



Universitat Autònoma de Barcelona
Escola de Doctorat i Formació Continuada

Departament de Química

**Síntesis e hidrogenación estereoselectiva de α,β -deshidro- α -aminoácidos y α,β -deshidro- α -péptidos ciclobutílicos.
Aplicaciones sintéticas.**

Memoria presentada en la Escola de Doctorat de la Universitat Autònoma de Barcelona para optar al grado de Doctora en Química por **Gemma Patricia Aguado Carrera**.

Visto bueno,

Rosa M. Ortuño Mingarro

Cerdanyola del Vallès, Abril de 2003.

A mis padres.

*Es precisamente la posibilidad
de llegar a realizar un
sueño lo que hace que la vida
sea interesante.*

El Alquimista (Paulo Coelho)

Agradecimientos.

Me gustaría agradecer a todas aquellas personas que me han ayudado y apoyado en algún momento, durante estos casi cinco años, tanto dentro como fuera del laboratorio. Espero no olvidarme de ninguna de ellas.

La presente Tesis Doctoral se ha realizado en la Unitat de Química Orgànica del Departament de Química de la Universitat Autònoma de Barcelona. En primer lugar quiero agradecer a la Profesora Rosa M. Ortúño Mingarro la posibilidad que me brindó de introducirme en el mundo de la investigación y poder llevar a cabo la Tesis Doctoral. También quiero agradecerle muy sinceramente su confianza, comprensión y sobretodo su apoyo en los momentos que más lo he necesitado.

No podría olvidarme de todos los compañeros de los diferentes grupos de investigación de la planta de Orgánica (Font, Moreno, resonancia) que en más de una ocasión me han sacado de un aprieto. Hago extensible mi agradecimiento a los demás miembros del Departamento, o de la Universidad, por la ayuda prestada, muchas veces desinteresada: Montse, Mercè, Alba, Rosa Segura, Ignasi, Teo, Miquel, Ángel Álvarez, José Antonio..., y muchos más que están en mi memoria pero sería imposible nombrarlos a todos.

Tengo que agradecer al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte la concesión de una beca pre-doctoral que me ha permitido realizar esta Tesis, así como de una bolsa de viaje por la que pude conocer más a fondo la “cultura nórdica”. Quisiera dar las gracias al Profesor Peter E. Nielsen por acogerme en su grupo de investigación durante mi estancia en Copenhague, y a Jolanta y Annette por la ayuda proporcionada en lo relacionado con los APN. También a la U.A.B. por concederme un contrato de Profesora Asociada durante este último año.

Sería injusto olvidarme de las personas con las que he reido, charlado, sufrido, pero sobretodo disfrutado dentro del laboratorio. Todos ellos saben lo que significa hacer el doctorado, y son quizás los que mejor entiendan cuando digo que un buen ambiente en el laboratorio ayuda a superar los peores momentos y dolores de cabeza que de vez en cuando nos da la química. Me gustaría agradecer en primer lugar a los que me ayudaron en mis comienzos, cuando casi no sabía qué era una reacción: a Joan, Marta, Elena Muray,

Cristóbal, Elena García, Robert y Gerard, con los que pasé muy buenos ratos y con los que espero seguir pasándolos. Y como no, a los que entraron cuando yo ya comenzaba a entender un poco más de ciencia: Sandra, Ona, Raúl, Jose, con los que he pasado también muy buenos momentos. Un abrazo muy especial a Ona, Elena G. y Sandra por los múltiples favorcillos que me han hecho sin pedir nada a cambio, y sobretodo por su gran apoyo. Y a los nuevos, Anna, Àlex y Federico, a los que deseo mucha suerte en su faceta investigadora.

¡Y como no!, a las argentinas, *¡vite!*, que aunque desde el otro lado del charco, algo de ellas siempre está en el laboratorio. A Beatriz, a la que deseo mucha suerte en la vida y con la que espero mantener la amistad que nos une, ahora a través de la red. A Graciela, por sus buenos consejos. Y sobretodo a Beta, una de las personas “culpables” de esta Tesis, quien me enseñó a disfrutar de la química y de la investigación y con la que aprendí tantas y tantas cosas, no sólo de química sino de muchas otras cosas. Agradecerle su apoyo en todo momento. Espero que la red nos permita mantener la amistad durante mucho más tiempo, y también espero cumplir algún día la promesa de visitarlas a Argentina.

No podría olvidarme de las personas que desde fuera del laboratorio, o incluso de la facultad, me han ayudado a tirar adelante en más de un momento. A mis amigas de la carrera, “les millors”, con las que compartí una de las mejores épocas de mi vida y con las que espero compartir muchas más. A mis amigas de Premià (les Annes, Ana C., Cris, Mercè), Blai, con los que siempre he contado tanto en los buenos como en los malos momentos. Muchas gracias por estar siempre ahí. A María y Paloma, con las que espero mantener la amistad y compartir muchas más cenitas. Y como no, a Albert, por ser paciente, escucharme, apoyarme, entenderme, ayudarme, y mucho más...

Mención muy especial se merecen mi hermano y mis padres, por toda la ayuda, comprensión y confianza que siempre han depositado en mi, respetando en todo momento mis decisiones y animándome continuamente. Sin ellos no creo que hubiera llegado hasta aquí. Y es a ellos a quien quiero dedicar esta Tesis.

¡¡¡MUCHAS GRACIAS A TODOS!!!

Parte de los resultados de esta Tesis Doctoral se hallan recogidos en las siguientes publicaciones científicas:

“Divergent routes to chiral cyclobutane synthons from (-)- α -pinene and their use in the stereoselective synthesis of dehydro amino acids”. Moglioni, A.G.; García-Expósito, E.; Aguado, G.P.; Branchadell, V.; Parella, T.; Moltrasio, G.; Ortúñ, R.M. *The Journal of Organic Chemistry*, **2000**, 65, 3934-3940.

“On the stereoselective hydrogenation of chiral cyclobutyl dehydro-amino acid derivatives: influence of the catalyst in the π -facial diastereoselection”. Aguado, G.P.; Álvarez-Larena, A.; Illa, O.; Moglioni, A.G.; Ortúñ, R.M. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, 12, 25-28.

“Enantiodivergent synthesis of cyclobutyl-(Z)- α,β -dehydro- α -amino acid derivatives from (-)-*cis*-pinononic acid”. Aguado, G.P.; Moglioni, A.G.; Ortúñ, R.M. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, 14, 217-223.

“Synthesis of optically active cyclobutyl α,β -dehydro- α -dipeptides and their diastereoselective catalytic hydrogenation”. Aguado, G.P.; Moglioni, A.G.; Brousse, B.; Ortúñ, R.M. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2003**, aceptado.

Abreviaturas

A	Adenina
AACB	Aminoácidos ciclobutánicos
Ac	Acetil
ADN	Ácido desoxiribonucleico
APN	Ácido péptidonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ATFMS	Ácido trifluorometanosulfónico
atm	Atmósfera
BINAP	2,2'-Bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil
Bn	Bencilo
Boc	<i>Terc</i> -butoxicarbonilo
Me-BPE	1,2-Bis(2,5-dimetilfosfolano)etano
BPPM	2-Difenilfosfinometil-4-difenilfosfino-1- <i>terc</i> -butoxicarbonilpirrolidina
C	Citosina
CAMP	<i>o</i> -anisilciclohexilmetylfosfina
cat.	Catalizador
Cbz	Benciloxicarbonilo
Config.	Configuración
DC	Dicroismo circular
DCC	1,3-diciclohexilcarbodiimida
DCM	Diclorometano
DHAA	α,β -Deshidro- α -aminoácido
DhbtOH	3-hidroxi-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona
DHP	α,β -Deshidro- α -péptido
DIPEA	Diisopropiletilamina
DIOP	O-Isopropiliden-2,3-dihidroxi-1,4-bis(difenilfosfino)butano

DIPAMP	1,2-Bis[(<i>o</i> -metoxifenil)(fenil)fosfino]etano
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
<i>ed</i>	Exceso diastereoisomérico
<i>ee</i>	Exceso enantiomérico
FAB	Fast atom bombardement
FMOC-Osu	<i>N</i> -(9-fluorenilmetoxicarboniloxi)succinimida
G	Guanina
HATU	O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroniohexafluorofosfato
HOBt	1-Hidroxibenzotriazol
IE	Impacto electrónico
IR	Espectroscopia de infrarrojo
Lys	Lisina
MALDI-TOF	Matrix assisted laser desorption ionisation-time of flight
MBHA	Metilbenzhidrilamina
NMDA	Ácido <i>N</i> -metil-D-aspártico
nOe	Nuclear Overhauser effect
NOEDIFF	nOe diferencial
PDC	Dicromato de piridinio
pip	Piperidina
PPTS	<i>p</i> -toluensulfonato de piridinio
Rdto.	Rendimiento
Rel. diast.	Relación diastereoisomérica
Rh[<i>((R,R)-Et-Duphos)(COD)</i>]OTf	Trifluorometanosulfonato de [(-)-1,2-bis((2 <i>R</i> , 5 <i>R</i>)-2,5-dietilfosfolano)benceno(ciclooctadieno)]rodio(I)
Rh[<i>((S,S)-Chiraphos)(NBD)</i>]ClO₄	Perclorato de (biciclo[2.2.1.]hepta-2,5-dieno)- [(2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)-bis(difenilfosfino)butano]rodio(I)
RMN ¹³C	Resonancia Magnética Nuclear de carbono-13

RMN ^1H	Resonancia Magnética Nuclear de protón
T	Timina
t.a.	Temperatura ambiente
TBDPSiCl	Cloruro de <i>terc</i> -butildifenilsililo
TFA	Trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
T_m	Temperatura de fusión o de desnaturización
UV	Espectroscopia Ultravioleta-visible
Wilkinson	$[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. AMINOÁCIDOS CARBOCÍCLICOS. GENERALIDADES.....	3
1.2. AMINOÁCIDOS CICLOBUTÁNICOS.....	6
1.2.1. <i>Uso de terpenos como precursores en la síntesis de AACBs.....</i>	7
1.2.1.1. Precedentes bibliográficos en el uso de α -pineno. Antecedentes en el grupo de investigación.....	7
1.2.1.2. Precedentes bibliográficos en el uso de (-)-verbenona. Antecedentes en el grupo de investigación.....	13
1.2.3. IMPORTANCIA DE LOS α,β -DESHIDRO- α -PÉPTIDOS Y LOS α -PÉPTIDOS SATURADOS.....	17
1.2.3.1. <i>Los α,β-deshidro-α-péptidos.....</i>	17
1.2.3.2. <i>Los α-péptidos ciclobutánicos.....</i>	18
1.2.4. INTRODUCCIÓN A LOS ÁCIDOS PÉPTIDONUCLEICOS.....	20
1.2.4.1. <i>Definición de los APN.....</i>	20
1.2.4.2. <i>Complejos diméricos y triméricos. Estabilidad.....</i>	21
1.2.4.3. <i>Agente antisense/antigene.....</i>	23
1.2.4.4. <i>Modificaciones químicas del APN.....</i>	24
1.2.5. HIDROGENACIÓN CATALÍTICA DE α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS (α -ENAMIDAS) COMO MÉTODO DE OBTENCIÓN DE α -AMINOÁCIDOS SATURADOS.....	28
1.2.5.1. <i>Tipos de catálisis: catálisis homogénea y catálisis heterogénea.....</i>	31
1.2.5.2. <i>El mecanismo de Halpern.....</i>	35
1.2.5.3. <i>Requerimientos del doble enlace a hidrogenar.....</i>	38
1.2.5.4. <i>Hydrogenación catalítica de sustratos quirales. Concepto de matching, o doble inducción de asimetría, y mismatching.....</i>	40
CAPÍTULO 2: OBJETIVOS.....	43
CAPÍTULO 3: SÍNTESIS DE α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS.....	47
3. ESTUDIO DE RUTAS SINTÉTICAS PARA OBTENER α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS ENANTIOMÉRICOS A PARTIR DE (-)-VERBENONA Y α -PINENO.....	49
3.1. DESARROLLO DE RUTAS SINTÉTICAS PARA LA PREPARACIÓN DE α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS ENANTIOMÉRICOS A PARTIR DE (-)-VERBENONA.....	49
3.1.1. <i>Síntesis del deshidroaminoácido 20.....</i>	51
3.1.1.1. Preparación de los α,β -deshidro- α -aminoácidos 32 y 20.....	55
3.1.1.1.1. Preparación de los fosfonatos 35 y 36.....	55
3.1.1.1.2. Reacciones de obtención de las olefinas 32 y 20.....	57
3.1.1.2. <i>Ruta sintética estudiada para la obtención de 19.....</i>	59
3.1.1.3. <i>Síntesis del α,β-deshidro-α-aminoácido 41.....</i>	61

3.1.3.1. Reacción de obtención de las olefinas 41 y 47	63
3.1.3.1.1. Determinación de la configuración del doble enlace de las olefinas 41 y 47	63
3.1.4. Intento de síntesis del DHAA 42	67
3.1.5. Síntesis del DHAA 55	67
3.2. RUTAS SINTÉTICAS INVESTIGADAS PARA LA OBTENCIÓN DE α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS DE LA MISMA QUIRALIDAD QUE LOS ENANTIÓMEROS 47 Y 55 . OBTENCIÓN DE UNA OLEFINA CON CONFIGURACIÓN DEL DOBLE ENLACE <i>E</i>	73
3.2.1. Determinación de la configuración del doble enlace de las olefinas 62 , 63 y 64	75
3.2.2. Obtención de una olefina con estereoquímica del doble enlace <i>E</i>	76
3.3. DESARROLLO DE RUTAS SINTÉTICAS PARA OBTENER α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS ENANTIOMÉRICOS A PARTIR DE α -PINENO.	77
CAPÍTULO 4: HIDROGENACIÓN CATALÍTICA DE α,β-DESHIDRO-α-AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS.....	83
4. HIDROGENACIÓN CATALÍTICA DE α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS	85
4.1. CONDICIONES EXPERIMENTALES DE HIDROGENACIÓN PARA CADA UNO DE LOS CATALIZADORES UTILIZADOS.....	86
4.2. ESTUDIO DE HIDROGENACIÓN DE LOS α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS OBTENIDOS A PARTIR DE (-)- α -PINENO Y (+)- α -PINENO.	86
4.3. ESTUDIO DE HIDROGENACIÓN DE α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS OBTENIDOS A PARTIR DE (-)-VERBENONA.	91
4.3.1. Resultados de la hidrogenación de los α,β -deshidro- α -aminoácidos con configuración del doble enlace <i>Z</i>	91
4.3.2. Resultados de la hidrogenación del α,β -deshidro- α -aminoácido 65 , con configuración <i>E</i> del doble enlace.....	104
4.4. ELUCIDACIÓN DE LA CONFIGURACIÓN ABSOLUTA EN LOS AMINOÁCIDOS CICLOBUTÁNICOS OBTENIDOS EN LOS APARTADOS 4.2. Y 4.3.....	107
4.4.1. Determinación de la configuración absoluta en los aminoácidos obtenidos a partir de pineno. 107	
4.4.2. Determinación de la configuración absoluta en los aminoácidos obtenidos a partir de (-)-verbenona.	113
CAPÍTULO 5: SÍNTESIS E HIDROGENACIÓN DE α,β-DESHIDRO-α-PÉPTIDOS CICLOBUTÍLICOS.....	121
5. SÍNTESIS E HIDROGENACIÓN DE α,β -DESHIDRO- α -PÉPTIDOS CICLOBUTÍLICOS	123
5.1. OBTENCIÓN DE LOS α,β -DESHIDRO- α -PÉPTIDOS 83 Y 84	123
5.1.1. Obtención del ácido 82 , intermedio sintético para la obtención de los α,β -deshidro- α -péptidos.	124

5.1.2. Reacción de obtención de los α,β -deshidro- α -péptidos 83 y 84	125
5.2. HIDROGENACIÓN CATALÍTICA DE α,β -DESHIDRO- α -PÉPTIDOS CICLOBUTÍLICOS.....	127
5.1.1. Condiciones experimentales de hidrogenación.....	127
5.1.2. Resultados obtenidos en la hidrogenación catalítica de los α,β -deshidro- α -péptidos 83 y 84. .	128
5.1.3. Elucidación de la configuración absoluta de los aminoácidos mayoritarios obtenidos en la hidrogenación de los α,β -deshidro- α -péptidos 83 y 84.	132
5.3. EXPERIMENTOS DE DICROISMO CIRCULAR DE LOS α,β -DESHIDRO- α -PÉPTIDOS 83 Y 84 Y LOS α -PÉPTIDOS 85B Y 86A.	139
CAPÍTULO 6: SÍNTESIS DE ÁCIDOS PÉPTIDONUCLEICOS (APNs).....	143
6. APLICACIÓN SINTÉTICA DE LOS α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS: SÍNTESIS DE ÁCIDOS PÉPTIDONUCLEICOS (APN).	145
6.1. OBTENCIÓN DE UN MONÓMERO DE APN.....	145
6.2. SÍNTESIS EN FASE SÓLIDA DE OLIGÓMERO DE APN.	150
6.3. ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD TÉRMICA (Tm).	154
CAPÍTULO 7: RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	157
CAPÍTULO 8: PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.....	161
8.1. CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES.....	163
8.2. SÍNTESIS DE LOS ALDEHÍDOS 31, 46, 54, 61, 71.	167
8.2.1. Síntesis del (1S,3R)-2,2-dimetil-3-(2'-metil-1',3'-dioxolan-2'-il)ciclobutanocarbaldehído, 61.	167
8.2.1.1. Obtención del ácido (1S,3R)-3-acetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxílico, 22.	167
8.2.1.2. Preparación de diazometano.....	168
8.2.1.3. Obtención de (1S,3R)-3-acetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 23.	169
8.2.1.4. Obtención de p-toluenulfonato de piridinio, 33.	170
8.2.1.5. Obtención de (1S,3R)-2,2-dimetil-3-(2'-metil-1',3'-dioxolan-2'-il)ciclobutan-1-carboxilato de metilo, 24.	171
8.2.1.6. Obtención de (1S,3R)-3-(2'-metil-1',3'-dioxolan-2'-il)-2,2-dimetilciclobutilmetanol, 25.	172
8.2.1.7. Obtención de (1S,3R)-2,2-dimetil-3-(2'-metil-1',3'-dioxolan-2'-il)ciclobutancarbaldehído, 61.	174
8.2.2. Síntesis de (1S,3R)-3-formil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 54.	175
8.2.2.1. Obtención de (1S,3R)-3-acetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de terc-butilo, 49.	175
8.2.2.2. Obtención del ácido (1R,3S)-3-terc-butoxicarbonil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxílico, 50.	176
8.2.2.3. Formación de (1S,3R)-3-hidroximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de terc-butilo, 51.	177
8.2.2.4. Formación de (1S,3R)-3-terc-butildifenilsiloximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de terc-butilo, 56.	179
8.2.2.5. Formación del ácido (1S,3R)-3-terc-butildifenilsiloximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxílico, 57.	180
8.2.2.6. Formación del (1S,3R)-3-terc-butildifenilsiloximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 58.	181
8.2.2.7. Formación de (1S,3R)-3-hidroximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 53.	183
8.2.2.8. Obtención de (1S,3R)-3-formil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 54.	184

8.2.3. Síntesis de (<i>1R,3S</i>)-3-formil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 46	185
8.2.3.1. Obtención de (<i>1R,3S</i>)-3-hidroximetil-2,2-dimetilciclobutilmetil cetona, 43	185
8.2.3.2. Obtención del ácido (<i>1R,3S</i>)-3-hidroximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxílico, 44	186
8.2.3.3. Obtención de (<i>1R,3S</i>)-3-hidroximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 45	187
8.2.3.4. Obtención de (<i>1R,3S</i>)-3-formil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 46	188
8.2.4. Síntesis de (<i>1R,3S</i>)-3-benciloximetil-2,2-dimetilciclobutancarbaldéhido, 31	190
8.2.4.1. Obtención del éter bencílico del (<i>1S,3R</i>)-2,2-dimetil-3-(2'-metil-1',3'-dioxolan-2'-il)ciclobutilmetanol, 26	190
8.2.4.2. Obtención de (<i>1R,3S</i>)-3-benciloximetil-2,2-dimetilciclobutilmetil cetona, 27	191
8.2.4.3. Obtención del ácido (<i>1R,3S</i>)-3-benciloximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxílico, 28	193
8.2.4.4. Obtención de (<i>1R,3S</i>)-3-benciloximetil-2,2-dimetilciclobutan-1-carboxilato de metilo, 29	194
8.2.4.5. Obtención de (<i>1R,3S</i>)-3-benciloximetil-2,2-dimetilciclobutilmetanol, 30	195
8.2.4.6. Obtención del aldehído (<i>1R,3S</i>)-3-benciloximetil-2,2-dimetilciclobutancarbaldéhido, 31	196
8.2.5. Síntesis de (<i>1'S,3'S</i>)-2-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]acetaldehido, 71	198
8.2.5.1. Obtención del ácido (<i>1'S,3'S</i>)-2-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)acético, 67	198
8.2.5.2. Obtención de (<i>1'S,3'S</i>)-2-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)acetato de metilo, 68	199
8.2.5.3. Obtención de (<i>1'S,3'S</i>)-2-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]acetato de metilo, 69	200
8.2.5.4. Obtención de (<i>1'S,3'S</i>)-2-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]-1-etanol, 70	201
8.2.5.5. Obtención de (<i>1'S,3'S</i>)-2-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]acetaldehido, 71	202
8.3. SÍNTESIS DE LOS FOSFONATOS 35 Y 36	204
8.3.1. Obtención de 2-hidroxi-N-benciloxicarbonilglicina, 33	204
8.3.2. Obtención del éster metílico de la N-benciloxicarbonil-2-metoxiglicina, 34	205
8.3.3. Obtención de 2-benciloxicarbonilamino-2-dimetoxifosfinilacetato de metilo, 35	206
8.3.4. Obtención de 2-acetilamino-2-dimetoxifosfinilacetato de metilo, 36	207
8.4. SÍNTESIS DE LOS α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS 13 , 32 , 41 , 47 , 55 , 62 , 63 , 64 , 65 , 72	209
8.4.1. Obtención de (<i>1R',3R'</i>)-2-acetilamino-3-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]-(<i>Z</i>)-2-propenoato de metilo, 62	209
8.4.2. Obtención de (<i>1'R,3'R</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]-(<i>Z</i>)-2-propenoato de metilo, 63	210
8.4.3. Obtención de (<i>1'R,3'R</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]-(<i>E</i>)-2-propenoato de metilo, 65	212
8.4.4. Obtención de (<i>1'R,3'R</i>)-2-acetilamino-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-(Z)-2-propenoato de metilo, 64	213
8.4.5. Obtención de (<i>1'R,3'R</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-(Z)-2-propenoato de metilo, 47 , y (<i>1'S,3'S</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-(Z)-2-propenoato de metilo, 55	214

8.4.6. Obtención de (<i>1'R,3'R</i>)-2-acetilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-(Z)-2-propenoato de metilo, 41	216
8.4.7. Obtención de (<i>1'S,3'S</i>)-2-acetilamino-3-(3'-benciloximetil-2',2'-dimetilciclobutil)-(Z)-2-propenoato de metilo, 32	218
8.4.8. Obtención de (<i>1'S,3'R</i>)-2-acetilamino-4-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]-(Z)-2-butenoato de metilo, 13 , ó (<i>1'R,3'S</i>)-2-acetilamino-4-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]-(Z)-2-butenoato de metilo, 72	220
8.5. SÍNTESIS DE LOS α,β -DESHIDRO- α -PÉPTIDOS CICLOBUTÍLICOS 83 Y 84	223
8.5.1. Obtención del ácido (<i>1'R,3'R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-(Z)-2-propeniónico, 82	223
8.5.2. Obtención de (<i>1'R,3'R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-N-metoxicarbonilmetil-2-(Z)-propenamida, 83	224
8.5.3. Obtención de (<i>1'R,3'R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-(<i>1''S</i>)-N-(<i>1''-bencil-1''-metoxicarbonil</i>)metil-2-(Z)-propenamida, 84	226
8.6. SÍNTESIS DE α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS. HIDROGENACIÓN CATALÍTICA DE α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS	228
8.6.1. Obtención de (<i>1'R,2R,3'R</i>)-2-acetilamino-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)propanoato de metilo, 76a , y (<i>1'R,2S,3'R</i>)-2-acetilamino-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)propanoato de metilo, 76b	230
8.6.2. Obtención de (<i>1'R,2R,3'R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-propanoato de metilo, 77a , y (<i>1'R,2S,3'R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-propanoato de metilo, 77b , por hidrogenación de (Z)- 63	232
8.6.3. Obtención de (<i>1'R,2R,3'R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-propanoato de metilo, 77a , y (<i>1'R,2S,3'R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-propanoato de metilo, 77b , por hidrogenación de (E)- 65	234
8.6.4. Obtención de (<i>1'R,2R,3'R</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-propanoato de metilo, 75a , y (<i>1'R,2S,3'R</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-propanoato de metilo, 75b	235
8.6.5. Obtención de (<i>1'S,2R,3'S</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-propanoato de metilo, 78a , y (<i>1'S,2S,3'S</i>)-2-benciloxicarbonilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-propanoato de metilo, 78b	237
8.6.6. Obtención de (<i>1'R,2R,3'R</i>)-2-acetilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-propanoato de metilo, 74a , y (<i>1'R,2S,3'R</i>)-2-acetilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-metoxicarbonilciclobutil)-propanoato de metilo, 74b	239
8.6.7. Obtención de (<i>1'S,2R,3'S</i>)-2-acetilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-benciloximetilciclobutil)-propanoato de metilo, 79a , y (<i>1'S,2S,3'S</i>)-2-acetilamino-3-(2',2'-dimetil-3'-benciloximetilciclobutil)-propanoato de metilo, 79b	241

8.6.8. Obtención de (<i>1'S,2R,3'R</i>)-2-acetilamino-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoato de metilo, 80a , y (<i>1'S,2S,3'R</i>)-2-acetilamino-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoato de metilo, 80b	242
8.6.9. Obtención de (<i>1'R,2R,3'S</i>)-2-acetilamino-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoato de metilo, 81a , y (<i>1'R,2S,3'S</i>)-2-acetilamino-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoato de metilo, 81b	245
8.7. SÍNTESIS DE α -PÉPTIDOS CICLOBUTÍLICOS: HIDROGENACIÓN CATALÍTICA DE α , β -DESHIDRO- α -PÉPTIDOS.....	247
8.7.1. Obtención de (<i>1'R,3'R,2R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-N-metoxicarbonilmetil-propamida, 85a , y (<i>1'R,3'R,2S</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-N-metoxicarbonilmetil-propamida, 85b	248
8.7.2. Obtención de (<i>1'R,3'R,2R</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-(<i>1'S</i>)-N-(<i>1''</i> -bencil- <i>1''</i> -metoxicarbonil)-metilpropamida, 86a , y (<i>1'R,3'R,2S</i>)-3-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-2-benciloxicarbonilamino-(<i>1''S</i>)-N-(<i>1''</i> -bencil- <i>1''</i> -metoxicarbonil)metil-propamida, 86b	250
8.8. SÍNTESIS DE ÁCIDOS PÉPTIDONUCLEICOS (APNs).....	252
8.8.1. Obtención de <i>N</i> -Boc-2-amino-acetaldehído, 94	252
8.8.1.1. Obtención de <i>N</i> -Boc-3-amino-1,2-propandiol, 93	252
8.8.1.2. Obtención de <i>N</i> -Boc-2-amino-acetaldehído, 94	253
8.8.2. Obtención del monómero de APN, 91	254
8.8.2.1. Obtención de (<i>1'R,3'S</i>)-2-benciloxicarbonilamino-4-[2',2'-dimetil-3'-(2-metil-3'-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)ciclobutil]-(<i>Z</i>)-2-butenoato de metilo, 87	254
8.8.2.2. Obtención de (<i>1'R,2R,3'S</i>)-2-benciloxicarbonilamino-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoato de metilo, 88a , y (<i>1'R,2S,3'S</i>)-2-benciloxicarbonilamino-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoato de metilo, 88b	255
8.8.2.3. Obtención de (<i>1'R,3'S,2R</i>)-2-[1''-amino-2''-terc-butoxicarbonilaminoetil]-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoato de metilo, 89	257
8.8.2.4. Obtención de (<i>1'R,3'S,2R</i>)-2-[2''-terc-butoxicarbonilamino-1''-((timin-1-il)acetil)aminoetil]-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)-butanoato de metilo, 90	258
8.8.2.5. Obtención del ácido (<i>1'R,3'S,2R</i>)-2-[2''-terc-butoxicarbonilamino-1''-((timin-1-il)acetil)aminoetil]-4-(3'-acetil-2',2'-dimetilciclobutil)butanoico, 91	260
ANEXO I: SÍNTESIS DE DERIVADOS CICLOBUTILFULERÉNICOS.....	263
INTRODUCCIÓN	265
MÉTODO DE ANCLAJE DEL SUSTRATO AL FULERENO. RESULTADOS.....	268
DESCRIPCIÓN EXPERIMENTAL.....	270
OBTENCIÓN DEL DERIVADO CICLOBUTANO-FULERÉNICO 99	270
ANEXO II: DATOS CRISTALOGRÁFICOS.....	273

CAPÍTULO 1:

Introducción.

Capítulo 1

1. INTRODUCCIÓN.

Los α -aminoácidos están cobrando cada vez más importancia en la investigación farmacológica como intermedios sintéticos para la preparación de muchos compuestos biológicamente activos. En particular, el uso de α -aminoácidos no proteicos en fármacos peptídicos y peptidomiméticos produce importantes mejoras en propiedades tales como afinidades por receptores "in vivo", transporte y biodisponibilidad.

Por otra parte, los aminoácidos carbocíclicos constituyen una clase de compuestos, que están recibiendo gran atención en la última década debido a la actividad biológica que muestran en forma libre o una vez incorporados en péptidos conformacionalmente restringidos. Por esta razón, es crucial el desarrollo de métodos eficientes y estereoselectivos para la obtención de dichos productos en su forma enantiopura.

1.1. Aminoácidos carbocíclicos. Generalidades.

Actualmente se conocen diversas familias de α -aminoácidos no proteicos de origen natural o sintético que presentan cierta rigidez conformacional debido al hecho de poseer uno o varios anillos carbonados en su estructura. Se pueden encontrar anillos de seis, cinco, cuatro o tres miembros. En la **Figura 1** se muestran algunos ejemplos.

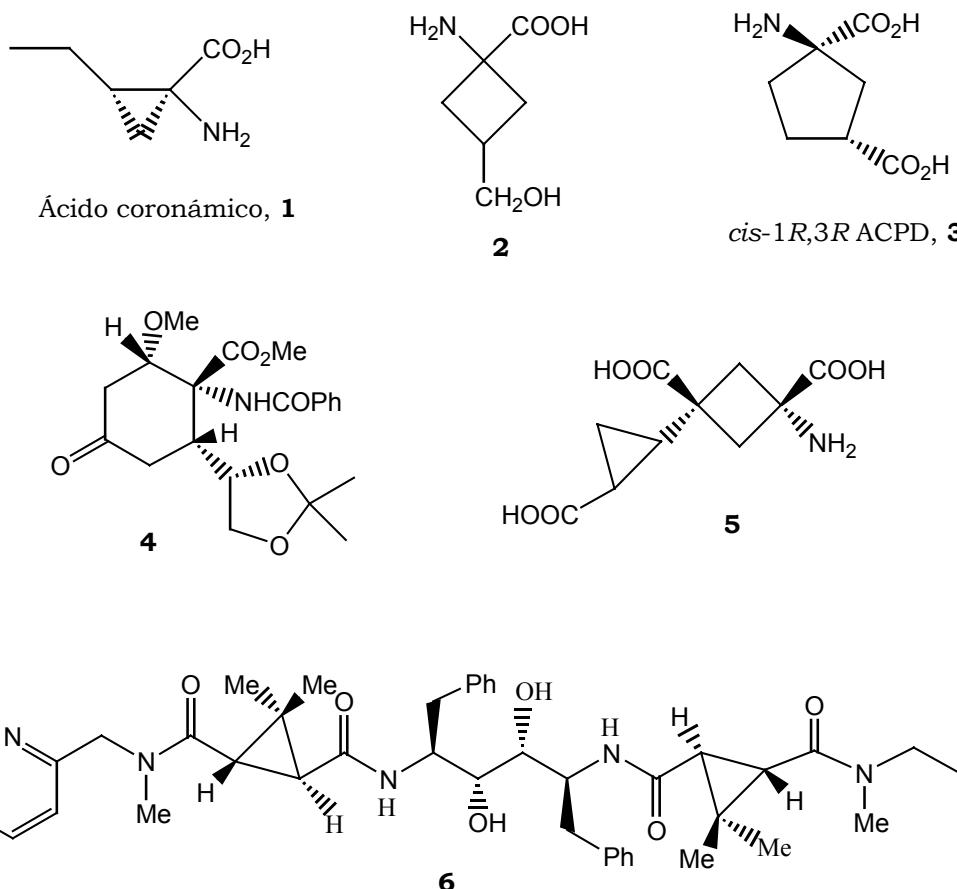


Figura 1: Ejemplos de aminoácidos carbocíclicos.

El ácido coronámico, **1** es un producto natural que fue aislado como producto de la hidrólisis de la coronatina, una toxina producida por las bacterias fitopatogénicas *Pseudomonas coronafaciens* pv. *Atropurpurea* y *Pseudomonas coronafaciens* pv. *Glycinea*.¹ Estas bacterias son responsables de la inducción de clorosis en las hojas del

¹ Sakamura, S.; Ichihara, A.; Shiraishi, S.; Sato, H.; Nishiyama, K.; Sakai, R.; Furusaki; Matsumoto, T. *J. Am. Chem. Soc.*, **1977**, *99*, 636.

centeno italiano, así como del crecimiento hipertrófico de las células de las patatas debido a la producción de la coronatina.²

El compuesto **2** pertenece a la familia de los ácidos 1-aminociclobutano-1-carboxílicos. Estos compuestos son inhibidores del crecimiento de tumores de baja toxicidad y agonistas de la histamina en los receptores H2.³

Un ejemplo de aminoácido ciclopentánico es el *cis*-1*R*,3*R* ACPD, **3**, agonista del NMDA (ácido *N*-metil-D-aspártico). Es un aminoácido, cuya estructura está estrechamente relacionada con la del ácido glutámico, pero con una mayor rigidez por el hecho de poseer una estructura cíclica.

El compuesto **4** es un ejemplo de aminoácido con un anillo de 6 miembros, sintetizado en nuestro laboratorio mediante reacción de Diels Alder entre un dieno heterosustituido y un deshidroaminoácido quiral.⁴

Entre los aminoácidos que contienen 2 anillos carbonados en su estructura, se encuentra un tipo de compuestos con un anillo ciclopropánico y otro ciclobutánico, como es el caso de **5**. Estos productos han sido descritos como potentes antagonistas del receptor de NMDA.⁵ Los receptores de NMDA han sido reconocidos como potenciales dianas para la intervención terapéutica en gran número de procesos neurológicos. En particular los antagonistas del receptor de NMDA poseen propiedades anticonvulsivas, antiespásticas y neuroprotectoras. Es además conocido que un agonista del NMDA puede ser convertido en un antagonista aumentando la distancia entre ambos grupos carboxilo.

Por último, cabe destacar que la incorporación de aminoácidos carbocíclicos a cadenas peptídicas ha permitido la realización de estudios mecanísticos y estructurales, así como la obtención de péptidos con nuevas propiedades farmacológicas. En la **Figura 1** está

² Mitchel, R.E.; Young, H. *Phytochemistry*, **1978**, 17, 2028.

³ Ver por ejemplo: (a) Longobardini, J.B.; Suffrin, J.R. *Biochem. Pharm.*, **1983**, 32, 489. (b) Gray, N.M.; Dappen, M.S.; Cheng, B.K.; Cordi, A.A.; Biesterfeld, J.P.; Hood, W.F.; Monahan, J.B. *J. Med. Chem.*, **1991**, 34, 1283.

⁴ (a) Ortuño, R.M.; Ibarzo, J.; Françoise Dumas, J.A.; Alvarez, A.; Piniella, J.F. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1996**, 7, 127.

⁵ Gaoni, Y.; Chapman, A.; Parvaez, N.; Pook, P.; Jane, D.; Watkins, J. *J. Med. Chem.*, **1994**, 37, 4288.

representado el pseudopéptido, **6**, el cual parece ser un potencial inhibidor de la proteasa HIV-1.⁶

1.2. Aminoácidos ciclobutánicos.

Los aminoácidos ciclobutánicos (AACBs) han sido poco investigados hasta el presente. Hasta hace poco constituyan el único tipo de aminoácidos que no había sido aún detectado en fuentes naturales. En 1980 Bell y col.⁷ aislaron por primera vez los ácidos 1-aminociclobutano-1,3-dicarboxílico (2,4-metanoglutámico) y 2,4-metanopirrolidin-2-carboxílico (2,4-metanoprolina) de la planta *Ateleia Herbert Smithii* (*Sophoreae, Leguminosae*). En 1987 Austin y col.⁸ aislaron de *Ateleia Herbert Smithii* otro aminoácido aquiral no proteinogénico, el ácido *cis*-1-amino-3-hidroximetilciclobutano-1-carboxílico. Este tipo de compuestos han comenzado a despertar el interés de los investigadores, debido a la importante actividad biológica que presentan: antivíricos, analgésicos, antimicrobianos, antidepresivos, neurotróficos.⁹ (**Figura 2**)

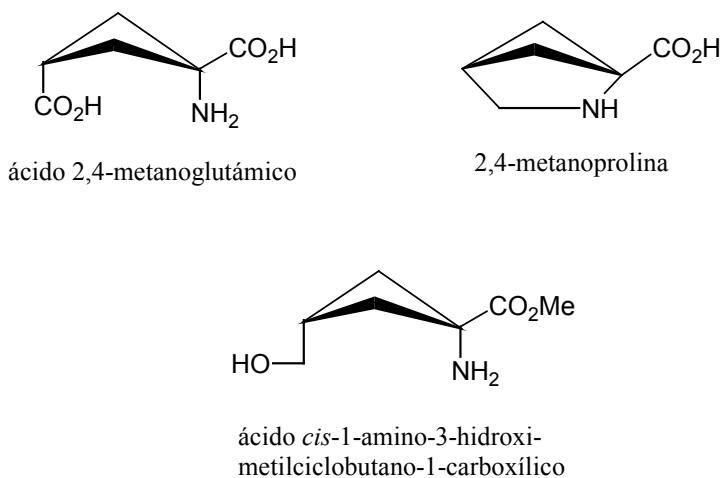


Figura 2: Compuestos naturales ciclobutánicos.

⁶ Martin, S.F.; Dorsey, G.O.; Gane, T.; Hillier, M.C. *J. Med. Chem.*, **1998**, *41*, 1581.

⁷ Bell, E.A.; Qureshi, M.Y.; Pryce, R.J.; Janzen, D.H.; Lempe, K.; Clardy, J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 1409.

⁸ Austin, G.N.; Baird, P.D.; Chow, H.F.; Fellows, L.E.; Fleet, G.W.J.; Hash, R.J.; Peach, J.M.; Pryce, R.J.; Stirton, C.H. *Tetrahedron*, **1987**, *43*, 1857.

⁹ Avotins, F. *Russian Chemical Reviews*, **1993**, *62*, 897, y las referencias allí mencionadas.

En 1993 Avotins⁹ publicó una revisión bibliográfica con el fin de sistematizar los estudios realizados sobre la síntesis, reactividad y actividad biológica de los aminoácidos ciclobutánicos. Éstos se podrían clasificar en dos subgrupos: **a)** los *ácidos aminociclobutanocarboxílicos*, los cuales tienen la función ácido unida directamente al anillo, y **b)** los *ácidos carboxílicos aminociclobutil substituidos*, en los cuales la función ácido no se encuentra directamente unida al anillo, sino situada a un o más enlaces de distancia. Esta clasificación permite comparar propiedades y facilita el estudio de los AACBs.

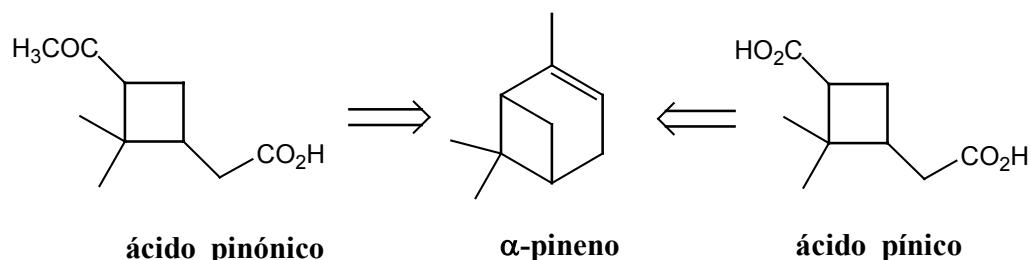
Con respecto a los *ácidos carboxílicos aminociclobutil substituidos* hay muy pocos descritos y no han sido adecuadamente estudiados. Prácticamente todos los aminoácidos conocidos de este grupo han sido obtenidos por reacciones con diferentes ácidos, aminas y compuestos carbonílicos, todos ellos a partir de la serie del ciclobutano. Los métodos clásicos de la síntesis de aminoácidos han sido usados para transformar el compuesto inicial en el producto deseado, en forma racémica. Es por tanto de gran importancia desarrollar nuevas metodologías de síntesis de estos compuestos intentando controlar la estereoquímica, a partir de materiales asequibles, para un estudio más detallado de su actividad y reactividad.

1.2.1. Uso de terpenos como precursores en la síntesis de AACBs.

1.2.1.1. Precedentes bibliográficos en el uso de α -pineno.

Antecedentes en el grupo de investigación.

Ciertos aminoácidos ciclobutánicos de la serie del 2,2-dimetilciclobutano han sido obtenidos a partir de los **ácidos pínicoy pinónico** derivados del α -pineno:⁹



Muchos de los derivados de esta serie han sido usados en la síntesis de materiales poliméricos y como surfactantes. El ácido ϵ -aminopinánico y sus ésteres^{9,10} son de interés como materiales de partida para la síntesis de compuestos biológicamente activos y poliamidas. El propio aminoácido posee acción antifibrinolítica y los clorhidratos de las amidas derivadas son antivíricos. La reducción de las amidas de este compuesto da lugar a la obtención de diaminas y la de los ésteres a aminoalcoholes. Ambos derivados son productos de interés como sustancias biológicamente activas y como monómeros para la síntesis de polímeros. Por otra parte, el análogo ciclobutánico de la glicina, el ácido α -aminociclobutilacético, exhibe actividad bactericida y algunos de sus ésteres son insecticidas. (**Figura 3**).

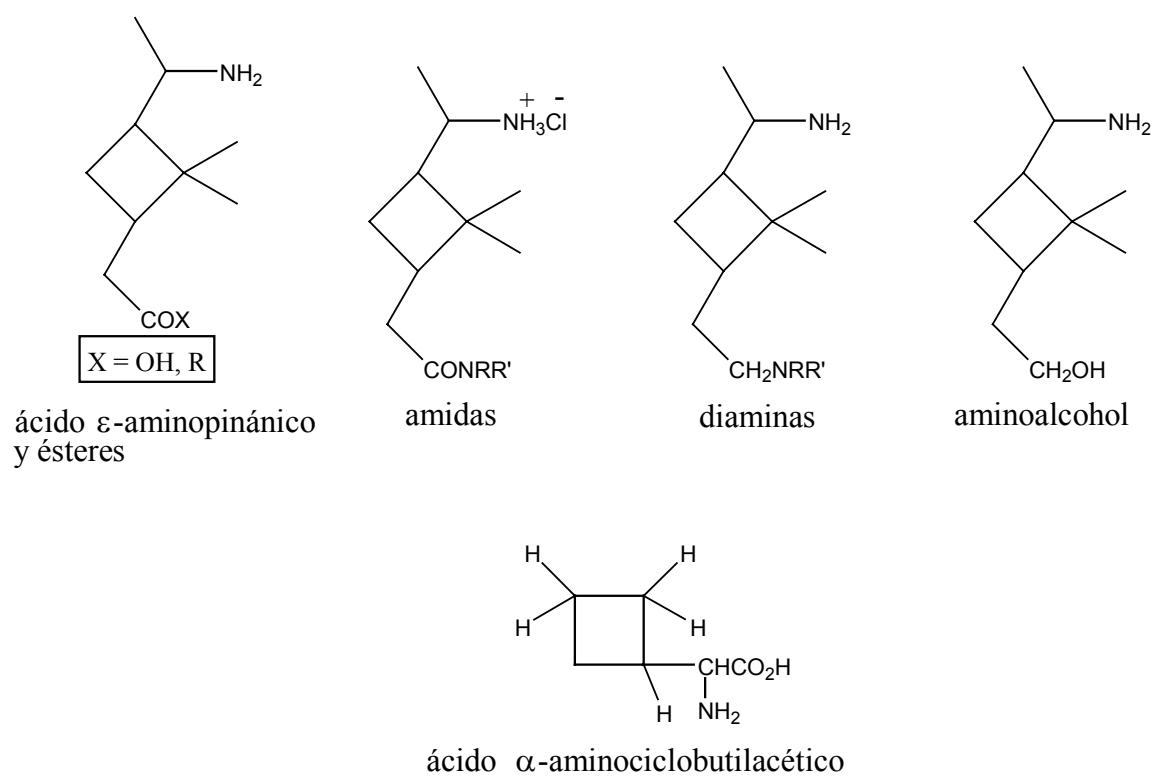


Figura 3: Ejemplos de ciclobutilaminoácidos y derivados.

¹⁰ Avotins, F.; Bizdema, E. *Izv. Akad. Nauk Latv. SSR, Ser. Khim.* **1970**, 191.

La idea del uso de terpenos para la síntesis de análogos de nucleósidos o aminoácidos se basa en que a partir de dichos precursores se puede conocer la estereoquímica absoluta y relativa del derivado obtenido, se aumenta la lipofilicidad de los derivados por la presencia de los grupos metilo en el anillo de ciclobutano, se puede variar la movilidad conformacional según el número y naturaleza de los substituyentes y se puede ir modificando la distancia entre la función amino y alcohol (precursores de nucleósidos) o amino y ácido carboxílico en relación 1,3 sobre el ciclobutano. Esto daría lugar a derivados que podrían permitir evaluar las modificaciones en la actividad biológica frente a las modificaciones estructurales de la molécula. Así por ejemplo, Fernández y col. han llevado a cabo la síntesis, a partir de α -pineno, del nucleósido carbocíclico mostrado en la **Figura 4**. Se ha comprobado que presenta una considerable actividad selectiva contra el virus de la Varicela Zóster.¹¹

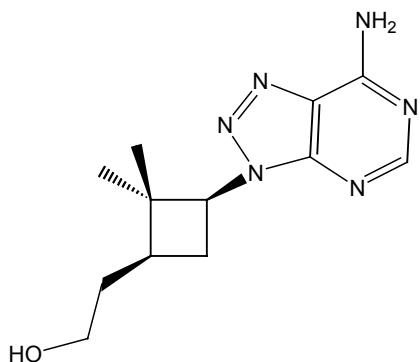


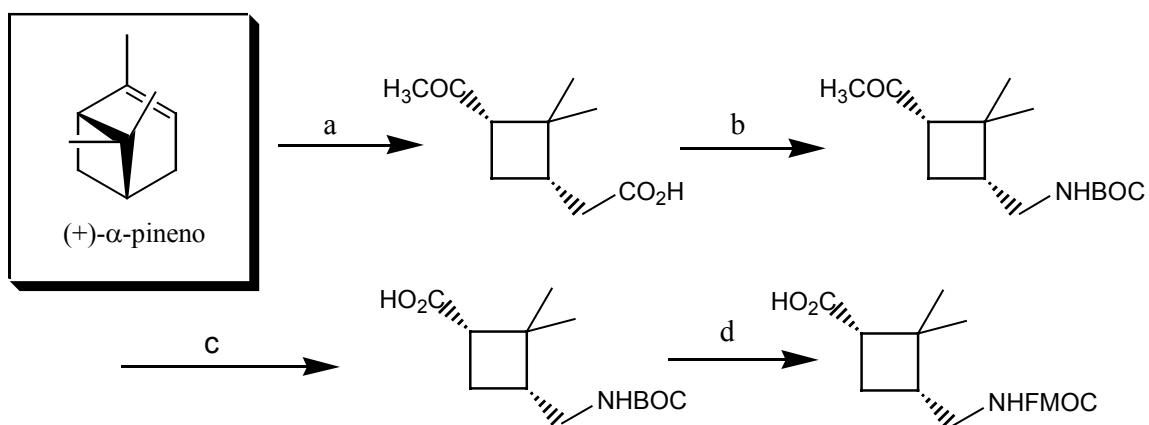
Figura 4: Nucleósido ciclobutánico obtenido a partir de α -pineno.

Muchos de los aminoácidos ciclobutánicos descritos anteriormente poseen actividad biológica interesante, pero la reactividad de los mismos ha sido muy poco estudiada. El mayor problema es que no todas las síntesis de aminoácidos ciclobutánicos son de valor

¹¹ Lopez, C.; Balo, C.; Blanco, J.M.; Fernández, F. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*. **2001**, *20*, 1133.

preparativo y dichos compuestos son en general difíciles de obtener en formas enantiomérica o diastereoméricamente puras.¹²

En la bibliografía se encuentran descritos diferentes métodos de obtención de compuestos ciclobutánicos ópticamente activos que recurren a terpenos, en particular al α -pineno, como fuente de quiralidad.¹³ Un ejemplo es la síntesis de aminoácidos ciclobutánicos enantioméricos descrita recientemente por K. Burgess y col.^{12b} (Esquema 1). Éstos pertenecerían al primer grupo de clasificación de Avotins⁹ ya que la función ácido está directamente unida al anillo ciclobutánico, si bien se trata de δ -aminoácidos.



- a) KMnO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $<16^\circ\text{C}$, 5 h. b) $(\text{PhO})_2\text{P}(\text{O})\text{N}_3$, NEt_3 , ${}^t\text{BuOH}$, refluxo. c) NaBrO , dioxano acuoso, 0°C , 3h. d) (i) TFA , CH_2Cl_2 . (ii) FMOC-OSu , DMF , Na_2CO_3 acuoso, 8h.

Esquema 1

En nuestro grupo de investigación se han desarrollado metodologías para la síntesis de diferentes compuestos ciclobutánicos enantiopuros a partir de $(-)\alpha$ -pineno. De esta

¹² Ver por ejemplo: (a) Boeckman, R.K.; Reeder, M.R. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6456. (b) Burgess, K.; Li, S.; Rebenspies, J. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1681.

¹³ Ver por ejemplo: (a) Muscio, O.J.; Poulter, C.D. *J. Org. Chem.* **1974**, *39*, 22, 3288. (b) Berson, J.A.; Dervan, P.B.; Malherbe, R.; Jenkins, J.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *105*, 5937. (c) Karpf, M.; Djerassi, C. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 302. (d) Wolk, J.L.; Goldschmidt, Z. *Synthesis*, **1986**, 347. (e) Fernández, F.; López, C.; Hergueta, A.R. *Tetrahedron*, **1995**, *51*, 37, 10317. (f) Moglioni, A.G.; García-Expósito, E.; Moltrasio, G.Y.; Ortúñoz, R.M., *Tetrahedron Lett.*, **1998**, *39*, 3593.

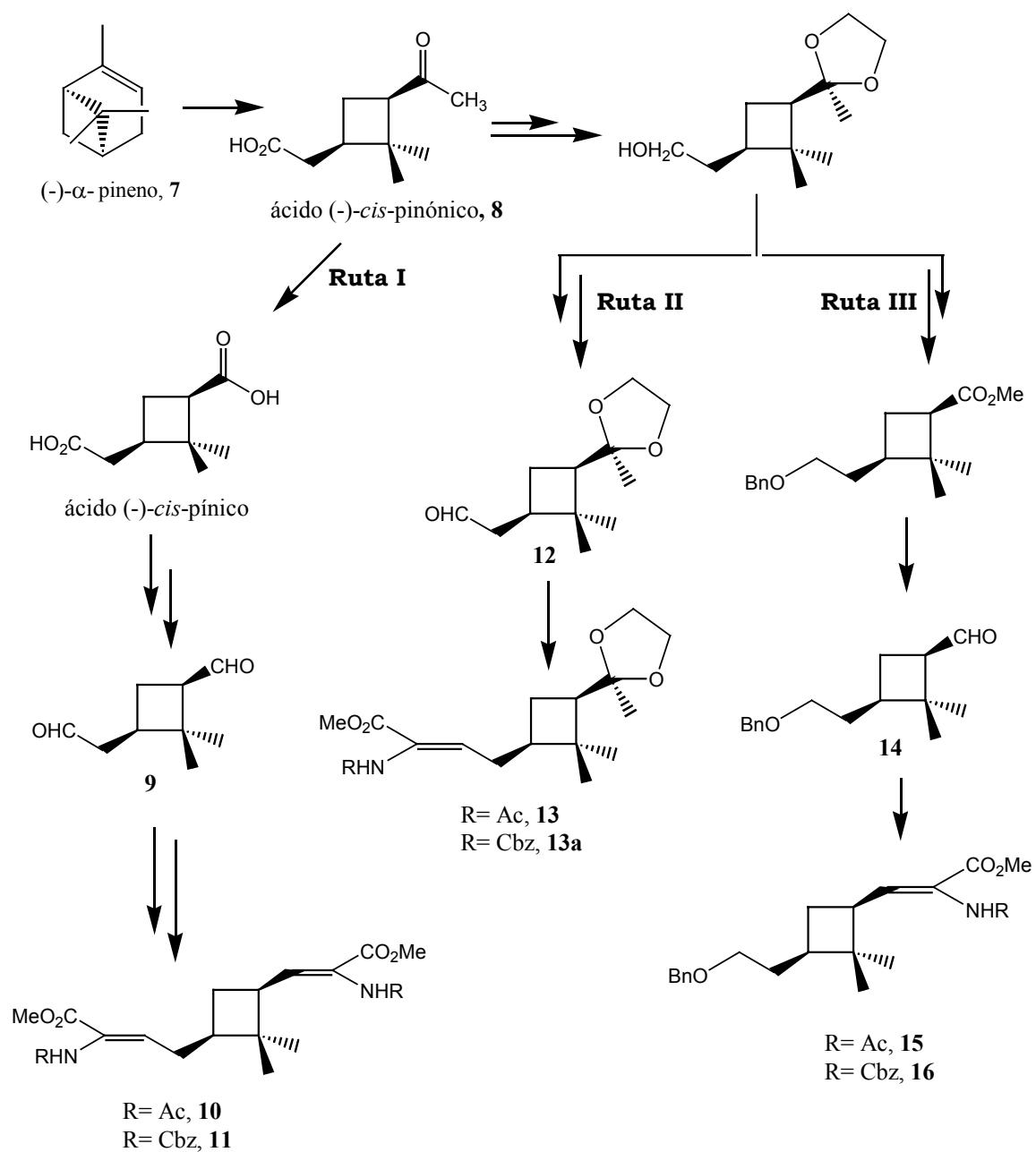
manera, la Dra. Albertina Moglioni y la Dra. Elena García-Expósito pusieron a punto diferentes rutas sintéticas para la obtención estereoselectiva de compuestos ciclobutánicos, gracias a la utilización de (-)- α -pineno como precursor quiral, el cual lleva preformado el anillo ciclobutánico. Mediante la transformación selectiva de grupos funcionales se consiguió sintetizar diferentes tipos de compuestos ciclobutánicos: α,β -deshidro- α -aminoácidos (DHAAs) y aminoácidos ciclobutilciclopropánicos.^{13f,14} En el **Esquema 2** se muestran las diferentes rutas estereoselectivas desarrolladas para la obtención de los DHAAs. La oxidación del pineno permite obtener el ácido pinónico **8**, el cual es el material de partida de las tres rutas representadas. A partir de **8** se prepararon los aldehídos **9**, **12** y **14**, los cuales por condensación de Wittig-Horner permitieron obtener los deshidroaminoácidos **10**, **11**, **13**, **13a**, **15**, **16** con buenos rendimientos y excelente estereoselectividad Z.

Los DHAAs son intermediarios valiosos en la síntesis de otros compuestos por reacciones sobre el doble enlace C-C. De esta manera adiciones 1,3-dipolares de diazometano sobre las olefinas **13a** y **16** representadas en el **Esquema 2**, han permitido obtener los aminoácidos ciclobutilciclopropanocarboxílicos¹⁴ **17** y **18** (**Esquema 3**).

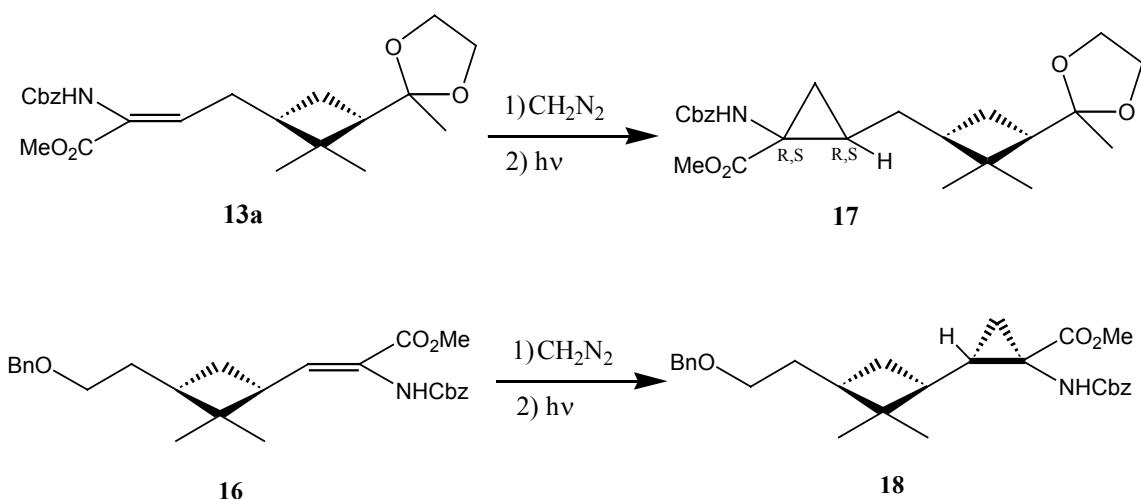
En el caso de la obtención del compuesto **17**, la diastereoselectividad facial observada fue muy baja, obteniéndose los dos diastereoisómeros posibles en un porcentaje similar. Sin embargo, cuando se ensayó la adición 1,3-dipolar sobre el compuesto **16**, se observó la formación de un único producto (**18**), lo cual parece indicar que la cercanía del doble enlace a los centros estereogénicos del ciclobutano en el compuesto **16** (a diferencia del compuesto **13a**), permite obtener una mejor diastereoselectividad facial.

Por otro lado, la hidrogenación catalítica de dichos α,β -deshidro- α -aminoácidos permite obtener α -aminoácidos saturados, objeto de estudio de gran parte de la presente Tesis, como se verá más adelante.

¹⁴ Moglioni, A.G.; García-Expósito, E.; Alvarez-Larena, A.; Branchadell, V.; Moltrasio, G.Y.; Ortúñoz, R.M. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, *11*, 4903.



Esquema 2

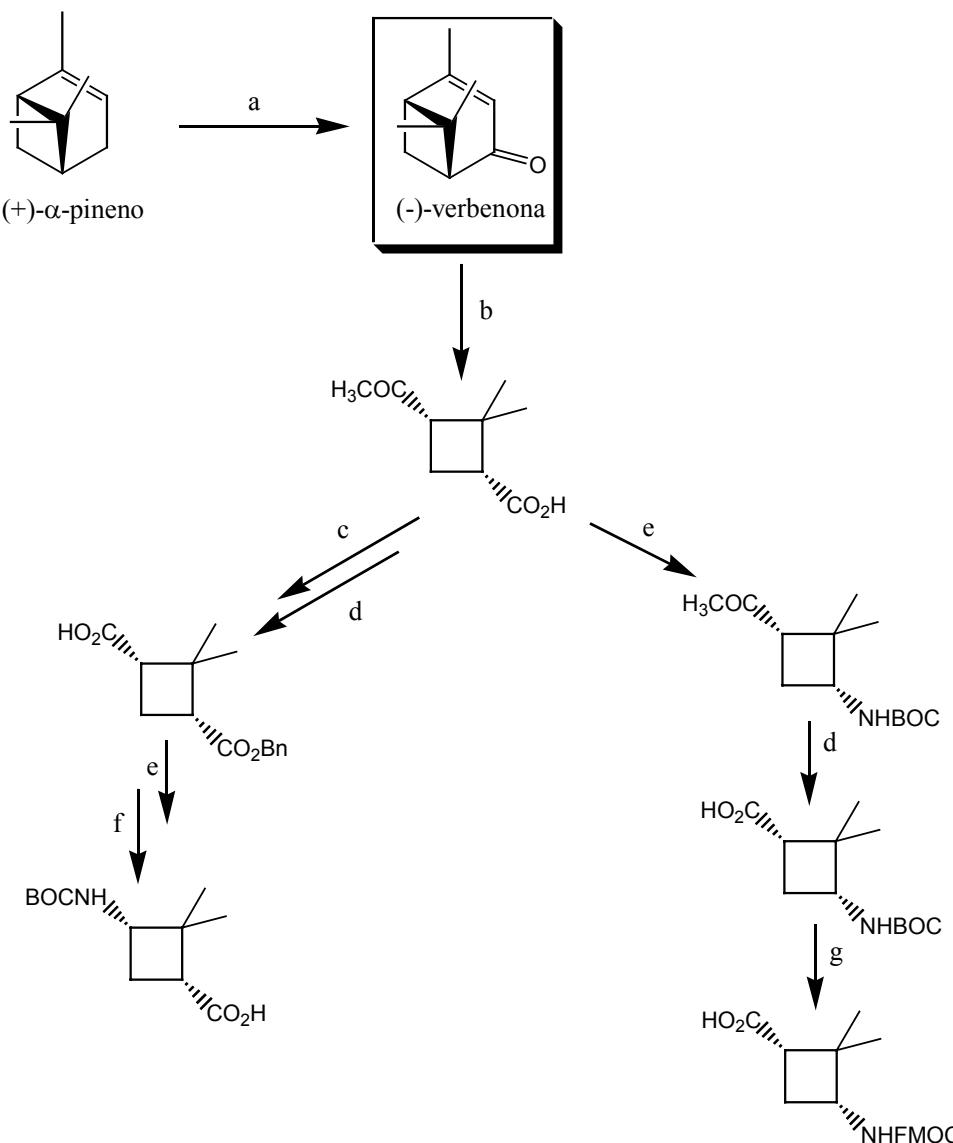


Esquema 3

1.2.1.2. Precedentes bibliográficos en el uso de (-)-verbenona.

Antecedentes en el grupo de investigación.

Los precedentes bibliográficos para la obtención de productos en donde los grupos amino y ácido se encuentran directamente unidos al anillo ciclobutánico se encuentran en los trabajos de Burgess y col.^{12b} En su grupo de investigación se ha llevado a cabo la oxidación alílica del (+)-(α)-pineno, obteniéndose así la (+)-verbenona. Los productos que se obtienen partiendo de la verbenona, a diferencia de los anteriores, tienen los grupos carboxilo y amino unidos directamente al anillo ciclobutánico obteniéndose, en este caso, γ-aminoácidos (Esquema 4).

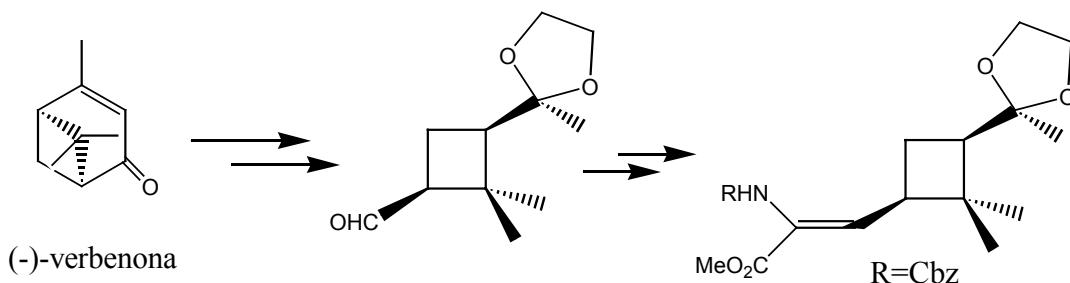


a) O_2 , complejo Co (II). b) $NaIO_4$, $RuCl_3$ cat.; CCl_4 - CH_3CN - H_2O ; 25 °C, 24h. c) $PhCH_2Cl$, K_2CO_3 (acuoso), CH_2Cl_2 , Et_4NCl . d) $NaBrO$, dioxano acuoso., 0°C, 3h. e) $(PhO)_2P(O)N_3$, NEt_3 ; tBuOH , reflujo. f) H_2 , cat. Pd/C , $EtOAc$. g) (i) TFA , CH_2Cl_2 . (ii) $FMOC-Osu$, DMF , Na_2CO_3 acuoso, 8h.

Esquema 4

En nuestro grupo de investigación, paralelamente a la realización de esta Tesis, se han desarrollado rutas sintéticas para la obtención de diversos tipos de aminoácidos ciclobutílicos a partir de $(-)$ -verbenona: α,β -deshidro- α -aminoácidos, β -aminoácidos y γ -

aminoácidos. La vía sintética seguida para la obtención de un DHAA con la función amino protegida en forma de carbamato de bencilo se muestra en el **Esquema 5**.¹⁵



Esquema 5

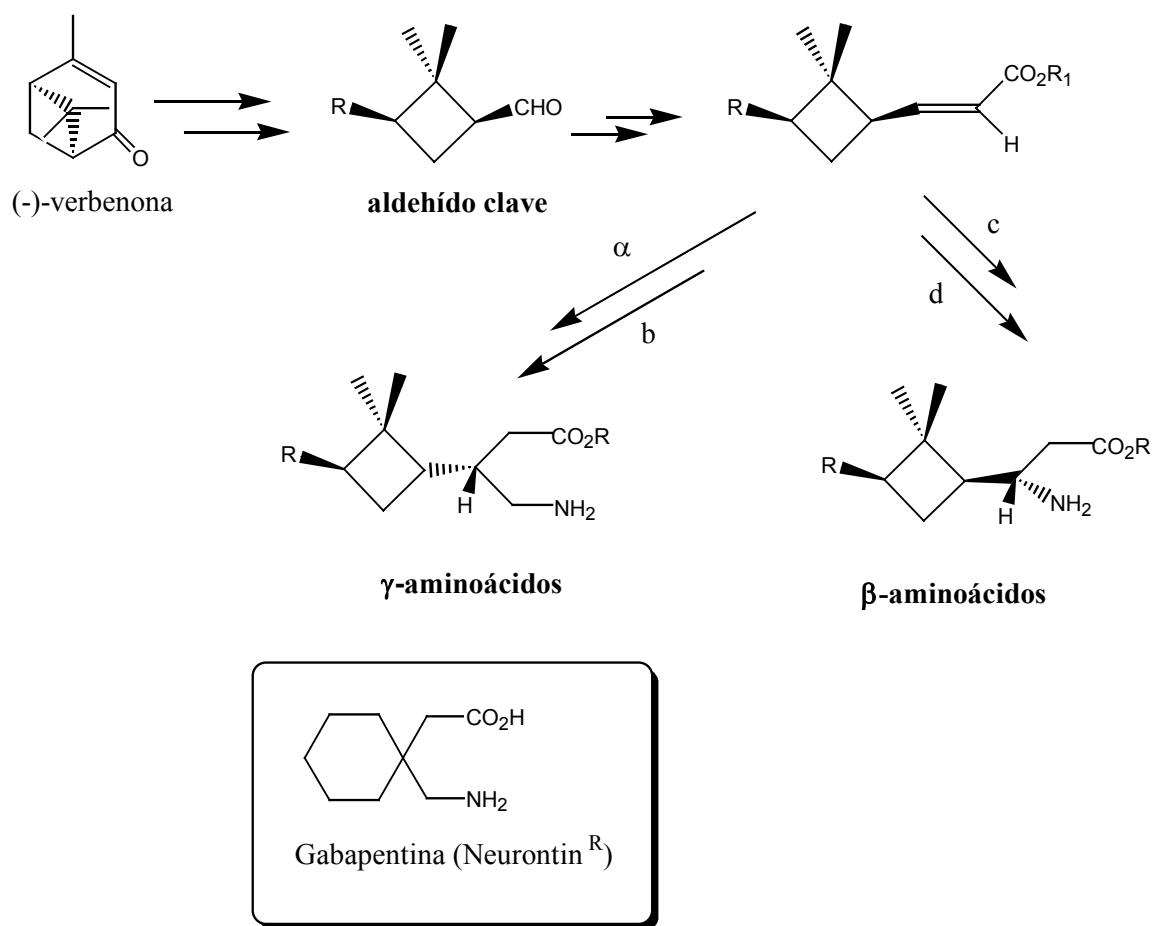
En este caso, a diferencia de los deshidroaminoácidos provenientes del pineno, el doble enlace está directamente unido al anillo ciclobutánico.

Por otro lado, la Dra. Albertina Moglioni y Beatriz Brousse han desarrollado diversas vías sintéticas con el fin de obtener β -aminoácidos¹⁶ y γ -aminoácidos ciclobutílicos,¹⁷ como puede observarse en el **Esquema 6**. Los γ -aminoácidos resultan de adiciones conjugadas con nitrometano a ésteres ciclobutílicos α,β -insaturados, mientras que los β -aminoácidos se preparan mediante reacciones de *N*-alquilhidroxilaminas con dichos sustratos.

¹⁵ Moglioni, A.G.; García-Expósito, E.; Aguado, G.P.; Parella, T.; Branchadell, V.; Moltrasio, G.Y.; Ortúñoz, R.M., *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 3934.

¹⁶ Moglioni, A.G.; Muray, E.; Castillo, J.A.; Alvarez-Larena, A.; Moltrasio, G.Y.; Branchadell, V.; Ortúñoz, R.M., *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 2402.

¹⁷ Moglioni, A.G.; Brousse, B.N.; Alvarez-Larena, A.; Moltrasio, G.Y.; Ortúñoz, R.M., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2002**, 13, 451.



a) CH_3NO_2 , TBAF, THF, t.a., 20 h. b) HCO_2NH_4 , 10% Pd/C, MeOH, Δ , 20 h. c) BnNH-OH-HCl , Et_3N , CH_2Cl_2 , t.a. d) H_2 , $\text{Pd(OH)}_2/\text{C}$, 4 atm.

Esquema 6

Los γ -aminoácidos preparados mediante esta estrategia sintética son análogos a la gabapentina (Neurontin[®]), compuesto comercial con importante actividad como anticonvulsivo y analgésico. Se ha demostrado recientemente que análogos ciclobutílicos de la gabapentina son útiles en el tratamiento del insomnio.

Queda, por lo tanto, patente la importancia de pineno y verbenona como precursores ciclobutánicos quirales para la síntesis de aldehídos que son intermedios clave para la obtención de numerosos productos ciclobutánicos con importante actividad farmacológica.

1.3. Importancia de los α,β -deshidro- α -péptidos y los α -péptidos saturados.

1.3.1. Los α,β -deshidro- α -péptidos.

En la estructura de numerosos productos naturales con actividad biológica como enzimas,¹⁸ hormonas,¹⁹ antibióticos,²⁰ y fitotoxinas,²¹ se han encontrado oligómeros con unidades de aminoácidos α,β -insaturados (α,β -deshidro- α -péptidos). Así, por ejemplo, lavendomicina (**Figura 5**),²² obtenida de filtrados de cultivo de *Streptomyces lavendulae*, es activa contra bacterias gram-positivo *in vivo* e *in vitro*, además de tener muy baja toxicidad.

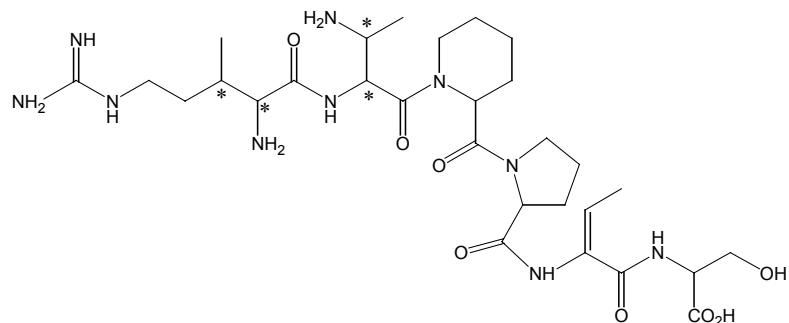


Figura 5: Estructura de lavendomicina.

Por otra parte, la incorporación de unidades de α,β -deshidro- α -aminoácidos (DHAAs) en lugar de aminoácidos, en hormonas peptídicas de origen natural, generalmente provoca una marcada variación en su conformación y actividad biológica.¹⁹

¹⁸ (a) Givot, I.L.; Smith, T.A.; Abeles, R.H. *J. Biol. Chem.* **1969**, *244*, 6341. (c) Wickner, R. B. *Ibid*, **1969**, *244*, 6550. (b) Hanson, K. R.; Havier, E.A. *Arch. Biochem. Biophys.* **1970**, *141*, 1.

¹⁹ Gupta, A.; Chauhan, V.S. *Biopolymers*, **1990**, *30*, 395.

²⁰ (a) Khoklov, A.S.; Lokshin, G.B. *Tetrahedron Lett.* **1963**, 1881. (b) Demain, A.L. in *Biosynthesis of Antibiotics*, Snell, J.F. Ed.; Academic Press, London and New York, **1966**, p. 29. (c) Gross, E.; Morell, J.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 2791. (d) Bycroft, B.W. *Nature (London)*, **1969**, *224*, 595. (e) Gross, E.; Morell, J.L.; Craig, L.C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1969**, *62*, 952. (f) Gross, E.; Kiltz, H.H. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1973**, *50*, 559.

²¹ Wakamara, T.; Shimbo, K.; Sano, A.; Fukase, K.; Shiba, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *56*, 2044.

²² Komori, T.; Ezaki, M.; Kino, E.; Kohsaka, M.; Aoki, H.; Imanaka, H. *J. Antibiot.* **1985**, *38*, 691.

Otra de las características destacables de los DHAAs es su capacidad de complejación con iones metálicos, efecto incrementado cuando un deshidroaminoácido es incorporado a un di-, tri- o tetrapéptido.²³ También son de destacar los estudios conformacionales realizados sobre este tipo de compuestos, en los cuales queda patente la capacidad de los DHAAs como inductores de giros β .²⁴ Cabe mencionar que la estereoquímica *Z/E* del doble enlace es un factor determinante de la actividad biológica de los α,β -deshidro- α -péptidos. Los isómeros *Z* son mucho más comunes que los *E* y se encuentran por ejemplo en algunos antibióticos.^{20,23a,25,26}

Los métodos más usados en la síntesis de α,β -deshidro- α -péptidos se basan en reacciones de condensación ó de β -eliminación de agua en β -hidroxi- α -aminoácidos (ó β -hidroxi- α -péptidos) derivados de serina o treonina con grupos salientes adecuados.^{27,28}

1.3.2. Los α -péptidos ciclobutánicos.

Es ampliamente conocido que la inversión de la configuración absoluta de uno o más centros quirales puede provocar cambios significativos en la actividad biológica. Es por este motivo que es importante investigar el potencial de determinados catalizadores en la preparación de péptidos en los cuales se produce un aminoácido específicamente con configuración *R* o *S*. A lo largo de la historia muchos han sido los autores que han estudiado a fondo la hidrogenación catalítica de α -enamidas, pero poca atención ha recibido la hidrogenación de α,β -deshidro- α -péptidos, encontrándose en la literatura pocos ejemplos de este proceso. Así, la hidrogenación de α,β -deshidro- α -péptidos quirales con

²³ (a) Swiatek-Kozlowska, J.; Brasun, J.; Chruscinski, L.; Chruscinska, E.; Makowski, M.; Kozlowski, H. *New. J. Chem.* **2000**, 24, 893. (b) Lisichkina, I.N.; Ivanova, A.G.; Peregudov, A.S.; Belikov, V.M. *Russian Chem. Bull.* **2001**, 50, 4, 738.

²⁴ (a) Pietrzynski, G.; Rzeszotarska, B.; Ciszak, E.; Lisowski, M. *Pol. J. Chem.* **1994**, 68, 1015. (b) Pieroni, O.; Montagnolli, G.; Fissi, A.; Merlini, S.; Ciardelli, F. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, 12, 6820.

²⁵ Jezowska-Bojczuk, M.; Hozlowski, H.; Sovago, I.; Kuvica, Z.; Rzeszotarska, B.; Smelka, L. *Polyhedron*. **1991**, 10, 2331.

²⁶ Smelka, L.; Kuvica, Z.; Rzeszotarska, B.; Hozlowski, H. *Pol. J. Chem.* **1993**, 67, 1355.

²⁷ (a) Schmidt, U.; Lieberknecht, A.; Wild, J. *Synthesis*, **1984**, 53. (b) Shin, C.N.; Takahashi, N.; Yonezawa, Y. *Chem. Phar. Bull.* **1990**, 38, 2020.

catalizadores también quirales es un método efectivo para la preparación de α -péptidos con elevada diastereoselectividad, y es un ejemplo claro de la doble inducción de asimetría.²⁸ Uno de los aspectos más interesantes de esta reacción es determinar si el centro o los centros quirales presentes en el deshidropéptido tienen cierta influencia en el camino de la inducción asimétrica de la hidrogenación.

Por otra parte, el interés en la obtención de péptidos ciclobutánicos ópticamente activos reside, como se comentó en la introducción, en que se han encontrado en la naturaleza diversos péptidos con un anillo ciclobutánico en su estructura, los cuales han mostrado interesantes propiedades. Así por ejemplo, el antibiótico X-1092 es un péptido producido por los microorganismos *Streptomyces species X-1092*,²⁹ el cual exhibe actividad antimicrobiana en microorganismos gram-positivo y gram-negativo (**Figura 6**). Además, la incorporación del anillo de ciclobutano en peptidomiméticos conformacionalmente restringidos tiene como resultado la preparación de derivados biológicamente activos, como el análogo de la tuftsina Thr-[Mom²]-Pro-Arg, el cual exhibe elevada resistencia a la hidrólisis enzimática en comparación con la propia tuftsina³⁰ (**Figura 6**).

²⁸ (a) Ojima, I.; Suzuki, T. *Tet. Letters*, **1980**, 21, 1239. (b) Meyer, D.; Poulin, J.C.; Kagan, H.B. *J. Org. Chem.* **1980**, 45, 4680. (c) Ojima, I.; Kogure, T.; Yoda, N.; Suzuki, T.; Yatabe, M.; Tanake, T. *J. Org. Chem.* **1982**, 47, 1329. (d) Ojima, I. en Eliel, E.L., Otsuka: *Asymmetric Reactions and Processes in Chemistry, American Chemical Society*, Washington DC **1982**, cap.8, p.109. (e) Yamagishi, T.; Yatagai, M.; Hatakeyama, Hidetoshi, Hida, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1984**, 57, 1897. (f) Ojima, I. *Pure & Appl. Chem.* **1984**, 56, 1, 99.

²⁹ (a) Adlington, R.M.; Baldwin, J.E.; Jones, R.H.; Murphy, J.A.; Parisi, M.F. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1983**, 1479. (b) Baldwin, K.A.; Adlington, R.M.; Parisi, M.F.; Ting, H.-H. *Tetrahedron*, **1986**, 42, 2575.

³⁰ Gershonov, E.; Granoth, R.; Tzehoval, E.; Gaoni, Y.; Fridkin, M. *J. Med. Chem.* **1996**, 39, 4833.

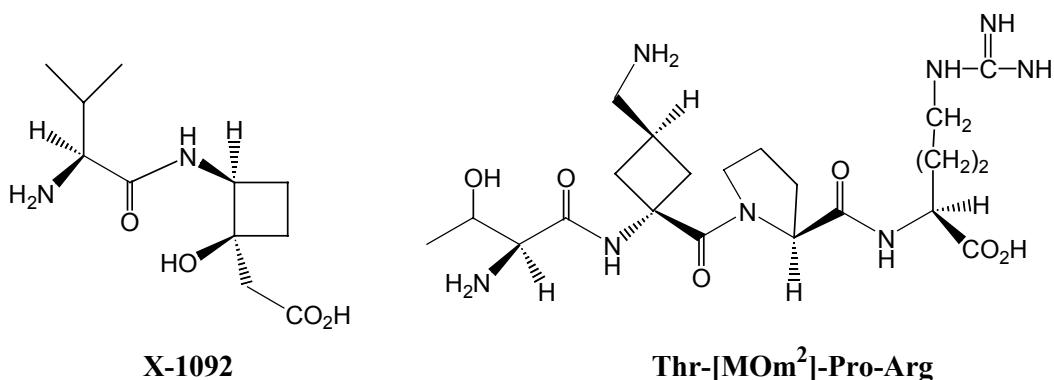


Figura 6: Ejemplos de péptidos ciclobutánicos con propiedad biológica.

1.4. Introducción a los ácidos péptidonucleicos.³¹

1.4.1. Definición de los APN.

Los ácidos péptidonucleicos (APN) fueron descritos por primera vez el año 1991 por el grupo del profesor Nielsen y col.³² Son mímicos de ADN en los cuales la unidad de ribosa-fosfato ha sido reemplazada por un fragmento aquiral de 2-aminoetilglicina sin carga y con las bases nucleicas enlazadas mediante grupos de metilencarbonilos. (**Figura 7**)

APN es por lo tanto un pseudopéptido capaz de transportar la información genética, vía las bases nucleicas, de igual manera que el ADN o el ARN.

³¹ Reviews: (a) Nielsen, P.E.; Hyrup, Birgitte. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **1996**, *4*, 1, 5. (b) Uhlmann, E.; Peyman, A.; Breipohl, G.; W. Will, D. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2796. (c) Nielsen, P.E.; Krishna N., G. *Current Organic Chemistry*, **2000**, *4*, 931.

³² Nielsen, P.E.; Egholm, M.; Berg, R.H.; Buchardt, O. *Science*, **1991**, *254*, 1497.

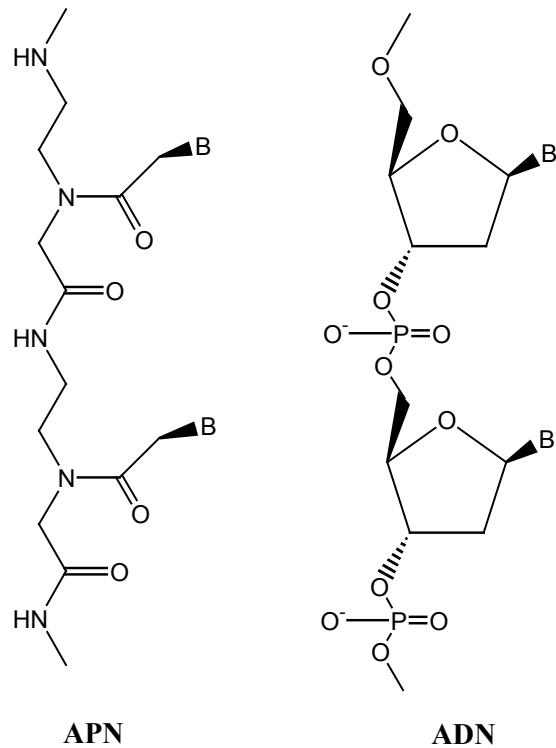


Figura 7: Estructura de los oligómeros de APN y ADN.

1.4.2. Complejos diméricos y triméricos. Estabilidad.

La importancia de estas moléculas radica en la capacidad de hibridarse tanto con cadenas de ADN como de ARN con elevada eficiencia, mediante interacciones de puentes de hidrógeno entre las bases nucleicas. De esta manera, tal y como se muestra en el ejemplo de la **Figura 8** pueden formarse complejos diméricos o triméricos, en función de si interaccionan 2 o tres cadenas.

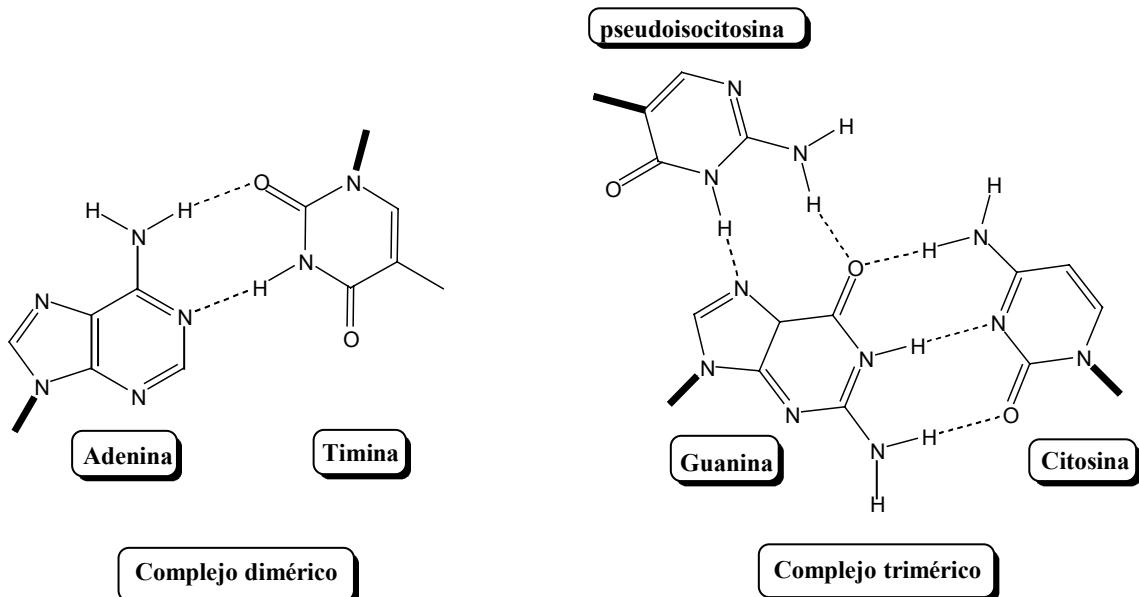


Figura 8: Ejemplos de complejos diméricos o triméricos.

En cuanto a la estabilidad de estos híbridos se ha observado lo siguiente:

- los complejos triméricos APN·ADN·APN muestran elevada estabilidad.
- los complejos diméricos APN·ADN ó APN·ARN son en general más estables que ADN·ADN ó ARN·ARN. Esta estabilidad es quizás debida a la falta de repulsión iónica entre cadenas.
- la estabilidad de complejos diméricos de APN·ADN ó APN·ARN se ve inalterada por la fuerza iónica del medio. En cambio, la estabilidad de ADN·ADN ó ARN·ARN disminuye drásticamente a bajas fuerzas iónicas, debido al requerimiento del contraión del enlace fosfato.
- los complejos diméricos APN·APN son en general más estables que APN·ARN ó APN·ADN.
- parece ser que los complejos diméricos APN·ARN son en general más estables que APN·ADN, exhibiendo así propiedades como *antisense*.
- al contrario de lo que sucede con el ADN, el APN puede hibridarse según una orientación paralela como antiparalela, siendo la antiparalela la orientación más favorecida.

Todas estas propiedades hacen posible que el oligómero de APN sea muy interesante en diferentes disciplinas: química, biología molecular y por supuesto en medicina.

1.4.3. Agente *antisense/antigene*.

El evento más importante referido al reconocimiento molecular en la naturaleza es el reconocimiento entre bases en los ácidos nucleicos, el cual garantiza el almacenamiento, la transferencia y la expresión de la información genética en los organismos vivos. La elevada especificidad en el reconocimiento entre las bases nucleicas ha sido de vital importancia para el desarrollo de diagnósticos basados en ADN y de agentes terapéuticos en forma de oligonucleótidos *antisense* y *antigene*.

En la **Figura 9** se muestra esquemáticamente qué son los agentes *antisense* y *antigene*.

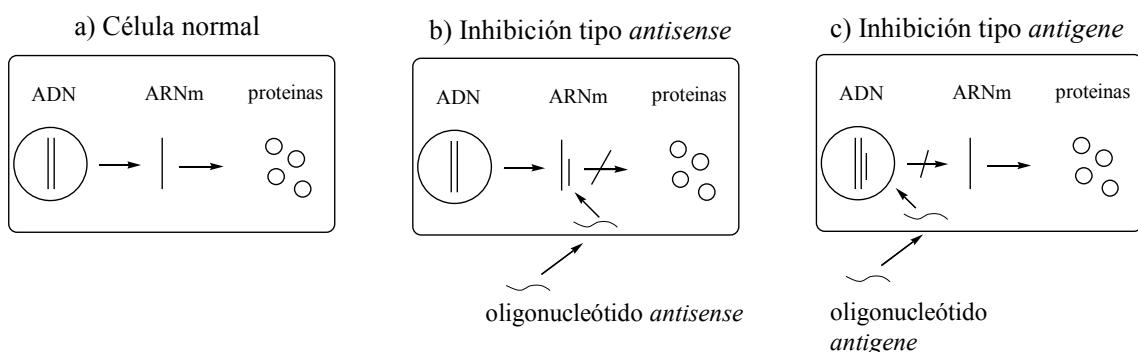


Figura 9: Ilustración esquemática de (a) Expresión de la información genética en una célula normal. (b) Inhibición tipo *antisense*. (c) Inhibición tipo *antigene*.

Como puede verse en la **Figura 9**, en una célula normal la información genética se transcribe del ADN al ARNm y éste último lleva a cabo el transporte de la información para finalmente producir la síntesis de las proteínas. Un oligonucleótido del tipo *antigene* es aquel que se enlaza específicamente al ADN inhibiendo así la transcripción de la información genética. El enlace tiene lugar mediante la formación de un complejo trimérico o por desplazamiento de la cadena. En la inhibición del tipo *antisense* el oligonucleótido se enlaza específicamente al ARNm vía enlaces de hidrógeno, inhibiendo la traducción del

ARNm a las proteínas. Existen diferentes mecanismos propuestos para estos dos procesos.

Por lo tanto, tal y como se comentó en el apartado anterior, los complejos diméricos APN-ARN son en general más estables que APN-ADN, confiriendo al APN propiedades como agente *antisense*. Por otra parte, la elevada estabilidad biológica del APN tanto en el sérum humano como en extractos de células eucariotas, hace de estas moléculas candidatas a ser excelentes agentes *antisense*.

También se ha demostrado que moléculas de APN actúan como inhibidores de algunos enzimas, como por ejemplo la telomerasa, con actividad de ADN-polimerasa.

Así pues, el uso de los APNs como agentes *antisense*, agentes *antigene* y como inhibidores de algunos enzimas (vía interacciones con ribonucleoproteínas), sugiere potenciales estrategias terapéuticas.

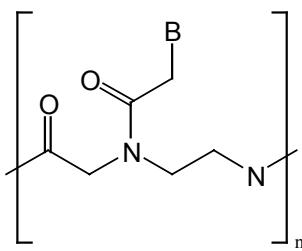
1.4.4. Modificaciones químicas del APN.

Los APN tienen varias limitaciones:

- poseen una baja solubilidad en agua.
- forman agregados.
- tienen dificultad para atravesar la membrana celular.
- existe cierta ambigüedad en la orientación del reconocimiento con una cadena complementaria.

En los últimos años han surgido numerosos intentos para solventar estas limitaciones y optimizar las propiedades de los APN, basados en la síntesis y el análisis de una gran variedad de nuevos derivados de oligonucleótidos con modificaciones en el sector de la etilendiamina o la glicina, en la conexión a la base nucleica, en la propia base, o una combinación de las anteriores.

A continuación se mostrarán varios ejemplos concretos de modificaciones que se pueden realizar en la estructura del monómero de APN estándar:



B= base nucleica

Figura 10: Estructura de un monómero de APN estándar.

a) Modificaciones en la base nucleica:

Modificar la base nucleica o la conexión tiene como objetivo mejorar la efectividad en el reconocimiento entre bases, así como entender el proceso de reconocimiento en términos de varios factores involucrados como son los enlaces de hidrógeno y el “stacking” entre bases nucleicas. A continuación se muestran varios ejemplos de bases modificadas:

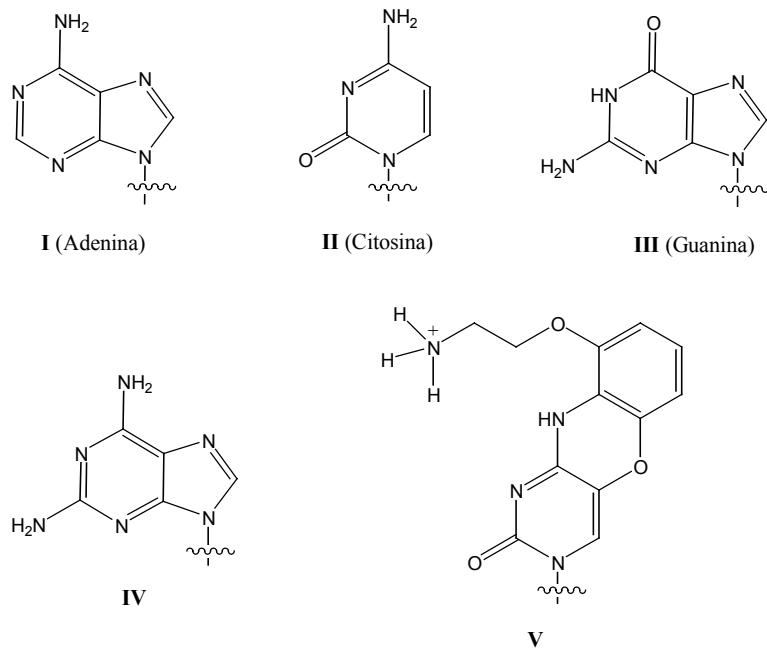


Figura 11: Ejemplos de bases modificadas **IV**, **V**, con respecto a **I**, **II**, **III**.

La 2,6-diaminopurina **IV** es análoga a la adenina **I** pero con un grupo amino adicional. Esta modificación aumenta la afinidad y selectividad por una timina con respecto

a la adenina sin modificar. Por otra parte, **V** es análoga a la citosina, pero con un hidrógeno adicional. La interacción entre una guanina y una adenina está formada por tres puentes de hidrógeno, mientras que son cuatro los puentes de hidrógeno formados entre **V** y una guanina. Así, la incorporación de **V** en una cadena aumenta la estabilidad térmica una vez hibridada con otra cadena de ADN o ARN.

b) Introducción de quiralidad. Introducción de rigidez:

Como se ha comentado anteriormente, es posible introducir cambios en el fragmento de la etilendiamina, de la glicina o en el conector a la base nucleica. Las modificaciones que se han introducido en estos casos pasan por alargar las cadenas, introducir quiralidad en el APN aquiral y aumentar la rigidez de éste. En la **Figura 12** se muestran tres ejemplos.

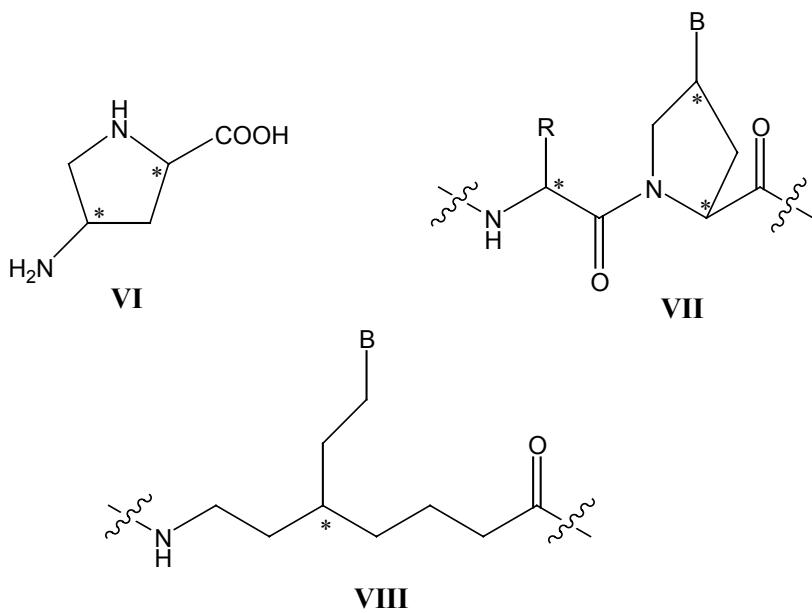


Figura 12: Ejemplos de APN modificados.

Como puede verse en la **Figura 12**, en **VI**, **VII**, **VIII** se han introducido centros estereogénicos. Se ha demostrado que la introducción de quiralidad en la estructura del APN influye en la selectividad de la orientación en la hibridación con una cadena de ADN complementaria.

Por otro lado, en **VI** y **VII** se ha introducido rigidez en el enlace, produciendo así restricción conformacional, de manera que se pre-organice la estructura y conduzca a la formación del complejo dimérico.

c) Introducción de grupos funcionales cargados:

La introducción de grupos funcionales cargados, directamente en el enlace de APN, en un extremo de la cadena, o en el N o C terminal del APN, ha permitido aumentar la solubilidad, así como aumentar la afinidad en la hibridación. A continuación se muestran varios ejemplos:

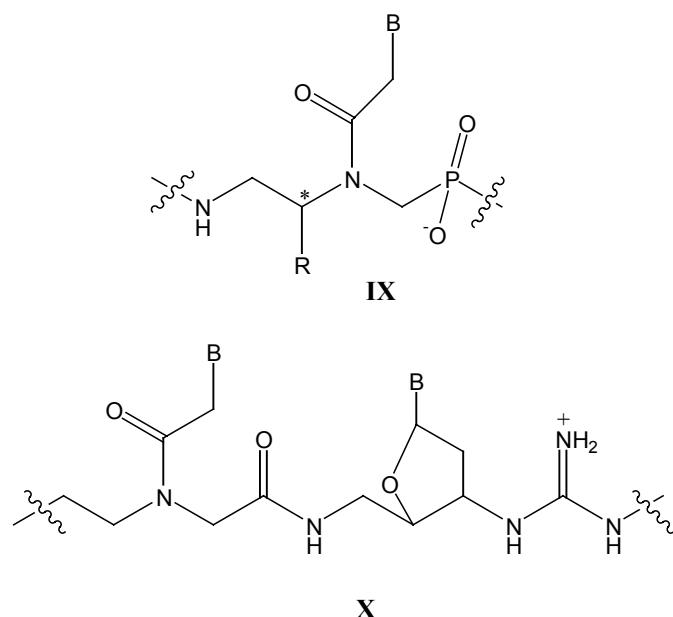


Figura 13: Ejemplos de APN cargados.

Debido a la dificultad del APN para atravesar la membrana celular, se han utilizado diversas técnicas para solventar este problema. Así por ejemplo, se han conjugado oligómeros de PNA con otras moléculas, como por ejemplo transportadores de péptidos. También, la permeabilización de la membrana celular con lisolecitina o detergentes como Tween 20 permite la entrada del APN en la célula.

d) APN-ADN quimeras.

Las quimeras de APN-ADN son oligómeros que contienen monómeros de APN y de ADN en su estructura, tal y como se muestra en el ejemplo de la **Figura 14**.

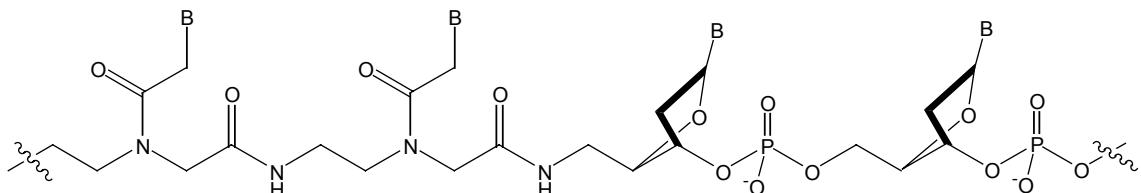
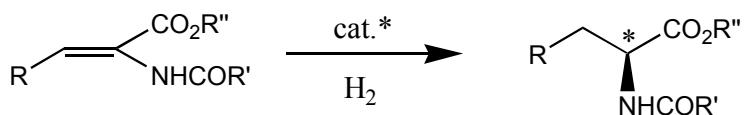


Figura 14: Ejemplo de APN-ADN quimeras.

Se ha demostrado que el hecho de combinar monómeros de APN y ADN produce efectos cooperativos contra proteasas y nucleasas (por lo tanto mayor estabilidad contra su degradación), aumento de la solubilidad y aumento en la estabilidad de los híbridos.

1.5. Hidrogenación catalítica de α,β -deshidro- α -aminoácidos (α -enamidas) como método de obtención de α -aminoácidos saturados.

Las síntesis de numerosos productos farmacéuticos y de productos naturales complejos se basan en la disponibilidad de intermedios quirales que puedan servir como “building blocks” para la posterior obtención de compuestos más elaborados con interés biológico y médico. Así, por ejemplo, la hidrogenación estereoselectiva de α,β -deshidro- α -aminoácidos (α -enamidas) es un método eficaz para la obtención de α -aminoácidos ópticamente puros.³³ (Esquema 7)



Esquema 7: Hidrogenación catalítica de α,β -deshidro- α -aminoácidos.

³³ Ver, por ejemplo: Noyori, R. *Asymmetric Catalysis in Organic Synthesis*. Wiley, New York 1993.

No es de estrañar que la industria farmacéutica sea una de las beneficiarias de la catálisis asimétrica si tenemos en cuenta que alrededor del 50 % de los “top-selling drugs” son enantiómeros puros y aproximadamente el 80 % de todos los fármacos en desarrollo son quirales y se producen en forma ópticamente pura. Es, por este motivo, importante el estudio de esta reacción, ya que los α -aminoácidos obtenidos son potenciales “building blocks” para la obtención de numerosos y muy diferentes compuestos con excelentes propiedades farmacológicas.

A mediados de los años 60, tuvieron lugar tres acontecimientos que hicieron posible el desarrollo de la hidrogenación catalítica homogénea: 1) Wilkinson y col. descubrieron el complejo $[\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3]$, el cual exhibía extraordinarias propiedades como catalizador para la hidrogenación de olefinas en fase homogénea.³⁴ 2) Dos grupos encabezados por Horner y Mislow, respectivamente, prepararon fosfinas ópticamente activas.³⁵ 3) Poco después Horner y Knowles, independientemente, demostraron que el reemplazo en el catalizador de Wilkinson por una fosfina quiral producía una modesta pero importante inducción de asimetría en la hidrogenación de estirenos.³⁶

Los ácidos α -acilaminoacrílicos fueron los primeros sustratos olefínicos usados con éxito en la hidrogenación asimétrica homogénea dirigida a la obtención de α -aminoácidos. Kagan describió la hidrogenación enantioselectiva del ácido (*Z*)- α -acetilaminocinámico con complejos de DIOP- Rh^+ , obteniéndose un 72 % de *ee*.³⁷ Por otra parte el grupo Monsanto, encabezado por Knowles, desarrolló un ligando quiral, el (*R*)-*o*-anisilciclohexilmetilfosfina [*(R*)-CAMP] y el DIPAMP^{36b,38} (ver **Figura 15**) obteniendo elevadas enantioselectividades (>90% *ee*) en la hidrogenación asimétrica de ácidos α -

³⁴ Osborn, J.A.; Jardine, F.H.; Young, J.F.; Wilkinson, G. *J. Chem. Soc. A*. **1966**, 1711.

³⁵ (a) N.J. Gallagher.; I.D. Jenkins en N.L. Allinger; Eliel, E.L.: *Topics in Stereochemistry*, Vol 3, Wiley, New York **1968**, Chap. 1; (b) W.E. McEwen en M. Grayson; E.J. Griffith: *Topics in Phosphorus Chemistry*, Vol. 2, Wiley, New York **1965**, Chap. 1.

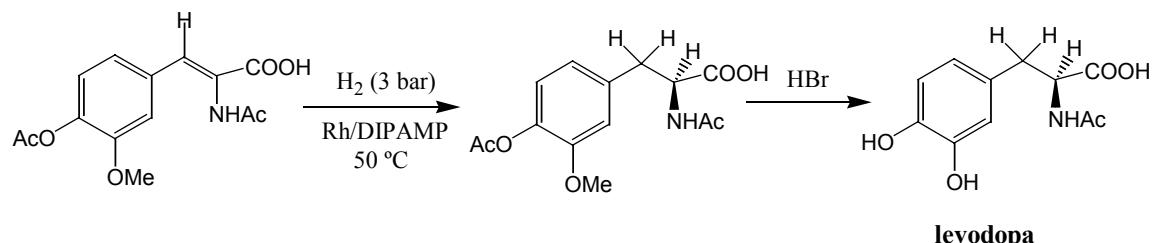
³⁶ (a) Horner, L.; Siegel, H.; Bushe, H.; *Angew. Chem.* **1968**, 80, 1034; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1968**, 7, 942; (b) Knowles, W.S.; Sabacky, M. J. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1968**, 1445.

³⁷ Kagan, H.B.; Dang, T.-P. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6429.

³⁸ (a) Knowles, W.S.; Sabacky, M.J.; Vineyard, B.D. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1972**, 10. (b) Vineyard, B.D.; Knowles, W.S.; Sabacky, M.J.; Bachman, G.L.; Weinkauff, D.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 5946.

acilaminoacrílicos catalizada por estos ligandos coordinados a Rh (I). Es de destacar que Knowles, junto con Noyori y Sharpless, recibió el Premio Nobel de Química 2001 precisamente por sus contribuciones al desarrollo de catalizadores quirales.

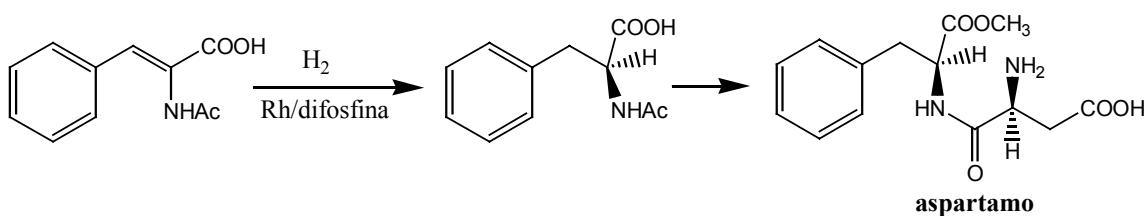
A partir de entonces, la demanda creciente de productos enantiopuros para la industria ha producido el desarrollo de numerosos intentos de hidrogenación asimétrica de cientos de sustratos diferentes con una amplia variedad de sistemas catalíticos.³⁹ Así por ejemplo, la etapa crucial de la síntesis de la levodopa es la hidrogenación enantioselectiva de un ácido amidoacrílico catalizada por un complejo de rodio y la difosfina quiral DIPAMP (**Esquema 8**). La levodopa es uno de los fármacos más usados en el tratamiento sintomático de la enfermedad de Parkinson.



Esquema 8

Un procedimiento similar se emplea para la obtención del aspartamo, un dipéptido derivado de un aminoácido no natural que se obtiene también por hidrogenación asimétrica (**Esquema 9**). El aspartamo es un edulcorante artificial, 160 veces más dulce que el azúcar, pero que no se asimila por el organismo.

³⁹ Ver por ejemplo: (a) Kagan, H.B.; D, Meyer; Poulin, J.C. *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4680. (b) Scott, J.W.; Keith, D.D.; Nix, G.; Parrish, D.R.; Remington, S.; Roth, G.P.; Townsend, J.M.; Valentine, D.; Yang, R. *J. Org. Chem.* **1981**, *46*, 5086. (c) Melillo, D.G.; Larsen, R.D.; Mathre, D.J.; Shukis, W.F.; Wood, A.W.; Colleluori, J.R. *J. Org. Chem.* **1987**, *52*, 5143. (d) Schmidt, U.; Lieberknecht, A.; Kazmaier, U.; Griesser, H.; Jung, G.; Metzger, J. *Synthesis*. **1991**, *49*. (e) Brown, J.M. ; Doucet, H.; Carmichael, D. *Chem. Commun.* **1999**, *261*. (f) Derrein, N.; Dousson, C.B.; Roberts, S.M.; Berens, U.; Burk, M.J.; Ohff, Manuela. *Tetrahedron: Asymmetry*, **1999**, *10*, 3341. (g) Burk, M.J. *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 363. (h) Robinson, A.J.; Lim, C.Y.; He, L.; Ma, P.; Li, H.Y. *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4141.



Esquema 9

1.5.1. Tipos de catálisis: catálisis homogénea y catálisis heterogénea.

Existen dos tipos posibles de catálisis: la catálisis homogénea y la catálisis heterogénea. En los procesos de *catálisis heterogénea*, el catalizador está soportado generalmente en fase sólida y los reactantes en fase líquida o gaseosa. La reacción catalizada ocurre en la interfase, es decir, en la superficie del catalizador. **Pd/C**, **Pd(OH)₂/C**, **Ni-Ra** son catalizadores habituales. Uno de los mayores inconvenientes de la catálisis heterogénea, en comparación con la catálisis homogénea, es su baja selectividad.

Los catalizadores en *catálisis homogénea* se encuentran en la misma fase que los reactivos, lo que significa que están presentes como solutos en una mezcla de reacción líquida. La selectividad, la gran actividad y las suaves condiciones de reacción son las ventajas más destacadas de este tipo de catálisis. Dentro de los catalizadores utilizados en catálisis homogénea, se podría diferenciar entre dos subgrupos: catalizadores conteniendo ligandos quirales y catalizadores con ligandos quirales.

En los catalizadores con *ligandos quirales* es el volumen de estos ligandos el factor predominante en la estereoselectividad del proceso. En este grupo, el catalizador de **Wilkinson**, **[RhCl(PPh₃)₃]**, es el catalizador aquiral más ampliamente estudiado y utilizado. La presencia de tres grupos trifenilfosfina en su estructura confiere a dicho catalizador un volumen considerable.

Por otra parte, existen actualmente una amplia gama de complejos *quirales* que poseen ligandos derivados de fosfinas coordinados con metales. Los metales más ampliamente usados son el rodio y el rutenio, mientras que entre los ligandos son las difosfinas quirales las que mejores resultados han mostrado en la hidrogenación de este tipo

de compuestos. Algunas de las fosfinas más usadas en hidrogenaciones de ácidos α -acilaminoacrílicos catalizadas por Rh se muestran en la **Figura 15**:

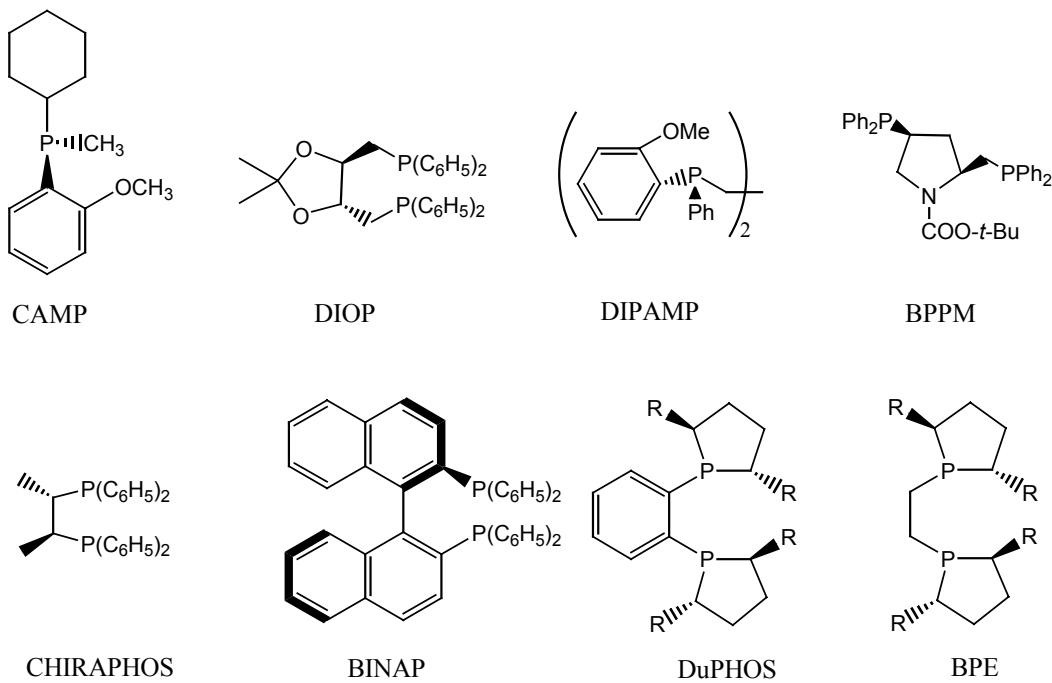


Figura 15: Algunos ligandos habitualmente usados en hidrogenaciones catalíticas de α -enamidas.

La presencia de simetría C_2 en los ligandos parece ser que juega un importante papel en la hidrogenación. Se han realizado estudios mecanísticos con catalizadores de Rh que contienen difosfinas quelatantes con simetría C_2 con al menos 2 substituyentes arilo en cada átomo de fósforo, como las mostradas en la **Figura 15** (Chiraphos, Diop y Binap). El origen de la enantioselectividad de estas reacciones parece que está íntimamente ligado al ordenamiento de los substituyentes arilo unidos al fósforo que rodean al metal y está determinado por el otro substituyente quiral. Recientemente, un tipo de catalizadores conteniendo anillos de fosfolano como ligandos, Duphos ó BPE, han mostrado mejores

selectividades (próximas al 100 %) que Dipamp, Chiraphos o Binap.^{39g,40} Burk y col. han atribuido esta excelente selectividad fundamentalmente a que ligandos con simetría C_2 *trans*-2,5-disubstituidos (tipo Duphos ó BPE) proveen un entorno asimétrico que interacciona directamente con la esfera de coordinación del metal, tal y como se muestra en la **Figura 16**:

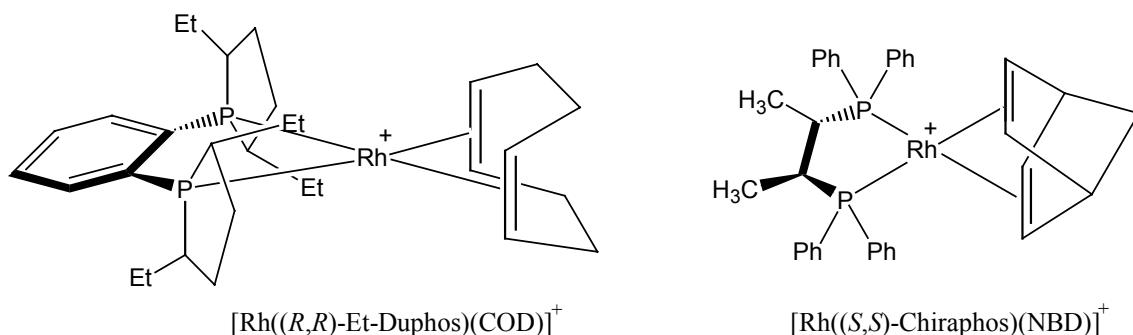


Figura 16: Estructura de los complejos $[\text{Rh}((R,R)\text{-Et-Duphos})(\text{COD})]^+$ y $[\text{Rh}((S,S)\text{-Chiraphos})(\text{NBD})]^+$.

Sólo difosfinas P-quirales como Dipamp son similares en este aspecto. Esto no sucede en difosfinas del tipo Chiraphos (**Figura 16**), BPPM o Diop, las cuales contienen los centros estereogénicos en un átomo de carbono, relativamente alejado del metal, siendo necesaria una “transmisión de la quiralidad” desde el esqueleto carbonado hasta la esfera de coordinación del metal.

Burk y col. han estudiado mediante un modelo muy simplificado el mecanismo de hidrogenación de los catalizadores del tipo Duphos, tal y como se muestra en la **Figura 17**:

⁴⁰ Ver por ejemplo: (a) Burk, M.J. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 8518. (b) Burk, M.J.; Feaster, J.E.; Nugent, W.A.; Harlow, R.L. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10125. (c) Burk, M.J.; Gross, M.F.; Harper, G.P.; Kalberg, C.S.; Lee, J.R.; Martínez, J.P. *Pure and Applied Chemistry*, **1996**, *68*, 37.

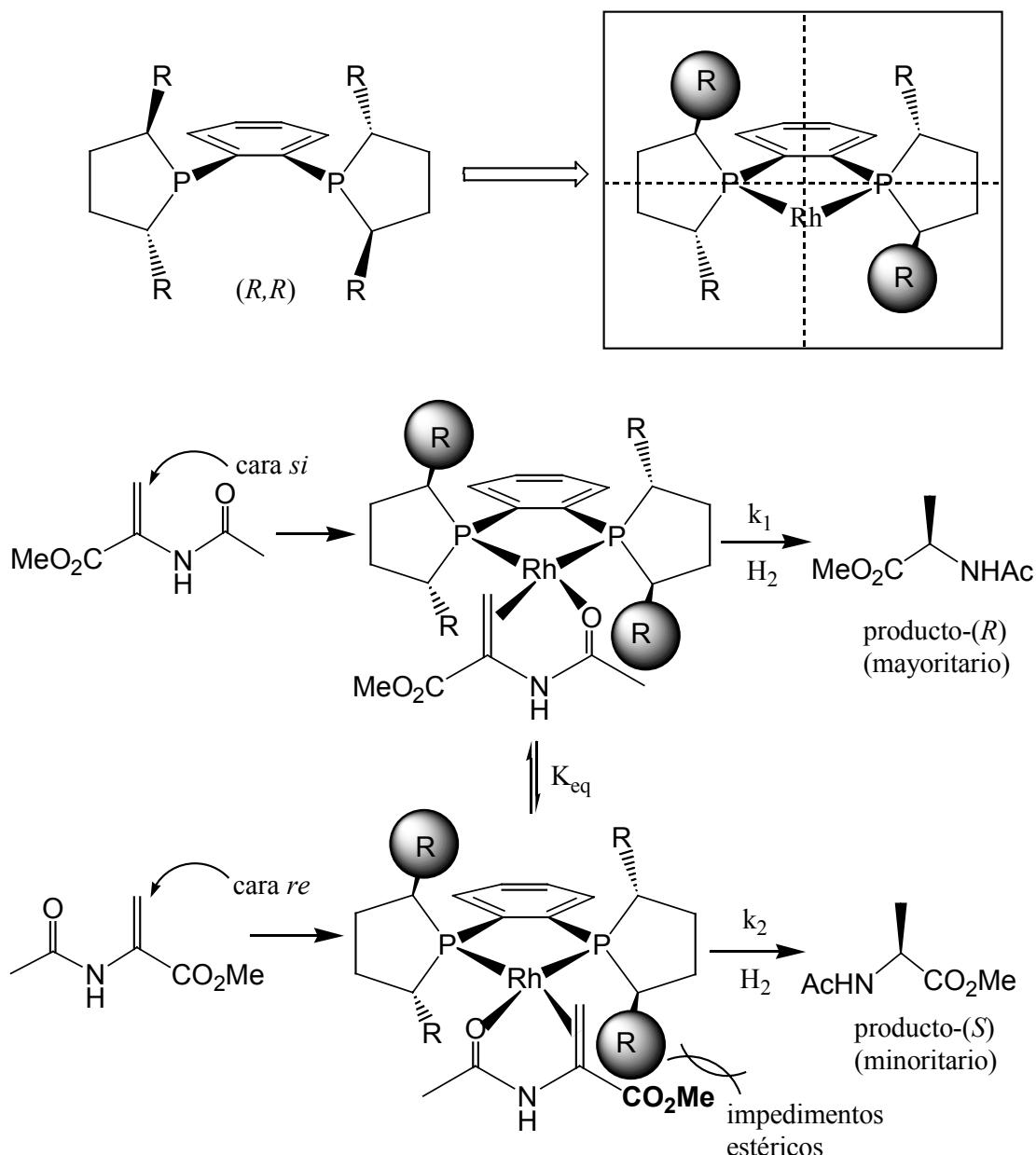


Figura 17: Modelo estereoquímico de hidrogenación asimétrica de enamidas con catalizadores tipo Duphos.

Al igual que todos los ligandos de difosfina con simetría C_2 , Duphos “bloquea” dos cuadrantes diagonales, como se muestra en la **Figura 17**. Así, la configuración absoluta del ligando determinará qué cuadrantes “son bloqueados” y consecuentemente la configuración absoluta del producto. El ligando mostrado en la **Figura 17**, es del tipo (R,R) -Duphos, y como puede observarse “bloquea” el cuadrante superior izquierdo y el inferior derecho.

Otra ventaja añadida a la utilización de ligandos del tipo Duphos es debida a que es posible variar el entorno estérico de estos ligandos modificando los substituyentes en las posiciones 2,5 del anillo de fosfolano. Ésto podría ser de gran ayuda en el caso de hidrogenaciones de enamidas ó deshidroaminoácidos congestionados.^{39g,40b,41}

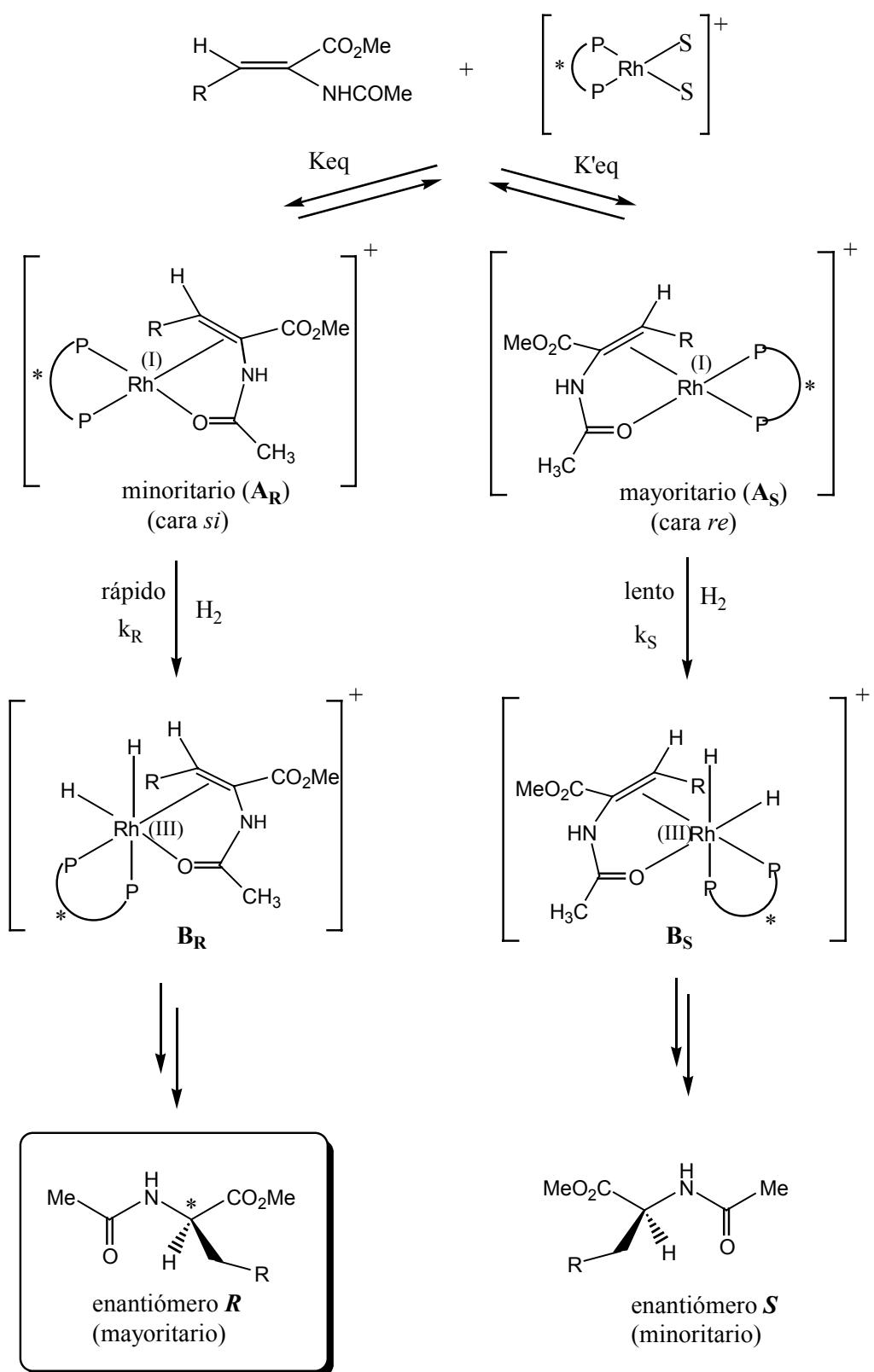
Por último, se ha de remarcar que el uso de los catalizadores del tipo Duphos es compatible con sustratos con la función amino protegida en forma de carbamato de bencilo (Cbz) ó en forma de *terc*-butilo, no observándose la desprotección de la amina durante la hidrogenación y obteniéndose *ee* similares a los obtenidos en el caso de hidrogenar sustratos con la función amino protegida en forma de acetamida.^{39g,40b}

1.5.2. El mecanismo de Halpern.

La dependencia de las velocidades y estereoselectividades de la hidrogenación catalítica respecto a las variaciones electrónicas y estructurales en los catalizadores y sustratos ha sido investigada empíricamente por Halpern y col. usando como ligando quiral el (*S,S*)-Chiraphos.⁴² Los mismos autores han estudiado a fondo el mecanismo de la hidrogenación estereoselectiva de amidoacrilatos con (*S,S*)-Chiraphos. La elucidación de dicho mecanismo de reacción se ha realizado en base a la resonancia magnética nuclear y a estudios de difracción de rayos X de los intermedios de reacción, así como a estudios cinéticos. El mecanismo puede resumirse como sigue (**Esquema 10**):

⁴¹ Debenham, S.D.; Debenham, J.S.; Burk, M.J.; Toone, E.J. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**, *119*, 9897.

⁴² (a) Chan, A.S.C.; Pluth, J.J.; Halpern, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 5952. (b) Halpern, J. *Science*. **1982**, *217*. (c) Halpern, J.: *Asymmetric Catalytic Hydrogenation: Mechanism and Origin of Enantioselection, Asymmetric Synthesis*, en J. Morrison, Ed. Academic Press, New York, **1985**, Vol.5, Cap.2.



Esquema 10

En una primera fase, las moléculas de disolvente, S, coordinadas con el catalizador, son desplazadas por el sustrato olefínico formando dos complejos diastereoméricos, \mathbf{A}_R y \mathbf{A}_S . En ellos, el doble enlace y el oxígeno del carbonilo de la amida están coordinados al átomo de Rh. Esta primera etapa es reversible y se halla gobernada por las correspondientes constantes termodinámicas de equilibrio K_{eq} y K'_{eq} . A temperatura ambiente, estos complejos, en equilibrio con la olefina y el catalizador solvatado, constituyen el estado residente del catalizador, es decir, aquel en el que se acumula el metal presente en la disolución. A partir de la interacción de \mathbf{A}_R y \mathbf{A}_S con hidrógeno, se producen una serie de transformaciones no reversibles. La primera de ellas, que es la etapa lenta y, por tanto, determinante de la velocidad de la reacción global, implica la adición oxidante de hidrógeno para dar los complejos \mathbf{B}_R y \mathbf{B}_S . Ocurre que el complejo menos estable \mathbf{A}_R , reacciona con H_2 con una velocidad mayor que \mathbf{A}_S , desplazando de esta manera el equilibrio por consumición de uno de los componentes. Es, por tanto, en esta etapa donde se determina la estereoselectividad de la hidrogenación. A partir de \mathbf{B}_R , tiene lugar la transferencia intramolecular de hidruro al carbono menos substituido del doble enlace seguida de transferencia del segundo átomo de hidrógeno y creación concomitante del nuevo centro estereogénico, por eliminación reductiva del complejo de Rh. De esta manera se libera el producto hidrogenado y se regenera el estado residente del catalizador $[Rh(S,S)\text{-Chiraphos})(\text{olefina})]^+$.

Así pues, el enantiómero mayoritario *R* procede de la hidrogenación del complejo menos estable termodinámicamente, \mathbf{A}_R , como consecuencia del control cinético del proceso global. Halpern y col. formularon esta hipótesis mecanística, en base a la determinación de la estructura del complejo mayoritario \mathbf{A}_S , por difracción de RX y por estudios cinéticos que permitieron determinar que $k_R \gg k_S$.

Según este mecanismo, un aumento de la temperatura o la presión tendrán como efecto favorecer la evolución de \mathbf{A}_S , con la consecuente disminución de estereoselectividad.

Por otra parte, si se cumple el mecanismo postulado por Halpern, la utilización del $Rh[(S,S)\text{-Chiraphos})(\text{NBD})]\text{ClO}_4$ debería conducir de manera predominante al diastereoisómero en el cual el centro estereogénico formado presentaría una configuración absoluta ***R***.

Burk y col. han estudiado a fondo el mecanismo de hidrogenación de enamidas con catalizadores del tipo Duphos, confirmando que dicho mecanismo es análogo al propuesto por Halpern.⁴³

1.5.3. Requerimientos del doble enlace a hidrogenar.

Para obtener elevadas estereoselectividades es fundamental la presencia en posición geminal del doble enlace de los siguientes grupos: **a)** un substituyente del tipo NHCOR, OCOR ó CH₂COOR conteniendo un grupo carbonilo capaz de coordinar con el metal, **b)** un substituyente aceptor de electrones del tipo COOR ó CN.

Numerosos autores han comentado la influencia del substituyente en posición α del doble enlace en α -enamidas, tanto en las estereoselectividades obtenidas en la hidrogenación catalítica, como en la sentido de la estereoselectividad. Un ejemplo muy claro es el que se muestra en la **Figura 18**.^{39g}

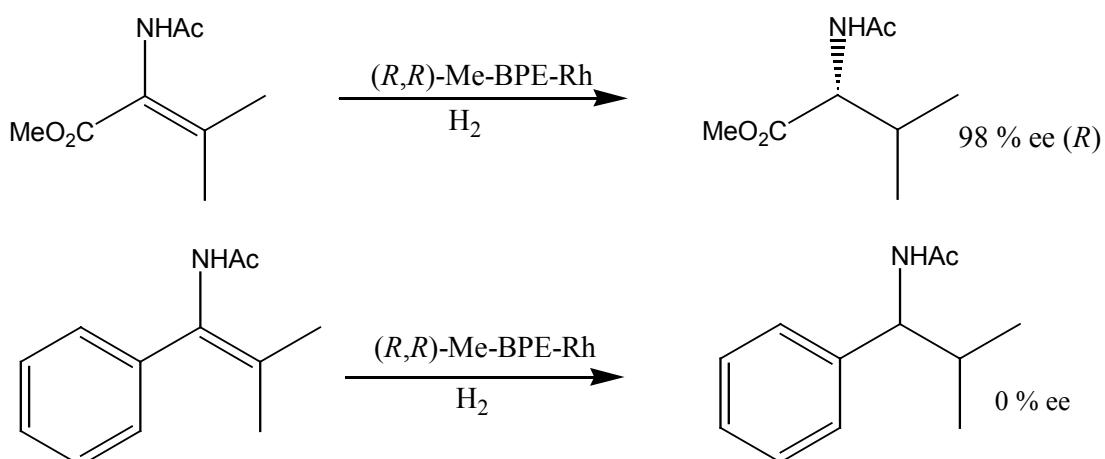
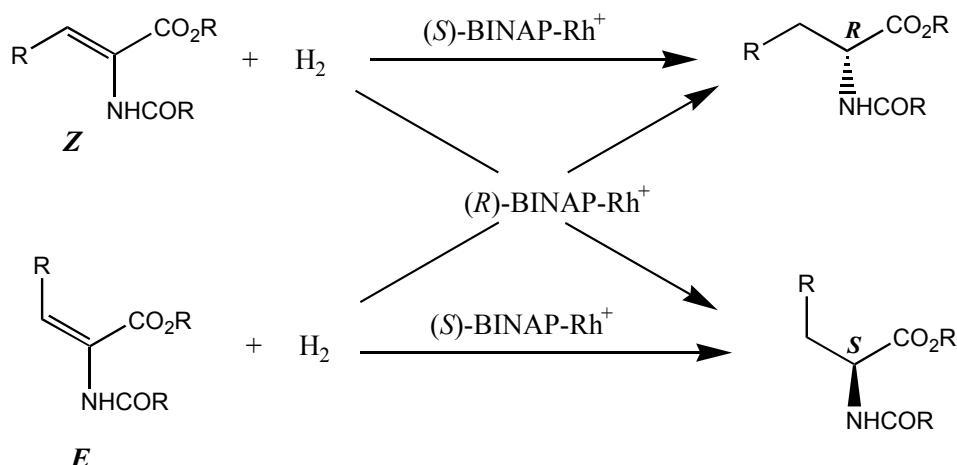


Figura 18: Influencia de diferentes substituyentes en la posición α en la estereoquímica de la hidrogenación.

⁴³ Armstrong, S.K.; Brown, J.M.; Burk, M.J. *Tetrahedron Letters*, **1993**, *34*, 5, 879.

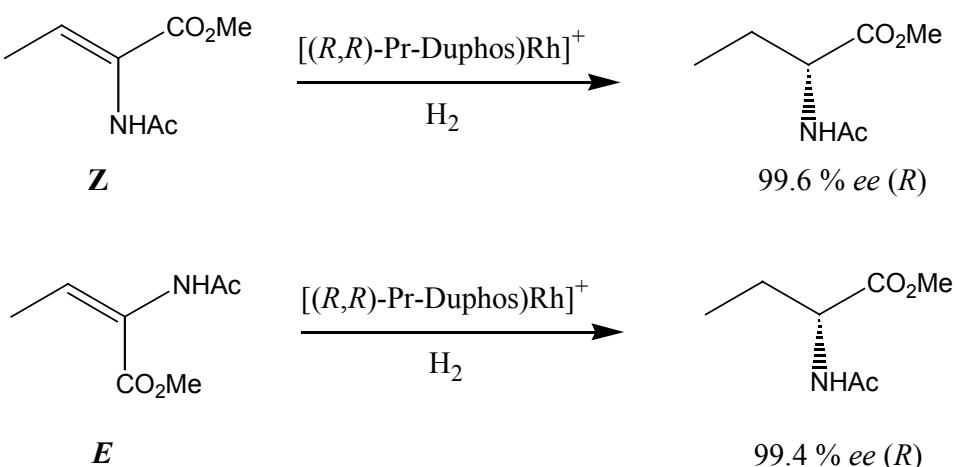
Por último, cabe destacar que la estereoquímica del producto final no sólo depende de la quiralidad del catalizador, sino también de la geometría del doble enlace, como se resume en el **Esquema 11**.³³



Esquema 11

En contraste con el elevado exceso estereoisomérico obtenido para las olefinas *Z*, se ha observado que los isómeros *E* se hidrogenan más lentamente y con bajos excesos enantio o diastereoisoméricos. Por otro lado, como puede verse en el **Esquema 11**, si se cumple el mecanismo propuesto por Halpern, las hidrogenaciones de una olefina *Z* o una olefina *E* con el mismo catalizador conducen a la obtención de dos aminoácidos con configuración absoluta opuesta en el nuevo centro estereogénico. Es importante remarcar que estos resultados se han obtenido únicamente en hidrogenaciones de olefinas aquirales.

Burk y col. realizaron un estudio de hidrogenación de olefinas *Z* y *E* aquirales con catalizadores del tipo Duphos y observaron que en el caso de utilizar estos catalizadores, la estereoselectividad del proceso no dependía de la estereoquímica del doble enlace, sino únicamente del catalizador utilizado, con lo cual no se cumplía la estereoselectividad mostrada en el **Esquema 11**.^{40b} Así, al hidrogenar mezclas *Z/E* de una olefina dada con un catalizador concreto tipo Duphos se obtiene el mismo aminoácido mayoritario. A continuación se muestra un ejemplo.^{40b} (**Esquema 12**)



Esquema 12

Burk y col. han observado que en la mayoría de los casos la selectividad obtenida en la hidrogenación de las olefinas de configuración *E* es inferior a la obtenida para las de configuración *Z*.

1.5.4. Hidrogenación catalítica de sustratos quirales. Concepto de *matching*, o doble inducción de asimetría, y *mismatching*.

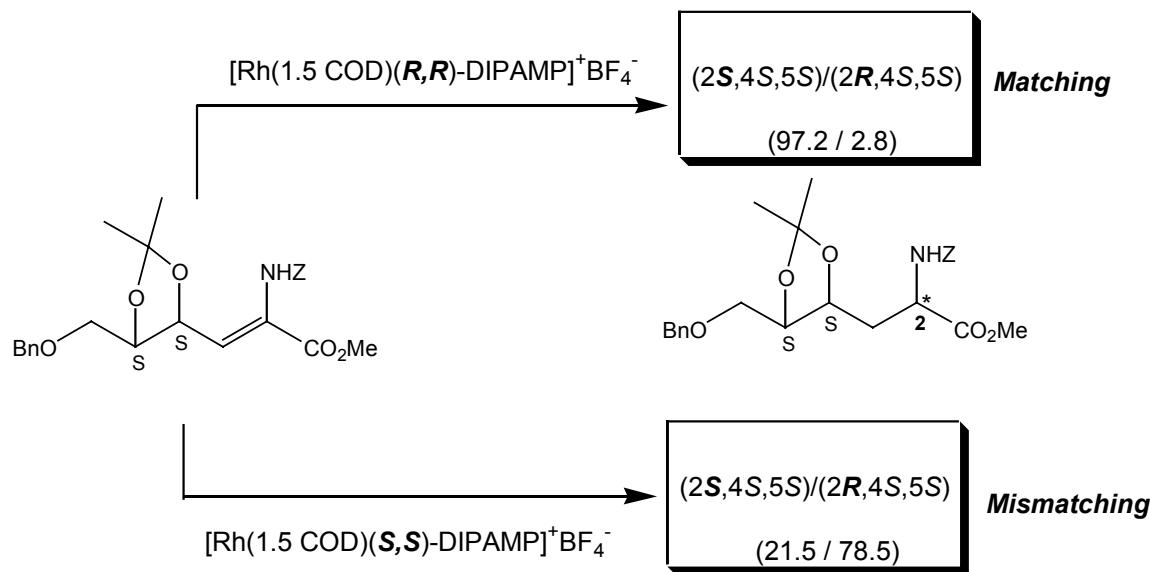
El término *synthèses asymétriques par double induction* fue usado por primera vez por Horeau, Kagan y Vigneron en 1968.⁴⁴ Desde ese momento el concepto ha sido utilizado esporádicamente por diversos autores en diferentes tipos de reacciones: hidrogenaciones catalíticas, hidrosililaciones, ciclopropanaciones, reacciones aldólicas, etc. Pero no fue hasta 1985 cuando Masamune y colaboradores recopilaron toda la información referente a este término recogiéndola en un artículo de revisión.⁴⁵ En primer lugar sería conveniente definir y diferenciar entre los términos de *síntesis asimétrica simple* y *doble síntesis asimétrica* (ó *doble inducción de asimetría*). El concepto de *síntesis asimétrica* se define como el proceso en el cual se forma un compuesto ópticamente activo por reacción de un sustrato *quiral* con un reactivo *quiral enantioméricamente puro*. Este proceso hay

⁴⁴ Horeau, A.; Kagan, H.B.; Vigneron, J.P. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1968**, 3795.

⁴⁵ Masamune, S.; Choy, W.; Petersen, J.S.; Sita, L.R. *Angew. Chem.*, **1985**, *24*, 1.

que distinguirlo del de *doble síntesis asimétrica*, el cual tiene lugar cuando interaccionan dos sistemas *quirales*, un sustrato y un reactivo o catalizador. El análisis estereoquímico de la *doble síntesis asimétrica* conduce a una nueva hipótesis de la cual se puede designar una estrategia potencialmente capaz de construir uno o varios nuevos centros estereogénicos en un sustrato quiral de una manera *predecible y controlada*. Cabe destacar, sin embargo, que el objetivo de la *doble inducción de asimetría* no es simplemente preparar compuestos ópticamente activos, sino conseguir elevadas diastereoselectividades. Son por tanto conceptos aplicables a diferentes tipos de reacciones, aunque las cuatro reacciones orgánicas en las cuales se ha observado un elevado control estereoquímico con el uso de reactivos quirales son: la reacción aldólica, la cicloadición de Diels-Alder, la hidrogenación catalítica y la epoxidación.

En nuestro caso, la reacción estudiada ha sido la hidrogenación catalítica de α -deshidroaminoácidos quirales. La aplicación de catalizadores quirales en la reducción de olefinas, también quirales, ha sido definida, como se ha comentado anteriormente, como uno de los ejemplos claves de la *doble inducción de asimetría (matching)*, pero en la literatura se encuentran escasos ejemplos de este tipo de proceso,^{39d,41} dado que la mayoría de estudios se han realizado sobre olefinas quirales. En el **Esquema 13** se muestra un ejemplo de *matching-mismatching*:^{39d}



Esquema 13

Es de destacar que, para darse un efecto *matching* o *mismatching*, la configuración del nuevo centro estereogénico en el diastereoisómero mayoritario ha de ser inequívocamente la dictada por el catalizador en cuestión, siendo el *ed* mayor en el caso *matching* que en el *mismatching*. Así por ejemplo, si nos fijamos en el **Esquema 13**, es el catalizador el que determina la configuración, siendo el caso *matching* el que corresponde al catalizador de configuración (*R,R*) produciendo un mayor *ed* (97.2/2.8).

CAPÍTULO 2:

Objetivos.

2. OBJETIVOS.

Considerando los precedentes existentes en la bibliografía y en nuestro grupo de investigación, los objetivos que nos propusimos en esta Tesis Doctoral son los siguientes:

1. *Síntesis de α,β -deshidro- α -aminoácidos (DHAAs) ciclobutílicos a partir de α -pineno (los dos enantiómeros) y (-)-verbenona como precursores quirales.*

Se propuso la síntesis de diferentes tipos de aminoácidos atendiendo a su estructura y quiralidad.

- a) DHAAs que contengan el doble enlace unido directamente al anillo ciclobutánico.
- b) DHAAs en los que el doble enlace esté separado del ciclobutano por un grupo metileno.
- c) DHAAs de la misma quiralidad.
- d) DHAAs de quiralidad inversa, incluyendo pares de enantiómeros.

Con estas características estructurales diferenciadas se pretendía poner de manifiesto la influencia de los efectos estéricos y la quiralidad del sustrato en la estereoselectividad de la hidrogenación.

2. *Síntesis de α,β -deshidro- α -péptidos (DHPs) ciclobutílicos por condensación de glicina y (S)-fenilalanina, respectivamente, con un DHAA ciclobutílico.*

La glicina es un aminoácido aquiral mientras que (S)-fenilalanina aporta un centro estereogénico adicional a los dos ya presentes sobre el anillo ciclobutánico.

3. Estudio de la hidrogenación catalítica de los DHAAs y DHPs sintetizados.

Se contempló el uso de catalizadores quirales (Pd/C, Wilkinson) y catalizadores quirales basados en Chiraphos y Duphos. Estos últimos han sido utilizados en la hidrogenación de α -enamidas y son reactivos comerciales.

En los casos de usar catalizadores quirales se investigó el predominio del catalizador y/o el sustrato en la diastereoselección así como la posibilidad de doble inducción asimétrica y los casos de *matching/mismatching*.

4. Aplicaciones sintéticas de las reacciones anteriores.

Se propuso la síntesis de α -aminoácidos y α -péptidos ciclobutílicos, así como una gran variedad de derivados ciclobutánicos polifuncionalizados de configuración absoluta determinada, como aplicación de los estudios realizados. Algunos de estos compuestos pueden ser, a su vez, precursores de otros productos, como los ácidos péptidonucleicos (APN). Se inició un estudio en colaboración con el Prof. Peter E. Nielsen (Universidad de Copenhague) con el objetivo de sintetizar nuevos monómeros de APN, conteniendo el anillo ciclobutánico, así como incorporarlos a oligómeros para su posterior evaluación biológica.

CAPÍTULO 3:

Síntesis de α,β -deshidro- α -aminoácidos ciclobutilícos.

3. ESTUDIO DE RUTAS SINTÉTICAS PARA OBTENER α,β -DESHIDRO- α -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS ENANTIOMÉRICOS A PARTIR DE (-)-VERBENONA Y α -PINENO.

Uno de los objetivos del presente capítulo es la síntesis de compuestos enantioméricos, en particular α,β -deshidro- α -aminoácidos ciclobutílicos, obtenidos a partir de α -pineno y (-)-verbenona, como fuente de quiralidad. Los DHAAs obtenidos a partir de (-)-verbenona contienen el doble enlace directamente unido al anillo ciclobutánico, mientras que los que provienen de α -pineno presentan un metileno entre el doble enlace y el anillo ciclobutánico.

También se planteó como objetivo, la síntesis de DHAAs ciclobutílicos a partir de (-)-verbenona, que si bien no son enantiómeros entre ellos, presentan la misma quiralidad o quiralidad inversa.

3.1. Desarrollo de rutas sintéticas para la preparación de α,β -deshidro- α -aminoácidos enantioméricos a partir de (-)-verbenona.

Únicamente es comercial uno de los enantiómeros de la verbenona, la (-)-verbenona. Por lo tanto, es indispensable desarrollar dos rutas estereodivergentes a partir de este precursor, con el fin de obtener dos DHAAs enantioméricos en los cuales el doble enlace se encuentre directamente unido al anillo ciclobutánico.

Se describirán en el presente capítulo las diversas vías exploradas para obtener enantiómeros con la estructura mostrada en la **Figura 19**:

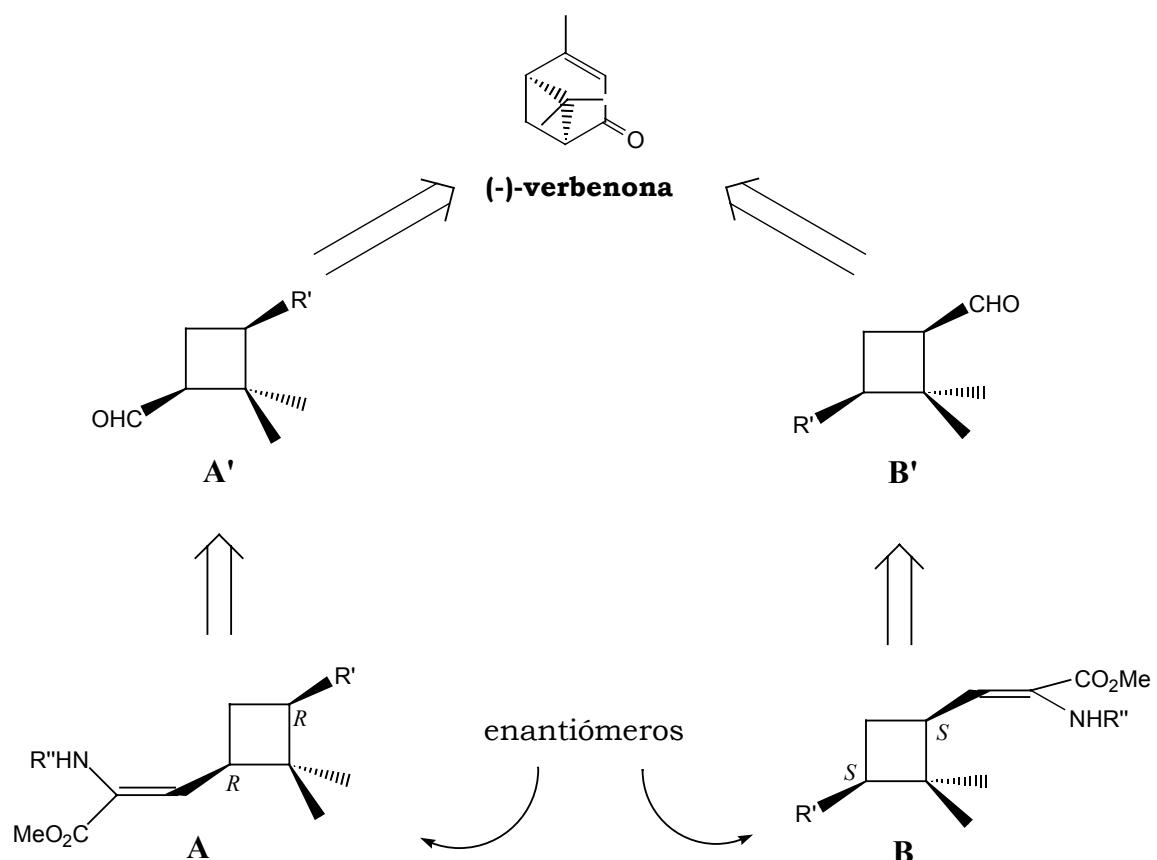


Figura 19: Retrosíntesis de DHAAs enantioméricos.

Los dos DHAAs enantioméricos **A** y **B** se podrían preparar a partir de dos aldehídos ciclobutánicos **A'** y **B'**, respectivamente. Estos aldehídos se obtendrían mediante el desarrollo de dos rutas divergentes a partir de (-)-verbenona como precursor quiral común. Es de destacar que los sustratos del tipo **A** presentan configuración absoluta *R* en los centros estereogénicos del anillo ciclobutánico, mientras que sus enantiómeros (tipo **B**) presentan configuración *S*.

En un primer intento de obtención de dos sustratos enantioméricos a partir de (-)-verbenona, se propuso la preparación de los compuestos **19** y **20** (**Figura 20**):

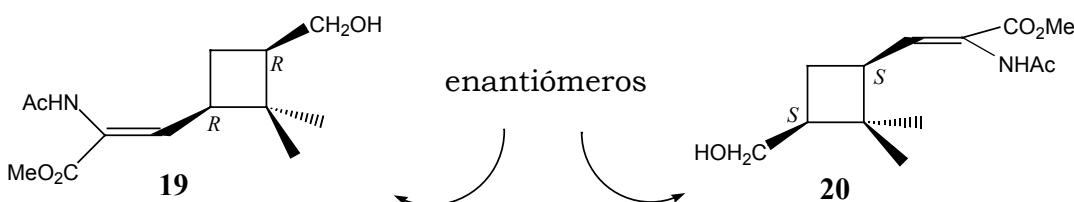


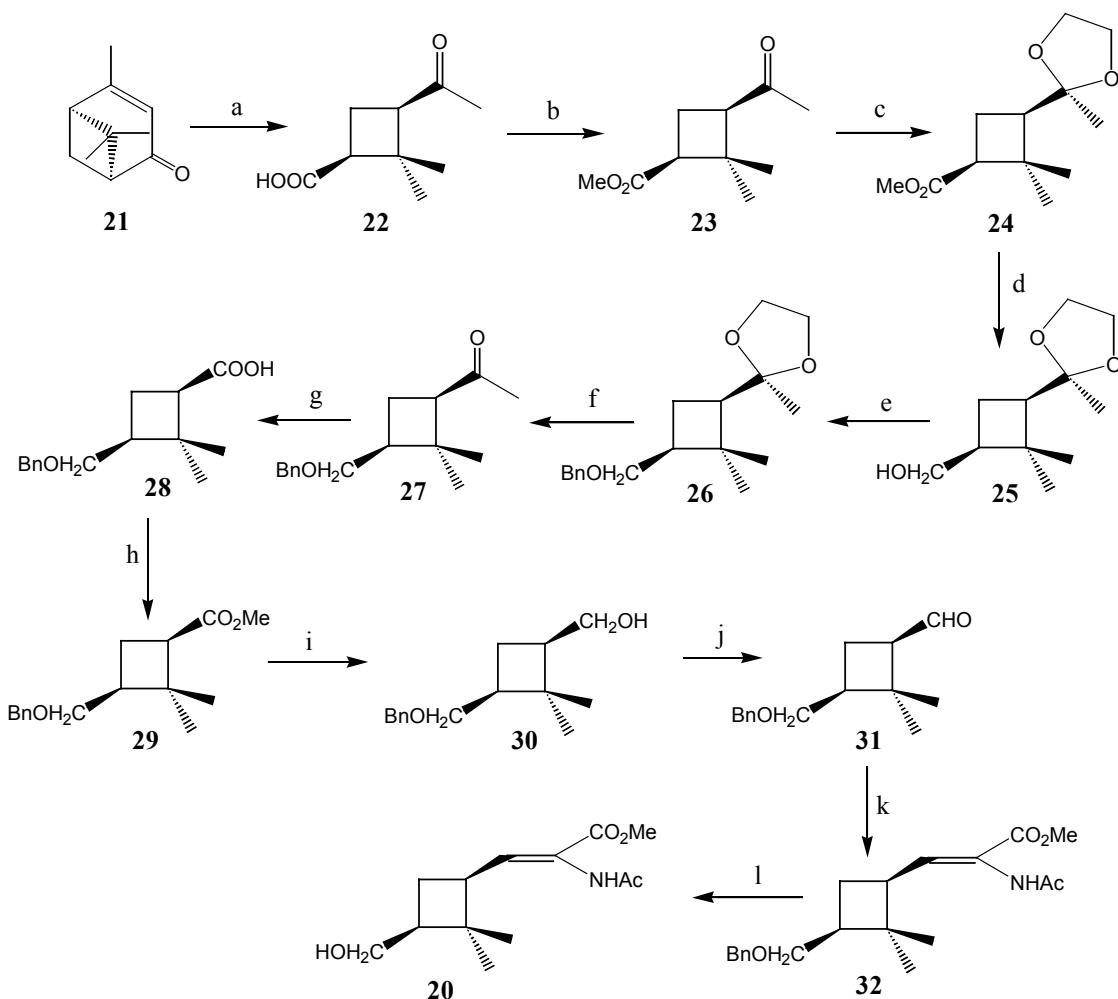
Figura 20: DHAAs enantioméricos a preparar en esta Tesis.

3.1.1. Síntesis del deshidroaminoácido 20:

Se planteó la siguiente ruta sintética (**Esquema 14**) para obtener el compuesto **20**, el cual contiene la función alcohol en la posición 3' del anillo ciclobutánico y la función amina protegida en forma de acetilo.

Existen una gran variedad de agentes utilizados en la oxidación de pineno y verbenona,⁴⁶ que implican ozonólisis en medio básico, uso de KMnO_4 , etc, con el fin de obtener el ácido pinónico y pinonónico, respectivamente. Muchos de estos métodos producen la epimerización del carbono ciclobutánico unido al carbonilo cetónico del compuesto obtenido, resultando una mezcla de dos diastereoisómeros cuya separación requiere sucesivas recristalizaciones, con la consecuente disminución del rendimiento de la reacción. Las Dras. Albertina Moglioni y Elena García-Expósito hallaron que el uso de $\text{RuCl}_3/\text{NaIO}_4$ era un método mucho más adecuado en la oxidación del α -pineno, ya que proporcionaba el ácido pinónico con un rendimiento elevado y sin epimerización. Asimismo, la oxidación de (-)-verbenona usando las mismas condiciones permitió obtener el ácido *cis*-pinonónico **22**, observándose por RMN ^1H la presencia del ácido *trans*-pinonónico en una relación muy baja o nula. Debido a que no fue posible la separación de las sales de rutenio del crudo de reacción mediante ningún procedimiento de purificación, éste se usó directamente en el paso siguiente.

⁴⁶ (a) Delepine, M. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1936**, 5, 1369. (b) Berson, J.A.; Dervan, P.B.; Malherbe, R.; Jenkins, J.A. *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, 98, 5937.

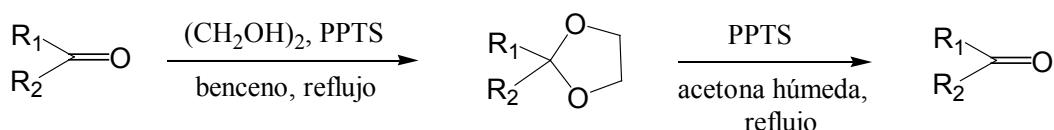


- a)** RuCl_3 cat., NaIO_4 , $\text{CCl}_4\text{-CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$, 25 °C, 12 h. **b)** CH_2N_2 , éter, 98% rdto. **c)** $(\text{CH}_2\text{OH})_2$, PPTS, benceno, reflujo 4h, 90% rdto. **d)** LiBH_4 , THF, reflujo 24 h, 95% rdto. **e)** NaH , $\text{BrCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$, DMF, 96 h, 80% rdto. **f)** PPTS, acetona reflujo, 6 h, 96% rdto. **g)** NaOBr , dioxano- H_2O , 45% rdto. **h)** CH_2N_2 , éter, 95% rdto. **i)** LiBH_4 , THF, reflujo, 24 h, 69% rdto. **j)** PDC, CH_2Cl_2 , t.a., 6 h, 70% rdto. **k)** $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})(\text{NHCOMe})$, $t\text{-BuOK}$, CH_2Cl_2 , t.a., 6 días, 17% rdto. **l)** Ciclohexeno, $\text{Pd}(\text{OH})_2$ 20%, EtOH , 12 h, 76% rdto.

Esquema 14

El tratamiento con diazometano del ácido **22** permite obtener el éster **23** con un rendimiento cuantitativo. Debido a que la reducción del éster no puede resultar quimioselectiva si está presente en la molécula la metilcetona, se llevó a cabo, en primer lugar, la protección de dicho grupo funcional. Condiciones de catálisis ácida convencional son incompatibles con el sustrato **23**, debido a la posible epimerización del carbono

terciario α -carbonílico. El reactivo más adecuado para proteger cetonas sensibles al medio ácido es el *p*-toluensulfonato de piridinio (PPTS)⁴⁷, **33** (sintetizado según la metodología estándar). Este reactivo cataliza en condiciones suaves la formación de acetales dioxolánicos y también, según se verá más adelante, es un reactivo adecuado para la eliminación de los mismos, según se muestra en el **Esquema 15**:



Esquema 15

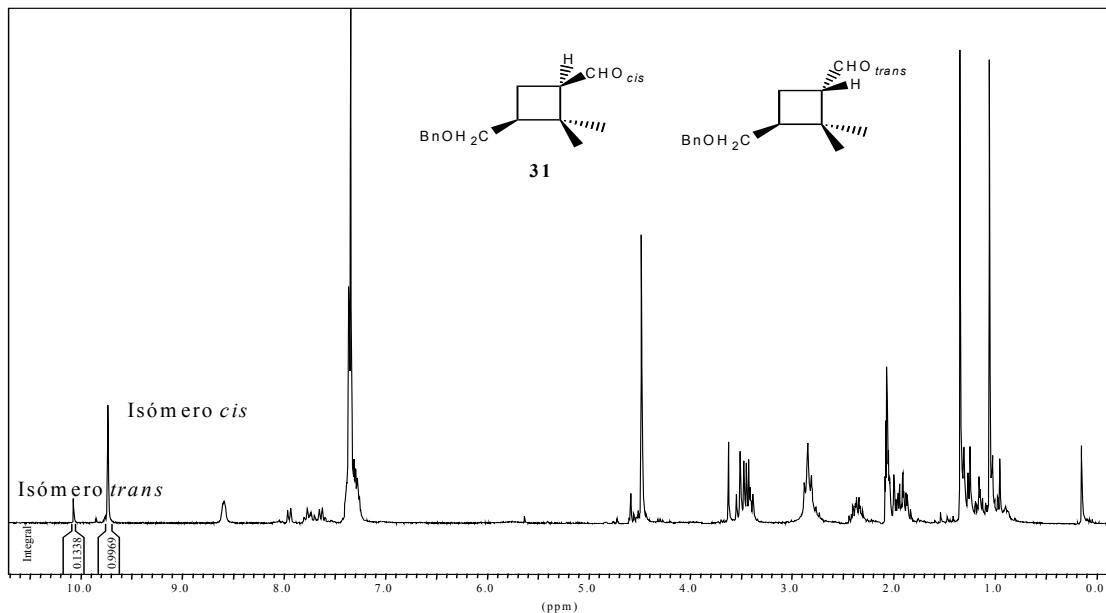
En estas condiciones de catálisis se obtuvo el cetal-éster **24** con un 90 % de rendimiento y no se observó epimerización (**Esquema 14**). Finalmente, la reducción de **24** con LiBH_4 permitió obtener el alcohol **25**.

Dado que la función alcohol es sensible a la oxidación, es conveniente proteger este grupo funcional en forma de éter bencílico por tratamiento del mismo con hidruro de sodio y bromuro de bencilo en dimetilformamida, dejando la reacción durante 96 horas a temperatura ambiente y bajo atmósfera de nitrógeno. Para eliminar el exceso de bromuro de bencilo, se purificó el crudo de reacción mediante cromatografía en columna. Una vez obtenido el éter **26**, se procedió a la desprotección del grupo carbonilo según se indica en el **Esquema 15**, obteniéndose la metil cetona **27** con un 96% de rendimiento. A continuación la cetona **27**, se oxidó en las condiciones de la degradación de Lieben, para obtener el ácido **28** con 45% de rendimiento. Esta degradación oxidativa se llevó a cabo disolviendo la cetona **27** en dioxano- H_2O y añadiendo una solución de hipobromito de sodio, recientemente generada. La reacción presenta dos inconvenientes: la baja conversión, ya que parte de la cetona **27** no reacciona y la que se recupera ha experimentado un alto porcentaje de epimerización, debido al medio fuertemente básico de la reacción. Por otro lado, la dificultad para eliminar totalmente el 1,4-dioxano y la fácil epimerización del ácido **28** imposibilitó la total caracterización del mismo, usándose en el paso siguiente sin

⁴⁷ Sterzycki, R. *Synthesis*, **1979**, 724.

purificación adicional. Así, el tratamiento con diazometano del **28** condujo al éster **29**, y la posterior reducción de éste con LiBH_4 produjo el alcohol **30** con un rendimiento del 69%.

La síntesis del aldehído **31**, se llevó a cabo mediante la oxidación del alcohol **30** con dicromato de piridinio (PDC) a temperatura ambiente y en cloruro de metileno como disolvente. Cabe destacar que es muy importante agregar *Florisil* a la mezcla de reacción para eliminar, por adsorción, las sales de cromo que se originan. En este caso fueron necesarias 6 horas para la total oxidación del alcohol **30**. La posterior filtración de la mezcla de reacción sobre *Celite* permitió obtener un crudo con un 70% de rdto., en el cual se observó por RMN ^1H , la formación del aldehído 1,3-*trans* disubstituido, en una relación 88:12 en favor del isómero 1,3-*cis* (**31**), como se muestra en el **Espectro 1**. Esta relación entre las dos señales se ha obtenido gracias a la integración del H aldehídico en el espectro de RMN ^1H de la mezcla.



Espectro 1: Espectro de RMN ^1H (250 MHz, acetona- d_6) del compuesto **31**.

La baja reactividad del alcohol **30** y la parcial epimerización del centro estereogénico α -carbonílico en las condiciones de reacción, explicaría la dificultad observada en la oxidación y la obtención de mezclas *cis/trans* de aldehídos estereoisoméricos. La baja estabilidad del sustrato **31** hizo imposible su total

caracterización, basándose ésta únicamente en espectros de RMN ^1H e IR, y usándose, por tanto, en el paso siguiente (formación de la olefina) sin purificación adicional.

3.1.1.1. Preparación de los α,β -deshidro- α -aminoácidos 32 y 20.

Horner y col. fueron los primeros en investigar la utilidad sintética de los carbaniones P(O)-estabilizados. La formación de olefinas por medio de carbaniones derivados de fosfonatos se conoce como la modificación de Horner-Emmons o Wadsworth-Emmons de la reacción de Wittig.

En la presente Tesis se llevó a cabo la reacción propuesta por Schmidt⁴⁸ y col., en la cual la condensación del fosfonato con el aldehído utilizado en cada caso, en una reacción tipo Wittig-Horner, permite obtener el DHAA correspondiente.

Es importante destacar las ventajas que presenta esta reacción:

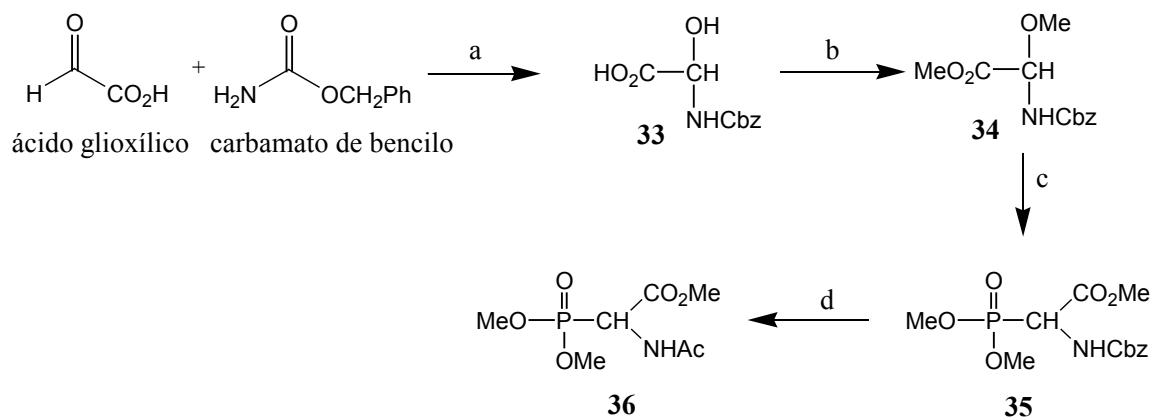
- 1) Aún con aldehídos complejos y muy impedidos se obtienen las correspondientes olefinas.
- 2) La reacción lleva directamente a derivados *N*-substituidos que pueden ser selectivamente hidrogenados para dar α -aminoácidos saturados.
- 3) Puede ser aplicada a sustratos sensibles al medio ácido por desarrollarse en medio básico o neutro.
- 4) El uso de *t*-butóxido de potasio como base en CH_2Cl_2 a -78 °C generalmente lleva a la formación del alqueno *Z* como isómero muy predominante o único.
- 5) La reacción puede aplicarse a aldehídos heterocíclicos aromáticos y aldehídos alifáticos muy sensibles, con buenos rendimientos.

3.1.1.1.1. Preparación de los fosfonatos 35 y 36.

La obtención de los DHAAs se realizó a lo largo de la Tesis mediante la condensación de Wittig-Horner de los aldehídos correspondientes con los fosfonatos **35** ó **36**. Por este motivo, se describe en primer lugar la síntesis de los mismos. El fosfonato **35** aporta a la olefina el grupo carboxilo protegido como éster metílico y el grupo amino

⁴⁸ Schmidt, U.; Lieberknecht, A.; Kazmaier, U.; Grieser, H.; Jung, G.; Metzger, J. *Synthesis* **1991**, 49

protegido en forma de carbamato de bencilo, mientras que el fosfonato **36** contiene el grupo amino en forma de acetamida. Siguiendo el método descrito por Schmidt y col.⁴⁹ se procedió a la preparación de dicho fosfonato según se muestra en el **Esquema 16**:



a) éter. b) H₂SO₄ concentrado, MeOH. c) i) PCl₃, tolueno; ii) P(OMe)₃. d) H₂, Pd/C 10%, 21 psi; MeOH, Ac₂O.

Esquema 16

Este procedimiento se siguió con buen rendimiento y a escala multigramo. Se hizo reaccionar el ácido glioxílico con carbamato de bencilo, en el seno de éter, para obtener el derivado de la glicina **33**. A continuación se procedió a proteger los grupos hidroxilo y carboxilo del producto **33**, tratándolo con metanol en ácido sulfúrico concentrado. De esta manera se obtuvo un sólido blanco correspondiente al éster metílico de la *N*-benciloxicarbonilamino-2-metoxiglicina, **34**, con un rendimiento global del 72%. Finalmente, el producto **34** tratado con tricloruro de fósforo en el seno de tolueno y, seguidamente, con fosfito de trimetilo rindió el 2-benciloxicarbonilamino-2-dimetoxifosfinilacetato de metilo **35**, como un sólido blanco de punto de fusión 80 °C (recristalizado de AcOEt/pentano), con un rendimiento global del 50% a partir del ácido glioxílico.

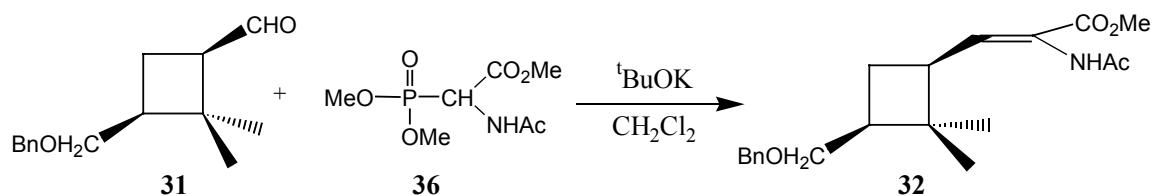
La hidrogenación del carbamato de bencilo en **35**, con Pd/C 10% como catalizador y metanol como disolvente, en presencia de anhídrido acético, a 21 psi durante 10 horas,

⁴⁹ Schmidt, U; Lieberknecht, A.; Wild, J. *Synthesis*, **1984**, 53.

condujo a la obtención del 2-acetilamino-2-dimetoxifosfinilacetato de metilo, **36** (sólido blanco, p.f.= 88-89 °C, recristalizado de AcOEt/pentano) con un rendimiento del 86%.

3.1.1.1.2. Reacciones de obtención de las olefinas **32** y **20**.

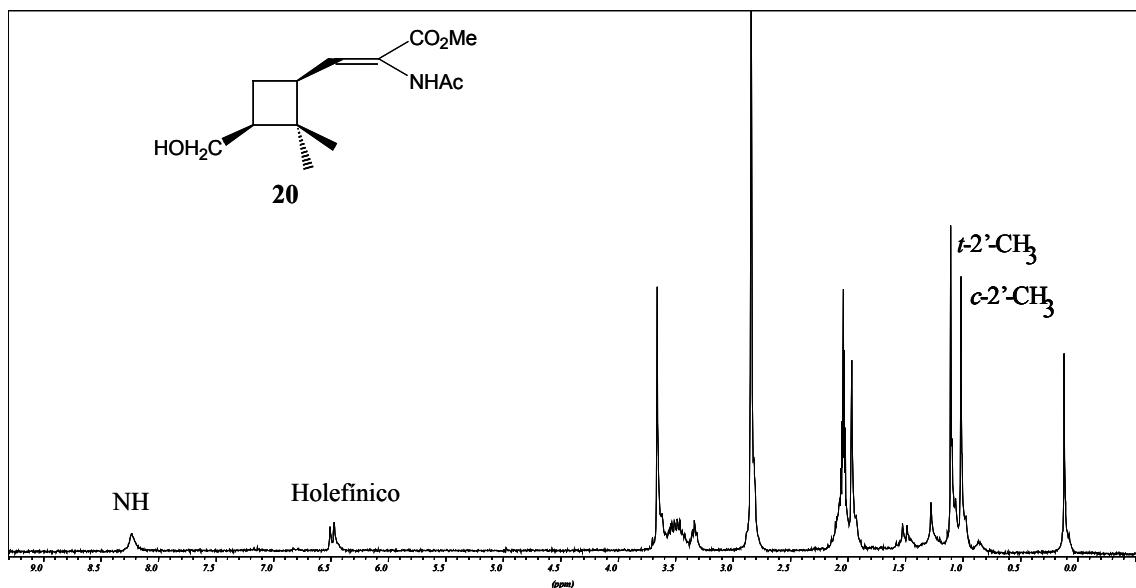
Siguiendo la metodología descrita por Schmidt y col., se ensayó la reacción de condensación del aldehído **31** y el fosfonato **36** con la función amino protegida en forma de acetamida (**Esquema 17**). Se usó como base *t*-butóxido de potasio.



Esquema 17

Después de 6 días de reacción, la olefina **32** se obtuvo, tras purificación por cromatografía en columna del crudo, con un rendimiento bajo (17%). Probablemente, el impedimento estérico del grupo éter bencílico es el responsable del largo tiempo de reacción requerido para la total conversión. El aldehído **31** epimerizó parcialmente en las condiciones de reacción, recuperándose una mezcla *cis/trans* de aldehídos.

Finalmente, la desprotección del alcohol para obtener la olefina **20**, a partir del éter bencílico **32**, se llevó a cabo con una reacción en la cual se genera hidrógeno in situ, a partir de ciclohexeno, Pd(OH)₂ al 20% en el seno de EtOH (**Esquema 14**). A continuación se muestra el espectro de RMN ¹H de la olefina **20**.



Espectro 2: Espectro de RMN ^1H (250 MHz, acetona- d_6) del compuesto **20**.

Faltaría por estudiar la configuración del doble enlace de la olefina **32**. Las Dras. A. Moglioni y E. García-Expósito habían determinado con anterioridad la configuración *Z* de la olefina **15** mostrada en la **Figura 21** mediante experimentos NOEDIFF que mostraban proximidad entre el hidrógeno vinílico y el metilo del grupo éster.¹⁵

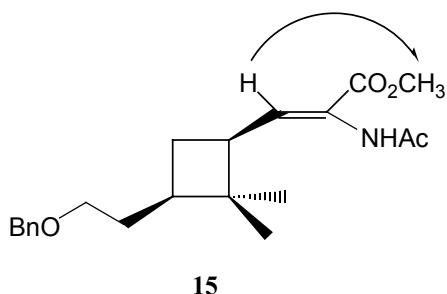


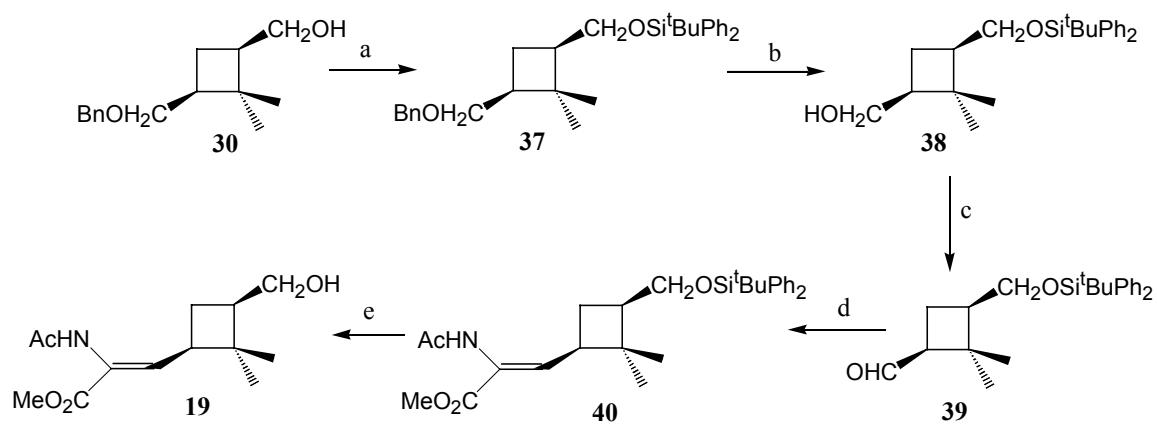
Figura 21: nOe entre el protón olefínico y el grupo metilo del éster en **15**.

Dado que la olefina **32** es análoga a la olefina **15** pero con un metileno menos en la cadena lateral y que ambas se han obtenido mediante el mismo procedimiento, se aceptó que por analogía la configuración de **32** debe ser *Z*.

Así pues, se ha podido obtener un enantiómero del tipo **B** (Figura 19), aunque la ruta sintética seguida presenta algunos problemas debido a los bajos rendimientos de las últimas etapas, a causa de epimerizaciones en centros α carbonílicos. A continuación se presentarán los resultados de los estudios realizados con el fin de obtener un enantiómero del tipo **A** (Figura 19), en particular **19**, enantiómero real de **20**.

3.1.2. Ruta sintética estudiada para la obtención de **19**.

Con el fin de preparar **19**, se pensó en la posibilidad de partir del alcohol **30**, intermedio en la síntesis de **20** (Esquema 14). La ruta sintética propuesta se muestra en el Esquema 18.

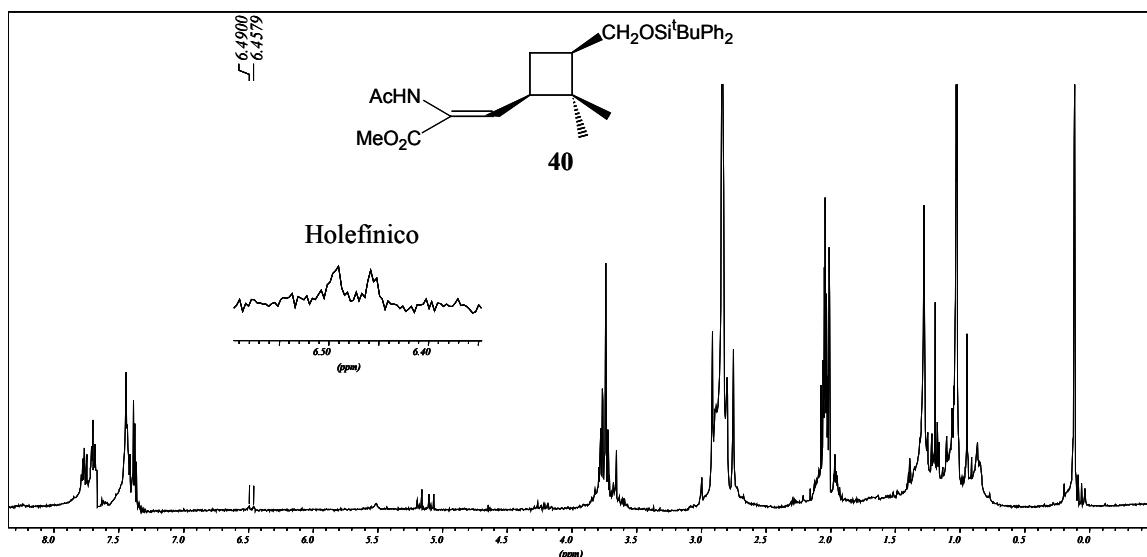


a) $^t\text{BuPh}_2\text{SiCl}$, DMAP, CH_2Cl_2 , 12 h, 70% rdto. **b)** ciclohexeno, Pd/C 20%, EtOH, 12 h, 69% rdto. **c)** PDC, CH_2Cl_2 , 6 h, 65% rdto. **d)** $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})(\text{NHCOMe})$ (**36**), $t\text{-BuOK}$, CH_2Cl_2 t.a., 13 días, 15% rdto. (crudo de reacción). **e)** $n\text{Bu}_4\text{NF}$, THF, no reacciona.

Esquema 18

De esta manera, es necesario proteger la función alcohol del sustrato **30**, para poder realizar las transformaciones oportunas y así obtener el enantiómero **19**. En este caso, se protegió el alcohol en forma de éter de *terc*-butildifenilsilil y se obtuvo así **37**, con un 70% rdto. A continuación se hidrogenolizó el éter bencílico, por reacción con ciclohexeno, en presencia de $\text{Pd}(\text{OH})_2$ al 20% en el seno de EtOH, para dar **38** con un 69% de rendimiento. La siguiente reacción es la oxidación del alcohol con PDC para obtener el aldehído **39**, y a

partir de éste la formación de la olefina **40** mediante reacción con el fosfonato **36**. La reacción se siguió por cromatografía en capa fina, dando por finalizada la olefinización después de 13 días. A continuación, se muestra el espectro de RMN ^1H del crudo de reacción (**Espectro 3**).



Espectro 3: Espectro de RMN ^1H (250 MHz, acetona- d_6) del crudo de reacción de la obtención de la olefina **40**.

Como puede verse, existe un doblete a $\delta=6.47$, típico de protón vinílico β -carbonílico. Finalmente se ensayó la reacción de eliminación del éter de sililo mediante condiciones estándar, con $n\text{Bu}_4\text{NF}$ en el seno de THF, obteniéndose un crudo de reacción en el que no se identifica por RMN de ^1H el alcohol **19**. Por ello y teniendo en cuenta que la reacción de formación de la olefina **40** es muy lenta, siendo necesarios 13 días para su obtención y que el rendimiento calculado a partir del crudo de reacción es de tan sólo del 15%, se pensó abandonar esta vía sintética y buscar una alternativa con el fin de obtener los enantiómeros deseados. La baja reactividad observada es debida al elevado impedimento estérico que presenta el éter de sililo, cosa que ya sucedía, aunque era menos notable, en el caso de la obtención de **32**.

Con el fin de obtener los enantiómeros deseados, se planteó la posibilidad de utilizar algunos de los intermedios previamente sintetizados. Así, se propuso una nueva ruta

sintética en la cual, como se verá a continuación, los nuevos enantiómeros propuestos contienen la función éster metílico en la posición 3' del anillo ciclobutánico (**Figura 22**).

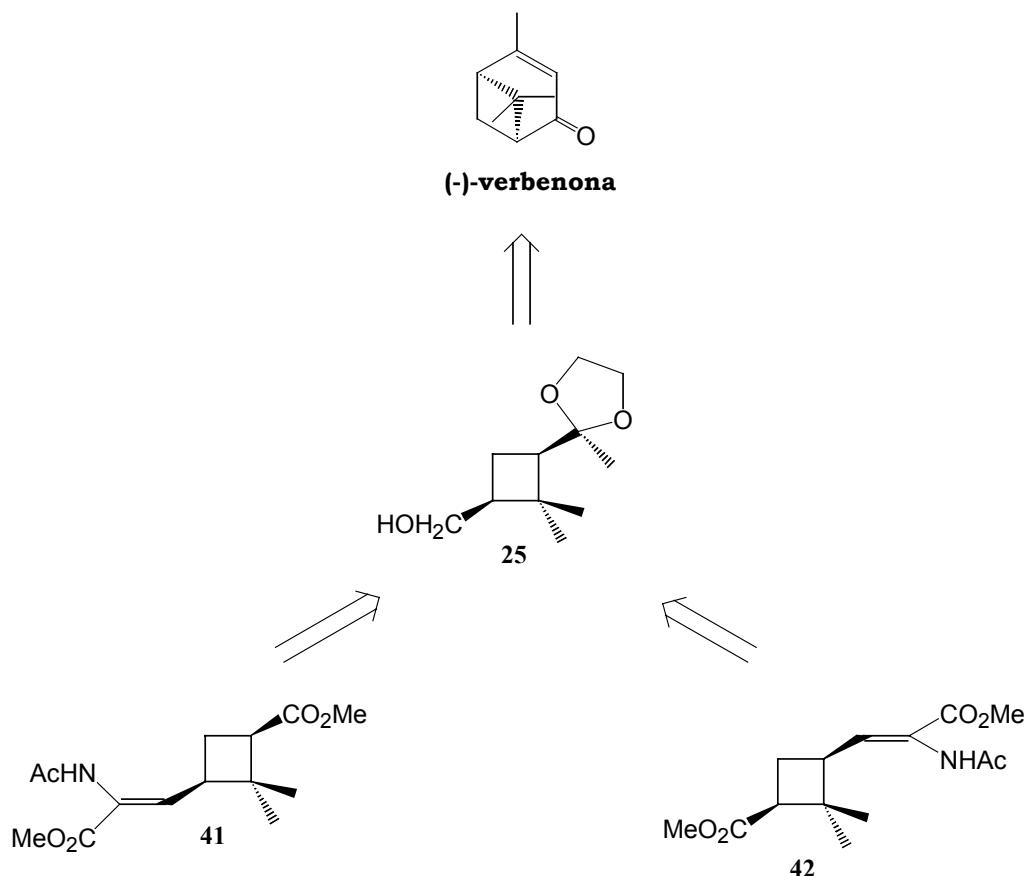
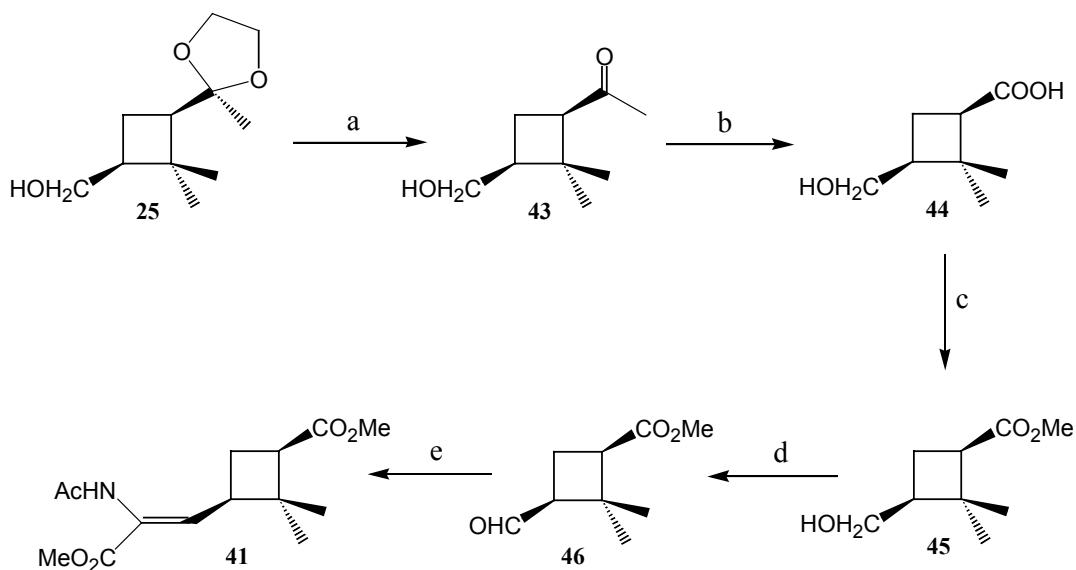


Figura 22: Retrosíntesis propuesta de los DHAAs enantioméricos **41** y **42**.

3.1.3. Síntesis del α,β -deshidro- α -aminoácido **41**:

La síntesis del compuesto **41** parte de uno de los intermedios obtenidos en el **Esquema 14**, en particular, el alcohol **25**. A continuación se muestra la secuencia sintética estudiada (**Esquema 19**).



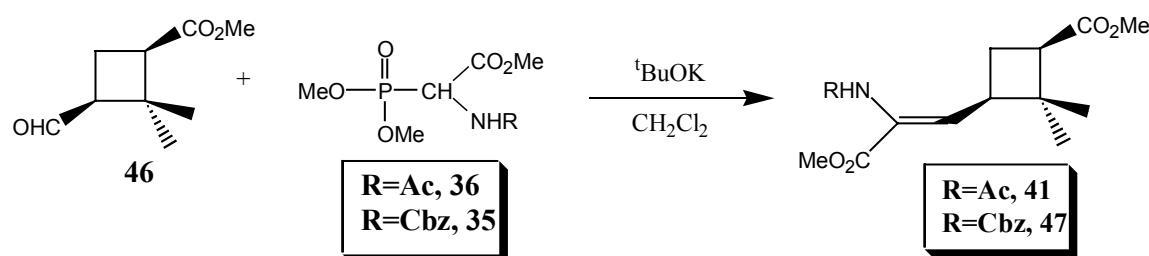
a) PPTS, acetona reflujo, 5 h, 90% rdto. **b)** NaOBr, dioxano-H₂O, 7 h, 61% rdto. **c)** CH₂N₂, éter, 95% rdto. **d)** PDC, CH₂Cl₂ anh., 6 h, 89% rdto. **e)** (MeO)₂P(O)CH(CO₂Me)(NHCOMe) (36), *t*-BuOK, CH₂Cl₂ t.a., 64 h, 31% rdto.

Esquema 19

Como puede observarse, partiendo del alcohol **25** se procedió a la eliminación del sistema dioxolánico por tratamiento con acetona y usando PPTS como catalizador de desprotección de grupos carbonilo, obteniéndose así **43** con un 90% de rdto., el cual es un sustrato adecuado para la reacción de Lieben. Esta degradación oxidativa se llevó a cabo disolviendo la hidroxicetona **43** en dioxano-H₂O y añadiendo una solución de hipobromito de sodio, recientemente generada. Esta reacción presentó los mismos inconvenientes reseñados en el apartado 3.1.1., la dificultad de eliminar totalmente el 1,4-dioxano y la fácil epimerización del ácido **44**. Por este motivo el ácido **44** se usó en el paso siguiente, la metilación con diazometano, sin purificación adicional. Así, de manera análoga al procedimiento descrito en 3.1.1., tuvo lugar la metilación del ácido **44**, obteniéndose el éster **45** con un rendimiento cuantitativo. Finalmente, la oxidación con PDC, siguiendo un procedimiento análogo al descrito en 3.1.1, permitió obtener el aldehído **46**. El tiempo de reacción, en este caso, fue de 6 horas y el rendimiento del 89%, y debido a la baja estabilidad que presenta el compuesto **46**, se usó en el paso siguiente sin purificación adicional.

3.1.3.1. Reacción de obtención de las olefinas 41 y 47.

La reacción de obtención de las olefinas **41** y **47** es análoga a la mencionada en el apartado **3.1.1.1.2**. Las Dras. A. Moglioni y E. García-Expósito realizaron un estudio de esta reacción, observando que en caso de utilizar el fosfonato con el grupo amino protegido en forma de carbamato de bencílico, el rendimiento era ligeramente superior a cuando el fosfonato utilizado contenía la función acetamida. Es por ésto que se ensayó en este caso la condensación del aldehído **46** con los fosfonatos **35** y **36**, respectivamente (Esquema 20):



Esquema 20

El tiempo de reacción es en ambos casos de 64 horas, siendo el rendimiento de **47** del 38%, mientras que **41** se obtiene con un rendimiento inferior, del 31%.

Si se comparan estos resultados con el descrito en el apartado **3.1.1.1.2**, para la obtención de la olefina **32**, parece ser que existe una influencia del segundo substituyente del anillo ciclobutánico sobre los rendimientos y tiempos de reacción. Si en el caso del sustrato **32**, con el éter bencílico en la posición 3' del anillo, eran necesarios 6 días para su preparación con 17% de rendimiento, la olefina **41** se obtiene después de tan sólo 64 horas en 31%.

3.1.3.1.1. Determinación de la configuración del doble enlace de las olefinas 41 y 47.

Es notable la elevada estereoselectividad de las anteriores condensaciones de Wittig-Horner, ya que en todas ellas se observa en el crudo de reacción y por RMN ^1H la formación de manera muy mayoritaria de una única olefina. En nuestro laboratorio se

habían realizado condensaciones de otros aldehídos ciclobutánicos similares con los fosfonatos **35** y **36**, y en todos los casos se obtenía mayoritariamente la olefina con estereoquímica *Z*.¹⁵ Era de esperar, por tanto, que en este caso muy probablemente fuera también *Z* la configuración de las olefinas formadas.

Dado que **41** y **47** son aceites, no fue posible la realización de un análisis por Rayos X para verificar la configuración del doble enlace, estableciéndose ésta en base a experimentos *n*Oe diferencial. Dichas olefinas son análogas, ya que únicamente difieren en la protección de la función amino, con lo cual se aceptó que la configuración del doble enlace en ambas debería ser la misma, siendo por tanto necesario únicamente el análisis de una de ellas. Se analizó la olefina **41**, mostrándose en la **Figura 23** los experimentos NOEDIFF realizados.

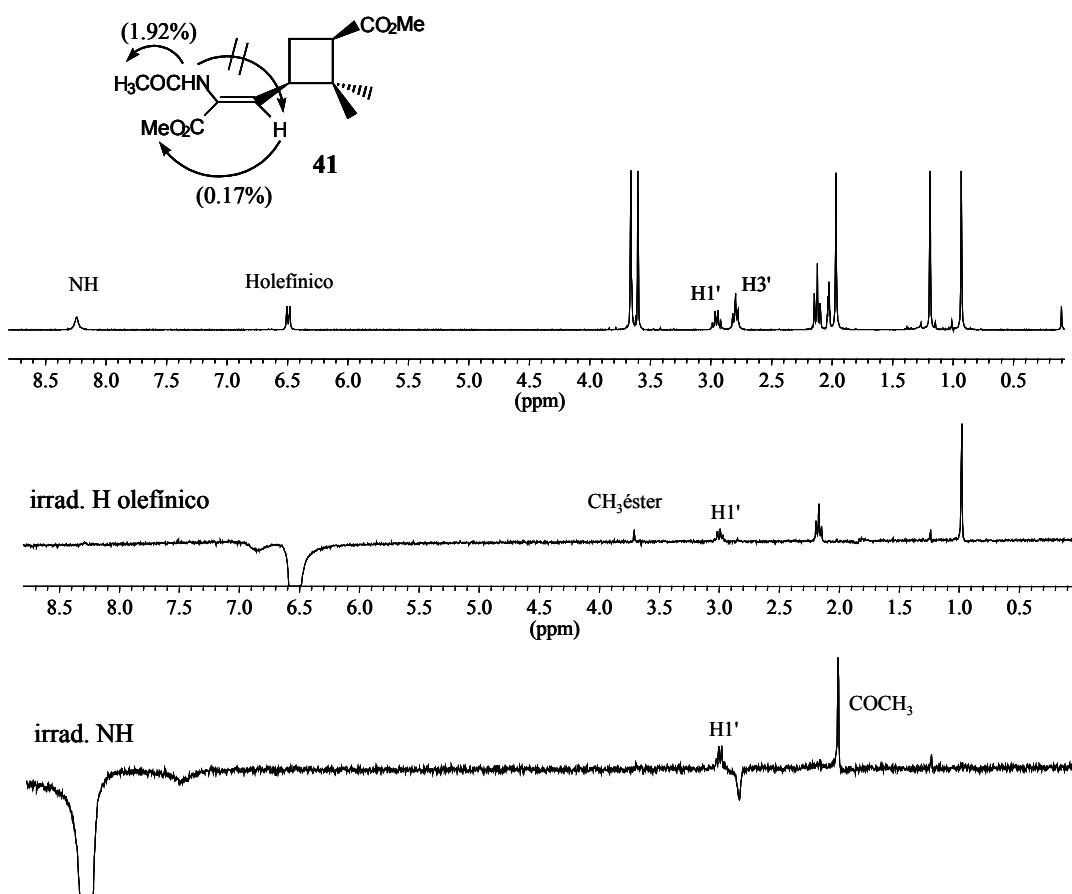
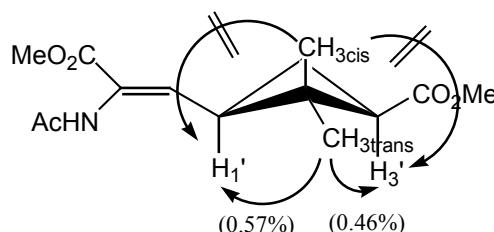


Figura 23: Experimentos NOEDIFF sobre el compuesto **41** (400 MHz, acetona-*d*₆).

Al irradiar el hidrógeno olefínico se observa nOe (0.17%) sobre el metilo del éster pero no sobre el NH, lo cual es coherente con la configuración *Z* del alqueno. Si la configuración del doble enlace fuera *E* al irradiar el hidrógeno olefínico, no debería observarse efecto nOe sobre el éster, ya que éste quedaría demasiado alejado, si bien sí debería observarse sobre el NH. Por otra parte, tal y como se muestra en la **Figura 23** al irradiar selectivamente el NH se aumenta significativamente la señal del metilo de la acetamida (1.92% nOe), pero no se observa nOe sobre el hidrógeno olefínico.

Ya que, como se indicó en el apartado **3.1.3.**, la degradación oxidativa de Lieben producía una significativa epimerización del hidrógeno α -carbonílico del anillo, se pensó que sería conveniente realizar algún experimento para confirmar que se conservaba la configuración relativa *cis* de los substituyentes situados en las posiciones 1',3' del anillo ciclobutánico en la olefina **41**. Para ello se realizaron experimentos NOEDIFF, mostrándose los resultados de la **Figura 24**:

**41****Figura 24:** Efectos NOEDIFF mostrados sobre el compuesto **41**.

Se irradiaron los metilos *cis* y *trans* situados en la posición 2' del anillo ciclobutánico. Al realizar la irradiación del CH₃_{cis} se observa un nOe intenso sobre el hidrógeno olefínico, mientras que no se observa nOe sobre ninguno de los dos hidrógenos situados en las posiciones 1' y 3' del anillo. La irradiación del CH₃_{trans} produce nOe sobre los hidrógenos H_{1'} y H_{3'}. Si la configuración relativa de los substituyentes en las posiciones 1' y 3' del anillo ciclobutánico fuera *trans*, la irradiación del CH₃_{trans} produciría nOe únicamente sobre el H_{1'}, pero no sobre el H_{3'} ya que éste hidrógeno quedaría en este caso muy alejado (**Figura 25**).

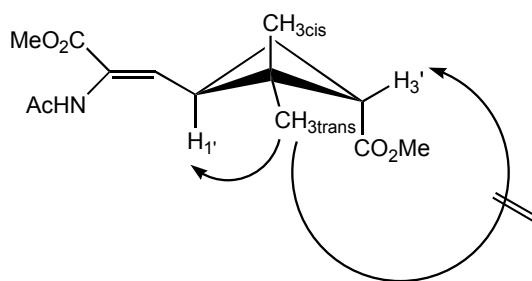


Figura 25: nOe esperable para el isómero *trans*.

La estereoquímica *cis* indica una configuración absoluta ($1'R,3'R$) de los centros estereogénicos del anillo ciclobutánico en la olefina **41**. En la **Tabla 1** se dan los % de nOe observados para la olefina **41**.

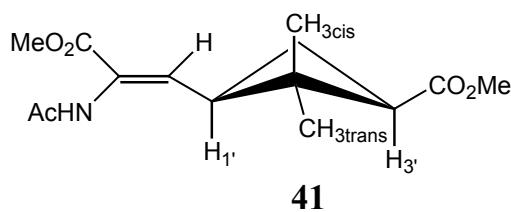


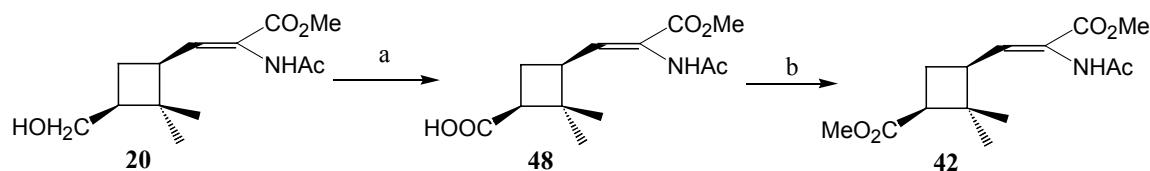
Tabla 1: % n.O.e observado para **41**.

Hidrógeno irradiado	% n.O.e						
	=CH	-OCH ₃	H _{1'}	H _{3'}	-COCH ₃	CH ₃ cis	CH ₃ trans
=CH	-	0.17	0.49	-	-	1.60	0.08
NH	-	-	0.78	-	1.92	-	-
CH ₃ cis	0.69	0.12	-	-	-	-	0.14
CH ₃ trans	-	0.17	0.57	0.46	-	1.07	-

Así pues, una vez confirmada la configuración *Z* del doble enlace en las olefinas **41** y **47**, así como la configuración absoluta de sus centros quirales, el siguiente paso es la obtención del enantiómero real de uno de los DHAAs **41** ó **47** (Figura 22).

3.1.4. Intento de síntesis del DHAA 42:

Si se parte del sustrato **20**, intermedio obtenido en el **Esquema 14**, se podría obtener mediante únicamente dos pasos el enantiómero objetivo, como se muestra en el **Esquema 21**.



a) PDC, DMF. b) CH_2N_2 , éter.

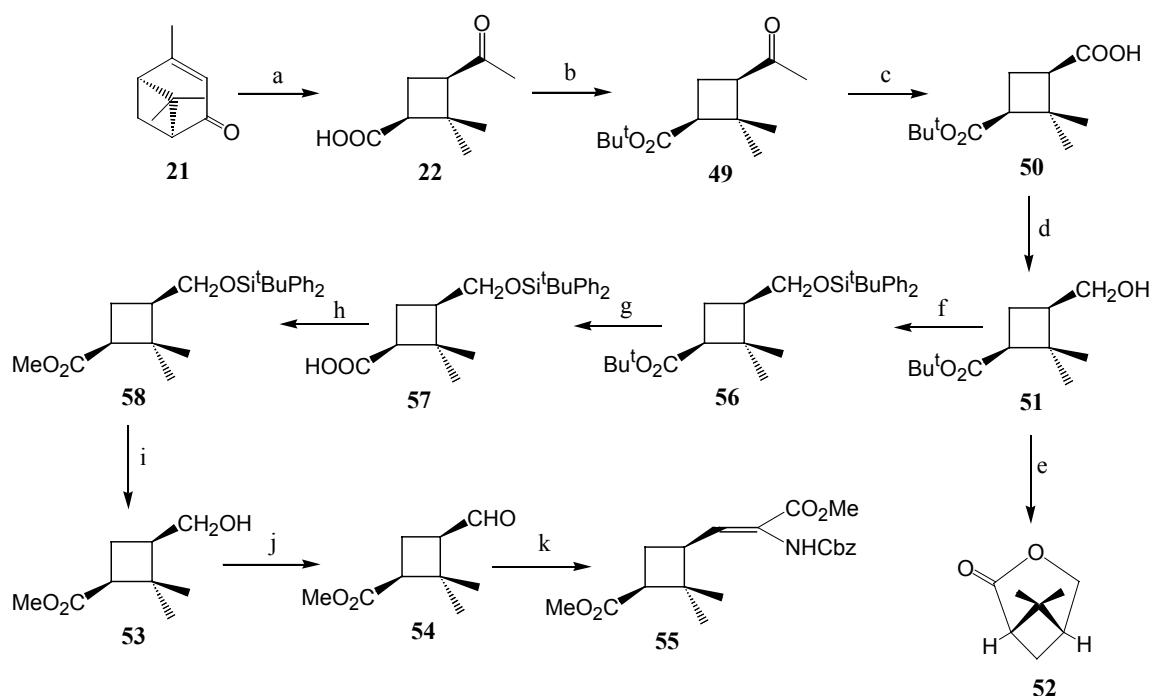
Esquema 21

El primer paso sería la oxidación del alcohol a ácido, y la posterior metilación de éste para obtener el éster metílico. Las condiciones de oxidación tienen que ser básicas, debido a la posible isomerización del doble enlace si se utilizan condiciones ácidas. Pero el intento de oxidación del sustrato **20**, con PDC en DMF, a temperatura ambiente y durante una noche, no condujeron a la obtención del ácido **48**, sino a la descomposición del sustrato de partida, debido quizás a la sensibilidad del doble enlace.

Se decidió abandonar esta vía debido a la dificultad de obtención del alcohol **20**, cosa que complica el estudio de la oxidación de éste en otras condiciones de reacción.

3.1.5. Síntesis del DHAA 55:

Dado que el rendimiento de obtención de los α,β -deshidro- α -aminoácidos que contienen la función amino protegida como carbamato de bencilo es superior a los que contienen una amina en forma de acetamida, se pensó sintetizar el enantiómero de **47**, o sea el DHAA **55**. La ruta sintética desarrollada para obtener el sustrato objetivo **55** se muestra en el **Esquema 22**.



a) RuCl_3 cat., NaIO_4 , $\text{CCl}_4\text{-CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$, 25°C , 12 h., **b)** ${}^t\text{BuOH}$, DMAP, DCC, THF anh., 12 h, 60% rdto. **c)** NaOBr , dioxano- H_2O , 63% rdto. **d)** Catecolborano, THF, 12 h, 55% rdto. **e)** TFA, Et_3SiH , CH_2Cl_2 , 1 h. **f)** DMAP, ${}^t\text{BuPh}_2\text{SiCl}$, CH_2Cl_2 anh., 12 h, 84% rdto. **g)** TFA, Et_3SiH , CH_2Cl_2 , 1 h, 75% rdto. **h)** CH_2N_2 , éter, 90% rdto. **i)** $n\text{Bu}_4\text{NF}$, THF, 30 min., 80% rdto. **j)** PDC, CH_2Cl_2 anh., 6 h, 89% rdto. **k)** $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})(\text{NHCbz})$ (**35**), $t\text{-BuOK}$, CH_2Cl_2 , t.a., 64 h, 38% rdto.

Esquema 22

Como puede verse en el **Esquema 22**, se partió de la (-)-verbenona comercial, la cual se oxidó de manera análoga a la descrita en el apartado **3.1.1**. A continuación es indispensable proteger la función ácido en forma de éster *terc*-butílico para realizar las transformaciones necesarias. Esta protección se llevó a cabo⁵⁰ añadiendo ${}^t\text{BuOH}$ y DMAP disueltos en THF anhidro sobre una solución que contiene el ácido **22** disuelto en THF y enfriado a 0°C . A continuación se añadió DCC también en THF, y se dejó evolucionar el sistema hasta llegar a temperatura ambiente. La reacción transcurrió durante una noche. Tras purificación del crudo de reacción por cromatografía en columna, se obtuvo el cetoéster **49** como un sólido blanco, con un punto de fusión de $44\text{-}47^\circ\text{C}$ y un 60% de

⁵⁰ Strazzolini, P.; Scuccato, M.; Giumanini, A.G. *Tetrahedron*. **2000**, *56*, 3625.

rendimiento. El siguiente paso es la reacción de Lieben para obtener el ácido **50**. Al igual que se comentaba en el apartado **3.1.1.**, la caracterización del producto de la oxidación de Lieben se basó únicamente en los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C , debido a la dificultad para eliminar en su totalidad el 1,4-dioxano. La reducción del ácido **50** se llevó a cabo con catecolborano en THF durante 12 horas,⁵¹ obteniéndose el alcohol **51** con un 55% de rendimiento. El siguiente paso fue la hidrólisis del éster *terc*-butílico en el sustrato **51**. Las condiciones de hidrólisis de ésteres *terc*-butílicos descritas en la bibliografía se basan en la utilización del ácido trifluoroacético (TFA). Se utilizó en este caso TFA en CH_2Cl_2 en presencia de Et_3SiH .⁵² Una vez analizados los espectros de RMN ^1H y RMN ^{13}C del crudo de reacción pareció ser que el producto obtenido no era el ácido proveniente de la hidrólisis del éster *terc*-butílico, sino mayoritariamente la lactona **52**. Si se formara este ácido, su espectro de RMN ^1H coincidiría con el del sustrato **44** (**Esquema 19**), ya que ambos compuestos son enantiómeros. Pero los espectros no fueron superponibles. La formación de la lactona es debida a las condiciones ácidas del medio, las cuales favorecen la formación de un anillo de 6 miembros, producto de la condensación entre el alcohol y el ácido libre, obtenido a partir de la eliminación del éster *terc*-butílico. Esta lactonización no tuvo lugar en el hidroxiácido **44** (ver **Esquema 19**), ya que éste último se obtuvo por degradación de Lieben de la metilcetona **43**, en condiciones suavemente básicas. Los intentos de apertura de la lactona **56** resultaron infructuosos debido a su elevada estabilidad.

Así pues, fue necesario en este punto proteger la función alcohol del sustrato **51**, para poder llegar a obtener el enantiómero **55** mediante una estrategia de protección ortogonal.

Se procedió, por tanto, a proteger **51** con el cloruro de *terc*-butildifenilsililo. La razón de preparar este éter es clara, ya que es el éter de sililo más estable y es posible eliminarlo selectivamente con floruro de tetrabutilamonio en condiciones neutras. De esta manera se obtuvo el compuesto **56** con un 84% de rendimiento pudiendo, a partir de aquí, realizar las transformaciones necesarias en el otro grupo funcional del ciclobutano, hasta obtener el enantiómero objetivo. La eliminación del éster *terc*-butílico en **56** se llevó a cabo con ácido trifluoroacético, en presencia del hidruro de trietilsililo y en el seno de CH_2Cl_2 ,

⁵¹ Kabalka, G.W.; Baker, J.D.; Neal, G.W. *J. Org. Chem.* **1977**, *42*, 512.

⁵² Metha, A.; Jaouhari, R.; Benson, T.J.; Douglas, K.T. *Tetrahedron Letters*, **1992**, *33*, 5441.

obteniéndose el ácido **57** al cabo de una hora de reacción a temperatura ambiente y con un 75% de rendimiento. Se ensayaron otras condiciones de hidrólisis del éster *terc*-butílico, con HNO_3 en el seno de CH_2Cl_2 , pero se observaba epimerización parcial del centro estereogénico unido al grupo carbonilo. La obtención del éster **58** se realizó cuantitativamente mediante la metilación con diazometano del ácido **57**. El paso siguiente es clave, ya que se obtendría el alcohol enantiómero del ya sintetizado, el alcohol **45** mostrado en el **Esquema 19**. Como se ha comentado, el método usado para eliminar el éter de *terc*-butildifenilsililo pasa por la utilización del floruro de tetrabutilamonio en el seno de THF. La reacción tuvo lugar a temperatura ambiente y se obtuvo el hidroxiéster **53** con un 80 % de rdto. después de 30 minutos de reacción. El alcohol **53** presenta $[\alpha]_D = +9.8$ en MeOH, de signo opuesto y del mismo orden que el alcohol **45** ($[\alpha]_D = -9.2$ en MeOH). Así pues se han llegado a obtener dos sustratos enantiómeros, intermedios clave para la obtención de los DHAAs enantioméricos objetivo. Las condiciones de reacción y los rendimientos obtenidos en la oxidación del alcohol **53** al aldehído **54** y la condensación de este último con el fosfonato **35** para obtener la olefina **55** fueron idénticos a los descritos en los apartados **3.1.3.** y **3.1.3.1.** para la preparación del aldehído **46** y la olefina **47**. En este caso, como ya se comentó con anterioridad, se ha sintetizado únicamente la olefina que contiene la función amina protegida en forma de carbamato de bencilo.

En la **Figura 26** se muestra un resumen de las dos rutas estereodivergentes seguidas para la obtención de los DHAAs ciclobutánicos enantioméricos **47** y **55**:

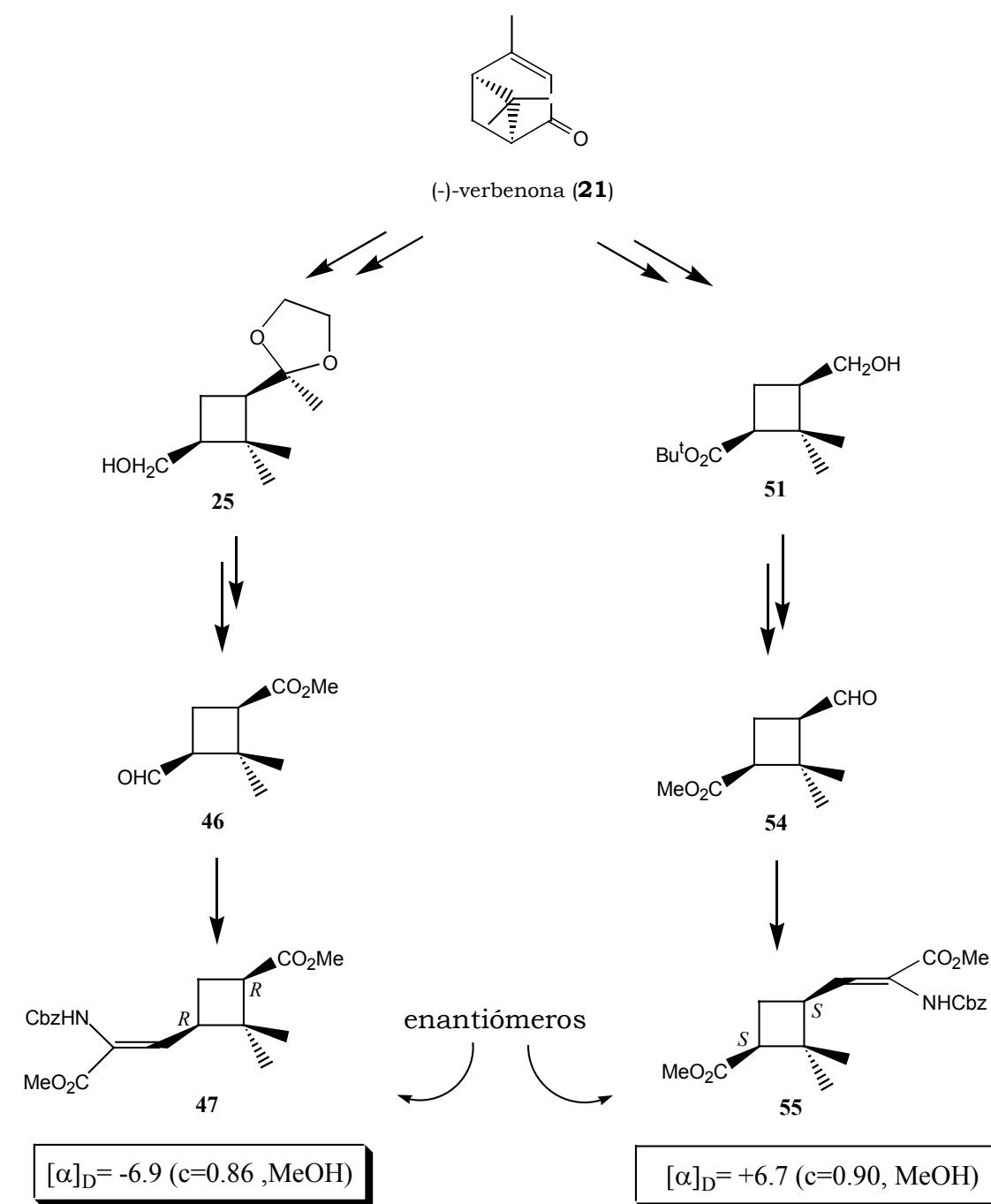


Figura 26: Esquema sintético de obtención de los enantiómeros **47** y **55**.

Como puede verse en la **Figura 26**, la configuración absoluta de los centros estereogénicos del anillo ciclobutánico en la olefina **47** es (1'R,3'R), mientras que la olefina **55** presenta una quiralidad inversa a **47**, con configuración absoluta (1'S,3'S).

Los espectros de dicroismo circular (DC) de los sustratos **47** y **55** (**Figura 27**) muestran claramente su relación de enantioisomería.

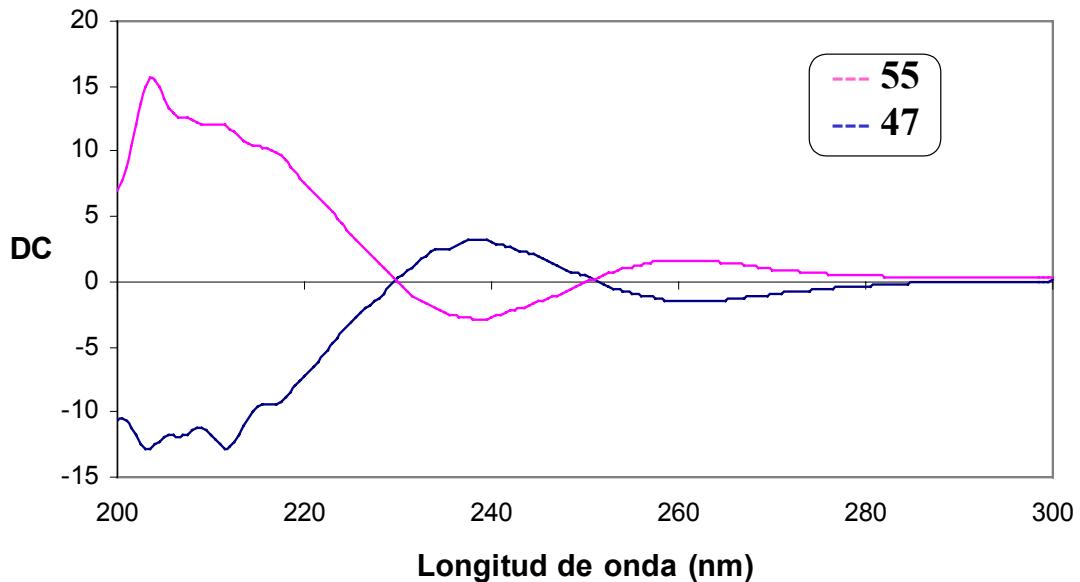


Figura 27: Espectros de dicroismo circular de los enantiómeros **47** y **55**.

La superposición de los espectros de RMN ^1H , los espectros de DC y el valor de las rotaciones ópticas específicas de ambos compuestos indican inequívocamente la relación enantiomérica entre **47** y **55**.

De esta manera se ha conseguido el primero de los objetivos de la presente Tesis Doctoral, ya que se han sintetizado dos α,β -deshidro- α -aminoácidos enantioméricos, sustratos con los que se llevará a cabo un estudio de la diastereoselectividad facial en la hidrogenación, con diferentes tipos de catalizadores, para obtener α -aminoácidos saturados (capítulo 4).

3.2. Rutas sintéticas investigadas para la obtención de α,β -deshidro- α -aminoácidos de la misma quiralidad que los enantiómeros 47 y 55. Obtención de una olefina con configuración del doble enlace E.

En el transcurso de la síntesis de los enantiómeros 47 y 55 se planteó la posibilidad de sintetizar otros DHAAs con diferentes substituyentes en la posición 3' del anillo ciclobutánico. Dichos sustratos no serían enantiómeros reales a 47 ó 55 porque contendrían un substituyente diferente en la posición 3', sino que presentarían la misma o inversa quiralidad con respecto a cada uno de ellos. La razón de sintetizar estos sustratos sería el poder realizar un estudio de hidrogenación del doble enlace y observar la influencia del substituyente en la posición 3' del anillo ciclobutánico durante la hidrogenación.

Durante uno de los intentos de preparación de los enantiómeros, se obtuvo y caracterizó uno de estos compuestos, el DHAA 32, según la ruta sintética mostrada en el **Esquema 14**. Como puede observarse en la **Figura 28**, el producto 32 no es enantiómero de 41, ya que presenta un substituyente diferente ($-\text{CH}_2\text{OBn}$) en la posición 3' del anillo ciclobutánico, pero sí presenta quiralidad inversa, ya que la configuración absoluta de los centros estereogénicos del anillo es ($1'S,3'S$), mientras que en 41 es ($1'R,3'R$). Por otro lado, el DHAA 32 presenta la misma quiralidad que 55 en los centros estereogénicos del anillo ($1'S,3'S$), aunque la función amino en 32 está protegida como acetamida, mientras que en 55 lo está en forma de carbamato de bencilo, y los substituyentes en la posición 3' del anillo son diferentes.

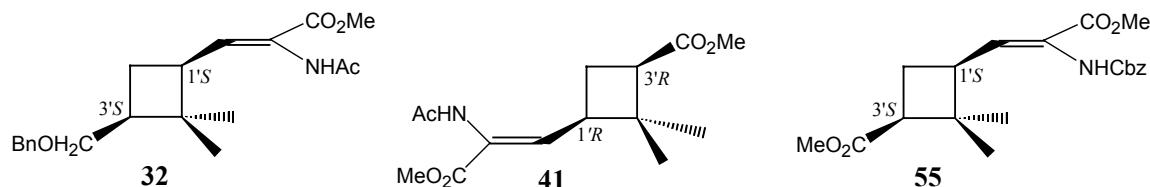
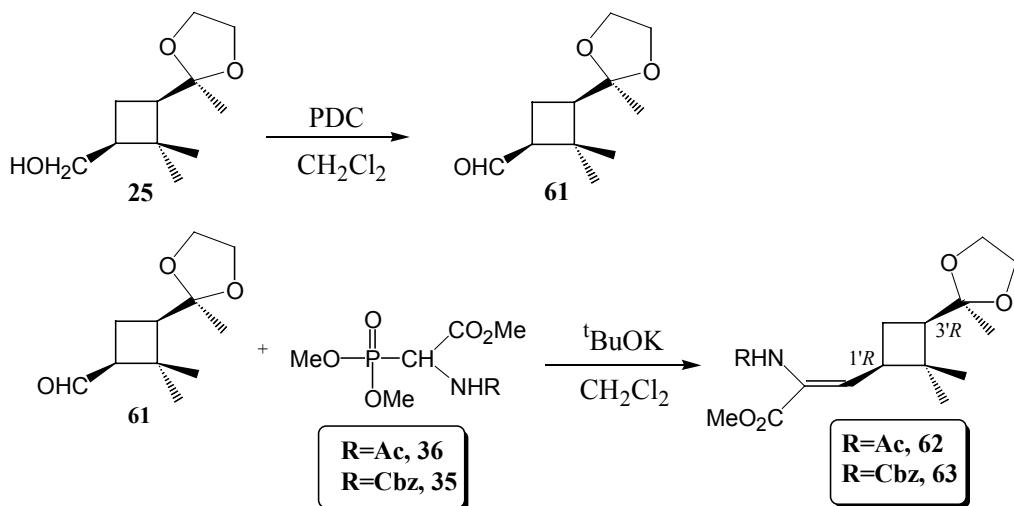


Figura 28: Estructuras de los DHAAs 32, 41 y 55.

Por otra parte, a partir del alcohol 25, intermedio en la síntesis de 32 (**Esquema 14**), se pudieron obtener de manera directa los α,β -deshidro- α -aminoácidos 62 y 63, según se

muestra a continuación (**Esquema 23**). La Dra. A. Moglioni sintetizó la olefina **63**, mientras que la olefina **62** forma parte del trabajo realizado en la presente Tesis Doctoral.

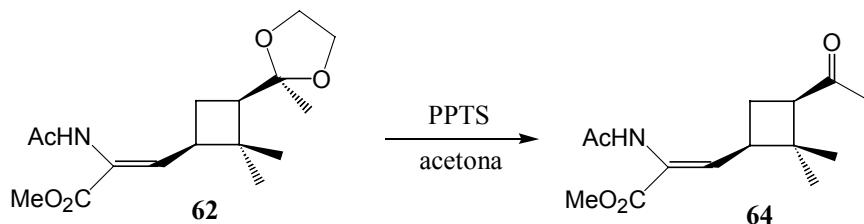


Esquema 23

El aldehído **61** se sintetizó por oxidación del alcohol **25** en las mismas condiciones mostradas en el **Esquema 14**. En este caso el rendimiento de la preparación del aldehído **61** fue del 74%, obtenido después de 4 horas de reacción. Dado que este producto es muy inestable, debe usarse inmediatamente sin purificación adicional y su caracterización se basa únicamente en los espectros de RMN ¹H y en los espectros de IR.

La síntesis de las olefinas **62** y **63** se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita en el apartado **3.1.1.1.2**. La olefina **63** se obtuvo con un 50% de rendimiento después de 54 horas, mientras que la olefina **62** se obtuvo con un 39% de rendimiento y en el mismo tiempo de reacción que la olefina **63**. Como puede verse, ambas olefinas **62** y **63** presentan la misma quiralidad que **41** y **47**, ya que la configuración de los carbonos asimétricos del anillo ciclobutánico es (1'*R*,3'*R*).

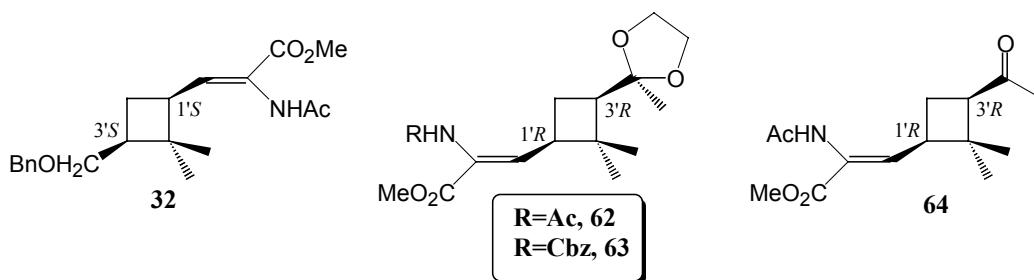
A partir de la olefina **62** fue posible obtener otro DHAA con un substituyente diferente en la posición 3' del anillo ciclobutánico. Así, la hidrólisis del acetal por tratamiento de **62** con PPTS en acetona húmeda, permitió preparar el compuesto **64** (**Esquema 24**).



Esquema 24

En el crudo de reacción se observó, por RMN ^1H , la formación de la cetona **64** mayoritariamente, si bien se observó otro producto en una proporción muy baja, lo que hizo necesaria la purificación del crudo mediante cromatografía en columna a presión, eluyendo con AcOEt/hexano 3:1 y utilizando sílica Baker[®] como soporte. Así se obtuvo **64** con un rendimiento del 36%. Esta olefina también presenta la misma quiralidad que las olefinas **41** ó **47**, ya que la configuración de los carbonos asimétricos del anillo ciclobutánico es ($1'R,3'R$).

De esta manera, se sintetizaron varios DHAAs con la misma o inversa quiralidad que los enantiómeros **47** y **55**. En la **Figura 29** se muestran todos ellos:

Figura 29: Estructura de los DHAAs **32**, **62**, **63** y **64**.

3.2.1. Determinación de la configuración del doble enlace de las olefinas **62**, **63** y **64**.

La Dra. A. Moglioni determinó mediante experimentos NOEDIFF la configuración Z de la olefina **63**.¹⁵ La olefina **62** es análoga a **63** pero con la función amino protegida en

forma de acetamida, asumiéndose así por analogía que la configuración del doble enlace en **62** debe ser *Z*.

La determinación de la geometría del doble enlace en **64** se realizó mediante experimentos NOEDIFF. En la **Figura 30** se muestran los resultados.

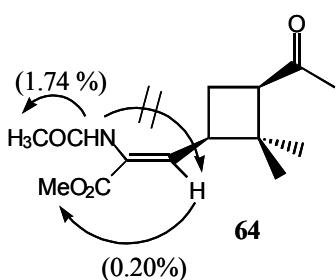


Figura 30: nOes observados sobre el compuesto **64** (400 MHz, acetona- d_6).

Como puede verse, cuando se irradia el hidrógeno olefínico se observa nOe (0.20%) sobre el metilo del éster pero no sobre el *NH*, lo cual es coherente con la configuración *Z* del alqueno. Por otra parte, tal y como se muestra en la **Figura 30** al irradiar selectivamente el *NH* se aumenta significativamente la señal del metilo de la acetamida (1.74% nOe), pero no se observa nOe sobre el hidrógeno olefínico.

3.2.2. Obtención de una olefina con estereoquímica del doble enlace *E*.

Las Dras. A. Moglioni y E. García-Expósito observaron que si se agitaba un α,β -deshidro- α -aminoácido ciclobutílico con configuración del doble enlace *Z*, en una solución de cloroformo durante 2 días, se producía la isomerización del doble enlace obteniéndose un α,β -deshidro- α -aminoácido ciclobutílico con configuración *E*. También observaron que en las reacciones de formación de las olefinas, mediante condensación de Wittig-Horner, se obtenía únicamente la olefina *Z*, pero cuando se purificaba el crudo por cromatografía en columna a presión sobre sílica Baker[®], se obtenía una pequeña proporción de la olefina *E*. Se pensó pues, obtener una olefina con configuración *E* para estudiar la influencia de la geometría del doble enlace en la estereoselectividad de la hidrogenación. Así pues, se aisló

una pequeña porción de la olefina **65** (Figura 31) en la purificación por columna a presión de la olefina **63**.

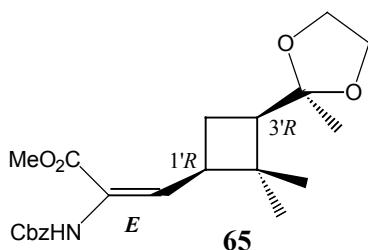
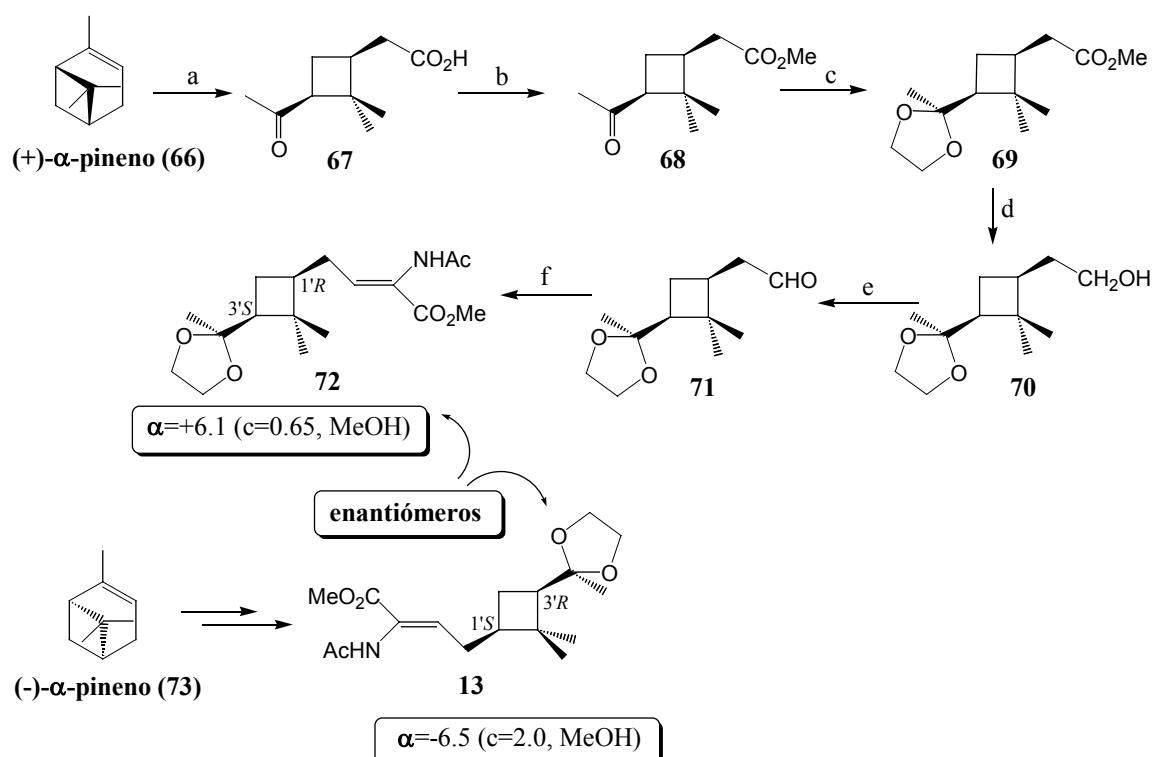


Figura 31: Estructura de **65**.

3.3. Desarrollo de rutas sintéticas para obtener α,β -deshidro- α -aminoácidos enantioméricos a partir de α -pineno.

En contraste con la verbenona, el pineno es comercial en sus dos formas enantioméricas, con lo cual se puede partir de (+)- α -pineno ó de su enantiómero (-)- α -pineno, y obtener así dos enantiómeros ciclobutílicos siguiendo la misma ruta sintética. En este caso, el objetivo fue la síntesis de dos α,β -deshidro- α -aminoácidos ciclobutílicos enantioméricos, los cuales contendrán el doble enlace a un metileno de distancia del anillo ciclobutánico, diferenciándose así de los sintetizados a partir de (-)-verbenona. La razón de llegar a obtener compuestos con el doble enlace directamente unido al anillo o a un metileno de distancia del mismo, es llevar a cabo un estudio comparativo al realizar la posterior hidrogenación de estos sustratos con diferentes catalizadores, como se verá más adelante.

En la presente Tesis Doctoral, a partir de (+)- α -pineno se sintetizó el DHAA **72** siguiendo la misma ruta sintética que la previamente desarrollada en el grupo de investigación para la síntesis del DHAA enantiomérico, **13**, a partir de (-)- α -pineno.¹⁵ (Esquema 25).



a) RuCl_3 cat., NaIO_4 , $\text{CCl}_4\text{-CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$, 25 °C, 24 h. b) CH_2N_2 , éter, 95% rdto. c) $(\text{CH}_2\text{OH})_2$, PPTS, benceno, refluxo 4 h, 81% rdto. d) LiBH_4 , THF, refluxo 24 h, 85% rdto. e) PDC, CH_2Cl_2 , t.a., 4 h, 95% rdto. f) $(\text{MeO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}(\text{CO}_2\text{Me})(\text{NHCOMe})$ (36), *t*-BuOK, CH_2Cl_2 , t.a., 54 h, 54% rdto.

Esquema 25

La oxidación de (+)- α -pineno, en las condiciones anteriormente mencionadas, con RuCl_3 y NaIO_4 , condujo a la obtención del cetoácido 67. La metilación de 67 con CH_2N_2 permitió obtener el cetoéster 68 con un 95% de rdto. La acetalización de la cetona de 68 y la posterior reducción del éster de 69, condujo al alcohol 70, con un 85% de rdto. en el último paso. Finalmente, la oxidación con PDC de 70 para obtener 71, seguida de la condensación con el fosfonato 36, proporcionó el DHAA 72 después de 54 horas de reacción y con un 54% de rendimiento. Los valores de las rotaciones ópticas específicas de los sustratos 13 y 72 (Esquema 25) evidencian que efectivamente son enantiómeros. Las configuraciones absolutas de los centros estereogénicos de 13 son ($1'S,3'R$), mientras que para 72 son ($1'R,3'S$).

A continuación se muestran varios esquemas que resumen las síntesis de los compuestos descritos en este capítulo:

