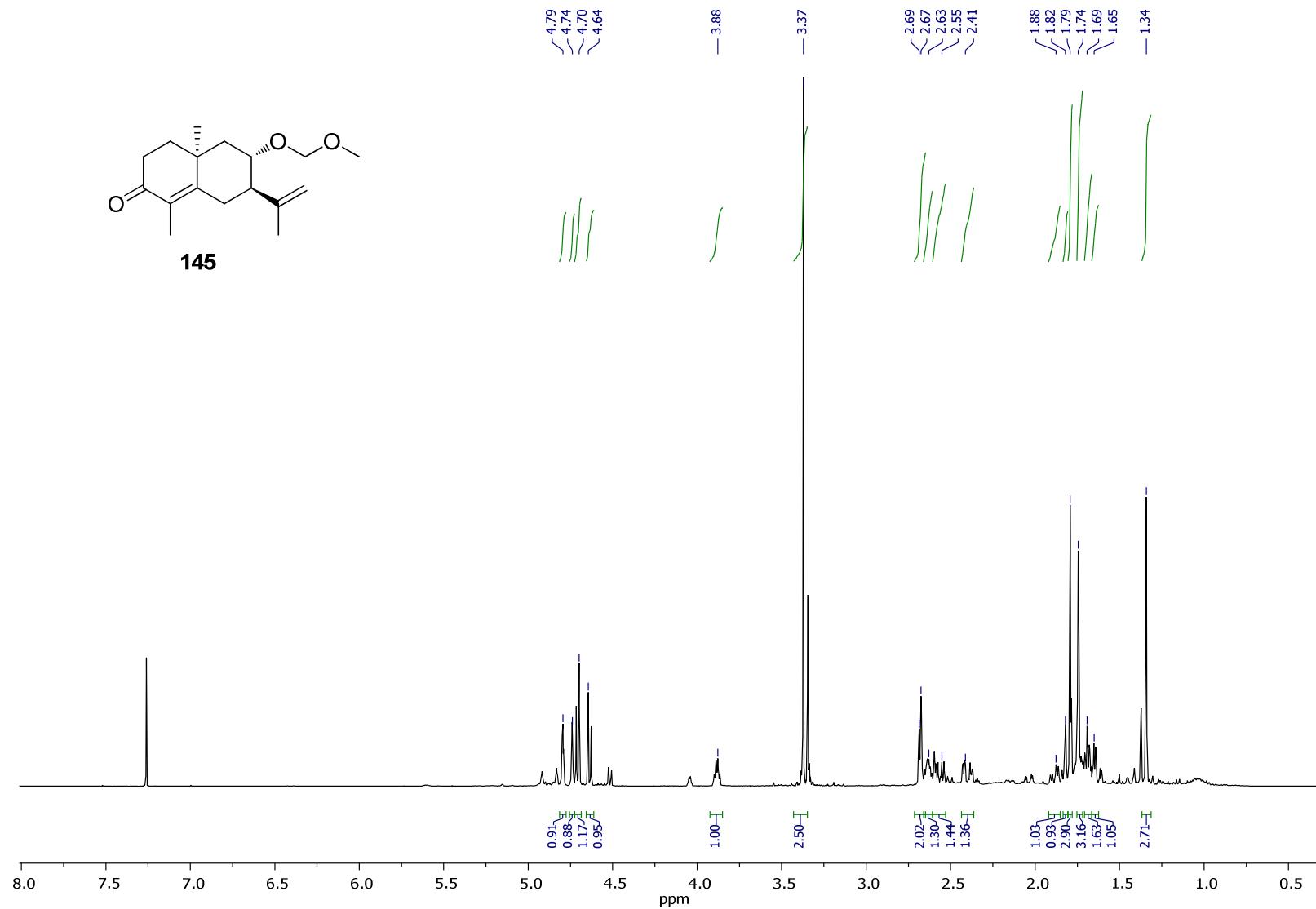
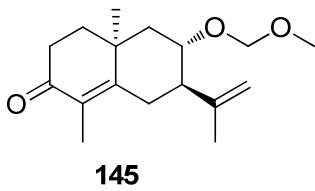




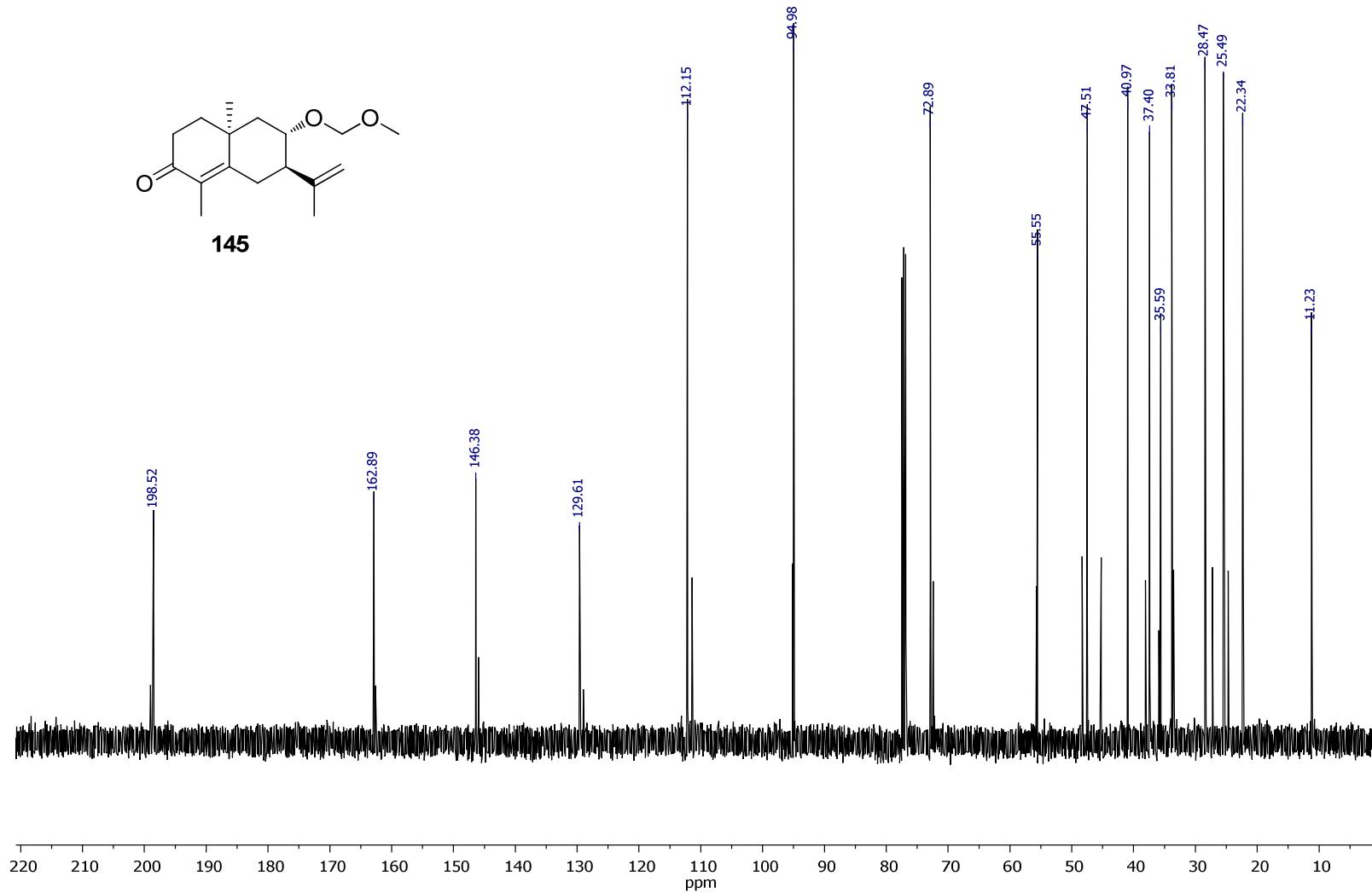
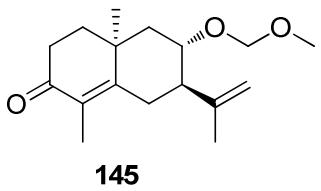


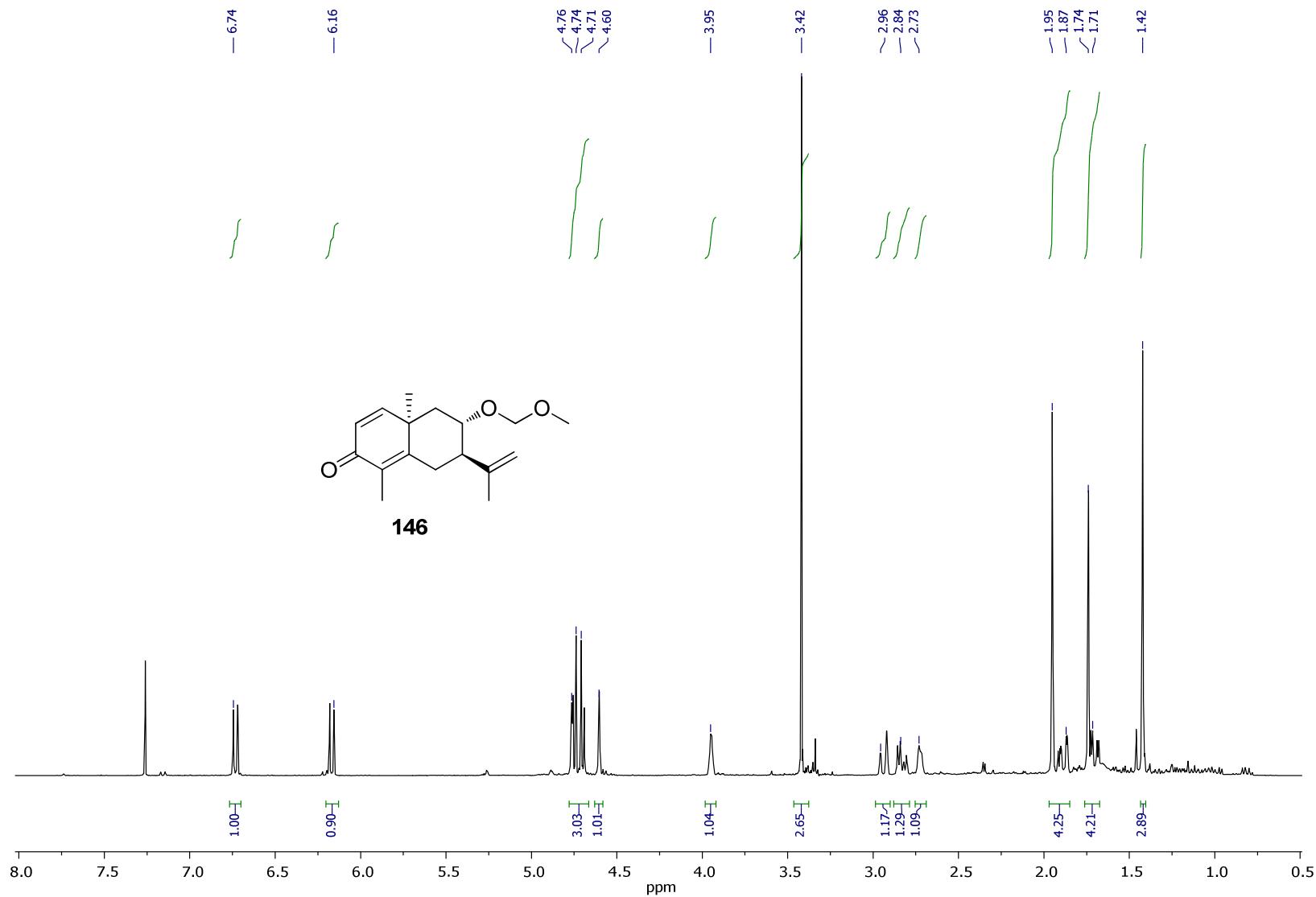


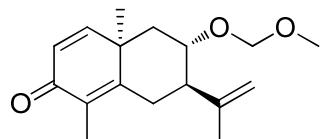




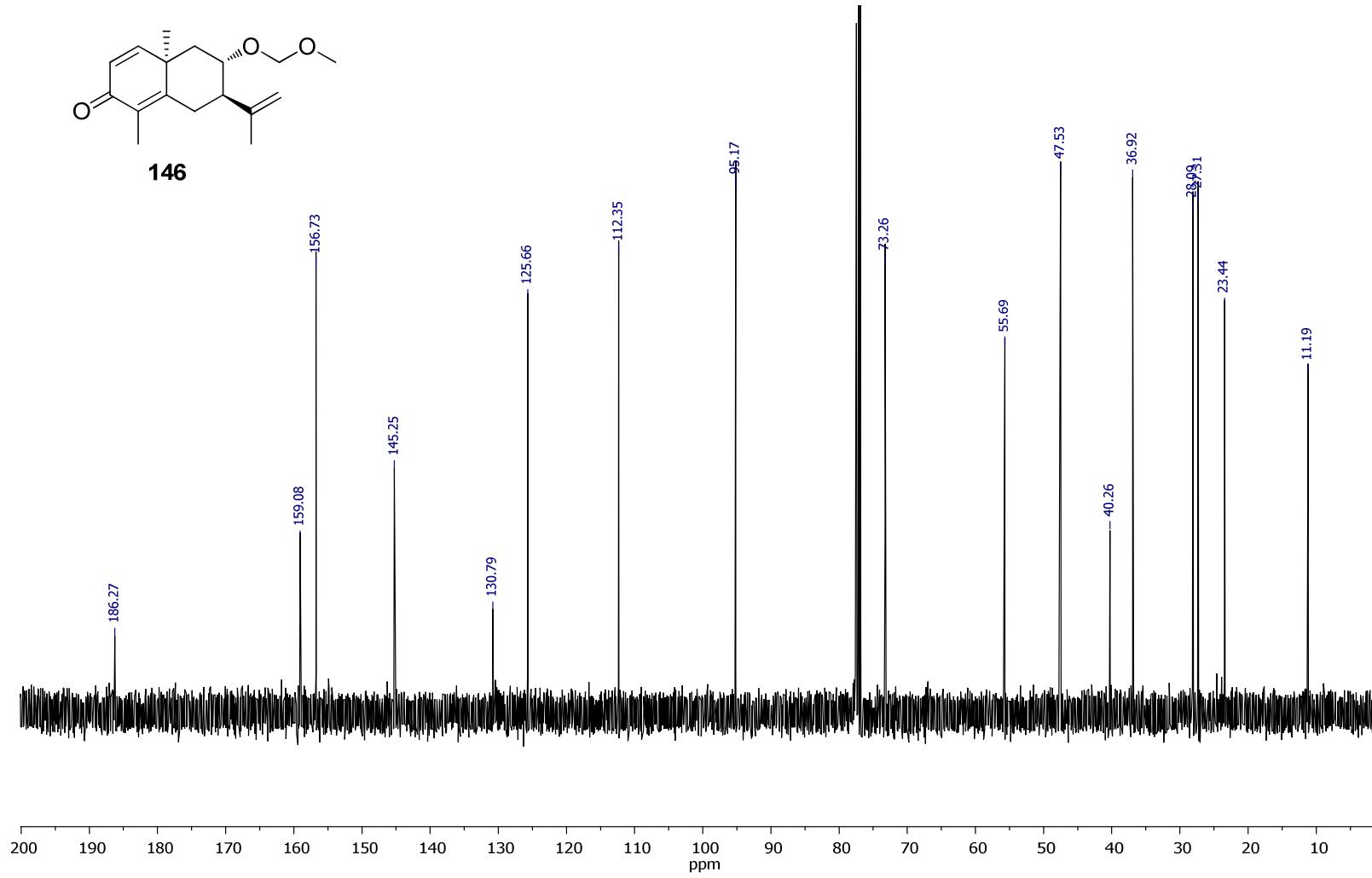
209

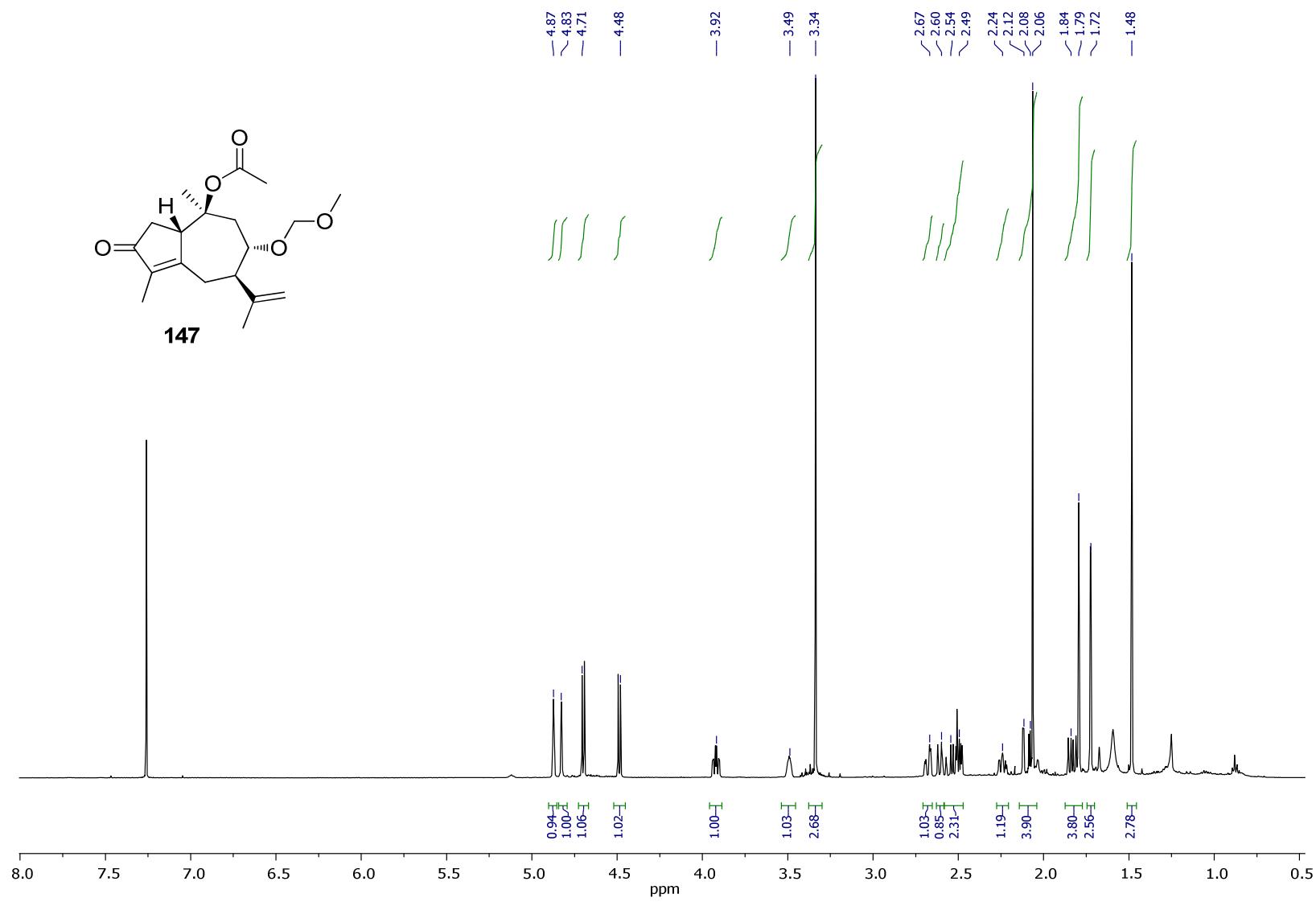
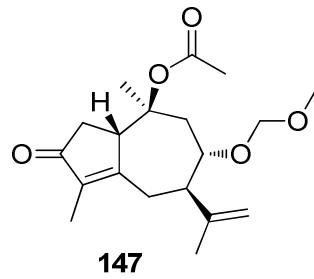


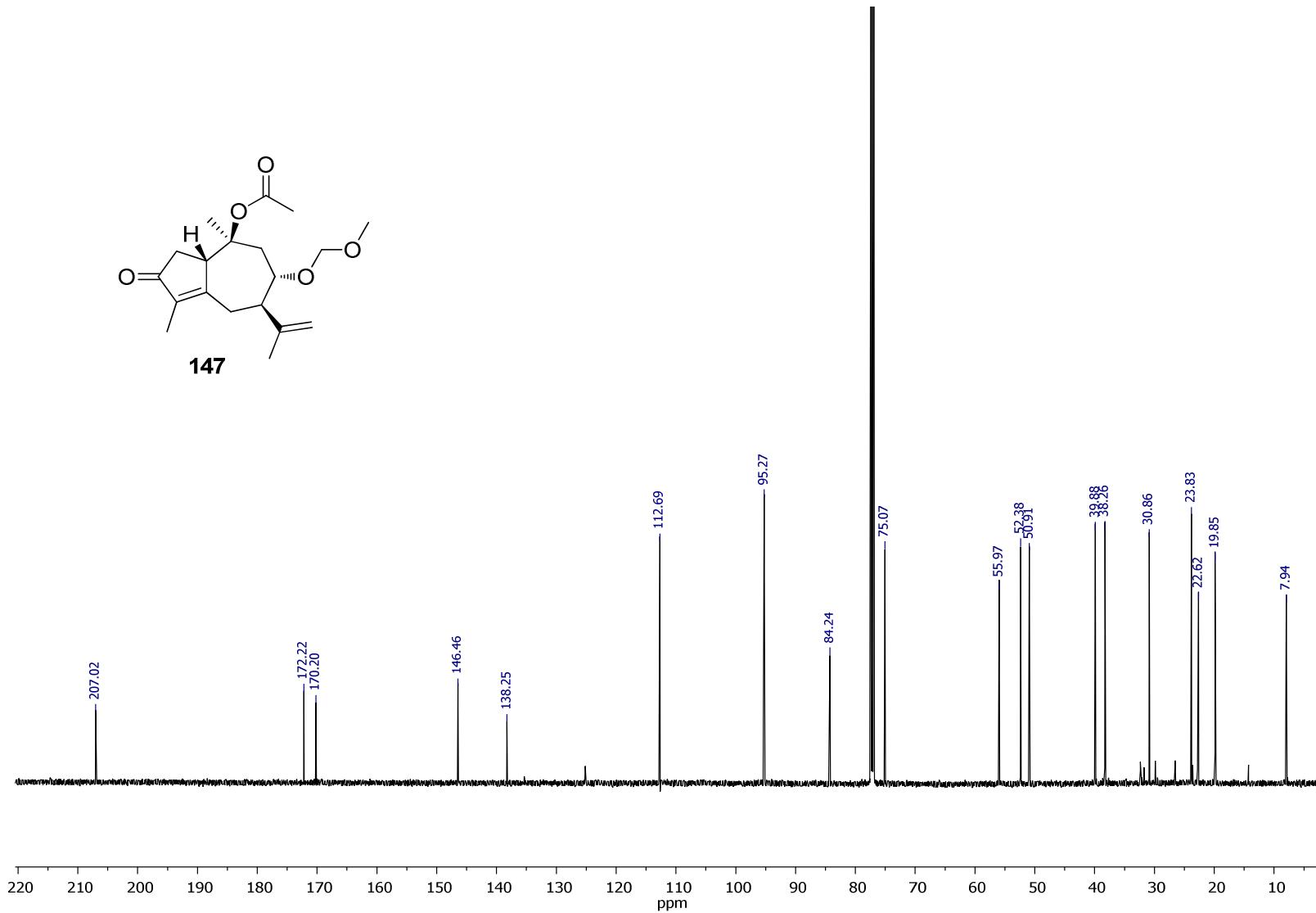
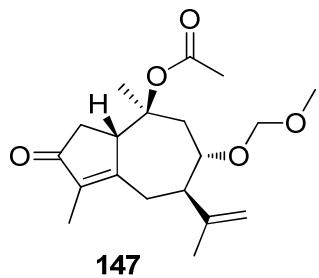


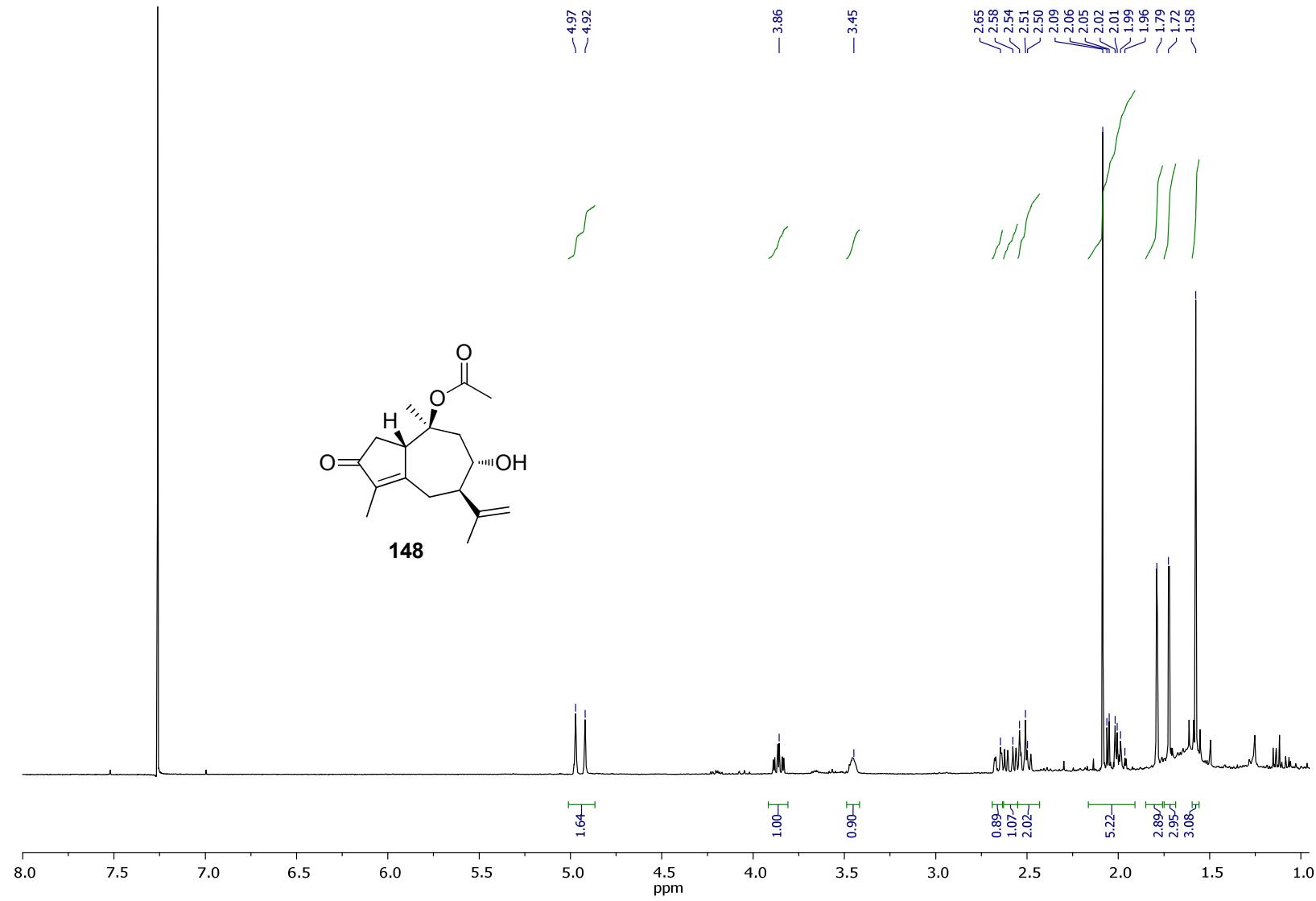


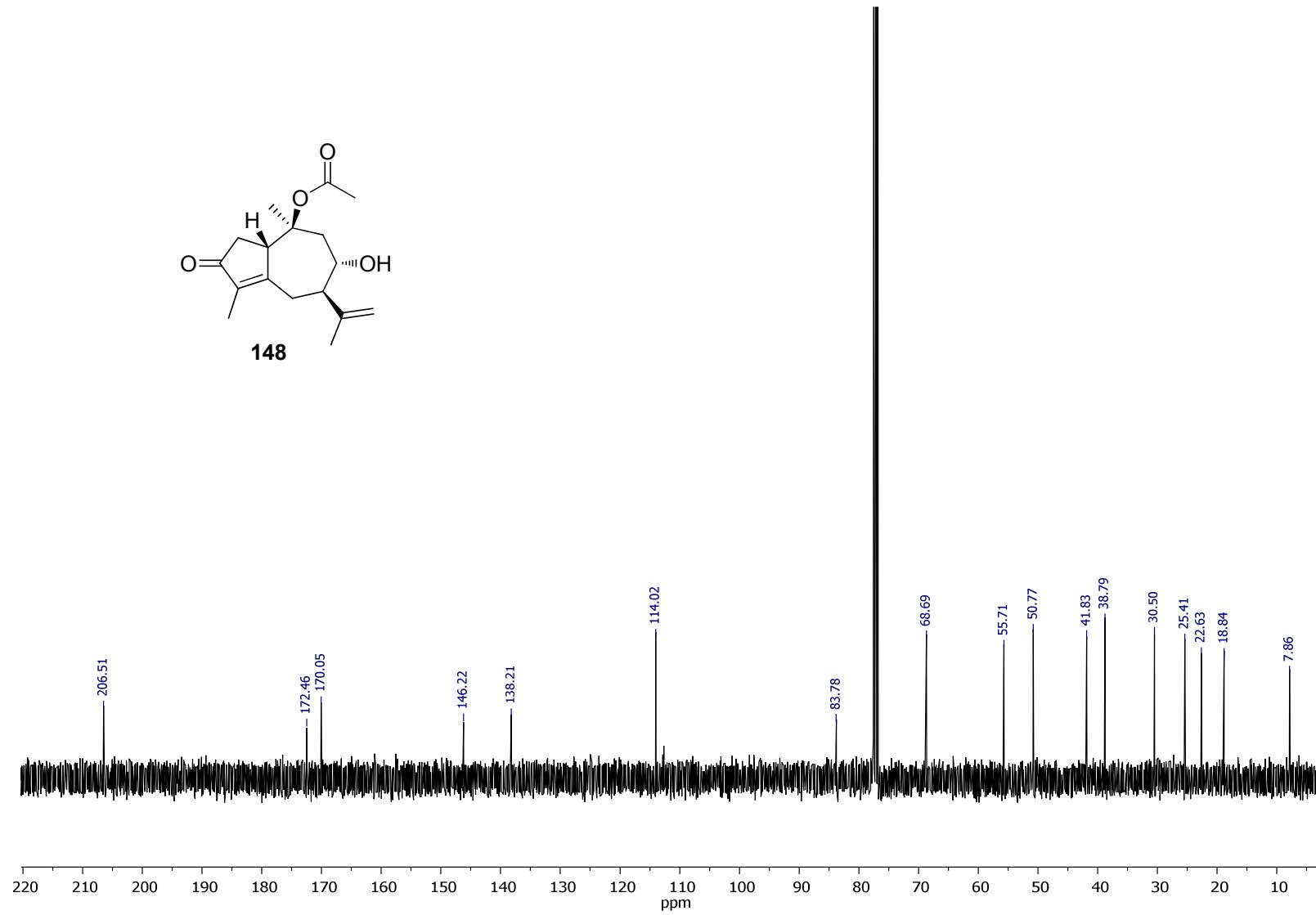
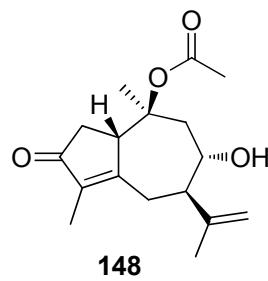
**146**

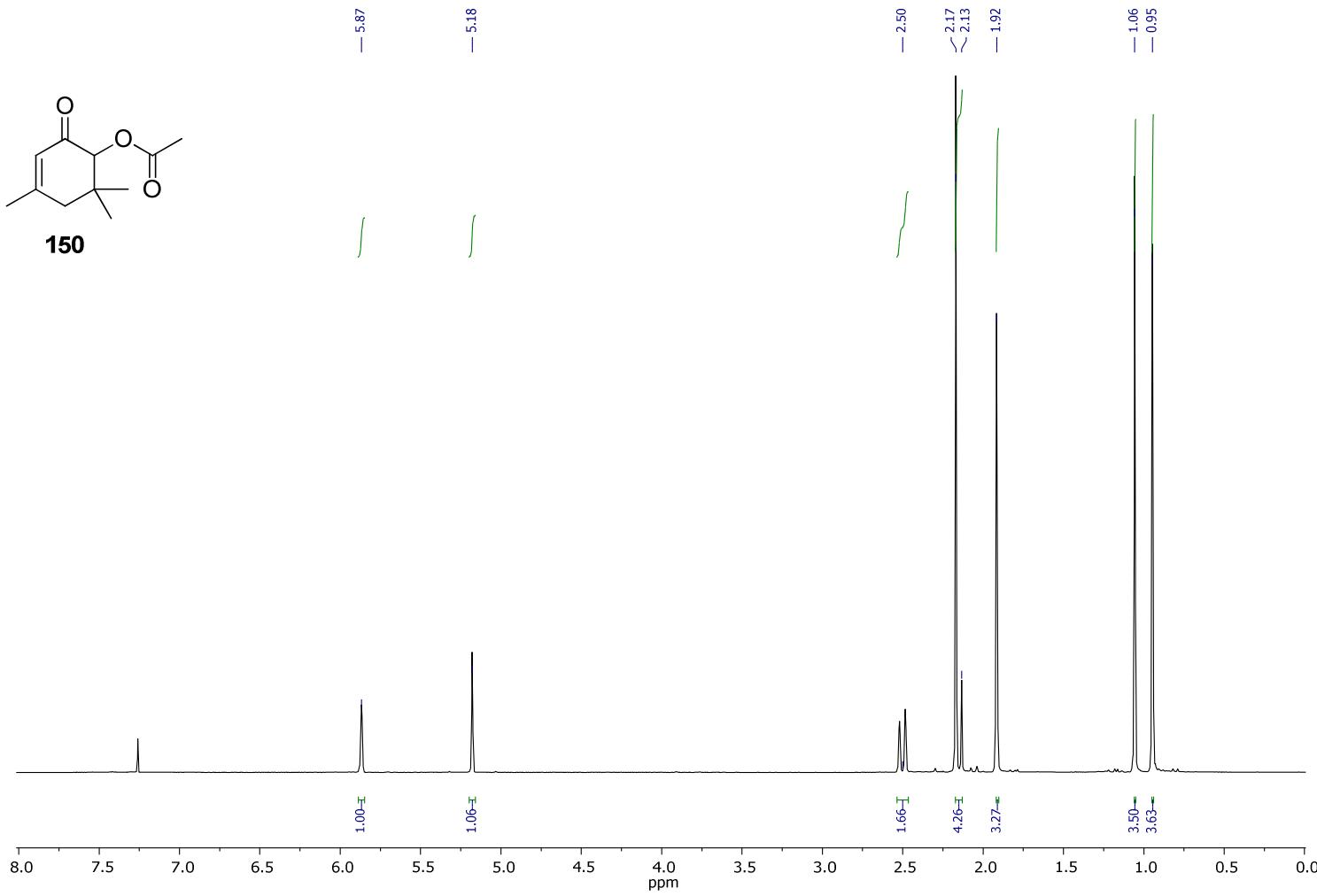


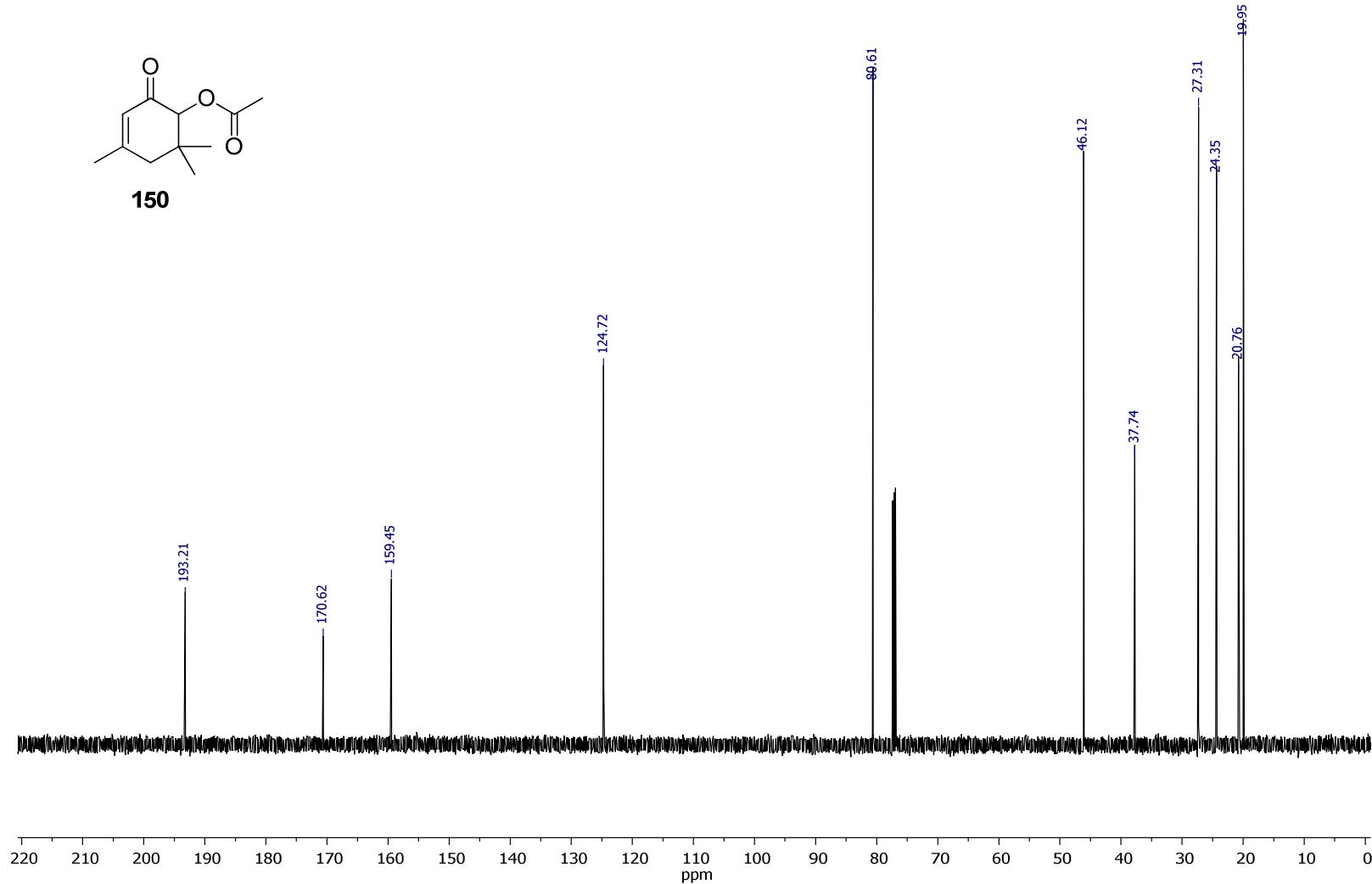
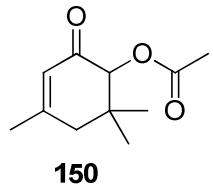


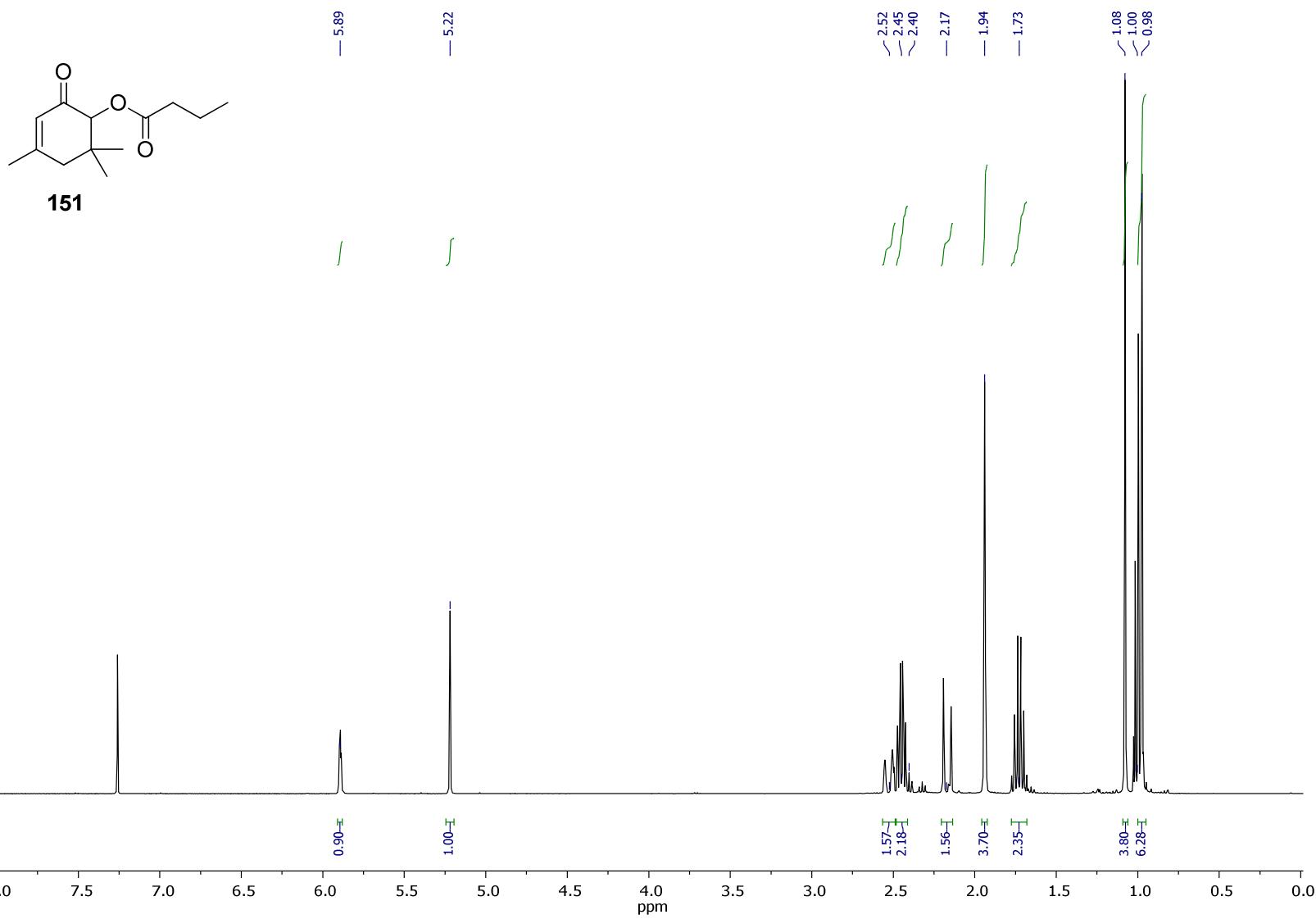


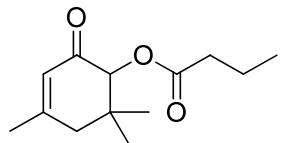




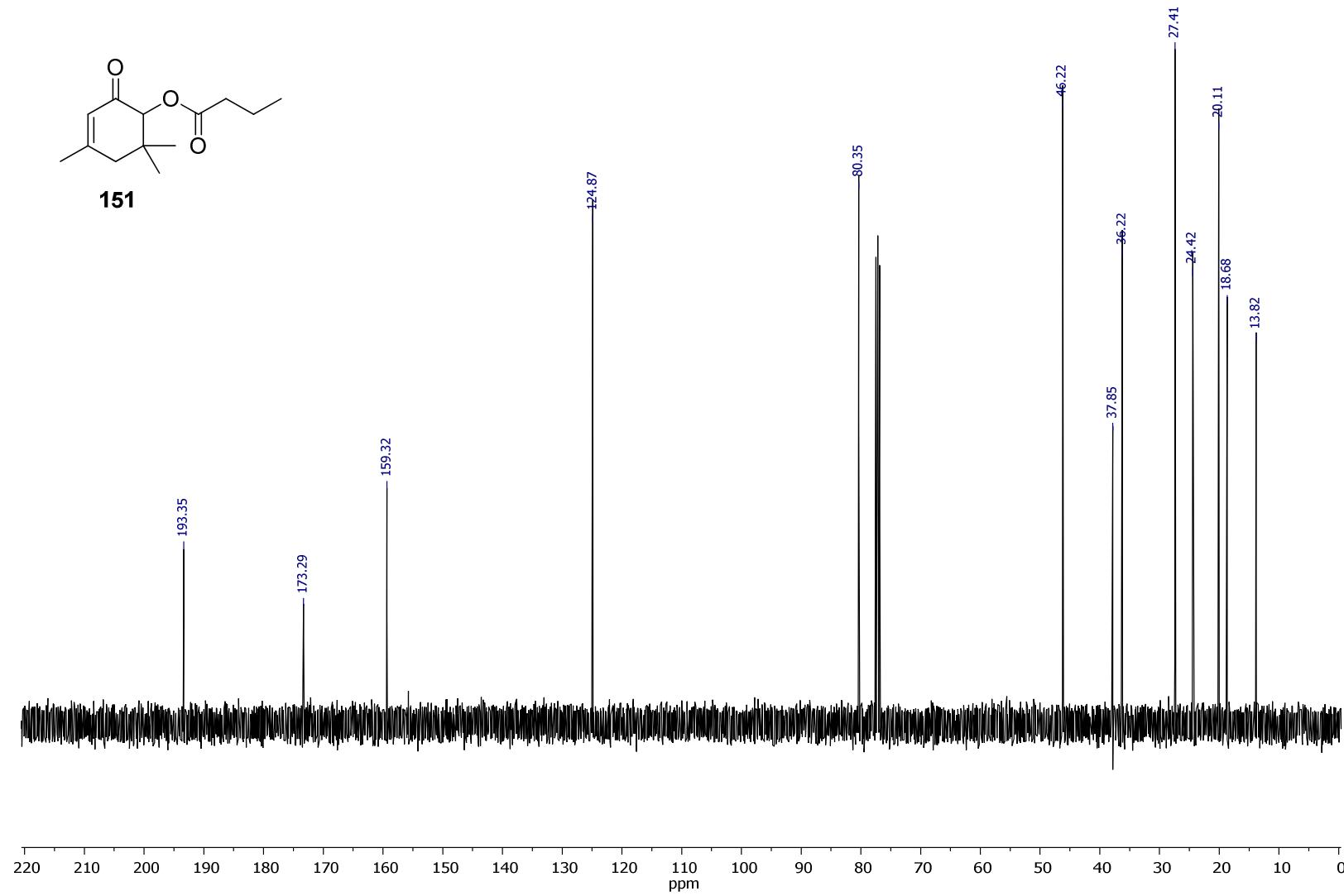


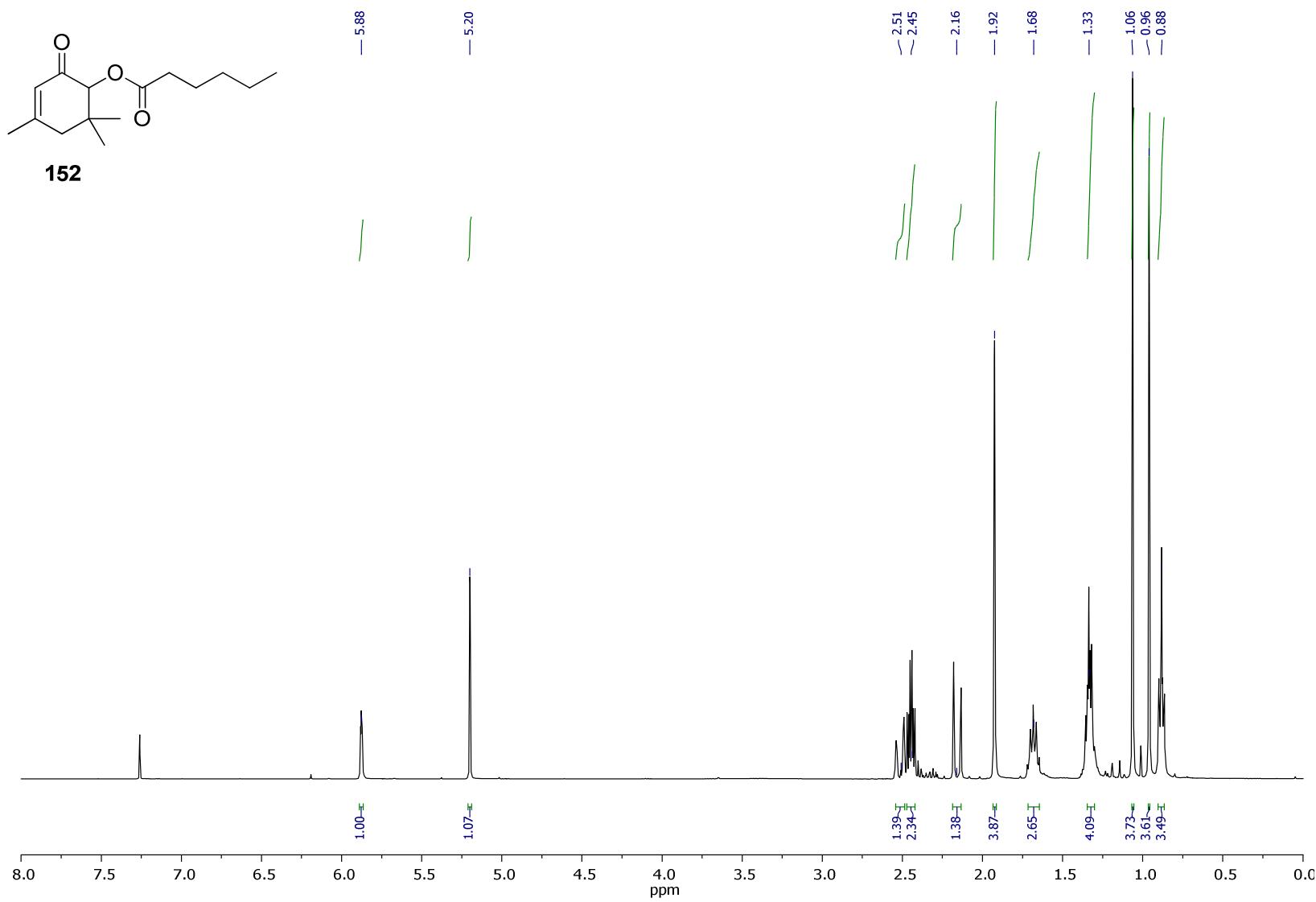


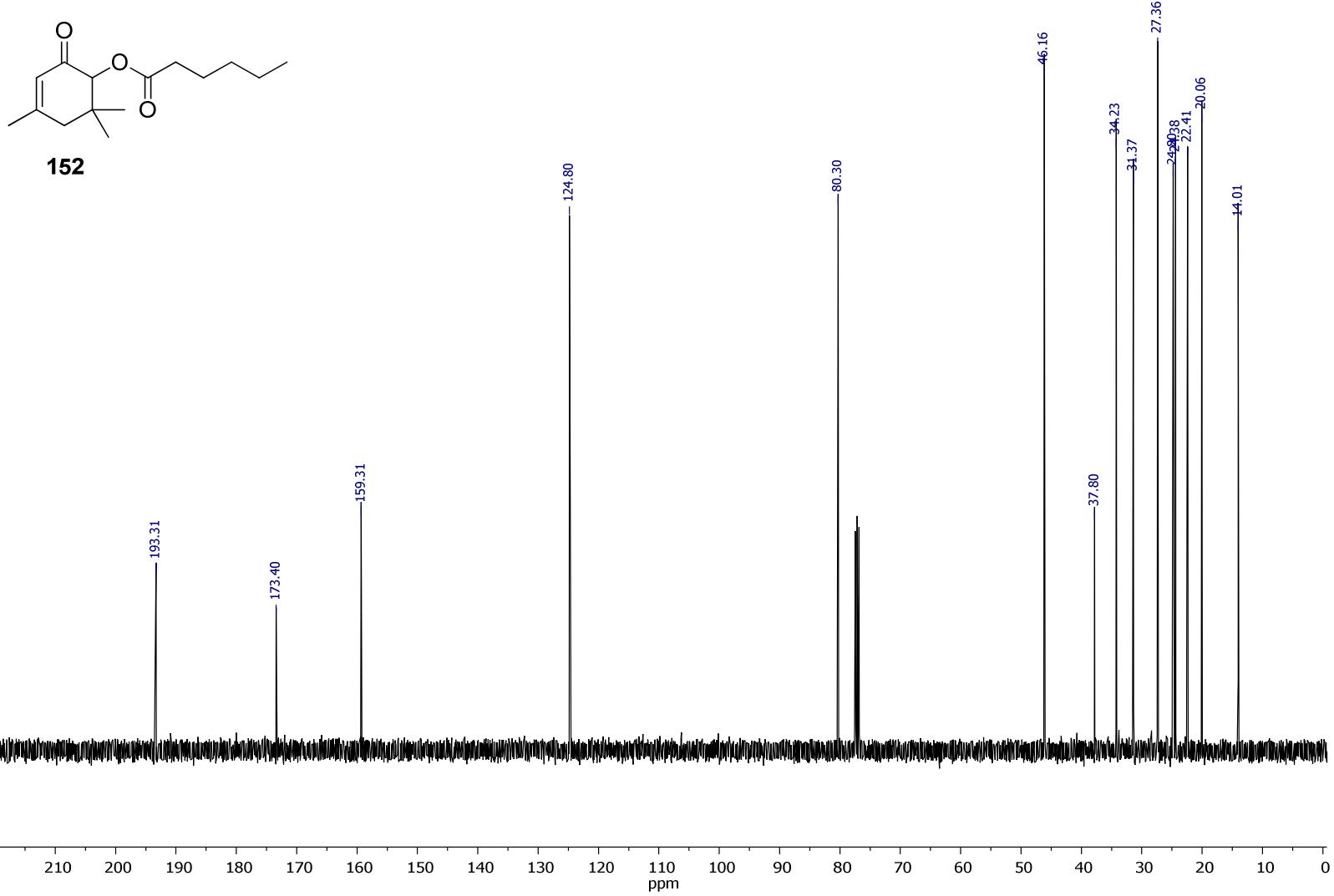


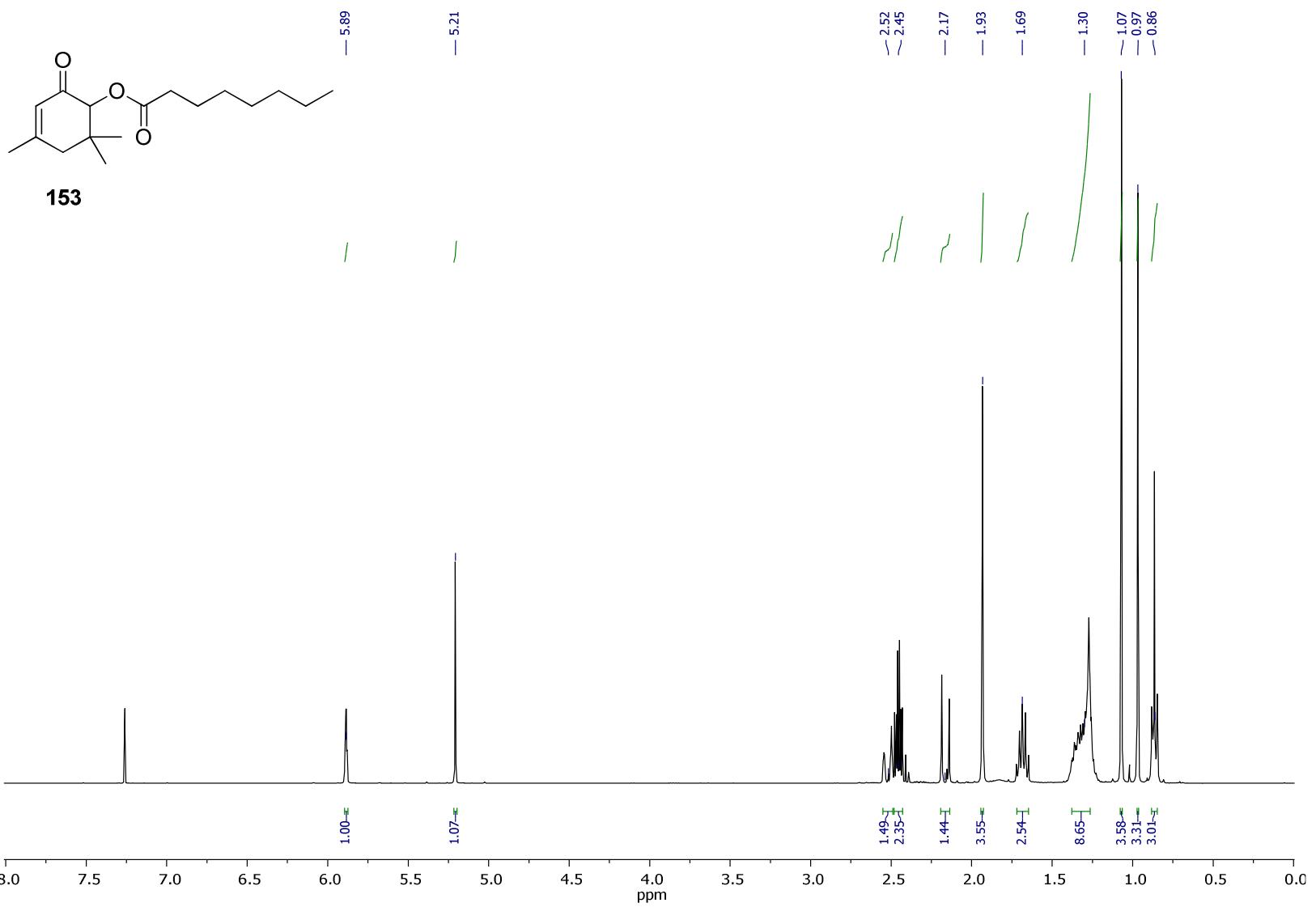


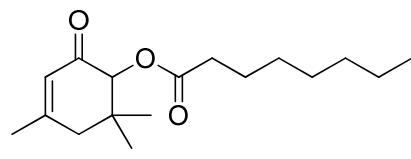
**151**



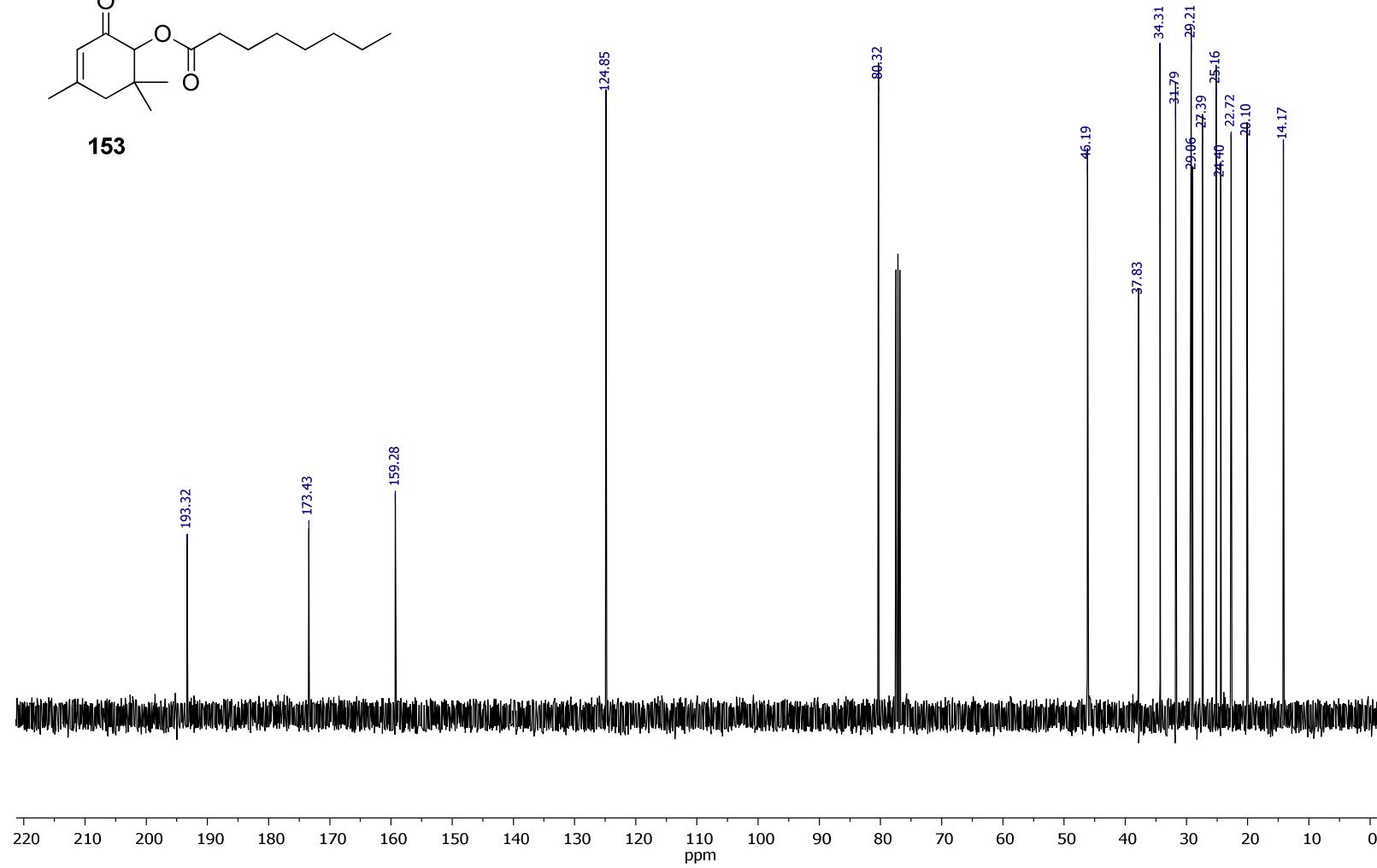


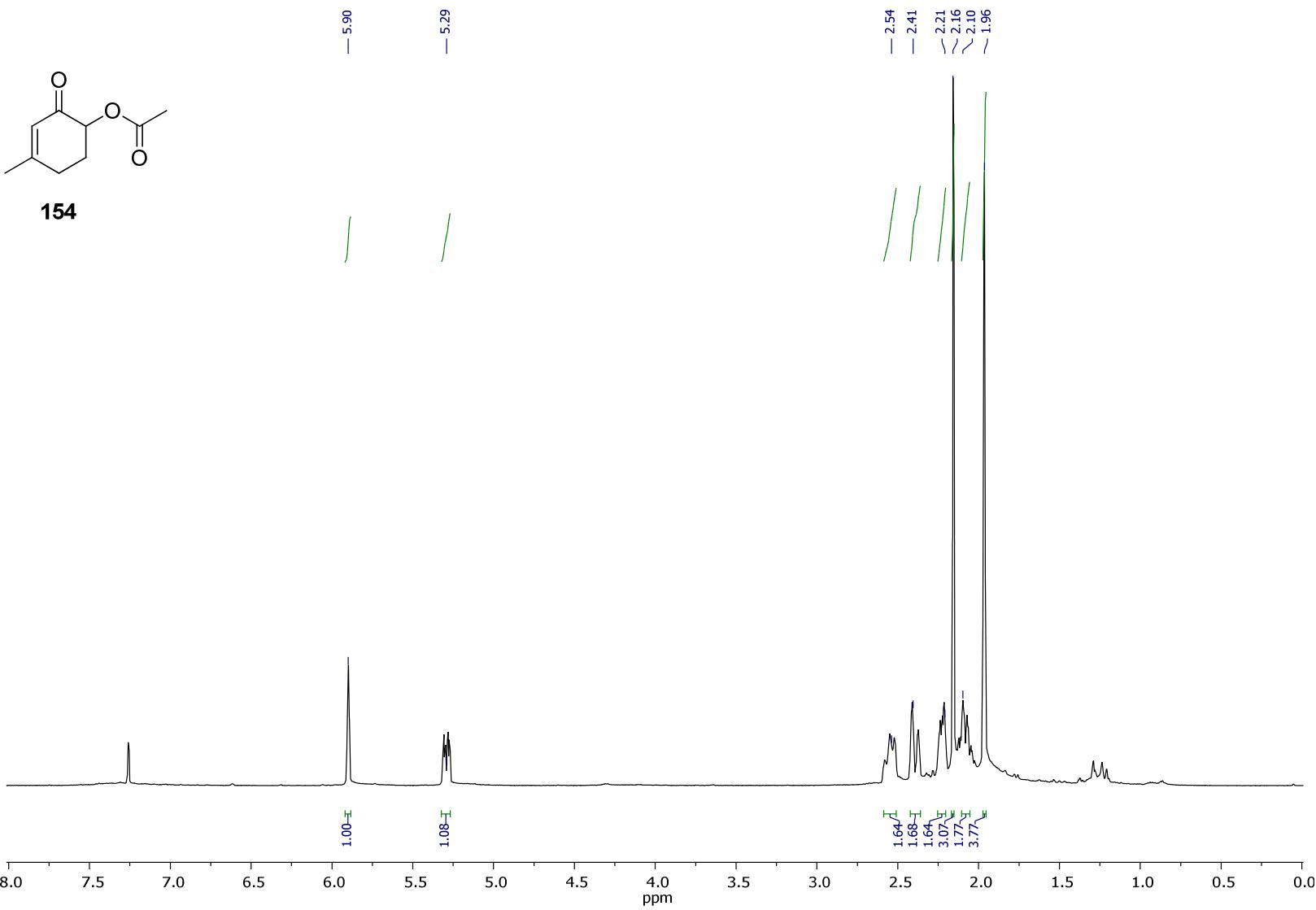




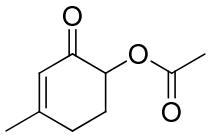


**153**

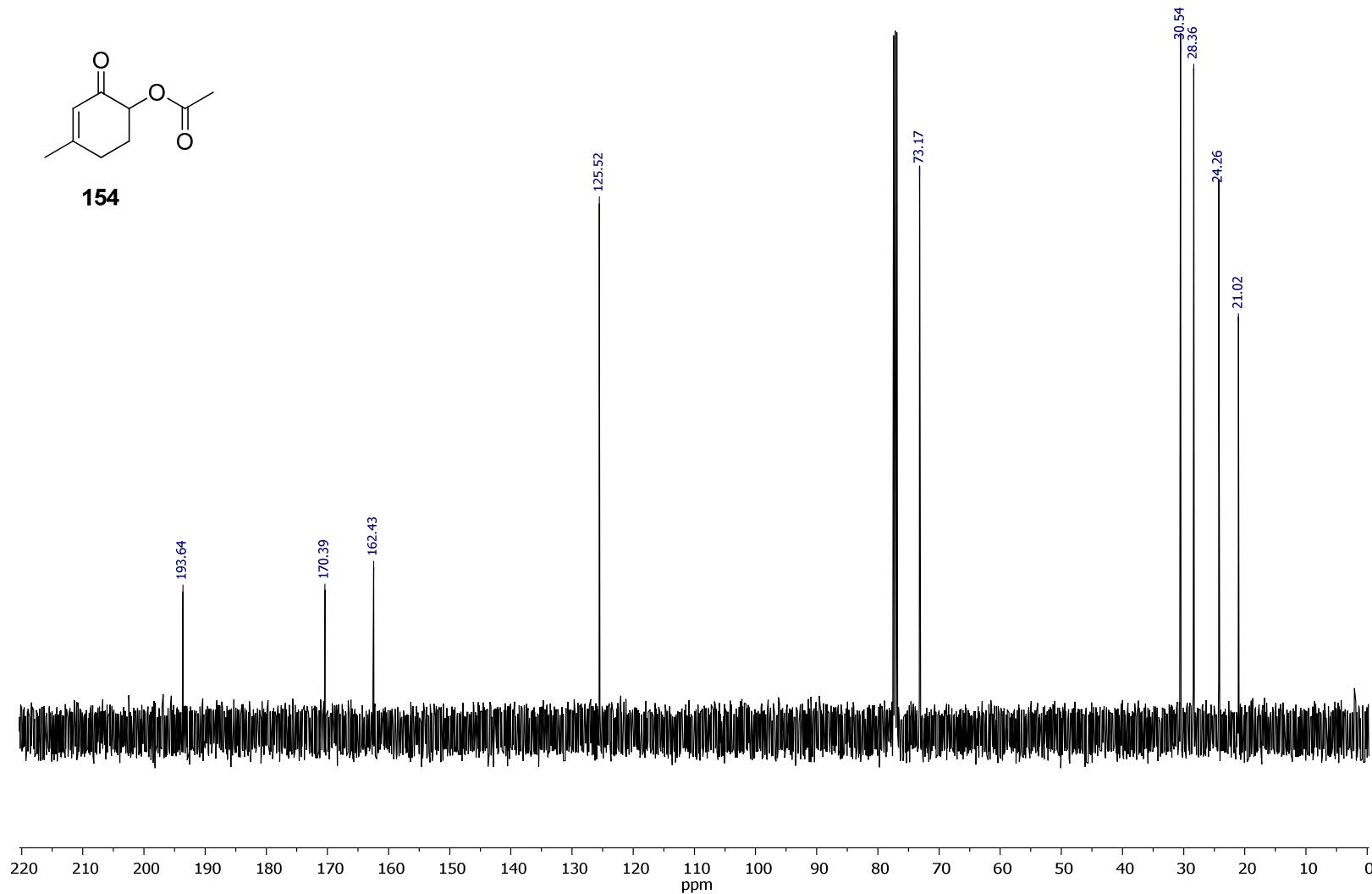


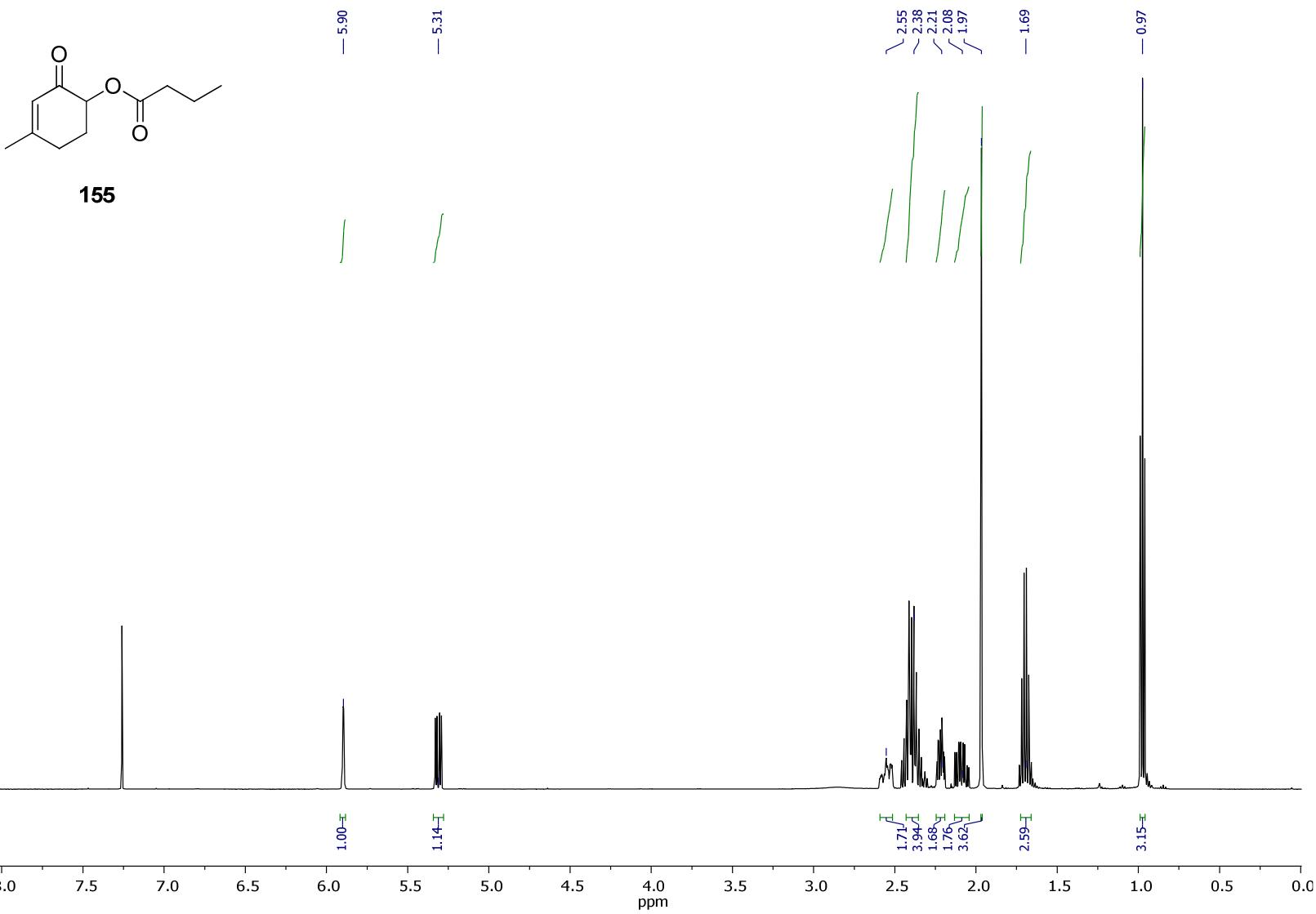


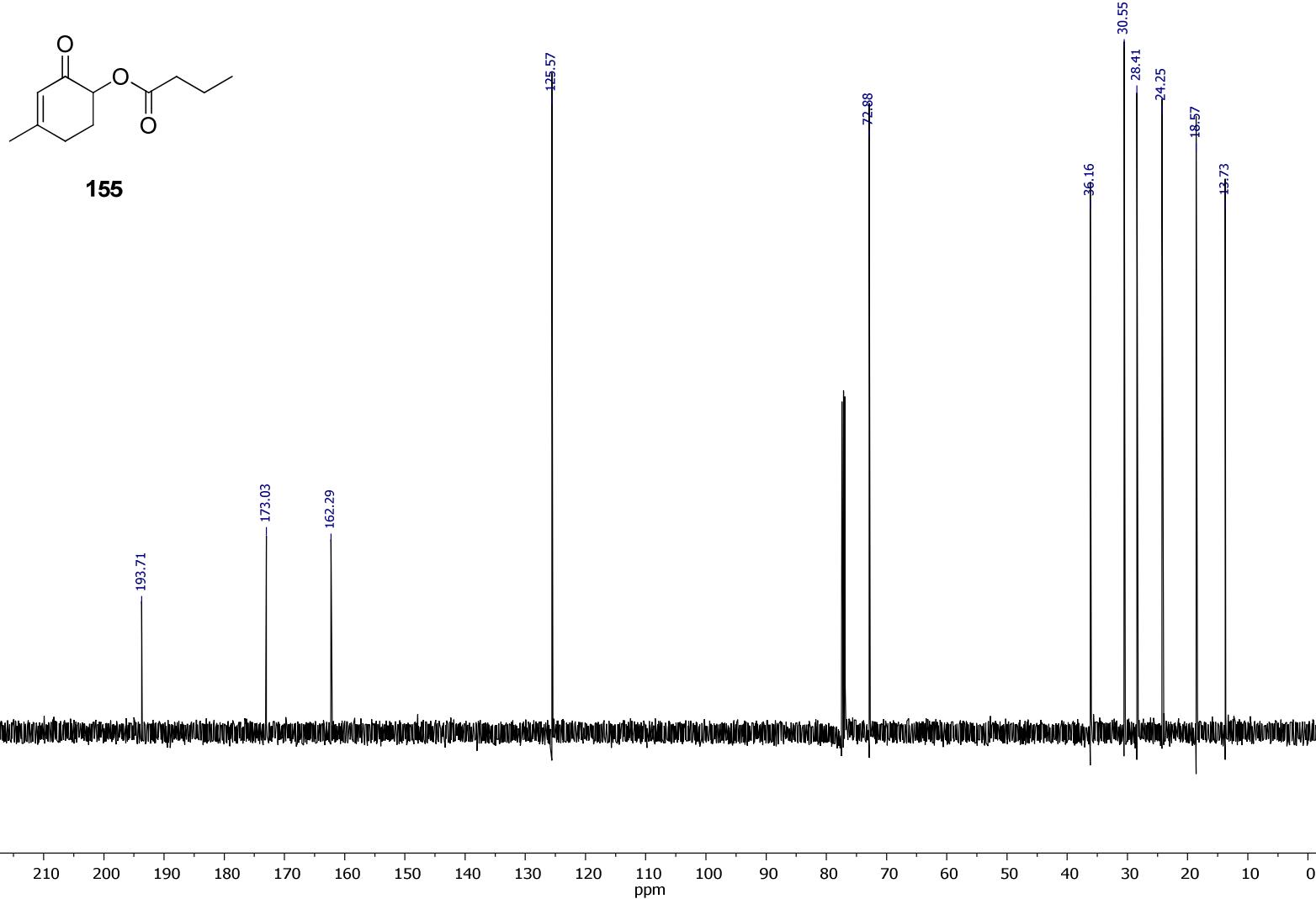
225



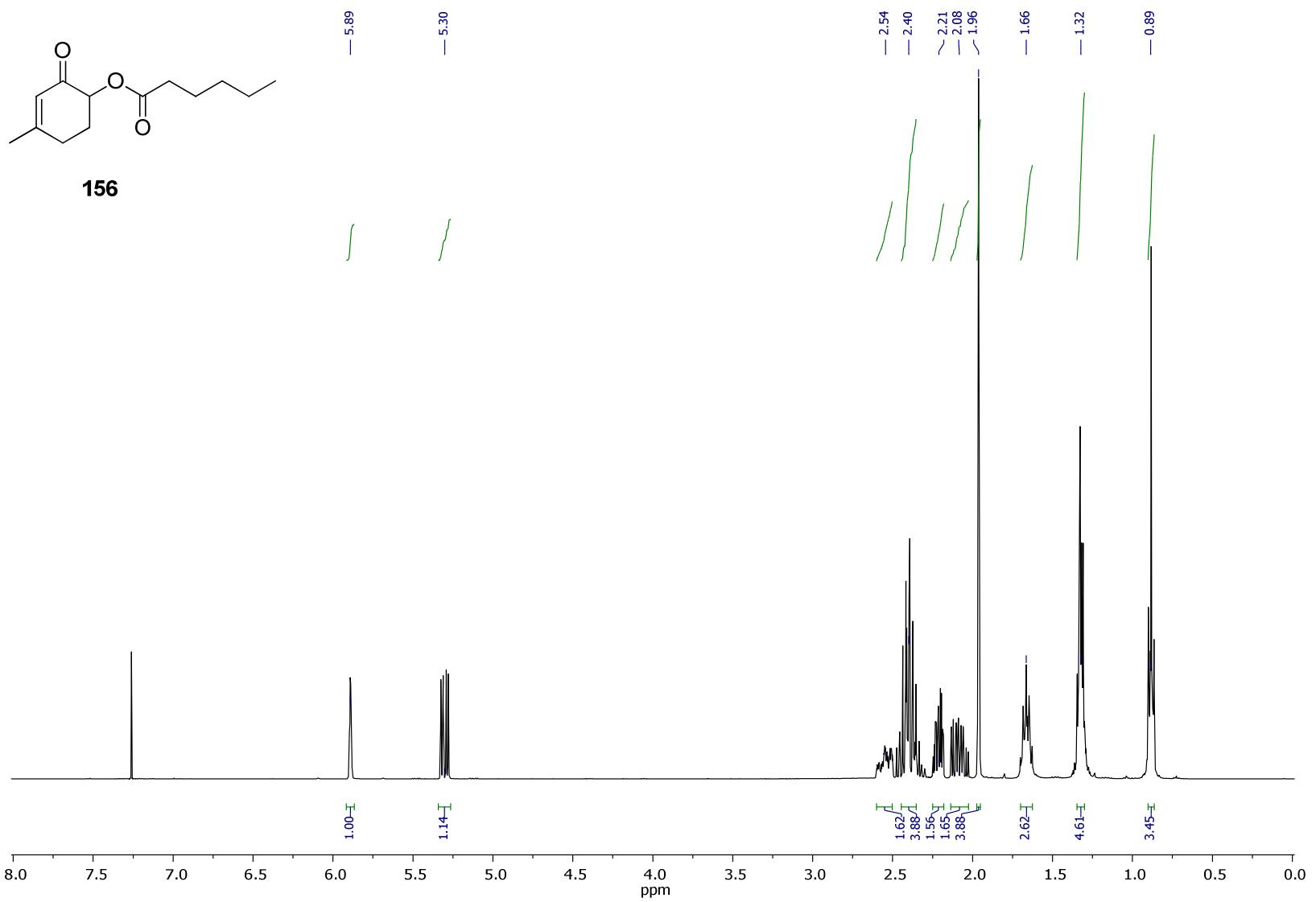
**154**



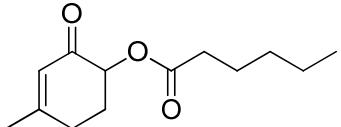




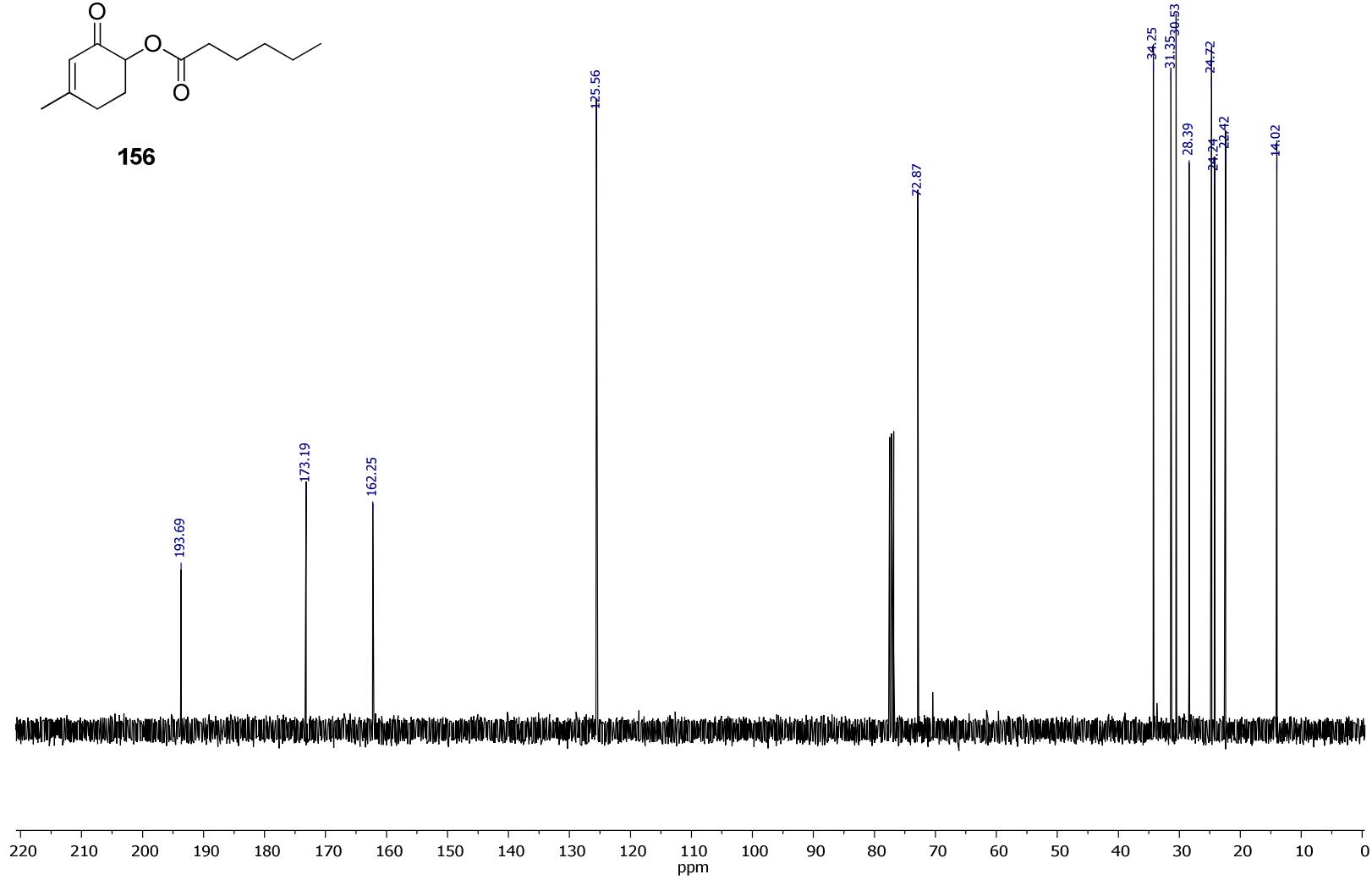
228

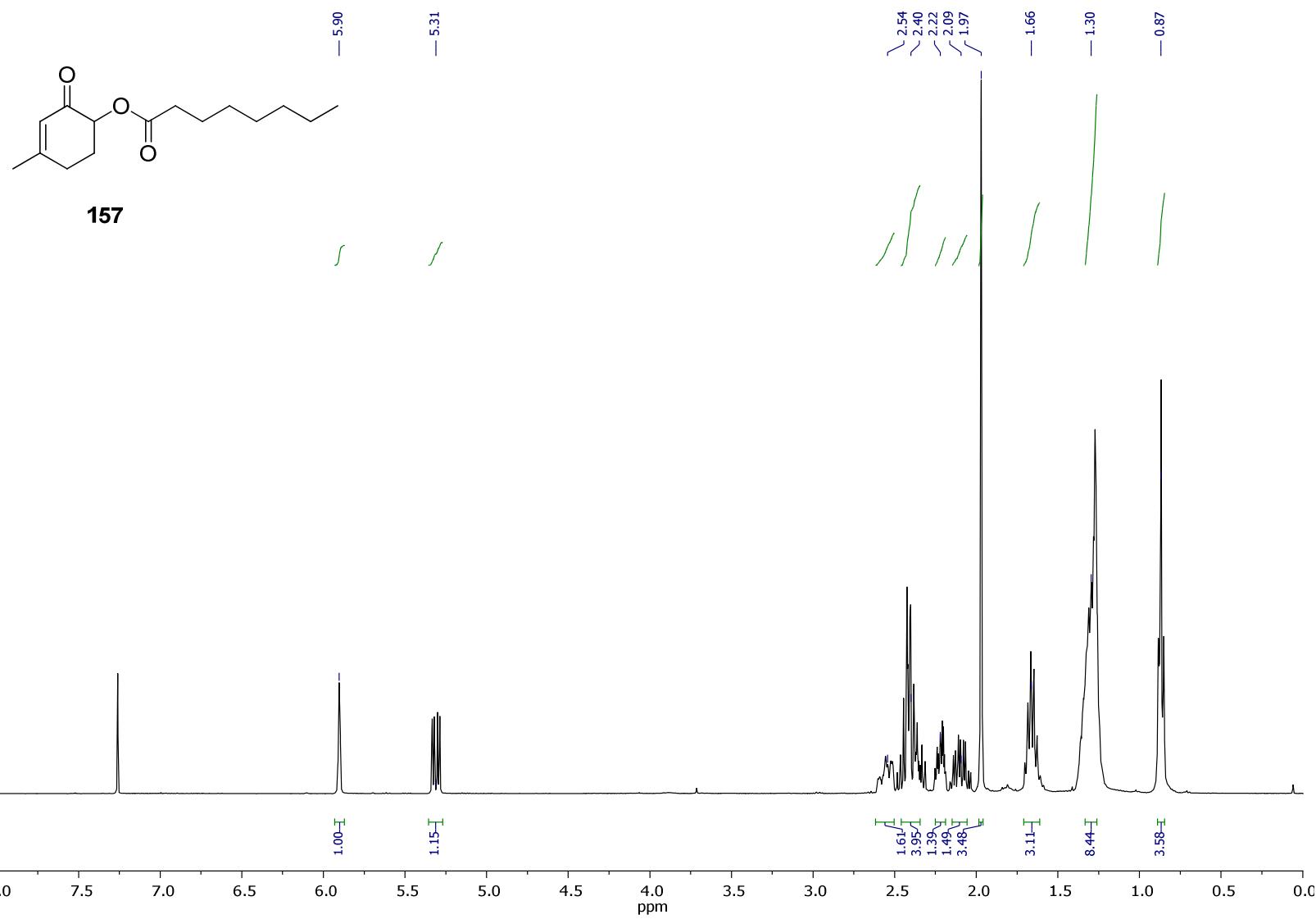


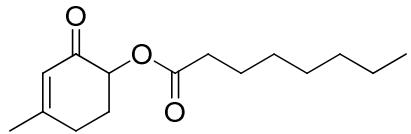
229



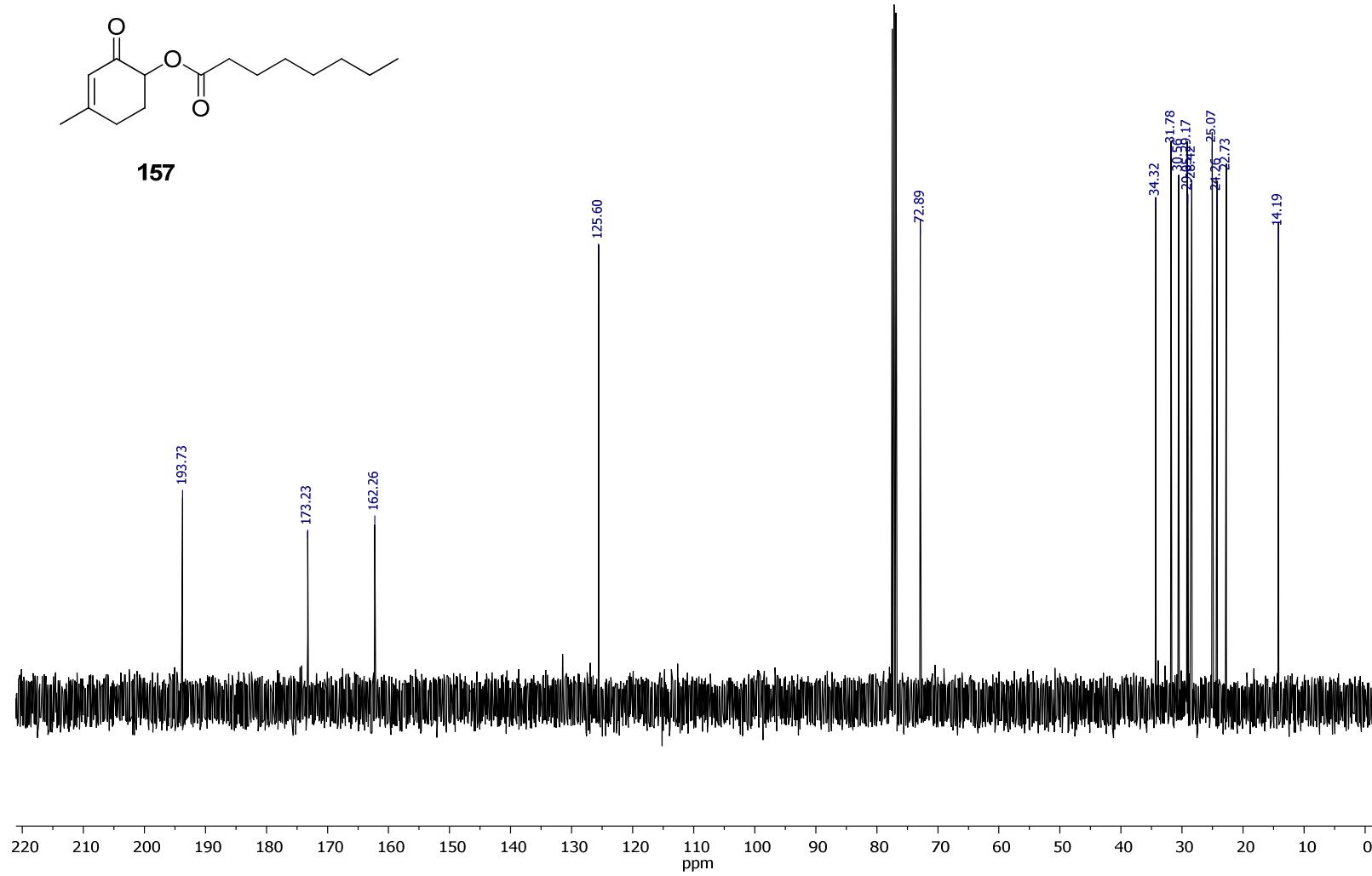
**156**

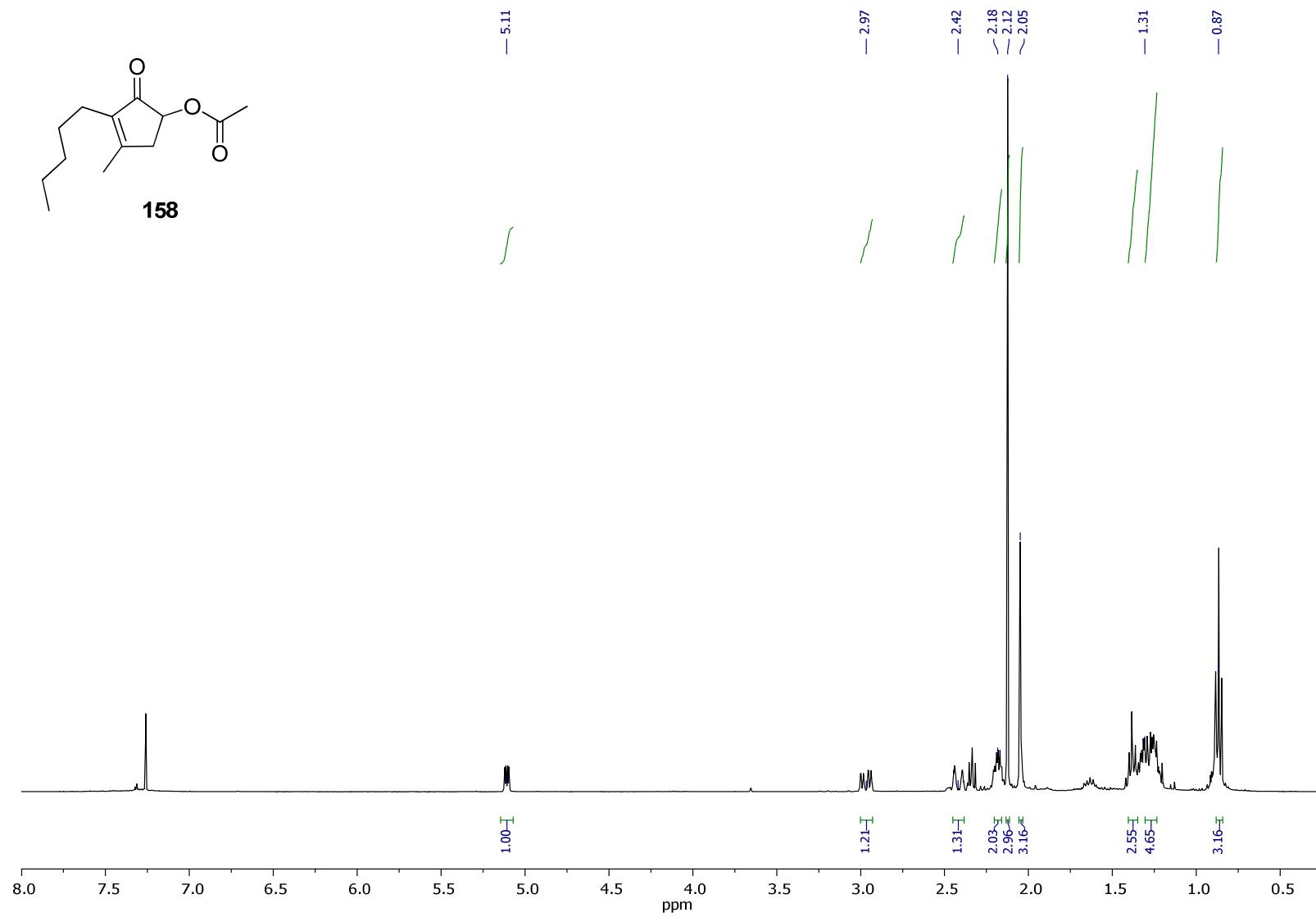
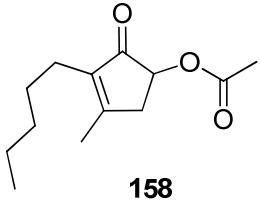


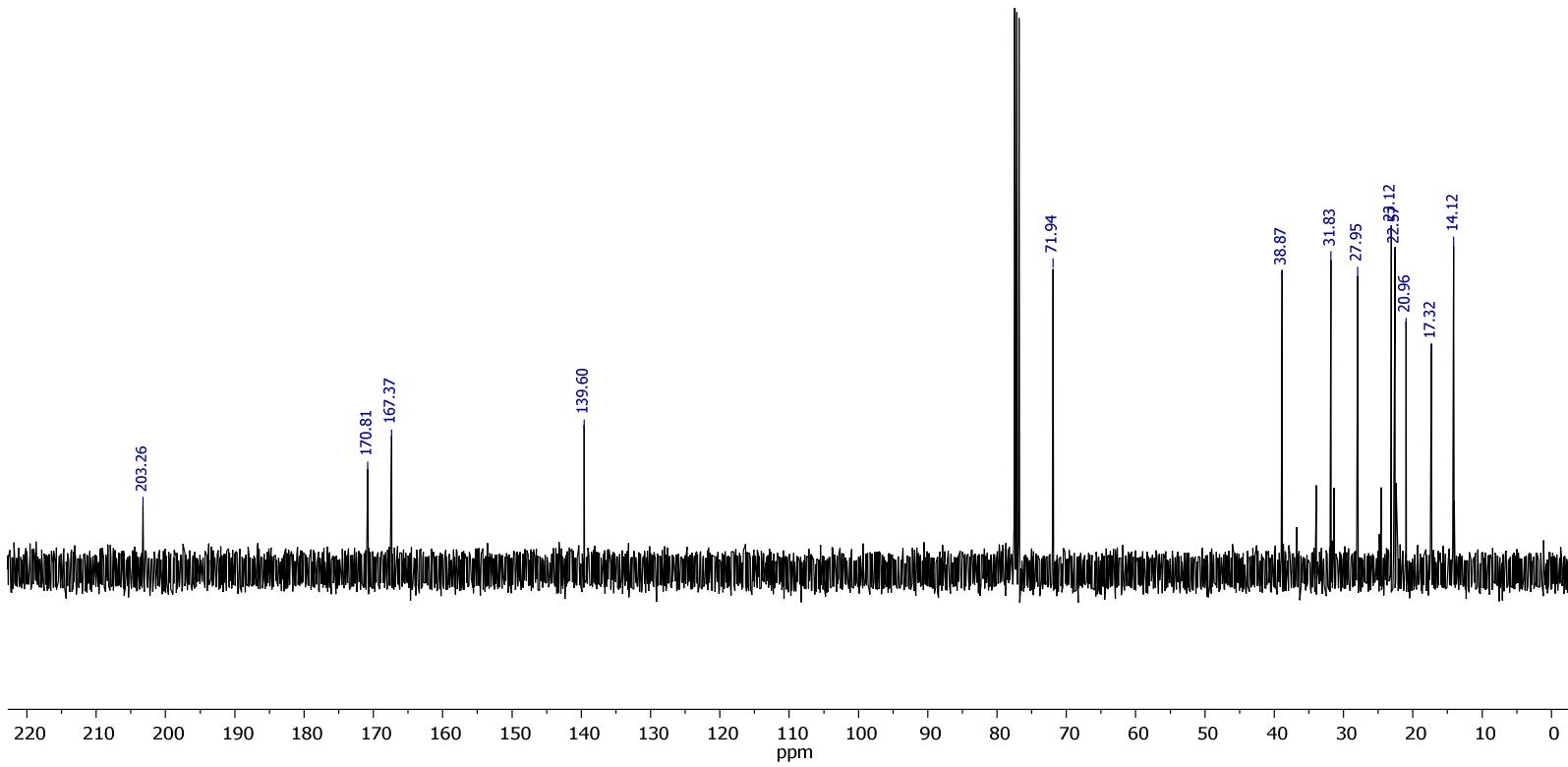
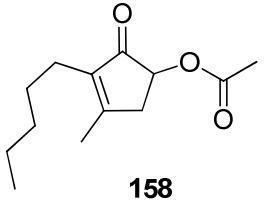


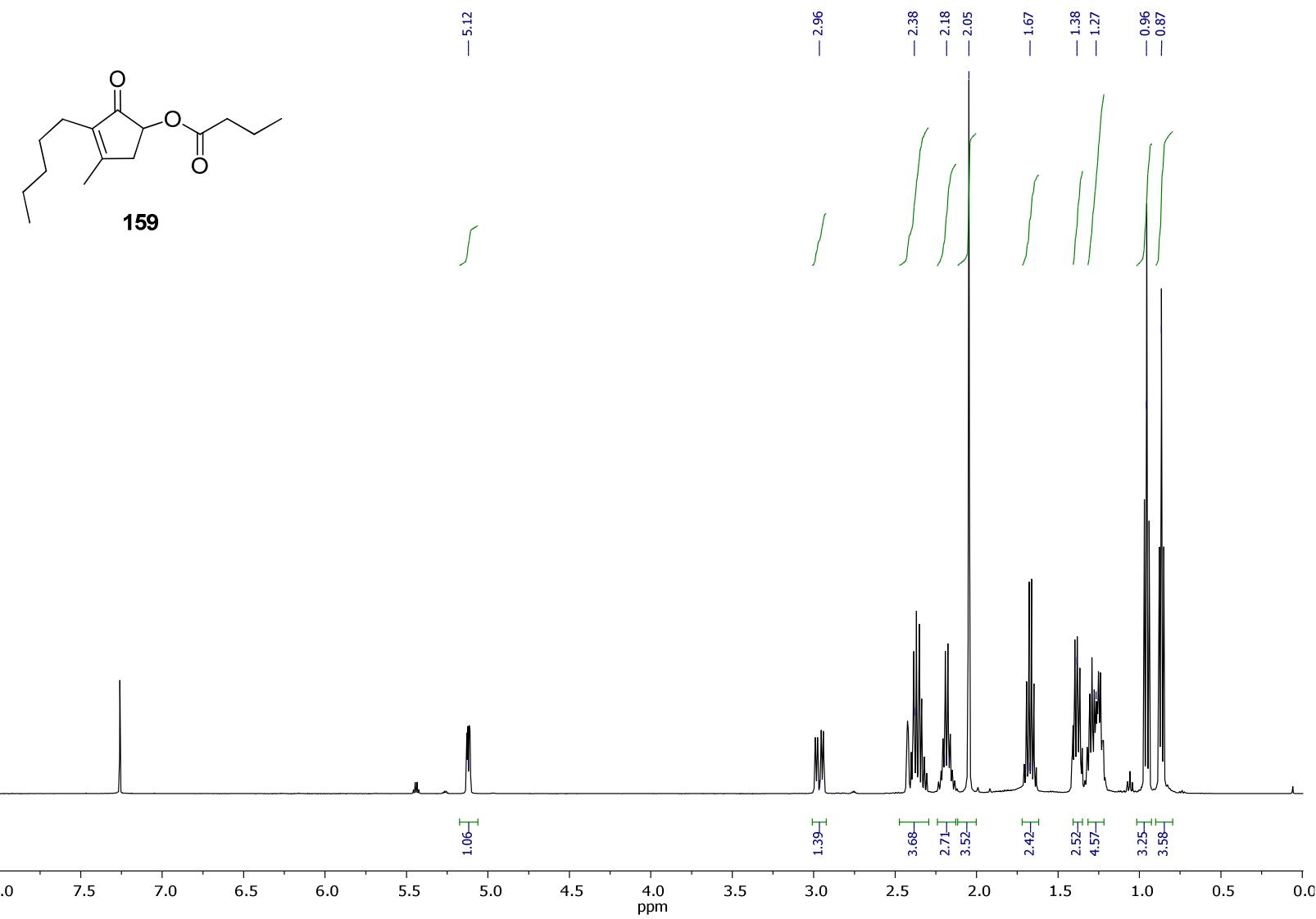


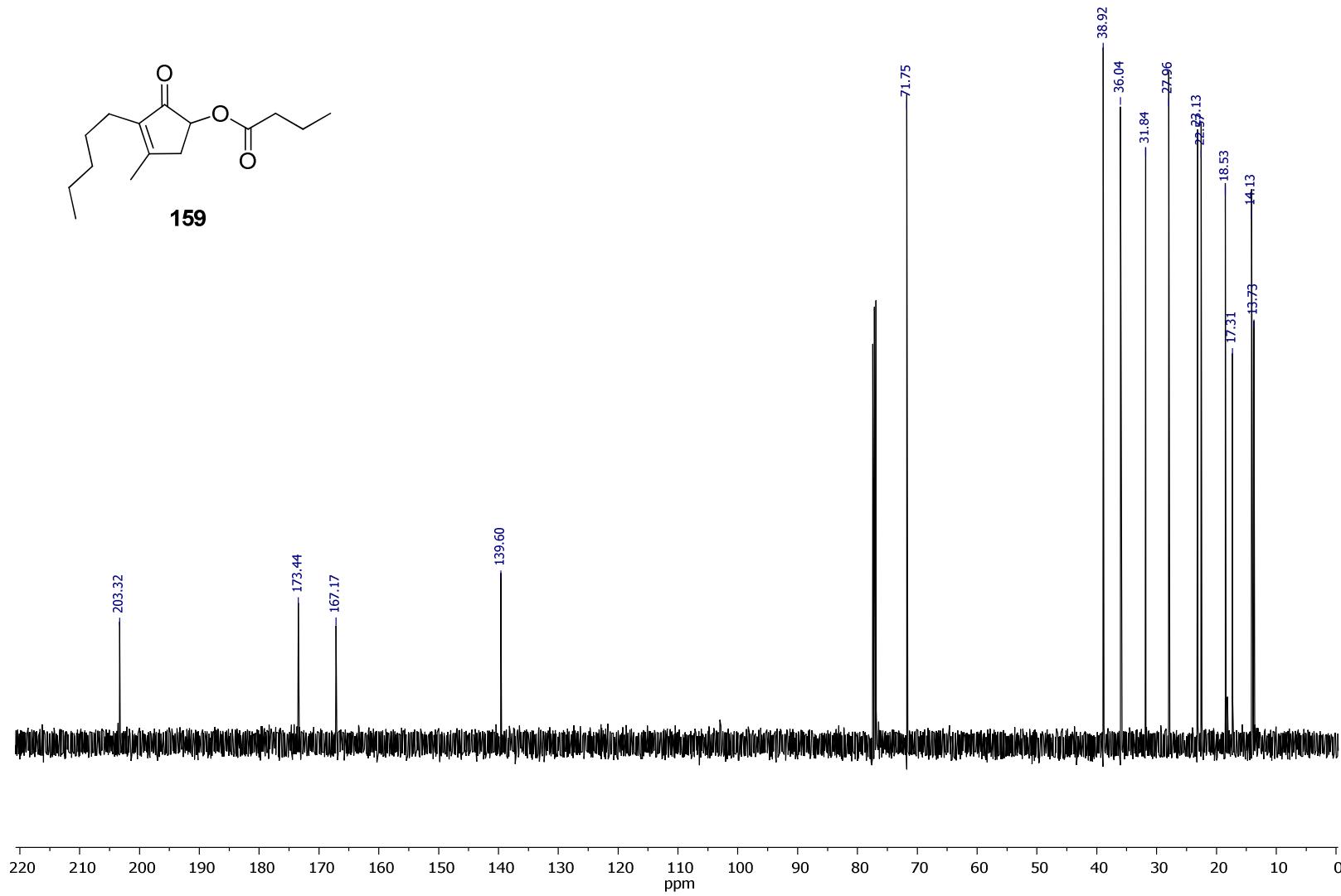
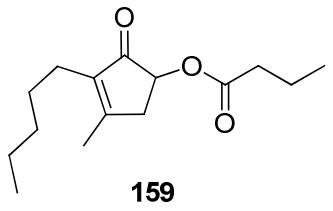
**157**

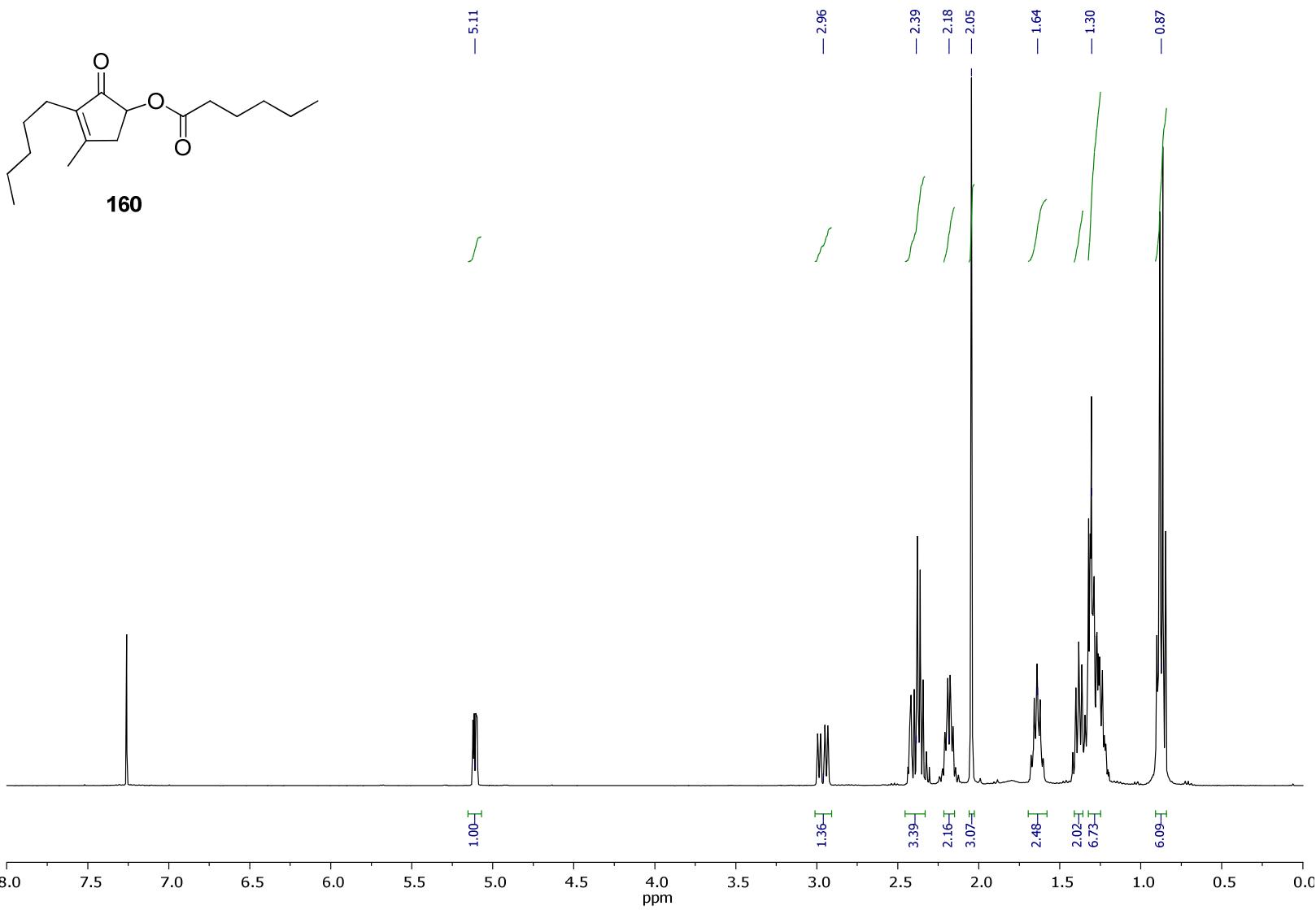




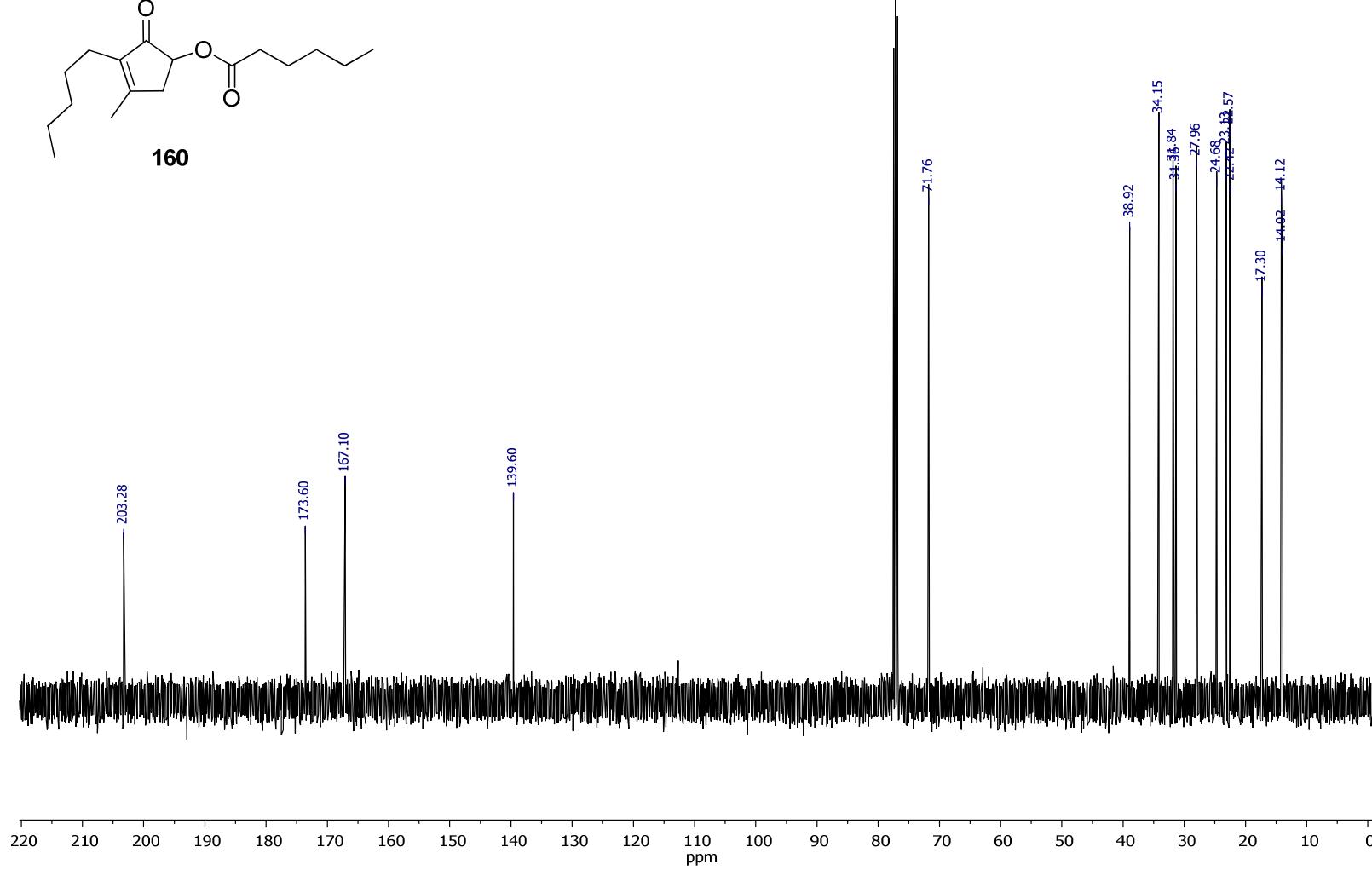
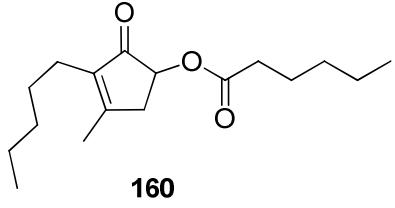


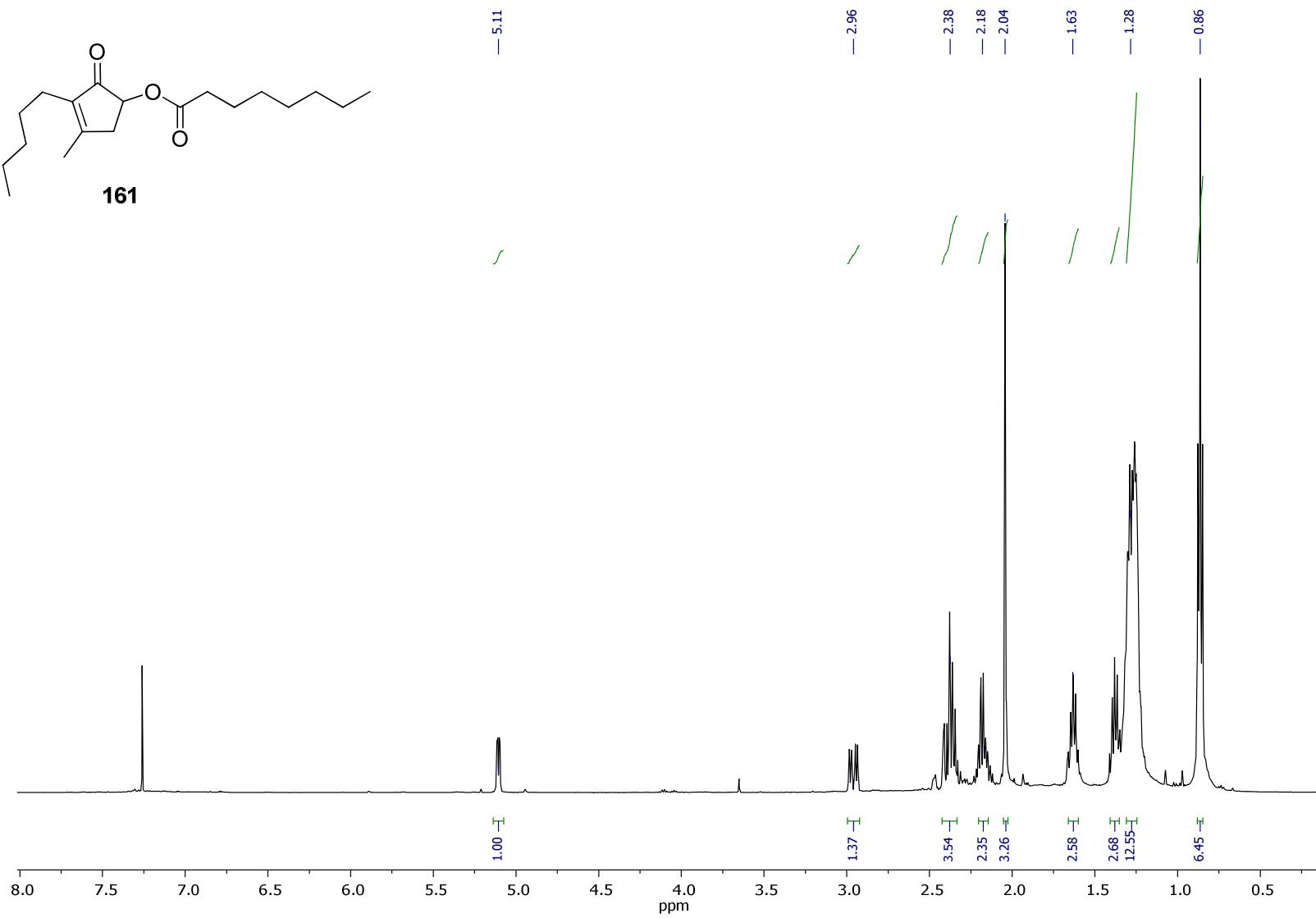


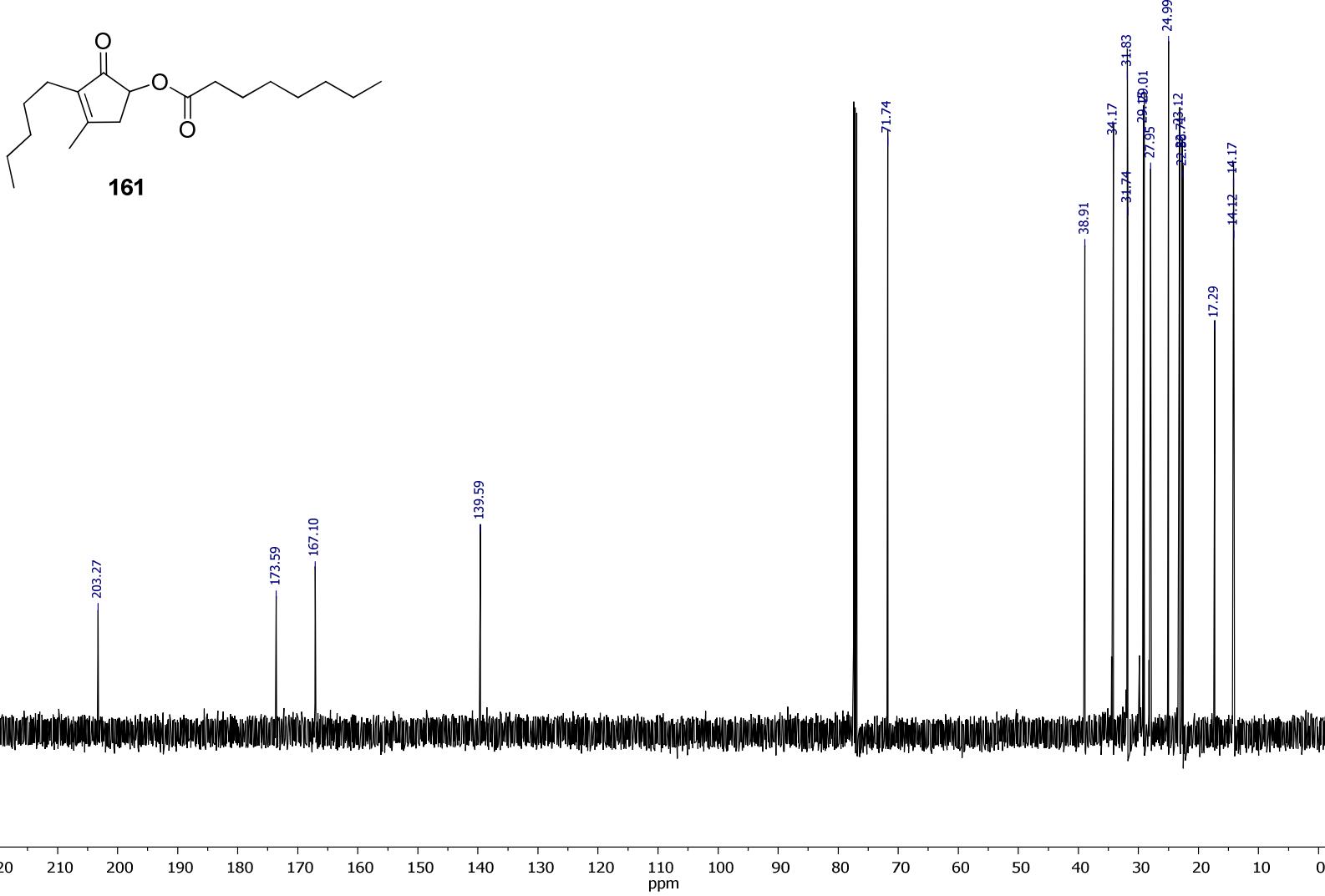


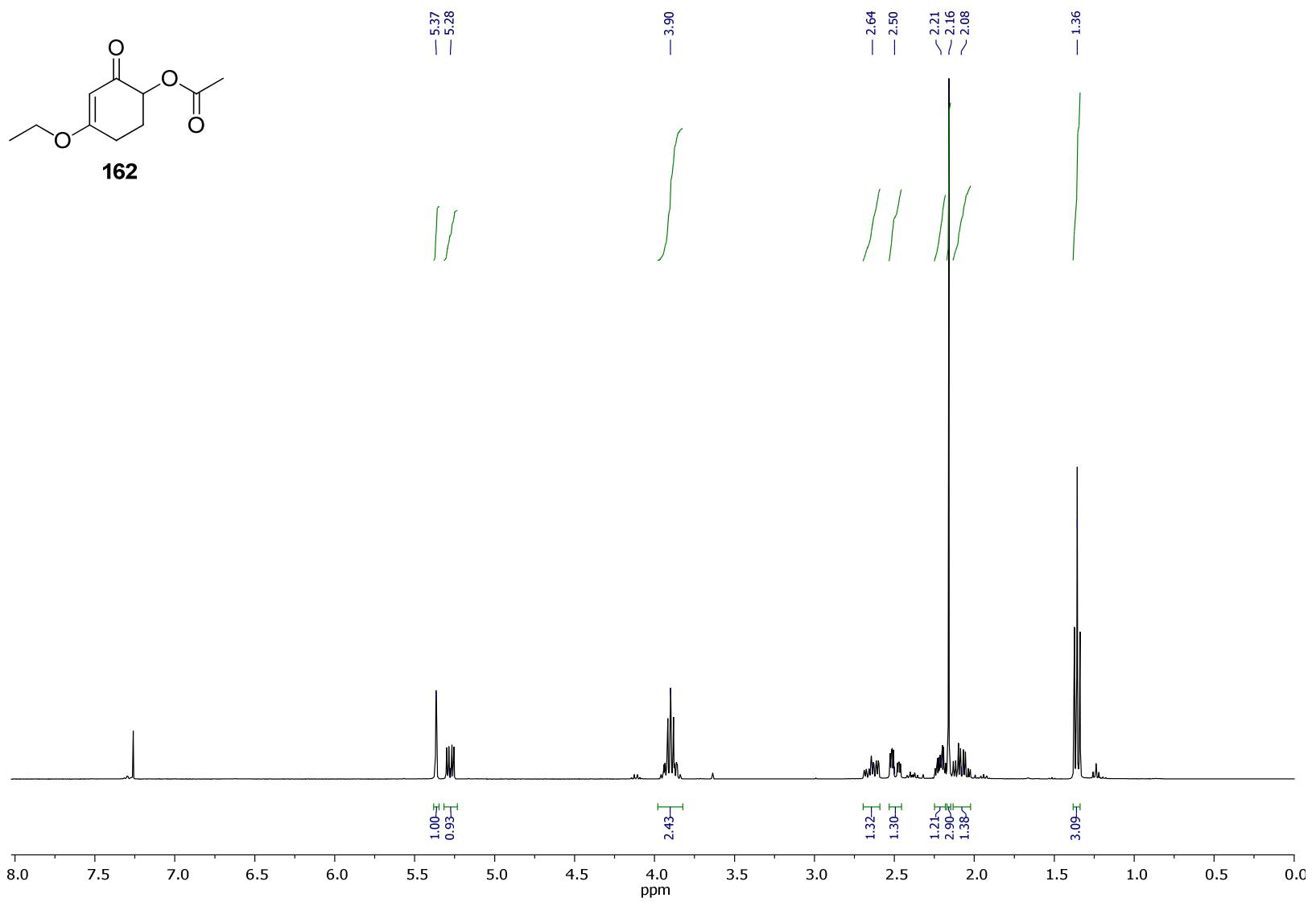


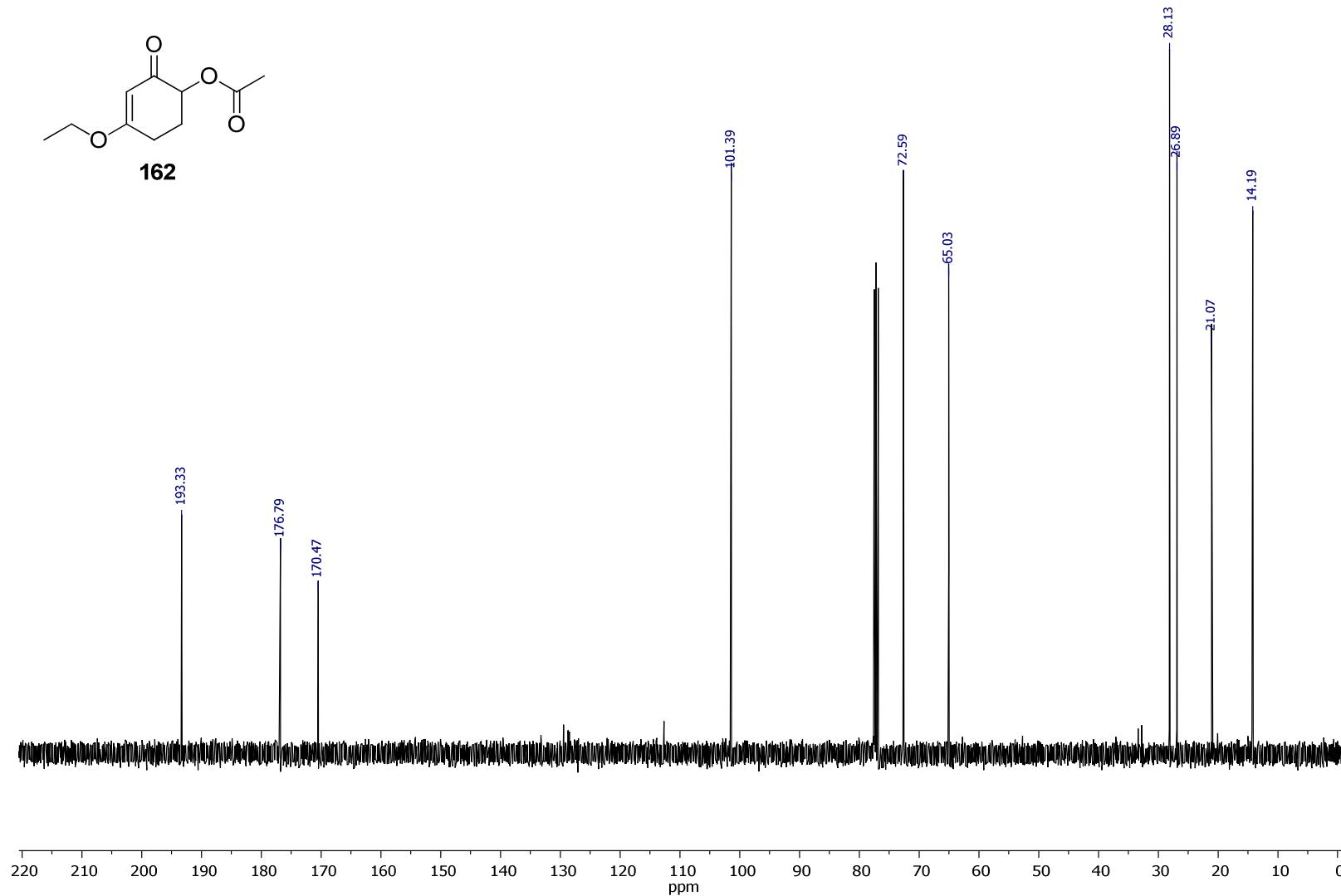
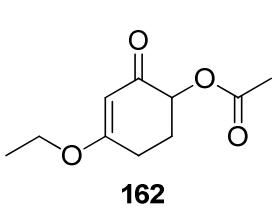
237

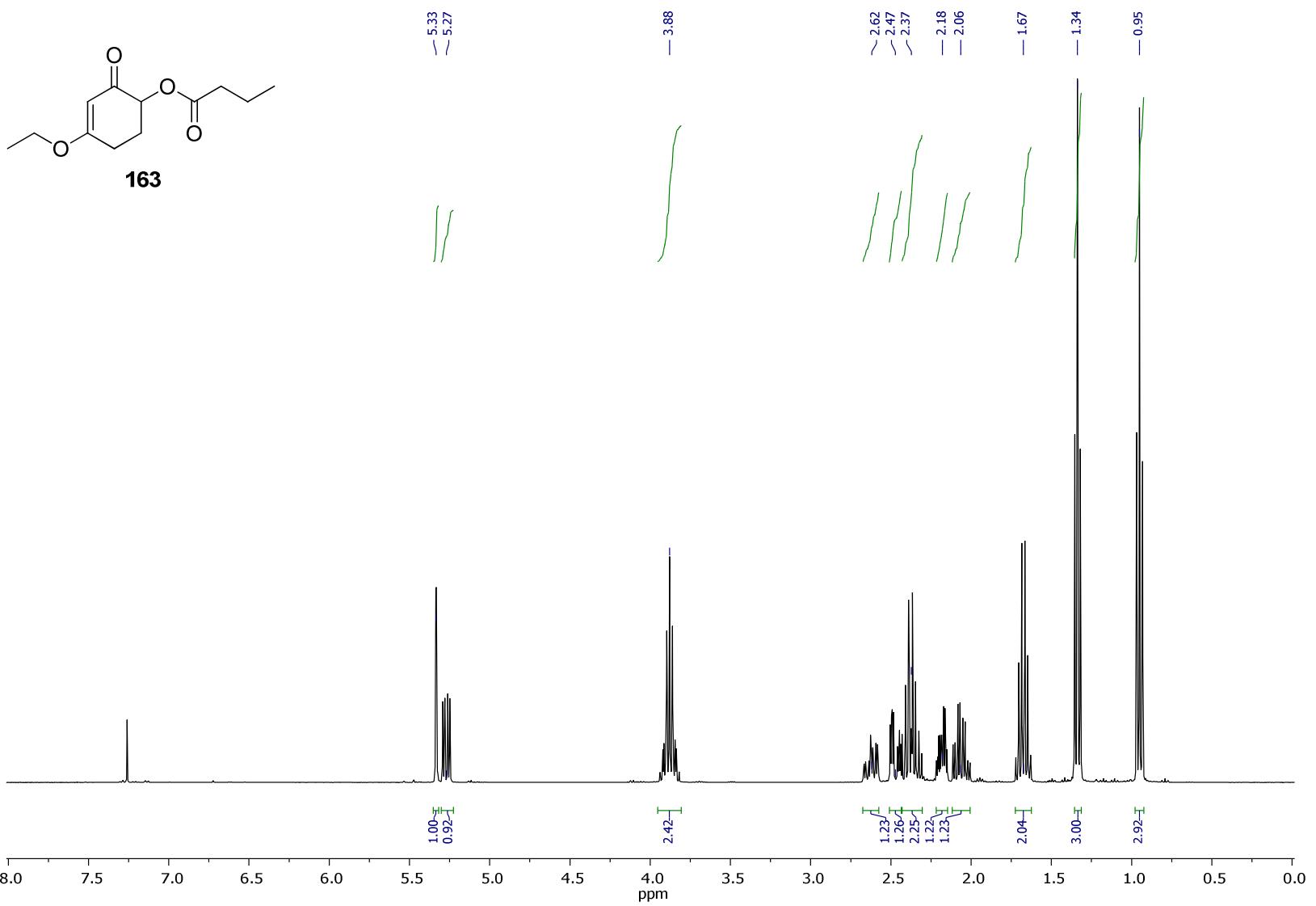


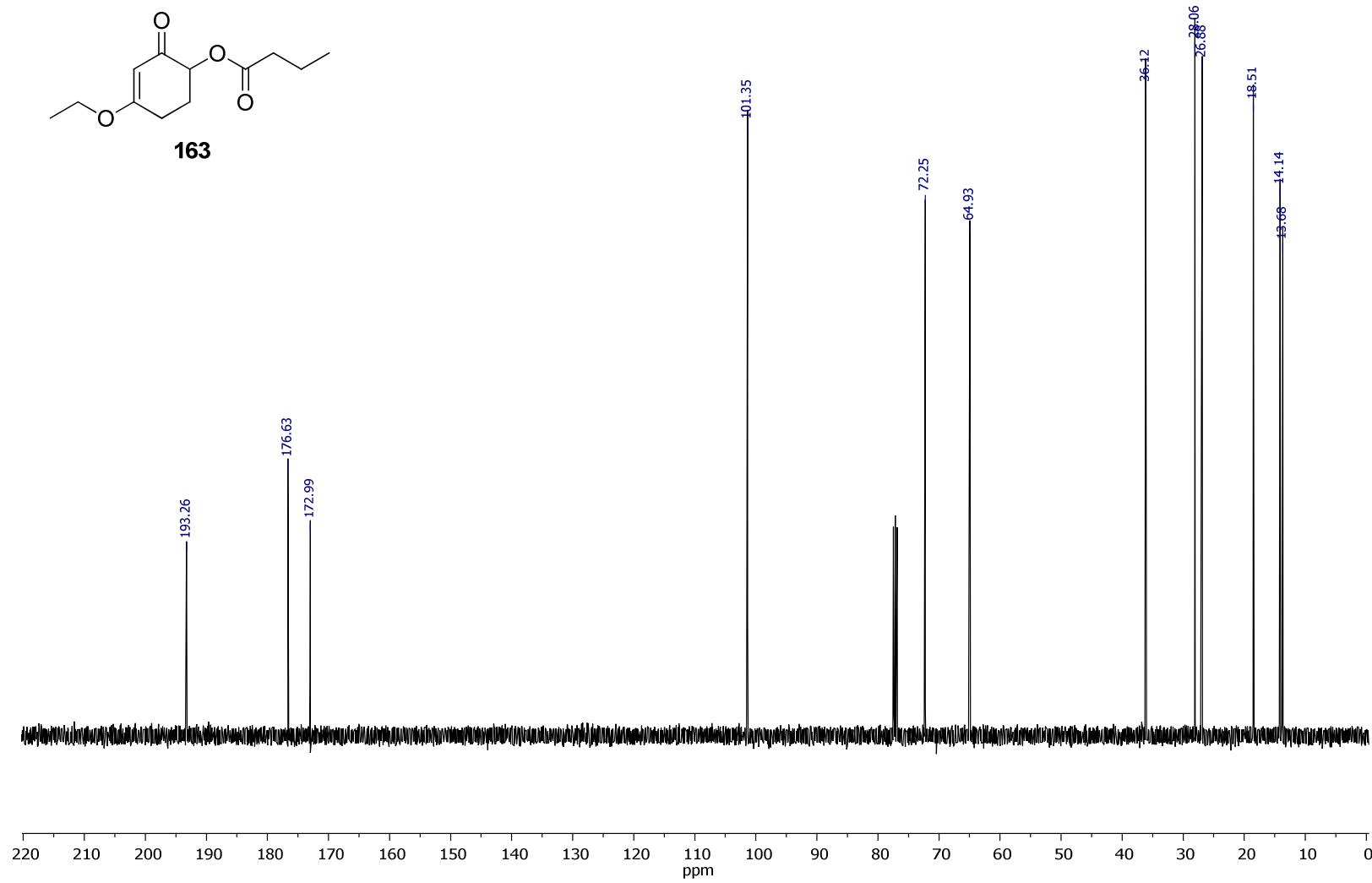
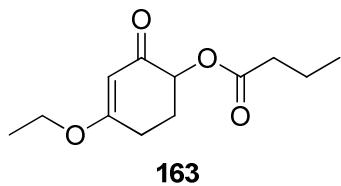


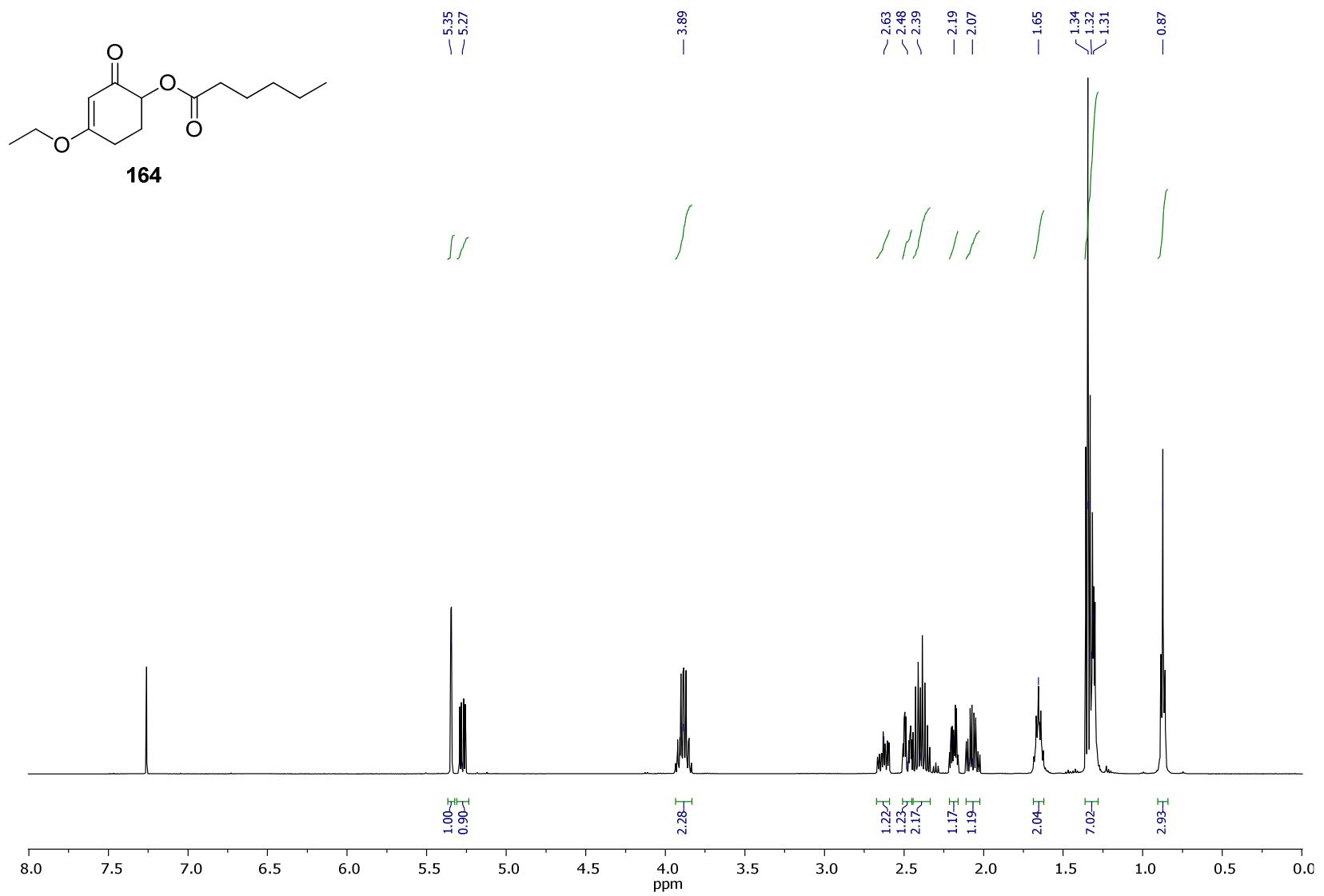




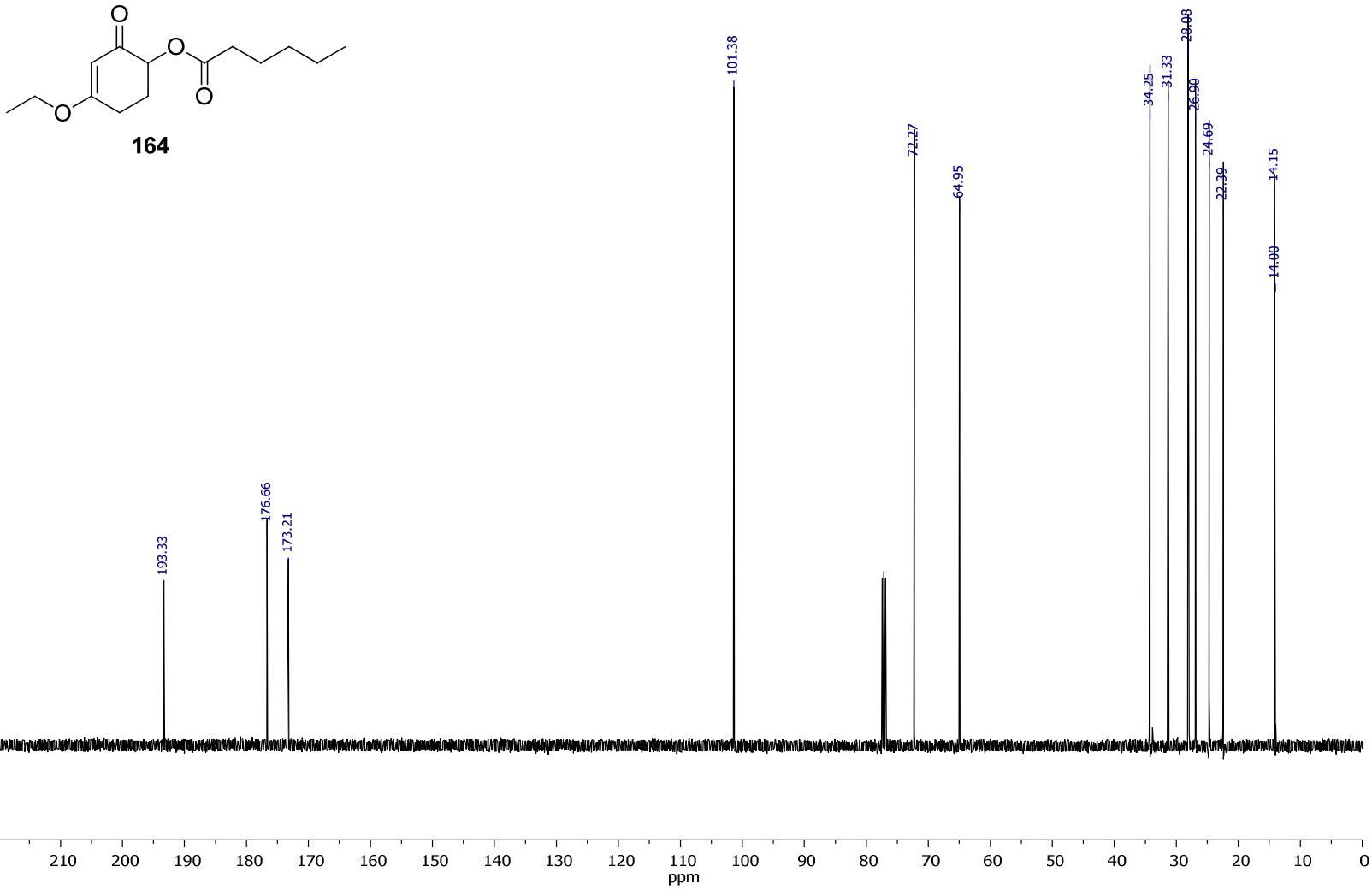


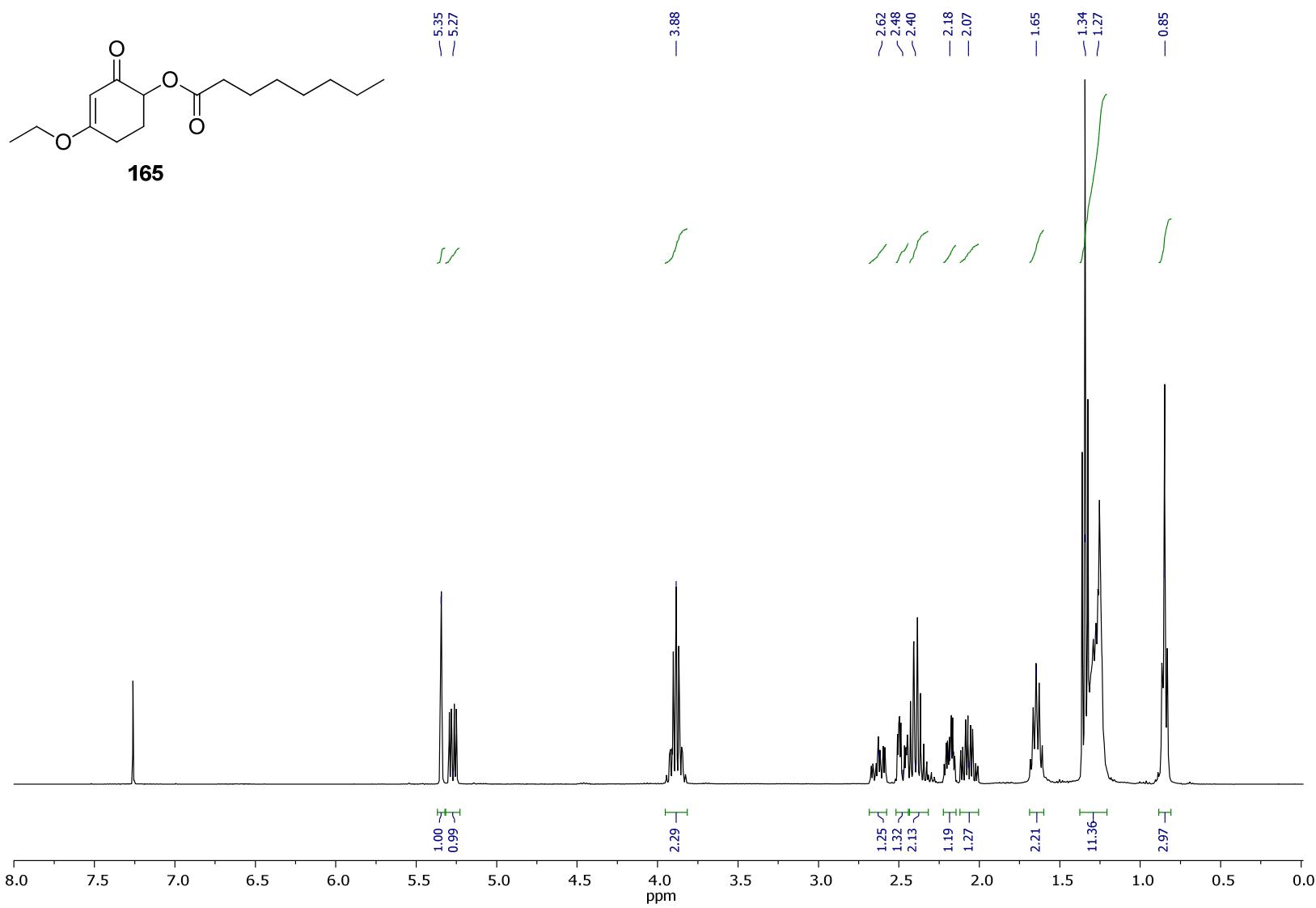




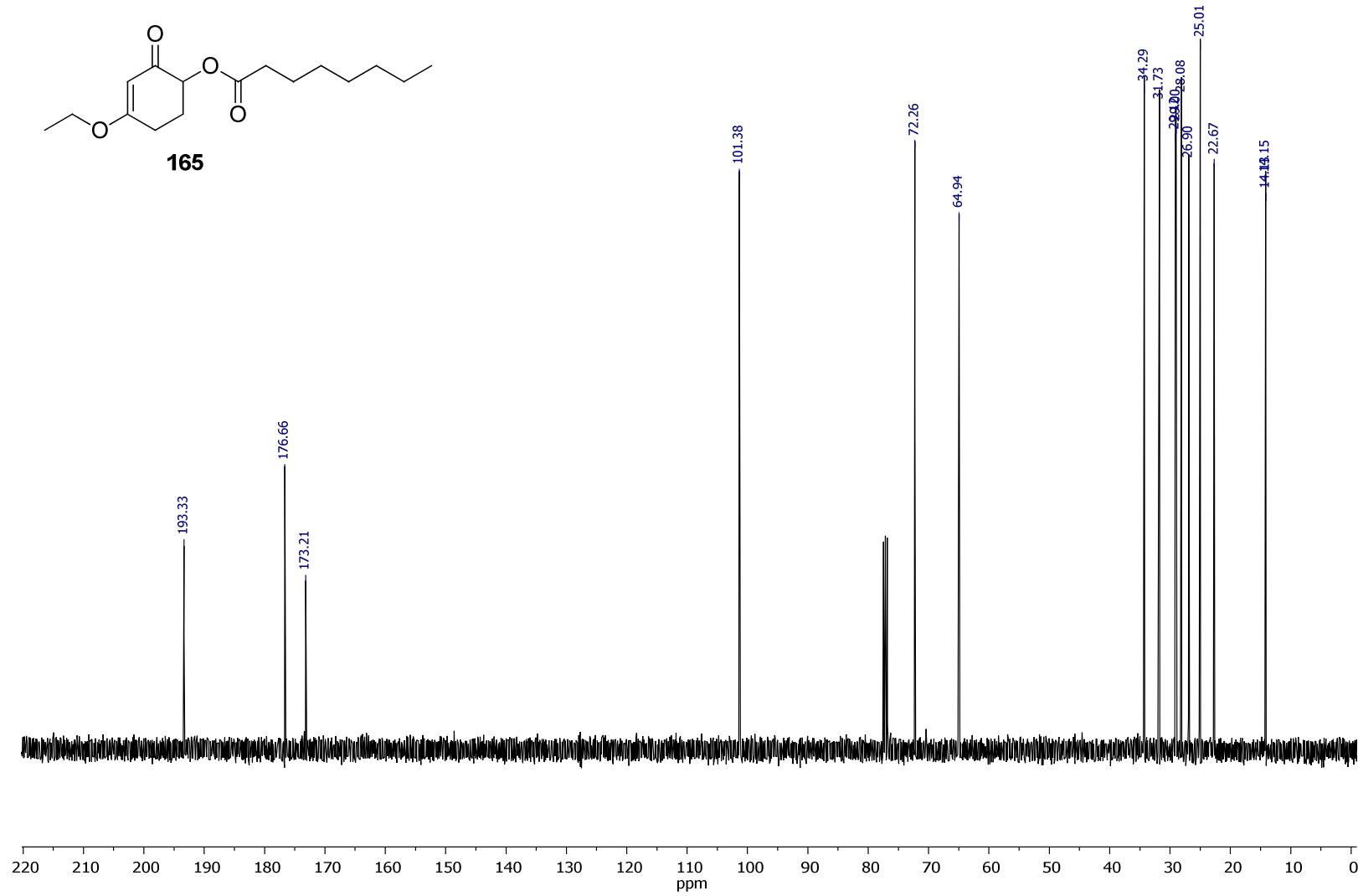
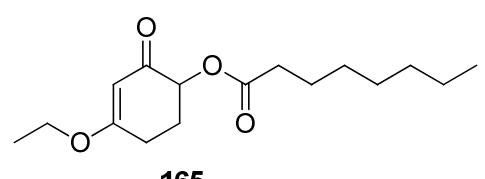


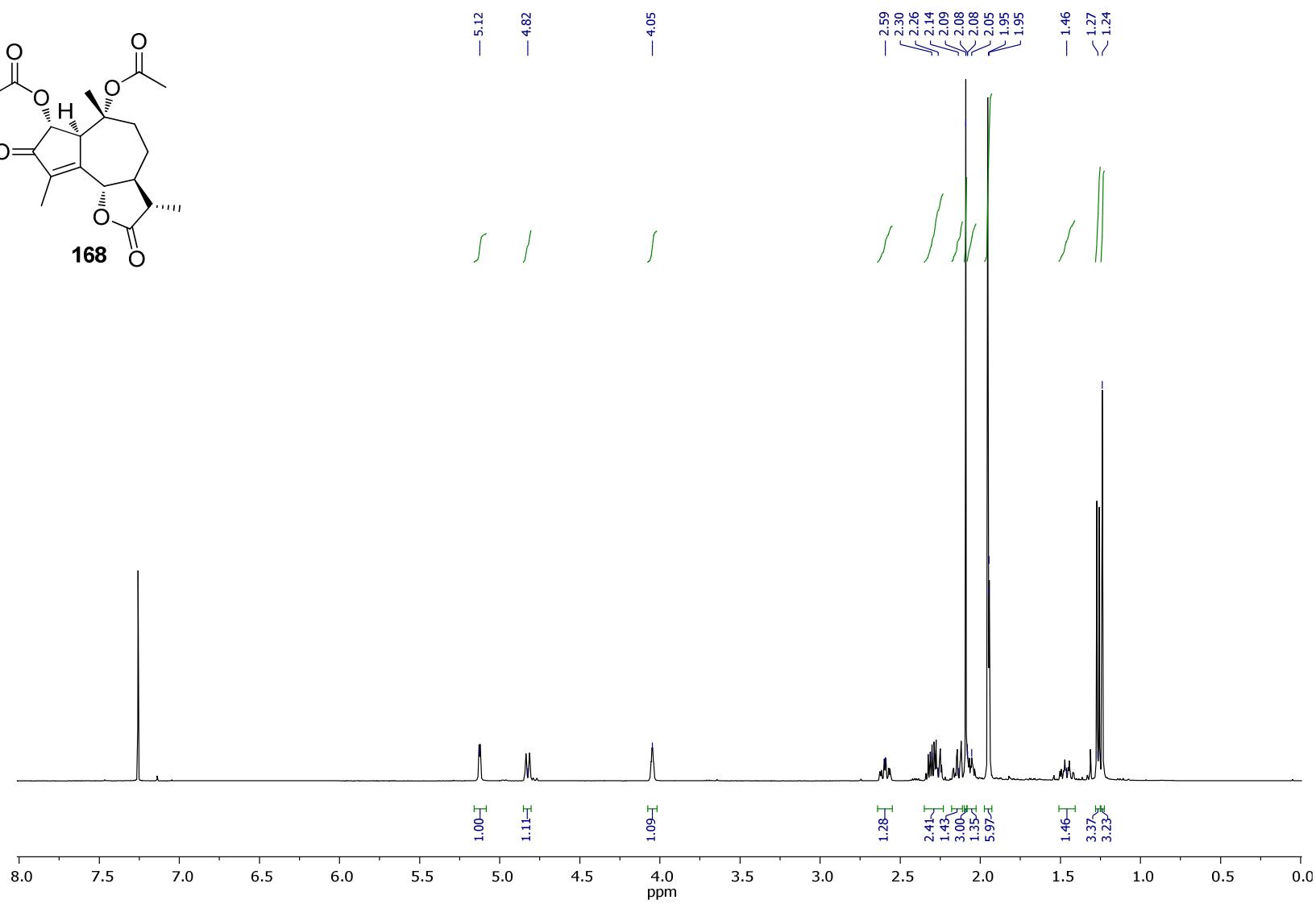
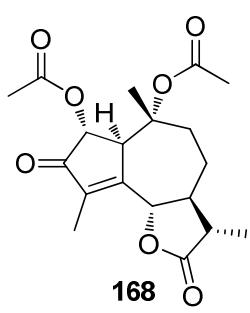
245

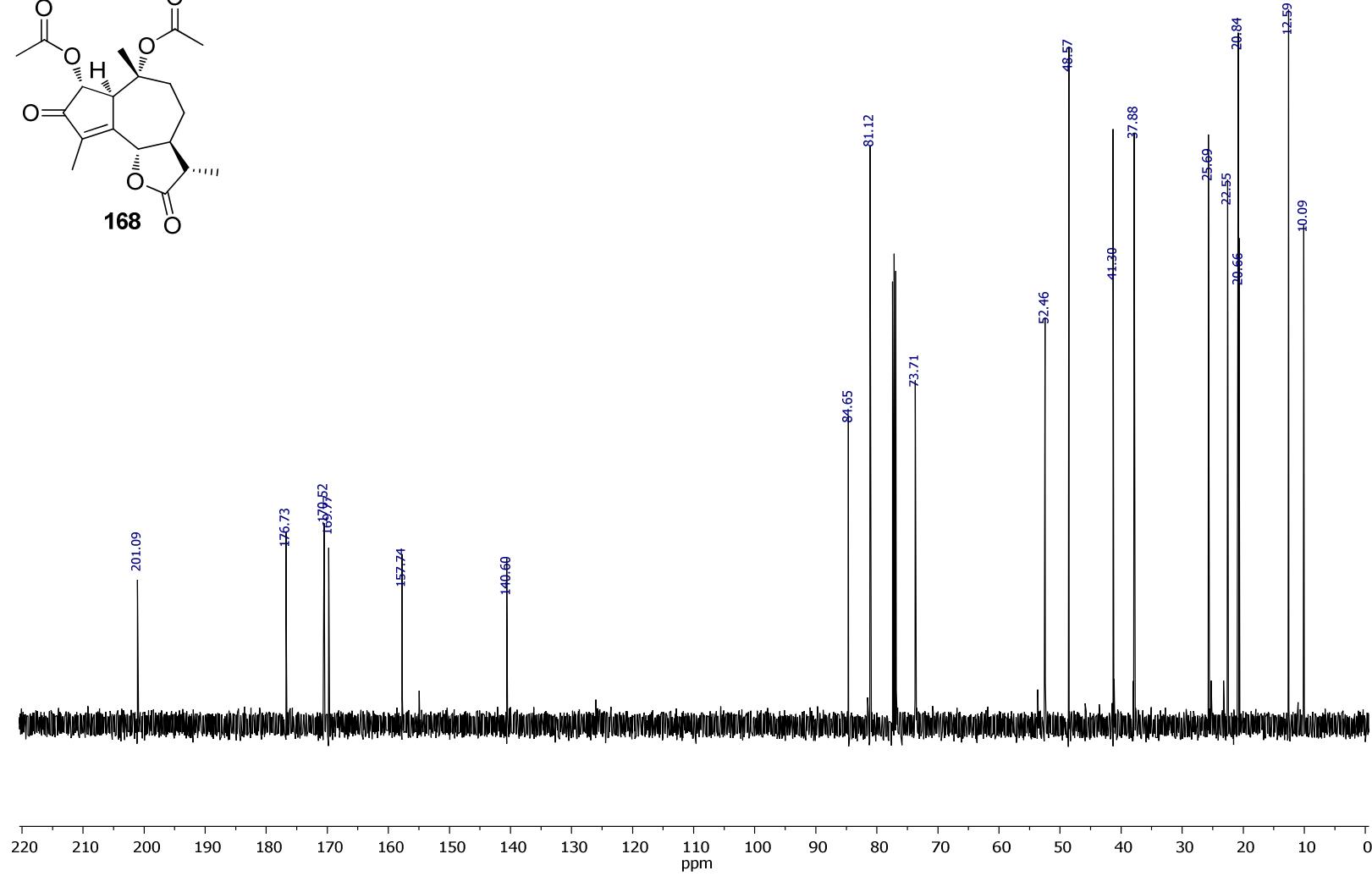
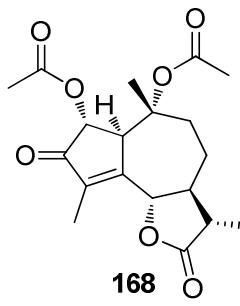


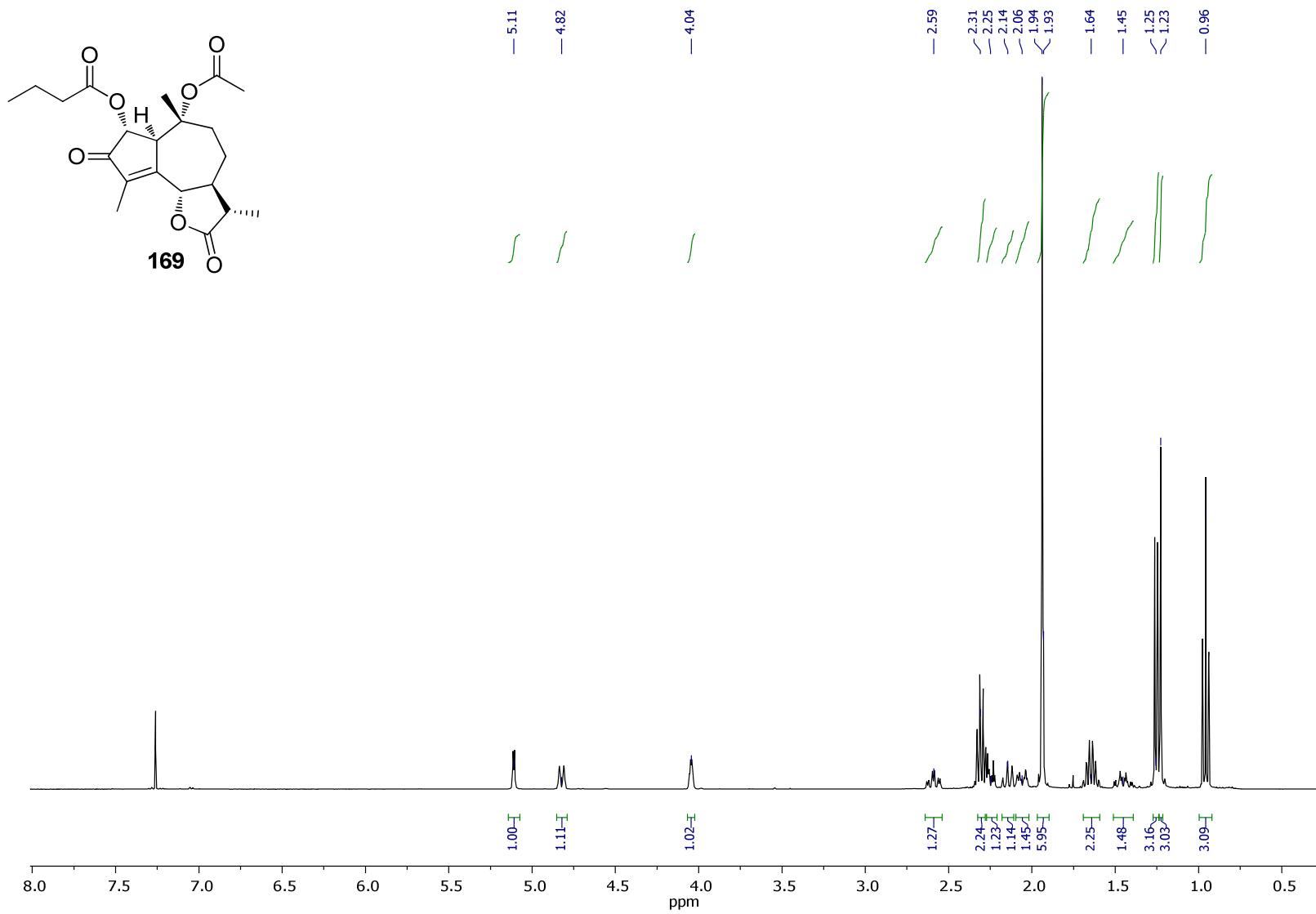


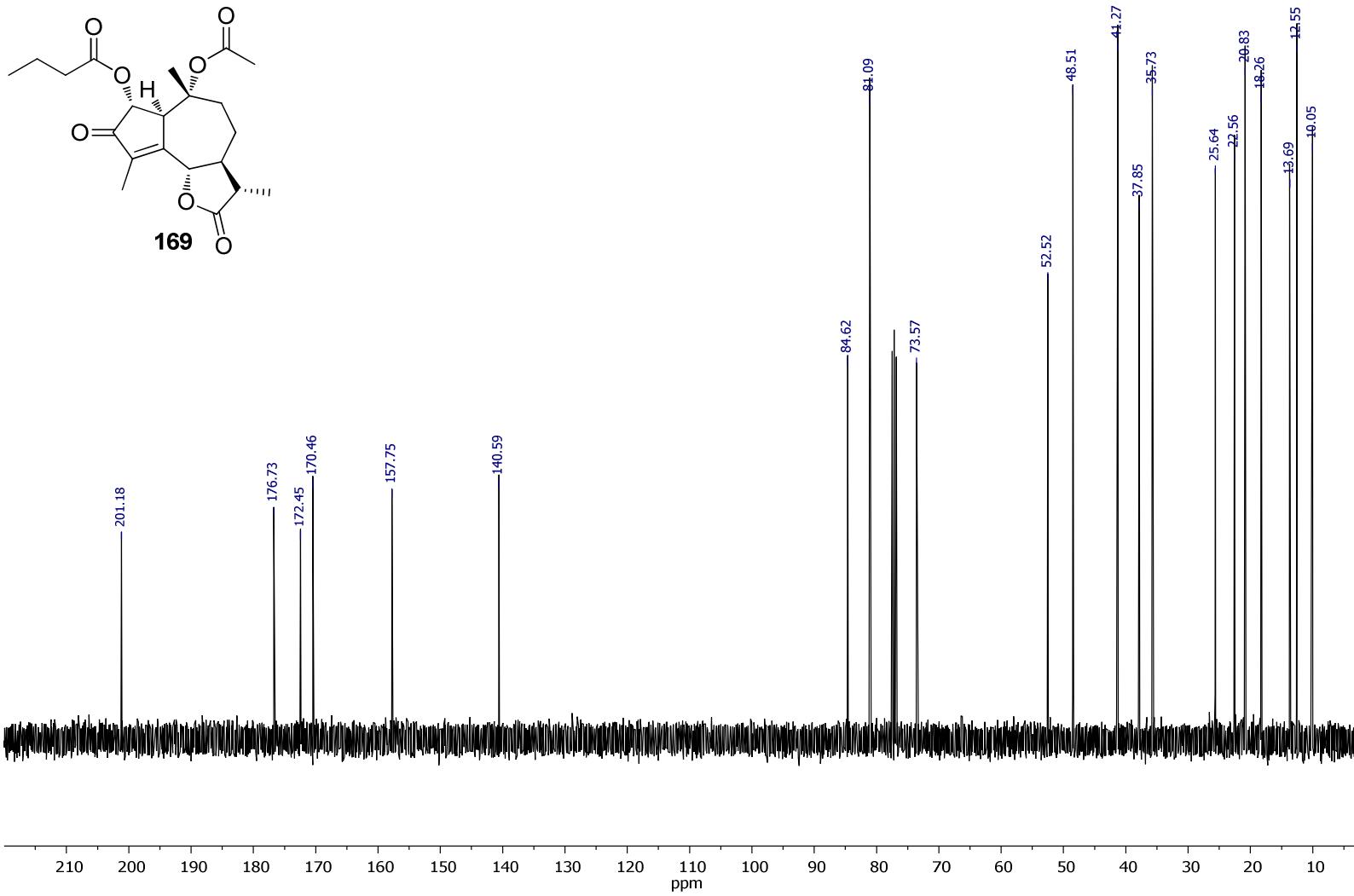
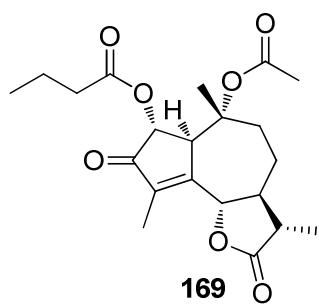
247

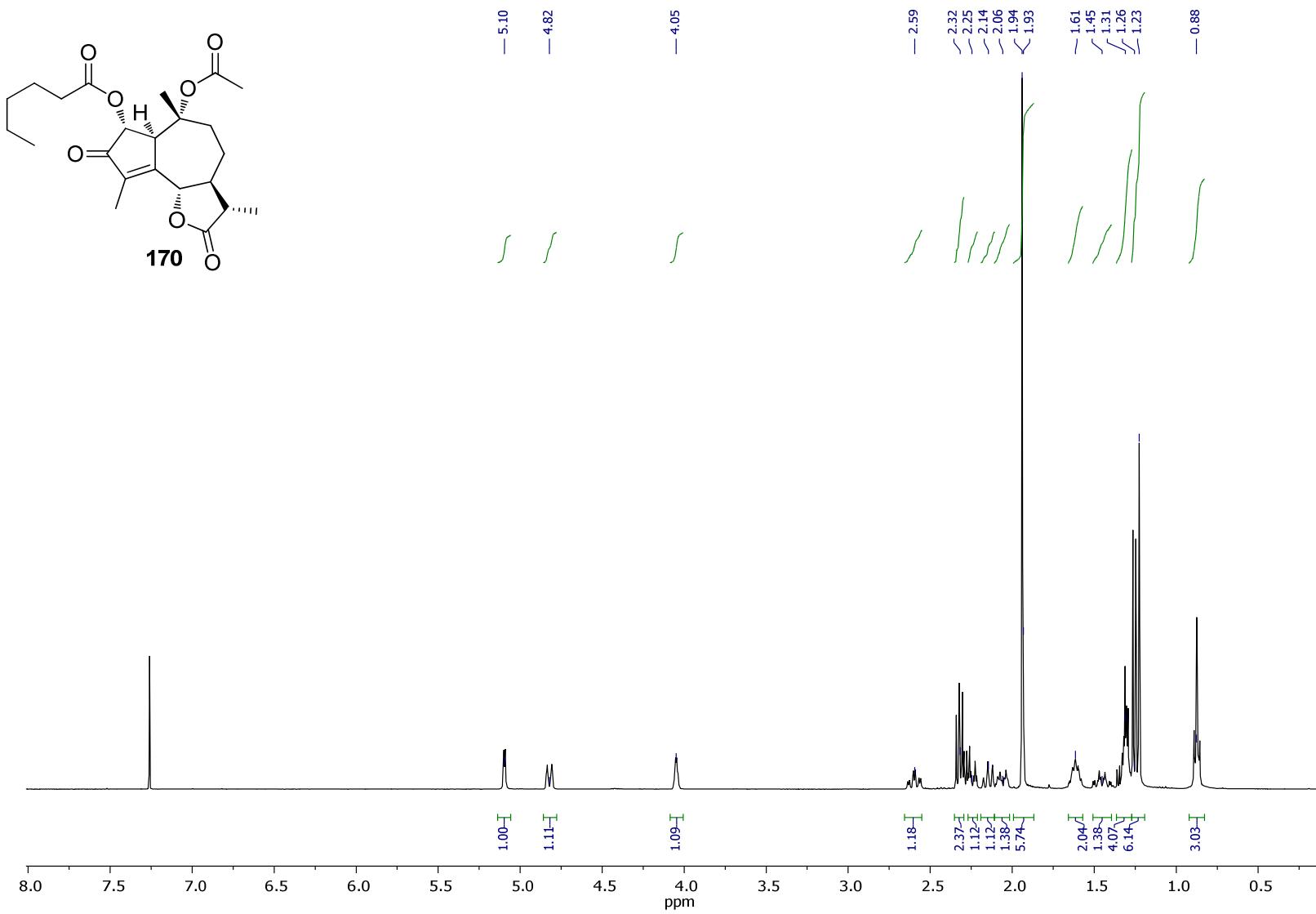


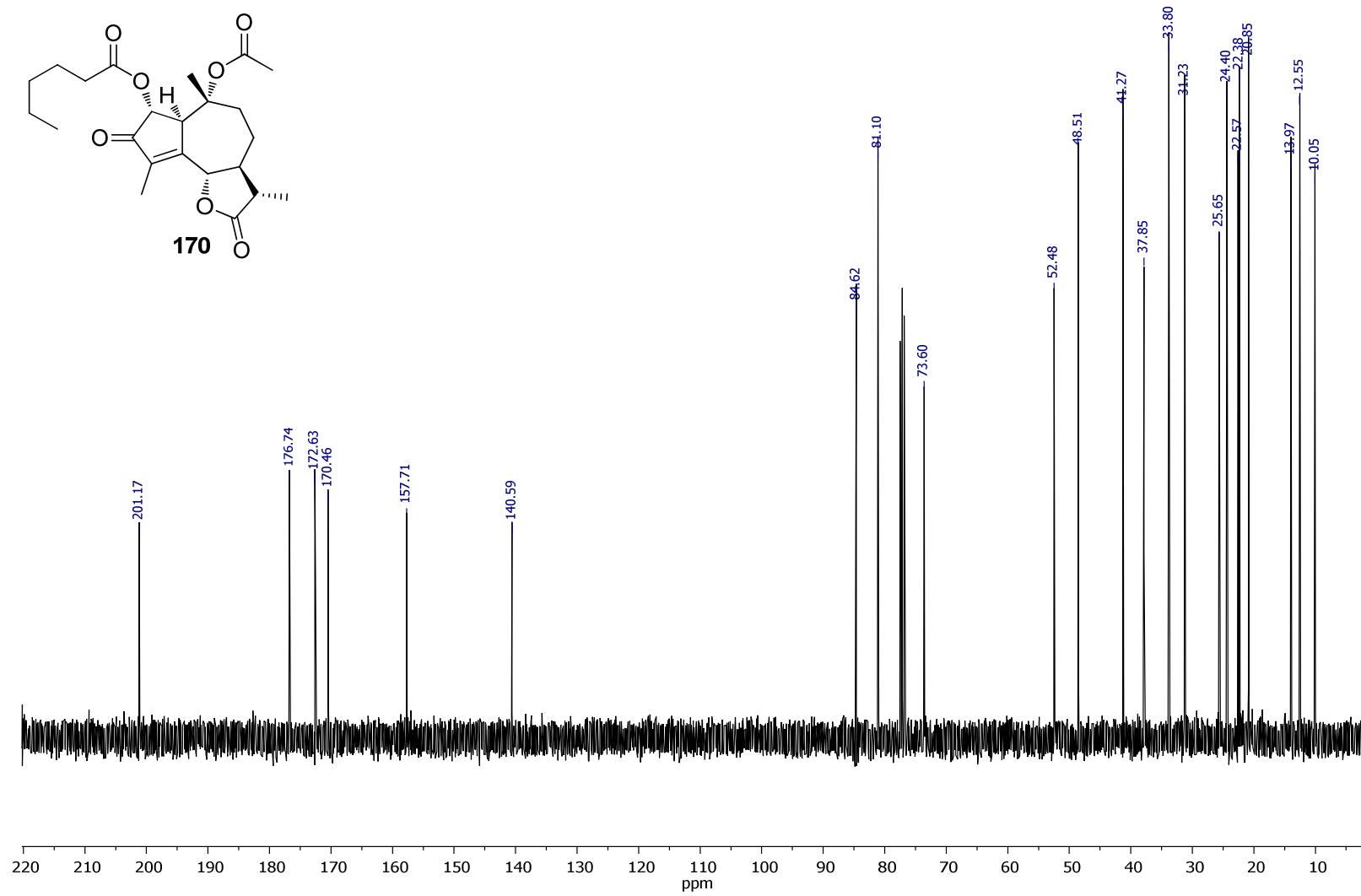
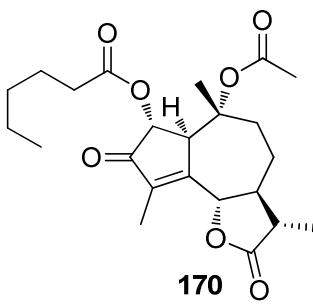


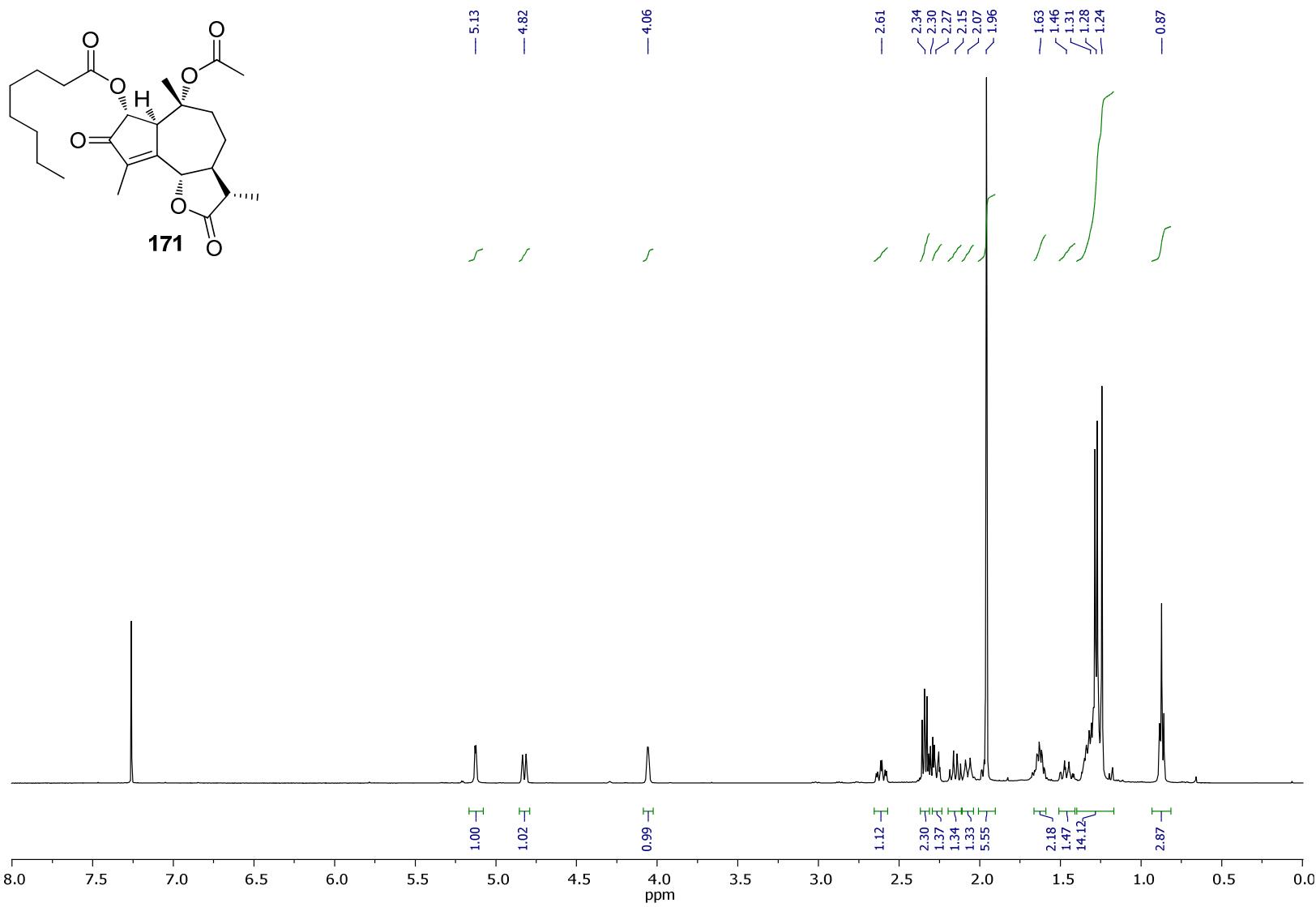


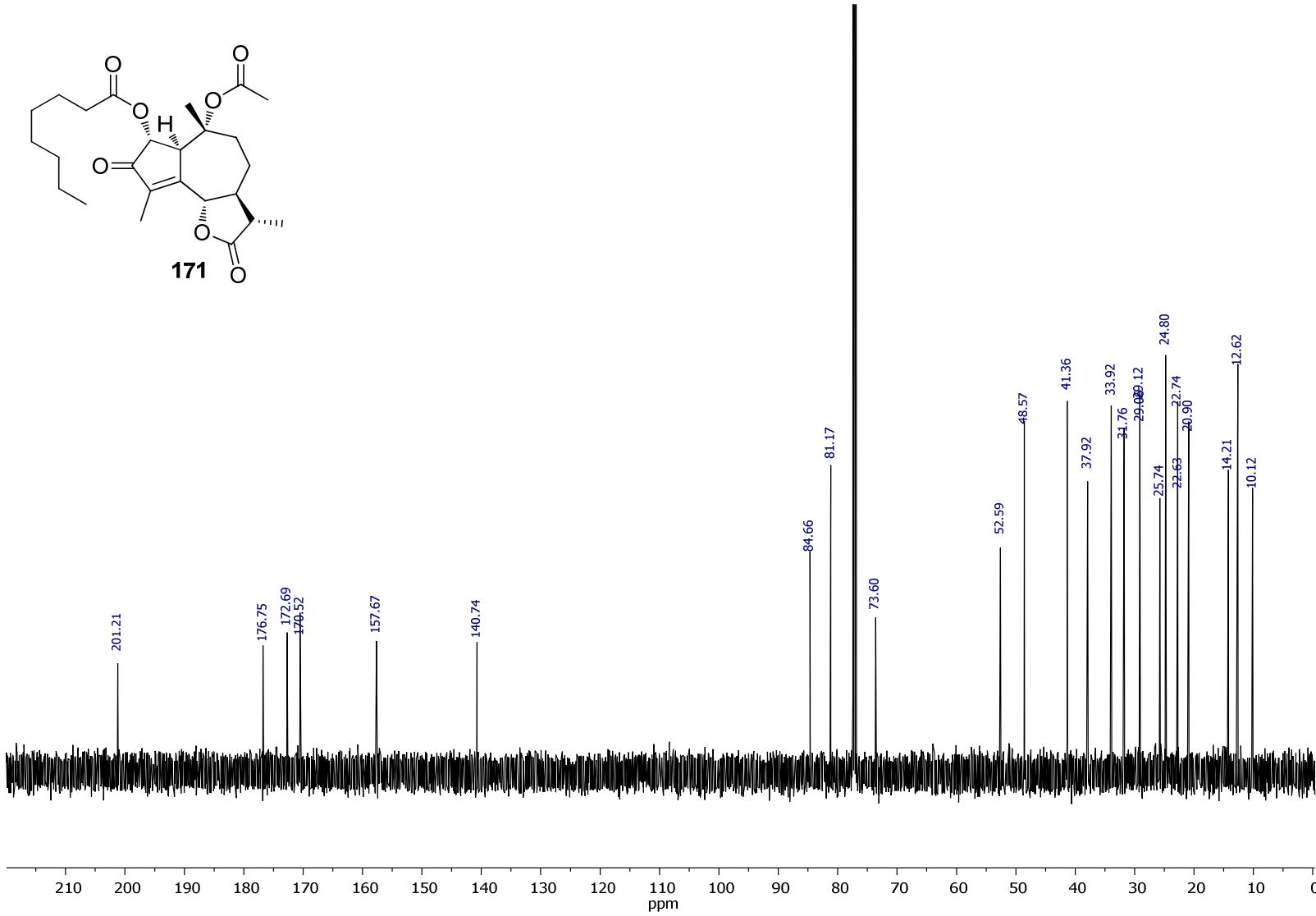
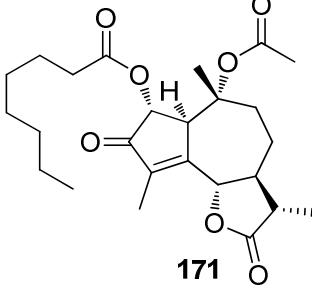


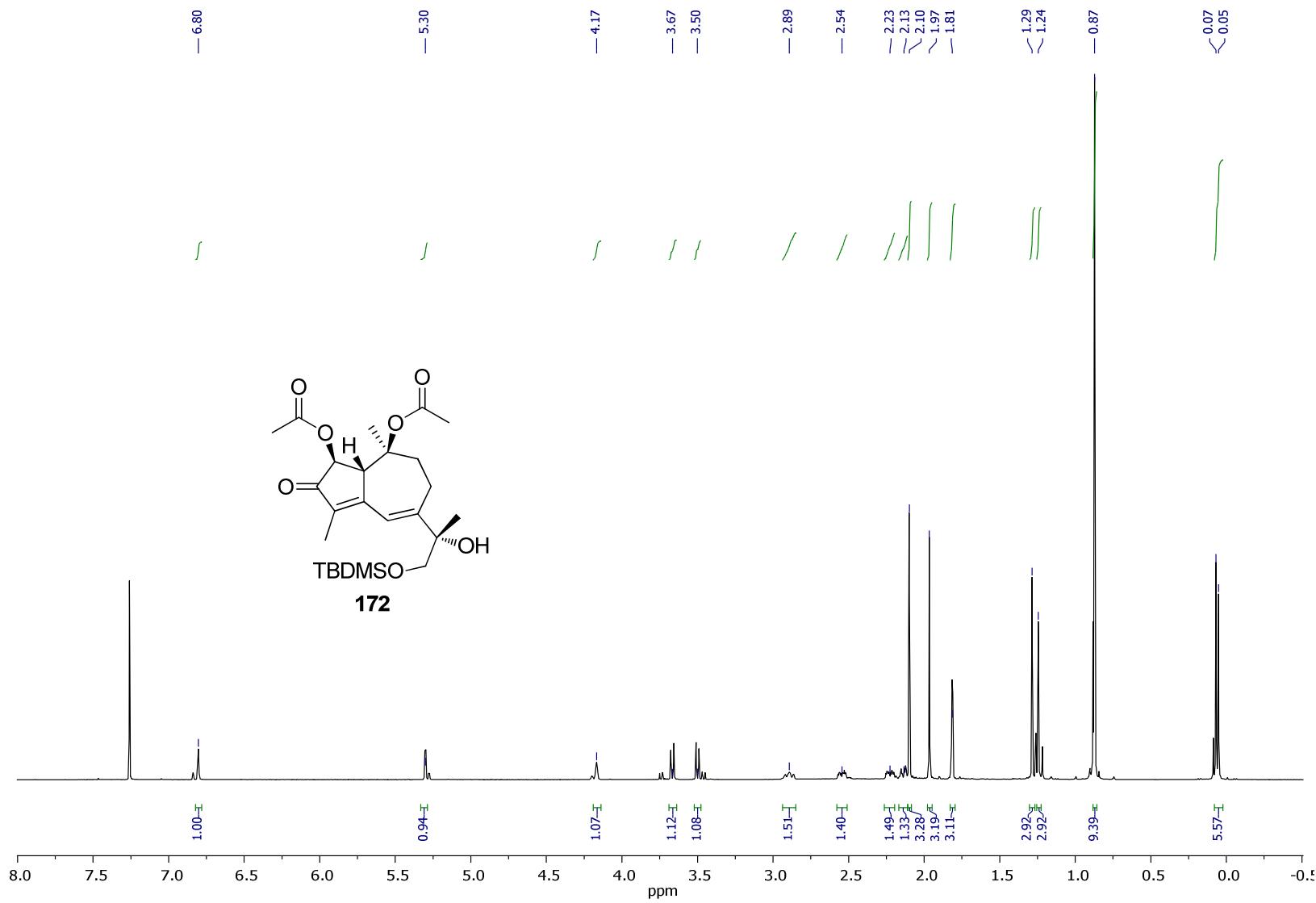


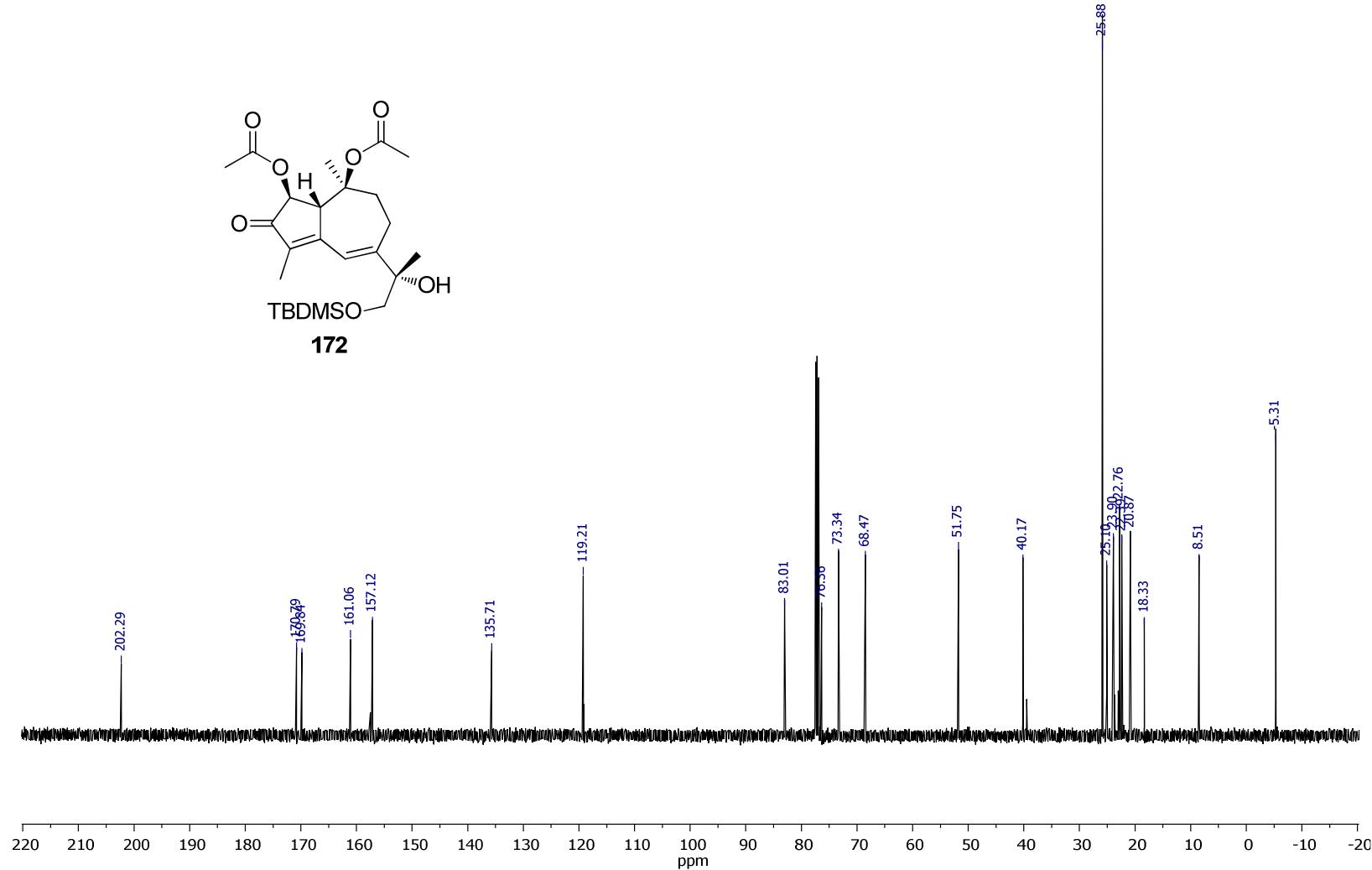
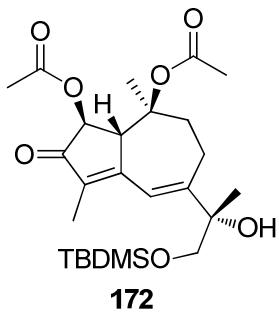


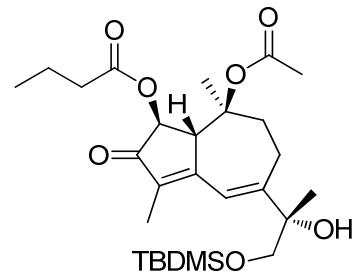




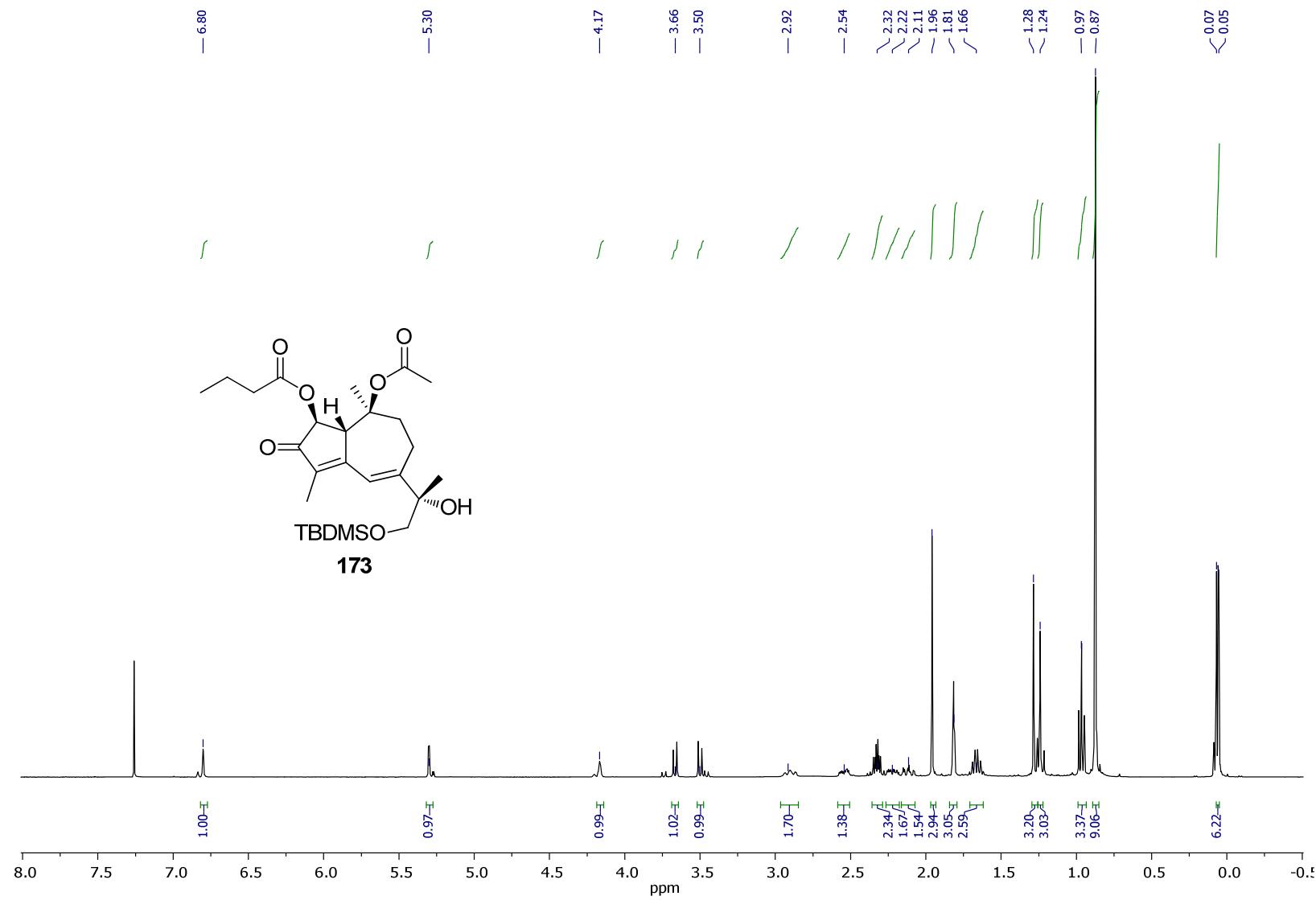




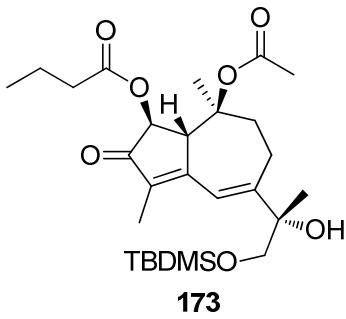




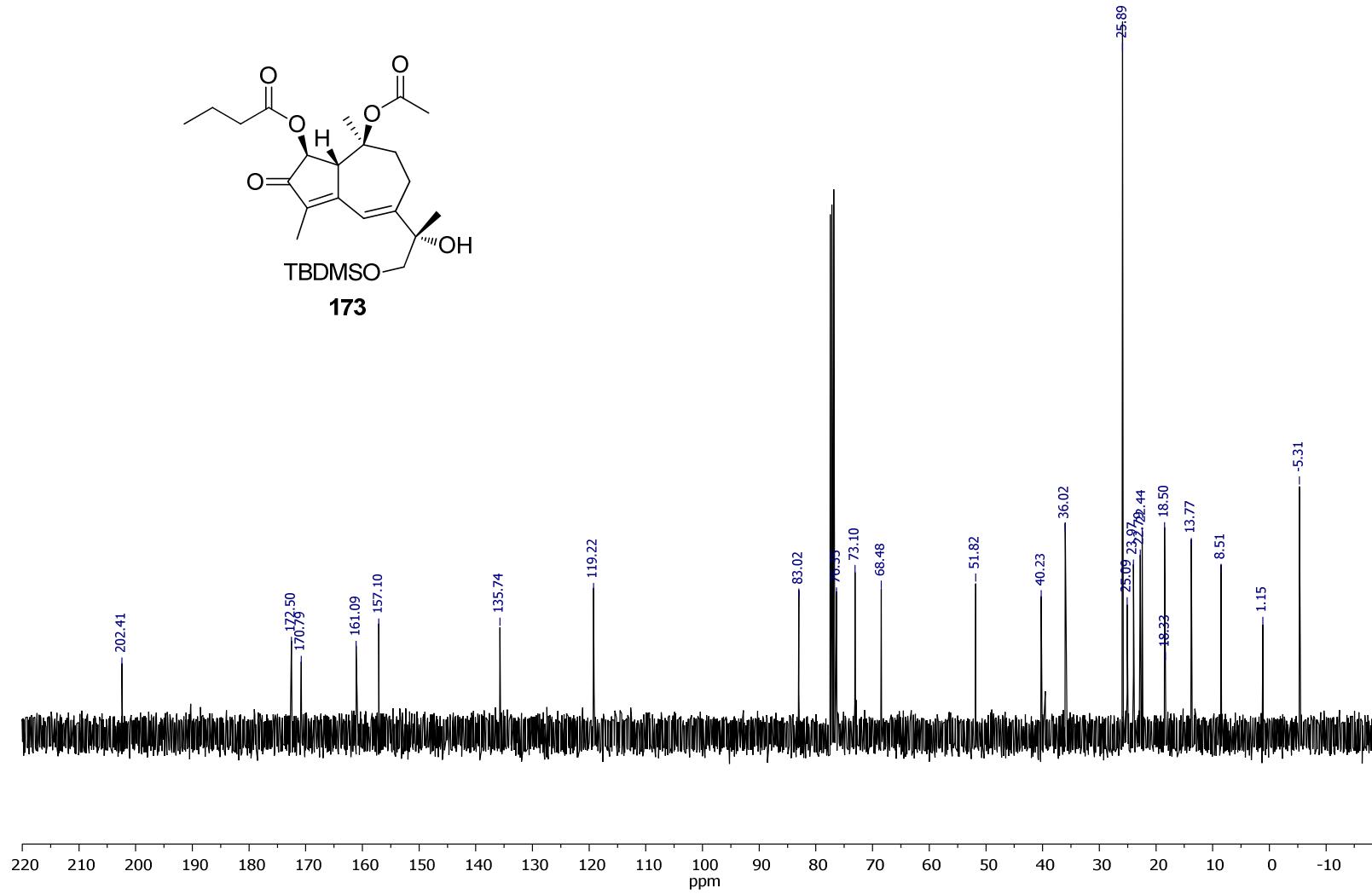
173

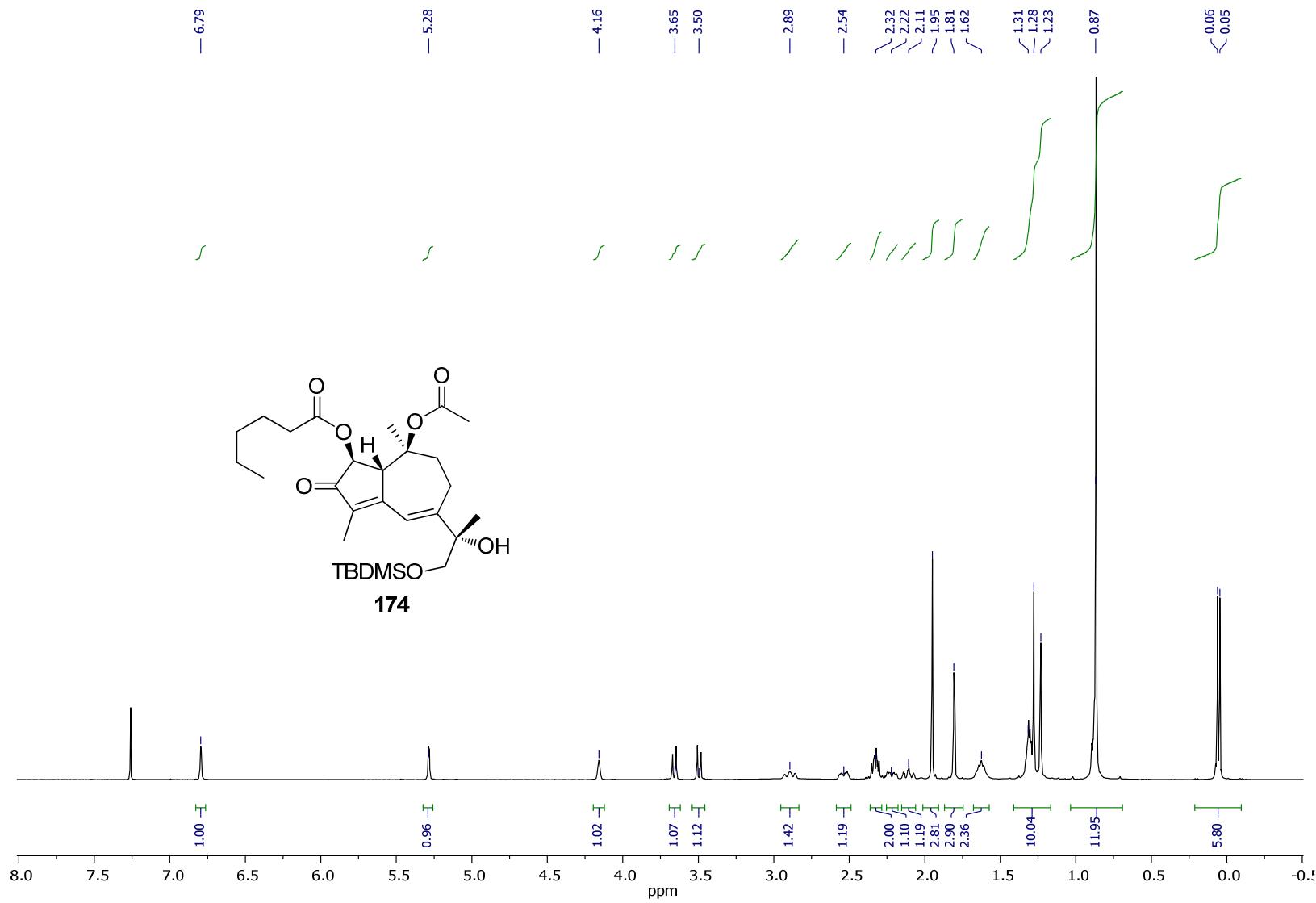


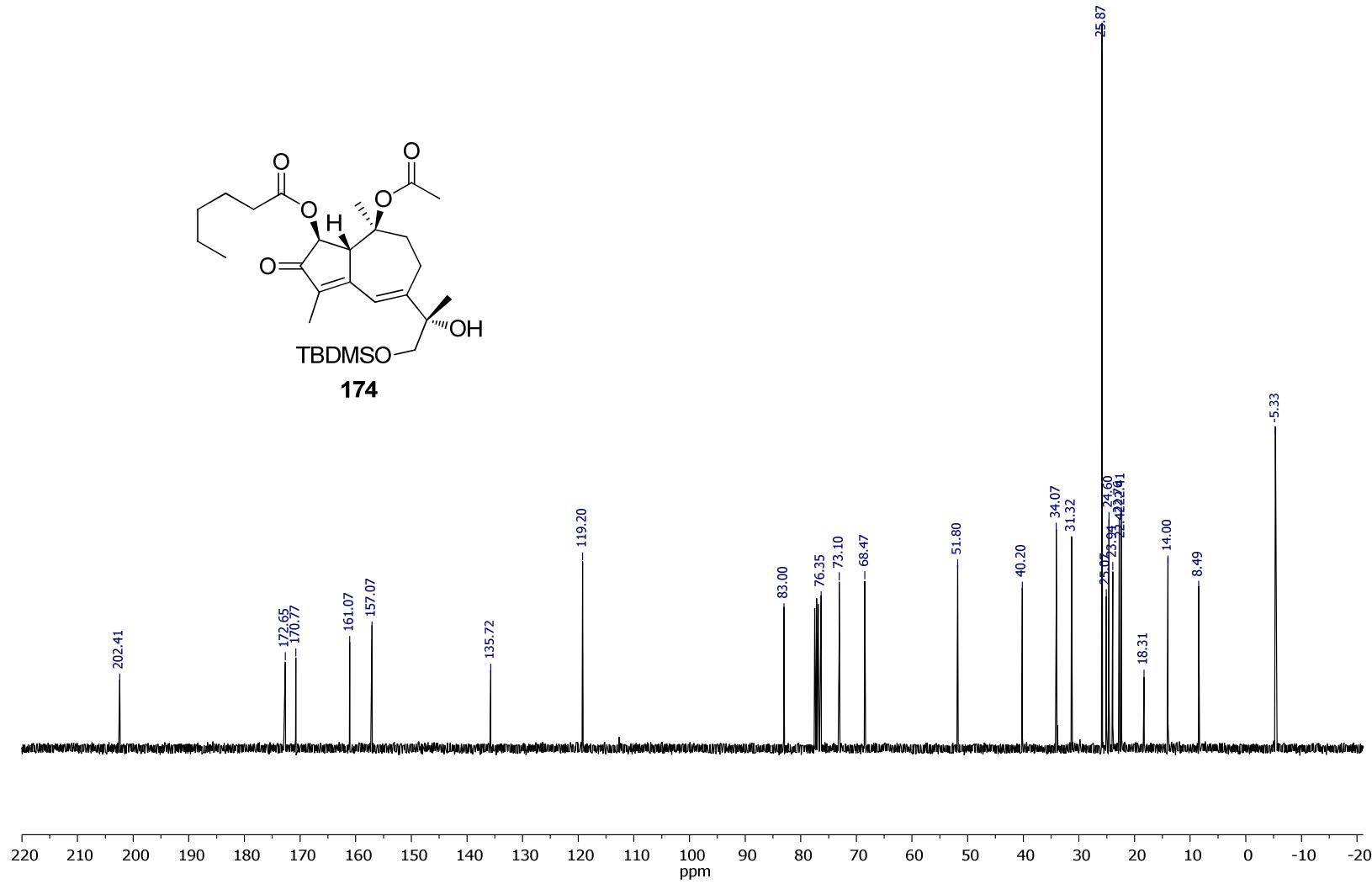
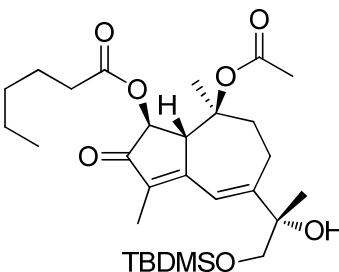
259

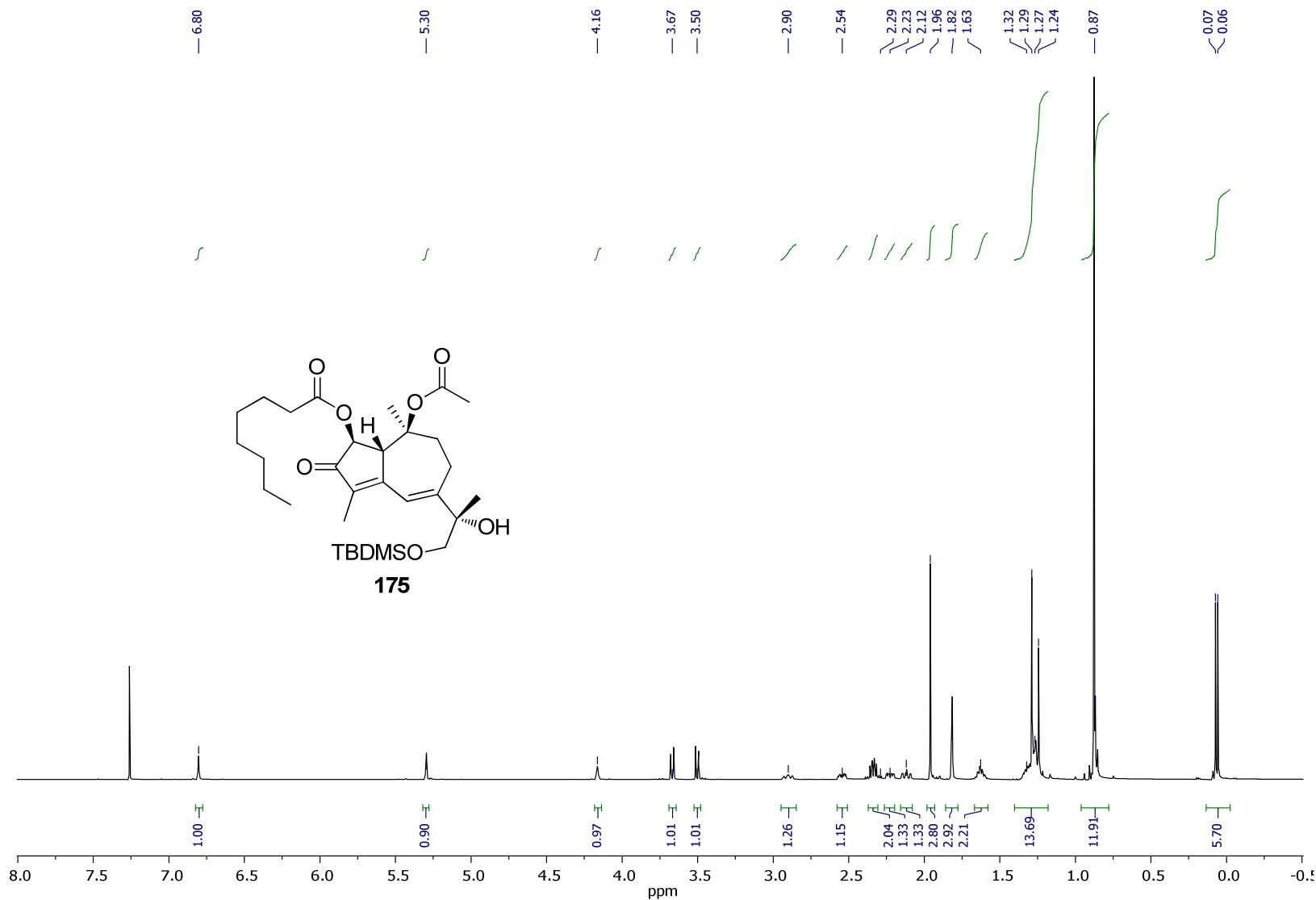


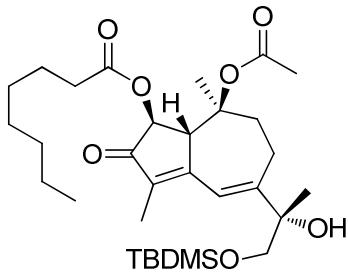
**173**



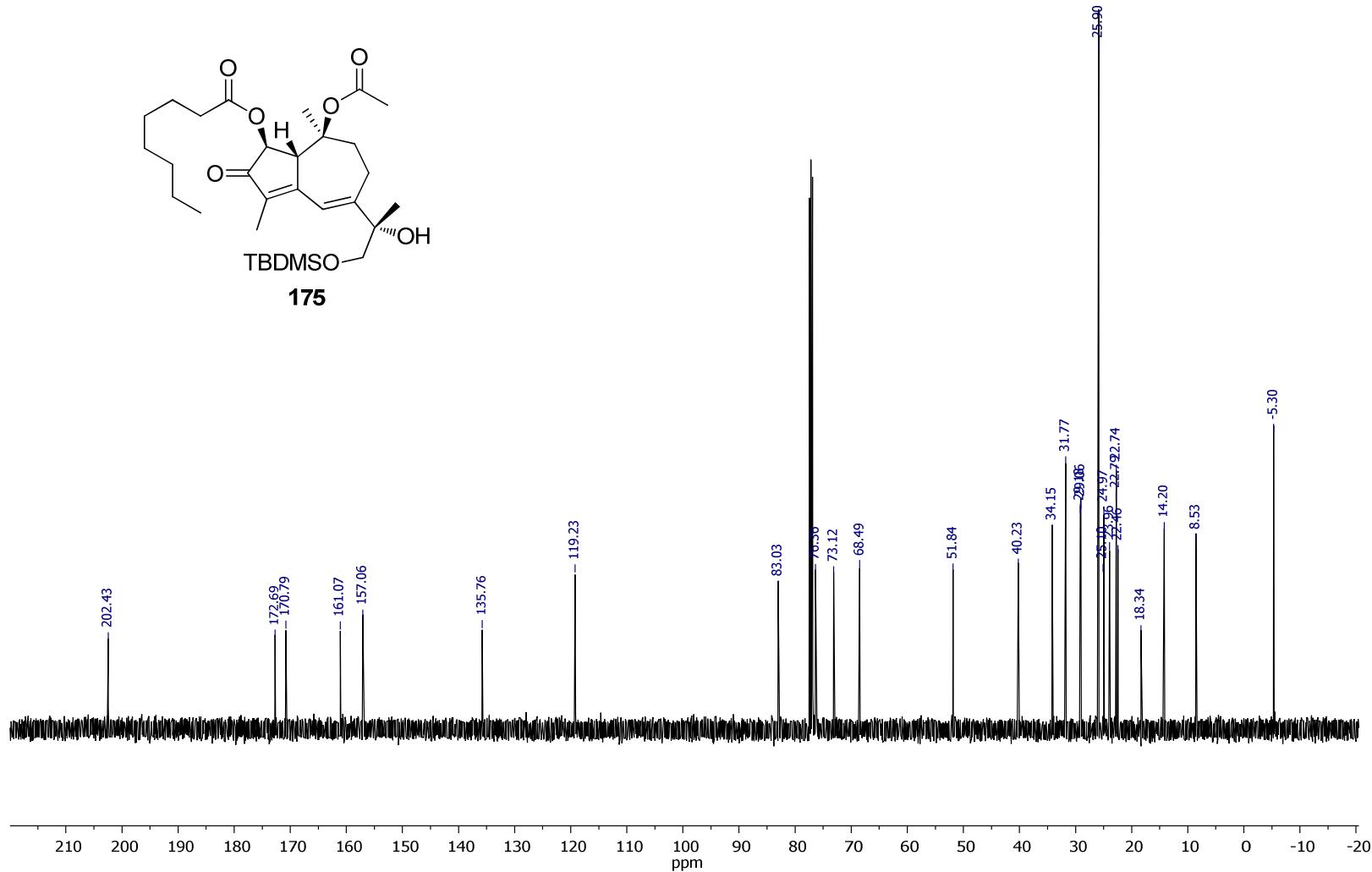


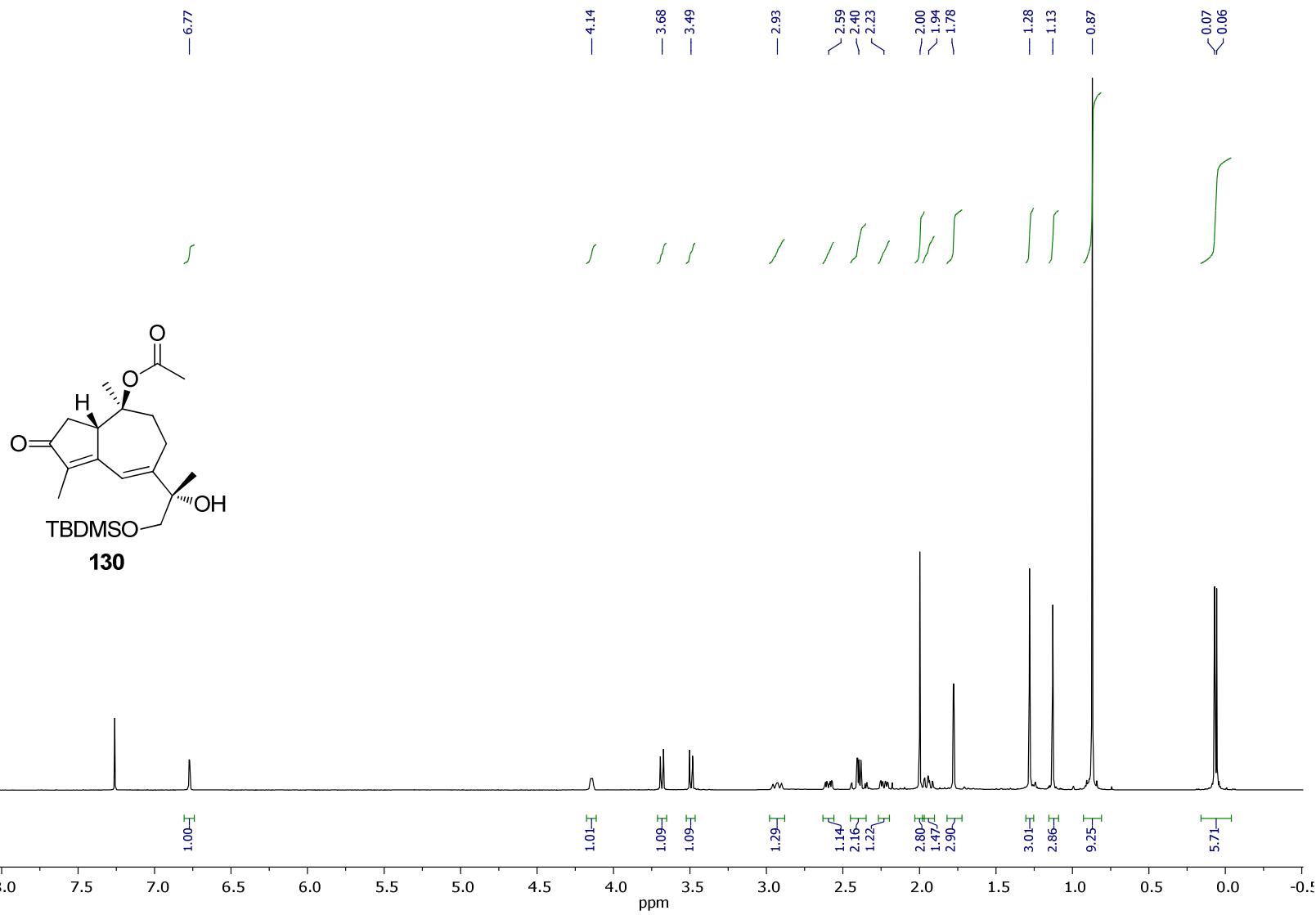


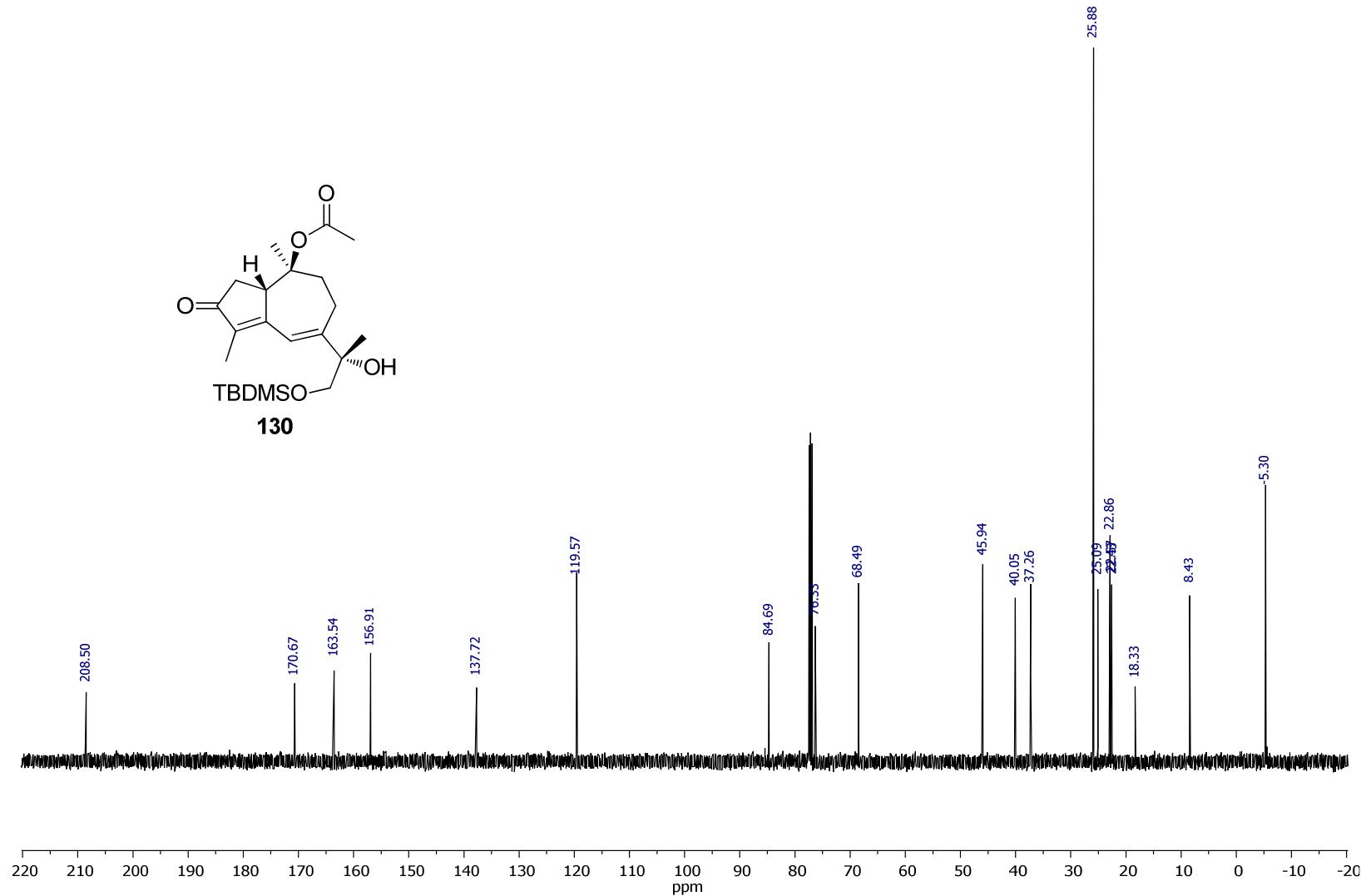
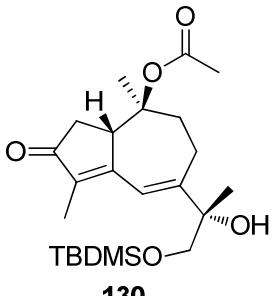


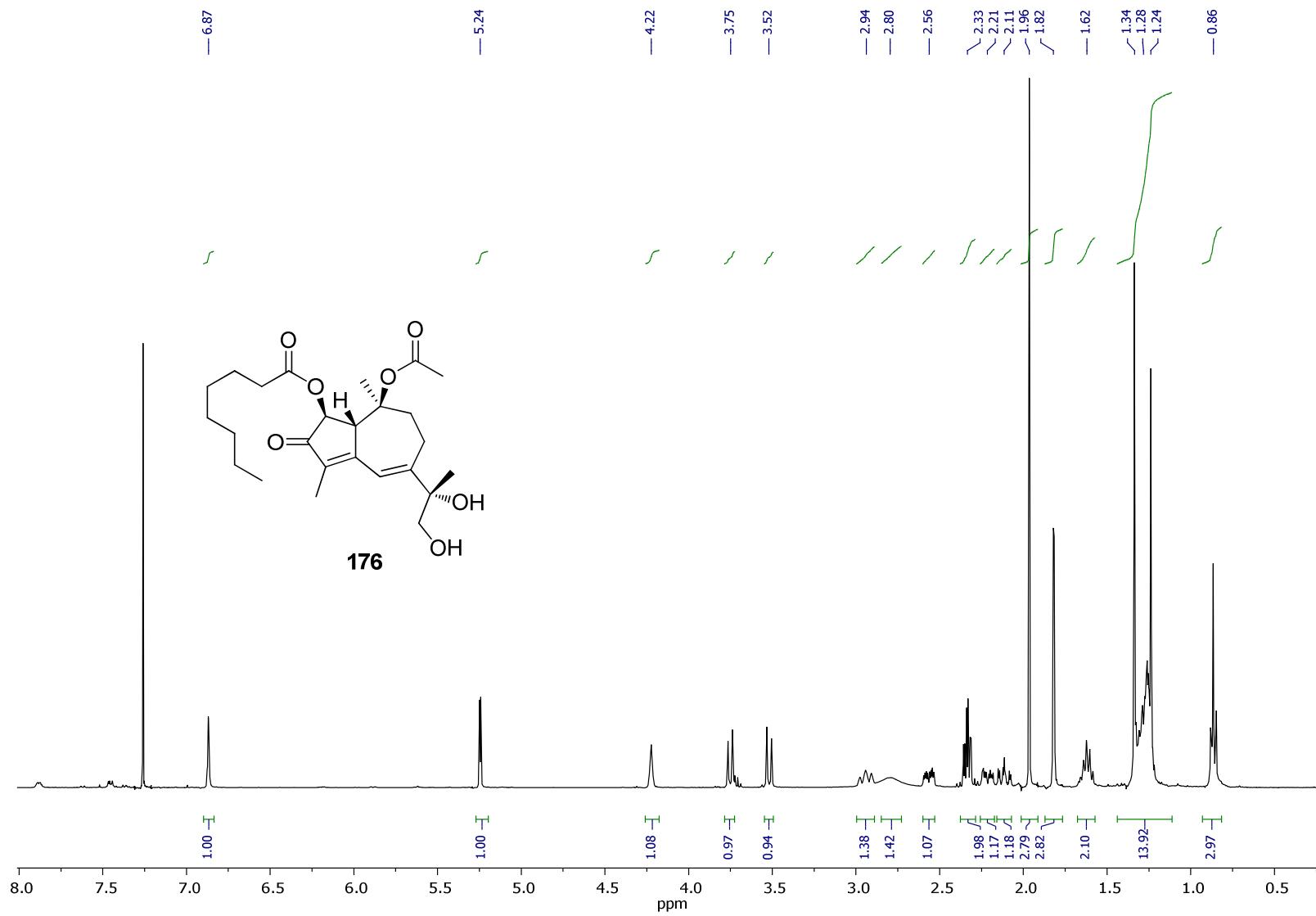


**175**









267

