

## **CAPÍTULO 4:**

**Hidrogenación catalítica de  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos ciclobutílicos.**



#### **4. HIDROGENACIÓN CATALÍTICA DE $\alpha,\beta$ -DESHIDRO- $\alpha$ -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS.**

En este capítulo se describirán los resultados de un amplio estudio acerca de la hidrogenación catalítica de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos ciclobutílicos ópticamente activos obtenidos según el capítulo 3, es decir DHAAs provenientes de (-)-verbenona con el doble enlace unido directamente al anillo ciclobutánico y  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos obtenidos a partir de  $\alpha$ -pineno, los cuales contienen el doble enlace a un metileno de distancia del ciclobutano.

Como se ha comentado en la introducción, en la bibliografía se encuentran numerosos ejemplos de hidrogenación de olefinas aquirales, pero son pocos los casos en los cuales los sustratos a hidrogenar son quirales. Es por este motivo que en el presente trabajo se llevó a cabo un estudio de hidrogenación de DHAAs quirales con catalizadores de distinta naturaleza.

Los catalizadores utilizados en esta Tesis para llevar a cabo la reducción del doble enlace son muy diversos, habiéndose usado catalizadores en fase heterogénea (Pd/C) y catalizadores en fase homogénea, entre los cuales el catalizador de Wilkinson, [RhCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>], contiene ligandos aquirales y Chiraphos y Duphos contienen ligandos quirales.

#### 4.1. Condiciones experimentales de hidrogenación para cada uno de los catalizadores utilizados.

Se estudiaron las condiciones óptimas para la hidrogenación con cada catalizador.

En el caso de usar **Pd/C 10%** las condiciones han sido en todos los casos: 1mmol de alqueno/125 mg de catalizador, usando etanol como disolvente, a una presión de hidrógeno de 60 psi (4 atm) y a temperatura ambiente. El tiempo de reacción es variable, dependiendo del sustrato a hidrogenar, oscilando entre 4 horas y 4 días.

En los casos de hidrogenación en los cuales se usa el catalizador de **Wilkinson** (**[RhCl(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]**), se halló que las condiciones idóneas para conseguir la total reducción del doble enlace son: 1 mmol alqueno/35 mg de catalizador, en una mezcla 1:1 de benceno/etanol, a una presión de hidrógeno de 60 psi (4 atm) y 11 días de reacción en todos los casos. A tiempos menores se observa una reducción parcial del doble enlace.

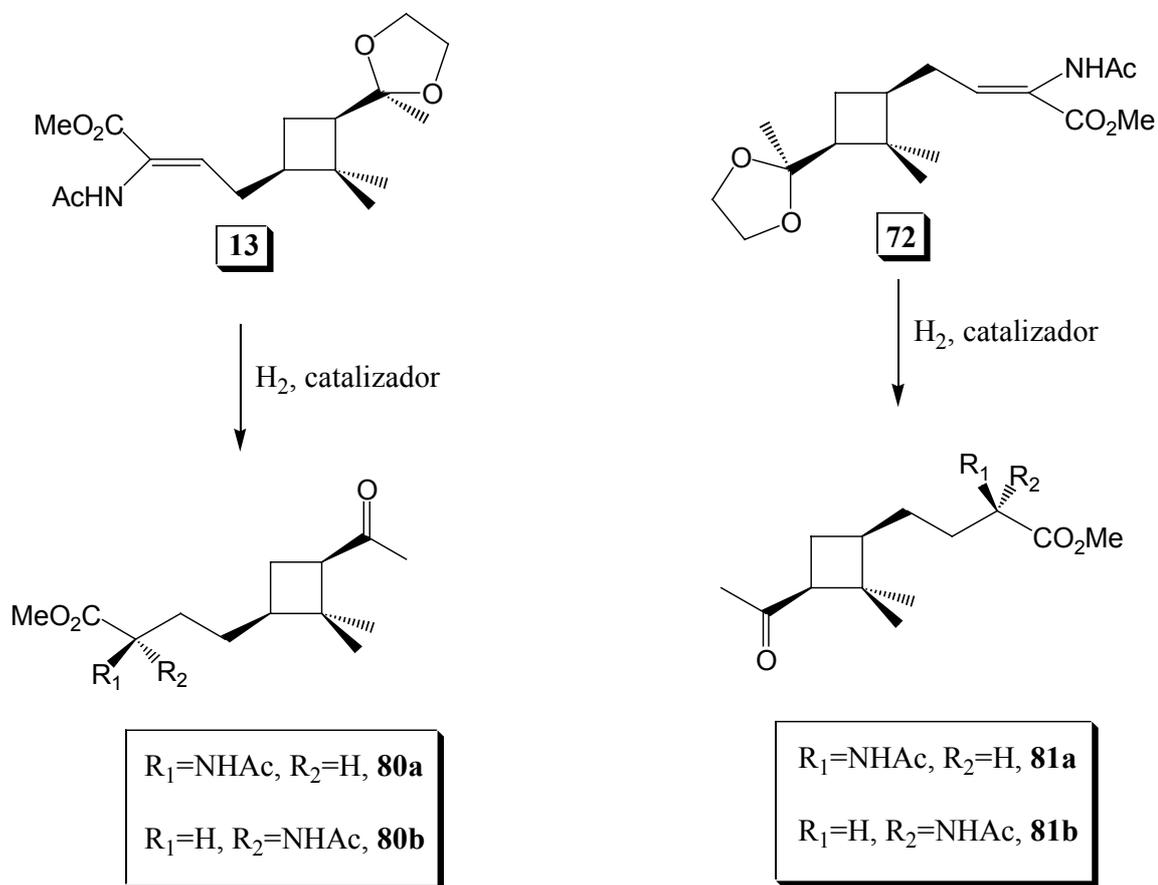
Las condiciones de la hidrogenación con el catalizador quirral **Rh[(S,S)-Chiraphos](NBD)]ClO<sub>4</sub>** fueron en todos los casos: 1mmol de alqueno/15 mg de catalizador, en etanol como disolvente, a 4 atmósferas de presión de hidrógeno y a temperatura ambiente. El tiempo de reacción en todos los casos fue de 3 días. En ningún caso se produce la hidrogenólisis del grupo Cbz.

Por último, con los catalizadores de la familia del Duphos (**[(COD)Rh((R,R)-Et-DuPHOS)]OTf**, **[(COD)Rh((S,S)-Et-DuPHOS)]OTf** ó **[(COD)Rh((R,R)-Me-DuPHOS)]OTf**) las condiciones de reacción fueron: 1mmol de alqueno/24 mg de catalizador, en MeOH como disolvente, a una presión de hidrógeno de 2 atm y a temperatura ambiente. El tiempo de reacción necesario para la total reducción del doble enlace fue en todos los casos de 24 horas. En ningún caso se produce la hidrogenólisis del grupo Cbz.

#### 4.2. Estudio de hidrogenación de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos obtenidos a partir de (-)- $\alpha$ -pineno y (+)- $\alpha$ -pineno.

En el capítulo 3 se comentó la síntesis de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos ciclobutánicos enantioméricos **13** y **72**, a partir de (-)- $\alpha$ -pineno y (+)- $\alpha$ -pineno,

respectivamente. Así pues, se ensayó la hidrogenación de **13** y **72** con distintos catalizadores. Los aminoácidos obtenidos se muestran en el **Esquema 26**:



En todos los casos de hidrogenación ensayados se produce la eliminación del acetal, pero no se observa epimerización 1',3'-*trans*. Los resultados obtenidos en los diversos ensayos de hidrogenación se muestran en la **Tabla 2**.

Las relaciones diastereoisoméricas mostradas en la **Tabla 2** han sido determinadas en base a la integración del/os metil/os  $\text{CH}_{3cis}$  y  $\text{CH}_{3trans}$  en posición 2' del anillo ciclobutánico observados en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la mezcla. La asignación de las configuraciones absolutas se verá en el apartado **4.4.1**.

**Tabla 2:** Resultados de la hidrogenación de **13** y **72** con distintos catalizadores.

Entrada	Sustrato	Catalizador	Producto mayoritario	Rdto.	Config. absoluta <sup>a</sup>	Rel. diast.
1	13	Pd/C 10% <sup>b</sup>	80a/80b	89%	<i>R/S</i>	50/50 <sup>c</sup>
2	13	Wilkinson	80a/80b	80%	<i>R/S</i>	50/50 <sup>c</sup>
3	13	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	80a	82%	<i>R</i>	96/4 <sup>d</sup>
4	13	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	80a	90%	<i>R</i>	>99.5/0.5 <sup>d</sup>
5	13	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	80b	89%	<i>S</i>	>99.5/0.5 <sup>d</sup>
6	72	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	81a	81%	<i>R</i>	85/15 <sup>d</sup>
7	72	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	81a	92%	<i>R</i>	>99.5/0.5 <sup>d</sup>
8	72	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	81b	90%	<i>S</i>	>99.5/0.5 <sup>d</sup>

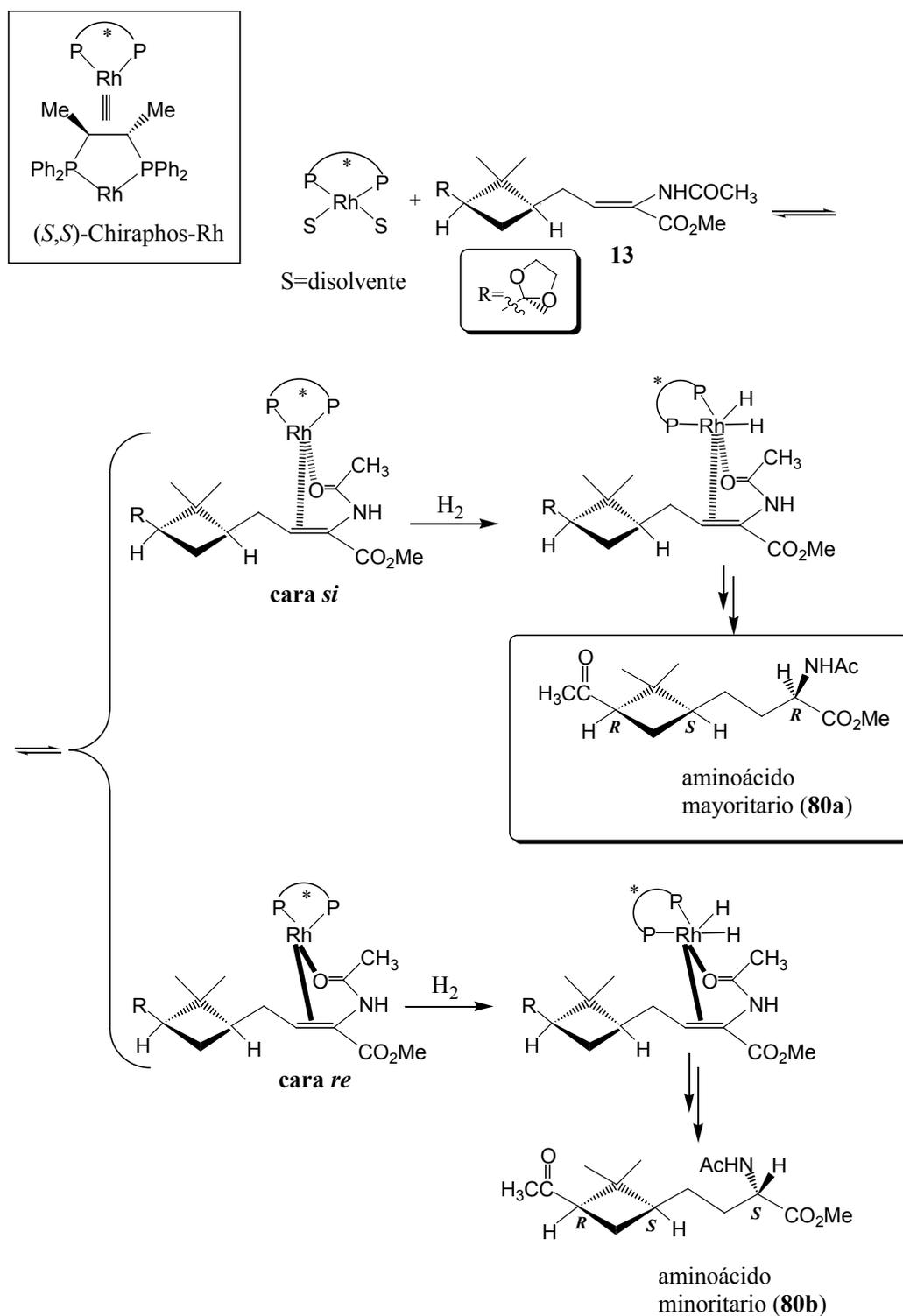
<sup>a</sup> Diastereoisómero mayoritario; <sup>b</sup> 4 días de reacción; <sup>c</sup> Determinado por RMN <sup>1</sup>H (250 MHz);

<sup>d</sup> Determinado por RMN <sup>1</sup>H (500 MHz).

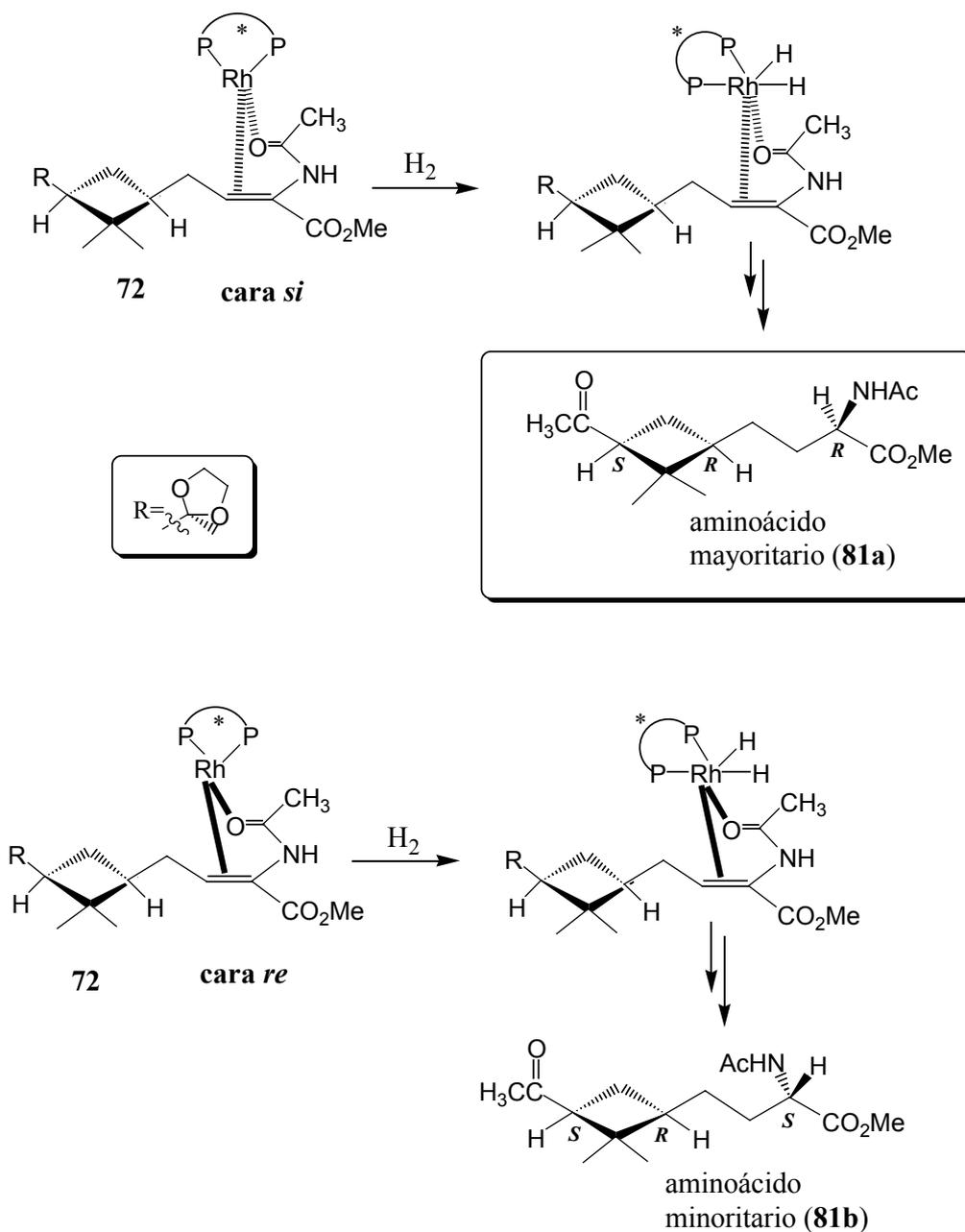
Como puede verse en la tabla, cuando el doble enlace no está directamente unido al anillo ciclobutánico, como es el caso de la olefina **13**, los centros estereogénicos del ciclobutano quedan muy alejados y lo que es más importante, la presencia de un metileno entre el doble enlace y el anillo aumenta la libertad conformacional, por lo que un catalizador no quirral (Wilkinson o Pd/C) ya sea voluminoso o no, no permite la discriminación facial, y se obtiene así una mezcla de diastereoisómeros prácticamente en relación 1:1.

En los casos de utilización de catalizadores quirales, se ha observado una diastereoselección  $\pi$ -facial elevada. Así por ejemplo, y como puede verse en la **Tabla 2**, la hidrogenación de los dos enantiómeros **13** y **72** (entradas 3 y 6) con (*S,S*)-Chiraphos conduce a la obtención de dos aminoácidos mayoritarios con configuración absoluta *R* en C<sub>2</sub>. Por lo tanto, en ambos casos se cumple el mecanismo de Halpern y el catalizador determina la estereoselectividad del proceso. La extrapolación del mecanismo de Halpern

(apartado 1.5.2., capítulo 1) a la hidrogenación de las enamidas **13** y **72** se muestra en el **Esquema 27** y en el **Esquema 28**.



**Esquema 27**



**Esquema 28**

Como muestran estos esquemas, los aminoácidos mayoritarios **80a** y **81a** provienen de la adición de H<sub>2</sub> por la cara C<sub>2</sub>-*si* del doble enlace de la olefina de partida.

En la hidrogenación de **13** con (*S,S*)-Chiraphos la relación diastereoisomérica obtenida es de 96/4, superior a la obtenida en el caso de hidrogenar **72** con el mismo catalizador (85/15). En base a estos resultados, parece ser que existe una doble inducción de

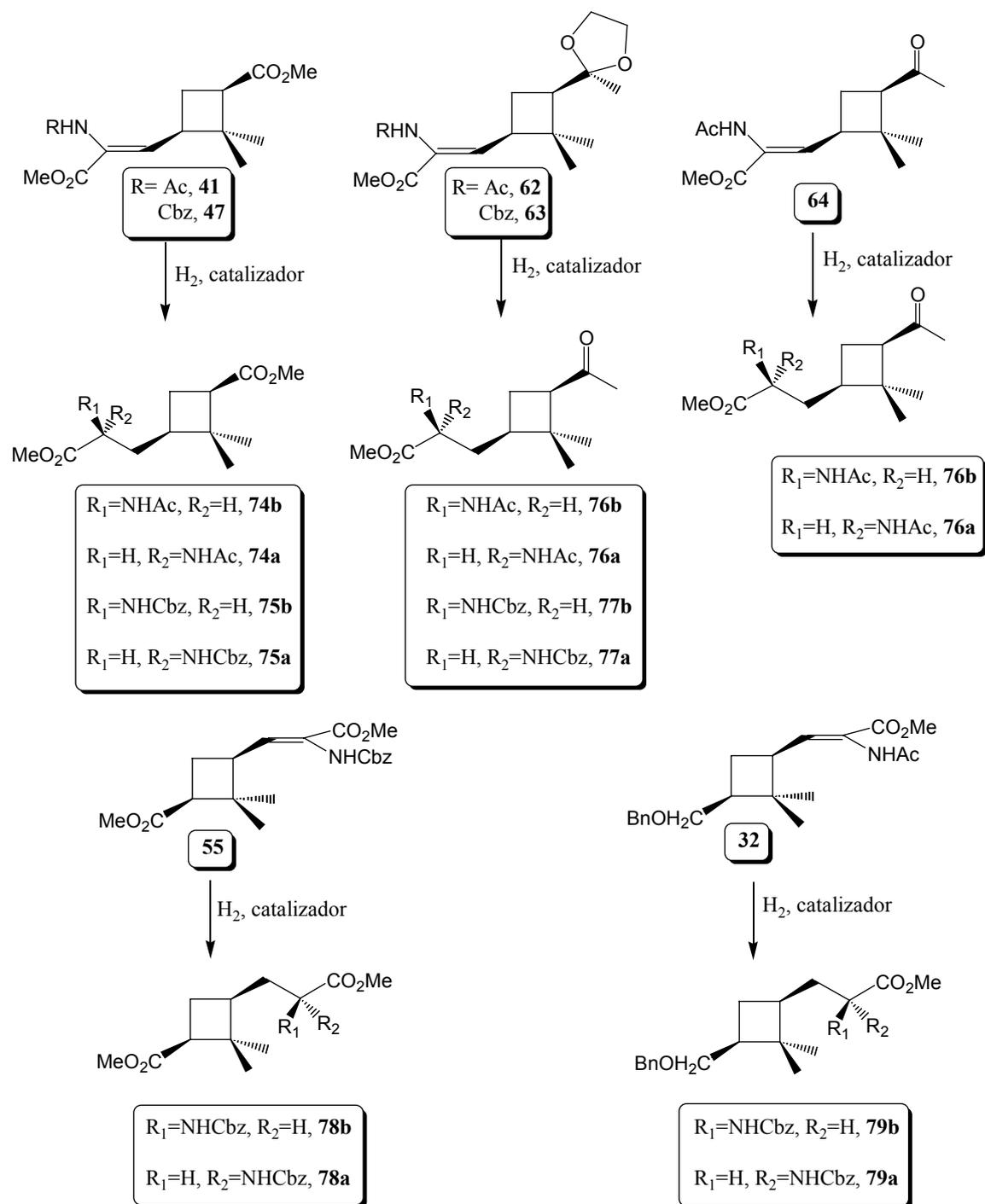
asimetría, por parte del catalizador y de la olefina, en la hidrogenación de **13** con (*S,S*)-Chiraphos, mientras que con **72** el efecto sería el contrario. Estos resultados indican que aún estando los centros estereogénicos alejados del doble enlace, una de las caras sigue estando más favorecida estéricamente, en el caso de utilizar (*S,S*)-Chiraphos como catalizador.

En cambio, en todos los casos de hidrogenación de los enantiómeros **13** y **72** con los catalizadores del tipo Duphos se ha observado, por RMN  $^1\text{H}$  de 500 MHz, la formación de un único aminoácido. En los casos de utilización de (*R,R*)-Et-Duphos el aminoácido obtenido presenta configuración absoluta *R* en  $\text{C}_2$ , mientras que con (*S,S*)-Et-Duphos se obtiene el aminoácido de configuración absoluta *S*. Así pues, con los catalizadores del tipo Duphos, el efecto predominante y único en la inducción de asimetría es la quiralidad del catalizador.

### **4.3. Estudio de hidrogenación de $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos obtenidos a partir de (-)-verbenona.**

#### **4.3.1. Resultados de la hidrogenación de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos con configuración del doble enlace *Z*.**

Se presentarán en este apartado los resultados obtenidos en las hidrogenaciones de las diferentes olefinas con configuración del doble enlace *Z*, sintetizadas según se describe en el capítulo 3, con cada uno de los catalizadores. Los  $\alpha$ -aminoácidos saturados resultantes se muestran en el **Esquema 29**:



**Esquema 29**

Como ya se comentó en el capítulo 3, las olefinas **41**, **47**, **62**, **63** y **64** tienen la misma quiralidad. En cambio, **55** y **32** poseen quiralidad inversa a las anteriores. Este

hecho será clave, como se comentará a continuación, en los resultados obtenidos tras utilizar los diversos catalizadores.

Se recogen en la **Tabla 3** los resultados de la hidrogenación de los DHAAs **41**, **47**, **62**, **63** y **64**, de igual quiralidad, mostrados en el **Esquema 29**. En la **Tabla 4** se muestran los resultados obtenidos en la hidrogenación de las olefinas **32** y **55**, de igual quiralidad entre ellas, pero con quiralidad inversa a las mostradas en la **Tabla 3**.

Las relaciones diastereoisoméricas mostradas en la **Tabla 3** y la **Tabla 4** han sido determinadas en base a la integración de las señales del/os metil/os  $\text{CH}_{3\text{cis}}$  y  $\text{CH}_{3\text{trans}}$  en posición 2' del anillo ciclobutánico observados en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la mezcla.

La determinación de la configuración absoluta del diastereoisómero mayoritario obtenido en cada caso se comentará en el apartado **4.4.2**.

Cabe destacar, en primer lugar, que la hidrogenación de la olefina **62** con cualquiera de los catalizadores utilizados, produce la eliminación total o parcial del sistema dioxolánico, lo cual favorece una parcial isomerización del centro estereogénico en posición  $\alpha$  de la metil cetona resultante, dificultando la determinación de los excesos isoméricos en el producto. Por otro lado, se observa que al hidrogenar la olefina **64** con cualquiera de los catalizadores ensayados no tiene lugar tal epimerización, siendo posible la determinación de la relación diastereoisomérica de la mezcla obtenida. La olefina **63** es análoga a **62** pero contiene la función amino protegida en forma de carbamato de bencilo. En todas las hidrogenaciones de **63** ensayadas se observa la eliminación del acetal, pero en este caso no se produce isomerización 1',3'-*trans*, por lo que los excesos diastereoisoméricos (*ed*) han podido ser determinados sin ningún problema.

**Tabla 3:** Resultados de las hidrogenaciones de **41**, **47**, **63** y **64** con los diferentes catalizadores.

Entrada	Sustrato	Catalizador	Producto mayoritario	Rdto.	Config. absoluta <sup>a</sup>	Rel. diast.
1	41	Pd/C 10% <sup>b</sup>	<b>74a/74b</b>	85%	<i>R/S</i>	~50/50 <sup>c</sup>
2	41	Wilkinson	<b>74a</b>	90%	<i>R</i>	75/25 <sup>c</sup>
3	41	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<b>74a</b>	87%	<i>R</i>	95/5 <sup>c</sup>
4	41	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<b>74a</b>	90%	<i>R</i>	85/15 <sup>c</sup>
5	47	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<b>75a</b>	85%	<i>R</i>	90/10 <sup>d</sup>
6	47	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<b>75a</b>	88%	<i>R</i>	88/12 <sup>d</sup>
7	47	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	<b>75b</b>	80%	<i>S</i>	80/20 <sup>d</sup>
8	47	( <i>R,R</i> )-Me-Duphos	<b>75a</b>	81%	<i>R</i>	78/22 <sup>d</sup>
9	64	Pd/C 10% <sup>b</sup>	<b>76a/76b</b>	80%	<i>R/S</i>	~50/50 <sup>d</sup>
10	64	Wilkinson	<b>76a</b>	85%	<i>R</i>	80/20 <sup>d</sup>
11	64	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<b>76a</b>	85%	<i>R</i>	83/17 <sup>c</sup>
12	64	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<b>76a</b>	95%	<i>R</i>	80/20 <sup>c</sup>
13	63	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<b>77a</b>	85%	<i>R</i>	87/13 <sup>d</sup>
14	63	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<b>77a</b>	88%	<i>R</i>	85/15 <sup>d</sup>
15	63	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	<b>77b</b>	87%	<i>S</i>	80/20 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Diastereoisómero mayoritario; <sup>b</sup> Tiempo de reacción de 4 horas. <sup>c</sup> Determinado por RMN <sup>1</sup>H (250 MHz); <sup>d</sup> Determinado por RMN <sup>1</sup>H (500 MHz).

**Tabla 4:** Resultados de las hidrogenaciones de **55** y **32** con los diferentes catalizadores.

Entrada	Sustrato	Catalizador	Producto mayoritario	Rdto.	Config. absoluta <sup>a</sup>	Rel. diast.
1	32	Wilkinson	79b	88%	<i>S</i>	77/23 <sup>b</sup>
2	32	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	79b	81%	<i>S</i>	68/32 <sup>b</sup>
3	55	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	78b	80%	<i>S</i>	90/10 <sup>c</sup>
4	55	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	78a	83%	<i>R</i>	83/17 <sup>c</sup>
5	55	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	78b	79%	<i>S</i>	90/10 <sup>c</sup>
6	55	( <i>R,R</i> )-Me-Duphos	78a	78%	<i>R</i>	76/24 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Diastereoisómero mayoritario; <sup>b</sup> Determinado por RMN <sup>1</sup>H (250 MHz); <sup>c</sup> Determinado por RMN <sup>1</sup>H (500 MHz).

Como puede observarse en la **Tabla 3**, en la hidrogenación catalítica heterogénea con paladio sobre carbón de las olefinas **41** y **64** (entradas 1 y 9) no se induce ninguna estereoselectividad, ya que se obtienen en los dos casos mezclas de diastereoisómeros en una relación prácticamente 1:1. Condiciones de catálisis heterogénea, por tanto, no permiten discriminar entre las dos caras de la olefina, obteniéndose mezclas diastereoisoméricas.

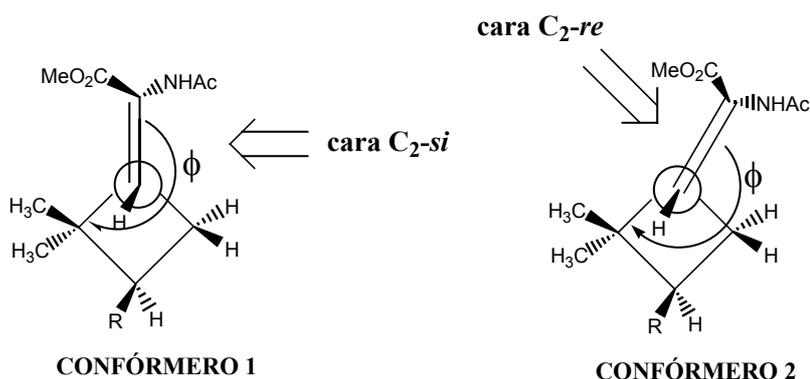
En contraste, el catalizador de Wilkinson permite inducir diastereoselectividad facial en la adición de hidrógeno. Como se ha mencionado anteriormente, el catalizador de Wilkinson es un catalizador aquiral, pero muy voluminoso, por lo tanto se coordinará a la olefina y adicionará el H<sub>2</sub> por la cara menos impedida estéricamente. En las olefinas **41**, **64** y **32**, dado que poseen el doble enlace directamente unido al anillo ciclobutánico, la congestión estérica es importante, viéndose así una de las caras de la olefina menos impedida para la coordinación del catalizador de Wilkinson, y por tanto, para la adición de hidrógeno. Así, la hidrogenación de **41** y **64** con Wilkinson conduce a un diastereoisómero

mayoritario con configuración *R* (**Tabla 3**, entradas 2 y 10), mientras que se obtiene el diastereoisómero *S* mayoritariamente en la hidrogenación de **32** (**Tabla 4**, entrada 1).

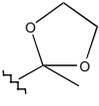
Lo mismo sucede al utilizar el catalizador quirral (*S,S*)-Chiraphos en la hidrogenación de **41**, **47**, **63**, **64** (de igual quiralidad) y **32**, **55** (de quiralidad inversa a las anteriores). Con **41**, **47**, **63** y **64** el diastereoisómero mayoritario contiene configuración *R*, mientras que con **32** y **55** es *S* la configuración absoluta del C<sub>2</sub>, produciéndose pues la adición de H<sub>2</sub> por la cara menos impedida de la olefina (compárense las entradas 3, 5, 11 y 13 en **Tabla 3** con entradas 2 y 3 en **Tabla 4**).

De acuerdo con el mecanismo propuesto por Halpern (ver capítulo 1), en la hidrogenación de  $\alpha$ -enamidas acquirales de configuración *Z* con (*S,S*)-Chiraphos, se debería obtener de forma mayoritaria un aminoácido saturado con configuración *R* en el centro estereogénico formado. Así pues, en el caso de hidrogenar enamidas quirales, como las aquí estudiadas, (*S,S*)-Chiraphos no sigue el mecanismo de Halpern y actúa como un catalizador acquiral siendo, por tanto, la olefina la que gobierna la estereoselectividad del proceso.

Con el fin de establecer preferencias conformacionales que pudieran llevar a un comportamiento diferente de estos sustratos y establecer qué cara de las olefinas está menos impedida estéricamente, Elena García Expósito, en su Tesis Doctoral, desarrolló un estudio teórico utilizando el método de la teoría del funcional de la densidad, variando el sustituyente en la posición 3' sobre un modelo de olefina en el cual el doble enlace está unido al anillo ciclobutánico y con configuración *R* en los centros estereogénicos del ciclobutano. Los resultados se muestran en la **Tabla 5**:



**Tabla 5:** Ángulo diedro  $\phi$  y  $\Delta E$  calculados<sup>(a)</sup> para las conformaciones de mínima energía, **1** y **2** para diferentes sustratos.

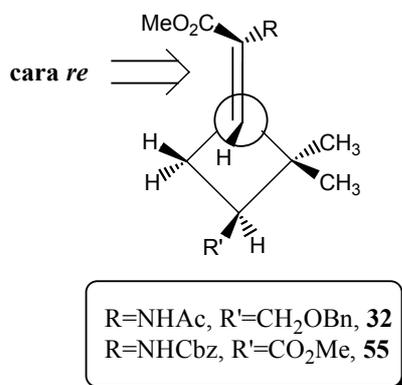
	Confórmero 1 $\phi$ (grados)	Confórmero 2 $\phi$ (grados)	$\Delta E_{(2-1)}$ (kcal/mol)
<b>R</b>			
<b>H</b>	237	165	0.23
<b>H<sub>3</sub>CO-CO-</b>	238	173	0.51
<b>H<sub>3</sub>C-CO-</b>	238	166	0.63
	223	176	0.78

(a) **Método de cálculo:** BPW91 (Funcional de intercambio de Becke y correlación de Perdew y Wang del 91) **Base:** 6-31G\*

En relación al sustituyente R en posición 3', los cálculos indican que la presencia de cualquiera de los grupos  $R \neq H$  mostrados en la tabla incrementa todavía más la preferencia al ataque por la cara *si* ya que, como puede observarse, la diferencia energética entre las dos conformaciones más estables **1** y **2** es mayor que en el caso de  $R=H$ . Estos resultados confirman que la cara más favorecida para el ataque es la cara  $C_2$ -*si* (según muestra el confórmero **1** representado), opuesta a la agrupación *gem*-dimetilo, mostrándose así concordancia respecto a los resultados obtenidos experimentalmente tanto en el caso de

usar el catalizador de Wilkinson como (*S,S*)-Chiraphos. Así, el conformero **1** es predominante. Por último, es de destacar que, según los cálculos teóricos, la olefina en la que R es un grupo dioxolánico, presentará mayor selectividad facial, ya que muestra la diferencia energética mayor entre los dos conformeros. Cuando los sustituyentes son un grupo éster o un grupo acetilo, el valor de  $\Delta E$  es muy similar, pero es superior en el caso de la olefina con un grupo acetilo. Esto significaría que la diastereoselectividad facial para la olefina **64** (R=CH<sub>3</sub>CO-), debería ser superior a la olefina **41** (R=CH<sub>3</sub>O-CO-), lo que experimentalmente no se cumple, ya que los excesos diastereoisoméricos en el caso de la utilización del catalizador Chiraphos son mayores con la olefina **41**. Una explicación de estos resultados sería algún tipo de coordinación adicional del catalizador con **41** que, a diferencia de **64**, incrementaría la selección de una de las caras, efecto éste no tenido en cuenta en el cálculo.

Así pues, si para las olefinas **41**, **47**, **63** y **64** la cara menos impedida es la cara C<sub>2</sub>-*si*, para las olefinas de quiralidad inversa **32** y **55** la cara que presenta menor congestión estérica, por la que se adicionará el hidrógeno, es la cara C<sub>2</sub>-*re* (**Figura 32**), tal y como se observa experimentalmente en las hidrogenaciones de estas olefinas con los catalizadores de Wilkinson y (*S,S*)-Chiraphos.



**Figura 32:** Conformación más favorecida para las olefinas **32** y **55**.

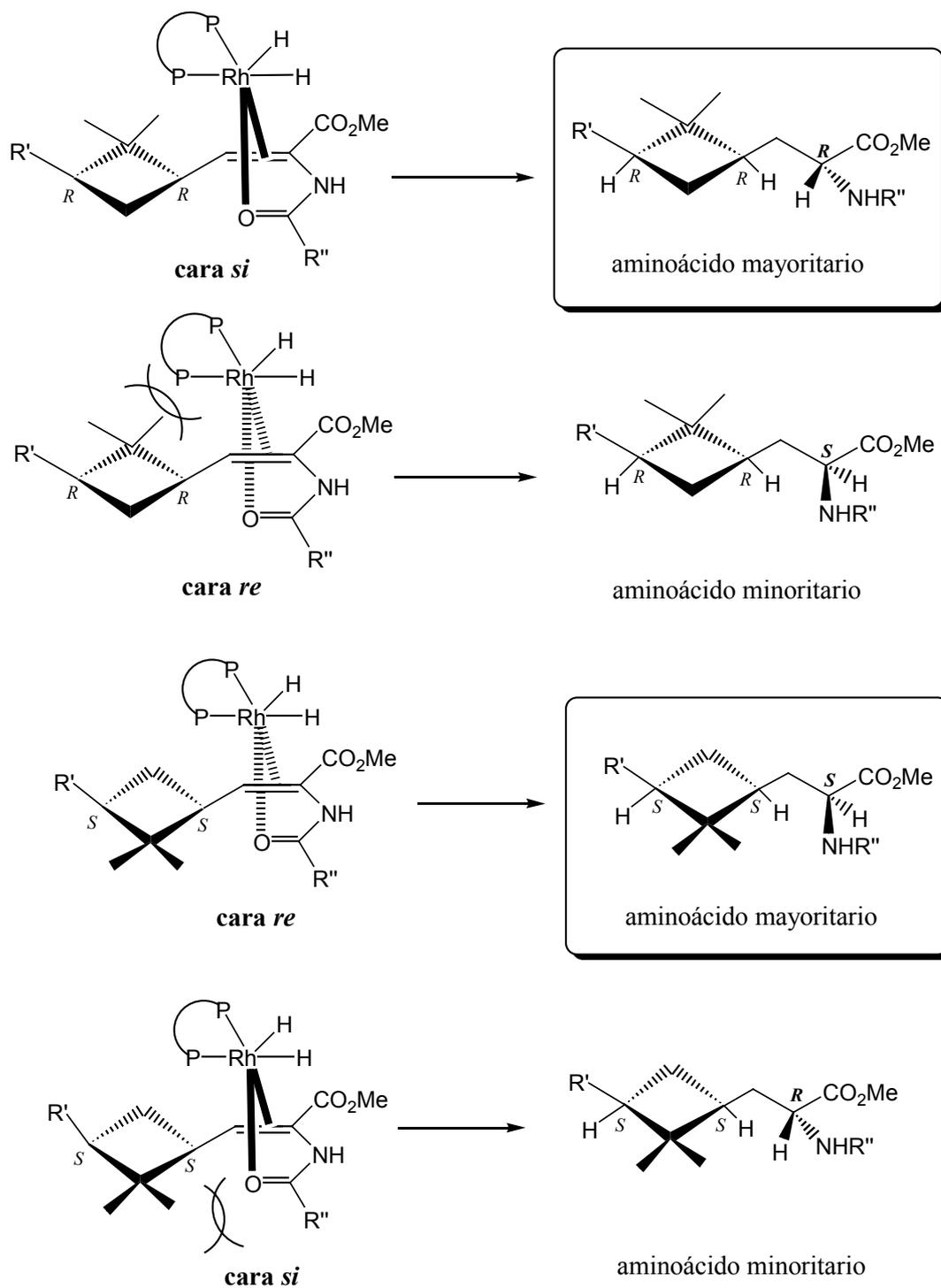
Por lo tanto, dado que (*S,S*)-Chiraphos actúa como un catalizador aquiral, las diferencias observadas en los *ed* en la hidrogenación de **32** y **55** vienen determinadas por el mayor impedimento estérico de la olefina de partida. Así, la cara C<sub>2</sub>-*re* presenta menor

congestión estérica en **55** que en **32**, en base a las relaciones diastereoisoméricas observadas (**Tabla 4**, entradas 2 y 3).

Se muestran en el **Esquema 30** los complejos diastereoisoméricos formados entre la enamida y los catalizadores (*S,S*)-Chiraphos o Wilkinson, así como los aminoácidos obtenidos en la hidrogenación de las olefinas de quiralidad (*R,R*) y (*S,S*) en el anillo de ciclobutano, en base a los resultados observados con estos catalizadores y las conclusiones extraídas de los cálculos teóricos.

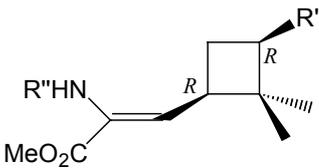
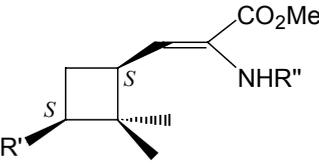
Tal y como se comentó en el capítulo 1, en los catalizadores del tipo Duphos, es posible variar el volumen de los sustituyentes en las posiciones 2,5 del anillo de fosfolano con el fin de obtener mayores *ed* en sistemas muy congestionados. Es por este motivo que en nuestro caso se utilizaron los catalizadores (*R,R*)-Et-Duphos, (*R,R*)-Me-Duphos y (*S,S*)-Et-Duphos. Como puede observarse en la **Tabla 3** y la **Tabla 4**, el aminoácido mayoritario obtenido en la reducción de cualquiera de las olefinas con (*R,R*)-Et-Duphos o (*R,R*)-Me-Duphos tiene configuración *R* en C<sub>2</sub>, mientras que en los casos de utilizar (*S,S*)-Et-Duphos se crea un centro estereogénico de configuración absoluta *S*. Por tanto, esta diferencia es clave si comparamos estos resultados con los obtenidos con (*S,S*)-Chiraphos, ya que en el caso de utilizar cualquiera de los catalizadores del tipo Duphos la configuración del centro estereogénico formado es la inducida por el catalizador incluso, como es nuestro caso, al hidrogenar olefinas ópticamente activas muy congestionadas.

El **Esquema 31** muestra un resumen de la configuración absoluta resultante de la hidrogenación de las diferentes olefinas sintetizadas a partir de (-)-verbenona y los catalizadores de Wilkinson, (*S,S*)-Chiraphos, (*R,R*)-Et-Duphos, (*S,S*)-Et-Duphos y (*R,R*)-Me-Duphos. Tal y como se observa en este esquema, con los catalizadores del tipo Duphos se obtiene el aminoácido mayoritario con la configuración dictada por el catalizador, gobernando éste, por tanto, la diastereoselectividad del proceso. Así, con los catalizadores del tipo Duphos se cumpliría el mecanismo propuesto por Halpern, a diferencia, como se ha mencionado anteriormente, de lo que sucede con (*S,S*)-Chiraphos y Wilkinson, siendo en estos últimos casos la olefina la que gobierna.



Catalizador: (*S,S*)-Chiraphos o Wilkinson

**Esquema 30**

	<u>Catalizador</u>	<u>Configuración absoluta</u> <u>(diast. mayoritario)</u>
	Wilkinson	<i>R</i>
	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<i>R</i>
	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<i>R</i>
	( <i>R,R</i> )-Me-Duphos	<i>R</i>
	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	<i>S</i>
	Wilkinson	<i>S</i>
	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<i>S</i>
	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<i>R</i>
	( <i>R,R</i> )-Me-Duphos	<i>R</i>
	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	<i>S</i>

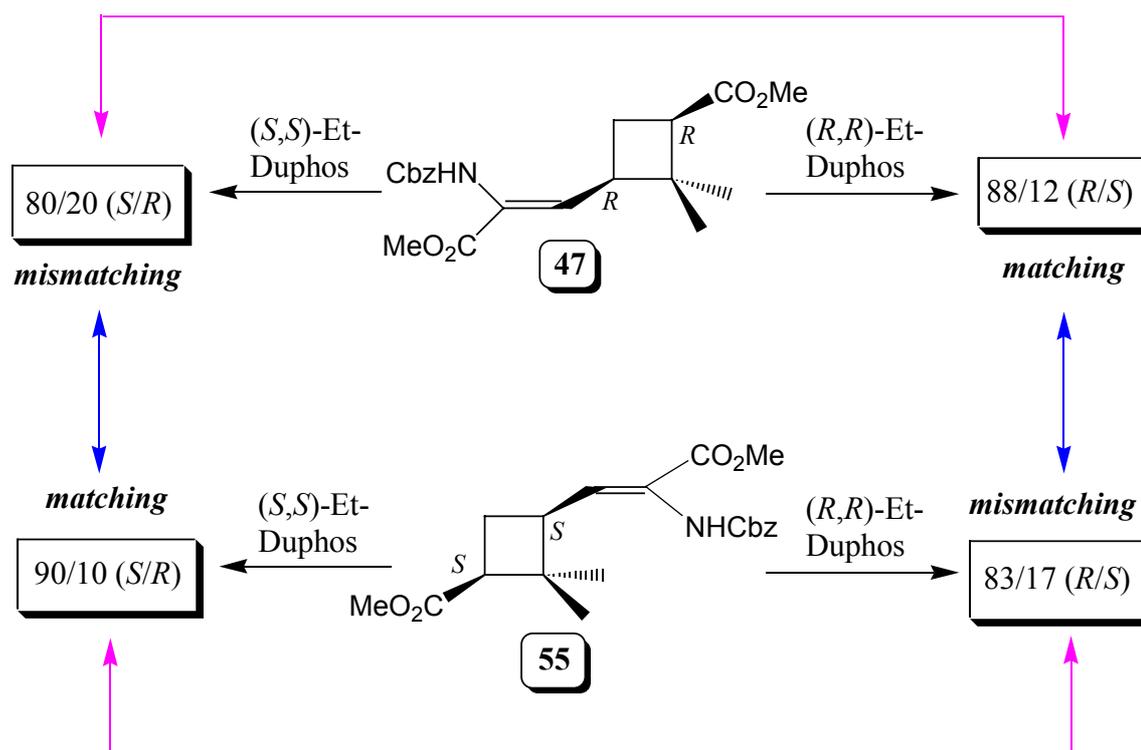
**Esquema 31**

Dado que los catalizadores del tipo Et-Duphos son comerciales en sus dos formas enantiopuras, se decidió realizar un estudio de hidrogenación de las dos olefinas enantioméricas **47** y **55** con estos catalizadores, con el fin de establecer si se daban efectos de *matching-mismatching*. En el **Esquema 32** se muestran los resultados obtenidos.

Tal y como se comentó en el capítulo 1, para poder hablar de *matching-mismatching* es indispensable que se forme mayoritariamente un centro estereogénico cuya configuración absoluta sea la inducida por el catalizador utilizado, siendo el caso *matching* o de doble inducción asimétrica en el que se da un *ed* mayor. En todos los casos en los que se han utilizado los catalizadores del tipo Duphos, la diastereoselectividad ha sido la dictada por el catalizador. Como puede verse en el **Esquema 32**, la olefina **47** con el catalizador (*R,R*)-Et-Duphos conduce a un mayor *ed* que el observado con el (*S,S*)-Et-Duphos, lo que significa que en la hidrogenación de **47** con (*R,R*)-Et-Duphos existe un efecto cooperativo entre la quiralidad del catalizador y la quiralidad de la olefina, o *matched-pair*, mientras que con el (*S,S*)-Et-Duphos el efecto es contrario y por lo tanto sería el caso de *mismatched-pair*. Cabe destacar que no es éste un caso muy marcado de *matching-mismatching*, ya que la diferencia entre las relaciones diastereoisoméricas obtenidas no es muy elevada. Es conveniente recordar que la coordinación del catalizador (*R,R*)-Et-Duphos con **47** se produce por la cara menos impedida estéricamente y por tanto se da una doble inducción de asimetría entre la quiralidad del catalizador y la quiralidad de la olefina. Al contrario sucede con (*S,S*)-Et-Duphos, que se coordina por la cara más impedida.

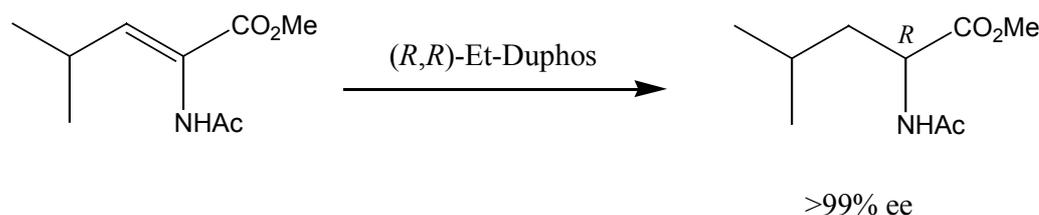
En el caso de **55**, enantiómero de **47**, el efecto es como cabía esperar el contrario, ya que el caso de doble inducción asimétrica sería el obtenido en la reducción con (*S,S*)-Et-Duphos (ya que la coordinación del catalizador se produce por la cara menos impedida de la olefina), mientras que el *mismatching* se obtiene con (*R,R*)-Et-Duphos. Así pues, al utilizar (*R,R*)-Et-Duphos el *matched-pair* se da con **47**, mientras que con (*S,S*)-Et-Duphos se produce *matching* con **55**.

Por otro lado, tal y como muestra el **Esquema 32**, si comparamos los resultados en los casos de hidrogenación de **47** y **55** con (*S,S*)-Et-Duphos, puede verse que con **55** se da una doble inducción asimétrica, mientras que con **47** el efecto es contrario. Al contrario sucede con ambos enantiómeros y el (*R,R*)-Et-Duphos, siendo el *matched-pair* el observado con **47**, y el *mismatched-pair* con **55**, aunque la diferencia no es muy elevada.


**Esquema 32**

Con la finalidad de mejorar los *ed* se pensó utilizar un catalizador de la familia del Duphos, pero que presentara menos requerimientos estéricos que el Et-Duphos. Se escogió el  $(R,R)$ -Me-Duphos, ya que el menor volumen de los sustituyentes metilo del fosfolano podría aumentar el *ed* en la hidrogenación de **47** y **55** que son olefinas muy congestionadas. Pero al usar este catalizador, se obtuvieron peores excesos que al utilizar  $(R,R)$ -Et-Duphos, siendo las relaciones diastereoisoméricas de  $78/22$ , en el caso de **47** (Tabla 3, entrada 8), y  $76/24$ , en el caso de **55** (Tabla 4, entrada 6).

Por último, se ha de comentar que los *ed* obtenidos en la hidrogenación de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos ciclobutánicos ópticamente activos, comentados a lo largo del presente capítulo, han sido inferiores a los observados en la hidrogenación de  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos aquirales, como puede verse en ejemplos encontrados en la literatura, próximos al 100%.<sup>39g,40</sup> En el Esquema 33 se muestra uno de ellos.

**Esquema 33**

El modelo propuesto por Burk para interpretar la estereoselección de los catalizadores tipo Duphos (ver apartado 1.5.1., capítulo 1) no tiene en cuenta las interacciones que puedan existir entre los grupos R del fosfolano con sustituyentes quirales y voluminosos en la posición  $\beta$  de la enamida, como es nuestro caso, que presentarán con seguridad requerimientos estéricos más complejos resultando, como consecuencia, *ed* inferiores.

#### 4.3.2. Resultados de la hidrogenación del $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácido **65**, con configuración *E* del doble enlace.

Se decidió realizar un estudio comparativo de hidrogenación de  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos ciclobutánicos ópticamente activos con estereoquímica *Z* o *E* del doble enlace, utilizando diferentes catalizadores quirales. Para ello se escogieron los sustratos **63** y **65**. Los resultados obtenidos en la hidrogenación de la olefina **63** se encuentran en la **Tabla 3**, pero se recogerán también en la **Tabla 6** para facilitar la comparación. Las relaciones diastereoisoméricas mostradas en la **Tabla 6** han sido determinadas en base a la integración de las señales del/os metil/os  $\text{CH}_{3\text{cis}}$  y  $\text{CH}_{3\text{trans}}$  en posición 2' del anillo ciclobutánico observados en el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) de la mezcla.

Antes de comentar los resultados obtenidos cabe destacar que, tal y como se decía en el capítulo 1, la estereoquímica del producto final no sólo depende de la quiralidad del catalizador, sino también de la geometría del doble enlace. Por otro lado, los resultados mostrados en el **Esquema 11** del capítulo 1 hacen referencia a hidrogenaciones de olefinas aquirales. En nuestro caso, la olefina **65-E** es ópticamente activa. Si la hidrogenación de **63**, de estereoquímica *Z*, con (*S,S*)-Chiraphos conduce a la obtención de un aminoácido mayoritario con configuración absoluta *R* (**Tabla 6**, entrada 1), la hidrogenación de **65**, de

estereoquímica *E*, con el mismo catalizador conduce mayoritariamente al aminoácido con configuración *S* (**Tabla 6**, entrada 4). Por lo tanto, en el caso de usar el catalizador (*S,S*)-Chiraphos, se seguiría el mismo mecanismo que el mostrado en el **Esquema 11** (capítulo 1). En la hidrogenación de la olefina **65** con (*S,S*)-Chiraphos no ha podido ser determinada la relación diastereoisomérica, ya que se observa en el crudo de reacción por RMN  $^1\text{H}$  la formación de otros productos, posiblemente debidos a la epimerización del hidrógeno  $\alpha$  carbonílico.

**Tabla 6:** Resultados de la hidrogenación de **63** y **65** con distintos catalizadores.

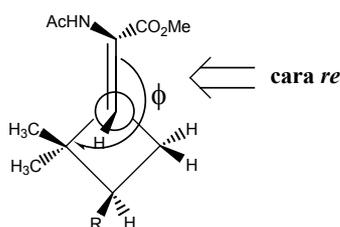
Entrada	Sustrato (config.)	Catalizador	Producto mayoritario	Rdto.	Config. absoluta <sup>a</sup>	Rel. diast.
1	<b>63</b> ( <i>Z</i> )	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<b>77a</b>	85%	<i>R</i>	87/13
2	<b>63</b> ( <i>Z</i> )	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<b>77a</b>	88%	<i>R</i>	85/15
3	<b>63</b> ( <i>Z</i> )	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	<b>77b</b>	87%	<i>S</i>	80/20
4	<b>65</b> ( <i>E</i> )	( <i>S,S</i> )-Chiraphos	<b>77b</b>	70%	<i>S</i>	b
5	<b>65</b> ( <i>E</i> )	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	<b>77a/77b</b>	74%	<i>R/S</i>	~50/50
6	<b>65</b> ( <i>E</i> )	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	<b>77b</b>	83%	<i>S</i>	87/13

<sup>a</sup> Diastereoisómero mayoritario; <sup>b</sup> No ha podido ser calculada en este caso la relación diastereoisomérica, ya que aunque en el crudo de reacción se observa mayoritariamente el aminoácido **77b**, también se observa la aparición de otros productos.

En el capítulo 1 se comentó que en la bibliografía se halla descrito que al hidrogenar mezclas de dos olefinas aquirales idénticas pero con configuración *Z* y *E* del doble enlace, con catalizadores del tipo Duphos, se obtiene el mismo aminoácido mayoritario.<sup>40b</sup> En nuestro caso, esto se cumple en el caso de utilizar (*S,S*)-Et-Duphos en la reducción tanto de **63** como de **65**, ya que se obtiene el aminoácido **77b**, de configuración *S*, de forma mayoritaria. Sorprendente fue el resultado en la hidrogenación de **65-E** con (*R,R*)-Et-Duphos (entrada 5), ya que se obtienen los aminoácidos **77a** y **77b** en una proporción

prácticamente 1:1, y no el de configuración *R*. Parece ser pues, que las conclusiones a las que Burk y col. llegaron en la hidrogenación de olefinas *E* con los catalizadores del tipo Duphos,<sup>40b</sup> no es extensible al caso de hidrogenar olefinas ópticamente activas.

Con el fin de poder racionalizar estos resultados, la Dra. Elena García-Expósito llevó a cabo un estudio teórico de las conformaciones preferentes de las olefinas *E* análogo al realizado con olefinas de configuración *Z* (ver **Tabla 5**):



**Tabla 7:** Ángulo diedro  $\phi$  calculado<sup>(a)</sup> para la conformación de mínima energía.

Confórmero predominante	
<i>R</i>	$\phi$ (grados)
H <sub>3</sub> C-CO-	240

(a) **Método de cálculo:** BPW91 (Funcional de intercambio de Becke y correlación de Perdew y Wang del 91) **Base:** 6-31G\*

Los resultados de este estudio indican, que en el caso de  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos de configuración *E* como el de la **Tabla 7**, existe una única conformación predominante, a diferencia de lo que sucedía para las olefinas *Z*, en las que existían 2 confórmeros de mínima energía, uno de los cuales era más estable. Según la conformación preferencial mostrada, el ataque se produciría por la cara *re*<sup>\*</sup>, opuesta a la agrupación *gem*-dimetilo, y obteniéndose así el aminoácido de configuración *S*. Los cálculos están de acuerdo con los resultados experimentales en los casos de utilizar los catalizadores (*S,S*)-Et-Duphos y (*S,S*)-Chiraphos conduciendo a la obtención del aminoácido con configuración *S* en el centro estereogénico creado. También estarían en concordancia con el resultado obtenido en la hidrogenación de **65** con (*R,R*)-Et-Duphos (relación diastereoisomérica

\* Proquiralidad referida a C<sub>2</sub>.

$\sim 1:1$ ), ya que en este caso el catalizador, al gobernar la estereoselectividad del proceso hacia la obtención del isómero *R*, tendrá tendencia a adicionar hidrógeno por la cara *si*, muy impedida estéricamente, razón por la cual se obtiene una proporción nula a favor del diastereoisómero *R*. Es este pues, un efecto marcado de *matching-mismatching*, siendo claramente la doble inducción de asimetría el resultado de la hidrogenación de **65** con (*S,S*)-Et-Duphos y el efecto opuesto con el catalizador (*R,R*)-Et-Duphos.

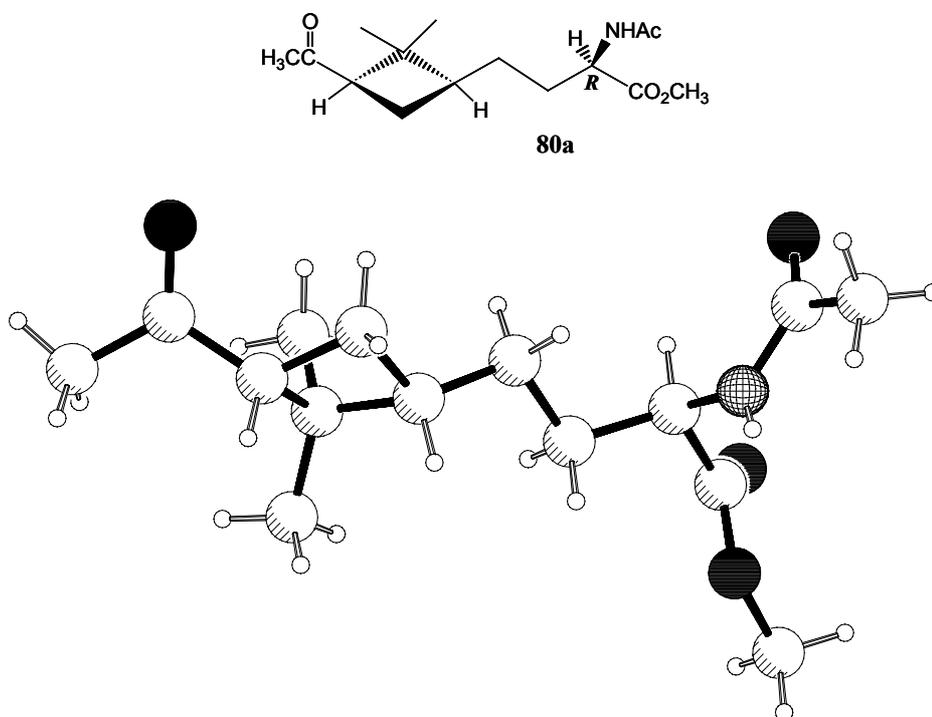
#### 4.4. Elucidación de la configuración absoluta en los aminoácidos ciclobutánicos obtenidos en los apartados 4.2. y 4.3.

##### 4.4.1. Determinación de la configuración absoluta en los aminoácidos obtenidos a partir de pineno.

Fue posible en el caso de la hidrogenación de **13** con (*S,S*)-Chiraphos la obtención de cristales adecuados, a partir de la mezcla de reacción, que permitieron el estudio por difracción de rayos X del producto mayoritario, **80a** (**Figura 33**). Como puede observarse en la **Figura 33**, es *R* la configuración absoluta del centro estereogénico generado.

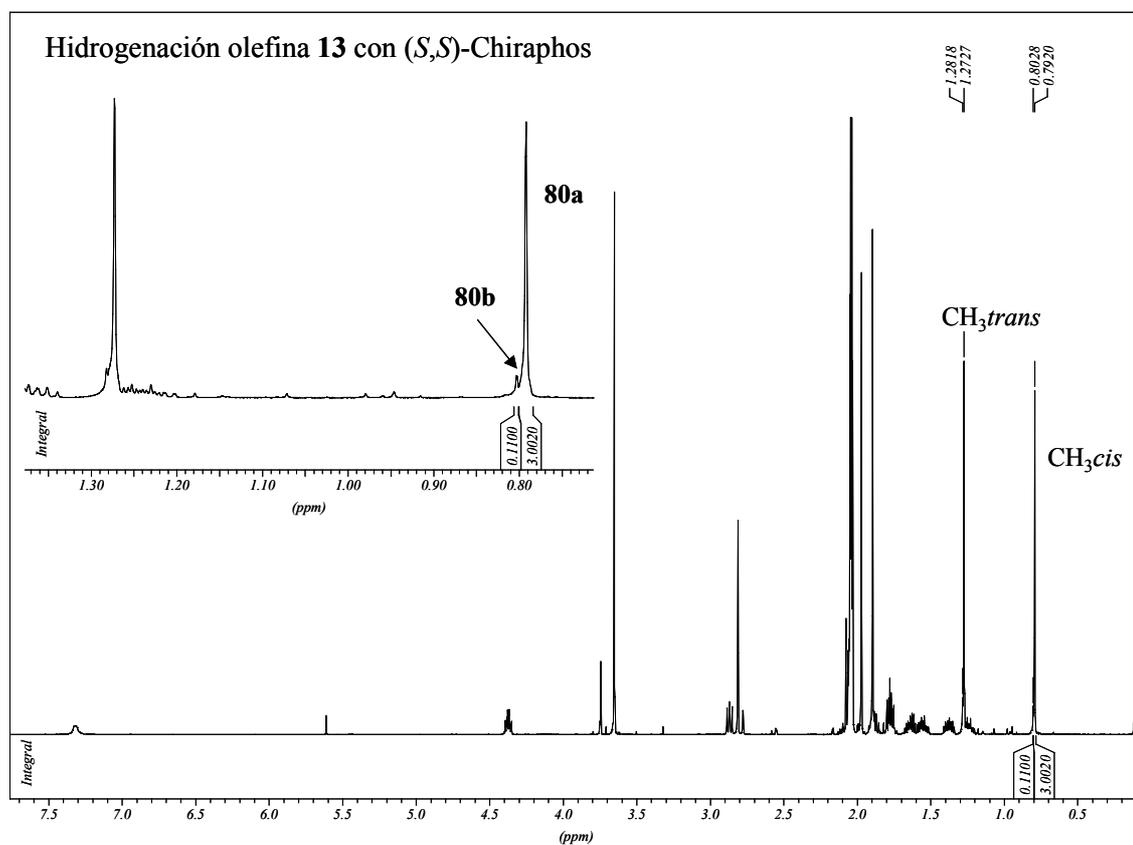
Así, la configuración absoluta de los centros estereogénicos del aminoácido **80a** es (*1'S,3'R,2R*).

En el **Espectro 4** se muestra un ejemplo de cómo se han determinado las relaciones diastereoisoméricas obtenidas en cada caso. En particular, se muestra el espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) de la mezcla de diastereoisómeros **80a/80b** obtenida en la reducción de **13** con el catalizador (*S,S*)-Chiraphos.



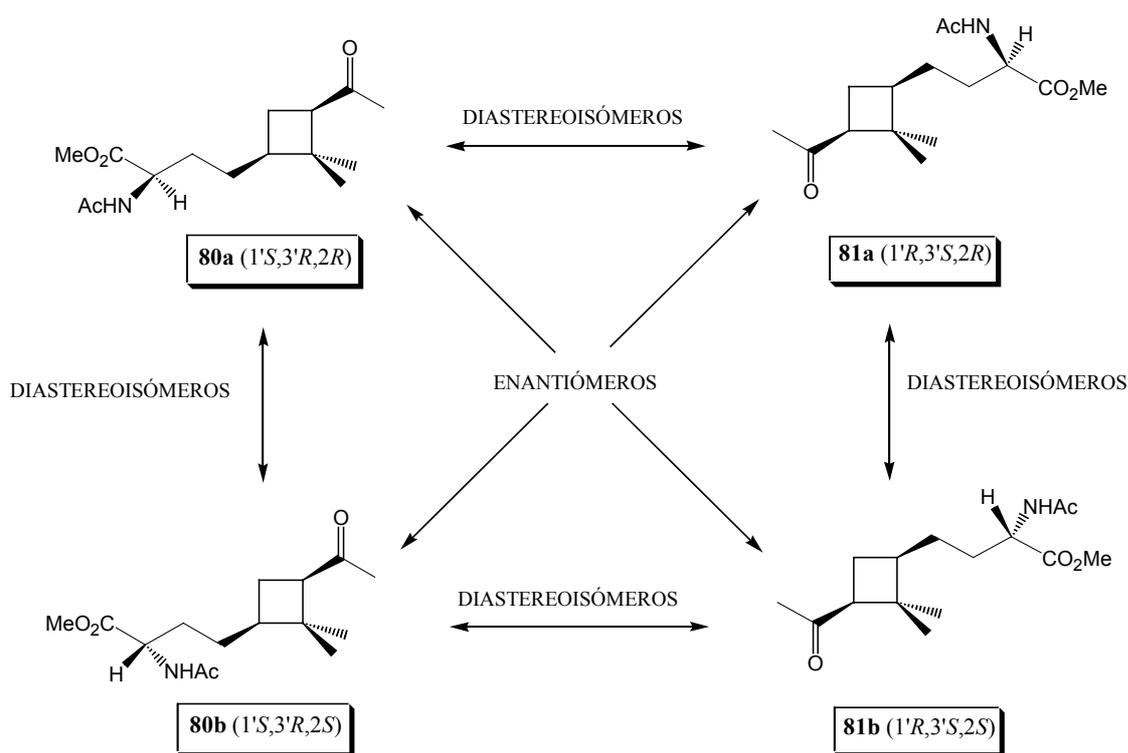
**Figura 33:** Estructura de **80a** determinada por Rayos X.

Para determinar la relación diastereoisomérica obtenida en este caso, se han integrado las señales correspondientes a los metilos en posición *cis* de ambos diastereoisómeros, **80a** y **80b**, respectivamente, siendo así la relación obtenida de 96/4. El aminoácido mayoritario obtenido en la hidrogenación de la olefina **13** con (*S,S*)-Chiraphos es **80a** (como se ha podido asignar por rayos X), por lo tanto, en el **Espectro 4** la señal correspondiente al aminoácido minoritario correspondería a **80b**, diastereoisómero de **80a** y con configuración absoluta (1'*S*,3'*R*,2*S*).



**Espectro 4:** Determinación de la relación diastereoisomérica obtenida en la hidrogenación de la olefina **13** con el catalizador (*S,S*)-Chiraphos en el espectro de RMN <sup>1</sup>H (acetona-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz).

Para poder asignar inequívocamente cuál es el aminoácido mayoritario obtenido en las hidrogenaciones de los enantiómeros **13** y **72** con cada uno de los catalizadores ensayados, es importante tener en cuenta cuál es la relación de isomería entre los aminoácidos que se pueden llegar a obtener en estas reacciones. En la **Figura 34** se muestran todos ellos.



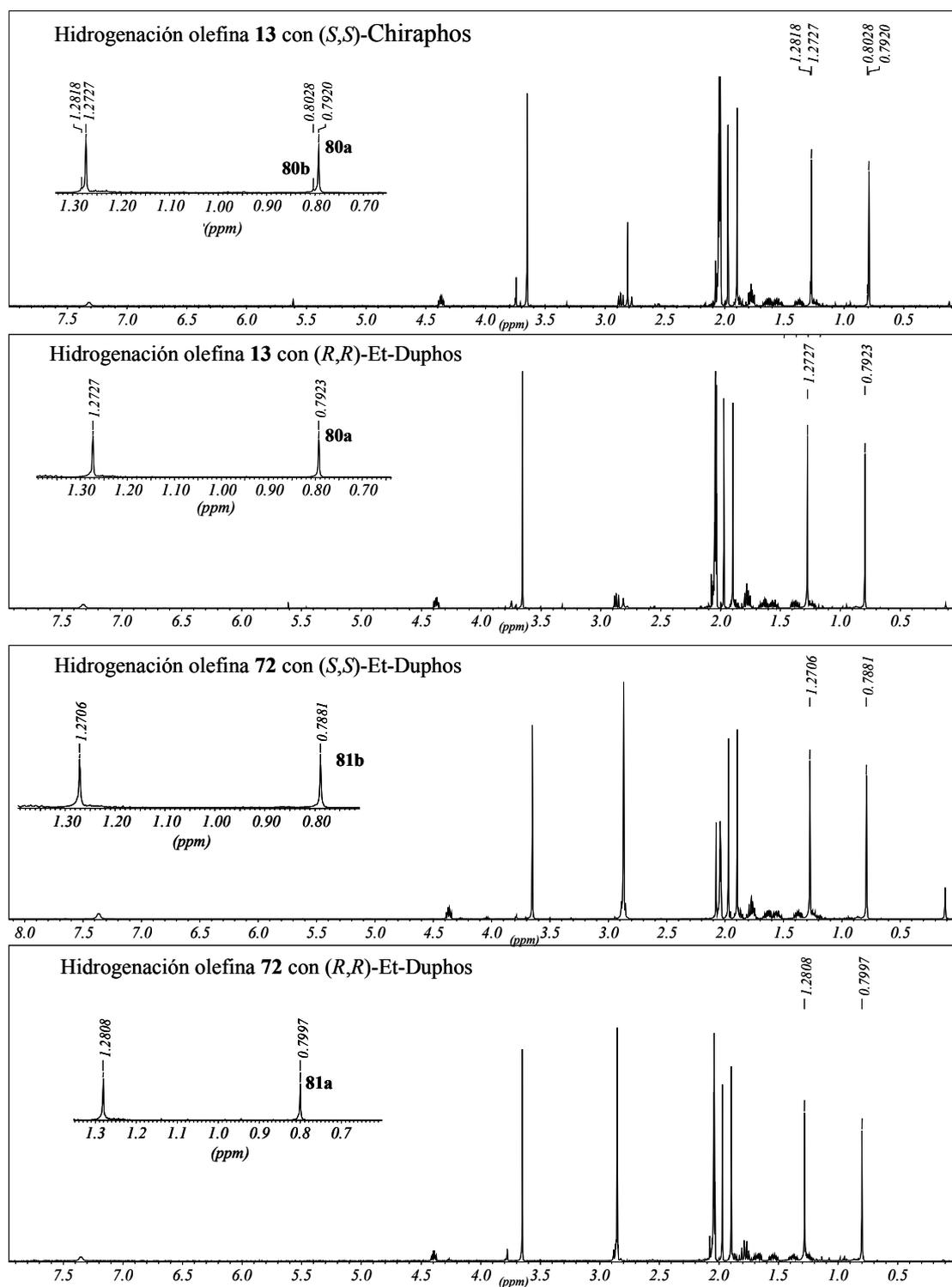
**Figura 34:** Relación de isomería entre los aminoácidos **80a**, **80b**, **81a** y **81b**.

Así, teniendo en cuenta que los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de dos enantiómeros son superponibles, mientras que los espectros de dos diastereoisómeros no coinciden, y conociendo los desplazamientos químicos de las señales de RMN  $^1\text{H}$  de los aminoácidos **80a** y **80b**, es posible asignar por RMN  $^1\text{H}$  cuál es el aminoácido mayoritario obtenido con cada catalizador. A título de ejemplo, se muestran los espectros de RMN  $^1\text{H}$  correspondientes a los crudos de reacción obtenidos en la reducción de **13** con (*S,S*)-Chiraphos y (*R,R*)-Et-Duphos, y la hidrogenación de **72** con (*S,S*)-Et-Duphos y (*R,R*)-Et-Duphos (**Figura 35**).

Como puede verse, el único aminoácido obtenido en la reacción de hidrogenación de **13** con (*R,R*)-Et-Duphos se corresponde con el aminoácido mayoritario obtenido con (*S,S*)-Chiraphos, **80a**. Por otro lado, el espectro de RMN  $^1\text{H}$  del producto de la reducción de **13** con (*R,R*)-Et-Duphos coincide con el obtenido en la hidrogenación de **72** con (*S,S*)-Et-Duphos, por lo tanto los aminoácidos producidos en cada caso deben de ser enantiómeros

entre ellos. Así pues, **81b** es el aminoácido producto de la reducción de **72** con (*S,S*)-Et-Duphos.

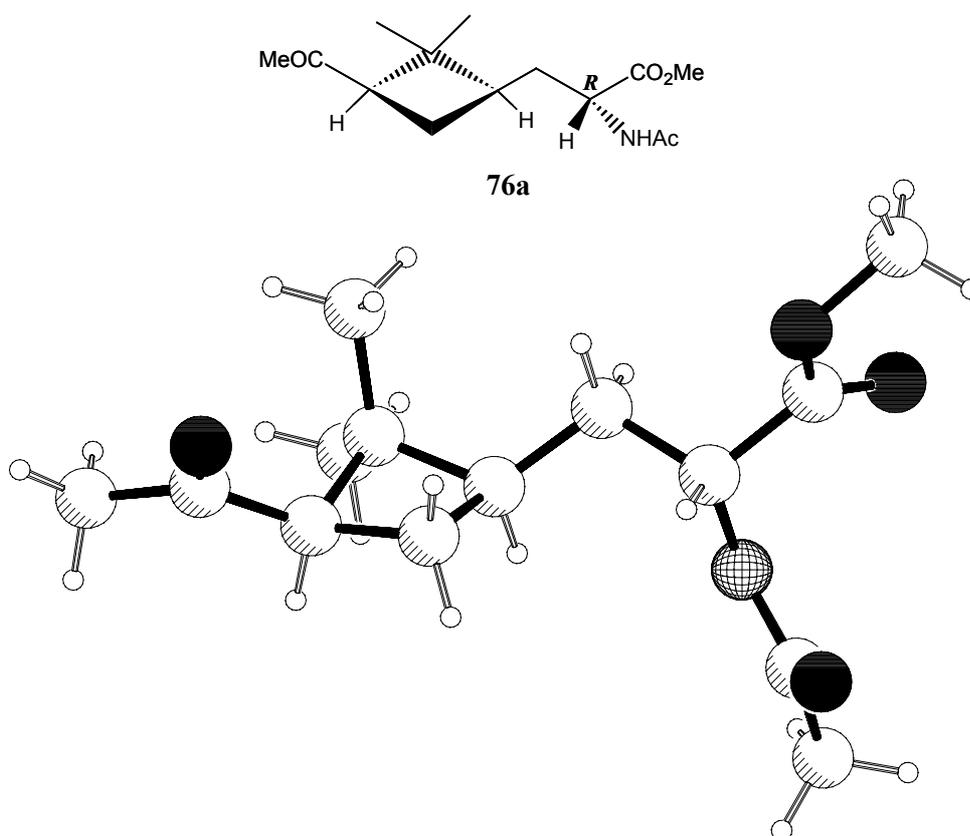
Finalmente, para deducir qué producto se forma en la hidrogenación de **72** con (*R,R*)-Et-Duphos basta comparar el espectro obtenido en este caso y, por ejemplo, el espectro de la hidrogenación de **13** con (*S,S*)-Chiraphos. El aminoácido obtenido en la hidrogenación de **72** con (*R,R*)-Et-Duphos no coincide con el aminoácido mayoritario obtenido en la reducción de **13** con (*S,S*)-Chiraphos, por lo tanto ha de existir una relación de diastereoisomería entre ellos. Así se deduce que el producto de la hidrogenación de **72** con (*R,R*)-Et-Duphos es **81a**.



**Figura 35:** Espectros de RMN <sup>1</sup>H (acetona-*d*<sub>6</sub>, 500 MHz) de los crudos de reacción correspondientes a la hidrogenación de **13** con (*S,S*)-Chiraphos y (*R,R*)-Et-Duphos, y de **72** con (*S,S*)-Et-Duphos y (*R,R*)-Et-Duphos.

#### 4.4.2. Determinación de la configuración absoluta en los aminoácidos obtenidos a partir de (-)-verbenona.

En el caso de la hidrogenación de la olefina **64** con (*S,S*)-Chiraphos pudieron obtenerse cristales adecuados para el estudio por difracción de rayos X que permitieron asignar configuración *R* al centro estereogénico C<sub>2</sub> (**Figura 36**) y por lo tanto determinar que el aminoácido mayoritario producto de esta hidrogenación es **76a**:



**Figura 36:** Estructura de **76a** determinada por Rayos X.

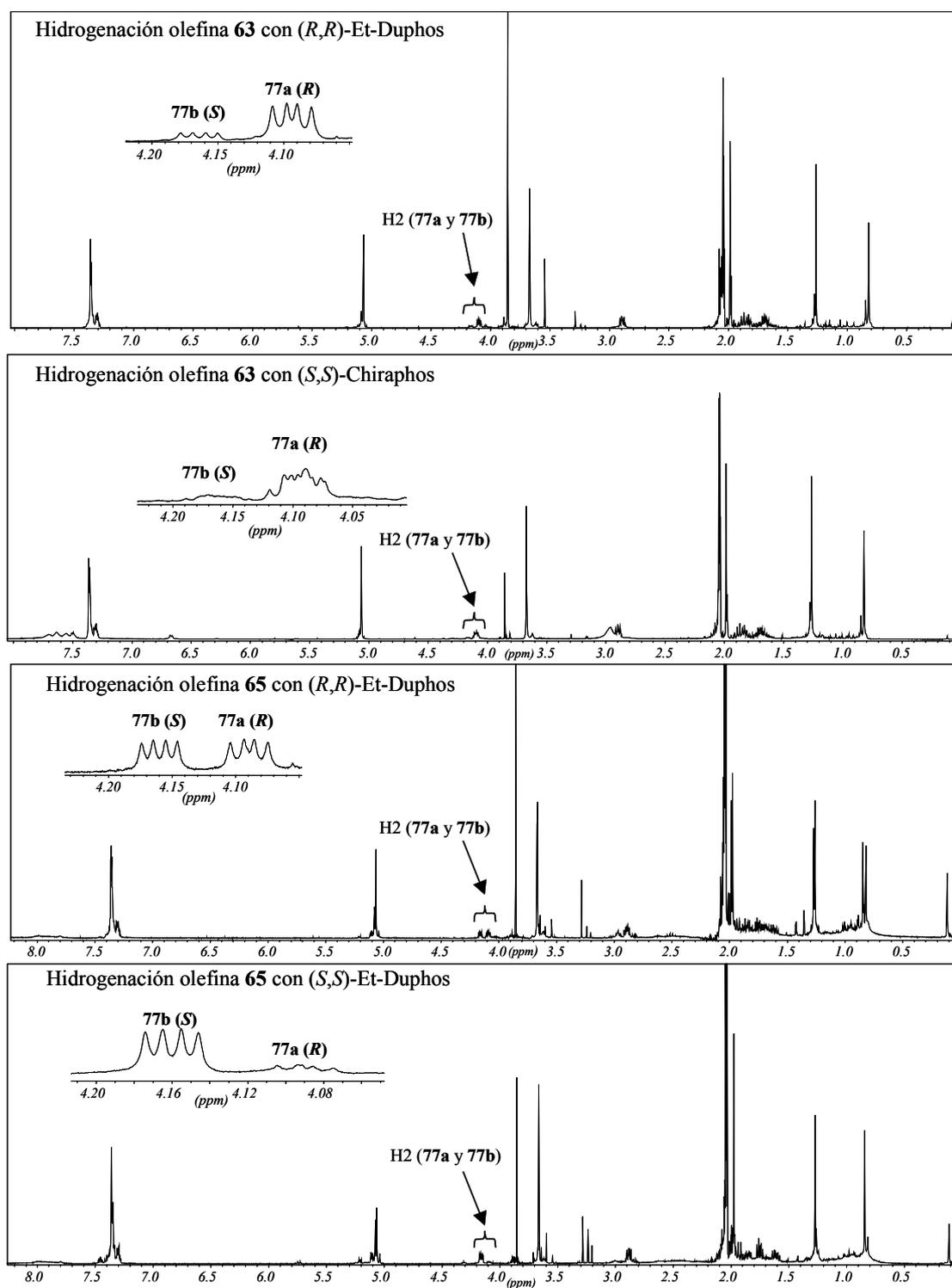
Dado que los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos **41**, **47** y **63** presentan una estructura análoga a **64**, la coordinación del catalizador (*S,S*)-Chiraphos con cada uno de ellos se

producirá mayoritariamente por la misma cara, o sea, la cara *si*, obteniéndose en todos los casos el aminoácido mayoritario con configuración *R*. Teniendo en cuenta este hecho, se ha podido asignar por RMN  $^1\text{H}$  de manera análoga a la descrita en el apartado 4.4.1. la configuración absoluta del aminoácido mayoritario obtenido en cada caso, con cada uno de los catalizadores y con cada uno de los sustratos.

A modo de ejemplo, se muestran a continuación los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de la hidrogenación de **63** con (*R,R*)-Et-Duphos y (*S,S*)-Chiraphos y **65** con (*R,R*)-Et-Duphos y (*S,S*)-Et-Duphos (**Figura 37**).

Como puede verse en la **Figura 37**, en este caso es posible distinguir claramente los dos diastereoisómeros **77a** y **77b** formados en la hidrogenación y calcular las relaciones diastereoisoméricas entre ellos, por integración de las señales del H2 para cada uno de ellos, o en base a la integración de los metilos en posición *cis* ó *trans* unidos al carbono 2'. En el espectro de RMN  $^1\text{H}$  de la mezcla de hidrogenación de **63** con (*R,R*)-Et-Duphos se forma el mismo aminoácido mayoritario que en el caso de la utilización de (*S,S*)-Chiraphos, por lo tanto se forma mayoritariamente **77a** (1'*R*,3'*R*,2*R*). Como se comentó en el apartado 4.3.2., en la reducción de **65** con (*R,R*)-Et-Duphos se forman los diastereoisómeros **77a** y **77b** en una proporción similar, lo que se muestra muy claramente en el espectro. Finalmente, la utilización de (*S,S*)-Et-Duphos en la hidrogenación de **65** conduce a la obtención del diastereoisómero del producto mayoritario de la hidrogenación de **63** con (*S,S*)-Chiraphos, por lo tanto, **77b**.

La determinación de la configuración absoluta del aminoácido mayoritario resultante de las distintas hidrogenaciones del sustrato **55**, se llevó a cabo por RMN  $^1\text{H}$ , de manera análoga a la descrita en el apartado 4.4.1., teniendo en cuenta que **55** es enantiómero de **47**, y que en la hidrogenación de **47** con (*S,S*)-Chiraphos se produce el aminoácido con configuración absoluta (1'*R*,3'*R*,2*R*) (**75a**).



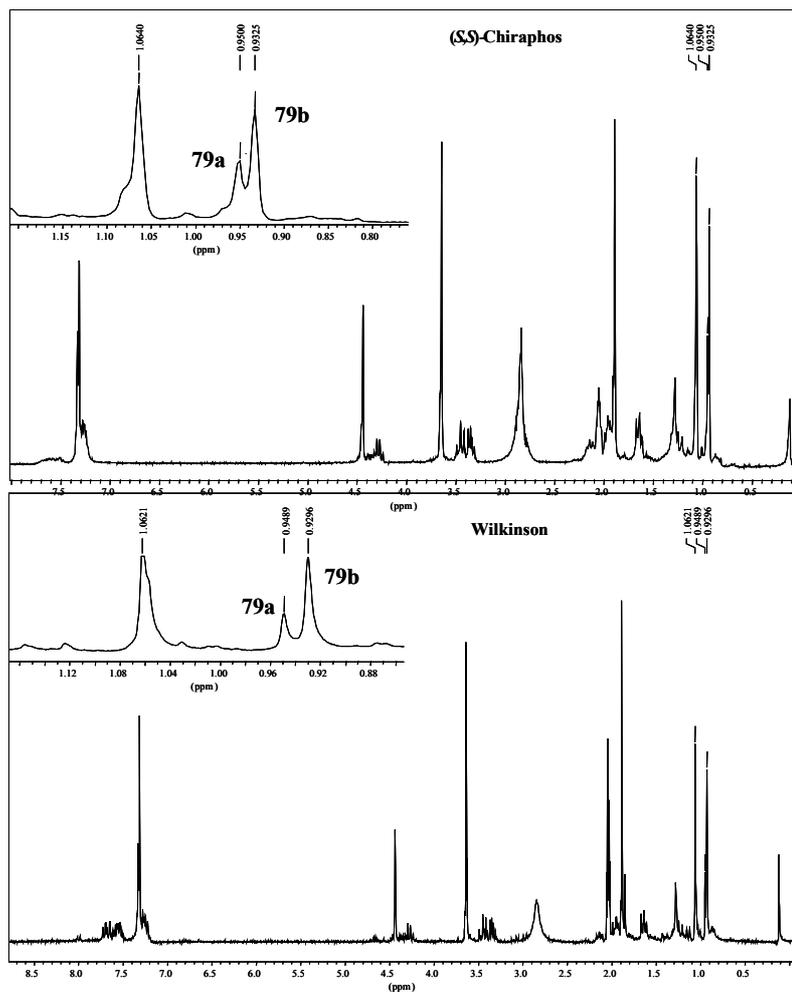
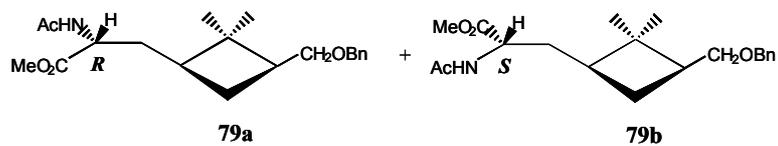
**Figura 37:** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (acetona- $d_6$ , 500 MHz) de los crudos de reacción correspondientes a la hidrogenación de **63** con  $(S,S)$ -Chiraphos y  $(R,R)$ -Et-Duphos, y de **65** con  $(S,S)$ -Et-Duphos y  $(R,R)$ -Et-Duphos.

El caso del sustrato **32** es un caso particular, ya que no se pudieron obtener cristales adecuados para el análisis por difracción de rayos X de ninguna de las mezclas de reacción obtenidas en las hidrogenaciones de **32** ensayadas. La determinación pues, de la configuración absoluta obtenida en cada caso se llevó a cabo de manera intuitiva, comparando los espectros de RMN  $^1\text{H}$  de los crudos de hidrogenación de **32** con los catalizadores de Wilkinson y (*S,S*)-Chiraphos (**Figura 38**).

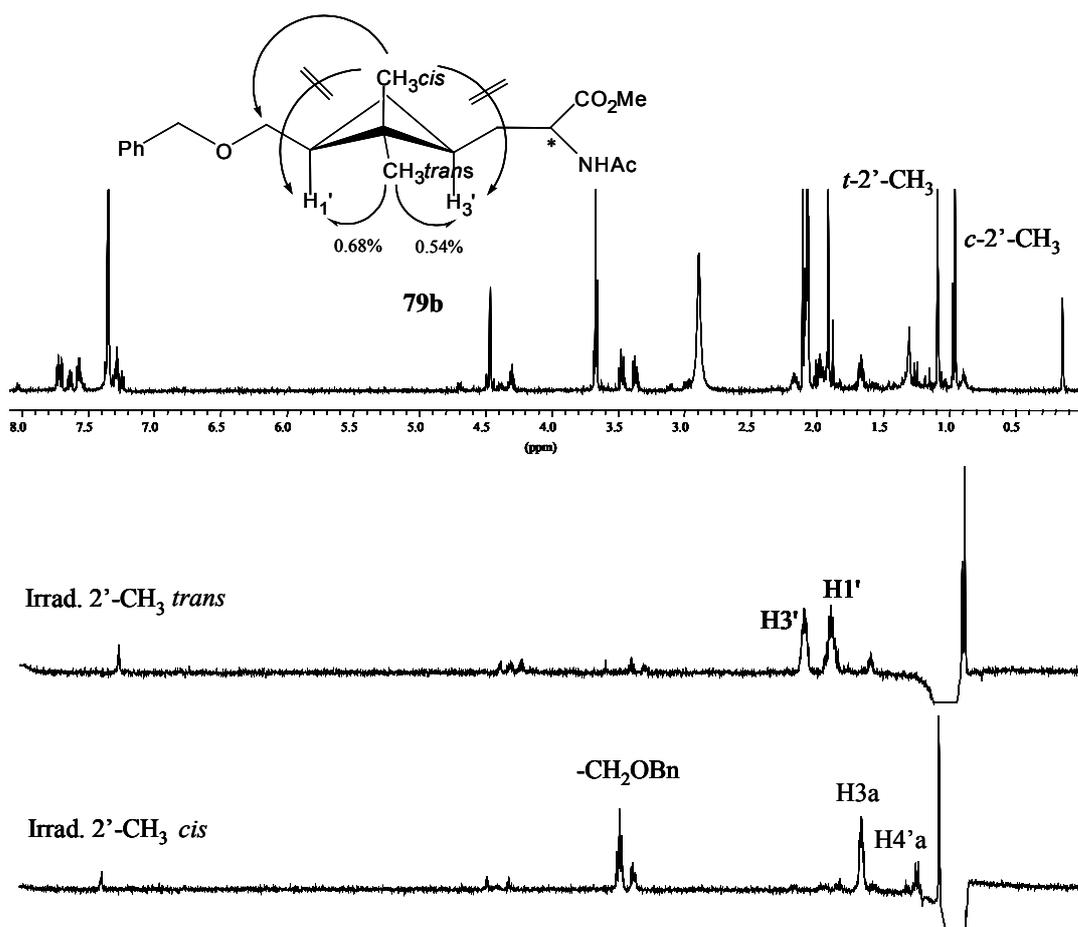
Como ya se comentó en el apartado **4.3.1**, la coordinación de un catalizador aquiral, como es el catalizador de Wilkinson, se da por la cara que presenta menor congestión estérica, por lo tanto en la olefina **32** la cara  $\text{C}_2\text{-re}$ . La adición de hidrógeno por esta cara conduce a la obtención del aminoácido mayoritario con configuración absoluta *S* en  $\text{C}_2$ .

Según muestra la **Figura 38**, el aminoácido mayoritario obtenido en la hidrogenación de **32** con Wilkinson y (*S,S*)-Chiraphos es el mismo. Por tanto, con (*S,S*)-Chiraphos se obtiene **79b** mayoritariamente, con configuración absoluta *S* en el centro estereogénico generado.

Dado que en este caso no pudo obtenerse un derivado sólido y para confirmar que se conservaba la configuración relativa *cis* de los sustituyentes situados en las posiciones 1',3' del anillo ciclobutánico en el aminoácido **79b** (obtenido a partir de **32**), se realizó un experimento nOe diferencial para confirmar la estereoquímica (**Figura 39**).



**Figura 38:** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (250 MHz, acetona- $d_6$ ) de los crudos de hidrogenación de **32** con los catalizadores de Wilkinson y (S,S)-Chiraphos.



**Figura 39:** Espectros NOEDIFF sobre **79b** (500 MHz, acetona- $d_6$ ).

Se irradiaron los metilos *cis* y *trans* situados en la posición 2' del anillo ciclobutánico. Al realizar la irradiación del  $\text{CH}_3_{cis}$  se observa un nOe intenso sobre los hidrógenos  $\text{BnO-CH}_2$ - y sobre  $\text{H}_{3a}$ , mientras que no se observa nOe sobre ninguno de los dos hidrógenos situados en las posiciones 1' y 3' del anillo. En cambio, la irradiación del  $\text{CH}_3_{trans}$  produce nOe sobre los hidrógenos  $\text{H}_{1'}$  y  $\text{H}_{3'}$ . Esta estereoquímica *cis* indica una configuración absoluta (1'S,3'S) de los centros estereogénicos del anillo ciclobutánico en el aminoácido **79b**.

## **Resumen de este capítulo**

El análisis de los resultados obtenidos en el presente capítulo lleva a las siguientes conclusiones generales:

En primer lugar, en condiciones de catálisis heterogénea con Pd/C no se induce ningún tipo de diastereoselectividad facial.

En el caso de utilizar catálisis homogénea con un ligando aquiral del tipo Wilkinson, la estereoselectividad viene determinada por el sustrato a hidrogenar. Así, se ha podido observar que la utilización del catalizador de Wilkinson en la hidrogenación de la olefina **13** conduce a la obtención de dos diastereoisómeros en igual proporción, debido a la lejanía del doble enlace al anillo ciclobutánico. En cambio, cuando el doble enlace se encuentra directamente unido al anillo ciclobutánico la congestión estérica es superior y el uso de un catalizador voluminoso aquiral induce una buena estereoselección a favor de uno de los dos diastereoisómeros posibles.

Por otra parte, cabe mencionar las diferencias mostradas en el uso de diversos tipos de catalizadores quirales, el (*S,S*)-Chiraphos y los catalizadores del tipo Duphos:

En los casos de hidrogenación de los sustratos con el doble enlace (de configuración *Z*) unido al anillo de ciclobutano con (*S,S*)-Chiraphos, es la olefina y no el catalizador la que gobierna la estereoselectividad, obteniéndose así el aminoácido mayoritario con la configuración absoluta determinada por la olefina de partida. Esto no sucede en el caso de usar cualquiera de los catalizadores del tipo Duphos ensayados, ya que en todos los casos se obtiene el aminoácido mayoritario con la configuración inducida por el catalizador, y viéndose por lo tanto la dirección de la estereoselectividad del proceso determinada mayoritariamente por el catalizador utilizado.

Un caso particular es la hidrogenación de la olefina **65**, con el doble enlace unido al anillo, pero con configuración *E*. En este caso, la hidrogenación con (*S,S*)-Chiraphos, conduce a la obtención del aminoácido con la configuración dictada por el catalizador. Sin embargo, al coincidir ésta con el resultado del ataque por la cara menos impedida de la olefina, no se puede llegar a la conclusión que sea el catalizador el único que dicta la

estereoselectividad de la reacción, sino tanto el catalizador como la olefina. Cuando los catalizadores utilizados en la hidrogenación de **65** han sido del tipo Duphos se han obtenido resultados sorprendentes, en comparación con los ya citados en la bibliografía. Así, la utilización del (*S,S*)-Et-Duphos conduce a la obtención del aminoácido con la configuración dictada por el catalizador, pero al utilizar el (*R,R*)-Et-Duphos se obtiene una mezcla de diastereoisómeros en una proporción prácticamente 1:1, siendo por lo tanto la olefina la que gobierna en este caso la estereoselectividad del proceso. Cabe destacar, que la olefina **65**, de configuración *E*, es ópticamente activa y en la bibliografía todos los ensayos de hidrogenación con catalizadores tipo Duphos se han llevado a cabo con olefinas *E* aquirales.

También existen diferencias en los resultados obtenidos cuando el sustrato de partida contiene el doble enlace a un metileno de diferencia del anillo ciclobutánico, y por tanto, alejado de los centros estereogénicos de la molécula. Cuando el catalizador utilizado en estos casos es del tipo Duphos, se ha observado que la estereoselectividad del proceso viene determinada exclusivamente por el catalizador, mientras que con (*S,S*)-Chiraphos, tanto la quiralidad del catalizador como la quiralidad de la olefina juegan un papel predominante.

## **CAPÍTULO 5:**

**Síntesis e hidrogenación catalítica de  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos  
ciclobutílicos.**



## **5. SÍNTESIS E HIDROGENACIÓN DE $\alpha,\beta$ -DESHIDRO- $\alpha$ -PÉPTIDOS CICLOBUTÍLICOS.**

En este capítulo se abordará la síntesis de  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos ciclobutílicos ópticamente activos a partir de un  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácido obtenido previamente. La hidrogenación catalítica de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos conducirá a la obtención de  $\alpha$ -péptidos ciclobutílicos.

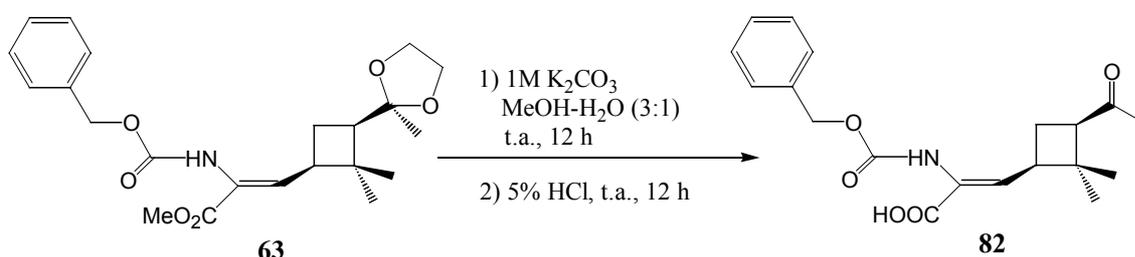
### **5.1. Obtención de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos 83 y 84.**

Se pensó sintetizar dos  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos ciclobutílicos ópticamente puros, uno conteniendo el aminoácido glicina en su estructura y el otro una unidad de (*S*)-fenilalanina. La razón de incorporar una glicina y una fenilalanina es realizar posteriormente un estudio de hidrogenación de estos deshidropéptidos y establecer posibles diferencias, ya que el que contenga una (*S*)-fenilalanina poseerá un centro quiral adicional.

El  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácido escogido como producto de partida para la preparación de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos es el sustrato **63**. Se escogió éste debido a su rápida accesibilidad, ya que se sintetiza tan sólo en cinco etapas con buen rendimiento global.

### 5.1.1. Obtención del ácido **82**, intermedio sintético para la obtención de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos.

El deshidroaminoácido **63** contiene la función ácido protegida en forma de carboxilato de metilo. El primer paso, pues, fue la hidrólisis del éster para así tener la función ácido libre y poder llevar a cabo el acoplamiento con cada uno de los aminoácidos protegidos de la glicina y la (*S*)-fenilalanina, respectivamente. En el **Esquema 34** se muestra la reacción de hidrólisis del éster metílico.

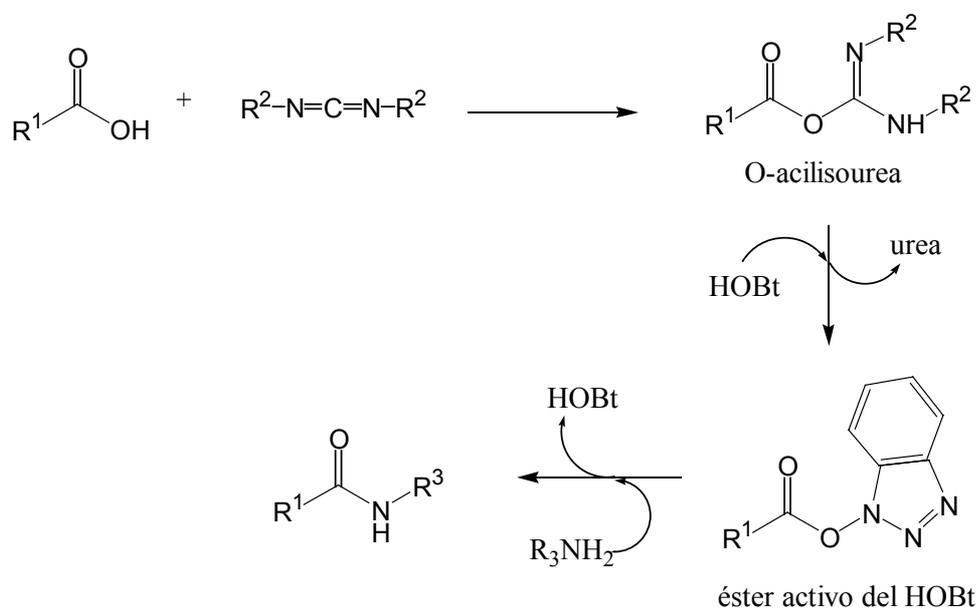


**Esquema 34**

Se observó que al llevar a cabo la hidrólisis del éster metílico de **63** con  $K_2CO_3$ , en una mezcla de solventes MeOH- $H_2O$  en relación 3:1, durante 12 horas y seguida de un tratamiento en medio ácido, se producía la desprotección del ácido carboxílico, pero se observaba una parcial eliminación del grupo dioxolano. Así, las condiciones ácidas requeridas en el tratamiento del crudo de reacción provocan de manera parcial la desprotección de la metil cetona. Debido a la mezcla de productos obtenida, se propuso agitar en medio ácido (HCl 5%) la fase acuosa resultante después de realizar sucesivas extracciones con éter dietílico del crudo de reacción, de manera que después de 12 horas de reacción se obtuvo el cetoácido **82** ( $[\alpha]_D = -20.9$  ( $c=0.76$ , MeOH)) con 55% de rendimiento global.

### 5.1.2. Reacción de obtención de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos 83 y 84.

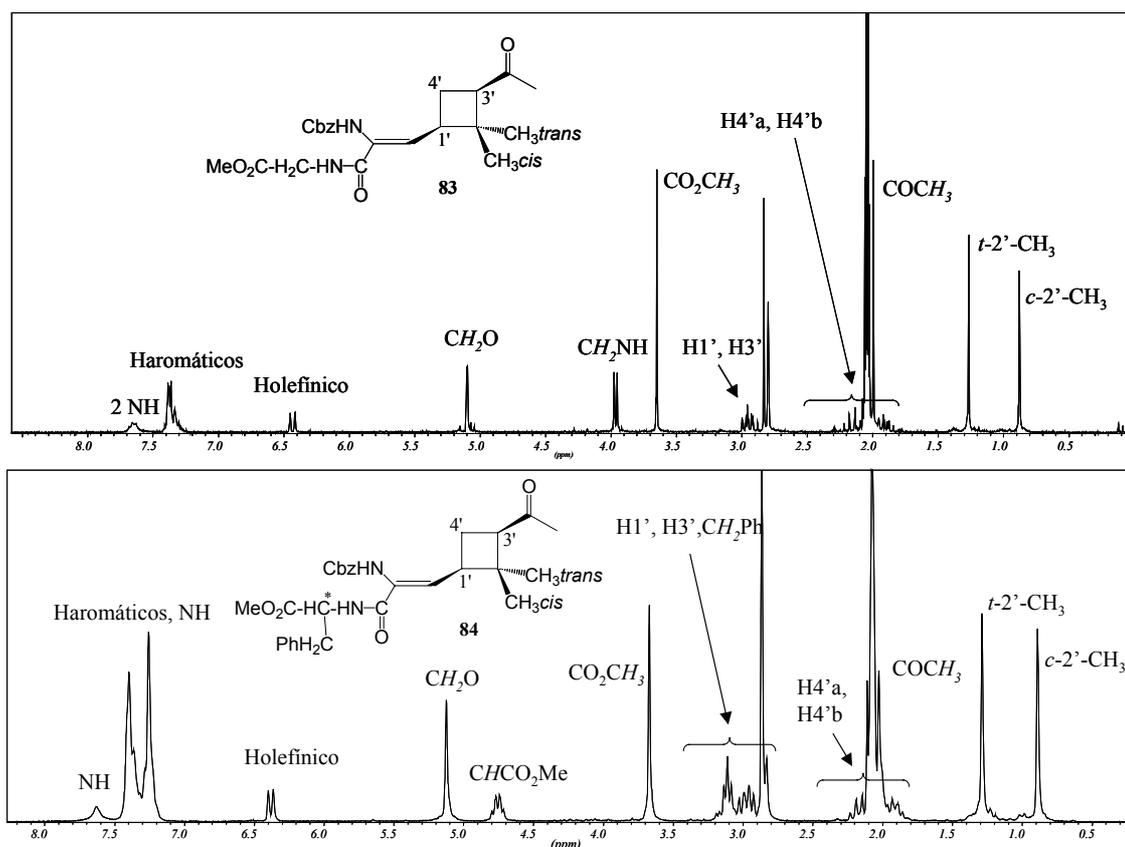
Controlar de manera efectiva la formación del enlace amida es obviamente muy importante en la síntesis de péptidos, y más cuando se trabaja con productos que requieren condiciones suaves para efectuar esta reacción. Uno de los reactivos más usados son las carbodiimidas que activan el grupo carboxilo para la reacción con la amina (**Esquema 35**). Actualmente se utiliza una variante de esta metodología utilizando conjuntamente un catalizador, el 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), tanto si la síntesis del péptido se realiza en fase sólida (resinas) como en disolución.



**Esquema 35**

En el presente trabajo se ha usado esta metodología sintética, pero utilizando el monohidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, ya que este reactivo permite purificar el crudo de reacción de manera más cómoda, dado que la eliminación de la urea resultante es más fácil que la proveniente de la DCC. En el **Esquema 36** se muestran las reacciones efectuadas en cada caso.





**Figura 40:** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (acetona- $d_6$ , 250 MHz) de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos **83** y **84**.

## 5.2. Hidrogenación catalítica de $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos ciclobutílicos.

En este apartado se abordará la síntesis de  $\alpha$ -péptidos ciclobutílicos mediante hidrogenación con catalizadores quirales de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos descritos en el apartado 5.1.

### 5.1.1. Condiciones experimentales de hidrogenación.

En el capítulo 4 se pudo comprobar que con los catalizadores de la familia del Duphos,  $[(\text{COD})\text{Rh}((R,R)\text{-Et-DuPHOS})]\text{OTf}$  y  $[(\text{COD})\text{Rh}((S,S)\text{-Et-DuPHOS})]\text{OTf}$ , se

llegaban a obtener los mejores *ed*, y además, se podía estudiar con detalle el posible efecto de doble inducción de asimetría entre dos sustratos quirales. Es por este motivo que éstos fueron los catalizadores usados en la hidrogenación de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos. Se utilizó también el [(COD)Rh(*S,S*)-Me-DuPHOS)]OTf, con el fin de estudiar el efecto del volumen de los sustituyentes del catalizador en la estereoselectividad facial.

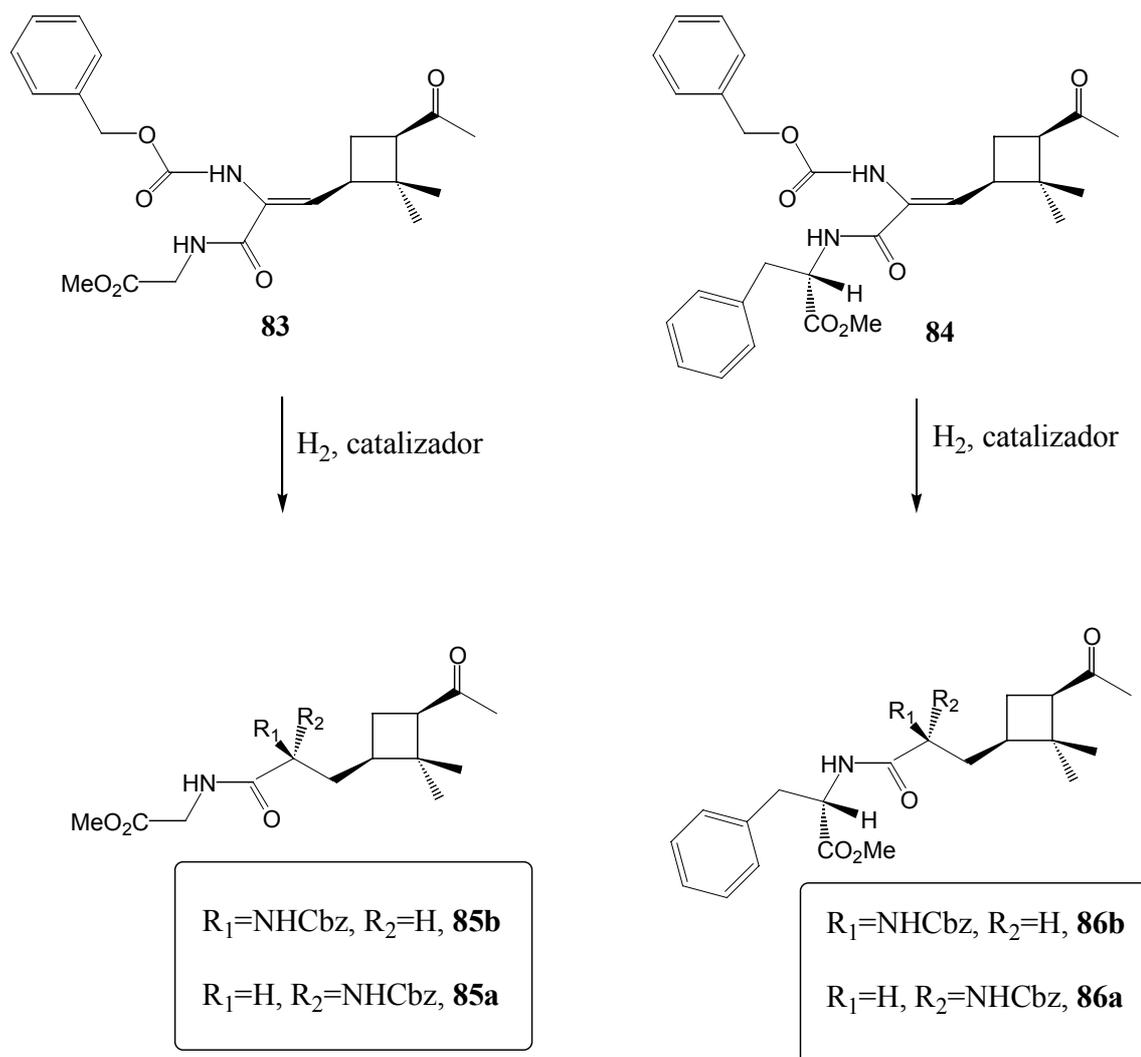
Las condiciones experimentales en la hidrogenación fueron: 24 mg de catalizador por cada mmol de producto de partida, usando MeOH como disolvente, a una presión de hidrógeno de 2 atm y a temperatura ambiente. El tiempo de reacción necesario para la total reducción del doble enlace varió entre 24 horas y 48 horas. En ningún caso se produce la hidrogenólisis del grupo Cbz. En el siguiente apartado se indicarán las condiciones específicas en cada caso.

### **5.1.2. Resultados obtenidos en la hidrogenación catalítica de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos **83** y **84**.**

En el presente apartado se recogerán los resultados obtenidos en la hidrogenación de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos **83** y **84**. Los  $\alpha$ -péptidos obtenidos se muestran representados en el **Esquema 37**.

En la **Tabla 8** están recogidos los resultados obtenidos en la hidrogenación de **83** y **84**. Las relaciones diastereoisoméricas observadas han sido determinadas en base a la integración de las señales del/os metil/os CH<sub>3</sub>*cis* y CH<sub>3</sub>*trans* en posición 2' del anillo ciclobutánico observados en el espectro de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz) de la mezcla.

En el apartado **5.1.3.** se explicará con detalle cómo se han determinado las configuraciones absolutas.



**Esquema 37**

**Tabla 8:** Resultados de la hidrogenación de **83** y **84** con los diferentes catalizadores.

Entrada	Sustrato	Catalizador	Producto mayoritario	Rdto.	Config. absoluta <sup>a</sup>	Rel. diast.
1	83	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	85a	96 %	<i>R</i>	91/9 <sup>b</sup>
2	83	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	85b	96 %	<i>S</i>	89/11 <sup>b</sup>
3	83	( <i>R,R</i> )-Me-Duphos	85a	90 %	<i>R</i>	91/9 <sup>b</sup>
4	84	( <i>R,R</i> )-Et-Duphos	86a	88 %	<i>R</i>	99/1 <sup>b</sup>
5	84	( <i>S,S</i> )-Et-Duphos	86b	82 %	<i>S</i>	95/5 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Diastereoisómero mayoritario; <sup>b</sup> 24 horas de reacción; <sup>c</sup> 48 horas de reacción.

Al igual que sucedía en la hidrogenación de los DHAAs con los catalizadores del tipo Duphos, en el caso de utilizar estos catalizadores en la hidrogenación de los DHPs **83** y **84**, se obtiene mayoritariamente el péptido con la configuración absoluta dictada por el catalizador. Así, con los catalizadores (*R,R*)-Et-Duphos y (*R,R*)-Me-Duphos se obtiene el péptido mayoritario con configuración *R*, mientras que con el catalizador (*S,S*)-Et-Duphos se obtiene el péptido *S*.

Tal y como se comentaba en el apartado 1.5.3., se ha visto que puede existir una influencia del sustituyente en posición  $\alpha$  del doble enlace en  $\alpha$ -enamidas, tanto en las estereoselectividades obtenidas en la hidrogenación catalítica, como en la dirección de la estereoselectividad. En nuestro caso, parece que también se da este efecto, ya que por ejemplo, las relaciones diastereoisoméricas obtenidas en la reducción de **83** y **84** con (*R,R*)-Et-Duphos (entradas 1 y 4) son superiores a las obtenidas en la hidrogenación de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos **63** (85/15) ó **64** (80/20) (ver apartado 4.3.1.), sustratos similares a **83** y **84** pero con la función éster en posición  $\alpha$ . Lo mismo sucede con los *ed* obtenidos con los catalizadores (*S,S*)-Et-Duphos y (*R,R*)-Me-Duphos (ver capítulo 4).

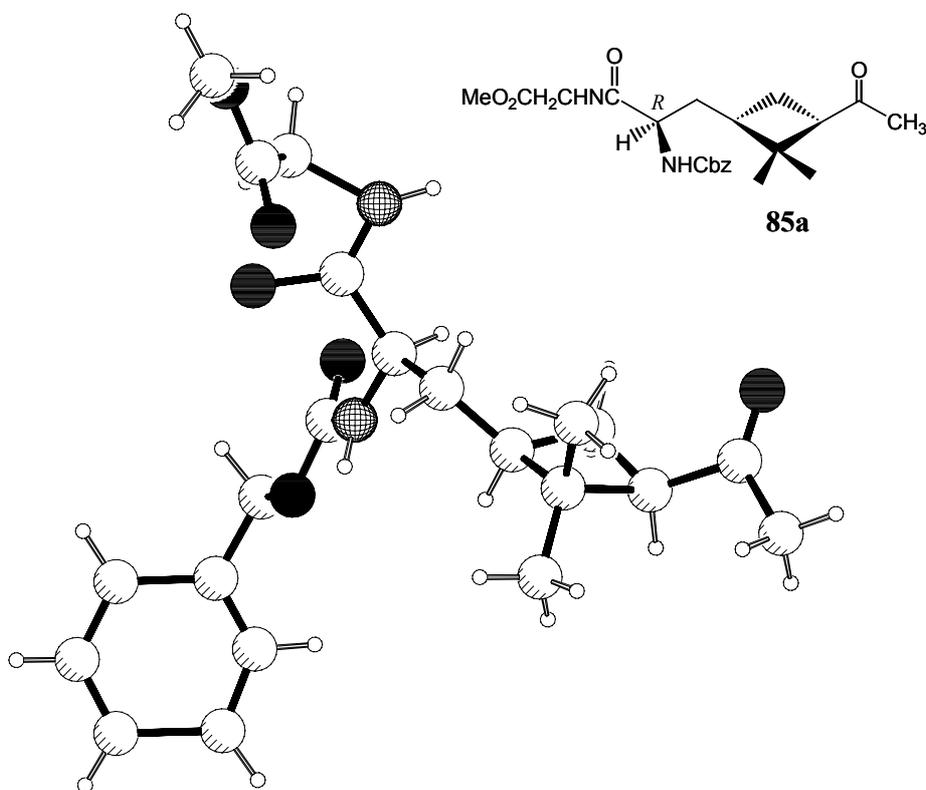
Por otra parte, el deshidropéptido **83**, como ya se ha comentado con anterioridad, contiene una unidad del aminoácido glicina incorporado en su estructura, mientras que **84**

contiene el aminoácido fenilalanina, el cual aporta un centro quiral adicional con configuración absoluta *S*. Esta diferencia parece ser clave en la diastereoselectividad facial en la hidrogenación, ya que en todos los casos de hidrogenación de **84** ensayados las relaciones diastereoisoméricas han sido superiores a las observadas en la reducción de **83**. Por lo tanto, el centro quiral adicional de **84** favorece el ataque por una de las caras. Así, en la hidrogenación de **84** con (*R,R*)-Et-Duphos se obtiene el  $\alpha$ -péptido **86a** de forma mayoritaria y en una relación superior (99/1) al observado en la reducción de **83** con el mismo catalizador (91/9). Lo mismo sucede cuando el catalizador utilizado es el de quiralidad inversa, el (*S,S*)-Et-Duphos, obteniéndose mayoritariamente el péptido de configuración *S*, pero en el caso de reducir el doble enlace de **83** la relación diastereoisomérica observada ha sido inferior (89/11) a la obtenida con **84** (95/5). Con todo esto, parece claro que incorporar un centro quiral adicional a la molécula ayuda a aumentar la diastereoselectividad facial en la hidrogenación, aunque éste centro estereogénico no determina la dirección de la diastereoselectividad del proceso en los casos ensayados con los catalizadores del tipo Duphos.

Dado que **83** y **84** son quirales y los catalizadores del tipo Duphos también lo son, es posible también en este caso hablar de la posible doble inducción de asimetría en la hidrogenación. Como puede verse en la **Tabla 8**, el *ed* obtenido en la hidrogenación de **83** con (*R,R*)-Et-Duphos (entrada 1) es superior al obtenido con (*S,S*)-Et-Duphos (entrada 2), aunque la diferencia es muy pequeña, con lo que se podría hablar de *matching-mismatching* pero sería muy arriesgado. El uso de (*R,R*)-Me-Duphos no supone una mejora respecto a (*R,R*)-Et-Duphos en la diastereoselección obtenida, ya que en ambos casos se obtiene el mismo exceso diastereoisomérico. Por otra parte, en la hidrogenación de **84** con (*R,R*)-Et-Duphos (entrada 4) sí es posible hablar de una doble inducción de asimetría del catalizador y del deshidropéptido, ya que el exceso diastereoisomérico es superior y sobretodo más marcado (se obtiene prácticamente un único producto) que el resultante en la hidrogenación de **84** con (*S,S*)-Et-Duphos (entrada 5), que sería el caso contrario o *mismatching*.

### 5.1.3. Elucidación de la configuración absoluta de los aminoácidos mayoritarios obtenidos en la hidrogenación de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos **83** y **84**.

Fue posible obtener cristales adecuados de la mezcla de reacción de la hidrogenación del  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptido **83** con el catalizador (*R,R*)-Me-Duphos (**Figura 41**) pudiéndose determinar así la configuración absoluta del aminoácido mayoritario, **85a**, obtenido en esta reacción.



**Figura 41:** Estructura de **85a** determinada por Rayos X.

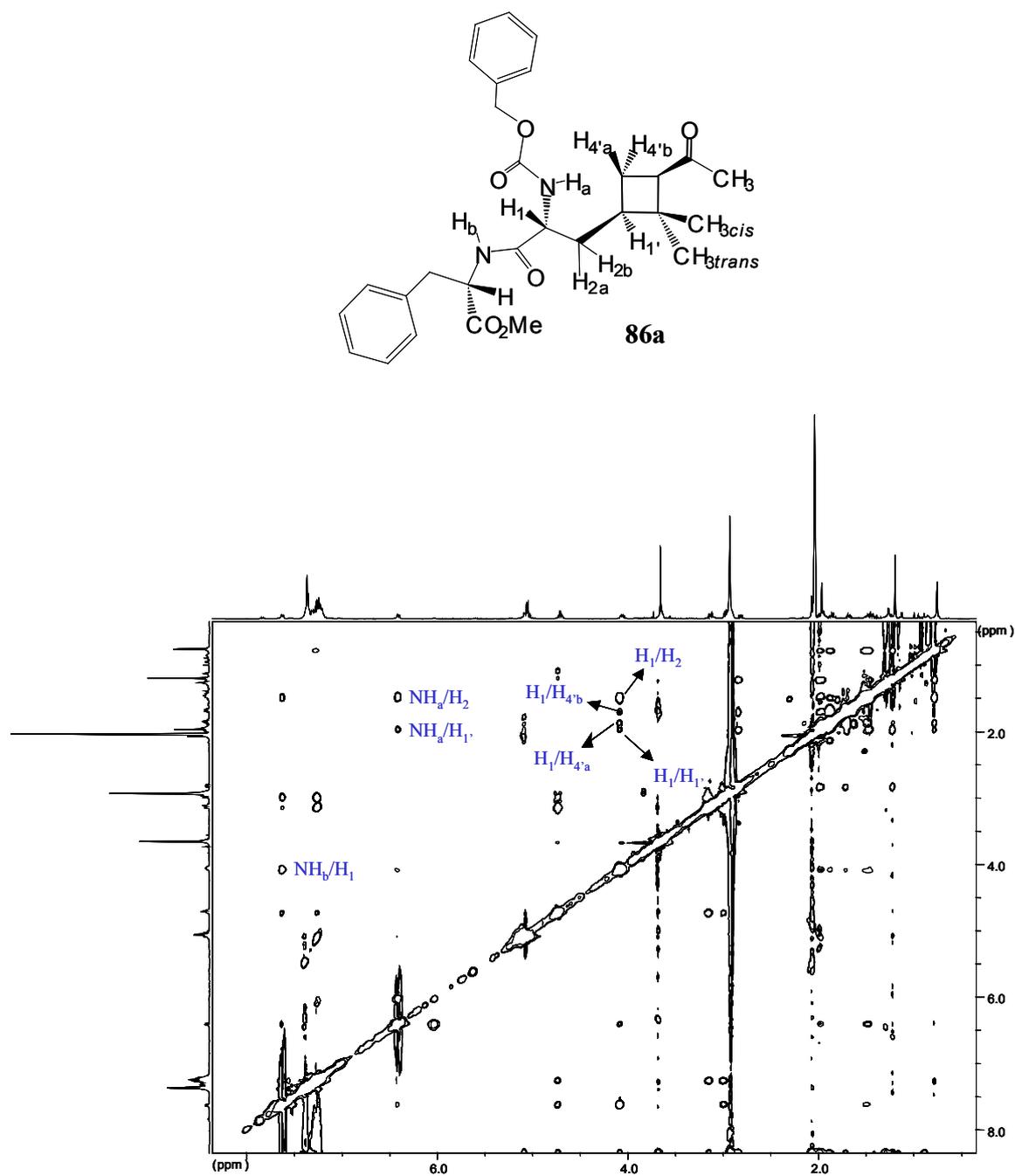
En la hidrogenación de **83** con (*S,S*)-Et-Duphos se obtuvo un producto, cuyo espectro de RMN  $^1\text{H}$  no coincide con el de **85a**. Se obtuvo pues **85b**, diastereoisómero de **85a**, y con configuración *S* en el centro estereogénico formado.

En el caso de las hidrogenaciones de **84** no fue posible en ningún caso obtener cristales adecuados de la mezcla de reacción con el fin de poder realizar un estudio por difracción de rayos X y poder determinar así el péptido mayoritario obtenido en cada caso. Pero dado que en la reducción de **84** con (*R,R*)-Et-Duphos y (*S,S*)-Et-Duphos, respectivamente, se obtiene un aminoácido de forma muy predominante, se decidió realizar un estudio por RMN mediante experimentos NOESY de los aminoácidos mayoritarios (**86a** y **86b**) obtenidos en cada caso y determinar así la configuración absoluta del centro estereogénico formado. En la **Figura 42** y **Figura 43** se muestran los resultados.

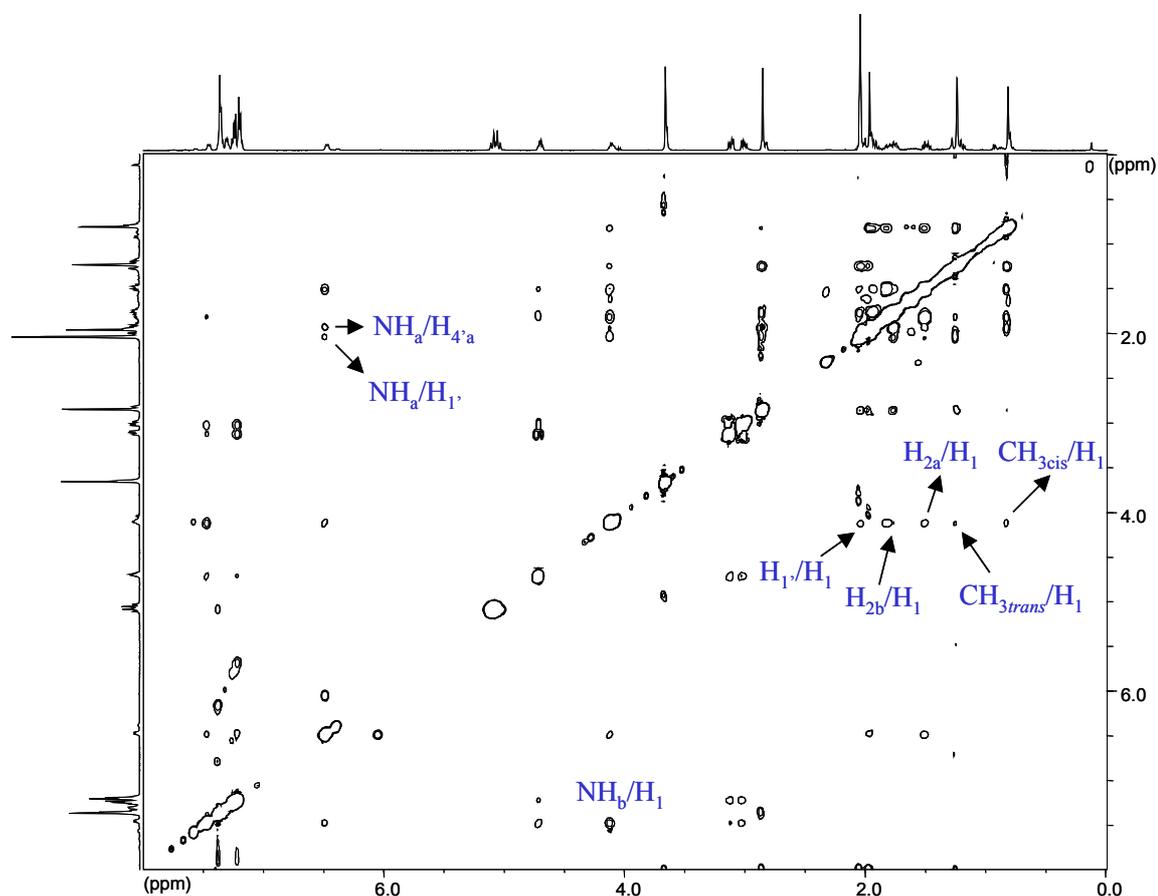
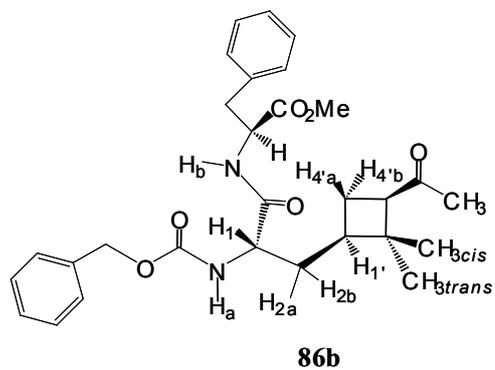
Como puede verse en estas figuras, los nOes más significativos observados en cada caso se muestran en la **Tabla 9**.

**Tabla 9:** nOes observados en **86a** y **86b**.

NOESY ( <b>86a</b> )	$\text{H}_1 / \text{H}_{1'}, \text{H}_{2b}, \text{H}_{4'a}, \text{H}_{4'b}, \text{H}_b$
	$\text{H}_a / \text{H}_{1'}, \text{H}_{2a}, \text{H}_b$
	$\text{H}_b / \text{H}_1, \text{H}_{2a}, \text{H}_a$
NOESY ( <b>86b</b> )	$\text{H}_1 / \text{H}_{1'}, \text{H}_{2a}, \text{H}_{2b}, \text{CH}_{3cis}, \text{CH}_{3trans}$
	$\text{H}_a / \text{H}_{1'}, \text{H}_{4'a}, \text{H}_b$
	$\text{H}_b / \text{H}_1, \text{H}_a$



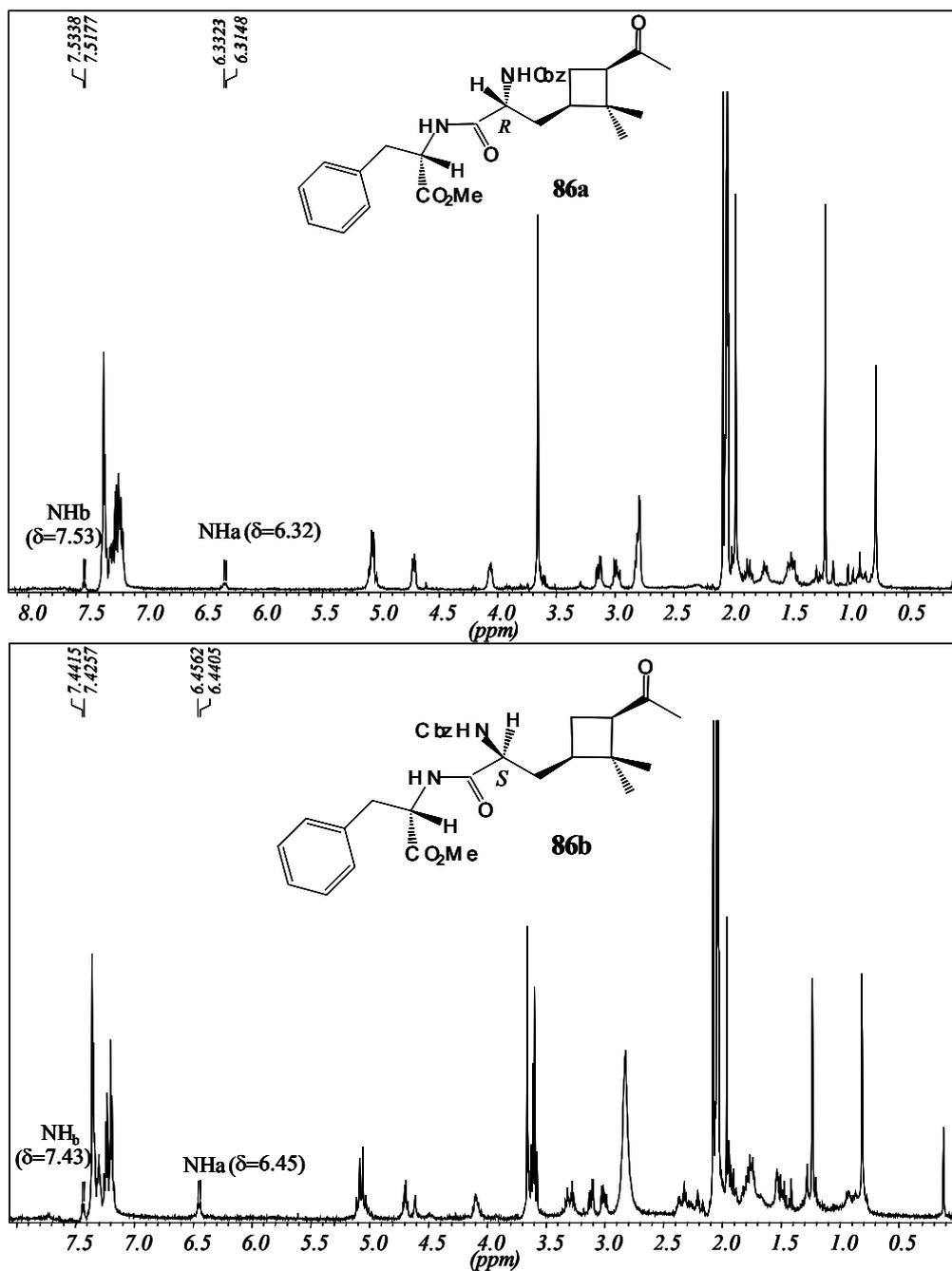
**Figura 42:** Experimento NOESY del producto obtenido en la hidrogenación de **84** con  $(R,R)$ -Et-Duphos.



**Figura 43:** Experimento NOESY del producto obtenido en la hidrogenación de **84** con (S,S)-Et-Duphos.

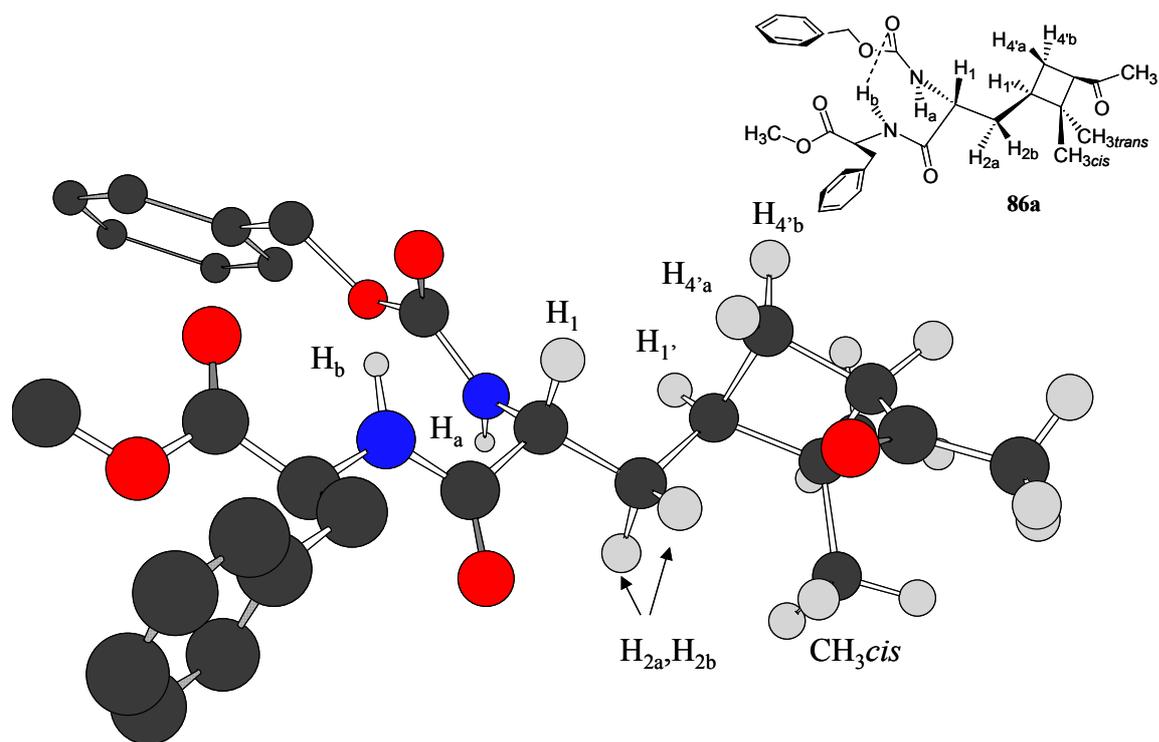
Si nos fijamos en las figuras anteriores, uno de los nOes más significativos es el del H<sub>1</sub>. En **86a** se observa nOe entre el H<sub>1</sub> y los hidrógenos H<sub>4'a</sub> y H<sub>4'b</sub> del anillo ciclobutánico pero no con los metilos del anillo, mientras que en **86b** se observa nOe entre el H<sub>1</sub> y los CH<sub>3cis</sub> y CH<sub>3trans</sub> del ciclobutano, pero no con los hidrógenos H<sub>4'a</sub> y H<sub>4'b</sub>. Ésto parece indicar que la entrada del hidrógeno durante el proceso de hidrogenación del DHP **84** con el catalizador (*R,R*)-Et-Duphos se produce por la cara opuesta a la agrupación *gem*-dimetilo, obteniéndose así **86a** con configuración *R*. Por otro lado, en **86b** (producto de la hidrogenación de **84** con (*S,S*)-Et-Duphos), H<sub>1</sub> se encuentra próximo a CH<sub>3cis</sub> y CH<sub>3trans</sub>, con lo cual, muy probablemente el hidrógeno se habrá adicionado por la cara de los metilos. Así, **86b** presentará configuración *S* en el carbono estereogénico formado. Estos resultados estarían de acuerdo con los ya obtenidos en las hidrogenaciones del deshidropéptido **83**, en el cual se produce el α-péptido de configuración *R* con (*R,R*)-Et-Duphos y el α-péptido *S* con (*S,S*)-Et-Duphos, así como con los resultados de las hidrogenaciones de los DHAAs de configuración *Z* con los catalizadores del tipo Duphos.

Otro dato importante a tener en cuenta es la diferencia de los desplazamientos químicos (~1 ppm) de los NH observada en los espectros de RMN <sup>1</sup>H (500 MHz) de **86a** y **86b** (Figura 44). Esto indica una conformación preferente muy congelada, producida quizás por la presencia de un puente de hidrógeno entre el H<sub>b</sub> y el carbonilo del grupo protector Cbz, pudiéndose formar así un “anillo” de siete miembros.

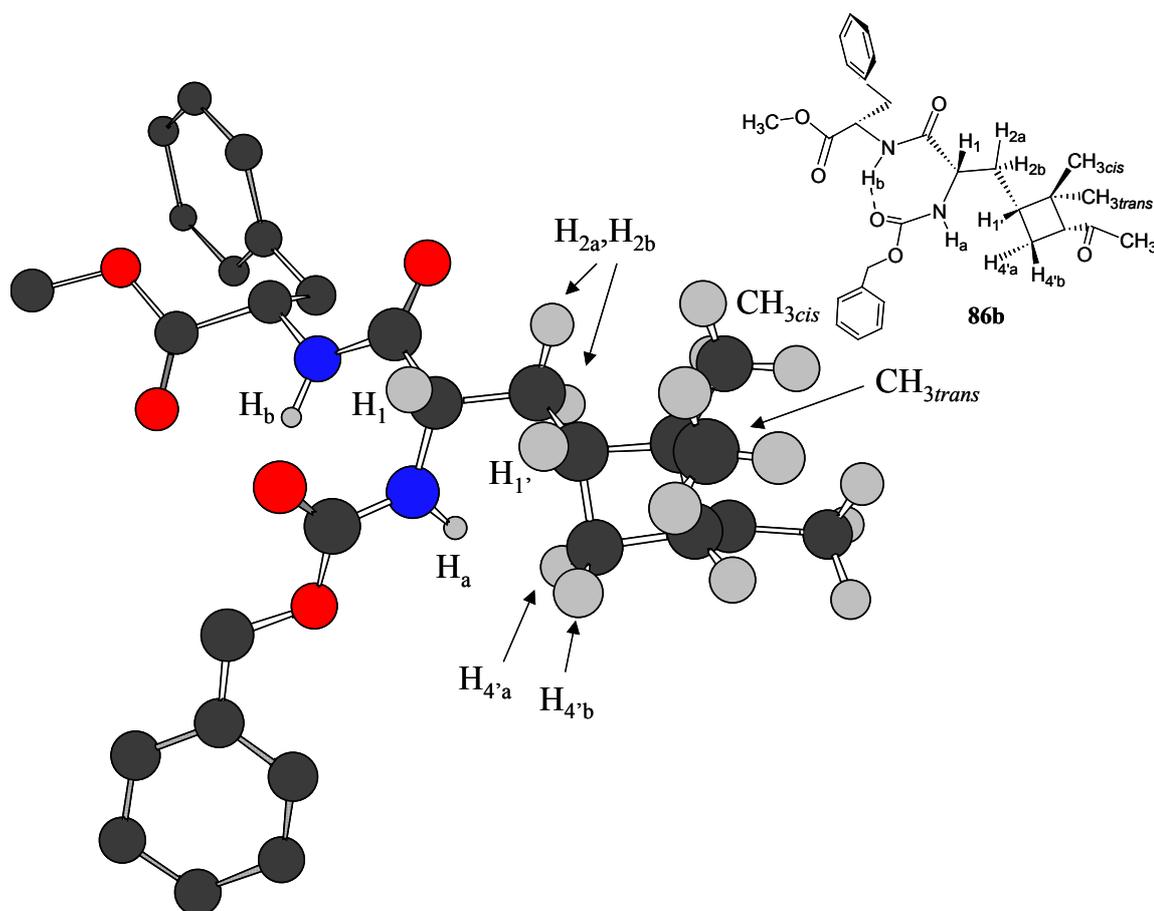


**Figura 44:** Espectros de RMN  $^1\text{H}$  (acetona- $d_6$ , 500 MHz) de **86a** y **86b**.

Teniendo en cuenta los nOes más significativos observados mostrados en la **Tabla 9** y la posible presencia de un puente de hidrógeno, las conformaciones propuestas para **86a** y **86b** (obtenidas a partir de Chem3D) se muestran a continuación (**Figura 45** y **Figura 46**).



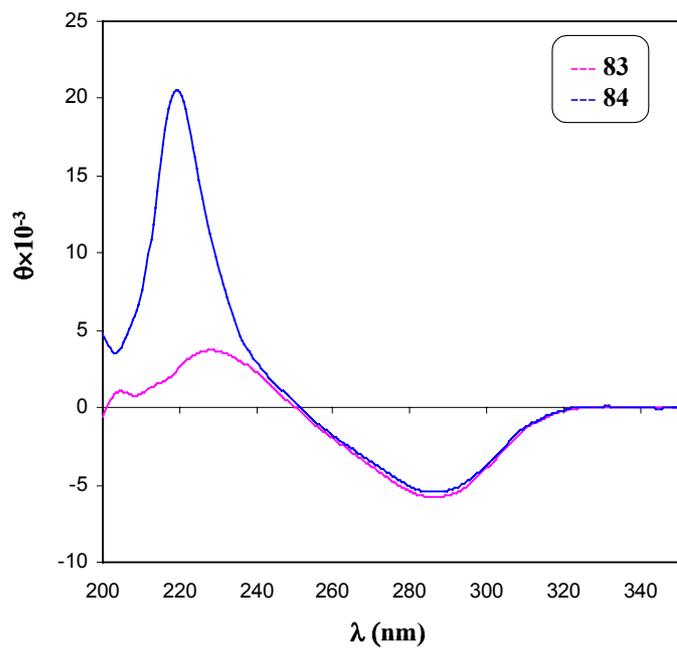
**Figura 45:** Conformación propuesta para **86a**.



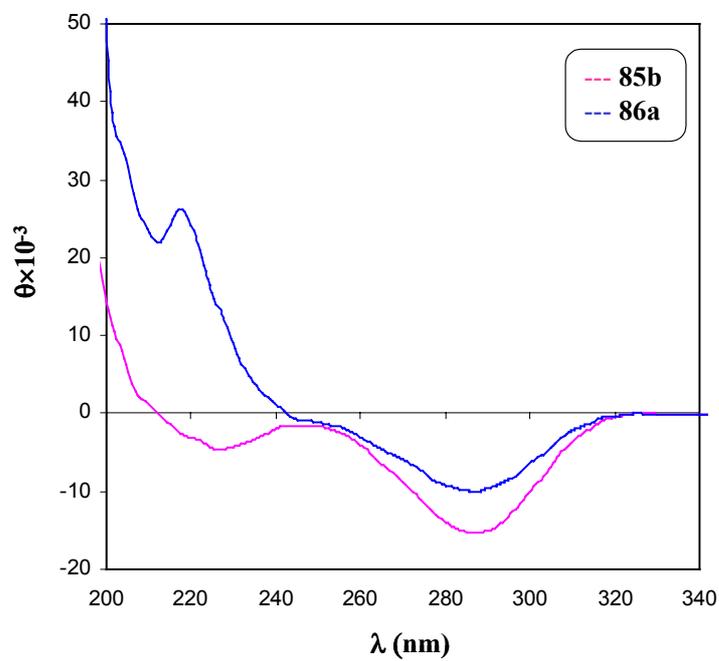
**Figura 46:** Conformación propuesta para **86b**.

### 5.3. Experimentos de dicroísmo circular de los $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos **83** y **84** y los $\alpha$ -péptidos **85b** y **86a**.

Se realizaron experimentos de dicroísmo circular de **83**, **84**, **85b** y **86a** con el fin de estudiar si estos sustratos adoptan una determinada conformación, tal como se halla descrito en la bibliografía. En la **Figura 47** y la **Figura 48** se muestran los espectros de DC de todos ellos.



**Figura 47:** Espectros de dicroísmo circular de los  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos **83** y **84**.



**Figura 48:** Espectros de dicroísmo circular de los  $\alpha$ -péptidos **85b** y **86a**.

Los espectros mostrados en la **Figura 48** corresponden, el de color rosa, a la mezcla de reacción obtenida en la hidrogenación del DHP **83** y el catalizador (*S,S*)-Et-Duphos, en la cual resulta como producto mayoritario **85b**. El de color azul, a la mezcla de reacción obtenida en la hidrogenación del DHP **84** y el catalizador (*R,R*)-Et-Duphos, en la cual se obtiene como producto mayoritario **86a**.

Los espectros de dicroísmo circular mostrados en la **Figura 47** y la **Figura 48** presentan una forma con la misma tendencia que la de otros péptidos (en particular  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos) descritos en la bibliografía, los cuales se ha demostrado que poseen la capacidad de ser inductores de giros  $\beta$ .<sup>24</sup>



## **CAPÍTULO 6:**

### **Síntesis de ácidos péptidonucleicos (APNs)**



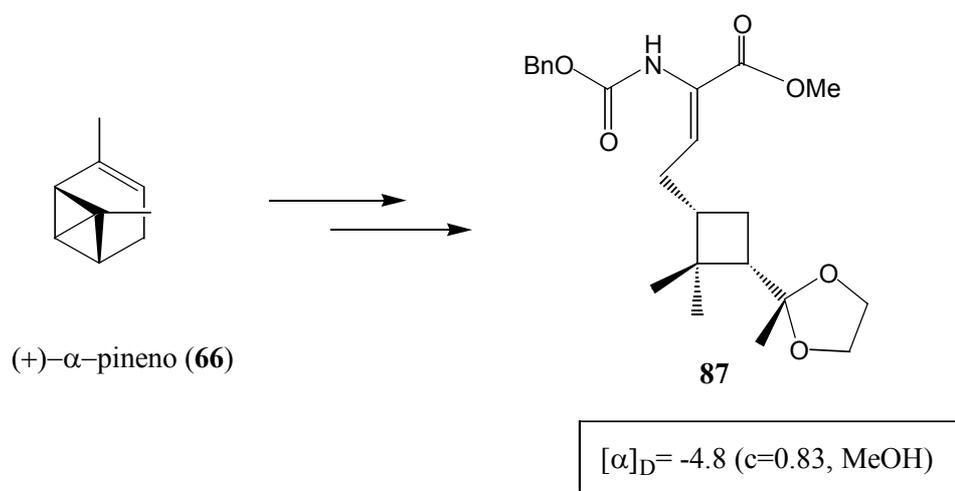
## **6. APLICACIÓN SINTÉTICA DE LOS $\alpha$ -AMINOÁCIDOS CICLOBUTÍLICOS: SÍNTESIS DE ÁCIDOS PÉPTIDONUCLEICOS (APN).**

En el presente capítulo se presentará la síntesis de un monómero de APN a partir de un  $\alpha$ -aminoácido ciclobutílico obtenido mediante hidrogenación catalítica del correspondiente DHAA. Por otra parte, se describirá la síntesis en fase sólida de varios oligómeros de APN que contendrán una unidad del monómero anteriormente sintetizado y los resultados del estudio de la estabilidad térmica ( $T_m$ ) de estos oligómeros, una vez hibridados con cadenas de ADN, ARN y APN.

### **6.1. Obtención de un monómero de APN.**

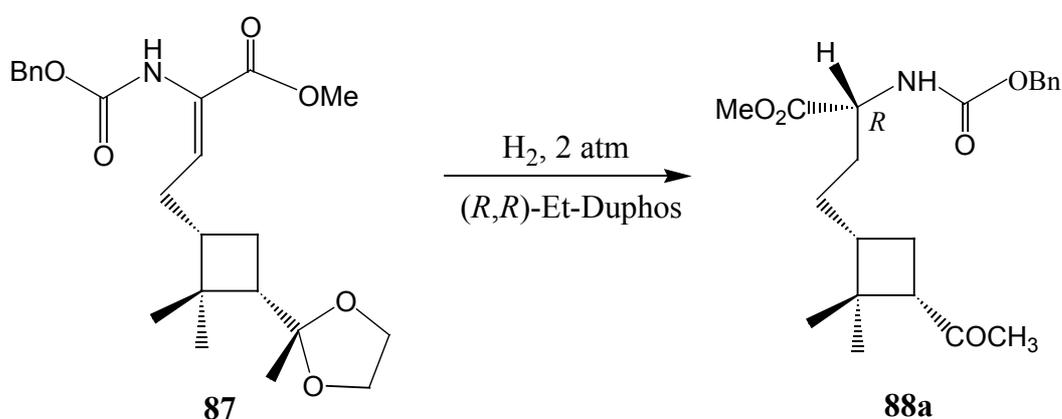
La obtención del monómero de APN se llevó a cabo mediante un procedimiento experimental que parte de un aminoácido con la función amino protegida en forma de carbamato de bencilo y obtenido a partir de (+)- $\alpha$ -pineno.

Así, y siguiendo la misma ruta sintética mostrada en el **Esquema 25** del capítulo 3 a partir de (+)- $\alpha$ -pineno, se sintetizó el DHAA **87**. (**Esquema 38**):



**Esquema 38**

Una vez obtenido el sustrato **87**, el siguiente paso fue la hidrogenación catalítica de éste para obtener el aminoácido **88a** (Esquema 39):

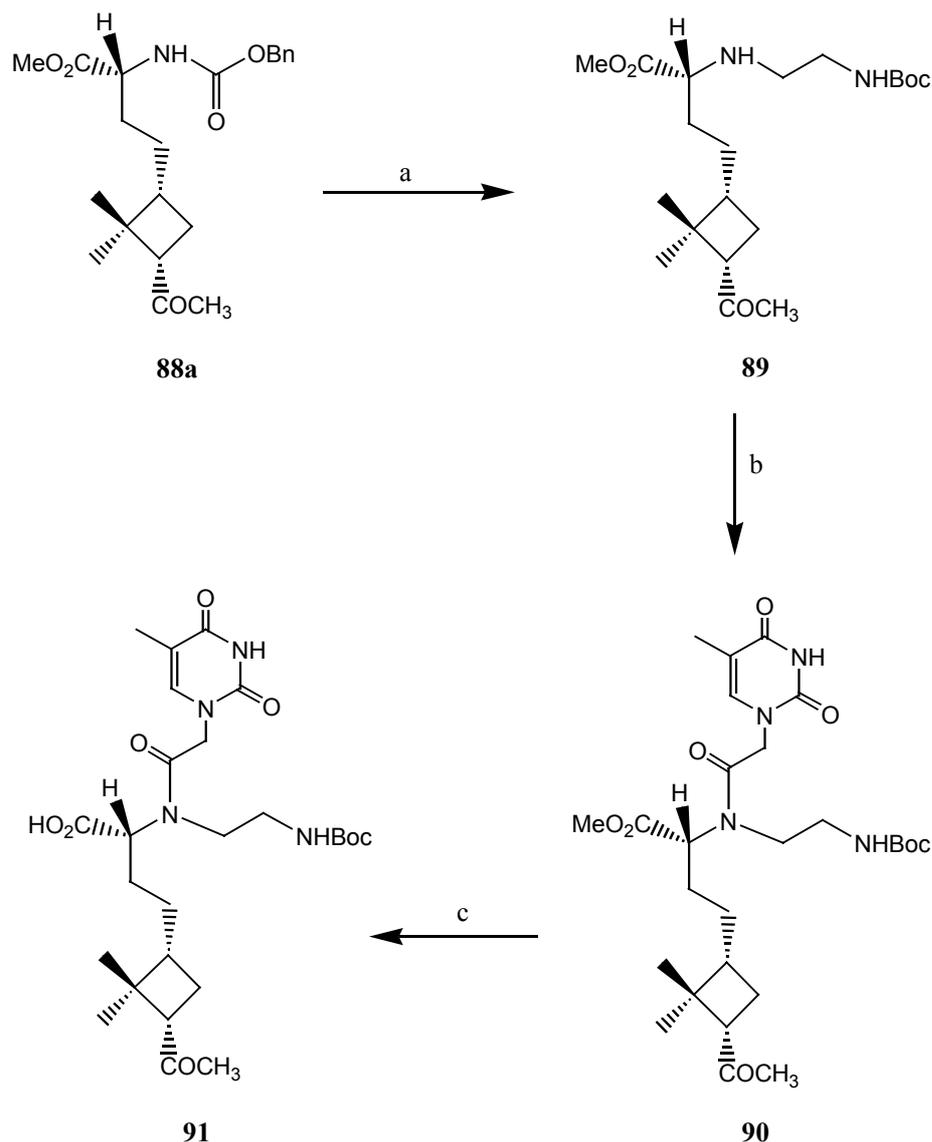


**Esquema 39**

El catalizador utilizado fue el (*R,R*)-Et-Duphos ya que, como se vio en el capítulo 4, la utilización de este catalizador en la hidrogenación de deshidroaminoácidos sintetizados a partir del pineno, es una reacción altamente estereoselectiva pues se obtiene un único diastereoisómero. Así, **88a** se obtuvo con un 91% de rendimiento después de 4 días de reacción y a 2 atm de presión de hidrógeno. La configuración absoluta del centro estereogénico creado en esta reacción se determinó por analogía con el resultado obtenido

en la hidrogenación de **72** (sustrato análogo a **87** pero con la función amino protegida en forma de acetamida) y el catalizador (*R,R*)-Et-Duphos, en la cual se obtenía el aminoácido **81a** con configuración *R* en el carbono 2.

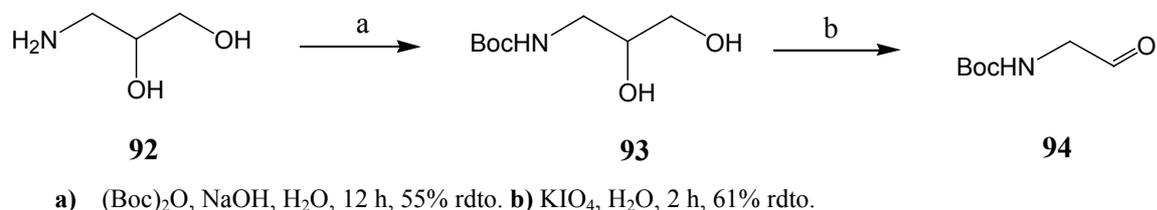
Las reacciones efectuadas para sintetizar el monómero de APN objetivo se muestran en el **Esquema 40**:



**a)**  $\text{BocNHCH}_2\text{COH}$  (**94**), MeOH,  $\text{H}_2$ , Pd/C 10%, 5 atm, 6 h, 67% rdto. **b)** DCC, ácido 2-(timin-1-il)acético, DhbtOH, DMF, 12 h, 57% rdto. **c)**  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , MeOH/ $\text{H}_2\text{O}$  (3:1), 12 h, 24% rdto.

**Esquema 40**

En primer lugar, es necesario sintetizar el *N*-Boc-2-aminoacetaldehído, reactivo adecuado para obtener el intermedio **89**. Así, **94** se preparó como muestra el siguiente esquema:<sup>53</sup>



**Esquema 41**

Partiendo de 3-amino-1,2-propanodiol se procedió en primer lugar a proteger la función amino de éste en forma de carbamato de *terc*-butilo con (Boc)<sub>2</sub>O y NaOH en H<sub>2</sub>O durante una noche, obteniéndose así el diol **93** con un 55% de rendimiento. La oxidación de **93** con KIO<sub>4</sub> durante 2 h condujo a la obtención del aldehído **94** con un 61% de rendimiento. La estabilidad del aldehído **94** es baja, con lo cual debe guardarse a 0 °C.

A continuación, se llevó a cabo la síntesis del intermedio **89** por aminación reductiva de **94**, según un procedimiento similar al propuesto por Burk.<sup>54</sup> En este proceso se produjo, en primer lugar, la hidrogenólisis *in situ* del grupo Cbz con la consecuente obtención de la amina libre. Esta amina reaccionó con el aldehído **94** formándose una imina, la reducción de la cual en presencia de H<sub>2</sub> y Pd/C condujo a **89**. Las condiciones experimentales necesarias para darse esta reacción se basan en la utilización de MeOH como disolvente, Pd/C 10%, a 5 atm de presión de hidrógeno y durante 6 horas. El intermedio **89** no se aísla y se utiliza directamente en el paso siguiente.

La introducción de la base nucleica, en este caso un derivado de la timina, se realizó mediante un procedimiento ampliamente usado para este tipo de reacción.<sup>55</sup> Así, a una solución de DMF que contiene el ácido 2-(timin-1-il)acético y DhbtOH (el cual actúa como catalizador), se añadió DCC. Pasado el tiempo necesario se adicionó el intermedio **89** y se

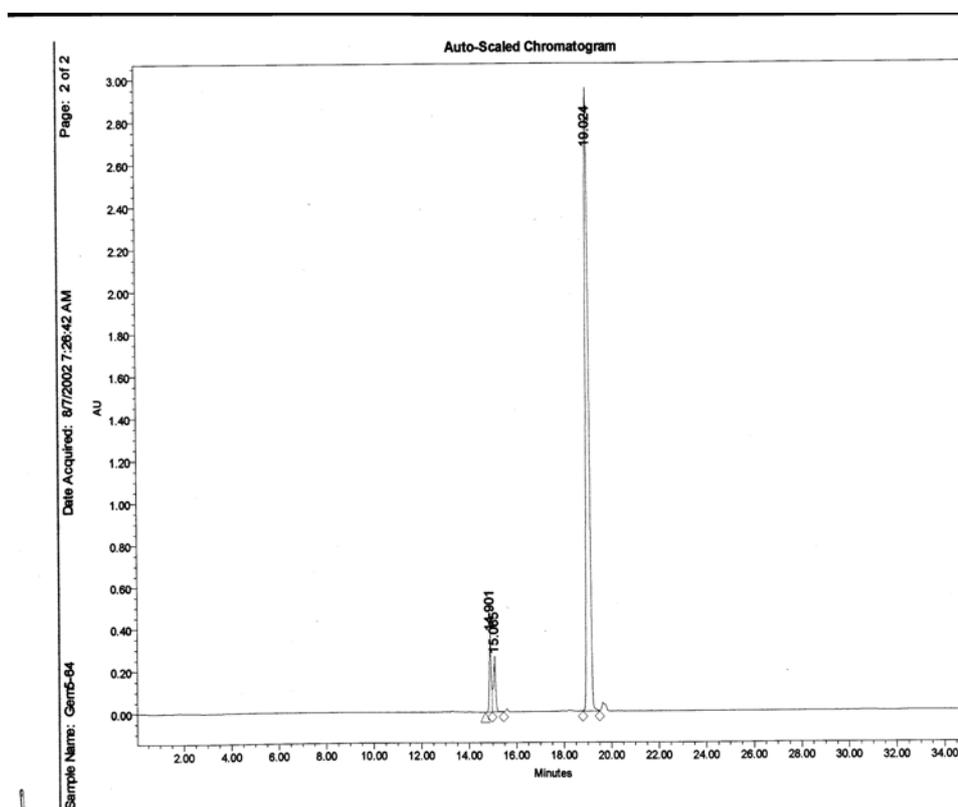
<sup>53</sup> Dueholm, K.L.; Egholm, M.; Buchardt, O. *Org. Prep. and Procedures Int.*, **1993**, 25 (4), 457.

<sup>54</sup> Stammers, T.A.; Burk, M.J. *Tet. Letters*, **1999**, 40, 3325.

<sup>55</sup> Püschl, A.; Sforza, S.; Haaïma, G.; Dahl, O.; Nielsen, P.E. *Tet. Letters*, **1998**, 39, 4707.

dejó el sistema toda la noche en atmósfera de nitrógeno, obteniéndose el derivado **90** con un 57% de rendimiento.

Finalmente, para preparar el monómero de APN **91** es necesario llevar a cabo la hidrólisis del éster en **90** para obtener el ácido libre. La reacción tuvo lugar con  $K_2CO_3$ , en una mezcla de solventes MeOH/H<sub>2</sub>O en una relación 3:1 y durante 12 horas. Tras el tratamiento del crudo de reacción con HCl 5% se produjo un sólido, el cual se recrystalizó de éter dietílico/pentano. De esta manera se obtuvo un sólido blanco de punto de fusión 115-120°C, muy poco soluble. Debido a la posible epimerización del carbono 3' del anillo ciclobutánico en la reacción de hidrólisis, se realizó un análisis por HPLC en fase reversa del monómero **91**. A continuación se muestra el cromatograma obtenido (**Figura 49**).



**Figura 49:** HPLC del sólido obtenido en la reacción de hidrólisis de **90**.

Como puede verse, existen varios picos en el cromatograma, el de mayor proporción (tiempo~19 min) correspondiente al monómero deseado **91**, y los de menor

proporción (tiempo~15 min) provenientes seguramente de la epimerización de **91** en la posición  $\alpha$ -carbonílica del anillo ciclobutánico. Dado que la proporción del epímero es muy baja y a su difícil manipulación mediante técnicas cromatográficas convencionales, se decidió incorporar el monómero **91** sin purificación adicional a un oligómero de APN, mediante técnicas estándar de fase sólida.

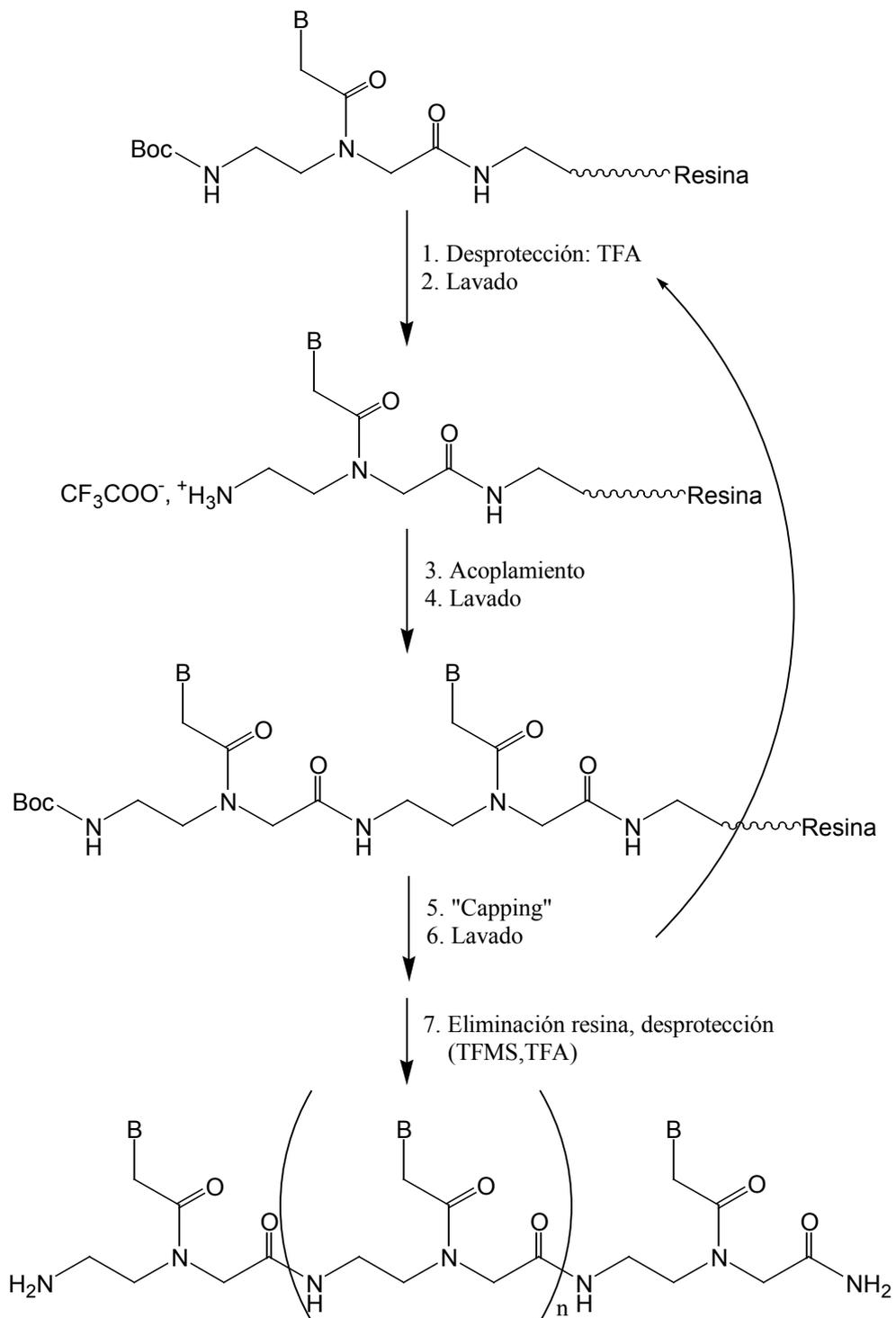
## 6.2. Síntesis en fase sólida de oligómeros de APN.

La síntesis en fase sólida de los oligómeros de APN se llevó a cabo en los laboratorios del Profesor Nielsen de la Universidad de Copenhague.

Para comprobar que es posible incorporar un monómero del APN **91** en un oligómero de APN estándar se llevó a cabo una prueba, en la cual se sintetizó el APN **93** mostrado a continuación: Ac-T-(**91**)-C-G-A-T-LysNH<sub>2</sub>, el cual contiene 6 unidades de monómeros de APN, una de las cuales es **91**, mientras que las otras son monómeros estándar de APN con diferentes bases nucleicas.

En la **Figura 50** se muestra un esquema de cómo tiene lugar, en general, la síntesis en fase sólida de APN protegidos en forma de N-Boc.

Como soporte sólido se utiliza la resina MBHA, la cual contiene grupos de 4-metilbenzhdrilamino. Tal y como puede verse en la **Figura 50**, una vez ha tenido lugar el anclaje del primer monómero al soporte sólido, tiene lugar la eliminación del grupo protector Boc, y posteriormente un lavado. A continuación se produce el acoplamiento con otra unidad de APN y un posterior lavado. Seguidamente tiene lugar el “capping” y un lavado posterior. Este último paso tiene la finalidad de eliminar los productos de posibles reacciones secundarias. Estos procesos se llevan a cabo n veces, en función del número de monómeros que se quieran incorporar. Para finalizar, es necesario eliminar el oligómero sintetizado del soporte sólido, proceso que se lleva a cabo con una solución de ácido trifluorometanosulfónico/TFA/m-cresol/tioanisol (2:6:1:1).



**Figura 50:** Representación esquemática de la síntesis en fase sólida de APN.

A continuación se muestra una tabla resumen con algunos de los reactivos utilizados en las diferentes etapas de la síntesis.

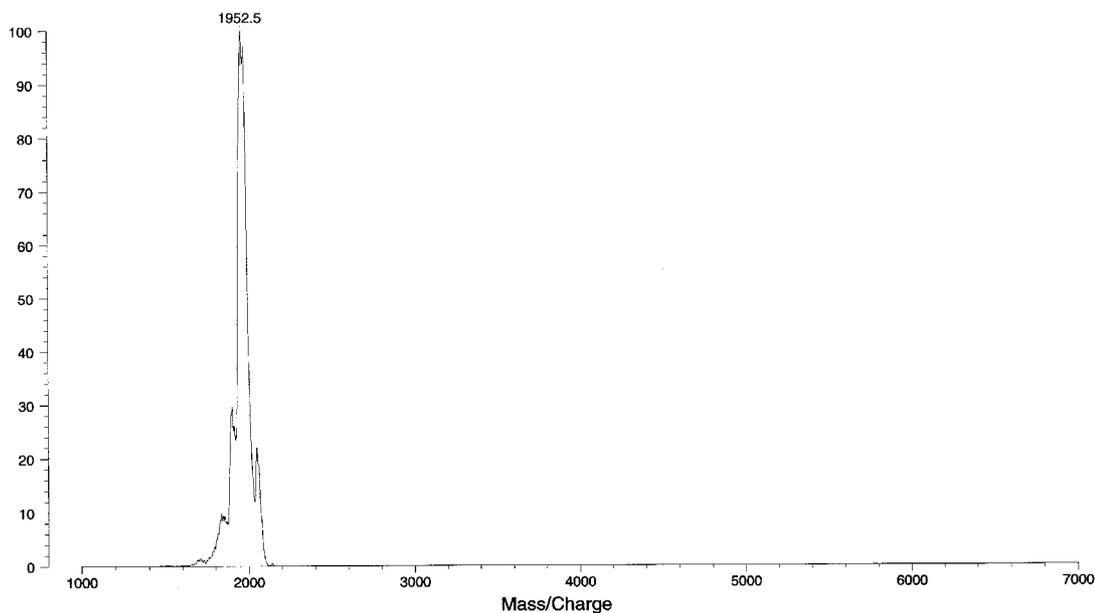
**Tabla 10:** Resumen del ciclo de la síntesis de Boc-APN.

<b>Operación</b>	<b>Reactivo/Disolvente</b>
1. Lavado	DCM
2. Desprotección	TFA/ Anisol (95/5)
3. Lavado	DCM/DMF
4. Lavado	Piridina
5. Acoplamiento	Monómero APN, DMF, HATU, DIPEA
6. Lavado	DMF
7. “Capping”	Ac <sub>2</sub> O/Colidina/DMF (1/1/8)
8. Lavado	DMF
9. Lavado con piperidina	5 % piperidina, DMF
10. Lavado	DMF/DCM

DCM: diclorometano; TFA: ácido trifluoroacético; DMF: dimetilformamida; HATU: O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroniohexafluorofosfato; DIPEA: Diisopropiletilamina.

Siguiendo este procedimiento se sintetizó el **APN 93**. Este oligómero se estudió en primer lugar con HPLC analítico, y a continuación se purificó mediante HPLC preparativo en condiciones de fase reversa. Finalmente, el peso molecular del producto obtenido se determinó mediante espectroscopia de masas MALDI-TOF. A continuación se muestra el espectro MALDI obtenido para el **APN 93**:

PNAGen5-64raw, beregnet Mw= 1957.05  
 Data: PNASyn3264.6 18 Sep 102 13:47 Cal: NADIA120820002 12 Aug 102 14:25  
 Kratos Kompact MALDI 2 V5.2.0: + Linear High Power: 131  
 %Int. 100% =68 mV[sum= 6865 mV] Profiles 1-100 Smooth Av 50

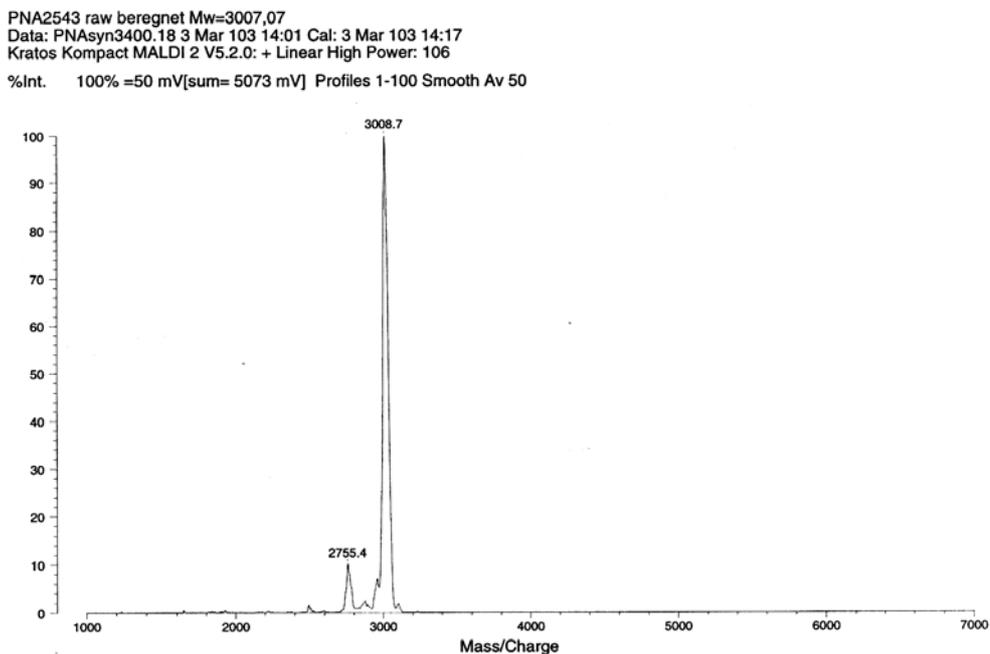


**Figura 51:** Espectro MALDI-TOF del **APN 93**.

Así pues, dado que el acoplamiento se produjo correctamente, se decidió sintetizar un APN de cadena más larga, en particular un decámero, en el cual se incorporó el monómero **91**. El procedimiento seguido para su preparación fue el mismo al utilizado para el **APN 93**. La secuencia del decámero es la siguiente:



En la **Figura 52** se muestra el espectro MALDI obtenido para el **APN 94**.



**Figura 52:** Espectro MALDI-TOF del **APN 94**.

### 6.3. Estudio de la estabilidad térmica ( $T_m$ ).

Como ya se comentó en el capítulo 1, la afinidad en la hibridación con una cadena complementaria de ADN o ARN se mide obteniendo las curvas de  $T_m$  (temperatura de fusión o de desnaturalización) de los complejos resultantes del acoplamiento.

Se decidió estudiar la estabilidad térmica del **APN 94** al hibridarse con una cadena complementaria de ADN, ARN o APN, de manera antiparalela. Para poder establecer una comparación del valor de  $T_m$  del complejo dimérico formado por el **APN 94**, se sintetizó un APN estándar (**APN 95**: Ac-G-T-A-G-A-T-C-A-C-T-LysNH<sub>2</sub>), con las mismas bases nucleicas que **94**, pero sin ninguna unidad del monómero **91**. Se midió el valor de  $T_m$  una vez hibridado **95** con una cadena complementaria de ADN, ARN o APN.

Si el valor de  $T_m$  del complejo formado por el **APN 94** con la cadena complementaria es superior al  $T_m$  para el complejo que contiene el estándar **APN 95**, esto significaría que la incorporación del monómero **91** produce un aumento en la afinidad, y

por tanto en la estabilidad, respecto a una cadena análoga de APN estándar. En la **Tabla 11** se muestran los resultados obtenidos.

**Tabla 11:** Temperaturas de fusión (valores de  $T_m$ )<sup>a</sup>

Entrada	Secuencia	ADN <sup>b</sup>	ARN <sup>c</sup>	APN <sup>d</sup>
1	APN95	54 <sup>e</sup>	57,1 <sup>f</sup>	72,2 <sup>f</sup>
2	APN94	54 <sup>e</sup>	57 <sup>f</sup>	70 <sup>f</sup>

<sup>a</sup>  $T_m$ = temperatura de fusión (medida en solución tampón: 100 mM NaCl, 10 mM fosfato, 0.1 mM EDTA, PH=7). Velocidad de calentamiento: 1K/min. Absorbancia UV medida a 260 nm. <sup>b</sup> Secuencia de ADN complementario: 5'-d(AGTGATCTAC)-3'. <sup>c</sup> Secuencia de ARN complementario: 5'-d(AGUGAUCUAC)-3'. <sup>d</sup> Secuencia de APN complementario: 5'-d(AGTGATCTAC)-3'. <sup>e</sup>  $T_m$  medida de 10 a 95 °C. <sup>f</sup>  $T_m$  medida de 5 a 95 °C.

Como puede verse en la **Tabla 11**, los valores más altos de  $T_m$  se obtuvieron para los complejos de hibridación entre **APN95** o **APN94** con una cadena complementaria de APN (72,2 para **APN95**-APN y 70 para **APN94**-APN). Por lo tanto, los complejos diméricos **APN95**-APN y **APN94**-APN son más estables que los resultantes de la hibridación con cadenas de ADN o ARN, tal y como se comenta en el capítulo 1.

Por otra parte, parece ser que tanto el **APN94** como el **APN95** manifiestan una ligera mayor afinidad por una cadena complementaria de ARN que por una de ADN, aunque las diferencias no son muy marcadas ( $\Delta T_m$  para **APN95**= 3,1 °C;  $\Delta T_m$  para **APN94**= 3 °C).

Finalmente, los valores de  $T_m$  de los complejos diméricos **APN94**-ADN, **APN94**-ARN y **APN94**-APN (entrada 2), son iguales o prácticamente iguales (con ADN o ARN) o ligeramente inferiores (con APN) que los valores de  $T_m$  de los complejos diméricos **APN95**-ADN, **APN95**-ARN y **APN95**-APN (entrada 1). Así pues, la incorporación del monómero **91** en un oligonucleótido, no mejora ni empeora la afinidad por una cadena complementaria de ADN o ARN, respectivamente.

Éste es un resultado preliminar, ya que se podría, por ejemplo, variar la base nucleica de **91**, o la cadena en posición  $\alpha$  del ácido con el fin de variar la conformación del monómero y aumentar así la afinidad en la hibridación con una cadena complementaria.



## **CAPÍTULO 7:**

**Resumen y conclusiones.**



## 7. RESUMEN Y CONCLUSIONES.

Los principales resultados así como las conclusiones de esta Tesis se describen a continuación:

1. Se han sintetizado una gran variedad de compuestos ciclobutánicos polifuncionalizados y de configuración absoluta determinada, partiendo de (-) y (+)- $\alpha$ -pineno y (-)-verbenona, como precursores quirales respectivos.

En particular, se han puesto a punto rutas sintéticas eficientes para la preparación de  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -aminoácidos y  $\alpha,\beta$ -deshidro- $\alpha$ -péptidos.

2. La hidrogenación de DHAAs con Pd/C como catalizador, no ha resultado ser estereoselectiva en ningún caso, como ya era esperado.

En cambio, el catalizador de Wilkinson induce buena estereoselectividad cuando el doble enlace se halla unido directamente al ciclobutano.

3. En la hidrogenación de DHAAs de configuración *Z* con el doble enlace unido al anillo ciclobutánico, utilizando (*S,S*)-Chiraphos como catalizador, se obtiene una estereoselectividad semejante, en general, a la que resulta con el catalizador de Wilkinson. En este caso es la quiralidad del sustrato la que gobierna la estereoselección.

Por el contrario, cuando el doble enlace se halla a un metileno de distancia del anillo, tanto el sustrato como el catalizador influyen en la estereoselectividad del proceso.

4. Con (*R,R*) ó (*S,S*)-Et-Duphos como catalizador, éste siempre determina la quiralidad inducida en la hidrogenación, tanto si el doble enlace se halla separado del ciclobutano por un grupo metileno o unido directamente al anillo, cuando la estereoquímica del DHAA es *Z*. En algunos casos, se ha observado doble inducción asimétrica (*matching*) y en otros *mismatching*.

En general, la estereoselectividad es más elevada cuando el doble enlace no se halla directamente unido al ciclobutano, lo que pone de manifiesto la sensibilidad a los efectos estéricos cuando se utilizan los catalizadores tipo Duphos.

Se ha comprobado que en la hidrogenación de un DHAA con configuración del doble enlace *E*, con (*R,R*)-Et-Duphos se obtiene una mezcla de ambos diastereoisómeros (~1:1) mientras que con (*S,S*)-Et-Duphos se obtiene un distereoisómero muy mayoritario cuya configuración es la dictada por el catalizador.

5. En la hidrogenación de DHPs con catalizadores tipo Duphos se han obtenido resultados similares a los de los DHAAs, siendo siempre el catalizador el que gobierna la estereoselectividad del proceso.

La reducción del péptido conteniendo (*S*)-fenilalanina presenta una diastereoselección más elevada que la hidrogenación del péptido con glicina. En el primer caso se manifiesta, pues, la influencia del centro estereogénico de la fenilalanina en la doble inducción de asimetría.

6. Se ha sintetizado el primer monómero de APN conteniendo un anillo ciclobutánico y timina como base pirimidínica.

Este compuesto ha sido incorporado en un oligómero que no manifiesta especial afinidad por ADN o ARN, según los ensayos realizados hasta el presente.

7. Algunos de los productos ciclobutánicos sintetizados en esta Tesis están siendo incorporados al fullereno C<sub>60</sub> para realizar su estudio estructural y evaluación biológica posterior.

## **CAPÍTULO 8:**

**Procedimientos experimentales.**

