



Universidad
Zaragoza



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Síntesis asimétrica de productos ópticamente activos de importancia biológica y farmacológica



Diego Royo Cerbuna

Directores:

Dr. Pedro Merino Filella

Dr. Tomás Tejero López

Departamento de Química Orgánica

Grupo de Química Bioorgánica

Zaragoza, septiembre 2016

RESUMEN

Se quiere encontrar un método eficiente para sintetizar potenciales inhibidores de glicosiltransferasas. Este tipo de compuestos son de gran interés debido a su uso como medicamentos para tratar diversas enfermedades. Se piensa en el grupo funcional nitrona como un buen precursor para la síntesis de este tipo de compuestos, por lo que se sintetizan diferentes nitronas cíclicas de cinco miembros como precursoras del glicomimético que posteriormente usaremos como inhibidor. Se utilizan este tipo de nitronas debido a su parecido comportamiento con los azúcares y por lo tanto, cuanto más parecido sea al producto que queremos "mimetizar", mejores prestaciones tendremos. El grupo funcional nitrona presenta una gran reactividad lo que favorece la elección de este tipo de compuestos. Posterior a esto se le acopla un conector mediante una adición nucleófila, que nos servirá para anclarle un nucleósido y así poder formar el producto final que será lo que se probará como posible inhibidor de glicosiltransferasas.

ABSTRACT

We want to find an efficient method to synthesize potential inhibitors of glycosyltransferase. Such compounds are of great interest because of their use as drugs to treat several diseases. We think of the nitron functional group as a good precursor for the synthesis of these compounds, so different five members cyclic nitrones are synthesized as glycomimetics precursor of later we will use as an inhibitor. Such nitrones are used due to its similar behavior with sugars and therefore the more similar it is the product that we want to "mimic" have better performance. The nitron functional group has a high reactivity which favors the choice of such compounds. Following this was docked a linker by nucleophilic addition, it will serve to anchor a nucleoside and be able to form the final product will be what is proved as possible glycosyltransferase inhibitor.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1 Carbohidratos	5
1.2 Glicosiltransferasas	6
1.3 Grupo funcional nitrona	7
1.4 Síntesis nitronas	8
1.4.1 Condensación de aldehídos y cetonas	8
1.4.2 Métodos oxidativos	8
1.4.3 Otros métodos	9
1.5 Adición nucleófila	10
2. OBJETIVOS	11
3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	12
3.1 Síntesis de nitronas cíclicas de cinco miembros	12
3.2 Adición metilfosfonato	18
4. PARTE EXPERIMENTAL	20
5. CONCLUSIONES	26
6. BIBLIOGRAFÍA	27
7. ANEXOS	28

1. INTRODUCCION

En la Química Orgánica actual es muy importante ser preciso y selectivo con los compuestos que se sintetizan, ya que dos enantiómeros pueden tener propiedades totalmente diferentes. Es por esto que en los últimos años está adquiriendo gran importancia la síntesis asimétrica, ya que se obtienen productos enantioméricamente puros.

La finalidad de este proyecto es llevar a cabo la síntesis de glicomiméticos enantioméricamente puros que posteriormente utilizaremos para inhibir la acción de las glicosiltransferasas. El uso de este tipo de sustancias es muy importante debido a su gran uso en medicamentos. El grupo funcional nitrona es muy interesante para la síntesis de glicomiméticos su gran reactividad y la similitud de sus productos a los hidratos de carbono

1.1 CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos son las biomoléculas más abundantes en el planeta, ya que suponen un 75% de la biomasa.¹ El papel crucial que juegan en todos los procesos biológicos hace que el control de su metabolismo sea un gran campo de investigación para el desarrollo de fármacos.

Los oligosacáridos están involucrados en una gran cantidad de procesos relacionados con el metabolismo y el almacenamiento de energía.² También ayudan a regular muchos procesos celulares debido a su interacción con receptores de membrana y proteínas. Es por esto que los enzimas responsables de la síntesis y la modificación de estos oligosacáridos, como glicosidasas y glicosiltransferasas, son objeto de numerosos estudios sobre inhibición. Para ellos utilizamos glicomiméticos de carbohidratos, que son estudiados como inhibidores de glicosidasas pero encontrar o diseñar inhibidores específicos y potentes de glicosiltransferasas es más complicado debido a que los sitios activos y su estructura están muy conservados.³

Una cosa importante es la búsqueda de inhibidores de enzimas que actúan en las vías metabólicas de los carbohidratos y glicoconjugados. Los carbohidratos apenas se utilizan para este tipo de tareas ya que se degradan rápidamente y por esto no son útiles para los diferentes ensayos. Es por esto que se está buscando el diseño y la síntesis de diferentes compuestos que tengan mayor estabilidad y que también tengan afinidad por los diferentes enzimas, usándolo como análogos de los carbohidratos. Es aquí donde apareció el término glicomiméticos⁴ que describe un grupo de moléculas derivadas de azúcares artificial o naturalmente que por sus formas y polaridades recuerdan a ellos (**Figura 1**). Debido a esto los iminoazúcares se están convirtiendo en un campo interesante de investigación debido a su gran número de aplicaciones terapéuticas.⁵

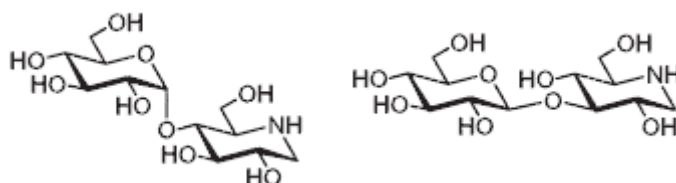


Figura 1: Iminoazúcares de oligosacáridos

Los iminozúcares son derivados de azúcares con un átomo de nitrógeno sustituyendo a un átomo de oxígeno endocíclico en los correspondientes carbohidratos.⁶ Los principales iminozúcares se clasifican en tres grandes familias: pirrolidinas y piperidinas (I), pirrolizidinas e indolizidinas polihidroxiladas (II) y calisteginas polihidroxiladas (III) (**Figura 2**).

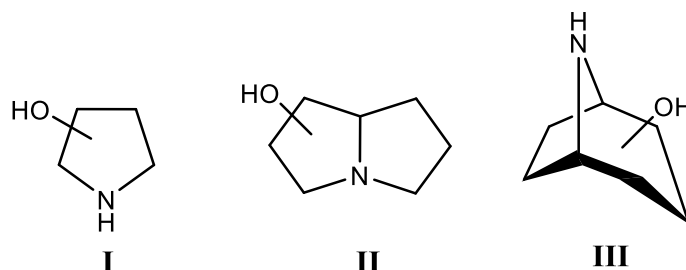


Figura 2: Tipos de iminoazúcares

1.2 GLICOSILTRANSFERASAS

Las glicosiltransferasas son enzimas que catalizan la formación de enlaces glicosídicos para formar un glicósido, pueden actuar con retención o con inversión de configuración (**Figura 3**). Estos enzimas utilizan fosfatos de azúcar activados como dadores del grupo glicosilo y catalizan la transferencia de dicho grupo a un grupo nucleófilo, normalmente un alcohol. El glicósido puede ser parte de un monosacárido, oligosacárido o polisacárido. Las glicosiltransferasas pueden utilizar una gran variedad de sustratos dadores.

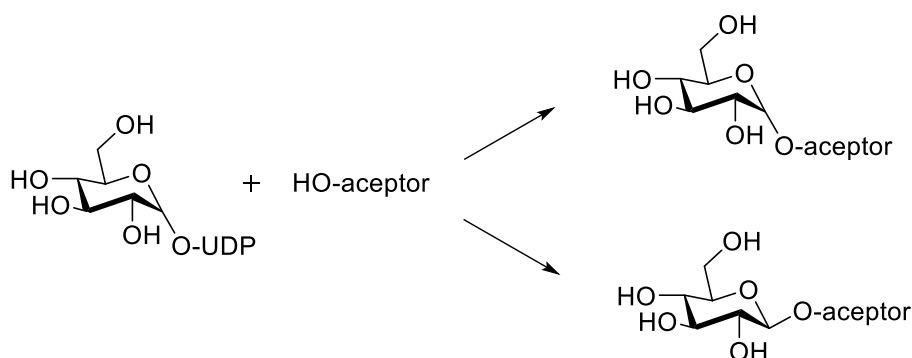


Figura 3: Acción de las glicosiltransferasas

Las glicosiltransferasas son los enzimas claves responsables de la incorporación de los hidratos de carbono en una gran variedad de biomoléculas aceptoras, como pueden ser proteínas, lípidos, oligosacáridos y diferentes metabolitos. Los glicoconjugados resultantes son intermediarios de un amplio rango de funciones desde estructura y almacenamiento hasta señalización, dadas sus importantes aplicaciones están relacionados con importantes enfermedades. Es por esto que la manipulación de la actividad de las glicosiltransferasas puede llevar al desarrollo de fármacos útiles para tratar diferentes tipos de enfermedades. En consecuencia se están llevando a cabo diferentes síntesis para la preparación de inhibidores eficientes de glicosiltransferasas.⁷

1.3 GRUPO FUNCIONAL NITRONA

Desde su primera aparición en 1916⁸, las nitronas han demostrado ser importantes intermedios en síntesis orgánica, debido a su gran reactividad y versatilidad.

El grupo funcional nitrona consiste en un sistema π -deslocalizado formado por tres átomos (C, N y O) que comparten cuatro electrones π y es isoelectrónico con los aniones alilo y enolato (**Figura 4**). Los diferentes átomos del grupo funcional nitrona, le confieren reactividades muy diferentes.

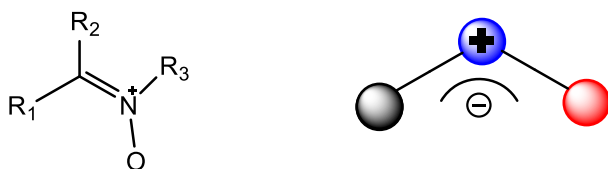


Figura 4: Grupo funcional nitrona

Las reactividades más estudiadas de este grupo funcional son las reacciones de cicloadición 1,3-dipolar, en los que las nitronas se comportan como un dipolo. La presencia del átomo de oxígeno permite la coordinación de ácidos de Lewis, por interacción con el átomo metálico, por lo que el grupo nitrona también puede actuar como nucleófilo. Además, las nitronas también pueden actuar como electrófilos en reacciones de adición nucleófila, ya que el átomo de carbono presenta deficiencia electrónica al estar unido directamente a un átomo de nitrógeno con carga formal positiva*¹ (**Figura 5**).

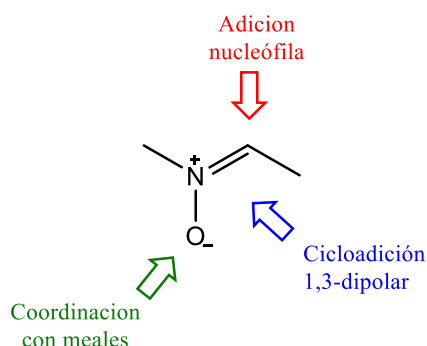


Figura 5: Reactividades nitronas

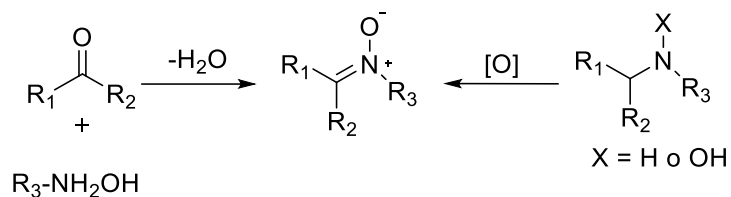
Las nitronas como intermedios sintéticos permiten preparar compuestos biológicos de gran interés como imino- y aminoazúcares, aminoácidos cíclicos y acíclicos, análogos de nucleósidos e inhibidores de glicosidasas y glicosiltransferasas entre otros.

*¹NOTA: Aunque el átomo de carbono tiene carga negativa, se transforma en un buen electrófilo por coordinación del átomo de oxígeno con un ácido de Lewis.

1.4 SINTESIS DE NITRONAS

Nuestro grupo ha estudiado desde 1992⁹ la reactividad del grupo funcional nitrona, así como sus numerosas aplicaciones en la obtención de compuestos nitrogenados.¹⁰

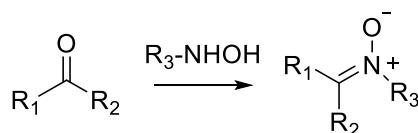
Normalmente las nitronas pueden ser preparadas tanto por condensación de un compuesto carbonílico y una hidroxilamina como por oxidación de la correspondiente amina o hidroxilamina (**Esquema 1**). En general la ruta condensativa es más adecuada para aldonitronas o cetonitronas acíclicas y la ruta oxidativa es mejor para preparar nitronas cíclicas.¹¹



Esquema 1

1.4.1 Condensación de aldehídos o cetonas con hidroxilaminas

La mayoría de nitronas acíclicas se obtienen por este método que consiste en la condensación de hidroxilaminas N-sustituidas con un aldehído o una cetona para dar una aldonitrona o cetonitrona¹² (**Esquema 2**). Normalmente este tipo de reacción se realiza en condiciones anhidras pero se encontró que también pueden ser preparadas en condiciones acuosas.¹³

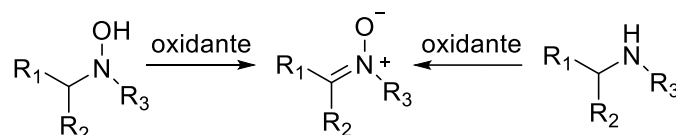


Esquema 2

Este método incluye muchas variantes, debido a las diferentes reactividades de los compuestos dependiendo de cuales sean los sustituyentes (R₁, R₂, R₃).

1.4.2 Metodos oxidativos

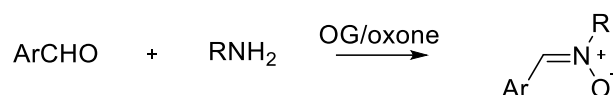
Es el método más usado para la síntesis de nitronas cíclicas. Se puede dar la oxidación de hidroxilaminas N,N-disustituidas¹⁶ o la oxidación de aminas secundarias¹⁷(**Esquema 3**).



Esquema 3

1.4.3 Otros métodos

Se están desarrollando métodos mixtos (condensación + oxidación) que utilizan óxido de grafito y peroximonosulfato de potasio (oxone®) para el desarrollo de este tipo de reacciones, debido a que son reactivos accesibles y que se obtienen muy buenos rendimientos (**Esquema 4**).¹⁴ Los aldehídos aromáticos con grupos dadores de electrones reaccionan más lento que los sustituidos por grupos aceptores de electrones con N-tertbutil hidroxilamina y son necesarios dos equivalentes de este reactivo, esto encarece mucho el método, por lo que un método eficiente para este tipo de reacciones es el uso de microondas. Las microondas aceleran la reacción y reducen el consumo de N-tertbutil hidroxilamina.¹⁵

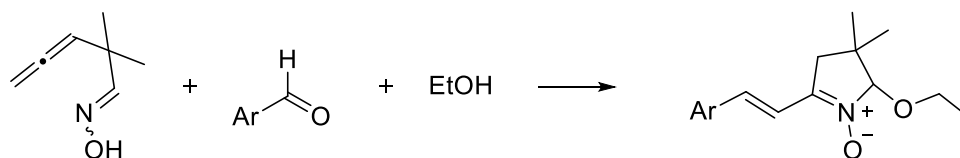


Esquema 4

Estos dos métodos son los más utilizados pero no son la única forma para obtener nitronas, también se pueden obtener por la condensación de grupos nitroso aromáticos con grupos metilo activado o metileno¹⁸, por condensación de reactivos de Gringard con α -cloronitrocompuestos¹⁹ y por alquilación de oximas.²⁰

Para la síntesis de nitronas cíclicas de cinco miembros, como la preparada en el trabajo, el método utilizado es el de oxidación, en nuestro caso utilizamos como oxidante óxido de manganeso (IV). Este método obtiene buenos rendimientos, pero no es el único método descrito para este tipo de reacciones.

También podemos obtener nitronas cíclicas de cinco miembros a partir de aleniloximas. Este método nos permite llegar al producto deseado en un solo paso, mediante reacciones "one-pot". Con este método podemos obtener multitud de nitronas diferentes, dependiendo de los reactivos utilizados. Utilizaremos siempre un alcohol que será el que ataque al doble enlace C=N y a partir de ahí, dependiendo del sustituyente que añadamos se formaran diferentes productos (**Esquema 5**). Este método genera una gran versatilidad, debido a la cantidad de nitronas que podemos obtener y a la facilidad.²¹

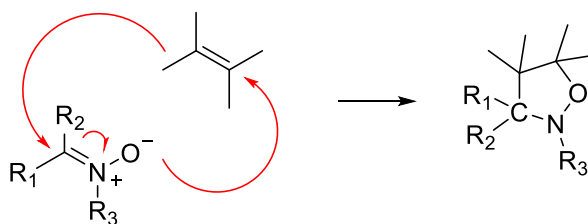


Esquema 5

Estos dos métodos no son los únicos ya que este tipo de compuestos se están estudiando en profundidad, pero sí que son los métodos más utilizados actualmente.

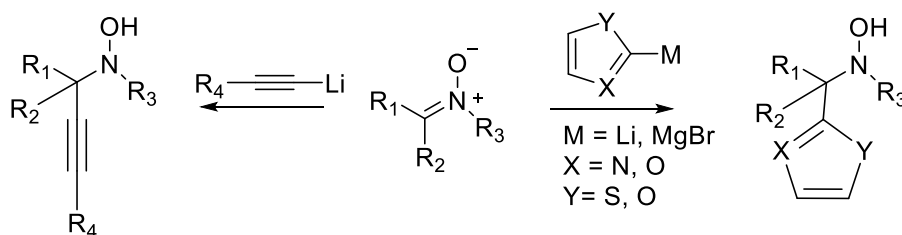
1.5 ADICION NUCLEOFILA

Dentro de las tres posibles reactividades del grupo funcional nitrona la cicloadición 1,3-dipolar con alquenos es la que mayores aplicaciones tiene, debido a que con el correspondiente alqueno y nitrona se pueden obtener productos muy específicos y con varios centros quirales (**Esquema 6**). Esto hace que este tipo de reacciones sean las más estudiadas, debido a su gran versatilidad. Además, es un dipolo capaz de dar reacciones de demanda normal con alquenos deficientes en densidad electrónica y también de demanda inversa con alquenos ricos en densidad electrónica.²²



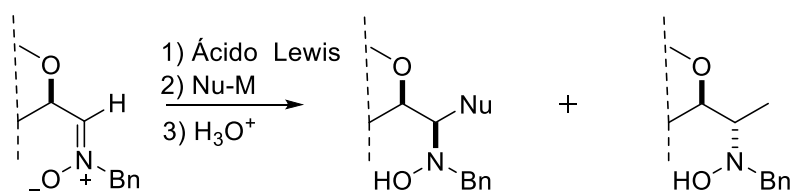
Esquema 6

Pero para el desarrollo de nuestro trabajo se va a usar la adición nucleófila de un metilfosfonato sobre la nitrona de cinco miembros sintetizada. En nuestro grupo de investigación se han estudiado a fondo las reacciones de adición nucleófila a nitronas, principalmente la adición de organolitios y reactivos de Grignard (**Esquema 7**).



Esquema 7

Las reacciones de adición nucleófila a nitronas quirales no racémicas han ganado atención en la síntesis orgánica durante los últimos años como métodos para acceder a hidroxilaminas que pueden ser transformadas en importantes compuestos que contienen nitrógeno²³ (**Esquema 8**).



Esquema 8

2. OBJETIVOS

La finalidad del trabajo es la preparación de un inhibidor de glicosiltransferasas que contenga un iminoazúcar unido a un conector y un nucleósido (**Figura 6**). El iminoazúcar que sustituirá al monosacárido en nuestro caso será una nitrona de cinco miembros, que llevara unido un metilfosfonato y como nucleósido, el uracilo (**Esquema 9, A**).

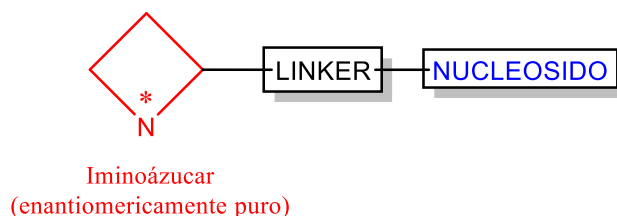
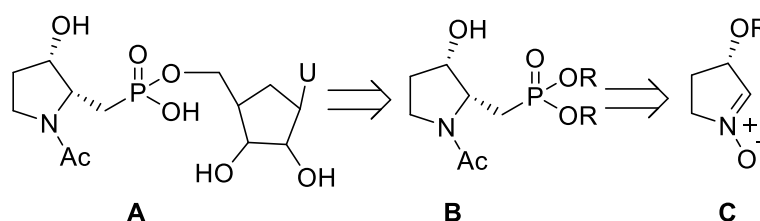


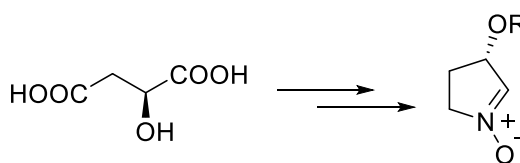
Figura 6: Prototipo de inhibidor

La estrategia sintética se muestra en el **esquema 9** y consiste en tres etapas.



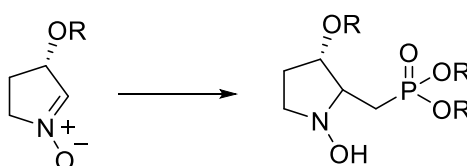
Esquema 9

El primer objetivo para el desarrollo de este trabajo es la síntesis de diferentes nitronas cíclicas de cinco miembros con diferentes sustituyentes, que son los que sustituirán al carbohidrato, en nuestro glicomimético. Los precursores más sencillos para este tipo de reacciones son azúcares simples, los cuales son fáciles de obtener. Este azúcar ha de ser quiral, para mantener esta quiralidad durante todo el procedimiento, ya que el producto final ha de ser una nitrona quiral.



Esquema 10

El segundo objetivo es la adición de un metilfosfonato, debido a la naturaleza del enlace de la nitrona, el nucleófilo atacará en la posición 2 de la nitrona.



Esquema 11

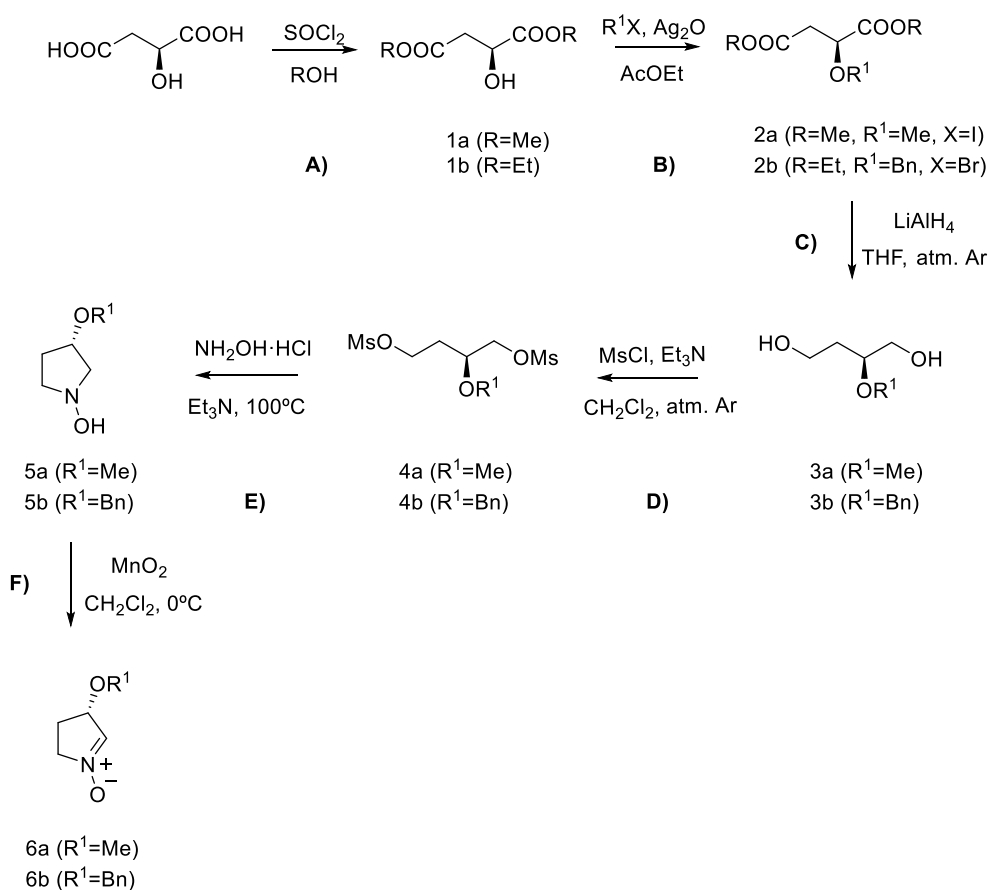
3. DISCUSION DE RESULTADOS

Este apartado se divide en los dos principales objetivos del trabajo, primero hablaremos de la síntesis de nitronas cíclicas de cinco miembros y posteriormente de la adición de metilfosfonato sobre estas nitronas.

3.1 SINTESIS DE NITRONAS CÍCLICAS DE CINCO MIEMBROS

Este procedimiento ya se había realizado con anterioridad en nuestro grupo de investigación²⁴. Se investigaron nuevos métodos para mejorar los procedimientos que más problemas ocasionaban, aunque en general se obtenía un buen rendimiento en casi todas las etapas descritas anteriormente.

La secuencia de reacciones a través de la cual se lleva a cabo la síntesis de ambas nitronas se muestra en el **esquema 12**.



Esquema 12

A continuación se detallan los resultados obtenidos en cada una de las etapas:

Etapa A

La primera etapa consiste en la protección de los grupos carboxilo. Dicha protección se lleva a cabo en forma de éster preparándose L-malato de dimetilo para la obtención de **6a** y L-malato de dietilo para la obtención del producto **6b**. No obstante, cualquiera de los ésteres hubiera servido para la obtención tanto de **6a** como de **6b**, dado que hay un paso de reducción del éster que proporciona un diol común a ambas rutas.

En esta reacción se disuelve el producto anteriormente obtenido en etanol para la obtención de **1b** o metanol para la obtención de **1a**, a esta disolución se le añade cloruro de tionilo, que reaccionara con el alcohol (metanol o etanol) formando ácido clorhídrico. El ácido clorhídrico genera un medio acido que provoca la esterificación. Se desprenderá como subproducto de la reacción dióxido de azufre. Se formará un éster de metilo o etilo. Para neutralizar el ácido clorhídrico generado en la reacción, una vez finalizada la reacción, se neutraliza con bicarbonato de sodio. Se obtiene el producto puro tras una pequeña purificación con diclorometano.

Etapa B

Una vez protegidos los grupos carboxilos se puede metilar o bencilar el alcohol unido al carbono quiral. Esta etapa tampoco es común para ambos productos, pero también transcurre por el mismo mecanismo. En la reacción para generar **2b** se utiliza bromuro de bencilo como electrófilo y en la reacción para generar **2a** se utiliza ioduro de metilo, en ambas junto con óxido de plata.

Tenemos una sustitución nucleófila, en la que el par de electrones libre del oxígeno del alcohol unido al carbono quiral ataca al carbono del bencilo (**2b**) o al del metilo (**2a**), dándose la sustitución. El óxido de plata ayuda a esta sustitución formando un intermedio estable con el bromo (**2b**) o el yodo (**2a**), formando bromuro de plata o ioduro de plata como subproducto, que precipita y que posteriormente se elimina con una filtración. Obtenemos **2a** puro, pero **2b** no, por lo que se purifica mediante columna cromatográfica. En ambas reacciones se obtienen rendimientos semejantes, aunque para uno de ellos haya sido necesaria una purificación.

Etapa C

En esta etapa se produce la reducción de un éster a un alcohol primario utilizando hidruro de litio y aluminio como agente reductor. El hidruro de litio y aluminio es un fuerte agente reductor, que en dos etapas, reducirá el éster. Esta reacción se realiza bajo atmosfera de argón dada la gran reactividad del hidruro.

Una vez finalizada la reducción, el aluminio quedará formando un complejo con el oxígeno, por lo que se debe romper ese enlace para formar el alcohol. Esto es importante, porque para esta etapa se prueban varios procedimientos y al final se utilizan diferentes maneras de actuar para cada producto. En la bibliografía solo se describe el metoso utilizado para **3a** pero se buscan alternativas para mejorar esta etapa ya que se obtenían pobres rendimientos. Debido a la solubilidad en agua del producto **3a**, esto genera un gran problema, ya que si se utiliza una gran cantidad de agua se pierde casi todo el producto y la extracción

con diclorometano no es efectiva porque es más afín con el agua y se quedará la gran parte disuelto en el agua.

Este tipo de reacciones siempre se realizan a 0°C, bajo atmosfera de argón y con disolventes anhidros, ya que el hidruro de litio y aluminio en contacto con agua o disolventes orgánicos es muy exotérmico y puede causar grandes problemas debido a la gran cantidad de calor que desprende.

Método para **3b**: Una vez finalizada la reacción, primero se añade 1ml de agua por cada gramo de hidruro, esto hace desaparecer todo el exceso de hidruro que pudiese permanecer en el matraz sin reaccionar. Posteriormente se añade 2ml de hidróxido de sodio por cada gramo de hidruro, esto rompe el enlace entre el oxígeno y el aluminio. Por último, se añade 3ml de agua por cada gramo de hidruro, esto ayudara a la formación del alcohol. Se añade metanol y se pone a reflujo durante 1h, se observa un cambio de color debido a que todo el hidruro se ha consumido. Se forma una pasta blanca, por lo que el producto obtenido se filtra a través de celite para eliminar todo el sólido, que son los subproductos de la reacción.

Método para **3a**: Se añade primero metanol y posteriormente una pequeña cantidad de agua. El proceso que sufre es el mismo que el descrito anteriormente pero varía la cantidad de agua. Esa es la principal ventaja respecto al otro método, utilizar una mínima cantidad de agua, esto es importante debido a la solubilidad de nuestro producto en ella. Filtramos a través de celite para eliminar la pasta blanca que se forma.

Etapa D

En esta reacción se produce la mesilación de los alcoholes con cloruro de mesilo, formando un mesilato, que debido a su naturaleza como buen grupo saliente, será útil para la siguiente etapa. En esta etapa se tienen muchos problemas debido a la insolubilidad de nuestro producto en disolventes organicos y esto hace que se pierda rendimiento, ya que se queda parte del producto de partida en el matraz.

En esta reacción se produce una sustitución nucleófila, donde el par de electrones libres del oxígeno ataca al azufre del cloruro de mesilo, formándose el mesilato y ácido clorhídrico como subproducto. Para evitar que se acidifique el medio, se añade trietilamina que reaccionara con el ácido clorhídrico formando cloruro de trietilamonio. Es importante la presencia de trietilamina debido a que en medio ácido esta reacción no tendría lugar.

Por último, se lava el producto obtenido con ácido clorhídrico, para eliminar los excesos de base, posteriormente con bicarbonato de sodio, para eliminar los excesos de ácido y por último con cloruro sodico para ayudar al posterior secado. Obtenemos **4a** puro, pero **4b** necesitará una posterior purificación, que la realizaremos mediante columna cromatográfica.

Etapa E

En esta etapa se produce la ciclación para producir una N-hidroxipirrolidina. Los reactivos utilizados son clorhidrato de hidroxilamina y trietilamina. La trietilamina reacciona con el ácido clorhídrico que desprenderá el clorhidrato de hidroxilamina formando cloruro de trietilamonio, esta reacción liberará la hidroxilamina que tiene pares de electrones libres cuando no está coordinada con el ácido clorhídrico. Con estos reactivos se dará la reacción de ciclación.

La hidroxilamina ataca al carbono unido al mesilato, que al ser un buen grupo saliente se desprende formando ácido metano sulfónico. El nitrógeno sigue teniendo un par de electrones libres, que dará otra reacción intramolecular de la misma índole para formar la N-hidroxipirrolidina (**5a, 5b**).

La trietilamina no solo sirve para liberar la hidroxilamina ya que también sirve para neutralizar el ácido metanosulfónico que se forma cuando la hidroxilamina ataca al mesilato, formando sulfonato de trietilamonio y también nos sirve como disolvente, ya que los productos (**4a,4b**) son muy solubles en este disolvente.

Etapa F

Este es el último paso para la formación de la nitrona cíclica de cinco miembros (**6a, 6b**). Este paso consiste en la oxidación de la N-hidroxipirrolidina formada anteriormente con dióxido de manganeso como agente oxidante.

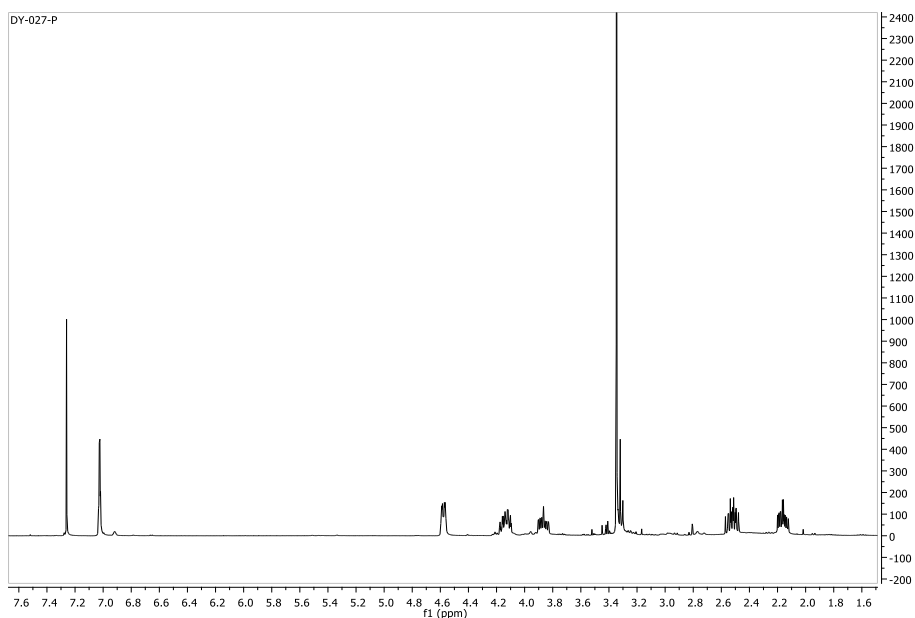
Es una reacción sencilla pero presenta dos importantes inconvenientes, uno es la regioselectividad y el otro es la dificultad de eliminar el dióxido de manganeso, por lo que se prueba con diferentes métodos de filtración para ambas nitronas. En la bibliografía se utiliza solo un método, pero para mejorar esto se decide probar con otros métodos alternativos. Al final, se decide utilizar un método diferente para cada nitrona, ya que fue con lo que mayores rendimientos se obtuvieron. En ambos métodos, una vez realizada la filtración correspondiente se hace pasar el producto por una pequeña columna, debido a que no todo el dióxido de manganeso queda eliminado en la filtración.

Método de filtración para **6a**: A través de sulfato de sodio.

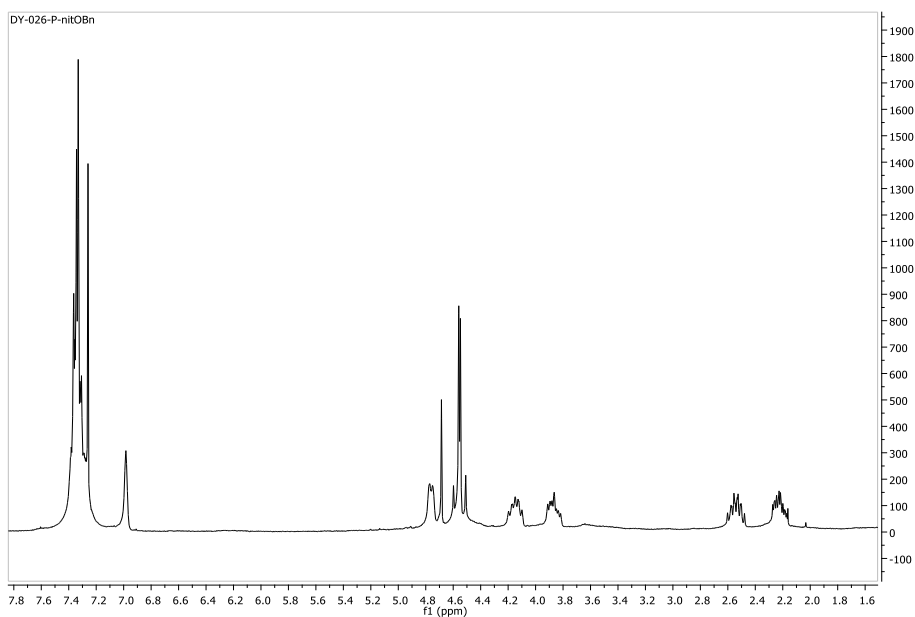
Método de filtración para **6b**: A través de un lecho de estratos de celite y sulfato de magnesio.

Al finalizar el proceso se obtiene únicamente la nitrona con el sustituyente en la posición 3, ya que está mucho más favorecida debido a efectos electrónicos. Suele ser habitual encontrar pequeñas proporciones de la nitrona con el grupo funcional en la posición 4, pero como podemos observar en el ¹H-RMN de los productos (**6a, 6b**) se obtienen puros. Puede ser debido a la purificación realizada a través del paso por la columna o debido a que no se ha formado el producto menos favorecido, pero es habitual encontrar mezclas de ambos.

Se puede observar en los siguientes espectros de ^1H -RMN de los productos **6a** y **6b** las principales propiedades de los grupos funcionales. En estos dos primeros espectros se puede ver los espectros completos de ambos productos. Una señal característica en este tipo de productos es el protón de nitrona, el H unido al $\text{C}=\text{N}^+$, cuya señal sale sobre 7ppm. En ambos espectros se puede observar dicha señal. Hay ocasiones en las que el protón de nitrona no se observa con claridad, debido a que es fácil que su señal se encuentre con la de los H_{Ar} .

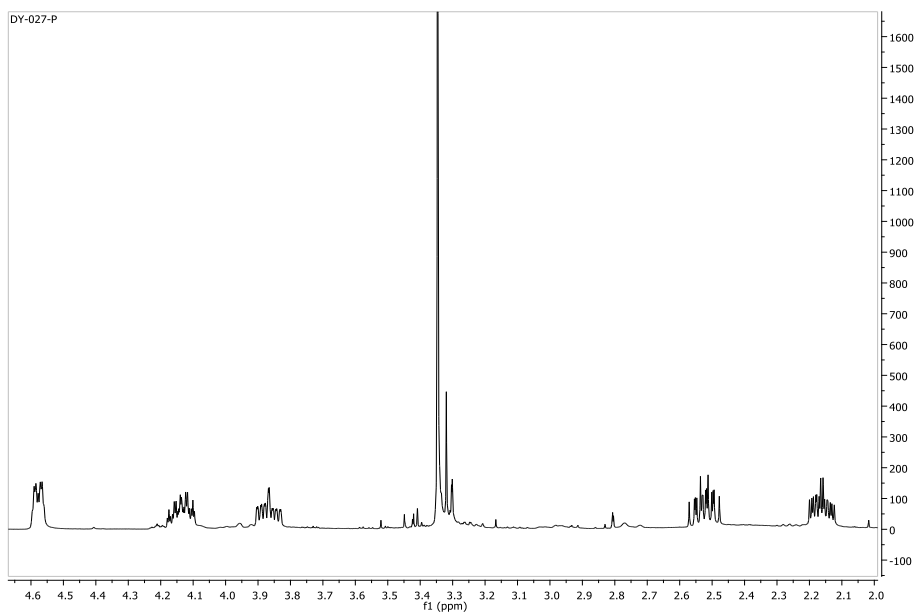


Espectro 1: ^1H -RMN de 6a

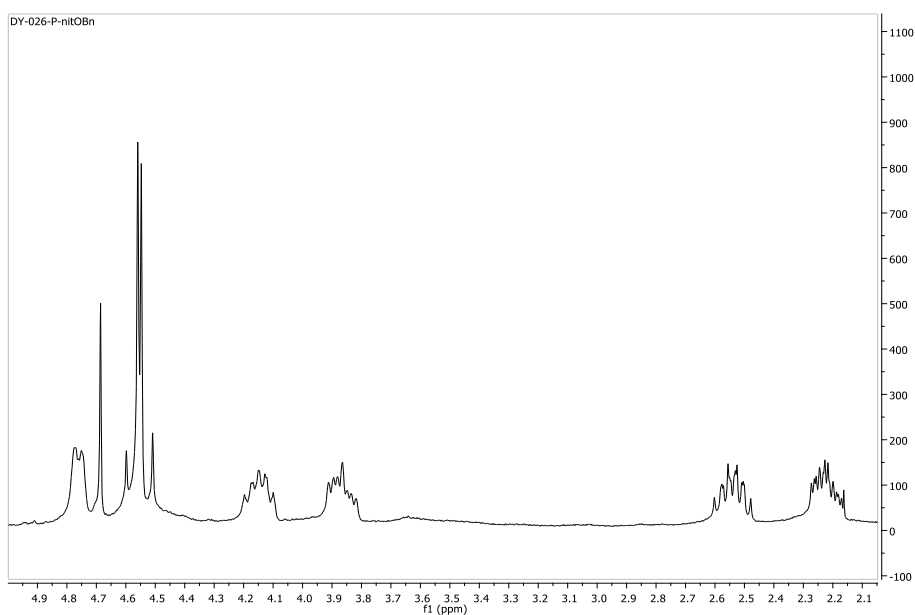


Espectro 2: ^1H -RMN de 6b

Si se observa con detenimiento en la zona desde 2ppm hasta 5 ppm, se puede observar las multiplicidades de dichos protones. Dadas estas multiplicidades, podemos asegurar que solo obtenemos un producto y como hemos comentado antes, dicho producto es el que tiene el grupo funcional en la posición 3. Observado detenidamente esos ^1H -RMN se puede descartar la aparición del producto con el sustituyente en 4 debido a que la multiplicidad de las señales sería diferente.



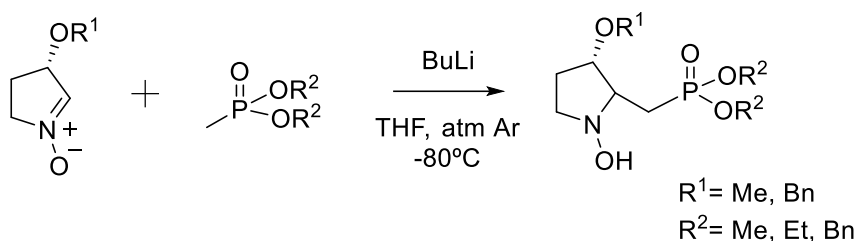
Espectro 3: Detalle de ^1H -RMN de 6a



Espectro 4: Detalle de ^1H -RMN de 6b

3.2 ADICION METILFOSFONATO

El segundo objetivo del trabajo es la adición de un resto de metilfosfonato al producto anteriormente obtenido (**Esquema 13**).



Esquema 13

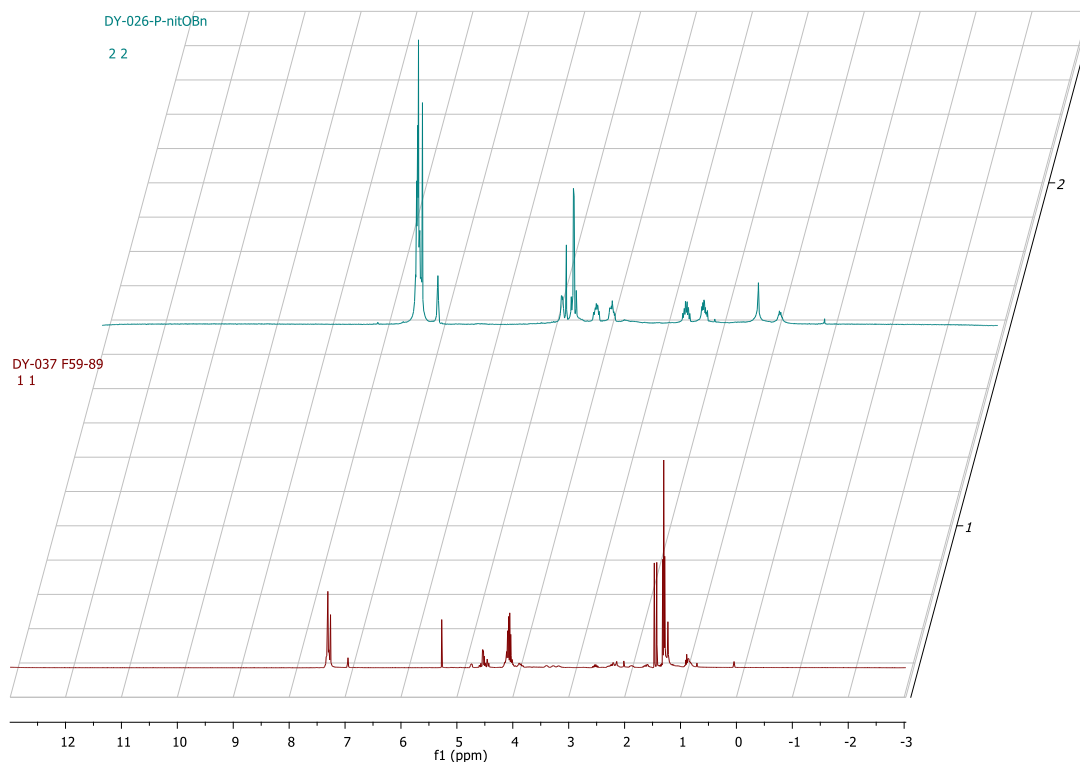
Se realiza la adición de tres metilfosfonatos diferentes sobre las dos nitronas anteriormente sintetizadas (**6a**, **6b**), siempre siguiendo el mismo procedimiento experimental.

Primero se añade el butil litio sobre el metilfosfonato a -80°C debido a la gran reactividad del butil litio, si la temperatura fuese más alta reaccionaría consigo mismo y esto haría que la reacción no funcionase. Esto desprotona el metilo del metilfosfonato, dando lugar al nucleófilo que atacará al doble enlace $\text{C}=\text{N}^{+}$ de los productos **6a** y **6b**, una vez añadidos. El ataque se producirá en la posición 2 y hacia el mismo lado donde está el OR^1 , ya que también estará favorecido por motivos electrónicos.

Una vez finalizada la reacción, se añade un ácido, no demasiado fuerte, como el cloruro de amonio, debido a que el litio del butil litio forma un enlace con el oxígeno de la nitrona al realizarse la desprotonación, poner el medio ligeramente ácido hace que el oxígeno del ciclo consiga un protón para formar la especie deseada, dando como subproducto cloruro de litio.

Una vez obtenido el producto final, no se ha conseguido la purificación del producto, debido a que siempre nos queda sin reaccionar algo de producto inicial y ambos productos tienen prácticamente la misma polaridad lo que hace muy complicada su separación mediante columna cromatográfica. En capa fina se observa una pequeña diferencia de color cuando revelamos el producto de la reacción con p-anisaldehído pero se superponen en todas las polaridades, tienen prácticamente el mismo R_f .

Tras la purificación mediante columna cromatográfica se realiza un espectro de ^1H -RMN para ver si se observa alguna diferencia con la nitrona de partida (**Espectro 5**).



Espectro 5: ^1H -RMN 6b(arriba) y 6b + dietil metilfosfonato(abajo)

Se puede observar que los espectros tienen señales en común, como el protón de nitrona que se puede observar en ambos espectros, pero también diferencias, por lo que la formación de producto final parece una evidencia observando ambos espectros. Esto refuerza lo expuesto anteriormente de que la separación mediante columna cromatográfica es ciertamente complicada. La proporción en la que están el producto final y el inicial es la misma, esto lo descubrimos comparando la intensidad de las señales conocidas para el producto inicial y las del producto final.

Este mismo procedimiento se ha utilizado con otras nitronas cíclicas de cinco miembros pero polihidroxiladas y en estas sí que se ha obtenido producto de reacción por lo que no se debe a un problema de reactividad, sino como hemos comentado anteriormente a un problema de purificación. En este tipo de nitronas polihidroxiladas el R_f de los productos es diferente y esto hace posible la separación mediante columna cromatográfica.

No se ha podido desarrollar un buen método para la purificación del producto de adición a lo largo de este trabajo.

4. PARTE EXPERIMENTAL

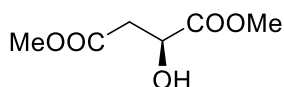
Métodos generales:

Todos los productos de partida comerciales fueron empleados directamente sin purificación previa. Todos los disolventes utilizados como eluyentes en cromatografía se emplearon en calidad Multisolvent®. Los disolventes anhidros fueron secados en un sistema SPS Innovative.

Los espectros de resonancia magnética nuclear se registraron en los espectrómetros: Bruker AVANCE-II de 300 MHz, Bruker AVANCE de 400 MHz y Bruker AVANCE de 500 MHz. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón y usando como referencia la señal residual del disolvente deuterado, en todos los espectros hemos usado CDCl₃ por lo que la referencia será 7.26ppm para ¹H-RMN y 77.0ppm para ¹³C-RMN. Las constantes de acoplamiento se encuentran en Hertzios.

La cromatografía en capa fina se realizó sobre placas de silicagel Polygram® SILG/UV254 (Macherey-Nagel) sobre aluminio, visualizando las manchas con luz UV de 254nm o con los siguientes reveladores: disolución de ácido fosfomolibdico en EtOH al 2% y disolución acida de p-anisaldehido. La cromatografía en columna se llevó a cabo utilizando como soporte solido silicagel Chromagel (70-230 µm).

L-Malato de dimetilo

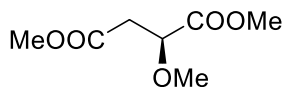


Se disuelve ácido málico (2g, 14.92mmol) en metanol (50ml) y se pone en un baño de hielo. A 0°C se añade SOCl₂ (5.3g, 44.55mmol) y se deja reaccionando “overnight” a temperatura ambiente. Una vez que se observa que la reacción ha finalizado por capa fina, se neutraliza con NaHCO₃, se añade NaCl y se extrae con acetato de etilo (50ml, x3). Se recoge la fase orgánica, la cual secamos con MgSO₄ y se evapora a presión reducida. El producto obtenido se disuelve en CH₂Cl₂ y se lava con NaHCO₃, posteriormente con NaCl y por último con H₂O, se seca con MgSO₄ y se evapora a presión reducida. Se obtienen 1.33g de producto **1a** puro (Rendimiento: 55%), obtenido como un aceite incoloro.

¹H-RMN (300Hz, CDCl₃) δ-2.83(m, 2H, CH₂-C*), 3.36(m, 3H, CH₃-O), 3.81(m, 3H, CH₃-O), 4.5(s, 1H, CH*).

¹³C-RMN (100Hz, CDCl₃) δ-37.7(CH₂-C*), 51.9(CH₃-O), 52.2(CH₃-O), 67.3(C*), 170.8(C=O), 174.3(C=O).

(S)-2-O-metilmalato de dimetilo

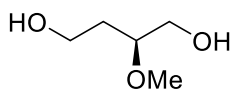


Se disuelve en un matraz **1a** (0.671g, 4.138mmol) y se añade oxido de plata (2.013g, 8.687mmol) y yoduro de metilo (2.348g, 16.54mmol) en acetato de etilo (7,5ml). Se pone a reaccionar a reflujo y con agitación durante 10h. Una vez finalizada la reacción se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. Se obtienen 0.54g de producto **2a** puro (Rendimiento: 74%), obteniendo un aceite amarillo-anaranjado.

$^1\text{H-RMN}$ (400Hz, CDCl_3) δ - 2.73 (dd, 1H, $J=16.1, 7.8$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}^*$), 2.79 (dd, 1H, $J=16.1, 4.9$ Hz, $\text{CH}_2\text{-CH}^*$), 3.45 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-O}$), 3.70 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C=O}$), 3.77 (s, 3H, $\text{CH}_3\text{-C=O}$), 4.19 (dd, 1H, $J=7.8, 4.9$, CH^*).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100 Hz, CDCl_3) δ - 37.5 ($\text{CH}_2\text{-CH}^*$), 51.9 ($\text{CH}_3\text{-C=O}$), 52.2 ($\text{CH}_3\text{-C=O}$), 58.8 ($\text{CH}_3\text{-O}$), 76.6 (CH^*), 170.7 (C=O), 171.7 (C=O).

(S)-2-Metoxi-1,4-butanodiol

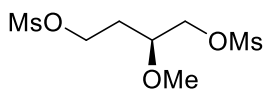


Se disuelve **2a** (3.4g, 16.65mmol) en THF anhidro (10ml) bajo atmosfera de argón. Sobre THF anhidro (40ml) se añade hidruro de litio y aluminio (2.5g, 67mmol) y sobre esta disolución se añade la disolución de **2a** gota a gota y a 0°C . Se deja reaccionando "overnight". Una vez finalizada la reacción se añade metanol (50ml) a 0°C y una mínima cantidad de agua con agitación vigorosa. El producto se vuelve blanco. Se filtra a través de celite y se evapora el disolvente al rotavapor. Se obtienen 1.3g de producto **3a** puro (Rendimiento: 65%), obtenido como cristales amarillentos.

$^1\text{H-RMN}$ (400Hz, CDCl_3) δ -1.83(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 3.43(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-O}$), 3.48(ddd, 1H, $J=8.9, 6.5, 3.8$ Hz, CH^*), 3.57(dd, 1H, $J=11.6, 4.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-OH}$), 3.77(m, 3H, $\text{CH}_2\text{-OH}$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100Hz, CDCl_3) δ -33.4($\text{CH}_2\text{-C}^*$), 57.2($\text{CH}_3\text{-O}$), 59.5($\text{CH}_2\text{-OH}$), 63.2($\text{CH}_2\text{-OH}$), 80.2(C^*).

(S)-2-Metoxi-1,4-bis(mesiloxi)butano

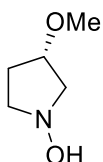


Se disuelve **3a** (2.3g, 19mmol) en CH_2Cl_2 anhidro, bajo atmosfera de argón. Se añade gota a gota y a 0°C , trietilamina (10ml, 76mmol) y posteriormente el cloruro de mesilo (4.35g, 38mmol) y se deja reaccionando 2h. Se lava con HCl 4M (30ml), NaHCO_3 (30ml) y NaCl (30ml). Se seca el producto obtenido con MgSO_4 y eliminamos el disolvente al rotavapor. Obtenemos 4.25g de producto **4a** puro (Rendimiento: 81%), obteniendo un aceite amarillo claro.

$^1\text{H-RMN}$ (400Hz, CDCl_3) δ -1.99(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 3.03(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-S}$), 3.06(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-S}$), 3.46(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-O}$), 3.63(td, 1H, $J=8.4, 4.4$ Hz, CH^*), 4.18(dd, 1H, $J=11.1, 4.6$ Hz, $\text{CH}_2\text{-OMs}$), 4.37(m, 3H, $\text{CH}_2\text{-OMs}$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100Hz, CDCl_3) δ -31.1($\text{CH}_2\text{-C}^*$), 37.4($\text{CH}_3\text{-S}$), 37.7($\text{CH}_3\text{-S}$), 58.1($\text{CH}_3\text{-O}$), 65.9($\text{CH}_2\text{-OMs}$), 69.3($\text{CH}_2\text{-OMs}$), 74.8(C^*).

(S)-3-Metoxi-N-hidroxipirrolidina

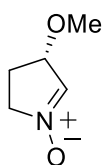


Se disuelve **4a** (1.22g, 4.41mmol) y el clorohidrato de hidroxilamina (1.53g, 22mmol) en trietilamina (40ml). Se pone a reaccionar a reflujo (100°C) "overnight". Se filtra y se lava con éter y se evapora el disolvente a presión reducida. Se obtienen 0.25g de producto **5a** puro (Rendimiento:50%), obteniendo un aceite amarillento.

$^1\text{H-RMN}$ (400Hz, CDCl_3) δ -1.86(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 2.98(m, 1H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.09(dd, 1H, $J=11.3, 3.1$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.19(dt, 2H, $J=11.2, 7.5$ Hz, $\text{CH}_2\text{-N}$), 3.28(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-O}$), 3.97(s, 1H, CH^*).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100Hz, CDCl_3) δ -45.7($\text{CH}_2\text{-C}^*$), 56.8($\text{CH}_3\text{-O}$), 57.3($\text{CH}_2\text{-N}$), 64.1($\text{CH}_2\text{-N}$), 79.5(C^*).

N-Óxido de (S)-4-metoxi-3,4-dihidro-2H-pirrol

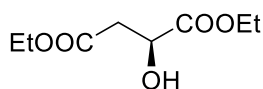


Se disuelve **5a** (0.5g, 4.3mmol) en CH_2Cl_2 (25ml) y se enfria a 0°C con un baño de hielo. Se añade dióxido de manganeso y se deja reaccionando a 0°C durante 3h. Se filtra a través de sulfato de sodio y posteriormente se pasa a través de una pequeña columna cromatográfica (filtración), eluyente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}(9:1)$. Se obtienen 0.34g de producto **6a** puro (Rendimiento: 69%), obtenemos un aceite amarillo.

$[\alpha]_D$: -77.13; C=1; T $^{\text{a}}$ = 22.8 $^\circ\text{C}$; Dis: CHCl_3

$^1\text{H-RMN}(400\text{Hz}, \text{CDCl}_3)$ δ -2.16(dddd, $J=13.7, 8.8, 4.8, 2.8\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 2.52(dddd, 1H, $J=14.0, 9.4, 7.6, 6.5\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 3.35(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-O}$), 3.87(dddd, 1H, $J=14.2, 9.4, 4.9, 0.9\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.14(dddd, 1H, $J=10.8, 6.4, 3.9, 1.9\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.58(dt, 1H, $J=9.6, 2.0\text{Hz}$, CH^*), 7.03(dd, 1H, $J=3.5, 1.7\text{Hz}$, CH-N).

L-Malato de dietilo

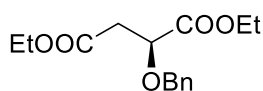


Se disuelve ácido málico (2g, 14,92mmol) en etanol (50ml). Se añade SOCl_2 (3,25ml) gota a gota y en un baño de hielo. Se deja reaccionar 6h a temperatura ambiente con agitación. Se neutraliza con NaHCO_3 hasta que desaparece el burbujeo. Se añade NaCl y se extrae con AcOEt . Se seca con MgSO_4 , se filtra y se evapora el disolvente a presión reducida. El producto obtenido se disuelve con CH_2Cl_2 y se lava con NaHCO_3 , después con NaCl y posteriormente con H_2O . Se seca con MgSO_4 , se filtra y se evapora el disolvente al rotavapor. Se obtienen 2.24g de producto **1b** puro (Rendimiento: 79%), obtenido como un aceite incoloro.

$^1\text{H-RMN}$ (400Hz, CDCl_3) δ - 1.26(t, 6H, $J=7.1$ Hz, CH_3), 2.8(qd, 2H, $J=16.3, 5.3$ Hz, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 4.15(q, 2H, $J=7.1$ Hz, CH_2CH_3), 4.25(qd, 2H, $J=7.1, 2.5$ Hz, CH_2CH_3), 4.49(m, 1H, CH^*).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100Hz, CDCl_3) δ -14.1($\text{CH}_3 \times 2$), 38.7($\text{CH}_2\text{-CH}^*$), 60.9(CH_2CH_3), 61.9(CH_2CH_3), 67.3(CH^*), 170.5(C=O), 173.3(C=O).

(S)-2-O-bencilmalato de dietilo

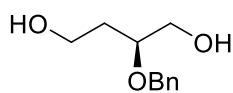


Sobre una disolución de **1b** (1g, 5.26mmol) y óxido de plata (1.83g, 7.89mmol) en acetato de etilo (20ml) se añade lentamente bromuro de bencilo (1.37g, 7.89mmol) y se deja agitando a temperatura ambiente durante 15h. Una vez acabada la reacción se filtra y se evapora el disolvente al rotavapor. No se obtiene un producto puro por lo que se purifica mediante una columna cromatográfica ($R_f=0.46$) de sílice de 6cm de diámetro y eluyente Hex: $\text{AcOEt}(9:1)$. Se obtienen 1.11g de producto **2b** puro (Rendimiento: 75%), obtenido como un aceite incoloro.

$^1\text{H-RMN}$ (300Hz, CDCl_3) δ - 1.24(t, 3H, $J=7.1$ Hz, CH_3), 1.29(t, 3H, $J=7.1$ Hz, CH_3), 2.76(dd, 1H, $J=16.0, 7.8\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}^*$), 2.82(dd, 1H, $J=16.0, 5.2\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}^*$), 4.17(qd, 2H, $J=7.1, 3.1\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.24(qd, 2H, $J=7.1, 2.5\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-CH}_3$), 4.39(dd, 1H, $J=7.8, 5.1\text{Hz}$, CH^*), 4.54(d, 1H, $J=11.4\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.77(d, 1H, $J=11.4$, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 7.27-7.37(m, 5H, H_{Ar}).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75Hz, CDCl_3) δ -14.0(CH_3), 14.1(CH_3), 38.0($\text{CH}_2\text{-CH}^*$), 60.8(CH_2CH_3), 61.1(CH_2CH_3), 73.0($\text{CH}_2\text{-Ar}$), 74.6(CH^*), 127.8(CH_{Ar}), 128.0(CH_{Ar}), 128.3(CH_{Ar}), 137.7(C_{Ar}), 170.0(C=O), 171.3(C=O).

(S)-2-Benciloxi-1,4-butanodiol

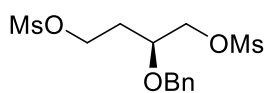


Se disuelve LiAlH_4 (0,59g, 15,56mmol) en THF anhidro (12,5ml), muy despacio y bajo atmosfera de argón. También se disuelve **2b** (1,1g, 3,9mmol) en THF anhidro (5ml). Se añade el producto **2b** disuelto en THF sobre el LiAlH_4 gota a gota y a 0°C . Se deja reaccionando 5h a temperatura ambiente. Cuando se comprueba que la reacción ha acabado, por capa fina, se añade 1ml de H_2O a 0°C y con mucho cuidado, debido al burbujeo. Posteriormente se añaden 2ml de NaOH y 3ml de H_2O nuevamente. Se añade metanol y ponemos a reflujo 1h. Se observa un cambio de color, de gris oscuro a blanco. Se obtiene un residuo blanco el cual se elimina filtrando a través de celite. Se obtienen 0.57g de producto **3b** puro (Rendimiento: 74%), obtenido como un aceite amarillo.

$^1\text{H-RMN}$ (300Hz, CDCl_3) δ - 1.86(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 2.3(s, 1H, OH), 3.60(dd, 1H, $J=11.1, 4.2\text{Hz}$, CH^*), 3.66-3.85(m, 4H, $\text{CH}_2\text{-OH}$), 4.61(s, 2H, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 7.31-7.40(m, 5H, H_{Ar}).

$^{13}\text{C-RMN}$ (75Hz, CDCl_3) δ -33.8($\text{CH}_2\text{-C}^*$), 59.6($\text{CH}_2\text{-OH}$), 63.9($\text{CH}_2\text{-OH}$), 71.7($\text{CH}_2\text{-Ar}$), 77.8(C^*), 127.8(C_{Ar}), 127.9(C_{Ar}), 128.6(C_{Ar}).

(S)-2-benciloxi-1,4-bis(mesiloxi)butano

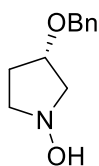


Se disuelven **3b** (1.1g, 5.61mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (45ml) en atmosfera de argón. Se añaden Et_3N (2,5ml) y posteriormente MsCl (1.36g, 11.9mmol) gota a gota y controlando la temperatura. Se deja reaccionando con agitación durante 1h a temperatura ambiente. Se lava el producto obtenido con HCl 4M (25ml), NaHCO_3 (25ml) y NaCl (25ml), se seca con MgSO_4 y se filtra. Se evapora el producto a presión reducida. Se obtienen 2 productos que se purifican mediante columna cromatográfica ($R_f=0.55$) de sílice de 5cm de diámetro, eluyente Hex:AcOEt (8:2). Se obtienen 1.28g de producto **4b** puro (Rendimiento: 65%), obtenido como un aceite marrón-anaranjado.

$^1\text{H-RMN}$ (400 Hz, CDCl_3) δ -2.04(dt, 2H, $J=9.3, 4.9\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 2.98(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-S}$), 3.03(s, 3H, $\text{CH}_3\text{-S}$), 3.90(td, 1H, $J=8.7, 4.5\text{Hz}$, CH^*), 4.23(dd, 1H, $J=11.1, 4.6\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-OMs}$), 4.38(m, 3H, $\text{CH}_2\text{-OMs}$), 4.59(d, 1H, $J=11.3\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.73(d, 1H, $J=11.3\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 7.30-7.40(m, 5H, CH_{Ar}).

$^{13}\text{C-RMN}$ (100Hz, CDCl_3) δ -31.4($\text{CH}_2\text{-C}^*$), 37.3($\text{CH}_3\text{-S}$), 37.6($\text{CH}_3\text{-S}$), 65.8($\text{CH}_2\text{-OMs}$), 69.9($\text{CH}_2\text{-OMs}$), 72.5($\text{CH}_2\text{-Ar}$), 72.7(C^*), 128.1(C_{Ar}), 182.6(C_{Ar}), 137.3($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-CH}_2$).

(S)-3-benciloxi-N-hidroxipirrolidina

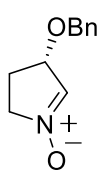


Se disuelven **4b** (0.872g, 2.47mmol) y clorohidrato de hidroxilamina (0.83g, 12mmol) en trietilamina (16ml). Se deja reaccionando a reflujo, 12h. Aparece un sólido blanco, que se elimina filtrando y lavando con éter dietílico. Se evapora el disolvente a presión reducida. Se purifica mediante columna cromatográfica ($R_f=0.19$) de sílice de 3cm de diámetro, eluyente Hex:AcOEt (5:5) 1% Et_3N . Se obtienen 0.41g de producto **5b** puro (Rendimiento: 87%), obtenido como un aceite amarillo-incoloro.

$^1\text{H-RMN}$ (400Hz, CDCl_3) δ -2.22(m, 2H, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 3.26(m, 4H, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.24(s, 1H, CH^*), 4.49(q, 2H, $J=11.8\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 7.27-7.37(m, 5H, H_{Ar}).

^{13}C -RMN (100Hz, CDCl_3) δ -29.7($\text{CH}_2\text{-C}^*$), 57.2($\text{CH}_2\text{-N}$)x2, 71.4($\text{CH}_2\text{-Ar}$), 77.0(CH^*), 127.7(C_{Ar}), 128.4(C_{Ar}).

N-Óxido de (S)-4-benciloxi-3,4-dihidro-2H-pirrol



Se disuelve **5b** (0.3g, 1.5mmol) en CH_2Cl_2 (10ml) y se enfría a 0°C . Se añade dióxido de manganeso (0.15g, 1.5mmol) y se deja reaccionando 1h a 0°C y 10h a temperatura ambiente. Se filtra a través de una columna de estratos de celite y MgSO_4 y posteriormente se pasa a través de una pequeña columna (filtración), eluyente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}(8:2)$. Se obtienen 0.15g de producto **6b** puro (Rendimiento: 51%), obteniendo un aceite amarillo-anaranjado.

$[\alpha]_{\text{D}}$: -81.39; C=1; T^{a} = 22.1°C ; Dis: CHCl_3

^1H -RMN (400Hz, CDCl_3) δ -2.22(ddd, 1H, $J=10.7, 5.4, 1.8\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 2.54(ddd, 1H, $J=14.4, 9.1, 7.6\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-C}^*$), 3.86(ddd, 1H, $J=14.1, 9.2, 5.1\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.15(ddd, 1H, $J=14.1, 8.6, 6.7\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-N}$), 4.55(q, 2H, $J=11.0\text{Hz}$, $\text{CH}_2\text{-Ar}$), 4.76(d, 1H, $J=5.7\text{Hz}$, CH^*), 6.98(s, 1H, CH-N), 7.28-7.42(m, 5H, CH_{Ar}).

^{13}C -RMN (100Hz, CDCl_3) δ -27.5($\text{CH}_2\text{-C}^*$), 60.9($\text{CH}_2\text{-N}$), 71.9($\text{CH}_2\text{-Ar}$), 78.3(CH^*), 127.9(CH_{Ar}), 128.3(CH_{Ar}), 128.7(CH_{Ar}), 136.9(CH-N), 137.6(C_{Ar}).

Adición dibencil metilfosfonato sobre N-oxido de (S)-4-benciloxi-3,4-dihidro-2H-pirrol

Se disuelve **6a** (0.1g, 0.86mmol) en THF anhidro (5ml) bajo atmosfera de argón. En un Schlenk se disuelve dibencil metilfosfonato (0.5g, 1.73 mmol) en THF anhidro (5ml) y se enfría a -80°C , una vez frio se añade butil litio (1.05ml, 1.73mmol) y posteriormente **6a** sobre la disolución. Se deja reaccionando 5h a -80°C . Una vez finalizada la reacción se añade NH_4Cl y se extrae con CH_2Cl_2 (10ml, x3). Se seca con MgSO_4 y se evapora el disolvente a presión reducida.

Adición dibencil metilfosfonato sobre N-oxido de (S)-4-metoxi-3,4-dihidro-2H-pirrol

Se disuelve **6b** (0.1g, 0.52mmol) en THF anhidro (5ml) bajo atmosfera de argón. En un Schlenk se disuelve dibencil metilfosfonato (0.3g, 1.05 mmol) en THF anhidro (5ml) y se enfría a -80°C , una vez frio se añade butil litio (0.63ml, 1.05mmol) y posteriormente **6b** sobre la disolución. Se deja reaccionando 6h a -80°C . Una vez finalizada la reacción se añade NH_4Cl y se extrae con CH_2Cl_2 (10ml, x3). Se seca con MgSO_4 y se evapora el disolvente a presión reducida. Se obtiene rendimiento cuantitativo de mezcla de reactivos y producto, por lo que se purifica mediante columna cromatográfica ($R_f=0$) de sílice de 10cm de diámetro con eluyente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{AcOEt}(8:2)$, no se obtiene producto puro. Se obtiene mezcla de reactivo y producto en proporción 1:1.

Adición dimetil metilfosfonato sobre N-oxido de (S)-4-benciloxi-3,4-dihidro-2H-pirrol

Se disuelve **6b** (0.1g, 0.52mmol) en THF anhidro (5ml) bajo atmosfera de argón. En un Schlenk se disuelve dimetil metilfosfonato (0.13g, 1.05 mmol) en THF anhidro (5ml) y se enfría a -80°C , una vez frio se añade butil litio (0.63ml, 1.05mmol) y posteriormente **6b** sobre la disolución. Se deja reaccionando 4h a -80°C . Una vez finalizada la reacción se añade NH_4Cl y se extrae con CH_2Cl_2 (10ml, x3). Se seca con MgSO_4 y se evapora el disolvente a presión reducida.

Adición dietil metilfosfonato sobre N-oxido de (S)-4-benzoxi-3,4-dihidro-2H-pirrol

Se disuelve **6b** (0.1g, 0.52mmol) en THF anhidro (5ml) bajo atmosfera de argón. En un Schlenk se disuelve dietil metilfosfonato (0.16g, 1.05 mmol) en THF anhidro (5ml) y se enfría a -80°C , una vez frio se añade butil litio (0.63ml, 1.05mmol) y posteriormente **6b** sobre la disolución. Se deja reaccionando 5h a -80°C . Una vez finalizada la reacción se añade NH_4Cl y se extrae con CH_2Cl_2 (10ml, x3). Se seca con MgSO_4 y se evapora el disolvente a presión reducida. Se obtiene rendimiento cuantitativo de mezcla de reactivos y producto, por lo que se purifica mediante columna cromatográfica ($R_f=0$) de sílice de 10cm de diámetro con eluyente $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{AcOEt}(5:5)$, no se obtiene producto puro.

5. CONCLUSIONES

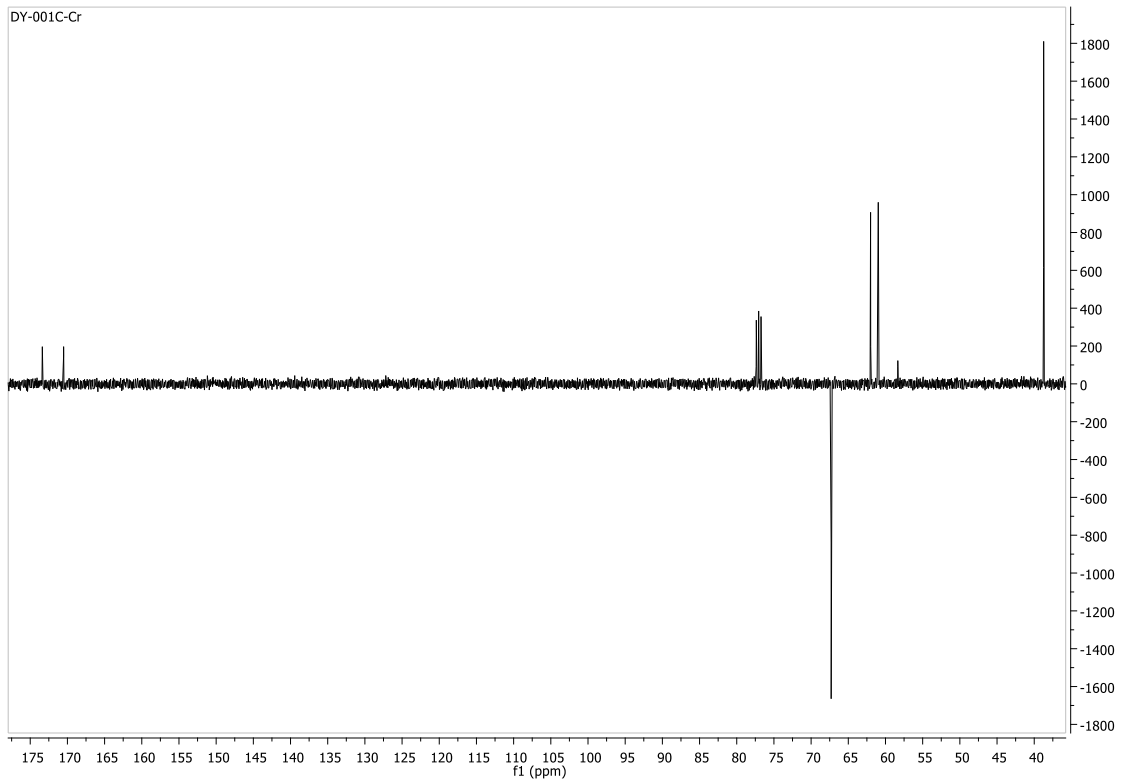
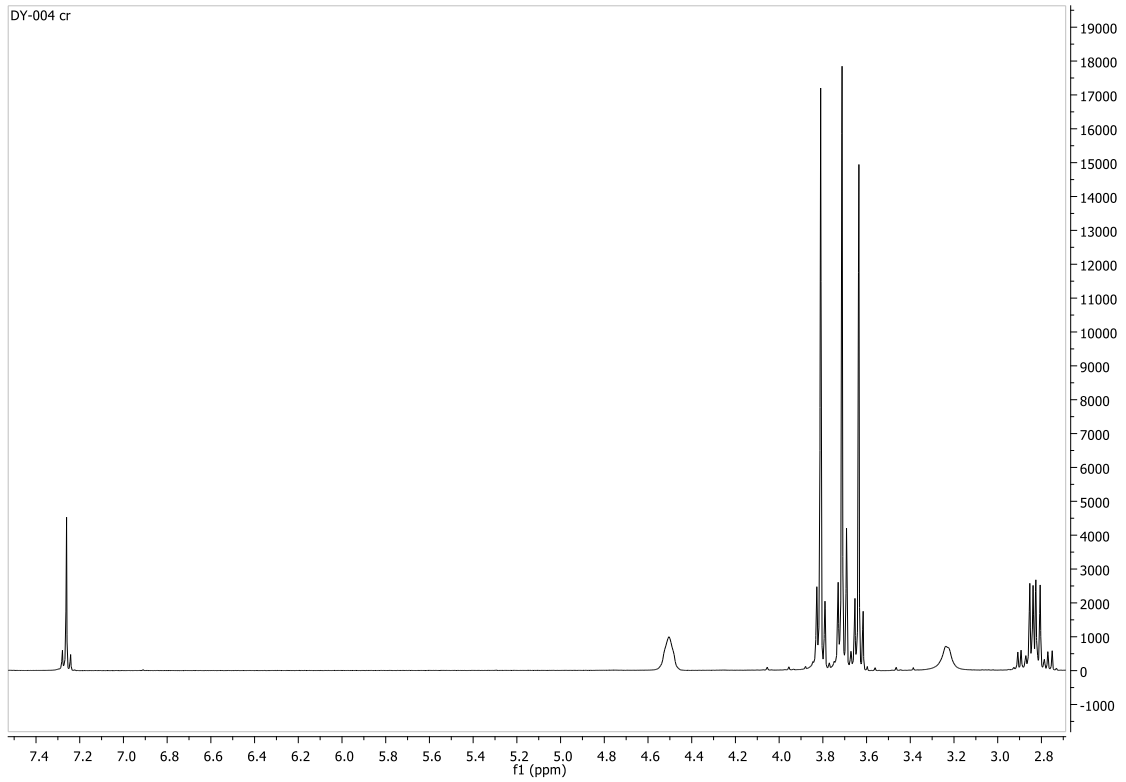
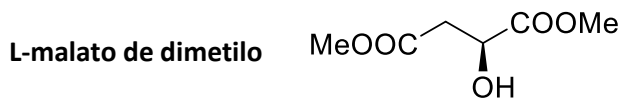
1) Se ha desarrollado un método para la obtención de nitronas cíclicas de cinco miembros. Se ha seguido la bibliografía, pero se han hecho pequeñas modificaciones en los pasos en los que el rendimiento era menor. Se comprueba la facilidad para la obtención de una nitrona cíclica de cinco miembros por el método escogido. No siendo el único método para la obtención de este tipo de moléculas, es un método fiable, partiendo de un reactivo relativamente barato y fácil de obtener, y también es un método con un buen rendimiento en cada una de sus etapas. Las etapas en las que el rendimiento sigue siendo bajo es debido a factores difíciles de controlar y de mejorar.

2) En la adición de metilfosfonato no hemos podido purificar, por lo que nos ha sido difícil saber si el producto final era el deseado o no. Podemos concluir que hay que estudiar una mejora del método de purificación del producto final, dado que no es nada fácil conseguir su separación por columna cromatográfica. Este estudio, como la continuidad del proyecto queda pendiente para futuros trabajos.

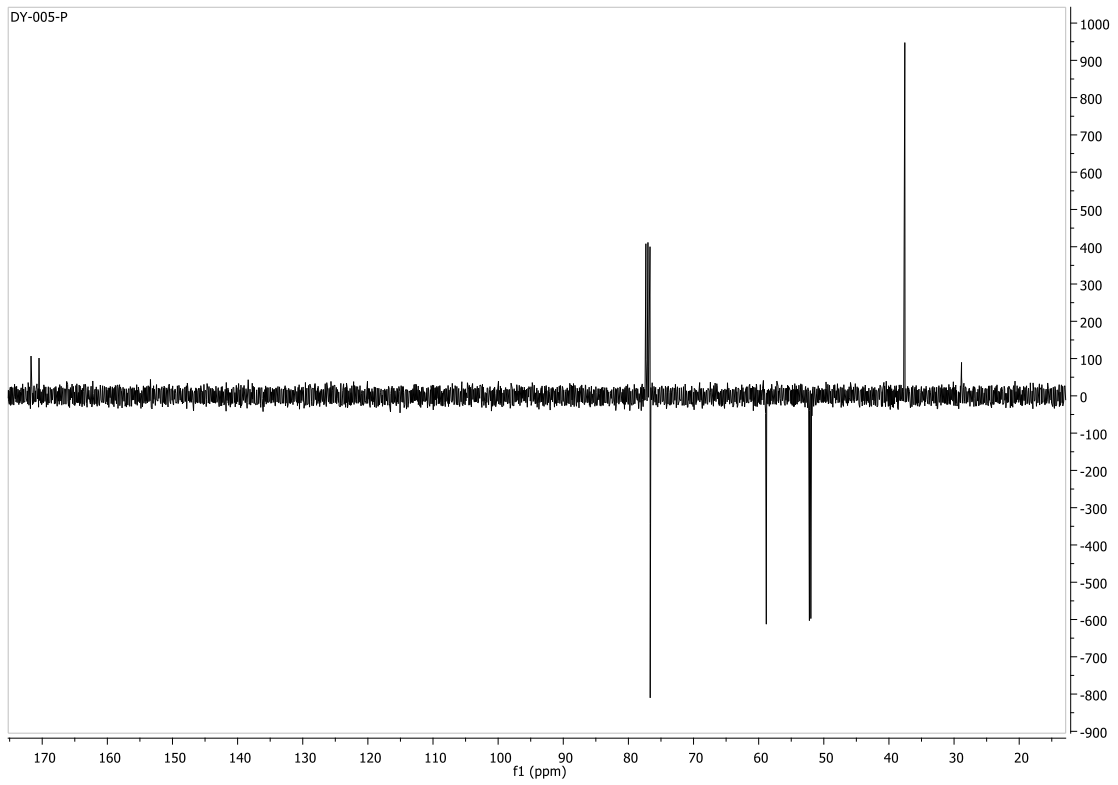
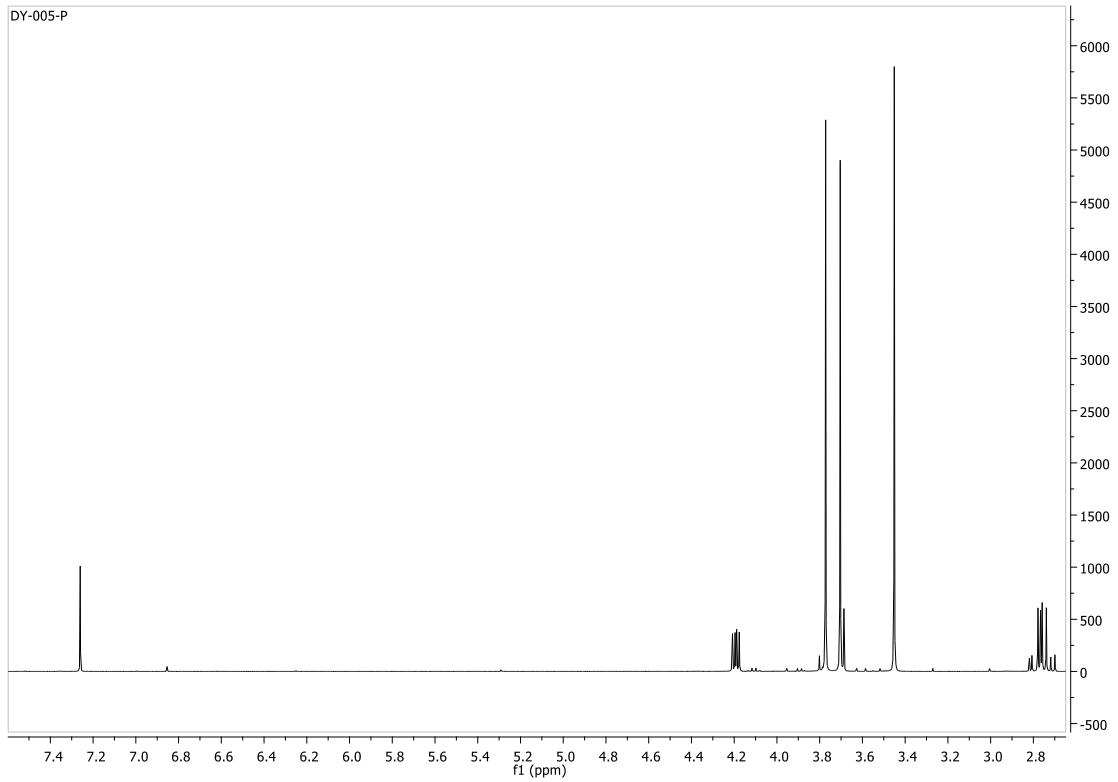
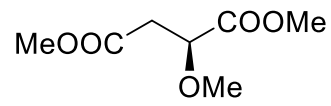
6. BIBLIOGRAFIA

- 1-Gloster, T. M.; Daveis, G. J., *J. Org. Biomol. Chem* **2010**, *8*, 305.
- 2- Ernst, B.; Hart, G. W.; Sinay, P., *Carbohydrates in Chemistry and Biology*; Eds: Wiley-VCH: Weinheim, **2000**.
- 3-Marca, E.; Delso, I.; Tejero, T.; Merino, P. *Tetrahedron*, **2012**, *68*, 6674-6687.
- 4-Bach, P.; Bols, M.; Damsgard, A.; Hansen, S.U.; Lohse, A. *In Glycoscience*, B. O. Fraser-Reid, K.; Tatsuta, J.; Thiem, Eds.; Springer: Berlin, **2001**; chapter 10.1, pp. 2533-2540.
- 5- D'Alonzo, D.; Guaragna, A. and Palumbo, G. *Current Medicinal Chemistry*, **2009**, *16*, 473-505.
- 6-(a) Stütz, A. E. *Iminosugars as Glycosidase Inhibitors: Nojirimycin and Beyond*, Willey-VCH: Weinheim, Germany, **1999**. (b) Compain, P.; Martin, O. R. *Iminosugars-From Synthesis to Therapeutic Applications*, John Wiley & Sons Ltd: West Sussex, England, **2007**.
- 7-Ghirardello, Mattia; de las Rivas, M.; Lacetera, A.; Delso, I.; Lira-Navarrete, E.; Tejero, T.; Martin-Santamaría, S.; Hurtado-Guerrero, R.; Merino, P. *Chem. Eur. J.*, **2016**, *22*, 7215-7224.
- 8-Pfeiffer, P. *Liebigs Ann. Chem.* **1916**, 411, 72-158.
- 9-Dondoni, A.; Junquera, F.; Merchán, F. L.; Merino, P.; Tejero, T., *Tetrahedron Lett*, **1992**, *33*, 4221-4224.
- 10-(a) Diez-Martinez, A., Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza. Zaragoza, **2012**. (b) Merino, P.; Franco, S.; Merchán, F. L.; Tejero, T., *Synlett*, **2000**, *4*, 442-454.
- 11-Diez-Martinez, A.; Gultekin, Z.; Delso, I.; Tejero, T.; Merino, P., *Synthesis*, **2010**, *4*, 678-688.
- 12-Torsell, K.; Zeuthen, D., *Acta Chem. Scand. Ser. B.* **1978**, *32*, 118.
- 13-Fu, Y.; Zhang, H. Y.; Liu, Y. H.; Li, X. F.; Huang, D. F.; Hu, Y. L., *Chinese Chemical Letters*, **2010**, *21*, 1075-1078.
- 14-Mirza-Aghayan, M.; Tavana, M. M.; Boukherroub, R., *Tetrahedron Letters*, **2014**.
- 15-Chavariá, C.; Perez, D. I.; Perez, C.; Morales Garcia, J. A.; Alonso-Gil, S.; Perez-Castillo, A.; Gil, C.; Souza, J. M.; Porcal, W., *European Journal of Medicinal Chemistry*, **2012**, *58*, 44-49.
- 16-Torsell, K. B. G., *Nitrile oxides, nitrones and nitronates in organic synthesis*. VCH: Weinheim, **1988**.
- 17-Murahashi, S. J. et al, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1984**, 874.
- 18-Breuer, E., *In The Chemistry of Amino, Nitroso and Nitro Compounds and Their Derivates*. Willey: New York, **1981**.
- 19-Katagiri, N.; Sato, H.; Kurimoto, A.; Okada, M.; Yamada, A.; Kanenko, C., *J. Org. Chem*, **1994**, *59*, 8101-8106.
- 20-(a) Semper, L.; Lichtenstadt, L.; *Chem. Ber.* **1918**, *51*, 928; (b) Basha, A.; Ratajczyk, J. D.; Brooks, D. W.; *Tetrahedron Lett* **1991**, *32*, 3783.
- 21-Buchlovic, M.; Man, S.; Kislitson, K.; Mathot, C.; Potacek, M. *Tetrahedron*, **2010**, *66*, 1821-1826.
- 22-Huisgen, R., *Angew. Chem. Int. Ed* **1968**, *7*, 321-328.
- 23-Merino, P., *C. R. Chemie*, **2005**, *8*, 775-788.
- 24-Delso, I. Tesis Doctoral, Universidad de Zaragoza. Zaragoza, **2009**.

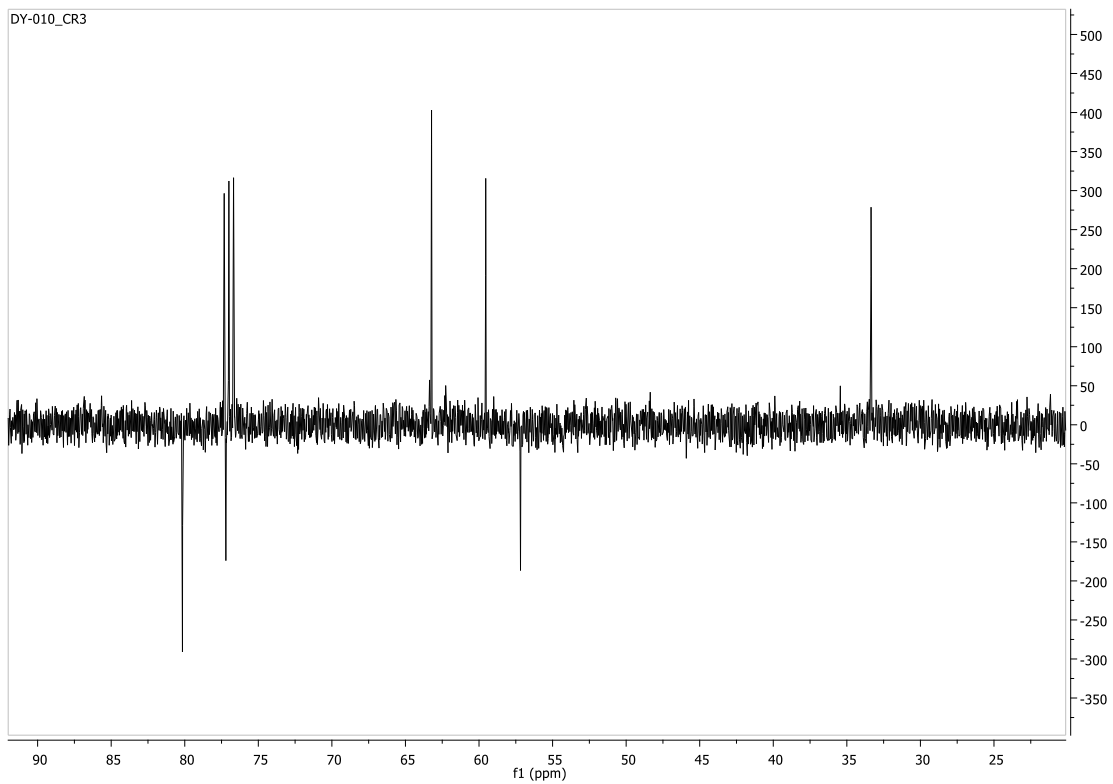
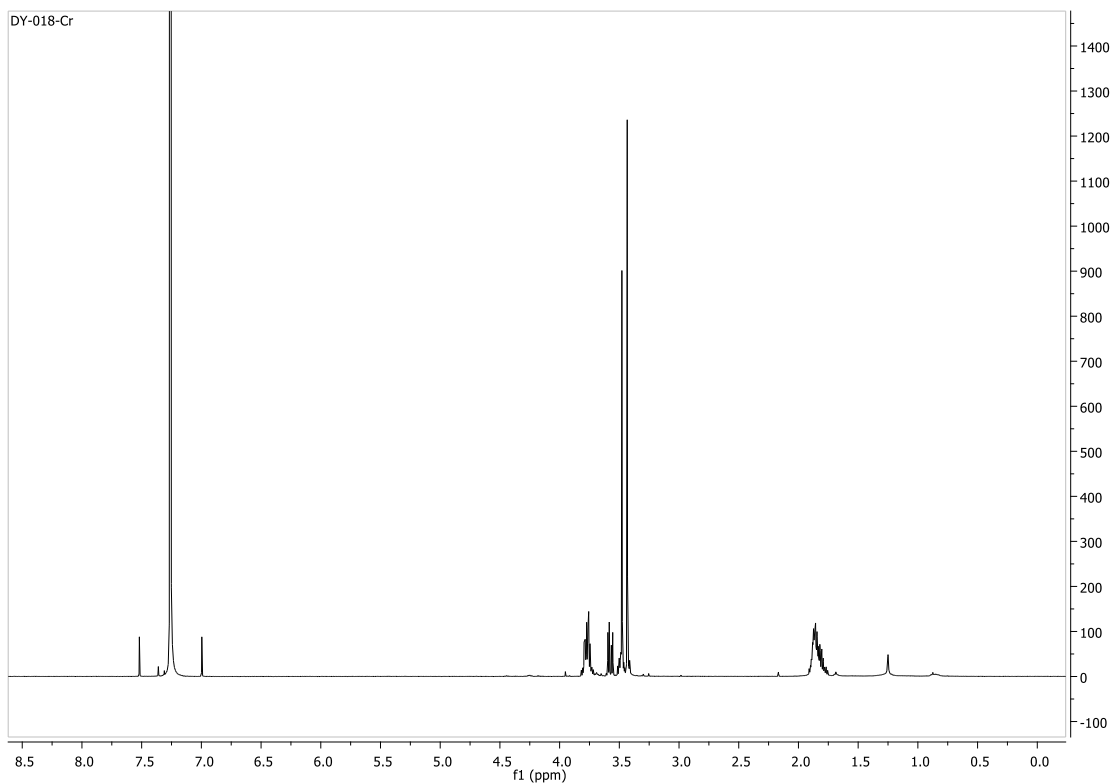
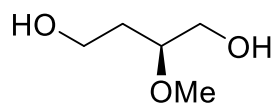
7. ANEXOS



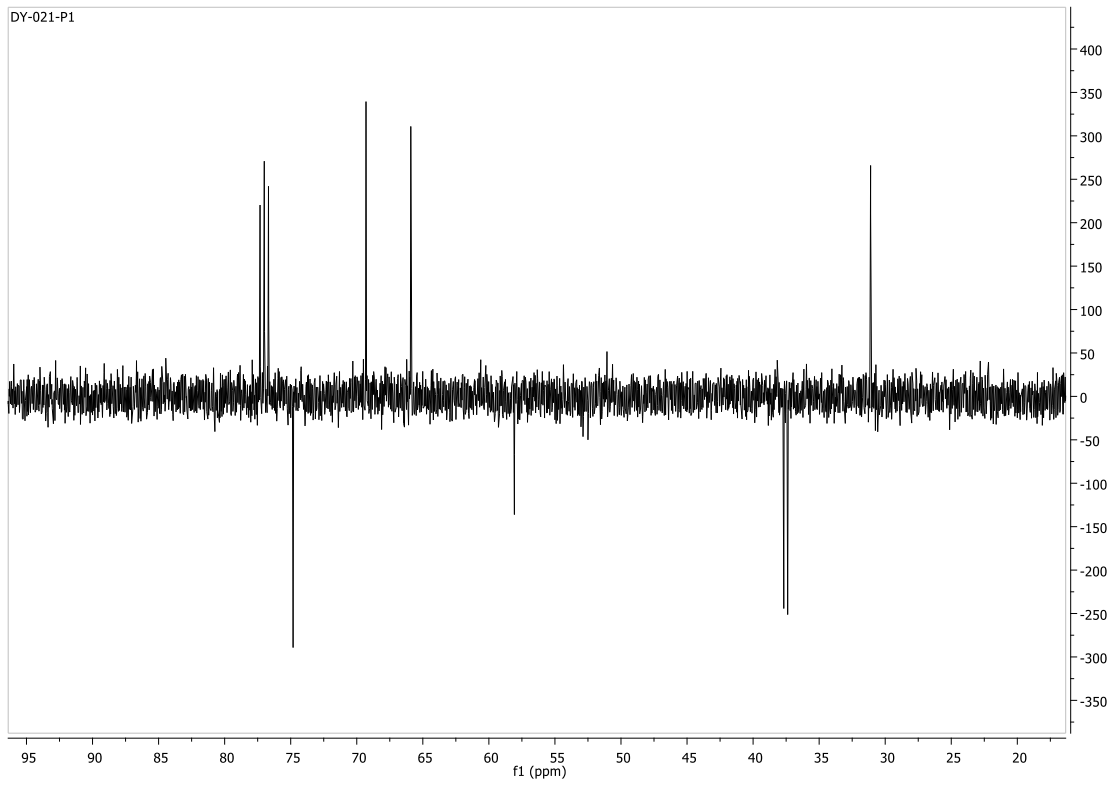
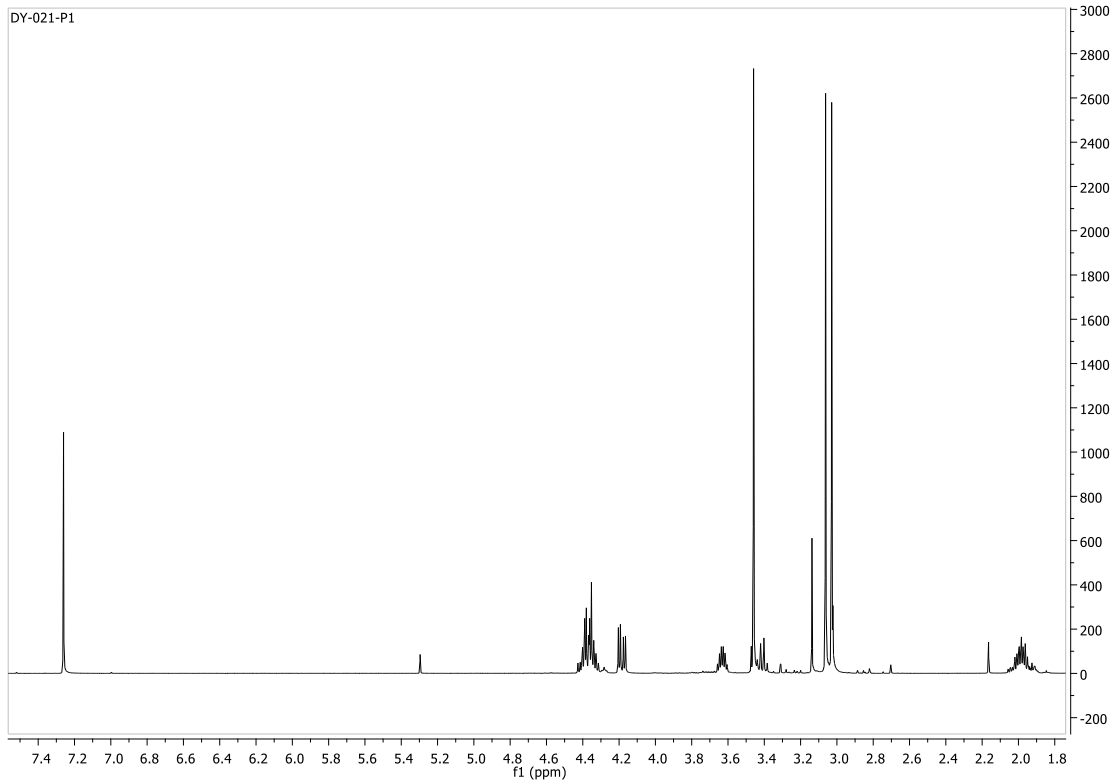
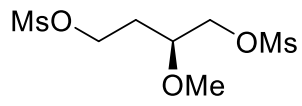
(S)-2-O-metilmalato de dimetilo



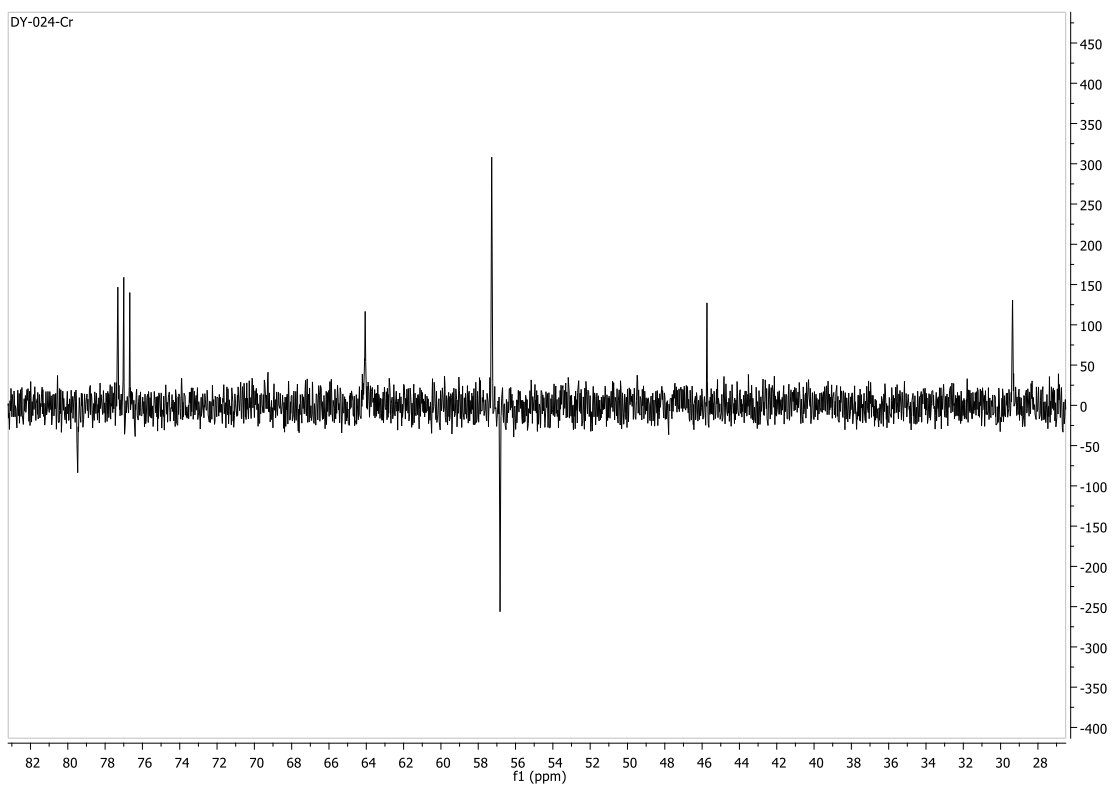
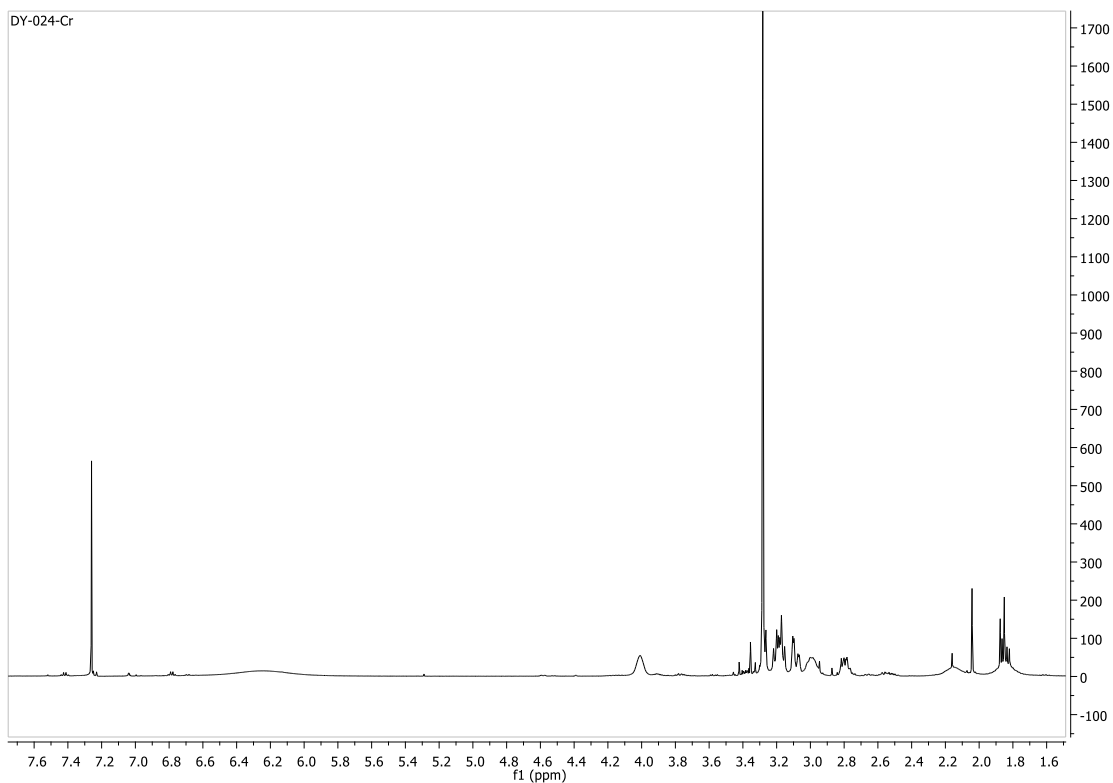
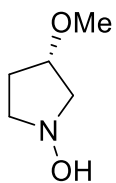
(S)-2-metoxi-1,4-butanodiol



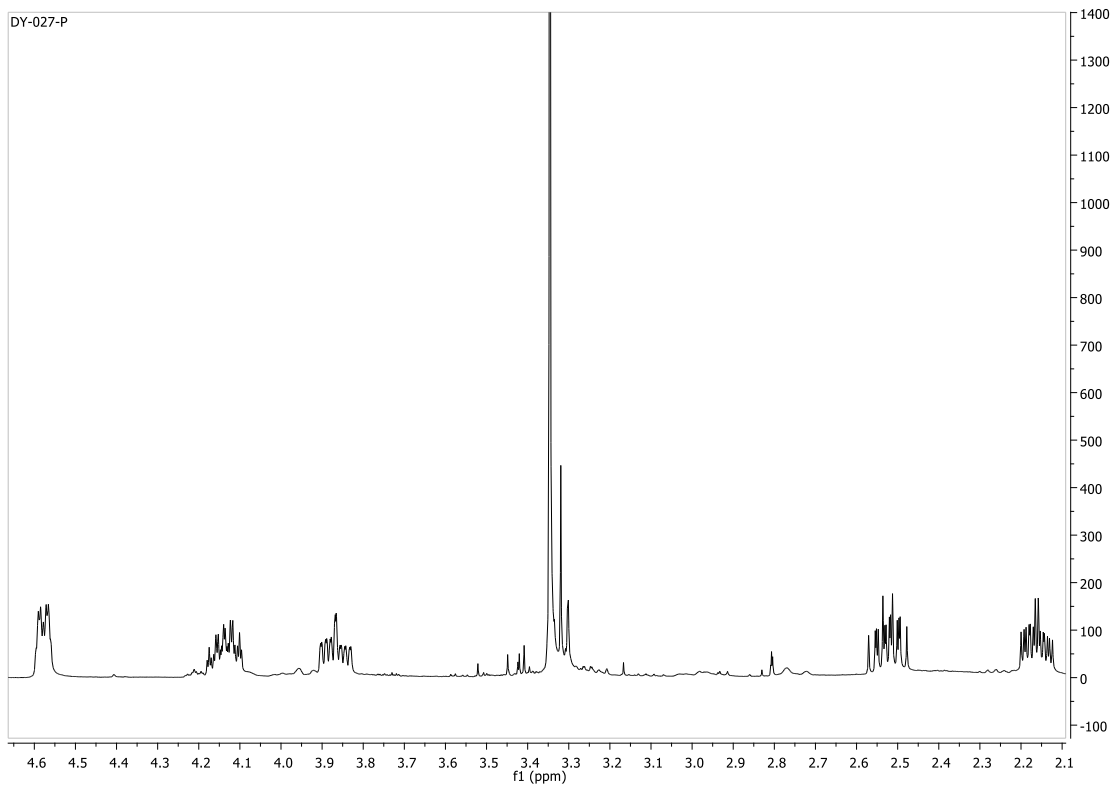
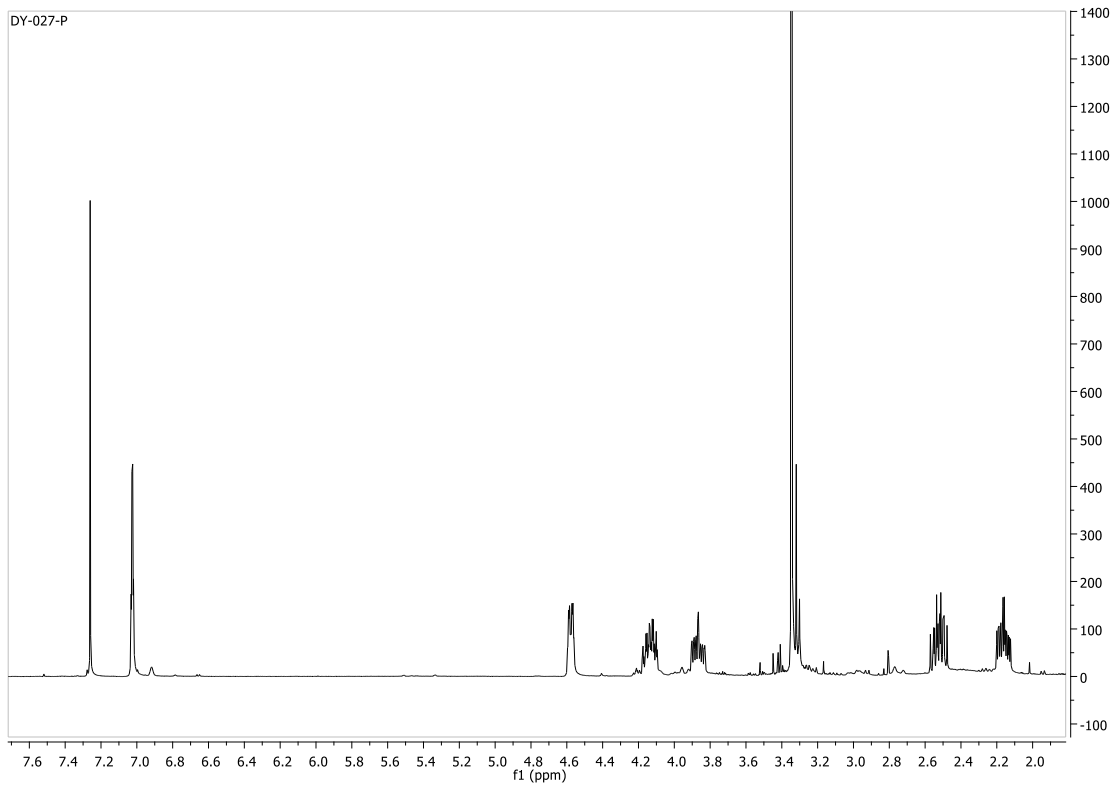
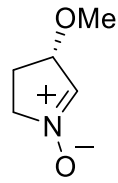
(S)-2-metoxi-1,4-bis(mesiloxi)butano



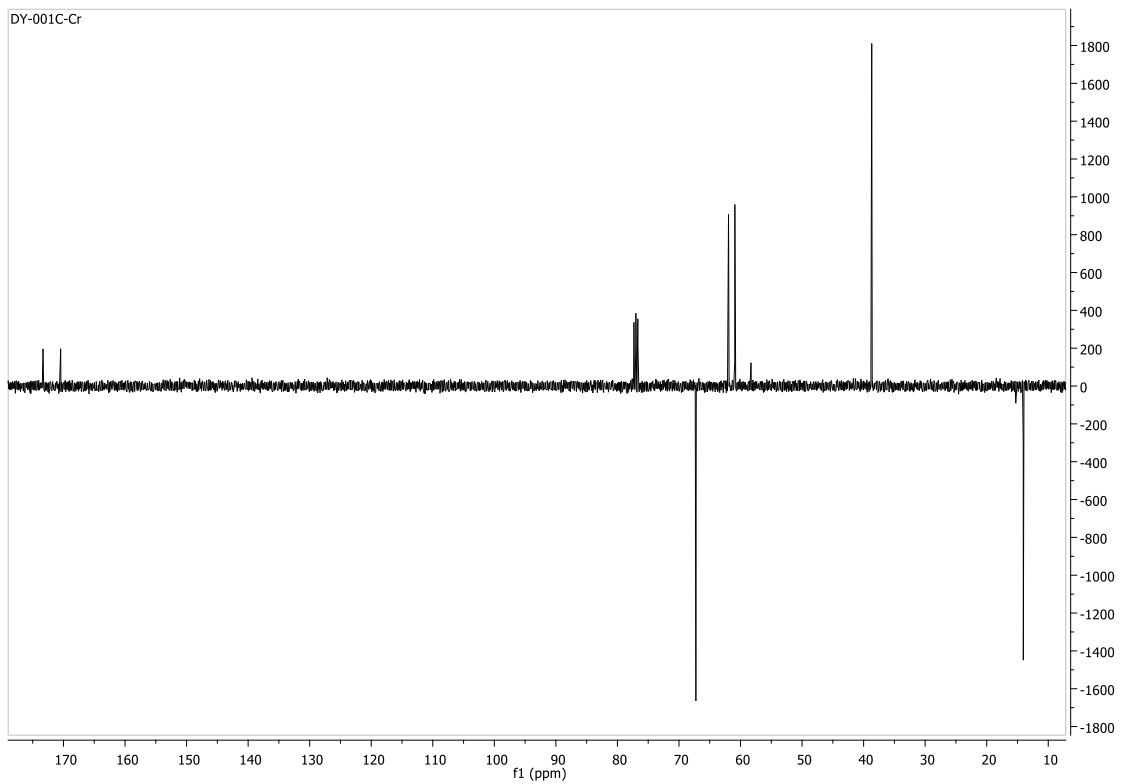
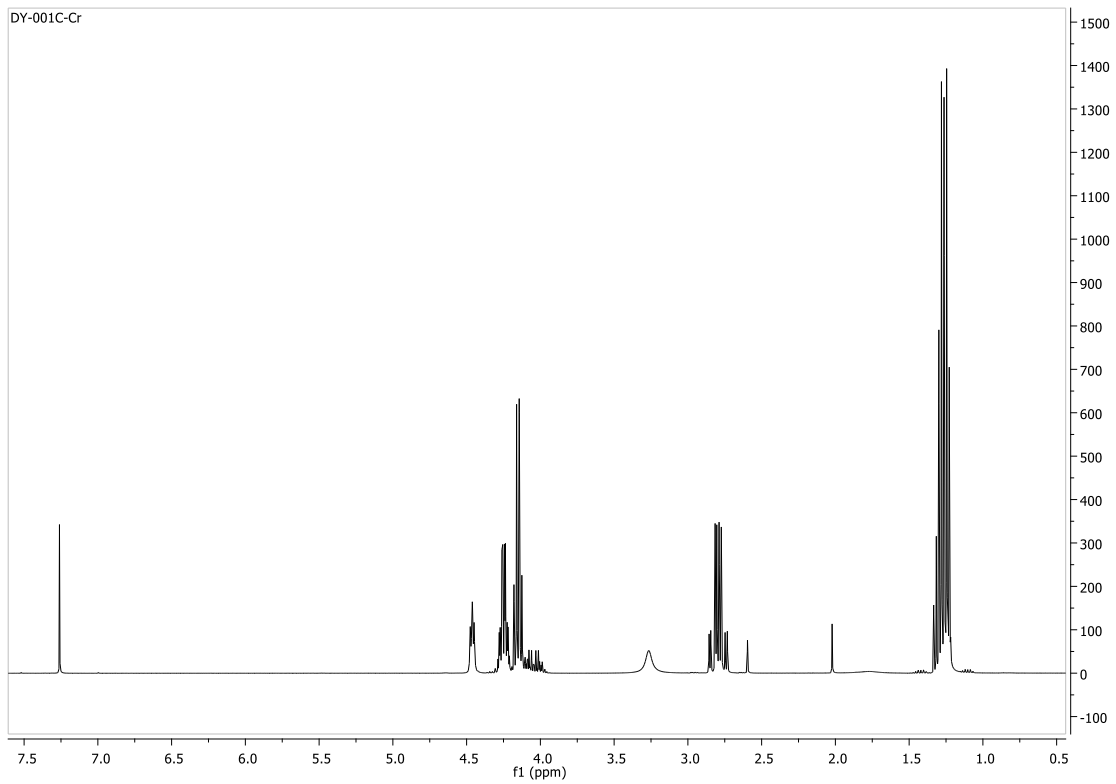
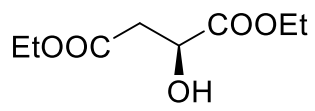
(S)-3-metoxi-N-hidroxipirrolidina



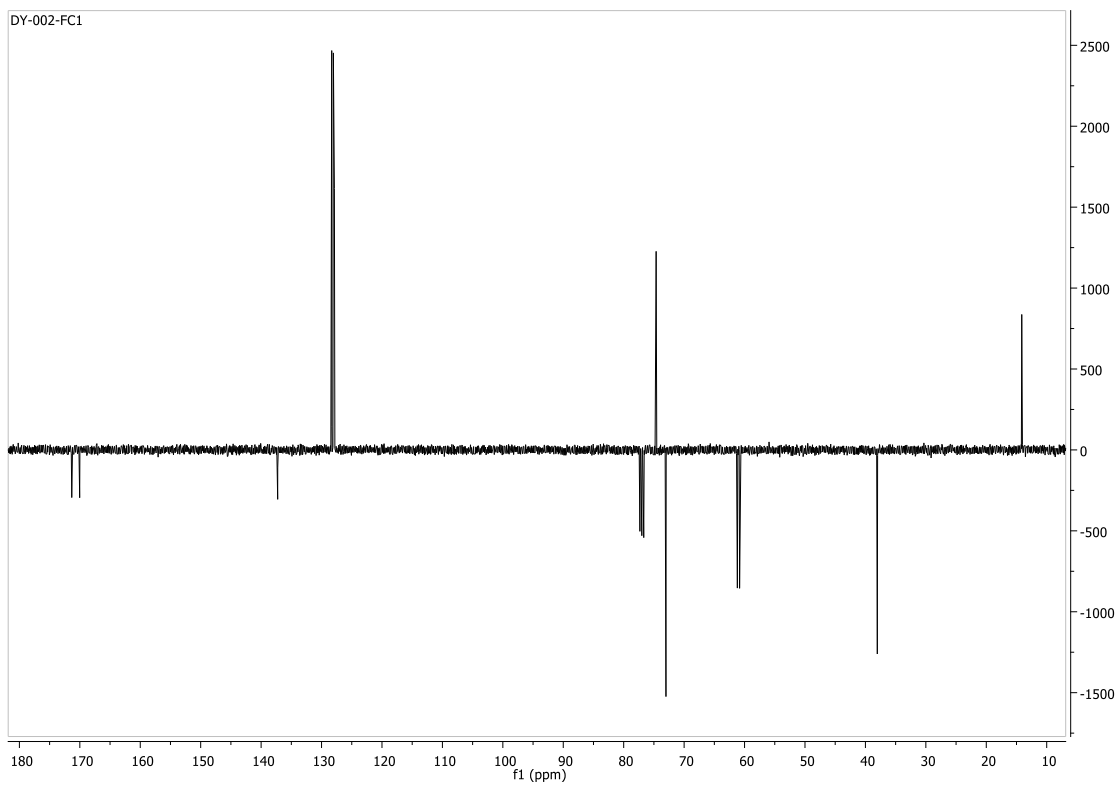
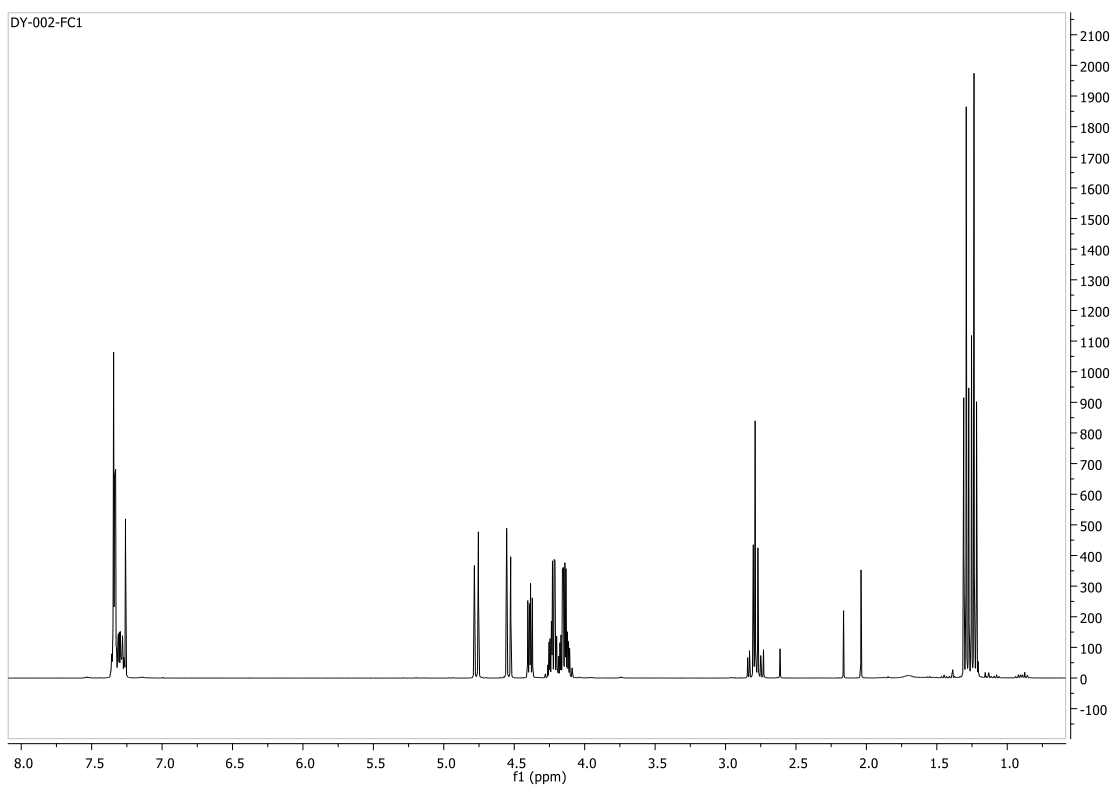
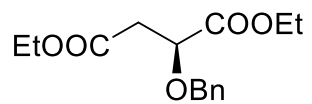
N-oxido de (S)-4-metoxi-3,4-dihidro-2H-pirrol



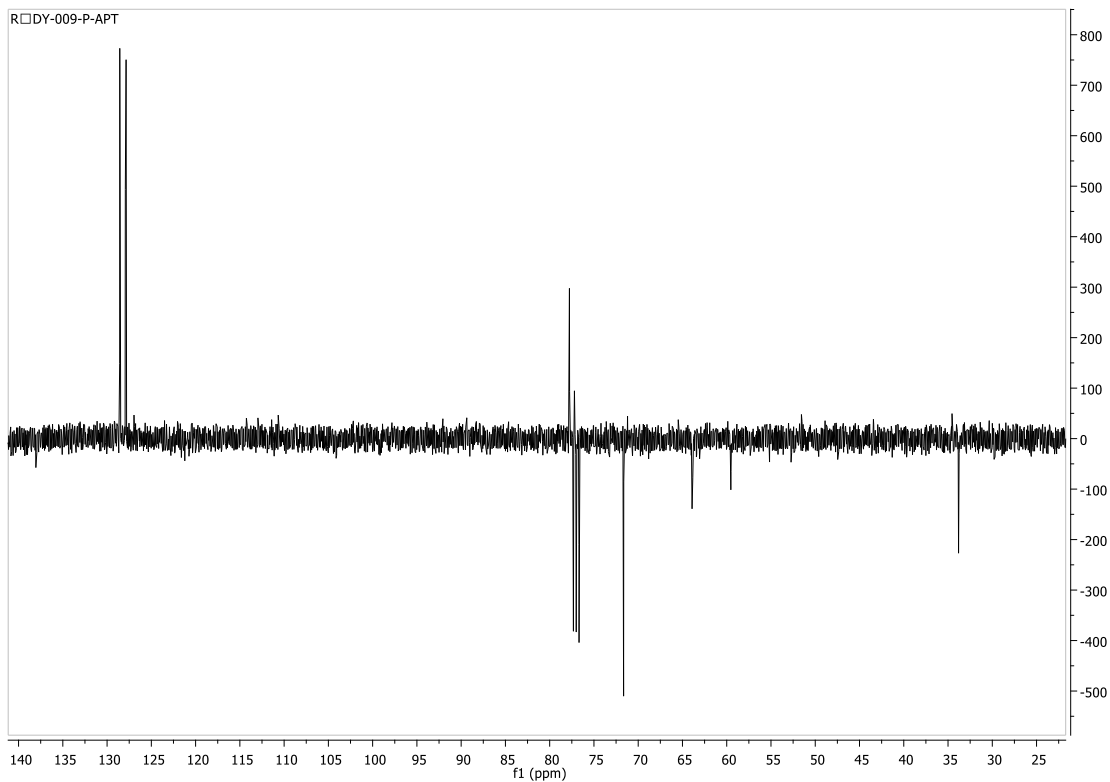
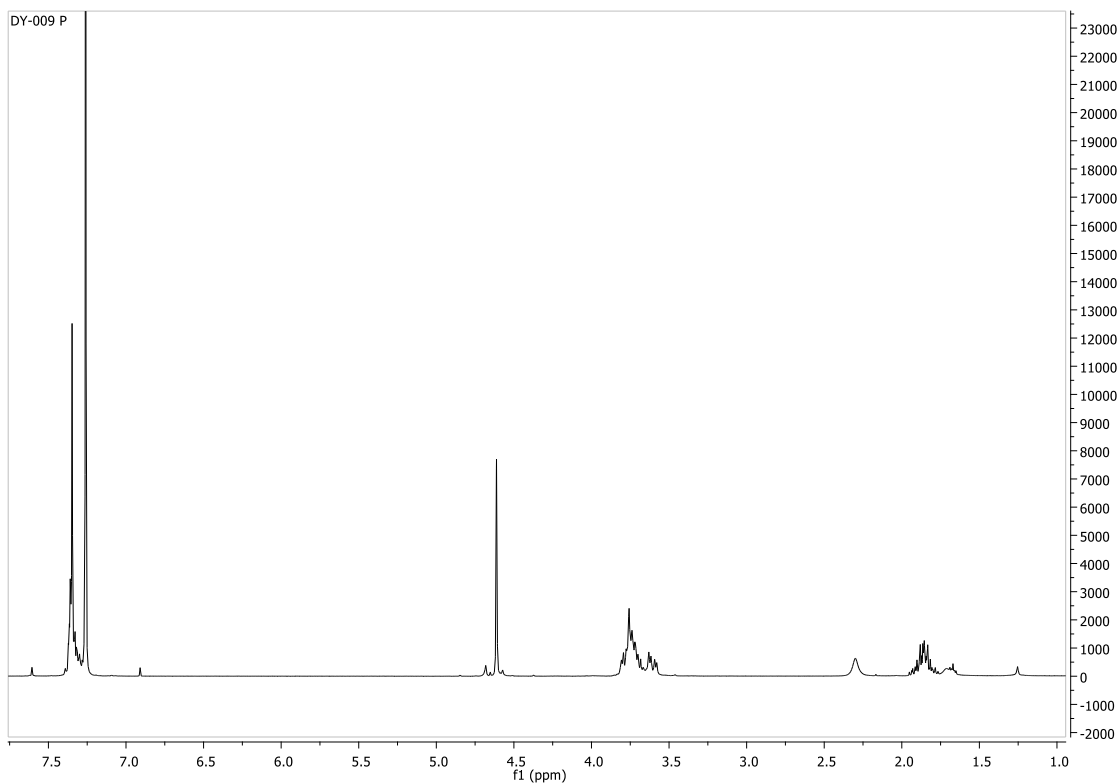
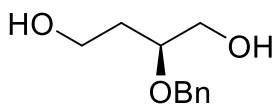
L-malato de dietilo



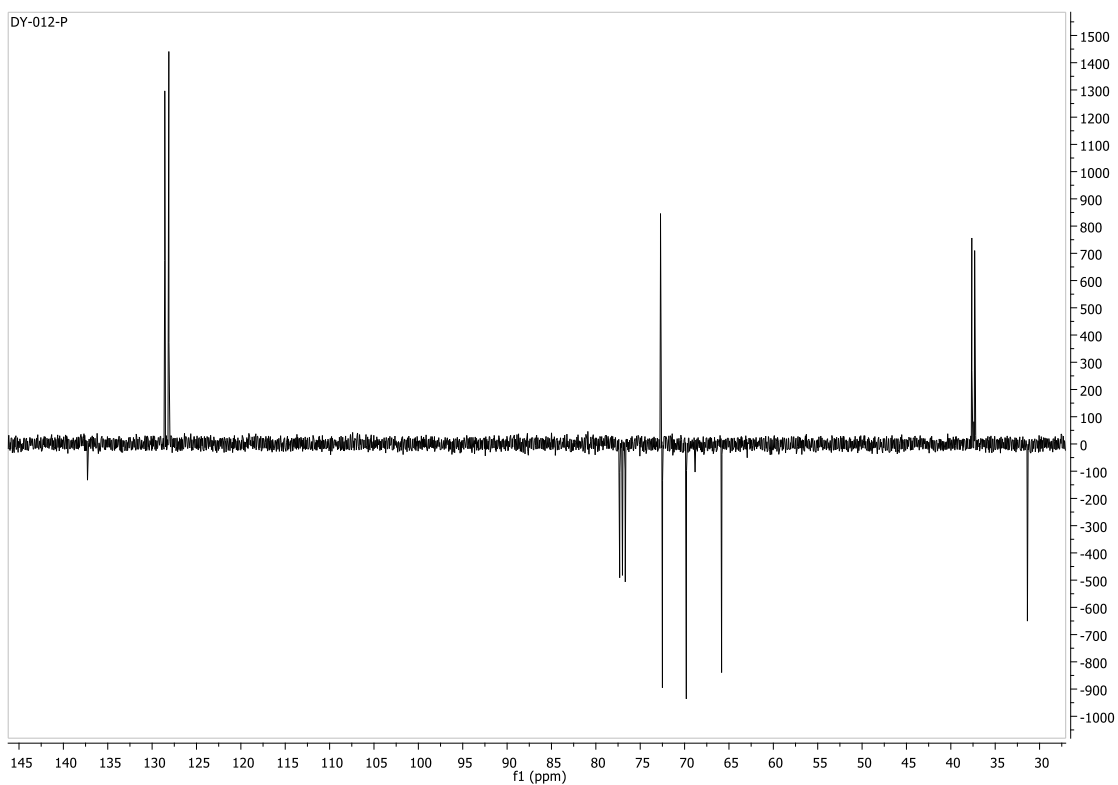
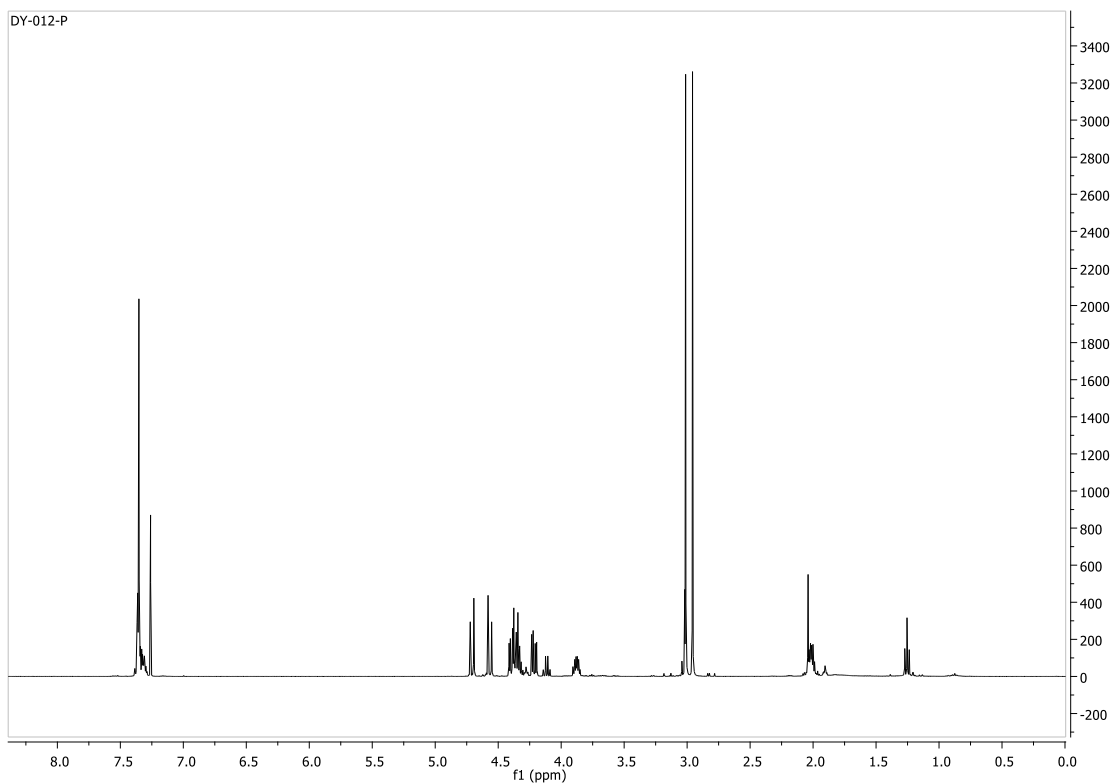
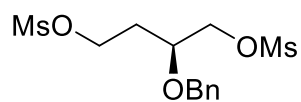
(S)-2-O-bencilmalato de dietilo



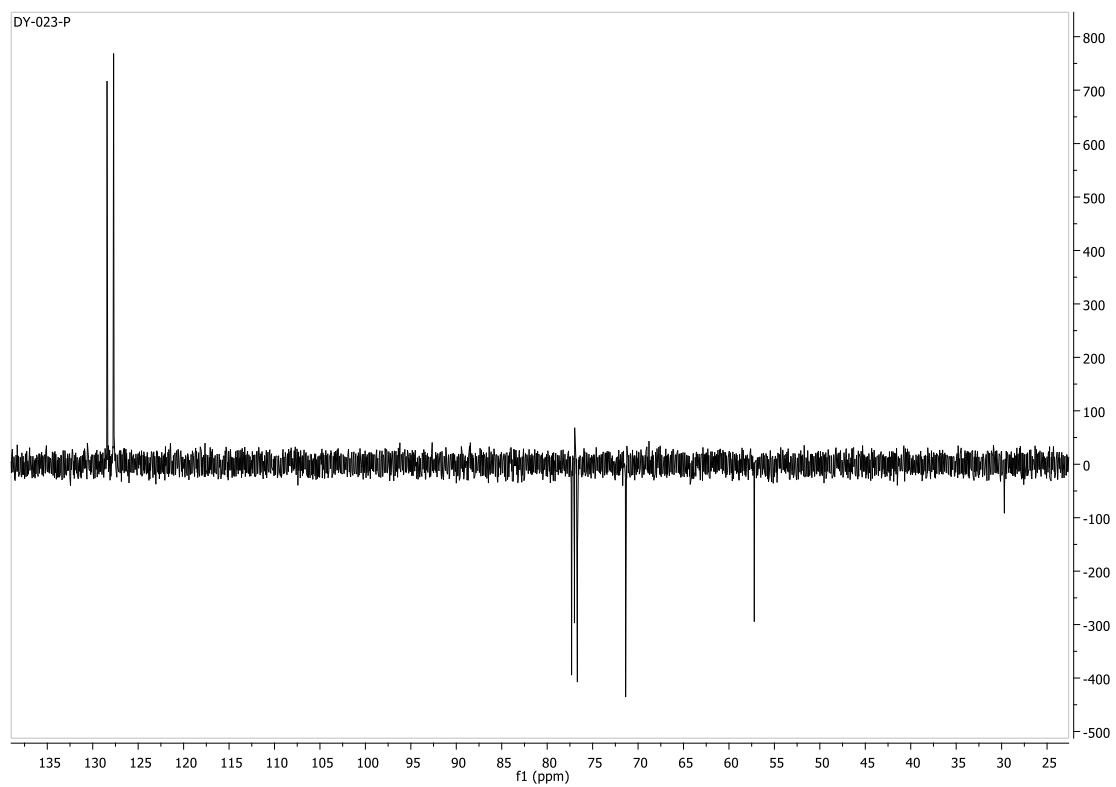
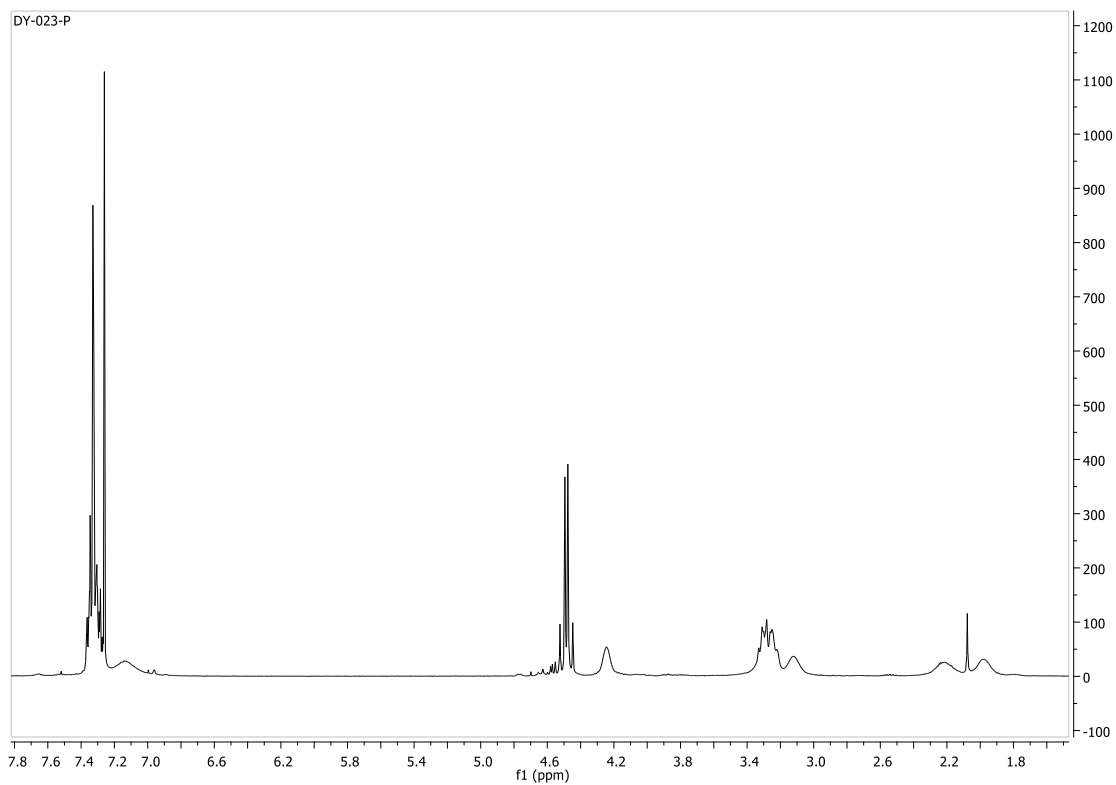
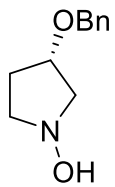
(S)-2-benciloxi-1,4-butanodiol



(S)-2-benciloxi-1,4-bis(mesiloxi)butano



(S)-3-benciloxi-N-hidroxi-pirrolidina



N-oxido de (S)-4-benciloxi-3,4-dihidro-2H-pirrol

