
Aproximación quimioenzimática a la síntesis total de epoxienonas quirales naturales.

**Trabajo presentado por
Maitia Labora
para aspirar al título de Doctora en Química.**

**Dr. Enrique Pandolfi
(Director de Tesis)**

**Dra. Valeria Schapiro
(Directora de Tesis)**

Dr. Ronaldo Pilli

Dr. Horacio Heinzen

Dra. Patricia Saenz Méndez

**Departamento de Química Orgánica
Facultad de Química
Universidad de la República
Montevideo, Uruguay
Diciembre de 2010**

A la abuela Pina, sin quien nada hubiera sido posible

Nada está perdido si se tiene el valor de proclamar que todo está perdido y hay que empezar de nuevo.

Julio Cortázar

Agradecimientos

Esta tesis no hubiera sido posible sin la ayuda de muchísima gente, con la cual estaré eternamente agradecida. Algunos hicieron de soporte a nivel laboral, otros a nivel personal y la gran mayoría en los dos. Esta tesis me regaló un montón de amigos que quiero mucho y guardo en mi corazón. A todos ellos: Gracias!

A la Abuela Pina, sin quien nada hubiera sido posible.

A Mamá, una amiga increíble. Por confiar ciegamente en mi y apoyarme siempre y en todo.

A Axel, por ser un hermano fabuloso, un tipo noble y con un corazón inmenso.

A Edu, por ser mi compañero de viaje, por ser mi mejor amigo.

A Luis, porque todavía intenta entender qué es lo que hago, pero aunque todavía no lo logró se siente completamente orgulloso. Por su amistad, por su cariño.

A Claudia, Lidia, Lau, Ceci, Nico, Agus, Fran, Sofi, Nacho y Santi, por permitirme ser parte de su familia. Por todo su cariño.

A Marcelo, Myriam, Queber y Mariana, la otra familia, la del corazón, por alentarme siempre y confiar en mi.

A Matilde, mi amiga de toda la vida, mi hermana, por haber estado siempre. Por regalarme su amistad sin peros, porque sabemos que contamos con la otra incondicionalmente.

A Pau, mi amiga del alma, por ser como es, por ser mi amiga, por nuestras mil anécdotas que cada vez que recordamos nos hacen llorar de risa. Por ser Zelma y Paty.

A Vicky, una grande, un amiga de fierro, la amiga que todos necesitamos. Por ser tan dulce y compañera.

A Nacho, el Dr Carre, por ser mi hermano de laboratorio, por todas las horas que compartimos dentro del LSO, por nuestras mil anécdotas, por todo lo que me enseñó. Por ese desayuno que aún me debe y promete pagar en New York...

A Vivi, Emetina, una diosa total. Por ser tan buena compañera, por haberme ayudado tantas veces a pensar las rutas de las epoxienonas. Por ayudarme con las correcciones de esta tesis. Por ser una amiga increíble.

A Anita, Diosa del Grignard, por ser un ejemplo a seguir, por todo lo que me enseñó y todos los momentos que compartimos. Por estar siempre presente a pesar de la distancia.

A Viro, una Popular de ley que cayó en territorio de las Divinas. Por ser tan dulce y divertida. Por haber compartido tantas cosas.

A Mariela, porque logré entender que su mejor forma de expresar su cariño es a través del insulto. Así que: gracias por todas tus puteadas Mamucha!

A Pati, una loquita de atar que no sabe lo que es descansar.... pero que adoro y admiro profundamente. Por su ayuda invaluable a la hora de editar esta tesis.

A Daniela, una excelente compañera de viajes y de shopping, una laburante admirable. Por todos los momentos que compartimos.

A Marga, el ser mas adorable y top que conozco, por ser tan brillante y divertida. Una verdadera diva de la química orgánica.

A Gustavo, el Google, por estar siempre dispuesto a responder una consulta, por todo lo que me ayudó entendiendo a Mitsunobu.

A Nía, mi querida vecina y heredera, por ser tan divertida.

A Mel, por toda su locura linda, por todo lo que laburó para ayudarme.

A Silvana, Chumín, porque aprendimos a entendernos y querernos.

A Pipo, por ser Pipo, indignado y todo, porque sabemos entendernos de vez en cuando.

A Guille (Pichón), un ser absolutamente adorable que me regaló su amistad sin peros.

A Gonza, Gabriel, Mariana, Florencia, Miguel, Sofía, Natali, Fede, Leti, Ale y Lucía por todo el aire nuevo que traen al LSO, por sus ocurrencias, por hacer tan divertido el laboratorio.

A los que ya no están en el laboratorio pero nos marcaron con su presencia: Aline (Miss Endnote), Illana, Chuck y Trucco.

A Solana, Irene, Matilde, Shei y Karina, por nuestras cenas de chicas tan necesarias para despejar la mente y por supuesto a Laura M. de C. por haber hecho todas nuestras reservas.

A Valeria por invitarme a trabajar con ella, por iniciarme en este mundo, por todo lo que me enseñó.

A Quique, por ser tan divertido, por todas sus ocurrencias y por toda la paciencia. Por todo lo que aprendí con él.

A Luis Rivas, por invitarme a trabajar en un su laboratorio.

A Luque, por su paciencia infinita, por todo lo que me enseñó trabajando con las Leishmanias y todas las veces que respondió mis preguntas. Por su invaluable ayuda con las correcciones de esta tesis. Porque me regaló su amistad.

A Luque, María, Eugenia, Silvia, Ludovica y toda la gente del CIB por hacerme sentir en casa estando tan lejos.

A los vecinos de farmacia, siempre dispuestos a dar una mano.

A Jorge por los dioles.

A Horacio por los RMN.

A Natalia por los HRMS.

A la Facultad de Química

Al PEDECIBA

A CSIC

A la ANII

A la AECID

Índice

Tabla de abreviaturas	1
Antecedentes	3
Síntesis enantioselectiva	4
Uso de estrategias quimioenzimáticas	5
Reactividad de los derivados de <i>cis</i> -ciclohexadienodiolos	7
Aplicaciones de los derivados de <i>cis</i> -ciclohexadienodiolos en síntesis asimétrica	13
Síntesis de productos naturales y compuestos de importancia comercial	13
Síntesis de ciclohexenonas sustituidas quirales	18
Epoxienonas quirales naturales	20
Aislamiento y actividad biológica	22
LL-C10037 α	22
Bromoxona	23
Epoformina y epiepoformina	23
Isoepiepoformina	24
Ácido ambúico	25
Filostina, parasitenona, epoxidón y epiepoxidón	26
Síntesis de epoxienonas quirales naturales	27
LL-C10037 α	27
Bromoxona	30
Epiepoformina	37
Epoformina	41
Isoepiepoformina	41
Ácido ambúico	43
Aislamiento, actividad biológica y síntesis de gabosina A	44
Leishmaniasis	47
Objetivos y Metodología	51
Resultados y Discusión	57
Aproximación a la síntesis de ácido ambúico: Preparación de una molécula modelo	58
Aproximación a la síntesis de (+) y (-)-bromoxona	73
Primera ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona	73
Segunda ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona	77
Preparación del epóxido intermedio común	77
Segunda ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona	83
Tercera ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona	89
Síntesis formal de (-)-bromoxona	100
Aproximación a la síntesis de (+) y (-)-epiepoformina y epoformina	104

Síntesis de (-)-epoformina y (-)-epiepoformina	104
Aproximación a la síntesis de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina	113
Aproximación a la síntesis de (+)-isoepiepoformina	122
Aproximación a la síntesis de LL-C10037 α	126
Síntesis de (-)-gabosina A	135
Determinación de actividad leishmanicida de epoxienonas	138
Determinación de compuestos activos frente a <i>Leishmania spp.</i>	139
Estudio del mecanismo de acción de epoxienonas sobre <i>Leishmania spp.</i>	145
Estudios sobre la membrana plasmática	145
Estudios sobre el metabolismo energético	149
Conclusiones y Trabajo futuro	155
Parte Experimental	161
Referencias	194

Tabla de abreviaturas

ABCC	1,1-azobisciclohexanocarbonitrilo
Ác. <i>p</i> -NB	ácido <i>p</i> -nitrobenzoico
AE	análisis elemental
AIBN	azobisisobutironitrilo
Alloc-Cl	cloroformiato de alilo
BzCl	cloruro de benzoílo
COSY	espectroscopía de correlación homonuclear ^1H - ^1H
d	doblete
DBAD	azodicarboxilato de di- <i>t</i> -butilo
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ano
dd	doblete de doblete
ddd	doblete de doblete de doblete
DDQ	2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona
DEAD	azodicarboxilato de dietilo
DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
DIBAL-H	hidruro de diisobutilaluminio
DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DME	dimetoxietano
DMF	dimetilformamida
dq	doble cuarteto
dt	doble triplete
ee	exceso enantiomérico
EMAR	espectroscopía de masas de alta resolución
HSQC	correlación de acoplamiento heteronuclear a un enlace
IBX	ácido <i>o</i> -iodoxibenzoico
IR	infrarrojo
<i>J</i>	constante de acoplamiento
LC50	concentración letal 50
m	multiplete
<i>m</i> -CPBA	ácido <i>m</i> -cloroperbenzoico

MOMCl	clorometilmetiléter
M. P.	material de partida
MsCl	cloruro de metanosulfonilo
MTT	bromuro de 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimida
NIS	<i>N</i> -iodosuccinimida
NMO	<i>N</i> -óxido de <i>N</i> -metilmorfolina
NMP	<i>N</i> -metil-2-pirrolidona
PMBCl	cloruro de <i>p</i> -metoxibencilo
ppm	partes por millón
<i>p</i> -MBDMA	<i>p</i> -metoxibenzaldehido dimetil acetal
PPTs	<i>p</i> -toluenosulfonato de piridinio
<i>p</i> -TsOH	ácido <i>p</i> -toluenosulfónico
Py	piridina
q	cuarteto
RMN ¹ H	resonancia magnética nuclear de protón
RMN ¹³ C	resonancia magnética nuclear de carbono 13
s	singulete
t	tripleto
T.A.	temperatura ambiente
TBAF	fluoruro de tetrabutilamonio
TBME	<i>tert</i> -butilmetiléter
TBDPSCI	cloro- <i>tert</i> -butildifenilsilano
TBP	tributilfosfina
TBSCI	cloro- <i>tert</i> -butildimetilsilano
TBSOTf	triflato de <i>tert</i> -butildimetilsilano
THF	tetrahidrofurano
THSCI	clorodimetiltexilsilano
Tritón B	hidróxido de benciltrimetilamonio
TsCl	Cloruro de tosilo

Antecedentes

1. Síntesis enantioselectiva

Uno de los principales objetivos de la química orgánica sintética es la preparación enantioselectiva de productos naturales.¹⁻³

Numerosas sustancias naturales quirales presentan actividad biológica y en la mayoría de los casos, esta actividad es debida a un enantiómero en particular.⁴ Es por esto que la elucidación de la configuración absoluta de los carbonos asimétricos presentes en moléculas naturales ha adquirido una enorme importancia. La síntesis enantioselectiva es una herramienta muy importante que ha colaborado enormemente a dichos fines.

Asimismo, una vez identificado inequívocamente el enantiómero responsable de la actividad biológica de un compuesto particular, se enfrentan enormes dificultades a la hora de aislar dicho producto de fuentes naturales en cantidades óptimas para satisfacer la demanda. Por este motivo es creciente el interés de las industrias química, farmacéutica y agroquímica en la síntesis enantioselectiva como la forma de obtener un producto final con la pureza óptica deseada en cantidades suficientes.

Los métodos químicos convencionales para la obtención de moléculas ópticamente puras, como la resolución de racematos y el uso auxiliares quirales, no siempre permiten obtener la deseada pureza enantiomérica con buenos rendimientos e implican en algunos casos, laboriosos métodos de separación.

2. Uso de estrategias quimioenzimáticas

Dentro del campo de la síntesis enantioselectiva, una excelente alternativa a los métodos químicos son los métodos bioquímicos, que recurren a la elevada estereoespecificidad de las enzimas para la introducción de asimetría en el proceso de síntesis.⁵

Si bien estos métodos se encuentran limitados por la especificidad del sustrato, la simplicidad de ejecución desde el punto de vista práctico, y los elevados valores de exceso enantiomérico (ee) que pueden alcanzarse con estos métodos, los han convertido en una valiosa herramienta tanto a nivel industrial como de laboratorio.

La utilización de enzimas, además de permitir la inducción asimétrica buscada, se ha clasificado como un método de producción “verde” o “sustentable” por algunos autores.⁶

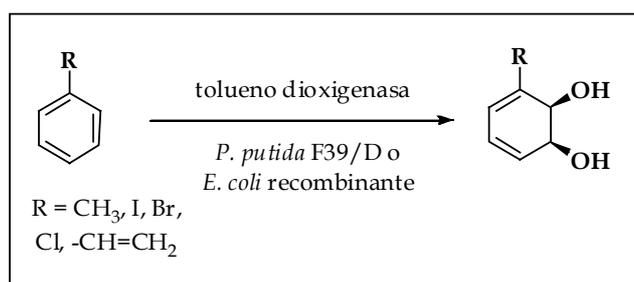
Hay dos formas de trabajar con enzimas como catalizadores asimétricos: la utilización de enzimas aisladas o de células enteras. El empleo de una u otra dependerá principalmente de la necesidad de cofactores que presente la enzima y de la disponibilidad de la enzima aislada.

Cuando la enzima a utilizar no requiere cofactores y es estable en estado puro, la reacción se puede llevar a cabo utilizando la enzima aislada en un medio de reacción adecuado. En algunos casos, especialmente en preparaciones industriales en gran escala, el uso de enzimas inmovilizadas es muy ventajoso.

Sin embargo cuando la enzima requiere el uso de uno o varios cofactores, como ser en el caso de las oxidorreductasas, se prefiere realizar fermentaciones utilizando células enteras. Esto se hace principalmente para evitar la adquisición de cofactores que son muy costosos y cuyos sistemas de regeneración suelen ser de baja eficiencia. Las células vivas tienen todos los cofactores necesarios como parte de su metabolismo, por lo tanto se aprovecha la maquinaria enzimática de la célula para realizar la reacción objetivo.

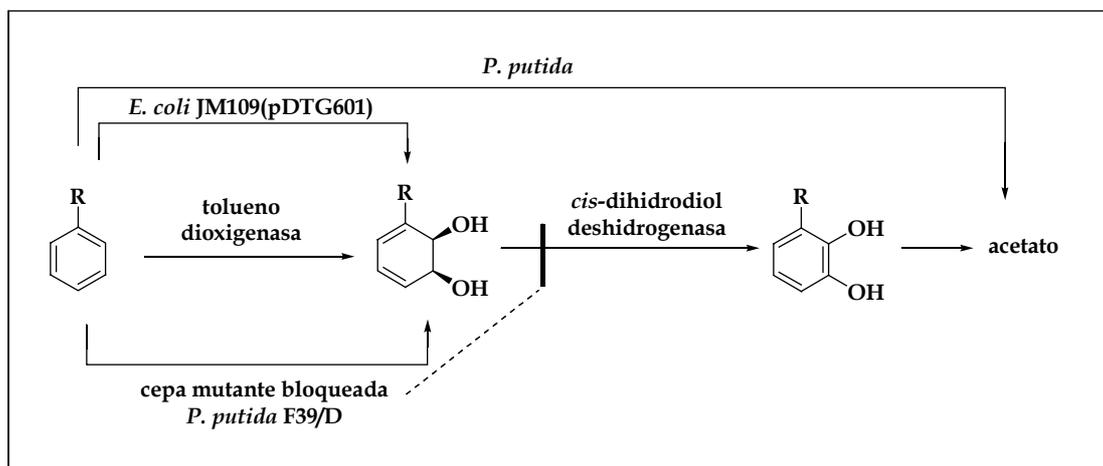
Este procedimiento presenta limitaciones como pueden ser la toxicidad del sustrato y de los reactivos a utilizar en las condiciones de crecimiento de las células o incluso la presencia de otras enzimas capaces de metabolizar el producto deseado.

En nuestro grupo de investigación trabajamos en la oxidación microbiana de arenos, con una cepa mutante de *Pseudomonas putida*, *P. putida* F39/D. Dicha bacteria permite transformar tolueno y diversos sustratos aromáticos monosustituídos para dar *cis*-ciclohexadienodiolos con buenos rendimientos y excesos enantioméricos mayores al 99%.⁷⁻⁹ Esta biotransformación también puede realizarse empleando un microorganismo recombinante, *Escherichia coli* JM109 que contiene el plásmido pDTG601¹⁰ (esquema 1).



Esquema 1: Biotransformación de sustratos aromáticos monosustituídos.

Ambos microorganismos contienen la enzima tolueno-dioxigenasa que cataliza la dihidroxilación asimétrica de arenos monosustituídos en *cis*-ciclohexadienodiolos. La *Pseudomonas putida* F39/D fue aislada por Gibson⁹ y se trata de una cepa mutante de *P. putida*, que carece de actividad *cis*-diol deshidrogenasa, es decir que posee la ruta metabólica de catabolismo de arenos bloqueada (esquema 2). En ella la expresión enzimática de tolueno-dioxigenasa debe ser inducida por tolueno. La *Escherichia coli* JM109 (pDTG601) es una cepa recombinante construida por Gibson en 1989.¹⁰ Los genes que codifican para la expresión del complejo enzimático tolueno-dioxigenasa fueron clonados en un vector para *E. coli* formando el plásmido denominado pDTG601 que al ser inducido con isopropil- β -D-tiogalactopiranosido (IPTG) oxida sustratos aromáticos a los correspondientes *cis*-dioles.



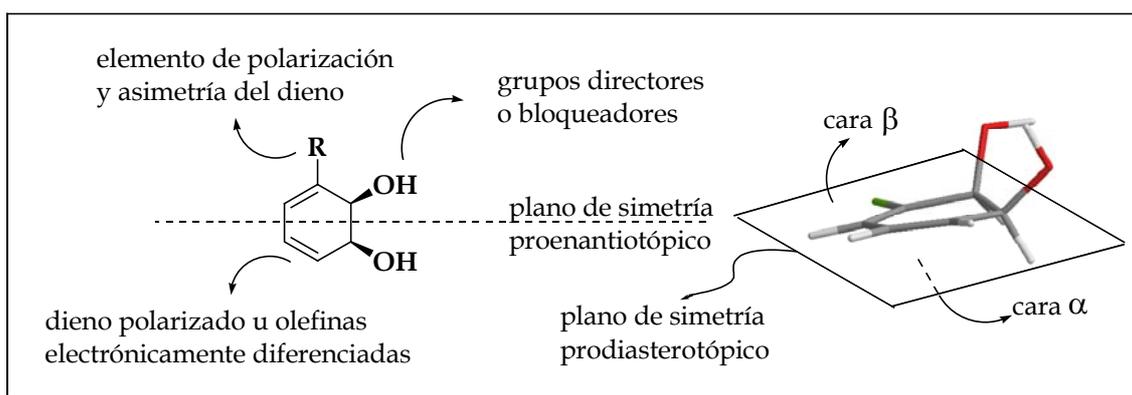
Esquema 2: Ruta metabólica para la degradación de arenos por microorganismos.

3. Reactividad de los derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos

Los ciclohexadienodiolos obtenidos por biotransformación son materiales de partida muy versátiles en síntesis enantioselectiva. Constituyen sintones valiosos al presentar las funciones de *cis*-diol, dieno conjugado y alcohol alílico. Por ello, presentan una enorme potencialidad como materiales de partida para la síntesis de compuestos naturales polioxigenados como lo documentan las síntesis que han sido reportadas de: carbohidratos, inositoles, conduritales, alcaloides, terpenos, etc.^{6,11-13}

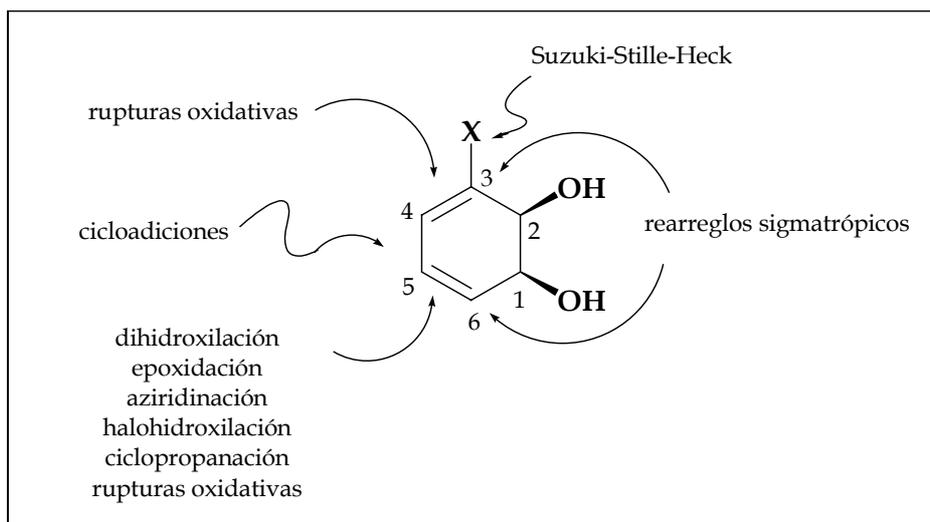
Los derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos presentan dos características que los hacen excelentes sintones homoquirales para síntesis asimétricas. La primera consiste en planos y ejes de simetría que permiten un diastereo- y enantiocontrol para futuras reacciones sobre ellos. La función *cis*-diol es capaz de diferenciar el plano del anillo en dos caras prodiasterotópicas que denominamos α y β (esquema 3). El efecto estérico del diol bloquea la cara β del anillo, haciendo más reactiva la cara α frente a una especie química que se acerque a la molécula, fundamentalmente si la función diol se encuentra protegida. De manera contraria los hidroxilos también pueden actuar como grupos directores favoreciendo un ataque sobre la cara β para reactivos oxifílicos. De esta forma la propia molécula puede dirigir la orientación espacial de una especie reactiva, generando un control diastereomérico de los productos obtenidos. En cuanto a las insaturaciones presentes en la molécula, pueden ser consideradas como un dieno polarizado, o como dos dobles enlaces con un contenido electrónico diferenciable. Esto

ocurre debido a la presencia del sustituyente en posición 3 que cumple un rol de polarización y de asimetría para el dieno. Se presenta entonces un plano denominado proenantiotópico que bisecta al *cis*-diol posibilitando la enantiodivergencia. Cualquier operación por encima o por debajo de este plano con la subsecuente remoción del grupo R (que requiere que sea un halógeno) deriva en la preparación de cada uno de los enantiómeros. Este concepto ha sido ampliamente explotado para la síntesis de carbohidratos, inositoles y alcaloides en sus dos series enantioméricas.¹⁴



Esquema 3: Funciones orgánicas y planos de diastero y enantio diferenciación en *cis*-ciclohexadienodiolos.

La segunda característica radica en su alta reactividad y capacidad de funcionalización, que le otorgan una destacable versatilidad. Los dioles halogenados han sido los más utilizados para fines sintéticos. Por lo tanto, su funcionalización y reactividad han sido extensamente descritas. A modo de ejemplo, se describen a continuación algunas de las reacciones desarrolladas sobre estos dioles con un grupo halógeno en posición 3⁶ (esquema 4).



Esquema 4: Reacciones desarrolladas sobre dioles halogenados en posición 3.

Los dobles enlaces conjugados pueden reaccionar a través de cicloadiciones regioselectivas [4+2] por su alto carácter de dieno,^{13,15} sin embargo ambos dobles enlaces pueden también actuar como dienófilos bajo ciertas condiciones.¹⁴ Por otra parte, la polarización aportada por el halógeno genera una diferenciación electrónica y estérica de estas olefinas, lo que permite una excelente regioselectividad frente a electrófilos. Por esta razón, las dihidroxilaciones, epoxidaciones, halohidroxilaciones, aziridinaciones y ciclopropanaciones ocurren regioselectivamente en el doble enlace menos impedido y más rico en electrones (distal al halógeno).¹⁴ A nivel de las funciones alcohol alílico se han ensayado rearrreglos tipo Claisen.¹⁶ El halógeno en posición tres unido a un carbono sp^2 también puede ser objeto de acoplamientos C-C tipo Suzuki, Stille y Heck.^{13,17,18} Las ozonólisis de las olefinas (rupturas C_3-C_4 y C_5-C_6) han sido una ruptura oxidativa de enlaces C-C con gran valor sintético.¹⁹

Cuando en la posición 3 existe un grupo dador de electrones por efecto inductivo, como en el caso de los productos de biotransformación de tolueno y estireno, la reactividad del dieno cambia notoriamente. En estos casos el doble enlace más rico en electrones es a la vez el más impedido, y el menos impedido es el menos nucleofílico. Por lo tanto la reactividad frente a una adición electrofílica ya no es fácilmente predecible, y dependerá de los factores estéricos y electrónicos que gobiernen la reacción. Las reacciones de dihidroxilación y epoxidación han sido estudiadas para el *cis*-3-metilciclohexadienodiol y la selectividad obtenida muestra que para ambas reacciones los efectos electrónicos predominan sobre el congestionamiento estérico, ya que el doble enlace más reactivo es el más sustituido.^{19,20}

En la tabla 1 se presentan datos obtenidos previamente en nuestro laboratorio,²⁰ donde se muestra la reactividad de estos sistemas frente a la dihidroxilación utilizando cantidades catalíticas de tetróxido de osmio y *N*-óxido de metilmorfolina (NMO) como co-oxidante.

<i>Entrada</i>	<i>Sustrato</i>	<i>Productos (relación)</i>	<i>Rendimiento total</i>
1		 (67 : 33)	70%
2		 (100)	70%
3		 (80 : 20)	70%

Tabla 1: Dihidroxilación de *cis*-ciclohexadienodiolos.

En la entrada 1 se observa que para el caso del *cis*-3-metilciclohexadienodiol protegido como acetónido, la regioselectividad para la olefina mas rica en electrones es mayor. La adición *syn* del tetróxido de osmio al doble enlace, ocurre por la cara menos impedida (cara α), ya que la cara β se encuentra bloqueada por el grupo isopropilideno. Ambos productos se obtienen con esta estereoquímica. Para el caso del *cis*-3-clorociclohexadienodiol protegido como acetónido, se obtiene exclusivamente el producto de dihidroxilación sobre la olefina con mayor densidad electrónica (entrada

2). La entrada 3 muestra la dihidroxilación del *cis*-diol derivado de estireno, que presenta la función diol protegida como éteres de silicio voluminosos. En este caso el ataque ocurre sobre la olefina más rica en electrones y posteriormente reacciona sobre la olefina terminal para dar el producto tetrahidroxilado.

De igual manera se realizó un estudio exhaustivo de la selectividad de la halohidroxilación sobre varios *cis*-ciclohexadienodiolos.^{21,22}

En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos en lo que respecta a la reactividad de estos sistemas frente a la halohidroxilación en condiciones de Prévost²³⁻²⁶ (acetato de plata, yodo y ácido acético glacial) o empleando *N*-iodosuccinimida (NIS).²⁷

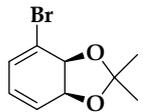
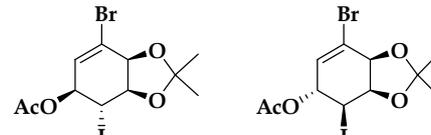
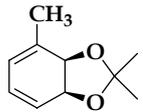
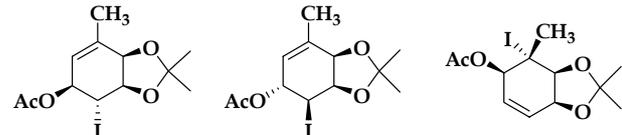
<i>Entrada</i>	<i>Sustrato/ Condiciones</i>	<i>Productos (relación)</i>	<i>Rendimiento total</i>
1	 AcOAg, I ₂ , AcOH glacial	 (89:1)	90%
2	 AcOAg, I ₂ , AcOH glacial	 (57:3:10)	74% (incluye un 4% de la diiodohidrina)

Tabla 2: Halohidroxilación de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos.

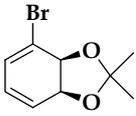
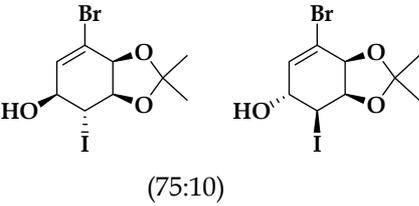
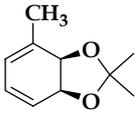
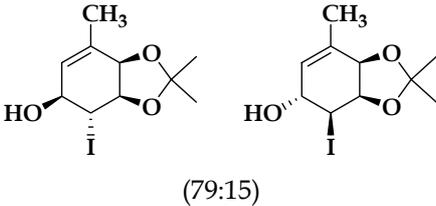
Entrada	Sustrato/ Condiciones	Productos (relación)	Rendimiento total
3	 NIS	 (75:10)	85%
4	 NIS	 (79:15)	94%

Tabla 2: Halohidroxilación de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos (Continuación).

En la entrada 1 se puede observar que para el derivado *cis*-3-bromociclohexadienodiol protegido como acetónido, la regioselectividad es 100% sobre la olefina más rica en electrones, al tiempo que la estereoselectividad es muy alta para el producto obtenido del ataque del yodo por la cara α del diol. Esto se explica por el importante impedimento estérico presente en la cara β debido a la presencia del grupo isopropilideno.

Para el *cis*-diol obtenido de la biotransformación del tolueno protegido como acetónido, la regioselectividad es mayor para la olefina con menor contenido electrónico (entrada 2). También se observa una mayor proporción del estereoisómero obtenido del ataque sobre la cara α del diol. Esto indica que los efectos estéricos predominan sobre los electrónicos al momento de una adición electrofílica en condiciones de Prévost en estos sistemas.

En las entradas 3 y 4 se puede observar que en la reacción con *N*-iodosuccinimida (NIS) de los dioles derivados del bromobenceno y del tolueno, la regioselectividad es 100% sobre la olefina distal al sustituyente, independientemente del contenido electrónico de las olefinas, lo cual confirma que los efectos estéricos son predominantes en este tipo de sistemas.

4. Aplicaciones de los derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos en síntesis asimétrica.

4.1 Síntesis de productos naturales y compuestos de importancia comercial.

El principal indicador del valor que presentan los *cis*-ciclohexadienodiolos como sintones homoquirales es la cantidad de publicaciones de los últimos 30 años que los emplean como material de partida para la obtención de productos naturales enantioméricamente puros.

En la tabla 3, se resume cronológicamente la obtención de productos naturales con alto valor agregado o de importancia comercial a partir de estos dioles.⁶ Cabe destacar la diversidad estructural de los productos sintetizados (polímeros, terpenos, alcaloides, azúcares, ciclitos, inositolos) a partir de sólo cinco sintones (dioles correspondientes al tolueno, clorobenceno, bromobenceno, estireno, y β -bromoetilbenceno) como se indica en las entradas 3 a 10 y 13 a 16.

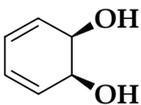
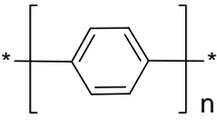
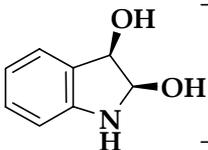
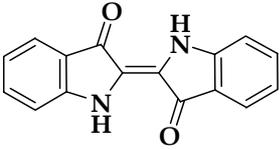
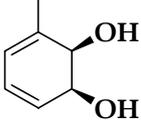
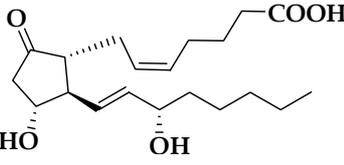
<i>Entrada</i>	<i>Diol de Partida</i>	<i>Producto</i>	<i>Autor (año)</i>	<i>Ref</i>
1		 polipropileno	Taylor (1983)	28
2		 índigo	Gibson (1983)	29
3		 PGE _{2α}	Hudlicky (1988)	19

Tabla 3: Síntesis de productos naturales y de importancia comercial a partir de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos.

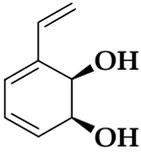
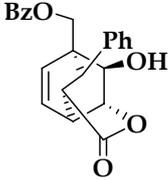
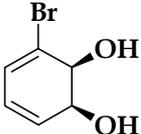
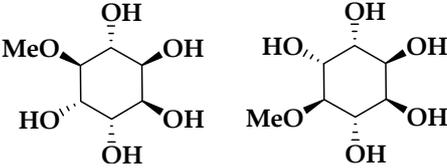
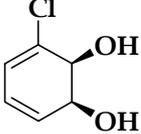
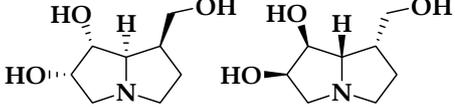
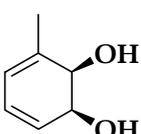
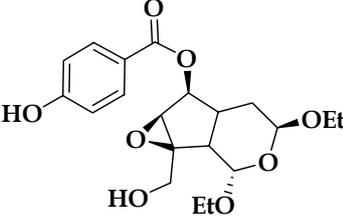
Entrada	Diol de Partida	Producto	Autor (año)	Ref
4		 <p data-bbox="786 622 922 656">(+) -zeylena</p>	Hudlicky (1989)	30
5		 <p data-bbox="762 947 946 981">(+) y (-)-pinitol</p>	Hudlicky (1990)	31
6		 <p data-bbox="675 1328 1034 1361">(+) y (-)-trihidroxiheliotridano</p>	Hudlicky (1990)	31
7		 <p data-bbox="786 1641 922 1675">especionina</p>	Hudlicky (1992)	13

Tabla 3: Síntesis de productos naturales y de importancia comercial a partir de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos (Continuación).

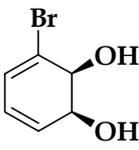
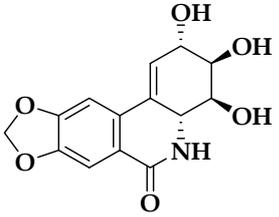
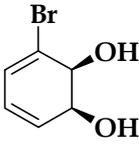
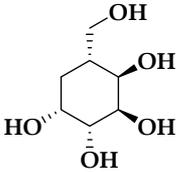
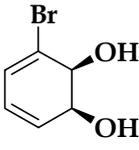
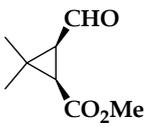
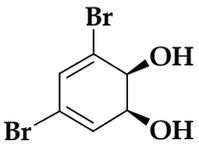
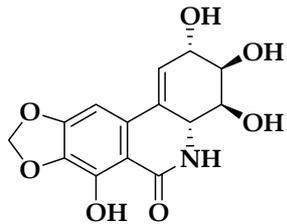
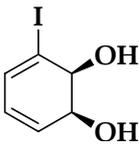
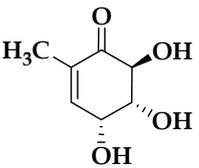
Entrada	Diol de Partida	Producto	Autor (año)	Ref
8		 <p>licoricidina</p>	Hudlicky (1992)	13
9		 <p>pseudo-β-D-altropiranos</p>	Hudlicky (1995)	32
10			Banwell (1996)	33
11		 <p>narciclasina</p>	Hudlicky (1999)	34
12		 <p>(-)-gabosina A</p>	Banwell (2001)	35

Tabla 3: Síntesis de productos naturales y de importancia comercial a partir de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos (Continuación).

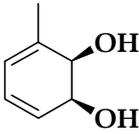
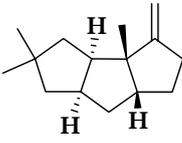
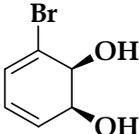
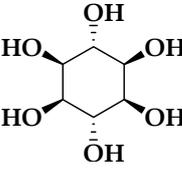
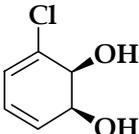
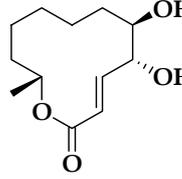
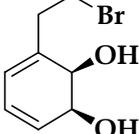
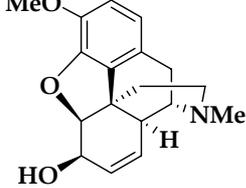
<i>Entrada</i>	<i>Diol de Partida</i>	<i>Producto</i>	<i>Autor (año)</i>	<i>Ref</i>
13		 (-)-hirsutina	Banwell (2004)	36
14		 <i>epi</i> -inositol	González (2004)	12
15		 (-)-cladospolide	Banwell (2005)	37
16		 (+)-codeína	Hudlicky (2007)	38

Tabla 3: Síntesis de productos naturales y de importancia comercial a partir de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos (Continuación).

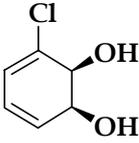
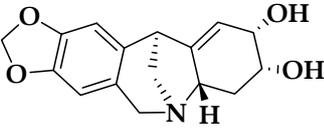
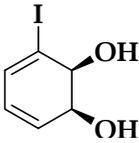
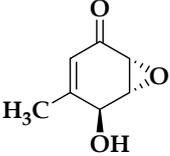
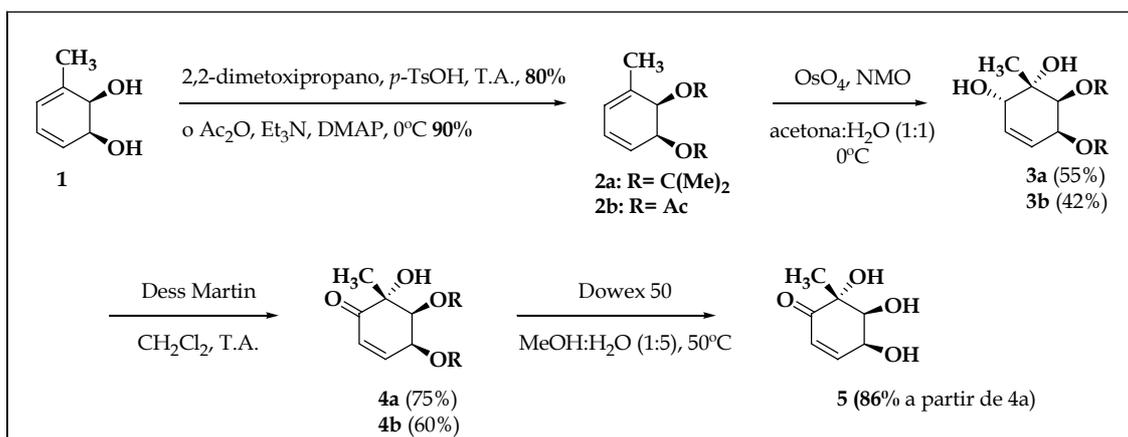
<i>Entrada</i>	<i>Diol de Partida</i>	<i>Producto</i>	<i>Autor (año)</i>	<i>Ref</i>
17		 (+)-nangustina	Banwell (2008)	39
18		 (+)-isoepepoformina	Banwell (2010)	40

Tabla 3: Síntesis de productos naturales y de importancia comercial a partir de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos (Continuación).

4.2 Síntesis de ciclohexenonas sustituidas quirales.

En nuestro laboratorio se llevó a cabo, entre otras, la síntesis de una serie de enonas quirales a partir de los mencionados *cis*-ciclohexadienodiolos.⁴¹ Estas enonas constituyen valiosos intermedios para la síntesis enantioselectiva de productos naturales y fueron preparadas fácilmente a partir de los mencionados dioles.

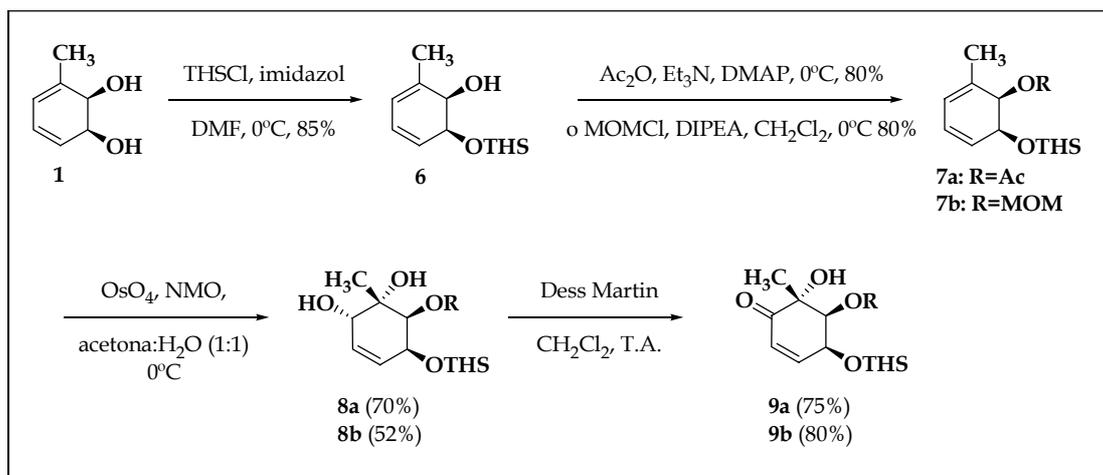
Tal como se indica en el esquema 5, el diol **1** se protegió en una primera etapa tanto con el grupo isopropilideno como con acetatos. La posterior *cis*-dihidroxilación con tetróxido de osmio se produjo sobre el doble enlace más rico en electrones tal como se discutió previamente (ver sección 3) para dar los compuestos **3a** o **3b**. El hidroxilo alílico se oxidó utilizando el reactivo de Dess Martin para dar las enonas **4a** y **4b** respectivamente. La remoción del grupo isopropilideno del compuesto **4a** dio lugar a la enona **5**.



Esquema 5: Preparación de la enona quiral **5** a partir de *cis*-3-metilciclohexadienodiol.

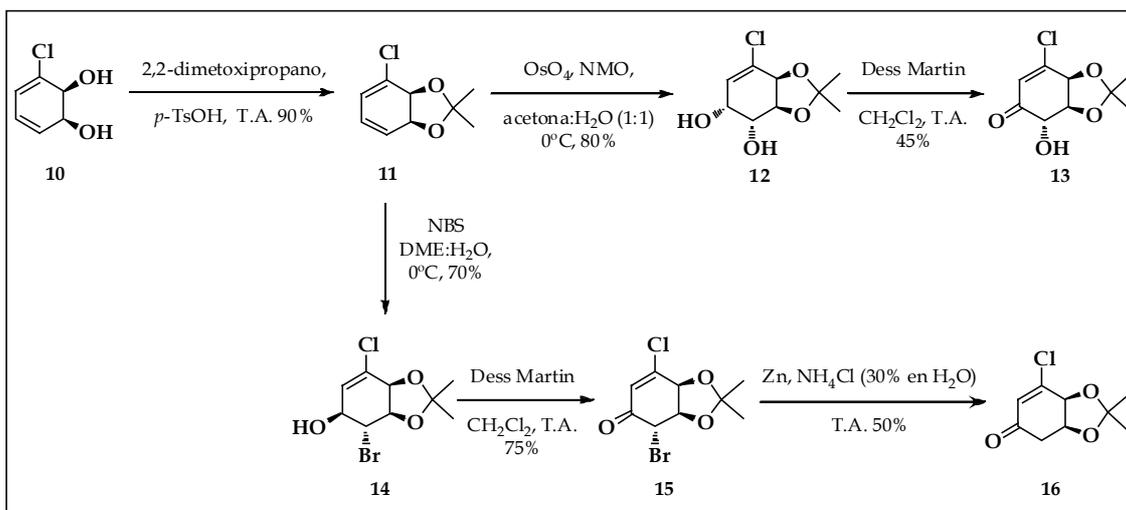
El diol **1** también fue utilizado como material de partida para la preparación de enonas en las cuales los grupos hidroxilo se encuentran protegidos selectivamente (esquema 6). La protección selectiva se llevó a cabo empleando un agente sililante voluminoso como el clorodimetiltexilsilano (THSCl) el cual reacciona con el hidroxilo en el carbono 1 dando **6** con 85% de rendimiento. Posteriormente se procedió a la protección del hidroxilo libre bajo la forma de acetato empleando anhídrido acético y trietilamina en presencia de 4-dimetilaminopiridina (DMAP) para dar **7a**. También se utilizó clorometilmetiléter (MOMCl) y *N,N*-diisopropiletilamina (DIPEA) para dar **7b**. La posterior *cis*-dihidroxilación se produjo regioselectivamente, tal como se discutió en la sección 3, sobre el doble enlace más sustituido para dar los compuestos **8a** u **8b**. La

posterior oxidación con el reactivo de Dess Martin dio lugar a las enonas **9a** y **9b** respectivamente.



Esquema 6: Preparación de enonas quirales **9a** y **9b**.

Asimismo se prepararon las enonas **13**, **15** y **16** a partir del *cis*-3-clorociclohexadienodiol tal como se indica en el esquema 7.

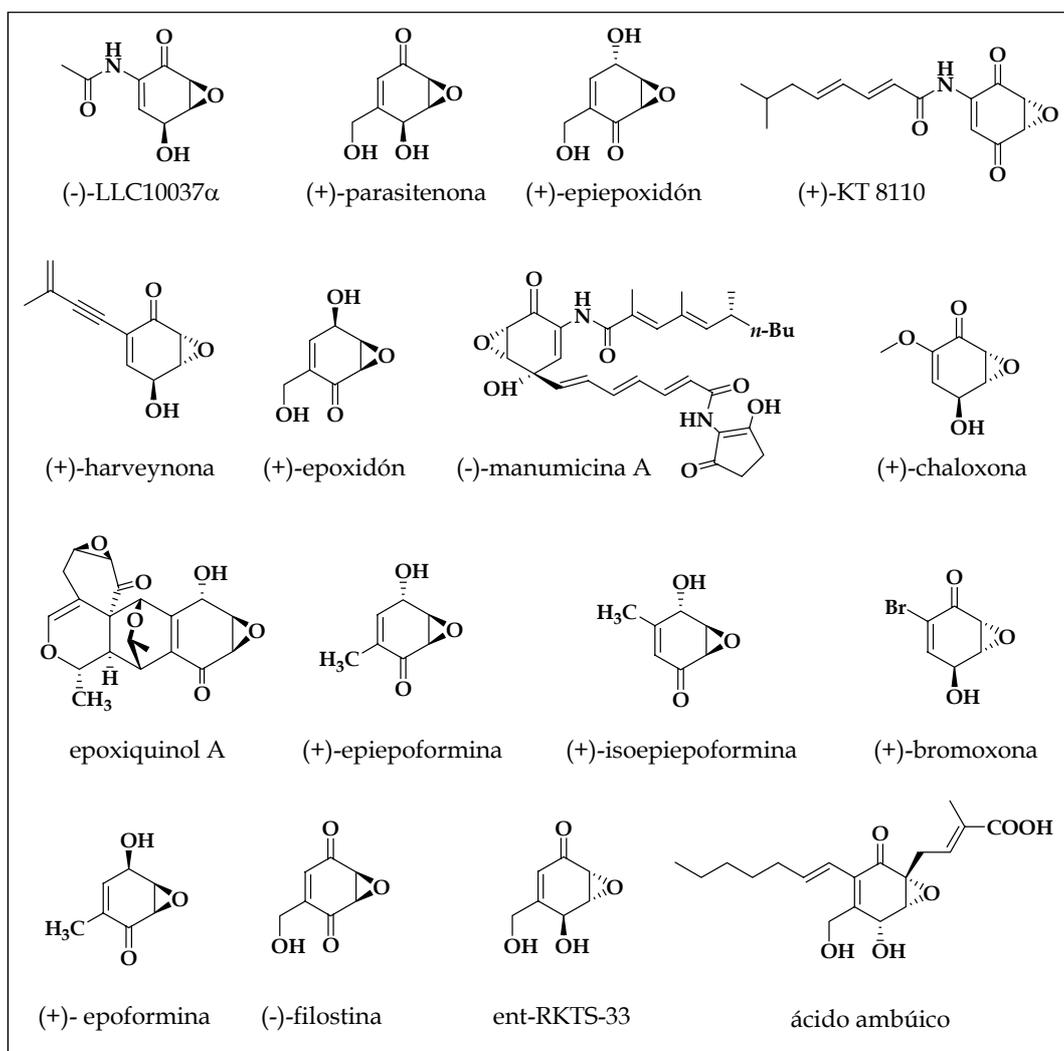


Esquema 7: Preparación de enonas **13**, **15** y **16**.

El diol **10** se protegió con el grupo isopropilideno utilizando dimetoxipropano y en presencia de ácido *p*-toluenosulfónico. La *cis*-dihidroxilación del compuesto **11** permitió obtener el diol **12** el cual se oxidó con reactivo de Dess Martin para dar lugar a la enona **13** enantioselectivamente. Por otra parte, el compuesto **11** se sometió a condiciones de halohidroxilación con *N*-bromosuccinimida (NBS) para dar el compuesto **14**. La oxidación del hidroxilo alílico permitió obtener la enona **15**, la cual luego de la remoción del bromo dio lugar a la ciclohexenona sustituida **16**.

5. Epoxienonas quirales naturales.

Sin duda la naturaleza juega un rol determinante como fuente de nuevos compuestos líderes para el desarrollo de nuevos fármacos. Un número significativo de éstos son producidos por microorganismos debido a interacciones de los mismos con organismos superiores de los cuales son aislados.⁴ Los microorganismos endofíticos constituyen, entre otros, una de las fuentes naturales de donde se han aislado una variedad importante de epoxienonas quirales. La relativa abundancia en la naturaleza de dichas epoxienonas cíclicas, así como el amplio rango de actividad biológica demostrada, han hecho que estas moléculas sean de interés en las áreas de biología, farmacología y síntesis química. Algunas de estas estructuras se muestran en el esquema 8.⁴²



Esquema 8: Epoxienonas quirales naturales.

Algunos de estos productos son aislados de hongos endofíticos presentes en hojas y raíces de plantas tropicales, así como también de una gran variedad de plantas ornamentales, hongos y especies marinas. Con el progresivo estudio de estas especies se ha ido incrementando el número de moléculas descritas, se han documentado interesantes datos sobre las actividades biológicas de las mismas y se han dedicado cada vez más esfuerzos a la síntesis de ellas tanto en forma racémica como enantioméricamente pura.^{40,43-52}

Entre las variadas actividades biológicas que presentan se destacan: antifúngica, antibiótica y anticancerígena además de fitotóxicas y de inhibición de diversas enzimas.⁴²

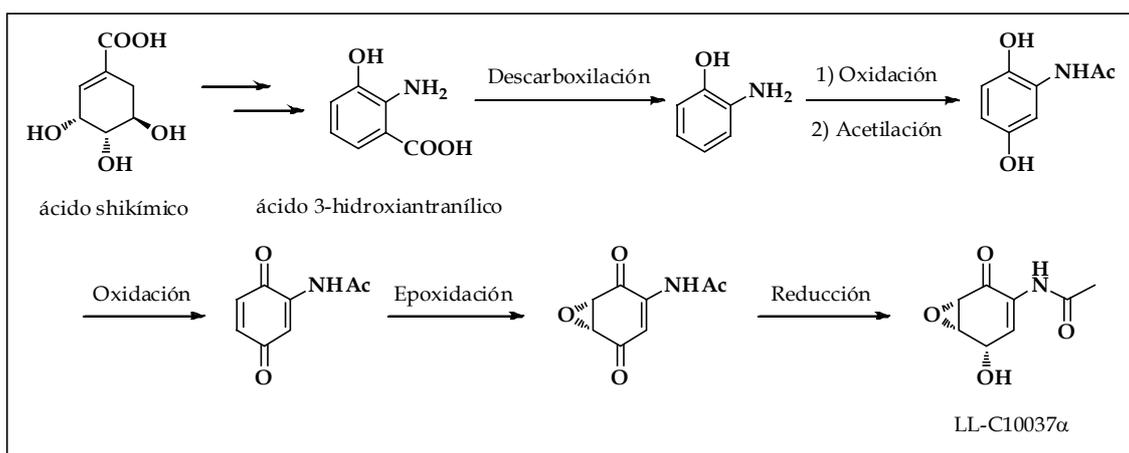
6. Aislamiento y actividad biológica

Considerando el gran número de epoxienonas descritas en la literatura se detallarán aquí aquellas estrechamente relacionadas con esta tesis.

6.1 LL-C10037 α

En 1984, Lee y colaboradores publicaron el aislamiento de LL-C10037 α , un metabolito de *Streptomyces* LL-C10037 que presenta actividad anticancerígena y antibiótica.⁵³ Este producto natural presenta actividad antibacteriana frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y actividad anticancerígena frente a la línea celular de leucemia murina P388.

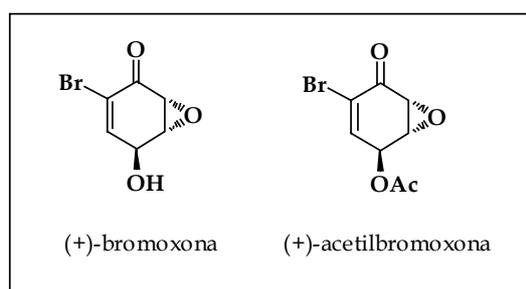
Su estructura fue correctamente determinada recién en el año 1987 cuando el grupo de Gould llevó a cabo estudios sobre la biosíntesis de este metabolito. Se determinó que se trata de un derivado del ácido 3-hidroxiantranílico el cual se obtiene a través de la vía del ácido shikímico (esquema 9) empleando sustratos deuterados para alimentar los cultivos de *Streptomyces* LL-C10037.^{54,55} La elucidación de su estructura y estereoquímica absoluta mediante análisis de difracción de rayos X, fue reportada en el año 1990.⁵⁶



Esquema 9: Propuesta de biosíntesis de LL-C10037 α a partir del ácido 3-hidroxiantranílico.

6.2 Bromoxona

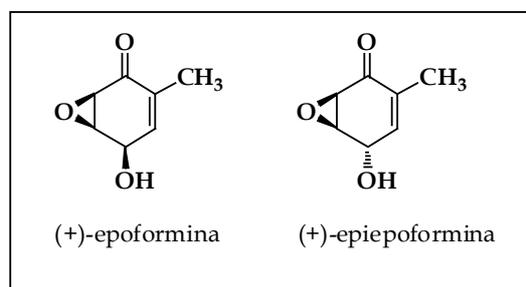
En el año 1987, Higa y colaboradores aislaron de una nueva especie de gusano marino del género *Ptychodera*, (+)-bromoxona y su derivado acetilado (esquema 10) junto con un gran número de metabolitos secundarios.⁵⁷ La estructura de (+)-bromoxona así como su estereoquímica absoluta fue determinada por análisis de rayos X del derivado acetilado. Éste presenta importante actividad antitumoral en ensayos *in vitro* sobre células de la línea P388 de leucemia murina, con valores de IC₅₀ del orden de 10 ng/L.



Esquema 10: Estructura de (+)-bromoxona y su derivado acetilado.

6.3 Epoformina y epiepoformina

En 1973, Yamamoto y colaboradores aislaron (+)-epoformina (esquema 11) de los caldos de cultivo del hongo *Penicillium claviforme*.⁵⁸ Este producto natural presenta una marcada actividad citotóxica, antimicrobiana y antifúngica. La estructura de (+)-epoformina así como su estereoquímica absoluta fue confirmada a través de su síntesis enantioselectiva en 1999.⁵⁹

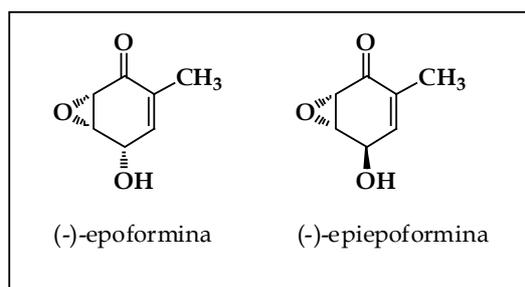


Esquema 11: Estructura de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina.

En el año 1978, Nagasawa y colaboradores aislaron (+)-epiepoformina (esquema 11) del medio de cultivo de un hongo no identificado.⁶⁰ Este compuesto presenta importante actividad como inhibidor de la germinación. La estructura de (+)-

epiepoformina así como su estereoquímica absoluta fue confirmada mediante síntesis enantioselectiva.⁶¹

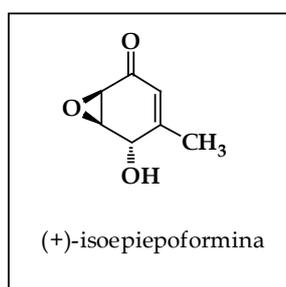
Algunos reportes⁶² indican que una especie del hongo *Myrothecium roridum*, cuando crece en determinadas condiciones, produce (-)-epoformina y (-)-epiepoformina (esquema 12) hasta ese momento no encontradas en fuentes naturales. Aún no ha sido determinada la actividad biológica de estos compuestos.



Esquema 12: Estructura de (-)-epoformina y (-)-epiepoformina.

6.4 Isoepiepoformina

En 1986 Jarvis y Yatawara reportaron que bajo determinadas condiciones, los cultivos del hongo *Myrothecium roridum* CL-514 son capaces de producir el antibiótico (+)-isoepiepoformina (esquema 13).⁶³ La determinación estructural fue realizada mediante análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H y de ¹³C mientras que la estereoquímica absoluta fue determinada por dicroísmo circular.

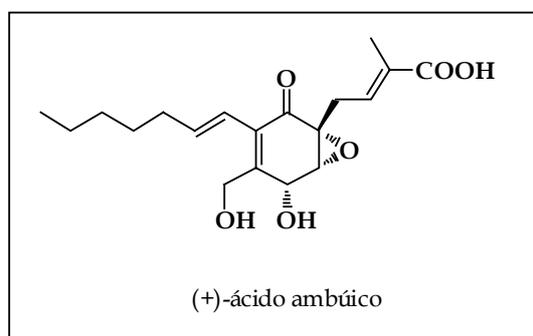


Esquema 13: Estructura de (+)-isoepiepoformina.

6.5 Ácido ambúico

En 2001 Li y colaboradores⁶⁴ publicaron el aislamiento y la elucidación estructural del ácido ambúico (esquema 14), aislado de varias especies fúngicas de *Pestalotiopsis* (entre ellas *P. microspora*) y una especie del género *Monochaetia* (hongo endofítico aislado de *Taxus Wallichana*), genéticamente relacionados entre sí. Esta molécula ha mostrado una significativa actividad contra varias especies de hongos que generalmente son patógenos de plantas. En particular se destaca su actividad contra varias especies de *Fusarium*, *Diplodia natalensis* y *Cephalosporium gramineum*. Esta actividad antimicótica demuestra que su propia presencia en tejidos vegetales puede tratarse de una asociación mutual, protegiendo a la planta hospedadora contra eventuales patógenos. Al ser el vegetal un sistema eucariota, en el cual el hongo endofítico habita, los antibióticos generados por éste tendrían una toxicidad celular reducida, lo cual realza aun más su potencialidad como futuro fármaco. Estos microorganismos endofíticos han sido relativamente poco estudiados y son potenciales fuentes de nuevos productos naturales farmacológicamente activos con un amplio rango de actividades biológicas. Esto puede deberse a su magnitud (1.5×10^6 especies) y a su íntima asociación y coevolución con otros organismos.^{65,66} Se estima que prácticamente todas las especies de plantas conocidas hasta el momento son huéspedes de al menos una especie de endofito.⁶⁷

La estereoquímica relativa del ácido ambúico ha sido predicha por estudios de resonancia magnética nuclear en estado sólido en el año 2003 por Harper *et al.*⁶⁸ En el año 2003, Li *et al.*⁶⁹ completaron la primer síntesis total enantioselectiva de (+)-ácido ambúico, confirmando de esta manera su estereoquímica absoluta.



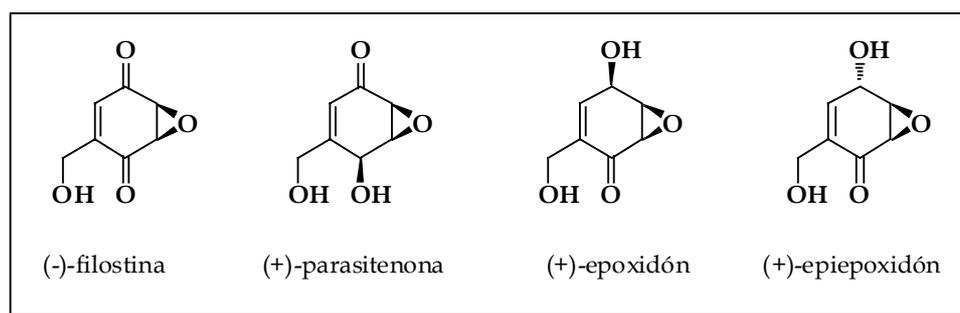
Esquema 14: Estructura de (+)-ácido ambúico.

6.6 Filostina, parasitenona, epoxidón y epiepodidón

En 1969, Sakamura y colaboradores aislaron (+)-epoxidón de un hongo de la especie *Phyllosticta*.⁷⁰ En 1970, el mismo grupo aisló (-)-filostina, a partir de la misma especie de *Phyllosticta*.⁷¹ Ambas epoxienonas (esquema 15) exhiben actividad fitotóxica, antifúngica, antibacteriana y anticancerígena.

En el año 2002, Son y colaboradores aislaron (+)-parasitenona del hongo marino *Aspergillus parasiticus*. La elucidación de su estructura fue llevada a cabo mediante espectroscopía de RMN. La estereoquímica absoluta fue determinada mediante oxidación del hidroxilo alílico secundario y comparación con los datos espectroscópicos reportados para la epoxienona natural (-)-filostina. También es de destacar que parasitenona presenta actividad como atrapador de radicales libres.⁷²

Epiepodidón fue obtenido sintéticamente junto con epoxidón.⁷³ Posteriormente fue aislado de un hongo no identificado y se estableció su actividad como fitotoxina.⁶⁰



Esquema 15: Estructura de (-)-filostina, (+)-parasitenona, (+)-epoxidón y (+)-epiepodidón.

7. Síntesis de epoxienonas quirales naturales

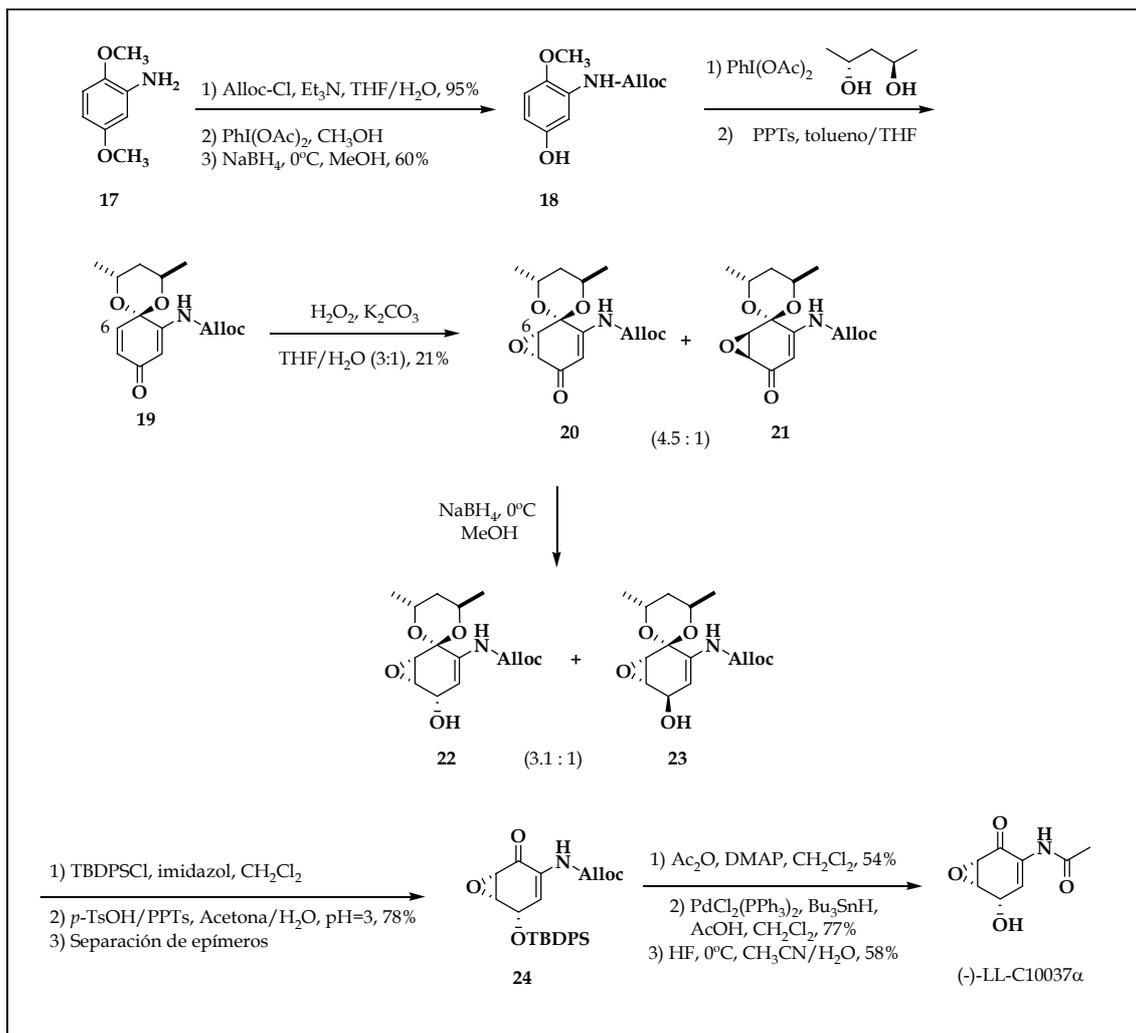
Considerando el gran número de epoxienonas quirales naturales descritas en la literatura solo se detallarán aquellas estrechamente relacionadas con esta tesis.

7.1 LL-C10037 α

Numerosas síntesis tanto racémicas como enantioselectivas de LL-C10037 α han sido reportadas por los grupos de Wipf^{43,44}, Taylor⁷⁴, Johnson⁷⁵ y Altenbach.⁴⁵

La primera síntesis racémica fue reportada por el grupo de Wipf en el año 1994⁴³ y en el año 1995⁴⁴ publicó también la primera síntesis enantioselectiva. En ese artículo se describe el empleo de un auxiliar quiral para inducir asimetría en la síntesis (esquema 16). El material de partida fue 2,5-dimetoxianilina y la introducción del auxiliar quiral (2*R*, 4*R*)-pentano-2,4-diol (97% ee) se realiza en etapas tempranas de la síntesis.

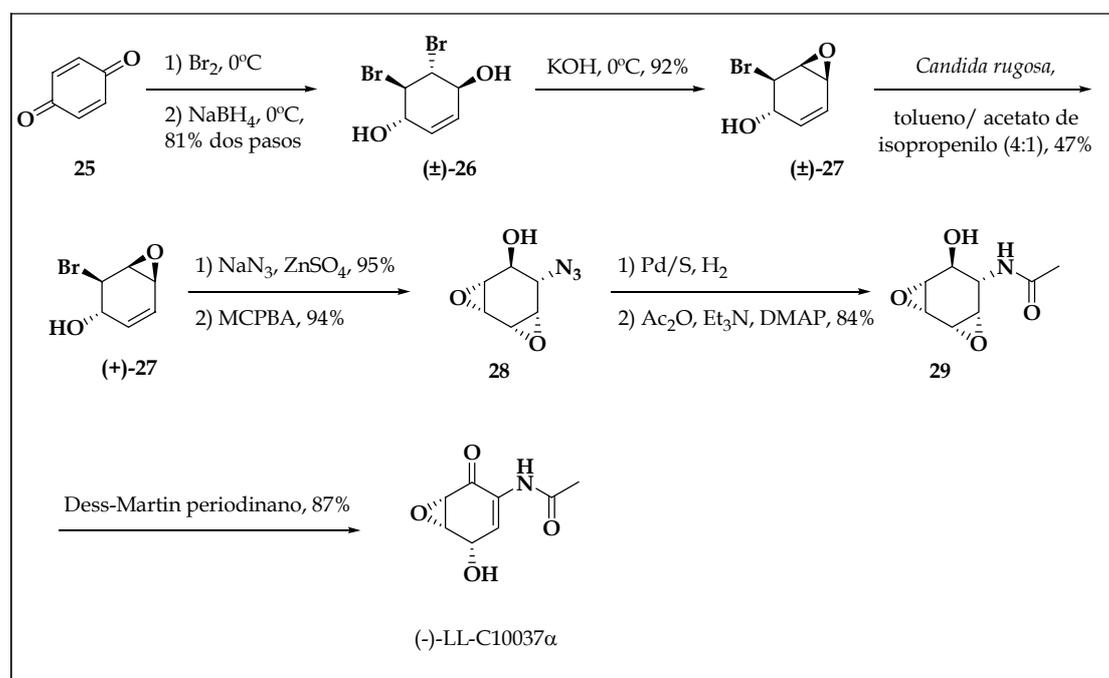
El paso clave es la epoxidación estereoselectiva del intermedio **19**, en donde la presencia del auxiliar quiral genera un entorno asimétrico sobre el carbono 6, sitio donde se produce el ataque en la reacción de epoxidación.

Esquema 16: Síntesis quiral de LL-C10037 α según Wipf *et al.*

La reducción del epóxido mayoritario **20** produjo una mezcla de alcoholes epiméricos **22** y **23** en proporción (3.1:1). La protección de los hidroxilos alílicos bajo la forma de sililéteres, remoción del auxiliar quiral y posterior separación de los epímeros dio lugar al intermedio **24** homoquiral. La acetilación de la función nitrogenada y posterior remoción de los grupos protectores aliloxicarbonil (Alloc) y *tert*-butildifenilsilil (TBDPS) permitió obtener (-)-LL-C10037 α .

En el año 1999, el grupo de Johnson completó la segunda síntesis enantioselectiva de (-)-LL-C10037 α .⁷⁵ En esta síntesis se utilizó *p*-benzoquinona como material de partida y la fuente de quiralidad fue una resolución enzimática (esquema 17).

El producto **26** en forma racémica fue sintetizado mediante halogenación y posterior reducción estereoselectiva de *p*-benzoquinona. El cierre del anillo oxiránico se llevó a cabo en medio básico mediante un ataque nucleofílico intramolecular para dar el compuesto racémico **27** según la metodología previamente reportada por Altenbach.⁷⁶ La resolución enzimática se realizó utilizando la lipasa de *Candida rugosa* la cual no es capaz de acetilar el enantiómero (+)-**27** provocando el enriquecimiento de la mezcla en el mismo. La apertura del epóxido se realizó con azida de sodio. Posteriormente se procedió a la epoxidación de la olefina utilizando ácido *m*-cloroperbenzoico y el cierre del segundo anillo oxiránico se llevó a cabo a través de un ataque nucleofílico intramolecular en medio básico para dar el compuesto **28**. La reducción de la función azida y posterior acetilación permitió obtener el compuesto **29** homoquiral.

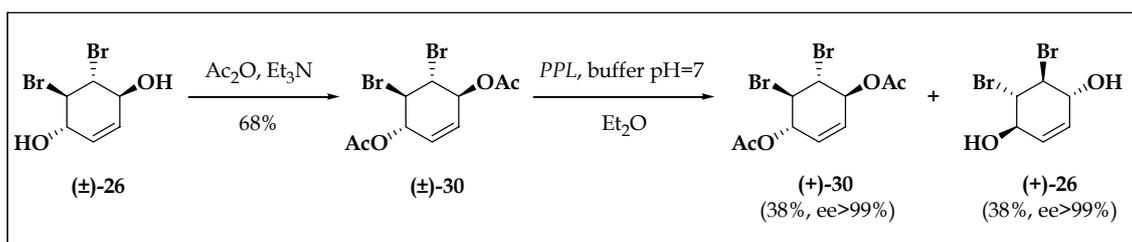


Esquema 17: Síntesis de LL-C10037 α según el grupo de Jonhson.

El tratamiento de **29** con el reactivo de Dess-Martin dio lugar a una reacción en tándem de oxidación/ β -eliminación que permitió obtener (-)-LL-C10037 α .

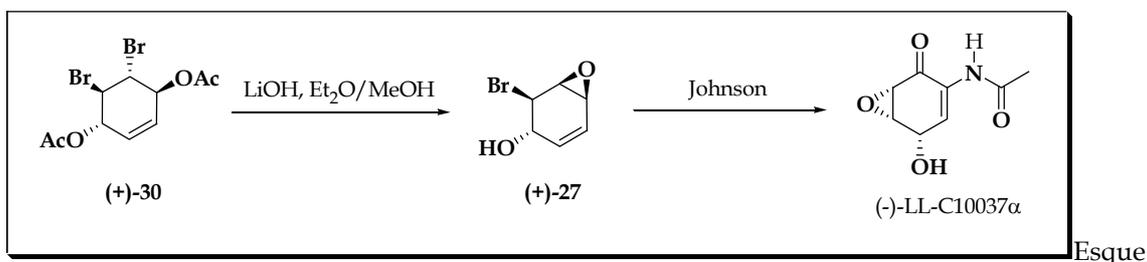
En el año 2000 el grupo de Altenbach⁴⁵ publicó la síntesis enantioselectiva de (-)-LL-C10037 α y (+)-bromoxona.

Como fuente de quiralidad se emplea una resolución enzimática con una lipasa de páncreas porcino que dio lugar a los productos **30** y **26** enantioméricamente puros.



Esquema 18: Síntesis de los precursores quirales de (-)-LL-C10037 α y (+)-bromoxona por el grupo de Altenbach.

El compuesto **(+)-30** se desprotegió en medio básico donde se produjo la epoxidación *in situ* para dar **(+)-27** (esquema 19). A partir de éste intermedio se empleó la misma metodología desarrollada por Johnson por lo cual ésta estrategia se puede considerar una síntesis formal de LL-C10037 α (ver esquema 17).



Esquema 19: Síntesis de (-)-LL-C10037 α según el grupo de Altenbach.

7.2 Bromoxona

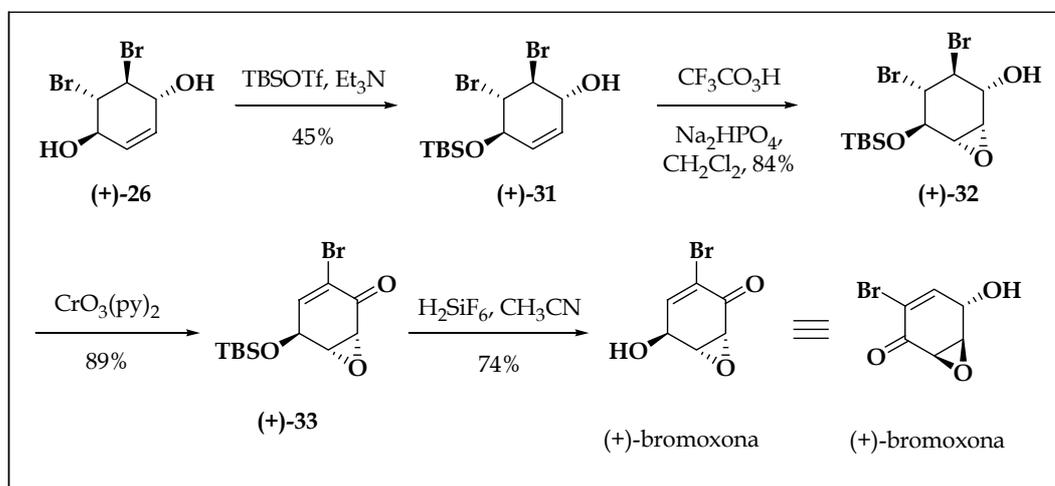
Existen numerosas síntesis reportadas de bromoxona, tanto en forma racémica como enantioméricamente pura.^{45,46,77-79} Asimismo se reportó la síntesis del enantiómero no natural (-)-bromoxona.^{46,50}

La primera síntesis reportada de bromoxona pertenece al grupo Taylor, en el año 1994.⁷⁷ Se trata de una síntesis racémica en la cual emplean 2,5-dimetoxibromobenceno como material de partida.

La primera síntesis quiral de ambos enantiómeros fue reportada por Johnson y colaboradores en el año 1995.⁴⁶ En ese trabajo la fuente de quiralidad fue una resolución enzimática empleando la lipasa Amano PS-30.

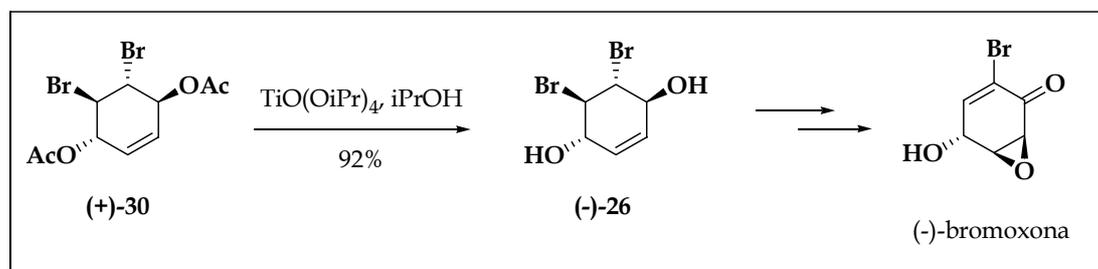
A partir de *p*-benzoquinona y empleando la metodología previamente descrita por Altenbach para la síntesis de LL-C10037 α (ver esquemas 17 y 18) se describe la obtención de **(+)-26**. Como se indica en el esquema 20, la protección de **26** bajo la forma

de sililéter les permitió obtener el compuesto **31**. La epoxidación de **31** se produjo por la cara α menos impedida para dar exclusivamente el epóxido **32**. La posterior oxidación/eliminación con CrO_3 -piridina dio lugar a **33** el cual fue desprotegido en condiciones habituales para dar (+)-bromoxona.



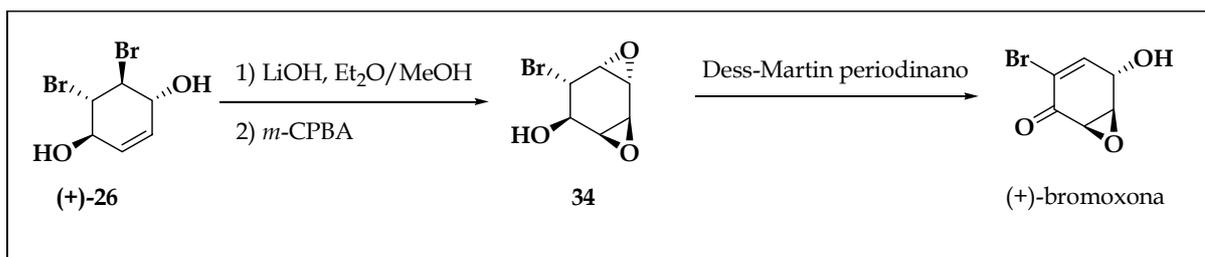
Esquema 20: Síntesis enantioselectiva de (+)-bromoxona según Johnson *et al.*

Tal como se indica en el esquema 21, la desprotección del compuesto **(+)-30** dio lugar al intermedio **(-)-26**, a partir del cual los autores sintetizaron (-)-bromoxona empleando una metodología análoga a la descrita en el esquema 20.



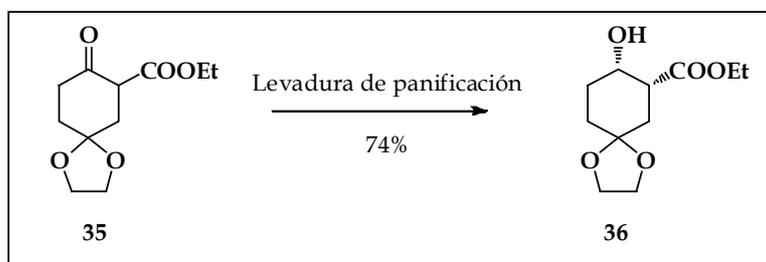
Esquema 21: Síntesis de (-)-bromoxona según Johnson *et al.*

En la síntesis de (+)-bromoxona reportada por el grupo de Altenbach en el año 2000⁴⁵ la fuente de quiralidad fue una resolución enzimática con lipasa pancreática porcina. El compuesto **26** homoquiral se obtuvo por la metodología previamente descrita por este mismo grupo para la síntesis de LL-C10037 α (ver esquema 18). Sobre **26** se realizó el cierre del anillo oxiránico mediante un ataque intramolecular en medio básico y la posterior reacción con ácido *m*-cloroperbenzóico sobre el doble enlace para dar el intermedio **34**. La oxidación de **34** en presencia del periodinano de Dess Martin les permitió obtener (+)-bromoxona (esquema 22).

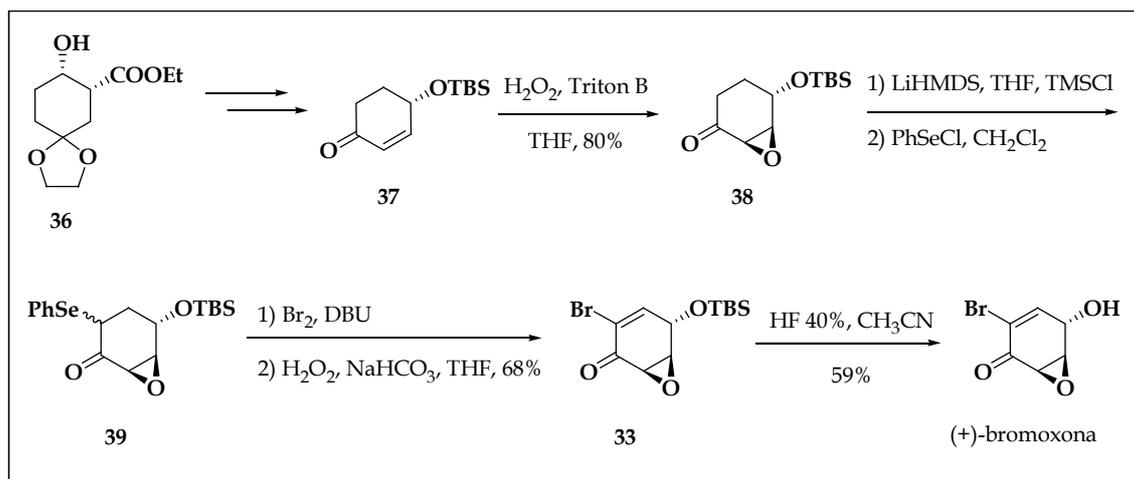


En el año 2003 se reportaron dos síntesis enantioselectivas de (+)-bromoxona por los grupos de Kitahara⁷⁸ y Maycock.⁷⁹

En la primera la inducción de quiralidad se llevó a cabo mediante la biotransformación del compuesto **35** con levadura de panificación (esquema 23).

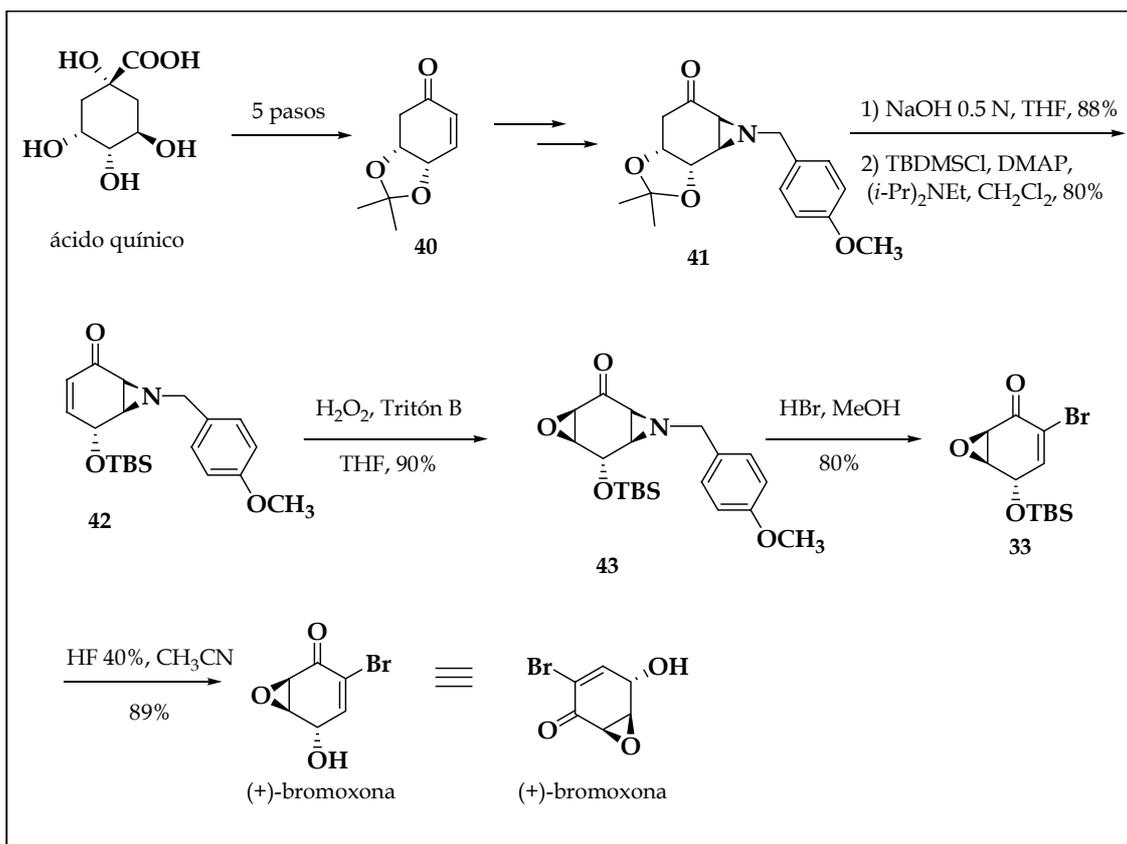


La presencia de dos centros quirales en el material de partida (**36**) permite un estereocontrol en las reacciones posteriores. A partir de él se alcanzó la síntesis de (+)-bromoxona, (+)-epiepidón y (+)-epiepoformina enantiopuros, compuestos que presentan un núcleo estructural en común. La transformación de **36** en la enona **37** y su epoxidación estereoselectiva empleando peróxido de hidrógeno e hidróxido de benciltrimetilamonio (Tritón B) como base da el compuesto **38** según el esquema 24. La presencia del grupo protector sililado en el hidroxilo del carbono 4 favorece el ataque por la cara β menos impedida. Sobre **38** se llevó a cabo la formación de un sililenoléter y la reacción con cloruro de fenilselenio (PhSeCl) permitió obtener el intermedio **39** funcionalizado en posición α al carbonilo. La halogenación en esta posición y posterior eliminación oxidativa permitió obtener el precursor **33** previamente utilizado por Johnson (ver esquema 20), el cual luego de su desprotección dio lugar a (+)-bromoxona.

Esquema 24: Síntesis de (+)-bromoxona según Kitahara *et al.*

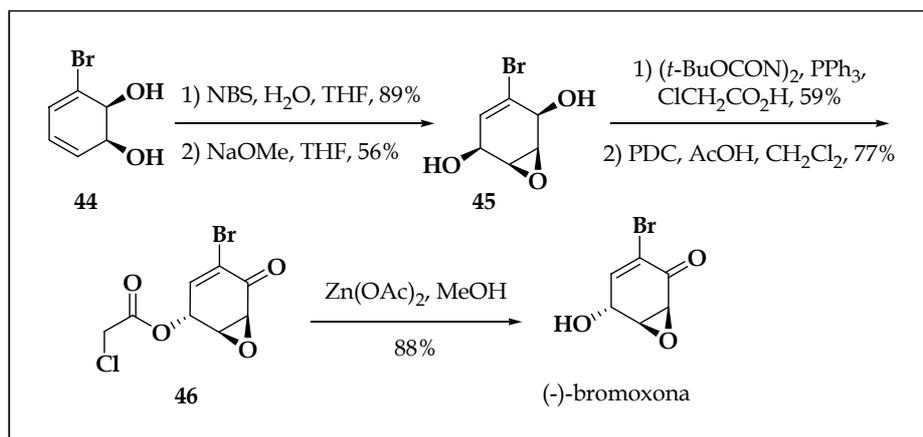
En la síntesis propuesta por el grupo de Maycock, la asimetría se obtiene utilizando como material de partida la enona **40** obtenida en 5 pasos a partir del producto natural (-)-ácido quinico.⁸⁰ (esquema 25)

La estrategia propuesta por los autores implica formar sobre la enona **40** una aziridina capaz de orientar la posterior epoxidación (esquema 25). El tratamiento del compuesto **41** con hidróxido de sodio y posterior protección del alcohol alílico les permitió generar la enona **42**. La epoxidación con peróxido de hidrógeno y Tritón B como base transcurrió estereoselectivamente para dar el epóxido **43**. El tratamiento de **43** con ácido bromhídrico en metanol permitió el ataque selectivo sobre la aziridina en presencia del epóxido, para dar el compuesto **33**, el cual luego de la desprotección del hidroxilo alílico dio lugar a (+)-bromoxona.



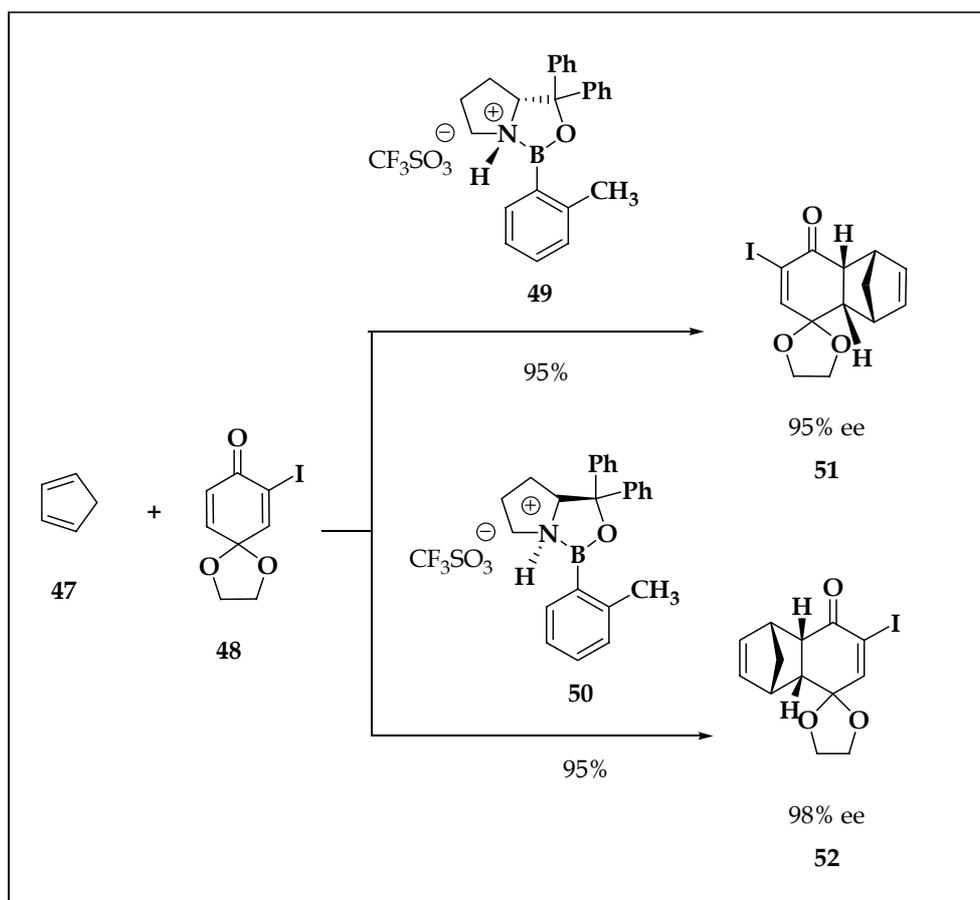
Esquema 25: Síntesis de (+)-bromoxona según el grupo de Maycock.

En el año 2009, el grupo de Banwell publicó la primera síntesis de (-)-bromoxona a partir de *cis*-3-bromociclohexadienodiol de origen microbiano, el cual presenta un exceso enantiomérico superior al 99%.⁵⁰ Esta síntesis comenzó con la halohidroxilación selectiva sobre la olefina más rica en electrones del bromo diol **44**. La epoxidación se llevó a cabo mediante un ataque nucleofílico intramolecular con metóxido de sodio en tetrahidrofurano para dar el epóxido **45** homoquiral. La inversión de la configuración del carbono 3 y posterior oxidación generó el núcleo de epoxienona **46**. La desprotección del hidroxilo alílico permitió obtener (-)-bromoxona (esquema 26).



Esquema 26: Síntesis de (-)-bromoxona según el grupo de Banwell.

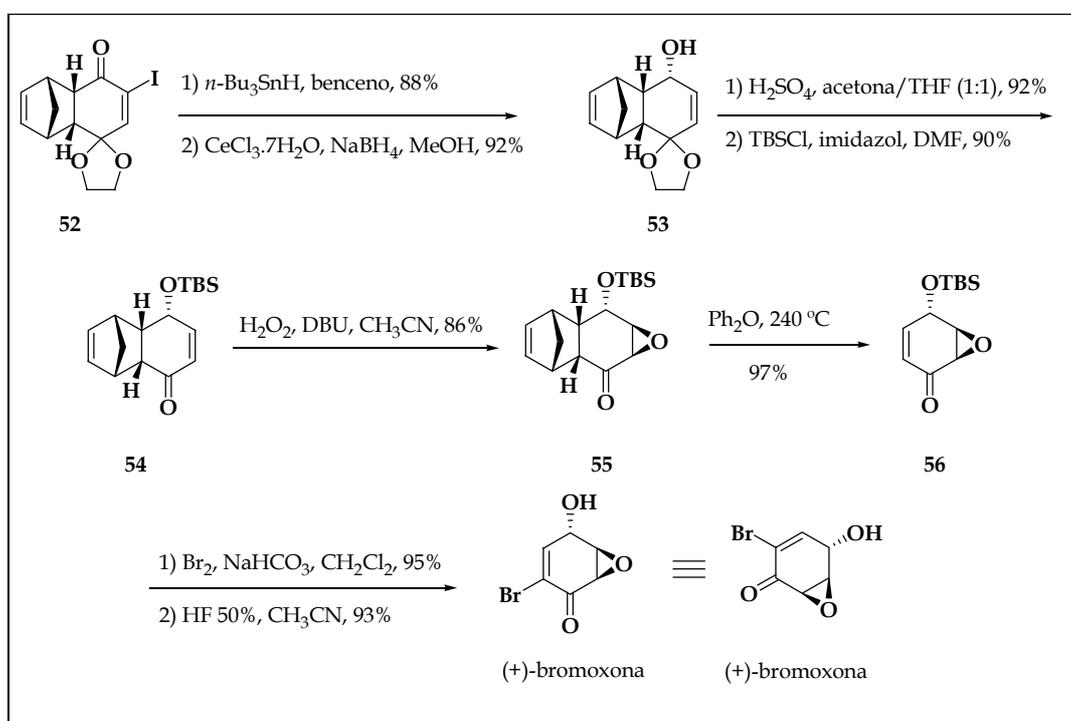
Recientemente el grupo de Ryu publicó la síntesis de (+)-bromoxona, (+)-epiepidón y (+)-epiepoformina,⁵² en donde la inducción de quiralidad se llevó a cabo empleando catalizadores quirales en reacciones de Diels Alder (esquema 27).



Esquema 27: Reacción de Diels Alder enantioselectiva catalizada por 49 y 50.

La reacción de **48** con ciclopentadieno en presencia de los catalizadores **49** o **50** dio lugar a los compuestos **51** o **52** con altos excesos enantioméricos (95 y 98% respectivamente) según se indica en el esquema 27.

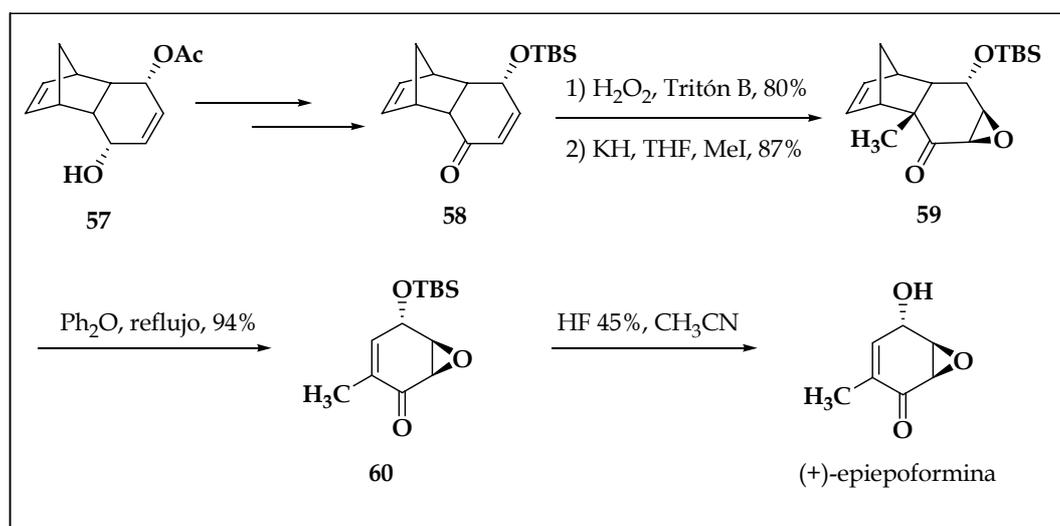
A partir del aducto *endo* **52** (esquema 28) se llevó a cabo la síntesis enantioselectiva de (+)-bromoxona, (+)-epiepidón y (+)-epiepoformina. La deshalogenación y reducción de **52** permitió obtener el compuesto **53**. La remoción del acetal y posterior protección del hidroxilo alílico dio lugar al compuesto **54**. El paso clave en esta síntesis es la epoxidación estereoselectiva por la cara menos impedida (cara β) del intermedio **54**. Mediante una retro Diels Alder sobre **55** obtuvieron la epoxienona **56**, la cual luego de ser halogenada en posición α al carbonilo y desprotegida permitió obtener (+)-bromoxona.



Esquema 28: Síntesis de (+)-bromoxona según el grupo de Ryu.

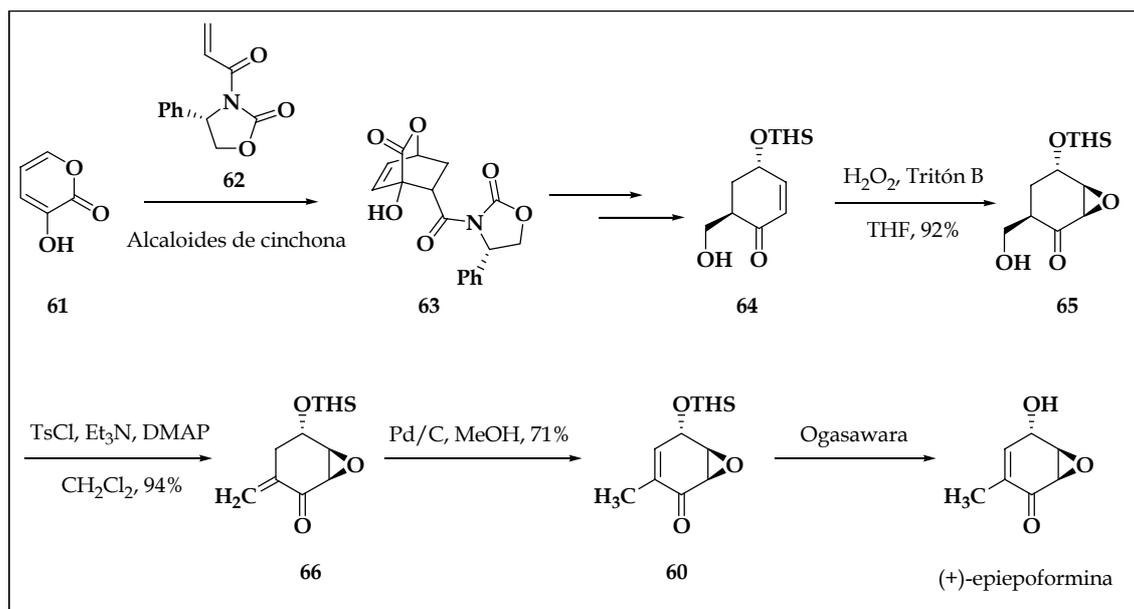
7.3 Epiepoformina

En el año 1995 se publicó la primera síntesis enantioselectiva de (+)-epiepoformina por el grupo de Ogasawara.⁶¹ En ése trabajo se empleó **57** como material de partida quiral para producir **58**. Este se epoxidó estereoselectivamente por la cara β menos impedida y la posterior metilación en posición α a la cetona dio lugar al intermedio **59**. Mediante una retro Diels Alder se generó el núcleo de epoxienona **60** el cual se desprotegió en condiciones habituales para dar (+)-epiepoformina (esquema 29).

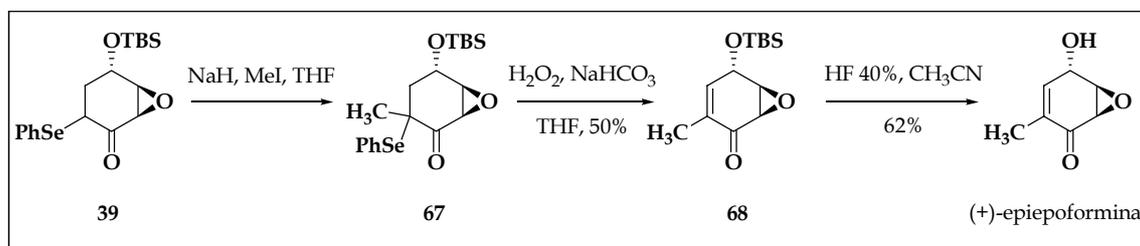


Esquema 29: Síntesis de (+)-epiepoformina según el grupo de Ogasawara.

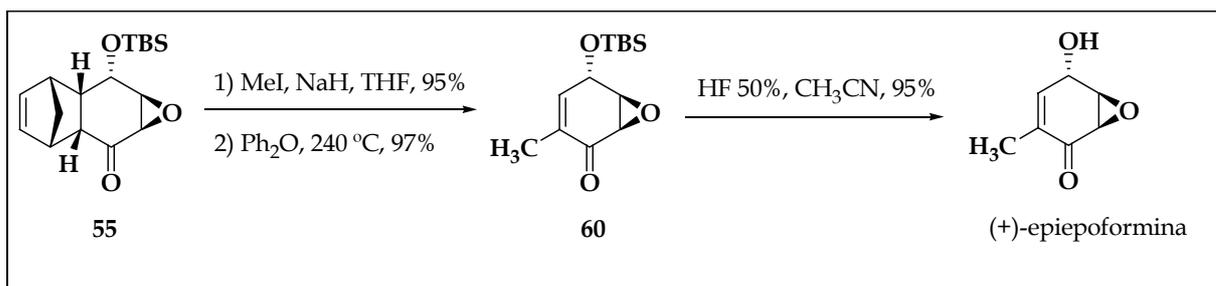
En 2003 Okamura y colaboradores publicaron una síntesis de (+)-epiepoformina en la cual el paso clave para la introducción de quiralidad es la reacción de Diels Alder enantioselectiva entre 3-hidroxi-2-pirona (**61**) y un dienófilo quiral apropiado **62** la cual fue catalizada por alcaloides de la cinchona para dar el compuesto **63** (esquema 30).⁸¹ A partir del intermedio **63** se preparó la enona **64** en varios pasos, la cual se sometió a condiciones de epoxidación para dar **65**. Por eliminación del hidroxilo primario se obtuvo **66**. La isomerización del doble enlace permitió obtener la epoxienona **60** a partir de la cual el grupo de Ogasawara⁶¹ había reportado la síntesis de (+)-epiepoformina (ver esquema 29), por lo cual ésta se consideró una síntesis formal de la mencionada epoxienona.

Esquema 30: Síntesis de (+)-epiepoformina según Okamura *et al.*

El grupo de Kitahara⁷⁸ empleó para la síntesis de (+)-epiepoformina la misma metodología utilizada para la síntesis de (+)-bromoxona (ver esquema 24). Sobre el intermedio **39** se realizó una metilación en posición α al grupo carbonilo para dar **67**. Una reacción de eliminación dio lugar al compuesto **68** y la posterior desprotección permitió obtener (+)-epiepoformina (esquema 31).

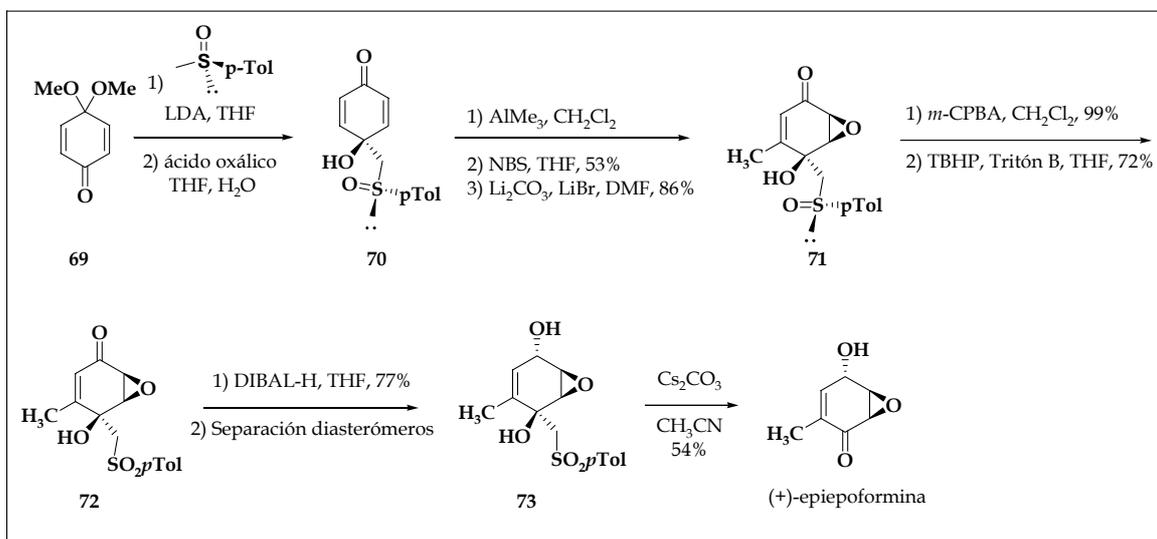
Esquema 31: Síntesis de (+)-epiepoformina según Kitahara *et al.*

Para la síntesis de (+)-epiepoformina, el grupo de Ryu⁵² empleó la metodología descrita previamente para la síntesis de (+)-bromoxona (ver esquema 28). Partiendo del intermedio **55** se procedió a la metilación en posición α al grupo carbonilo y posterior retro Diels Alder para generar el núcleo **60**. La desprotección del hidroxilo permitió obtener (+)-epiepoformina (esquema 32).

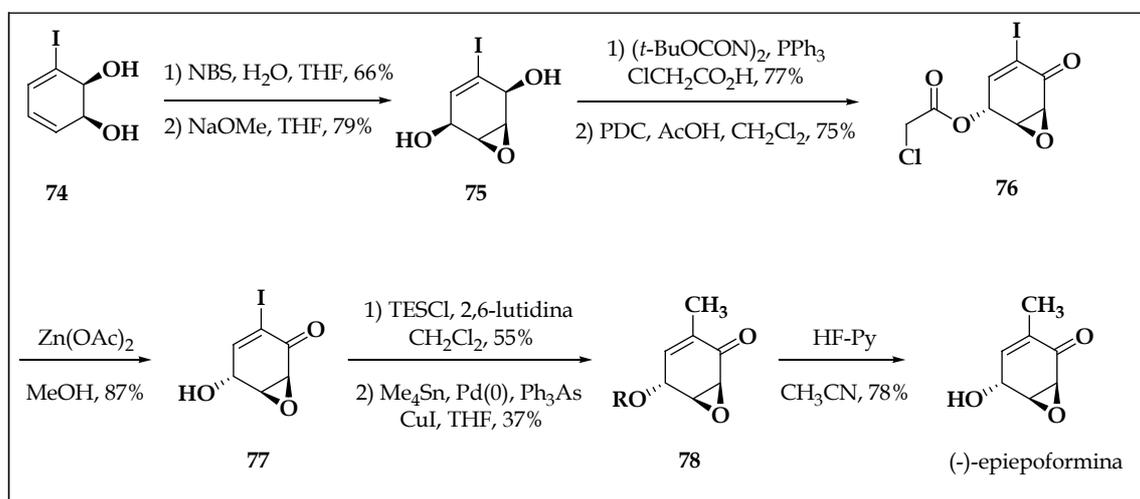


Esquema 32: Síntesis de (+)-epiepopoformina según el grupo de Ryu.

En el año 2007 Carreño y colaboradores publicaron la síntesis de (+)-epiepopoformina haciendo uso de auxiliares quirales.⁸² En esa síntesis emplearon dimetoxi-*p*-benzoquinona (**69**) como material de partida para producir el 4-hidroxi-4-[(*p*-tolilsulfinil)metil]-*p*-quinol (**70**) enantioméricamente puro. La introducción del grupo metilo por adición 1,4 y posterior deshidrohalogenación regeneró el doble enlace dando **71**. La reacción de epoxidación transcurrió por la cara β menos impedida para dar **72**. La posterior reducción no se produjo estereoselectivamente, por lo cual se debió separar los diasterómeros obtenidos. El tratamiento del compuesto homoquiral **73** con carbonato de cesio dio lugar a (+)-epiepopoformina (esquema 33).

Esquema 33: Síntesis de (+)-epiepopoformina según Carreño *et al.*

En el año 2009, el grupo de Banwell reportó la primera síntesis de (-)-epiepoformina. En ese trabajo emplearon la metodología descrita previamente para la síntesis de (-)-bromoxona (ver esquema 26) pero en este caso aplicándola sobre el *cis*-3-iodociclohexadienodiol. Esta síntesis comenzó con la halohidroxilación sobre la olefina más rica en electrones del iodo diol **74**. La epoxidación se llevó a cabo mediante un ataque nucleofílico intramolecular con metóxido de sodio en tetrahidrofurano para dar el epóxido **75** homoquiral. La inversión de la configuración del carbono 3 y posterior oxidación generó el núcleo de epoxienona **76**. La desprotección del hidroxilo alílico permitió obtener **77** el cual luego de protegerse se sometió a las condiciones de Stille para el acople del grupo metilo en posición α del carbonilo. La desprotección del hidroxilo alílico dio lugar a (-)-epiepoformina (esquema 34).

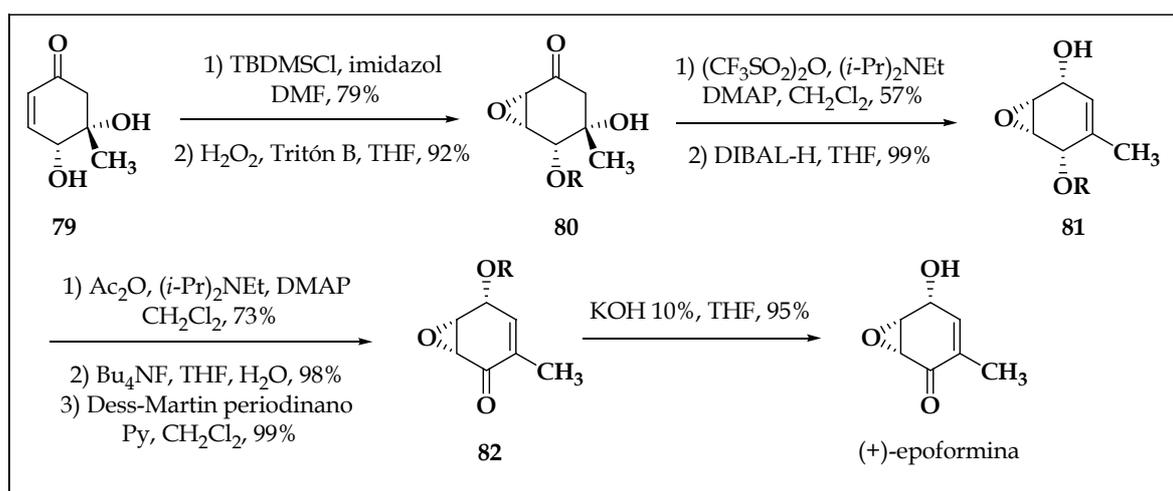


Esquema 34: Síntesis de (-)-epiepoformina según el grupo de Banwell.

7.4 Epoformina

La primera síntesis racémica de epoformina fue reportada en el año 1978 por el grupo de Ichihara.⁴⁷

La primera síntesis enantioselectiva de (+)-epoformina fue publicada por Barros y colaboradores en el año 1999.⁵⁹ En esa síntesis la inducción de quiralidad se llevó a cabo empleando (-)-ácido quínico como material de partida. A partir del ácido quínico prepararon la enona **79** y la protección selectiva del hidroxilo secundario con posterior epoxidación dio lugar al epóxido **80** (esquema 35). La deshidratación en medio básico regenera el doble enlace y la reducción genera enantioselectivamente el compuesto **81**. Mediante pasos de protección-desprotección y posterior oxidación obtuvieron la enona **82**, la cual luego de la desprotección del hidroxilo permitió obtener (+)-epoformina.

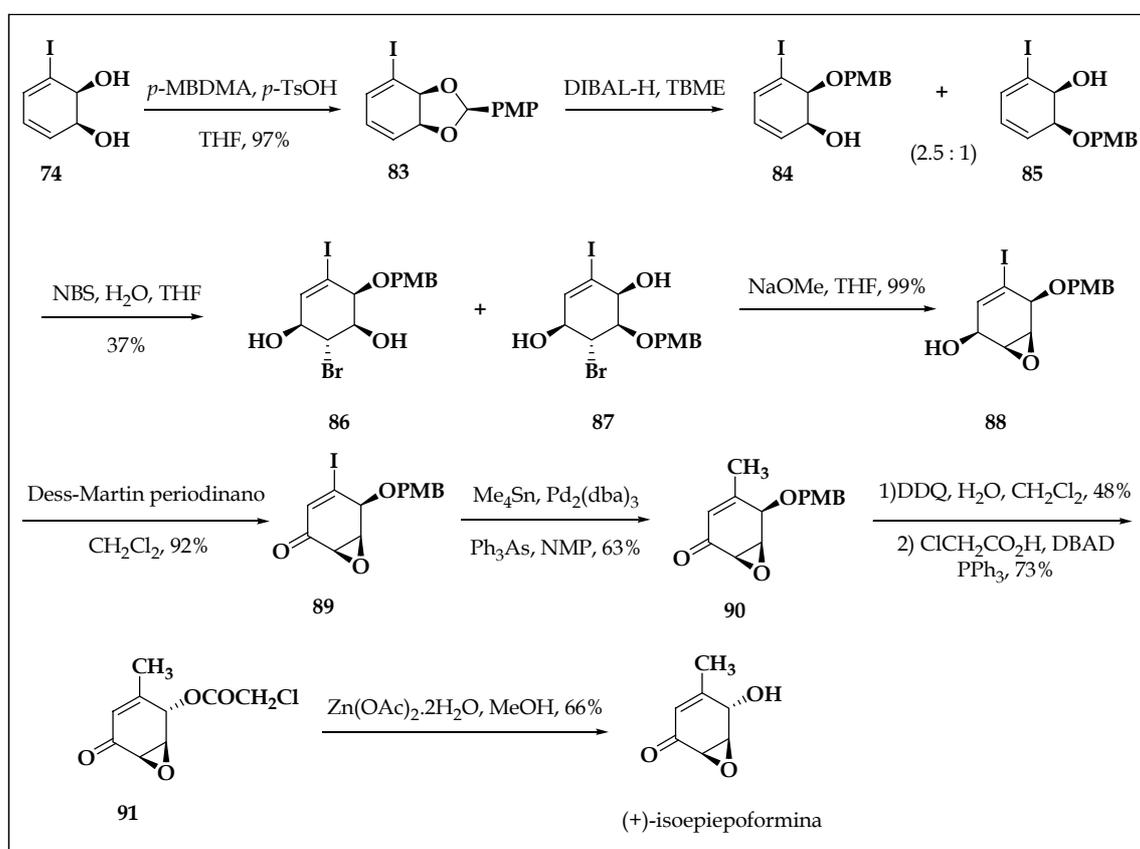


Esquema 35: Síntesis de (+)-epoformina según Barros *et al.*

7.5 Isoepiepoformina

La única síntesis reportada hasta el momento de (+)-isoepiepoformina es del año 2010 y pertenece al grupo de Banwell.⁴⁰ Se trata de una síntesis enantioselectiva en la cual la estrategia de inducción de quiralidad es el empleo de *cis*-ciclohexadienodiolos de origen microbiano como material de partida (esquema 36). La estrategia empleada por Banwell y colaboradores consiste en la protección del sistema diol como *p*-

metoxifenilacetato y posterior desprotección con DIBAL-H, lo cual permitió obtener el compuesto **84** como producto mayoritario. La mezcla de **84** y **85** se sometió a condiciones de halohidroxilación empleando *N*-bromosuccinimida para dar **86** y **87**, sin embargo sólo se reporta el aislamiento de **86**. El cierre del anillo oxiránico y posterior oxidación del hidroxilo alílico dio lugar a la iodoenona **89**. La inserción del grupo metilo se llevó a cabo haciendo uso de la metodología de Stille. La posterior remoción del grupo *p*-metoxibencilo y la inversión de la configuración del carbono 4 según las condiciones de Mitsunobu permitieron obtener **91**. La remoción del grupo éster dio lugar a (+)-isoepepiformina.



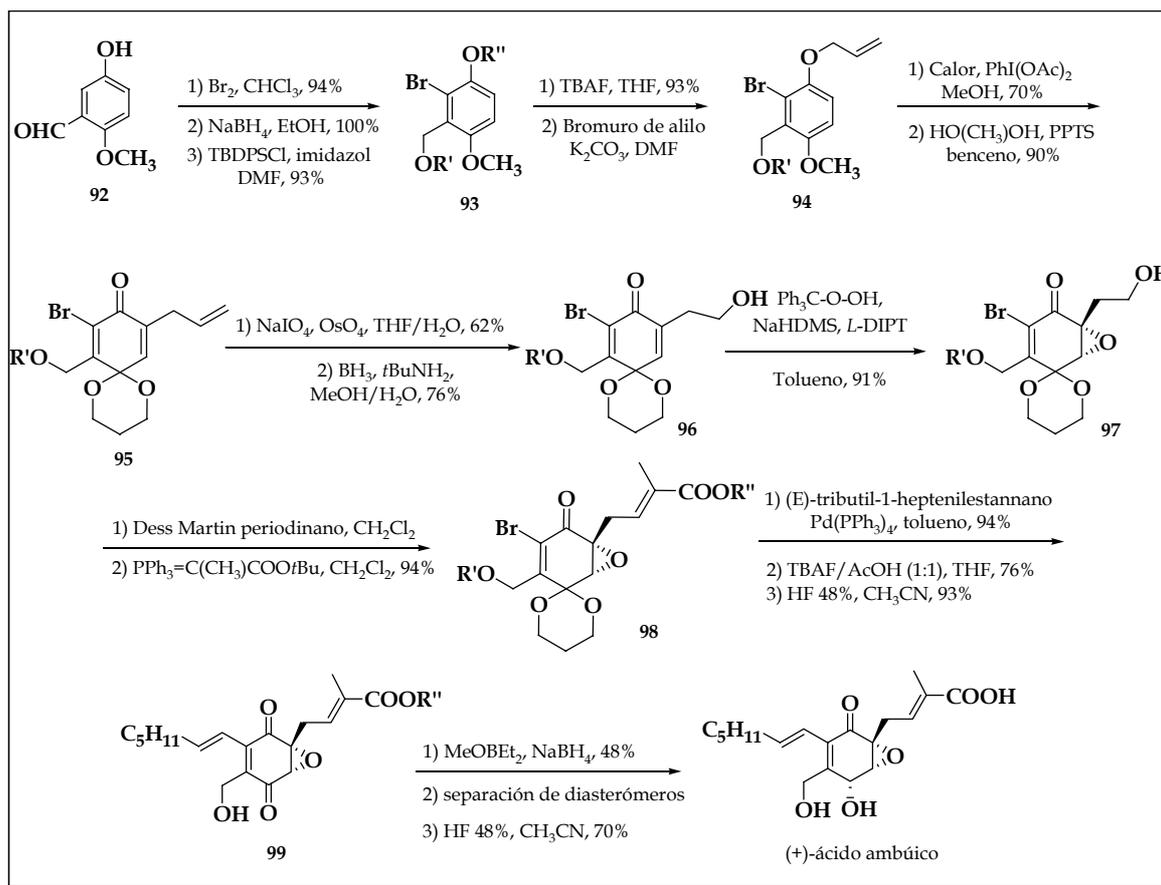
Esquema 36: Síntesis de (+)-isoepepiformina según Banwell *et al.*

7.6 Ácido ambúico

En el año 2003, Li y colaboradores publican la primera síntesis enantioselectiva de (+)-ácido ambúico.⁶⁹

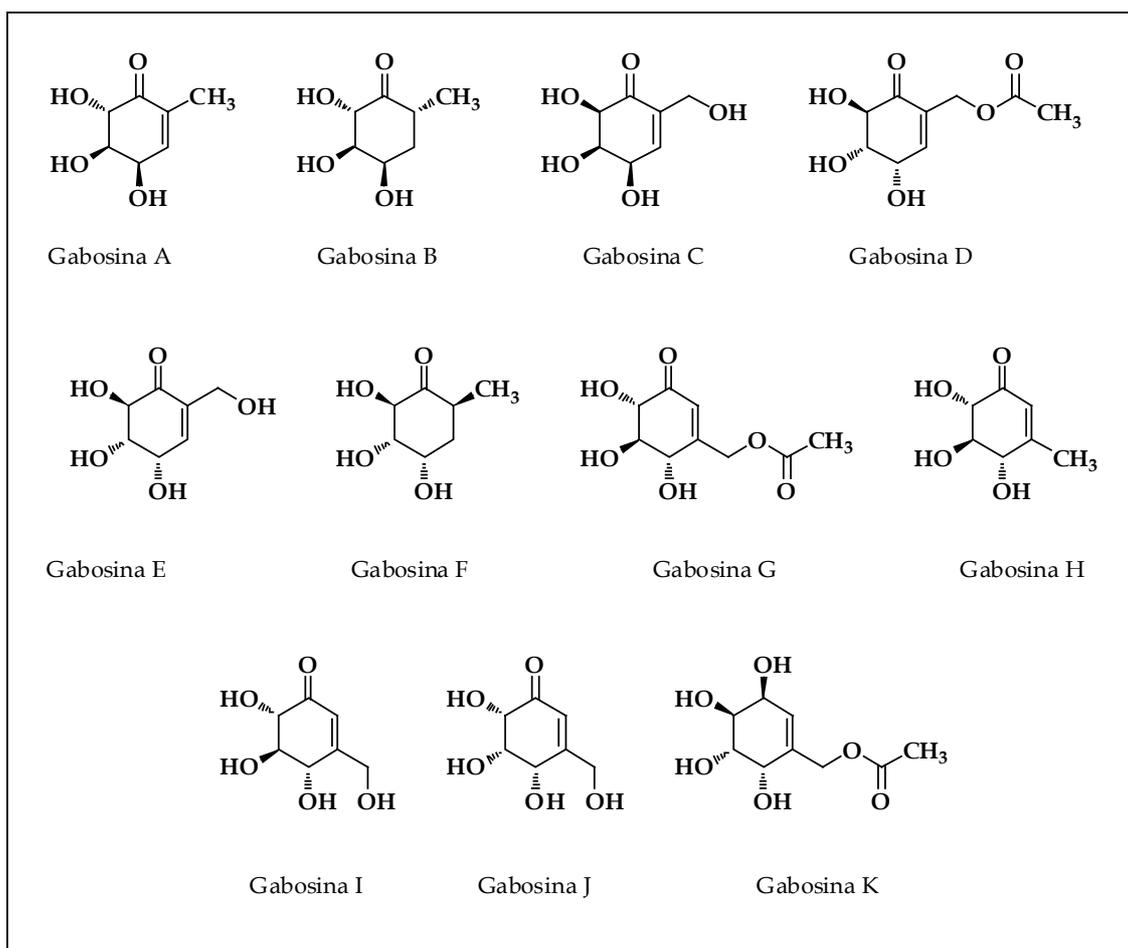
Esta síntesis fue realizada a partir de compuestos aromáticos, posteriormente oxidados a quinona (esquema 37). En este caso, la inducción de asimetría se logró mediante el uso de un auxiliar quiral en una epoxidación asimétrica.

En esta síntesis la cadena hidroximetílica presente en el ácido ambúico proviene del compuesto aromático de partida **92**, el cual fue halogenado y posteriormente reducido. La cadena que contiene el ácido carboxílico proviene de un rearrreglo de tipo Claisen del compuesto **94** para dar un *orto*-alil fenol, el cual es oxidado a quinona y protegido para dar **95**. Por ruptura oxidativa se generó un aldehído y en pasos posteriores por reacción de Wittig se completó la cadena. Una epoxidación asimétrica mediada por tartrato de isopropilo permitió obtener el epóxido **97** con un 91% de exceso enantiomérico. El alcohol homoalílico de **96** dirige la estereoquímica de la reacción. La cadena alquenílica restante fue incorporada a través de una reacción de Stille. La reducción de la cetona en **99** generó dos diastereómeros en una relación 1.2:1. Desprotegiendo el producto mayoritario se genera (+)-ácido ambúico.

Esquema 37: Síntesis de (+)-ácido ambúico según Li *et al.*

8. Aislamiento, actividad biológica y síntesis de gabosina A

En el año 1993 el grupo de Zeeck aisló de *Streptomyces* un grupo de metabolitos secundarios que denominaron gabosinas.⁸³ Estos compuestos exhiben un esqueleto de 7 carbonos altamente hidroxilado que presenta similitudes estructurales con los carbohidratos. En este trabajo se aislaron 11 compuestos de esta familia, los cuales se muestran en el esquema 38.



Esquema 38: Gabosinas A-K aisladas por el grupo de Zeek.

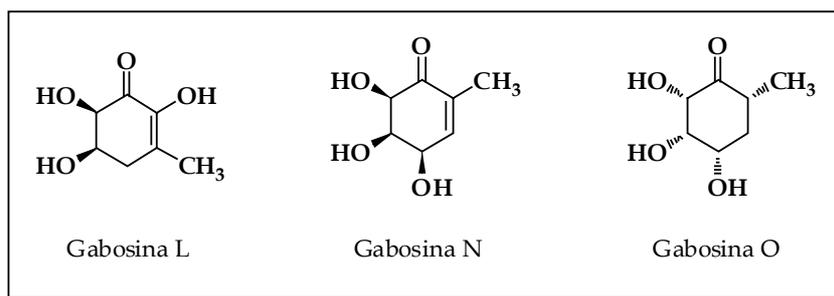
Este grupo de compuestos también se denomina “carbazúcares” debido a la similitud estructural que presentan con los monosacáridos en los cuales el oxígeno del anillo central está sustituido por un carbono.

La elucidación estructural de estos productos naturales se llevó a cabo mediante estudios de resonancia magnética nuclear de ¹H, ¹³C, correlación ¹H-¹H (COSY) y correlación ¹H-¹³C (HSQC).⁸³

La estereoquímica absoluta fue determinada por derivatización con ácidos quirales y sus fórmulas moleculares mediante espectroscopía de masas de alta resolución (EMAR).⁸³

Las gabosinas A-K no presentan significativa actividad antibacteriana, antifúngica, antiviral, herbicida o insecticida aunque presentan una débil actividad antiprotozoaria frente a *Trichomonas vaginalis*.

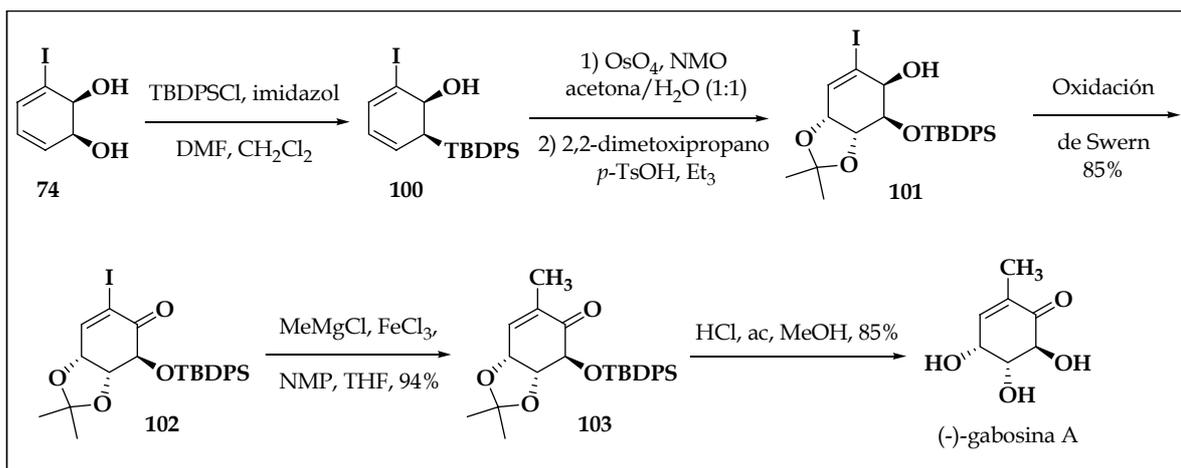
En el año 2000, tres nuevas gabosinas fueron aisladas a partir de *Streptomyces* por el grupo de Thiericke.⁸⁴ Estas fueron denominadas gabosinas L, N y O (esquema 39).



Esquema 39: Nuevas gabosinas aisladas por el grupo de Thiericke.

En ese trabajo se realizaron además estudios de actividad biológica de todas las gabosinas, determinando que las gabosinas A, B, F, N y O son capaces de unirse al ADN.

En 2001 se publicó la primera síntesis de gabosina A por el grupo de Banwell.³⁵ Se trata de una síntesis asimétrica en la cual la introducción de quiralidad se realizó mediante el empleo del *cis*-3-iodociclohexadienodiol (esquema 40). La estrategia propuesta consiste en la protección del grupo hidroxilo distal al halógeno bajo la forma de sililéter para dar el compuesto **100**. La posterior *cis*-dihidroxilación se produce exclusivamente sobre la olefina más rica en electrones y se protegió la función diol con el grupo isopropilideno para obtener el compuesto **101**. La oxidación del hidroxilo alílico dio lugar a la enona **102**, sobre la cual se debe introducir el grupo metilo. El empleo de cloruro de metilmagnesio en presencia de cloruro de hierro (III) permitió obtener el producto del acople carbono-carbono **103**. La remoción de los grupos protectores dio lugar a (-)-gabosina A.

Esquema 40: Síntesis de (-)-gabosina A según Banwell *et al.*

9. Leishmaniasis

El término leishmaniasis define genéricamente el conjunto de patologías causadas por la infección con diferentes especies del protozoo parásito *Leishmania*. Sus manifestaciones clínicas dependen tanto de la especie infectante como del estado inmunológico del hospedador. A pesar de la heterogeneidad en la patología y sintomatología existente en las leishmaniasis, todas sus manifestaciones clínicas comparten como rasgo común la parasitación de células del sistema mononuclear-fagocítico (macrófagos). Tradicionalmente se distinguen tres tipos básicos de leishmaniasis: visceral, mucocutánea y cutánea.

La leishmaniasis visceral (LV) también llamada Kala azar, es la más severa, se caracteriza por producir fiebre, pérdida de peso e hinchazón del hígado y bazo. Es fatal si no se trata adecuadamente.

La leishmaniasis mucocutánea (LMC) o de la mucosa naso-orofaríngea es relativamente poco frecuente. El rasgo característico es la progresiva destrucción ulcerativa de esa zona.

La leishmaniasis cutánea (LC) es una forma más benigna de la enfermedad. La primera manifestación es una pápula en la picadura de la mosca (mosca de la arena). La lesión evoluciona a nodular y ulcerativa.

Leishmania spp es un parásito digénico, al precisar de dos hospedadores para completar su ciclo biológico (en la figura 1 se describe en detalle el ciclo biológico de *Leishmania spp*). Se observan dos morfologías claramente diferenciadas: el promastigote (2), forma flagelada presente en el tubo digestivo del vector invertebrado (díptero de género *Phlebotomus* y *Lutzomyia*) y el amastigote (3), carente de flagelo, que se desarrolla en el interior del fagolisosoma de las células del sistema mononuclear-fagocítico del hospedador vertebrado.⁸⁵

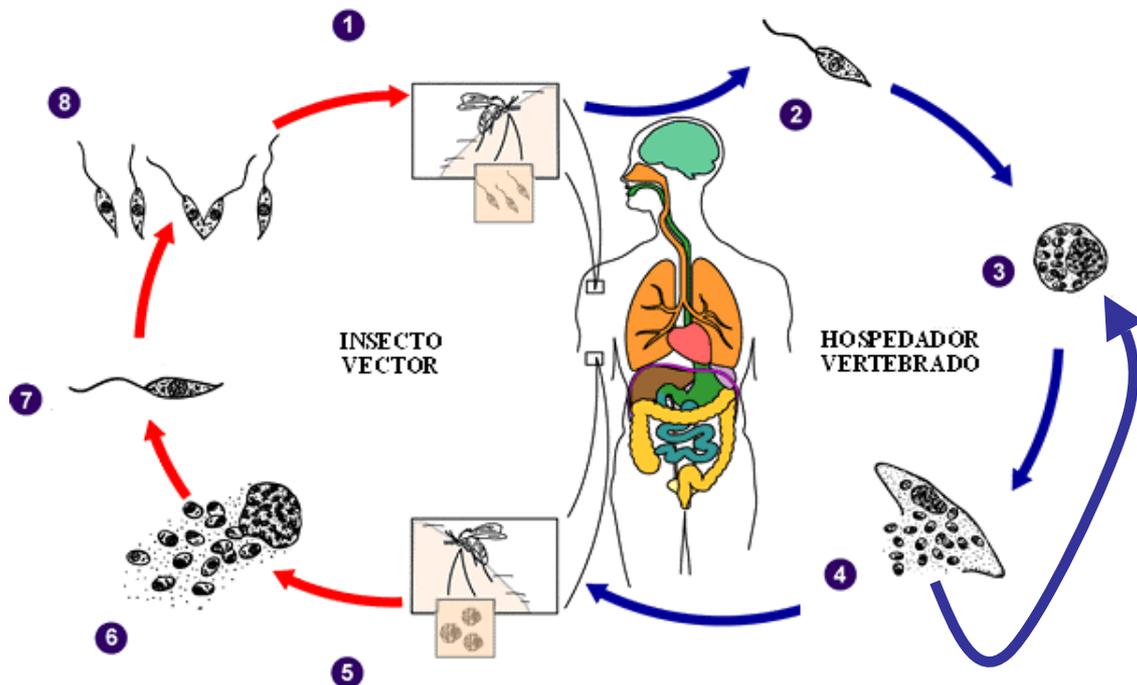


Figura 1. Ciclo biológico de *Leishmania*: 1) Inoculación de promastigotes por la picadura del flebotomo hembra; 2) Fagocitosis de los promastigotes por los macrófagos; 3) Diferenciación de promastigote a amastigote en el fagolisosoma del macrófago y multiplicación de los amastigotes; 4) Lisis del macrófago parasitado, liberación de amastigotes y diseminación de la infección por fagocitosis de los mismos por nuevos macrófagos; 5) Ingestión de macrófagos parasitados con amastigotes durante la alimentación hematofaga del flebotomo; 6) Liberación de los amastigotes en el tubo digestivo del vector; 7) Transformación de amastigotes en promastigotes; 8) División de los promastigotes, unión a las células del epitelio digestivo.⁸⁶

La enfermedad es endémica en regiones tropicales, subtropicales y templadas de América Central y del Sur, Medio Oriente, cuenca mediterránea, Sudán, Kenia, India, Bangladesh y China, abarcando un total de 88 países. La O.M.S. estima una prevalencia global de la enfermedad que oscila entre 12 y 14 millones de personas, con una incidencia anual cercana a los 2 millones y una población en riesgo de aproximadamente 350 millones.⁸⁷ El incremento global de casos se asocia al subdesarrollo de las principales zonas endémicas, con problemas de desnutrición y escasa o nula cobertura sanitaria. En el mundo desarrollado, el aumento de su incidencia se debe al carácter de *Leishmania* como patógeno oportunista asociado a

estados de inmunodepresión, especialmente en la coinfección *Leishmania*-VIH, descrita en 33 países y con una mayor relevancia en el sureste de Europa.

Actualmente, la primera línea de tratamiento contra la *Leishmania* son los fármacos antimoniales pentavalentes administrados parenteralmente, los cuales requieren la hospitalización de los pacientes durante el tratamiento por la gravedad de sus efectos secundarios. Otro aspecto negativo de los tratamientos clásicos, es el alto costo requerido y la aparición de cepas resistentes a los fármacos utilizados.³ Recientemente se han desarrollado terapias alternativas basadas en formulaciones liposomales del antibiótico macrólido anfotericina B y se han realizado ensayos en fase IV para la utilización del fosfolípido miltefosina como agente leishmanicida.⁸⁸ La propensión de miltefosina a la selección de cepas resistentes de *Leishmania*, hacen necesario continuar la búsqueda del fármaco “ideal” para el tratamiento de esta enfermedad. El escaso interés de las grandes empresas farmacéuticas en el desarrollo de fármacos leishmanicidas, ha implicado que el descubrimiento de dichos fármacos se circunscriba casi exclusivamente a grupos académicos, o al ensayo de fármacos desarrollados inicialmente para otras dolencias, como es el caso de anfotericina B o miltefosina.

Por todo ello la búsqueda de nuevas moléculas con potencial actividad leishmanicida es de gran importancia.

Un estudio detallado de la bibliografía demuestra que un elevado número de nuevas moléculas con actividad leishmanicida procede de fuentes naturales, como plantas, hongos, etc. y es especialmente interesante que muchos de estos compuestos comparten a la vez actividades leishmanicidas y fungicidas, como anfotericina B, miltefosina, entre otras.⁸⁹ Esta relación nos llevó a proponer la posibilidad de evaluar la actividad leishmanicida de estas epoxienonas naturales y sus análogos.

Desde el año 1997, nuestro grupo de investigación ha desarrollado una fructífera colaboración con especialistas en leishmaniasis del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) de la Universidad Nacional de Asunción y del Centro para el desarrollo de la Investigación Científica (CEDIC) del laboratorio Diaz Gill en Asunción, Paraguay. En particular la colaboración con la Dra. Antonieta Rojas de Arias, directora de este centro y especialista en esta patología de la Organización Panamericana de la Salud, nos ha permitido desarrollar conjuntamente varios trabajos interdisciplinarios en el tema.^{90,91}

A partir del año 2006 se inició una colaboración con el Dr. Luis Rivas, investigador del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC (Madrid, España) para determinar el mecanismo de acción de algunos compuestos sintetizados en nuestro laboratorio.

Objetivos y Metodología

Objetivo general:

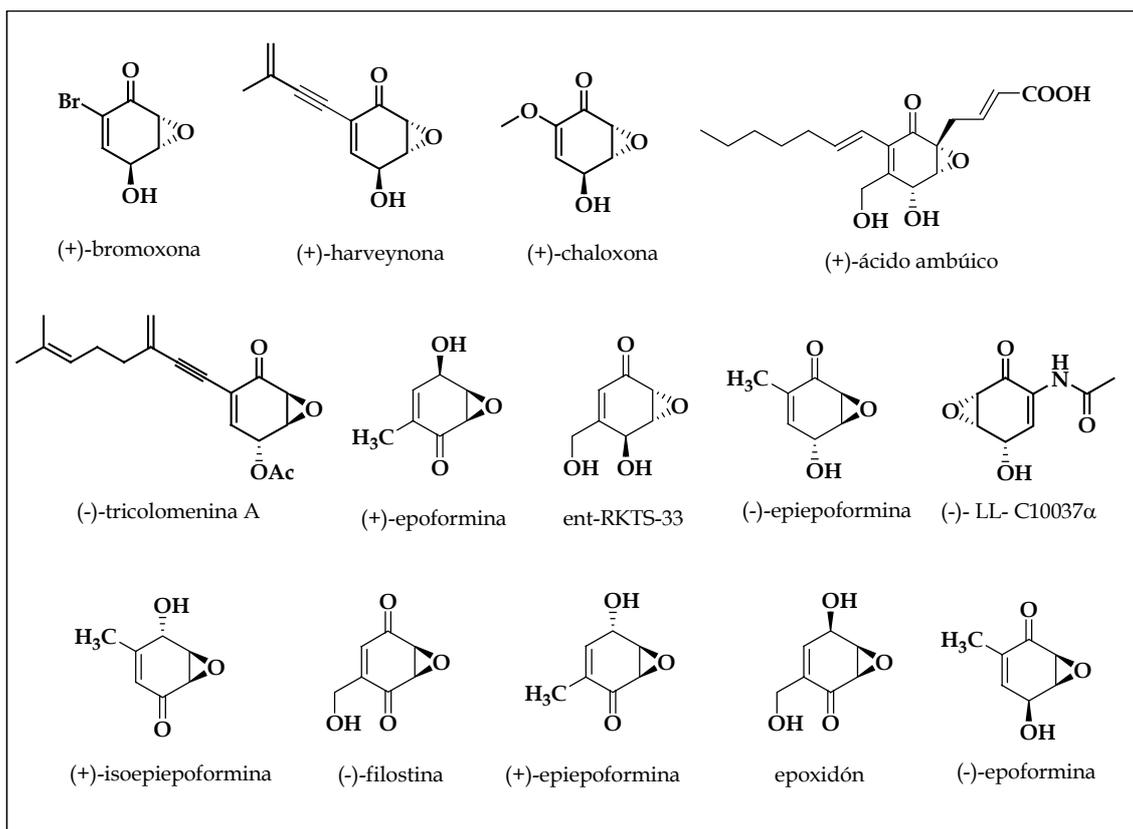
- Ampliación de la utilización de *cis*-ciclohexadienodiolos de origen microbiano para la preparación de epoxienonas quirales naturales y análogos con posible actividad biológica.

Objetivos específicos:

- Desarrollo de metodologías sintéticas para la preparación de los núcleos centrales de epoxienonas quirales.
- Síntesis total enantioselectiva de epoxienonas quirales naturales bioactivas.
- Síntesis enantioselectiva de epoxienonas quirales no naturales y compuestos estructuralmente relacionados.
- Evaluación de actividad leishmanicida de intermedios sintéticos.

La combinación de estrategias de síntesis orgánica convencional junto con la introducción de quiralidad mediada por microorganismos nos permite desarrollar una estrategia quimioenzimática eficiente para la síntesis enantioselectiva de productos naturales bioactivos y derivados.

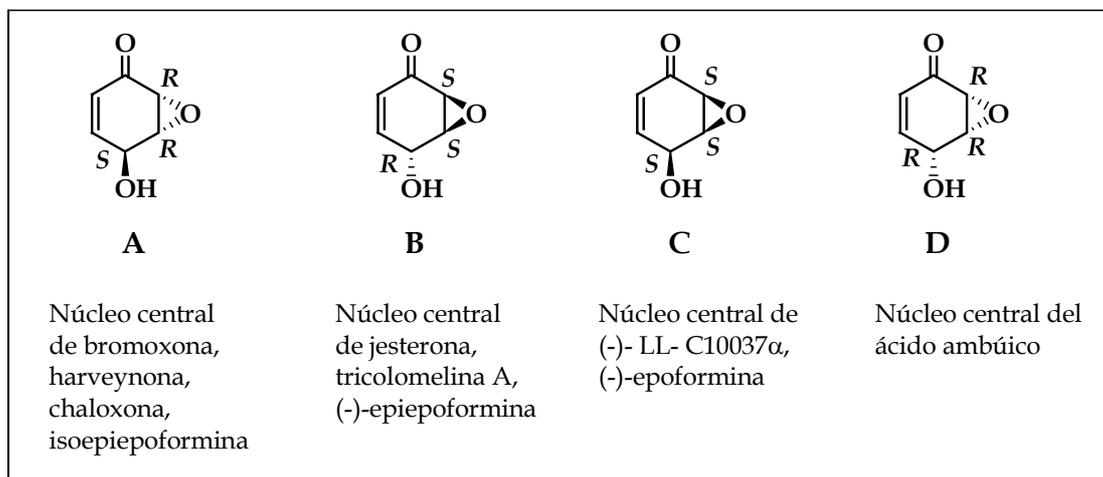
El empleo de sintones tan versátiles como los 3-metil y 3-halo *cis*-ciclohexadienodiolos como material de partida, hace de ésta una estrategia exitosa para la preparación de productos naturales homoquirales. Debido a que la introducción de la quiralidad se realiza en el primer paso, es posible obtener intermedios sintéticos con excesos enantioméricos superiores al 99%. Es por eso que planteamos usarlos para la preparación de epoxienonas quirales (esquema 1).



Esquema 1: Algunas epoxienonas quirales naturales bioactivas.

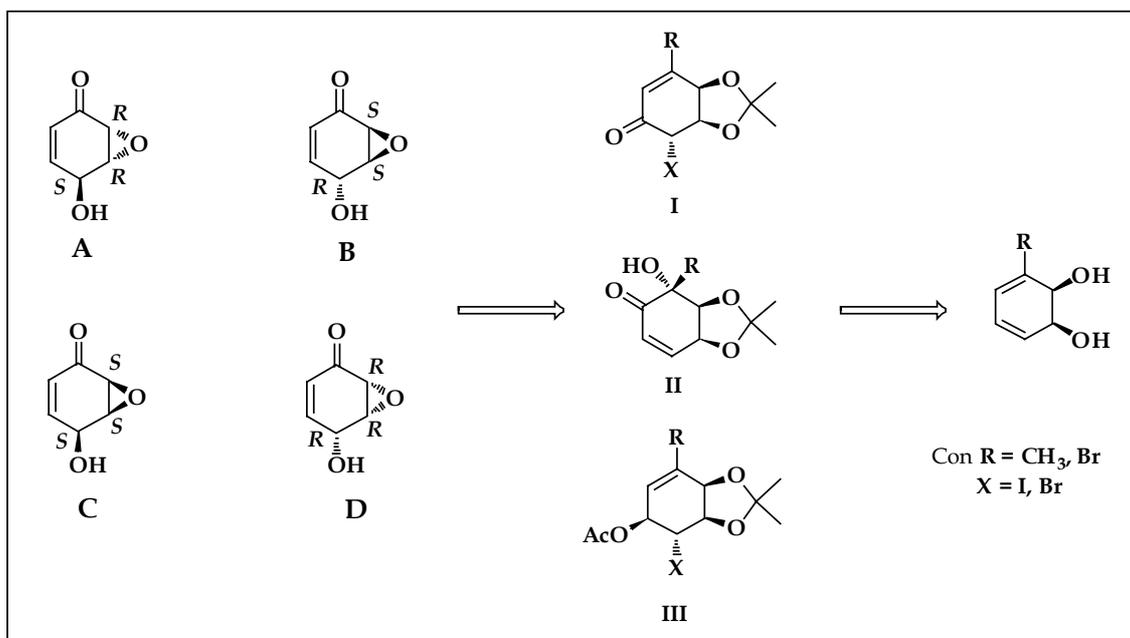
Metodología

Para cumplir con el primer objetivo específico planteado, identificamos en los núcleos centrales de las moléculas blanco, 4 estructuras con estereoquímicas diferentes (esquema 2):



Esquema 2: Núcleos centrales de epoxienonas quirales naturales.

Nuestra propuesta es obtener los patrones funcionales y estereoquímicos de los núcleos centrales de las epoxienonas según el esquema retrosintético que se detalla a continuación (esquema 3):

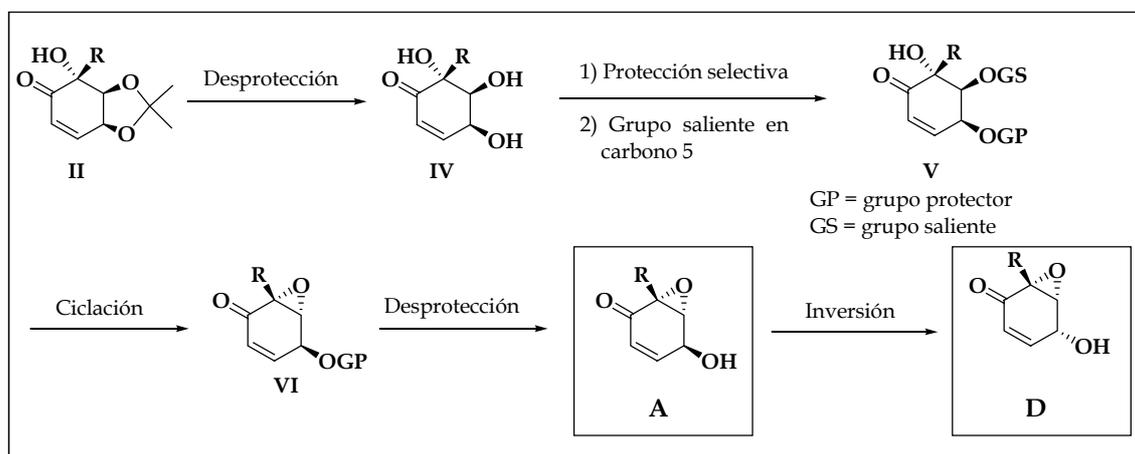


Esquema 3: Análisis retrosintético general para la preparación de los núcleos centrales de epoxienonas a partir de *cis*-ciclohexadienodiolos.

El análisis retrosintético propuesto para la obtención de los núcleos A a D implica el empleo de intermedios enona tipo **I** y **II** y compuestos relacionados como **III**, los cuales pueden obtenerse a partir de metil y halo *cis*-ciclohexadienodiolos.

Se plantea una estrategia convergente-divergente, en la cual es posible obtener más de un núcleo a partir del mismo precursor al tiempo que es posible obtener el mismo núcleo a partir de diferentes precursores. Esto constituye una fortaleza de la propuesta metodológica ya que permite obtener los núcleos por más de una ruta sintética además de generar diversidad estructural en pocos pasos de síntesis y a partir de un único precursor.

Para la preparación de los núcleos A y D, la estrategia desarrollada se ilustra en el esquema 4:

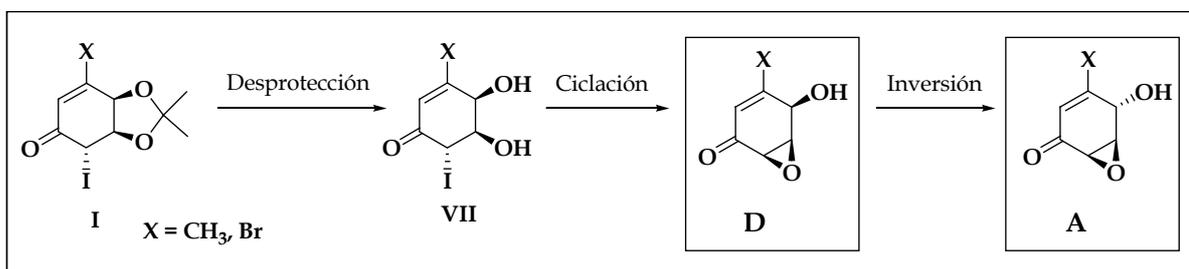


Esquema 4: Preparación de núcleos A y D a partir de enonas tipo **II**.

A partir de enonas tipo **II** mediante la remoción del grupo protector isopropilideno es posible obtener el triol **IV**. La protección selectiva del grupo hidroxilo menos impedido haciendo uso de un grupo protector voluminoso y la posterior introducción de un grupo saliente en el hidroxilo del carbono 5 permite obtener la enona **V**. El tratamiento de **V** con una base permite el cierre del anillo oxiránico para dar lugar a **VI**. La desprotección de **VI** permite obtener el núcleo A. Asimismo, la inversión de la configuración del carbono 4 da lugar al núcleo D.

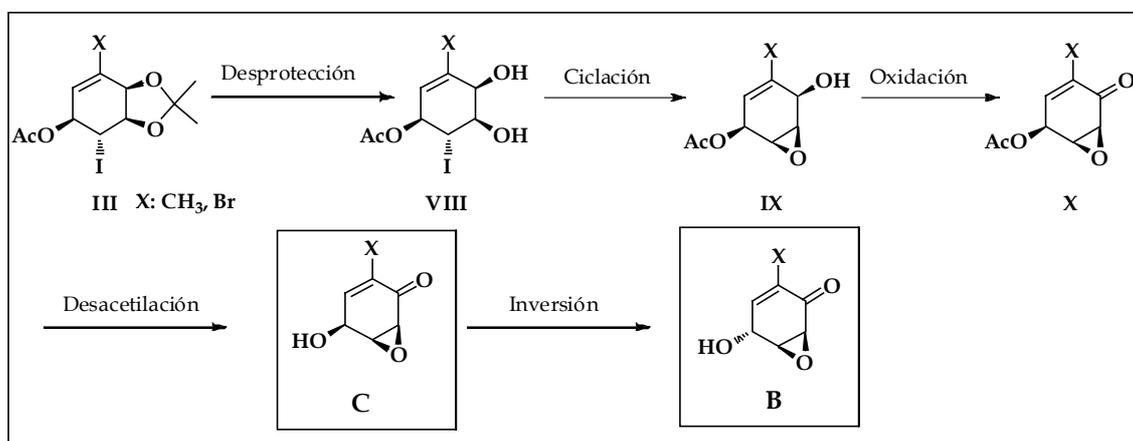
Al tratarse de una estrategia convergente, tal como se ilustra en el esquema 5, es posible obtener los mismos núcleos a partir de enonas tipo **I**. La desprotección de **I** permite obtener el intermedio **VII** el cual sometido a condiciones de ciclación permite

obtener el núcleo D. La posterior inversión de la configuración en el carbono 4 dará lugar al núcleo A.



Esquema 5: Preparación de núcleos A y D a partir de enonas tipo I.

Por otra parte, para la preparación de los núcleos C y B la estrategia desarrollada se indica en el esquema 6:



Esquema 6: Preparación de núcleos C y B a partir de enonas tipo III.

La desprotección del sistema diol de III y el posterior cierre del anillo oxiránico en medio básico da lugar al epóxido IX. La oxidación de IX permite obtener la epoxienona X la cual, luego de la remoción del grupo acetilo, da lugar al núcleo C. La inversión en la configuración del carbono 4 permite obtener el núcleo B.

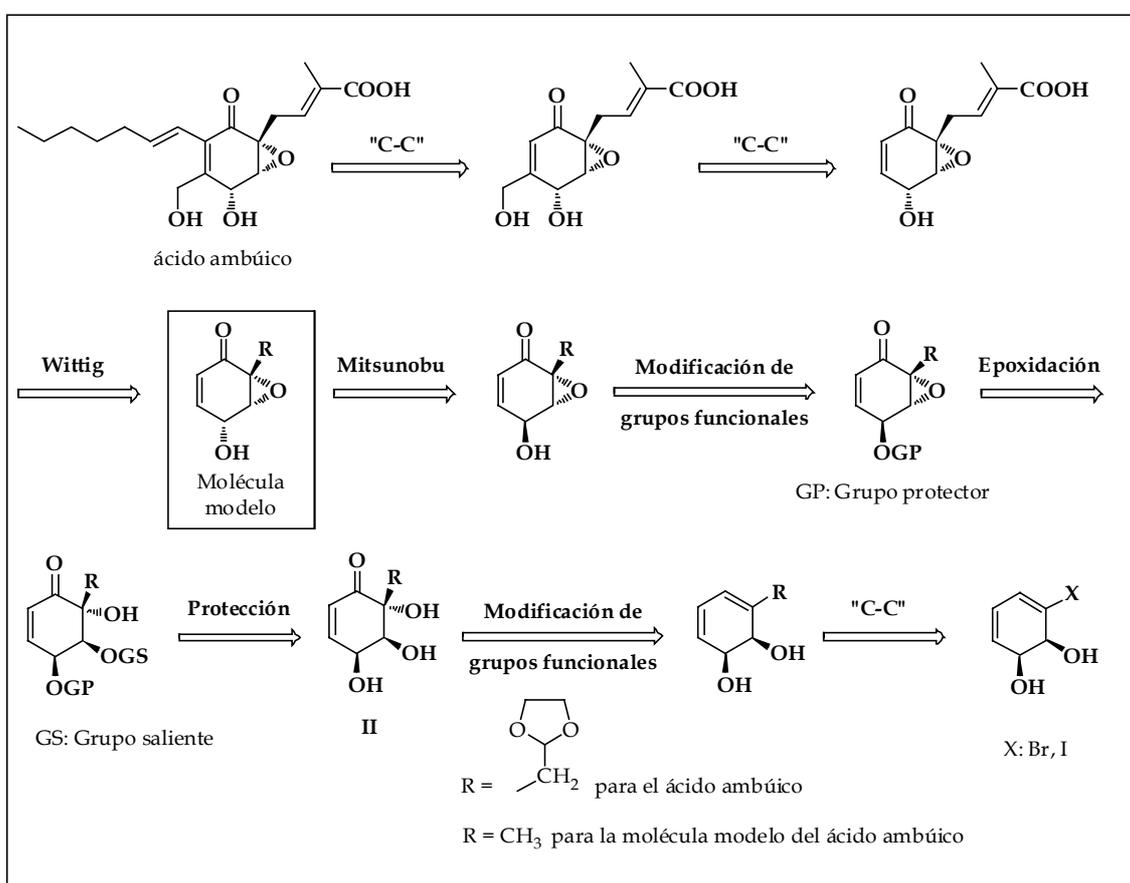
Resultados y Discusión

1. Aproximación a la síntesis de ácido ambúico: Preparación de una molécula modelo

Como primera aproximación a la síntesis de ácido ambúico nos planteamos la preparación de una molécula modelo. Tomamos como estrategia la experiencia de nuestro grupo de investigación en el uso de sintones quirales de origen microbiano para la preparación de enonas tipo II⁴¹ (ver esquema 3 del capítulo de objetivos y metodología). En esta estrategia se propone el empleo de enonas como material de partida para la síntesis enantioselectiva de una molécula modelo de ácido ambúico.

La preparación de este modelo nos permitirá establecer la validez de esta metodología para la síntesis total de ácido ambúico, así como de otras epoxienonas.

Para ello nos planteamos el siguiente esquema retrosintético (esquema 1):

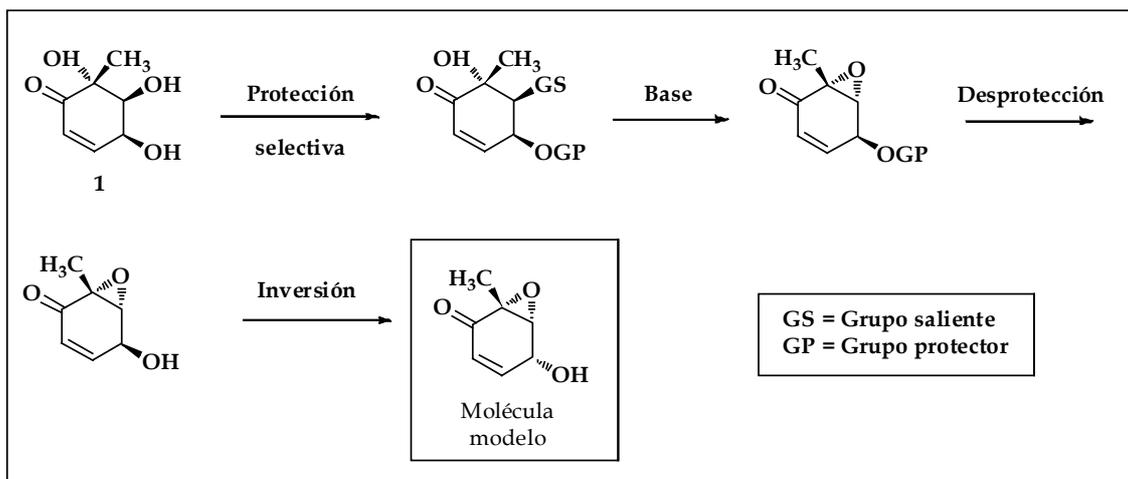


Esquema 1: Análisis retrosintético para la síntesis de ácido ambúico.

El primer paso es la desconexión de la cadena alquénica, la cual puede ser introducida mediante una reacción de acoplamiento carbono-carbono (tipo Suzuki) entre una epoxienona α -halogenada y el correspondiente ácido borónico. La desconexión de la cadena hidroximetílica se realiza mediante la química de los α -

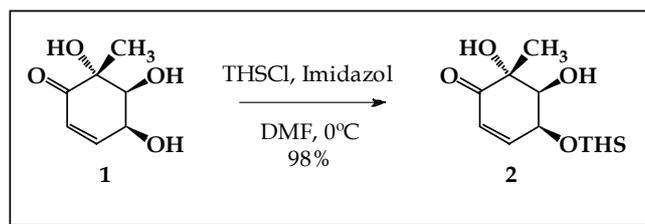
sulfonilcarbaniones, generando un anión en posición β de la enona que reaccione con un electrófilo apropiado. La cadena que soporta al grupo ácido carboxílico, se puede introducir haciendo uso de la metodología de Wittig, acoplando una sal de fosfonio apropiada con el aldehído del núcleo de epoxienona. La inversión de la configuración en el carbono 4 se realiza a través de la metodología de Mitsunobu y el cierre del anillo oxiránico se planea a través de un ataque nucleofílico intramolecular. La enona **II** es un sintón adecuado para la construcción quiral del ácido ambúico. La desconexión del grupo R a través de una retro Suzuki o Stille conduce a un *cis*-halociclohexadienodiol. En el esquema 1 se indica también la estructura que presenta el patrón estereoquímico y la funcionalización del ácido ambúico que denominamos molécula modelo. El análisis retrosintético para esta estructura se basa en la misma estrategia descrita anteriormente, pero en este caso se planea a partir de la enona **II** derivada del *cis*-3-metilciclohexadienodiol.

Para la preparación de la molécula modelo de ácido ambúico la metodología empleada se ilustra en el esquema 2:



Esquema 2: Preparación de una molécula modelo de ácido ambúico.

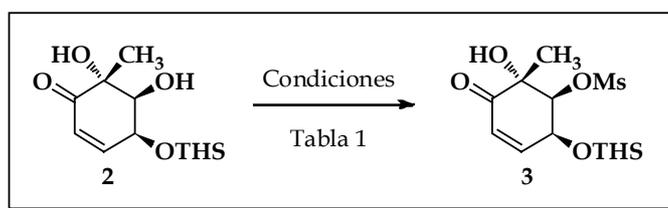
Partiendo de la enona **1**, obtenida según se detalla en el capítulo de antecedentes (ver sección 4.2), la protección del hidroxilo distal se lleva a cabo utilizando un grupo voluminoso, de modo de proteger selectivamente la posición menos impedida. Para ello se emplea clorodimetiltexilsilano (THSCI) formando el sililéter correspondiente. Esta protección se lleva a cabo con un rendimiento de 98% (esquema 3).



Esquema 3: Protección selectiva del hidroxilo distal.

La introducción de un buen grupo saliente en carbono 5 es requisito previo para el posterior cierre del anillo oxiránico mediante un ataque nucleofílico intramolecular en medio básico.

Las condiciones ensayadas para la introducción de diferentes grupos salientes se indican en la tabla 1.



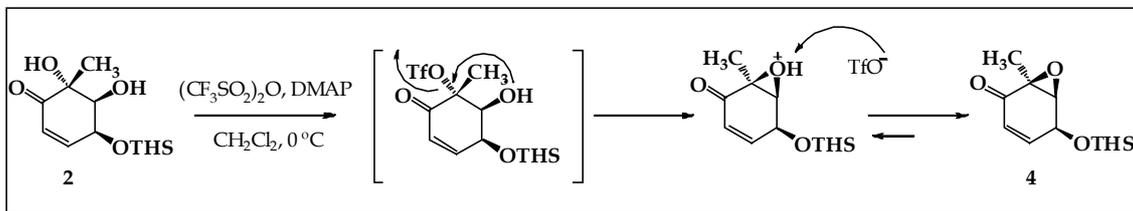
Esquema 4: Introducción de un grupo saliente en 2.

Entrada	Reactivos y condiciones	Tiempo	Productos
1	Cloruro de <i>p</i> -toluensulfonilo, Py, T.A.	72 hs	Recuperación MP
2	CH ₃ SO ₂ Cl, Py, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	24 hs	3 (13%) + descomposición
3	(CF ₃ SO ₂) ₂ O, DMAP, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	24 hs	4 (trazas) + 5 (20%) + descomposición
4	CH ₃ SO ₂ Cl, Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C	24 hs	3 (45%) + 5 (39%)

Tabla 1: Condiciones ensayadas para la introducción de un grupo saliente en C5.

Los intentos de introducir el grupo *p*-toluensulfonato como grupo saliente en presencia de piridina no fueron exitosos ya que luego de transcurridas 72 hs no se observa reacción (entrada 1). El empleo de cloruro de mesilo y piridina como base da lugar a bajos rendimientos en la obtención del producto 3 mientras que se observa la formación de productos de descomposición (entrada 2). El uso de anhídrido tríflico no

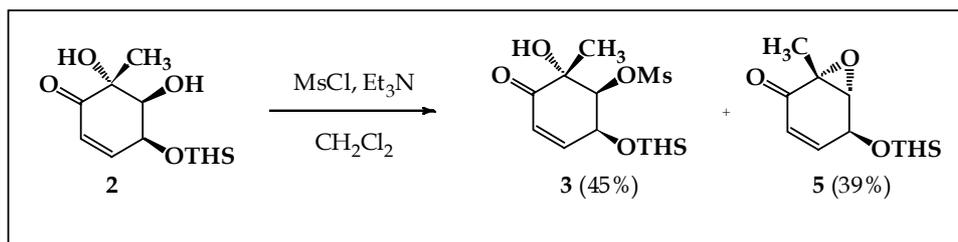
permite obtener el producto esperado, dando trazas del epóxido **4**, el epóxido **5** con un 20% de rendimiento y productos de descomposición (entrada 3). El compuesto **4** se obtiene por la esterificación del hidroxilo terciario y el posterior ataque nucleofílico intramolecular (esquema 5).



Esquema 5: Mecanismo de formación del epóxido **4**.

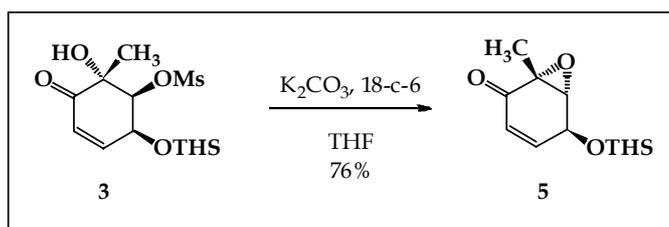
El empleo de cloruro de mesilo y trietilamina en diclorometano da lugar al producto esperado con un rendimiento de 45% al tiempo que se observa la formación del epóxido **5** (ver esquema 6) con un rendimiento de 39% (entrada 4). Los productos **3** y **5** se separan sin inconvenientes por cromatografía en columna.

Cabe destacar que el agregado del cloruro de mesilo debe hacerse muy lentamente ya que de lo contrario se observa la formación de productos de descomposición.



Esquema 6: Introducción de grupo saliente en **2**.

Una vez aislado el compuesto **3** se lleva a cabo el cierre del anillo oxiránico mediante un ataque nucleofílico intramolecular. Para ello se emplea K_2CO_3 en tetrahidrofurano utilizando éter corona como catalizador. La epoxidación transcurre con un rendimiento de 76% (esquema 7).



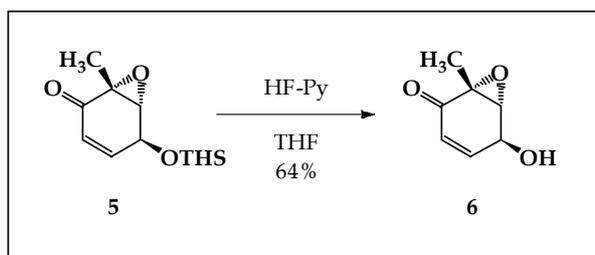
Esquema 7: Cierre del anillo oxiránico.

Para la remoción del grupo protector sililado las condiciones ensayadas se indican en la tabla 2.

Entrada	Reactivos y condiciones	Productos
1	TBAF, THF, -50 °C, 4 hs	6 (44%)
2	Ácido fosfomolibdico/SiO ₂ , THF, T. A. hasta 40 °C, 48 hs	6 (45%)
3	HF-Py, THF, 0°C hasta T. A., 24 hs	6 (64%)

Tabla 2: Desprotección de 5.

El empleo de fluoruro de tetrabutilamonio en tetrahidrofurano a -50 °C permite obtener el producto esperado con un rendimiento de 44% (entrada 1). Las condiciones reportadas por Baskaran y colaboradores en 2005,⁹² (ácido fosfomolibdico adsorbido en sílica) no producen mejores resultados dando rendimientos comparables en tiempos de reacción más largos. El uso del complejo ácido fluorhídrico-piridina en tetrahidrofurano (THF) en las condiciones reportadas por Nicolau⁹³ da lugar al epóxido 6 con mejores rendimientos (esquema 8).



Esquema 8: Desprotección de 5.

Tal como se puede observar en el RMN ¹H del compuesto 6 (figura 1), se observa la aparición de la señal en 3.69 ppm correspondiente al protón geminal del epóxido, así como las señales en 6.47 y 5.91 ppm correspondientes a los protones olefinicos del sistema enona.

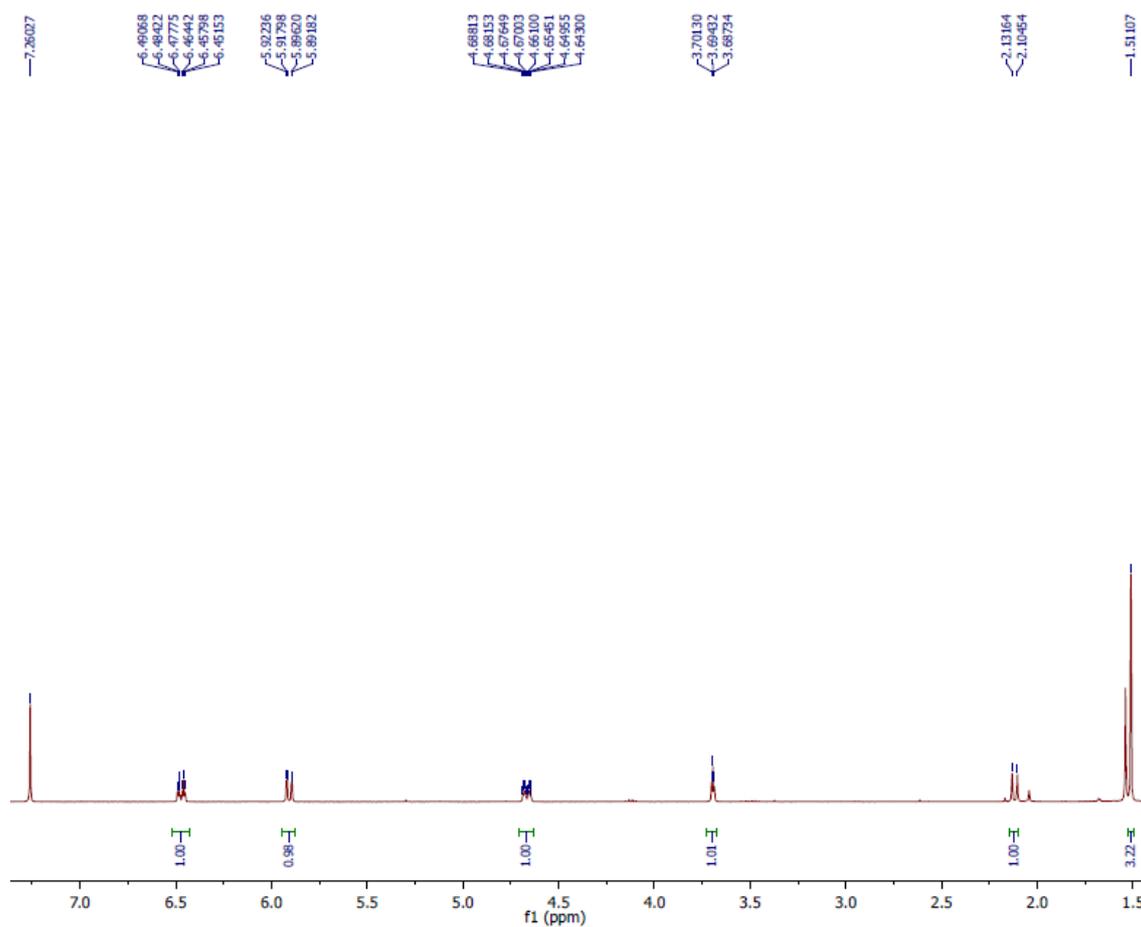
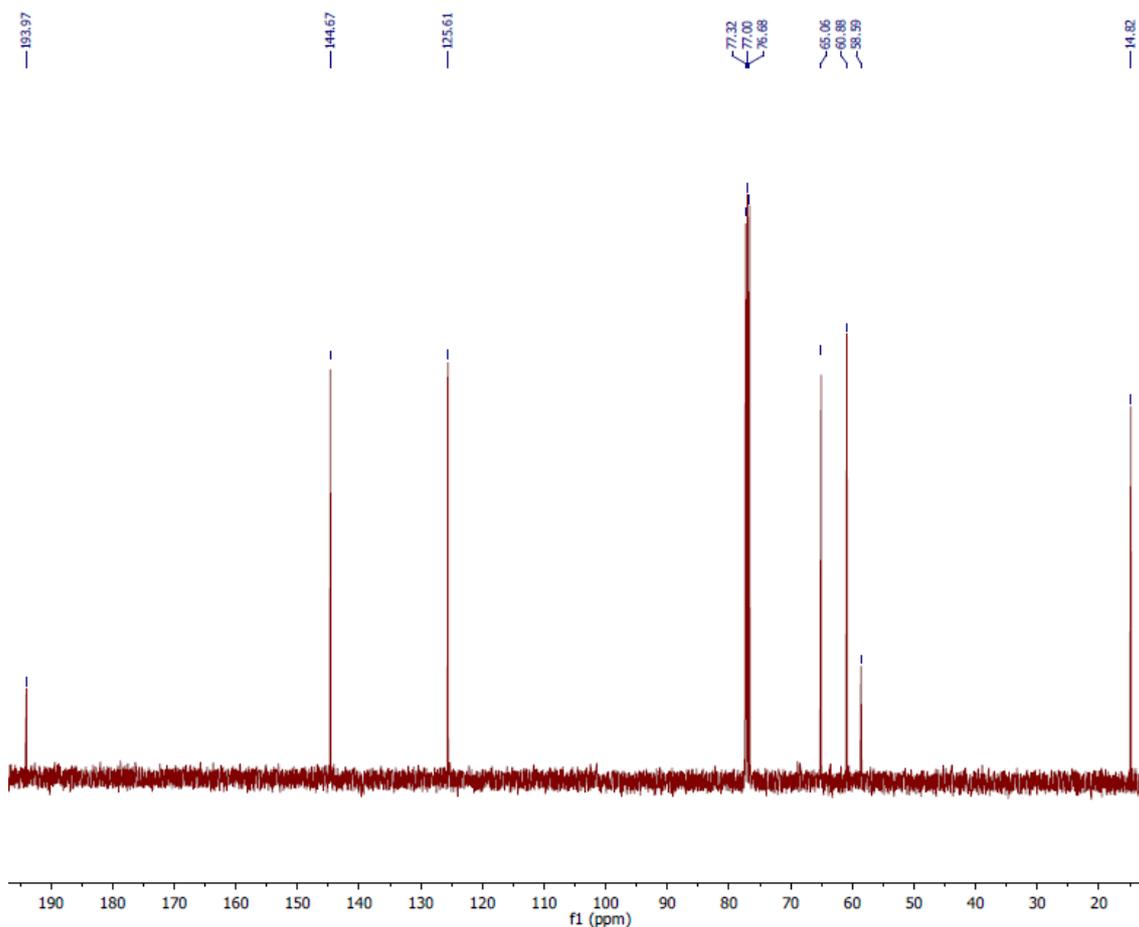
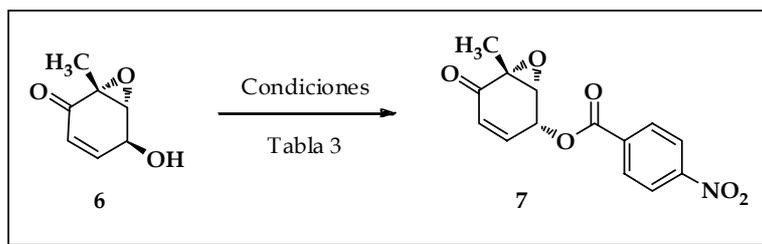


Figura 1: Espectro de RMN ^1H del compuesto **6**.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **6** (figura 2), se aprecian las señales en 194.0, 144.7 y 125.6 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona, así como las señales en 60.9 y 58.6 ppm de los carbonos que soportan el grupo epóxido.

Figura 2: Espectro de RMN ¹³C del compuesto 6.

Para obtener una epoxienona con el patrón estereoquímico del núcleo del ácido ambúico es necesaria la inversión de la configuración del carbono 4 (ver esquema 2). Para ello se hace uso de la metodología desarrollada por Mitsunobu en el año 1967.⁹⁴ Esta consiste en la formación de un buen grupo saliente como sustituyente del carbono que se desea invertir y el posterior ataque de un nucleófilo adecuado a través de un mecanismo S_N2 de modo que se produzca la inversión de la configuración del centro quiral. Dado que el nucleófilo que ataca es un carboxilato, el producto obtenido es un éster. La posterior hidrólisis del éster da lugar al alcohol libre correspondiente con la configuración invertida en ese carbono.



Esquema 9: Reacción de inversión sobre 6.

Entrada	Reactivos* (n° equivalentes)	Disolvent e	Temperatur a	Tiempo	Productos
1	PPh ₃ (1.1), DEAD (1.1), ác. <i>p</i> -NB (1.0)	Benceno	0 °C	24 hs	Recuperación MP
2	PPh ₃ (2.1), DEAD (2.1), ác. <i>p</i> -NB (1.0)	Benceno	reflujo	2 hs	7 (15%) + descomposición
3	PPh ₃ (1.1), ác. <i>p</i> -NB (1.0), DEAD (1.1)	Benceno	T. A.	5 min.	7 (39%)

* Reactivos escritos en el orden en que son agregados.

Tabla 3: Condiciones de reacción de Mitsunobu ensayadas para la conversión de 6 en 7.

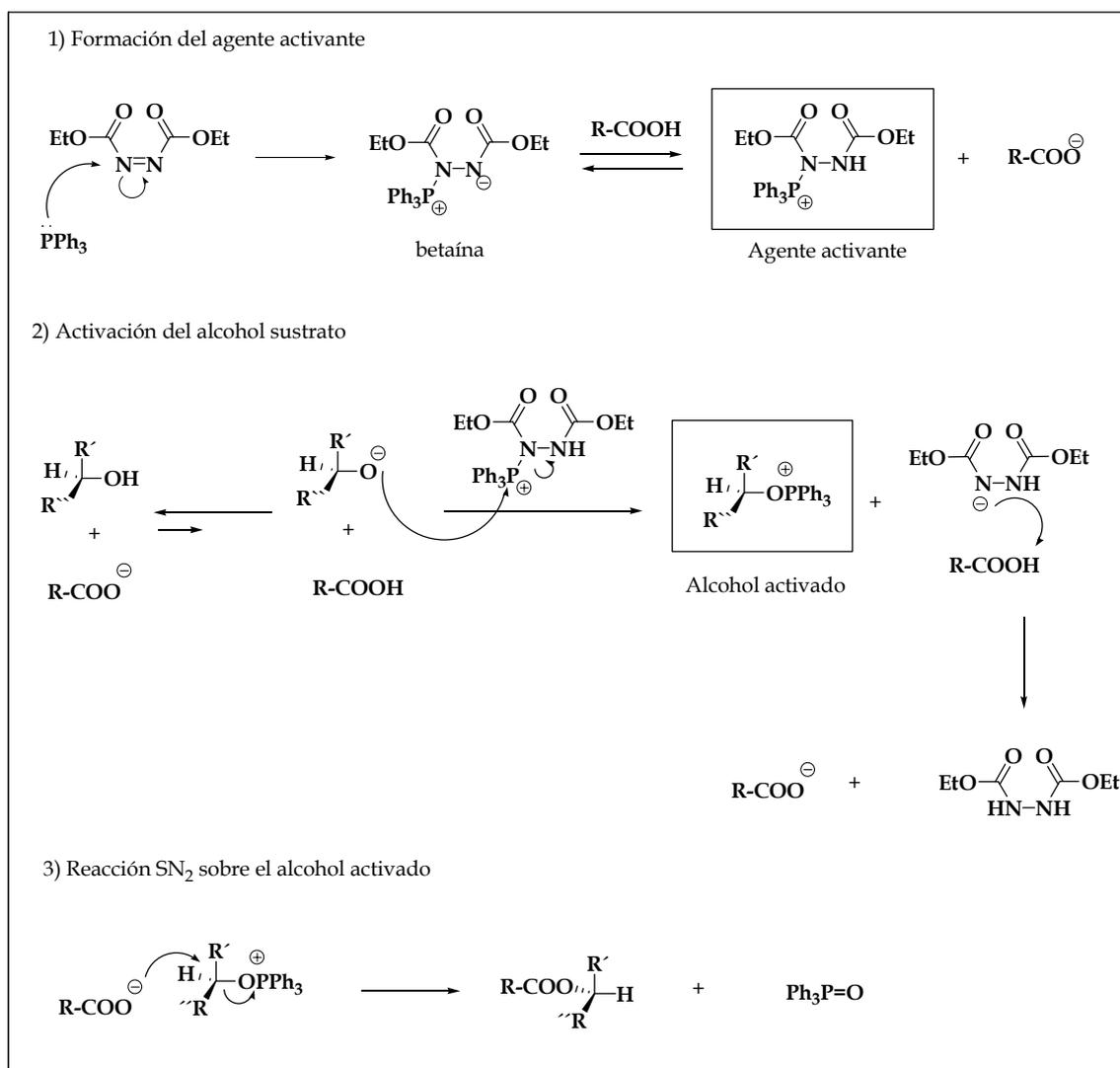
En las condiciones reportadas por Boyd^{95,96} para la inversión de la configuración (entrada 1) se recupera el material de partida, por lo tanto se procede a elevar la temperatura hasta reflujo así como adicionar un equivalente extra de DEAD y de PPh₃ (entrada 2). Esta reacción se repitió numerosas veces, dando rendimientos poco reproducibles y obteniendo como máximo 15% de rendimiento, no siendo posible la recuperación del material de partida. Durante el transcurso de una de estas repeticiones, accidentalmente se alteró el orden de agregado de los reactivos observándose la formación del éster 7 en 5 minutos a temperatura ambiente. Luego de su aislamiento y purificación se obtuvo 7 con 39% de rendimiento (entrada 3). El orden de agregado de los reactivos parece jugar un rol importante en la reactividad de estos sistemas. En nuestro caso es necesaria la presencia del ácido previo al agregado del azocompuesto. Este aumento en la reactividad podría explicarse por la tendencia de la

trifenilfosfina a coordinarse con el oxígeno del epóxido. Sin embargo, si en el medio se encuentra presente el ácido, este oxígeno se encontrará parcialmente protonado, dejando la trifenilfosfina disponible para reaccionar con el DEAD y permitiendo que la reacción siga su mecanismo normalmente.

En el esquema 10 se describe el mecanismo de la reacción de Mitsunobu, el cual ha sido ampliamente estudiado.^{97,98}

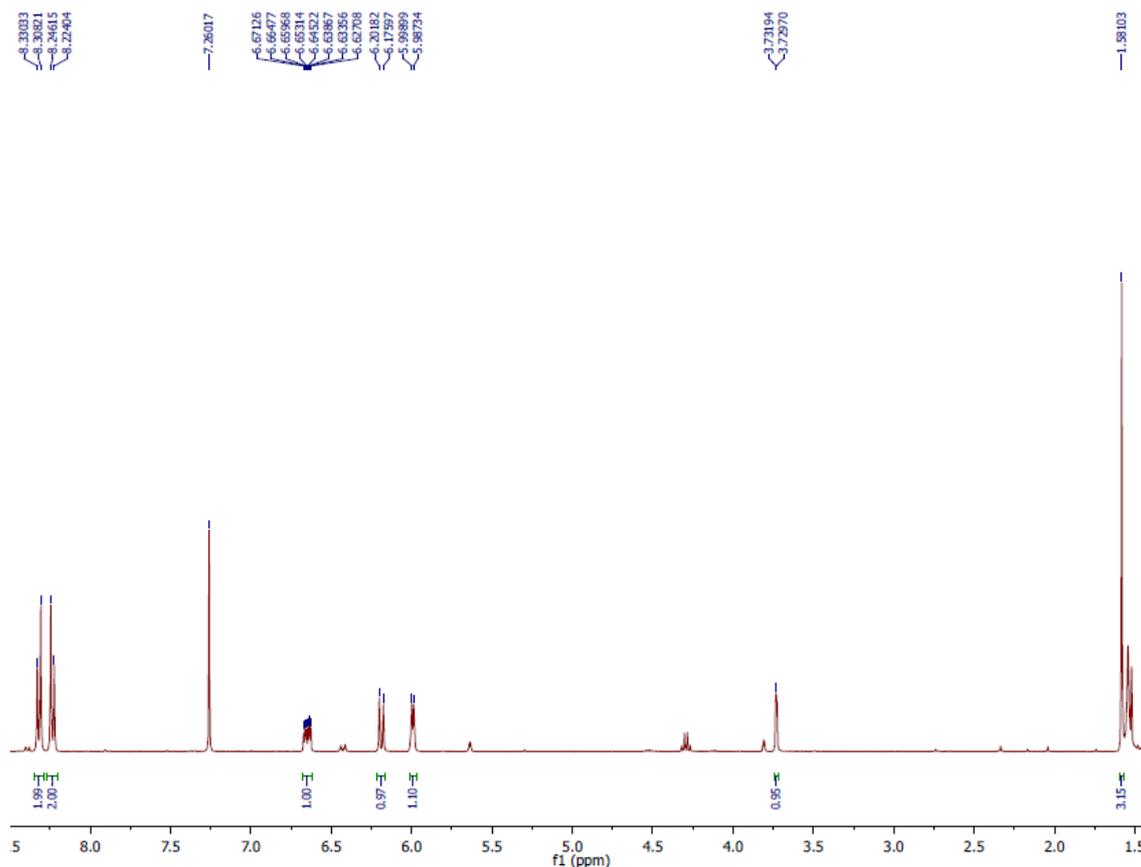
Éste puede dividirse en tres etapas:

- La primera etapa es la formación del agente activante. Consiste en el ataque nucleofílico de la trifenilfosfina sobre el azodicarboxilato de dietilo. Esta reacción es rápida e irreversible. La betaína intermedia toma el protón del ácido para formar el agente activante y el carboxilato correspondiente.
- El segundo paso, que puede ser el paso lento, consiste en la activación del sustrato hidroxílico. Está controlado por la basicidad del carboxilato ya que se establece un equilibrio ácido-base entre el mencionado alcohol y el carboxilato. Si bien este equilibrio se encuentra mayormente desplazado hacia la formación del carboxilato, la pequeña proporción de alcóxido formado es capaz de atacar al agente activante dando lugar a la sal de oxifosfonio, mientras que el azocompuesto reacciona con el ácido protonándose y produciendo el carboxilato correspondiente.
- El tercer paso es la reacción S_N2 sobre el carbono a invertir. Dependiendo de la basicidad del carboxilato este puede ser el paso lento.

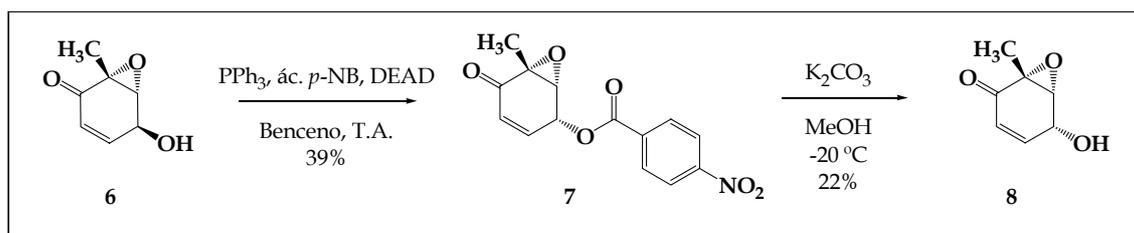


Esquema 10: Mecanismo de la reacción de Mitsunobu.

Como se puede observar en el espectro de RMN ^1H del compuesto 7 (figura 3), se observa el corrimiento de la señal correspondiente al protón geminal al hidroxilo a 5.99 ppm. Las señales en 8.23 y 8.32 ppm correspondientes a los protones aromáticos del *p*-nitrobenzoato indican la formación del éster correspondiente.

Figura 3: Espectro de RMN ^1H del compuesto 7.

La desprotección del éster 7 con K_2CO_3 en metanol a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ da lugar a la epoxienona 8 con un 22% de rendimiento (esquema 11).



Esquema 11: Inversión de la configuración en C4 de 6.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto 8 (figura 4), se puede observar la señal en 4.66 ppm correspondiente al protón geminal al hidroxilo y la desaparición de las señales aromáticas, lo cual indica la remoción del grupo *p*-nitrobenzoato.

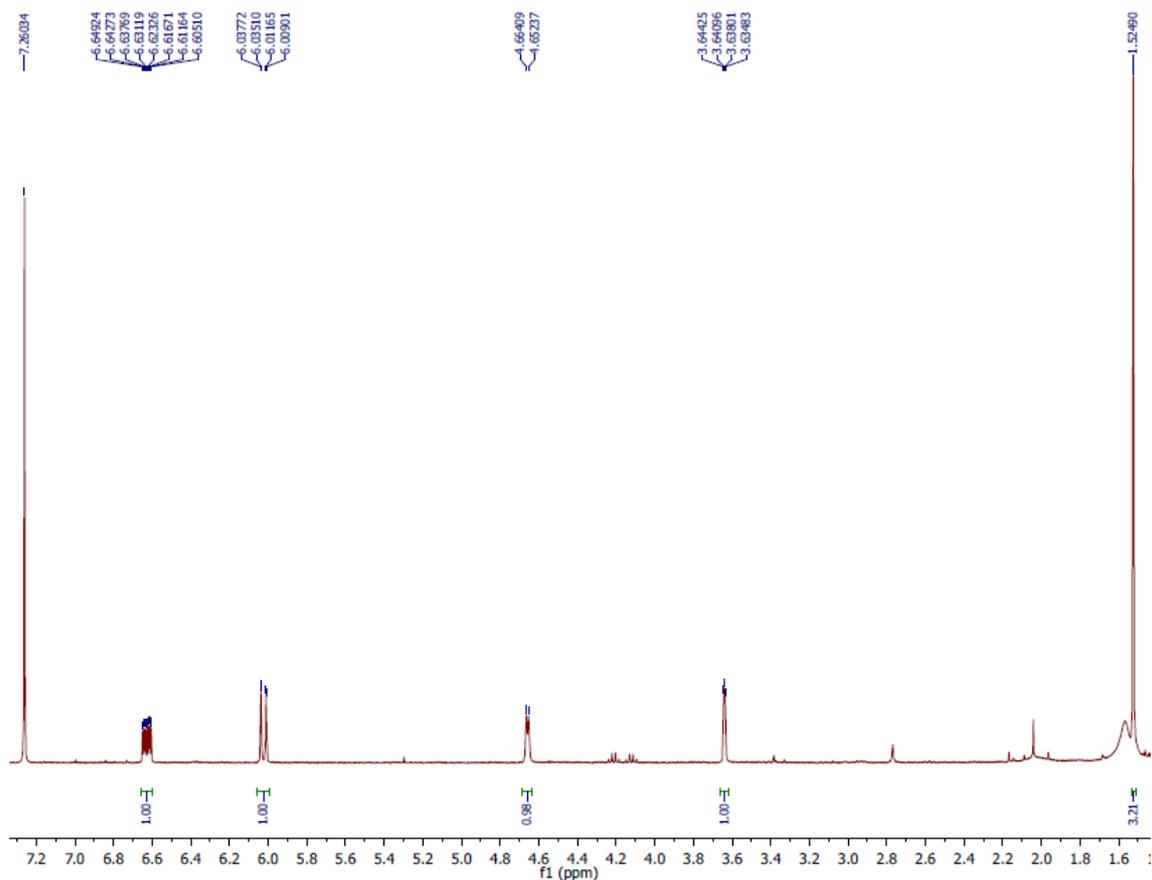
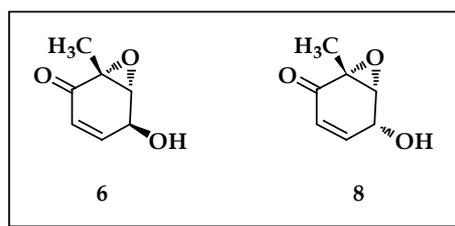


Figura 4: Espectro de RMN ^1H del compuesto **8**.

De modo de confirmar la inversión del centro estereogénico se comparan los experimentos de espectroscopía de correlación homonuclear (H-H) (COSY) de los epímeros **6** y **8** (figuras 5 y 6):



Esquema 12: Estructura de los epímeros **6** y **8**.

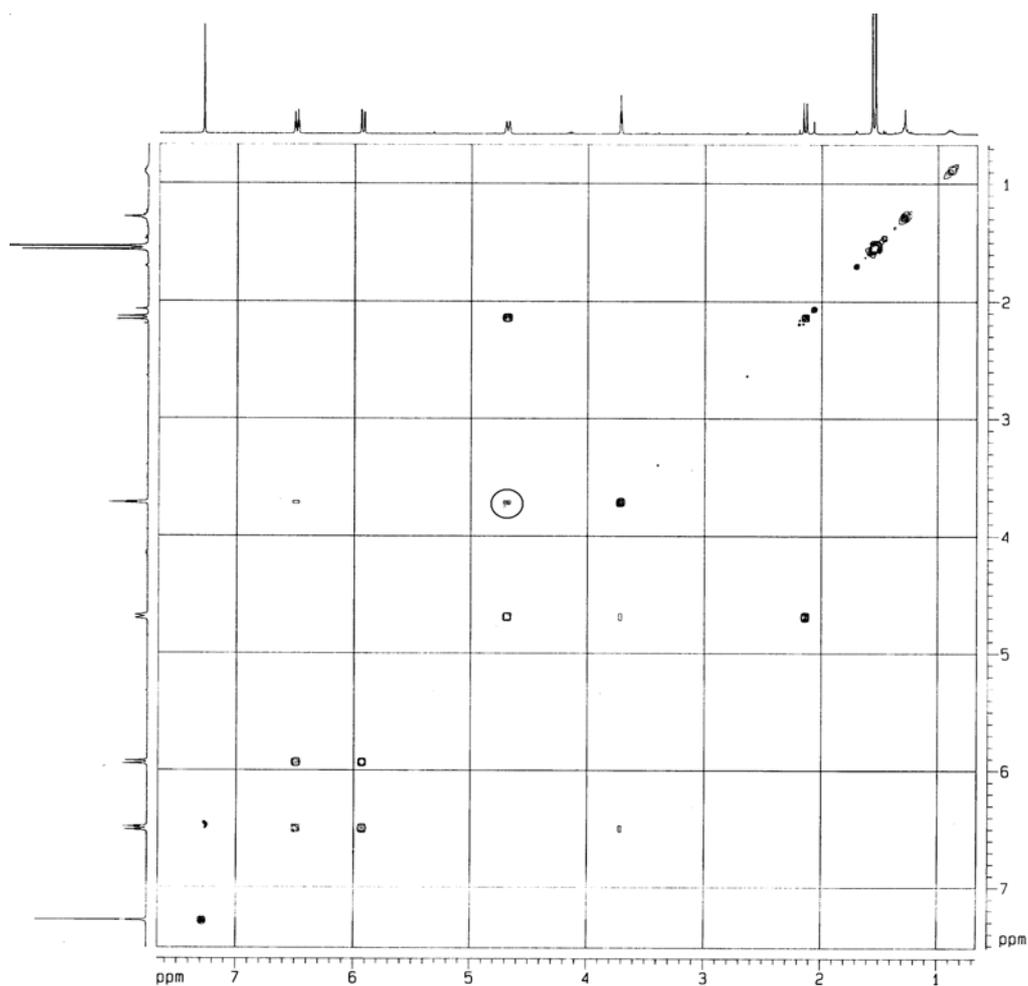


Figura 5: Espectro de COSY del compuesto 6.

Como puede observarse, en el compuesto 6 el protón geminal al alcohol y el protón geminal al epóxido presentan acoplamiento entre ellos (figura 5) mientras que en el compuesto 8 no lo hacen (figura 6).

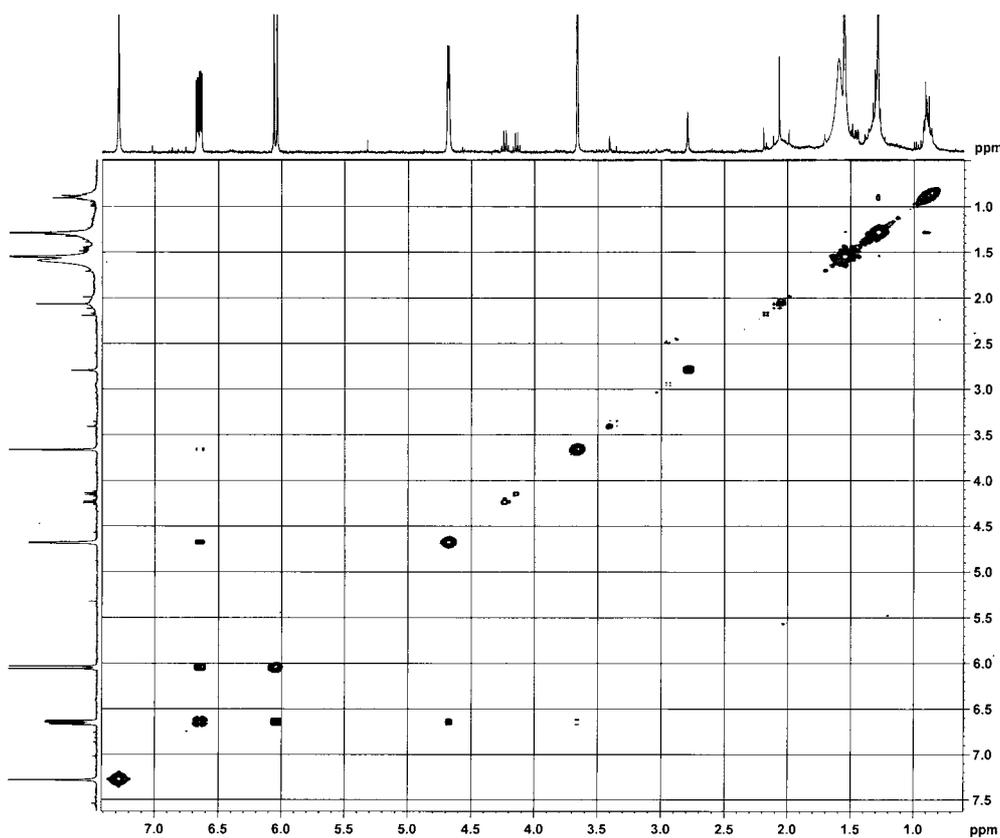
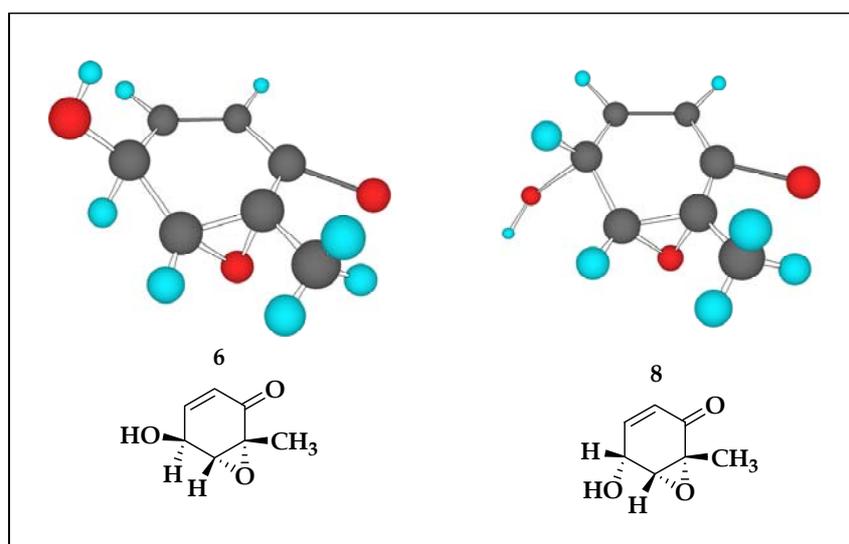


Figura 6: Espectro de COSY del compuesto 8.

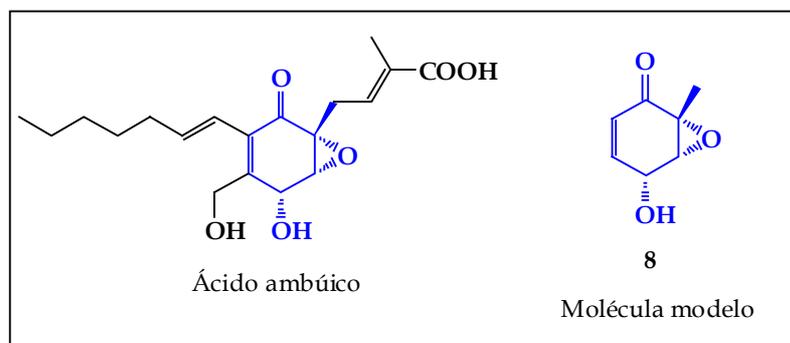
En el esquema 13 se pueden apreciar los modelos en 3D de los epímeros 6 y 8.



Esquema 13: Modelos de bolas y varillas de los compuestos 6 y 8.

Como puede observarse en el esquema 14, la epoxienona 8 presenta la funcionalización y el patrón estructural del núcleo del ácido ambúico. Es así que 8 constituye una

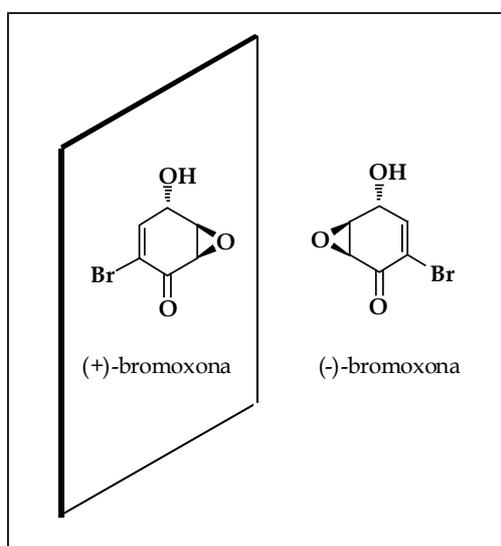
molécula modelo del mencionado producto natural, confirmando que la metodología propuesta para la síntesis enantioselectiva de epoxienonas quirales a partir de *cis*-ciclohexadienodiolos es válida.⁹⁹ Con la preparación de las moléculas **6** y **8** se alcanza uno de los objetivos específicos generando los núcleos A y D de epoxienonas (ver capítulo de objetivos y metodología).



Esquema 14: Relación estructural entre ácido ambúico y molécula modelo.

2. Aproximación a la síntesis de (+) y (-)-bromoxona

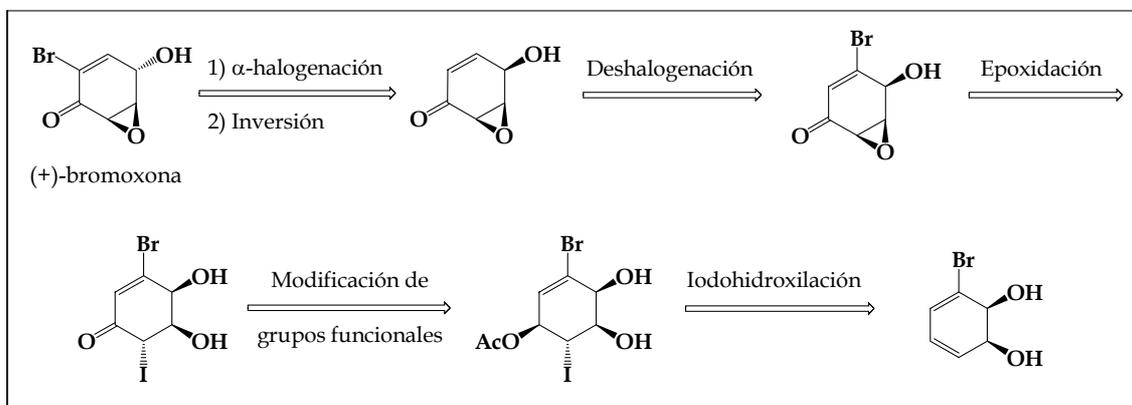
Como parte del trabajo de diseño de metodologías para la síntesis de los núcleos de epoxienonas se plantea la síntesis total de algunos compuestos naturales relacionados. El compuesto natural (+)-bromoxona y su enantiómero (-)-bromoxona (esquema 15) constituyen objetivos sintéticos sumamente atractivos, ya que presentan un núcleo de ciclohexenona altamente funcionalizado, con tres centros quirales, y un halógeno en la posición α de una enona. (+) y (-)-bromoxona corresponden a los núcleos de epoxienona A y B respectivamente (ver capítulo de objetivos y metodología).



Esquema 15: Estructura de (+) y (-)-bromoxona.

2.1 Primera ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona.

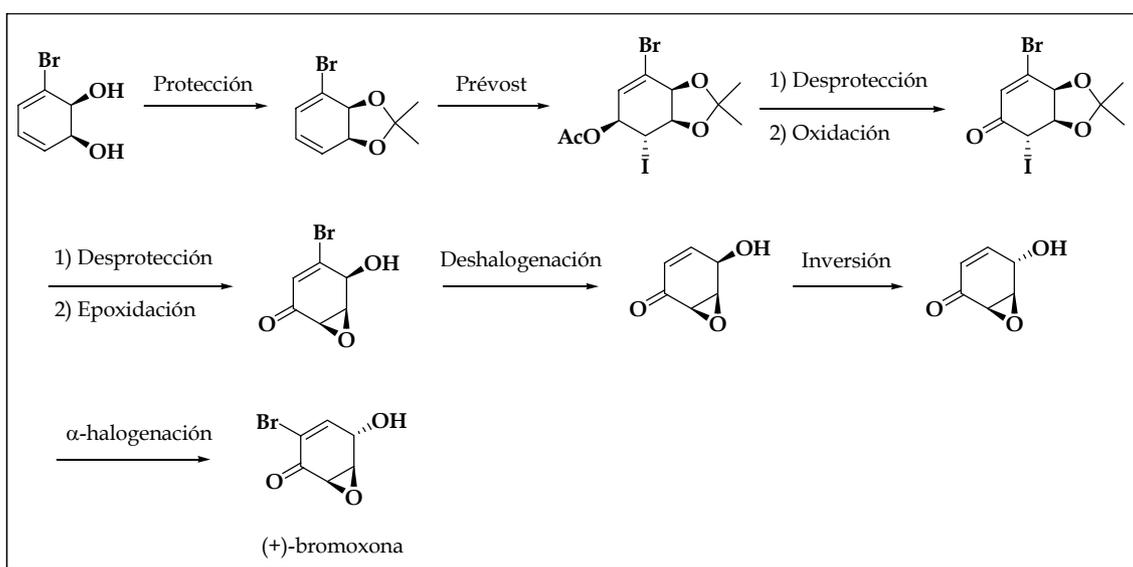
El análisis retrosintético de (+)-bromoxona se detalla en el esquema 16.



Esquema 16: Análisis retrosintético para la síntesis de (+)-bromoxona.

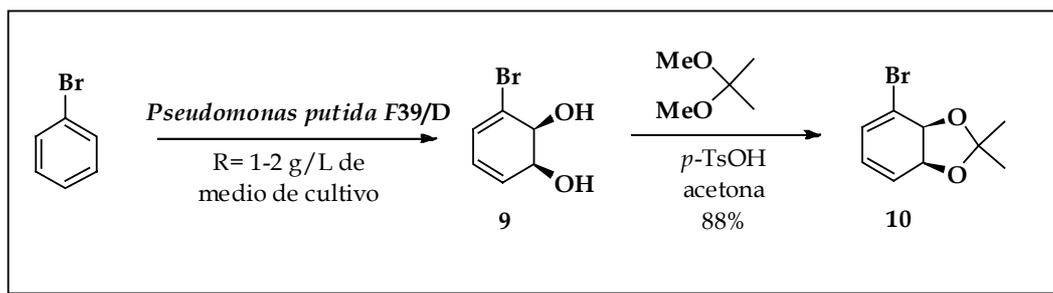
La primera desconexión se realiza a través de la α -halogenación del sistema enona. La inversión de la configuración del carbono 4 puede realizarse mediante la metodología de Mitsunobu. La desconexión del grupo halógeno sobre el carbono 3 de la epoxienona se planea mediante condiciones clásicas de deshalogenación. El cierre del anillo oxiránico se planea mediante un ataque nucleofílico en una iodohidrina. Dicho intermedio puede generarse a partir de la desprotección y posterior oxidación de la iodohidrina intermedia, la cual puede obtenerse mediante iodohidroxilación del *cis*-3-bromociclohexadienodiol en las condiciones de Prévost.²³⁻²⁵

La estrategia sintética se detalla en el esquema 17.

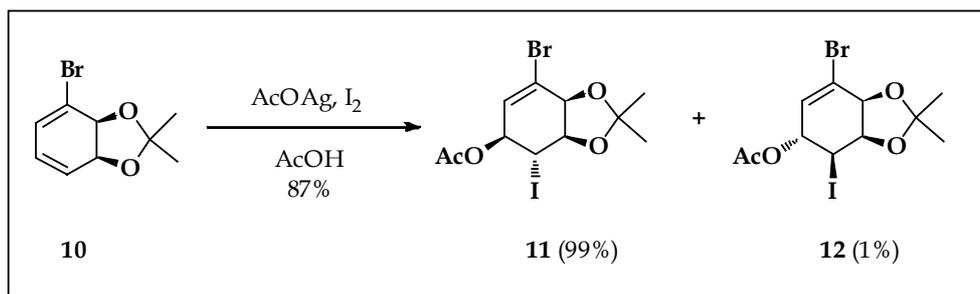


Esquema 17: Primera aproximación para la síntesis de (+)-bromoxona.

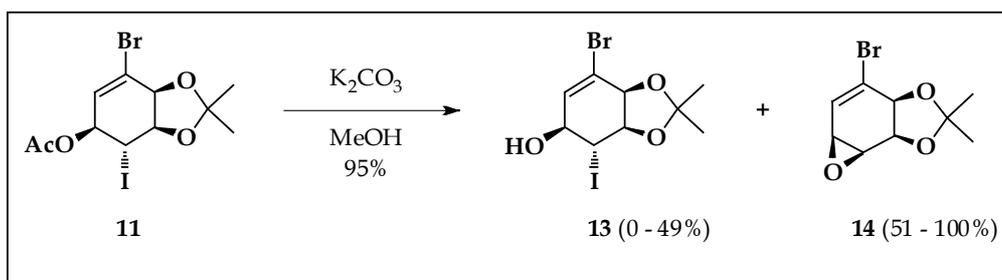
El material de partida es el *cis*-ciclohexadienodiol **9** derivado de la biotransformación con *Pseudomonas putida* F39/D de bromobenceno. Este diol se obtiene con un rendimiento de 1 a 2 g por litro de medio de cultivo con un exceso enantiomérico (ee) mayor al 99%.⁸ El diol obtenido se protege con dimetoxipropano en presencia de ácido *p*-toluenosulfónico para dar el compuesto **10** con un rendimiento de 88% (esquema 18).

Esquema 18: Obtención de **10** a partir de bromobenceno.

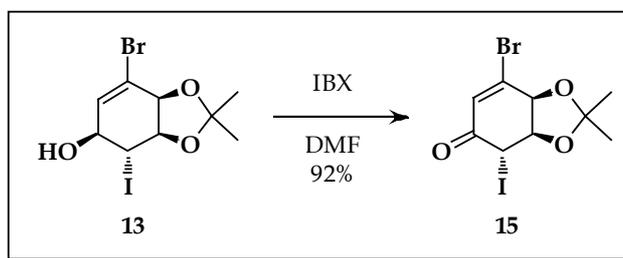
La síntesis de la iodohidrina **11** se lleva a cabo mediante una reacción de Prévost sobre el intermedio **10** (esquema 19). En el caso del compuesto **10** la adición de iodonio se produce selectivamente sobre la cara α de la olefina menos sustituida del sistema dieno. Posteriormente el acetato ataca en la posición alílica para dar la iodohidrina correspondiente. La reacción transcurre con un rendimiento de 87% observándose una estereoselectividad entre los isómeros **11** y **12** de 99:1 respectivamente, en concordancia con lo indicado en trabajos previos.²¹

Esquema 19: Reacción de Prévost sobre **10**.

Para la remoción del grupo acetato de **11** utilizamos K_2CO_3 en MeOH (esquema 20). La reacción transcurre con una conversión de 95% obteniéndose **13** y el epóxido **14**. Los rendimientos obtenidos son variables, siendo el mejor resultado alcanzado para la obtención del compuesto desprotegido un rendimiento del 49%.

Esquema 20: Desprotección del compuesto **11**.

El compuesto **13** se oxida sin inconvenientes a la enona correspondiente utilizando ácido *o*-iodoxibenzoico (IBX) con un rendimiento de 92% (esquema 21).



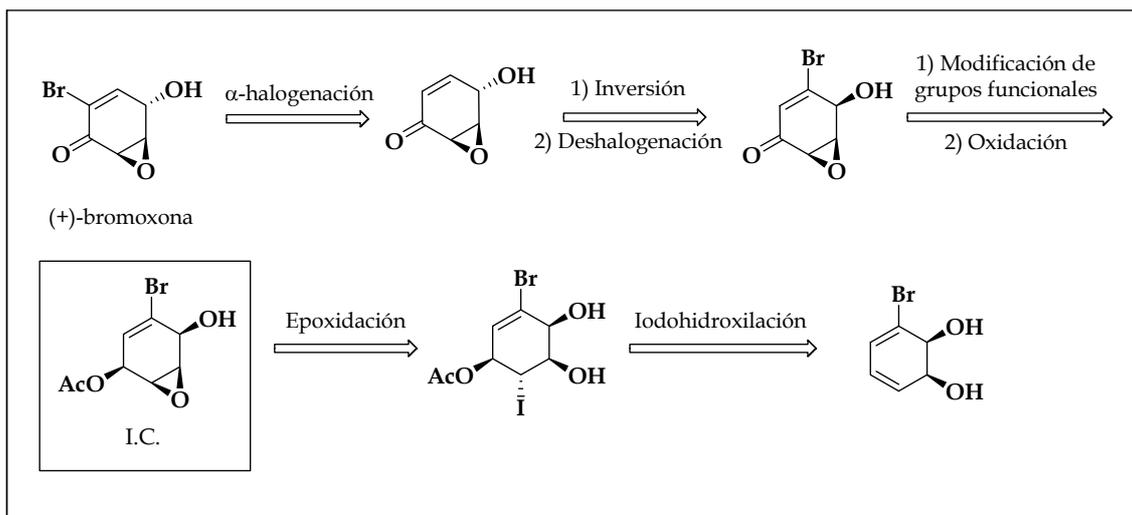
Esquema 21: Oxidación del compuesto **13**.

Sin embargo, considerando las dificultades encontradas para la preparación del compuesto **13** en condiciones de reacción reproducibles, descartamos esta ruta sintética.

2.2 Segunda ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona

2.2.1 Preparación del epóxido intermedio común.

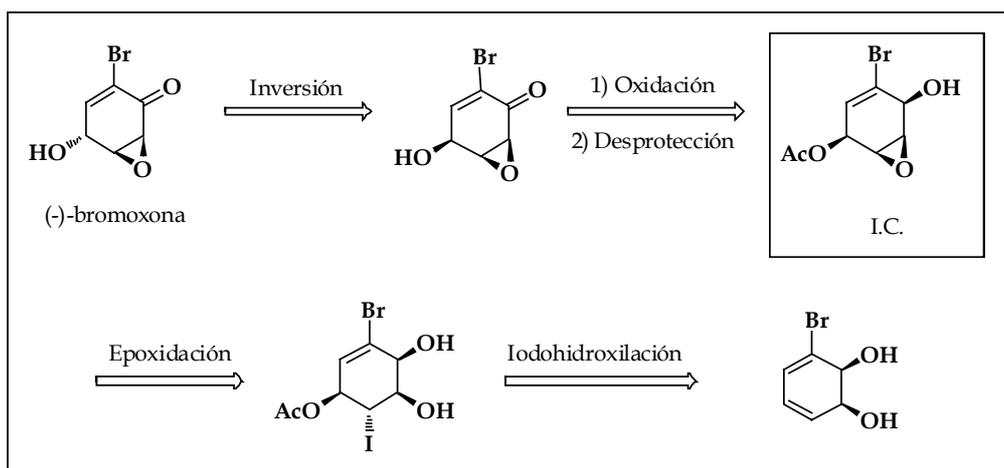
Teniendo en cuenta los resultados anteriores se plantea la síntesis de (+)-bromoxona según la nueva secuencia retrosintética que se detalla a continuación (esquema 22):



Esquema 22: Análisis retrosintético para la síntesis de (+)-bromoxona.

La primera desconexión se puede realizar a nivel del halógeno en posición α al grupo carbonilo del núcleo de epoxienona. La inversión de la configuración del carbono 4 se obtiene mediante la metodología de Mitsunobu. La desconexión del halógeno en posición β de la enona se planea mediante métodos habituales deshalogenación. Dicha enona se obtiene mediante pasos que incluyen oxidación, protección y desprotección del núcleo de epoxienona. El cierre del anillo oxiránico se planea mediante un ataque nucleofílico intramolecular de la iodohidrina acetilada, la cual se sintetiza a partir del *cis*-3-bromociclohexadienodiol.

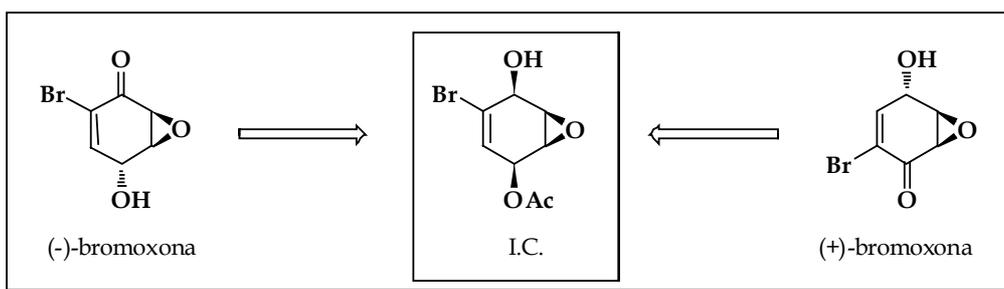
Es de destacar que también es posible plantear una secuencia retrosintética para (-)-bromoxona a partir de un intermedio común (I.C.) según se muestra en el esquema 23.



Esquema 23: Análisis retrosintético para la síntesis de (-)-bromoxona.

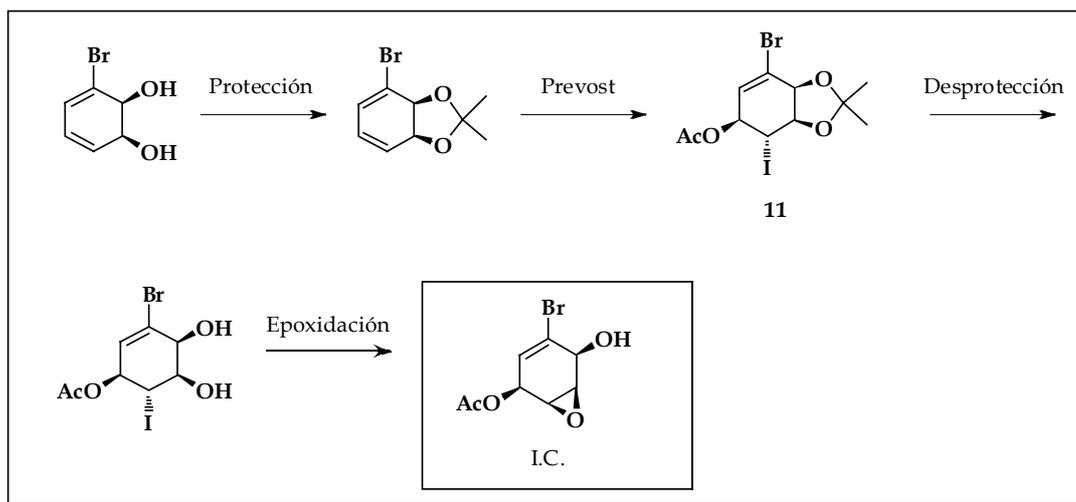
Este análisis retrosintético comienza con la inversión de la configuración del carbono 4 mediante la metodología de Mitsunobu. La oxidación y desprotección del núcleo de epoxienona se planean mediante técnicas habituales. El cierre del anillo oxiránico se realiza a través de un ataque nucleofílico intramolecular de la iodohidrina que se puede obtener a partir del *cis*-3-bromociclohexadienodiol.

Es posible, por lo tanto, plantear una síntesis enantiodivergente de (+) y (-)-bromoxona a partir del intermedio común obtenido a partir del *cis*-3-bromociclohexadienodiol (esquema 24).



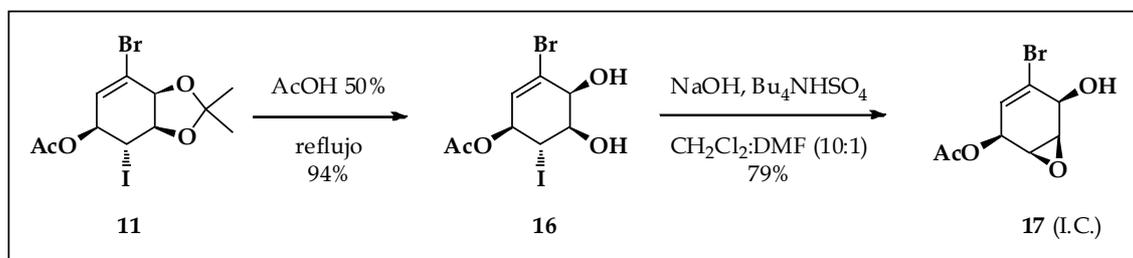
Esquema 24: Intermedio común para la preparación de (+) y (-)-bromoxona.

La estrategia planteada para la obtención del epóxido I.C. a partir del *cis*-3-bromociclohexadienodiol se muestra a continuación (esquema 25).



Esquema 25: Síntesis del intermedio común (I.C.) a partir del *cis*-3-bromociclohexadienodiol.

El material de partida para la síntesis del epóxido I.C. es la iodohidrina **11** previamente obtenida (esquema 19). El grupo isopropilideno se remueve empleando ácido acético 50% obteniéndose **16** con un rendimiento de 94%. El cierre del anillo oxiránico se lleva a cabo utilizando hidróxido de sodio, en presencia de sulfato ácido de tetrabutilamonio como catalizador de transferencia de fase. El ataque nucleofílico intramolecular da lugar al epóxido **17** (I.C.) con un 79% de rendimiento (esquema 26).



Esquema 26: Desprotección de la halohidrina **11** y epoxidación de **16**.

De esta manera se alcanza la síntesis enantioselectiva del intermedio común **17** en 4 pasos a partir del *cis*-3-bromociclohexadienodiol con un rendimiento global de 57%.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **17** (figura 7), se puede observar la señal correspondiente al protón olefínico en 5.89 ppm, así como la señal en 3.65 ppm correspondiente a los protones del anillo oxiránico. La señal en 2.13 ppm confirma la presencia del grupo acetato.

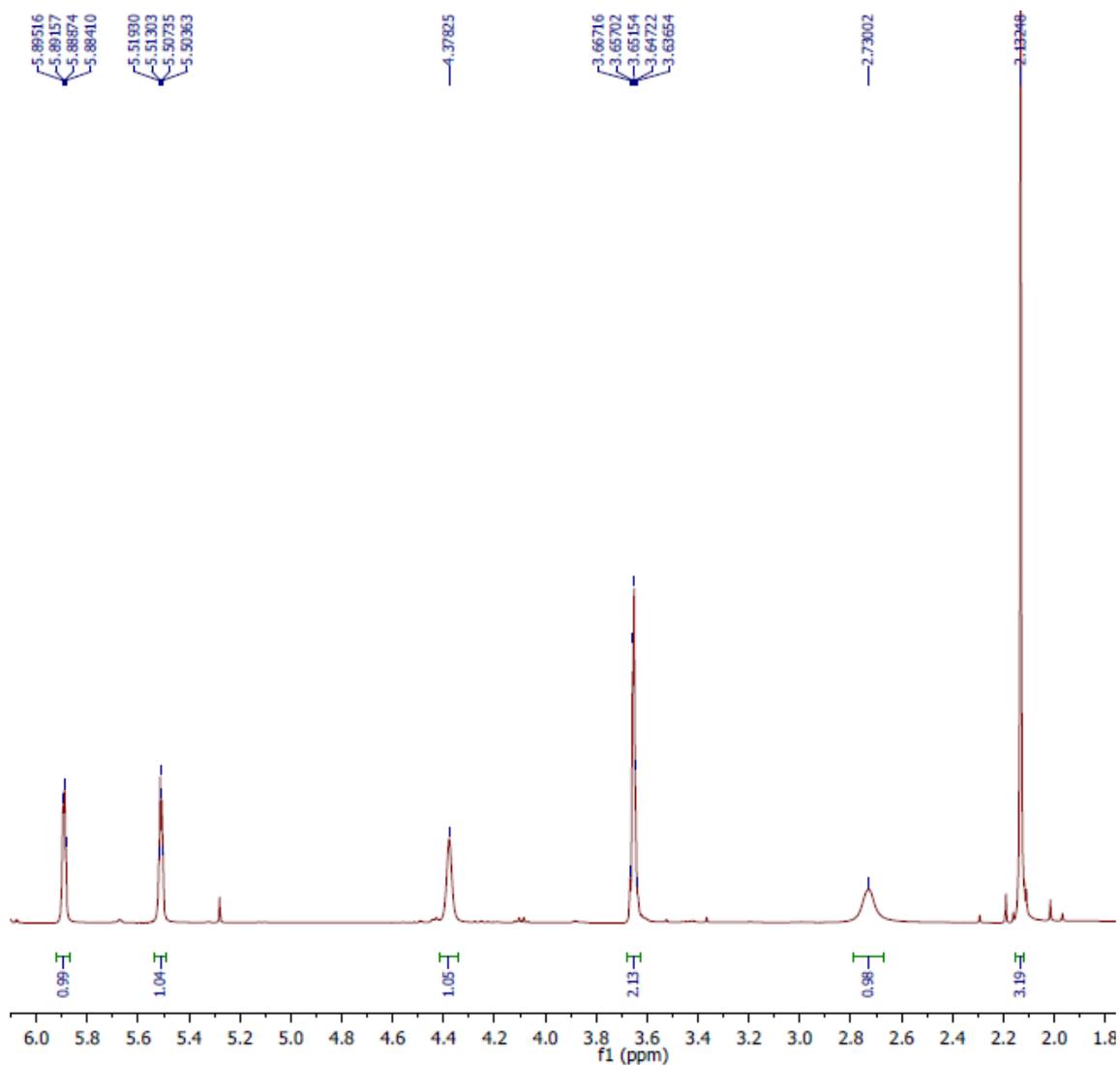


Figura 7: Espectro ampliado de RMN ^1H del compuesto **17**.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **17** (figura 8), se observan las señales en 170.5 y 20.9 ppm correspondientes al grupo acetato. En 125.9 ppm se observan las dos señales correspondientes a los carbonos olefínicos. Las señales en 54.0 y 52.4 corresponden a los carbonos del anillo oxiránico.

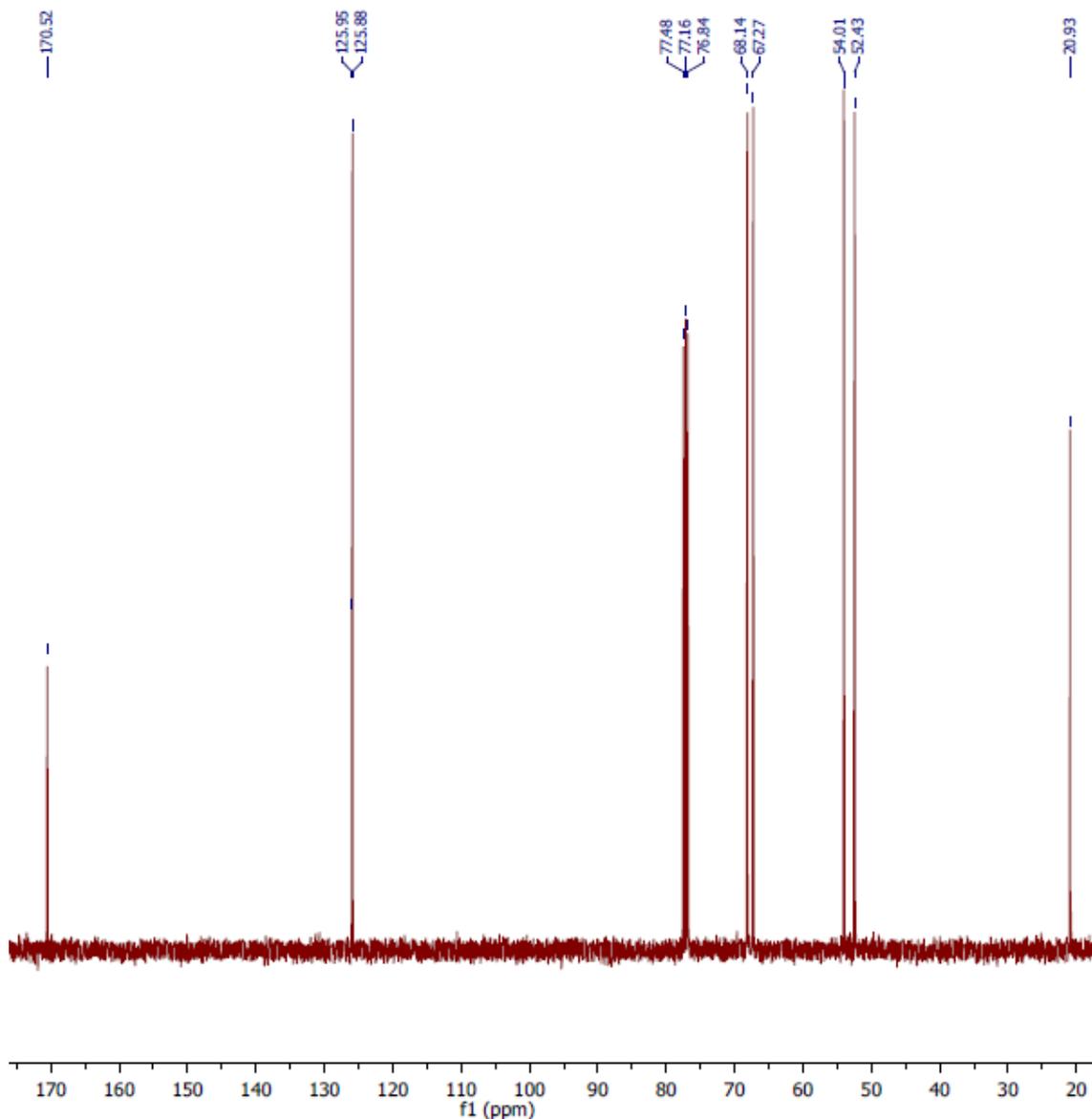
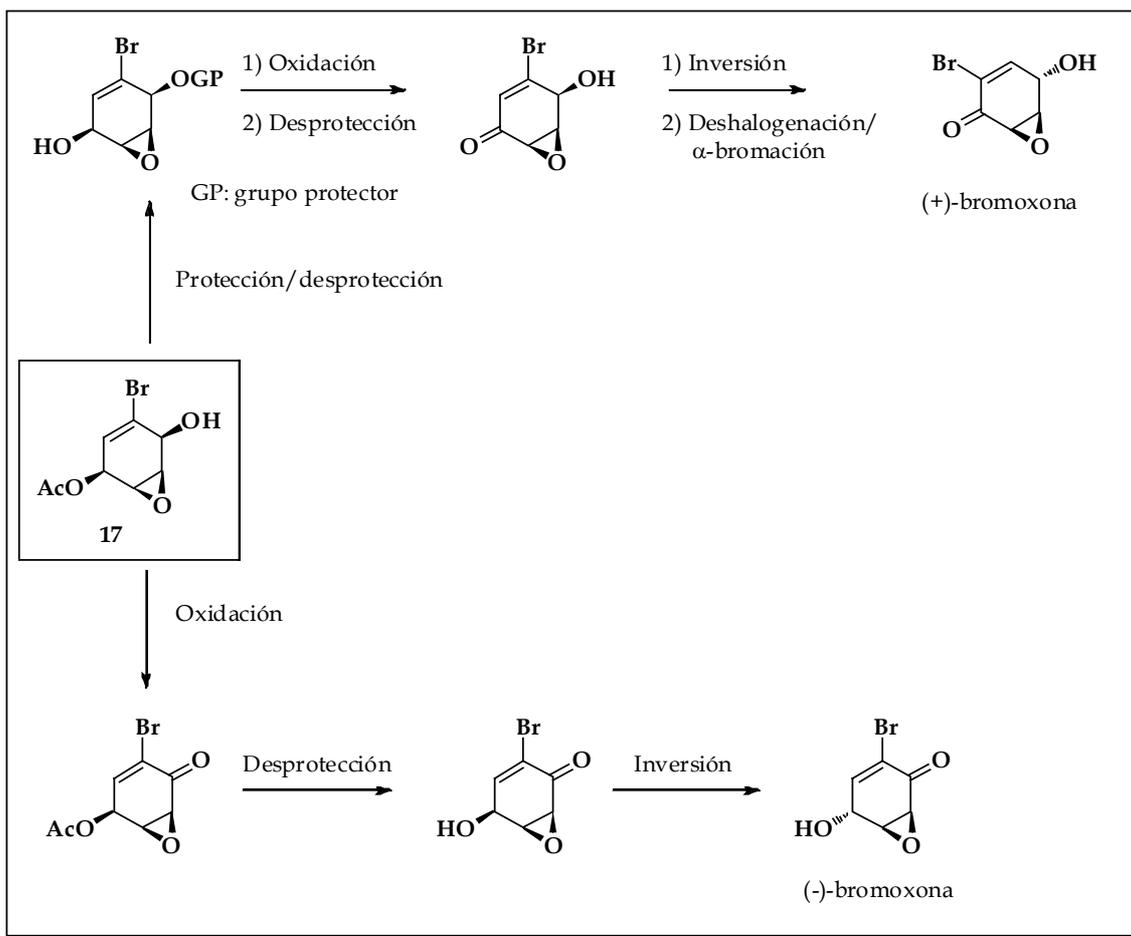


Figura 8: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **17**.

Con el epóxido **17** en nuestras manos planteamos una ruta enantiodivergente para la síntesis de (+) y (-)-bromoxona tal como se indica en el esquema 27.



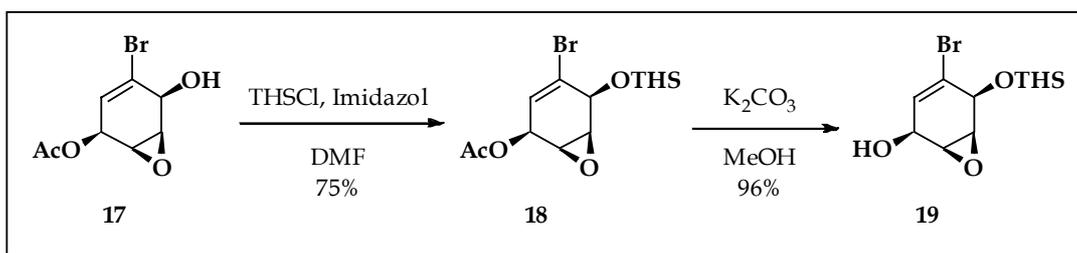
Esquema 27: Estrategia enantiodivergente para la síntesis de (+) y (-)-bromoxona.

Para la síntesis del compuesto natural (+)-bromoxona la estrategia propuesta comienza con la protección y desprotección selectiva de los grupos hidroxilo. La posterior oxidación del hidroxilo libre dará lugar al núcleo de epoxienona halogenada en posición β de la enona. La remoción del grupo protector presente en el hidroxilo se llevará a cabo por métodos tradicionales. La inversión de la configuración del carbono 4 mediante la metodología de Mitsunobu dará lugar a un núcleo con el patrón estructural y la funcionalización que presenta (+)-bromoxona. Para alcanzar su síntesis total es necesaria la remoción del halógeno en posición β y la subsiguiente bromación en posición α de la enona.

Para la síntesis de (-)-bromoxona a partir del epóxido **17** el primer paso consiste en la oxidación del hidroxilo libre para obtener una enona halogenada en posición α . La inversión de la configuración del carbono 4 mediante la metodología de Mitsunobu y posterior hidrólisis del éster correspondiente dará lugar a (-)-bromoxona enantioselectivamente.

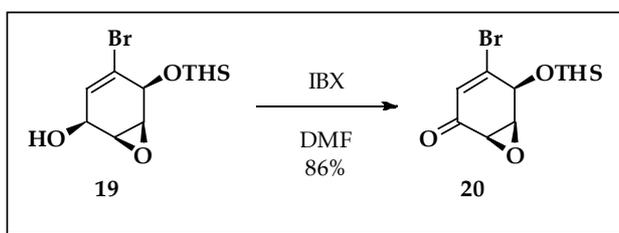
2.2.2 Segunda ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona

Para la síntesis de (+)-bromoxona se protege el hidroxilo libre de **17** de modo diferencial respecto al otro grupo que se encuentra acetilado. El grupo protector del tipo sililéter permite remover el acetato selectivamente. Para ello utilizamos clorodimetiltexilsilano en dimetilformamida (DMF) con imidazol como base. La reacción de protección transcurre con un rendimiento de 75% obteniendo así **18**. La remoción del grupo acetato se lleva a cabo con K_2CO_3 en MeOH dando el epóxido **19** con un rendimiento de 96% (esquema 28).



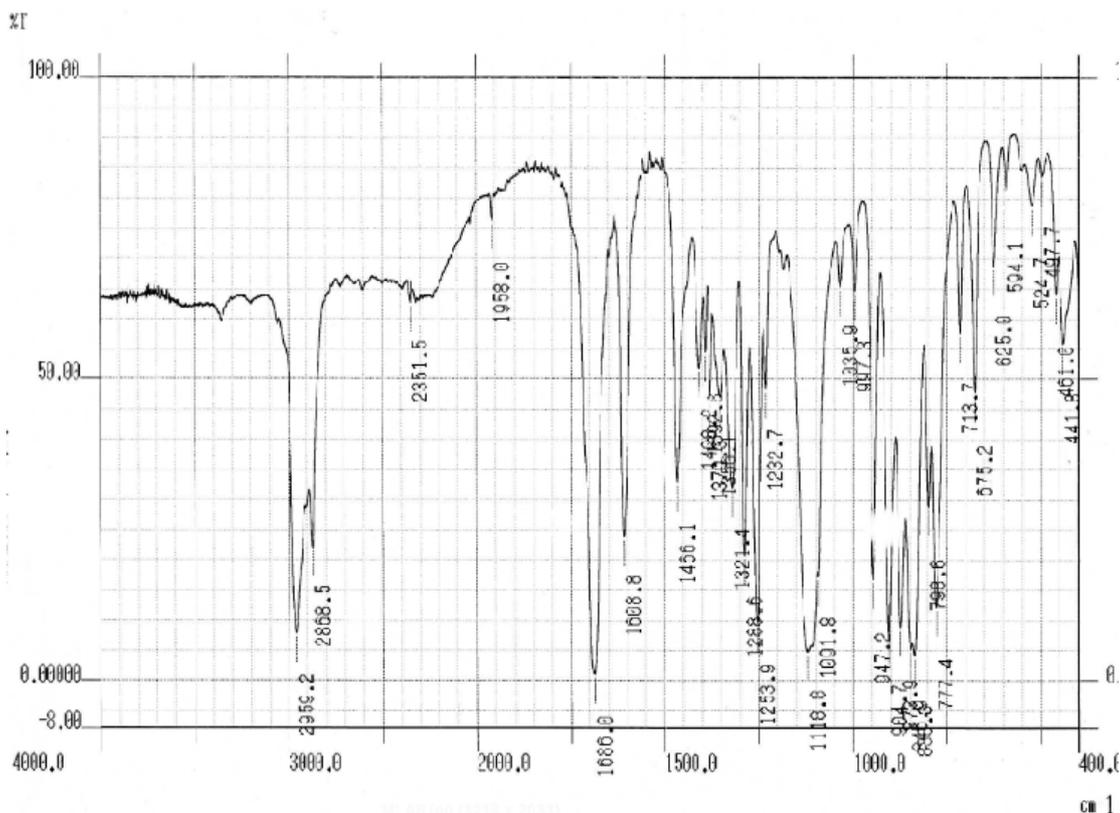
Esquema 28: Protección y desprotección selectiva de **17**.

La oxidación de **19** se lleva a cabo con ácido *o*-iodoxibenzoico (IBX)¹⁰⁰ en DMF para dar el compuesto **20** con 86% de rendimiento (esquema 29).



Esquema 29: Oxidación del compuesto **19**.

Como puede observarse en el espectro IR del compuesto **20** (figura 9), la señal intensa en 1686 cm^{-1} corresponde al carbonilo del sistema enona así como la señal en 1609 cm^{-1} corresponde a la olefina conjugada con el grupo carbonilo. Asimismo se observa la señal correspondiente al grupo epóxido en 1254 cm^{-1} .

Figura 9: Espectro IR del compuesto **20**.

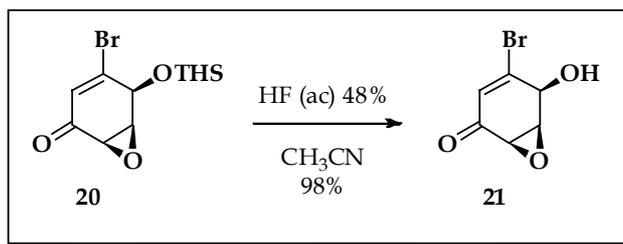
Las condiciones ensayadas para la desprotección del compuesto **20** se indican en la tabla 4.

Entrada	Reactivos y condiciones	Productos
1	HF-Py, THF, 0°C a T. A., 24 hs	21 (31%)
2	TBAF, THF, -20 °C, 30 min.	Descomposición
3	HF(ac) 48%, CH ₃ CN, T. A., 12 hs.	21 (98%)

Tabla 4: Condiciones ensayadas para la desprotección del compuesto **20**.

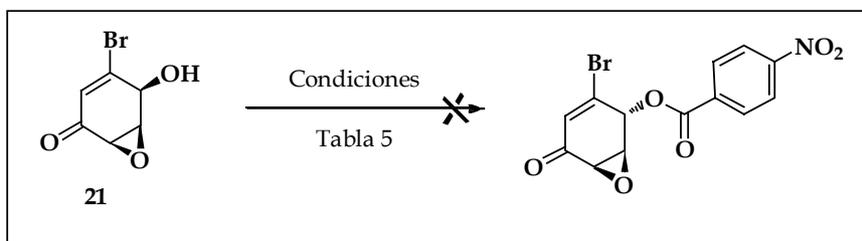
Inicialmente se ensayan las condiciones utilizadas habitualmente en nuestro laboratorio para la remoción de este tipo de grupo protector. Utilizando el complejo ácido fluorhídrico-piridina se obtiene el producto **21** con un rendimiento del 31% (entrada 1). En un intento de mejorar este rendimiento se emplea fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF) en THF a bajas temperaturas observándose solamente productos de descomposición. Las condiciones reportadas por Newton,¹⁰¹ ácido

fluorhídrico acuoso (48%) en acetonitrilo, permiten obtener **21** con un rendimiento de 98% (esquema 30).



Esquema 30: Desprotección del compuesto **20**.

La síntesis de (+)-bromoxona implica la inversión de la configuración del carbono 4. Para ello se utiliza la metodología de Mitsunobu según las condiciones indicadas en la tabla 5.



Esquema 31: Reacción de Mitsunobu sobre el compuesto **18**.

Los resultados obtenidos se detallan en la tabla 5:

Entrada	Reactivos*	Disolventes	Temperatura, tiempo	Productos
1	PPh ₃ , ác. <i>p</i> -NB, DEAD	benceno	Reflujo, 1h	Descomposición
2	PPh ₃ , ác. <i>p</i> -NB, DEAD	benceno	T. A., 1h	Recuperación MP
3	PPh ₃ , DEAD, ác. <i>p</i> -NB	benceno	50 °C, 1h	Recuperación MP
4	TBP, ác. <i>p</i> -NB, DEAD	benceno	T. A., 1h	Recuperación MP
5	TBP, ác. <i>p</i> -NB, DEAD	THF	Reflujo, 24h	Recuperación MP

MP: material de partida

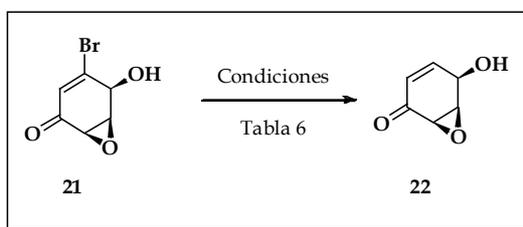
*Reactivos escritos en el orden en que son agregados

Tabla 5: Condiciones de Mitsunobu ensayadas para la inversión de **21**.

En ninguna de las condiciones ensayadas se obtiene el producto de interés.

Considerando la imposibilidad de llevar a cabo esta reacción y teniendo en cuenta la ruta sintética descrita en el esquema 27, se propone variar el orden original y realizar la deshalogenación previo a la reacción de inversión. Esto permitirá determinar si la presencia del halógeno contiguo al grupo hidroxilo interfiere en la reacción de Mitsunobu.

La remoción del halógeno se lleva a cabo en presencia de un iniciador radicalario (peróxido de dibenzoilo, 1,1-azobisciclohexanocarbonitrilo (ABCC) o azobisisobutironitrilo (AIBN)) e hidruro de tributilestaño como agente reductor. La reacción se lleva a cabo a reflujo en un disolvente apropiado según las condiciones que se detallan en la tabla 6.



Esquema 32: Deshalogenación del compuesto **21**.

Entrada	Disolvente	Iniciador	Eq iniciador	Temp	Tiempo	Producto
1	THF	AIBN	1*	Reflujo	8 hs	22 (15%)
2	THF	ABCC	1*	Reflujo	8 hs	22 (14-31%)
3	THF	peróxido de dibenzoilo	1	Reflujo	5 hs	22 (9%) [‡]
4	THF	ABCC	1	Reflujo	8 hs	22 (56%)
5	THF	ABCC/luz	3 †	Reflujo	48 hs	22 (31%)
6	Tolueno	ABCC	0.3	Reflujo	2 hs	22 (16%)
7	Benceno	ABCC	1	Reflujo	8 hs	22 (15%)
8	Dioxano	ABCC	1	Reflujo	7 hs	22 (30-50%) [‡]

* sucesivos agregados de iniciador hasta alcanzar 1 eq.

† sucesivos agregados de iniciador hasta alcanzar 3 eq.

‡ con recuperación de material de partida.

Tabla 6: Condiciones ensayadas para la deshalogenación del compuesto **21**.

Las reacciones con ABCC presentan en general mejores resultados que aquellas en las que se emplea otro iniciador radicalario (entradas 1, 2 y 3). Al mismo tiempo aquellas llevadas a cabo con ABCC en THF presentan mejores rendimientos que en otros disolventes (entradas 4, 6, 7 y 8). En lo referente a la cantidad de equivalentes de iniciador necesarios para que transcurra la reacción con buenos resultados, se determina que se requiere de un equivalente al inicio de la misma, ya que no se logran los mismos resultados con agregados sucesivos en el transcurso de la reacción (entradas 2 y 4). El empleo de luz tampoco mejora los rendimientos de obtención de **22** (entrada 5). Por lo tanto las condiciones optimizadas para la síntesis del compuesto **22** son las correspondientes a la entrada 4 de la tabla 6, que permiten obtenerlo con 56% de rendimiento.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **22** (figura 10), se pueden observar las señales correspondientes a la olefina del sistema enona a 6.52 y 5.90 ppm, así como las señales en 3.86 y 3.48 ppm correspondientes a los protones del anillo oxiránico.¹⁰²

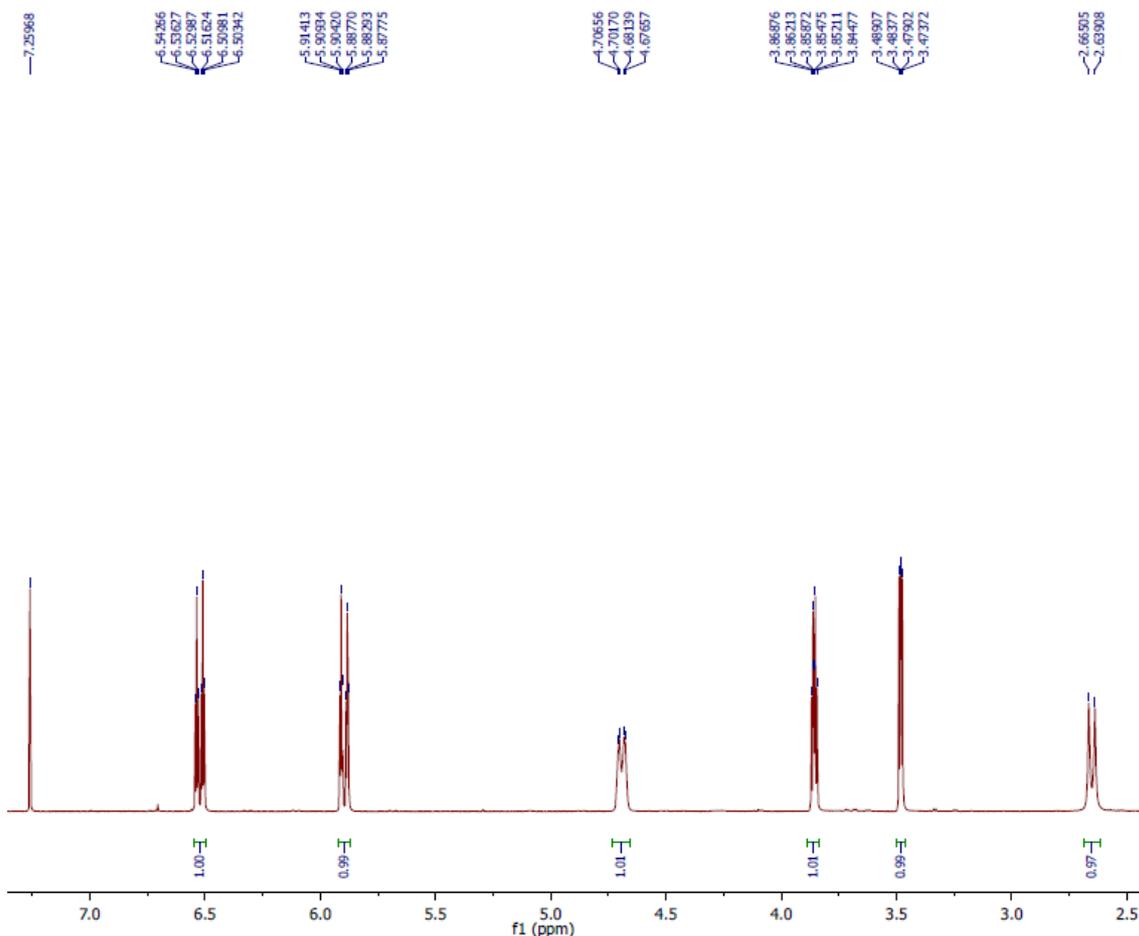


Figura 10: Espectro de RMN ^1H del compuesto **22**.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **22** (figura 11), se aprecian las señales en 193.2, 145.6 y 125.6 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona, así como las señales en 54.6 y 53.8 ppm de los carbonos del epóxido.

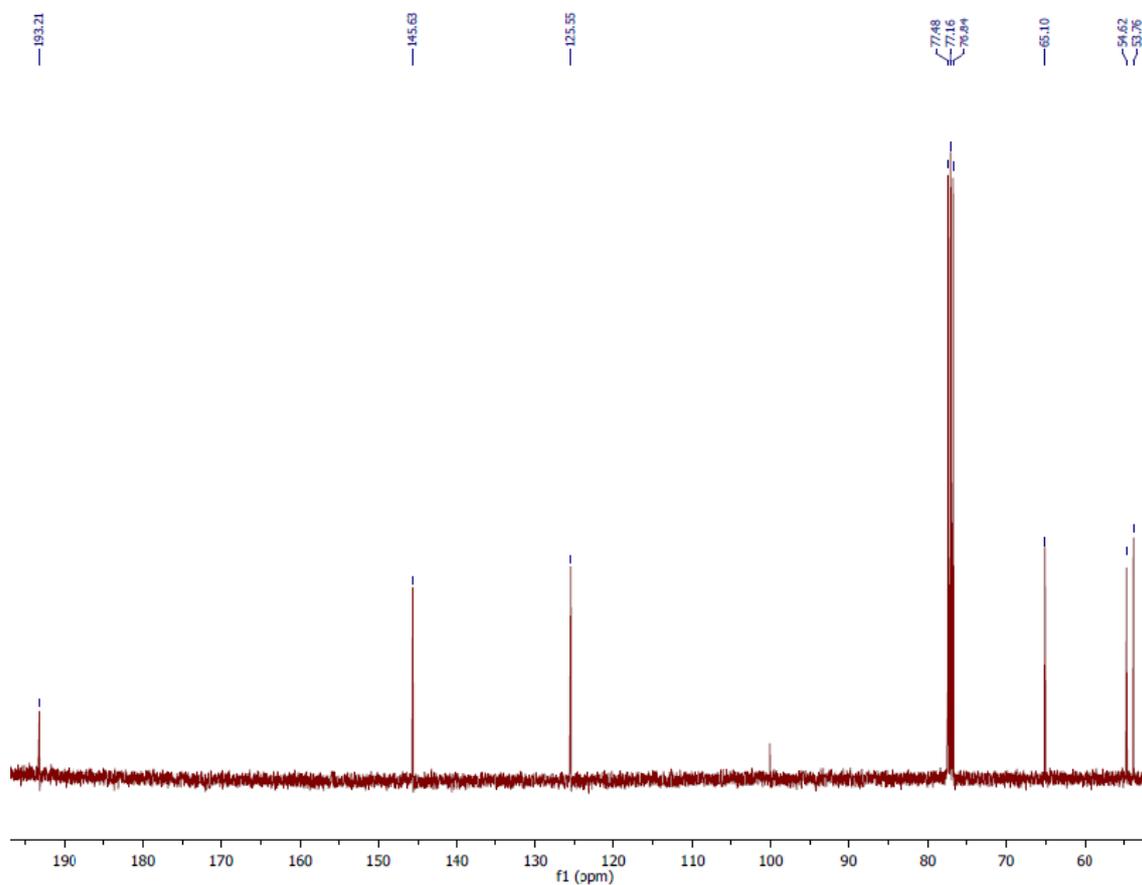
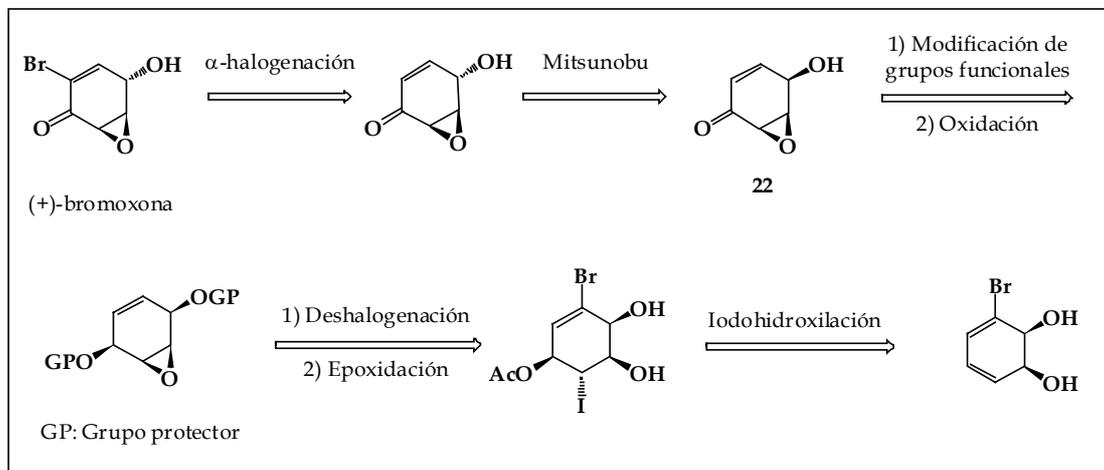


Figura 11: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **22**.

Hasta aquí el compuesto **22** se obtiene en 5 pasos de reacción a partir del intermedio **17**, con un rendimiento global de 34%. Con el fin de aumentar la eficiencia para la obtención de **22** nos planteamos el diseño de una estrategia diferente.

2.3 Tercera ruta hacia la síntesis de (+)-bromoxona

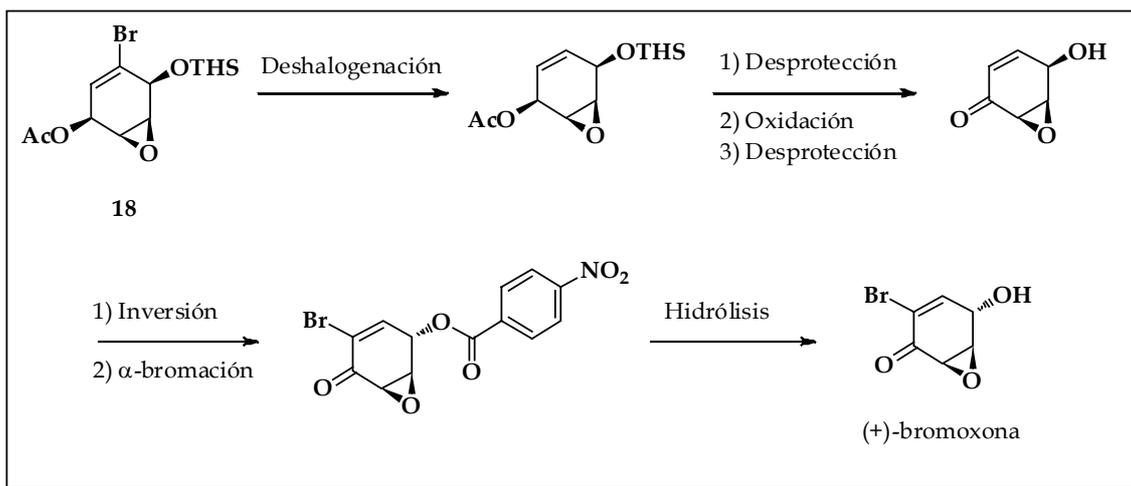
Para obtener el intermedio **22** de un modo más eficiente nos planteamos el siguiente esquema retrosintético:



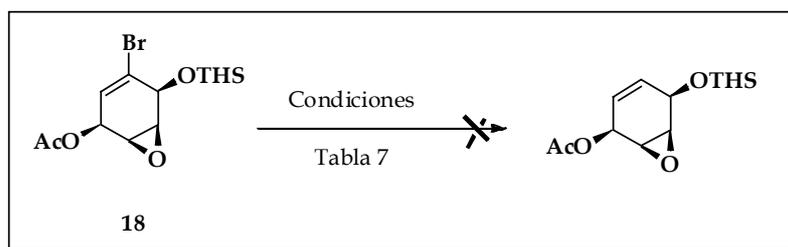
Esquema 33: Análisis retrosintético para la obtención de (+)-bromoxona.

Esta secuencia retrosintética comienza con la desconexión a nivel del grupo halógeno del núcleo de epoxienona. La inversión de la configuración en carbono 4 se planea a través del empleo de la metodología de Mitsunobu sobre el intermedio **22**. El núcleo **22** se puede obtener mediante modificación de grupos funcionales del epóxido intermedio y deshalogenación. El cierre del anillo oxiránico se planea mediante un ataque nucleofílico intramolecular de la iodohidrina sintetizada a partir del *cis*-3-bromociclohexadienodiol.

Tal como se indica en el esquema 34, se propone obtener el intermedio deshalogenado a partir del epóxido **18**. La posterior modificación de grupos funcionales e inversión de la configuración dará lugar al núcleo de (+)-bromoxona. La bromación en posición α de la enona permitirá obtener enantioselectivamente (+)-bromoxona.

Esquema 34: Síntesis de (+)-bromoxona a partir del compuesto **18**.

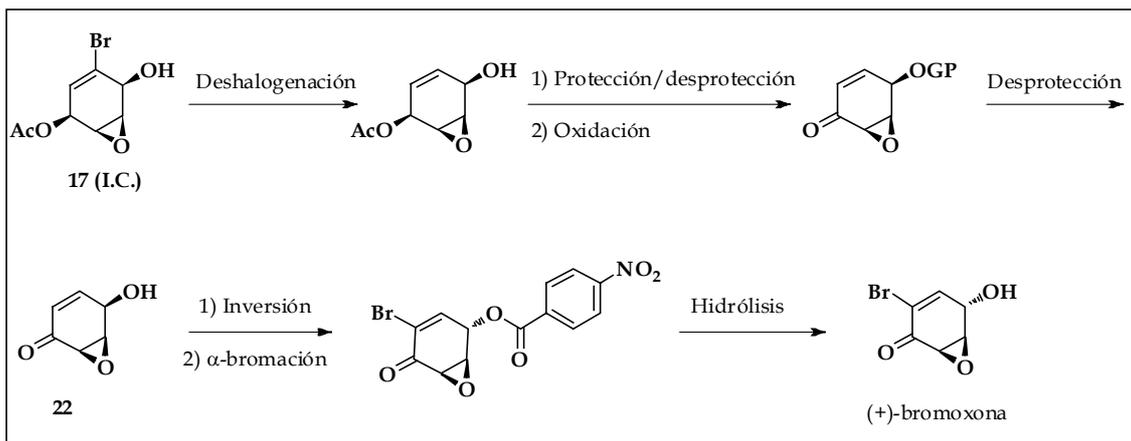
Para la remoción del halógeno se ensayaron condiciones radicalarias tradicionales. Para ello se utilizaron ABCC y AIBN como iniciadores radicalarios, hidruro de tributilestaño como agente reductor y THF como disolvente. En ninguno de los casos fue posible obtener el producto de interés recuperándose incambiado el material de partida (tabla 7).

Esquema 35: Reacción de deshalogenación sobre **18**.

Entrada	Reactivos y condiciones	Producto
1	ABCC, HSnBu ₃ , THF, reflujo, 24 hs	Recuperación MP
2	AIBN, HSnBu ₃ , THF, reflujo, 24 hs	Recuperación MP

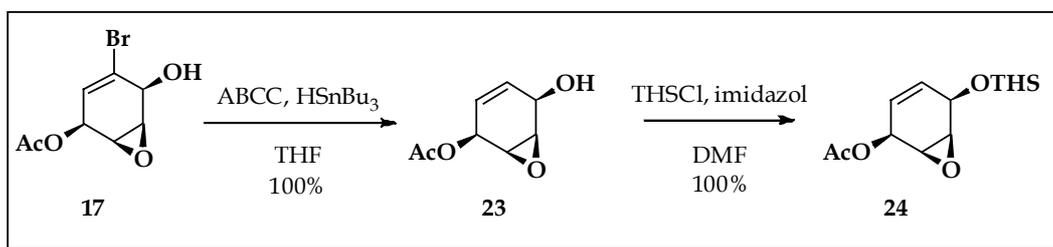
Tabla 7: Condiciones de deshalogenación ensayadas sobre **18**.

Ante la imposibilidad de continuar con esta ruta se considera una modificación que implica la deshalogenación del compuesto **17** (I.C.) y la posterior manipulación de grupos funcionales para obtener la epoxienona **22** (esquema 36). La posterior aplicación de la metodología de Mitsunobu sobre el compuesto **22** dará lugar a una epoxienona que presenta la funcionalización y el patrón estructural de (+)-bromoxona. La posterior hidrólisis del éster obtenido permitirá obtener (+)-bromoxona de un modo enantioselectivo.



Esquema 36: Estrategia sintética para la obtención de (+)-bromoxona.

La deshalogenación de **17** se lleva a cabo en condiciones radicalarias, utilizando ABCC como iniciador radicalario e hidruro de tributilestaño como agente reductor. La reacción transcurre con rendimiento cuantitativo. La posterior protección del hidroxilo libre con clorodimetiltexilsilano (THSCl) da lugar al intermedio **24** también cuantitativamente (esquema 37).



Esquema 37: Deshalogenación de **17** y su posterior protección como sililéter.

La remoción del grupo acetato se lleva a cabo con K_2CO_3 en MeOH para dar el compuesto **25** con 79% de rendimiento. Posteriormente la oxidación se realiza con ácido *o*-iodoxibenzoico (IBX) dando el núcleo de epoxienona **26** con 85% de rendimiento (esquema 38).

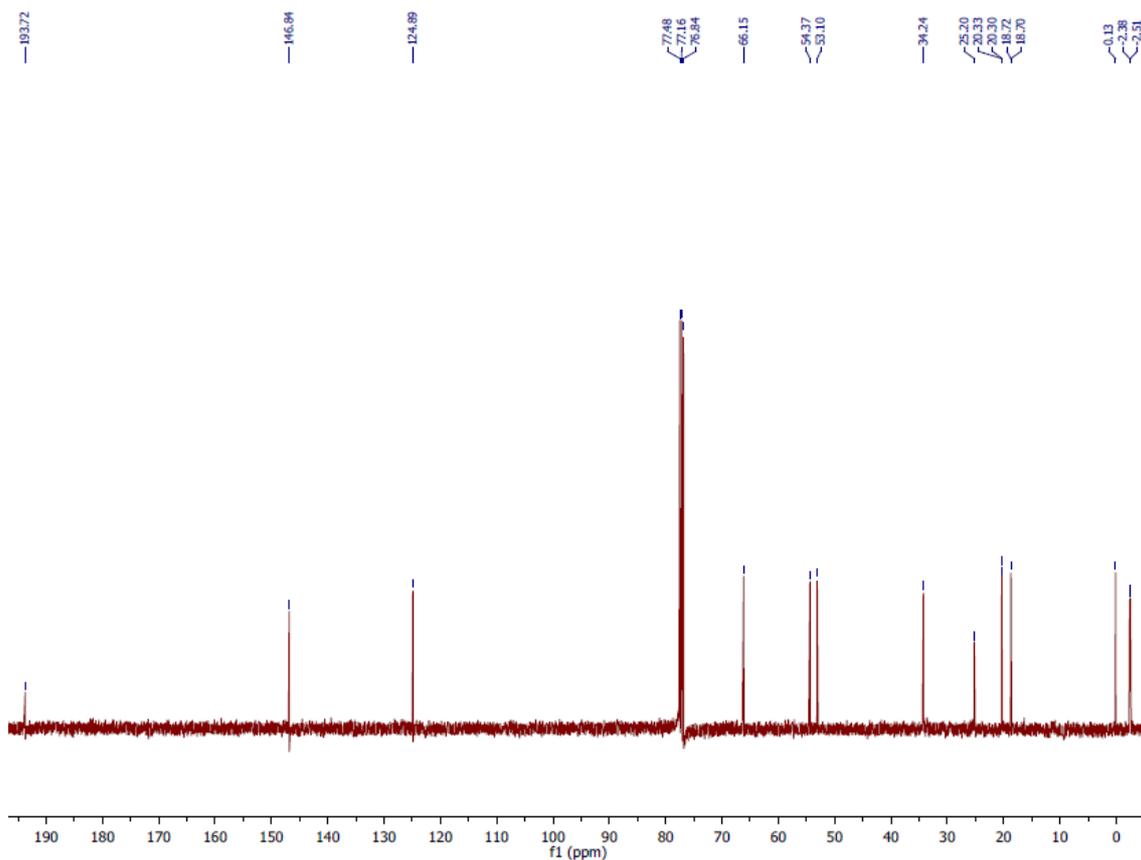
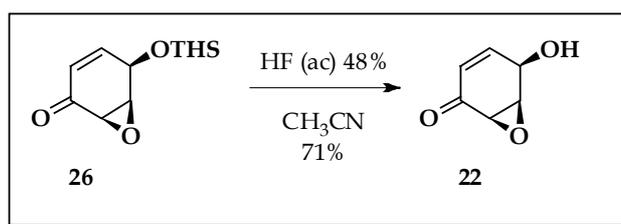


Figura 13: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **26**.

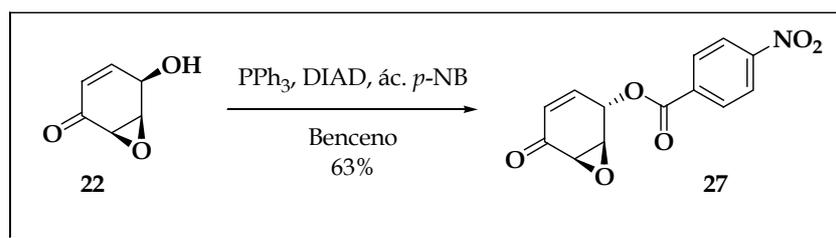
La remoción del grupo sililéter empleando ácido fluorhídrico acuoso (48%) en acetonitrilo permite obtener la epoxienona **22** con 71% de rendimiento (esquema 39)



Esquema 39: Desprotección del compuesto **26**.

De este modo, se alcanza la síntesis de la epoxienona **22** en 5 pasos de reacción a partir del compuesto **17** con un rendimiento global de 48%.

La inversión de la configuración del carbono 4 de **22** se realiza utilizando la metodología de Mitsunobu. En las condiciones indicadas en el esquema 40 se obtiene el éster **27** con un rendimiento de 63%.

Esquema 40: Reacción de Mitsunobu sobre el compuesto **22**.

Se puede observar en el espectro de RMN ^1H del compuesto **27** (figura 14), las señales correspondientes a los protones aromáticos del *p*-nitrobenzoato se encuentran en 8.32 y 8.24 ppm. Las señales en 6.71 y 6.19 ppm corresponden a la olefina del sistema enona mientras que la señal correspondiente al protón geminal del éster *p*-nitrobenzónico se observa a 6.05 ppm. Las señales de los protones geminales del anillo oxiránico se encuentran en 3.90 y 3.59 ppm.

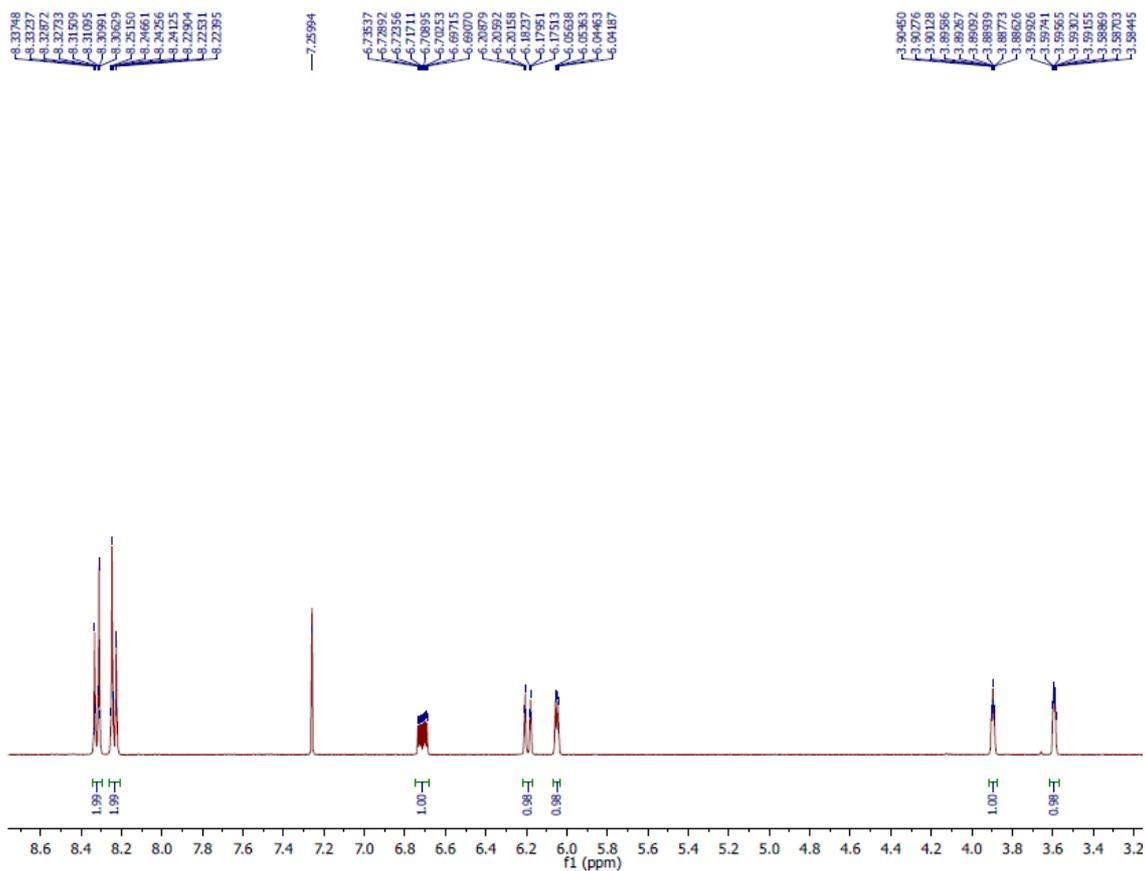
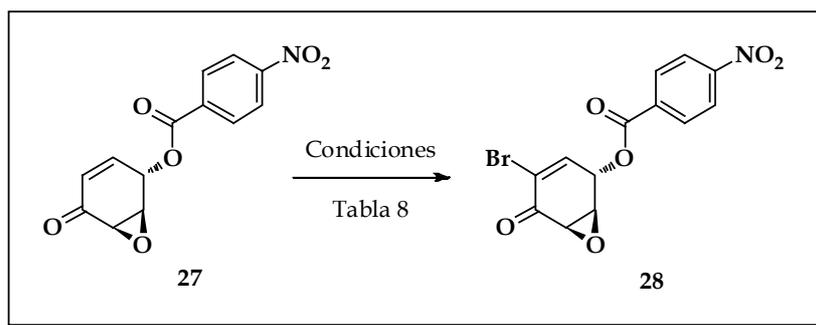


Figura 14: Espectro de RMN ^1H ampliado de **27**.

El paso siguiente según la estrategia planteada en el esquema 36 es la α -halogenación del sistema enona del compuesto **27**.



Esquema 41: α -halogenación del compuesto **27**.

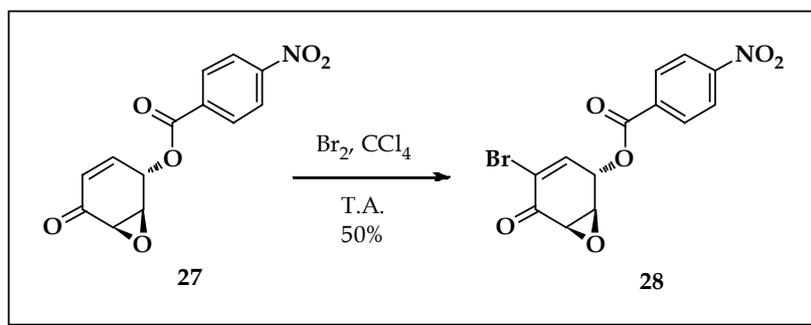
Para ello se ensayaron las condiciones que se indican en la tabla 8.

Entrada	Reactivos y condiciones	Productos
1	Br ₂ , CCl ₄ , T.A.	28 (50%)
2	Br ₂ , DBU, CH ₂ Cl ₂ , T.A.	Descomposición
3	Br ₂ , DBU, CCl ₄ , T.A.	Descomposición
4	Br ₂ , Et ₃ N, CH ₂ Cl ₂ , -20 °C a T. A.	29 (30-53%) + descomposición

Tabla 8: Condiciones de α -halogenación del compuesto **27**.

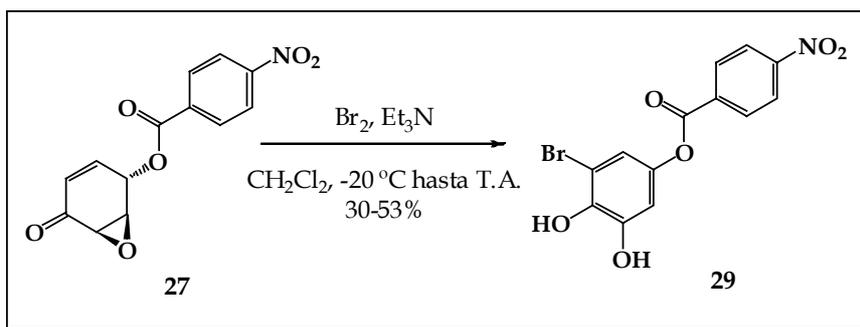
Siguiendo la técnica reportada por Sun y colaboradores,¹⁰³ se obtiene el producto de interés **28** (esquema 42) sin requerir el agregado de base con 50% de rendimiento (entrada 1).

El empleo de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ano (DBU) como base, descompone la muestra tanto en diclorometano como en tetracloruro de carbono (entradas 2 y 3). El tratamiento de **27** con bromo y trietilamina en diclorometano da lugar al compuesto **29** con rendimientos variables de 30 a 53% además de aislarse productos de descomposición (entrada 4).



Esquema 42: Obtención del compuesto **28**.

Cabe destacar que si se agrega trietilamina, el compuesto **27** se convierte totalmente en el compuesto **29**. Esto nos llevó a postular que las características ácidas del protón en posición 4 de esta epoxienona hacen que en presencia de una base se favorezca la aromatización, dando lugar exclusivamente al producto **29** (esquema 43).



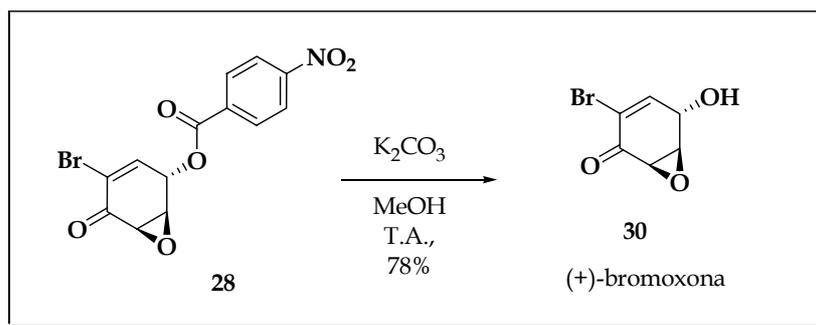
Esquema 43: Formación del compuesto 29.

A continuación se estudian diferentes condiciones de hidrólisis del éster 28 para obtener (+)-bromoxona. Para ello debemos tener en cuenta las consideraciones hechas respecto a la acidez del hidrógeno en posición 4, por lo que se ensayaron diferentes condiciones de hidrólisis en medio ácido. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 9.

Entrada	Reactivos y condiciones	Productos
1	Resina Dowex 50WX8-200, MeOH:H ₂ O (95:5), 40 °C, 48 hs	Recuperación MP
2	Resina Dowex 50WX8-100, MeOH:H ₂ O(95:5), 40 °C, 48 hs	Recuperación MP
3	Lipasa CAL B, MeOH:H ₂ O, 37 °C, 24 hs	Recuperación MP
4	THF:H ₂ O (1:1), <i>p</i> -TsOH hasta pH=2, T.A. 48 hs	Recuperación MP
5	HF (ac) 48%, CH ₃ CN, 0 °C, 24 hs	Recuperación MP
6	K ₂ CO ₃ , MeOH, T.A., 3 hs	30 (78%)

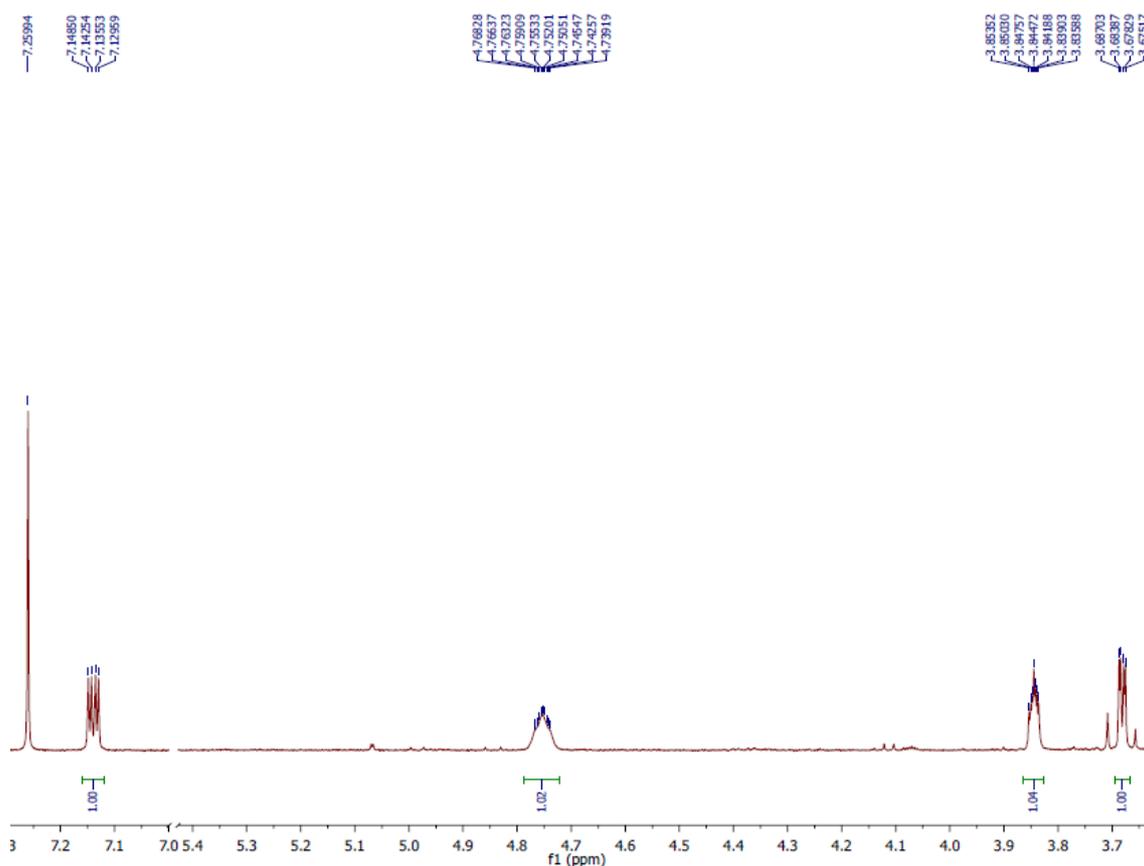
Tabla 9: Condiciones de hidrólisis ensayadas para la síntesis de (+)-bromoxona.

Ya que ninguna de las condiciones de hidrólisis ensayadas en medio ácido permiten obtener el producto de interés (entradas 1 a 5), se intentó la desprotección con K₂CO₃ en MeOH (entrada 6). Sorprendentemente, a pesar de las características ácidas descritas previamente para el protón en el carbono 4, el empleo de estas condiciones da lugar a (+)-bromoxona con un rendimiento de 78% (esquema 44).



Esquema 44: Obtención de (+)-bromoxona.

En el espectro de RMN ^1H de (+)-bromoxona (figura 15), se observa la señal correspondiente al protón vinílico del sistema enona a 7.14 ppm, así como las señales en 3.84 y 3.68 ppm correspondientes a los protones del anillo oxiránico. La señal del protón geminal al hidroxilo se observa en 4.75 ppm.

Figura 15: Espectro de RMN ^1H de (+)-bromoxona.

En el espectro de RMN ^{13}C de (+)-bromoxona (figura 16), se observan las señales en 186.8, 144.2 y 123.9 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona, así como las señales en 57.6 y 53.5 ppm de los carbonos del epóxido.

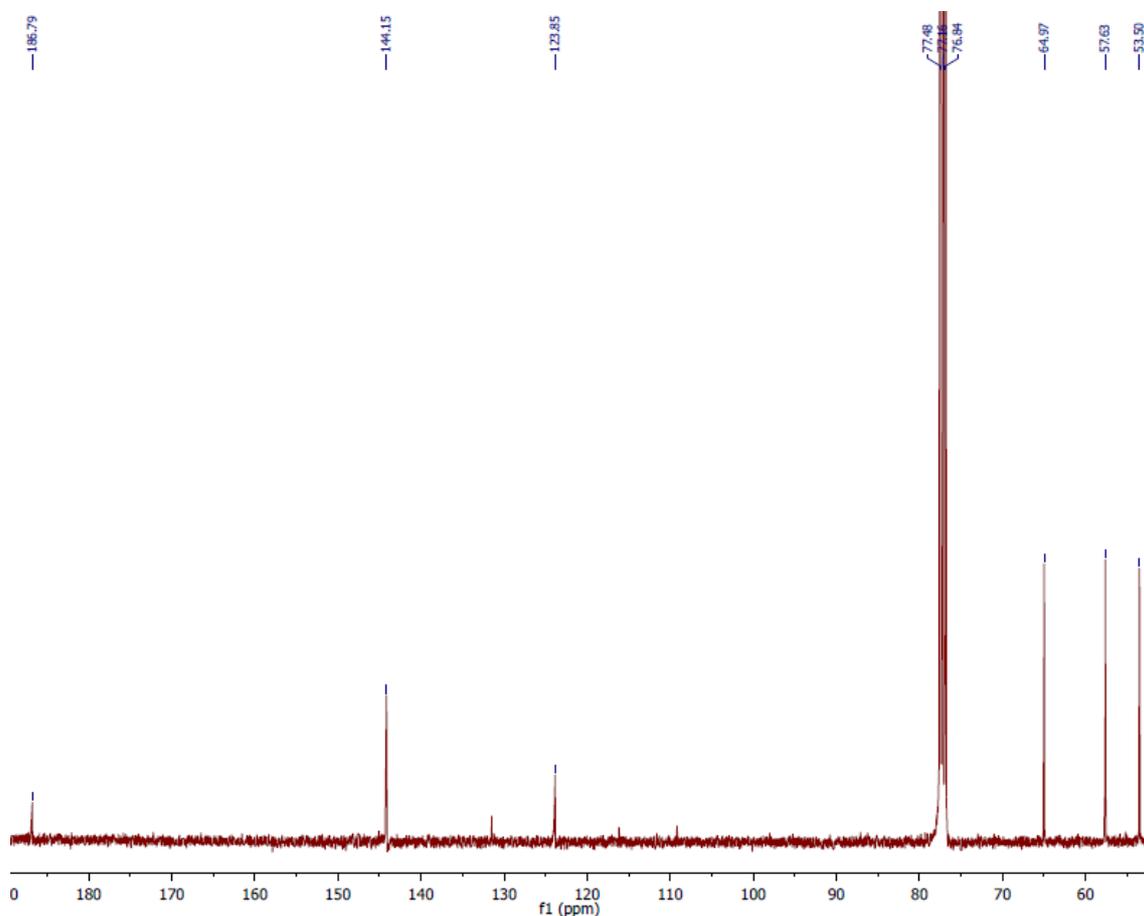


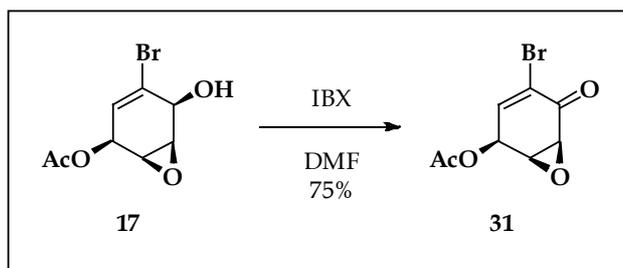
Figura 16: Espectro de RMN ^{13}C de (+)-bromoxona.

Los datos espectroscópicos obtenidos coinciden con los valores reportados para el producto natural.⁵⁷

Este trabajo constituye la primera síntesis total enantioselectiva de (+)-bromoxona a partir de derivados de *cis*-ciclohexadienodiolos de origen microbiano.¹⁰⁴ El producto se consigue en 12 pasos con un rendimiento global de 7% y es un ejemplo del núcleo A de epoxienonas (ver capítulo de objetivos y metodología).

2.4 Síntesis formal de (-)-bromoxona

La estrategia sintética planteada para la (-)-bromoxona comienza con la oxidación del hidroxilo libre del epóxido **17** (intermedio común para ambos enantiómeros). Para ello empleamos ácido *o*-iodoxibenzoico (IBX) en dimetilformamida para dar el compuesto **31** con 75% de rendimiento (esquema 45).



Esquema 45: Oxidación del compuesto **17**.

Como puede apreciarse en el espectro IR del compuesto **31** (figura 17), la señal intensa en 1748 cm^{-1} corresponde al carbonilo del sistema enona así como la señal en 1622 cm^{-1} corresponde a la olefina conjugada con el carbonilo. Asimismo se observa la señal correspondiente al epóxido en 1221 cm^{-1} .

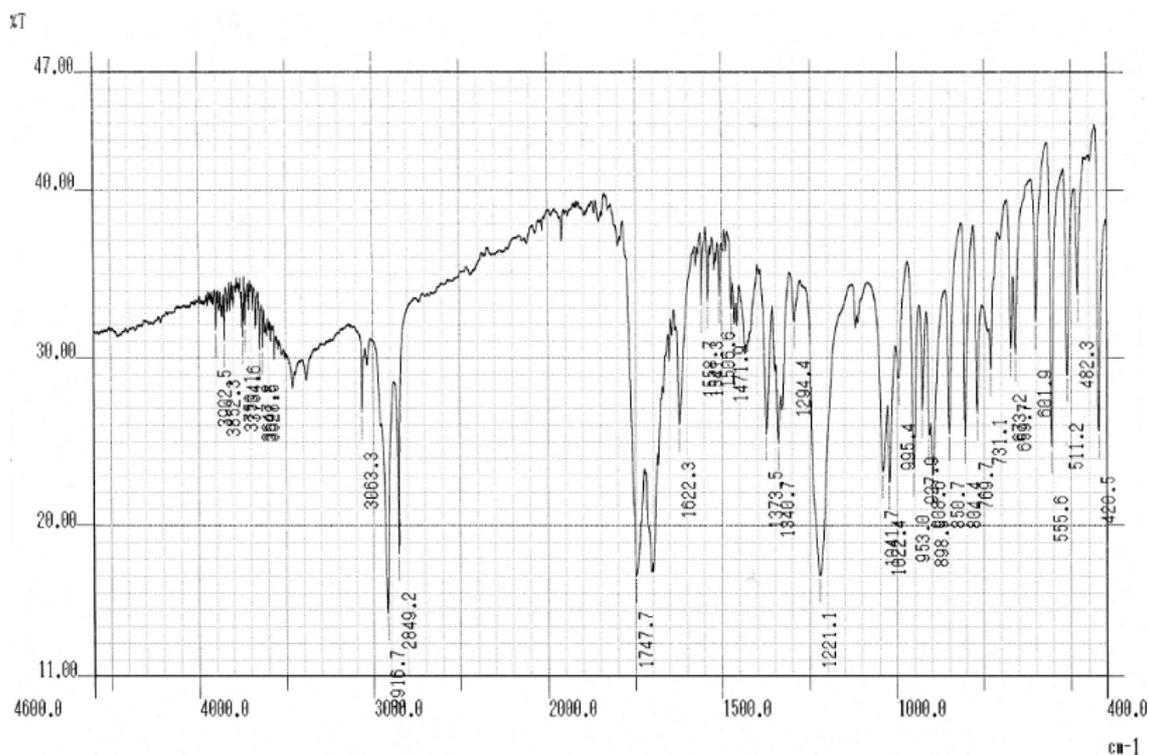
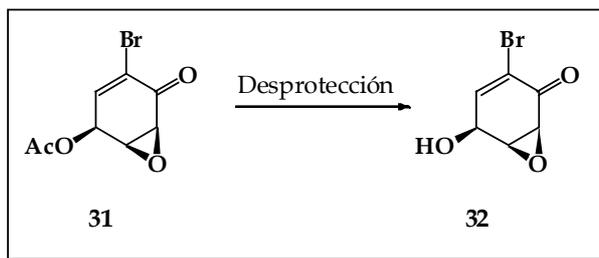


Figura 17: Espectro IR del compuesto **31**.

Una vez obtenida la epoxienona **31**, es necesaria la desprotección del hidroxilo en el carbono 4 para su posterior inversión (esquema 46).



Esquema 46: Desprotección del compuesto **31**.

Para ello se ensayaron las condiciones detalladas en la tabla 10.

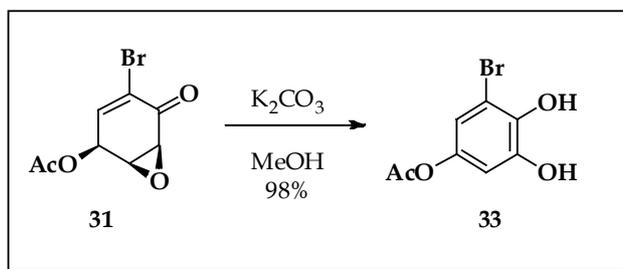
Entrada	Reactivos y condiciones*	Productos
1	Lipasa CAL B, 150 rpm, 30 °C, 5 días	32 (70%)
2	K ₂ CO ₃ , 0 °C, 5 minutos	33 (98%)
3	K ₂ CO ₃ , -50 °C, 5 minutos	33 (83%)
4	Resina Dowex 50WX8-100, T. A., 48 hs	32 (90%) + 34 (3%)

* en todos los casos se utilizó MeOH como disolvente.

Tabla 10: Condiciones para la desprotección del compuesto **31**.

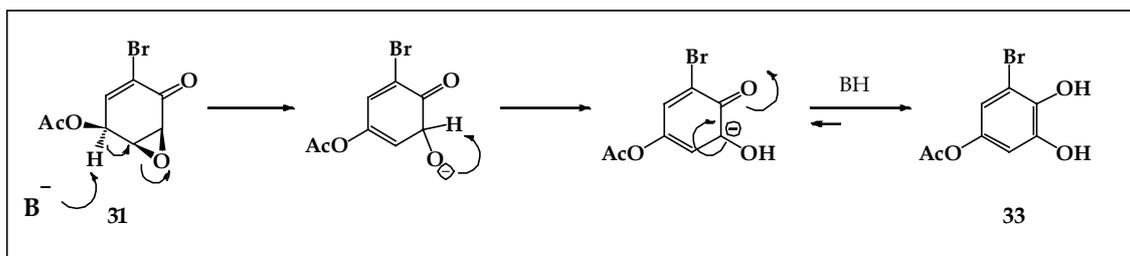
El empleo de la lipasa B de *Candida antarctica* (CaL B, Novozym 435) permite obtener el producto de interés con un buen rendimiento pero luego de 5 días de reacción (entrada 1).¹⁰⁵

El empleo de K₂CO₃ en MeOH da lugar exclusivamente al producto aromático **33** con altos rendimientos como se puede observar en las entradas 2 y 3 de la tabla 10 (esquema 47).



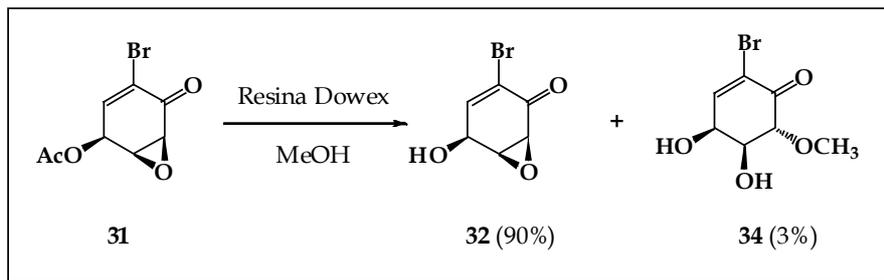
Esquema 47: Condiciones de formación del compuesto **33**.

La formación de este producto puede explicarse por la marcada acidez del hidrógeno en posición 4 tal como se indicó anteriormente (esquema 47). La remoción del hidrógeno ácido en las condiciones básicas en que se realiza la reacción da lugar a la apertura del anillo oxiránico y la posterior aromatización del anillo de 6 miembros según se muestra en el mecanismo (esquema 48). Se descarta por lo tanto el empleo de condiciones básicas para la desprotección del grupo acetato.



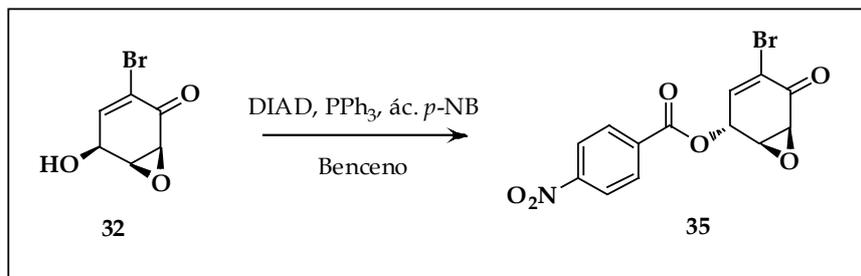
Esquema 48: Mecanismo de formación de 33.

Se ensaya también el empleo de una resina ácida la cual da la epoxienona 32 con excelentes rendimientos (90%) observándose la formación de sólo 3% del producto 34 (esquema 49).



Esquema 49: Desprotección del compuesto 31 en medio ácido.

El paso siguiente para la obtención de (-)-bromoxona es la inversión de la configuración del carbono 4. Para ello se somete al compuesto 32 a las condiciones de Mitsunobu.



Esquema 50: Inversión de la configuración de C4 del compuesto 32.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 11.

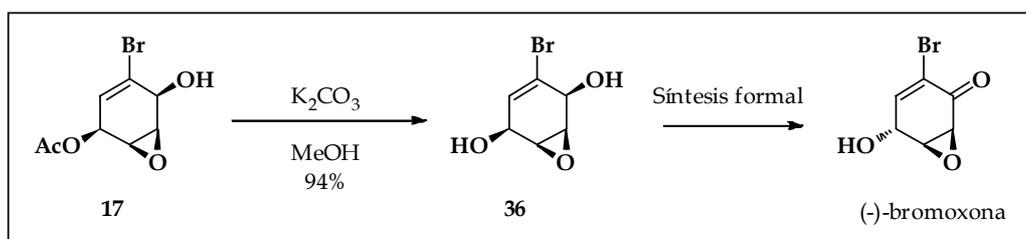
Entrada	Reactivos	Disolvent	Temperatur	Productos
		e	a	
1	PPh ₃ , ác. <i>p</i> -NB, DEAD	Benceno	T. A.	Descomposición
2	PPh ₃ , ác. <i>p</i> -NB, DIAD	Benceno	T. A.	35 (5%) + descomposición
3	PPh ₃ , ác. <i>p</i> -NB, DEAD	Benceno	Reflujo	Descomposición
4	PPh ₃ , ác. <i>p</i> -NB, DIAD	Benceno	Reflujo	Descomposición
5	PPh ₃ , ác. <i>p</i> -NB, DIAD	THF	0 °C a reflujo	Recuperación MP
6	PPh ₃ , Ác. cloroacético, DIAD	THF	T. A. a reflujo	Recuperación MP

Tabla 11: Condiciones de Mitsunobu para la inversión del compuesto **32**.

Las condiciones ensayadas para la inversión no dieron buenos resultados obteniendo sólo en las condiciones de la entrada 2 el producto de interés aunque con muy bajo rendimiento.

Mientras nos encontrábamos realizando el trabajo experimental de esta tesis, Banwell y colaboradores reportan la síntesis de (-)-bromoxona a partir de *cis*-ciclohexadienodiolos de origen microbiano como ya se comentó en el capítulo de antecedentes (ver sección 7.2).⁵⁰

Se preparó a partir de **17** el intermedio **36** con el cual Banwell obtuvo (-)-bromoxona. Esta se considera entonces una síntesis formal de (-)-bromoxona a partir del intermedio **17** tal como se indica en el esquema 51.

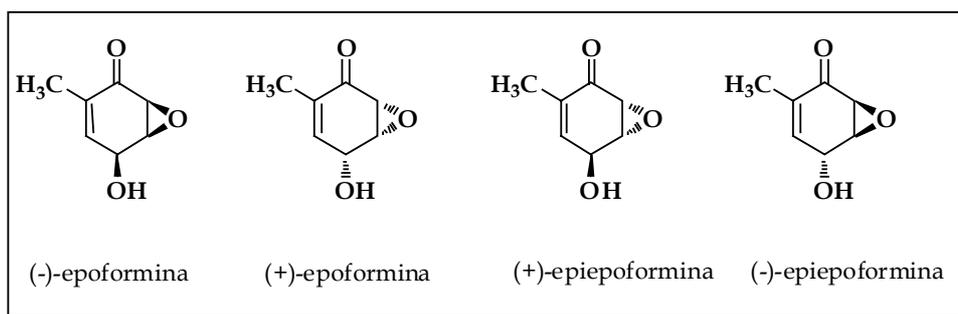


Esquema 51: Síntesis formal de (-)-bromoxona a partir del compuesto **17**.

La remoción del grupo acetato con K_2CO_3 en MeOH permite obtener **36** con 94% de rendimiento.¹⁰⁴

3 Aproximación a la síntesis de (+) y (-)-epioformina y epioformina.

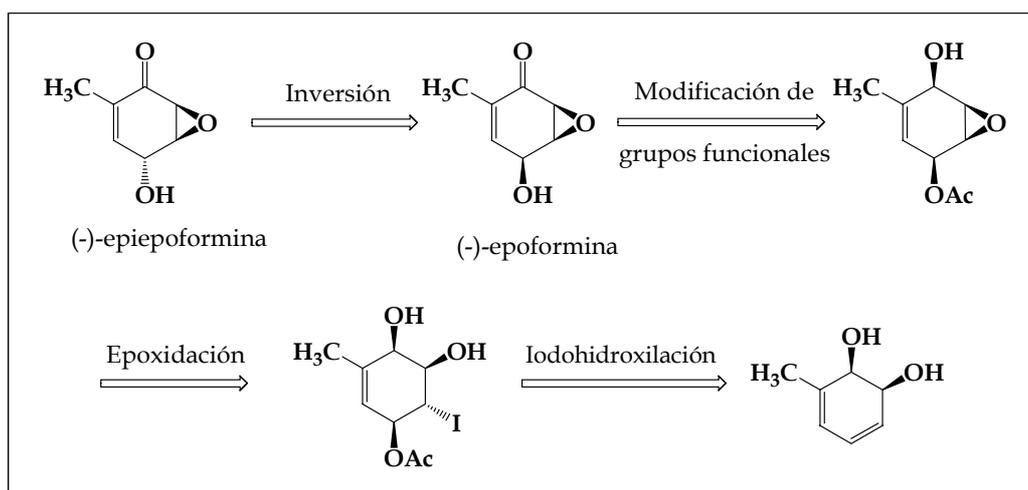
Como parte de la aproximación a la síntesis de epoxienonas y considerando los resultados obtenidos hasta el momento se plantea una estrategia sintética para la obtención de (+) y (-)-epioformina así como sus epímeros (+) y (-)-epiepioformina a partir del *cis*-3-metilciclohexadienodiol.



Esquema 52: Estructura de epioformina y epiepioformina.

3.1 Síntesis de (-)-epioformina y (-)-epiepioformina.

En el esquema 53 se ilustra el análisis retrosintético para la síntesis de los epímeros (-)-epioformina y (-)-epiepioformina.

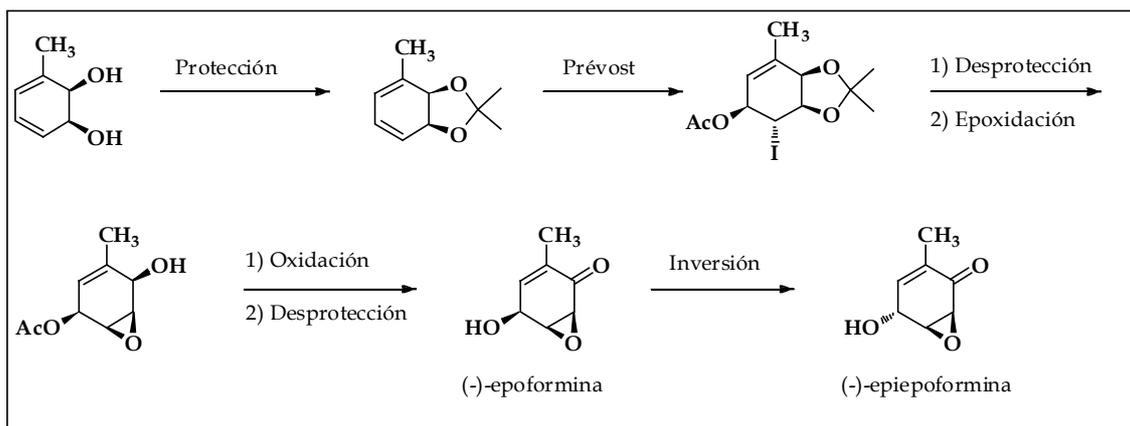


Esquema 53: Análisis retrosintético para la obtención de (-)-epioformina y (-)-epiepioformina.

La primera desconexión consiste en la inversión de la configuración del carbono 4 mediante la metodología de Mitsunobu a partir de (-)-epioformina. Dicho compuesto se planea obtener mediante modificación de grupos funcionales y oxidación del alcohol

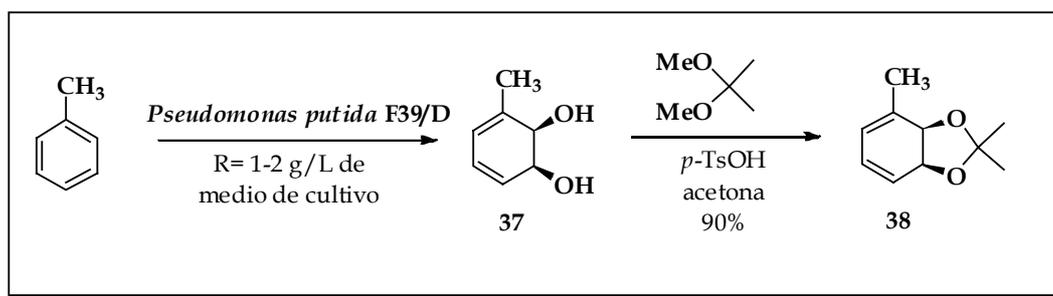
alílico para la obtención del núcleo de epoxienona. El cierre del anillo oxiránico se planea a través de un ataque nucleofílico intramolecular de la iodohidrina intermedia. Ésta se puede obtener mediante la aplicación de la metodología de Prévost sobre el *cis*-ciclohexadienodiol derivado de la biotransformación del tolueno.

La estrategia para la síntesis de (-)-epoformina y (-)-epiepoformina se detalla en el esquema 54.



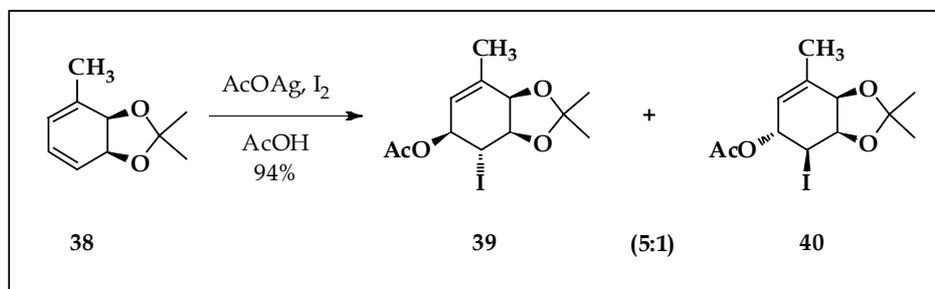
Esquema 54: Estrategia para la síntesis de (-)-epoformina y (-)-epiepoformina.

El material de partida es el *cis*-3-metilciclohexadienodiol obtenido de la biotransformación de tolueno con *Pseudomonas putida* F39/D. Este diol se obtiene con un rendimiento de 1 a 2 g por litro de medio de cultivo con un exceso enantiomérico mayor al 99%.⁹ El diol obtenido se protege con dimetoxipropano en presencia de ácido *p*-toluenosulfónico para dar el compuesto **38** con un rendimiento de 90% (esquema 55).



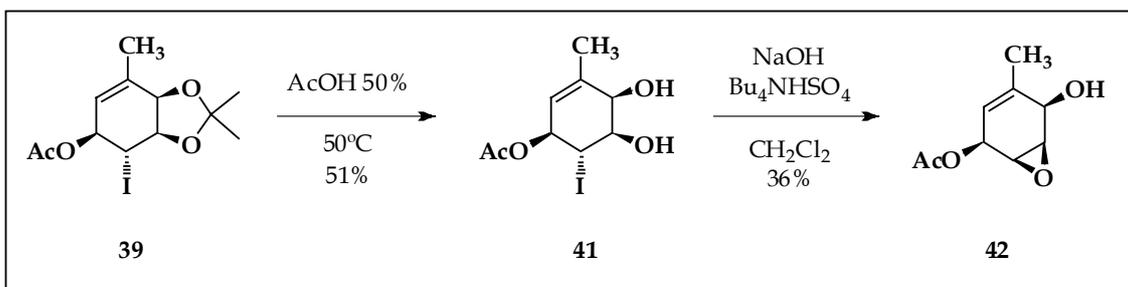
Esquema 55: Biotransformación de tolueno con *P. putida* y protección de la función diol.

El acetónido **38** se hace reaccionar en las condiciones de Prévost para obtener las iodohidrinas **39** y **40** (en proporción 5:1) con un rendimiento global de 94% (esquema 56). La regio y estereoselectividad obtenidas para estos sistemas son similares a los reportados en la literatura, en donde se encuentran ampliamente analizados.²¹



Esquema 56: Reacción de Prévost sobre el compuesto **38**.

La separación de los isómeros **39** y **40** mediante cromatografía en columna, permite obtener el compuesto **39** con la suficiente pureza para continuar la síntesis. Sobre este se lleva a cabo la remoción del grupo isopropilideno empleando ácido acético 50% a 50°C para dar el diol **41** con 51% de rendimiento. Para el cierre del anillo oxiránico se emplea NaOH en diclorometano con sulfato ácido de tetrabutilamonio como catalizador de transferencia de fase, obteniéndose **42** con un rendimiento de 36% (esquema 57).



Esquema 57: Desprotección de la halohidrina **39** y epoxidación.

Tal como se puede apreciar en el espectro de RMN^1H del compuesto **42** (figura 18), la señal a 5.19 ppm corresponde a la olefina, la señal en 5.52 ppm corresponde al protón geminal al acetato y la de 4.23 ppm corresponde al protón geminal al alcohol alílico. Las señales correspondientes al anillo oxiránico se encuentran a 3.66 y 3.60 ppm. Asimismo se observa la señal correspondiente al grupo acetato en 2.14 ppm.

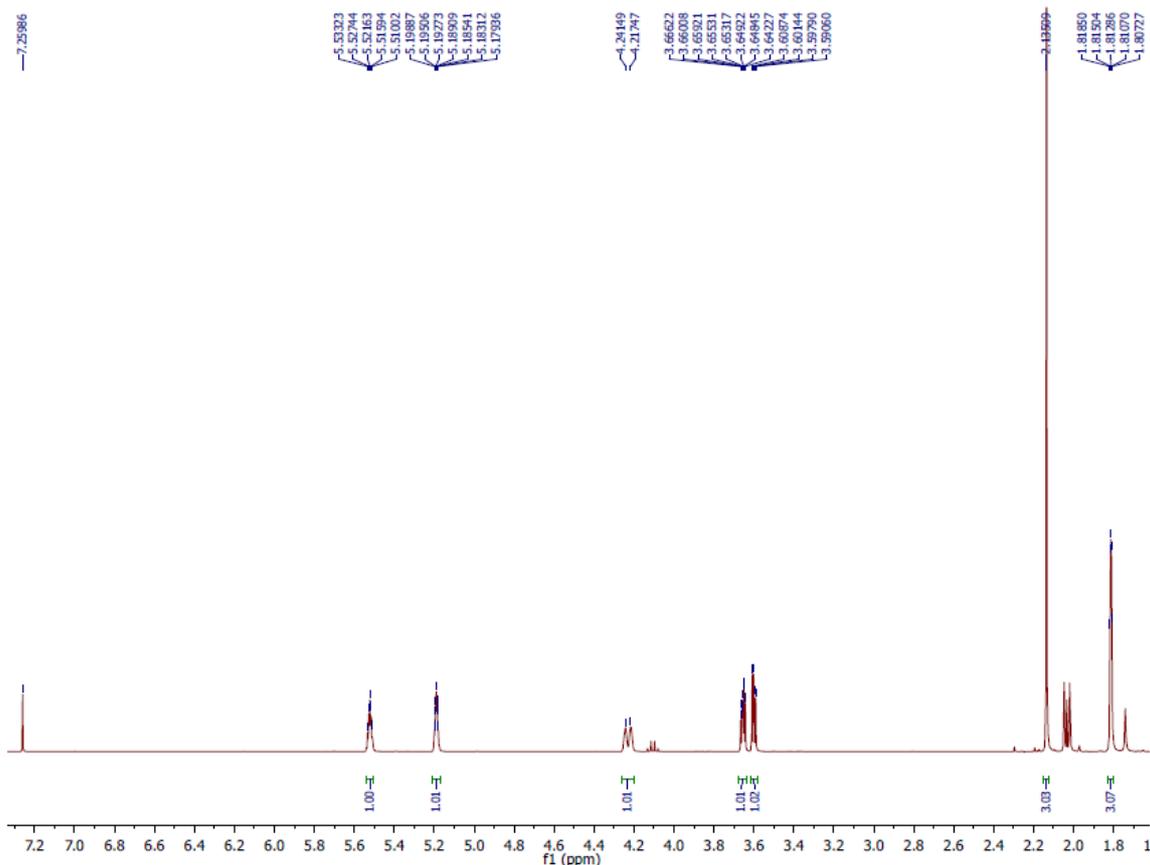
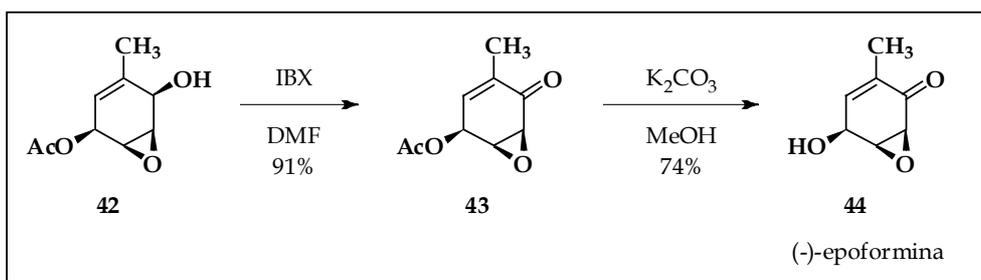


Figura 18: Espectro de RMN ^1H del compuesto **42**.

Una vez obtenido el epóxido **42** se procede a la oxidación del hidroxilo alílico con el fin de generar el núcleo de epoxienona. Para ello se emplea ácido *o*-iodoxibenzoico (IBX) en dimetilformamida. La reacción de oxidación transcurre sin inconvenientes obteniendo **43** con 91% de rendimiento en una hora a temperatura ambiente. La posterior remoción del grupo acetato empleando K_2CO_3 en MeOH permite obtener (-)-epoformina (**44**) con un rendimiento de 74% (esquema 58).¹⁰⁶ El compuesto **44** constituye un ejemplo del núcleo C de epoxienonas (ver capítulo de objetivos y metodología).



Esquema 58: Síntesis de (-)-epoformina.

En el espectro de RMN ^1H de (-)-epoformina (**44**) (figura 19), se puede observar la señal correspondiente al protón vinílico del sistema enona a 6.27 ppm, así como las señales en 3.83 y 3.51 ppm correspondientes a los protones del anillo oxiránico.

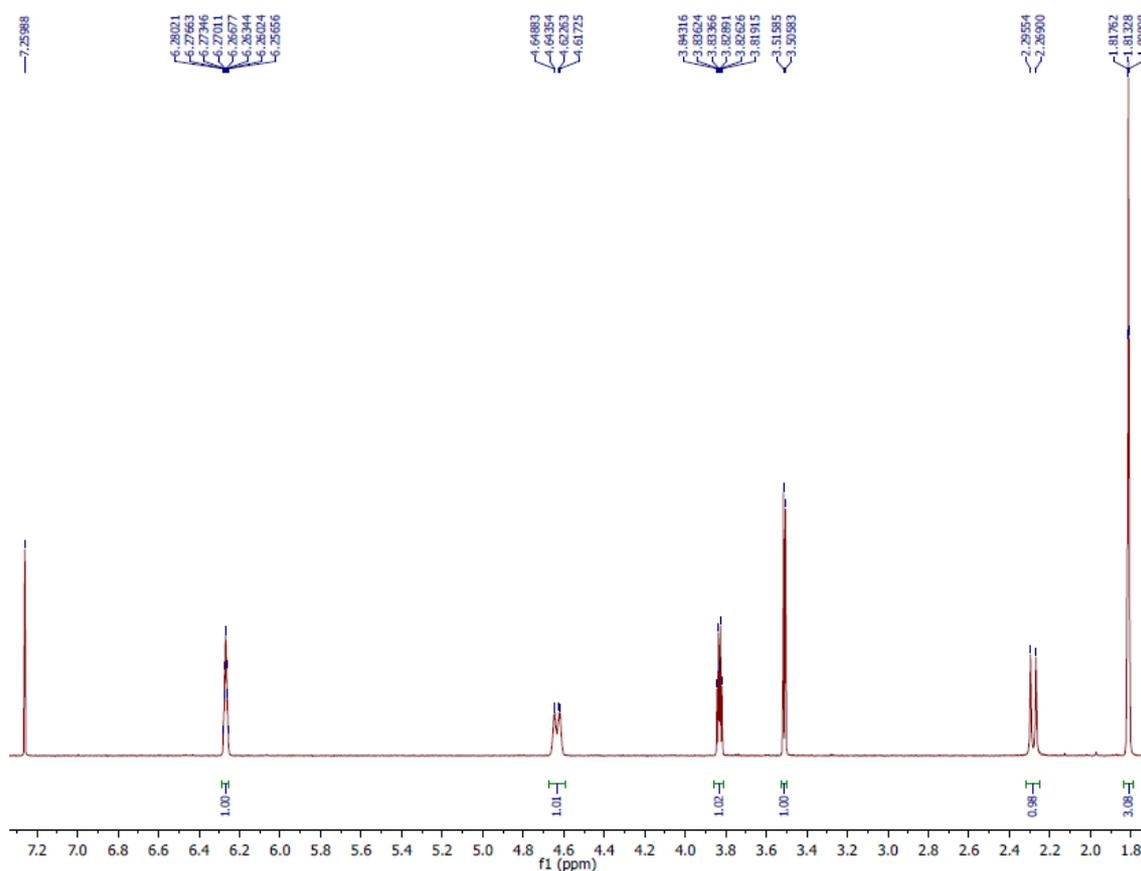
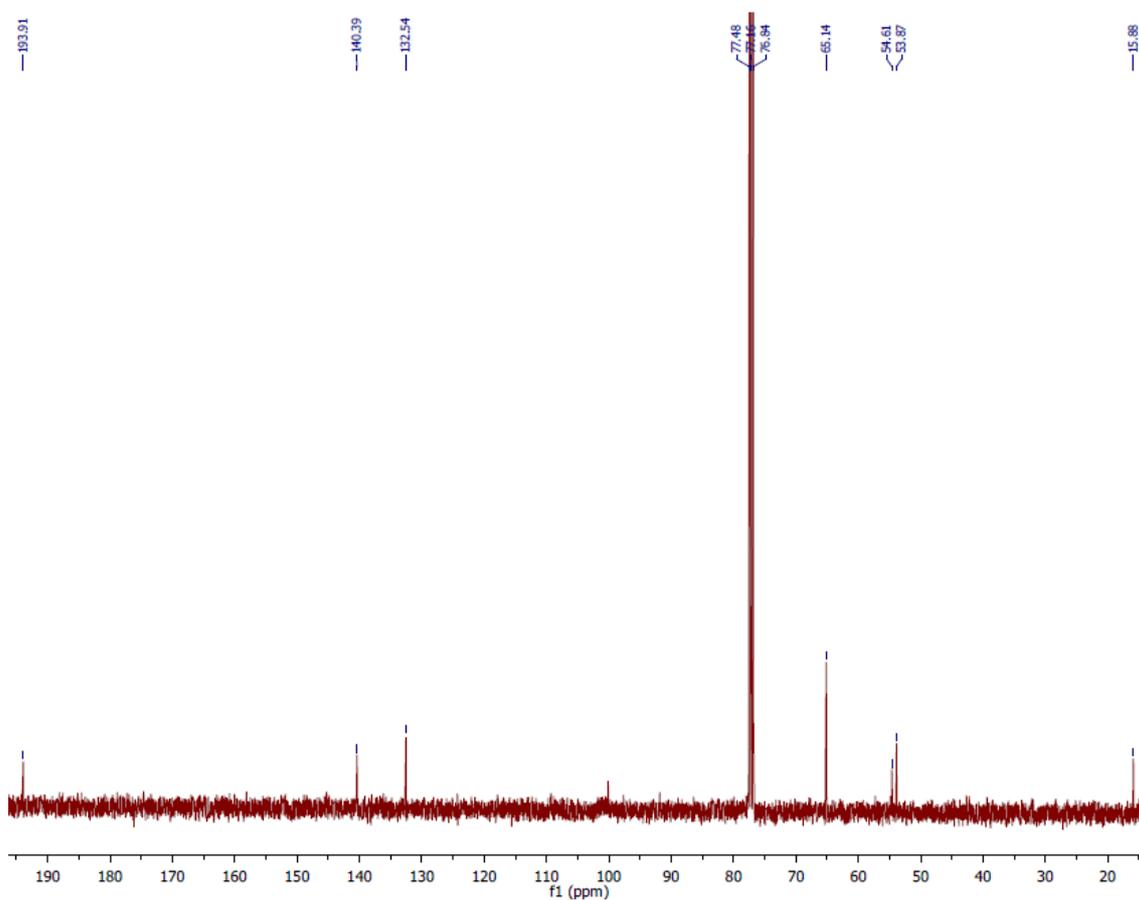


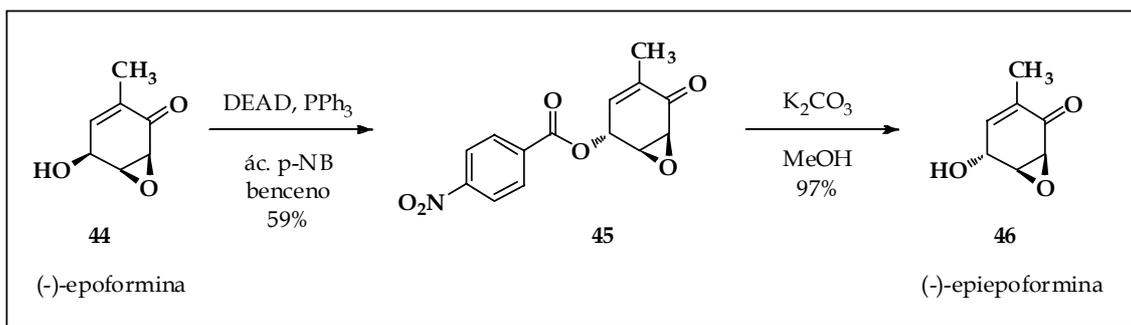
Figura 19: Espectro de RMN ^1H de (-)-epoformina.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **44** (figura 20), se pueden observar las señales en 193.9, 140.4 y 132.5 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona, así como las señales en 54.6 y 53.9 ppm de los carbonos del anillo oxiránico.

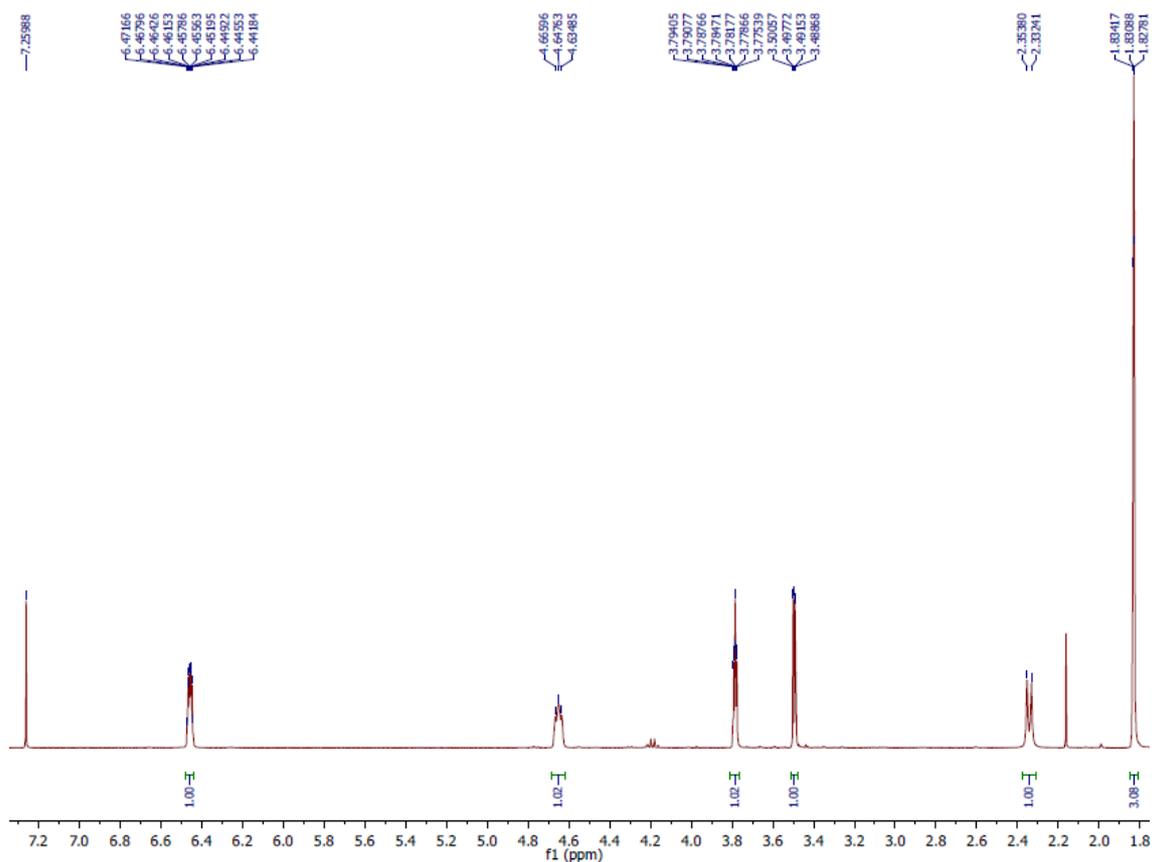
Figura 20: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **44**.

De este modo se alcanza la síntesis total de (-)-epoformina en 6 pasos a partir del *cis*-3-metilciclohexadienodiol con un rendimiento global de 7%.¹⁰⁶

Para alcanzar la síntesis de (-)-epiepoformina es necesario invertir la configuración del carbono 4. Para ello se hace reaccionar el compuesto **44** en condiciones de Mitsunobu obteniéndose el éster **45** con 59% de rendimiento. La remoción del éster del ácido *p*-nitrobenzoico con K_2CO_3 en MeOH transcurre con un rendimiento de 97% (esquema 59).

Esquema 59: Inversión de la configuración de C4 del compuesto **44**.

En el espectro de RMN ^1H de (-)-epiepoformina (**46**) (figura 21), se puede observar la señal correspondiente al protón vinílico del sistema enona a 6.46 ppm, así como las señales en 3.78 y 3.49 ppm correspondientes a los protones del anillo oxiránico.

Figura 21: Espectro de RMN ^1H de (-)-epiepoformina (**46**).

En el espectro de RMN ^{13}C de (-)-epiepoformina (**46**) (figura 22), se pueden observar las señales en 194.6, 139.1 y 134.5 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona, así como las señales en 57.8 y 53.5 ppm de los carbonos del epóxido.

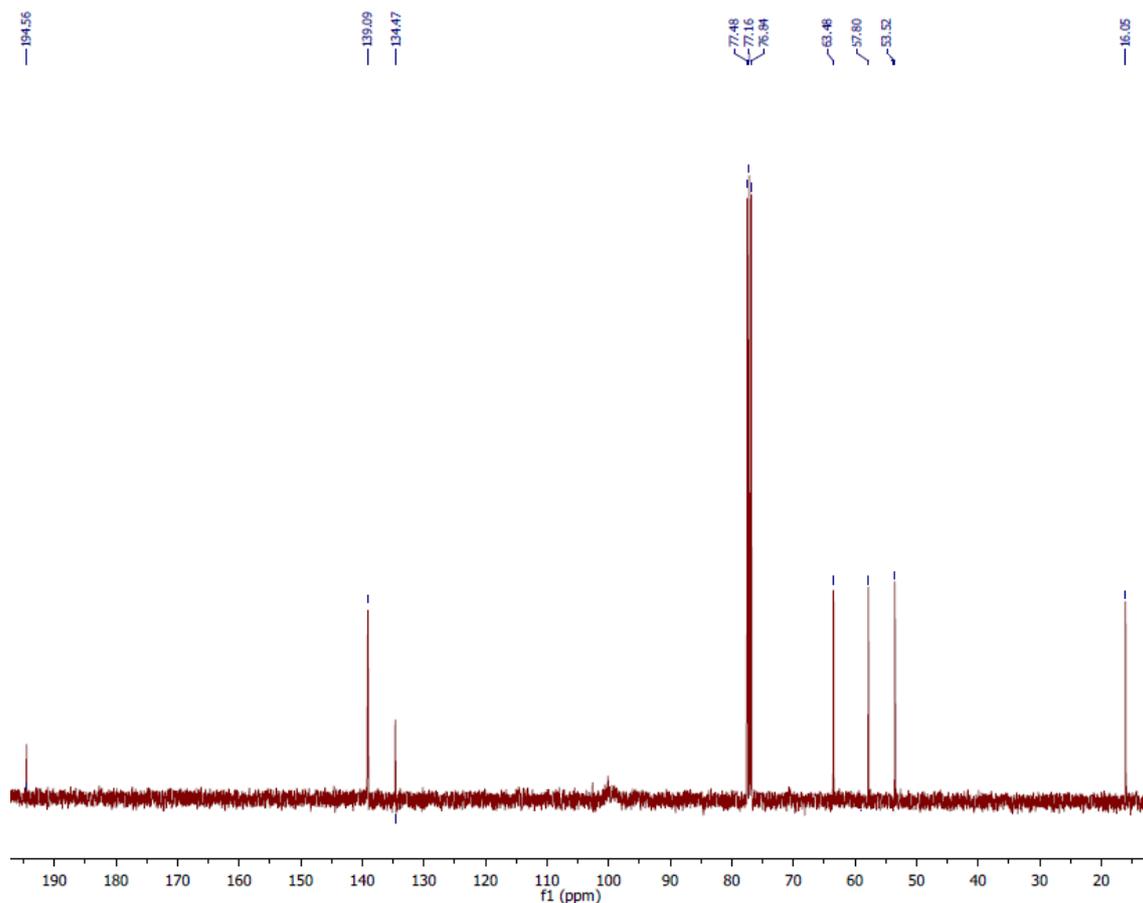


Figura 22: Espectro de RMN ^{13}C de (-)-epiepoformina (**46**).

De este modo, se consigue la primera síntesis total de (-)-epiepoformina (**46**) a partir del *cis*-3-metilciclohexadienodiol en 8 pasos de reacción con un rendimiento global de 4%.¹⁰⁶ Con la síntesis de (-)-epiepoformina se alcanza uno de los objetivos específicos planteados en esta tesis, la obtención del núcleo B de epoxienonas (ver capítulo de objetivos y metodología).

Comparando los espectros de COSY de los epímeros **44** y **46**, se puede apreciar que en el compuesto **44** el protón geminal al hidroxilo presenta un acoplamiento con el protón geminal del epóxido mientras que en el compuesto **46** dicho acoplamiento no se observa (figuras 23 y 24). Esto se debe a que en el compuesto **44** los mencionados protones se encuentran en una disposición *syn* formando un ángulo correspondiente a un máximo en la curva de Karplus.¹⁰²

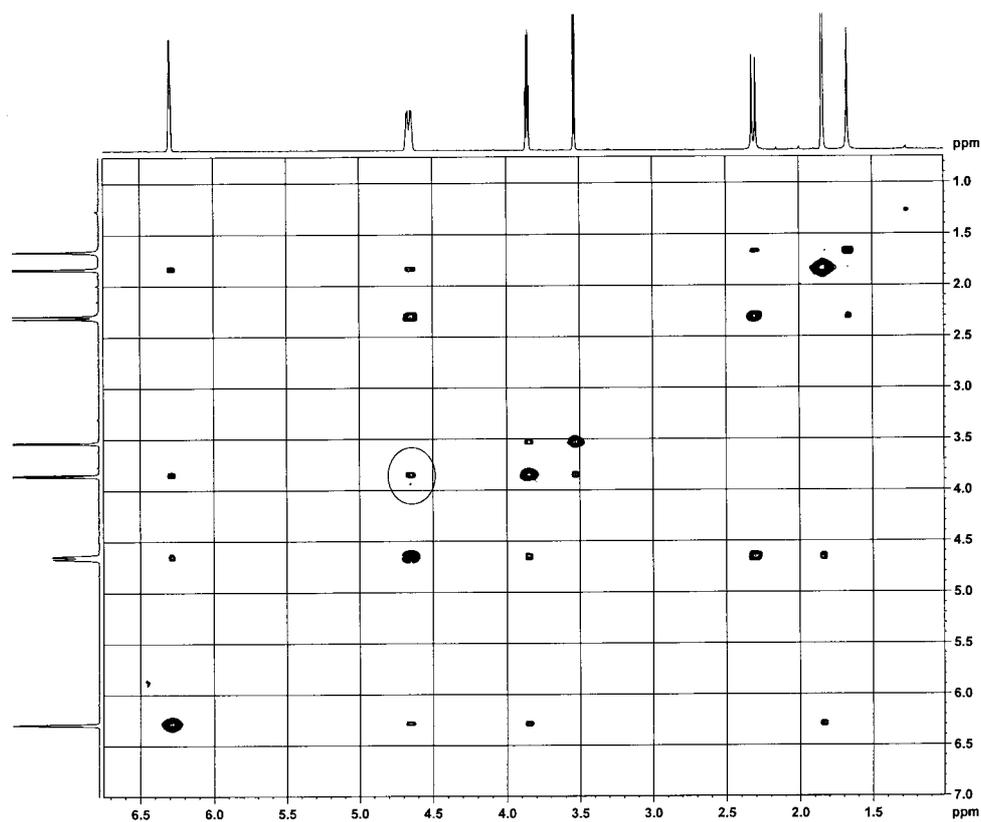


Figura 23: Espectro de COSY del compuesto **44**.

Por el contrario, en el compuesto **46**, los protones geminales al epóxido y al alcohol se encuentran en disposición *anti*, formando un ángulo correspondiente a un mínimo en la curva de Karplus.

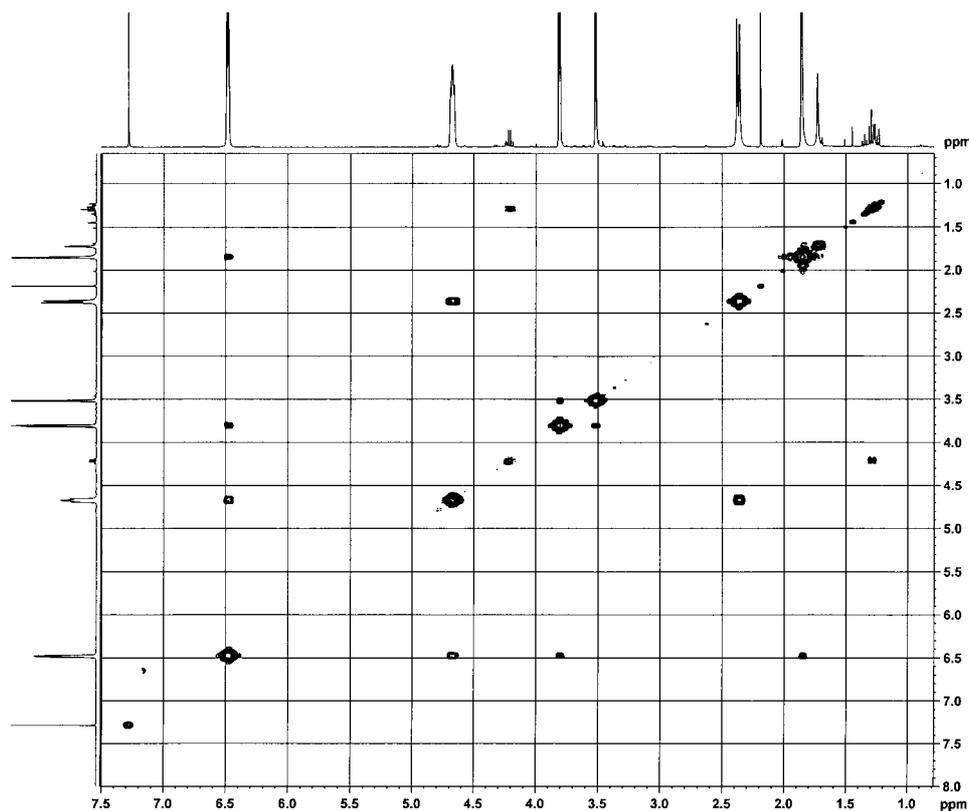
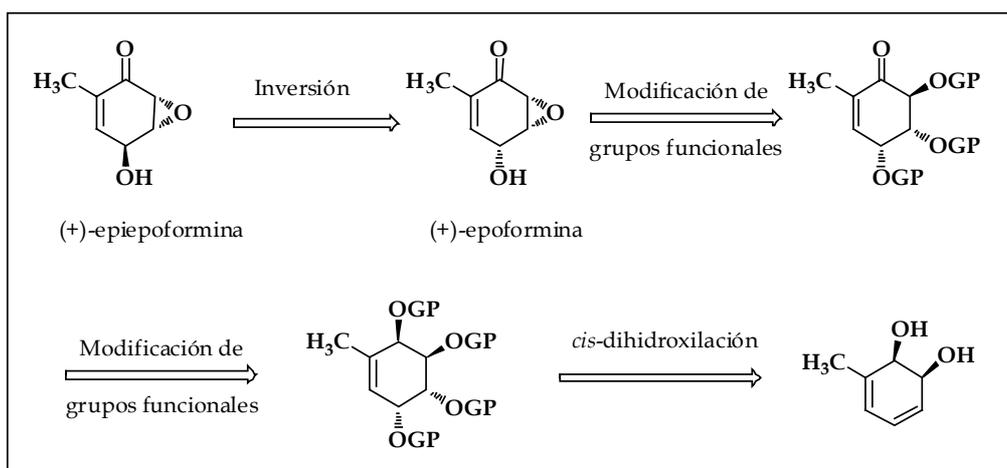


Figura 24: Espectro de COSY del compuesto 46.

3.2 Aproximación a la síntesis de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina.

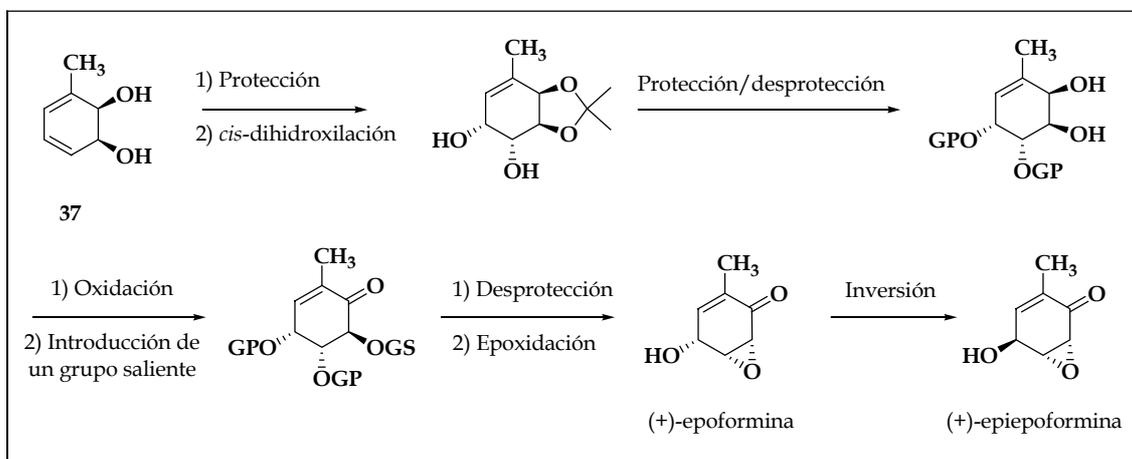
Para la síntesis de los productos naturales (+)-epoformina y (+)-epiepoformina se plantea el siguiente análisis retrosintético (esquema 60).



Esquema 60: Análisis retrosintético para la síntesis de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina.

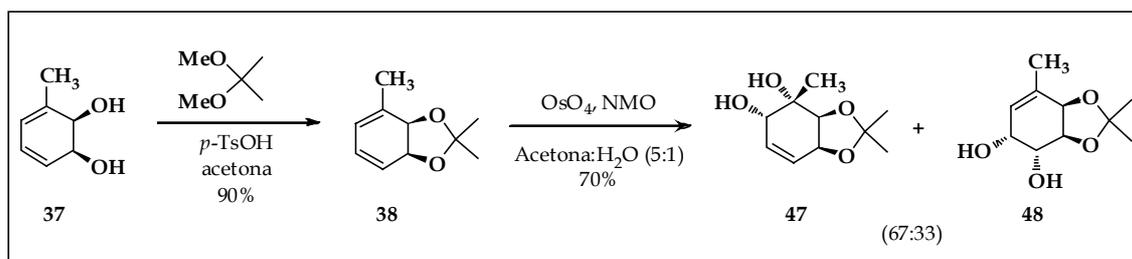
La primera desconexión se lleva a cabo mediante la inversión de la configuración del carbono 4 haciendo uso de la metodología de Mitsunobu, a partir de (+)-epoformina. El cierre del anillo oxiránico se planea mediante un ataque nucleofílico intramolecular del núcleo de enona. El sistema enona se planea obtener a partir de la oxidación del alcohol alílico del tetraol protegido. Dicho núcleo se puede preparar a partir del *cis*-ciclohexadienodiol derivado del tolueno por *cis*-dihidroxiación del doble enlace menos sustituido.

La estrategia propuesta para la síntesis de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina se detalla en el esquema 61.



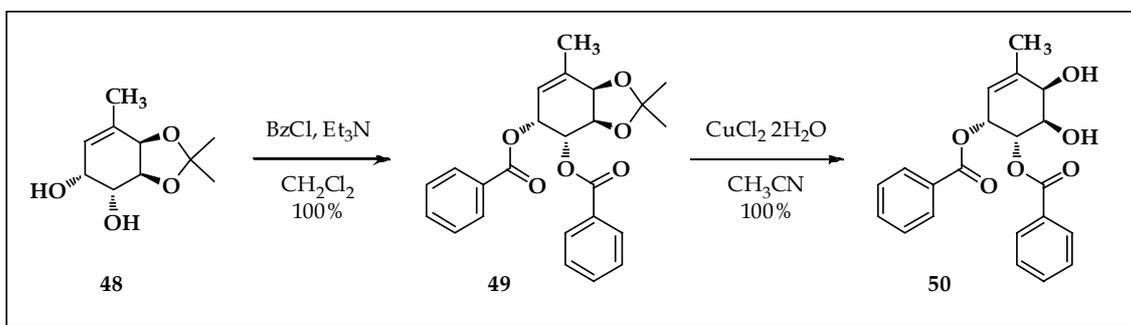
Esquema 61: Estrategia para la síntesis de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina.

La protección del diol **37** con dimetoxipropano en presencia de ácido *p*-toluensulfónico, tal como se indicó previamente, da el diol protegido **38** con un rendimiento de 90%. La dihidroxilación del acetónido **38** mediada por tetróxido de osmio da lugar a la formación de los productos **47** y **48** en proporción (67:33) tal como se indica en el esquema 62.²⁰



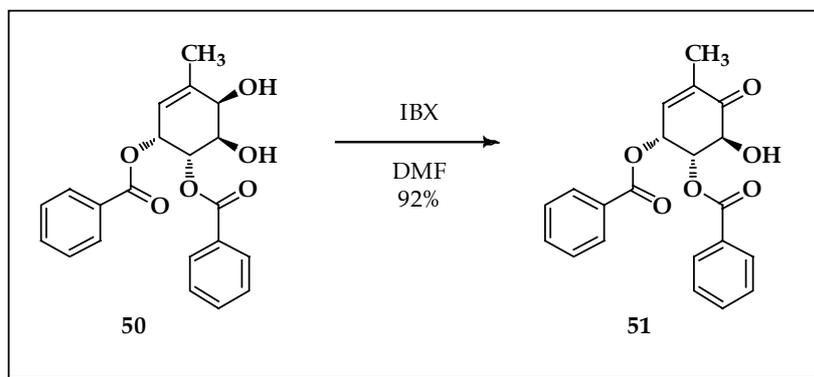
Esquema 62: Protección del grupo diol y dihidroxilación.

El compuesto **47** fue empleado para la preparación de la molécula modelo del ácido ambúico, tal como se indica en el capítulo de antecedentes (ver sección 4.2) y constituye el material de partida para la preparación de la enona **1**.⁴¹ Por este motivo el compuesto **48** se encuentra disponible en nuestro laboratorio y es el material de partida adecuado para la síntesis de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina. La protección del sistema diol se lleva a cabo con cloruro de benzoilo y trietilamina en diclorometano de modo que permita la posterior desprotección selectiva de los hidroxilos. La reacción transcurre con un rendimiento cuantitativo para dar el producto **49** según el esquema 63. La remoción del grupo isopropilideno se realiza con cloruro cúprico en acetonitrilo. El rendimiento de la reacción es de 51% recuperándose del material de partida sin reaccionar. De este modo sucesivas desprotecciones hacen posible obtener el producto desprotegido **50** cuantitativamente (esquema 63).



Esquema 63: Protección y desprotección selectiva de los grupos diol del compuesto **48**.

Una vez obtenido **50**, se procede a la oxidación selectiva del hidroxilo alílico para generar el sistema enona. Para ello se utiliza ácido *o*-iodoxibenzoico (IBX) en dimetilformamida obteniéndose **51** con un rendimiento de 92% (esquema 64).



Esquema 64: Oxidación del compuesto **50**.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **51** (figura 25), se puede observar la señal correspondiente al protón del sistema enona a 6.94 ppm, así como las señales de los

protones geminales a los benzoatos en 6.08 y 5.54 ppm. La señal en 4.96 ppm corresponde al protón geminal al hidroxilo. Las señales correspondientes a los protones aromáticos se observan entre 7.39 y 8.00 ppm como señales múltiples complejas.

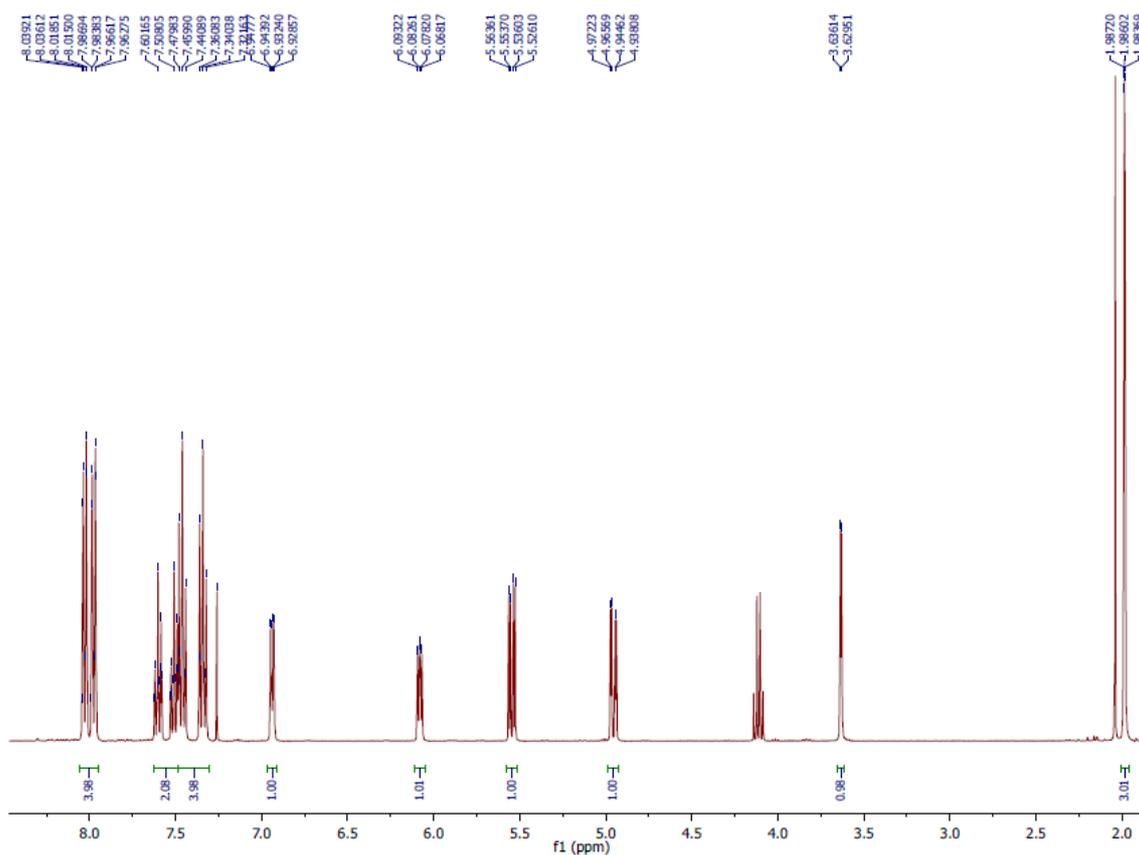


Figura 25: Espectro de RMN ^1H del compuesto **51**.

En el espectro RMN ^{13}C del compuesto **51** (figura 26), se pueden observar las señales en 197.5, 138.9 y 137.6 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona, lo cual confirma la oxidación del hidroxilo alílico.

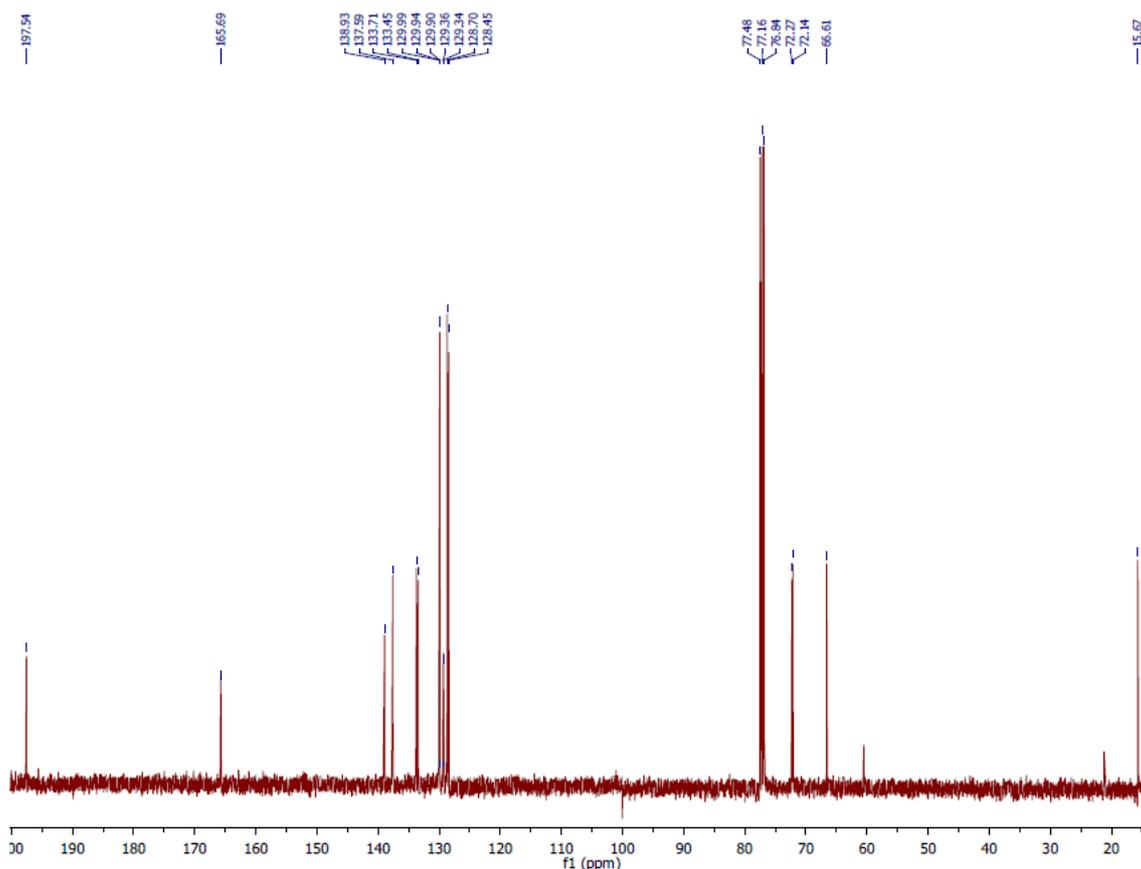
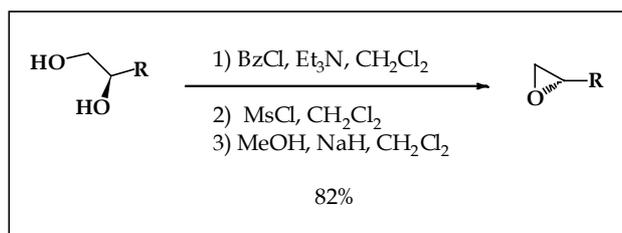


Figura 26: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **51**.

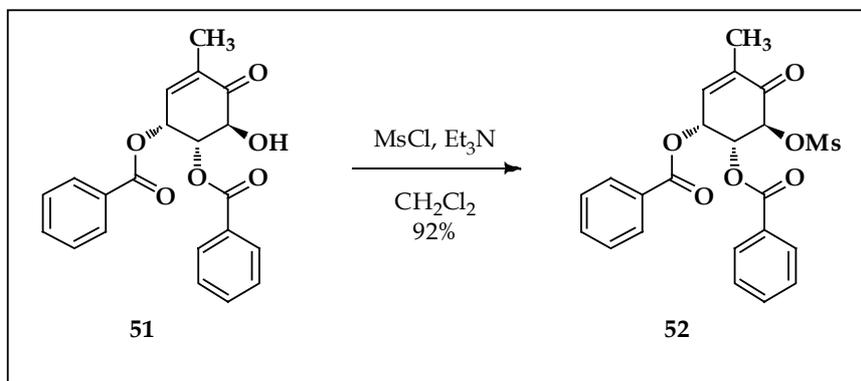
Una vez obtenido el núcleo de enona, la propuesta sintética implica la introducción de un buen grupo saliente en el carbono 6 para lograr el cierre del anillo oxiránico.

En el año 2006 el grupo de Martín reportó una reacción de epoxidación intramolecular con excelentes resultados.¹⁰⁷ Tal como se puede observar en el esquema 65, en esta reacción se protege selectivamente el alcohol primario con cloruro de benzoilo (BzCl) y posteriormente se mesila el alcohol secundario. La metanólisis básica del benzoato da lugar al alcóxido primario que mediante el ataque intramolecular sobre el mesilato da lugar al epóxido objetivo.



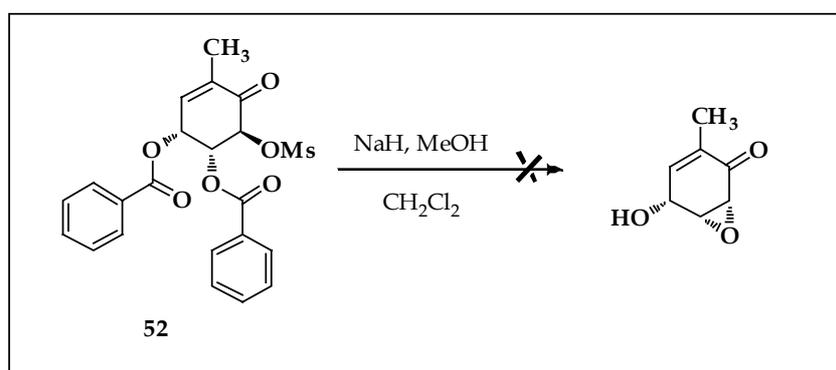
Esquema 65: Reacción de epoxidación reportada por Martín *et al.*

Con estos antecedentes se ensayan las condiciones sobre el compuesto **51**. La introducción del grupo saliente se realiza utilizando cloruro de mesilo y trietilamina en diclorometano a temperatura ambiente. La reacción transcurre sin dificultades con un rendimiento de 92% (esquema 66).



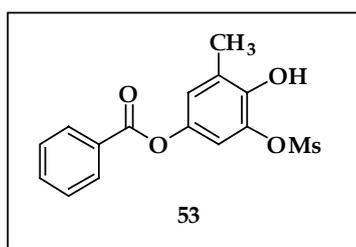
Esquema 66: Mesilación del compuesto **51**.

El compuesto **52** se somete a las condiciones básicas reportadas por Martín con NaH, metanol y diclorometano como disolvente (esquema 67). Sin embargo los resultados obtenidos no fueron los esperados.



Esquema 67: Desprotección y epoxidación *in situ* de **52**.

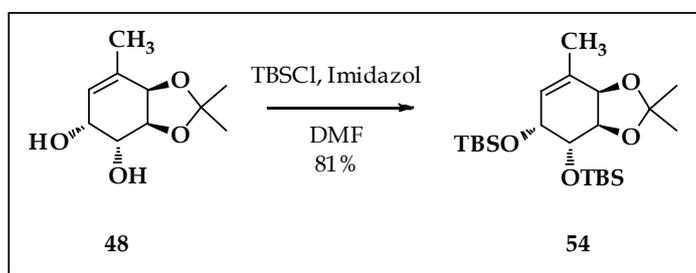
Se observa la formación de un producto de aromatización **53** y otros productos no identificados (esquema 68).



Esquema 68: Producto de aromatización obtenido.

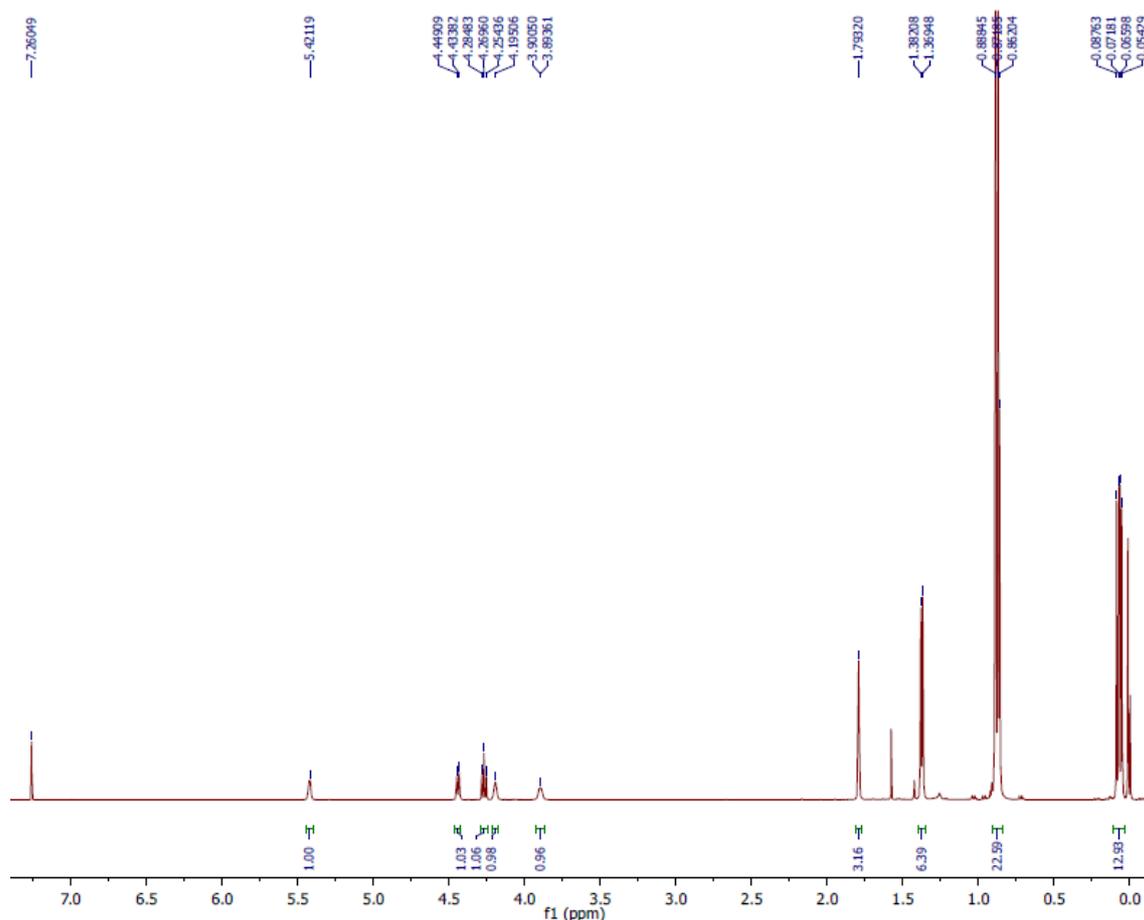
También se ensaya la desprotección de **52** con K_2CO_3 en MeOH en presencia de éter corona (18-c-6), de modo de obtener el producto desprotegido para ensayar posteriormente la epoxidación a través de un ataque nucleofílico intramolecular. Tampoco en este caso se obtienen resultados satisfactorios ya que incluso luego de una semana de reacción sólo se observa descomposición de la muestra.

Debido a las dificultades observadas para la remoción de los benzoatos, se plantea cambiar los grupos protectores por los correspondientes sililéteres. Se recurre al uso de cloruro de *t*-butildimetilsilano (TBSCl) en presencia de imidazol y dimetilformamida como disolvente. En estas condiciones se obtiene el producto disililado **54** con un rendimiento de 81% (esquema 69).

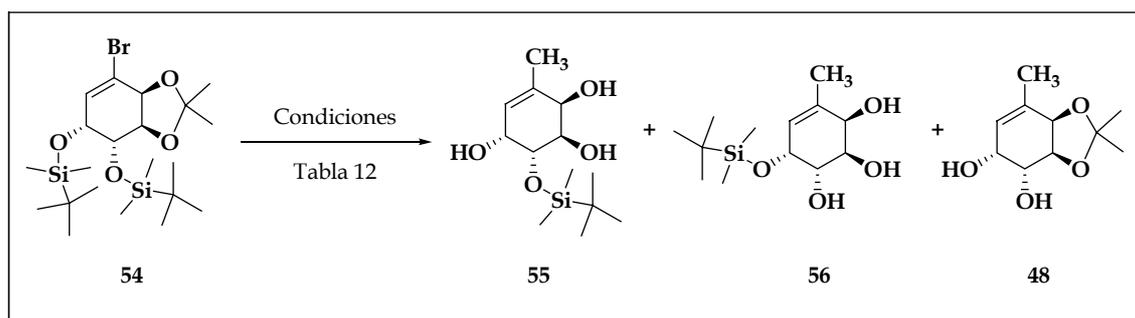


Esquema 69: Obtención del compuesto **54**.

En el espectro de RMN 1H del compuesto **54** (figura 27), se observa la señal correspondiente al protón olefínico a 5.42 ppm, así como las señales de los protones geminales del grupo isopropilideno en 4.44 y 4.27 ppm. Las señales en 4.20 y 3.90 ppm corresponden a los protones geminales de los grupos sililéteres. La señal correspondiente a los protones del grupo isopropilideno se observa en 1.38 ppm así como las señales de los grupos sililéteres a 0.88 y 0.07 ppm.

Figura 27: Espectro de RMN ^1H del compuesto **54**.

Para la remoción del grupo isopropilideno las condiciones ensayadas se resumen en la tabla 12.

Esquema 70: Productos obtenidos en la desprotección de **54**.

Entrada	Reactivos y condiciones	Productos
1	CuCl ₂ , CH ₃ CN, T.A., 3 hs	55 (11%), 56 (28%), 48 (40%)
2	CeCl ₃ , (COOH) ₂ , CH ₃ CN, 4 hs	55, 56, 48 *
3	Resina Dowex 50WX8-100, MeOH, T. A., 48 hs	48 (80%)
4	AcOH 50%, 50 °C hasta reflujo, 24 hs	Recuperación MP

* Rendimientos no determinados.

Tabla 12: Condiciones de desprotección ensayadas sobre el compuesto **54**.

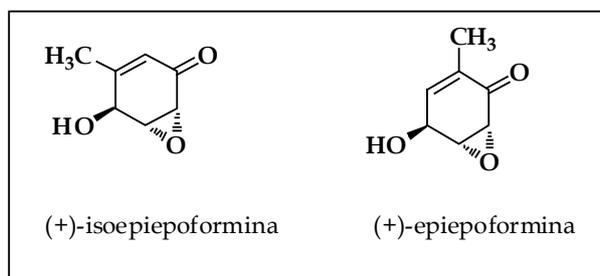
El empleo de cloruro de cobre (II) en acetonitrilo produce la remoción no selectiva de los grupos sililados para dar los productos **55**, **56** y **48** con rendimientos de 11%, 28% y 40% respectivamente (esquema 70). Cuando se emplea cloruro de cerio (III)¹⁰⁸ la reacción se sigue por cromatografía en capa fina y se comparan los resultados con los patrones obtenidos de la reacción con CuCl₂. Luego de transcurridas 4 hs se obtienen los mismos productos reportados anteriormente (**48**, **55** y **56**) por lo cual se discontinuó el ensayo.

El empleo de una resina ácida remueve los grupos sililéteres sin alterar al grupo isopropilideno dando lugar exclusivamente al producto **48** (entrada 3). El compuesto **54** no reacciona con ácido acético luego de 24 hs con calentamiento desde 50 °C hasta reflujo (entrada 4).

En nuestro laboratorio se continúan actualmente los esfuerzos para lograr la selectividad necesaria en dicha desprotección. Algunos de estos resultados se comentan en el capítulo de conclusiones y trabajo futuro.

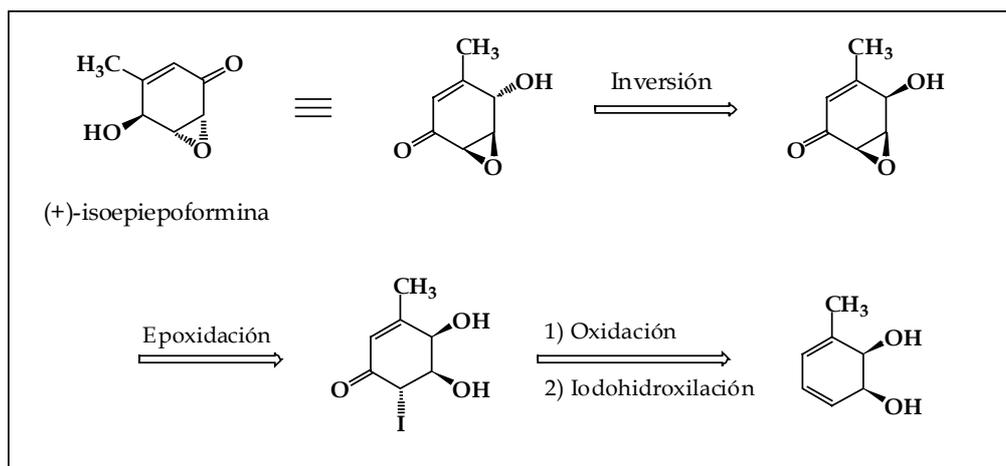
4 Aproximación a la síntesis de (+)-isoepiepoformina

Otra de las epoxienonas naturales reportadas que atrajo nuestro interés es un isómero de posición de (+)-epiepoformina denominada (+)-isoepiepoformina (esquema 71).



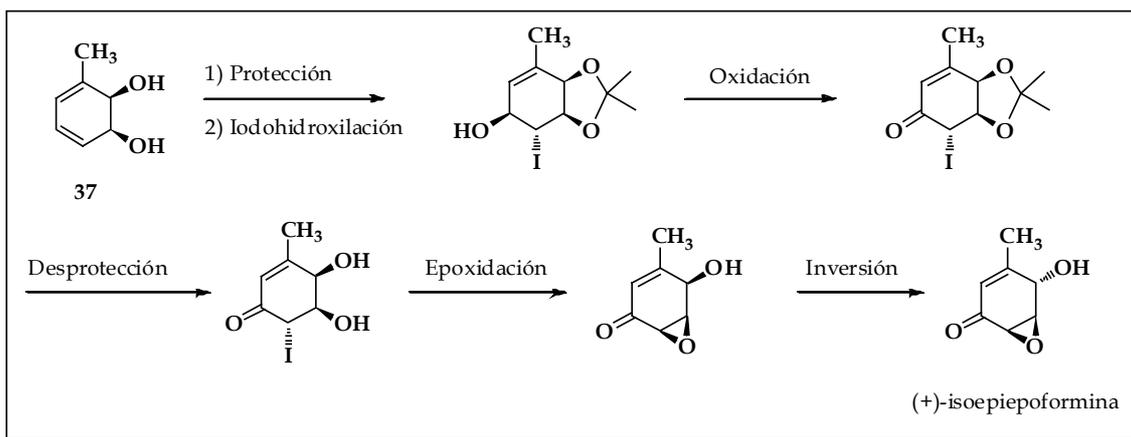
Esquema 71: Relación estructural entre epiepoformina e isoepiepoformina.

El análisis retrosintético propuesto se indica en el esquema 72.



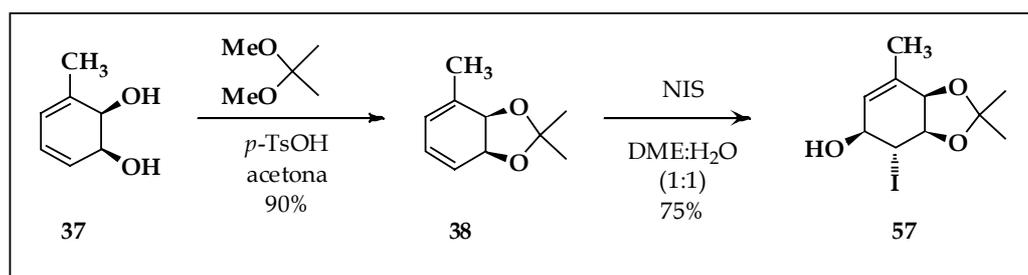
Esquema 72: Análisis retrosintético para la síntesis de (+)-isoepiepoformina.

Este análisis retrosintético comienza con la inversión de la configuración del carbono 4 de (+)-isoepiepoformina mediante la metodología tipo Mitsunobu. El núcleo de epoxienona se planea obtener a través un ataque nucleofílico intramolecular. La oxidación del hidroxilo alílico de la halohidrina correspondiente da lugar al núcleo de enona. Esta halohidrina se obtiene por desconexión de la funcionalización sobre el doble enlace menos sustituido del *cis*-ciclohexadienodiol derivado del tolueno. La estrategia sintética se detalla en el esquema 73.

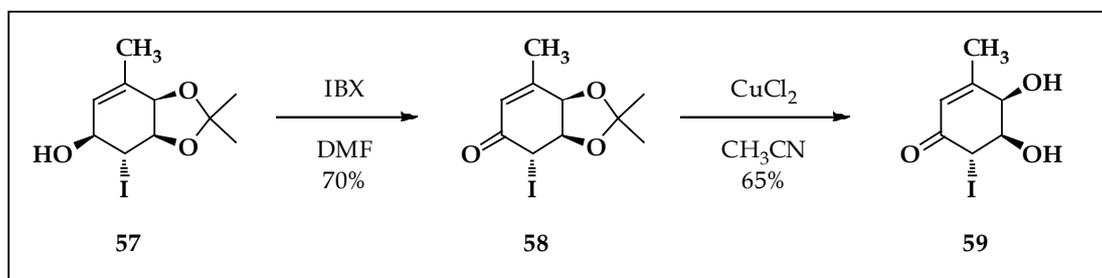


Esquema 73: Estrategia para la síntesis de (+)-isoepepoformina.

La protección del diol **37** se lleva a cabo en forma habitual con dimetoxipropano en presencia de ácido *p*-toluenosulfónico, para dar **38**. El acetónido **38** se hace reaccionar con *N*-iodosuccinimida (NIS) en dimetoxietano: agua (1:1) para dar la halohidrina **57** con 75% de rendimiento según ha sido reportado en la literatura.²¹

Esquema 74: Protección del sistema diol y formación de la halohidrina **57**.

La oxidación del hidroxilo alílico se lleva a cabo con ácido *o*-iodoxibenzoico (IBX) en dimetilformamida para dar **58** con un rendimiento de 70%. El grupo isopropilideno se remueve con CuCl_2 en acetonitrilo para dar la enona **59** con un rendimiento de 65%.

Esquema 75: Preparación de la enona **59**.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **59** (figura 28), se observa la señal correspondiente al protón olefínico a 5.93 ppm, así como las señales de los protones geminales a los hidroxilos en 4.65, y 4.60 ppm. La señal del protón geminal al iodo se observa en 4.31 ppm.

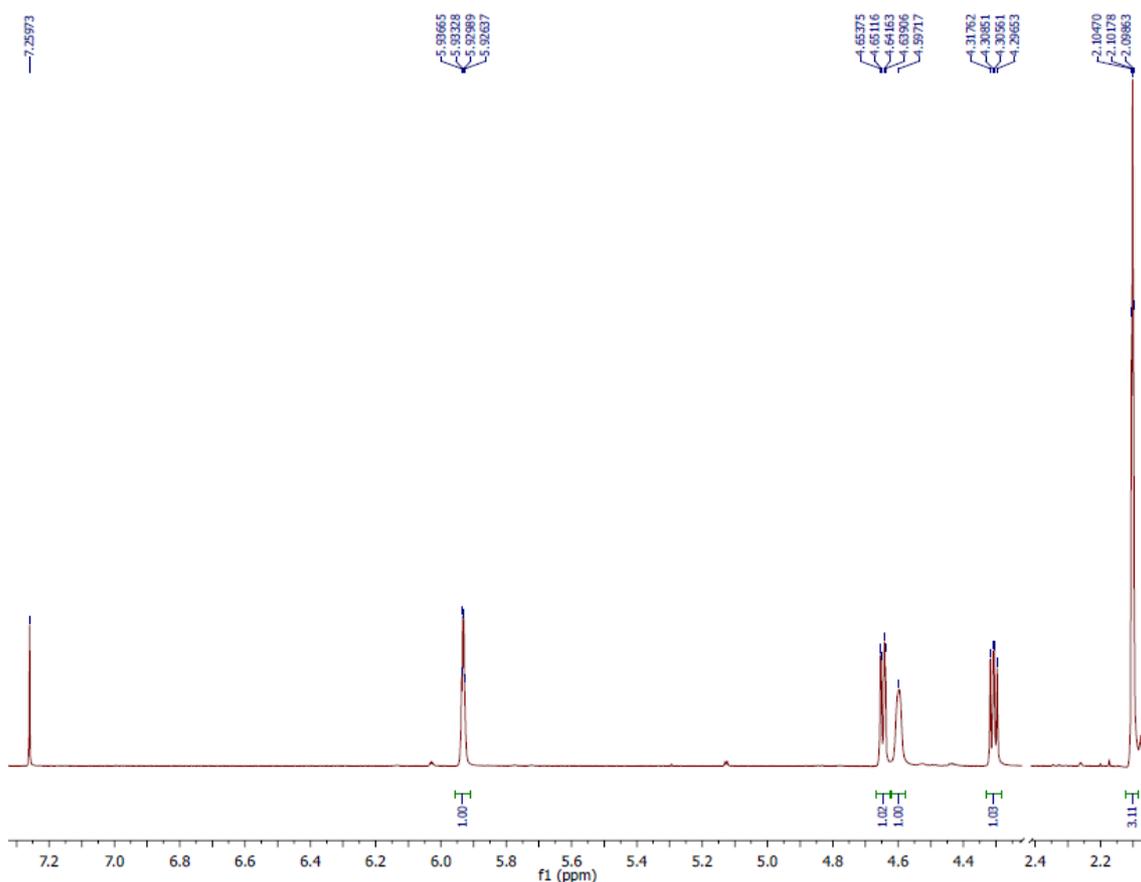


Figura 28: Espectro de RMN ^1H del compuesto **59**.

En el espectro de RMN ^{13}C del compuesto **59** (figura 29), se pueden observar las señales en 191.1, 159.7 y 123.9 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona. Las señales correspondientes a los carbonos de los hidroxilos aparecen a 74.7y 68.9 ppm mientras que la señal del carbono que soporta el halógeno se observa en 28.0 ppm.

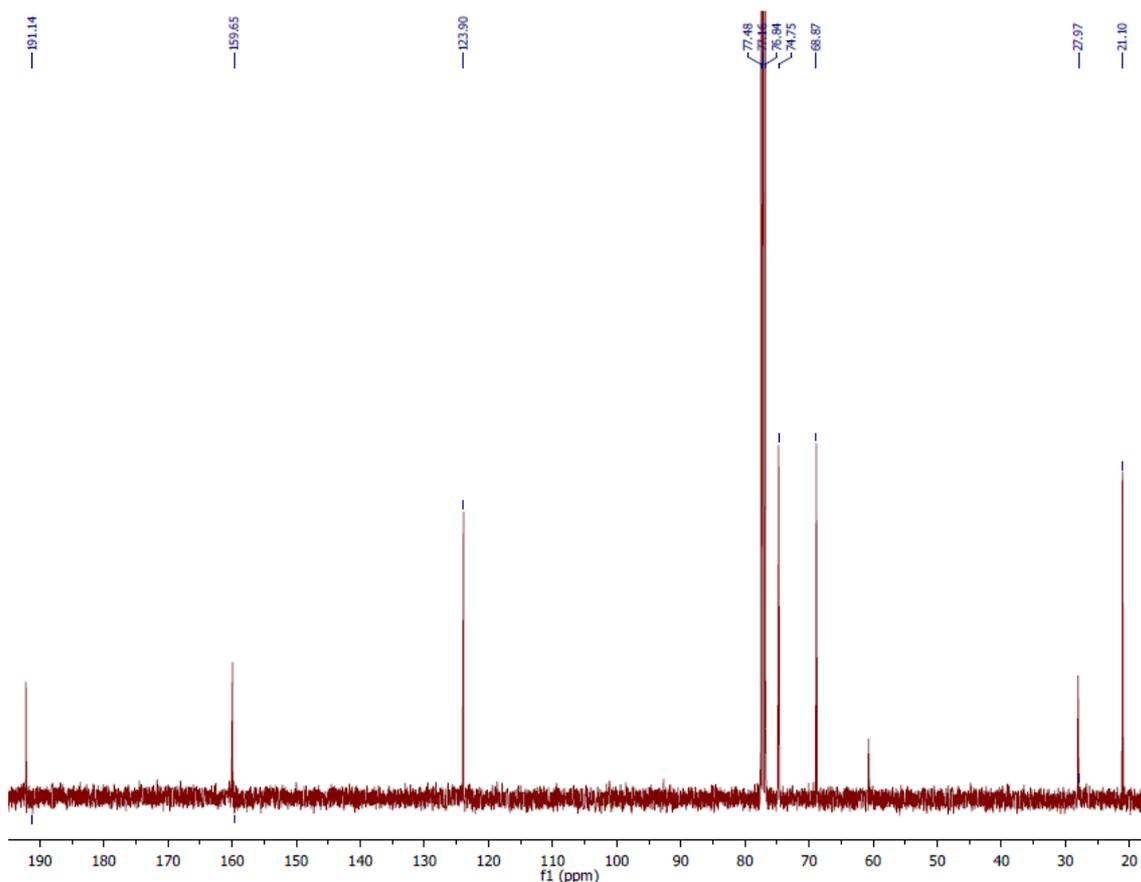
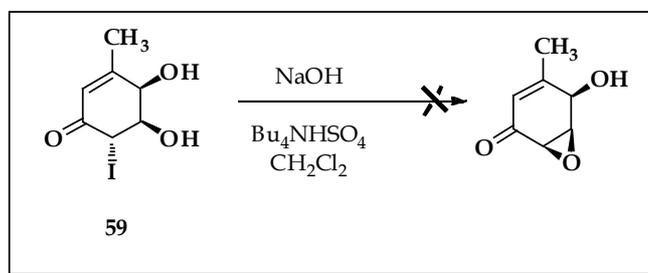


Figura 29: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto **59**.

La enona **59** se somete para el cierre del anillo oxiránico a las condiciones utilizadas previamente, hidróxido de sodio y sulfato ácido de tetrabutilamonio como catalizador de transferencia de fase en diclorometano. Sin embargo en este caso la reacción no se produce. Aún manteniendo la reacción durante un largo período de tiempo (una semana) no se observa formación del producto de interés recuperándose el material de partida.

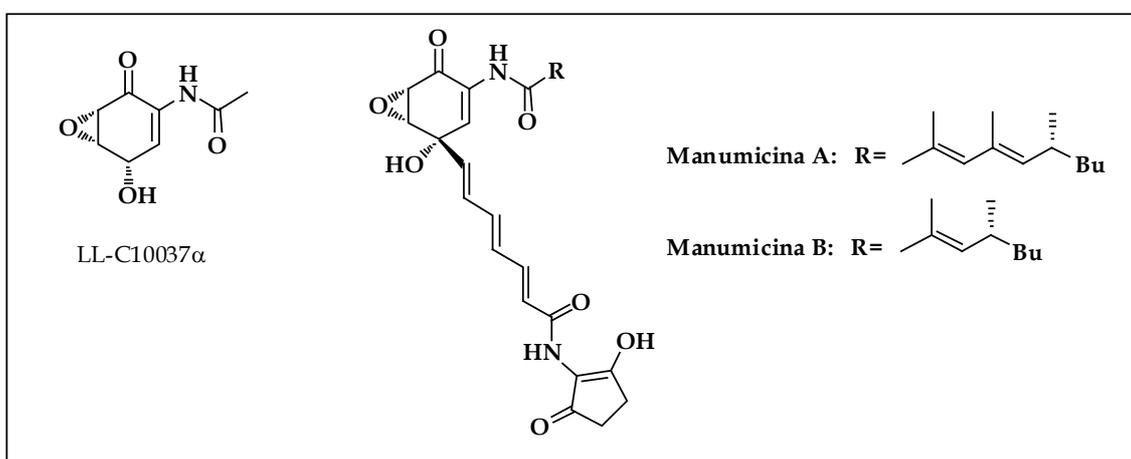


Esquema 76: Epoxidación del compuesto **59**.

Actualmente en nuestro laboratorio se continúan los esfuerzos para lograr el cierre del anillo oxiránico.

5 Aproximación a la síntesis de LL-C10037 α

LL-C10037 α es una epoxienona particularmente diferente a las descritas hasta el momento por presentar una función enamida en su estructura (esquema 77). Esta funcionalización abre un nuevo campo de aplicación para la síntesis de compuestos tipo manumicinas con los cuales se encuentra estrechamente relacionada. Si bien LL-C10037 α presenta similitudes estructurales con estas manumicinas, cabe destacar que no presentan un origen biosintético común.¹⁰⁹

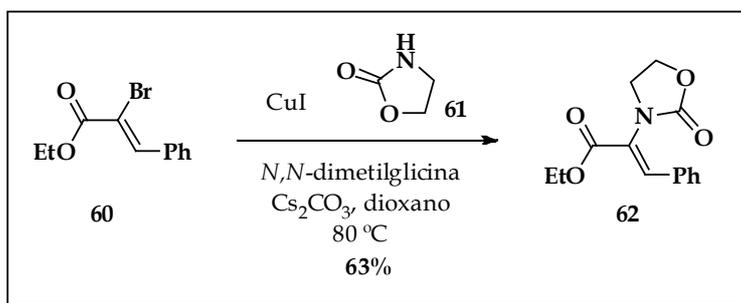


Esquema 77: Relación estructural entre LL-C10037 α y las manumicinas A y B.

Como se indica en el capítulo de antecedentes, algunas de las síntesis reportadas hasta el momento de (-)-LL-C10037 α emplean materiales de partida que ya sustentan el grupo nitrogenado. Nuestra propuesta implica la introducción de la función nitrogenada en etapas tardías de la síntesis. Esto implica obtener el núcleo de epoxienona y luego formar la enamida en posición α de la enona.

La formación de enamidas a partir de α haloenonas se encuentra reportada por el grupo de Ma.¹¹⁰ En esta síntesis ellos proponen el uso de ioduro de cobre (I) como catalizador para el acople de haluros de vinilo con amidas y carbamatos (esquema 78). La reacción de la enona α halogenada **60** con la carbamida **61** procede a 80 °C en dioxano utilizando *N,N*-dimetilglicina como promotor y carbonato de cesio como base,

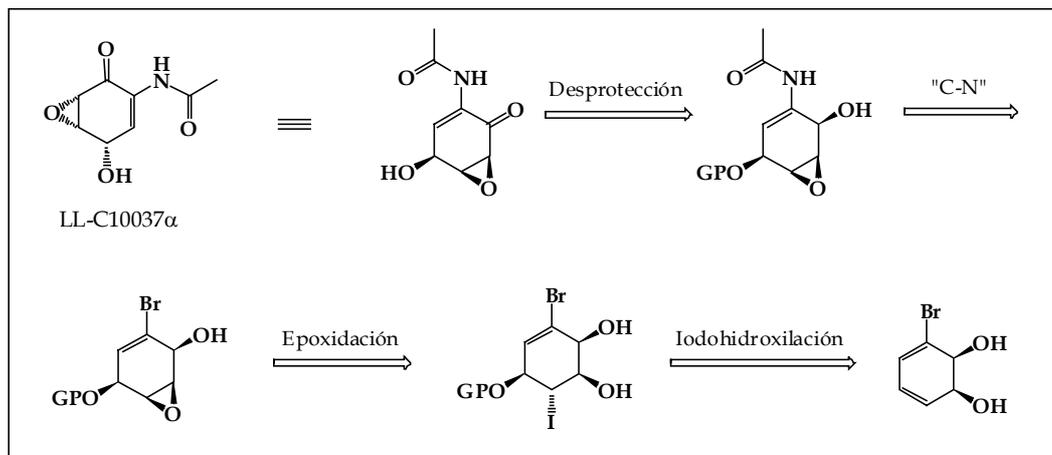
para dar el compuesto **62** con 63% de rendimiento. Cabe destacar que en el producto obtenido no se observa modificación de la geometría del doble enlace.



Esquema 78: Acople de una enona α halogenada con una carbamida.

Este tipo de acople también ha sido descrito para la síntesis de aminoácidos entre otros productos.¹¹¹

Teniendo en cuenta estos antecedentes se plantea el siguiente esquema retrosintético para LL-C10037 α .

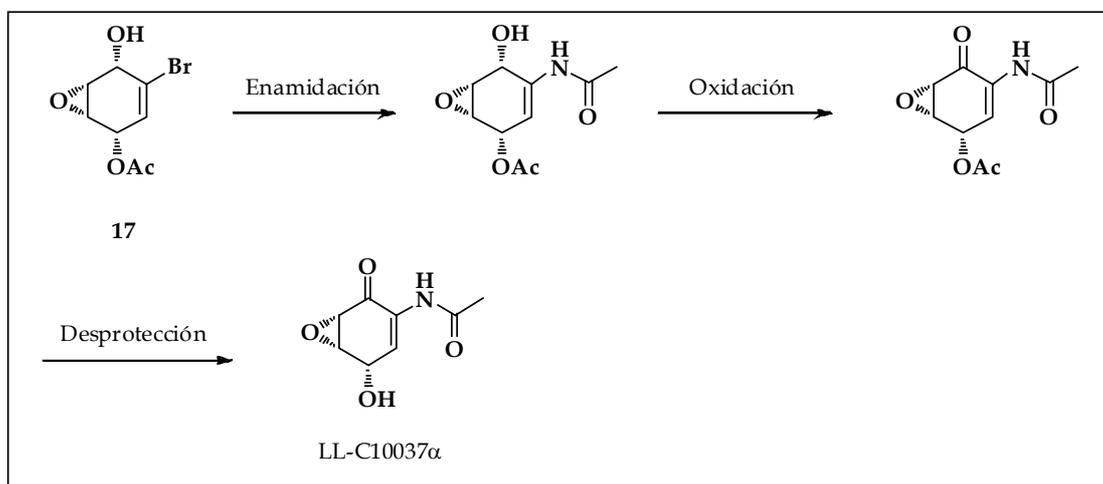


Esquema 79: Análisis retrosintético para la síntesis de LL-C10037 α .

La introducción de la función enamida se puede realizar sobre el epóxido intermedio por enamidación del bromuro vinílico proveniente del núcleo de epoxienona. El cierre del anillo oxiránico se planea mediante un ataque nucleofílico intramolecular de la iodohidrina correspondiente. Dicha iodohidrina se obtiene mediante la aplicación de la metodología de Prévost sobre el *cis*-3-bromociclohexadienodiol de partida según ya se ha descrito previamente (ver sección 2.1, esquema 19).

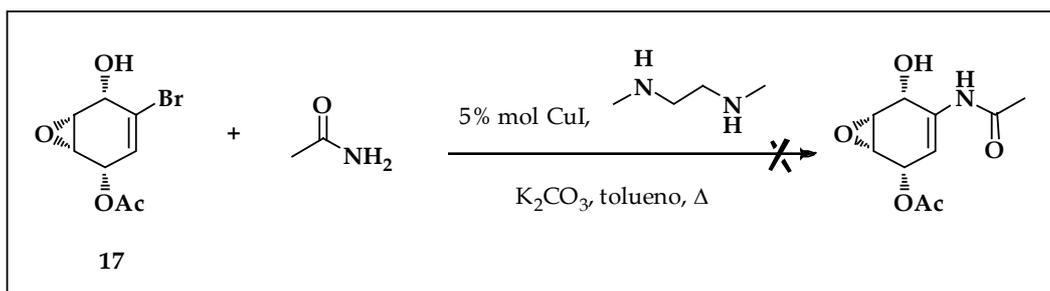
Sobre el epóxido **17** se planea realizar la introducción de la función enamida. Este constituye un excelente material de partida ya que presenta la funcionalización requerida para obtener la molécula objetivo a través de unos pocos pasos de síntesis.

Por lo tanto, la estrategia propuesta para la síntesis de LL-C10037 α a partir de **17** se detalla a continuación (esquema 80).



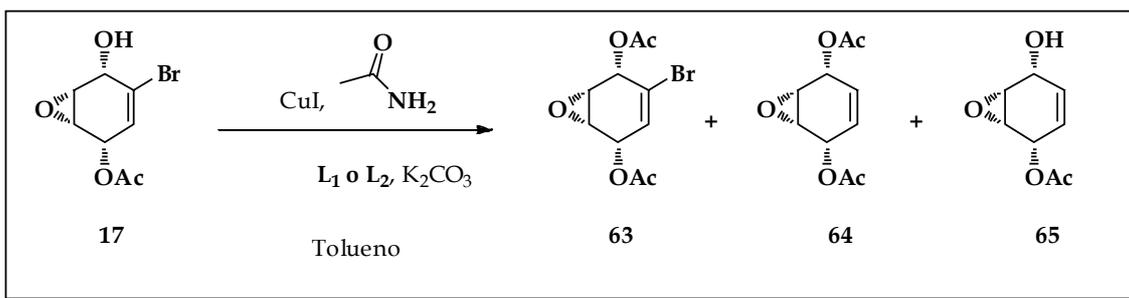
Esquema 80: Estrategia sintética para la preparación de LL-C10037 α a partir de **17**.

Para la introducción de la función enamida sobre el núcleo de epoxienona **17**, inicialmente se ensayan las condiciones reportadas por el grupo de Buchwald en el año 2003.¹¹² La reacción se lleva a cabo en tolueno a reflujo, catalizada por cobre (I) y requiere de la presencia de un ligando nitrogenado y K_2CO_3 como base (Esquema 81).



Esquema 81: Reacción de enamidación de **17**.

Si bien no se obtuvo el producto esperado, los compuestos obtenidos se indican en el esquema 82 y las condiciones utilizadas se presentan en la tabla 13.

Esquema 82: Productos obtenidos de la reacción de enamidación sobre **17**.

Entrada	Reactivos	Disolvente	Base	Productos
1	CuI, Acetamida, L1	tolueno	K ₂ CO ₃	63 (10%), 64 (8%), 65 (5%)
2	CuI, Acetamida, L2	tolueno	K ₂ CO ₃	63 (12%), 64 (10%), 65 (9%)

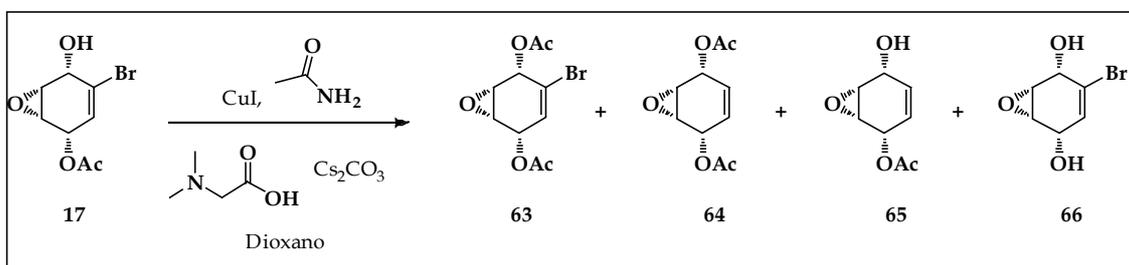
L1: *N,N'*-dietiletilendiamina; L2: *N,N'*-dimetietilendiamina

Tabla 13: Condiciones de enamidación del compuesto **17**.

Cuando el compuesto **17** es sometido a las condiciones reportadas por Buchwald los productos obtenidos son los epóxidos **63**, **64** y **65** (esquema 82).

En el año 2004 el grupo de Ma¹¹⁰ publica una variante de la estrategia de Buchwald en la cual se emplea *N,N*-dimetilglicina como ligando nitrogenado, carbonato de cesio como base y dioxano como disolvente.¹¹⁰ En este trabajo se estableció que la introducción de estas variantes mejora notoriamente los resultados obtenidos previamente por el grupo de Buchwald.

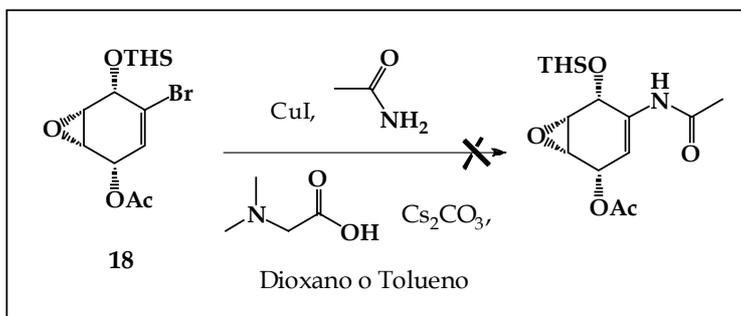
Por lo tanto se decidió ensayar estas condiciones sobre **17** (esquema 83).

Esquema 83: Enamidación del compuesto **17**.

Tampoco en estas condiciones fue posible obtener el producto de interés. Se aislan los mismos compuestos obtenidos anteriormente junto con el producto desacetilado **66**.

Considerando la posibilidad de que la presencia de un hidroxilo libre estuviera interfiriendo con el desarrollo de la reacción se decide ensayar el acople de la función amida sobre **18** (esquema 84).

Las condiciones ensayadas se detallan en la tabla 14.



Esquema 84: Reacción de enamidación sobre **18**.

Entrada	Reactivos	Disolvente	Base	Productos
1	CuI, Acetamida, L3	Tolueno	K ₂ CO ₃	Recuperación MP
2	CuI, Acetamida, L3	Tolueno	Cs ₂ CO ₃	Recuperación MP
3	CuI, Acetamida, L3	Dioxano	Cs ₂ CO ₃	Recuperación MP

L3: *N,N*-dimetilglicina

Tabla 14: Condiciones de enamidación de **18**.

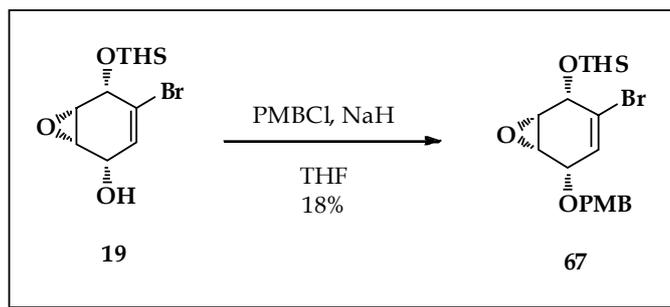
Estas condiciones tampoco permiten obtener el producto objetivo y luego de 24 hs a 110 °C se recupera el compuesto **18** incambiado.

Si bien en este último caso no se obtuvo ningún producto, observando los resultados obtenidos sospechamos que la presencia de grupos acetato y/o hidroxilos libres en la molécula podrían no ser adecuados para el desarrollo de esta reacción, ya que los compuestos aislados son productos o bien de acetilación de hidroxilos libres o bien de desacetilación.

Se procede entonces a la protección del hidroxilo libre del compuesto **19** con un grupo que pueda ser removido selectivamente, de modo de poder realizar posteriormente las modificaciones necesarias al núcleo con el fin de preparar LL-C10037 α .

Para ello se emplea cloruro de *p*-metoxibencilo (PMBCl). La reacción transcurre con un rendimiento de 18% (esquema 85). Este rendimiento no fue optimizado ya que solo se

necesitaban pequeñas cantidades de **67** para ensayar la reacción de acoplamiento con acetamida.



Esquema 85: Protección de **19** con cloruro de *p*-metoxibencilo.

En el espectro de RMN ^1H del compuesto **67** (figura 30), se observa la señal correspondiente al protón vinílico a 6.01 ppm, así como las señales de los protones geminales en 4.68, y 4.60 ppm. La señal del protón geminal al *p*-metoxibencilo se observa en 4.29 ppm así como las señales de los protones aromáticos en 7.29 y 6.89 ppm.

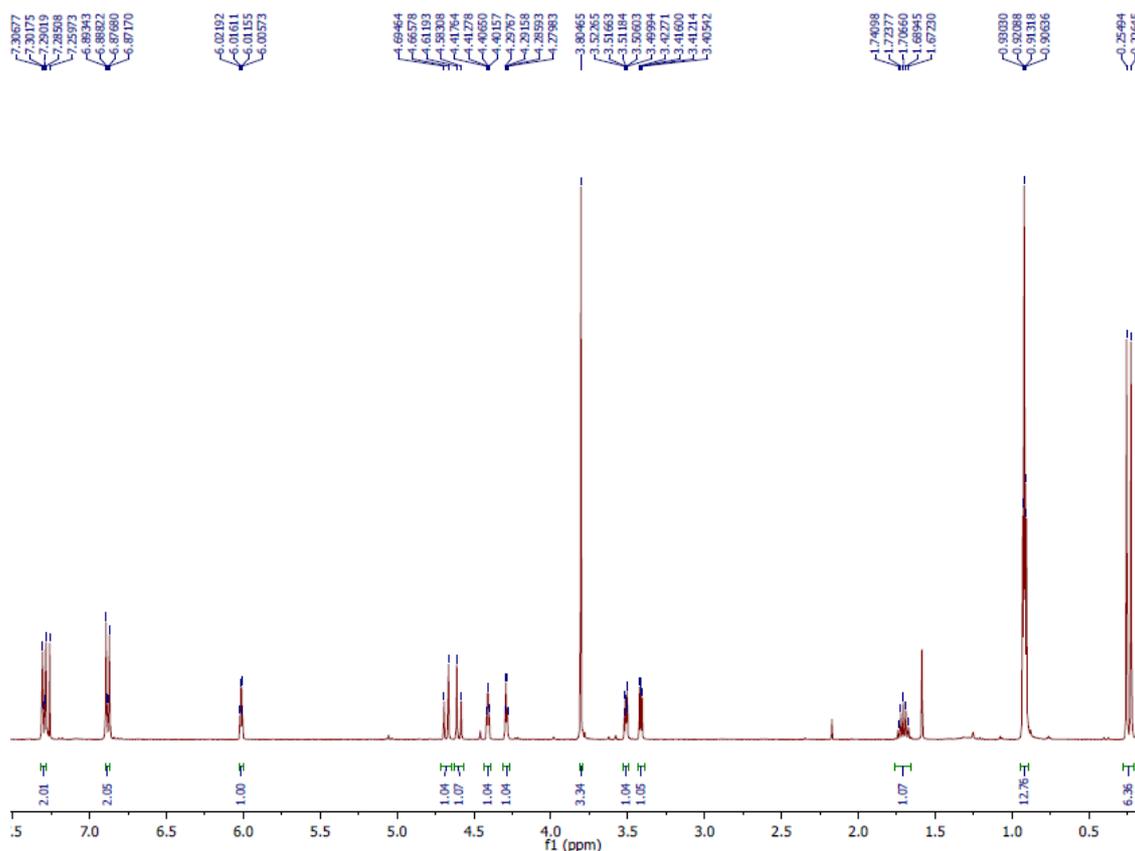
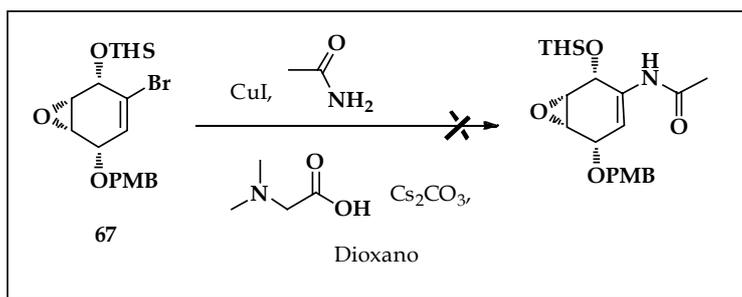


Figura 30: Espectro de ^1H RMN del compuesto **67**.

Una vez obtenido el compuesto **67** se ensaya el acople con acetamida pero tampoco en este caso es posible obtener el producto deseado. Luego de 48 hs a $80\text{ }^\circ\text{C}$ se recupera el material de partida (esquema 86).

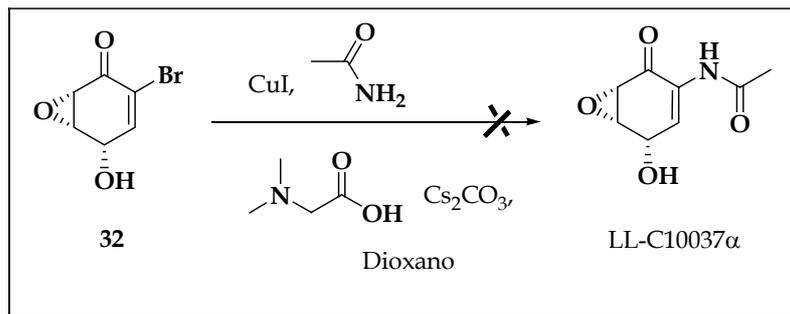


Esquema 86: Reacción de enamidación del compuesto **67**.

Considerando las dificultades encontradas hasta el momento en la introducción de la función enamida se decide intentar el acople sobre la epoxienona **32**, la cual presenta el núcleo estructural de LL-C10037 α . Este acople había sido descartado debido a la

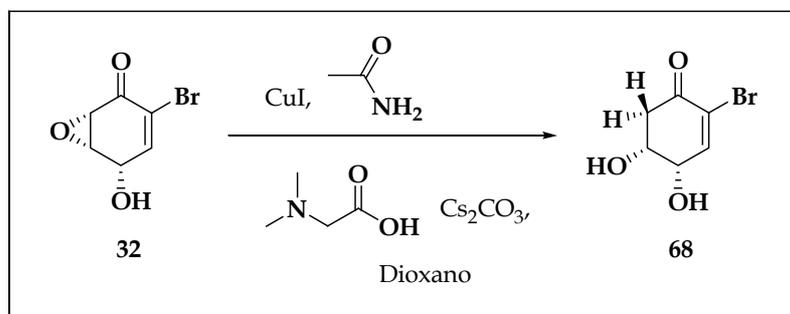
evidencia de aromatización en medio básico y a la presencia de un hidroxilo libre. Igualmente se intenta el acople considerando que es un intermedio avanzado para la síntesis total de LL-C10037 α .

La epoxienona **32** se somete a las condiciones de Ma ensayadas previamente para el acople con acetamida (esquema 87). Lamentablemente tampoco fue posible obtener el producto esperado.



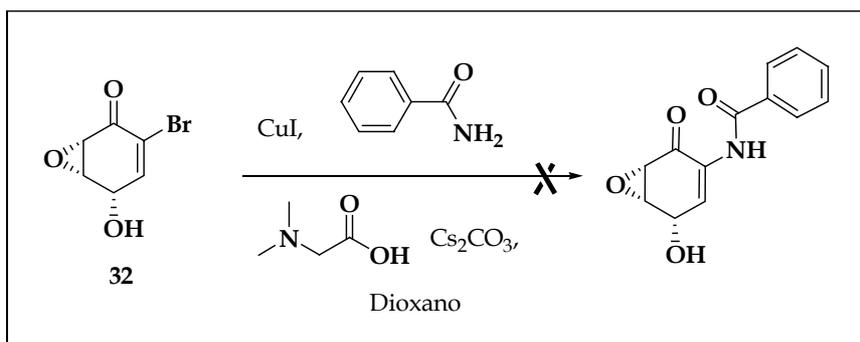
Esquema 87: Reacción de enamidación del compuesto **32**.

El producto aislado es la enona **68**, constatándose la apertura del anillo oxiránico.



Esquema 88: Formación del producto **68**.

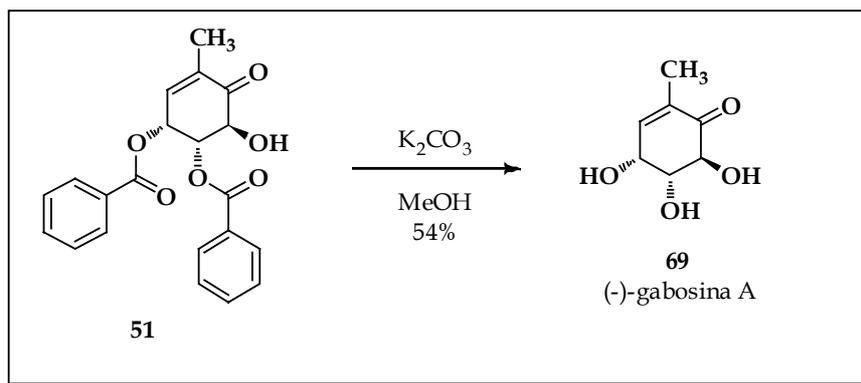
También se intenta la reacción de la epoxienona **32** con benzamida según el esquema 89. Tampoco en este caso fue posible obtener el producto deseado, sino solo productos de descomposición.

Esquema 89: Reacción de enamidación del compuesto **32**.

Lamentablemente, todos los esfuerzos sintéticos realizados no permitieron obtener intermedios avanzados para la síntesis de LL-C10037 α . El estudio de nuevas metodologías para la síntesis de ésta epoxienona ha quedado planteado como parte del trabajo a realizar en el futuro.

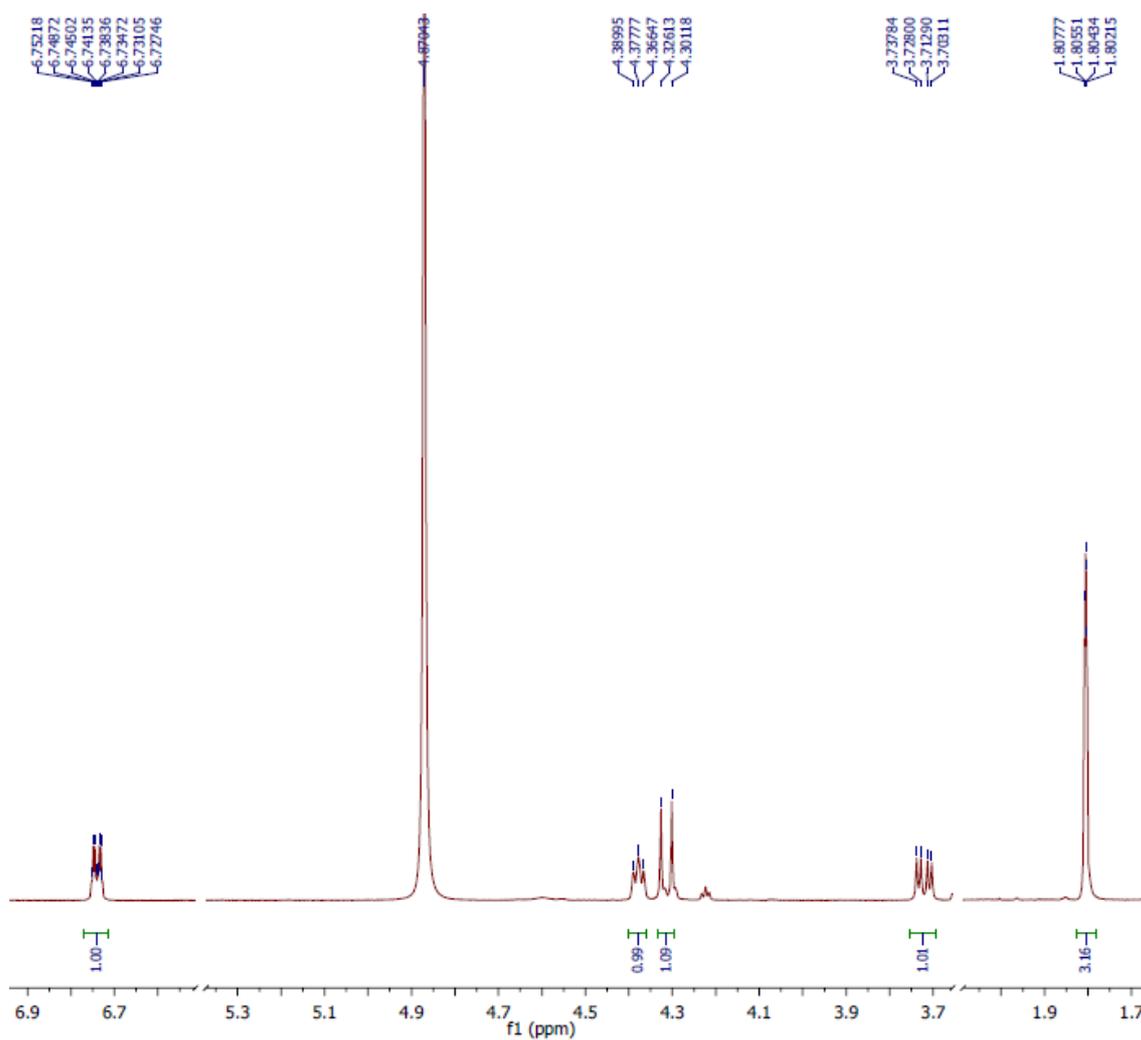
6 Síntesis de (-)-gabosina A

Si bien la (-)-gabosina A no pertenece al grupo de epoxienonas quirales naturales, presenta similitudes estructurales con las mismas, por lo cual nos interesamos en su preparación. A partir del intermedio **51** previamente preparado (esquema 64) se remueven los grupos benzoato con K_2CO_3 en MeOH obteniendo (-)-gabosina A con 54% de rendimiento (esquema 90).



Esquema 90: Preparación de (-)-gabosina A.

En el espectro de RMN 1H del compuesto **69** (figura 31), se observa la señal correspondiente al protón en β del sistema enona a 6.74 ppm, así como las señales de los protones geminales de los hidroxilos en 4.38, 4.31 y 3.72 ppm. Las señales de los protones en posición 5 y 6 presentan entre ellos una constante de acoplamiento de 10.0 Hz lo cual indica la disposición *anti* entre ellos.¹⁰²

Figura 31: Espectro de RMN ^1H del compuesto 69.

En el espectro RMN ^{13}C de (-)-gabosina A (figura 32), se observan las señales en 200.5, 143.0 y 136.9 ppm correspondientes a los carbonos del sistema enona. Las señales correspondientes a los carbonos de los hidroxilos aparecen a 75.1, 73.9 y 67.4 ppm y el metilo en 15.6 ppm. Los valores de desplazamientos químicos observados se corresponden con los valores reportados para el producto natural.⁸³

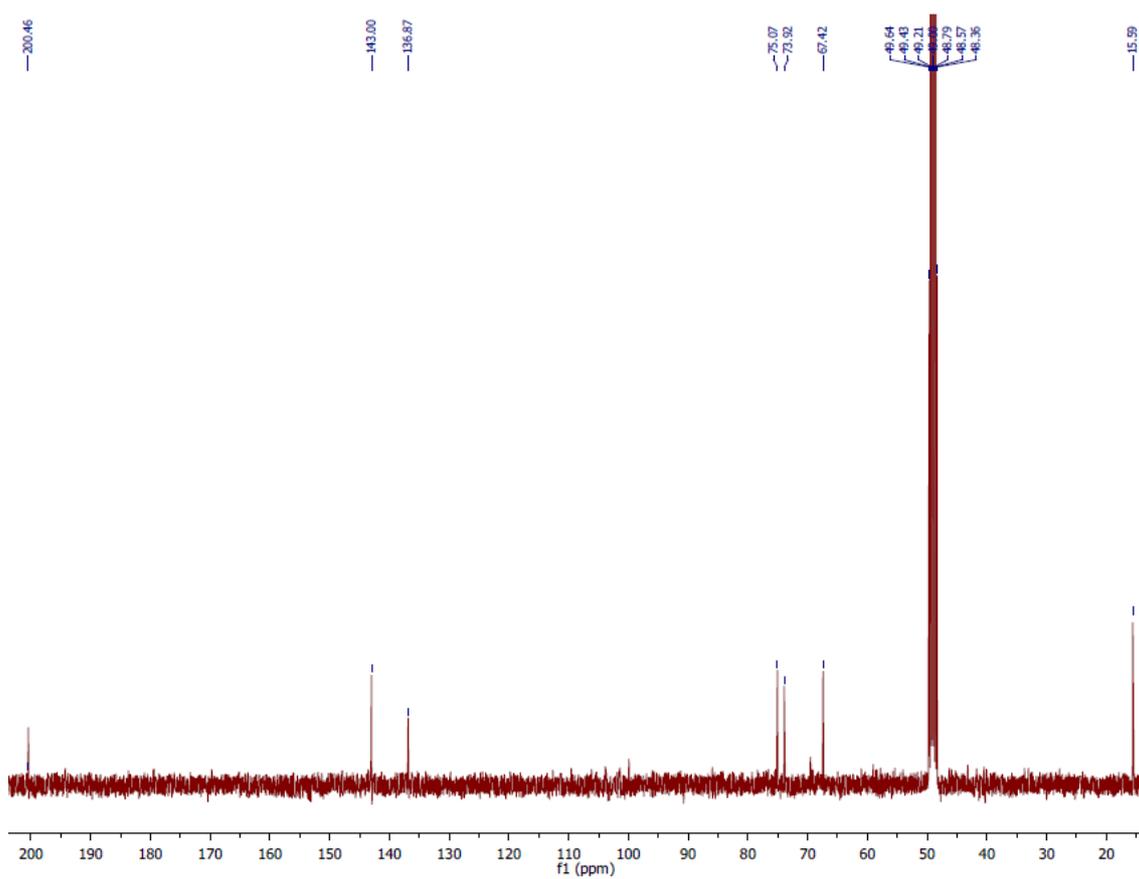


Figura 32: Espectro de RMN ^{13}C del compuesto 69.

La síntesis de (-)-gabosina A se realiza en 6 pasos a partir del *cis*-3-metilciclohexadienodiol, constituyendo la primer síntesis total de (-)-gabosina A a partir de este material de partida.¹⁰⁶

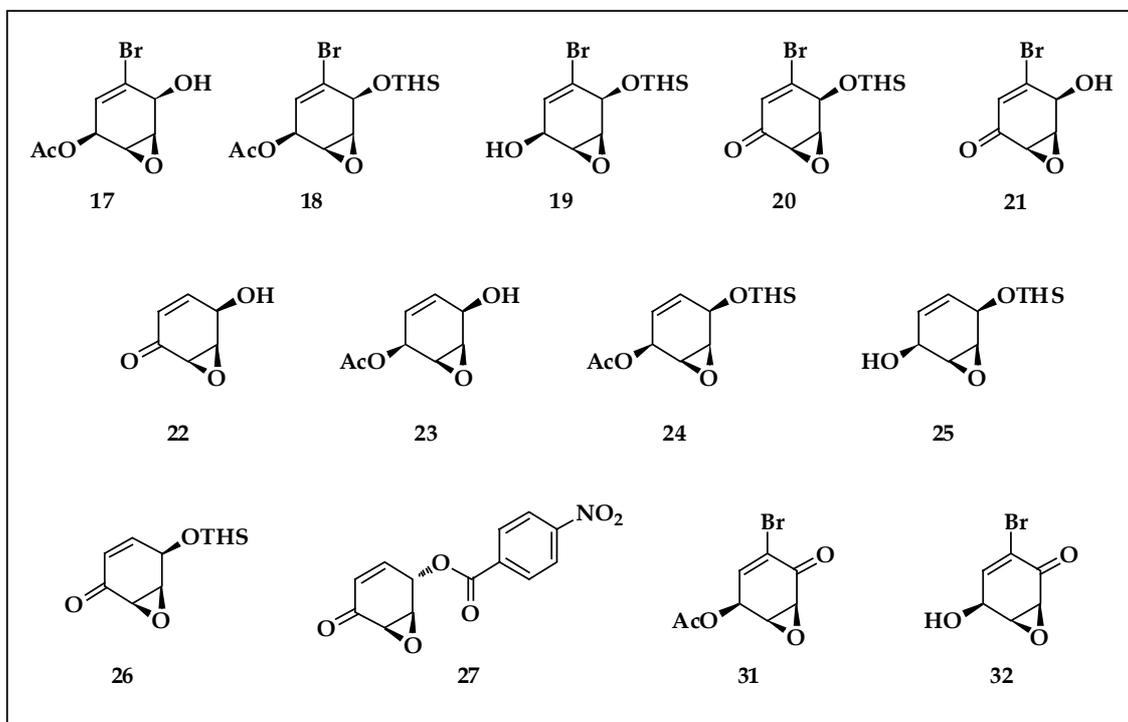
7. Determinación de actividad leishmanicida de epoxienonas.

En esta sección se presentan los resultados obtenidos durante una pasantía de tres meses realizada en el Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de Madrid bajo la dirección del Dr. Luis Rivas.

El grupo del Dr. Rivas cuenta con una amplia experiencia en el estudio de mecanismos de acción de compuestos antileishmaniásicos. Desde el año 1994 se enfoca hacia el estudio de nuevas herramientas quimioterapéuticas y su mecanismo de acción, con un especial énfasis en aquellas que actúan perturbando el metabolismo energético del parásito, ya sea a través de la permeabilización de la membrana plasmática, como inhibiendo la principal fuente de ATP en *Leishmania spp.*, la fosforilación oxidativa. Con este propósito, se han diseñado herramientas rápidas de screening basadas en la medida de los niveles intracelulares de ATP libre, en tiempo real y con parásitos vivos, de *Leishmania* transfectada con una forma citoplásmica de la luciferasa.¹¹³

7.1 Determinación de compuestos activos frente a *Leishmania spp.*

Los compuestos sobre los cuales se ensayó la actividad leishmanicida se indican en el esquema 91.



Esquema 91: Compuestos ensayados para determinación de actividad leishmanicida.

Inicialmente se llevó a cabo el estudio sistemático de la inhibición de la proliferación en promastigotes y amastigotes axénicos de *L. donovani* y *L. pifanoi*, respectivamente, medida mediante inhibición de la reducción de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT).¹¹⁴

Se comienza realizando un ensayo de viabilidad en amastigotes de *L. pifanoi*, la forma de interés clínico, a una concentración de 50 μM como "cut off" inicial ya que ésta se considera la concentración mínima aceptable para seguir adelante con los estudios.

Se incuban los parásitos a 32 °C con los compuestos durante 4 hs a una densidad celular de 20×10^6 cél/mL. Posteriormente se colocan los parásitos que estuvieron en contacto con los compuestos en medio nuevo y se incuban a la misma temperatura durante 5 días. Luego se mide la proliferación mediante la reducción de MTT. Los resultados obtenidos se muestran en la figura 33.

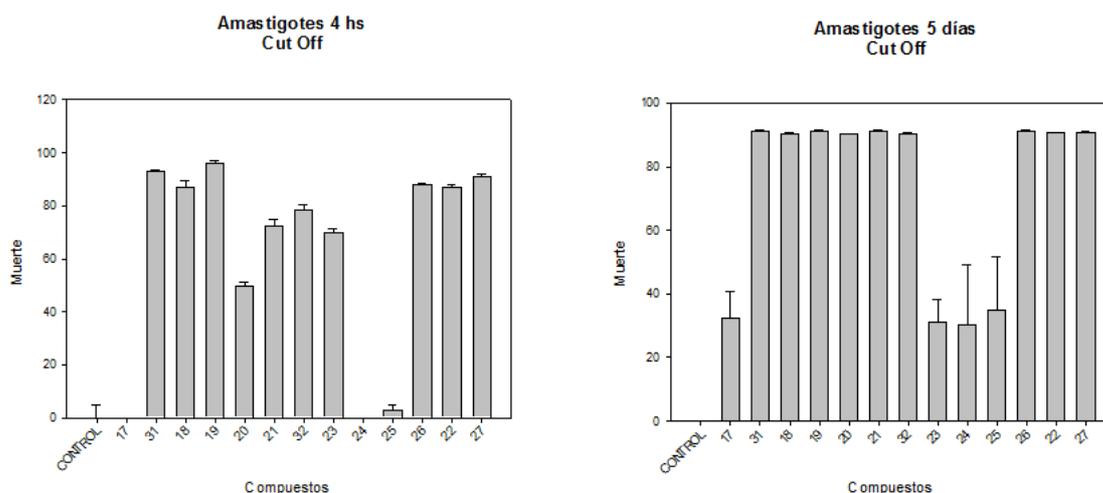


Figura 33: Ensayo de viabilidad (4 hs) y proliferación (5 d) en amastigotes de *L. pifanoi*.

De este estudio se concluye que 9 de los 13 compuestos ensayados son capaces de producir la muerte de más del 80% de las leishmanias.

Posteriormente se procede a hacer el estudio de viabilidad sobre promastigotes de *L. donovani*, la forma infectiva del parásito, también realizando un cut off a 50 μ M por los mismos motivos expuestos para amastigotes. Para ello se procede a la incubación de los parásitos a 27 °C con los compuestos durante 4 hs a una densidad celular de 20×10^6 cél/mL. Luego de transcurridas 4 hs se colocan los parásitos que estuvieron en contacto con los compuestos en medio nuevo y se incuban a la misma temperatura durante 72 hs. Los resultados obtenidos se indican en la figura 34.

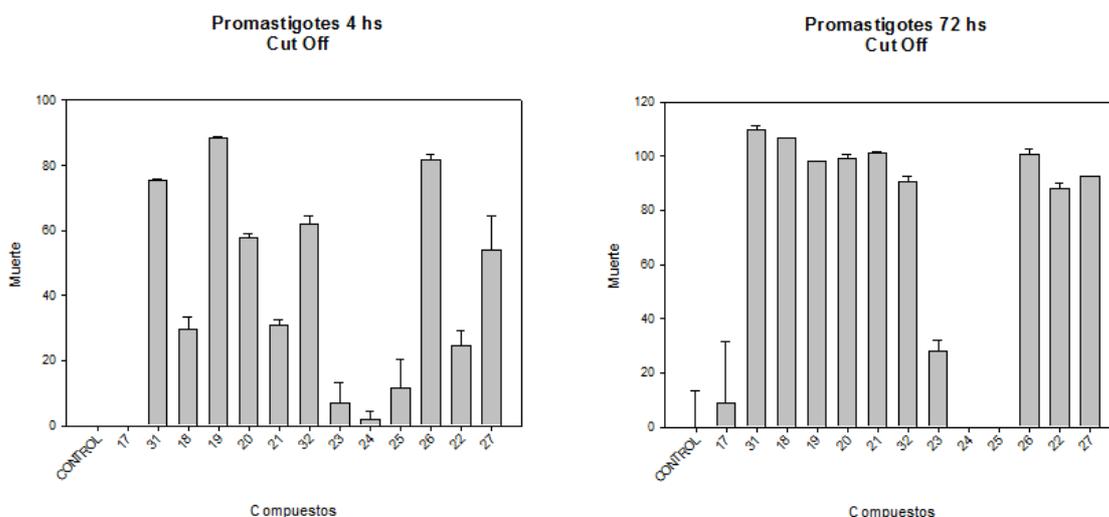


Figura 34: Ensayo de viabilidad (4 hs) y proliferación (72 hs) de promastigotes de *L. donovani*.

De este ensayo se concluye que los mismos 9 compuestos tienen actividad leishmanicida sobre la forma promastigote del parásito. Los compuestos que resultaron activos tanto sobre amastigotes como sobre promastigotes son 18, 19, 20, 21, 22, 31, 32, 26 y 27.

Una vez seleccionados los compuestos activos se procede a la determinación de sus LC50 (concentración letal para el 50% de la población). Para ello se ensaya un rango de concentraciones de estos compuestos, repitiendo los procedimientos de incubación para amastigotes y promastigotes.

Para amastigotes los resultados obtenidos se muestran en la figura 35.

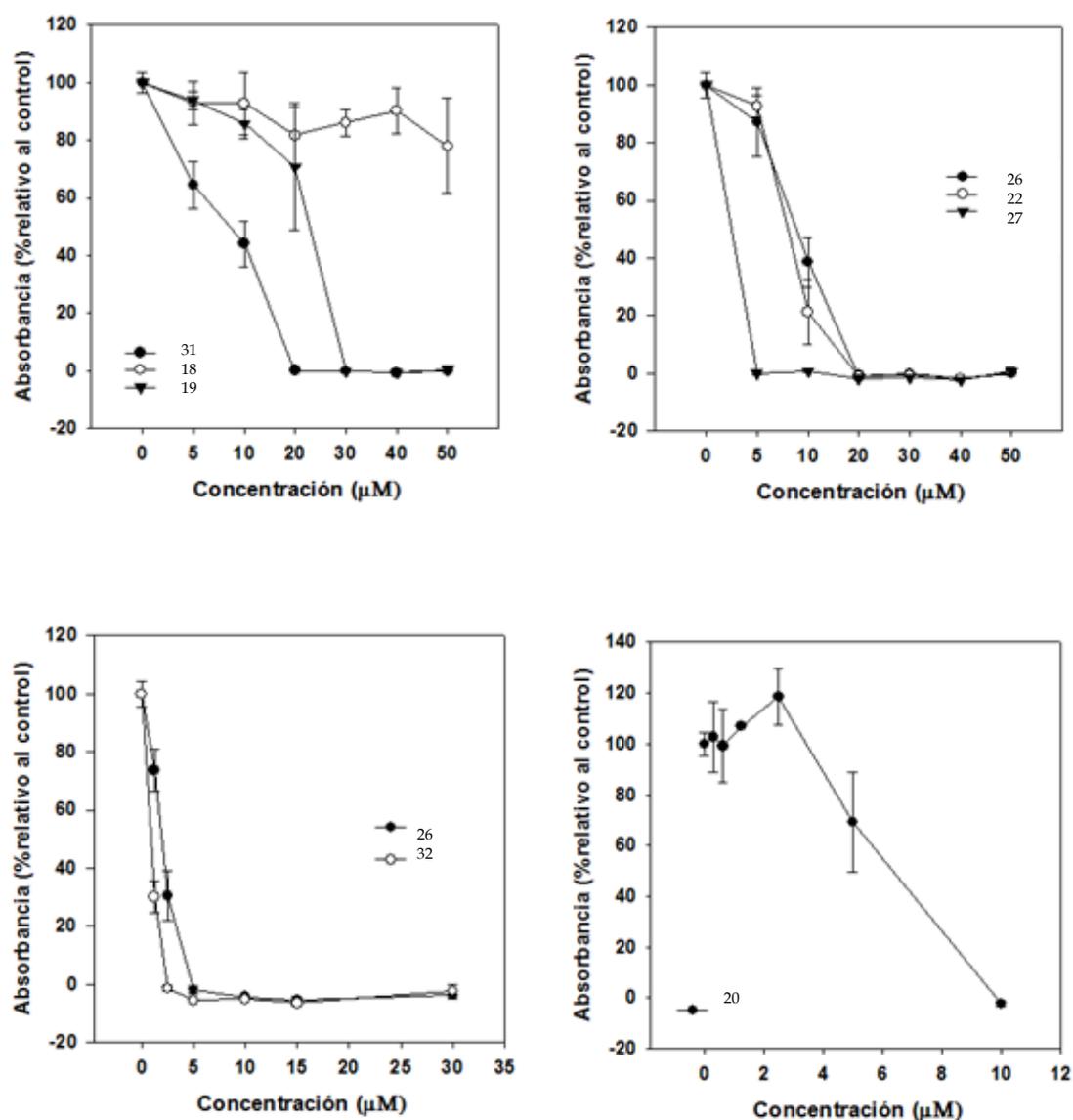


Figura 35: Determinación de LC50 sobre amastigotes de *L. pifanoi* de los compuestos activos.

Los resultados para promastigotes se muestran en la figura 36.

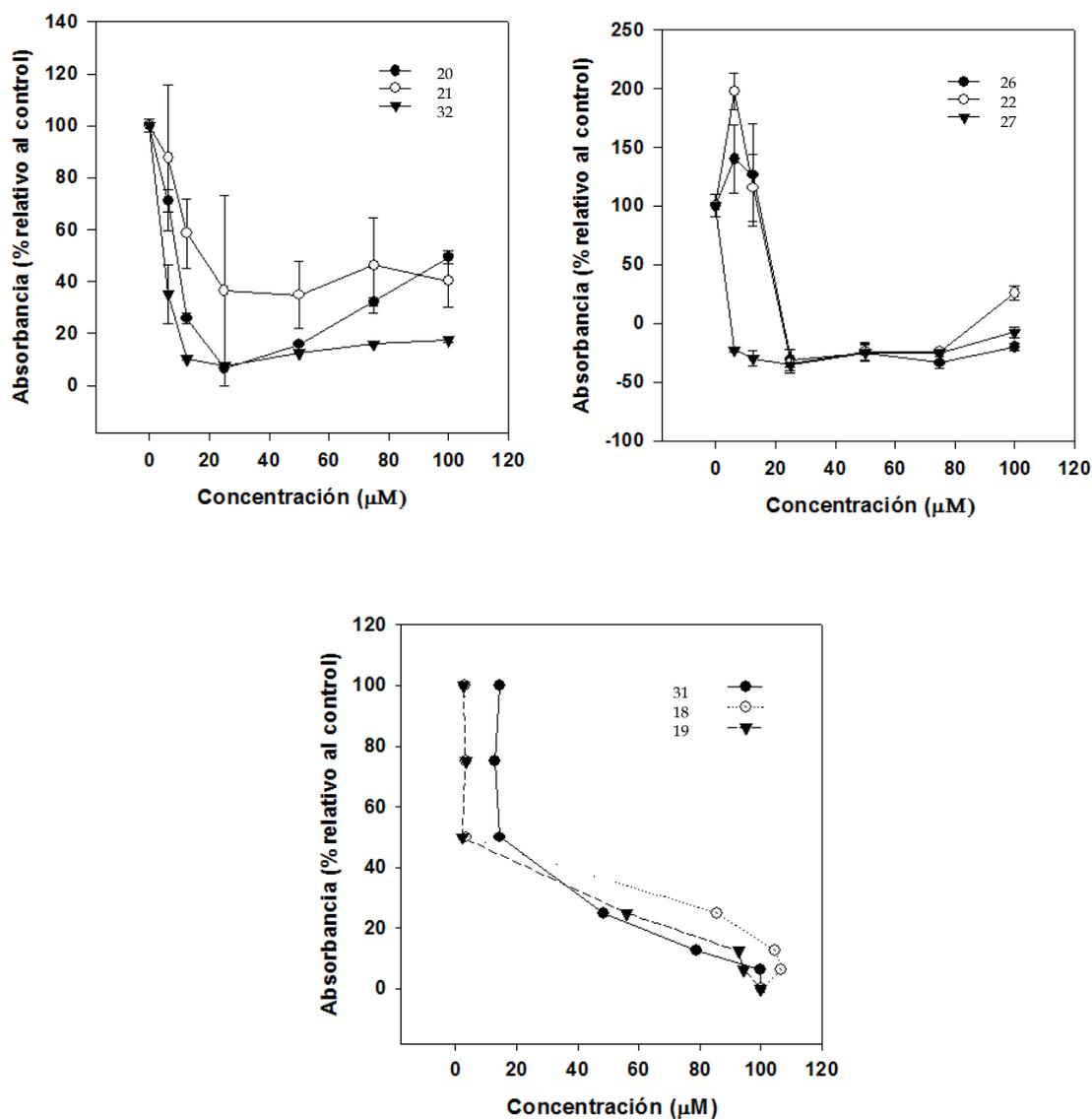


Figura 36: Determinación de LC50 sobre promastigotes de *L. donovani* de los compuestos activos.

Con los datos obtenidos se determinaron las LC50 de los compuestos activos. Los valores se presentan en la tabla 15. Cabe mencionar que el compuesto 18 fue descartado por presentar valores no concordantes con los obtenidos en el ensayo de proliferación.

Compuesto	Amatigotes <i>L. pifanoi</i>	Promastigotes <i>L. donovani</i>
	<i>LC50</i> (μM)	<i>LC50</i> (μM)
19	$\cong 23$	26.2 ± 0.87
20	5.4 ± 0.13	8.6 ± 0.15
21	1.8 ± 0.01	9.76 ± 1.37
22	7.9 ± 0.12	N.D.
26	8.9 ± 0.29	N.D.
27	0.4 ± 0.06	2.88 ± 0.17
31	8.17 ± 1.5	21.0 ± 1.7
32	0.4 ± 0.004	4.47 ± 0.48
Miltefosina		0.31^{115}

N.D.: No determinado

Tabla 15: *LC50* de los compuestos activos sobre *Leishmania*.

Los compuestos **20**, **27** y **32** son los compuestos que presentaron mayor actividad leishmanicida.

Simultáneamente, se realizó un estudio de toxicidad en células de estirpe macrofágica murina (RAW 264.7). Para esto se incuban los macrófagos a 37 °C con los compuestos durante 4 hs a una densidad celular de 10^5 cél/mL. Luego de transcurridas 4 h el medio de incubación con los productos es retirado y reemplazado por medio de cultivo fresco donde se incuban a la misma temperatura durante 72 hs. Los valores de toxicidad (*LC50*) obtenidos para macrófagos se presentan en la tabla 16.

Compuesto	RAW 264.7 LC50
19	13.7 ± 1.87
20	30.6 ± 2.4
21	1.45 ± 0.69
22	3.3 ± 0.96
26	2.5 ± 0.44
27	3.05 ± 0.001
31	5.6 ± 0.2
32	4.88 ± 1.1

Tabla 16: LC50 en macrófagos de los compuestos con actividad leishmanicida.

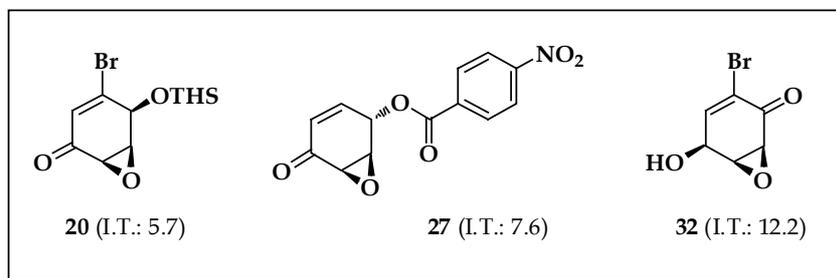
Los compuestos que presentaron menor toxicidad sobre macrófagos son **19** y **20**. Con los datos de toxicidad, tanto en parásitos como en macrófagos, se elaboró el índice terapéutico (I.T. = LC₅₀ en macrófagos/LC₅₀ en leishmanias) que se presentan en la tabla 17. Ésta herramienta nos permite determinar cuáles son los compuestos con mejores valores de actividad y menor toxicidad.

Compuesto	Índice terapéutico (LC ₅₀ en macrófagos/LC ₅₀ en leishmanias)	
	Amastigotes <i>L. pifanoi</i>	Promastigotes <i>L. donovani</i>
19	0.6	0.5
20	5.7	3.6
21	0.8	0.1
22	0.4	N.D.
26	0.3	N.D.
27	7.6	1.1
31	0.7	0.3
32	12.2	1.1

N.D.: No determinado

Tabla 17: Índice terapéutico de los compuestos ensayados.

Según los datos obtenidos identificamos 3 compuestos candidatos a ser estudiados en profundidad debido a la capacidad leishmanicida y baja toxicidad sobre macrófagos que presentan. Estos son los compuestos **20**, **27** y **32**.



Esquema 92: Compuestos con mayor índice terapéutico.

7.2 Estudio del mecanismo de acción de epoxienonas sobre *Leishmania spp.*

Para el estudio del mecanismo de acción de estos compuestos se realizaron una serie de ensayos desarrollados en el laboratorio del Dr. Luis Rivas. Las principales dianas terapéuticas para *Leishmania* son: la membrana plasmática y el metabolismo energético. Por lo tanto se procedió a estudiar ambos aspectos.

7.2.1 Estudios sobre la membrana plasmática de *Leishmania spp.*

Inicialmente se estudió la capacidad de los compuestos de alterar la integridad de la membrana plasmática. Para ello se emplea la sonda fluorescente SYTOX Green, una sonda de alto peso molecular (600 kD), incapaz de atravesar la membrana plasmática intacta, con gran afinidad por ácidos nucleicos y que presenta la propiedad de fluorescer al unirse al ADN. El fundamento de este estudio se basa en que si los compuestos son capaces de permeabilizar la membrana plasmática, produciendo lesiones de tamaño suficiente como para que a través de ellas penetre el SYTOX, la sonda accederá al interior celular, se unirá a los ácidos nucleicos y emitirá fluorescencia a 524 nm al excitarse a una longitud de onda de 504 nm. Registrando la variación de la fluorescencia con un fluorímetro puede determinarse si el mecanismo de acción de los compuestos ensayados es a través de la disrupción de la membrana plasmática de *Leishmania*. Este ensayo se realiza en placas de ELISA opacas de color negro para que no difunda la fluorescencia de un pocillo a otro.

El ensayo consta de tres etapas:

- 1) Se determina la fluorescencia de los parásitos en presencia de SYTOX (debería ser cero si las células se encuentran en buen estado)
- 2) Se añaden los compuestos a ensayar y se dejan en contacto los parásitos con los compuestos por 20 minutos. Durante este tiempo se registra la fluorescencia de la muestra.
- 3) Se agrega a todos los pocillos Tritón X-100 al 0.1%, un tensoactivo capaz de romper la membrana plasmática de las células. De este modo se obtiene el 100% de fluorescencia necesario para la normalización de los datos.

Los valores de fluorescencia obtenidos para una concentración por encima del LC50 se indican en la figura 37.

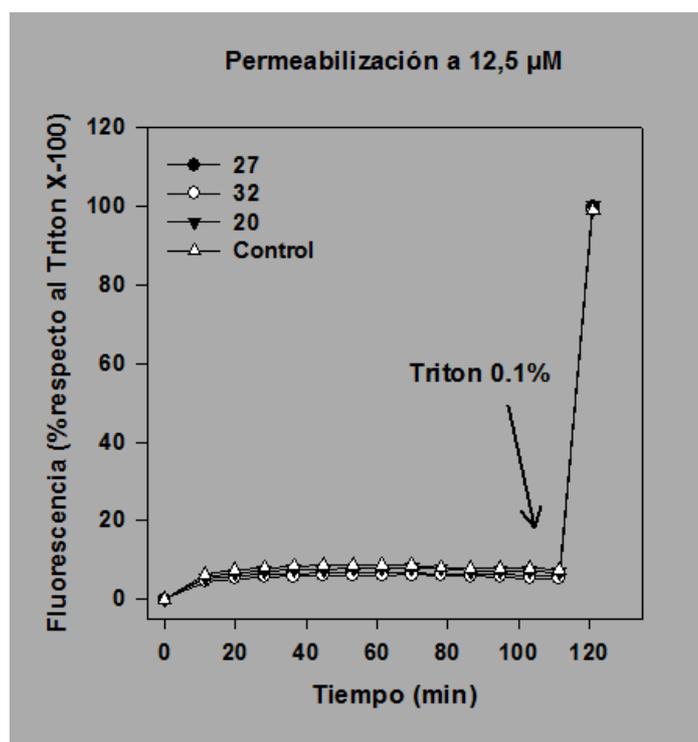


Figura 37: Valores de luminiscencia obtenidos para una concentración 12.5 μM de los compuestos.

Los resultados obtenidos indican que ninguno de los compuestos permeabiliza la membrana de manera suficiente como para que penetre el SYTOX. Sin embargo, cabe

la posibilidad de que los compuestos en estudio produzcan pequeñas lesiones, insuficientes para permitir el paso de una molécula de 600 dalton como el SYTOX. Por este motivo, se estudió la integridad de la membrana de los parásitos mediante la monitorización del potencial de membrana.

Para ello se hace uso de la sonda fluorescente aniónica Bisoxonol. En condiciones normales el Bisoxonol no es capaz de insertarse en la membrana plasmática debido a que el potencial de membrana es negativo. Si los compuestos son capaces de despolarizar el potencial de membrana, éste se hace más positivo y permite la inserción de la sonda, la cual fluoresce una vez dentro del ambiente lipídico de la membrana, utilizando para ello las longitudes de onda de excitación y emisión de 535 y 560 nm, respectivamente.

Este ensayo consta de tres etapas:

- 1) Se determina la fluorescencia de los parásitos en presencia de BISOXONOL (debería ser cero si las células se encuentran en buen estado)
- 2) Se añaden los compuestos a ensayar. Se dejan en contacto los parásitos con los compuestos por 20 minutos. Durante este tiempo se registra la fluorescencia de la muestra.
- 3) Se agrega a todos los pocillos el péptido membrana-activo CA(1-8)M(1-18) [CAME], a una concentración de 5 μ M, un compuesto capaz de alterar el potencial de membrana de las células. De este modo se obtiene el 100% de fluorescencia necesario para la normalización de los datos.

Los valores de fluorescencia obtenidos se indican en la figura 38.

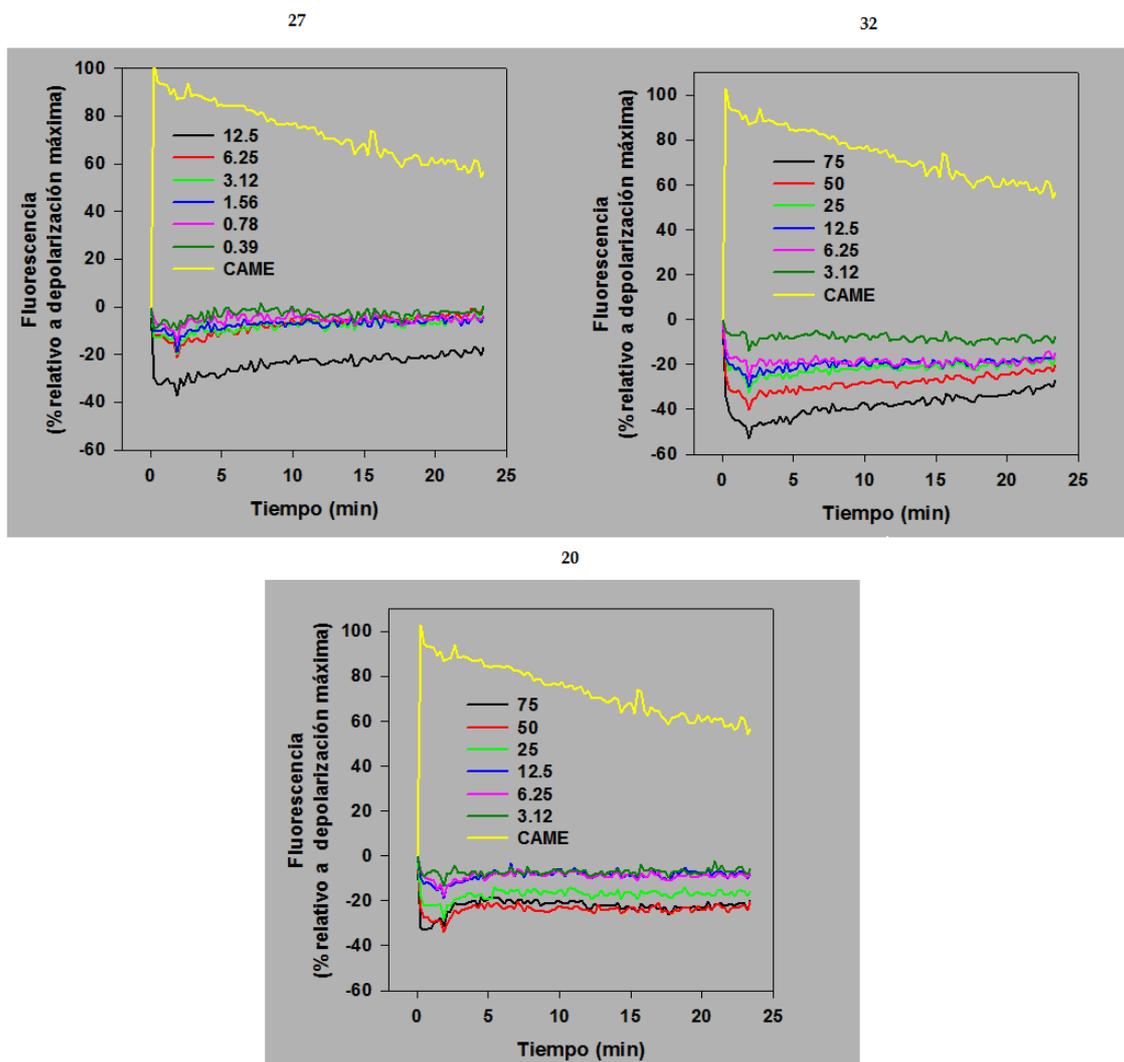


Figura 38: Gráficas de despolarización de membrana con Bisoxonol.

Como puede apreciarse en las gráficas de la figura 38, ninguno de los compuestos ensayados es capaz de modificar el potencial de membrana de *Leishmania*.

Con estos resultados puede concluirse que el mecanismo de acción de estas epoxienonas no está relacionado con la alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática del parásito.

7.2.2 Estudios sobre el metabolismo energético de *Leishmania spp.*

Se determinó la capacidad de los compuestos **20**, **27** y **32** en lo que respecta a:

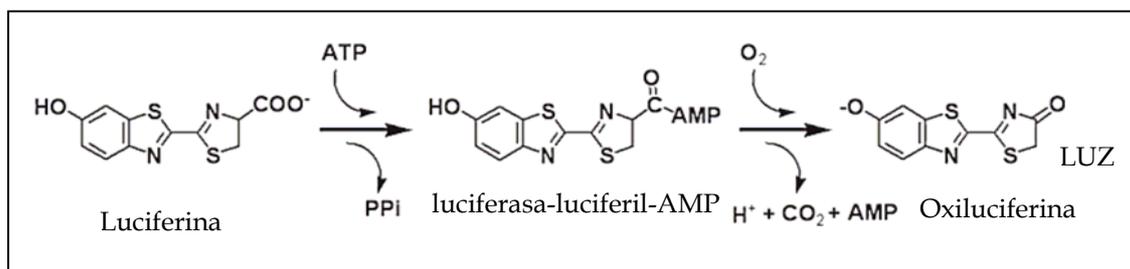
- i) Disminución de los niveles intracelulares de ATP.
- ii) Despolarización del potencial de membrana mitocondrial.
- iii) Inhibición de la fosforilación oxidativa.

Para el estudio de la disminución de los niveles intracelulares de ATP *in vivo* se emplean promastigotes de *Leishmania donovani* transfectadas con el gen de la luciferasa de luciérnaga (células 3-Luc). El sistema se basa en la monitorización *in vivo* de los cambios en los niveles intracelulares de ATP, mediante luminiscencia.¹¹³

Los parásitos se incuban con un éster de luciferina (D-luciferina-[1-(4,5-dimetoxi-2-nitrofenil) etil éster]), capaz de atravesar las membranas celulares, ya que la luciferina a pH fisiológico atraviesa con dificultad la membrana plasmática. Una vez dentro, se hidroliza este éster por las esterasas presentes en el citoplasma, liberando la luciferina.

El mencionado éster se agrega en exceso, permitiendo que la reacción de luminiscencia llevada a cabo en el citoplasma del parásito tenga como factor limitante el ATP intracelular.

En líneas generales, la actividad catalizada por la luciferasa se divide en dos reacciones (esquema 93): la primera reacción (activación) es la formación de D(-)-luciferil adenilato a partir de D(-)-luciferina, ATP y Mg^{2+} , formándose el complejo luciferasa-luciferil-AMP con liberación de pirofosfato inorgánico. Finalmente el luciferil adenilato unido a la enzima es oxidado produciéndose oxiluciferina, CO_2 , AMP y un fotón.



Esquema 93: Reacción de luminiscencia catalizada por la luciferasa de *P. pyralis*.

El papel del sistema luciferasa-luciferina como indicador de los niveles de ATP permite su utilización en la evaluación de compuestos antibióticos o citotóxicos que afecten los

niveles intracelulares de ATP.¹¹⁶ Su actividad luminiscente permite el seguimiento de su actividad con precisión y alta sensibilidad.

Para realizar el ensayo se mide inicialmente la luminiscencia de promastigotes de *Leishmania donovani* transfectadas con el gen de la luciferasa a una concentración de 20×10^6 cél/mL. Una vez que la señal de luminiscencia se estabiliza, se agregan los compuestos a ensayar y se mide la variación de la luz emitida. Esta variación es directamente proporcional a la disminución del ATP intracelular.

Los resultados obtenidos se muestran en la figura 39.

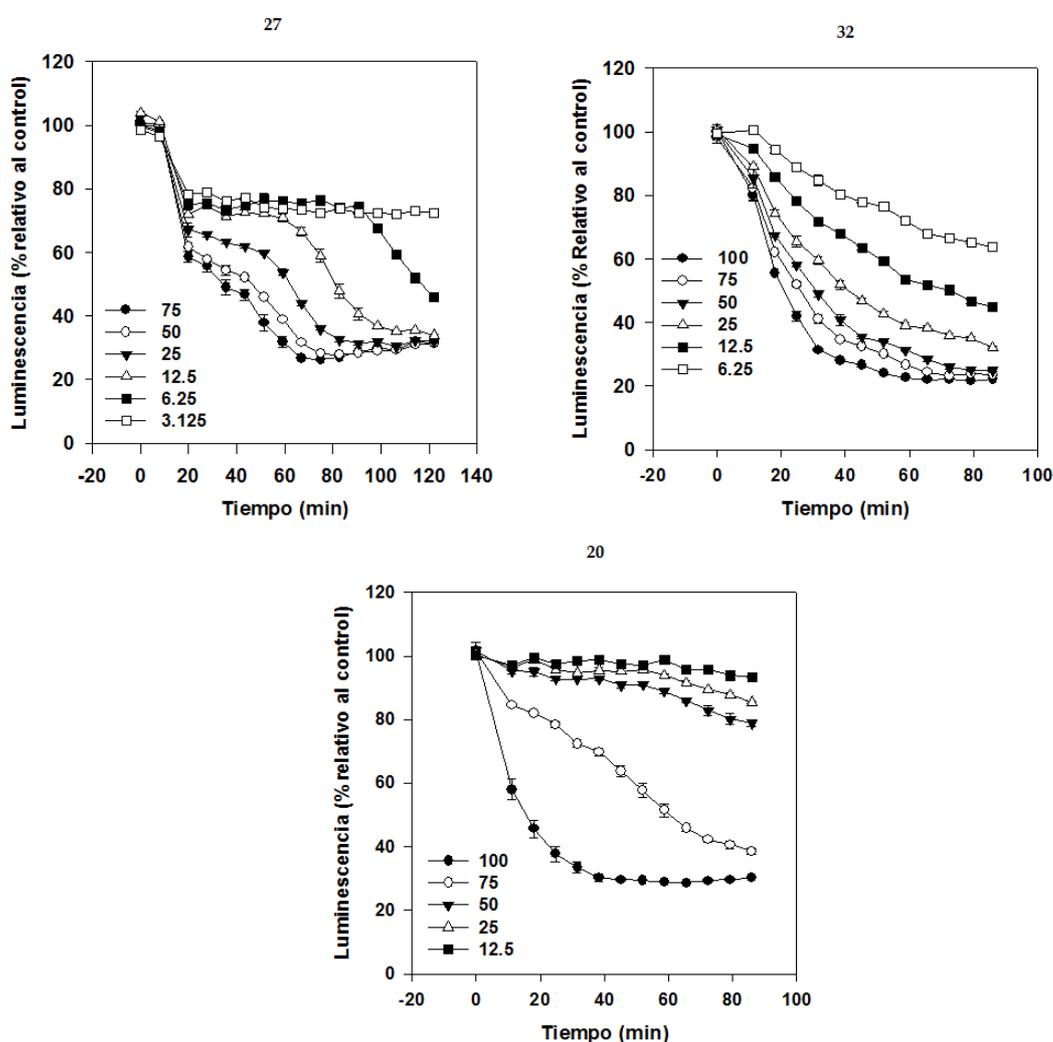


Figura 39: Datos de luminiscencia obtenidos para los compuestos 20, 27 y 32.

Con los datos obtenidos se puede concluir que todos los compuestos, principalmente a concentraciones altas, provocan una disminución de la luminiscencia emitida. Esto podría deberse a dos motivos: que los compuestos actúen a nivel de la síntesis de ATP o que los compuestos sean capaces de inhibir la luciferasa. Por lo tanto, se procede a estudiar la capacidad inhibitoria de los compuestos sobre la enzima en cuestión.

Se incuban las células 3-Luc con los compuestos **20**, **27** y **32** durante 1 hora en placa negra, son lisadas con Tritón X-100 (0.1% final) y se les añade 10 μ L de una solución de ATP (4 mM) y luciferina (250 μ M). Si los compuestos actúan inhibiendo la enzima, las células lisadas no deberían emitir luminiscencia. El compuesto CA(1-8)M(1-18) (CAME) se usa como control negativo ya que no inhibe directamente a la enzima luciferasa.

Los resultados obtenidos se indican en la figura 40.

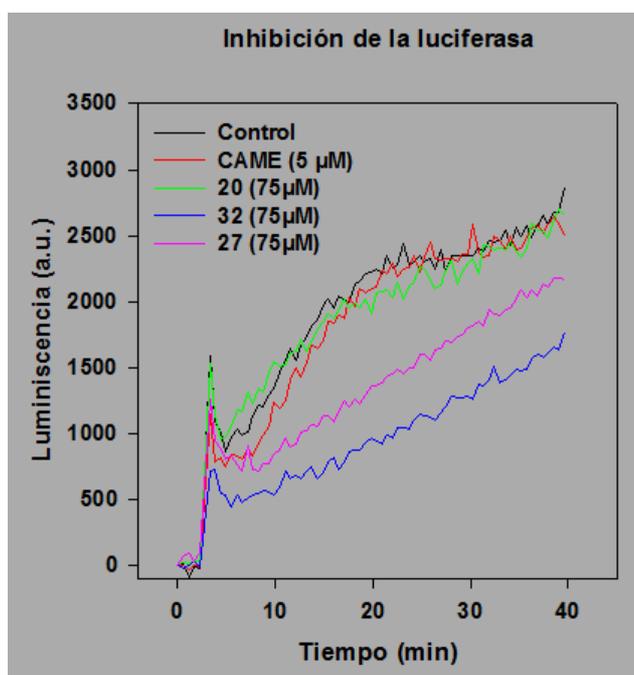


Figura 40: Determinación de la capacidad de inhibición de la luciferasa de los compuestos ensayados.

Con los datos obtenidos se puede concluir que el compuesto **20** no inhibe la luciferasa mientras que los compuestos **27** y **32** presentan una leve inhibición de la misma. Por lo tanto, podemos concluir que la disminución de la luminiscencia observada en los estudios con el sistema luciferina-luciferasa se debe, principalmente, a la inhibición de la síntesis de ATP intracelular producida por los compuestos ensayados.

La caída en los niveles intracelulares de ATP responde a una alteración de su síntesis, ya que su pérdida como consecuencia de la permeabilización de la membrana plasmática quedó descartada anteriormente. La glucólisis en los parásitos de *Leishmania* juega un papel minoritario en la bioenergética de la célula, siendo la fosforilación oxidativa, realizada en la única mitocondria del parásito, la principal responsable de la síntesis de ATP. Por ello, el siguiente paso consistió en el estudio del potencial electroquímico de la membrana mitocondrial, considerado como uno de los mejores parámetros para valorar la funcionalidad de este organelo. Para ello se utilizó la sonda catiónica fluorescente rodamina 123, la cual se acumula selectivamente en la mitocondria de la célula en función del potencial de membrana del organelo. De esta manera, a medida que el potencial de mitocondria se despolariza y se hace menos negativo, debido a la acción de un compuesto tóxico, la rodamina 123 se acumulará en menor grado. El monitoreo de este proceso se lleva a cabo por citofluorimetría, utilizando las longitudes de onda de excitación y emisión de 507 y 529 nm, respectivamente.

La rodamina es capaz de fluorescer cuando se encuentra en la membrana mitocondrial. Para ello se hace un blanco midiendo la fluorescencia de células sanas incubadas con Rodamina 123. Al mismo tiempo se hace un control positivo de despolarización total con cianuro de potasio (figura 41).

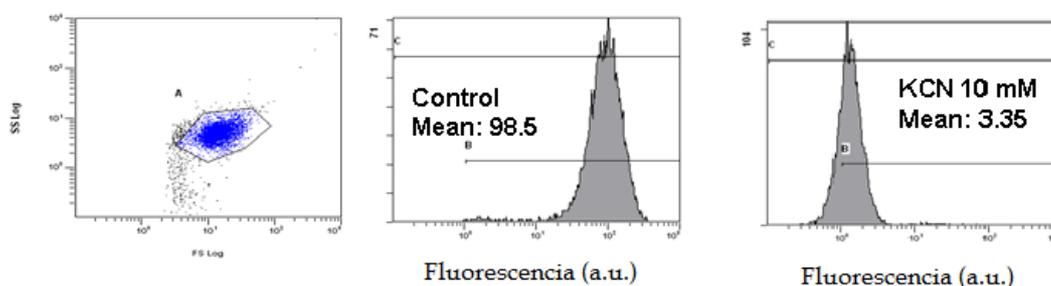


Figura 41: Blanco y control positivo de parásitos con Rodamina 123.

Posteriormente se mide la fluorescencia de parásitos incubados con los compuestos **20**, **27** y **32**. Los resultados obtenidos para el compuesto **20** se detallan en la figura 42.

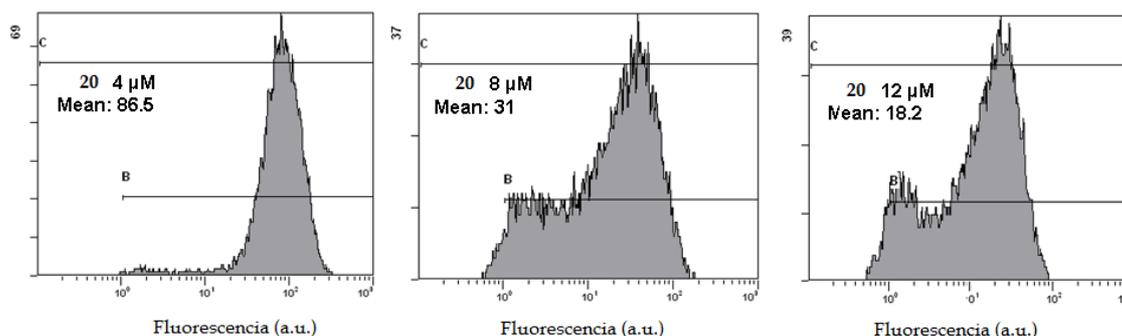


Figura 42: Citometría de *Leishmanias* tratadas con el compuesto 20.

En esta figura se puede ver que el compuesto 20 altera la funcionalidad de la mitocondria, quedando por tanto afectada la fosforilacion oxidativa llevada a cabo en este organelo. Las citometrías de los compuestos 27 y 32 no se muestran ya que los mencionados compuestos se unen a Rhodamina generando un artefacto que no permite determinar correctamente los valores de fluorescence.

Una vez determinado que el mecanismo de acción de los compuestos ensayados se encuentra relacionado con la síntesis mitocondrial de ATP se procedió al estudio de la inhibición selectiva de complejos enzimáticos de la cadena respiratoria, para determinar si actúan a nivel de la fosforilación oxidativa, principal mecanismo de obtención de ATP en parásitos de *Leishmania*. Para ello se estudia la tasa de consumo de oxígeno de promastigotes de *L. donovani* en presencia de los compuestos a ensayar y de una serie de sustratos e inhibidores específicos para cada complejo de la cadena respiratoria. Para garantizar el acceso de dichos sustratos e inhibidores es necesario permeabilizar los parásitos con digitonina, detergente que permeabiliza la membrana plasmática dejando intacta la membrana mitocondrial interna. Para corregir la disminución del consumo de oxígeno por efecto de la dilución de sustratos tras la permeabilización, se añade a la muestra ADP.^{89,117}

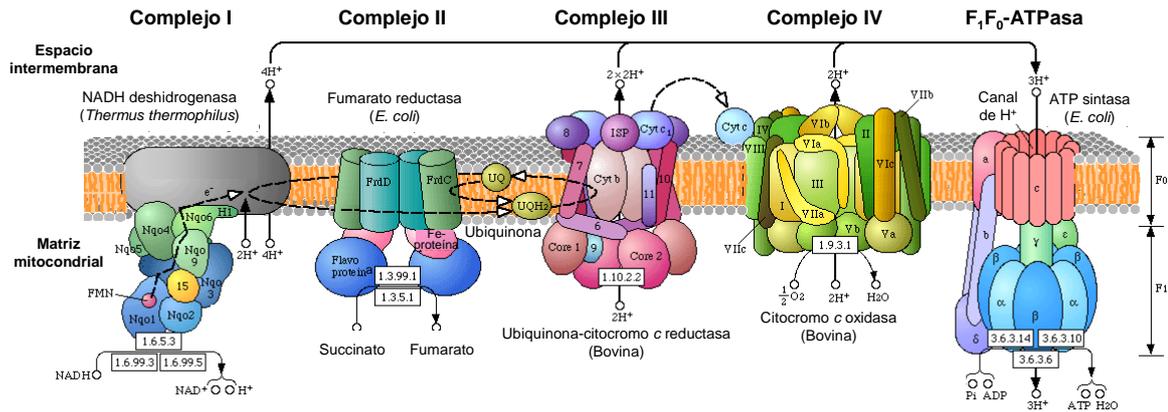


Figura 43: Fosforilación oxidativa en *Leishmania*.

Los datos de consumo de oxígeno corresponden a las medidas obtenidas polarográficamente en un electrodo de oxígeno de tipo Clark.¹¹⁸

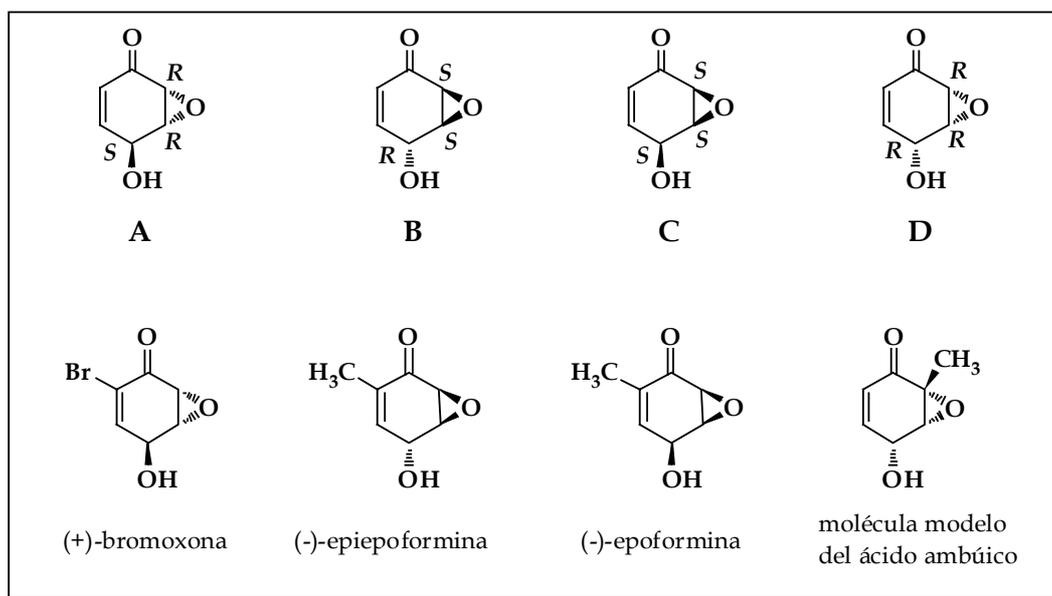
No se observó ningún efecto sobre el consumo de oxígeno al añadir los compuestos, situación que se da cuando los compuestos estudiados son de acción lenta. Por consiguiente, los promastigotes fueron preincubados durante 4h con los compuestos a estudiar y posteriormente se midió su tasa de consumo de oxígeno. En este caso los 3 compuestos inhibieron el consumo de oxígeno hasta valores del 8%, o lo que es lo mismo un 92% de inhibición. La inhibición se debió a una acción directa sobre alguno de los componentes de la cadena transportadora de electrones, ya que el consumo de oxígeno no aumentó al añadir un agente desacoplante como el cianocarbonil *p*-trifluorometoxifenilhidrazona (FCCP), descartando una inhibición sobre la ATP sintetasa. En ningún caso el consumo de oxígeno se recuperó al añadir tetrametil-*p*-fenilendiamina (TMPD) + ascorbato (0.1 mM TMPD + 1.7 mM ascorbato), sustrato que inyecta electrones en la cadena respiratoria a nivel del citocromo c. Como consecuencia los tres compuestos actúan a nivel del complejo IV o citocromo c oxidasa, la oxidasa terminal de *Leishmania*, esencial para la supervivencia del parásito.

Conclusiones y Trabajo Futuro

Conclusiones

Se sintetizaron 4 productos quirales naturales y numerosos sintones para la preparación de otras epoxienonas y compuestos relacionados, a partir de los *cis*-ciclohexadienodiolos, expandiendo de esta manera el uso de los mismos a nuevos objetivos sintéticos.

Se desarrollaron estrategias para la síntesis de los cuatro núcleos centrales presentes en las epoxienonas (A, B, C y D del capítulo de objetivos y metodología) mediante la síntesis total de 3 productos naturales así como de una molécula modelo del ácido ambúico, demostrando que la metodología propuesta es eficiente para la síntesis estereodivergente de este grupo de productos naturales (esquema 1).



Esquema 1: Obtención de los núcleos de epoxienona mediante la síntesis de 3 productos naturales y una molécula modelo del ácido ambúico.

Se alcanzó con éxito la síntesis total de cuatro productos naturales: (+)-bromoxona, (-)-gabosina A, (-)-epoformina y (-)-epiepoformina.

Asimismo se realizó la síntesis de formal de (-)-bromoxona y la síntesis de una molécula modelo del ácido ambúico.

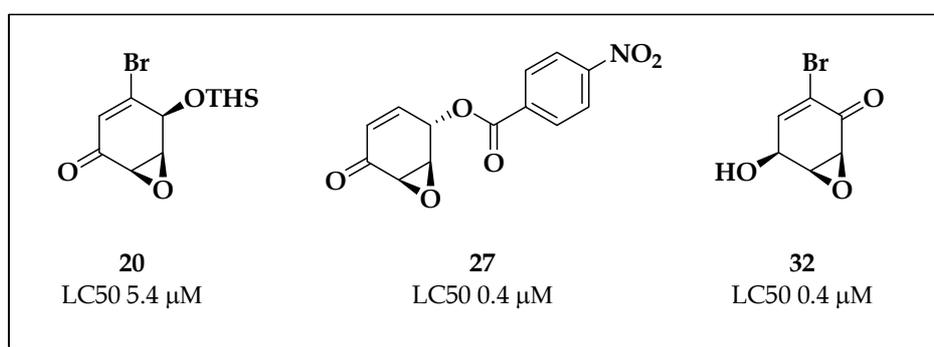
De este modo se establece la validez de la estrategia propuesta ya que demostramos que es posible preparar estos compuestos aplicando la metodología desarrollada.

Cabe destacar que la metodología empleada para la síntesis de gabosina A presenta una ventaja frente a las reportadas hasta el momento ya que hace uso de la

funcionalización proveniente del *cis*-diol de partida derivado del tolueno sin requerir de un acople carbono-carbono.

Se realizaron estudios de actividad biológica encontrándose actividad leishmanicida en algunas epoxienonas quirales obtenidas sintéticamente.

Los compuestos **20**, **27** y **32** resultaron ser activos frente a parásitos de *Leishmania spp.* en el rango micromolar al tiempo que presentan baja toxicidad frente a macrófagos. Esto los hace buenos candidatos como cabezas de serie para continuar con el estudio de moléculas relacionadas en busca de fármacos leishmanicidas (esquema 2).



Esquema 2: Compuestos activos frente a *Leishmania spp.*

Se realizaron estudios de los posibles mecanismos de acción de estos compuestos, determinándose que actúan a nivel del metabolismo energético del parásito.

Trabajo futuro

En este trabajo ha quedado demostrada la validez de la metodología desarrollada a través de la preparación de numerosos productos naturales e intermedios avanzados para la síntesis de epoxienonas quirales. Es así que se planea emplear la estrategia desarrollada para la síntesis de otros productos naturales estructuralmente relacionados con las epoxienonas.

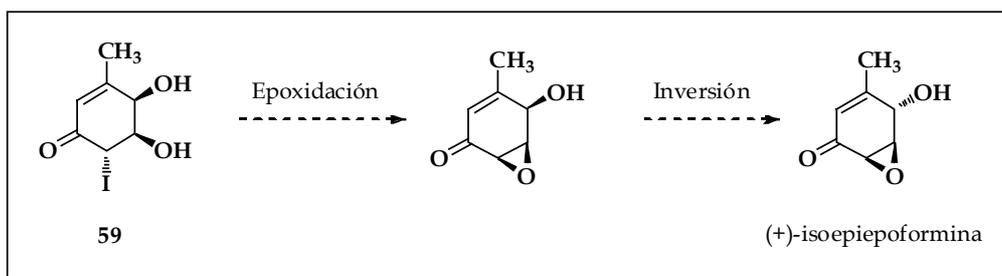
Asimismo los compuestos sobre los cuales se ensayó la actividad leishmanicida dio lugar a resultados novedosos, lo cual nos alienta a seguir en la búsqueda de posibles actividades biológicas de los compuestos sintetizados. La variedad de intermedios sintéticos con que se cuenta, permitiría desarrollar estudios de relación estructura-actividad ya que se cuenta con moléculas que presentan pequeñas variaciones en su estructura.

Para aquellos productos naturales para los cuales no fue posible culminar su síntesis total, la propuesta sintética se indica a continuación:

(+)-isoepiepoformina

Como parte de los esfuerzos sintéticos realizados para la preparación de (+)-isoepiepoformina el intermedio mas avanzado que se sintetizó es el precursor **59**.

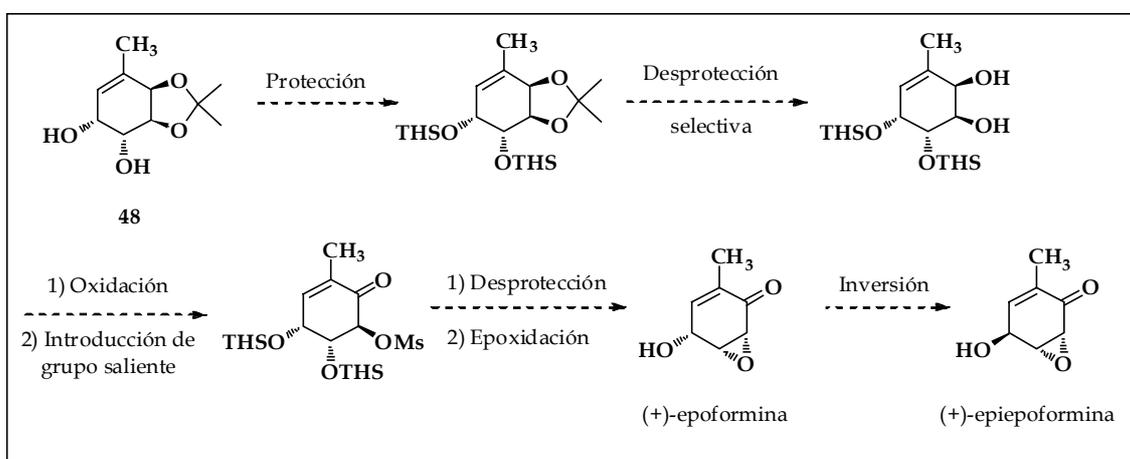
Para la ciclación de éste (ver esquema 76 del capítulo resultados y discusión) se podrían ensayar condiciones más drásticas, como el empleo de metóxido de sodio como base, para llevar a cabo el cierre del anillo oxiránico.⁴⁰ Una vez encontradas las condiciones óptimas para la epoxidación, la posterior inversión de la configuración del carbono 4 en las condiciones habituales de Mitsunobu permitiría alcanzar la síntesis total del producto natural (+)-isoepiepoformina (esquema 3).



Esquema 3: Propuesta para la síntesis de (+)-isoepiepoformina.

(+)-epoformina y (+)-epiepoformina

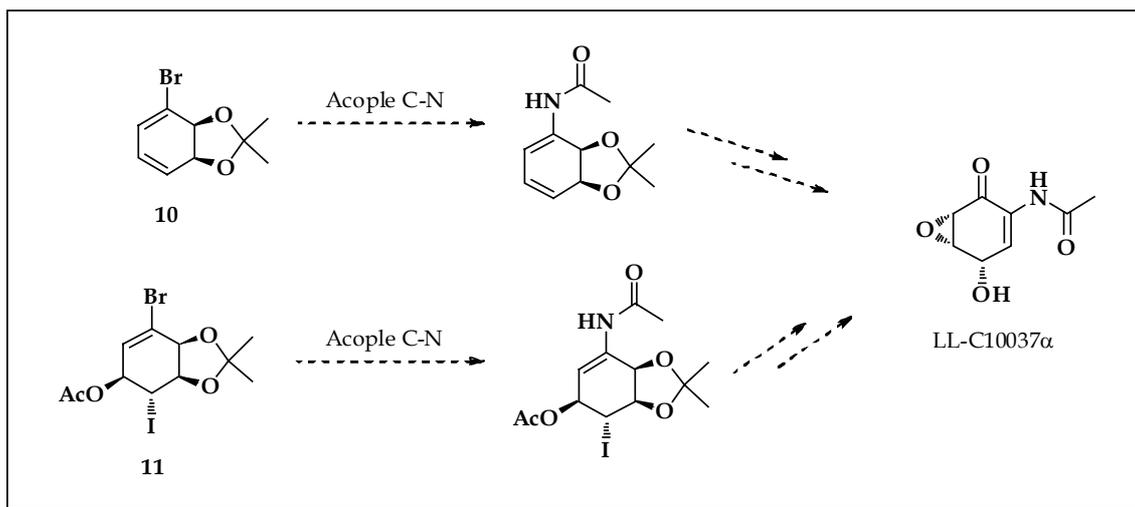
Dadas las dificultades encontradas en la desprotección selectiva del compuesto **54** (ver esquema 70 del capítulo de resultados y discusión) es que se planea una nueva modificación en los grupos protectores a emplear. Para proteger **48** se propone utilizar clorodimetiltexilsilano (THSCl) el cual se describe como más estable que el clorodimetil-*tert*-butilsilano (TBSCl), frente a la remoción del grupo isopropilideno selectivamente (esquema 4). Las siguientes etapas son similares a las planteadas en la ruta original (ver esquema 61 del capítulo de resultados y discusión).



Esquema 4: Propuesta para la síntesis de (+)-epoformina y (+)-epiepoformina.

LL-C10037 α

Las dificultades encontradas en la formación del nuevo enlace C-N (ver sección 5 del capítulo de resultados y discusión) nos han llevado a proponer la introducción de la función enamida en etapas más tempranas de la síntesis. Esto implicaría la reacción sobre el *cis*-diol **10** o sobre la iodohidrina intermedia **11** en las condiciones de Buchwald o Ma según el esquema 5. La posterior aplicación de la metodología desarrollada para la síntesis del núcleo de epoxienona, daría lugar a LL-C10037 α según la propuesta original (ver esquema 79 del capítulo de resultados y discusión)



Esquema 5: Propuesta para la síntesis de LL-C10037 α .

Parte Experimental

Generalidades

Los reactivos utilizados son de origen comercial (Aldrich, Sigma, Fluka) a excepción de los ciclohexadienodiolos quirales, que son obtenidos en nuestro laboratorio por biotransformación de arenos, de acuerdo al procedimiento publicado para la utilización de *Pseudomonas putida* F39/D.¹¹⁹ Los disolventes se purificaron y secaron por métodos convencionales previo a su utilización.

Todas las reacciones en condiciones anhidras se llevaron a cabo en atmósfera de nitrógeno utilizando las técnicas estándar de eliminación de aire y humedad.

Para las cromatografías en columna se utilizó sílica gel (tamaño 0.063 hasta 0.2 mm) Kieselgel 60, EM Reagents, 230–400 mesh y para las cromatografías en capa fina placas de sílica con indicador UV Macherey- Nagel.

El revelado de las cromatografías en capa fina se realizó por exposición a luz ultravioleta (254 nm) y también por asperjado y exposición al calor con una solución de anisaldehído y ácido sulfúrico en etanol (anisaldehído: H₂SO₄: EtOH, 1:4:95).

Los puntos de fusión se determinaron con un equipo de punto de fusión capilar Gallenkamp y los valores no fueron corregidos.

Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) de ¹H, ¹³C y bidimensionales se realizaron en un equipo AM 400 Bruker Advance. Las asignaciones de las señales de ¹H y ¹³C se realizaron en base a los experimentos bidimensionales (COSY, HSQC y HMBC). Los espectros de infrarojo (IR) se realizaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 1310 y Shimadzu FT-IR 8101A, los espectros de masa (EM) en un espectrómetro Shimadzu GC-MS QP 1100 EX. Los espectros de masa de alta resolución (EMAR) se realizaron en un equipo Bruker Daltonics spectrometer TOFQ. Las medidas de rotación óptica se realizaron en un polarímetro automático Zuzi modelo 412 en celdas de 5mL o en un polarímetro Kruss Optronic GmbH P8000 en celdas de 0.5 mL. Los análisis elementales (AE) se realizaron en un microanalizador Fisons EA 1108 CHNS-O.

Las determinaciones fluorimétricas se llevaron a cabo en un fluorímetro de placas Varioskan Flash (Thermo Scientific). Para los ensayos de luminiscencia se utilizó un luminómetro de placas Polarstar Galaxy (BMG Labortechnologies).

Para el estudio del potencial electroquímico de la membrana mitocondrial se empleó un citofluorímetro Beckman Coulter FC500 MPL.

La lectura de las placas se realizó en un MTT Lector de placas de ELISA BioRad Modelo 680.

Los nombres de los compuestos no siempre se asignaron siguiendo estrictamente las reglas IUPAC. En la mayoría de los casos se utilizaron *cis*-ciclohexadienodiol, ciclohexano o 2-ciclohexenona como esqueleto base.

Técnicas y datos espectroscópicos

(4*S*, 5*S*, 6*R*)-4,5,6-Trihidroxi-6-metilciclohex-2-enona (**1**)⁴¹

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **6.91** (dd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 10.2$ Hz, 1H, O=C-C=C(H)); **6.18** (d, $J = 10.2$ Hz, 1H, O=C-C(H)=C); **4.64** (t, $J = 4.8$ Hz, 1H, HO-C(H)-C-C=C); **3.94** (dd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 18.0$ Hz, 1H, HO-C(H)-C-CH₃); **2.19** (s, 1H, OH); **2.07** (s, 1H, OH); **1.44** (s, 3H, CH₃).

(4*S*, 5*R*, 6*R*)-5,6-Dihidroxi-4-[dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-6-metilciclohex-2-enona (**2**)

Sobre la enona **1** (0.30 g, 1.90 mmol) disuelta en DMF (2 ml) se agrega a 0 °C y bajo atmósfera inerte THSCl (0.38 mL, 1.90 mmol) e imidazol (0.284 g, 4.18 mmol) previamente disueltos en DMF (2 ml). Una vez finalizada la reacción el residuo se toma en éter etílico y se vuelca sobre agua. Se separan las capas y la capa acuosa se extrae con éter etílico (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2) y solución saturada de NaCl (x2). Se seca con MgSO₄ y se evapora a vacío el disolvente. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **2** (0.56 g, 98%) como un aceite amarillo.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **6.68** (dd, $J_1 = 3.7$ Hz, $J_2 = 10.2$ Hz, 1H, O=C-C=C(H)); **6.08** (dd, $J_1 = 0.9$ Hz, $J_2 = 10.2$ Hz, 1H, O=C-C(H)=C); **4.69** (t, $J = 4.0$ Hz, 1H, THSO-C(H)); **3.93** (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, HO-C(H)); **2.48** (s, 2H, OH); **1.67** (m, 1H, (CH₃)₂-C(H)); **1.44** (s, 3H, HO-C-CH₃); **0.90** (m, 12H, Si-C-(CH₃)₄); **0.24** (m, 6H, Si-(CH₃)₂).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **199.9** (C=O); **146.9** (CH=CH-CO); **127.4** (CH=CH-CO); **76.3** (HO-C-CH₃); **75.1** (HO-C); **67.5** (C-O-Si); **34.5** (H-C-(CH₃)₂); **25.5** (Si-C-(CH₃)₂); **20.5** (HO-C-CH₃); **14.6** (CH₃); **-2.6** (Si-(CH₂)).

IR (KBr) 2960, 2869, 1688, 1464, 1186, 1078 cm⁻¹

[α]_D^{25.5}: +57 (c 0.498, CHCl₃).

AE Calculado: C, 59.96; H, 9.39; Obtenido: C, 60.65; H, 9.97; C₁₅H₂₈O₄Si

(4S, 5R, 6R)- 4-[Dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-6-hidroxi-6-metil-5-metilsulfoniloxiciclohex-2-enona (3)

Sobre el compuesto **2** (0.48 g, 1.86 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ (7 ml) se agregan MsCl (0.21 g, 1.86 mmol) y Et₃N (0.22 mL, 1.86 mmol). Una vez finalizada la reacción el residuo se toma en éter etílico y se vuelca sobre agua. Se separan las capas y la capa acuosa se extrae con éter etílico (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2), solución saturada de NaHCO₃ (x2) y solución saturada de NaCl (x2). Se evapora a vacío el disolvente. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **3** (0.32 g, 45%) como un aceite amarillo.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 6.68 (dq, J₁= 1.0 Hz, J₂= 1.1 Hz, J₃= 3.7 Hz, 1H, O=C-C=C(H)); 6.12 (d, J= 10.3 Hz, 1H, O=C-C(H)=C); 4.76 (m, 1H, THS-O-C(H)); 4.60 (d, J= 4.3 Hz, 1H, MsO-C(H)); 3.14 (s, 3H, S-CH₃); 1.73 (s, 3H, HO-C-CH₃); 1.66 (m, 1H, (CH₃)₂-C(H)); 0.90 (m, 12H, Si-C-(CH₃)₄); 0.25 (m, 6H, Si-(CH₃)₂).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 192.7 (C=O); 146.5 (CH=CH-CO); 128.7 (CH=CH-CO); 90.6 (HO-C-CH₃); 73.5 (C-O-S); 67.4 (C-O-Si); 39.3 (CH₃-S); 34.4 (HC-(CH₃)₂); 20.5 (HC-(CH₃)₂); 19.5 (CH₃-C-OH); 14.6 (CH₃-C-Si); -2.1 (Si-CH₃); -2.5 (Si-CH₃).

IR (KBr) 2959, 1701, 1348, 1219, 1180, 640 cm⁻¹

[α]_D²⁸: +28 (c 1.002, CH₂Cl₂).

AE Calculado C, 50.76; H, 7.99; S, 8.47. Obtenido: C, 51.18; H, 9.03; S, 8.77. C₁₆H₃₀O₆SiS

(4S, 5R, 6S)-4-[Dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxi-6-metil-ciclohex-2-enona (4)

A una solución de **2** (0.11 g, 0.37 mmol) en CH₂Cl₂ (5 mL) a 0 °C se agrega anhídrido triflico (0.08 mL, 0.44 mmol) y DMAP (0.18 g, 1.5 mmol). La mezcla se agita por 24 hs. El crudo se vuelca sobre agua, se separan las capas y la capa acuosa se extrae con Et₂O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2) y con solución saturada de NaCl (x2). Se evapora a vacío el disolvente y el crudo se purifica por cromatografía en columna (8:2 hexanos/acetato de etilo) para dar **4** (trazas) y **5** (0.021 g, 0.07 mmol).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 6.47 (m, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}(\underline{\text{H}})$); 5.95 (d, $J= 10.5$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-(\underline{\text{H}})\text{C}=\text{C}$); 4.62 (d, $J= 4.5$ Hz, 1H, $\text{THSO}-\text{C}(\underline{\text{H}})$); 3.74 (d, $J= 3.4$ Hz, 1H, $\text{O}-\text{C}(\underline{\text{H}})-\text{C}-\text{OTHS}$); 1.70 (m, 1H, $(\text{CH}_3)_2-\text{C}(\underline{\text{H}})$); 1.54 (s, 3H, $\text{HO}-\text{C}-\underline{\text{CH}}_3$); 0.88 (m, 12H, $\text{Si}-\text{C}-(\underline{\text{CH}}_3)_4$); 0.24 (s, 3H, $\text{Si}-\underline{\text{CH}}_3$); 0.21 (s, 3H, $\text{Si}-\underline{\text{CH}}_3$).

(4S, 5S, 6R)- 4-[Dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxi-6-metilciclohex-2-enona (5)

Sobre la enona **3** (0.28 g, 0.84 mmol) disuelta en THF (6 ml) a 0°C y bajo atmósfera inerte se agrega éter corona 18-c-6 (cantidades catalíticas) y K_2CO_3 (0.12 g, 0.84 mmol). Una vez finalizada la reacción se filtra el K_2CO_3 , se evapora a vacío el disolvente y el residuo de purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **5** (0.18 g, 76%) como un aceite incoloro.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 6.36 (dt, $J_1= 2.4$ Hz, $J_2= 10.6$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}(\underline{\text{H}})$); 5.86 (dd, $J_1= 1.9$ Hz, $J_2= 10.5$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}(\underline{\text{H}})=\text{C}$); 4.79 (m, 1H, $\text{THS}-\text{O}-\text{C}(\underline{\text{H}})$); 3.54 (t, $J= 2.7$ Hz, 1H, $\text{O}-\text{C}(\underline{\text{H}})-\text{C}-\text{OTHS}$); 1.70 (m, 1H, $(\text{CH}_3)_2-\text{C}(\underline{\text{H}})$); 1.51 (s, 3H, $\text{HO}-\text{C}-\underline{\text{CH}}_3$); 0.93 (m, 12H, $\text{Si}-\text{C}-(\underline{\text{CH}}_3)_4$); 0.23 (s, 3H, $\text{Si}-\underline{\text{CH}}_3$); 0.22 (s, 3H, $\text{Si}-\underline{\text{CH}}_3$).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 195.0 ($\text{C}=\text{O}$); 146.3 ($\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}-\text{CO}$); 125.4 ($\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}-\text{CO}$); 66.5 ($\text{CH}_3-\underline{\text{C}}-\text{O}$); 61.1 ($\text{HC}-\underline{\text{C}}-\text{O}-\text{Si}$); 58.1 ($\text{HC}-\underline{\text{C}}-\text{O}-\text{Si}$); 34.5 ($\text{H}-\underline{\text{C}}-(\text{CH}_3)_2$); 25.5 ($(\text{CH}_3)_2-\underline{\text{C}}-\text{Si}$); 20.6 ($(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2-\text{C}-\text{H}$); 18.9 ($(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2-\text{C}-\text{Si}$); 15.2 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{C}-\text{C}=\text{O}$); -2.1 ($\underline{\text{C}}\text{H}_3-\text{Si}$)

IR (KBr) 2959, 2868, 1690, 1377, 1254, 849 cm^{-1}

$[\alpha]_{\text{D}}^{28}$: -66 (c 1.233, CH_2Cl_2).

(4S, 5S, 6R)-5,6-Epoxi-4-hidroxi-6-metilciclohex-2-enona (6)

Sobre la epoxienona **5** (0.12 g, 0.50 mmol) disuelta en THF (2 ml) a 0°C y bajo atmósfera inerte se agrega el complejo HF-Py (0.12 mL, 4.60 mmol). Luego de 30 minutos se retira el baño de hielo y se deja alcanzar temperatura ambiente. Se continúa agitando y la reacción se monitorea por TLC, agregándose cantidades adicionales del complejo HF-Py hasta que la reacción se completa. Una vez finalizada la reacción, el crudo se vuelca sobre agua, se separan las capas y la capa acuosa se extrae con acetato de etilo (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaHCO_3 (x2), solución saturada de CuSO_4 (x2) y con solución saturada de NaCl (x2). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO_4 y se evapora a vacío el

disolvente. El residuo se purifica por cromatografía en columna (9:1 hexanos/acetato de etilo) para dar **6** (0.05 g, 64%) como un aceite incoloro.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **6.47** (dt, $J_1 = 2.6$ Hz, $J_2 = 10.5$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}(\underline{\text{H}})$); **5.91** (dd, $J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 10.5$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}(\underline{\text{H}})=\text{C}$); **4.67** (ddd, $J_1 = 2.6$ Hz, $J_2 = 4.6$ Hz, $J_3 = 10.9$ Hz, 1H, $\text{HO}-\text{C}(\underline{\text{H}})$); **3.69** (t, $J = 2.8$ Hz, 1H, $\text{O}-\text{C}(\underline{\text{H}})-\text{C}-\text{OH}$); **2.12** (d, $J = 10.9$ Hz, 1H, OH); **1.51** (s, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **193.9** ($\text{C}=\text{O}$); **144.7** ($\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}$); **125.6** ($\text{CH}=\underline{\text{C}}\text{H}-\text{CO}$); **65.1** ($\underline{\text{C}}-\text{OH}$); **60.9** ($\text{O}-\underline{\text{C}}-\text{C}-\text{OH}$); **58.6** ($\underline{\text{C}}-\text{CH}_3$); **14.8** ($\text{C}-\underline{\text{C}}\text{H}_3$)

IR (KBr) 3400, 1686, 1377, 1030, 849 cm^{-1}

$[\alpha]_{\text{D}}^{19.5}$: -147 (c 1.30, CH_2Cl_2).

(4R, 5S, 6R)-5,6-Epoxi-6-metil-4-p-nitrobenzoiloxiciclohex-2-enona (7)

Se suspende la epoxienona **6** (5.6 mg, 0.04 mmol) en 2 ml de benceno. Se agrega a la suspensión la trifenilfosfina (0.01 g, 0.04 mmol), ácido *p*-nitrobenzoico (0.01 g, 0.04 mmol) y DEAD (0.007 mL, 0.04 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente por 5 minutos y luego se evapora a vacío el disolvente. El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna (1:1 hexanos/diclorometano) para dar **7** (4.5 mg, 39%) como un aceite incoloro.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **8.32** (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar); **8.24** (d, $J = 8.8$ Hz, 2H, Ar); **6.65** (ddd, $J_1 = 2.6$ Hz, $J_2 = 4.6$ Hz, $J_3 = 10.4$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}=\text{C}(\underline{\text{H}})$); **6.19** (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}(\underline{\text{H}})=\text{C}$); **5.99** (d, $J = 4.7$ Hz, 1H, *p*-NB-O-C($\underline{\text{H}}$)); **3.73** (d, $J = 0.9$ Hz, 1H, $\text{O}-\text{C}(\underline{\text{H}})-\text{C}-\text{O}-\text{p-NB}$); **1.58** (s, 3H, CH_3).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **193.7** ($\text{C}=\text{C}-\underline{\text{C}}=\text{O}$); **164.1** ($\text{C}-\text{O}-\underline{\text{C}}\text{O}-\text{Ar}$); **138.1** ($\underline{\text{C}}=\text{C}-\text{C}=\text{O}$); **131.5** (Ar); **130.2** ($\text{C}=\underline{\text{C}}-\text{C}=\text{O}$); **124.1** (Ar); **66.5** ($\underline{\text{C}}-\text{O}-\text{C}=\text{O}$); **61.5** ($\text{O}-\underline{\text{C}}-\text{C}-\text{O}-\text{C}=\text{O}$); **58.5** ($\text{O}-\underline{\text{C}}-\text{CH}_3$); **14.9** ($\underline{\text{C}}\text{H}_3$).

IR (KBr) 3113, 2936, 1732, 1690, 1319, 1262 cm^{-1}

$[\alpha]_{\text{D}}^{19.5}$: -159 (c 0.149, CH_2Cl_2).

(4R, 5R, 6R)-5,6-Epoxi-4-hidroxi-6-metilciclohex-2-enona (8)

Se disuelve **7** (8.7 mg, 0.03 mmol) en MeOH (1 ml) a -20 °C, se agrega una punta de espátula de K_2CO_3 . Una vez finalizada la reacción el crudo se vuelca sobre agua, se separan las capas y la capa acuosa se extrae con acetato de etilo (x3). Las capas

orgánicas combinadas se secan sobre MgSO_4 y se evapora a vacío el disolvente. El residuo se purifica por cromatografía en columna (6:4 hexanos/acetato de etilo) para dar **8** (7.0 mg, 22%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **6.63** (ddd, $J_1= 2.6$ Hz, $J_2= 4.6$ Hz, $J_3= 10.4$ Hz, 1H, (H)C=C-C=O); **6.02** (dd, $J_1= 1.1$ Hz, $J_2= 10.4$ Hz, 1H, C=C(H)-C=O); **4.66** (d, $J= 4.7$ Hz, 1H, HO-C(H)); **3.64** (dd, $J_1= 1.3$ Hz, $J_2= 2.5$ Hz, 1H, (H)-C-O); **1.52** (s, 3H, CH₃).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **194.1** (C=O); **142.6** (CH=CH-CO); **127.5** (CH=CH-CO); **63.9** (C-OH); **63.7** (O-C-C-OH); **58.2** (C-CH₃); **14.5** (C-CH₃)

$[\alpha]_{\text{D}}^{32.6}$: -9.22 (*c* 1.12, CH_2Cl_2).

(1*S*,2*S*)-3-Bromociclohexa-3,5-dien-1,2-diol (**9**)⁸

Obtenido por biotransformación con *Pseudomonas putida* F39/D a partir de bromobenceno.

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **6.39** (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, C(H)=C-Br); **5.96** (dd, $J_1 = 3.4$ Hz, $J_2 = 9.6$ Hz, 1H, CH=C(H)-CH-OH); **5.85** (m, 1H, C=CH-C(H)=CH); **4.51** (m, 1H, CH=CH-C(H)-OH); **4.29** (d, $J = 6.4$ Hz, 1H, C-C(H)-OH); **2.78** (s ancho, 2H, OH).

(1*S*,2*S*)-3-Bromo-1,2-*O*-isopropilidenciclohexa-3,5-dien-1,2-diol (**10**)³¹

Rendimiento: 88%.

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **6.36** (d, $J= 6.0$ Hz, 1H, CH=C-Br); **5.98** (d, $J= 9.5$ Hz, 1H, CH=CH-CH-O-C); **5.89** (dd, $J_1= 6.0$ Hz, $J_2= 9.6$ Hz, 1H, C=CH-CH=CH); **4.74** (m, 2H, CH-O-C); **1.47** (s, 3H, CH₃); **1.44** (s, 3H, CH₃).

(1*R*, 2*S*, 5*S*, 6*R*)-5-Acetil-3-bromo-6-iodo-1,2-*O*-isopropilidenciclohex-3-en-1,2,5-triol (**11**)²¹

Rendimiento: 86%

$^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **6.20** (d, $J= 3.1$ Hz, 1H, CH=C-Br); **5.45** (ddd, $J_1= 1.0$ Hz, $J_2= 3.1$ Hz, $J_3= 7.6$ Hz, 1H, AcO-C(H)); **4.64** (dd, $J_1= 0.9$ Hz, $J_2= 5.6$ Hz, 1H, I-C-C(H)-O); **4.59** (dd, $J_1= 5.6$ Hz, $J_2= 8.1$ Hz, 1H, Br-C-C(H)-O); **4.13** (t, $J= 7.9$ Hz, 1H, I-C(H)); **2.12** (s, 3H, O=C-CH₃); **1.52** (s, 3H, CH₃); **1.43** (s, 3H, CH₃).

(1*R*, 2*S*, 5*R*, 6*R*)-5-Acetil-3-bromo-6-iodo-1,2-*O*-isopropilidenciclohex-3-en-1,2,5-triol (**12**)²¹

Rendimiento: 1%

^1H RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 6.28 (d, J = 1.9 Hz, 1H, $\text{CH}=\text{C}-\text{Br}$); 4.70 (m, 1H, $\text{AcO}-\text{C}(\text{H})$); 4.57 (dd, J_1 = 1.8 Hz, J_2 = 5.0 Hz, 1H, $\text{I}-\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 4.53 (dt, J_1 = 1.8 Hz, J_2 = 9.1 Hz, 1H, $\text{Br}-\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 4.13 (dd, J_1 = 2.1 Hz, J_2 = 9.2 Hz, 1H, $\text{I}-\text{C}(\text{H})$); 2.12 (s, 3H, $\text{O}=\text{C}-\text{CH}_3$); 1.45 (s, 3H, CH_3); 1.43 (s, 3H, CH_3).

(1R, 2S, 5S, 6R)-3-Bromo-6-iodo-1,2-O-isopropilidenciclohex-3-en-1,2,5-triol (13)²¹

Rendimiento: 0-49%

^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 6.38 (d, J = 4.7 Hz, 1H, $\text{Br}-\text{C}=\text{C}(\text{H})$); 4.69 (q, J = 5.1 Hz, 2H, $(\text{CH}_3)_2-\text{C}-\text{O}-\text{C}(\text{H})$); 4.41 (t, J = 4.2 Hz, 1H, $\text{I}-\text{C}(\text{H})$); 4.35 (m, 1H, $\text{HO}-\text{C}(\text{H})$); 3.09 (d, J = 9.9 Hz, 1H, OH); 1.51 (s, 3H, CH_3); 1.40 (s, 3H, CH_3).

(1R, 2S, 5S, 6R)-3-Bromo-5,6-epoxi-1,2-O-isopropilidenciclohex-3-en-1,2-diol (14)¹²⁰

Rendimiento: 51-100%

^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 6.69 (d, J = 4.3 Hz, 1H, $\text{Br}-\text{C}=\text{C}(\text{H})$); 4.72 (dd, J_1 = 1.7 Hz, J_2 = 6.7 Hz, 1H, $\text{Br}-\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 4.53 (dd, J_1 = 2.6 Hz, J_2 = 6.5 Hz, 1H, $\text{Br}-\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 3.65 (m, 1H, $\text{O}-\text{C}(\text{H})$); 3.46 (t, J = 4.2 Hz, 1H, $\text{C}=\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 1.56 (s, 3H, CH_3); 1.43 (s, 3H, CH_3).

(4R, 5R, 6S)-3-Bromo-6-iodo-4,5-O-isopropilidenciclohex-3-enona (15)

A una solución de **13** (0.04 g, 0.10 mmol) en DMF (2 mL) se agrega IBX (0.03 g, 0.10 mmol). La mezcla se agita durante 12 horas a temperatura ambiente. Se filtra por papel y el filtrado se vuelca sobre agua. Se extrae con Et_2O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO_4 (x2), solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na_2SO_4 . Se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (95:5 hexanos/acetato de etilo) para dar **15** (0.03 g, 92%) como un aceite amarillo.

^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 6.49 (m, 1H, $\text{Br}-\text{C}=\text{C}(\text{H})$); 4.80 (m, 2H, $(\text{H})\text{C}-\text{O}-\text{C}$); 4.65 (dd, J_1 = 1.1 Hz, J_2 = 2.5 Hz, 1H, $\text{I}-\text{C}(\text{H})$); 1.40 (d, J = 8.8 Hz, 6H, $(\text{CH}_3)_2$).

(1R, 2S, 5S, 6S)-5-Acetil-3-bromo-6-iodociclohex-3-en-1,2,5-triol (16)

Una solución de **11** (0.20 g, 0.49 mmol) en AcOH 50% (10 mL) se calienta a reflujo con agitación durante 12 horas. La mezcla de reacción se deja llegar a temperatura ambiente, se vuelca sobre agua y se extrae con Et_2O (x4). A las capas orgánicas combinadas se les agrega hielo y se neutraliza con NaHCO_3 sólido hasta pH neutro. Se separan las capas y la orgánica se lava con solución saturada de NaCl (x2). Se seca

sobre Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (9:1 hexanos/acetato de etilo) para dar **16** (0.172 g, 94%) como un sólido blanco.

PF: 142-144 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **6.14** (t, *J* = 2.6 Hz, 1H, (H)-C=C-Br); **5.58** (dt, *J*₁ = 2.6 Hz, *J*₂ = 8.7 Hz, 1H, AcO-C(H)); **4.49** (dd, *J*₁ = 1.7 Hz, *J*₂ = 4.1 Hz, 1H, HO-C(H)-C-Br); **4.37** (m, 1H, I-C(H)); **3.92** (dd, *J*₁ = 1.7 Hz, *J*₂ = 8.8 Hz, 1H, I-C-C(H)-OH); **2.14** (s, 3H, O=C-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **171.2** (C=O); **130.9** (C=C-Br); **125.1** (C=C-Br); **75.6** (C=C-C-Br); **71.5** (Br-C-C-OH); **71.4** (HO-C-C-I); **30.9** (C-I); **20.9** (CH₃).

IR (KBr) 3268, 1744, 1237, 592, 494 cm⁻¹

[α]_D²³: +5.3 (c 0.845, CH₃CN)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 398.8705; Experimental: 398.8715

(1S, 4S, 5R, 6R)-4-Acetil-2-bromo-5,6-epoxiciclohex-2-en-1,4-diol (**17**)

A una solución de **16** (0.15 g, 0.40 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL) y DMF (1 mL) se agrega NaOH (0.02 g, 0.52 mmol) y Bu₄NHSO₄ (0.01 g, 0.04 mmol) con agitación. Luego de 4 horas se agrega una solución saturada de NH₄Cl hasta neutralizar. La mezcla de reacción se extrae con CH₂Cl₂ (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con una solución saturada de NaCl (x2). Se seca sobre Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (6:4 hexanos/acetato de etilo) para dar **17** (0.08 g, 79 %) como un sólido blanco.

PF: 99-100 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.89** (dd, *J*₁ = 1.6 Hz, *J*₂ = 2.8 Hz, 1H, (H)-C=C-Br); **5.51** (dd, *J*₁ = 2.0 Hz, *J*₂ = 4.3 Hz, 1H, AcO-C(H)); **4.38** (s, 1H, HO-C(H)); **3.65** (m, 2H, (C=C-C-C(H)-O)₂); **2.73** (s, 1H, OH); **2.13** (s, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **170.5** (C=O); **126.0** (C=C-Br); **125.9** (C=C-Br); **68.1** (C=C-C-Br); **67.3** (C-OH); **54.0** (HO-C-C-O); **52.4** (Ac-O-C-C-O); **20.9** (CH₃).

IR (KBr) 3650, 1740, 1653, 1285, 1099, 432 cm⁻¹

EM (m/z, %) **208** (23), **206** (M-43, 24), **190**, **188** (M-59, 9), **161**, **159** (M-90, 15), **136** (M-113, 5), **127** (M-122, 70), **109** (M-139, 43), **81** (M-168, 100)

[α]_D¹⁹: +55.5 (c 1.002, CH₂Cl₂)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 270.9582; Experimental: 270.9586

(1S, 4S, 5R, 6S)-4-Acetil-2-bromo-1-[dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxiciclohex-2-en-4-ol (18)

A una solución de **17** (0.17 g, 0.70 mmol) en DMF (2 mL) a 0 °C se agrega THSCl (0.18 mL, 0.92 mmol) e imidazol (0.09 g, 1.56 mmol) previamente disueltos en DMF (1 mL). La mezcla se agita durante 12 horas a 4 °C y luego se vuelca sobre agua. Se extrae con éter etílico y las capas orgánicas combinadas se lavan con una solución saturada de CuSO₄ (x2) y luego con solución saturada de NaCl (x2). Se seca sobre Na₂SO₄ y se evapora a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna para dar **18** (0.21 g, 75%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.90** (dd, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 4.1$ Hz, 1H, (H)-C=C-Br); **5.50** (dd, $J_1 = 2.7$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz, 1H, AcO-C(H)); **4.49** (dt, $J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 2.6$ Hz, 1H, THSO-C(H)); **3.60** (dt, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz, 1H, AcO-C-C(H)); **3.50** (dd, $J_1 = 2.8$ Hz, $J_2 = 4.1$ Hz, 1H, THSO-C-C(H)); **2.16** (s, 3H, O=C-CH₃); **1.73** (m, 1H, (CH₃)₂-C(H)); **0.95** (m, 12H, Si-C-(CH₃)₄); **0.29** (s, 3H, Si-CH₃); **0.26** (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **170.9** (C=O); **126.8** (C-Br); **125.6** (C=C-Br); **68.6** ((CO)-O-C); **68.2** (C-O-Si); **54.5** (O-C-C-O-Si); **51.9** ((CO)-O-C-C-O); **34.4** (C-CH(CH₃)₂); **30.1** (Si-C-C(CH₃)₂); **25.6** ((CO)-CH₃); **21.3** (CH₃); **20.7** (CH₃); **19.1** (CH₃).

IR (KBr) 2959, 1743, 1653, 1252, 1230, 1110, 420 cm⁻¹

EM (m/z, %) **264** (15), **263** (14), **247** (M-143, 6), **184** (67), **183** (100)

[α]_D¹⁷: +46.5 (c 0.955, CH₂Cl₂)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 413.0760; Experimental: 413.0771

(1S, 4S, 5S, 6S)-2-Bromo-1-[dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxiciclohex-2-en-4-ol (19)

A una solución de **18** (0.17 g, 0.44 mmol) en MeOH (3 mL) se le agrega una punta de espátula de K₂CO₃. Se agita durante 24 horas a temperatura ambiente. Se filtra la mezcla de reacción por papel y se concentra a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (8:2 hexanos/acetato de etilo) para dar **19** (0.15 g, 96%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **6.00** (t, $J_1 = 0.9$ Hz, 1H, (H)-C=C-Br); **4.45** (d, $J = 1.7$ Hz; 1H, THSO-C(H)); **4.37** (m, 1H, HO-C(H)); **3.59** (m, 1H, HO-C-C(H)-O); **3.54** (dd, 1H, $J_1 = 3.0$ Hz, $J_2 = 3.9$ Hz, THSO-C-C(H)-O); **1.72** (m, 1H, ((CH₃)₂-C(H)); **0.94** (m, 12H, Si-C-(CH₃)₄); **0.28** (s, 3H, Si-CH₃); **0.25** (s, 3H, Si-CH₃).

^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 129.9 ($\text{C}=\text{C}-\text{Br}$); 125.1 ($\text{C}-\text{Br}$); 68.2 ($\text{C}-\text{O}-\text{Si}$); 66.8 ($\text{HO}-\text{C}$); 56.1 ($\text{O}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{Si}$); 54.9 ($\text{HO}-\text{C}-\text{C}-\text{O}$); 34.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 25.6 ($\text{Si}-\text{C}-(\text{CH}_3)_2-\text{C}$); 20.7 (CH_3); 19.1 (CH_3); -1.9 (CH_3).

IR (KBr) 3650, 2955, 1647, 1250, 1107, 438 cm^{-1}

EM (m/z, %) 184 (100), 183 (94), 169 (13), 167 (13), 155 (17), 139 (17)

$[\alpha]_{\text{D}}^{16}$: +6.8 (c 1.061, CH_2Cl_2)

EMAR m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$: Calculado: 371.0654; Experimental: 371.0664

(4S, 5R, 6S)-3-Bromo-4-[dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxiciclohex-2-enona (20)

A una solución de **19** (0.10 g, 0.30 mmol) en DMF (2 mL) se agrega IBX (0.10 g, 0.36 mmol). La mezcla se agita durante 3 horas a temperatura ambiente. Se filtra por papel y el filtrado se vuelca sobre agua. Se extrae con Et_2O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO_4 (x2), solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na_2SO_4 . Se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (95:5 hexanos/acetato de etilo) para dar **20** (0.09 g, 86%) como un aceite incoloro.

^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 6.41 (t, $J=1.6$ Hz, 1H, (H)- $\text{C}=\text{C}-\text{Br}$); 4.73 (dd, $J_1=1.4$ Hz, $J_2=2.8$ Hz, 1H, $\text{THSO}-\text{C}(\text{H})$); 3.77 (t, $J=3.6$ Hz, 1H, $\text{THSO}-\text{C}-\text{C}(\text{H})$); 3.48 (dd, $J_1=2.0$ Hz, $J_2=3.8$ Hz, 1H, $\text{O}=\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 1.74 (m, 1H, $(\text{CH}_3)_2-\text{C}(\text{H})$); 0.95 (m, 12H, $\text{Si}-\text{C}-(\text{CH}_3)_4$); 0.32 (s, 3H, $\text{Si}-\text{CH}_3$); 0.30 (s, 3H, $\text{Si}-\text{CH}_3$).

^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 190.5 ($\text{C}=\text{O}$); 148.7 ($\text{C}-\text{Br}$); 129.2 ($\text{C}=\text{C}-\text{Br}$); 69.3 ($\text{C}-\text{O}-\text{Si}$); 55.2 ($\text{O}-\text{C}-\text{C}-\text{O}-\text{Si}$); 53.8 ($(\text{CO})-\text{C}-\text{O}$); 34.4 ($\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); 25.6 ($\text{Si}-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{C}$); 20.7 (CH_3); 19.0 (CH_3); -1.9 (CH_3).

IR (KBr) 2959, 1686, 1609, 1254, 675 cm^{-1}

EM (m/z, %) 263 (4), 235 (29), 233 (29), 182 (51), 139 (85), 137 (85), 75 (100)

$[\alpha]_{\text{D}}^{22}$: +113.8 (c 1.250, CH_2Cl_2)

EMAR m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$: Calculado: 369.0498; Experimental: 369.0507

(4S, 5R, 6R)-3-Bromo-5,6-epoxi-4-hidroxiciclohex-2-enona (21)

A una solución de **20** (0.10 g, 0.29 mmol) en CH_3CN (4 mL) se le agrega HF 48% (0.2 mL). La mezcla se agita durante 12 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vuelca sobre agua, se separan las capas y la capa acuosa se extrae con CH_2Cl_2 (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaCl

(x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío. El crudo se purifica por cromatografía en columna (6:4 hexanos/acetato de etilo) para dar **21** (0.06 g, 98%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 6.45 (t, J=1.5 Hz, 1H, (H)C=C-Br); 4.69 (d, J=1.9 Hz, 1H, HO-C(H)); 3.98 (t, J= 3.5 Hz, 1H, HO-C-C(H)); 3.58 (dd, J₁= 1.9 Hz, J₂= 3.9 Hz, 1H, O=C-C(H)-O); 2.75 (s, 1H, OH).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 189.9 (C=O); 147.6 (C-Br); 129.4 (C=C-Br); 68.6 (C-OH); 55.1 (O=C-C-O-C); 54.4 (O=C-C-O-C).

IR (KBr) 3400, 1715, 1597, 1273, 675 cm⁻¹

EM (m/z, %) 206 (10), 204 (M⁺, 10), 177 (60), 175 (62), 162 (24), 97 (100)

[α]_D¹⁹: +168.9 (c 0.620, CH₂Cl₂)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 226.9320; Experimental: 226.9304

(4R, 5R, 6R)-5,6-Epoxi-4-hidroxiciclohex-2-enona (**22**)

Método A

A una solución de **21** (0.08 g, 0.39 mmol) en THF (4 mL) se le agrega HSnBu₃ (0.18 mL, 0.67 mmol). La mezcla se lleva a reflujo y se agrega ABCC (0.10 g, 0.39 mmol). Se agita durante 8 hr a reflujo y luego se deja llegar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora a vacío y el residuo se purifica por cromatografía en columna (gradiente de mezcla 9:1 - 6:4 hexanos/acetato de etilo) para dar **22** (0.03 g, 56%) como un sólido blanco.

Método B

A una solución de **26** (0.10 g, 0.37 mmol) en CH₃CN (4 mL) se le agrega HF 48% (0.2 mL). La mezcla se agita durante 12 horas a temperatura ambiente. La mezcla se vuelca sobre agua, se separan las capas y la capa acuosa se extrae con CH₂Cl₂ (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío. El crudo se purifica por cromatografía en columna (1:1 hexanos/acetato de etilo) para dar **22** (0.05 g, 71%) como un sólido blanco cristalino.

PF: 54-56 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 6.52 (dt, J₁= 2.6 Hz, J₂= 10.6 Hz, 1H, HO-C-C(H)=C); 5.90 (dt, J₁= 2.1 Hz, J₂= 10.6 Hz, 1H, O=C-C(H)=C); 4.69 (dd, J₁= 1.9 Hz, J₂= 10.1 Hz, 1H, HO-

C(H)); **3.86** (dt, $J_1 = 2.8$ Hz, $J_2 = 4.0$ Hz, 1H, O=C-C(H)-O); **3.48** (dd, $J_1 = 2.1$ Hz, $J_2 = 4.0$ Hz, 1H, HO-C-C(H)-O); **2.65** (d, $J = 10.4$ Hz, 1H, OH).

^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : **193.2** (C=O), **145.6** (C=C-C-OH), **125.6** (C=C-C-OH), **65.1** (C-OH), **54.6** (O=C-C-O-C), **53.8** (O=C-C-O-C).

IR (KBr) 3565, 1686, 1401, 1254, 826 cm^{-1}

$[\alpha]_{\text{D}}^{21}$: + 195.6 (c 0.68, acetona)

EMAR m/z [M-H] $^-$: Calculado: 125.0239; Experimental: 125.0240

(1R, 4S, 5R, 6R)-4-Acetil-5,6-epoxiciclohex-2-en-1,4-diol (23)

A una solución de **17** (0.10 g, 0.40 mmol) en THF (3 mL) se le agrega HSnBu_3 (0.1 mL, 0.68 mmol). La mezcla se lleva lentamente a reflujo y se agrega ABCC (0.12 g, 0.48 mmol). Se agita durante 1 hora a reflujo y luego se deja llegar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora a vacío y el residuo se purifica por cromatografía en columna (gradiente de mezcla 9:1 - 6:4 hexanos/acetato de etilo) para dar **23** (0.07 g, 100%) como un sólido blanco.

PF: 94-95 $^{\circ}\text{C}$

^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : **5.65** (dq, $J_1 = 2.3$ Hz, $J_2 = 10.6$ Hz, 1H, C=C-C-OH); **5.54** (m, 1H, AcO-C-H); **5.43** (dq, $J_1 = 2.20$ Hz, $J_2 = 10.6$ Hz, 1H, C=C-C-OH); **4.42** (m, 1H, C-(H)-OH); **3.63** (m, 1H, AcO-C-C(H)-O); **3.59** (m, 1H, HO-C-C(H)-O); **2.57** (d, $J = 10.6$ Hz, 1H, OH); **2.15** (s, 3H, CH_3).

^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : **170.7** (C=O); **129.3** (C=C-C-OH); **123.4** (C=C-C-OH); **67.1** (AcO-C); **64.6** (C-OH); **53.9** (HO-C-C-O-C); **52.1** (HO-C-C-O-C); **21.0** (CH_3).

IR (KBr) 3272, 1730, 1246, 895 cm^{-1}

$[\alpha]_{\text{D}}^{21}$: - 7.4 (c 1.160, acetona)

EMAR m/z [M+Na] $^+$: Calculado: 193.0477; Experimental: 193.0466

(1R, 4S, 5R, 6S)-4-Acetil-1-[dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxiciclohex-2-en-4-ol (24)

A una solución de **23** (0.10 g, 0.59 mmol) en DMF (1 mL) a 0 $^{\circ}\text{C}$ se agrega THSCl (0.137 g, 0.76 mmol) e imidazol (0.088 g, 1.29 mmol) previamente disueltos en DMF (1 mL). La mezcla se agita durante 12 horas a 4 $^{\circ}\text{C}$. La mezcla de reacción se vuelca sobre agua, se separan las capas y la capa acuosa se extrae con éter etílico. Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO_4 (x2) y con solución saturada de

NaCl (x2). Se seca sobre Na₂SO₄ y se evapora a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna para dar **24** (0.183 g, 100%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.65** (dq, *J*₁= 2.2 Hz, *J*₂= 10.6 Hz, 1H, C=C(H)-C-OTHS); **5.52** (m, 1H, AcO-C-H); **5.39** (dq, *J*₁= 2.2 Hz, *J*₂= 10.6 Hz, 1H, AcO-C-C(H)=C); **4.55** (m, 1H, THS-O-C-H); **3.56** (m, 1H, AcO-C-C(H)-O); **3.44** (m, 1H, THSO-C-C(H)-O); **2.15** (s, 3H, O=C-CH₃); **1.67** (m, 1H, (CH₃)₂-C(H)); **0.91** (m, 6H, Si-C-C-(CH₃)₂); **0.89** (m, 6H, Si-C-(CH₃)₂); **0.20** (s, 3H, Si-CH₃); **0.15** (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **170.8** (C=O); **130.1** (C=C-C-OH); **122.5** (AcO-C); **67.4** (C=C-C-OH); **65.7** (C-OTHS); **53.8** (THSO-C-C-O-C); **51.2** (HO-C-C-O-C); **34.2** (H-C-(CH₂)₂); **25.0** (THS); **21.1** (THS); **20.2** (THS); **-1.5** (Si-CH₃); **-2.6** (Si-CH₃).

IR (KBr) 2959, 2869, 1740, 1252, 1094, 777 cm⁻¹

[α]_D²¹: - 7.8 (c 1.620, acetona)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 336.1665; Experimental: 335.1663

(1S, 4R, 5S, 6S)-4-[Dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxiciclohex-2-en-4-ol (25)

A una solución de **24** (0.20 g, 0.64 mmol) en MeOH (4 mL) se le agrega una punta de espátula de K₂CO₃. Se agita durante una hora a temperatura ambiente. Se filtra la mezcla de reacción por papel y se concentra a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **25** (0.14 g, 79%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.52** (dq, *J*₁= 2.2 Hz, *J*₂= 10.5 Hz, 1H, C=C(H)-C-OTHS); **5.46** (dq, *J*₁= 2.2 Hz, *J*₂= 10.5 Hz, 1H, HO-C-(H)C=C); **4.53** (m, 1H, C(H)-OTHS); **4.35** (m, 1H, HO-C(H)); **3.55** (m, 1H, HO-C-C(H)-O); **3.48** (m, 1H, THSO-C-C(H)-O); **2.07** (d, *J*=11.3 Hz, 1H, OH); **1.69** (m, 1H, (CH₃)₂-C(H)); **0.92** (m, 12H, Si-C-(CH₃)₄); **0.22** (s, 3H, Si-CH₃); **0.20** (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **128.4** (C=C-C-OH); **126.7** (C=C-C-OH); **65.6** (C-OTHS); **64.9** (C-OH); **55.2** (THSO-C-C-O-C); **54.3** (HO-C-C-O-C); **34.1** (H-C-(CH₂)₂); **25.1** (Si-C-(CH₂)₂); **20.2** (Si-C-(CH₂)₂); **18.6** (H-C-(CH₂)₂); **-2.6** (Si-(CH₂)₂).

IR (KBr) 3401, 2959, 2868, 1254, 1088, 777 cm⁻¹

[α]_D²³: -4.1 (c 0.680, acetona)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 293.1549; Experimental: 293.1564

(4R, 5R, 6R)-4-[Dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxiciclohex-2-enona (26)

A una solución de **25** (0.11 g, 0.40 mmol) en DMF (2 mL) se agrega IBX (0.15 g, 0.52 mmol). La mezcla se agita durante 3 horas a temperatura ambiente. Se filtra por papel y el filtrado se vuelca sobre agua. Se extrae con Et₂O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2), solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (95:5 hexanos/acetato de etilo) para dar **26** (0.091 g, 85%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **6.40** (dt, $J_1 = 2.5$ Hz, $J_2 = 10.7$ Hz, 1H, O=C-C=C(H)); **5.85** (dq, $J_1 = 2.1$ Hz, $J_2 = 10.6$ Hz, 1H, O=C-C(H)=C); **4.78** (dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz, 1H, C(H)-OTHS); **3.69** (dt, $J_1 = 2.7$ Hz, $J_2 = 4.0$ Hz, 1H, O=C-C(H)-O); **3.39** (dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 4.0$ Hz, 1H, THSO-C-C(H)-O); **1.68** (dt, $J_1 = 6.9$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz 1H, (CH₃)₂-C(H)); **0.92** (m, 12H, Si-C-(CH₃)₄); **0.23** (s, 3H, Si-CH₃); **0.22** (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **193.7** (C=O); **146.8** (O=C-C=C); **124.9** (O=C-C=C); **66.2** (C-OTHS); **54.4** (THSO-C-C-O-C); **53.1** (O=C-C-O-C); **34.2** (H-C-(CH₃)₂); **25.2** (Si-C-(CH₂)₂); **20.3** (H-C-(CH₂)₂); **18.7** (Si-C-(CH₂)₂); **-2.5** (Si-(CH₂)₂).

IR (KBr) 2959, 2869, 1692, 1256, 1101, 776 cm⁻¹

[α]_D²¹: + 94.6 (c 1.02, acetona)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 291.1387; Experimental: 291.1372

(4S, 5S, 6R)-5,6-Epoxi-4-p-nitrobenzoiloxiciclohex-2-enona (**27**)

A una solución de **22** (0.08 g, 0.66 mmol) en benceno (3 mL) se le agrega PPh₃ (0.19 g, 0.73 mmol), ácido PNB (0.11 g, 0.66 mmol) y DIAD (0.14 mL, 0.73 mmol). La mezcla se agita durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se evapora el disolvente a vacío y se purifica por cromatografía en columna (gradiente de mezcla 9:1 - 6:4 hexanos/acetato de etilo) para dar **27** (0.11 g, 63%) como un sólido blanco.

PF: 132-133 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **8.32** (m, 2H, Ar); **8.24** (m, 2H, Ar); **6.71** (ddd, $J_1 = 2.6$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz, $J_3 = 10.6$ Hz, 1H, O=C-C=C(H)); **6.19** (dt, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 10.6$ Hz, 1H, O=C-C(H)=C); **6.05** (dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz, 1H, PNBO-C(H)); **3.90** (m, 1H, PNBO-C-C(H)-O); **3.59** (ddd, $J_1 = 0.9$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz, $J_3 = 3.4$ Hz 1H, O=C-C(H)-O).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **192.3** (C=O); **163.6** (O-C=O); **151.1** (C-NO₂); **138.5** (C=C-C-OPNB); **134.0** (Ar); **131.1** (Ar); **129.7** (C=C-C-OPNB); **123.8** (Ar); **65.3** (C-OPNB); **55.1** (PNBO-C-O); **52.9** (O=C-C-O).

[α]_D²¹: + 356. 8 (c 1.010, acetona)

IR (KBr) 3114, 1736, 1691, 1526, 1269 cm^{-1}

EMAR m/z $[M-H]^-$: Calculado: 274.0352; Experimental: 274.0362

(4S, 5S, 6R)-2-Bromo-5,6-epoxi-4-*p*-nitrobenzoiloxiciclohex-2-enona (28)

A una solución de **27** (0.12 g, 0.43 mmol) en tetracloruro de carbono (3 mL) se le agrega durante un período de 30 minutos una solución de Br_2 en tetracloruro de carbono (0.51 mmol en 1 mL de CCl_4). La mezcla se agita durante 24 horas a temperatura ambiente. La reacción se vuelca sobre agua y se extrae con diclorometano. Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaCl (x2). Se seca sobre Na_2SO_4 y se evapora a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (8:2 hexanos/acetato de etilo) para dar **28** (0.076 g, 50%) como un sólido blanco.

PF: 158-160 $^\circ\text{C}$

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **8.36** (m, 2H, Ar); **8.27** (m, 2H, Ar); **7.21** (dd, $J_1= 2.5$ Hz, $J_2= 5.3$ Hz, 1H, Br-C=C(H)); **6.07** (dt, $J_1= 1.3$ Hz, $J_2= 5.3$ Hz, 1H, PNBO-C(H)); **3.94** (ddd, $J_1= 1.4$ Hz, $J_2= 2.4$, $J_3= 3.7$ Hz, 1H, O=C-C(H)-O); **3.79** (dd, $J_1= 1.3$ Hz, $J_2= 3.4$ Hz, 1H, PNBO-C-C(H)-O).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **185.8** (C=O); **163.5** (O-C=O); **151.1** (C-NO₂); **138.7** (Br-C=C); **133.7** (Ar); **131.2** (Ar); **126.4** (Br-C=C); **123.8** (Ar); **66.6** (C-OPNB); **54.9** (PNBO-C-O); **53.0** (O=C-C-O).

IR (KBr) 3113, 1732, 1703, 1528, 1262, 613 cm^{-1}

$[\alpha]_{\text{D}}^{23}$: +79.9 (*c* 0.490, acetona)

4-Nitrobenzoato de 3-bromo-4,5-dihidroxifenilo (29)

A una solución de **27** (0.036 g, 0.13 mmol) en diclorometano (2 mL) se le agrega una solución de Br_2 (3 μL , 0.061 mmol) en diclorometano (2 mL) y Et_3N (0.04 mL, 0.10 mmol). La mezcla se agita por 2 horas a -10 $^\circ\text{C}$ y se deja llegar a temperatura ambiente. El crudo de reacción se toma en Et_2O y se vuelca sobre agua. Se separan las capas y la capa acuosa se extrae con Et_2O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO_4 (x2), solución saturada de NaHSO_3 (x2) y solución saturada de NaCl (x2). Se seca sobre Na_2SO_4 y se evapora a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (8:2 hexanos/acetato de etilo) para dar **29**.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **8.35** (d, $J= 1.5$ Hz, 4H, Ar); **6.96** (d, $J= 2.6$ Hz, 1H, Ar); **6.82** (d, $J= 2.6$ Hz, 1H, Ar).

(+)-bromoxona (30)⁵⁷

A una solución de **28** (0.02 g, 0.06 mmol) en metanol (2 mL) se le agrega K₂CO₃ (cantidades catalíticas). La mezcla se agita durante 3 horas a temperatura ambiente y se vuelca sobre agua. Se extrae con acetato de etilo (x2) y las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaCl (x2). Se seca sobre Na₂SO₄ y se evapora a vacío. El residuo (sólido amarillo) se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar (+)-bromoxona (**30**) (0.009 g, 78%) como un sólido blanco cristalino.

PF: 137-138 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **7.14** (dd, *J*₁= 2.4 Hz, *J*₂= 5.2 Hz, 1H, Br-C=C(H)); **4.75** (m, 1H, HO-C(H)); **3.84** (ddd, *J*₁= 1.3 Hz, *J*₂= 2.4 Hz, *J*₃= 3.5 Hz, 1H, HO-C-C(H)-O); **3.68** (dd, *J*₁= 1.3 Hz, *J*₂= 3.5 Hz, 1H, O=C-C(H)-O)

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **186.7** (C=O); **144.0** (Br-C=C-C-OH); **123.7** (Br-C=C); **64.8** (C-OH); **57.5** (O=C-C-O-C); **53.4** (O=C-C-O-C).

IR (KBr) 3490, 2924, 2853, 1701, 1265, 719 cm⁻¹

[α]_D²³: +158.9 (c 0.150, CH₂Cl₂)

EMAR m/z [M-H]⁻: Calculado: 202.9344; Experimental: 202.9335

(4S, 5R, 6S)-4-Acetil-2-bromo-5,6-epoxi-4-hidroxiciclohex-2-enona (31)

A una solución de **17** (0.20 g, 0.80 mmol) en DMF (2 mL) se agrega IBX (0.34 g, 1.20 mmol). La mezcla se agita durante 6 horas a temperatura ambiente. Se filtra por papel y el filtrado se vuelca sobre agua. Se extrae con Et₂O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2), solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío y el residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **31** (0.15 g, 75%) como un sólido blanco.

PF: 111-113 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **6.88** (t, *J*₁= 2.6 Hz, 1H, (H)-C=C); **5.80** (t, *J*₁= 2.7 Hz, 1H, AcO-C(H)); **3.93** (dt, *J*₁= 2.6 Hz, *J*₂= 3.9 Hz, 1H, O-C(H)); **3.69** (d, *J*= 3.9 Hz, 1H, O=C-C(H)); **2.24** (s, 3H, O=C-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **186.2** (C=O); **170.4** (C=O); **141.7** (C=C-Br); **121.5** (C=C-Br); **68.0** (O-C-C=C); **52.2** (O-C-C-O); **51.9** (O-C-C=O); **21.1** (CH₃).

IR (KBr) 1748, 1700, 1646, 1221, 1042, 420 cm⁻¹

EM (m/z, %) **248** (M⁺, 9), **224** (10), **206** (100), **204** (97), **96** (39)

$[\alpha]_D^{19}$: -103.9 (*c* 0.565, CH₂Cl₂)

EMAR *m/z* [M+Na]⁺: Calculado: 268.9425; Experimental: 268.9431

(4*S*, 5*S*, 6*S*)-2-Bromo-5,6-epoxi-4-hidroxiciclohex-2-enona (32)

A una solución de **31** (0.17 g, 0.69 mmol) en MeOH (5 mL) se agrega resina Dowex 50WX8-200 (0.28 g). La mezcla se agita durante 48 horas a temperatura ambiente. Se filtra por papel y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **32** (0.055 g, 76%) como un sólido blanco.

PF: 95-97 °C

¹H-RMN (CD₃OD) δ (ppm) : 7.00 (t, *J*= 2.6 Hz, 1H, C(H)=C-Br); 4.87 (s, 1H, OH); 4.75 (t, *J*= 2.7 Hz, 1H, HO-C(H)); 3.85 (dt, *J*₁= 2.6 Hz, *J*₂= 3.9 Hz, 1H, HO-C-C(H)-O); 3.65 (d, *J*= 3.9 Hz, 1H, O=C-C(H)-O).

¹³C-RMN (CD₃OD) δ (ppm) : 187.1 (C=O); 147.2 (C=C-Br); 118.0 (C=C-Br); 66.0 (HO-C); 54.1 (HO-C-C-O); 52.2 (O-C-C=O).

IR (KBr) 1722, 1278, 1114, 1072, 710 cm⁻¹

$[\alpha]_D^{21}$: -49.2 (*c* 0.386, acetona)

5-Acetil-3-bromo-1,2,5-trihidroxibenceno (33)

A una solución de **31** (0.05 g, 0.02 mmol) en MeOH (5 mL) se le agrega una punta de espátula de K₂CO₃. La mezcla se agita durante 5 minutos a temperatura ambiente. El crudo de reacción se filtra por papel y el filtrado se evapora a vacío. El crudo se purifica por cromatografía en columna (4:6 hexanos/acetato de etilo) para dar **33** (0.04 g, 98%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 6.80 (d, *J*= 2.6 Hz, 1H, (H)-C-C-Br); 6.65 (d, *J*= 2.6 Hz, 1H, AcO-C-C-(H)); 5.65 (s, 1H, OH); 5.49 (s, 1H, OH); 2.27 (s, 3H, CH₃).

(4*S*, 5*S*, 6*R*)-2-Bromo-4,5-dihidroxi-6-metoxiciclohex-2-enona (34)

Obtenido por reacción de **31** con Resina Dowex en MeOH según la técnica descrita para la obtención de **32**.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 7.29 (d, $J = 4.9$ Hz, 1H, C(H)=C-Br); 4.61 (dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 4.9$ Hz, 1H, Br-C=C-C(H)); 4.11 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H, HO-C(H)); 4.06 (dd, $J_1 = 3.5$ Hz, $J_2 = 8.8$ Hz, 1H, $\text{H}_3\text{C-O-C}(\underline{\text{H}})$); 3.60 (s, 3H, O- $\underline{\text{CH}}_3$); 3.24 (s, 1H, OH); 3.17 (s, 1H, OH).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 189.5 (C=O); 145.4 ($\underline{\text{C}}=\text{C-Br}$); 125.1 (C= $\underline{\text{C}}\text{-Br}$); 82.2 ($\text{CH}_3\text{-O-}\underline{\text{C}}$); 70.9 (HO- $\underline{\text{C}}\text{-C-OCH}_3$); 66.9 (HO- $\underline{\text{C}}\text{-C=C-Br}$); 60.1 ($\underline{\text{CH}}_3$).

(4R, 5R, 6S)-2-Bromo-5,6-epoxi-4-*p*-nitrobenzoiloxiciclohex-2-enona (35)

Se suspende la epoxienona **32** (0.10 g, 0.49 mmol) en 2 ml de benceno. Se agrega a la suspensión trifenilfosfina (0.14 g, 0.54 mmol), ácido *p*-nitrobenzoico (0.08 g, 0.49 mmol) y DIAD (0.11 mL, 0.54 mmol) en el orden indicado. Se agita a temperatura ambiente por 2 horas. Se evapora a vacío el disolvente. El crudo obtenido se purifica por cromatografía en columna (8:2 hexanos/ acetato de etilo) para dar **35** (0.008 g, 5%).

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 8.33 (m, 2H, Ar); 8.24 (m, 2H, Ar); 7.18 (dd, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 5.3$ Hz, 1H, Br-C=C-(H)); 6.04 (dt, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 5.3$ Hz, 1H, *p*-NB-O-C(H)); 3.94 (ddd, $J_1 = 1.4$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, $J_3 = 3.6$ Hz, 1H, *p*-NB-O-C-C(H)-O); 3.79 (dd, $J_1 = 1.2$ Hz, $J_2 = 3.4$ Hz, 1H, O=C-C(H)-O).

(1S, 4S, 5S, 6R)-2-Bromo-5,6-epoxiciclohex-2-en-1,4-diol (36)⁵⁰

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 6.03 (d, $J = 3.2$ Hz, 1H, Br-C=C(H)); 4.43 (s, 1H, C=C-C(H)); 4.40 (s, 1H, Br-C-C(H)-OH); 3.73 (m, 1H, C=C-C(OH)-C(H)-O); 3.67 (dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 5.7$ Hz, 1H, Br-C-C(OH)-C(H)-O).

(1S, 2R)-3-Metilciclohexa-3,5-dien-1,2-diol (37)⁹

Obtenido por biotransformación con *Pseudomonas putida* F39/D a partir de tolueno.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 5.94 (m, 1H, (H)-C=C- CH_3); 5.82 (dd, $J_1 = 3.7$ Hz, $J_2 = 9.6$ Hz, 1H, C(H)=C-C-OH); 5.75 (d, $J = 4.4$ Hz, 1H, C=C(H)-C-OH); 4.31 (s, 1H, HO-C(H)); 4.06 (s, 1H, HO-C(H)); 1.28 (s, 3H, $\underline{\text{CH}}_3$).

(1S, 2R)-3-Metil-1,2-O-isopropilidenciclohexa-3,5-dien-1,2-diol (38)¹⁹

Rendimiento: 90%

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : 5.97 (dd, $J_1 = 5.7$ Hz, $J_2 = 9.6$ Hz, 1H, (H)C=C-C-O); 5.80 (dd, $J_1 = 3.9$ Hz, $J_2 = 9.6$ Hz, 1H, C=C(H)-C-O); 5.72 (d, $J = 5.6$ Hz, 1H, (H)C=C- CH_3); 4.66 (dd,

$J_1 = 3.9$ Hz, $J_2 = 8.7$ Hz, 1H, C=C-C(H)-O); **4.50** (d, $J = 8.7$ Hz, 1H, H₃C-C-C(H)-O); **1.91** (s, 3H, C=C-CH₃); **1.42** (s, 3H, CH₃); **1.40** (s, 3H, CH₃).

(1R,2R,5S,6S)-5-Acetil-6-iodo-3-metil-1,2-O-isopropilidenciclohex-3-en-1,2,5-triol (39).²¹

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.50** (m, 1H, (H)C=C-CH₃); **5.48** (m, 1H, AcO-C(H)); **4.51** (dd, $J_1 = 5.8$ Hz, $J_2 = 9.9$ Hz 1H, I-C-C(H)-O); **4.38** (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, H₃C-C-C(H)-O); **4.03** (t, $J = 9.6$ Hz, 1H, I-C(H)); **2.16** (s, 3H, O=C-CH₃); **1.88** (s, 3H, C=C-CH₃); **1.52** (s, 3H, CH₃); **1.44** (s, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **170.2** (C=O); **134.4** (C=C-CH₃); **125.4** (C=C-CH₃); **110.6** (CH₃-C-CH₃); **79.1** (O-C-C-I); **75.2** (AcO-C); **73.2** (O-C-C-CH₃); **31.3** (C-I); **28.3** (CH₃-C-CH₃); **26.0** (CH₃-C-CH₃); **21.1** (CH₃-C=O); **20.3** (CH₃-C=C).

(1R,2R,5R,6R)-5-Acetil-6-iodo-3-metil-1,2-O-isopropilidenciclohex-3-en-1,2,5-triol (40)²¹

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.58** (m, 1H, (H)C=C-CH₃); **5.60** (m, 1H, AcO-C(H)); **4.51** (dd, $J_1 = 5.8$ Hz, $J_2 = 9.9$ Hz 1H, I-C-C(H)-O); **4.36** (d, $J = 5.8$ Hz, 1H, H₃C-C-C(H)-O); **4.09** (t, $J = 9.6$ Hz, 1H, I-C(H)); **2.16** (s, 3H, O=C-CH₃); **1.80** (s, 3H, C=C-CH₃); **1.43** (s, 3H, CH₃); **1.38** (s, 3H, CH₃).

(1R, 2R, 5S, 6S)-5-Acetil-6-iodo-3-metilciclohex-3-en-1,2,5-triol (41)

Una solución de **39** (0.96 g, 2.72 mmol) en AcOH 50% (10 mL) se calienta a 50 °C con agitación durante 24 horas. La mezcla de reacción se deja llegar a temperatura ambiente, se vuelca sobre agua y se extrae con Et₂O (x4). A las capas orgánicas combinadas se les agrega hielo y se neutraliza con NaHCO₃ sólido hasta pH neutro. Se separan las capas y la capa orgánica se lava con solución saturada de NaCl (x2). Se seca sobre Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a vacío.

El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **41** (0.36 g, 51%) como un sólido blanco.

PF: 149-151 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.62** (m, 1H, AcO-C(H)); **5.46** (m, 1H, C(H)=C-CH₃); **4.34** (dd, $J_1 = 9.0$ Hz, $J_2 = 11.3$ Hz, 1H, I-C(H)); **4.20** (t, $J = 3.6$ Hz, 1H, C=C-C(H)-OH); **3.81** (m, 1H, I-C-C(H)-OH); **2.80** (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, I-C-C(H)-OH); **2.64** (d, $J = 3.9$ Hz, 1H, C=C-C(H)-OH); **2.16** (s, 3H, O=C-CH₃); **1.90** (s, 3H, C=C-CH₃).

^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 170.2 ($\text{C}=\text{O}$); 137.5 ($\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$); 124.3 ($\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$); 75.3 ($\text{AcO}-\text{C}$); 71.7 ($\text{HO}-\text{C}-\text{C}-\text{I}$); 69.1 ($\text{HO}-\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3$); 34.4 ($\text{C}-\text{I}$); 21.1 ($\text{CH}_3-\text{C}=\text{O}$); 20.6 ($\text{CH}_3-\text{C}=\text{C}$).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22.8}$: -6.7 (*c* 0.598, CH_2Cl_2)

EMAR m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$: Calculado: 334.9756; Experimental: 334.9733

(1R, 4S, 5R, 6R)-4-Acetil-5,6-epoxi-3-metilciclohex-2-en-1,4-diol (42)

A una solución de **41** (0.30 g, 0.97 mmol) en CH_2Cl_2 (4 mL) se agrega NaOH (0.04 g, 0.97 mmol) y Bu_4NHSO_4 (0.02 g, 0.09 mmol) con agitación. Luego de 1 hora se agrega solución saturada de NH_4Cl hasta neutralizar. La mezcla de reacción se extrae con CH_2Cl_2 (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaCl (x2). Se seca sobre Na_2SO_4 y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (1:1 hexanos/acetato de etilo) para dar **42** (0.06 g, 36%) como un sólido blanco.

PF: 80-81 °C

^1H -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 5.52 (dt, $J_1= 2.3$ Hz, $J_2= 4.6$ Hz, 1H, $\text{AcO}-\text{C}(\text{H})$); 5.19 (ddd, $J_1= 1.5$ Hz, $J_2= 2.4$ Hz, $J_3= 3.9$ Hz, 1H, $\text{C}(\text{H})=\text{C}-\text{CH}_3$); 4.23 (d, $J= 9.6$ Hz, 1H, $\text{HO}-\text{C}(\text{H})$); 3.66 (m, 1H, $\text{AcO}-\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 3.60 (dd, $J_1= 2.9$ Hz, $J_2= 4.3$ Hz, 1H, $\text{HO}-\text{C}-\text{C}(\text{H})-\text{O}$); 2.14 (s, 3H, $\text{O}=\text{C}-\text{CH}_3$); 1.82 (m, 3H, $\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$).

^{13}C -RMN (CDCl_3) δ (ppm) : 170.8 ($\text{C}=\text{O}$); 136.5 ($\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$); 118.6 ($\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3$); 67.7 ($\text{AcO}-\text{C}$); 67.0 ($\text{HO}-\text{C}$); 54.8 ($\text{HO}-\text{C}-\text{C}-\text{O}$); 53.2 ($\text{AcO}-\text{C}-\text{C}-\text{O}$); 21.1 ($\text{CH}_3-\text{C}=\text{O}$); 19.2 ($\text{CH}_3-\text{C}=\text{C}$).

$[\alpha]_{\text{D}}^{22.8}$: +20.2 (*c* 0.925, acetona)

EMAR m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$: Calculado: 207.0633; Experimental: 207.0637

(4S, 5R, 6S)-4-Acetil-5,6-epoxi-4-hidroxi-2-metilciclohex-2-enona (43)

A una solución de **42** (0.04 g, 0.23 mmol) en DMF (1 mL) se agrega IBX (0.080 g, 0.28 mmol). La mezcla se agita durante 2 horas a temperatura ambiente. Se filtra por papel y el filtrado se vuelca sobre agua. Se extrae con Et_2O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO_4 (x2), solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na_2SO_4 . Se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **43** (0.04 g, 91%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 6.18 (tq, $J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 2.9$ Hz, 1H, AcO-C(H)); 5.76 (m, 1H, C=C-CH₃); 3.88 (dt, $J_1 = 2.7$ Hz, $J_2 = 4.1$ Hz, 1H, AcO-C-C(H)-O); 3.52 (d, $J = 4.1$ Hz, 1H, O=C-C(H)-O); 2.22 (s, 3H, O=C-CH₃); 1.85 (m, 3H, C=C-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 193.4 (C=C-CH₃); 170.4 (H₃C-C=O); 136.0 (AcO-C); 133.9 (C=O); 66.8 (C=C-CH₃); 52.6 (O=C-C-O); 51.5 (AcO-C-C-O); 20.9 (CH₃-C=O); 15.9 (CH₃-C=C).

[α]_D^{22.8}: -156.6 (c 0.60, CHCl₃)

EMAR m/z [M+Na]⁺: Calculado: 205.0477; Experimental: 205.0476

(-)-epoformina (44)

A una solución de **43** (0.03 g, 0.14 mmol) en MeOH (1 mL) se le agrega una punta de espátula de K₂CO₃. Se agita durante una hora a temperatura ambiente. Se filtra la mezcla de reacción por papel y se concentra a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **44** (0.014 g, 74%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 6.27 (tq, $J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 2.8$ Hz, 1H, C(H)=C-CH₃); 4.63 (dd, $J_1 = 2.1$ Hz, $J_2 = 10.5$ Hz, 1H, HO-C(H)); 3.83 (dt, $J_1 = 2.8$ Hz, $J_2 = 3.9$ Hz, 1H, HO-C-C(H)); 3.51 (d, $J = 4.0$ Hz, 1H, O=C-C(H)); 2.28 (d, $J = 10.6$ Hz 1H, OH); 1.81 (t, $J = 1.7$ Hz 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 193.9 (C=O); 140.4 (HO-C); 132.5 (C=C-CH₃); 65.1 (C=C-CH₃); 54.6 (O=C-C-O); 53.9 (HO-C-C-O); 15.9 (CH₃-C=C).

[α]_D^{22.8}: -157.8 (c 0.66, CHCl₃)

(4R, 5R, 6S)-5,6-epoxi-2-metil-4-*p*-nitrobenzoiloxiciclohex-2-enona (45)

A una suspensión de **44** (0.04 g, 0.31 mmol) en benceno (1 mL) se le agrega PPh₃ (0.098 g, 0.37 mmol), ácido *p*-nitrobenzoico (0.052 g, 0.31 mmol) y DEAD (0.058 mL, 0.37 mmol) gota a gota en ese orden. Se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez finalizada la reacción el crudo se concentra a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (9:1 hexanos/acetato de etilo) para dar **45** (0.05 g, 59%) como un sólido blanco.

PF: 130-132 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 8.34 (dt, $J_1 = 2.0$ Hz, $J_2 = 8.9$ Hz, 2H, Ar); 8.25 (dt, $J_1 = 2.0$ Hz, $J_2 = 8.9$ Hz, 2H, Ar); 6.51 (m, 1H, C(H)=C-CH₃); 6.04 (dt, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 3.9$ Hz, 1H,

PNBO-C(H)); **3.90** (m, 1H, PNBO-C-C(H)); **3.65** (dd, $J_1 = 1.0$ Hz, $J_2 = 3.5$ Hz, 1H, O=C-C(H)); **1.94** (t, $J = 1.2$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **193.4** (C=O); **163.8** (O-C=O); **150.0** (C-NO₂); **137.4** (C=C-CH₃); **134.3** (Ar); **133.4** (C=C-CH₃); **131.1** (Ar); **123.8** (Ar); **65.9** (C-O-PNB); **54.9**, (PNB-O-C-C-O); **53.0** (O=C-C-O); **16.2** (CH₃-C=C).

IR (KBr) 1724, 1279, 1115, 1069, 714 cm⁻¹

[α]_D²⁰: -282.9 (c 0.467, acetona)

(-)-epiepoformina (46)

A una solución de **45** (0.06 g, 0.22 mmol) en MeOH (4 mL) se le agrega una punta de espátula de K₂CO₃. Luego de 15 minutos de agitación a temperatura ambiente se filtra por papel y se concentra a vacío. El crudo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **46** (0.01 g, 97%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **6.46** (m, 1H, C(H)=C-CH₃); **4.65** (m, 1H, HO-C(H)); **3.78** (ddd, $J_1 = 1.3$ Hz, $J_2 = 2.6$ Hz, $J_3 = 3.7$ Hz, 1H, HO-C-C(H)); **3.49** (dd, $J_1 = 1.1$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz, 1H, O=C-C(H)); **2.34** (d, $J = 8.6$ Hz, 1H, OH); **1.83** (m, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **194.6** (C=O); **139.1** (C=C-CH₃); **134.5** (C=C-CH₃); **63.5** (HO-C); **57.8** (HO-C-C-O); **53.5** (O=C-C-O); **16.1** (CH₃-C=C).

IR (KBr) 1722, 1279, 1256, 1115, 1069, 710 cm⁻¹

[α]_D¹⁹: -320.4 (c 0.174, EtOH)

(1S, 2R, 3S, 4S)-1,2-O-Isopropiliden-3,4-dihidroxi-3-metilciclohex-5-en-1,2,3,4-tetraol (47)²⁰

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.75** (m, 1H, HO-C-C=C(H)); **5.68** (d, $J = 10.3$ Hz, 1H, HO-C-C(H)=C); **4.64** (m, 1H, HO-C(H)-C=C); **4.17** (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, H₃C-C-C(H)-O); **4.13** (m, 1H, C=C-C(H)-O); **1.45** (s, 3H, CH₃); **1.36** (s, 6H, C-(CH₃)₂).

(1S, 2R, 5R, 6R)-5,6-dihidroxi-1,2-O-Isopropiliden-3-metilciclohex-3-en-1,2,5,6-tetraol (48)²⁰

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.62** (dd, $J_1 = 1.0$ Hz, $J_2 = 4.5$ Hz, 1H, (H)-C=C-CH₃); **4.47** (d, $J = 6.0$ Hz, 1H, H₃C-C-C(H)-O); **4.34** (dd, $J_1 = 6.0$ Hz, $J_2 = 7.1$ Hz, 1H, HO-C-C(H)-O); **4.25** (d, $J = 5.1$ Hz, 1H, C=C-C(H)-OH); **3.87** (dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 6.9$ Hz, 1H, C=C-C-C(H)-

OH); **2.90** (s, 1H, OH); **2.66** (s, 1H, OH); **1.86** (m, 3H, C=C-CH₃); **1.43** (s, 3H, CH₃); **1.39** (s, 3H, CH₃).

(1R, 2S, 3R, 4R)-1,2-Dibenzoil-3,4-O-isopropiliden-5-metilciclohex-5-en-1,2,3,4-tetraol (49)

A una solución de **48** (0.60 g, 3.00 mmol) en CH₂Cl₂ (4 mL) se agrega Et₃N (1.25 mL, 9.00 mmol) y BzCl (0.83 mL, 7.20 mmol). La mezcla se agita durante 24 horas a temperatura ambiente. Una vez finalizada la reacción la mezcla se diluye con solución saturada de NaHCO₃. Se extrae con CH₂Cl₂ (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2), solución saturada de NaCl (x2), se secan sobre Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (9:1 hexanos/acetato de etilo) para dar **49** como un aceite incoloro (1.22 g, 100%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **8.00** (m, 4H, Ar); **7.56** (m, 2H, Ar); **7.42** (m, 4H, Ar); **5.88** (dd, *J*₁= 0.8 Hz, *J*₂= 5.3 Hz, 1H, H-C=C-CH₃); **5.78** (t, *J*= 4.3 Hz, 1H, C=C-C(H)-OBz); **5.55** (dd, *J*₁= 3.5 Hz, *J*₂= 8.4 Hz, 1H, BzO-C(H)); **4.77** (dd, *J*₁= 6.2 Hz, *J*₂= 8.3 Hz, 1H, C(H)-O-C(CH₃)₂); **4.69** (d, *J*= 6.2 Hz 1H, C=C-C(H)-O); **1.99** (s, 3H, C=C-CH₃); **1.54** (s, 3H, CH₃); **1.45** (s, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **165.9** (C=O); **165.8** (C=O); **138.5** (C=C-CH₃); **133.1** (Ar); **129.9** (Ar); **129.8** (Ar); **128.4** (Ar); **121.4** (C=C-CH₃); **110.2** (C-(CH₃)₂); **75.8** (C=C-C-O-C-(CH₃)₂); **73.4** (Bz-O-C-C-O-C(CH₃)₂); **71.8** (Bz-O-C-C-O-C(CH₃)₂); **67.8** (C=C-C-OBz); **27.8** ((CH₃)₂-C-O); **25.9** ((CH₃)₂-C-O); **20.6** (C=C-CH₃).

[α]_D¹⁹: -205.9 (c 0.658, acetona)

(1R, 2S, 3R, 4R)-1,2-Dibenzoil-5-metilciclohex-5-en-1,2,3,4-tetraol (50)

A una solución de **49** (0.79 g, 1.93 mmol) en CH₃CN (30 mL) se agrega CuCl₂ (0.49 g, 2.90 mmol). Se agita durante 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vuelca sobre solución saturada de NaCl y se extrae con AcOEt (x3). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄ y se concentra a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **50** (0.37 g, 100%) como un sólido blanco.

PF: 130-131 °C

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **8.04** (m, 2H, Ar); **7.93** (m, 2H, Ar); **7.59** (m, 1H, Ar); **7.52** (m, 1H, Ar); **7.46** (m, 2H, Ar); **7.34** (m, 2H, Ar); **5.93** (t, *J*= 4.4 Hz, 1H, H-C=C-CH₃); **5.80** (dd,

$J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 5.4$ Hz, 1H, BzO-C(H)-C=C); **5.64** (dd, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 10.4$ Hz, 1H, BzO-C(H)); **4.44** (dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 10.5$ Hz, 1H, C(H)-OH); **4.33** (d, $J = 4.3$ Hz, 1H, C=C-C(H)-OH); **3.04** (s, 2H, (OH)₂); **1.99** (s, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **166.9** (C=O); **165.7** (C=O); **141.0** (C=C-CH₃); **133.3** (Ar); **133.2** (Ar); **129.9** (Ar); **129.8** (Ar); **129.7** (Ar); **129.5** (Ar); **128.5** (Ar); **128.4** (Ar); **121.0** (C=C-C-O); **70.6** ((CH₃-C-C-OH); **70.5** (Bz-O-C-C-OH); **68.2** (Bz-O-C-C-OH); **67.9** (C=C-CH₃); **21.0** (CH₃).

IR (KBr) 1734, 1452, 1252, 1115, 1072, 710 cm⁻¹

[α]_D¹⁸: -297.2 (c 0.665, acetona)

(4R, 5S, 6S)-4,5-Dibenzoiloxi-6-hidroxi-2-metilciclohex-2-enona (51)

A una solución de **50** (0.36 g, 0.99 mmol) en DMF (4 mL) se agrega IBX (0.418 g, 1.49 mmol). La mezcla se agita durante 8 horas a temperatura ambiente. Se filtra por papel y el filtrado se vuelca sobre agua. Se extrae con Et₂O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **51** como un aceite amarillo (0.3355 g, 92%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **8.00** (m, 4H, Ar); **7.56** (m, 2H, Ar); **7.39** (m, 4H, Ar); **6.94** (dd, $J_1 = 1.5$ Hz, $J_2 = 6.1$ Hz, 1H, H-C=C); **6.08** (dd, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 5.9$ Hz, 1H, C=C-C(H)-OBz); **5.54** (dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 11.0$ Hz, 1H, BzO-C-H); **4.96** (dd, $J_1 = 2.6$ Hz, $J_2 = 11.0$ Hz, 1H, C(H)-OH); **3.63** (d, $J = 2.7$ Hz, 1H, OH); **1.99** (m, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **197.5** (HO-C-C=O); **165.7** (O-C=O); **165.7** (O-C=O); **138.9** (C=C-CH₃); **137.6** (C=C-CH₃); **133.7** (Ar); **133.5** (Ar); **130.0** (Ar); **129.9** (Ar); **129.4** (Ar); **129.3** (Ar); **128.7** (Ar); **128.5** (Ar); **72.3** (HO-C-C-OBz); **72.1** (HO-C-C-OBz); **66.6** (C=C-C-OBz); **15.7** (CH₃).

IR (KBr) 1728, 1452, 1279, 1115, 1072, 709 cm⁻¹

[α]_D²¹: -276.9 (c 0.420, acetona)

(4R, 5R, 6S)-4,5-Dibenzoil-2-metil-6-(metilsulfonil)ciclohex-2-enona (52)

A una solución de **51** (0.37 g, 1.02 mmol) en CH₂Cl₂ (3 mL) a 0 °C se agrega Et₃N (0.180 mL, 1.53 mmol) y MsCl (0.097 mL, 1.22 mmol). La mezcla se agita durante 1 hora. El residuo se vuelca sobre agua, se separan las capas y la capa acuosa se extrae con Et₂O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2),

solución saturada de NaHCO₃ (x2), solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (8:2 CH₂Cl₂/hexanos) para dar **52** como un aceite amarillo (0.350 g, 92%).

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 8.02 (m, 4H, Ar); 7.62 (m, 1H, Ar); 7.56 (m, 1H, Ar); 7.48 (m, 2H, Ar); 7.40 (m, 2H, Ar); 7.04 (dd, J₁= 1.5 Hz, J₂= 6.2 Hz, 1H, (H)C=C-CH₃); 6.16 (dd, J₁= 3.9 Hz, J₂= 6.1 Hz, 1H, BzO-C(H)-C=C); 5.87 (d, J= 11.1 Hz, 1H, (H)C-OMs); 5.73 (dd, J₁= 3.9 Hz, J₂= 11.1 Hz, 1H, BzO-C(H)-COMs); 3.30 (s, 3H, S-CH₃); 2.00 (d, J= 1.0 Hz, 3H, C=C-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 190.9 (C=C-C=O); 165.3 (O-C=O); 165.5 (O-C=O); 139.9 (C=C-CH₃); 137.4 (C=C-CH₃); 133.8 (Ar); 133.7 (Ar); 130.0 (Ar); 129.9 (Ar); 129.8 (Ar); 129.8 (Ar); 128.9 (Ar); 128.7 (Ar); 128.8 (Ar); 128.5 (Ar); 78.3 (C-OMs); 69.5 (MsO-C-C-OBz); 66.3 (C-OBz); 39.5 (S-CH₃); 15.6 (CH₃).

IR (KBr) 1717, 1458, 1285, 1119, 1072, 710 cm⁻¹

[α]_D²¹: -341.5 (c 0.672, acetona)

Benzoato de 4-hidroxi-3-metilsulfoniloxi-5-metilfenilo (**53**)

Obtenido al tratar **52** con NaH en MeOH.

A una suspensión de NaH (0.04 g al 60% en aceite mineral, 1.0 mmol) en CH₂Cl₂ (3 mL) a 0 °C se añade gota a gota MeOH (0.05 mL, 1.14 mmol). Transcurridos unos minutos se agrega **52** (0.29g, 0.67 mmol) disuelto en CH₂Cl₂ (3 mL). Una vez finalizada la reacción se agrega solución saturada de NaCl y se extrae con CH₂Cl₂ (x3). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO₄ y se evapora el disolvente al vacío. El crudo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **53**.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 8.17 (m, 2H, Ar); 7.65 (m, 1H, Ar); 7.51 (dd, J₁= 4.5 Hz, J₂= 10.9 Hz, 2H, Ar); 7.04 (dd, J₁= 0.5 Hz, J₂= 2.8 Hz, 1H, H₃C-C=C(H)); 7.00 (dd, J₁= 0.7 Hz, J₂= 2.7 Hz, 1H, (H)-C-C-OMs); 6.25 (s, 1H, (H)C-OBz); 3.25 (s, 3H, S-CH₃); 2.31 (s, 3H, C=C-CH₃).

(1R, 2R, 5R, 6S)-1,2-O-Isopropiliden-3-metil-5,6-bis-[dimetil(2,2-dimetiletil)sililoxi]-ciclohex-3-en-1,2-diol (**54**)

A una solución de **48** (0.30 g, 1.5 mmol) en DMF (2 mL) a 0 °C se agrega TBSCl (0.50 g, 3.3 mmol) e imidazol (0.41 g, 6.0 mmol) previamente disueltos en DMF (1 mL). La reacción se deja llegar a temperatura ambiente y se agita por 24 hs. Una vez finalizada

la reacción el residuo se toma en éter etílico y se vuelca sobre agua. Se separan las capas y la capa acuosa se extrae con éter etílico (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2) y solución saturada de NaCl (x2). Se seca con MgSO₄ y se evapora a vacío el disolvente. El residuo se purifica por cromatografía en columna (98:2 hexanos/acetato de etilo) para dar **54** (0.52 g, 81%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.42** (s, 1H, (H)-C=C-CH₃); **4.44** (d, J= 6.1 Hz, 1H, TBSO-C(H)-C=C); **4.27** (t, J= 6.1 Hz, 1H, TBSO-C(H)); **4.20** (s, 1H, CH₃-C-C(H)-O); **3.90** (d, J= 2.8 Hz, 1H, TBSO-C-C(H)-O); **1.79** (s, 3H, CH₃); **1.38** (d, J= 5.0 Hz, 6H, C-(CH₃)₂); **0.88** (m, 18H, Si-(C-(CH₃)₃)₂); **0.07** (m, 12H, Si-(CH₃)₄).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **126.1** (C=C-CH₃); **108.9** (C=C-CH₃); **76.1** (C-OSi); **73.1** (TBSO-C-C-O); **68.3** (C=C-C-O); **27.7** ((CH₃)₂); **25.9** (t-but); **20.0** (CH₃); **-4.5** (Si-(CH₃)₂).

IR (KBr) 1724, 1312, 1279, 710 cm⁻¹

[α]_D²¹: -86.5 (c 0.636, acetona)

(1R, 2R, 5R, 6R)-6-[Dimetil(2,2-dimetiletil)sililoxi]-3-metilciclohex-3-en-1,2,5-triol (55)

Obtenido al tratar **54** con CuCl₂ o CeCl₃ en CH₃CN.

A una solución de **54** (0.19 g, 0.61 mmol) en CH₃CN (5 mL) se agrega CuCl₂ (0.15 g, 0.91 mmol). Se agita a temperatura ambiente durante 3 hs. Se vuelca el residuo sobre solución saturada de NaCl y se extrae con AcOEt (x3). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **55**.

A una solución de **54** (0.31 g, 1.0 mmol) en CH₃CN (5 mL) se agrega CeCl₃ (0.75 g, 2.0 mmol). Se agita a temperatura ambiente durante 4 hs. Una vez finalizada la reacción se neutraliza con NaHCO₃ sólido y se extrae con AcOEt (x3). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **55**.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.66** (m, 1H, (H)-C=C-CH₃); **4.17** (d, J= 3.1 Hz, 1H, TBSO-C(H)-OH); **4.13** (s, 1H, HO-C(H)-C=C); **3.97** (d, J= 3.6 Hz, 1H, TBSO-C(H)); **3.95** (m, 1H,

H₃C-C-C(H)-OH); **2.61** (s, 1H, OH); **2.57** (s, 1H, OH); **2.29** (d, *J* = 2.2 Hz, 1H, OH); **1.87** (m, 3H, CH₃); **0.95** (m, 9H, Si-C-(CH₃)₃); **0.19** (s, 3H, Si-CH₃); **0.17** (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **138.2** (C=C-CH₃); **124.4** (C=C-CH₃); **70.8** (C-OH); **70.7** (TBSO-C); **69.1** (C=C-C-OH); **67.2** (C=C-C-OH); **25.9** ((CH₃)₃); **21.1** (CH₃); **18.2** (C(CH₃)₃); **-4.5** (Si-(CH₃)₂).

(1R, 2R, 5R, 6R)-5-[Dimetil(2,2-dimetiletil)sililoxi]-3-metilciclohex-3-en-1,2,6-triol (56)

Obtenido al tratar **54** con CuCl₂ o CeCl₃ en CH₃CN según las técnicas ya descritas (ver obtención de **55**)

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.67** (m, 1H, (H)-C=C-CH₃); **4.17** (m, 1H, TBSO-C(H)); **4.13** (m, 1H, HO-C(H)-C=C); **3.97** (m, 1H, C(H)-OH); **3.96** (dd, *J*₁ = 2.0 Hz, *J*₂ = 3.5 Hz, 1H, TBSO-C-C(H)-OH); **2.61** (s, 1H, OH); **2.57** (s, 1H, OH); **2.29** (m, 1H, OH); **1.88** (m, 3H, CH₃); **0.95** (m, 9H, Si-C-(CH₃)₃); **0.15** (s, 3H, Si-CH₃); **0.13** (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **137.8** (C=C-CH₃); **124.9** (C=C-CH₃); **70.1** (C-OH); **70.0** (TBSO-C); **69.0** (C=C-C-OH); **67.6** (C=C-C-OH); **25.9** ((CH₃)₃); **22.9** (CH₃); **14.2** (C(CH₃)₃); **-4.8** (Si-(CH₃)₂).

(1R, 2R, 5S, 6R)-6-Iodo-1,2-O-isopropiliden-3-metilciclohex-3-en-1,2,5-triol (57)²¹

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **5.72** (dd, *J*₁ = 1.4 Hz, *J*₂ = 3.0 Hz, 1H, (H)C=C-CH₃); **4.58** (dd, *J*₁ = 5.5 Hz, *J*₂ = 7.4 Hz, 1H, CH₃-C-C(H)-O); **4.44** (d, *J* = 5.4 Hz, 1H, I-C-C(H)-O); **4.33** (m, 1H, HO-C(H)); **4.23** (t, *J* = 6.9 Hz, 1H, I-C(H)); **2.66** (d, *J* = 7.4 Hz, 1H, OH); **1.88** (s, 3H, C=C-CH₃); **1.49** (s, 3H, CH₃); **1.42** (s, 3H, CH₃).

(4R, 5R, 6S)-6-Iodo-4,5-O-isopropiliden-3-metilciclohex-2-enona (58)

A una solución de **57** (1.46 g, 4.72 mmol) en DMF (5 mL) se agrega IBX (1.72 g, 6,14 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 12 hs. Una vez finalizada la reacción se filtra por papel y el filtrado se vuelca sobre agua. Se extrae con Et₂O (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de CuSO₄ (x2), solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (9:1 hexanos/acetato de etilo) para dar **58** (0.56 g, 70%) como un aceite amarillo.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 5.88 (d, $J= 1.2$ Hz, 1H, (H)C=C-CH₃); 4.82 (dd, $J_1= 2.7$ Hz, $J_2= 4.7$ Hz, 1H, I-C(H)); 4.64 (m, 2H, (C(H)-O)₂); 2.08 (s, 3H, C=C-CH₃); 1.41 (s, 3H, CH₃); 1.33 (s, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 191.1 (C=O); 155.9 (C=C-CH₃); 122.7 (C=C-C=O); 112.1 (C-(CH₃)₂); 79.9 (C-I); 73.8 (C=C-C-O); 27.6 (CH₃); 27.0 (CH₃); 20.4 (I-C-C-O); 20.2 (CH₃).

IR (KBr) 1724, 1275, 1105, 714 cm⁻¹

[α]_D²¹: -113.4 (c 0.626, acetona)

(4R, 5R, 6S)-4,5-Dihidroxi-6-iodo-3-metilciclohex-2-enona (59)

A una solución de **58** (0.19 g, 0.61 mmol) en CH₃CN (5 mL) se agrega CuCl₂ (0.15 g, 0.91 mmol). Se agita a temperatura ambiente durante 8 hs. Se vuelca el residuo sobre solución saturada de NaCl y se extrae con AcOEt (x3). Las capas orgánicas combinadas se secan sobre Na₂SO₄ y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (7:3 hexanos/acetato de etilo) para dar **59** (0.11 g, 65%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 5.93 (dd, $J_1= 1.4$ Hz, $J_2= 2.7$ Hz, 1H, (H)C=C-CH₃); 4.65 (dd, $J_1= 1.0$ Hz, $J_2= 4.8$ Hz, 1H, I-C(H)); 4.60 (s, 1H, CH₃-C-C(H)-OH); 4.31 (dd, $J_1= 3.6$ Hz, $J_2= 4.8$ Hz, 1H, HO-C(H)-C-I); 2.10 (t, $J= 1.2$ Hz, 3H, CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : 191.1 (C=O); 159.7 (C=C-CH₃); 123.9 (C=C-C=O); 74.8 (I-C-C-OH); 68.9 (C=C-C-OH); 27.9 (C-I); 21.1 (CH₃).

IR (KBr) 1728, 1274, 1259, 1115, 1073, 714 cm⁻¹

[α]_D²¹: -104.9 (c 0.206, acetona)

Técnica general de Buchwald¹¹²

En un balón de dos bocas se coloca CuI (0.05 mmol), K₂CO₃ (2.00 mmol) y la amida (1.20 mmol). Se agrega *N,N'*-dimetiletilendiamina (o *N,N'*-dietiletilendiamina) (0.10 mmol), el bromuro de vinilo (1.00 mmol) y tolueno (1.0 mL). El balón se sumerge en un baño precalentado a 110 °C y se agita por 24 hs. Una vez consumido el material de partida la reacción se deja llegar a temperatura ambiente. El crudo se filtra por sílica y se eluye con acetato de etilo. El filtrado se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna.

Técnica general de Ma¹¹⁰

En un balón de dos bocas se coloca la amida (1.2 mmol), el bromuro de vinilo (1.0 mmol), CuI (0.1 mmol), *N,N'*-dimetilglicina (0.2 mmol) y Cs₂CO₃ (2 mmol). Se agrega el dioxano (2 mL). La reacción se sumerge en un baño precalentado a 80°C y se agita por 24 hs. Una vez consumido el material de partida la reacción se deja llegar a temperatura ambiente. El crudo se filtra por sílica y se eluye con acetato de etilo. El filtrado se concentra y el residuo se purifica por cromatografía en columna.

(1S, 4S, 5R, 6S)-1,4-Diacetil-2-bromo-5,6-epoxiciclohex-2-en-1,4-diol (63)

Obtenido mediante la aplicación de las condiciones de Buchwald y Ma sobre **17**

¹H-RMN (CD₃OD) δ (ppm) : **6.03** (dt, *J*₁= 2.0 Hz, *J*₂= 2.7 Hz, 1H, Br-C=C(H)); **5.73** (dt, *J*₁= 2.0 Hz, *J*₂= 2.8 Hz, 1H, Br-C-C(H)-OAc); **5.56** (dt, *J*₁= 2.4 Hz, *J*₂= 4.8 Hz, 1H, AcO-C(H)-C=C-Br); **3.64** (m, 2H, AcO-C-C-(H)-O); **2.22** (s, 3H, O=C-CH₃); **2.16** (s, 3H, O=C-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **170.4** (C=O); **170.2** (C=O); **127.7** (C=C-Br); **120.5** (C=C-Br); **67.8** (C=C-C-OAc); **67.6** (C-OAc); **51.6** (HO-C-C-O); **51.1** (C=C-C-C-O); **20.8** (CH₃).

(1R, 4S, 5R, 6S)-1,4-Diacetil-5,6-epoxiciclohex-2-en-1,4-diol (64)

Obtenido mediante la aplicación de las condiciones de enamidación sobre **17**

¹H-RMN (CD₃OD) δ (ppm) : **5.58** (d, *J*= 1.6 Hz, 2H, AcO-C(H)); **5.56** (s, 2H, (H)C=C(H)); **3.63** (dd, *J*₁= 1.2 Hz, *J*₂= 2.5 Hz, 2H, AcO-C-C(H)-O); **2.16** (s, 6H, (O=C-CH₃)₂).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **170.7** (C=O); **125.2** (C=C); **66.9** (AcO-C); **50.9** (AcO-C-C-O); **21.0** (CH₃).

(1R, 4S, 5R, 6R)-4-Acetil-5,6-epoxi-ciclohex-2-en-1,4-diol (65)

Obtenido mediante la aplicación de las condiciones de enamidación sobre **17**

¹H-RMN (CD₃OD) δ (ppm) : **5.67** (dq, *J*₁= 2.3 Hz, *J*₂= 10.6 Hz, 1H, HO-C-C(H)=C); **5.56** (dq, *J*₁= 2.2 Hz, *J*₂= 4.4 Hz, 1H, AcO-C(H)); **5.46** (ddd, *J*₁= 2.2 Hz, *J*₂= 4.4 Hz, *J*₃= 10.6 Hz, 1H, AcO-C-C(H)=C); **4.42** (m, 1H, HO-C(H)); **3.66** (m, 1H, AcO-C-C(H)-O); **3.30** (ddd,

$J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 2.8$ Hz, $J_3 = 4.4$ Hz, 1H, HO-C-C(H)-O); **2.16** (s, 3H, O=C-CH₃); **1.94** (d, $J = 11.1$ Hz, 1H, OH).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **170.7** (C=O); **129.2** (C=C-C-OH); **123.5** (AcO-C-C=C); **66.9** (AcO-C); **64.6** (C-OH); **53.9** (HO-C-C-O); **52.3** (AcO-C-C-O); **21.0** (CH₃).

(1S, 4S, 5S, 6R)-2-Bromo-5,6-epoxiciclohex-2-en-1,4-diol (66)

Obtenido mediante la aplicación de las condiciones de enamidación sobre **17**

¹H-RMN (CD₃OD) δ (ppm) : **6.02** (m, 1H, Br-C=C(H)); **4.39** (s, 1H, HO-C(H)-C=C-Br); **4.36** (s, 1H, Br-C-C(H)-OH); **3.70** (m, 1H, HO-C-C(H)-O); **3.65** (dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 5.7$ Hz, 1H, HO-C(H)-O).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **129.8** (Br-C=C); **125.1** (C=C-Br); **67.2** (HO-C-C-O); **66.2** (HO-C-C-O); **55.4** (C=C-C-OH); **55.2** (Br-C-C-OH).

(1S, 4S, 5S, 6R)-3-Bromo-4-[dimetil(1,1,2-trimetilpropil)sililoxi]-5,6-epoxi-1-*p*-metoxibencilciclohex-2-en-1-ol (67)

A una solución de **19** (0.13 g, 0.37 mmol) en THF (2 mL) a 0 °C se le agrega NaH (0.44 mmol, 0.17 mg de una suspensión 60% en aceite mineral). Se agrega gota a gota el PMBCl (0.06 mL, 0.44 mmol). Luego de agitar a temperatura ambiente por 24 horas la mezcla se lleva a 60 °C y se agita por 10 hs más.

La mezcla se vuelca sobre solución saturada de NaHCO₃ y se agita vigorosamente. Se separan las capas y la capa acuosa se extrae con AcOEt (x3). Las capas orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de NaCl (x2) y se secan sobre Na₂SO₄. Se evapora el disolvente a vacío. El crudo se purifica por cromatografía en columna (6:4 hexanos/diclorometano) para dar **67** (0.03 g, 18%) como un aceite incoloro.

¹H-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **7.29** (m, 2H, Ar), **6.89** (m, 2H, Ar), **6.02** (dd, $J_1 = 2.3$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz, 1H, Br-C=C(H)), **4.68** (d, $J_1 = 11.5$ Hz, 1H, Ar-CH₂-O), **4.60** (d, $J = 11.5$ Hz, 1H, Ar-CH₂-O), **4.41** (dd, $J_1 = 2.0$ Hz, $J_2 = 4.5$ Hz, 1H, Si-O-CH), **4.29** (dd, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz, 1H, PMB-O-CH), **3.80** (s, 3H, OCH₃), **3.51** (m, 1H, PMB-O-C-C(H)-O), **3.41** (dd, $J_1 = 2.7$ Hz, $J_2 = 4.2$ Hz, 1H, THS-O-C-C(H)-O), **1.71** (dt, $J_1 = 6.9$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz, 1H, (CH₃)₂-C(H)), **0.92** (m, 12 H, Si-C-(CH₃)₄), **0.25** (s, 3H, Si-CH₃); **0.23** (s, 3H, Si-CH₃).

¹³C-RMN (CDCl₃) δ (ppm) : **159.4** (Ar); **129.9** (Ar); **129.5** (Ar); **127.5** (C=C-Br); **124.9** (C-Br); **113.9** (Ar); **72.1** (C-O-PMB); **70.0** (C-CH₂); **68.1** (C-O-THS); **55.3** (O-CH₃); **53.7** (THS-O-

C-C-O); **52.4** (PMB-O-C-C-O); **34.0** (THS); **25.2** (THS); **20.3** (THS); **20.2** (THS); **18.7** (THS); **18.6** (THS); **-2.3** (THS); **-2.5** (THS).

$[\alpha]_{D^{21}}$: + 45.1 (c 0.399, acetona)

(4S, 5R)-2-Bromo-4,5-dihidroxiciclohex-2-enona (68)

Obtenido mediante la aplicación de las condiciones de Buchwald y Ma sobre **33**

$^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD) δ (ppm) : **7.22** (dd, $J_1= 1.6$ Hz, $J_2= 3.2$ Hz, 1H, Br-C=C(H)); **4.57** (dt, $J_1= 3.4$ Hz, $J_2= 6.8$ Hz, 1H, Br-C=C(H)-OH); **4.40** (s, 1H, HO-C-C(H)-OH); **3.02** (dd, $J_1= 5.5$ Hz, $J_2= 16.6$ Hz, 1H, O=C-C(H)); **2.91** (d, $J= 7.4$ Hz, 1H, Br-C=C(H)-OH); **2.73** (dd, $J_1= 3.1$ Hz, $J_2= 16.6$ Hz, 1H, O=C-C(H)); **2.53** (d, $J= 3.4$ Hz, 1H, O=C-C-C-OH).

(-)-Gabosina A (69)⁸³

Sobre una solución de **51** (0.10 g, 0.27 mmol) en MeOH (3 mL) se agrega una punta de espátula de K_2CO_3 . Se agita a temperatura ambiente por 48 hs. Se filtra por papel y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se purifica por cromatografía en columna (acetato de etilo) para dar **69** (gabosina A) (0.01 g, 54%) como un aceite amarillo.

$^1\text{H-RMN}$ (CD_3OD) δ (ppm) : **6.74** (dq, $J_1= 1.4$ Hz, $J_2= 5.6$ Hz, 1H, (H)C=C-CH₃); **4.38** (t, $J= 4.4$ Hz, 1H, HO-C(H)-C=C); **4.31** (d, $J= 10.0$ Hz, 1H, HO-C(H)-C=O); **3.72** (dd, $J_1= 3.9$ Hz, $J_2= 10.0$ Hz, 1H, HO-C(H)-C-OH); **1.80** (dd, $J_1= 0.9$ Hz, $J_2= 1.4$ Hz, 3H, CH₃).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm) : **200.5** (C=O), **143.0** (C=C-CH₃), **136.9** (C=C-CH₃), **75.1** (HO-C-C=O), **73.9** (HO-C-C(OH)-C=O), **67.4** (C=C-C-OH), **15.6** (CH₃).

$[\alpha]_{D^{20}}$: - 109 (c 0.085, metanol)

Ensayos de actividad biológica

- Para estudios de inhibición de la proliferación medida mediante inhibición de la reducción de MTT ver Diaz-Achirica *et al.*¹¹⁴
- Para estudios de integridad de la membrana plasmática ver Luque-Ortega *et al.*¹¹⁶

- Para estudios de despolarización de la membrana plasmática ver Diaz-Achirica *et al.*¹¹⁴
- Para estudios de cambios en los niveles intracelulares de ATP mediante luminiscencia ver Luque-Ortega *et al.*¹¹³
- Para estudios del potencial electroquímico de la membrana mitocondrial ver Luque-Ortega *et al.*¹¹⁷
- Para estudio de la inhibición selectiva de complejos enzimáticos de la cadena respiratoria ver Luque-Ortega *et al.*^{89,117}

Referencias

- (1) Koskinen, A. *Asymmetric synthesis of natural products*; 1 ed.; Wiley: Chichester, 1993.
- (2) Nicolau, K. C. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 951-972.
- (3) Collins, A. N.; Sheldrake, G.; Crosby, J. *Chirality in industry: The commercial manufacture and applications of optically active compounds*; 1 ed.; Wiley: Chichester, 1992.
- (4) Newman, D. J.; Cragg, G. M. *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 461-477.
- (5) Faber, K. *Biotransformations in organic chemistry*; 4 ed.; Springer-Verlag: New York, 2000.
- (6) Hudlicky, T.; Reed, J. W. *Synlett* **2009**, *5*, 685-703.
- (7) Gibson, D. T.; Koch, J.; Kallio, R. *Biochemistry* **1968**, *7*, 2653-2662.
- (8) Gibson, D. T.; Koch, J.; Schuld, C. L.; Kallio, R. *Biochemistry* **1968**, *7*, 3795-3802.
- (9) Gibson, D. T.; Hensley, M.; Yoshioka, H.; Mabry, T. J. *Biochem.* **1970**, *9*, 1626-1630.
- (10) Zylstra, G. J.; Gibson, D. T. *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 14940-14946.
- (11) Hudlicky, T. *Advances in Asymmetric Synthesis* **1995**, *1*, 271-272.
- (12) Vitelio, C.; Bellomo, A.; Brovotto, M.; Seoane, G.; González, D. *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 1773-1778.
- (13) Hudlicky, T.; Boros, C. H.; Boros, E. E. *Synthesis* **1992**, 174-178.
- (14) Hudlicky, T.; González, D.; Gibson, D. T. *Aldrichimica Acta* **1999**, *32*, 35-61.
- (15) Butora, G.; Gum, A. G.; Hudlicky, T. R.; Abboud, K. A. *Synthesis* **1998**, 275-278.
- (16) González, D.; Schapiro, V.; Seoane, G.; Hudlicky, T.; Abboud, K. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 1194-1195.
- (17) Haguaburu, V.; Sá, M. M.; Schapiro, V.; Pandolfi, E. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 6787-6790.
- (18) Ley, S. V.; Redgrave, A. J.; Taylor, S. C.; Ahmed, S.; Ribbons, D. W. *Synlett* **1991**, 741-742.
- (19) Hudlicky, T.; Luna, H.; Barbieri, G.; Kwart, L. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 4735-4741.
- (20) Brovotto, M.; Schapiro, V.; Cavalli, G.; Padilla, P.; Sierra, A.; Seoane, G.; Suescun, L.; Mariezcurrena, R. *New J. Chem.* **1999**, *23*, 549-556.
- (21) Carrera, I.; Brovotto, M.; Seoane, G. *Tetrahedron* **2007**, *63*, 4095-4107.
- (22) Carrera, I.; Brovotto, M.; Seoane, G. *Tetrahedron Lett.* **2006**, *47*, 7849-7852.
- (23) Bedekar, A. V.; Nair, K. B.; Soman, R. *Synth. Commun.* **1994**, *24*, 2299-2305.
- (24) Campbell, M. M.; Sainsbury, M.; Yavarzadeh, R. *Tetrahedron* **1984**, *40*, 5063-5070.
- (25) Mangoni, L.; Adinolfi, N.; Barone, G.; Parrilli, M. *Tetrahedron Lett.* **1973**, *14*, 4485-4486.
- (26) Prévost, C. *Compt. rend.* **1933**, *196*, 1129-1131.
- (27) Smietana, M.; Gouverneur, V.; Mioskowski, C. *Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 193-195.
- (28) Ballard, D. G. H.; Courtis, A.; Shirley, I. M.; Taylor, S. C. *J. Chem. Soc., Chem. Comm.* **1983**, 954-955.

- (29) Ensley, B. D.; Ratzkin, B. J.; Osslund, T. D.; Simon, M. J.; Wackett, L. P.; Gibson, D. T. *Science* **1983**, 222, 167-169.
- (30) Hudlicky, T.; Seoane, G.; Pettus, T. J. *Org. Chem.* **1989**, 54, 4239-4243.
- (31) Hudlicky, T.; Price, J. D.; Rulin, F.; Tsunoda, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 9439-9440.
- (32) Hudlicky, T.; Entwistle, D. A.; Pitzer, K. K.; Thorpe, A. J. *Chem. Rev.* **1996**, 96, 1195-1220.
- (33) Banwell, M. G.; Forman, G. S. *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1* **1996**, 2565-2566.
- (34) Gonzalez, D.; Martinot, T.; Hudlicky, T. *Tetrahedron Lett.* **1999**, 40, 3077-3080.
- (35) Banwell, M. G.; Bray, A. M.; Wong, D. J. *New J. Chem.* **2001**, 25, 1351-1354.
- (36) Banwell, M. G.; Edwards, A. J.; Harfoot, G. J.; Jolliffe, K. A. *Tetrahedron* **2004**, 60, 535-547.
- (37) Banwell, M. G.; Loong, D. T. J.; Willis, A. C. *Aust. J. Chem.* **2005**, 58, 511-516.
- (38) Omori, A. T.; Finn, K. J.; Leisch, H.; Carroll, R. J.; Hudlicky, T. *Synlett* **2007**, 2859-2862.
- (39) Kokas, O. J.; Banwell, M. G.; Willis, A. C. *Tetrahedron* **2008**, 64, 6444-6451.
- (40) White, L. V.; Dietinger, C. E.; Pinkerton, D. M.; Willis, A. C.; Banwell, M. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2010**, 4365-4367.
- (41) Schapiro, V.; Cavalli, G.; Seoane, G. A.; Faccio, M.; Momburu, A. W. *Tetrahedron: Asymmetry* **2002**, 13, 2453-2459.
- (42) Marco-Contelles, J.; Molina, M. T.; Anjum, S. *Chem. Rev.* **2004**, 104, 2857-2900.
- (43) Wipf, P.; Kim, Y. *J. Org. Chem.* **1994**, 59, 3518-3519.
- (44) Wipf, P.; Kim, Y.; Jahn, H. *Synthesis* **1995**, 1549-1561.
- (45) Block, O.; Klein, G.; Altenbach, H.; Brauer, D. J. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 716-721.
- (46) Johnson, C. R.; Miller, M. W. *J. Org. Chem.* **1995**, 60, 6674-6675.
- (47) Ichihara, A.; Moriyasu, K.; Sakamura, S. *Agr. Biol. Chem.* **1978**, 42, 2421-2422.
- (48) Mehta, G.; Islam, K. *Tetrahedron Lett.* **2004**, 45, 7683-7687.
- (49) Shoji, M.; Hayashi, Y. *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3783-3800.
- (50) Pinkerton, D. M.; Banwell, M. G.; Willis, A. C. *Org. Lett.* **2009**, 11, 4290-4293.
- (51) Mehta, G.; Pujar, S. R.; Ramesh, S. S.; Islam, K. *Tetrahedron Lett.* **2005**, 46, 3373-3376.
- (52) Jin, M. Y.; Hwang, G.; Chae, H. I.; Jung, S. H.; Ryu, D. H. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, 31, 727-730.
- (53) Lee, M. D.; Fantini, A. A.; Morton, G. O.; James, J. C.; Borders, D. B.; Testa, R. T. *J. Antibiot.* **1984**, 37, 1149-1152.
- (54) Gould, S. J.; Whittle, Y. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 5043-5044.
- (55) Gould, S. J.; Shen, B.; Whittle, Y. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 7932-7938.
- (56) Shen, B.; Whittle, Y. G.; Gould, S. J.; Keszler, D. A. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 4422-4426.
- (57) Higa, T.; Okuda, R. K.; Severns, R. M.; Scheuer, P. J.; He, C.; Changfu, X.; Clardy, J. *Tetrahedron* **1987**, 43, 1063-1070.

- (58) Yamamoto, I.; Mizuta, E.; Henmi, T.; Yamano, T.; Yamatodani, S. *Takeda Kenkyusho Ho* **1973**, 32, 532-538.
- (59) Barros, M. T.; Maycock, C. D.; Ventura, M. R. *Tetrahedron* **1999**, 55, 3233-3244.
- (60) Nagasawa, H.; Suzuki, A.; Tamura, S. *Agr. Biol.Chem.* **1978**, 42, 1303-1304.
- (61) Kamikubo, T.; Ogasawara, K. *Tetrahedron Lett.* **1995**, 36, 1685-1688.
- (62) Jarvis, B. B.; Pavanadasivam, G.; Bean, G. A. *Trichothecenes and other Mycotoxins*; Lacey, J.: London, 1985.
- (63) Jarvis, B. B.; Yatawara, C. S. *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 2906-2910.
- (64) Li, J. Y.; Harper, J. K.; Grant, D. M.; Tombe, B. O.; Bashyal, B.; Hess, W. M.; Strobel, G. A. *Phytochemistry* **2001**, 56, 463-468.
- (65) Strobel, G. A. *Microbes and infection* **2003**, 5, 535-544.
- (66) Bacon, C. W.; White, J. F. *Microbial Endophytes*; 1 ed.; Marcel Dekker: New York, 2000.
- (67) Strobel, G. A.; Daisy, B. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2003**, 67, 491-502.
- (68) Harper, J. K.; Barich, D. H.; Hu, J. Z.; Strobel, G. A.; Grant, D. M. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4609-4614.
- (69) Li, C.; Johnson, R. P.; Porco, J. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 5095-5106.
- (70) Sakamura, S.; Niki, H.; Obata, Y.; Sakai, R.; Matsumoto, T. *Agr. Biol.Chem.* **1969**, 33, 698-703.
- (71) Sakamura, S.; Ito, J.; Sakai, R. *Agr. Biol.Chem.* **1970**, 34, 153-155.
- (72) Son, B. W.; Choi, J. S.; Kim, J. C.; Nam, K. W.; Kim, D.; Chung, H. Y.; Kang, J. S.; Choi, H. D. *J. Nat. Prod.* **2002**, 65, 794-795.
- (73) Ichihara, A.; Kimura, R.; Oda, K.; Sakamura, S. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 51, 4741-4744.
- (74) Kapfer, I.; Lewis, N. J.; Macdonald, G.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron Lett.* **1996**, 37, 2101-2104.
- (75) Murphy, S. T.; Bencsik, J. R.; Johnson, C. R. *Org. Lett.* **1999**, 1, 1483-1485.
- (76) Altenbach, H.; Stegelmeier, H.; Vogel, E. *Tetrahedron Lett.* **1978**, 3333-3336.
- (77) Gautier, E. C. L.; Lewis, N. J.; McKillop, A.; Taylor, R. J. K. *Tetrahedron Lett.* **1994**, 35, 8759-8760.
- (78) Kitahara, T.; Tachihara, T. *Tetrahedron* **2003**, 59, 1773-1780.
- (79) Barros, M. T.; Matias, P. M.; Maycock, C. D.; Ventura, M. R. *Org. Lett.* **2003**, 5, 4321-4323.
- (80) Barros, M. T.; Maycock, C. D.; Ventura, M. R. *Tetrahedron Lett.* **2002**, 43, 4329-4331.
- (81) Okamura, H.; Shimizu, H.; Yamashita, N.; Iwagawa, T.; Nakatani, M. *Tetrahedron* **2003**, 59, 10159-10164.
- (82) Carreño, M. C.; Merino, E.; Ribagoda, M.; Somoza, A.; Urbano, A. *Chem. Eur. J.* **2007**, 13, 1064-1077.
- (83) Bach, G.; Breiding-Mack, S.; Grabley, S.; Hammann, P.; Hütter, K.; Thiericke, R.; Uhr, H.; Wink, J.; Zeeck, A. *Liebigs Ann. Chem.* **1993**, 241-250.
- (84) Tang, Y.-Q.; Maul, C.; Höfs, R.; Sattler, I.; Grabley, S.; Feng, X.-Z.; Zeeck, A.; Thiericke, R. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 149-153.
- (85) Hammarton, T. C.; Mottram, J. C.; Doerig, C. *Prog. Cell. Cycle. Res.* **2003**, 5, 91-101.
- (86) <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>.
- (87) <http://www.who.int/en/>; Vol. 62.

- (88) Croft, S. L.; Barrett, M. P.; Urbina, J. A. *Trends in Parasitology* **2005**, *21*, 508-512
- (89) Luque-Ortega, J. R.; Martínez, S.; Saugar, J. M.; Izquierdo, L. R.; Abad, T.; Luis, J. G.; Piñero, J.; Valladares, B.; Rivas, L. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2004**, *48*, 1534-1540.
- (90) Roldós, V.; Nakayama, H.; Rolón, M.; Montero, T. A.; Trucco, F.; Torres, S.; Vega, C.; Marrero Ponce, Y.; Heguaburu, V.; Yaluff, G.; Gomez Barrio, A.; Ferreira, M. E.; Rojas de Arias, A.; Pandolfi, E. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 1797-1807.
- (91) Roldós, V.; Pandolfi, E.; Rojas de Arias, A.; Ferreira, M. E.; Inchausti, A.; Nakayama, H. In *U.R. Patent; Act N°27607* 2002; Vol. 27607.
- (92) Baskaran, S.; Kishore Kumar, G. D. J. *Org. Chem.* **2005**, *70*, 4520-4523.
- (93) Nicolau, K. C.; Webber, S. E. *Synthesis* **1986**, 453-461.
- (94) Mitsunobu, O.; Yamada, M.; Mukaiyama, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1967**, *40*, 935-939.
- (95) Boyd, D. R.; Sharma, N. D. *J. Mol. Cat. B: Enzymatic* **2002**, *19*, 31-42.
- (96) Boyd, D. R., Comunicación personal.
- (97) Hughes, D. L.; Reamer, R. A.; Bergan, J. J.; Grabowski, E. J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *110*, 6487-6491.
- (98) Crich, D.; Dyker, H.; Harris, R. J. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 257-259.
- (99) Labora, M.; Heguaburu, V. L.; Pandolfi, E. M.; Schapiro, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 893-895.
- (100) Frigerio, M.; Santagostino, M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 8019-8022.
- (101) Newton, R. F.; Reynolds, D. P. *Tetrahedron Lett.* **1979**, *41*, 3981-3982.
- (102) Karplus, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 2870-2871.
- (103) Sun, Y.; Wang, H.; Prins, R. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 2063-2065.
- (104) Labora, M.; Pandolfi, E.; Schapiro, V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2010**, *21*, 153-155.
- (105) Bornscheuer, U. T.; Kazlauskas, R. J. *Hydrolases in organic synthesis. Regio- and stereoselective biotransformations.*; 2 ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2006.
- (106) *Manuscrito en preparación.*
- (107) Pinacho Crisóstomo, F. R.; Carrillo, R.; León, L. G.; Martín, T.; Padrón, J. M.; Martín, V. S. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 2339-2345.
- (108) Xiao, X.; Bai, D. *Synlett* **2001**, *4*, 535-537.
- (109) Sattler, I.; Thiericke, R.; Zeeck, A. *Nat. Pro. Rep.* **1998**, 221-240.
- (110) Pan, X.; Cai, Q.; Ma, D. *Org. Lett.* **2004**, *6*, 1809-1812.
- (111) Tang, W.; Zhang, X. *Chem. Rev.* **2003**, *103*, 3029-3069.
- (112) Jiang, L.; Job, G. E.; Klapars, A.; Buchwald, S. L. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3667-3669.
- (113) Luque-Ortega, J. R.; Rivero-Lezcano, M. R.; Croft, S. L.; Rivas, L. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**, *45*, 1121-1125.
- (114) Diaz-Achirica, P.; Ubach, J.; Guinea, A.; Andreu, D.; Rivas, L. *Biochem. J.* **2004**, *330*, 453-460.
- (115) Bolognesi, M. L.; Lizzi, F.; Perozzo, R.; Brun, R.; Cavalli, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 2272-2276.
- (116) Luque-Ortega, J. R.; Saugar, J. M.; Chiva, C.; Andreu, D.; Rivas, L. *Biochem. J.* **2003**, *375*, 221-230.
- (117) Luque-Ortega, J. R.; Rivas, L. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2007**, *51*, 1327-1332.
- (118) Vercesi, A. E.; Bernardes, C. F.; Hoffman, M. E.; Gadelha, F. R.; Docampo, R. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 14431-14434.

(119) Hudlicky, T.; Boros, C. H.; Boros, E. E. *Tetrahedron: Asymmetry* **1993**, *4*, 1365-1386.

(120) Hudlicky, T.; Restrepo-Sánchez, N.; Kary, P. D.; Jaramillo-Gómez, L. M. *Carbohydr. Res.* **2000**, *324*, 200-203.