

TESIS DOCTORAL

Semisíntesis en disolución y en fase sólida de
derivados triterpénicos de *Olea europaea*.

Obtención de sintones quirales, inhibidores de
serin-proteasas y agentes apoptóticos

Pilar López Rodríguez



UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS
Departamento de Química Orgánica

Granada, 2007

Semisíntesis en disolución y en fase sólida de
derivados triterpénicos de *Olea europaea*.
Obtención de sintones quirales, inhibidores de
serin-proteasas y agentes apoptóticos

Tesis Doctoral presentada por

Pilar López Rodríguez

para optar al Grado de Doctor en Química
por la Universidad de Granada

Vº Bº del director de la tesis

Andrés Parra Sánchez

Profesor Titular de Química Orgánica
Universidad de Granada

Este trabajo ha sido realizado en el Grupo de Investigación "Biotransformación y Química de Productos Naturales" bajo la dirección del Dr. D. Andrés Parra Sánchez, a quien quisiera reconocer su dedicación y su extraordinaria dirección, así como su excelente calidad humana.

Quisiera expresar, asimismo, mi agradecimiento a todas aquellas personas que me han ayudado, animado y apoyado durante la realización de la presente Tesis Doctoral, en especial:

A los doctores D. Andrés García-Granados López de Hierro, D. Antonio Martínez Rodríguez y D. Francisco Rivas Sánchez, por su colaboración y ayuda.

A la Dra. D^a María Esther Onorato Gutiérrez por la realización de las experiencias de Resonancia Magnética Nuclear necesarias para la elucidación estructural de los compuestos que se relacionan en la presente Memoria y D. Juan Moliz Medina, por la realización de los espectros de masas.

Al profesor D. Fernando Albericio Palomera por permitirme una fructífera estancia en el Parc Científic de Barcelona, por su admirable disposición y por su trato exquisito. A Carol, Nuria y Ariadna por guiar mis pasos en el laboratorio. A todos los que hicieron mi estancia agradable, especialmente a Esther y Carina, cuya amistad sé que me acompañará en todo momento, gracias por los buenos momentos vividos y por los venideros.

A todos los compañeros que han transitado durante estos años por el laboratorio, Yolanda, Macarena, José Ignacio, Enrique, Arsenio y Alberto. Por vuestra ayuda diaria, por el buen ambiente de trabajo y por compartir las decepciones y las alegrías.

A todos mis amigos y amigas, por estar siempre a mi lado y porque este trabajo me ha robado tiempo de estar con ellos.

A mi gran familia. Especialmente a mis padres, porque todo lo que soy se lo debo a ellos, por apoyarme en todo momento y por haberme guiado y enseñado a discernir en los avatares de esta vida. Y como no, a mis hermanos. A Diego, porque a él le debo iniciarme en el mundo de la Química y por permitirme descubrir sentimientos y sensaciones ocultas hasta su llegada. A Isabel, por haber soportado día a día mis alegrías y malhumores, por haberse convertido en mi mejor amiga durante la realización de esta Tesis, por estos maravillosos años convividos.

Y por último a Mario, por haberme evitado tantos y tantos desplazamientos durante la realización de esta Tesis, por su enorme paciencia, por compartir mis sufrimientos y alegrías, por dar tanto sin esperar nada y por supuesto, por su AMOR.

A mis padres, Diego y Pilar
A mis hermanos, Diego e Isabel
A Mario

ABREVIATURAS

¹³C-RMN	Espectro de resonancia magnética nuclear de carbono
¹H-RMN	Espectro de resonancia magnética nuclear de protones
AA, aa	Aminoácido
AAA	Análisis de aminoácidos
Ac₂O	Anhídrido acético
AcOH	Ácido acético
AIBN	Azoisobutironitrilo
[α]_D	Poder rotatorio
Alloc	Aliloxicarbonil
AMCPB	Ácido <i>m</i> -cloroperbenzoico
AMP	Adenosina monofostafo
ATP	Adenosina trifostafo
Boc	<i>tert</i> -Butoxicarbonil
C.C.F.	Cromatografía en Capa Fina
CAS-RN	<i>Chemical Abstracts Service-Registry Number</i>
Calc	Calculado
CITMS	Cloruro de trimetilsililo
Cti	cis-transisomerasa
d	doblete
δ	desplazamiento químico
dd	doble doblete
ddd	doble doblete
dddd	doble doblete
dt	doble triplete
DEAD	Dietildiazocarboxilato
DEPT	<i>Distortionless Enhancement by Polarization Transfer</i>
DIBAH	Hidruro de diisobutilaluminio
DIBAL	Diisobutilamido de litio
DIEA	<i>N,N'</i> -Diisopropiletilamina
DIPCDI	<i>N,N'</i> -Diisopropilcarbodiimida
DKP	2,5-Dicetopiperacina
DMAP	Dimetilaminopiridina
DME	Dimetil éter
DMF	<i>N,N'</i> -Dimetilformamida
DMP	Dimetoxipropano
DMPD	2'2-dimetil-1'3-propandiol
DMSO	Dimetilsulfóxido
EDAC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
EMAR	Espectro de Masas de Alta Resolución
EPHP	hipofosfito de N-etilpiperidina
eq	equivalente
EtOAc	Acetato de etilo
f	funcionalización del soporte polimérico
Fmoc	9-Fluorenilmetoxicarbonil

HATU	Hexafluorofosfato de <i>N</i> -óxido de <i>N</i> -[(dimetilamino)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol[4,5- <i>b</i>]piridin-1-ilmetileno]- <i>N</i> -metilmetaniminio
HEPT	1-[(2-hidroxietoxi)metil]-6-(feniltio)-timina
HIV	Virus de la inmunodeficiencia humana
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Connectivity
HMPA	Hexametil fosfórico triamida
HMQC	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
HOAt	1-Hidroxi-7-azabenzotriazol
HOBt	1-Benzotriazol
HOMO	High Occupated Molecular Orbital
HPLC	High-performance liquid chromatography
Hz	Herzios
IR	Espectro de infrarrojo
<i>J</i>	constante de acoplamiento
KHMDS	hexametildisilazano potásico
KOAc	Acetato potásico
LDA	Diisopropilamidauro de litio
LN	litionaftalinida
<i>m</i>	multiplete
<i>m/z</i>	Relación masa/carga
MALDI-TOF	Matrix Assistant Laser Desorption Ionization-Time of Fly
Max	máxima
Me	metilo
MICA	Bromuro de magnesio isopropilciclohexilamida
Min	minuto
MsCl	Cloruro de mesilo
NADPH	nicotinamida adenina dinucleotido fosfato (forma reducida)
NBS	N-bromosuccinimida
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
Ortep	Oak Ridge Termal Ellipse Program
<i>p</i>-TSA	ácido paratoluensulfónico
PCC	Clorocromato de piridinio
PDC	Dicromato de piridinio
Pf	punto de fusión
PMHS	Polimetilhidrosiloxano
<i>p</i>NZ	<i>p</i> -Nitrobenciloxicarbonil
<i>p</i>NZ-Cl	Cloroformiato de <i>p</i> -nitrobencil
ppm	Partes por millón
PS	Poliestireno
<i>p</i>-TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
PTSP	Paratoluensulfonato de piridinio
Py	Piridina
PyAOP	Hexafluorofosfato de (7-azabenzotriazol-1-iloxi)-tris(pirrolidin)fosfonio
<i>q</i>	cuadrupele
<i>s</i>	singlete
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
<i>t</i>	triplete
<i>t. a.</i>	Temperatura ambiente

TBAF	Tetra-n-butilaminio fluoruro
TBDMS	Ter-butildimetilsilil
TBDPS	Ter-butildifenilsilil
TBSCI	Cloruro de ter-butilsililo
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
TIBO	Tetrahidroimidazol [4,5,1-jk][1,4]benzodiazep-2(1H)-tiona
TMSO	tetrametilsulfóxido
TsCl	Cloruro de tosilo
Trt	Tritilo
t_R	Tiempo de retención
u. m. a.	Unidades de masa atómica
UV	Ultravioleta

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Triterpenos pentacíclicos: ácido oleanólico y ácido maslínico	3
1.1.1	Biogénesis de triterpenos pentacíclicos	3
1.1.2	Síntesis de oleananos	10
1.1.3	Fuentes de ácido oleanólico y ácido maslínico	13
1.1.4	Propiedades biológicas y aplicaciones	14
1.2	Funcionalización remota de enlaces C-H no activados	19
1.2.1	Paladaciclación: herramienta para la funcionalización de enlaces C-H	20
1.2.2	Triterpenos pentacíclicos polioxigenados de interés	27
1.3	Reactividad del esqueleto triterpénico	31
1.3.1	Desoxigenación del anillo A	31
1.3.2	Reactividad del anillo C	41
1.3.2.1	Fotoquímica en terpenos	41
1.3.2.2	Isomerizaciones <i>cis-trans</i>	45
1.4	<i>Trans</i> y <i>cis</i>decalinas	49
1.4.1	Sesquiterpenos drimánicos	50
1.4.2	Ambrox [®]	61
1.4.3	Triterpenos irregulares mono y tricíclicos	68
1.5	Química en fase sólida y librería de terpenoides	75
1.5.1	Kahalalido F	76
1.5.2	Librerías de terpenoides	80
1.6	Objetivos	91

2	RESULTADOS Y DISCUSION	95
2.1	Aislamiento de ácidos oleanólico y ácido maslínico. Obtención de derivados inmediatos	97
2.1.1	Aislamiento de ácido oleanólico y ácido maslínico	97
2.1.2	Obtención de derivados inmediatos	99
2.2	Hidroxilación remota del <i>gem</i>-dimetilo en ácido oleanólico y ácido maslínico	101
2.2.1	Hidroxilación dirigida de oleanoato de metilo (3). Síntesis de 23-hidroxieritrodiool y hederagenina	102
2.2.2	Hidroxilación dirigida de maslinato de metilo (4). Síntesis de ácido hiptático-A	108
2.2.3	Estudio conformacional del anillo A para las oximas 6 , 17 y 29	116
2.3	Fragmentación del esqueleto triterpénico. Obtención de <i>cis</i> y <i>trans</i>-decalinas. Aproximación sintética a distintos terpenos naturales	119
2.3.1	Desoxigenación anillo A en los ácidos oleanólico y maslínico	121
2.3.2	Fragmentación del esqueleto triterpénico	135
2.3.3	Descarboxilación del fragmento 57	162
2.3.4	Reactividad del fragmento 77 . Aproximación sintética a warburganal y ambrox [®]	168
2.3.5	Reactividad del fragmento 78	173
2.4	Ácido oleanólico, ácido maslínico y Química en Fase Sólida	177
2.4.1	Control y cuantificación de la incorporación de ácido oleanólico (1) sobre la resina de Barlos	177
2.4.2	Síntesis de análogos de Kahalalido F con ácidos maslínico y oleanólico	180
2.4.3	Librería de derivados de ácido maslínico con aminoácidos	202
2.5	Actividades y aplicaciones de ácido maslínico. Ensayos biológicos de derivados de AM y AO	211
2.5.1	Actividades y aplicaciones de ácido maslínico	211
2.5.2	Ensayos biológicos de derivados de AM y AO	218
3	EXPERIMENTAL	229
3.1	Instrumentación, métodos y procedimientos generales	231
3.1.1	Instrumentación general básica	231
3.1.2	Cromatografía	231
3.1.3	Métodos de determinación estructural	233
3.1.4	Procedimientos generales de síntesis en disolución	235
3.1.5	Procedimientos generales de Síntesis Orgánica en Fase Sólida (SOFS)	241
3.1.6	Ensayos biológicos. Estudio necrosis y efecto apoptótico	248

3.2	Aislamiento ácidos oleanólico y maslínico. Obtención de derivados inmediatos	249
3.2.1	Aislamiento de ácido oleanólico y ácido maslínico	249
3.2.2	Obtención derivados inmediatos	250
3.3	Hidroxilación remota de oleato de metilo y maslinato de metilo	253
3.3.1	Hidroxilación dirigida de oleato de metilo	253
3.3.2	Hidroxilación dirigida de maslinato de metilo	260
3.4	Fragmentación del esqueleto triterpénico. Obtención de <i>cis</i> y <i>trans</i>-decalinas. Aproximación sintética a distintos terpenos naturales	275
3.4.1	Desoxigenación anillo A en los ácidos oleanólico y maslínico	275
3.4.2	Fragmentación del esqueleto triterpénico	291
3.4.3	Descarboxilación del fragmento 57	306
3.4.4	Reactividad del fragmento 77	308
3.4.5	Reactividad del fragmento 78	312
3.5	Ácidos oleanólico y maslínico y Química Orgánica en Fase Sólida	317
3.5.1	Síntesis de análogos de Kahalalido F con ácidos maslínico y oleanólico	317
3.5.2	Librería de derivados de ácido maslínico con aminoácidos	327
4	CONCLUSIONES	347
5	ESPECTROS	353
Anexo I.	Tablas de ^1H RMN	441
Anexo II.	Tablas de ^{13}C RMN	448

INTRODUCCIÓN

1.1 TRITERPENOS PENTACÍCLICOS: ÁCIDO OLEANÓLICO Y ÁCIDO MASLÍNICO

Los triterpenos constituyen el grupo más extenso de terpenoides debido a su gran diversidad estructural y a que se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal en estado libre, como glicósidos o como ésteres, aunque también han sido hallados algunos importantes en el reino animal. Los triterpenos incluyen el escualeno, aislado por primera vez del aceite de hígado de tiburón y un gran número de compuestos con distinto número de anillos como el lanosterol, presente en la grasa de la lana.

Los terpenos se clasifican, atendiendo al número de unidades de isopreno (2-metil-1,3-butadieno) que posee su esqueleto hidrocarbonado, en monoterpenos (10 carbonos, 2 unidades), sesquiterpenos (15 carbonos, 3 unidades), diterpenos (20 carbonos, 4 unidades), sesterterpenos (25 carbonos, 5 unidades), triterpenos (30 carbonos, 6 unidades) y tetraterpenos (40 carbonos, 8 unidades).

1.1.1 BIOGÉNESIS DE TRITERPENOS PENTACÍCLICOS

Aunque el trabajo sobre los triterpenos comenzó en el siglo XIX, no fue hasta mediados del siglo pasado, cuando Ruzicka inició el estudio de su estructura. Todos los triterpenos presentes en la naturaleza tienen su origen en el escualeno, alcohol triterpénico formado por una

condensación cola-cola del farnesol. Basándose en una amplia información estructural, Ruzicka fue capaz de racionalizar la biogénesis de terpenoides y desarrollarla (**regla biogenética del isopreno**).¹ Los esquemas de correlación, que serán a continuación comentados, tienen su base esencialmente en esta ruta biogenética, que ha dado lugar a la publicación de un gran número de trabajos.²

La biosíntesis de los compuestos terpénicos se inicia con el ácido mevalónico (ácido (*R*)-3,5-dihidroxi-3-metilpentanoico), que se forma por condensación de tres unidades de acetil-CoA.³ Posteriormente, ocurre una activación por fosforilación y descarboxilación del ácido mevalónico como indica la Fig. 1.1. Se forma de esta manera el pirofosfato de 3-isopentenilo, que puede isomerizar a pirofosfato de γ,γ -dimetilalilo (pirofosfato de 2-isopentenilo), y que presenta una gran reactividad en procesos de sustitución nucleofílica.

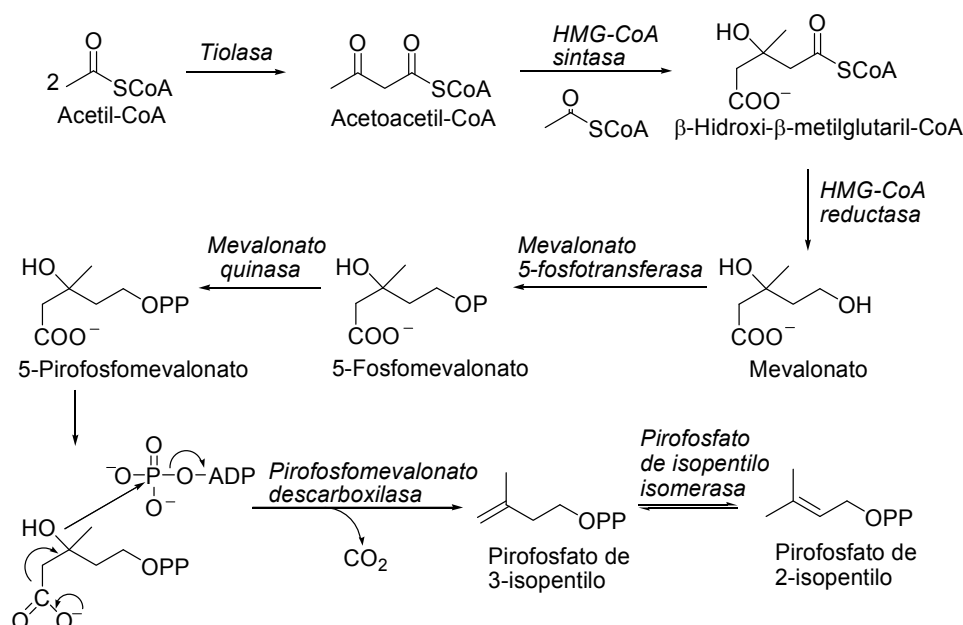


Figura 1.1. Biosíntesis de los precursores biológicos de los terpenos (pirofosfato de 3-isopentenilo y pirofosfato de 2-isopentenilo)

El doble enlace nucleófilo del pirofosfato de 3-isopentenilo, desplaza al grupo pirofosfato de 2-isopentenilo dando lugar, como se ve en la Fig.1.2, tras la pérdida de un protón por parte

¹ (a) Ruzicka, L. *Experientia* **1959**, 9, 357;(b) Eschenmoser, A.; Ruzicka, L.; Jeger, O.; Arigoni, D. *Helv. Chim. Acta* **1955**, 38, 1890.

² (a) Simonsen, E. Q. J.; Ross, W.C.J. *The terpenes*, Vol. IV-V; Cambridge University Press, 1957; Devon, T. K.; Scott, A. I. *Handbook of Naturally Occurring Compounds*, Vol. II; Academic Press, 1972; *Rodd's Chemistry of Carbon Compounds* (ed. S. Coffey), 2nd Ed., 11c, 1969, p. 406; 11e, 1971, p. 93; (b) Overton, K.H. *Terpenoids and Steroids*, Vol. 1-2, *A Specialist Periodical Report*; Chemical Society 1971, 1972.

³ Nakanishi, K.; Goto, T.; Ito, S.; Natori, S.; Nozoe, S. *Nat. Prod. Chemistry*, Kodansha Limtd. Tokyo; Academic Press / Inc. New York, 1974.

del intermedio de reacción carbocatiónico, al monoterpeno lineal fundamental, denominado pirofosfato de geranilo. Este monoterpeno lineal, puede transformarse en los más diversos esqueletos de diez carbonos, denominados monoterpenos (geraniol, limoneno, mentol, etc.), según tenga lugar la acción de las enzimas apropiadas.

Si el pirofosfato de geranilo reacciona con una nueva unidad isoprénica en forma de pirofosfato de 3-isopentenilo por la acción de la geranil transferasa, se obtiene el pirofosfato de farnesilo, que es la base de toda la gama de productos con quince átomos de carbono, sesquiterpenos, que presentan diferentes esqueletos carbonados (germacranos, eudesmanos, cariofilanos, etc.). Si el farnesil pirofosfato reacciona de nuevo con pirofosfato de 3-isopentenilo, da lugar a pirofosfato de geranil-geraniol, intermedio que se supone precursor de los compuestos diterpénicos (kauranos, beyeranos, atisanos, etc.). El acoplamiento cabeza-cabeza de dos unidades de pirofosfato de farnesilo conduce a escualeno, con la ayuda de la escualeno sintasa, a partir del que se forman los triterpenos (dammarano, lupano, oleanano, ursano, etc.) (Fig. 1.2).

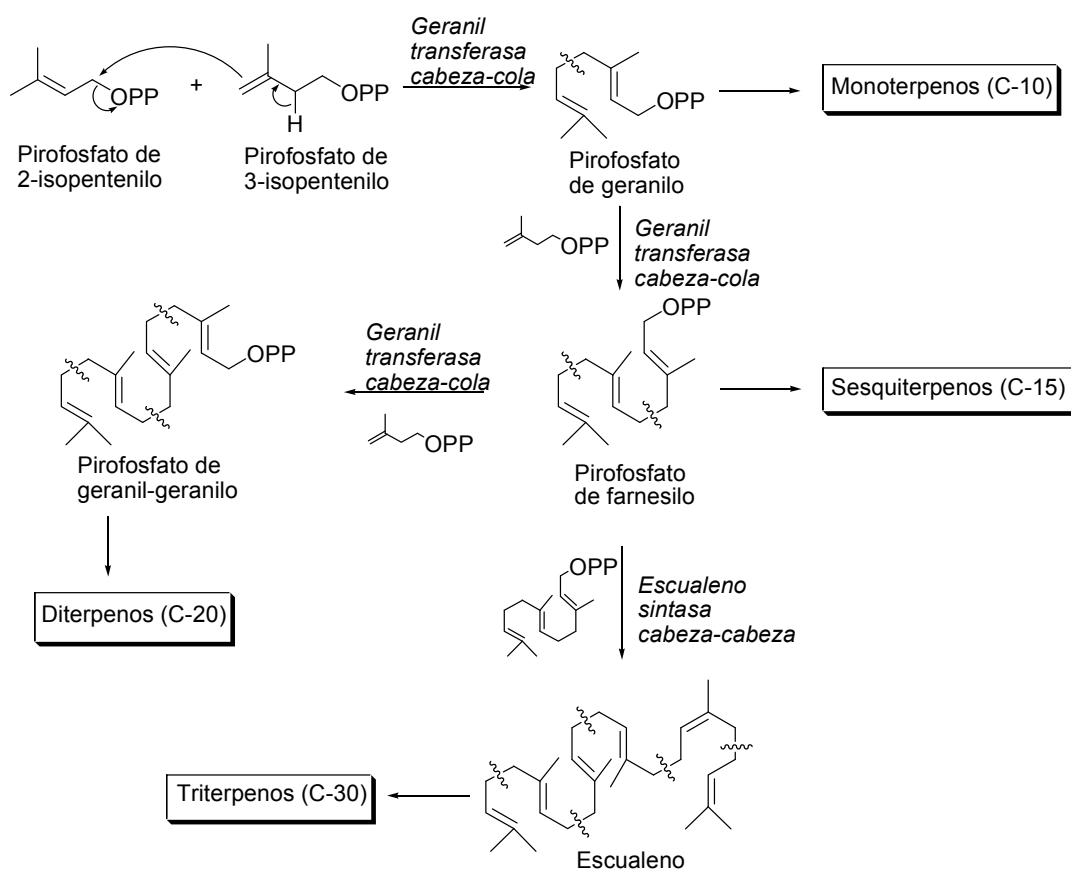


Figura 1.2. Rutas biogénicas hacia mono, sesqui, di y triterpenos a partir de sus precursores (pirofosfato de 2-isopentenilo y pirofosfato de 3-isopentenilo)

De esta forma, y para entender el acoplamiento del pirofosfato de farnesilo, podemos ver en la Fig. 1.3, como esta unión tiene lugar de forma reductora con otra molécula, formándose pirofosfato de ciclopropilmetilo, el pirofosfato del alcohol de preescualeno, que por reordenación y reducción da lugar a escualeno.

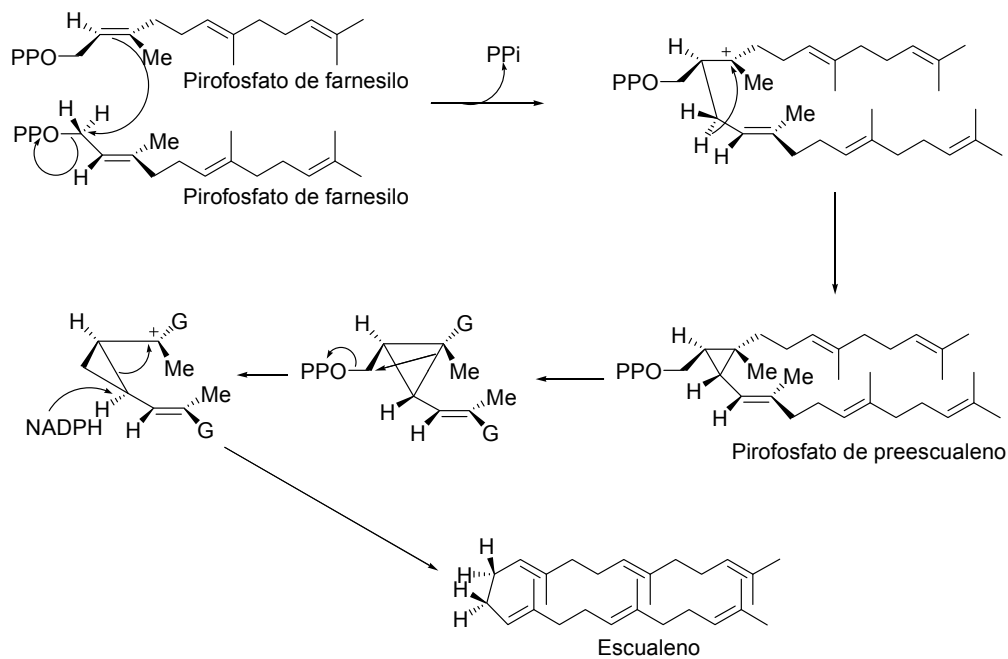


Figura 1.3. Biosíntesis del escualeno a partir de pirofosfato de farnesilo con formación intermedia de pirofosfato de alcohol de preescualeno

La oxidación de uno de los dobles enlaces terminales del escualeno proporciona óxido de escualeno, que sufre una ciclación controlada por enzimas. En esta compleja reacción la cadena del escualeno debe plegarse de forma precisa como señala la Fig. 1.4, (silla-silla-silla-bote) formándose un carbocatión tetracíclico con esqueleto de dammarano, que es la molécula de partida para la formación de otros triterpenos tetracíclicos. Además, mediante diferentes carbocationes generados por ciclaciones y migraciones de metilo o hidruro se obtienen también los triterpenos pentacíclicos con esqueleto de lupano, ursano, oleanano, transformaciones que pueden verse en las Figuras 1.4 y 1.5.

Existe un grupo de triterpenos pentacíclicos, donde se incluyen taraxerol, multiflorenol, glutinol y friedelina, que son sumamente interesantes debido a que estos compuestos son capaces de dar un considerable reagrupamiento esquelético en presencia de ácido, que conduce a los compuestos con esqueletos de oleanano (olean-11,13(18)-dieno, 18α -olean-12-eno y 18β -olean-12-eno, olean-13(18)-eno, β -amirina, etc.). En este sentido, se proponen en la Fig. 1.6, desplazamientos de metilo y/o hidruro, protonaciones o desprotonaciones que dan lugar a la

interconversión de los esqueletos triterpénicos pentacíclicos mencionados.⁴

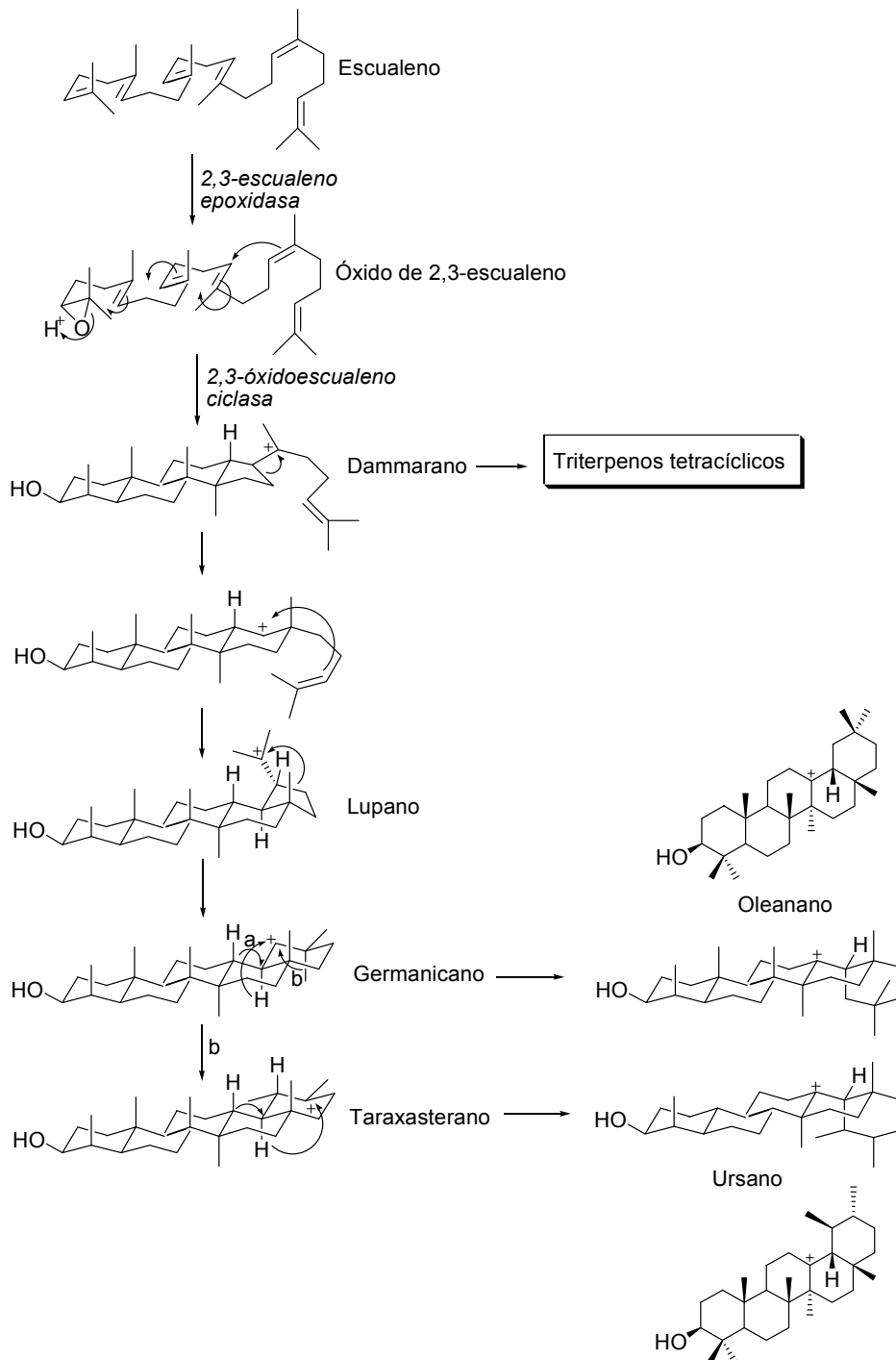


Figura 1.4. Biogénesis de triterpenos a partir de óxido de escualeno

⁴ Brownlie, G.; Spring, F. S.; Stevenson, R.; Strachan, W. S. *J. Chem. Soc.* **1956**, 2419; Dutler, H.; Jeger, O.; Ruzicka, L. *Helv. Chim. Acta* **1955**, 38, 1268; Corey, E. J.; Ursprung, J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 5014; Lahey, F. N.; Leeding, M. V. *Proc. Chem. Soc.* **1958**, 342; Khastigir, H. N.; Sengupta, P. *Chem. Ind.* **1961**, 1077; Beaton, J. M.; Spring, F. S.; Stevenson, R.; Stewart, J. L. *J. Chem. Soc.* **1955**, 2131.

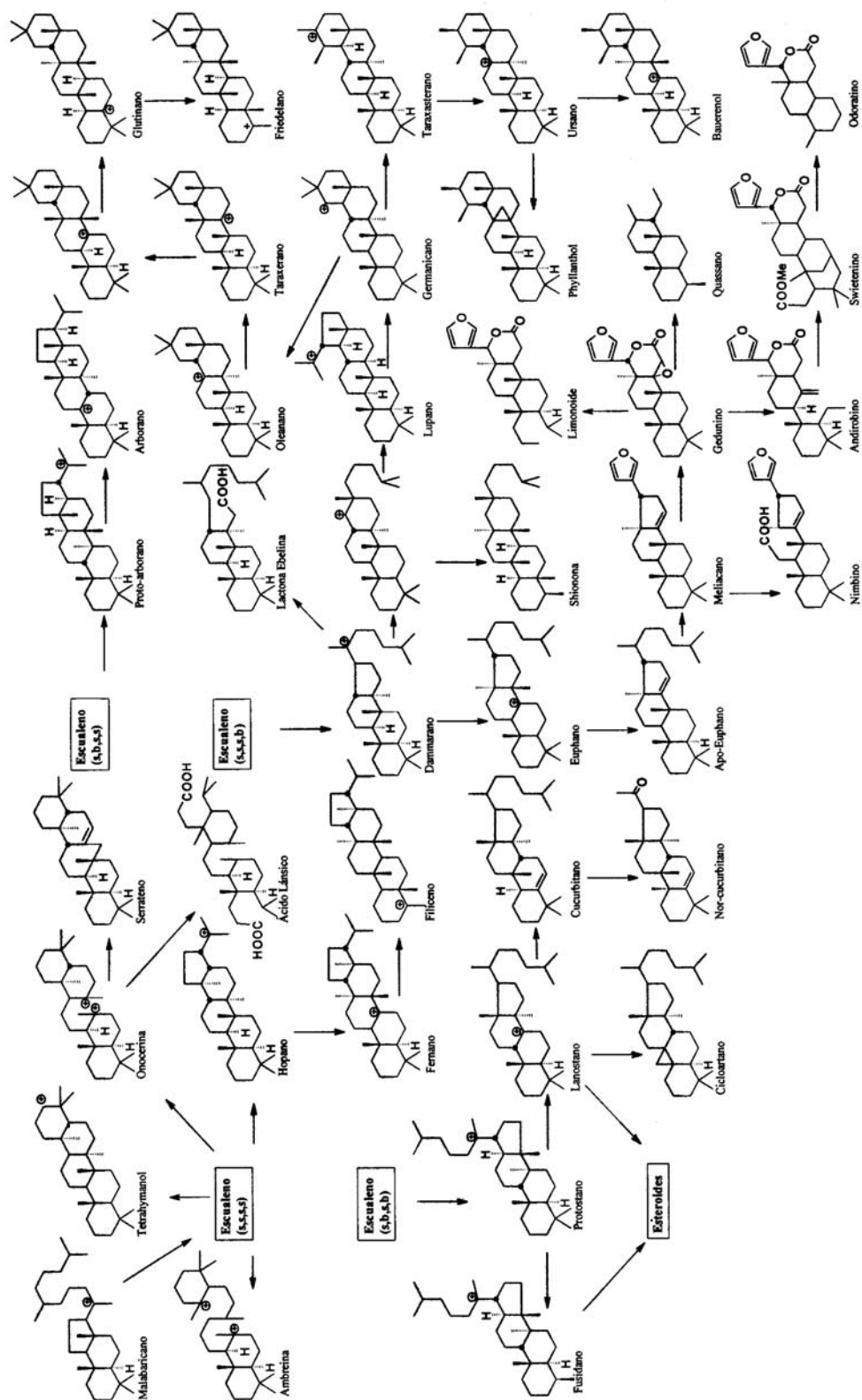


Figura 1.5. Esquema de correlación de esqueletos triterpénicos

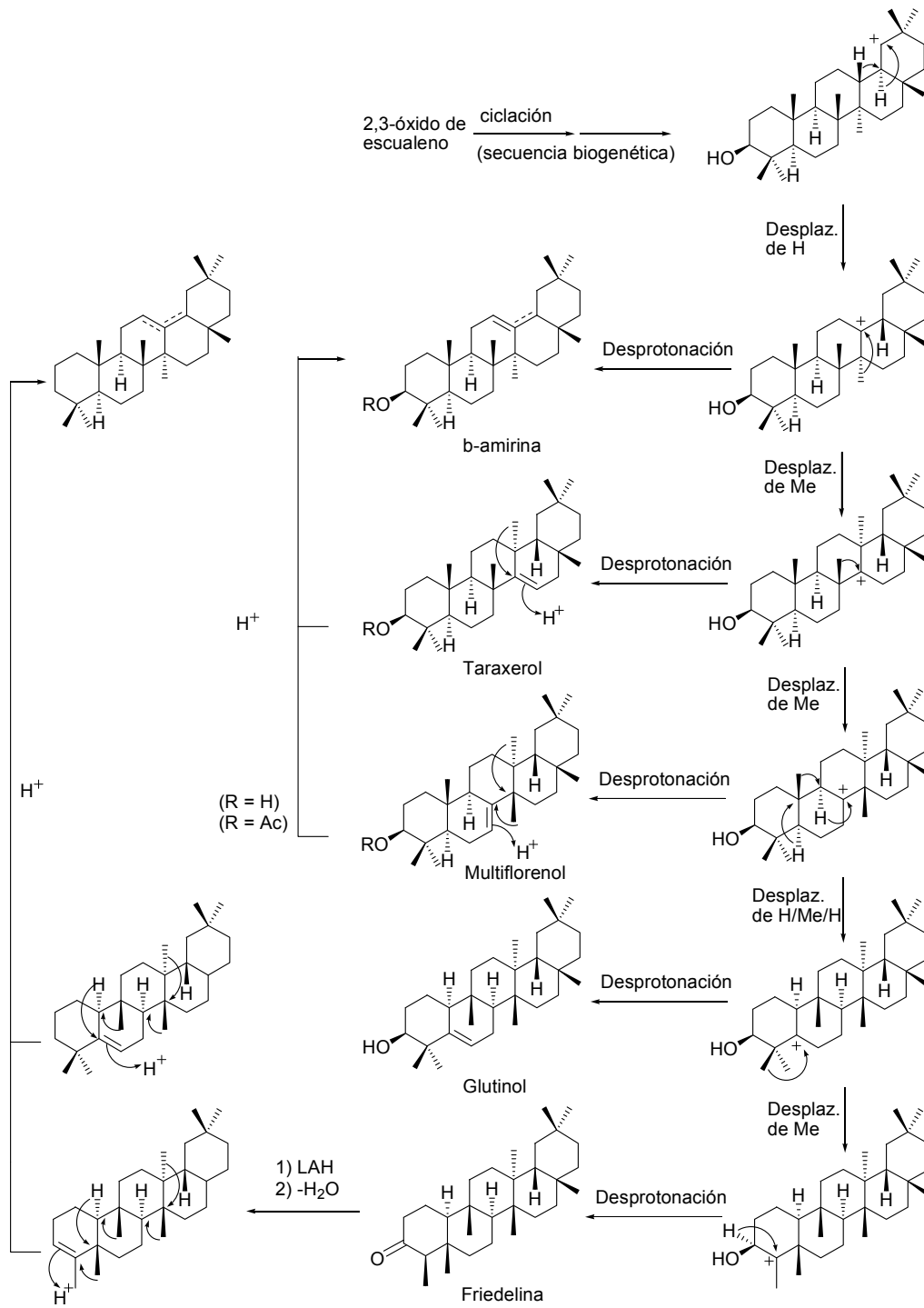


Figura 1.6. Interconversión de triterpenos pentacíclicos.

1.1.2 SÍNTESIS DE OLEANANOS

Corey desarrolló, por partes, la síntesis de olean-11,13(18)-dieno.⁵ Partiendo del producto natural ambreinolida preparó por un lado los anillos A y B, y por otro, y a partir de una dicetona ciclohexánica, el ciclo E. Finalmente, y como vemos en la Fig. 1.7, consiguió la fusión de ambos fragmentos y cicló el aducto, dando lugar al oleandieno buscado.

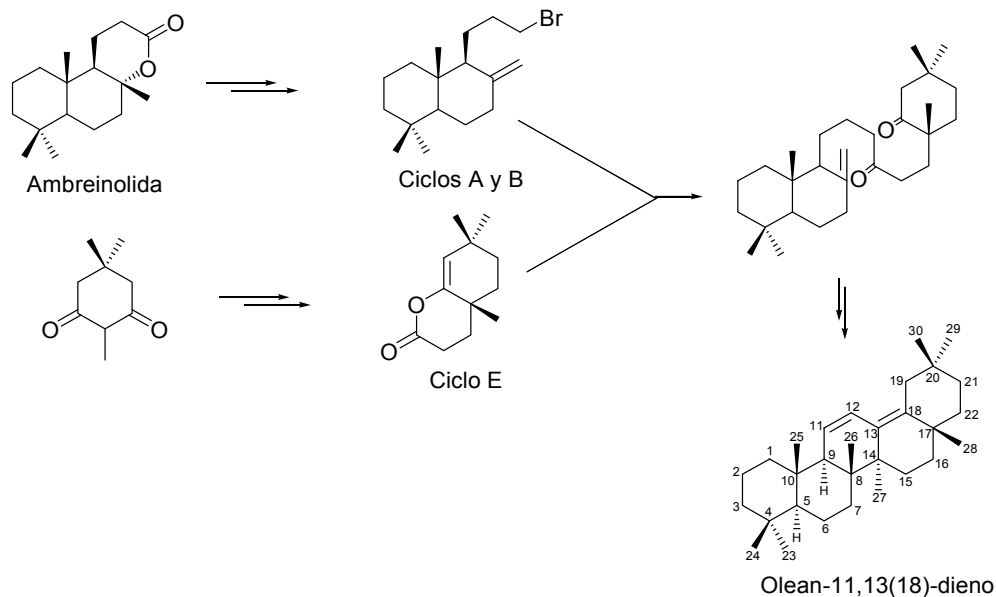


Figura 1.7. Síntesis de olean-11,13(18)-dieno

Se han publicado tres vías diferentes para la síntesis de triterpenos pentacíclicos con esqueleto de 18 α -olean-12-eno y olean-13(18)-eno:

Vía A: Partiendo del producto natural esclareol, Fig.1.8., la aproximación realizada se da a través de la formación de los ciclos AB y DE por separado y posterior fusión de ambos fragmentos.⁶

Vía B: En esta vía se realiza la síntesis total partiendo de dos fragmentos preparados anteriormente que incorporan los ciclos AB y DE (Fig. 1.9) y posterior unión de los mismos.⁷

Vía C: Esta vía, como indica la Fig. 1.10, constituye una síntesis del tipo de la biogénesis del

⁵ Corey, E. J.; Hess, H. J.; Proskow, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, *81*, 5258; Corey, E. J.; Hess, H. J.; Proskow, S. *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, *85*, 3979.

⁶ Barltrop, J. A.; Littlehales, J. D.; Rushton, J. D.; Rogers, N. A. J. *Tetrahedron Lett.* **1962**, 429.

⁷ Ghara, E.; Sondheimer, F. *Tetrahedron Lett.* **1964**, 3887.

producto natural δ -amirina y de olean-13(18)-eno.⁸

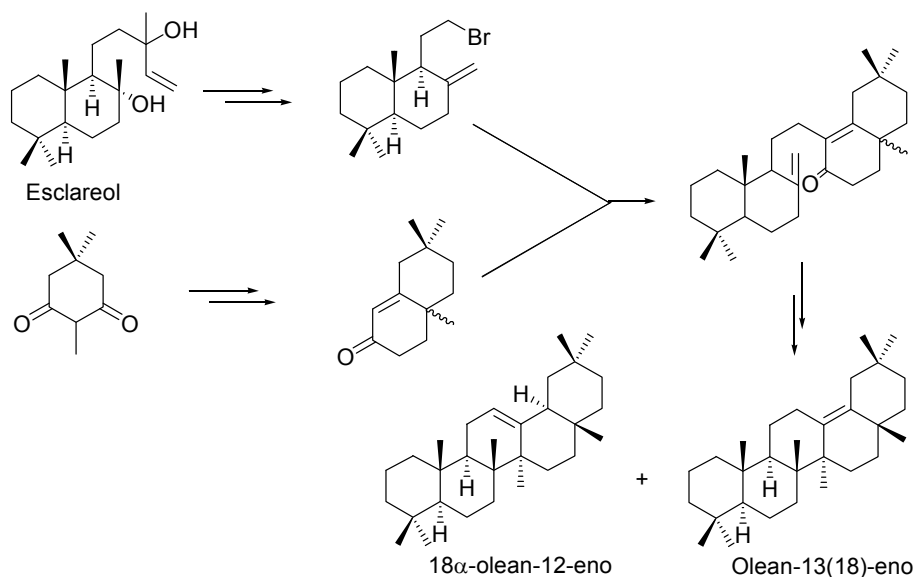


Figura 1.8. Síntesis de 18 α -olean-12-eno y olean-13(18)-eno

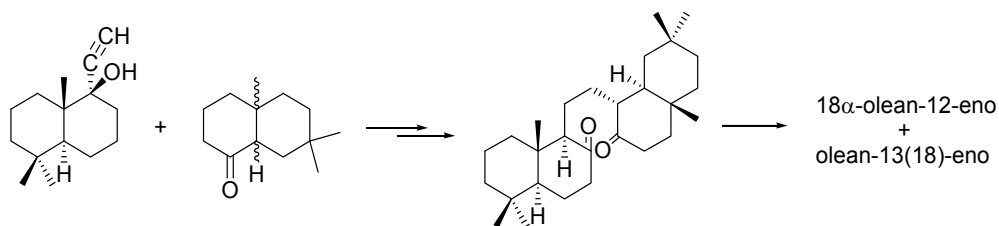


Figura 1.9. Síntesis total de 18 α -olean-12-eno y olean-13(18)-eno

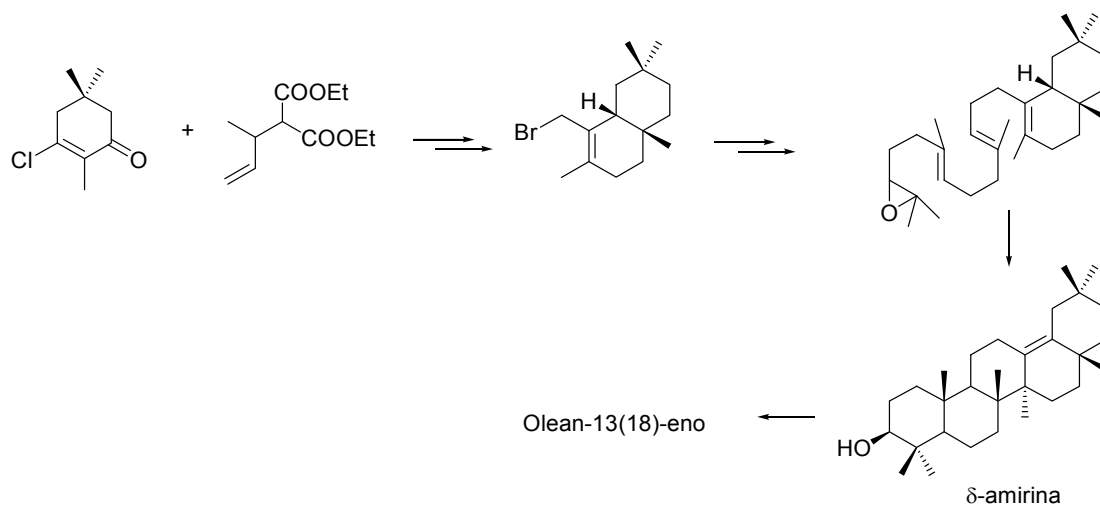


Figura 1.10. Síntesis de δ -amirina y olean-13(18)eno

⁸ Van Tamelen, E. E.; Seiler, M. P.; Wierenga, W. J. *Am Chem. Soc.* **1972**, 94, 8229.

oxima correspondiente y con la participación del metilo de C-28 se genera un hemiacetal (Fig. 1.12), que permite formar el grupo carboxilo de esta posición presente en el ácido oleanólico final.

1.1.3 FUENTES DE ÁCIDO OLEANÓLICO Y ÁCIDO MASLÍNICO

Los ácidos maslínico (ácido 2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oico) y oleanólico (ácido 3 β -hidroxi-12-oleanen-28-oico) son dos productos naturales triterpénicos pentacíclicos con esqueleto de oleanano ampliamente repartidos en el reino vegetal^{11,12} y presentes en el orujo de la aceituna^{13,14} en cantidad considerable.

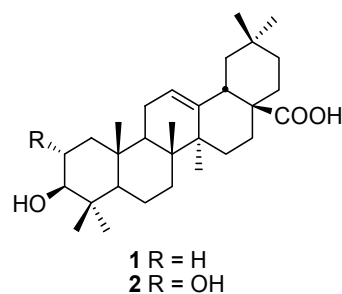


Figura 1.13. Ácido oleanólico (1) y ácido maslínico (2)

El trabajo que se expone en esta Memoria emplea como materia prima ácido maslínico y ácido oleanólico, aislados de los residuos sólidos de la molturación de la aceituna por cualquiera de los tres procedimientos empleados actualmente (prensas, continuo en dos fases y en tres fases). El método empleado para aislar y purificar estos productos a partir de la fuente natural se detallará en la Parte Experimental y se encuentra protegido por patentes nacionales e internacionales desarrolladas por nuestro Grupo de Investigación y titularizadas por la Universidad de Granada.¹⁵

Aunque el ácido oleanólico se comercializa principalmente procedente de los hidrolizados de ginseng, sin embargo no existen fuentes comerciales de ácido maslínico porque está mucho menos repartido. En nuestro laboratorio de investigación se obtienen en torno al 0.4% de ácido oleanólico y el 0.8% en peso de ácido maslínico a partir de los residuos sólidos

¹¹ **Dictionary of Natural Products on CD-ROM.** Chapman & Hall, ISSN 0966-2146 ver.: 5.1. (1996). Oleanolic Acid, CAS (508-02-1); Maslinic Acid, CAS (4373-41-5).

¹² **Phytochemical and Ethnobotanical DB** (<http://www.ars-grin.gov/duke/plants.html>) Chemical: Oleanolic-Acid; Chemical: Maslinic Acid.

¹³ Bianchi, G.; Pozzi, N.; Vlahov, G. *Phytochemistry* **1994**, *37*, 205.

¹⁴ Gil, M.; Haidour, A.; Ramos, J. L. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* **1997**, *45*, 4490.

¹⁵ Procedimiento de aprovechamiento industrial de los ácidos 3 β -hidroxiolean-12-en-28-oico (oleanólico) y 2 α ,3 β -dihidroxiolean-12-en-28-oico (maslínico) contenidos en los subproductos de la molturación de la aceituna. Patente española P9601652. Patente internacional W098/04331.

secos de la industria olivarera, empleando los clásicos aparatos de extracción continua Soxhlet y los procesos que más adelante se detallarán. Esto significa que por cada kilogramo de materia prima procesado se aíslan unos cuatro gramos de ácido oleanólico y unos ocho de ácido maslínico, lo que indica la inhabitual gran disponibilidad de materia prima con que contamos en este caso.

El ácido oleanólico tiene un gran número de sinónimos (oleanol, guagenina, taragenina, ácido víscico, ácido oleánico, etc.) y se encuentra libre en la naturaleza o bien formando distintos derivados (glicósidos mayoritariamente) en el muérdago, el clavo, la remolacha, las hojas del olivo, etc. Mientras, el ácido maslínico, menos extendido, se encuentra distribuido en la naturaleza como tal o bien en forma de ester metílico o formando distintos tipos de glicósidos.

1.1.4 PROPIEDADES BIOLÓGICAS Y APLICACIONES DE AO Y AM

Los triterpenos pentacíclicos han tomado relevancia últimamente debido al amplio espectro de sus actividades biológicas. La función fisiológica de estos compuestos en las plantas está relacionada con la defensa frente a distintos patógenos y herbívoros, por lo que se podría esperar que estos triterpenos actúen contra ciertos patógenos causantes de enfermedades en humanos y animales. El ácido maslínico y ácido oleanólico, al igual que otros triterpenos pentacíclicos como ácido ursólico, lupeol o betulínico, tienen importantes actividades biológicas que demuestran el importante potencial terapéutico que estos compuestos de origen natural pueden tener en aplicaciones biomédicas, en el cáncer, la inflamación y el SIDA por ejemplo. De hecho, una amplia variedad de nuevos efectos farmacológicos derivados de ácido oleanólico y maslínico han sido descritos incluyendo propiedades beneficiosas sobre el sistema cardiovascular,¹⁶ actividad antihistamínica,¹⁷ inhibición selectiva de quinasas dependientes de AMP cíclico,¹⁸ propiedad antagonista del leucotrieno D₄¹⁹ (que influye en la contracción del músculo relacionado con el asma) y antimicrobianas. Incluso, se han demostrado efectos en la liberación de óxido nítrico de ácido oleanólico,²⁰ y de derivados modificados en el anillo A y C de este ácido.²¹

Son muchos los compuestos con esqueleto de oleanano que muestran una potente actividad hepatoprotectora frente a diferentes tóxicos del hígado y entre ellos está el ácido

¹⁶ Somova, L. O.; Nadar, A.; Rammanan, P.; Shode, F. O. *Phytomedicine*, **2003**, *10*, 115.

¹⁷ Zhang, L. R.; Ma, T. X. *Acta Pharmacologica Clinica* **1995**, *16*, 527.

¹⁸ Wang, B. H.; Polya, G. M. *Phytochemistry* **1996**, *41*, 55.

¹⁹ Morota, T.; Saitoh, K.; Maruno, M.; Yang, C. X.; Qin, W. Z.; Yang, B. H. *Nat. Med.* **1995**, *49*, 468.

²⁰ Choi, C. Y.; You, H. J.; Jeong, H. G. *Biochemical and Biophysical Research Communications* **2001**, *288*, 49.

²¹ (a) Honda, T.; Rounds, B. V.; Bore, L.; Finlay, H. J.; Favaloro, F. G. Jr.; Suh, N.; Wang, Y.; Sporn, M.B.; Gribble, G. W. *Journal of Medicinal Chemistry* **2000**, *43*, 4233; (b) Honda, T.; Rounds, B. V.; Bore, L.; Favaloro, F. G. Jr.; Gribble, G. W.; Suh, N.; Wang, Y.; Sporn, M. B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 3429.

oleanólico.²² Los beneficiosos efectos sobre el hígado se deben a su acción antiinflamatoria y antioxidante, así como a sus efectos sobre enzimas encargadas de metabolizar fármacos.²³

Los ácidos oleanólico y maslínico han manifestado que actúan en varios estadios del desarrollo tumoral, así como induciendo diferenciación celular y apoptosis. Además, tanto ácido maslínico como ácido oleanólico, presentan actividad citotóxica²⁴ y se ha demostrado que son capaces de inhibir la proliferación de células malignas de diferentes tipos de tumores sólidos sin afectar a las sanas.²⁵ De hecho, en los últimos años estos compuestos han atraído el interés de la medicina por sus efectos sobre distintos tumores combinada con su baja toxicidad. Así, se ha demostrado su actividad sobre distintas líneas celulares de leucemia,²⁶ y de cáncer de colon.²⁷ Para el caso concreto de ácido maslínico, los mecanismos celulares que inducen su efecto antitumoral no son bien conocidos, aunque dos estudios recientes han mostrado por una parte que este compuesto induce apoptosis en células tumorales mediante la sobreproducción de especies reactivas del oxígeno (ROS), lo cual favorece la disminución del potencial transmembrana de la mitocondria y la activación de la caspasa-3^{25c}. Por otra parte, este compuesto se ha visto que inhibe la actividad de la DNA topoisomerasa I.²⁸ Las DNA topoisomerasas y polimerasas son enzimas que juegan un papel crucial en el metabolismo del ADN (replicación, transcripción, recombinación y separación de los cromosoma durante la mitosis), por lo que la inhibición de la DNA topoisomerasa I ha sido durante muchos años la base del tratamiento de varios tipos de cánceres. Por tanto, la actividad antitumoral del ácido maslínico puede ser mediada por diferentes mecanismos de acción.

Por otro lado, la multiresistencia a fármacos (MDR) es uno de los principales problemas en quimioterapia ya que alteran factores farmacocinéticos e incrementan la toxicidad de estos

²² (a) Liu, J.; Liu, Y.; Mao, Q.; Klaassen, C. D. *Fundamental and Applied Toxicology* **1994**, *22*, 34;(b) Liu, J.; Liu, Y. P.; Parkinson, A.; Klaassen, C. D. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics* **1995**, *275*, 768.

²³ (a) Liu, Y., Hartley, D.P., Liu, J. *Toxicology Letters* **1998**, *95*, 77. (b) Liu, J., Liu, Y.P., Klaassen, C.D., Waalkes, M.P., Park, R.T., Anderson, S., Corton, C. *Hepatology* **1999**, *30*, 948.

²⁴ (a) Taniguchi, S.; Imayoshi, Y.; Kobayashi, E.; Takamatsu, Y.; Ito, H.; Hatano, T.; Sakagami, H.; Tokuda, H.; Nishino, H.; Sugita, D.; Shimura, S.; Yoshida, T. *Phytochemistry* **2002**, *59*, 315; (b) Ukiya, M.; Akihisa, T.; Tokuda, H.; Suzuki, H.; Mukainaka, T.; Ichiishi, E.; Yasukawa, K.; Kasahara, Y.; Nishino, H. *Cancer Letters* **2002**, *177*, 7; (c) Hwang, B. Y.; Chai, H.B.; Kardono, L. B. S.; Riswan, S.; Farnsworth, N. R.; Cordell, G. A.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, S. D. *Phytochemistry* **2003**, *62*, 197;(d) Lee, H. Y.; Chung, H. Y.; Kin, K. H.; Lee, J. J.; Kim, K. W. *Journal of Cancer Research & Clinical Oncology* **1994**, *120*, 513;(e) Shon, K. H.; Lee, H. Y.; Chung, H. Y.; Young, H. S.; Yi, S. Y.; Kim, K. W. *Cancer Letters* **1995**, *94*, 213; (f) Rabi, T. *Curr. Sci.*, **1996**, *70*, 80; Patočka, J. *Journal of Applied Biomedicine* **2001**, *1*, 7.

²⁵ (a) Zuco, V.; Supino, R.; Righetti, S. C.; Cleris, L.; Marchesi, E.; Gambacorti-Passerini, C.; Formelli, F. *Cancer Letters* **2002**, *175*, 17. (b) He, X.; Liu, R.H. *J Agric Food Chem.* **2007**, *11*, 4366. (c) : Martin, R.; Carvalho, J.; Ibeas, E.; Hernandez, M.; Ruiz-Gutierrez, V.; Nieto, M.L. *Cancer Res.* **2007**, *8*, 3741. (d) Juan, M.E.; Wenzel U.; Ruiz-Gutierrez, V.; Daniel, H.; Planas, J.M. *J Nutr.* **2006**, *10*, 2553. (e) Kim, Y.K.; Yoon, S.K.; Ryu, S.Y. *Planta Med.* **2000**, *5*, 485.

²⁶ (a) Ovesna, Z. ; Kozics, K.; Slamenova, D. *Mutation Research* **2006**, *600*, 131. (b) Wang, Y.F.; Lai, G.F.; Efferth, T.; Cao, J.X.; Luo, S.D. *Chem Biodivers.* **2006**, *9*, 1023.

²⁷ (a) Juan M.E.; Wenzel, U.; Ruiz-Gutierrez, V.; Daniel, H.; Planas JM. *Journal of Nutrition* **2006**, *136*, 2553. (b) Reyes, F. J.; Centellesb, J. J.; Lupiañez, J. A.; Cascanteb, M. *FEBS Letters*, **2006**, *580*, 6302.

²⁸ Pungitore, C.R.; Padron, J.M.; Leon, L.G.; Garcia, C.; Ciuffo, G.M.; Martin, V.S.; Tonn, C.E. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. **2007**, *3*, 13.

remedios. Aunque MDR es un fenómeno multifactorial, su causa principal es la sobreexpresión de unas proteínas transportadoras de la membrana, P-glicoproteína (ABCB1) y proteína multiresistente (MRP1 o ABCC1). El hecho de que el ácido oleanólico no incremente la expresión de ABCC1 y no altere la actividad de ABCB1 sugiere que podría ser una buena elección en el tratamiento de tumores MDR tanto como auxiliar o como agente quimioterapéutico.²⁹

Además de la actividad antitumoral, el ácido maslínico puede tener también propiedades anti-inflamatorias y moduladoras del sistema inmune, aunque los estudios publicados sobre este tema son escasos y contradictorios. Así, el ácido maslínico inhibe la liberación de IL-6 y TNF α y la producción de NO y del peróxido de hidrogeno (ROS) en macrófagos peritoneales murinos estimulados con LPS, un efecto que los mismos autores no encuentran en células mononucleares de sangre periférica humana.³⁰ Aunque es posible que las diferencias encontradas sean debidas a que estos estudios se han realizado en diferentes modelos (humano vs ratón). Sin embargo, y ya que otros compuestos estructuralmente muy parecidos al ácido maslínico como el ácido ursólico tiene actividad anti-inflamatoria,³¹ es muy probable que el ácido maslínico también posea este tipo de actividad.

Ya que los procesos inflamatorios crónicos están hoy día considerados como una de las causas más importantes en las enfermedades cardiovasculares, en la diabetes tipo II y en el cáncer, el estudio de la actividad anti-inflamatoria del ácido maslínico es de especial relevancia también para la prevención de estas enfermedades. Por ejemplo, se ha visto que el ácido maslínico inhibe la actividad enzimática de la glicógeno fosforilasa y tiene actividad hipoglucémica por vía oral en ratas diabéticas.³² Además, este compuesto puede proteger del daño celular por disminuir la peroxidación lipídica de las membranas celulares.³³

En cuanto a la actividad Anti-Sida, tanto ácido oleanólico,³⁴ como diferentes derivados sustituidos en C-3 y C-28,³⁵ manifiestan actividad contra el virus del sida. Además, hemiésteres glutáricos del ácido oleanólico revelan inhibición de la proteasa HIV-1.³⁶ Otros derivados obtenidos por modificaciones en la posición C-3 han resultado fructíferas al inhibir en

²⁹ Braga, F. ; Ayres-Saraiva, D. ; Gattass, C.R. ; Capella, M.A.M. *Cancer Letters* **2007**, 248, 147.

³⁰ Marquez-Martin A.; De La Puerta, R.; Fernandez-Arche, A.; Ruiz-Gutierrez, V.; Yaqoob, P. *Cytokine*. **2006**, 36, 211.

³¹ Shishodia, S.; Majumdar, S.; Banerjee, S.; Aggarwal, B.B. *Cancer Res.* **2003**, 63, 4375.

³² Wen, X.; Sun, H.; Liu, J.; Wu, G.; Zhang, L.; Wu, X.; Ni, P. *Bioorg Med Chem Lett.* **2005**, 15, 4944.

³³ Montilla, M.P.; Agil, A.; Navarro, M.C.; Jimenez, M.I.; Garcia-Granados, A.; Parra, A.; Cabo, M.M. *Planta Med.* **2003**, 69, 472.

³⁴ Mengoni, F.; Lichtner, M.; Battinelli, L.; Marzi, M.; Mastroianni, C. M.; Vullo, V.; Mazzanti, G. *Planta Med.* **2002**, 68, 111.

³⁵ (a) Chao-Ma; Nakamura, N.; Hattori, M. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2000**, 48, 1681; (b) Zhu, Y. M.; Shen, J. K.; Wang, H. K.; Cosentino, L. M.; Lee, K.-H. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2001**, 11, 3115.

³⁶ Ma, C.M.; Nakamura, N.; Miyashiro, H.; Hattori, M.; Shimotohno, K. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, 47, 141.

concentraciones sub-nanomolares esta proteasa, actividad que fue determinada sobre células limfocitas-T H9 y sobre virus HIV-1 IIIB.³⁷

Estas amplias y variadas propiedades biológicas reflejan el creciente interés en la investigación de estos productos, aunque quizás la mejor prueba de esto está en las patentes internacionales que sobre estos ácidos existen. Para el caso del ácido oleanólico encontramos: *Use of oleanolic acid as a vasodilator and restorer agent for endothelial dysfunction* (WO2004ES00190 20040430); *Cosmetic and dermopharmaceutical compositions for skin prone to acne* (WO2002fr03344 20021001); *Cosmetic composition for care of sensitive skin includes oleanolic acid or vegetable extract rich in oleanolic acid, and at least one other vegetable extract chosen from shea-butter flower and solanum lycocarpum* (FR20000008758 20000705); *Process for preparing food products fortified with oleanolic acid* (US19990468637 19991222); *Oleanolic acid-based anti-pruritus agent* (JP19970183075 19970623); *Angiogenesis inhibitor composition comprising oleanolic acid* (KR19920021117 19921111). Igualmente, para el ácido maslínico se están registrando un gran número de patentes en las que este ácido actúa como componente activo: *Hyperglucemia inhibitors* (JP 2006317967) *Glucose toleranace-improving agent* (WO2005063228); *Antitumor agent* US20030355201 20030131; *Apoptosis inductor* (WO 2003057224); *Antiobestic foods and drinks* (WO 2003039270); *External agent for the skin and whitening agent* (US20020259323 20020930); *Antiobesity drugs and materials thereof* (WO2002JP07709 20020730); *Drugs for vascular lesion* (WO 2002078685); *Antitumor food or beverage* (WO 2002052956).

Otras aplicaciones y propiedades biológicas del ácido maslínico se desarrollarán en el apartado 2.5.1, donde, además, se indican los resultados obtenidos en colaboración con otros centros de investigación.

³⁷ Kashiwada, Y.; Wang, H.K.; Nagao, T.; Kitanaka, S.; Yasuda, I.; Fujioka, T.; Yamagishi, T.; Cosentino, L. M.; Kozuka, M.; Okabe, H.; Ikeshiro, Y.; Hu, C.Q.; Yeh, E.; Lee, K.H. *J. Nat. Prod.* **1998**, *61*, 1090;

1.3 FUNCIONALIZACIÓN REMOTA DE ENLACES C-H NO ACTIVADOS

Los enlaces carbono-hidrógeno están omnipresentes en los compuestos orgánicos pero con frecuencia son inertes, ya que la energía de disociación del enlace C-H es normalmente alto (por ejemplo 105 Kcal/mol para H-CH₃ y 110 Kcal/mol para H-C₆H₅). Por eso, la escisión de este enlace generalmente se considera difícil. Si estos enlaces pudieran utilizarse como grupos funcionales podrían convertirse en uno de los métodos más poderosos, valiosos y sencillos para la síntesis de moléculas complejas y para la construcción de estructuras con enlace C-C. Por tanto, la activación de los enlaces C-H representa un proceso de un gran potencial sintético.

La funcionalización de enlaces C-H sp² en arenos y alquenos al igual que en los enlaces activados sp³ (enlaces adyacentes a un heteroátomo o grupo funcional), se lleva a cabo a través de una gran variedad de modos de reacción, como por ejemplo, sustitución electrófila aromática, adición electrófila a alquenos, orto-metalación, hidrobtoración, ... Sin embargo, los enlaces C-H inactivados son resistentes en gran parte a esta funcionalización directa, particularmente en el contexto de estructuras complejas orgánicas,³⁸ aunque se puede llevar a cabo hidroxilaciones

³⁸ a) Corey, E. J.; Hertler, W. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2903. b) Buchschacher, P.; Kalvoda, J.; Arigoni, D.; Jeger, O. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 2905. c) Barton, D. H. R.; Beaton, J. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 4083. d) Taber, D. F.; Stribia, S. E. *Chem.-Eur. J.* **1998**, *4*, 990

directas y controladas empleando biotransformaciones microbiológicas.³⁹ Por otra parte, la funcionalización remota convencional llevada a cabo mediante radicales libres requiere condiciones térmicas o fotoquímicas que con frecuencia son incompatibles con los grupos presentes en las moléculas y, además, conllevan rendimientos bajos.⁴⁰ Pero la utilización de complejos de metales de transición ha posibilitado recientemente la activación de enlaces C-H en arenas y alcanos, iniciando una nueva era en este campo.⁴¹

Como se ha comentado anteriormente, es bien conocido que los grupos funcionales presentes en los sustratos influyen fuertemente en la reactividad de los enlaces C-H próximos. Así, los enlaces C-H sp^3 adyacentes a un heteroátomo o grupo funcional son con frecuencia más reactivos. Además, se ha constatado que los grupos funcionales afectan también a la reactividad de los catalizadores metálicos. Siguiendo estas aproximaciones, un grupo funcional adecuado puede ser utilizado para dirigir a un complejo metálico a una región deseable facilitando así la formación de un ciclo metálico y la consiguiente funcionalización.⁴² De hecho, estos métodos de oxidación de enlaces C-H sp^3 encuentran una amplia aplicación en síntesis química.⁴³ En este sentido, distintos autores han descrito la activación/oxidación de alcanos mediante química de organometálicos.⁴⁴

1.2.1 PALADACICLACIÓN: HERRAMIENTA PARA FUNCIONALIZACIÓN DE ENLACES C-H

Particularmente, los compuestos organopaladados tienen una química muy rica y son uno de los más fácilmente disponibles, preparados y manejables de los complejos metálicos de transición conocidos. El fácil intercambio redox entre los dos estados estables de transición Pd (II)-Pd (0) es el principal responsable de la amplia y rica química encontrada para este tipo de compuestos. Sin duda, estas afirmaciones junto con su compatibilidad con la mayoría de los grupos funcionales lo diferencian de muchos otros complejos metálicos de transición.⁴⁵ Los compuestos de paladio que contienen al menos un enlace metal-carbono estabilizado

³⁹ (a) Faber, K. *Biotransformations in Organic Chemistry*. Springer, 1997 (b) Roberts, S. M. *J. Chem. Soc. Perkins Trans I* **2001**, 1475.

⁴⁰ a) Majetich, G.; Wheless, K. *Tetrahedron* **1995**, 36, 7095. b) Jones, A. J.; Alewood, P. f. ; Benn, M.; Wong, J. *Tetrahedron Lett.* **1976**, 20, 1655. b) Desai, M. C. ; Singh, C.; Chawla, H. P. S.; Dev, S. *Tetrahedron Lett.* **1979**, 22, 5047. c) Barrero, A. F.; Oltra, J. E.; Alvarez, M.; Rosales, A. *J. Org. Chem.* **2002**, 67, 5461.

⁴¹ a) Arndtsen, B. A.; Bergman, R. G.; Mobley, T. A.; Peterson, T. H. *Acc. Chem. Res.* **1995**, 28, 154. b) Crabtree, R. H. *Chem. Rev.* **1995**, 95, 987. c) Shilov, A. E.; Shul'pin, G. B. *Activacion and Catalytic reactions of Saturated Hydrocarbons in the Presence of Metal Complexes*, Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, **2000**. *Catalysis by Metal Complexes*, Vol. 21. Ed. James, B. R.

⁸ Johnson, J. A.; Li, N.; Sames, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 6900.

⁴³ Para recientes reviews ver: a) Kakiuchi, F.; Chatani, N. *Adv. Synth. Catal.* **2003**, 345, 1077. b) Labinger, J. A.; Bercaw, J. E. *Nature*, **2002**, 417, 507. c) Shilov, A. E.; Shul'pin, G. B. *Chem. Rev.* **1997**, 97, 2879.

⁴⁴ a) Dunina, V. V.; Zalevskaya, O.A.; Potapov, V. M. *Russ. Chem. Rev.* **1988**, 57, 250. b) Constable, A. G.; McDonald, W. S.; Sawkins, L. C.; Shaw, B. L. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1980**, 1992.

⁴⁵ a) Tsuji, J. *Palladium Reagents and Catalysts: Innovations in Organic Synthesis*; Wiley: Chichester, U.K. **1995**. b) Hegedns, L. S. *In Organometallics in Synthesis: A Manual*; Schlosser, Ed.; Wiley: Chichester, U. K. ; **1994**; Chapter 5.

intramolecularmente por al menos un átomo donador, compuestos ciclopaladados o paladaciclos, son una de las clases más populares de derivados organopaladados.⁴⁶

Los paladaciclos pueden ser divididos en dos tipos dependiendo de si el enlace Pd-C se estabiliza por coordinación intramolecular de 4 ó 6, abreviado CY y YCY, respectivamente.

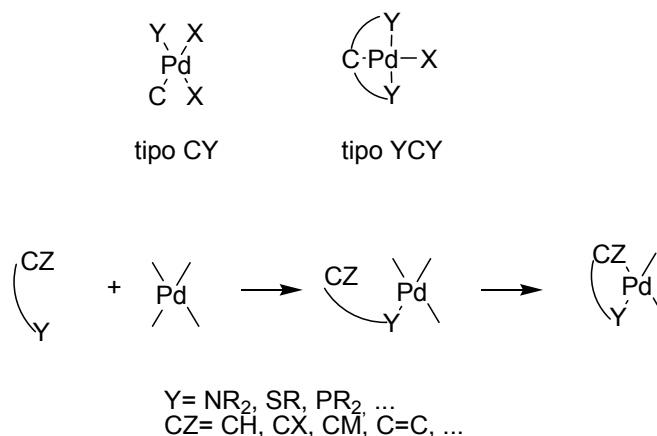


Figura 1.14. Tipos y formación de paladaciclos.

Hay distintos métodos para la síntesis de paladaciclos (activación C-H, adición oxidativa, transmetalación y adición nucleofílica a un enlace insaturado) y con frecuencia se forma un intermedio de 5 ó 6 miembros como resultado de la formación de un enlace estable Pd-C asistido por la coordinación de un par electrónico del grupo donador. La posibilidad de modular sus propiedades electrónicas o estéricas por cambios sencillos de (i) tamaño del ciclometálico (3-10 miembros), (ii) naturaleza del carbono metálico (alifático, aromático, vinílico, ...), (iii) el tipo de grupo donador (N, P, S, grupo que contiene O, ...) (iv) naturaleza del ligando (halógeno, acetato, triflato, ...) y (v) disolvente, hacen de ellos una familia variada e interesante de compuestos organometálicos con una amplia aplicación en síntesis orgánica.

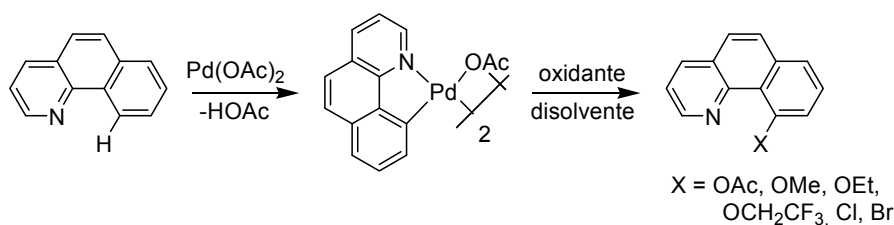


Figura 1.15. Activación de enlaces aromáticos con Pd(OAc)_2 .

⁴⁶ Dupont, J.; Consorti, C. S.; Spencer, J. *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 2527 y referencias incluidas.

De hecho, Sanford et al.⁴⁷ demostraron que la activación regioselectiva de los enlaces C-H catalizados con Pd puede ser usada para la conversión de enlaces sp^2 en ésteres, éteres y haluros arílicos (Fig. 1.15), donde la reacción implica un intermedio ciclopaladado.

Aunque más interesante es la oxidación de enlaces inactivados C-H sp^3 que llevaron a cabo simultáneamente sobre varias *o*-metiloximas y distintas piridinas, fácilmente logrado vía intermedio ciclopaladado de 5 miembros utilizando como oxidante $\text{PhI}(\text{OAc})_2$.⁴⁸ Estas reacciones tienen una potencial utilidad sintética, concretamente por su alta selectividad (Fig. 1.16).

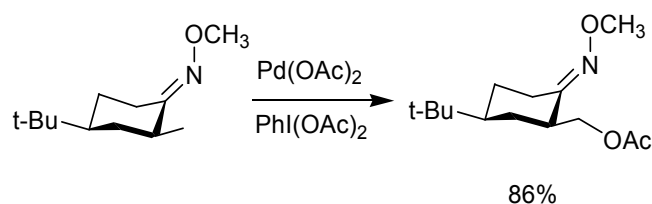
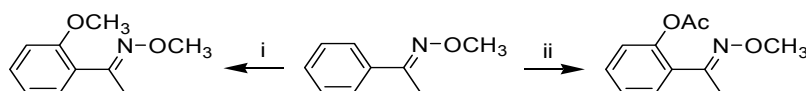


Figura 1.16. Oxidación de enlaces inactivados en *o*-metiloximas.

Recientemente, estos mismos autores⁴⁹ han desarrollado este último método utilizando como oxidante oxone, que es más barato, seguro y menos tóxico que $\text{PhI}(\text{OAc})_2$. Por tanto, el oxone en ácido acético o metanol se convierte en una adecuada técnica para la acetoxilación y eterificación, respectivamente, de enlaces C-H en arenos y alcanos (Fig. 1.17).



(i) Pd (II), oxone, MeOH; (ii) Pd(II), oxone, AcOH

Figura 1.17. Oxidación de enlaces inactivados con oxone.

La viabilidad de que un adecuado grupo funcional pueda ser utilizado para dirigir a un complejo metálico a un específica zona de un sustrato y por tanto activar un enlace C-H específico sin la interferencia de otros grupos funcionales fue demostrada por Dalibor Sames et al. en la síntesis del agente antitumoral (-)-rhazinilam.⁵⁰ El paso clave envuelve una funcionalización selectiva de un segmento dietil, vía ataque de un complejo de Pt. La proximidad del grupo amino al grupo etilo augura una adecuada activación del enlace C-H.

⁴⁷ Dick, A. R.; Hull, K. L.; Sanford, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 2300.

⁴⁸ Desai, L.V.; Hull, K.L.; Sanford, M.S. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9542 y las referencias que contiene.

⁴⁹ Desai, L. V.; Malik, H. A.; Sanford, M. S. *Organic Letters*. **2006**, *8*, 1141.

⁵⁰ Johnson, J.A.; Li, N.; Sames, D.; Dangel, B.D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6900.

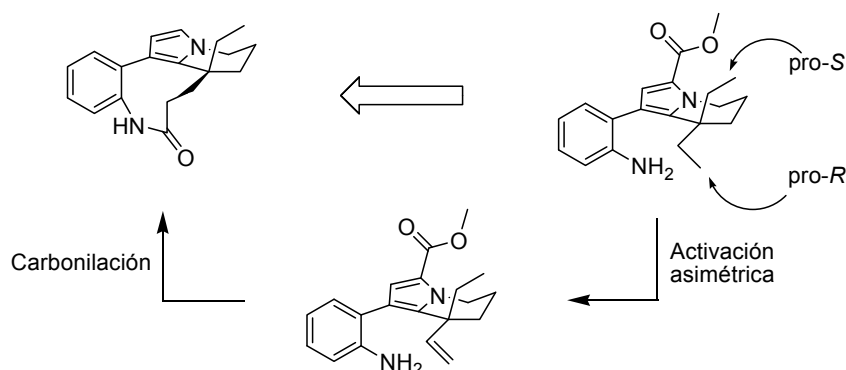
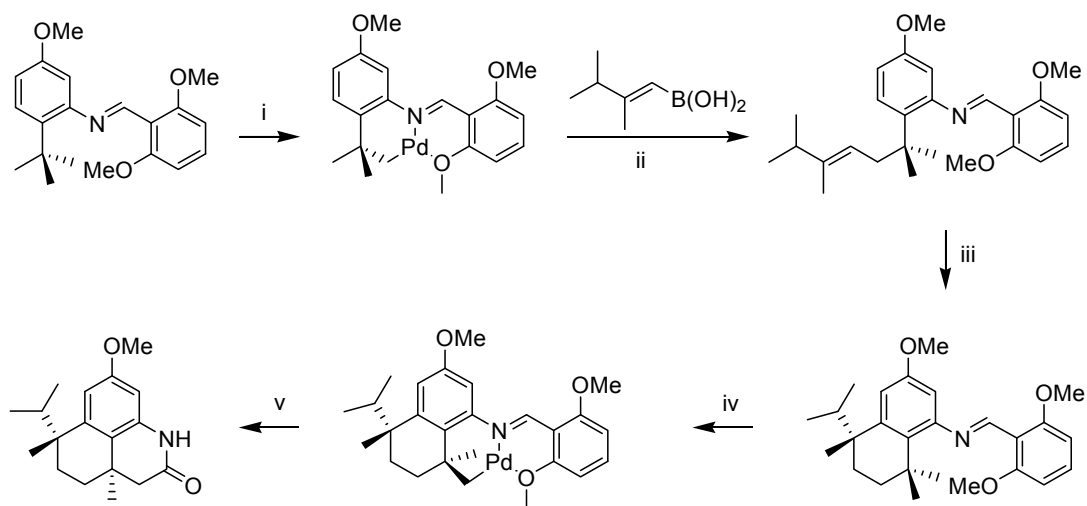


Figura 1.18. Síntesis de rhazinilam vía activación selectiva C-H (deshidrogenación).

Teniendo demostrada la viabilidad de activación dirigida en alcanos, estos mismos autores desarrollaron este método para otros productos naturales, como son las teleocidinas.⁵¹ El segmento central de la teleocidina B4, es un fragmento complejo que contiene dos estereocentros cuaternarios y un anillo bencénico pentasustituido, que podría ser construido a partir de una *o*-*tert*-butilanilina mediante la formación de cuatro enlaces C-C donde es necesario dos funcionalizaciones dirigidas en el grupo *tert*-butilo para dar los dos ciclos necesarios. Para ello, se lleva a cabo una alquienilación y una carbonilación oxidativa de dos grupos metilos. Se encontró, para este caso, que sales de Pd (II) (PdCl₂) eran las únicas capaces de conducir a los intermedios cíclicos deseados.



(i) PdCl₂, NaOAc; (ii) (iii) MeSO₃H; (iv) PdCl₂, NaOAc; (v) Co

Figura 1.19. Paladaciclos en la síntesis del núcleo de teleocidina B-4.

⁵¹ Godula, K.; Youn, S.W.; Sezen, B.; Sames, D. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 11856.

1.2.1.1 Oxidación dirigida en terpenos

Una aproximación inicial a la activación-funcionalización regioselectiva del metilo ecuatorial sobre C-4 de triterpenos fue llevada a cabo por Sutherland et al.⁵² Aplicando los resultados previos de Shaw y colaboradores,⁵³ en el que la oxima de la pinacolona reaccionaba con Na_2PdCl_4 para dar un dímero (Fig.1.20 I), lograron monodeuterar y iodar el metilo ecuatorial de la lanost-8-en-3-ona. (Fig. 1.20 II). Esta aplicación es de gran interés al ser paralela a la conversión biosintética de lanosterol a colesterol que ocurre en la naturaleza.⁵⁴

En distintos esqueletos de tipo ursano, oleanano y lupano, al igual que en otros terpenos, se llevó a cabo la oxidación de este metilo ecuatorial a través de un compuesto organopaladado intermedio vía oxima en C-3. La elección de la oxima se debe a que es fácilmente reconvertible en el carbonilo de partida y, además, el nitrógeno de este grupo puede coordinar al Pd (II) lo que permite el proceso de ciclopaladación.

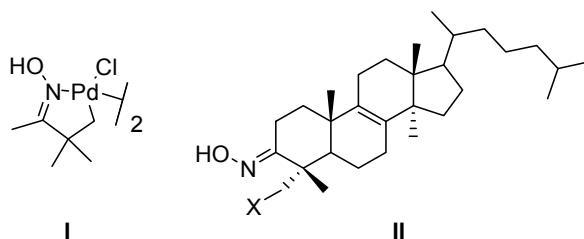


Figura 1.20. I. Paladaciclo de la oxima de pinacolona. II. Oxima lanost-8-en-3-ona funcionalizada

Así, Baldwin et al.⁵⁵ fueron los primeros en oxidar la pinacolona y distintas 2,2-dimetil y tetrametilciclohexanonas. Los complejos obtenidos con Na_2PdCl_4 se sometieron al proceso de funcionalización que consiste primero en el tratamiento del complejo con piridina y Ac_2O , a continuación la oxidación con $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, seguido de un proceso de reducción que condujo a las acetoxi-oximas funcionalizadas. Además, se inicia con esta aplicación la oxidación en esqueletos terpénicos del metilo ecuatorial inactivado de C-4. Así, el metilo del lupeol es oxidado a través de la correspondiente oxima en C-3. El compuesto organopaladado dimérico se oxidó con tetracetato de plomo a través del complejo monomérico O-acetilpiridinio generado *in situ*. La reducción posterior con borohidruro sódico condujo al esperado 23-acetoxi derivado. La estereoquímica en la paladación se confirma mediante experiencias NOE, lo que ratifica la regioespecificidad de este proceso. Esta funcionalización exclusiva del metilo ecuatorial (C-23) se

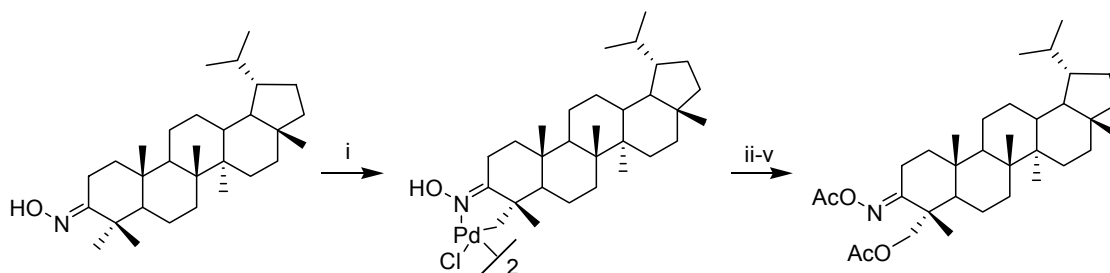
⁵² Carr, K.; Sutherland, J. K. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1984**, 1227.

⁵³ Constable, A. G.; McDonald, W.S.; Sawkins, L. C.; Shaw, B. L. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1978**, 1061.

⁵⁴ (a) Miller, W. L.; Gaylor, J. L. *J. Biol. Chem.* **1970**, *245*, 5375. (b) Hornby, G. M.; Boyd, G. S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1970**, *40*, 1452.

⁵⁵ Baldwin, J.E.; Jones, R.H.; Najera, C.; Yus, M. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 699.

puede explicar porque la ciclopaladación se facilita por una disposición coplanar de la oxima y el grupo metilo C-23 (Fig. 1.22).



(i) $\text{Na}_2\text{PdCl}_4/\text{NaOAc}$; (ii) Ac_2O ; (iii) piridina; (iv) $\text{Pb}(\text{OAc})_4$; (v) NaBH_4

Figura 1.21. Oxidación del metilo ecuatorial (C-23) del lupeol

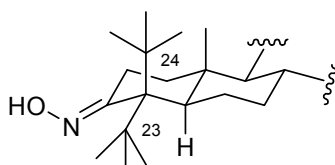


Figura 1.22. Disposición espacial de los anillos A y B en la oxima derivada del lupeol

Este método ha sido aplicado ampliamente como se muestra, por ejemplo, en la síntesis de distintas series de 24-*nor*-triterpenoides, como son 24-*nor*-urs-12-eno, 24-*nor*-olean-12-eno y 24-*nor*-lupano.⁵⁶ La hidroxilación del metilo C-23 posibilitó la posterior pérdida de un carbono en forma de formaldehído conduciendo a las 24-*nor*-3-onas. En estas se redujo el carbonilo de C-3 y se formó los derivados tosílados con la intención de desoxigenar completamente el anillo A (Fig. 1.23).

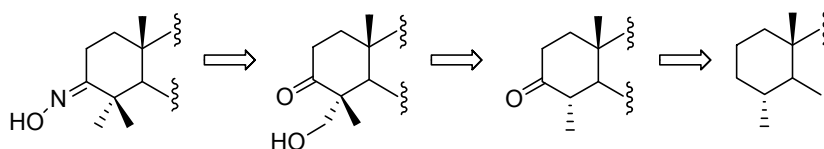


Figura 1.23. Síntesis de 24-*nor*-triterpenoides

La síntesis de derivados en C-23 del ácido 3-*epi*-ursólico llevada a cabo por Gribble et al.⁵⁷ (Fig. 1.24 III) se desarrolló igualmente por este procedimiento, a partir del ácido ursólico

⁵⁶ Peakman, T.M.; ten Haven, H.L.; Rullkötter, J. *Tetrahedron* **1991**, *47*, 3779

⁵⁷ Bore, L.; Honda, T.; Gribble, G.W. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6278

(disponible comercialmente), con la intención de comprobar si la actividad biológica de estos análogos se incrementaba con respecto al no funcionalizado.

Estos mismos autores⁵⁸ sintetizaron además el ácido 23-hidroxiursólico (Fig. 1.24 IV), que previamente había sido aislado de dos plantas medicinales diferentes de la familia *Rubiaceae*, a partir del ursólico mediante ciclopaladación de la oxima intermedia. Esta síntesis permitió además confirmar la estructura que había sido propuesta inicialmente para este compuesto.

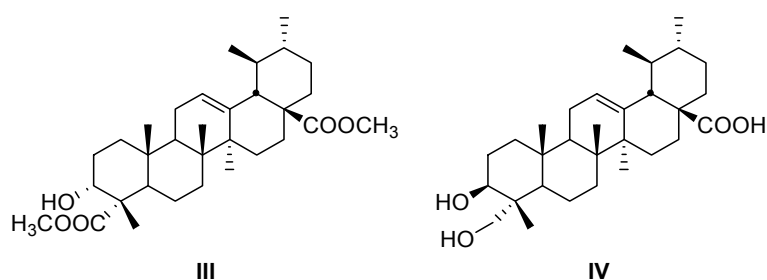


Figura 1.24. Derivados en C-23 de ácido 3-epiursólico (III) y ursólico (IV)

En esta misma línea se desarrolló la síntesis de nuevos derivados del ácido 2-ciano-3,12-dioxooleana-1,9(11)-dien-28-oico (CDDO),⁵⁹ agente con actividad potencialmente anti-inflamatoria, quimiopreventiva y quimioterapéutica. La síntesis del derivado 23-hidroxi-CDDO-Me se consiguió por el protocolo oxidativo comentado a partir del ácido oleanólico (1) (Fig. 1.25). Los distintos derivados en C-23 han sido utilizados como herramienta para aislar proteínas dianas del CDDO y por tanto ha posibilitado la clarificación de los mecanismos responsables de los múltiples efectos de esta molécula.

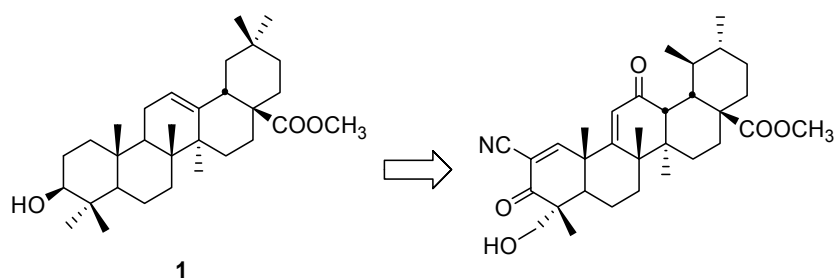
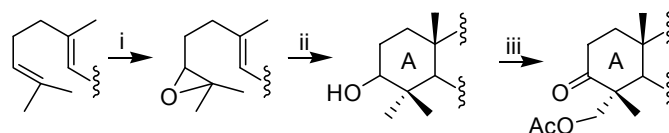


Figura 1.25. Síntesis de 23-hidroxi-CDDO

⁵⁸ Bore, L.; Honda, T.; Gribble, G.W. *Nat. Prod. Lett.* **2002**, *16*, 273.

⁵⁹ Honda, T.; Janosik, T.; Honda, Y.; Han, J.; Liby, K.T.; Williams, C.R.; Couch, R.D.; Anderson, A.C.; Sporn, M.B.; Gribble, G.W. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 4923.

La funcionalización remota del metilo ecuatorial situado en C-4 de distintos esqueletos terpenoides, igualmente, se describe como uno de los pasos para la síntesis de terpenos tras la ciclación previa de epoxipolipropenos con titanoceno (Fig. 1.26).⁶⁰ Esta estrategia es utilizada en particular para la síntesis del diterpeno natural rostratono y otros terpenos con actividades farmacológicas, afidicolina y piriropeno A (Fig. 1.27).



(i) epoxidación selectiva; (ii) ciclación catalizada con titanoceno; (iii) oxidación remota con Pd

Figura 1.26. Síntesis de terpenos cíclicos

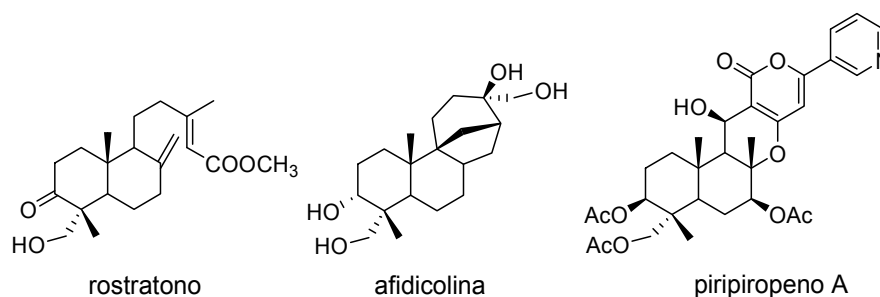


Figura 1.27. Estructuras de rostratono, afidicolina y piriropeno A

1.2.2 TRITERPENOS PENTACÍCLICOS POLIOXIGENADOS DE INTERÉS

En la naturaleza hay numerosos terpenos polioxigenados en el anillo A cuya ordenación hidroxílica presenta características comunes, un grupo hidroxilo en disposición β sobre C-3 y otro grupo OH en el metilo ecuatorial de C-4. Esta disposición se observa en distintos triterpenos pentacíclicos, incluidos los mencionados anteriormente, exhibiendo un amplio rango de interesantes actividades biológicas.

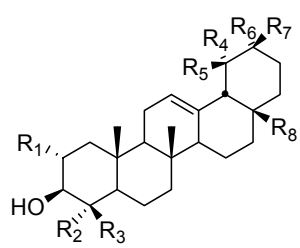
Ejemplo de ello podemos encontrar eritrodíol y 23-hidroxieritrodíol, compuestos naturales derivados del ácido oleanólico con el grupo ácido de C-28 reducido y que se encuentran presentes en distintas plantas.^{61,62} Asimismo, hallamos hederagenina (ácido 23-

⁶⁰ (a) Justicia, J.; Oltra, J.E.; Cuerva, J.M. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 8265. (b) Justicia, J.; Oltra, J.E.; Cuerva, J.M. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 4293.

⁶¹ (a) Monaco, P.; Caputo, R.; Palumbo, G.; Mangoni, L. *Phytochemistry* **1973**, *12*, 939; (b) Topcu, C.; Ulubelen, A.; Eris, C. *Phytochemistry* **1994**, *36*, 743; (c) Topcu, C.; Kartal, M.; Ulubelen, A. *Phytochemistry* **1997**, *44*, 1393.

⁶² Tori, K.; Seo, S.; Shimaoka, A.; Tomita, Y. *Tetrahedron Lett.* **1974**, *48*, 4227.

hidroxioleanólico),^{62,63} aislada de varias plantas que constituyen el aglicón de distintas saponinas.⁶⁴ Por otro lado, el ácido 24-hidroxioleanólico que fue aislado de las raíces de *Lantana indica* y cuya estructura se estableció por métodos químicos y espectroscópicos.⁶⁵



Producto	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈
23-hidroxieritrodíol	H	CH ₂ OH	CH ₃	H	H	CH ₃	CH ₃	CH ₂ OH
Ácido 24-hidroxioleanólico	H	CH ₃	CH ₂ OH	H	H	CH ₃	CH ₃	COOH
Hederagenina	H	CH ₂ OH	CH ₃	H	H	CH ₃	CH ₃	COOH
Ácido arjulónico	OH	CH ₂ OH	CH ₃	H	H	CH ₃	CH ₃	COOH
Ácido hiptático-A	OH	CH ₃	CH ₂ OH	H	H	CH ₃	CH ₃	COOH
Acido hiptático-B	OH	CH ₃	CH ₂ OH	OH	H	CH ₃	CH ₃	COOH

Figura 1.28. Algunos triterpenos polioxigenados naturales.

Otras agrupaciones relacionadas están también ampliamente extendidas en la naturaleza. Así, si en el anillo A se sitúa otro hidroxilo en C-2 con disposición α encontramos el ácido hiptático-A (ácido 2 α ,3 β ,24-trihidroxiolean-12-en-28-oico o ácido 24-hidroximaslínico), que ha sido aislado como un principio citotóxico de gran interés a partir de *Hyptis capitata*.⁶⁶ Por otro lado, el ácido hiptático-B (ácido 2 α ,3 α ,19 α ,24-tetrahidroxiolean-12-en-28-oico o ácido 24-hidroxitorméntico) obtenido en forma de glucósido a partir de *Paradrymonia macrophylla*⁶⁷ y de la especie *Rubis*.⁶⁸ Además, un esteroisómero del ácido hiptático-A, el ácido arjulónico (ácido 2 α ,3 β ,23-trihidroxiolean-12-en-28-oico o ácido 23-hidroximaslínico) fue aislado a partir de los extractos del tronco de *Myrianthus liberecus* junto con otros triterpenos pentacíclicos y sus ésteres metílicos.⁶⁹ De igual forma, es el principal constituyente de *Terminalia arjuna*⁷⁰ que pertenece a una familia de plantas medicinales, y es usado primordialmente como cardiotónico aunque también se ha encontrado que posee propiedades antibacterianas y antimutagénicas.⁷¹

⁶³ Simonsen, J.; Ross, W.C. J. *The Terpenes*, Cambridge University, Cambridge, **1957**, 5,174 y referencias incluidas.

⁶⁴ Mohammad, F.V.; Noorwala, M.; Ahmad, V.U; Sener, B. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 213.

⁶⁵ Singh, S.K.; Tripathi, V.J.; Singh, R.H. *Phytochemistry* **1990**, *29*, 3360.

⁶⁶ Yamagishi, T.; Zhang, D.C.; Chang, J.J.; McPhail, D.R.; McPail, A.T.; Lee, K.H. *Phytochemistry* **1988**, *27*, 3213.

⁶⁷ Terreaux, C.; Maillard, M.P.; Gupta, M.P.; Hostettmann, K. *Phytochemistry* **1996**, *42*, 495.

⁶⁸ Zhou, X.H.; Kasai, R.; Ohtani, K.; Tanaka, O.; Nie, R.L.; Yang, C.R.; Zhou, J.; Yamasaki, K. *Phytochemistry* **1992**, *31*, 3642.

⁶⁹ Tapondjou, A.L.; Ngounou, N.F.; Lontsi, D.; Sondengam, B.L.; Martin, M.T.; Bodo, B. *Phytochemistry* **1995**, *40*, 1761.

⁷⁰ King, F. E.; King, T. J.; Ros, J. M. *J. Chem. Soc.* **1954**, 3995

⁷¹ Tripathi, V. K.; Singh, B.; Tripathi, R. C.; Upadhyay, R. K.; Pandey, V. B. *Or. J. Chem.* **1996**, *1*, 1.

Además, sus derivados triacetatos y metilesteres mostraron efectos inhibidores sobre distintos promotores del cáncer de piel.⁷²

Otra disposición hidroxílica de interés es la que posee el ácido boswélico (Fig. 1.29) y distintos análogos, donde el grupo hidroxilo de C-3 está en disposición α y el otro grupo hidroxilo se encuentra en el metilo axial de C-4. Estos productos han sido estudiados ampliamente en estas últimas décadas por sus interesantes actividades biológicas, como la actividad antiinflamatoria, la inhibición de la elastasa del leucocito humano, la actividad antitumoral cerebral o la inhibición de la 5-lipoxigenasa, entre muchas otras.⁷³

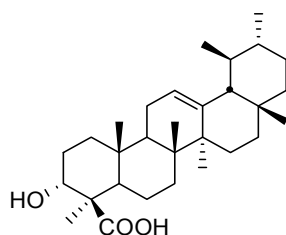


Figura 1.29. Ácido boswélico.

Como se ha comprobado, muchos de estos triterpenos naturales y análogos estructurales tienen interesantes perfiles farmacológicos, incluyendo propiedades *in vitro* anti-HIV, antitumorales y antioxidantes.⁷⁴ De hecho, se ha identificado como inhibidor de la proteasa HIV-1 de tipo no peptídico un nuevo compuesto triterpénico con estructura polioxigenada en el anillo A, el ácido 2 β ,3 β -dihidroxiolean-12-en-23,28-dioico.⁷⁵ Esta identificación se ha llevado a cabo mediante una búsqueda basada en la estructura de rayos-X del complejo proteasa-inhibidor y validada su actividad posteriormente contra la proteasa HIV-1 mediante ensayos *in Vitro* (ID₅₀ = 35 μ m).

⁷² Diallo, B.; Vanhaelen, M.; Vanhaelen-Fastre, R.; Konoshima, T.; Kozuka, M.; Tokuda, H. *J. Nat. Prod.* **1989**, *52*, 879.

⁷³ (a) Simmet, T.; Ammon, H. P. T. German Patent, DE 4445728 A1, **1996**; *Chem. Abstr.* **1996**, *125*, 67823. (b) Knaus, U.; Wagner, H. *Phytomedicine* **1996**, *3*, 77. (c) Safayhi, H.; Sailer, E. R.; Ammon, H. P. T. *Phytomedicine* **1996**, *3*, 71. (d) Safayhi, H.; Rall, B.; Sailer, E. R.; Ammon, H. P. T. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997**, *281*, 460. (e) Sharma, S.; Thawani, V.; Hingorani, L.; Shrivastava, M.; Bhate, V. R.; Khiyani, R. *Phytomedicine* **2004**, *11*, 255. (f) Akada, Y.; Ichikawa, H.; Badmaev, V.; Aggarwal, B. *Journal of Immunology* **2006**, *176*, 3127. (g) Liu, J.; Huang, B.; Hooi, Shing C. *British J. Pharmacol.* **2006**, *148*, 1099. (h) PoECKel, D.; Tausch, L.; Kather, N.; Jauch, J.; Werz, O. *Molecular Pharmacology* **2006**, *70*, 1071. (i) Ammon, H. P. T. *Planta Medica* **2006**, *72*, 1100. (j) Akihisa, T.; Tabata, K.; Banno, N.; Tokuda, H.; Nishihara, R.; Nakamura, Y.; Kimura, Y.; Yasukawa, K.; Suzuki, T. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* **2006**, *29*, 1976. (k) Buechele, B.; Zugmaier, W.; Estrada, A.; Genze, F.; Syrovets, T.; Paetz, C.; Schneider, B.; Simmet, T. *Planta Medica* **2006**, *72*, 1285. (l) Bishnoi, M.; Patil, C. S.; Kumar, A.; Kulkarni, S. K. *Pharmacology* **2007**, *79*, 34. (m) Singh, S. K.; Bhusari, S.; Singh, R.; Saxena, A.; Mondhe, D.; Qazi, G. N. *Vascular Pharmacology* **2007**, *46*, 333.

⁷⁴ a) Liu, J. *Ethnopharmacology* **1995**, *49*, 57. (b) Assefa, H.; Nimrod, A.; Walker, L.; Sindelar, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, *11*, 1619. (c) Honda, T.H.; Rounds, B.V.; Bore, L.; Finlay, H.J.; Favalaro, F.G.; Gribble, G.W.; Suh, N.; Wang, Y.; Sporn, M.B. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 4233. (d) Kashiwada, Y.; Ikeshiro, Y.; Nagao, T.; Okabe, H.; Cosentino, L.M.; Lee, K.H. *J. Nat. Prod.* **2000**, *63*, 1619. (e) Montilla, M.P.; Agil, A.; Navarro, C.; Jimenez, M.I.; Garcia-Granados, A.; Parra, A. *Planta Med.* **2003**, *69*, 470.

⁷⁵ Wang, S.; Milne, G.W.A.; Yan, X.; Posey, I.J.; Nicklaus, M.C.; Graham, L.; Rice, W.G. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 2047.

1.2 REACTIVIDAD DEL ESQUELETO TRITERPÉNICO

La conformación más habitual de los triterpenos con esqueleto de oleaneno es la de silla, con uniones *trans* entre los distintos ciclos, excepto los ciclos D y E, cuya unión interanular es *cis*. La representación estereoquímica del esqueleto de oleaneno (triterpeno de 18 β -olean-12-eno) y su numeración se muestran en la Fig. 1.30.

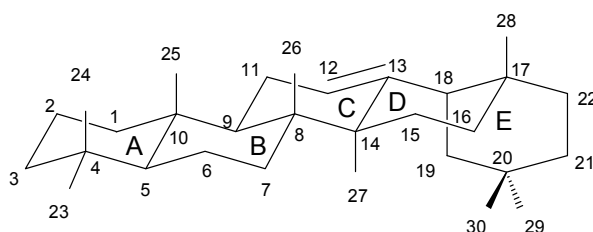


Figura 1.30. Esqueleto de oleaneno

1.3.1 DESOXIGENACIÓN DEL ANILLO A

En muchas áreas de Química de Productos Naturales se necesitan reacciones que permitan reemplazar un grupo hidroxilo por un hidrógeno sin la posibilidad de reagrupamientos. Por tanto, las reacciones de desoxigenación son de gran utilidad sintética, ya que permiten la modificación de productos naturales complejos, y han sido frecuentemente utilizadas para obtener sintones quirales a partir de compuestos polifuncionales naturales fácilmente accesibles. Las reacciones de desoxigenación, se pueden considerar, de un modo general, como reducción

de un alcohol a un alcano o alqueno. Un caso particular es la reducción de dioles que conduce generalmente a alquenos.

Para el caso de los hidroxilos del anillo A de los triterpenos pentacíclicos, la disposición de este anillo provoca un impedimento estérico que condiciona la reactividad de los grupos presentes en él, según su disposición sea axial o ecuatorial. Así, los alcoholes en disposición axial deshidratan con mayor facilidad. De hecho, los grupos hidroxilos 3α -axiales deshidratan fácilmente empleando pentacloruro de fósforo, para dar derivados 2-etilénicos.⁷⁶ Además, la presencia del *gem*-dimetilo en C-4 impone ciertas restricciones al anillo A de seis miembros, y la conformación de silla es relativamente inestable, por la interacción entre los grupos metilo axiales en C-4 y C-10.

Nuestro Grupo de Investigación ha comprobado, que para el caso de los derivados 3β -hidroxílicos, el pentacloruro de fósforo en disolventes inertes actúa fundamentalmente provocando un reagrupamiento que conduce a la contracción del anillo A.⁷⁷

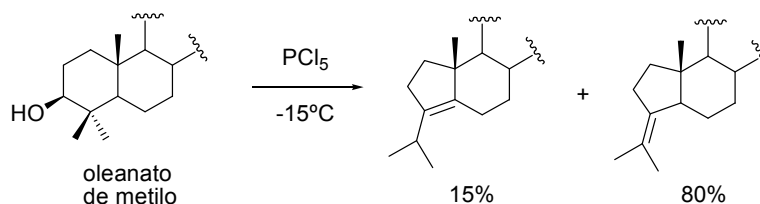


Figura 1.31. Reacción de oleanato de metilo con PCl_5 .

En cuanto al mecanismo de esta reacción, la obtención de estos productos con anillo A contraído puede explicarse por la formación de un sistema tricéntrico entre C-3, C-4 y C-5 debido a la disposición transperiplanar de los enlaces C-3/OR y C-4/C-5, tal y como se muestra en la Fig. 1.32.

Habida cuenta que en la reducción a partir de derivados de alcoholes (sulfonatos, haluros, etc.) en sustratos impedidos se obtienen bajos rendimientos debido a la aparición de productos de transposición y eliminación, se acomete el análisis de distintos tipos de reducciones, principalmente radicalarias que son pocos susceptibles a los factores estéricos como consecuencia de la no solvatación de los radicales.

⁷⁶ Halsall, T. G.; Hodges, R.; Jones, E. R. H. *J. Chem. Soc.* **1953**, 3019.

⁷⁷ Garcia-Granados, A.; López, P. E.; Melguizo, E.; Moliz, J. N.; Parra, A.; Simeó, Y.; Dobado, J. A. *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 4833.

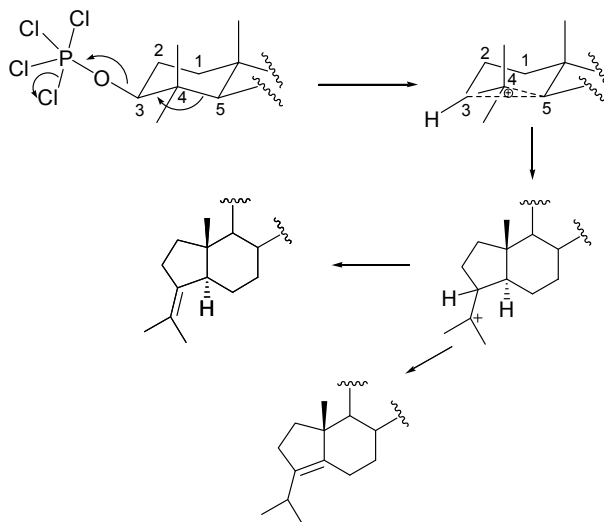


Figura 1.32. Mecanismo de reorganización en el tratamiento de oleato de metilo con PCl_5 .

1.3.1.1 Reacciones de desoxigenación de alcoholes y dioles

Barton y McCombie⁷⁸ en 1975 desarrollaron un método general de desoxigenación a partir del que han surgido numerosas modificaciones y que consiste en la desoxigenación radicalaria de alcoholes por tratamiento de sus O-tiocarbonil derivados con tributilestaño. Este proceso se lleva a cabo por la rotura homolítica del enlace C-O, y posterior reducción del radical con un $H\cdot$ aportado por parte de un donador adecuado. De este modo, inicialmente se desoxigenaron diferentes compuestos, entre ellos terpenoides como colestanol, colesterol, ergosterol y lanosterol, cuyas estructuras se muestran en la Fig. 1.33.

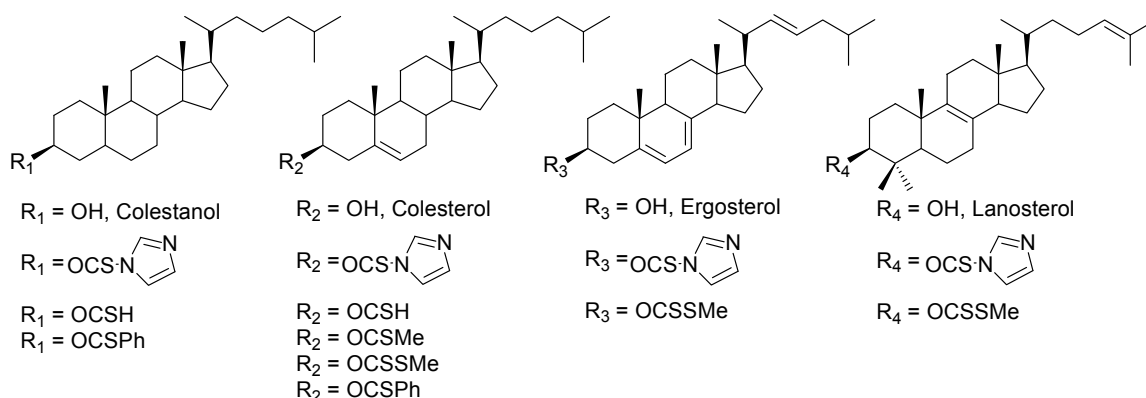


Figura 1.33. Estructuras de distintos terpenoides y sus tioderivados.

Es de destacar en este trabajo que se ha realizado la desoxigenación de lanosterol que posee, al igual que los triterpenos pentacíclicos bajo estudio, un *gem*-dimetilo sobre C-4.

⁷⁸ Barton, D. H. R.; McCombie, S. W. J. C. S. *Perkin I* **1975**, 5, 1574.

Una vez preparados los tioderivados, fueron tratados con tributilestaño como reactivo idóneo para formar radicales y donar hidrógeno. La reducción para los tiobenczoatos y xantatos se puede resumir como indica la Fig. 1.34.

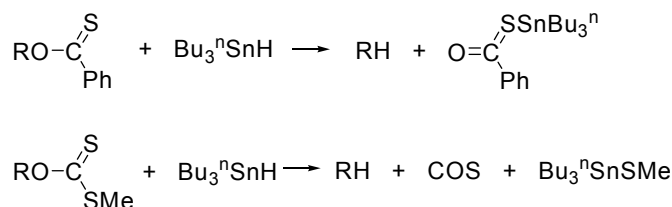


Figura 1.34. Reacción de desoxigenación de tioderivados con tributilestaño.

También se desarrolló la reacción sobre dioles de azúcares, pero el resultado fue más complejo, ya que sobre el ditioester la reducción no se daba, sino que se formaba un nuevo heterociclo (Fig. 1.35).

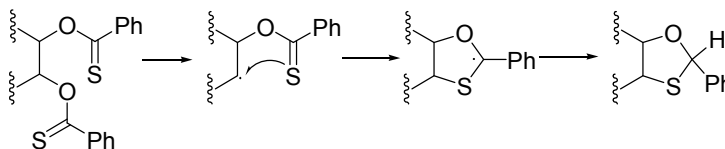


Figura 1.35. Reacción radicalaria sobre bistioderivados

Una de las mejoras más notables del método desarrollado inicialmente por Barton fue la publicación de una alternativa para la desoxigenación de dioles por formación de olefinas. Este método, ensayado por Corey y Hopkins⁷⁹, se basa en la formación de un tiocarbonato cíclico y consiste en el tratamiento del diol, bien con tiocarbonil diimidazol en tolueno a reflujo, o bien con tiofosgeno, en cloruro de metileno, con DMAP como catalizador (Fig. 1.36). Del mismo modo, estos autores expusieron una alternativa al método del tratamiento de tiocarbonato con trimetil o trietilfosfito, sometiendo este ciclo a la acción de 1,3-dimetil-2-fenil-1,3,2-diazafosfolidina, que conllevó una mejora de rendimientos notable.

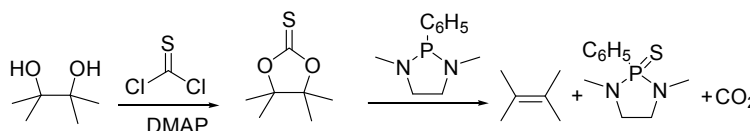


Figura 1.36. Desoxigenación de dioles a través de un derivado tiocarbonato cíclico

⁷⁹ Corey, E. J.; Hopkins, P. B. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 1979.

El propio Barton siguió mejorando su método,⁸⁰ y en 1992 publicó los resultados de un estudio en el que se utilizaba un iniciador (AIBN) que permitía que las reacciones fuesen más rápidas y que llegasen a completarse. Además, el trabajo mostró la diferente reactividad de xantatos y tioimidazoles. Sintetizó los diferentes derivados y comprobó como en todos los casos el xantato reaccionaba más rápido que los diferentes derivados aromáticos. En la Fig. 1.37 se resumen las reacciones llevadas a cabo en este trabajo.

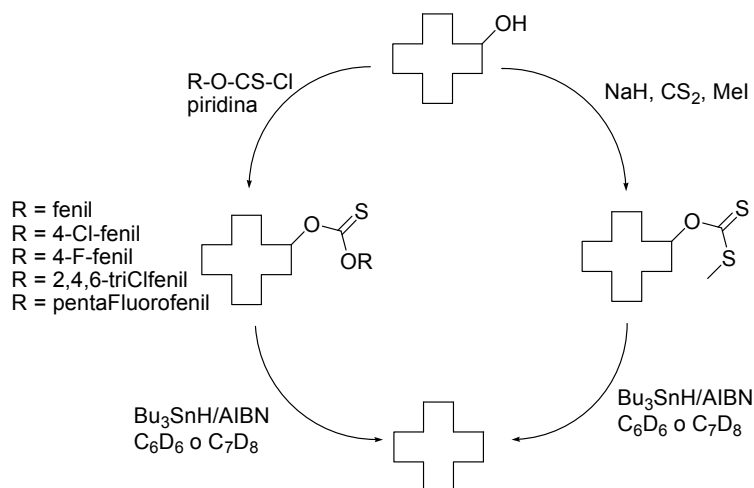


Figura 1.37. Reducción de xantatos y tioimidazoles

Igualmente, encontraron que los xantatos pueden ser reducidos con hidruro de tributilestaño y con el empleo de distintos silanos como fenilsilano, di y trifenilsilano y trietilsilano.⁸¹ Asimismo, esta metodología puede emplearse para la desoxigenación de 1,2 dixantatos, necesitando para ello peróxido de benzoilo como iniciador de radicales.

Posteriormente, estos autores publicaron la utilización de un nuevo reductor y como agente desulfurante, ácido hipofosforoso y sus sales,⁸² a modo de alternativa a los hidruros de estaño debido a su alto precio, toxicidad y la dificultad de eliminar los residuos originados. Así, se comprobó que la desoxigenación radicalaria, podía llevarse a cabo empleando fósforo como centro de radicales, generado a partir del ácido hipofosforoso o sus sales, con la ventaja añadida del uso de AIBN como iniciador.

⁸⁰ Barton, D. H. R.; Dorchak, J.; Jaszberenyi, J. Cs. *Tetrahedron* **1992**, *48*, 7435.

⁸¹ (a) Barton, D. H. R.; Jang, D. O.; Jaxzberenyi, J. Cs. *Tetrahedron Lett.* **1990**, *31*, 4681.; (b) Barton, D. H. R.; Jang, D. O.; Jaxzberenyi, J. Cs. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 2569.; (c) Barton, D. H. R.; Jang, D. O.; Jaxzberenyi, J. Cs. *Synlett* **1991**, 435.; (d) Barton, D. H. R.; Jang, D. O.; Jaxzberenyi, J. Cs. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 7187.

⁸² Barton, D. H. R.; Jang, D. O.; Jaszberenyi, J. Cs. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 5709.

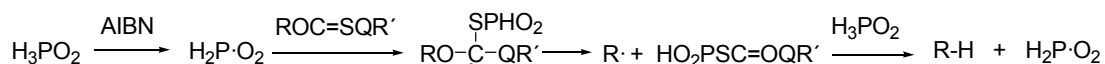


Figura 1.38 Reducción de tioderivados con ácido hipofosforoso.

Como continuación, Barton y su equipo estudiaron la acción del difenilsilano como radical y como donador de hidrógeno,⁸³ encontrando que el difenilsilano daba buenos rendimientos en un amplio grupo de moléculas, empleando BEt_3 como iniciador de radicales en cantidades catalíticas y también añadiendo O_2 . Encontraron algunos problemas para alcoholes primarios y entonces usaron 4-fluorofenil tionocarbonato, que proporcionó mejores resultados. Del mismo modo, sustituyeron el borano por otro iniciador más clásico como el AIBN, y los rendimientos fueron también buenos.

Una de las variantes al método de Barton más interesantes ha sido publicada por Fu y colaboradores.⁸⁴ Se basa en el empleo de Bu_3SnH en cantidades catalíticas y PMHS (hidruro de polimetilhidrosilano, $\text{TMSO}-(\text{SiHMeO})_n-\text{TMS}$) como reductor estequiométrico, que es menos tóxico y más barato. Es este último es el que genera en una reacción paralela el hidruro de tributilestaño, que va reduciendo el xantato hasta el correspondiente alcano (Fig. 1.39).

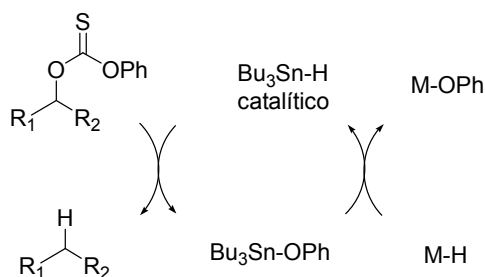


Figura 1.39. Propuesta de ciclo catalítico para desoxigenación con Bu_3SnH

Un método alternativo a la reducción radicalaria de xantato fue desarrollada por Fang y su equipo de investigadores empleando diyoduro de samario como reductor.⁸⁵ La reacción se lleva a cabo en metanol, añadiendo SmI_2 y HMPA. Una de las ventajas más interesantes de este reductor es que, según los autores, no actúa a través de radicales sino por medio de un enolato intermedio, que provoca que la reacción sea más estereoselectiva.

Existen otros métodos de desoxigenación de alcoholes que no requieren la formación de

⁸³ Barton, D. H. R.; Jang, D. O.; Jaxzberenyi, J. Cs. *Tetrahedron*, **1993**, 33, 7193.

⁸⁴ López, R. M.; Hays, D. S.; Fu, G. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 6949.

⁸⁵ Fang J. M.; Chen, M. Y.; Shiue, J. S.; Lu, L.; Hsu, J. L. *Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 4633.

derivados tiocarbónicos, sino que emplean otros intermedios. Uno de éstos, lleva consigo la formación de un derivado de fósforo y posterior reducción con litio en amoniaco líquido o etilamina.⁸⁶

Otro método alternativo de desoxigenación radicalaria transcurre a través de la formación de derivados trifluoroacetatos, que conllevan condiciones de formación más suaves que la síntesis de tioderivados ya que estos requieren bases fuertes y en algunos casos reactivos caros e inestables a la humedad como fenilclorotiocarbonatos o diimidazolil tiocetona. Estos derivados carbonílicos se pueden reducir posteriormente por la acción de difenilsilano.⁸⁷ El método es aplicable a un gran número de tipo de moléculas, y es eficaz para alcoholes primarios y secundarios, dando incluso buenos rendimientos para el caso de alcoholes terciarios.⁸⁸ El mecanismo implicado también parece ser radicalario. En la Fig. 1.40 se da un ejemplo de un esteroide con un 87% de rendimiento.

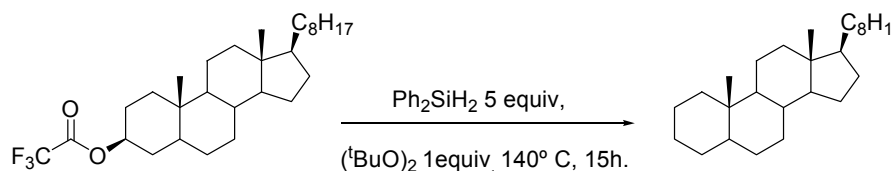


Figura 1.40. Desoxigenación de esteroides a través de triflatos

Otra reducción clásica es la de Wolff-Kishner, que transcurre a través de la formación de hidrazonas por tratamiento de cetonas y aldehidos con hidrazina, considerada como un método ampliamente elegido para conversiones de carbonilos en metilenos. De hecho, distintos reviews han sido publicados sobre este procedimiento.⁸⁹ El método original transcurre por calentamiento de la hidrazona con una base a temperaturas elevadas, sufriendo descomposición por pérdida de nitrógeno, mientras que la modificación de Huang-Milon transcurre por calentamiento del grupo carbonílico con KOH e hidrazina en etilenglicol en un sólo paso.⁹⁰

1.3.1.2 Desoxigenación de epóxidos

Los epóxidos han sido ampliamente usados como intermedios sintéticos de gran versatilidad en Química Orgánica, ya que, aunque los éteres ordinarios son relativamente inertes,

⁸⁶ (a) Ireland, R. E.; Muchmore, D. C.; Hengartner, U. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, *94*, 5098; (b) Liu, H. J.; Shang, X. *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 367.

⁸⁷ Jang, D. O.; Kim, J.; Cho, D. H.; Chung, C. M. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 1073.

⁸⁸ Kim, J.; Cho, D. H.; Jang, D. O. *Tetrahedron Lett.* **2004**, *45*, 3031.

⁸⁹ (a) Kishner, N. *J. Russ. Chem. Soc.* **1911**, *43*, 582. (b) Wolff, L. *Ann.* **1912**, *394*, 86. (c) Todd, T. *Org. React.* **1948**, *4*, 378. (d) Hutchins, R. O.; Hutchins, M. K. *Comp. Org. Syn.* **1991**, *8*, 327. (Review)

⁹⁰ (a) Minlon, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 2487. (b) Minlon, H. *J. Am. Chem. Soc.* **1949**, *71*, 3301.

el anillo tensionado de los oxaciclopropanos hace que se conviertan en una herramienta de gran utilidad en Síntesis Orgánica.

La ciclación de 1,2-dioles para dar un epóxido puede ser llevada a cabo por tratamiento con dimetilformamida dimetil acetal, $(\text{MeO})_2\text{CHNMe}_2$,⁹¹ con azodicarboxilato de dietilo (EtOOCN-NCOOEt) y Ph_3P ,⁹² con un dialcoxitrietilfosforano,⁹³ o con $\text{TsCl-NaOH-PhCH}_2\text{NEt}_3^+\text{Cl}^-$.⁹⁴

La desoxigenación de epóxidos es una importante transformación sintética en Química Orgánica de la que se conocen diversos métodos, algunos de ellos se examinarán a continuación.⁹⁵

Uno de los autores que planteó primero la cuestión de obtención de alquenos a partir de oxiranos fue Sharpless,⁹⁶ que basándose en la reversibilidad de las reacciones de oxidación de olefinas investigó diferentes derivados halogenados de wolframio para dar lugar a la reducción de los epóxidos. En epóxidos mono o disustituídos es habitual la formación de clorohidrinas, que se ha comprobado no son intermedios, aunque pueden convertirse en olefinas si son calentadas a reflujo. La estereoselectividad de la reacción varía según el reactivo utilizado.

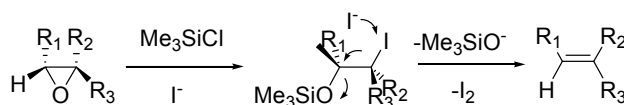


Figura 1.41. Mecanismo para la reducción de epóxidos con $\text{Me}_3\text{SiCl-INA}$

Otro método surgió del tratamiento del epóxido con un metal alcalino como el Li en THF a reflujo para obtener olefinas con la misma estereoquímica para el caso de epóxidos alifáticos.⁹⁷ El tiempo y el rendimiento de la reacción varían según la sustitución del epóxido. Otro de estos métodos utiliza cloruro de trimetilsililo y yoduro sódico en acetonitrilo,⁹⁸ que generan *in situ* iodotrimetilsilano y conduce a la formación de iodohidrinan sililadas. Bajo estas condiciones experimentales, la posterior eliminación puede ser debida al ataque de excesos de ion yodo. Este método dio buenos resultados para el 2,3-epoxicolestano. El mecanismo propuesto se muestra en la Figura 1.41.

⁹¹ Neumann, H. *Chimia* **1969**, 23, 267.

⁹² Mitsunobu, O. *Synthesis* **1981**, 1.

⁹³ Hendrickson, J.B.; Hussoin, M.S. *Synlett* **1990**, 423.

⁹⁴ Szeja, W. *Synthesis* **1985**, 983.

⁹⁵ Para una revisión de desoxigenación de epóxidos ver: Wong, H. N.; folk, C. C. M.; Wong, T. *Heterocycles* **1987**, 26, 1345.

⁹⁶ Sharpless, K. B.; Umbreit, M. A.; Nieh, M. T.; Flood, T. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 18, 6538.

⁹⁷ Gurudutt, K. N.; Ravindranath, B. *Tetrahedron Lett.* **1980**, 21, 1173.

⁹⁸ Caputo, R.; Mangoni, L.; Neri, O.; Palumbo, G. *Tetrahedron Lett.* **1981**, 22, 3551.

Por otro lado, la utilización de trifenilfosfina y yodo⁹⁹ sigue un mecanismo similar al anterior y ha sido aplicado a epóxidos trisustituídos de esteroides, dando muy buenos rendimientos en la olefina correspondiente. El mecanismo propuesto explica que el yodo juega un papel crucial al incrementar la electrofilia del átomo de fósforo que efectúa la ruptura del enlace C-O terciario. El carbocatión terciario no es accesible al ataque nucleofílico, de ahí que se produzca una E2, en lugar de una S_N2, lo que proporciona el doble enlace, en lugar de la yodohidrina (Fig. 1.42).

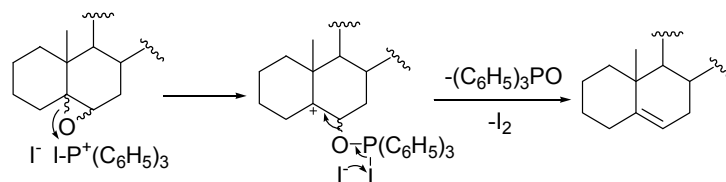


Figura 1.42. Mecanismo de desoxigenación de epóxidos con $\text{Ph}_3\text{P}-\text{I}_2$.

La utilización de trifenilfosfina y I_2 ya fue utilizada en nuestro Grupo de Investigación para la desoxigenación del oxirano del anillo A derivado del maslinato de metilo, conduciendo a la obtención del 2,3-eno aunque el rendimiento fue bajo al formarse principalmente las yodohidrinias correspondientes.⁷⁷

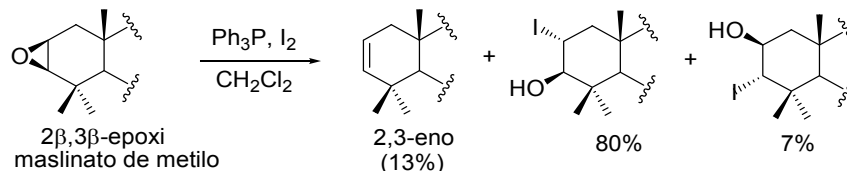


Figura 1.43. Tratamiento de 2β,3β-epoxi maslinato de metilo con $\text{Ph}_3\text{P}-\text{I}_2$.

Otro novedoso modo de desoxigenación transcurre a través de la apertura radicalaria de epóxidos mediante el complejo de titanoceno (III) (generado in situ a partir de $\text{Cp}_2\text{Ti}^{\text{IV}}\text{Cl}_2$ con metales como Mn ó Zn) que fue iniciada por Rajanbabu y Nugent.¹⁰⁰ Estas aperturas radicalarias de epóxidos con titanoceno son regioselectivas ya que se forma el radical más estable, debido a que la complejación del epóxido con este reactivo del lado menos sustituido evita interacciones estéricas entre el complejo formado y los sustituyentes alquilo. Si hay presencia de agua en el medio, esta especie puede evolucionar dando un alcohol por ruptura electrófila. Por otro lado, el radical formado puede capturar otra molécula de Cp_2TiCl generando especies dimetaladas, a partir de las cuales se pueden obtener dobles enlaces por β-eliminación del alcoxititano, "TiO".

⁹⁹ Paryzek, Z.; Wydra, R. *Tetrahedron Lett.* **1984**, 25, 2601.

¹⁰⁰ (a) Nugent, W. A.; Rajanbabu, T. V. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 110, 8561. (b) Nugent, W. A.; Rajanbabu, T. V. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, 111, 4525. (c) Nugent, W. A.; Rajanbabu, T. V.; Beattie, M. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 6408. (d) Nugent, W. A.; Rajanbabu, T. V. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 986.

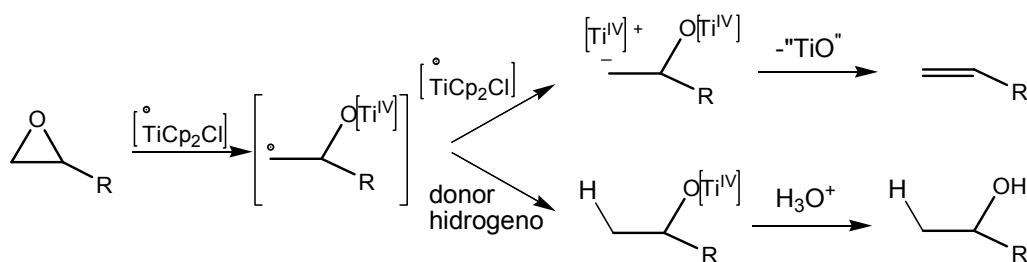


Figura 1.44. Reacciones de apertura reductiva y desoxigenación en epóxidos promovida por titanoceno(III)

En 1998 el grupo del profesor Gausäuer desarrolló un procedimiento catalítico para la apertura homolítica de epóxidos,¹⁰¹ utilizando 1,4-ciclohexadieno como donador de hidrógeno y clorhidrato de colidina como regenerador del catalizador. La reacción mostró la misma regio y quimioselectividad que la versión estequiométrica.

La adición de clorhidrato de 2,4,6-colidina, ácido prótico, permite reintroducir Cp_2TiCl_2 en la reacción, que es reducido de nuevo por el exceso de metal .

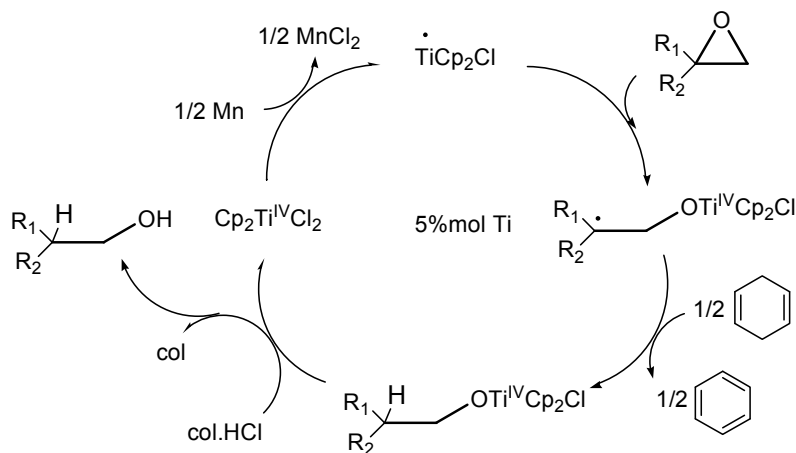


Figura 1.45. Ciclo catalítico para la apertura de epóxidos iniciada por titanoceno

Trabajos posteriores del grupo del Dr. Oltra sobre aperturas de epóxidos en medio anhidro ha demostrado que se necesita una disposición "Ti-C-C-OTi" coplanar para que el "OTi" se aproxime al "Ti" y se produzca la β -eliminación de $Cp_2TiClOTiClCp_2$ y se forme el alqueno. Además, describieron la combinación Me_3SiCl /colidina como regenerador de Cp_2TiCl_2 .¹⁰²

¹⁰¹ Gansäuer, A.; Pierebon, M.; Bluhm, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 101.

¹⁰² (a) Cuerva, J. M.; Campaña, A. G.; Justicia, J.; Rosales, A.; Oller-Lopez, J. L.; Robles, R.; Cardenas, D. J.; Buñuel, E.; Oltra, J. E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 5522. (b) Tesis Antonio Rosales. Universidad Granada, **2004**.

1.3.2 REACTIVIDAD DEL ANILLO C

1.3.2.1 Fotoquímica en terpenos

La fotoquímica es uno de los campos que se ha expandido rápidamente en Química Orgánica. Hasta la década de 1950 las reacciones orgánicas inducidas por luz no eran apreciadas debido a la falta de entendimiento de las diversas e inesperadas reactividades que conllevan las moléculas excitadas. No obstante, esta situación cambió al desarrollarse este tipo de técnicas tanto de forma teórica como experimental.

Dentro del campo de los terpenos cabe destacar la transformación fotoquímica de vitamina D y sus isómeros, tanto por la multitud de estudios llevados a cabo para esclarecer este mecanismo como por la importancia de su actividad fisiológica. De hecho, la síntesis de vitamina D para uso médico es uno de los ejemplos de aplicación de la fotoquímica en la industria de Química Fina al llevarse a cabo a través de la apertura fotoquímica electrocíclica del anillo 1,3-diénico en ergosterol (E), para dar precalciferol (P), que por calentamiento conduce a vitamina D. No obstante, el mecanismo de estas reacciones no se entendió hasta que Woodward y Hoffmann formularon las reglas de las reacciones electrocíclicas en 1965.¹⁰³

Esta compleja trama de reacciones fotoquímicas y fotoequilibrios ha sido ampliamente documentada como resultado de varias décadas de trabajo,¹⁰⁴ y los resultados más importantes se iniciaron con los estudios de Havinga.^{104a} Discusiones generales de los fotoequilibrios pueden encontrarse en la referencia 105.

El precalciferol (P) es el centro de las reacciones fotoquímicas y de la red de fotoequilibrios, a partir del cual son posibles isomerizaciones *cis-trans* (rotación de los enlaces C₂-C₃ y/o C₄-C₅), isomerización Z/E del enlace central C₃-C₄ y reacciones electrocíclicas.

¹⁰³ (a) Woodward, R. B.; Hoffmann, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *87*, 395. (b) *Angew. Chem.* **1969**, *87*, 797.

¹⁰⁴ (a) Jacobs, H. J. C.; Havinga, E. *Photochemistry of Vitamin D and Its Isomers and of Simple Trienes*. Pitts, J. N.; Jr., Hammond, G. S., Gollnick, K.; Eds.; *In Advance in Photochemistry*; John Wiley & Sons: New York, **1979**, Vol. 11, pp 305-373. (b) Dauben, W. G.; McIlinnis, E. L.; Mlncho, D. M. *Photochemical rearrangements in trienes*. De Mayo, P. Ed. *In Rearrangements in ground and excited states*, Academic Press: London, **1980**; Vol. 3, pp 91-129. (c) Malatesa, V.; Wills, C.; Hackett, P. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *103*, 6781. (d) Dauben, W. G.; Phillips, R. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 5781. (e) Brower, A. M.; Disanayaka, B.; Funhoff, D. J. H.; Kohler, B. E.; Schilke, D. E.; Zhou, B. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, *113*, **8367**. (f) Petek, H.; Bell, A. J.; Christensen, R. L.; Yoshihara, K. *J. Chem. Phys.* **1992**, *96*, 2412. (g) Terenetskaya, I. P.; Perminova, O. G.; Yeremenko, A. M. *J. Mol. Struct.* **1992**, *267*, 93. (h) Dimitrenko, O.; Reischl, W. *Monatsh. Chem.* **1996**, *127*, 445. (i) Dimitrenko, O. G. Terenetskaya, I. P.; Reischl, W. *Journal of Photochemistry and Photobiology* **1997**, *104*, 113. (j) Dimitrenko, A.; Frederick, J. H.; Reischl, W. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **2001**, *139*, 125.

¹⁰⁵ (a) Dauben, W. G. Salem, L.; Turro, N. J. *Acc. Chem. Res.* **1975**, *8*, 41. (b) Grimbirt, D.; Segal, G.; Devaquet, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 6629. (c) Salem, L.; Leforestier, C.; Segal, G.; Wetmore, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 479. (d) Turro, N. J. *Modern Molecular Photochemistry*; Benjamin Publishing: Reading, **1978**. Gilbert, A.; Baggott, J. *Essentials of Molecular Photochemistry*; Blackwell Scientific Publications: Oxford 1991. Coxson, J. M.; Halton, B. *Organic Photochemistry*; Cambridge University Press: London 1974, pp 47-57. (e) Oosterhoff, L. J.; van der Lugt, W. T. A. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 6042.

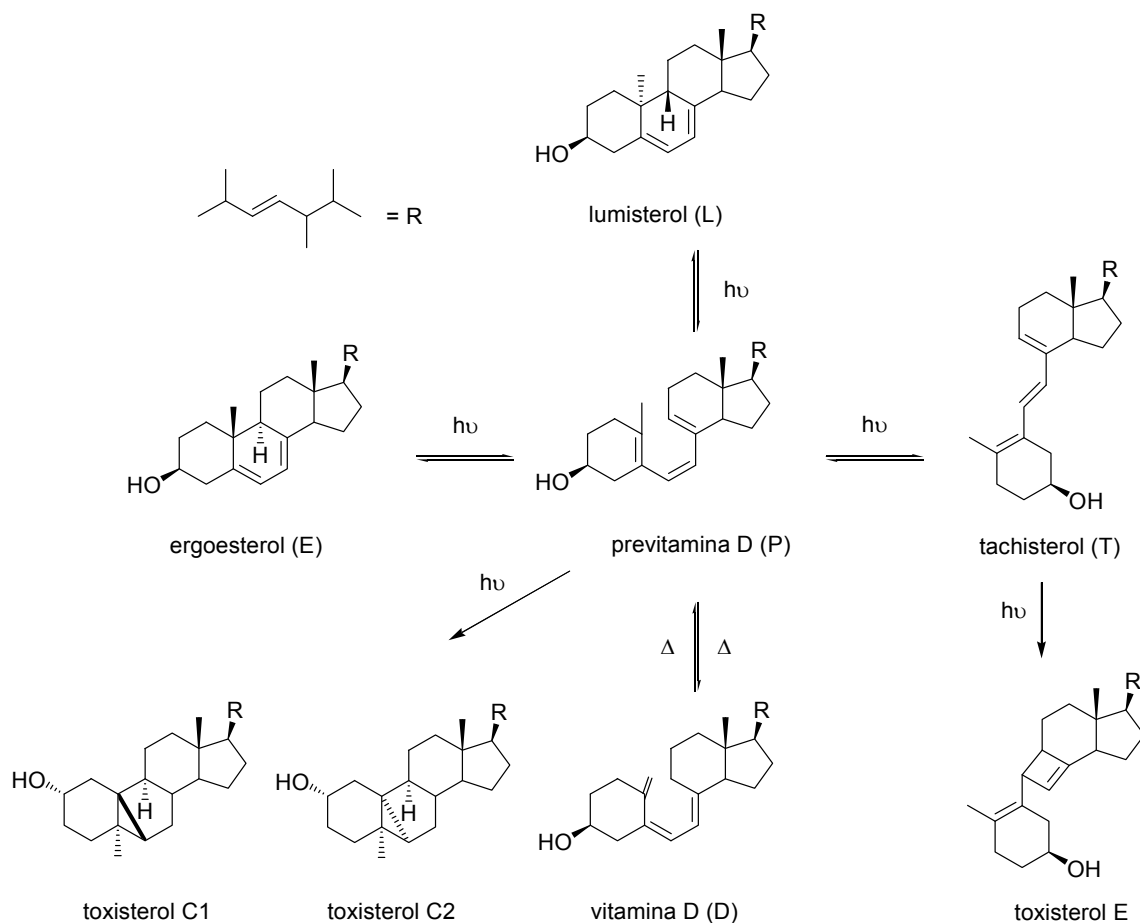


Figura 1.46. Interconversión de los isómeros de la vitamina D

La irradiación del precalciferol conduce a una mezcla de cuasi-fotoequilibrio de Z/E isómeros (tachisteroles) y ciclohexadienos (ergosterol y lumisterol), cuya composición depende de la longitud de onda usada en el experimento. Por otro lado, la excitación ultravioleta de ergosterol produce la apertura del anillo ciclohexadiénico para dar lugar a la previtamina D como se ve en la Fig. 1.46. Del mismo modo, lumisterol, que es un isómero de ergosterol y que difiere en la orientación de un grupo metilo y un hidrógeno del anillo de ciclohexanodieno, forma también previtamina D por reacción fotoquímica. Por el contrario, la vitamina D, se genera a partir de previtamina D por una reacción térmica.

De este modo, ergosterol y lumisterol dan el mismo resultado, previtamina D, mediante una reacción fotoquímica, pero este producto absorbe a la misma longitud de onda que sus precursores, y por consiguiente es inestable bajo la radiación UV. Es por esto, que tras la irradiación prolongada de lumisterol y ergosterol, pueden darse dos situaciones: que se recuperen los productos de partida por cierre del anillo o que se forme un nuevo producto, tachisterol, por una isomerización Z-E, siendo esta segunda opción la más probable. En este

sentido, las dos reacciones son electrocíclicas, pero la diferencia radica en la disposición de los sustituyentes, que viene determinada por la reglas de Woodward y Hoffmann.¹⁰³

Sin embargo, el proceso es más complicado de lo que en principio se creía. Así, la irradiación prolongada de P y T conducen a otros compuestos cíclicos toxisteroles C y T, respectivamente.^{104a}

En la Fig. 1.47 se representan las reacciones permitidas por estas reglas, para sistemas de tres dobles enlaces conjugados. En el caso de la reacción térmica y como el número de electrones π cumple la fórmula $4n + 2$, la reacción permitida es aquella que transcurre suprafacialmente y es disrotatoria (los grupos metilo giran cada uno en un sentido para que los orbitales puedan solaparse), esto da lugar a un producto en el que los metilos tienen la misma disposición. Por el contrario, la reacción fotoquímica que puede ocurrir es la contraria, por lo que deber ser antarafacial y conrotatoria, originando un compuesto con los grupos metilos en disposición contraria entre ellos.

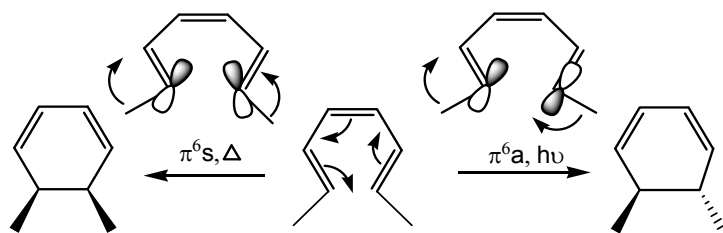


Figura 1.47. Reacciones permitidas para sistemas octatriénicos

Para el caso de los isómeros de la vitamina D, en la previtamina D se comprueba este hecho, ya que también posee un sistema de tres dobles enlaces conjugados (seis electrones π), por ello debería generar, fotoquímicamente, un ciclohexanodieno en el que los sustituyentes de los carbonos unidos por el nuevo enlace estarían en disposición contraria y esto, es efectivamente lo que ocurre, como indica la Fig. 1.47.

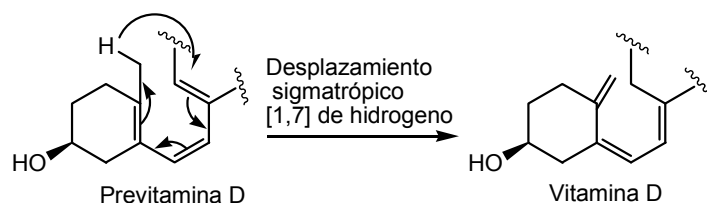


Figura 1.48. Reacciones fotoquímicas de previtamina D

La vitamina D, por el contrario, no se forma mediante una reacción fotoquímica, sino térmica, un desplazamiento sigmatrópico [1,7] de hidrógeno,¹⁰⁶ a partir de previtamina D, tal y como se muestra en la Fig. 1.48.

La aplicación de la fotoquímica en síntesis de productos naturales ha sido estudiada extensamente,¹⁰⁷ ya que proporciona importantes y variados métodos sintéticos para la preparación de inusuales compuestos, como son las cicloadiciones de cetonas α,β -insaturadas a olefinas, cicloadiciones intramoleculares, reacciones electrocíclicas, fotooxigenaciones y aperturas fotoquímicas de anillos diénicos. Dentro de este último método cabe destacar la excisión de 1,3-ciclohexadienos a derivados triénicos acíclicos.

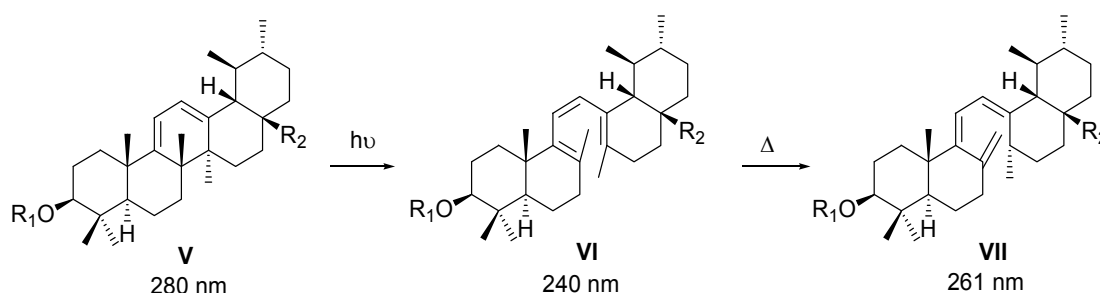


Figura 1.49. Isomerizaciones en la serie de ursano

Así, en la irradiación del acetato de metil deshidrourolato a reflujo produjo la desaparición de la banda de dieno en torno a 280 nm y la aparición de una nueva banda a 240 nm.¹⁰⁸ Si cesaba la irradiación pero la disolución se mantenía a reflujo desaparecía entonces la banda a 240 nm y se originaba otra a 261 nm (Fig. 1.49). Por evaporación del disolvente se obtenía un producto cristalino con estructura (VII, $R_1 = \text{Ac}$, $R_2 = \text{CO}_2\text{Me}$) análoga a la de vitamina D. Con este método se consiguieron alcanzar rendimientos del 75%, aproximadamente.

A los fototrienos (VI, $R_1 = \text{Ac}$, $R_2 = \text{Me}$ y CO_2Me) se les asigna configuración Z porque la irradiación con una lámpara de wolframio en presencia de yodo causa un desplazamiento del máximo a longitudes de onda e intensidades mayores, siendo éste un procedimiento general de detección de este tipo de isómeros. Es más, la configuración de los metilos en C-8 y C-14 presentes en el dieno (β y α , respectivamente) se mantiene tras la fotólisis, lo cual explicaría la estereoespecificidad del reagrupamiento térmico (Fig. 1.50), que necesariamente coloca un hidrógeno con configuración β en la posición 14 de los trienos. No se ha llegado a una

¹⁰⁶ Clayden, J.; Greeves, N.; Warren, S.; Wothers, P. *Pericyclic reactions 2: Sigmatropic and electrocyclic reactions, Organic Chemistry*; Oxford University Press, 2001, 943.

¹⁰⁷ (a) Schaffner, F. *Chem. Org. Naturstoffe*, 22, 1964. (b) de Mayo, P. *Adv. Org. Chem.* 1960 2, 367. (c) Sammes, *Quart Rev.* 1970, 24, 37.

¹⁰⁸ Autrey, R. L.; Barton, D. H. R.; Ganguly, A. K.; Reusch, W. H. *J. Chem. Soc.* 1961, 3, 3313.

explicación satisfactoria de por qué no se forman otros productos de isomerización térmica en mayor cantidad (VIII).

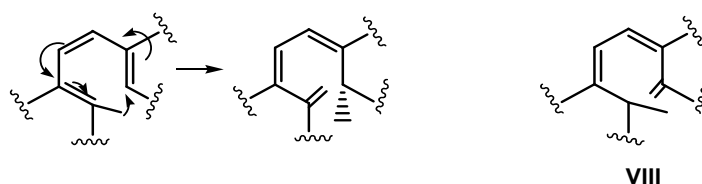


Figura 1.50. Justificación de la estereoquímica de la reacción térmica de formación del trieno exocíclico

Otro ejemplo de la apertura fotoquímica de 1,3-ciclohexadienos hacia derivados triénicos se llevó a cabo sobre palustrato de metilo.¹⁰⁹ La irradiación del 8,13-dieno de este compuesto se siguió por el espectro de UV y por la rotación óptica. Durante el transcurso de la fotólisis el máximo inicial de 265 nm desaparece, observándose un nuevo máximo a 249 nm.

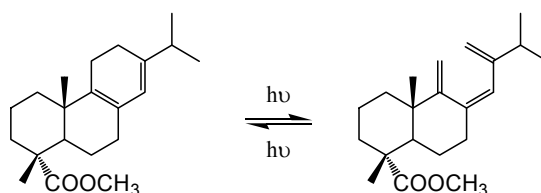


Figura 1.51. Foteoequilibrio de palustrato de metilo

1.3.2.2 Isomerizaciones *cis-trans*.

Las moléculas orgánicas pueden existir en forma de distintos isómeros geométricos que poseen distintas propiedades físicas y reactividades químicas. La isomería *cis-trans* a través de un enlace π da lugar a diastereoisómeros ya que cuando la barrera de interconversión entre los isómeros *cis* y *trans* no es demasiado alta pueden interconvertirse. De hecho, este tipo de conversión de olefinas se da de forma espontánea en la naturaleza (ácidos grasos, carotenoides, procesos de la visión, ...)

Esta reacción, generalmente, se puede llevar a cabo de formas distintas, así en el apartado anterior ya se han dado ejemplos de reacciones fotoquímicas que dan lugar a este tipo de isomería geométrica. También se puede utilizar reactivos químicos para su realización e incluso emplear enzimas.

¹⁰⁹ Dauben, W. G.; Coates, R. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *84*, 2490.

En el caso de la utilización de reactivos químicos uno de los más estudiados ha sido el yodo. Así, en 1964 Benson, Golden y Egger ya habían estudiado la isomerización *cis-trans* del buteno con yodo, analizando tanto la cinética como termodinámica de la reacción.¹¹⁰ En primer lugar estudiaron la reacción con el 1-buteno, comprobando como se producía la isomerización al 2-buteno, dando además el isómero *trans* del mismo. Realizaron un amplio estudio de la reacción en fase gaseosa y de las constantes de equilibrio. La isomerización ocurre como consecuencia de la formación de un radical que migra de la posición 1 hacia la posición 2 para dar lugar al radical secundario más estable y además, éste produce el doble enlace también más estable, que es el *trans*, donde los grupos voluminosos quedan lo más alejados posible, y la interacción estérica entre los mismos se reduce. De igual manera, estudiaron la misma reacción, pero en este caso el producto de partida era el *cis*-2-buteno. En esta ocasión, encontraron también un desplazamiento de la reacción hacia el *trans*-2-buteno, pero el equilibrio no está tan desplazado, debido a que la diferencia de energía entre los productos no es tanta como en el caso anterior, provocando que el equilibrio se desplace menos.

Se han encontrado otro tipo de reactivos que con un mecanismo similar también pueden catalizar la isomerización de dobles enlaces. De este modo, Macoll y Ross, estudiaron esta misma reacción pero empleando bromuro de hidrógeno como catalizador, obteniéndose resultados similares a los que obtuvo Benson con el yodo.¹¹¹

Como ya se ha comentado, la isomerización de dobles enlaces juega un papel importante en distintos procesos biológicos. De hecho, las interconversiones térmicas y fotoquímicas de diferentes isómeros de la vitamina A se han intentado explicar para esclarecer el tipo de fenómenos que se producen en la retina durante el proceso de la visión.¹¹² Para ello se investigaron diferentes isomerizaciones de isómeros de retinal con yodo y con ácido trifluoroacético como catalizador de la reacción, encontrando que los resultados son similares para los dos catalizadores.

Además, como ya hemos comentado, hay otras reacciones que no emplean reactivos químicos, sino enzimas para llevar a cabo la isomerización. Así, se han observado ejemplos de isomerizaciones *cis-trans*, en microorganismos, donde diferentes enzimas o mecanismos enzimáticos están involucrados. Recientemente, se ha descubierto que los tioles, además de su ya conocida acción como antioxidantes, pueden producir también isomerizaciones de este tipo en los ácidos grasos,¹¹³ a través de un mecanismo radicalario y que se expone en la Fig. 1.52.

¹¹⁰ Golden, D. M.; Egger, K. W.; Benson, S. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 5416.

¹¹¹ Macoll, A.; Ross, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, *6*, 1169.

¹¹² (a) Rando, R. R.; Chang, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 2879; (b) Molnar, P.; Szabolcs, J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* **1993**, 261.

¹¹³ Kratzsch, S.; Dröbler, K.; Sprinz H.; Brede, O. *Biochemistry and Biophysics* **2003**, *416*, 238.

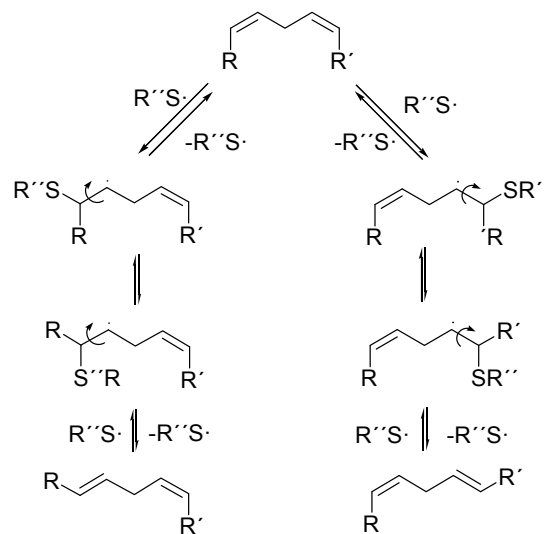


Figura 1.52. Mecanismo de isomerización de dobles enlaces mediante tioles

Este proceso suele ser un mecanismo de defensa de determinados microorganismos ante acciones externas. De este modo, los autores han estudiado la isomerización de ácido araquidónico, en metanol, aplicando radiación y en presencia de tiofenol. Se ha visto como la isomerización de uno de los dobles enlaces del ácido es mayor a medida que aumenta la cantidad de tiofenol.

Hay otro tipo de mecanismos enzimáticos que se han descubierto, y que son también un método de defensa de células frente a diferentes situaciones de estrés, como la presencia de disolventes orgánicos. Se ha comprobado que en la membrana de ciertas bacterias, se da la isomerización *cis-trans*, de algunos ácidos grasos ante agresiones externas. En concreto, se ha visto que tras la adición de 4-clorofenol, la concentración de ácido oleico se reduce, porque este se transforma en ácido elaídico, su isómero. Por otra parte, se sabe que la reacción no requiere gasto de ATP ni de ningún otro cofactor como NADPH. Se ha verificado que este mecanismo es empleado por bacterias del género de las *Pseudomonas* y la enzima que está involucrada en esta reacción, ha recibido el nombre de *cis-transisomerasa* (Cti).

Se ha comprobado que un átomo de hierro (Fe^{3+} probablemente) está directamente relacionado con la acción de la enzima ya que se forma un intermedio en el cual la enzima y el sustrato forman un complejo, debido a la electrofilia del Fe^{3+} presente en el centro activo de la misma, que toma un electrón del doble enlace, pasando así el carbono de ser sp^2 a sp^3 . Es entonces cuando el enlace simple gira, y el enlace doble se restituye pero con la configuración *trans* en el mismo.

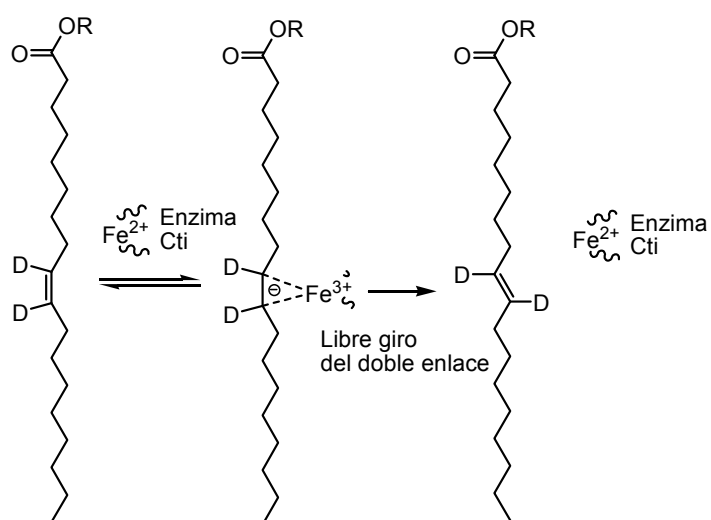


Figura 1.53. Mecanismo de isomerización de dobles enlaces mediante enzima Cti

1.4 TRANS Y CIS DECALINAS

El sistema cíclico decalínico es uno de los fragmentos más predominantes que contienen los terpenoides naturales.¹¹⁴ En general, las decalinas se dividen en dos grupos estereoquímicos diferentes según la orientación de los dos carbonos sp^3 que dan lugar a la fusión de los dos anillos ciclohexanos, *trans* y *cis*-decalinas.

Es evidente que muchos de los productos naturales que poseen decalinas en su estructura tienen diversos grados de sustitución y centros estereogénicos contiguos sobre el esqueleto cíclico, lo que se ha convertido en un considerable reto sintético. Por tanto, la complejidad estructural de estos productos naturales acompañado de las interesantes propiedades biológicas que poseen ha conducido a un significativo interés en el desarrollo de nuevos y eficientes métodos para la síntesis de decalinas y como derivación la obtención de los productos naturales que los contienen.

De las distintas estrategias para la síntesis de decalinas, las reacciones basadas en reacciones de Michael intermoleculares (anelación de Robinson) e intramoleculares han sido las más extensamente utilizadas. La segunda estrategia más popular implica la reacción de Diels-Alder, tanto intra como intermolecular. Además, el interés en la síntesis de estos fragmentos como parte de estructuras de productos naturales ha llevado al desarrollo de ciclaciones en

¹¹⁴ (a) Glasby, J. S. *Encyclopedia of the Terpenoids*. Wiley: Chichester, 1982. (b) Fraga, B. M. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 650. (c) Hanson, J. R. *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 88. (c) Connolly, J. D.; Hill, R. A.; *Nat. Prod. Rep.* **2001**, *18*, 131.

cascada de polienos, ya sea a través carbocationes, radicales o utilizando metales de transición. Frente a los métodos tradicionales llevados a cabo mediante ciclaciones hay que destacar que existen otros procedimientos que tienen lugar por degradación de esqueletos más complejos, y que van a ser objeto de estudio en la presente Memoria.

Como ya se ha comentado, las *trans*-decalinas se han encontrado en una gran variedad de politerpenos (drimanos, labdanos, abietanos, ...), esteroides y otros productos naturales con interesantes actividades biológicas. Su ubicuidad en productos naturales ha conducido al desarrollo de una amplia variedad de métodos para su preparación. Aunque la síntesis de *trans*-decalinas con específica sustitución, con buenos rendimientos, con alta estereoselectividad y en pocos pasos está lejos de ser un problema resuelto y se sigue desarrollando este campo. Debido a la importancia de las actividades biológicas asociadas con este tipo de compuestos, distintos estudios sintéticos de drimanos han sido desarrollados.¹¹⁵

1.4.1 SESQUITERPENOS DRIMÁNICOS

Los drimanos son sesquiterpenos naturales (15 carbonos) con esqueleto de biciclo farnesano. El drimenol fue el primero aislado por Appel y colaboradores en 1948 de la corteza de *Drimys winteri* Forst.¹¹⁶ Su estructura y configuración absoluta fueron elucidadas en 1956, siendo el primer sesquiterpeno cuya configuración absoluta del sistema anular *trans*-decalínico A-B se asignaba inequívocamente.¹¹⁷

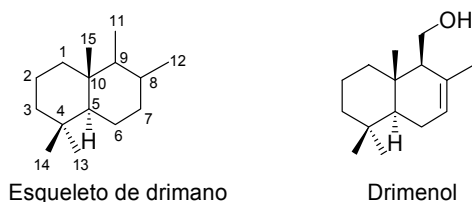


Figura 1.54. Estructura general de drimanos y de drimenol

Muchos sesquiterpenos drimánicos, presentan actividades biológicas interesantes entre las que cabe destacar la actividad antiapetente,¹¹⁸ antimicrobiana,¹¹⁹ citotóxica,¹¹⁹ reguladora del

¹¹⁵ (a) Heathcock, C. H.; Graham, S. L.; Pirrung, M. C.; Plavae, F.; White, C. T. *The total synthesis of natural products*, Wiley Intersciences, New York, **1983**, 5, 166. (b) Jansen, B.J. M. ; Groot , A. *Natural Product Reports*, **1991**, 319. (c) Engler, J. A.; Sampat, U.; Naganathan, S.; Velde, D. V.; Takasagawa, F.; Yohannes, D. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 5712. (d) Fitizon, M.; Goulaouic, P.; Hanna, I.; Pranage, T. *J. Org. Chem.* **1981**, *53*, 5672. (e) More, K.; Watanabe, H. *Tetrahedron*, **1986**, *42*, 273. (f) Jansen, B.J. M. ; Groot , A. *Natural Product Reports*, **2004**, *21*, 449.

¹¹⁶ Appel, H. H.; Brooks, C. J. V.; Overton, K. H. *J. Chem. Soc.* **1955**, 3322.

¹¹⁷ Appel, H. H.; Rotman, B.; Thorton, F. *Scientia* **1956**, *23*, 19.

¹¹⁸ Van Beek, T. A.; De Groot, A. *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1986**, *105*, 513; Ley, S. V.; Toogood, P. L. *Chem. Brit.* **1990**, 31.

¹¹⁹ Anke, H.; Sterner, O. *Planta Med.* **1991**, *57*, 344.

crecimiento,¹²⁰ moluscicida,¹²¹ inhibidora de la hemólisis¹²² o gástricoprotectora.¹²³ Debido a estas interesantes actividades biológicas y a que, además en la mayoría de los casos, se consiguen pequeñas cantidades de sus fuentes naturales, su síntesis total es necesaria. Así, se han desarrollado numerosas rutas sintéticas generales para la obtención de esta clase de compuestos. En el transcurso de las aproximaciones sintéticas hacia drimanos, muchos intermedios con este tipo de estructura han sido evaluados y han proporcionado información acerca de los grupos funcionales responsables de la actividad, que puede conducir al descubrimiento de compuestos simples biológicamente activos.¹²⁴

1.4.1.1 Biogénesis de drimanos

La ciclación de pirofosfato de farnesilo (FPP), iniciada por ataque electrófilo, generalmente un protón, sobre el doble enlace o sobre el correspondiente epóxido situado en la cabeza de la cadena de FPP, da lugar a un intermedio carbocatiónico cuya evolución conduce a la formación de esqueletos de tipo de drimano. La estructura y la estereoquímica del producto final están determinados por las posiciones relativas de los dobles enlaces en la conformación de la cadena de FPP antes de la ciclación. La unión *trans* de los anillos está de acuerdo con los requerimientos estereoelectrónicos de un mecanismo concertado en el que tiene lugar la adición secuencial de dobles enlaces no conjugados.

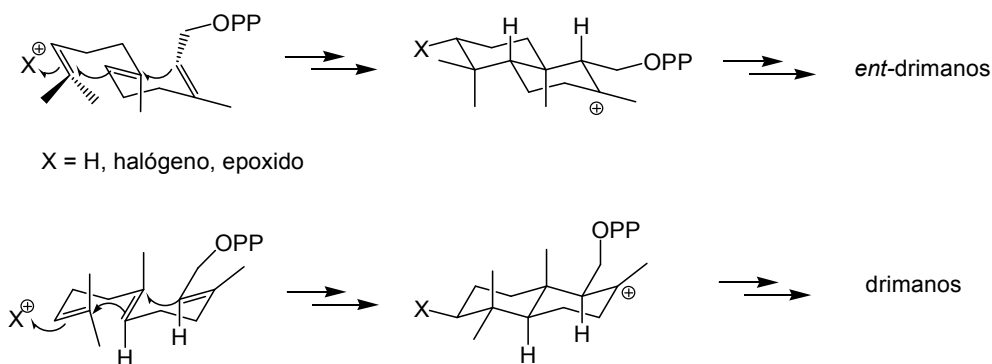


Figura 1.55. Biogénesis de drimanos mediante ciclación de pirofosfato de farnesilo

¹²⁰ Asakawa, Y.; Dawson, G. W.; Griffiths, D. C.; Lallemand, J. Y.; Ley, S. V.; Mori, K.; Mudd, A.; Pezechk-Leclaire, M.; Pickett, J. A.; Watanabe, H.; Woodcock, C. M.; Zhong-Ning, Z. *J. Chem. Ecol.* **1988**, *14*, 1845.

¹²¹ Marston, A.; Hostettmann, K. *Phytochemistry* **1985**, *24*, 639.

¹²² Fukuyama, Y.; Sato, T.; Asakawa, Y.; Takemoto, T. *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2895.

¹²³ Matsuda, H.; Pongpiriyadacha, Y.; Morikawa, T.; Kashima, Y.; Nakano, K.; Yoshikawa, M. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2002**, *12*, 477-482.

¹²⁴ (a) Kubo, I.; Miura, I.; Pettei, M. J.; Nakanishi, K. *Tetrahedron Lett.* **1977**, *52*, 4553. (b) Jalali-Naini, M.; Guillelm, D.; Lallemand, J. Y. *Tetrahedron* **1983**, *39*, 749. (c) Jalali-Naini, M.; Boussac, C.G.; Lemaitre, P.; Larcheveque, M.; Guillelm, D.; Lallemand, J. Y. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 2995.

La conformación silla-silla de la cadena poliénica durante la ciclación puede existir en dos formas enantiómeras a partir de las cuales se originan los distintos esqueletos drimánicos entantioméricos.

El grupo hidroxilo en posición 3 β , que poseen algunos drimanos, probablemente se origina a partir del ataque del protón sobre un epóxido posicionado entre C-10 y C-11 de la cadena de FPP, aunque también puede provenir de una hidroxilación catalizada después de la ciclación.¹²⁵

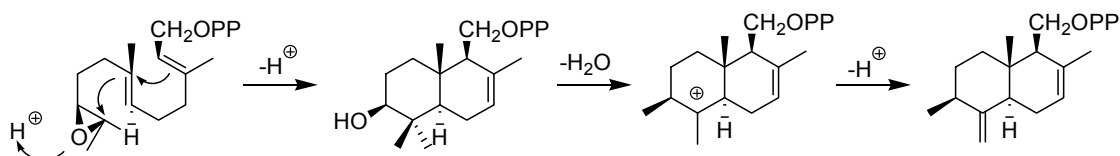


Figura 1.56. *Biogénesis de 3 β -drimanos y otros drimanos reordenados*

Es razonable asumir que un carbocatión se desarrolle bajo la protonación del grupo hidroxilo seguido por una deshidratación y un desplazamiento de metilo 1,2, explicando, de este modo, la biogénesis de drimanos reordenados.

1.4.1.2 Síntesis de drimanos

Debido al interés de los sesquiterpenos drimanos biológicamente activos en los últimos 30 años han aparecido numerosas síntesis, ya sean síntesis totales a través de diferentes metodologías, como ciclaciones de poliolefinas, reacciones sobre *trans*-decalonas, cicloadiciones de Diels-Alder, anelaciones de Robinson o cicloadiciones 2+2 para generar la unión interanular *trans* de la decalina o mediante síntesis parciales por transformación de otros productos naturales.¹²⁶

1.4.1.2.A Síntesis de drimanos a través de ciclaciones de poliolefinas.

Esta estrategia sintética, basada en la biogénesis de estos esqueletos, mediante ciclación de polienos acíclicos o epóxidos de polienos, supone una ruta elegante para obtener sesquiterpenos del tipo biciclofarnesol. Algunos materiales de partida se muestran en la Fig. 1.57.

¹²⁵ (a) Fleck, W. F. ; Schlegel, B.; Hoffmann, P.; Ritzau, M. ; Heinze, S.; Graefe, U. *J. Nat. Prod.*, **1996**, *59*, 780.

(b) Hirotsani, M. ; Ino, C.; Furuya T. *Phytochemistry*, **1993**, *32*, 891.

¹²⁶ Jansen, B. J. M.; De Groot, A. *Nat. Prod. Rep.* **1991**, *8*, 319.

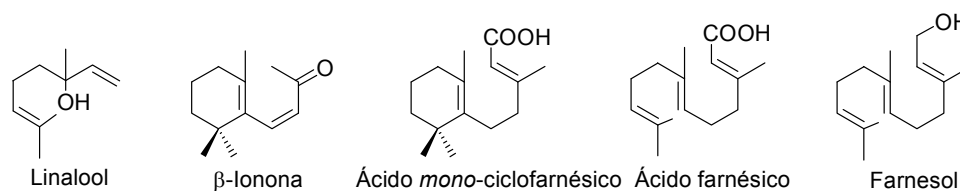
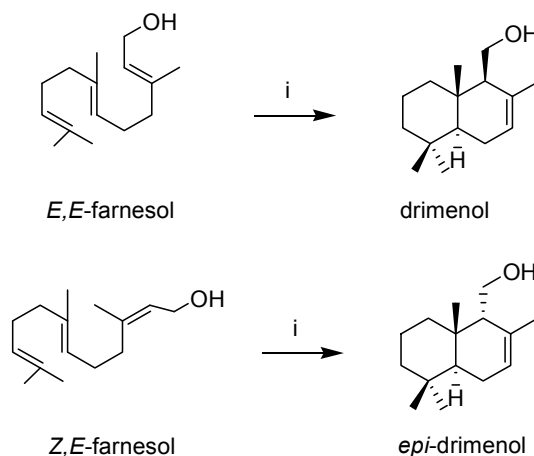


Figura 1.57. Estructura de algunos productos de partida para la síntesis de drimanos mediante ciclaciones

Así, las ciclaciones a baja temperatura de terpenos y sus acetatos con ácido fluorosulfónico representan un proceso selectivo estructural y estereoespecífico. La configuración del C-9 en los productos ciclados está determinada por la configuración del doble enlace alílico. Así, las ciclaciones de (*E,E*)-farnesol y (*Z,E*)-farnesol condujeron a drimenol y 9-*epi*drimenol, respectivamente.¹²⁷



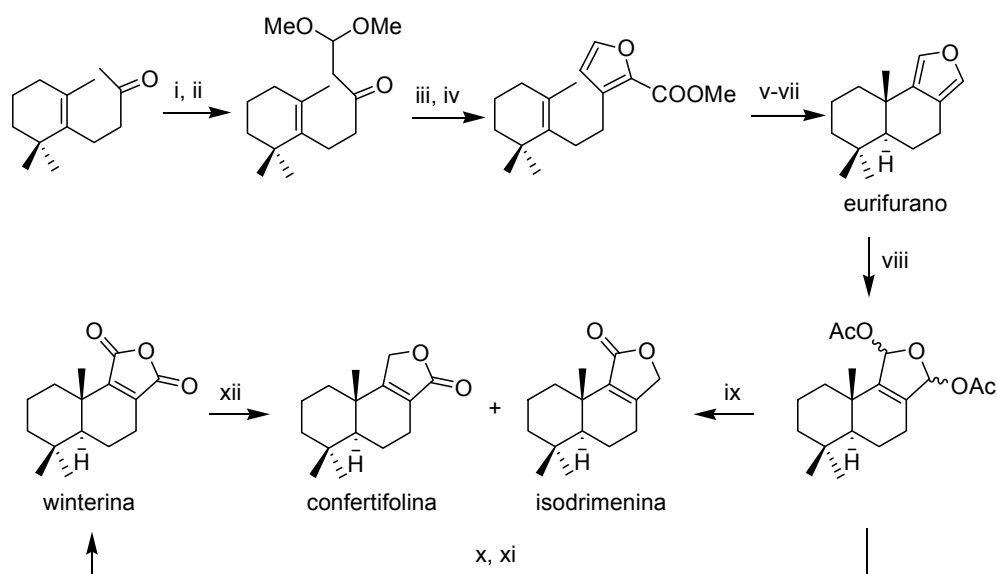
(i) FSO₃H, 1-nitropropano, -80°C

Figura 1.58. Síntesis de drimenol por ciclación catiónica.

La relevancia de esta estrategia sintética se plasma en la síntesis a gran escala de (\pm)-confertifolina y (\pm)-isodrimenina, eficientes antifeedants, obtenidos a partir de la ciclación de dihidro- β -ionona (Fig. 1.59).¹²⁸ La ciclación conduce al ester furánico y la posterior saponificación y descarboxilación permiten obtener (\pm)-eurifurano. Transformaciones en el anillo furánico permiten obtener los drimanos (\pm)-confertifolina, (\pm)-isodrimenina y (\pm)-winterina.

¹²⁷ (a) Polovinka, M. P. ; Korchagina, D. V. ; Gatilov, Y. V. ; Bagrianskaya, I. Y. ; Barkash, V. A. ; Shcherbukhin, V. V. ; Zefirov, N. S. ; Perutskii, V. B. ; Ungur, N. D. ; Vlad, P. F. *J. Org. Chem.*, **1994**, *59*, 1509. (b) Vlad, P. F. ; Ungur, N. D. ; Van Hung, N. ; Perutsky, V. B. *Russ. Chem. Bull.*, **1995**, *44*, 2390. (c) Tanimoto, H. ; Kiyota, H. ; Oritani, T. ; Matsumoto, K. *Synlett*, **1997**, 121.

¹²⁸ Akita, H. ; Naito, T. ; Oishi, T. *Chem Lett.*, **1979**, 1365.



(i) NaOCH₃, HCOOEt; (ii) MeOH, py, HBr; (iii) ClCH₂COOMe; (iv) *p*-TsOH; (v) SnCl₄, CH₂Cl₂; (vi) Cu, quinolina, Δ; (viii) Pb(OAc)₄; (ix) Δ, 170°C; (x) KOH, H₂O; (xi) CrO₃; (xii) NaBH₄

Figura 1.59. Síntesis de confertifolina e isodrimenina mediante ciclación de dihidro-β-ionona

1.4.1.2.B Síntesis de drimanos a partir de *trans*-decalonas

En esta ocasión la estrategia sintética parte principalmente de trimetildecalonas y análogos y se basa en una reacción de formilación, para introducir el átomo de C-12 necesario y después se da la sustitución nucleofílica sobre la cetona de C-9 con el reactivo apropiado, completándose así el esqueleto de drimano.

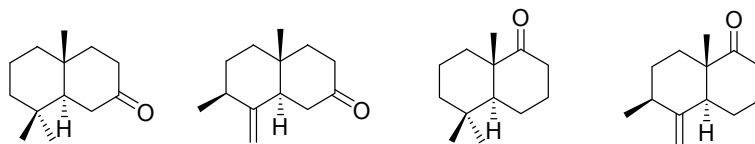
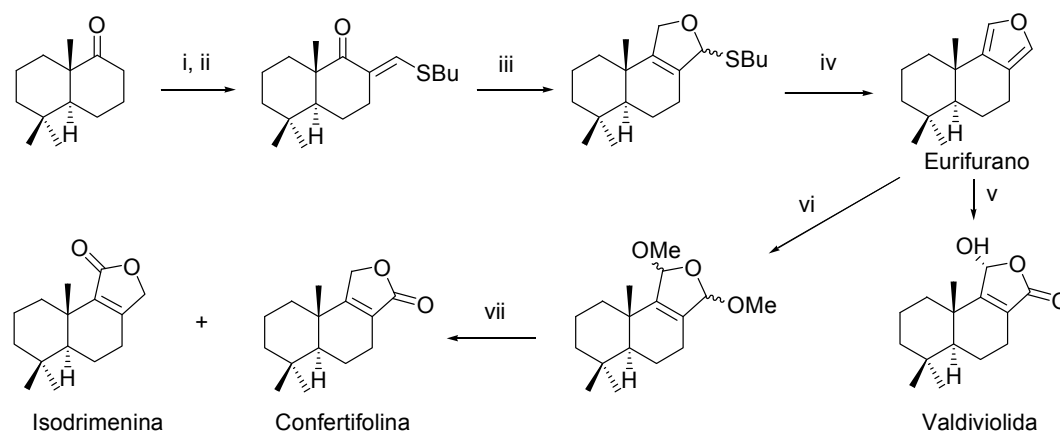


Figura 1.60. Estructuras de distintas *trans*-decalonas

Spencer y colaboradores¹²⁹ han sintetizado eurifurano a partir de la trimetildecalona mencionada. Dicha decalona se transforma, vía reagrupamiento del epóxido intermedio, en eurifurano. La fotooxigenación de este producto conduce a valdiviolida y a su isómero no natural 11β-hidroxi. La oxidación de eurifurano con bromo en metanol seguida de hidrólisis da lugar a confertifolina y a su regioisómero, isodrimenina.

¹²⁹ Garst, M. E.; Spencer, T. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, *95*, 250; Ley, S. V.; Mahon, M. J. *Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1983**, 1379; Ley, S. V.; Mahon, M. *Tetrahedron Lett.* **1981**, *22*, 4747.



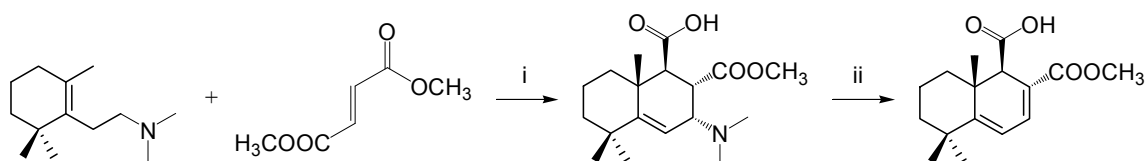
(i) HCOOEt, NaH; (ii) *n*-BuSH, *p*-TsOH; (iii) (H₃C)₂S=CH₂; (iv) HgSO₄; (v) O₂, hν, eosina; (vi) Br₂, MeOH; (vii) H₂O, H⁺.

Figura 1.61. Síntesis de eurifurano y varios derivados a partir de una trimetildecadona

1.4.1.2.C Síntesis de drimanos por cicloadiciones

El uso de cicloadiciones inter- e intramoleculares 4+2, 2+2, así como reacciones de Diels-Alder, o la alternativa a ésta última, reacción de Michael, permiten construir apropiadas decalinas funcionalizadas de forma concisa y por tanto se consideran una buena aproximación para la obtención de drimanos.

El uso de de dienaminas conjugadas en 4+2 cicloadiciones ha sido investigado, pero debido al obstáculo estérico de las dienaminas, la reactividad fue baja aunque se observó alta estereoselectividad. La dienamina (Fig. 1.62) fue calentada en presencia de dimetilfumarato para proporcionar un aducto *endo* en 88%, mientras el aducto *exo* no fue detectado en el crudo de la reacción. La dimetilamina se eliminó y se obtuvo un precursor útil para distintos drimanos.¹³⁰

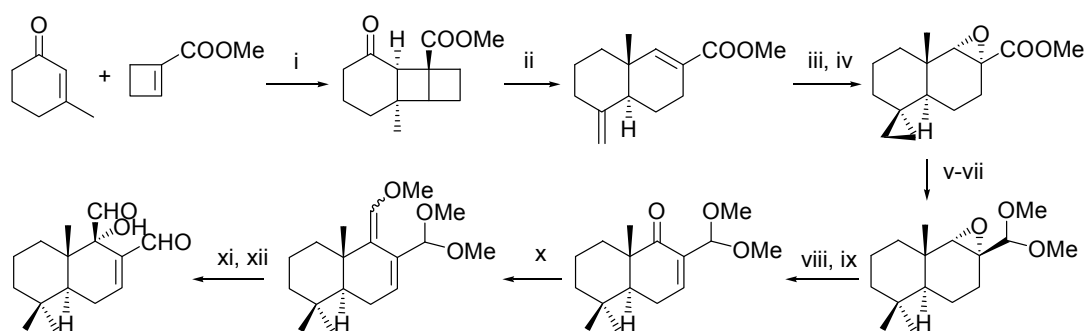


(i) tolueno, 150°C, 48h; (ii) silica gel, ciclohexano, 80°C.

Figura 1.62. Síntesis drimanos mediante cicloadición 4+2.

¹³⁰ Hollinshead, D. M. ; Howell, S. C. ; Ley, S. V. ; Mahon, M.; Ratcliffe , N. M. ; Worthington, P. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.1*, **1983**, 1579.

Por otro lado, Wender y colaboradores¹³¹ obtuvieron la decalina con la unión interanular *trans* mediante fotocicloación, que conduce a un aducto, convertido en el éster insaturado correspondiente vía reacción de Wittig. Los grupos *gem*-dimetilo son introducidos mediante una secuencia de ciclopropanación-hidrogenolisis. La epoxidación del doble enlace C-8/C-9, la conversión de la función éster en un aldehído protegido y la apertura del epóxido anterior, conducen a un cetona acetal, que se transforma en un enol éter por tratamiento con exceso de [(difenilfosfino)-metoximetil]litio. Finalmente, por osmilación e hidrólisis de este producto se obtiene warburganal.



- (i) hv; (ii) Ph_3PCH_2 ; (iii) CH_2I_2 , Zn, Cu; (iv) 3,5-(NO_2) $_2\text{C}_6\text{H}_3\text{CO}_3\text{H}$; (v) H_2 , PtO_2 , AcOH; (vi) DIBALH; (vii) $\text{HC}(\text{OMe})_3$, H^+ ; (viii) MICA; (ix) PDC; (x) $\text{Ph}_2\text{PCHLiOMe}$; (xi) OsO_4 ; (xii) H_2O , H^+ .

Figura 1.63. Síntesis warburganal mediante fotocicloación 2 + 2

Para el caso de las cicloadiciones de Diels-Alder, en la Fig. 1.64 se muestran las estructuras de varios 1-vinil-2,6,6-trimetilciclohex-1-enos, productos de partida que se emplean para este tipo de reacciones.

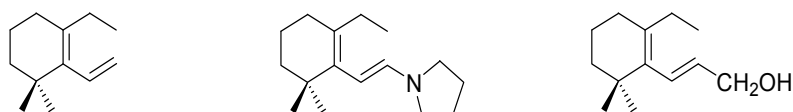


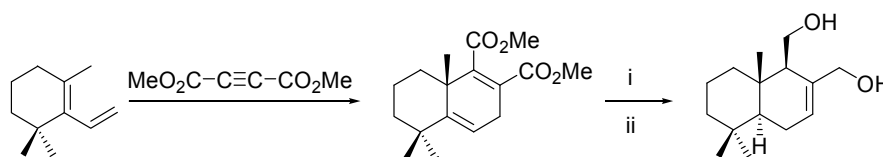
Figura 1.64 Estructura de algunos productos de partida para las cicloadiciones de Diels-Alder

Ley y colaboradores¹³² han descrito la síntesis de varios drimanos (cinnamólida, poligodial, isodrimeninol, drimenina y warburganal) empleando la reacción de Diels-Alder de un dieno adecuado con acetilendicarboxilato de dimetilo. El producto resultante es hidrogenado en condiciones de isomerización y por reducción posterior se genera un diol drimánico, que sirve de

¹³¹ Wender, P. A.; Eck, S. L. *Tetrahedron Lett.* **1982**, 23, 1871.

¹³² Hollinshead, D. M.; Howell, S. C.; Ley, S. V.; Mahon, M.; Ratcliffe, N. M.; Worthington, P. A. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1983**, 1579.

producto de partida para la síntesis de otros drimanos como poligodial, isodrimeninol, warburganal, ...



(i) 10% H₂-Pd-C, MeOH, HCl; (ii) LiAlH₄

Figura 1.65. Obtención del diol drimánico por ciclación Diels-Alder de acetilendicarboxilato de dimetilo

1.4.1.2.D Síntesis de drimanos a partir de productos naturales

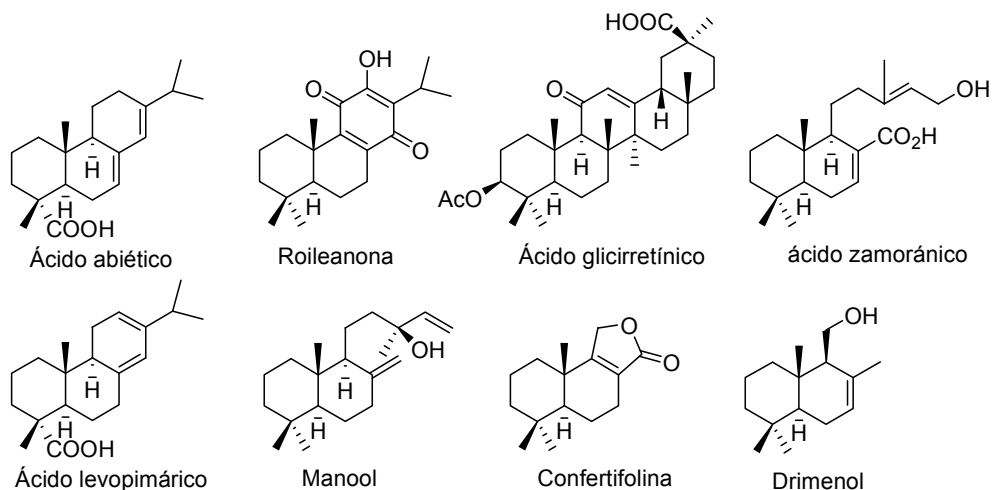


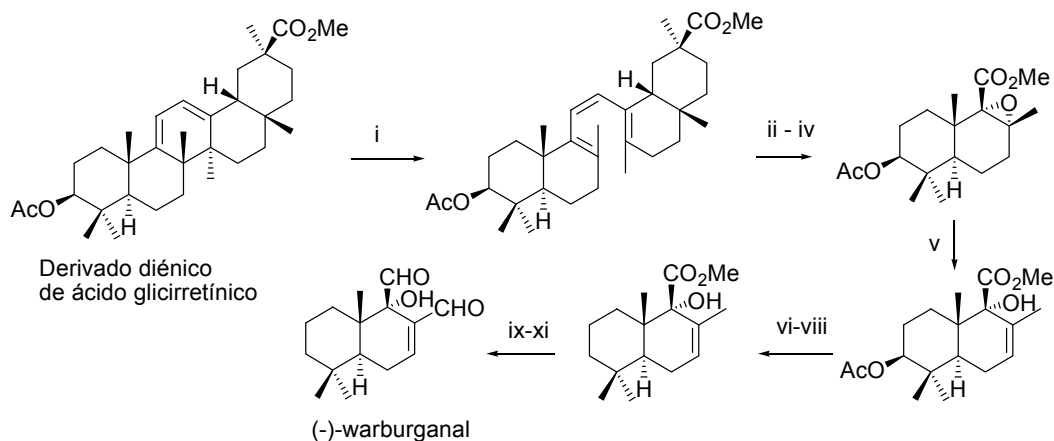
Figura 1.66. Algunos productos naturales de partida para la obtención de drimanos

Se han preparado drimanos ópticamente activos a partir de muchos productos naturales, como ácido abiético, roileanona, esclareol, ácido labdanólico, ácido zamoránico, ácido glicirretínico, ácido levopimárico, manool, confertifolina y drimenol, algunas estructuras se muestran en la Fig. 1.66. En casi todas estas síntesis, los átomos de carbono innecesarios son eliminados adecuadamente de la molécula por oxidación en alguna etapa de la síntesis.

La secuencia de reacciones más interesante por su similitud con el trabajo expuesto en esta Memoria es la obtención de (-)-warburganal a partir de un derivado de ácido glicirretínico (Fig. 1.67). La fotoisomerización entre dienos cíclicos y trienos acíclicos se aprecia en esta ruta sintética, ya que la irradiación del dieno de glicirretinoato de metilo conduce al trieno por fotólisis.¹³³ La epoxidación de las olefinas tetrasustituidas con ácido *m*-cloroperbenzoico obtuvo

¹³³ Manna, S.; Yadagiri, P.; Falck, J. R. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1987**, 1324.

el diepóxido, cuya ozonólisis y esterificación posterior proporcionó un ester sesquiterpénico. Este fragmento se trata en medio ácido para dar el alcohol alílico. A continuación, se lleva a cabo la desacetilación en C-3, para proceder posteriormente a la desoxigenación por el método de Barton. La oxidación alílica en el metilo de C-8 con dióxido de selenio, reducción del éster y oxidación de Swern de los alcoholes primarios dan lugar, finalmente, a (-)-warburganal.



(i) $h\nu$, EtOH; (ii) $m\text{-ClC}_6\text{H}_4\text{CO}_3\text{H}$, Na_2CO_3 , CH_2Cl_2 ; (iii) O_3 , EtOAc, -5°C , 4 h, Me_2S ; (iv) CH_2N_2 , Et_2O ; (v) $\text{HI}/\text{Et}_2\text{O}$ (1:16), 25°C , 2h, 47%; (vi) NaOMe , MeOH , 25°C , 8 h; (vii) PhOC(S)Cl , piridina, CH_2Cl_2 ; (viii) Bu_3SnH , $(\text{ButO})_2$, 110°C , 4h; (ix) SeO_2 , dioxano, 100°C , 4 h; (x) LiAlH_4 , THF, 24°C , 24 h; (xi) Me_2SO , $(\text{ClCO})_2$, Et_3N , CH_2Cl_2 , -60 a 25°C , 2 h.

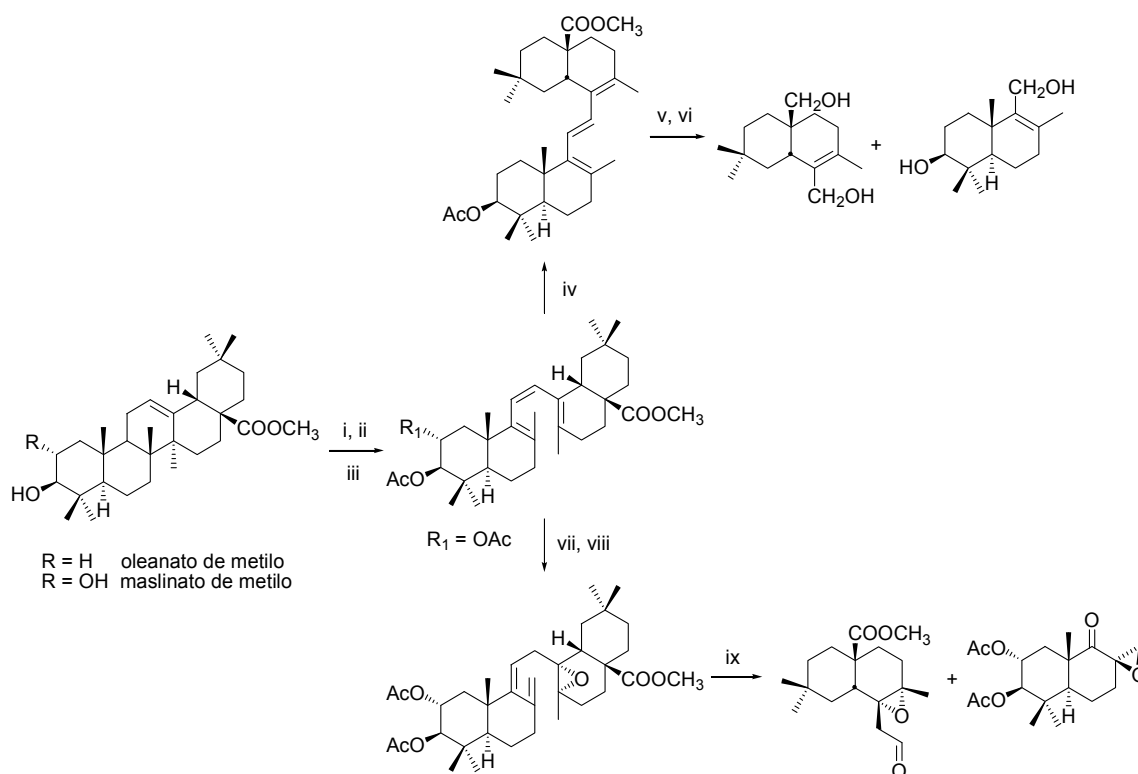
Figura 1.67. Síntesis de (-)-warburganal a partir de un derivado de ácido glicirretínico

En nuestro Grupo de Investigación se ha desarrollado recientemente la obtención de esqueletos drimánicos empleando una secuencia de reacciones muy similar a la descrita anteriormente. A través de *seco*-C-triterpenos pentacíclicos derivados del oleanoato y maslinato de metilo se obtienen diferentes sesquiterpenos y *nor*-sesquiterpenos mediante distintos métodos oxidativos.¹³⁴

El oleanoato y maslinato de metilo se tratan con NBS, obteniéndose un sistema diénico, que isomeriza fotoquímicamente a un sistema triénico conjugado con el anillo C abierto. Por un lado, el derivado del oleanoato de metilo, que previamente ha sido acetilado, se isomerizó químicamente para obtener el trieno *trans*, que finalmente dió la rotura del doble enlace central con RuCl_3 , formándose dos sesquiterpenos, uno de ellos drimánico. Por otro lado, el derivado triénico del maslinato de metilo se isomerizó fotoquímicamente de nuevo para obtener un nuevo sistema triénico con un doble enlace exocíclico. Se protegió el doble enlace no conjugado en

¹³⁴ García-Granados, A.; López, P. E.; Melguizo, E.; Parra, A.; Simeó, Y. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 6673.

forma de epóxido y la posterior ozonolisis condujo a dos fragmentos, uno de ellos con esqueleto de *nor*-drimano.¹³⁵



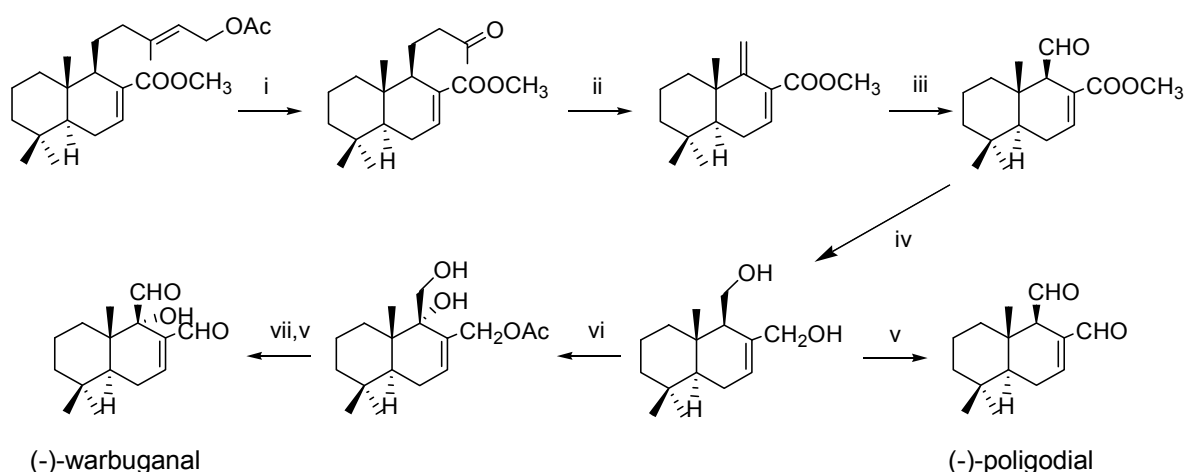
(i) NBS, CCl₄; (ii) hν, EtOH; (iii) Ac₂O, Py; (iv) I₂, hexano, reflujo; (v) NaIO₄/RuCl₃, acetona/H₂O; (vi) LiAlH₄/THF, reflujo, 1h; (vii) hν, EtOH; (viii) MCPBA, CH₂Cl₂, -40°C; (ix) O₃, CH₂Cl₂, Me₂S, -80°C

Figura 1.68. Síntesis de esqueletos drimánicos y *nor*-drimánicos a partir de oleanato y maslinato de metilo

Han sido descritas otros tipos de síntesis de drimanos a partir de otros productos naturales. Una de ellas es la semisíntesis de poligodial y warburganal a partir de ácido zamoránico.¹³⁶ La primera modificación es la degradación de la cadena lateral mediante una epoxidación seguida de tratamiento con H₅IO₆ para dar la metilcetona correspondiente. Este último producto genera un dieno por la acción de una lámpara de mercurio de alta presión, que con AMCPB origina una mezcla de epóxidos en distinta proporción cuya apertura diastereoselectiva con trifluoruro de boro da lugar a los aldehídos. La reducción con AlLiH₄ del compuesto aldehídico en disposición β y posterior oxidación de Swern conducen a poligodial.

¹³⁵ García-Granados, A.; López, P. E.; Melguizo, E.; Parra, A.; Simeó, Y. *Tetrahedron* **2004**, *60*, 3831.

¹³⁶ (a) Urones, J. G.; Marcos, I. S.; Gómez-Pérez, B.; Lithgow, A. M.; Díez, D.; Basabe, P.; Gómez, P. M. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 3781; (b) Urones, J. G.; Marcos, I. S.; Gómez-Pérez, B.; Díez, D.; Lithgow, A. M.; Gómez, P. M.; Basabe, P.; Garrido, N. M. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 10995.



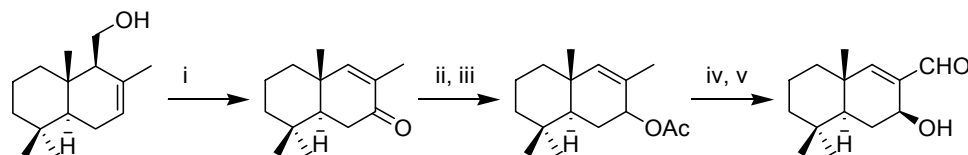
(i) AMCPB, H_5IO_6 ; (ii) Hu ; (iii) AMCPB, $BF_3 \cdot Et_2O$; (iv) $LiAlH_4$; (v) oxidación de Swern; (vi) Ac_2O , py , SeO_2 (vii) K_2CO_3 , $MeOH$

Figura 1.69. Síntesis de poligodial y warbuganal a partir del ácido zamoránico

También se puede llegar a un diol adecuado para la formación de warbuganal (Fig. 1.69), generándose un triol en principio, que por oxidación con reactivo de Swern origina warbuganal.

El sesquiterpeno (-)-drimenol ha sido usado extensamente para la síntesis de otros drimanos, siendo necesario para ello la introducción de grupos funcionales adicionales.

Así, isopoligonal y su epímero 7α , poligonal, sesquiterpenos *nor*-drimánicos, fueron sintetizados por Cortes et al. a partir del drimenol.¹³⁷ La oxidación del drimenol con CrO_3 condujo a una mezcla de productos de la que se aisló la enona (Fig 1.70). La reducción del grupo carbonílico permitió obtener los isómeros 7β - y 7α -hidroxilados. Entonces, el 7β -hidroxilado se protegió en forma de acetato y la oxidación alílica posterior con SeO_2 seguida de de la saponificación del acetato proporcionó (+)-isopoligonal. La misma secuencia se llevó a cabo sobre el isómero 7α -hidroxilo que condujo a (+)-poligonal.

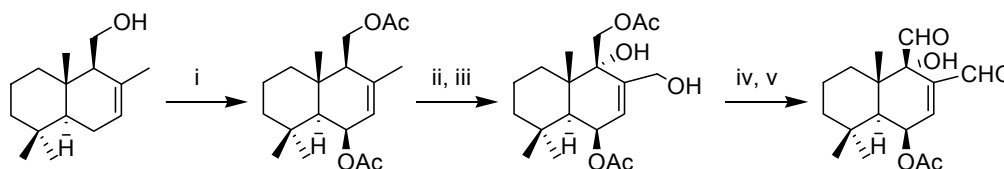


(i) CrO_3 ; (ii) $LiAlH_4$; (iii) Ac_2O , piridina; (iv) SeO_2 (cat.), $(p-MeOC_6H_4)_2SeO$; (v) K_2CO_3 .

Figura 1.70. Síntesis de isopoligonal.

¹³⁷ Cortes, M.; Lopez, J.; Diaz, E. *Nat. Prod. Lett.* **1993**, *21*, 37.

Estos mismos autores sintetizaron (-)-ugandensidial a partir de drimenol.¹³⁸ La oxidación alílica del drimenol permitió obtener un diol¹³⁹ que se acetiló hasta el diacetato. La oxidación alílica del grupo metilo seguida de la saponificación del acetato primario y siguiente oxidación de Swern condujo a (-)-ugandensidial, también conocido como cinnamodial.



(i) ref¹⁴⁰; (ii) Ac₂O, piridina, DMAP; (ii) SeO₂ (cat.), (p-MeOC₆H₄)₂SeO; (iii) K₂CO₃, MeOH;
(iv) oxidación Swern

Figura 1.71. Síntesis de (-)-ugandensidial.

1.4.2 AMBROX[®]

Un compuesto de gran interés y relevancia por sus propiedades olfativas y fijadoras únicas es el homosesquiterpenoide ambrox[®], que al igual que otros muchos terpenos comentados con anterioridad posee el sistema bicíclico *trans*-decalínico, y que es el sustituto comercial más importante del ámbar gris, un metabolito de secreción de ballena cuya utilización está prohibida debido a la protección de esta especie.¹⁴¹ La primera síntesis de este compuesto data de 1950 por Stoll y Hinder. Fue muchos años después cuando fue descubierto en cantidades muy reducidas, en el ámbar gris, los aceites esenciales de *Cupressus sempervivens* L., *Salvia sclarea* y *Cistus labdaniferus*, así como en el absoluto de *Nicotiana tabacum*. Debido a esto, las síntesis descritas son numerosas, ya sea de su racémico o de la forma más buscada, la ópticamente activa, ya que las propiedades fijadoras y olfativas del otro isómero son considerablemente menos interesantes. La mayor parte de estas síntesis emplean productos naturales como (-)-drimenol, ácido (-)-labdanólico, ácido (-)-abiético y sobre todo (-)-esclareol,¹⁴² como punto de partida.

¹³⁸ Cortes, M.; Razmilic, I.; Lopez, J. *J. Nat. Prod.*, **1990**, 53, 1369.

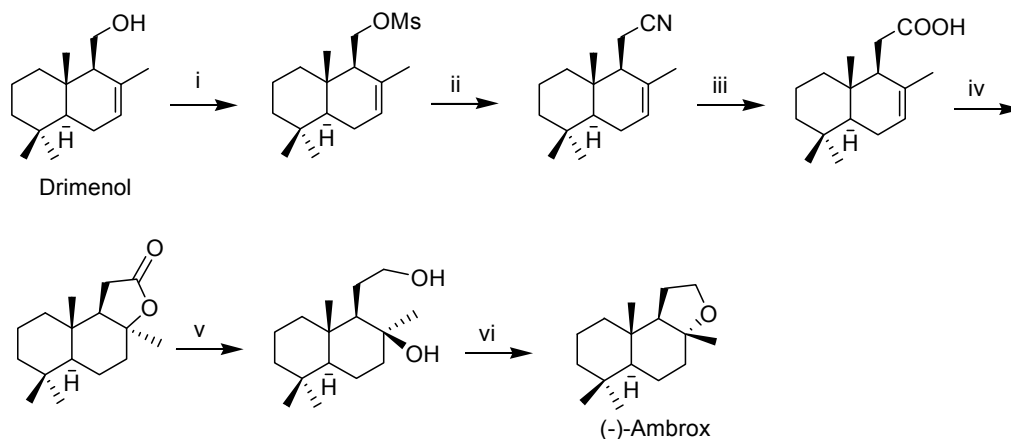
¹³⁹ Lopez, J.; Siera, J.; Cortes, M. *Chem. Lett.*, **1986**, 2073.

¹⁴⁰ (a) Nikonov, G. K.; Dembitskii, A. D.; Krotova, G. I.; Zamkova, V. V. *Izv. Akad. Nauk. Kaz. SSR, Ser. Khim.*, **1991**, 6, 63; (b) Nabiev, A. A.; Khasanov, T. K.; Malikov, V. M. *Chem. Nat. Compd. (Engl. Transl.)*, **1982**, 18, 547; (c) Al-Hazimi, H. M. G. *Phytochemistry*, **1986**, 25, 2417; (d) Appendino, G.; Ozen, H. C.; Tagliapietra, S.; Cisero, M. *Phytochemistry*, **1992**, 31, 3211; (e) Appendino, G.; Ozen, H.; Jakupovic, J. *Fitoterapia*, **1993**, 64, 505; (f) Appendino, G.; Jakupovic, J.; Alloatti, S.; Ballero, M. *Phytochemistry*, **1997**, 45, 1639; (g) Zhou, P.; Takaishi, Y.; Duan, H.; Chen, B.; Honda, G.; Itoh, M.; Takeda, Y.; Kodzhimatov, O. K.; Lee, K.-H. *Phytochemistry*, **2000**, 53, 689

¹⁴¹ Ohloff, G. *The Fragrance of Ambergris, Fragrance Chemistry*; Theimer, E. T. Ed.; Academic Press: New York, 1982; 535.

¹⁴² (a) Decorzant, R.; Vial, C.; Näf, F. *Tetrahedron* **1987**, 43, 1871-1879. (b) Coste-Manière, I. C.; Zahra, J. P.; Waegell, B. *Tetrahedron Lett.* **1988**, 29, 1017. (c) Martres, P.; Perfetti, P.; Zahra, J.P.; Waegell, B.; Giraudi, E.

El único sesquiterpeno del que se ha sintetizado el ambrox[®] es el drimenol, a través de la modificación de su cadena lateral. El derivado mesilado se transforma en el nitrilo correspondiente, cuya posterior hidrólisis y lactonización mediante el método de Huang-Minlon conduce a *epi-12-nor-ambrenolida*. La reducción y posterior ciclación permitió obtener (-)-ambrox[®] con un rendimiento total del 25%.



- (i) MsCl, py, t.a., 40 h; (ii) NaCN, adogen 464, tolueno, 100°C; (iii) KOH, OHCH₂CH₂OH, reflujo, 24h; (iv) APTS, CH₂Cl₂, reflujo, 1h; (v) LiAlH₄, THF, t.a., 3h; (vi) APTS, MeNO₂, t.a., 3h.

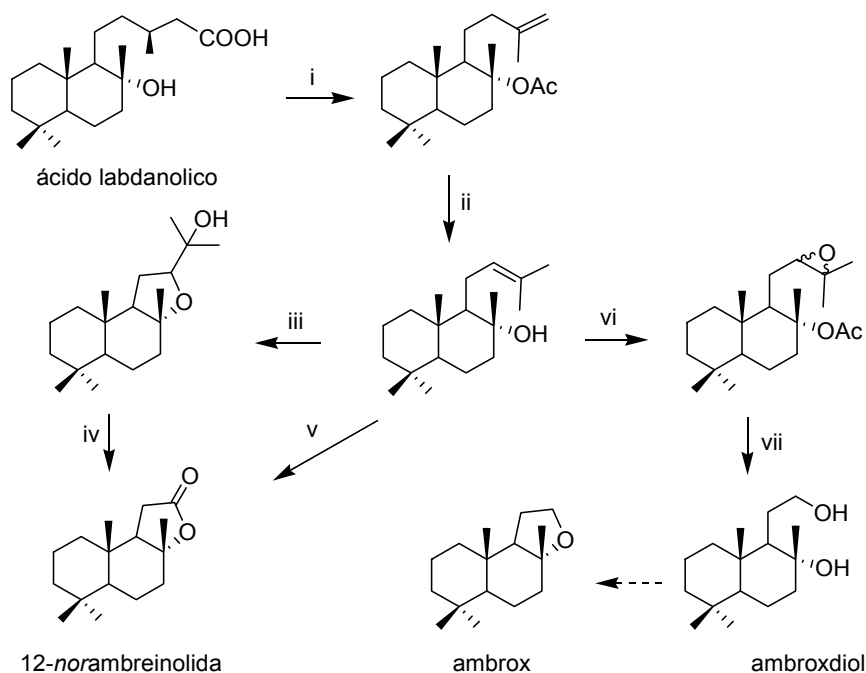
Figura 1.72. Síntesis de (-)-ambrox[®] de Cortés a partir de drimenol

Otro ejemplo de síntesis de ambrox[®] a partir de productos naturales fue desarrollado por Urones y colaboradores, partiendo del ácido labdanólico sintetizaron distintos compuestos de ambreris, como 12-*norambrenolida* y otros precursores de ambrox[®].¹⁴³

Para ello, el ácido labdanólico se acetila y descarboxila con Pb(OAc)₄. El doble enlace formado se isomeriza y la epoxidación posterior conduce a un derivado tetrahidrofurano que por oxidación con Na₂CrO₄ da lugar a 12-*norambrenolida*. A este compuesto se puede llegar también por ozonólisis y oxidación del alqueno intermedio. Por otra parte, el ambroxdiol se obtiene acetilando y epoxidando con AMCPB el intermedio con doble enlace disustituido. El tratamiento de la mezcla de epóxidos obtenidos con ácido periódico y posterior reducción del aldehído conduce al diol, ambroxdiol, que puede ser transformado en ambrox[®].

Petrzilka, M. *Tetrahedron Lett.* **1993**, 34, 629.

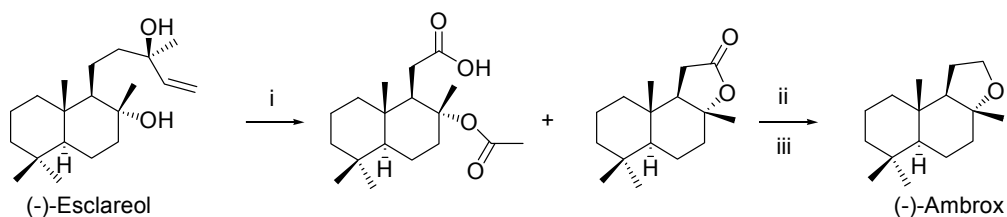
¹⁴³ Urones, J.G.; Basabe, P. Marcos, I.S.; Gonzalez, J. L.; Jiménez, V.; Sexmero, M.J.; Lithgow, A.M. *Tetrahedron*, **1992**, 48, 9991.



(i) a. $\text{Ac}_2\text{O}/\text{py}/\text{DAMP}$, 70%; b. $\text{LTA}/\text{Cu}(\text{OAc})_2$, 60%; (ii) $\text{Li}/\text{etilendiamina}$, 97%; (iii) AMCPB , 68%; (iv) Na_2CrO_4 , 94%; (v) a. O_3 , 96%; b. reactivo Jones, 70%; (vi) a. $\text{MeCOCl}/\text{N,N-dimetilalanina}$, 87%; $\text{Ac}_2\text{O}/\text{py}/\text{DAMP}$, 91%; (vii) a. HIO_4 , 98%; b. LiAlH_4 , 94%

Figura 1.73. Síntesis de compuestos de ambergris a partir de ácido labdanólico

Otra síntesis fue desarrollada por Martres y colaboradores,^{142c} partiendo de (-)-esclareol por oxidación con tricloruro de rutenio y NaIO_4 o $\text{Ca}(\text{OCl})_2$, reduciendo después con AlLiH_4 y ciclando, finalmente, con hidruro sódico y cloruro de tosilo.

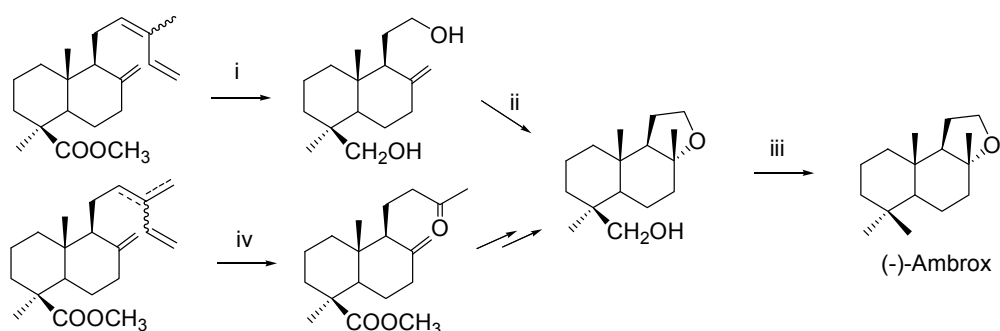


(i) RuCl_3 , CCl_4 , CH_3CN , H_2O , 40 °C; (ii) LiAlH_4 , Et_2O , t.a.; (iii) NaH , TsCl , CH_2Cl_2 , t.a.

Figura 1.74. Síntesis de (-)-ambrox a partir de (-)-esclareol

Otra síntesis de ambrox[®] se ha completado partiendo de ácidos comúnicos.¹⁴⁴

¹⁴⁴ Barrero, A. F.; Altarejos, J.; Álvarez-Manzaneda, E. J.; Ramos, J. M.; Salido, S. *Tetrahedron* **1993**, 49, 6251; Barrero, A. F.; Altarejos, J.; Álvarez-Manzaneda, E. J.; Ramos, J. M.; Salido, S. *Tetrahedron* **1993**, 49, 9525.



(i) O₃, CH₂Cl₂, -78°C, LiAlH₄, THF, t.a.; (ii) *p*-TSOH, CH₃NO₂, t.a.; (iii) a. R. Jones, acetona; b. N₂H₄, KOH, trietilelenglicol, reflujo, 1h; (iv) a. N₂H₄, EtOH, H₂O₂; b. NaIO₄, 0.2% OsO₄, *t*-BuOH, H₂O.

Figura 1.75. Síntesis de ambrox[®] a partir de ácido comúnicos

Akita y colaboradores,¹⁴⁵ han abordado también la síntesis de ambrox[®], empleando como material de partida una mezcla de alcoholes decalínicos. Su estrategia se basa en una desacilación enzimática selectiva que permite separar los productos de una mezcla anterior. El producto acetilado es transformado a continuación en varios pasos, dando origen a diol con la configuración adecuada para ciclar a ambrox[®].

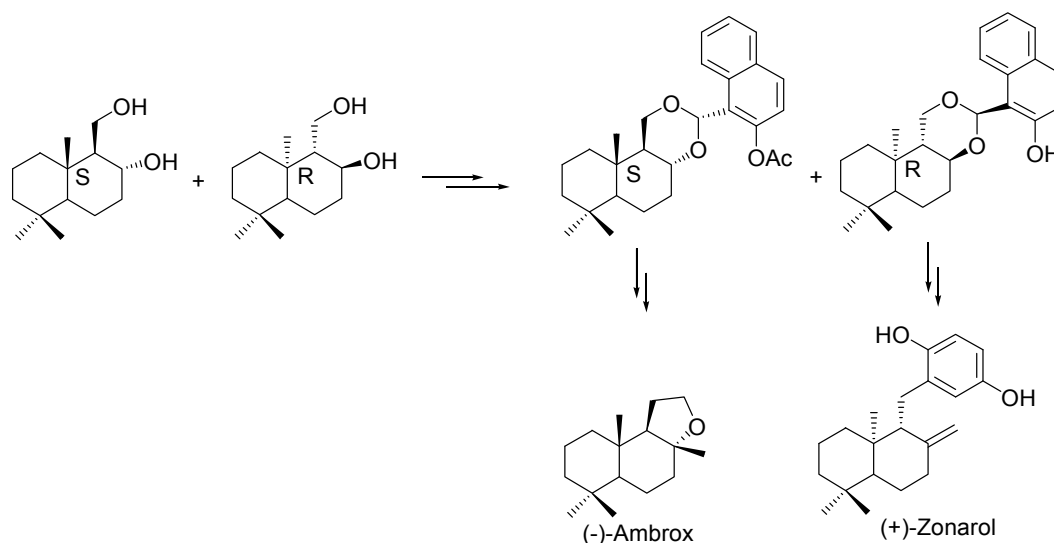


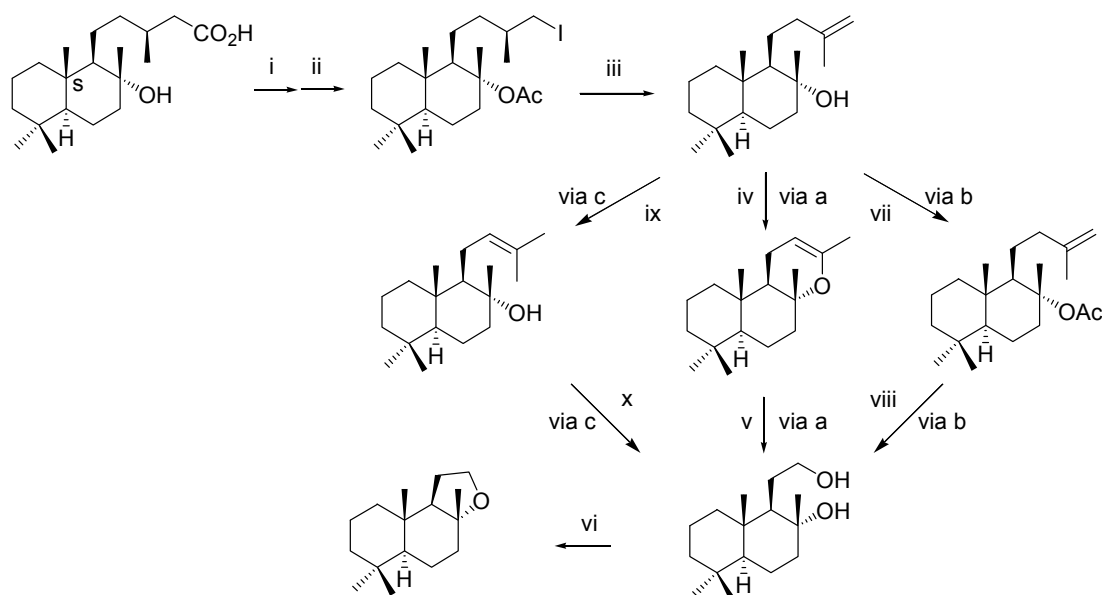
Figura 1.76. Síntesis de ambrox a partir de una mezcla de alcoholes decalínicos

El elevado precio del ambrox[®] ha potenciado la búsqueda de nuevas síntesis a partir de labdanos baratos y abundantes. En este sentido, el ácido labdanólico resulta de interés por su gran disponibilidad en la naturaleza y a que puede ser convertido en sintones apropiados para la síntesis de ambrox[®] tras la degradación oxidativa de la cadena lateral de C-9. Esta rotura ha sido

¹⁴⁵ Akita, H.; Nozawa, M.; Shimizu, H. *Tetrahedron: Asymmetry* **1998**, *9*, 1789.

descrita por De Groot y colaboradores,¹⁴⁶ y el paso clave de la secuencia de reacciones, es la yodod Descarboxilación del producto de partida.

En la Fig. 1.77 vemos como la formación del derivado yodado lleva a un producto inestable, que es tratado inmediatamente con *ter*-butóxido potásico, con objeto de que se produzca la deshidrohalogenación y la hidrólisis del grupo acetato. Por ozonolisis posterior se llega a una metil cetona, que cicla a un enol éter (que es inestable, lo que provoca la irreproducibilidad del método), que es ozonizado para generar un compuesto con un grupo aldehído y un grupo acetato. La reducción con AlLiH_4 y posterior ciclación con nitrometano en presencia de ácido *p*-toluensulfónico conduce a la formación de ambrox[®] con un rendimiento global del 13% (vía a, Fig.1.77).



- (i) AcCl , *N,N*-dimetilalanina; (ii) IBDA, I_2 , CCl_4 , $\text{h}\nu$, Δ ; (iii) *t*-BuOK, THF, 74%; (iv) O_3 , MeOH, CH_2Cl_2 , PPh_3 ; (v) a. O_3 , CH_2Cl_2 , py, -78°C ; b. LiAlH_4 , THF; (vi) *p*-TsOH, CH_3NO_2 ; (vii) AcCl , *N,N*-dimetilalanina; (viii) a. O_3 , MeOH, CH_2Cl_2 , -78°C ; b. Ac_2O , NEt_3 , DMAP; c. AcCl , *N,N*-dimetilalanina; (ix) Δ , 78°C ; (x) a. O_3 , CH_2Cl_2 , MeOH, -78°C ; b. NaBH_4 .

Figura 1.77. Síntesis de ambrox[®] a partir del ácido labdanólico

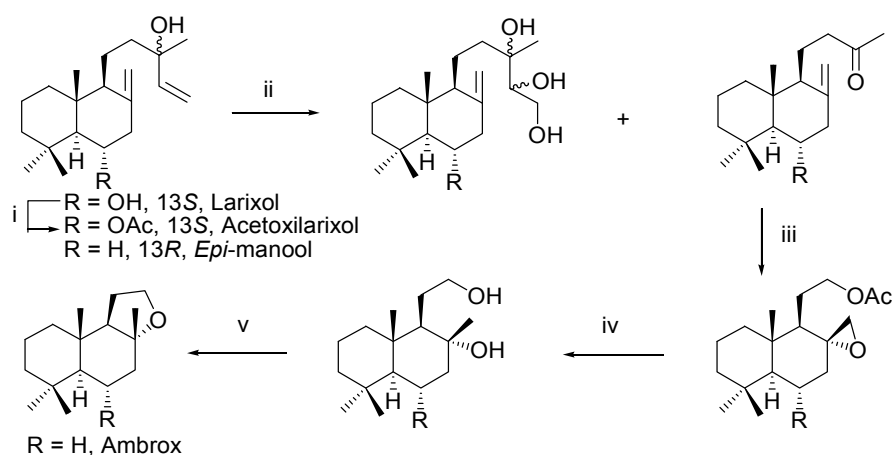
Una forma de evitar el paso por el enol éter inestable, es aplicar el reagrupamiento de Criegee al producto de deshidrohalogenación con el hidroxilo acetilado (vía b Fig.1,77), que da lugar directamente al diol que conduce a ambrox[®] mediante la ciclación ya comentada. Finalmente, el rendimiento aumenta si la deshidrohalogenación se lleva a cabo con el mismo

¹⁴⁶ Bolster, M. G.; Jansen, B. J. M.; De Groot, A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 5657.

reactivo (*t*-BuOK) y THF pero a reflujo, porque se obtiene un isómero que da lugar por ozonolisis al diol mencionado (vía c, Fig.1.77).

Otras síntesis de ambrox[®] y compuestos relacionados han sido llevadas a cabo por este mismo grupo de investigación,¹⁴⁷ partiendo de (+)-larixol, derivados de éste y (+)-*epi*-manool. Se debe oxidar la cadena lateral de C-9 hasta tener sólo dos átomos de carbono y modificarse el grupo metileno de C-8, con objeto de permitir la construcción del éter cíclico característico de ambrox[®].

Como se puede observar en la Fig. 1.78, (+)-*epi*-manool es oxidado con permanganato potásico, originando un triol y una metil cetona. Este compuesto carbonílico es epoxidado con AMCPB que por reducción y posterior ciclación proporciona ambrox[®].



(i) Ac₂O; (ii) KMnO₄; (iii) AMCPB; (iv) AlLiH₄; (v) NO₂Me, *p*-TsOH.

Figura 1.78. Síntesis de ambrox[®] a partir de (+)-*epi*-manool.

Otro ejemplo de síntesis de ambrox[®] a partir de ácido labdanólico, lo proporcionaron Altarejos y colaboradores.¹⁴⁸ Basándose en la α,β -deshidrogenación de labdanoato de metilo, posterior degradación oxidativa de la cadena lateral y formación estereoselectiva final del anillo tetrahidrofuránico.

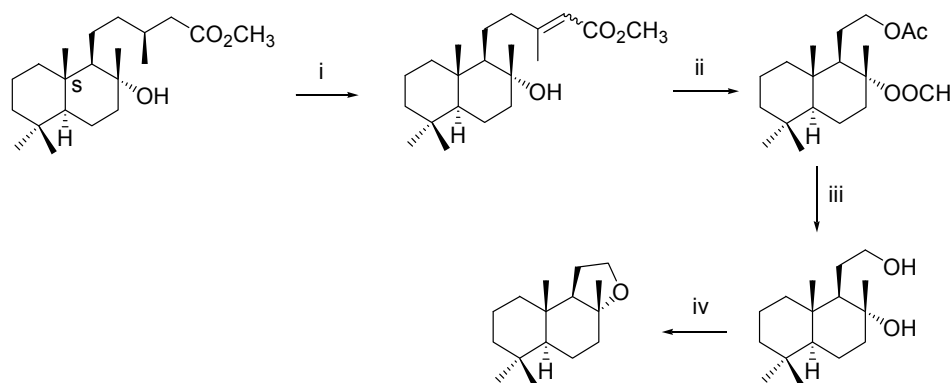
Esta degradación de la cadena lateral fue llevada a cabo en dos pasos. El primero de ellos fue la formación del doble enlace C-13/C-14, por tratamiento de labdanoato de metilo con diisopropilamida de litio, Ph₂Se₂ y H₂O₂. En segundo lugar se abordó la rotura de este doble enlace con KMnO₄ y la posterior reacción de Baeyer-Villiger con AMCPB condujo a un

¹⁴⁷ Bolster, M. G.; Jansen, B. J. M.; De Groot, A. *Tetrahedron* **2001**, 57, 5663.

¹⁴⁸ Castro, J. M.; Salido, S.; Altarejos, J.; Nogueras, M.; Sánchez, A. *Tetrahedron* **2002**, 58, 5941.

acetoxiderivado en C-12. Este producto fue finalmente hidrolizado con una solución de MeOH-KOH, generándose el diol que cicla a ambrox[®].

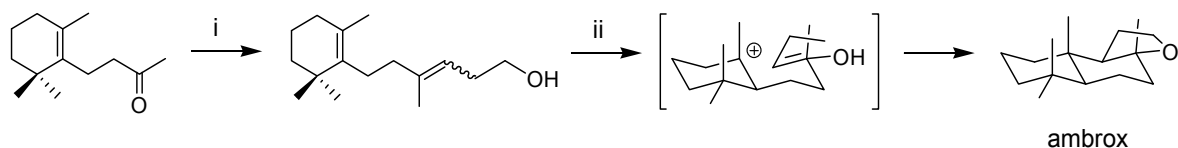
La ciclación biomimética de polienos, como ya hemos comentado, ha sido ampliamente aplicada en la síntesis de terpenoides policíclicos utilizando metales de transición (SnCl_4), ácidos (CF_3COOH , HCOOH , H_2SO_4) o recientemente superácidos (FSO_3H_4 y ClSO_3H).



(i) LDA, THF, Ph_2Se_2 , -78°C , H_2O ; (ii) a. HCOOH ; b. KMnO_4 , MgSO_4 , acetona; c. AMCPB, CH_2Cl_2 ; (iii) KOH, MeOH; (iv) *p*-TsOH, MeNO_2 .

Figura 1.79. Síntesis de ambrox[®] a partir de ácido labdanólico

Uno de los productos de partida más utilizado en estas ciclaciones catalizadas es dihidro- β -ionona. En 1992, Snowden propuso la síntesis de (\pm)-ambrox[®] y sus diastereoisómeros por ciclación biomimética de este compuesto.¹⁴⁹ En primer lugar se adicionan tres carbonos a la cadena lateral de este compuesto vía utilización de iluro de fósforo, el hidroxipolieno resultante se cicla empleando superácidos para obtener (\pm)-ambrox con buenos rendimientos.



(i) $[\text{Ph}_3\text{P}(\text{CH}_2)_3\text{OH}]\text{Br}$, BuLi, THF; (ii) HSO_3F , PrNO_2 , -90°C

Figura 1.80. Síntesis de ambrox[®] a partir de ciclación biomimética de dihidro- β -ionona

¹⁴⁹ Snowden, R. L.; Eichenberger, J. C.; Linder, S. M.; Sonnay, P.; Vial, C.; Schulte-Elte, K. H; *J. Org. Chem.* **1992**, *57*, 955.

1.4.3 TRITERPENOS IRREGULARES MONO Y TRICÍCLICOS

En el trabajo que se expone en la presente Memoria, se usa como materia prima triterpenos naturales que poseen treinta átomos de carbono y cinco ciclos que, según se vio en el apartado de biogénesis, proceden del isopreno tras sucesivas adiciones de 5 unidades de C y diversas ciclaciones. Aunque generalmente minoritarios en sus fuentes naturales, existen otros triterpenos cuyo modelo de ciclación no sigue el patrón descrito para los productos anteriormente mencionados, por ello denominados triterpenos irregulares. Estos triterpenos, reciben su nombre, generalmente, de la planta de la que fueron aislados por primera vez.

Por su relación con distintos esqueletos carbonados expuestos posteriormente y por incluir algunos de ellos en su estructura el sistema *cis*-decalínico, se va a comentar la obtención y aplicación de algunos triterpenos irregulares.

1.4.3.1 Elegansidiol

De las hojas *Santolina elegans*, el grupo de investigación de Barrero¹⁵⁰ aisló del extracto hexánico elegansidiol, junto con otros triterpenos monocíclicos que se comentarán a continuación, cuya estructura fue asignada atendiendo a sus características espectroscópicas.

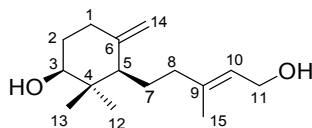


Figura 1.81. Estructura de elegansidiol

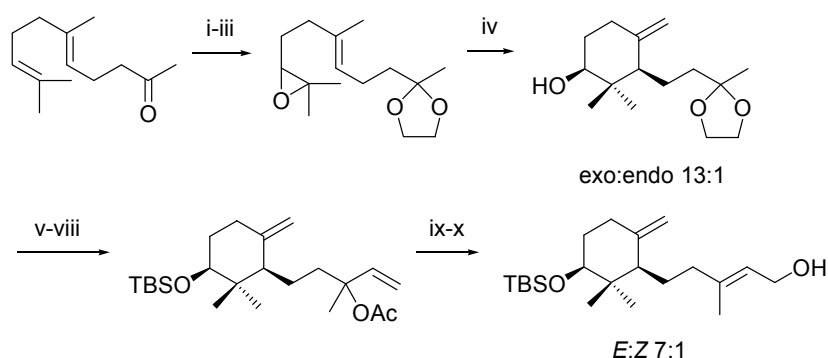
La síntesis de elegansidiol fue abordada por condensación de dos unidades más pequeñas, una monocíclica de C-10 con otra lineal de C-5, previamente preparadas. Para la síntesis del sintón de C-10, se proponen dos alternativas, una de ellas después fue mejorada partiendo de 6,7 epoxigeranil acetilado (Fig.1.82). Empleando una secuencia de reacciones,¹⁵¹ consiguieron ciclarlo y posteriormente, trabajando con una sulfona, se realizó la condensación con el sintón de C-5. Finalmente, por tratamiento posterior se transforma en elegansidiol.

La mejora en la segunda síntesis de elegansidiol,¹⁵² empleando Cp_2TiCl_2 en el proceso de ciclación del anillo, hace que se obtenga únicamente el doble enlace exocíclico.

¹⁵⁰ Barrero, A. F.; Álvarez-Manzanada, E. J.; Herrador, M. M.; Álvarez-Manzanada, R.; Quilez, J.; Chahboun, R.; Linares, P.; Rivas, A. *Tetrahedron Letters* **1999**, *40*, 8273.

¹⁵¹ Barrero, A. F.; Manzanada, E. A.; Linares, P. P. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 13239.

¹⁵² Barrero, A. F.; Cuerva, J. M.; Álvarez-Manzanada, E. J.; Oltra, J. E.; Chahboun, R. *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 2793.



(i) HOCH₂CH₂OH, pTsOH, 93%; (ii) NBS, 92%; (iii) K₂CO₃, 92%; (iv) Cp₂TiCl, 65%; (v) CeCl₃, NaI, 95%; (vi) TBSCl, imidazol, DMAP, 72%; (vii) CH₂=CHMgBr, THF, 68%; (viii) Ac₂O, 95%; (ix) PdCl₂(MeCN)₂, 90%; (x) K₂CO₃, MeOH, 89%.

Figura 1.82. Síntesis de elengansidiol utilizando Cp₂TiCl₂.

1.4.3.2 Achilleol A

Diversos autores han aislado recientemente este tipo de triterpenos de diversas plantas. Así, Barrero y colaboradores,¹⁵³ aislaron de la *Achillea Odorata* en 1989, achilleol A (Fig. 1.83), un triterpeno monocíclico cuya estructura se dedujo estudiando su espectroscopía tanto de RMN, como IR, espectrometría de masas, etc., mientras que la configuración de C-3 fue determinada basándose en el método de Horeau.¹⁵⁴ Estos mismos autores también encontraron derivados del achilleol A en el extracto de las hojas de *Buplerum spinosum*¹⁵⁵ y en las partes aéreas de *Santonina elegans*¹⁵⁰ (junto elengansidiol, comentado anteriormente y con el que está relacionado estructuralmente). Casi simultáneamente, también se ha aislado en otras plantas por diferentes grupos de investigación, como aceites de semilla de Theaceae y Gramineae.

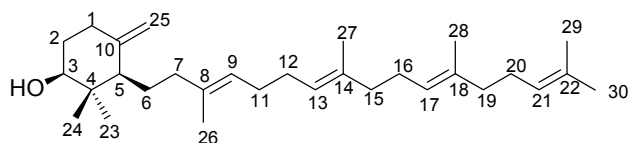


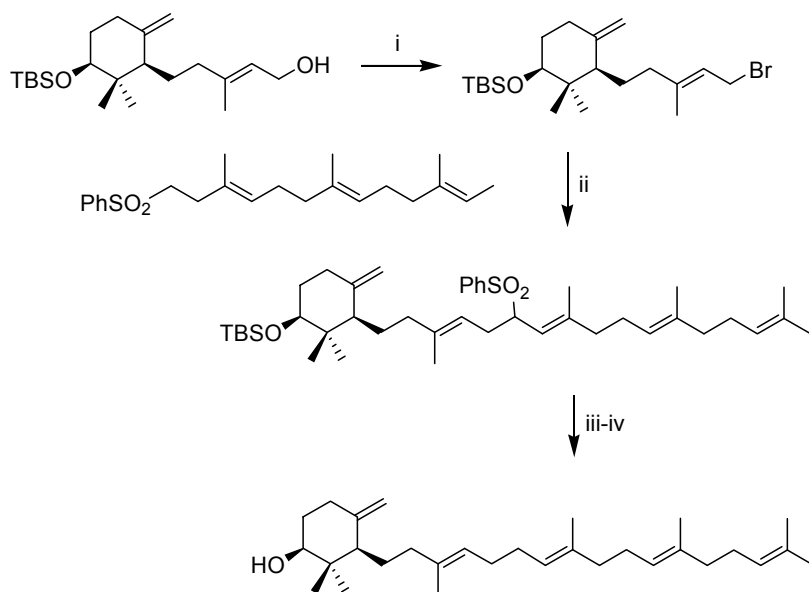
Figura 1.83. Estructura de achilleol A

Para sintetizar el achilleol A se propuso la condensación de dos sesquiterpenos (C₁₅ + C₁₅), preparados con anterioridad. Teniendo sintetizado el elegansidiol adecuado, sólo falta el otro sesquiterpeno.

¹⁵³ Barrero, A. F.; Álvarez-Manzaneda, E. J. R.; Álvarez-Manzaneda, R. R. *Tetrahedron Letters* **1989**, 30, 3351.

¹⁵⁴ Horeau, A.; Hagan, H. B.; *Tetrahedron* **1964**, 20, 2431.

¹⁵⁵ (a) Barrero, A. F.; Haidour, A.; Muñoz-Dorado, M.; Aksira, M.; Sedqui, A.; Mansours, I. *Phytochemistry* **1998**, 48, 1237. (b) Murolenaar, M.; Desmond, P. A.; Marcard, D. J.; Starmer, G. A.; Tattam, B.; Volkerts, E. R. *Hum. Psychopharmacol.* **1997**, 14, 415.



(i) PBr₃, DMAP, 45%; (ii) *n*-BuLi, 74%; (iii) NaHg, MeOH, 55%; (iv) TBAF, 95%

Figura 1.84. Síntesis de achilleol A

Para sintetizarlo se tuvo en cuenta su relación con el farnesol y se empleó un reactivo comercial, el cloruro de farnesol, que tras ser transformado en sulfona, es condensado con el elegansidiol, debidamente preparado, como se reseña en la Figura 1.84.

1.4.3.3 Camelliol C

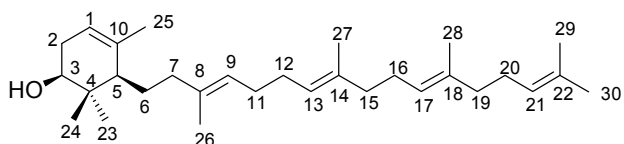


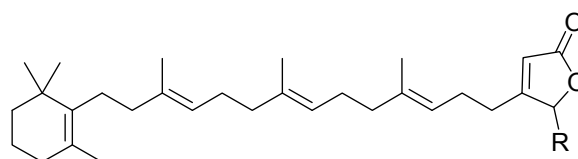
Figura 1.85. Estructura de camelliol C

Este alcohol triterpénico monocíclico fue aislado, junto con achilleol A, por Akihisa y colaboradores de la parte lipídica no saponificable del aceite de sasansqua (*Camellia sanqua*).¹⁵⁶ Presenta una única diferencia con achilleol A, la presencia del doble enlace endo trisustituido. Se ha estudiado su efecto sobre la transcriptasa del VIH, encontrándose que tiene ligero efecto inhibitor.¹⁵⁷

¹⁵⁶ Akihisa, T.; Arai, K.; Kimura, Y.; Koike, K.; Kokke, W. C. M. C.; Shibata, T.; Nikaido, T.; *J. Nat. Prod.* **1999**, *62*, 265.

¹⁵⁷ Akihisa, T.; Ogihara, J.; Kato, J. Yasukawa, K.; Ukiya, M.; Yamanouchi, S.; Oishi, K. *Lipids*, **2001**, *36*, 507.

1.4.3.4 Mokupalidas



R= H Mokupalida
 R= OH Hidroximukopalida
 R= OAc Acetoximukopalida

Figura 1.86. Estructura de mokupalida, hidroxi- y acetoxi-derivados

Los hexaprenoides denominados mokupalidas fueron aislados en el año 1978 por Scheuer y colaboradores de una esponja marina recolectada en las islas Marshall y representó la aparición de un nuevo tipo de triterpeno formado por un novedoso reordenamiento con uniones de isopreno cabeza-cola.¹⁵⁸

Un año después de aislar mokupalida, Sum y Weiler publicaron la síntesis estereoselectiva de este compuesto a través de un esquema convergente de tres sintones, un anillo carbocíclico, una cadena lineal y una adecuada γ -lactona.¹⁵⁹ Un poco más tarde, en 1980 el grupo de Negishi desarrolló un método catalizado por Pd para producir el acoplamiento entre compuestos orgánicos de zinc homoalílicos u homopropargílicos y haluros de alqueno.

1.4.3.5 Camelliol A y Camelliol B

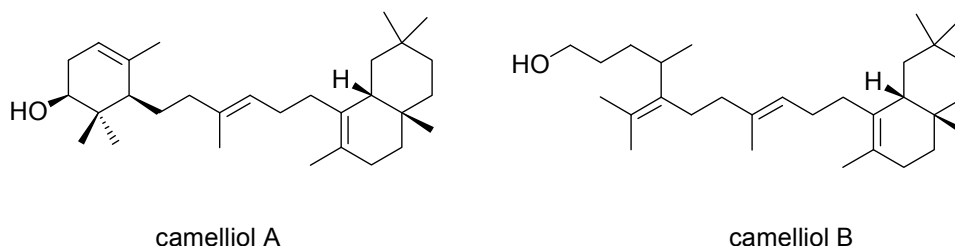


Figura 1.87. Estructuras de camelliol A y B

Camelliol A presenta una estructura tricíclica con una unión D-E similar a la de prelenatretaeno y un anillo monocíclico similar al descrito en camelliol C. Camelliol B es el seco derivado de camelliol A. Ambos fueron aislados juntos con camelliol C por Akihisa¹⁵⁶ y han sido estudiadas como inhibidores de la transcriptasa del VIH.¹⁵⁷

¹⁵⁸ Yunker, M. B.; Scheuer, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100, 307.

¹⁵⁹ Sum, F. W.; Weiler, L. *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, 101, 4401.

1.4.3.6 Achilleol B

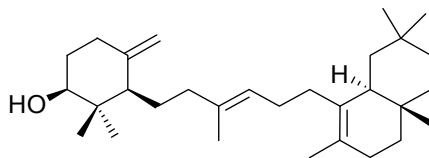


Figura 1.88. Estructura de achilleol B

Un año después de la obtención del achilleol A en 1989, se aisló también de *Achillea Odorata* este nuevo triterpeno, pero en esta ocasión tricíclico, que denominaron Achilleol B.¹⁶⁰ Su estructura fue elucidada atendiendo a todos sus datos espectroscópicos. Este triterpeno está relacionado con el Achilleol A en cuanto a su estructura. Las diferentes conformaciones de los anillos B y C fue asignada atendiendo a las diferentes constantes de acoplamiento de los protones, así como con experiencias de correlación a larga distancia y tipo NOE.

Como podemos observar en los esquemas anteriores, la principal diferencia entre los esqueletos de achilleol B y camelliol A es, aparte de la distinta posición del doble enlace del anillo A, la diferente configuración de la unión entre los anillos B y C, puesto que en el achilleol es *trans* y en el camelliol *cis*. Esto parece sugerir una diferencia importante en cuanto a la biogénesis de un tipo y otro de moléculas.

1.4.3.7 Síntesis del sistema bicíclico *cis*-decalínico

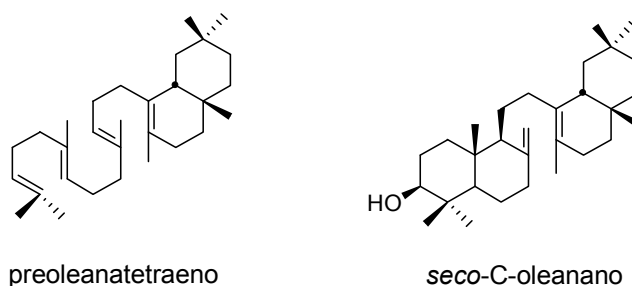


Figura 1.89. Estructura de preoleanatetraeno y seco-C-oleanano

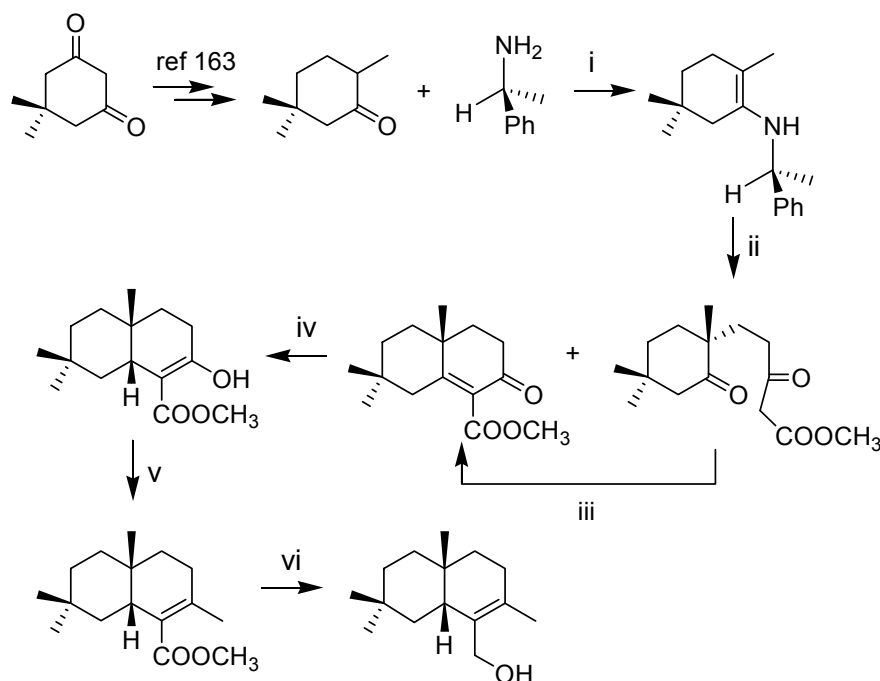
Aunque no existen síntesis de camelliol A y B si se ha llegado a la obtención del sistema anular *cis*-decalínico, fragmento común a estos compuestos y a preoleanatetraeno¹⁶¹ y seco-C-oleanano (triterpenos irregulares bicíclico y tetracíclico no fusionado, respectivamente), mediante

¹⁶⁰ Barrero, A. F.; Álvarez-Manzaneda, E. J. R.; Álvarez-Manzaneda R. R. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 8161

¹⁶¹ (a) Arai, Y.; Hirohara, M.; Ogawa, R.; Masuda, K.; Shiojima, K.; Ageta, H.; Chang, H-C.; Chen, Y.P. *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 4381. (b) Corey, E.J.; Lee, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8873

anelación de Robinson usando el reactivo de Nazarov.¹⁶² Aunque investigaciones previas ya habían sintetizado derivados de este biciclo en la aproximación a la β -amirina (apartado 1.1.2), la obtención había sido racémica.^{8, 163}

Esta ruta partió de la dimedona, producto comercial que dio lugar a un intermedio monociclo por metilación, según los trabajos de Heathcock y colaboradores.¹⁶³ La enamina quiral se formó por tratamiento con (s)-feniletilamina, que se trata con el reactivo de Nazarov (3-oxo-4-pentenoato de metilo) para dar el cetoéster deseado y su precursor acíclico. La posterior reducción catalítica condujo estereoselectivamente a la cis-decalina, en la que se introdujo un grupo metilo sobre el doble enlace y la reducción del ester conjugado condujo finalmente al sistema biciclo objetivo.



(i) benceno, 48h, 74%; (ii) 3-oxo-4-pentenoato de metilo, benceno, 1h, 70°C, 21%; (iii) KF, MeOH, Δ , 6h, cuantitativa; (iv) H₂, Pd-C, EtOAc, 72 h, 91%; (v) a. Tf₂O, (*i*-Pr)₂EtN, CH₂Cl₂, de -78°C a -50°C, 30 min; a. CuBr·SMe₂, MeLi, THF, -15°C, 30 min, 91%; (vi) LiAlH₄, Et₂O, 0°C, 30 min, 79%

Figura 1.90. Síntesis de *cis*-decalina mediante anelación de Robinson usando reactivo de Nazarov

¹⁶² Barrero, A. F.; Arseniyades, S.; Quílez del Moral, J. F.; Herrador, M. M.; Rosellon, A. *Synlett*, **2005**, 5, 789.

¹⁶³ Ellis, J. E.; Dutcher, J. S.; Heathcock, C. H. *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 2670.

1.7 QUÍMICA EN FASE SÓLIDA Y LIBRERÍAS DE TERPENOIDES

Los productos naturales tienen una amplia y exitosa historia como agentes terapéuticos, ya que su uso en el tratamiento de enfermedades humanas se remonta a los orígenes ancestrales de la medicina hace más de 4000 años. De hecho, más de la mitad de los medicamentos que se comercializan hoy en día son descendientes directos de productos naturales.¹⁶⁴

En las últimas décadas ha habido un incremento del interés en el diseño de librerías de moléculas basadas en productos naturales, ya que posibilita descubrir las relaciones de estructura-actividad, desarrollar compuestos con un potencial terapéutico superior al de los productos naturales homólogos y por tanto aprovechar de forma satisfactoria el potencial de estos productos ampliamente repartidos en la naturaleza.

¹⁶⁴ Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. *Nat. Prod. Rep.* **2000**, *17*, 215.

1.5.1 KAHALALIDO F

Kahalalido F (KF) es un péptido lactónico de origen natural marino con interesantes y prometedoras propiedades terapéuticas. Está formado por trece aminoácidos donde su extremo *N*-terminal se encuentra acilado por un ácido alifático y su extremo *C*-terminal forma un enlace éster con la función hidroxilo de la cadena lateral de *D*-*allo*-treonina.

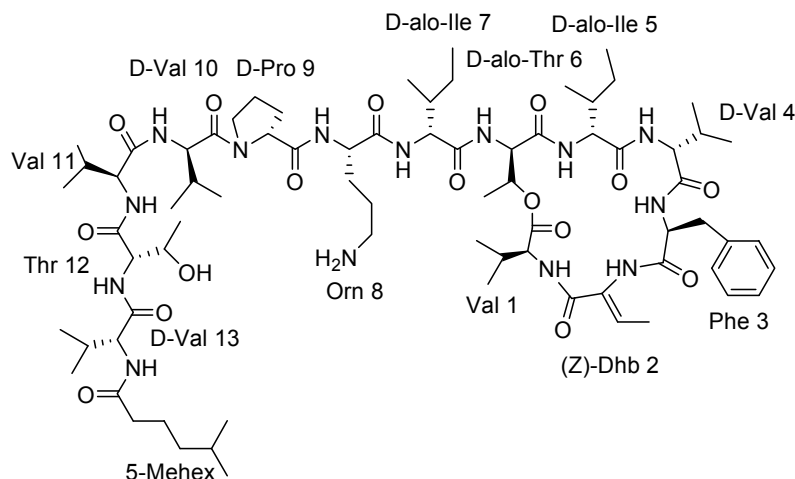


Figura 1.91. Estructura de Kahalalido F

1.5.1.1 Procedencia de KF

Kahalalido F (KF) fue aislado por Hamman y Scheuer en 1993 a partir de un molusco, *Elysia rufescens*, y del alga *Bryopsis sp.* de la cual el molusco se alimenta.¹⁶⁵ Hay estudios que demuestran que *E. rufescens* captura cloroplastos de *Bryopsis* y los utiliza para la fijación de carbono y éste agente protege tanto a *Bryopsis* como a *E. rufescens* de la depredación por peces. Del alga y del molusco se han extraído un total de 13 péptidos, llamados Kahalalido A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, O, P y Q nombradas por el orden en el que se elucidó su estructura.¹⁶⁶ El nombre de Kahalalido proviene del distrito de Kahala, en la isla de O'ahu (Hawai), lugar en el que se aislaron estos especímenes de *Elysia*.

El tamaño de este conjunto de moléculas se encuentran en un rango entre C_{31} y C_{75} , y todas están compuestas por aminoácidos naturales (en su forma L o D) y un ácido alifático. Diez de ellos son depsipéptidos cíclicos, Kahalalido A-F, K y O-Q, mientras que tres de los análogos, G, H y J, son péptidos lineales. El único aminoácido no natural, (*Z*)-didehidroaminobutírico [(*Z*)-Dhb], se encuentra en Kahalalido F y G (su análogo acíclico).

¹⁶⁵ Hamann, M. T.; Scheuer, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 5825.

¹⁶⁶ Dmitrenok, A. Iwashita, T.; Nakajima, T.; Sakamoto, B.; Namikoshi, M.; Nagai, H. *Tetrahedron*, **2006**, 62, 1301.

1.5.1.2 Actividades biológicas de Kahalalido.

Los únicos compuestos en los que se ha detectado actividad biológica son: Kahalalido A, que presenta actividad antimalaria modesta frente a *Plasmodium falciparum*¹⁶⁷; Kahalalido E, que muestra actividad selectiva frente al virus de *Herpes simplex II* (HSV II)¹⁶⁸ y Kahalalido F, que en una primera evaluación presentó actividad frente a los cánceres de colon y de próstata,¹⁶⁹ así como frente a varias infecciones oportunistas de origen microbiano asociadas al SIDA (*Aspergillus oryzae*, *Penicillium notatum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Candida albicans*).¹⁶⁵ Por otro lado, se ha descrito que tanto Kahalalido A como F poseen actividad antituberculosis.¹⁷⁰ Además, KF puede ser usado para el tratamiento de la psoriasis¹⁷¹ y en menor proporción también se le ha atribuido actividad antiviral, antifúngica y ligera actividad inmunosupresora.¹⁷²

Debido a la importancia de sus propiedades biológicas, los Kahalalidos A, B y F han sido sintetizados químicamente,^{173,174,175} aunque KF y sus análogos son los compuestos más prometedores de la familia de Kahalalidos, y por ello los más ampliamente estudiados.

Los estudios realizados sobre el modo de acción del KF indican que actúa sobre la membrana lisosomal, alterando el transporte pasivo de agua desde el citoplasma hacia el interior del orgánulo, aumentando, de este modo, su tamaño lo que conlleva la muerte celular.¹⁷⁶ Así, la actividad de KF sería mayor en células con una alta proporción en lisosomas, como es el caso de las células de próstata.¹⁷⁷

Estudios más recientes muestran que KF inhibe la actividad de los receptores de factor de crecimiento epidermal ErbB2, cuya activación inapropiada se asocia con el desarrollo de muchos cánceres. También inhibe la expresión TGF- α e induce apoptosis independiente del gen p53.¹⁷⁸ Otros estudios demuestran que KF induce necrosis *in vivo* (oncosis) y muestra

¹⁶⁷ El-Sayed, K. A.; Dunbar, D. C.; Goins, D. K.; Cordova, C. R.; Perry, T. L.; Wesson, K. J.; Sanders, S. C.; Janus, S. A.; Hamann, M. T. *J. Nat. Toxins* **1996**, *5*, 261.

¹⁶⁸ Scheuer, P. J.; Hamann, M. T.; Gravalos, D. G. **2000**, 5 pp. CODEN: USXXAM US 6011010.

¹⁶⁹ (a) Hamann, M. T.; Otto, C. S.; Scheuer, P. J. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 6594. (b) Hamann, M. T. *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2004**, *6*, 657.

¹⁷⁰ El-Sayed, K. A.; Bartyzel, P.; Shen, X.; Perry, T. L.; Zjawiony, J. K.; Hamann, M. T. *Tetrahedron*, **2000**, *56*, 949.

¹⁷¹ Izquierdo, D.; Miguel A. PCT Int. Appl. **2004**, 23 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2004075910.

¹⁷² (a) Donia M.; Hamann, M. T. *Lancet Infect. Dis.* **2003**, *3*, 338. (b) Becerro, M. A.; Goetz, G.; Paul, V. J.; Scheuer, P. J., *J. Chem. Ecol.*, **2001**, *27*, 2287.

¹⁷³ (a) Bourel-Bonnet, L.; Rao, K. V.; Hamann, M. T.; ganesan, A. J. *Med. Chem.* **2005**, *48*, 1330.

¹⁷⁴ (a) López, À.; Jiménez, J.C.; Royo, M.; Giral, E.; Albericio, F., "Process for producing Kahalalide F compounds". No DE SOLICITUD: PCT/GB01/00576 PRIORITY COUNTRIES: United Kingdom PRIORITY DATE: **09/02/2000**

(b) López-Macià, À., *Tesis Doctoral*, Universidad de Barcelona, **2000**.

(c) López-Macià, À.; Jiménez, J. C.; Royo, M.; Giral, E.; Albericio, F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *123*, 11398.

¹⁷⁵ López-Macià, À.; Jiménez, J. C.; Royo, M.; Giral, E.; Albericio, F., *Tetrahedron Lett.*, **2000**, *41*, 9765.

¹⁷⁶ Garcia-Rocha, M.; Bonay, P.; Avila, J., *Cancer Lett.*, **1996**, *99*, 43.

¹⁷⁷ Brandes, D., *Int. Rev. Cytol.*, **1966**, *20*, 207.

¹⁷⁸ Janmaat, M. L.; Rodríguez, J. A.; Jimeno, J.; Kruyt, F. A. E. *Mol. Pharmacol.* **2005**, *68*, 502.

selectividad frente a las células tumorales comparando con células normales *in vitro*.¹⁷⁹ Además, su actividad antitumoral es independiente de la resistencia a múltiples fármacos (MDR).¹⁸⁰

En vista de los resultados como agente antitumoral del Kahalalido F, se ha completado la fase clínica I con evidencia de índices terapéuticos positivos en pacientes con cáncer de próstata y se ha iniciado recientemente la fase clínica II del cáncer de hígado (hepatocarcinoma), que es uno de los cánceres más comunes a escala mundial con una incidencia creciente debido al incremento de infecciones por hepatitis C. Este tipo de carcinoma ha presentado particular resistencia a las quimioterapias convencionales, y el desarrollo de nuevos agentes es una de las prioridades más importantes para su tratamiento.¹⁸¹ Igualmente, se encuentran en esta fase de estudio el cáncer de melanoma y de pulmón y, además, también se está evaluando para el tratamiento de la psoriasis severa.¹⁸²

1.5.1.3 Síntesis de KF

La primera síntesis de este compuesto fue realizada por López-Maciá et al. donde además se estableció inequívocamente la estereoquímica del compuesto natural.¹⁷⁴ Ya que las dos asignaciones independientes llevadas a cabo por Kenneth Rinehart¹⁸³ y Paul Scheuer¹⁸⁴ mostraban diferencias en la asignación de las valinas 10 y 11.

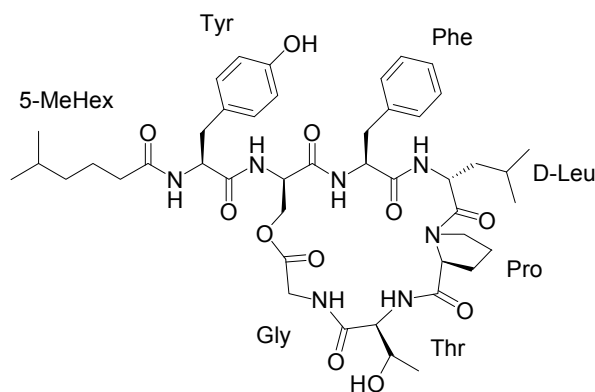


Figura 1.92. Estructura de Kahalalido B

¹⁷⁹ Suarez, Y.; Gonzalez, L.; Cuadrado, A.; Berciano, M.; Lafarga, M.; Muñoz, A. *Mol.* **2003**, *2*, 863.

¹⁸⁰ Jimeno, J.; Faircloth, G.; Fernandez Souse-Faro, J. M.; Scheuer, P.; Rinehart, K. *Mar. Drugs* **2004**, *2*, 14.

¹⁸¹ www.pharmamar.com; nota de prensa 29 de Mayo de 2003.

¹⁸² (a) Brown, A. P.; Morrissy, R. L. Faircloth, G. T.; Levine, B. S. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2002**, *50*, 333. (b) Ciruelos, C.; Trigo, T.; Pardo, J.; Paz-Ares, L.; Estaun, N.; Cuadra, C.; Domínguez, M.; Marín, A.; Jimeno, J.; Izquierdo, M. *Eur. J. Cancer* **2002**, *38*, Suppl. 7, S33. (c) Jimeno, J.; Lopez-Martin, J. A.; Ruiz-Casado, A.; Izquierdo, M. A.; Scheuer, P.; Rinehart, K. *Anticancer Drugs* **2004**, *15*, 321 (d) Rademaker-Lakhai, J. M.; Horenblas, S.; Meinhardt, W.; Stokvis, E.; de Reijke, T. M.; Jimeno, J. M.; Lopes-z-Lazaro, L.; Lopez-Martin, J. A. Beijnen, J. H.; Schellens, J. H. *Clin. Cancer Res.* **2005**, *11*, 1854.

¹⁸³ Bonnard, I.; Manzanares, I.; Rinehart, K.L. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1466.

¹⁸⁴ (a) Goetz, G.; Yoshida, W. Y.; Scheuer, P. J., *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 7739; (b) Yoshida, W. Y.; Scheuer, P. J. *Tetrahedron*, **1999**, *55*, 11957.

Se realizó una aproximación previa con la síntesis de Kahalalido B¹⁷⁵ ya que este péptido presenta características similares en la estructura cíclica, en el enlace ester entre el grupo carboxílico de un aminoácido y el hidroxilo de la cadena lateral de otro aminoácido y en el ácido alifático al final de la cadena peptídica.

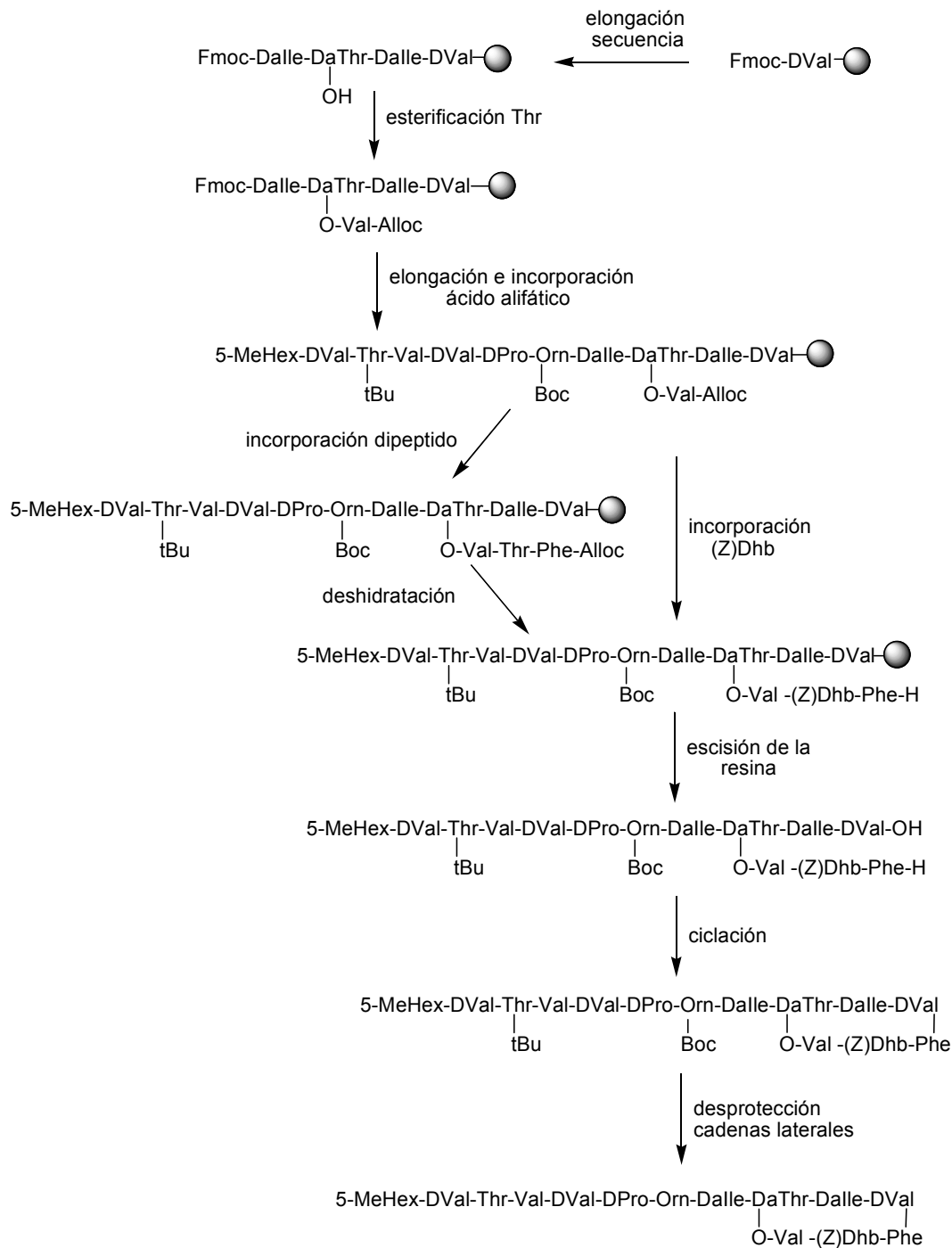


Figura 1.93. Esquema sintético original de Kahalalido F

La síntesis de Kahalalido F se realiza utilizando una estrategia combinada de fase sólida y solución. La fase sólida se utiliza para la fusión de todos los aminoácidos y el ácido alifático que componen la molécula, mientras que en solución se realiza la ciclación una vez desanclado el péptido de la resina y por tanto requiere tener las cadenas laterales protegidas.

Como consecuencia de las interesantes y prometedoras propiedades biológicas de KF y de la optimización y de la síntesis de este compuesto en fase sólida, distintos análogos de KF en los que se han reemplazado uno o varios aminoácidos tanto exocíclicos como cíclicos por otros naturales o no naturales, han sido sintetizados. También, se ha sustituido el ácido alifático, 5-metilhexanoico, del extremo N-terminal por otros grupos acilos. La actividad citotóxica de estos derivados ha sido evaluada frente a distintas líneas celulares.¹⁸⁵

1.5.2 LIBRERÍAS DE TERPENOIDES

Ya se ha comentado en esta Introducción que, dentro de los productos naturales, los terpenoides representan una de la más importante clase de compuestos bioactivos. Por ello, los triterpenos pentacíclicos con esqueleto de ursano, lupano y oleanano, ampliamente repartidos en el reino vegetal, como el ácido betulínico, ácido ursólico, ácido oleanólico y otros derivados han centrado numerosas investigaciones debido a sus actividades biológicas anti-inflamatorias, anti-malaria, anti-HIV, etc. De este modo, este tipo de compuestos proporcionan interesantes farmacóforos para sintetizar librerías con la intención de generar agentes aún más potentes.

1.5.2.1 Librerías en fase disolución de triterpenos pentacíclicos

De hecho, dentro del campo de los triterpenos pentacíclicos han sido numerosos los estudios llevados a cabo en este sentido debido a la amplia y variada actividad biológica de estos productos naturales. Por ello, se han semisintetizado derivados con diferentes funcionalizaciones para comprobar si se incrementa sus propiedades biológicas naturales, además de intentar solucionar una de las principales desventajas de las moléculas triterpénicas biológicamente activas, la solubilidad en medios acuosos.

Así, distintas series de amidas ω -undecanoicas del ácido betulínico modificados en el anillo A, en el grupo carboxílico de la molécula y en el grupo isopropiliden se sintetizaron para evaluar su actividad contra el virus HIV-1 de tipo 1.¹⁸⁶

¹⁸⁵ Preparation of kahalalide F analogs as antitumor agents WO 2005023846

¹⁸⁶ Evers, M.; Poujade, C.; Soler, F.; Ribeill, Y.; James, C.; Lelièvre, Y.; Gueguen, J. C.; Reisdorf, D.; Mozize, I.;

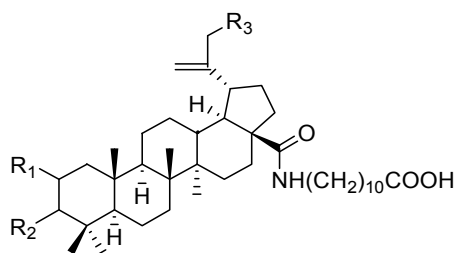


Figura 1.94. Puntos de diversificación de ácido betulinilaminoundecanoico.

Los resultados obtenidos muestran la importancia del sustituyente hidroxilo en 3 β ya que si adopta disposición 3 α se produce una disminución de la actividad y además los derivados 3-ceto y 3-desoxi no muestran inhibición frente al virus HIV-1. Esto apunta a que la interacción por puentes de hidrógeno ocurre preferentemente en la posición 3 β . Incluso, la introducción de un segundo hidroxilo en la posición 2 conduce a la pérdida completa de la actividad. De ahí que casi todas las modificaciones químicas en el anillo A conllevan una pérdida considerable de la actividad. También se llevaron a cabo modificaciones en el carboxilo de C-28, concluyéndose que la introducción de un grupo electrón donante como NH aumenta la actividad frente a otros derivados. Del mismo modo, comprobaron que las modificaciones en el grupo isopropiliden, tanto con tioderivados, hidroxiderivados, aminoderivados, etc., provocaban una disminución de la actividad anti HIV, probablemente por el aumento de impedimento estérico o bien por la necesidad de este grupo en su interacción con grupos hidrofóbicos de las enzimas correspondientes.

La presencia de este grupo amido en C-28 se encontró primordial para optimizar su actividad anti-HIV en otros estudios desarrollados por los mismos autores.¹⁸⁷ Empleando reacciones similares a las comentadas anteriormente se formaron las amidas correspondientes y se comprobó que la longitud idónea de la cadena es de 8-12 metilenos, siendo el de mayor actividad un compuesto derivado de 10 carbonos. Por el contrario, la introducción de grupos amidos en posiciones intermedias de la cadena producía pérdidas de la actividad.

También se han localizado otros derivados del ácido betulínico con fragmentos aminoácidos, que son eficientes agentes anti-HIV y donde los resultados concuerdan con los descritos anteriormente.¹⁸⁸ Incluso, aquí se demostró que la introducción de pequeños

Pauwels, R.; De Clercq, E.; Hénin, Y.; Bousseau, A.; Mayaux, J. F.; Le Pecq, J. B.; Dereu, N. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1056.

¹⁸⁷ Soler, F.; Poujade, C.; Evers, M.; Carry, J. C.; Hénin, Y.; Bousseau, A.; Huet, T.; Pauwels, R.; De Clercq, E.; Mayaux, J. F.; Le Pecq, J. B.; Dereu, N. *J. Med. Chem.* **1996**, *39*, 1069.

¹⁸⁸ (a) EU Patent no. 542622, 1993, Chem. Abstr. **1993**, vol. 119, no. 2714424. (b) Mayaux, J.F.; Bousseau, A.; Pauwels, R.; Huet, T.; Henin, Y.; Dereu, N.; Evers, M.; Soler, F.; Poujade C.; Clerq E.; Pecq J.-B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **1994**, *91*, 3564.

aminoácidos comunes al final de la cadena aumentaba la actividad. La optimización química de la cadena lateral en el compuesto más potente se encuentra representada por RP 103611 (Fig. 1.96).

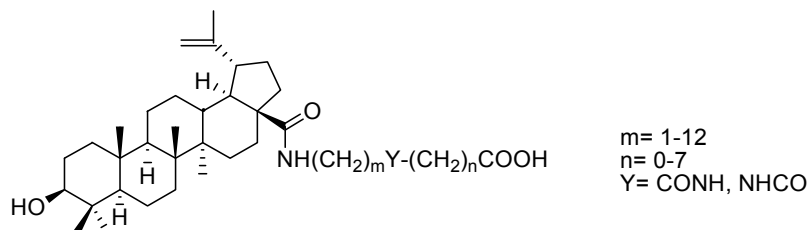


Figura 1.95. Derivados amidos del ácido betulínico en C-28

Mediante estos estudios se comprobó que las modificaciones en el grupo carboxílico hacían perder la actividad, cuando unido a dicho grupo no se encontraba un grupo polar prótico. Es decir, que la función amida es la más activa, porque la interacción de su protón es necesaria, aunque el mecanismo de acción no fue comprobado inequívocamente. También se han realizado estudios QSAR con una serie de derivados de ω -aminoácidos del ácido betulínico donde se vuelve a demostrar que la función amida incrementa la actividad anti-HIV.¹⁸⁹

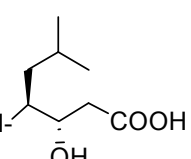
	R ₁	R ₂
Ácido betulínico	H	OH
RP 70034	H	NH-(CH ₂) ₁₀ COOH
RP 72046	OH	NH-(CH ₂) ₁₁ COOH
RP 103611	H	NH-(CH ₂) ₇ CONH-  COOH

Figura 1.96. Estructuras de derivados de ácido betulínico como agentes anti-HIV

Otros autores¹⁹⁰ obtuvieron también derivados del ácido betulínico y dihidrobetulínico que presentaban diferente actividad anti SIDA y cuyos resultados mostraron concordancia de nuevo con los anteriores. Así, si se elimina el grupo amino prótico son inactivos o menos activos, al igual que si se elimina la polaridad en el anillo A con los 3-oxo derivados, o introduciendo

¹⁸⁹ Srisvastava, A.; Shakeed, M.; Khan A. *Indian Journal of Chemistry*. Section B : Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry. **2002**, 41B(2), 436.

¹⁹⁰ Hashimoto, F.; Kashiwada, Y.; Cosentino, M.; Chen, C.; Garret, P. E.; Lee, K. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **1997**, 5, 2133.

grupos no polares. Pero por el contrario, si se forman acilderivados llegan a ser considerablemente potentes como agentes anti HIV-1, como en el caso de los dimetilsuccinilderivados.

De igual modo, se han llevado a cabo modificaciones en el anillo A de distintos esqueletos triterpénicos. En concreto, se han sintetizado distintos derivados acilados en el grupo hidroxilo β -OH aumentando en algunos casos y de forma bastante acusada la actividad anti-HIV de los mismos.¹⁹¹

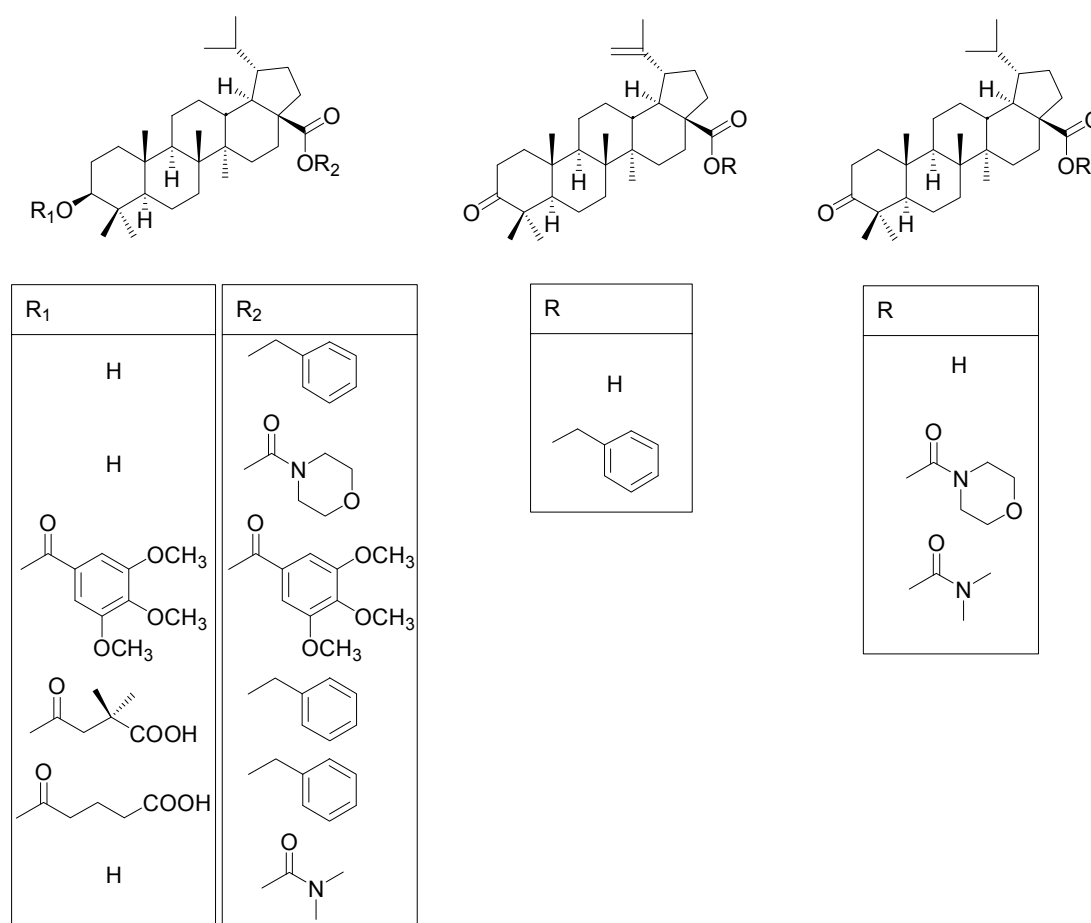


Figura 1.97. Estructuras de derivados de ácido betulínico y dihidrobetulínico

Debido al amplio registro de actividades biológicas de este tipo de compuestos, otras investigaciones sobre el ácido betulínico se centraron en su actividad contra el melanoma¹⁹² y para ello se condensó con α -aminoácidos a través del ácido carboxílico de C-28. Además de potenciar su citotoxicidad en algunos casos, los hicieron más solubles, solucionando el problema

¹⁹¹ Kashiwada, Y.; Chiyo J.; Ikeshiro, Y.; Nagao, T.; Okabe, H.; Cosentino, L.M.; Fowke, K.; Morris-Natschke, S.L.; Lee, K.H. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 1387.

¹⁹² Jeong, H. J.; Chai, H. B.; Park, S. Y.; Kim, D. S. H. L. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **1999**, *9*, 1201.

de la solubilidad en medios acuosos de las moléculas triterpénicas. Aunque los resultados son dispares, el mejor resultado se obtiene para la alanina, valina y glicina (Fig. 1.98), que permiten potenciar la actividad natural de este triterpeno pentacíclico.

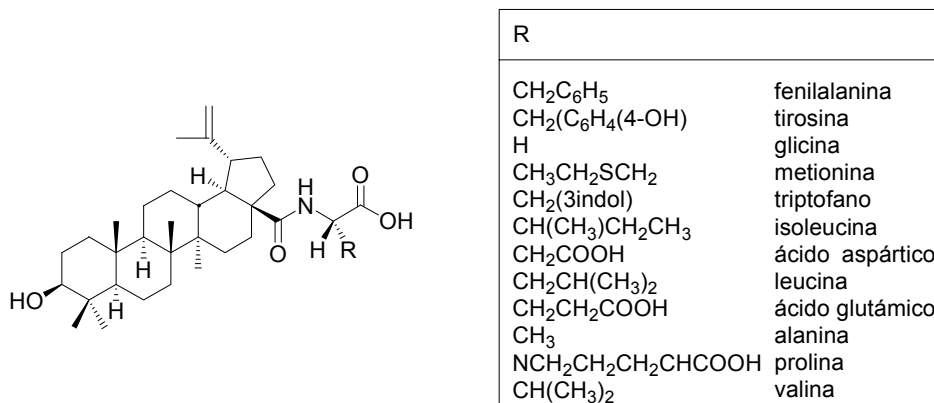


Figura 1.98. Derivados de ácido betulínico con α -aminoácidos

Pero el interés creciente en compuestos de tipo terpenoide que contienen fragmentos de aminoácidos sigue aumentando debido a su habilidad para enlazar selectivamente algunos receptores. Teniendo esto en cuenta se han sintetizado nuevos derivados del ácido glicirretínico conteniendo varios aminoácidos con la intención de obtener sustancias potencialmente activas.

193

Por último, Baltina y colaboradores¹⁹⁴ han descubierto recientemente una nueva actividad antiviral de derivados del ácido betulínico. Las pruebas realizadas sobre estos derivados contra el virus de la gripe A y herpes simple tipo I, han dado como resultado que los productos más activos son los que poseen una hidroxima en 3 β o un grupo amido en C-28 o ambos a la vez. El ácido betulínico no tiene actividad en este caso pero así se sigue demostrando la necesidad de este tipo de funciones ya que los más activos contra el herpes son los que presenta el grupo NHCONH o los que poseen una amida de cadena larga que inhiben el virus. En general, los autores concluyen que la incorporación de un grupo CONH o NHCONH en la posición 28 del esqueleto de lupano, aumenta su actividad antiviral.

¹⁹³ Petrenko, N.I.; Petkhova, V.Z.; Shakirov, M.M.; Shul'ts E.E.; Tolstikov, G.A. *Russian Journal of Organic Chemistry* **2000**, 36, 982.

¹⁹⁴ Baltina, L. A.; Flekhter, O. B.; Nigmatullina, L. R.; Boreko, E. I.; Pavlova, N. I.; Nikolaeva, S. N.; Savinova, O. V.; Tolstikov, G. A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2003**, 20, 3549.

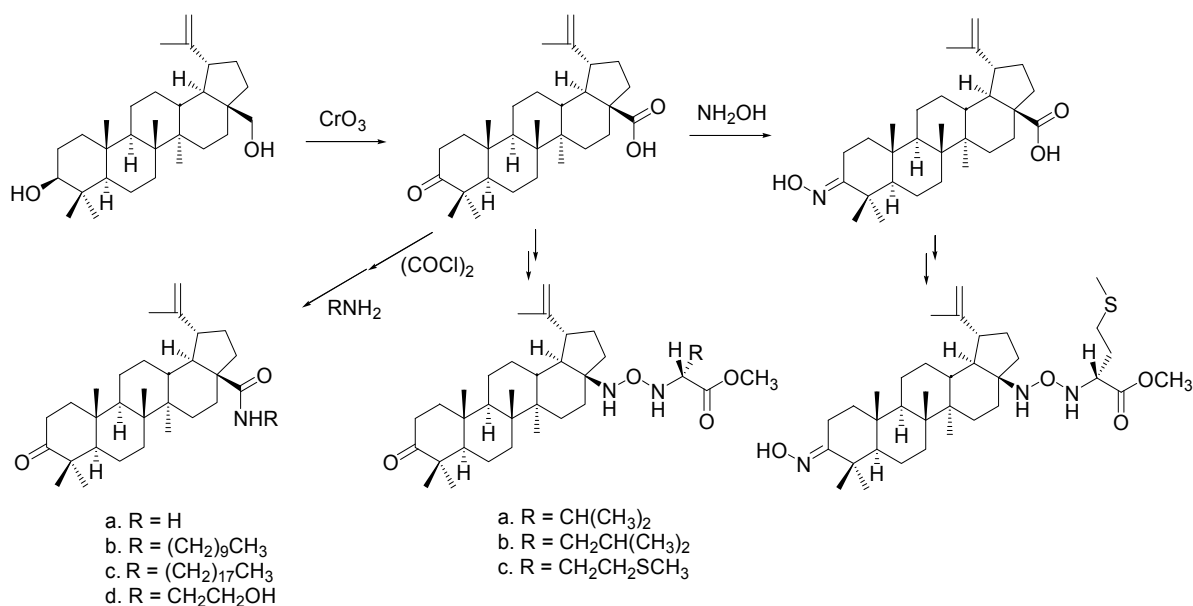


Figura 1.99. Distintas modificaciones llevadas a cabo en el esqueleto de lupano según Baltina

1.5.2.2 Librerías de terpenos en fase sólida

A la síntesis de librerías basadas en compuestos naturales ha contribuido de manera excepcional los extraordinarios avances en Química Combinatoria de los últimos años debido a que permiten que estas síntesis simultáneas de gran cantidad de compuestos sean rápidas y eficientes, acortando el tiempo necesario para el desarrollo de nuevos medicamentos e incrementando las posibilidades de encontrar sustancias con valor terapéutico. De igual modo, ha ayudado el progreso en el desarrollo de las metodologías para el análisis e identificación de posibles fármacos como las técnicas automatizadas del tipo HTS (high-throughput screening, análisis de alto rendimiento), que demandan una enorme cantidad de compuestos. De hecho, la Química Combinatoria se ha convertido en una manera novedosa de utilizar procedimientos ya conocidos para generar una gran cantidad de sustancias, a las que posteriormente se determinará si alguna de ellas tiene efectos biológicos que indiquen una potencial utilidad que justifique un posterior estudio más exhaustivo de su capacidad de servir de base para el desarrollo de un nuevo medicamento.

Tradicionalmente, la Química Orgánica ha estudiado reacciones entre sustancias en un medio líquido. En cambio, en Química Combinatoria lo más frecuente es que el compuesto que reacciona esté unido a un soporte sólido insoluble, lo que se conoce como Síntesis Orgánica en Fase Sólida (SOFS). Esta circunstancia simplifica marcadamente los procedimientos de aislamiento y purificación del producto de reacción, reduciéndolos básicamente a la eliminación, por filtración y lavado con un disolvente adecuado, del exceso de reactivos y de los productos

secundarios que no se han unido al soporte. De este modo, se obvian los procedimientos de aislamiento y purificación en medios líquidos, que constituyen una de las etapas más largas y laboriosas de la síntesis orgánica tradicional. Debido a esta manipulación sencilla y procedimientos fáciles de llevar a cabo se consiguen buenos rendimientos con exceso de reactivos y se puede llegar a la automatización de los procesos.

Los productos naturales son un excelente punto de partida para la química combinatoria y tanto la construcción de moléculas complejas como el descubrimiento de nuevos análogos biológicamente activos se pueden llevar a cabo mediante esta técnica. Así, la SOFS ha sido usada para la preparación de librerías de péptidos, compuestos heterocíclicos, azúcares, ácidos nucleicos, etc.¹⁹⁵ Recientemente, se han iniciado métodos de trabajo para la síntesis de distintas clases de productos naturales usando métodos combinatorios ya que representan prometedoras piezas para la diversificación.¹⁹⁶ En algunos de los casos, dichos compuestos son más potentes que el producto natural de partida, demostrándose que moléculas obtenidas a partir de librerías por simple modificaciones de grupos funcionales pueden incrementar alguna propiedad biológica del producto natural. La construcción de estos almacenes de compuestos se centra en la inmovilización del esqueleto del producto natural en el soporte sólido, facilitándose la síntesis de estos compuestos de forma rápida y organizada.

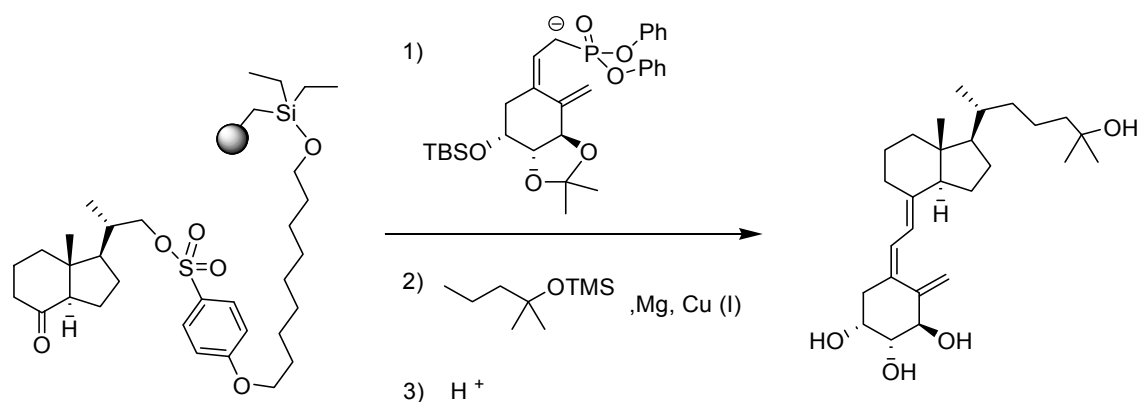


Figura 1.100. Síntesis mediante fase sólida de análogos de vitamina D

Sin embargo, hay pocas referencias de compuestos terpénicos en el campo de la fase sólida. En el área de los esteroides, Takahashi y colaboradores llevaron a cabo la síntesis de 72 análogos de la vitamina D con la intención de estudiar su relación estructura-actividad (SAR).¹⁹⁷

¹⁹⁵ (a) Dolle, R.E. *J. Com. Chem.* **2000**, 2, 383. (b) Kundu B, Khare S. K., Rastogi, S.K. *Progress in Drug Research*, **1999**, 53, 91. (c) Ortholand, J-Y.; Ganesan, A. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2004**, 8, 271. (d) Abreu, P.M.; Branco, P.S. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, 14, 675.

¹⁹⁶ (a) Hall, D. G.; Manku, S.; Wang, F.; *J. Com. Chem.* **2001**, 3, 125. (b) Nicolau, K. C.; Pfefferkom, J. A.; Roecker, J. A.; Cad C. Q.; Baluerga S.; Mitchell H. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 122, 9939.

¹⁹⁷ Hijikuro, I.; Doi, T.; Takahashi, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 3717.

Para ello, los anillos CD se inmovilizaron mediante un linker sulfonato, a continuación se realizó el acoplamiento del anillo A por una reacción de Horner-Wadsworth-Emmons seguido de la introducción de de distintas cadenas laterales (paso 2 Fig. 1. 100) y por último la liberación de la resina se llevó a cabo por adición de organocupratos al sulfonato. La elección del linker fue crucial y se hizo necesario un espaciador largo entre la matriz del poliestireno y el sulfonato para obtener rendimientos óptimos.

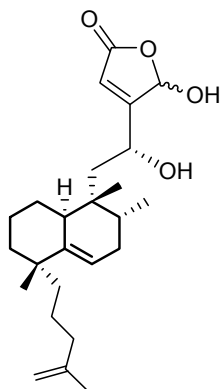


Figura 1.101. Estructura de disidiolida

Otro ejemplo de interés en el desarrollo de bibliotecas de análogos de productos naturales se centra en el sestetereo disidiolida, inhibidor de la proteína fosfatasa Cdc25A y su homólogo Cdc25B, enzimas que juegan un papel crucial en la regulación del ciclo celular. Debido a sus propiedades y a su actividad antitumoral diferentes síntesis de derivados de este compuesto han sido publicadas, llevándose a cabo tanto en disolución como en fase sólida.¹⁹⁸

El grupo de Poirier se ha centrado en aplicación de la fase sólida a compuestos esteroidales derivados de estrano y androstano, optimizando las condiciones de acoplamiento y desarrollando nuevos linkers.¹⁹⁹ Uno de los artículos desarrolla la obtención de inhibidores potenciales de la enzima 17 β -HSD que sintetiza la testosterona y, por tanto, su interés se deriva de las enfermedades relacionadas con ésta.²⁰⁰ El anclaje se hace a través del grupo carbonilo de C-17 usando un linker de tipo acetálico (Fig.1.102) y la diversidad se introduce con tres niveles a través del sustituyente 3 β . De este modo, se identificaron potentes inhibidores, especialmente seis de ellos, que contenían grupo fenilos.

¹⁹⁸ (a) Brohm, D.; Metzger, S.; Bhargava, A.; Muller, O.; Lieb, F.; Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 307. (b) Brohm, D.; Philippe, N.; Metzger, S.; Bhargava, A.; Muller, O.; Lieb, F.; Waldmann, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13171. (c) Marcos, I.S.; Escola, M.A.; Moro, R.F.; Basabe, P.; diez, D.; Sanz, F.; Mollinedo, F.; de la Iglesia-Vicente, J.; Sierra, B.G.; Urones, J.G. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 5719.

¹⁹⁹ Maltasi, R.; Tremblay M. R.; Cibonau, L. C.; Poirier, D. *J. Comb. Chem.* **2004**, *6*, 443.

²⁰⁰ Maltasi, R.; Luu-The, V.; Poirier D. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2001**, *9*, 3101.

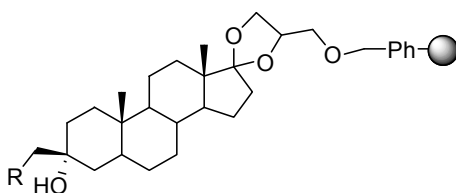


Figura 1.102. Anclaje y puntos de diversidad para androsterona según Poirier

En este mismo sentido, estos autores anclaron derivados del estradiol a la resina clorotritilo y sintetizaron dos librerías con derivados fenólicos y sulfamatos en C-3 y sustituyentes hidrofóbicos en C-17 como potenciales inhibidores de la esteroide sulfatasa.²⁰¹

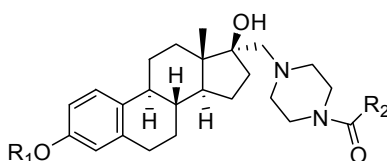


Figura 1.103. Derivados en C-3 y C-17 del estradiol

Por último, este grupo muestra el anclaje de derivados de estradiol sobre un soporte polimérico usando el linker de tipo sulfamato, para permitir la síntesis de dos librerías de fenoles y sulfamatos, dependiendo del método de liberación de la resina, ácido o nucleófilo, respectivamente.²⁰² Cada una de estas librerías está compuesta por 48 16β-aminopropil derivados, que permite identificar inhibidores potenciales de terapias hormonales en enfermedades dependientes de estrógenos.

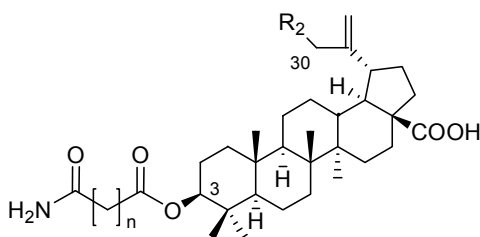


Figura 1.104. Derivados en C-3 y C-30 del lupeol

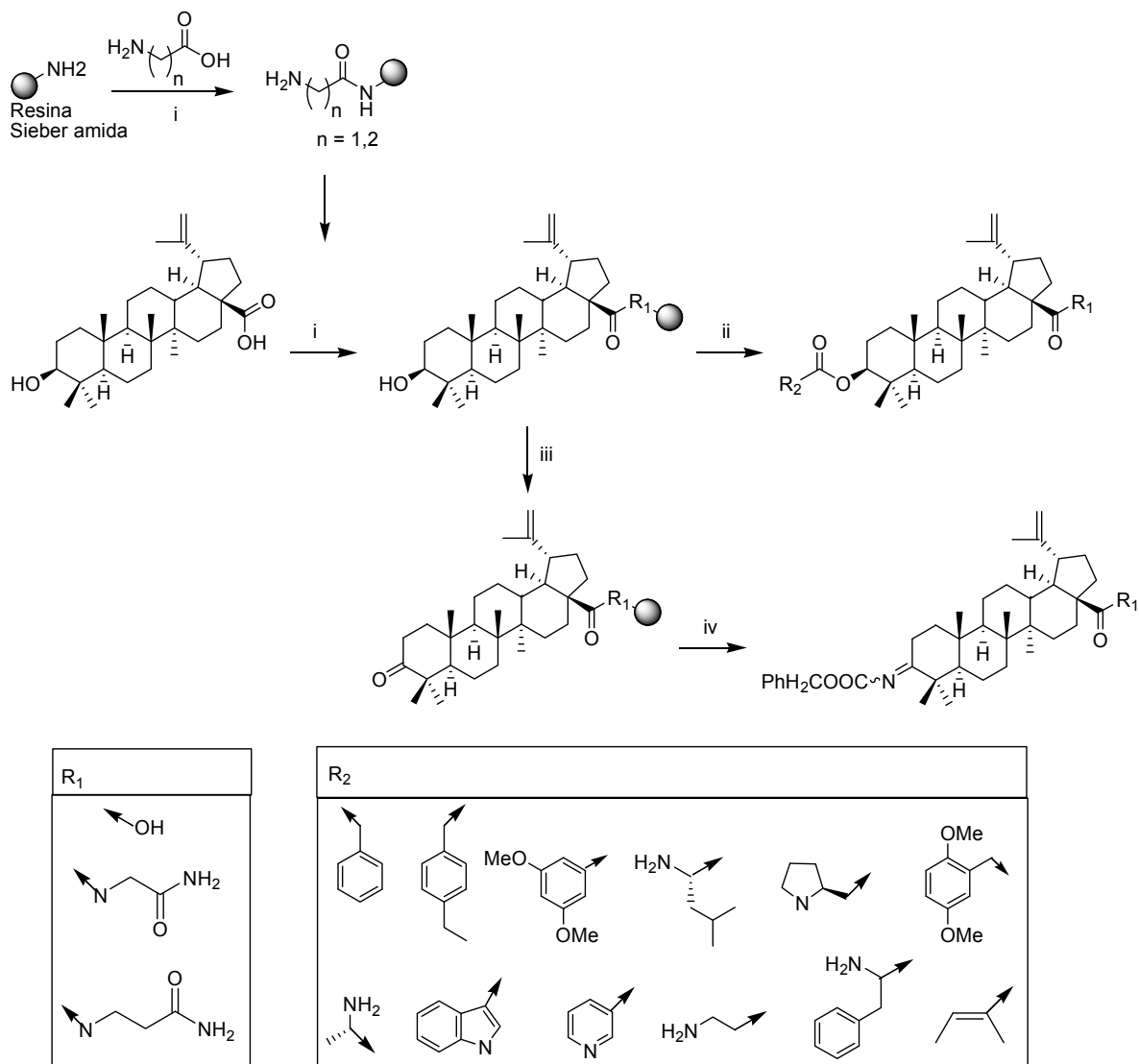
Para el caso de triterpenos pentacíclicos, cabe destacar el trabajo de Kundu et al.,²⁰³ donde se describe la síntesis de una librería de lupeol con resinas de tipo amida a través de ácidos alifáticos dicarboxílicos. Se obtuvieron 96 compuestos que permitieron introducir

²⁰¹ Cibonau, L. C.; Poirier, D. *J. Comb. Chem.* **2003**, 5, 429

²⁰² Ciobanu, Liviu C.; Poirier, Donald. *ChemMedChem* **2006**, 1, 1249.

²⁰³ Srinivasan, T.; Srivastava G. K.; Pathak A.; Batra S.; Singh S. K.; Puri S. K.; Kundu B.; *Bioorganic & Medicinal Letters* **2002**, 12, 2803.

diversidad en el esqueleto del lupeol, incrementar su lipofilidad debido a la cadena alifática, y aumentar hasta 9 veces la actividad antimalárica frente *Plasmodium falciporum*. Los puntos de diversidad, en este caso, fueron C-3 y C-30 (ver Fig. 1.104).



(i) HOBt, DIPCDI, DMF; (ii) a. R₂COOH, DMAP, DIPCDI; b. 2% TFA-CH₂Cl₂; (iii) PDC, DMF; (iv) a. NH₂OH, HCl, py; b. PhCH₂COOH, DMAP, HOBt, DIPCDI; c. 2% TFA-CH₂Cl₂

Figura 1.105. Librería de ácido betulínico según Kundu et al.

Se comprobó de este modo que usando técnicas combinatorias se pueden obtener derivados en los cuáles la actividad se incrementa sensiblemente con respecto al lupeol de partida.

Otro estudio de estos mismos autores se centra en el ácido betulínico y ursólico para la generación de librerías combinatorias con dos puntos de diversidad (el hidroxilo de C-3 y el grupo carboxílico C-28).²⁰⁴ En primer lugar, se introdujeron una serie de aminoácidos entre la resina y el grupo carboxílico de C-28 y posteriormente las modificaciones se centraron en el hidroxilo de C-3 por esterificación con una gran variedad de ácidos carboxílicos, por oxidación del hidroxilo a 3-oxo o formación de ésteres derivados de oximas. Se obtuvo así para cada ácido una librería compuesta por 18 elementos, de los que se encontró que cuatro compuestos eran hasta 5 veces más activos como agentes antimalarios que los productos naturales.

²⁰⁴ Pathak A.; Singh S. K. ; Farooq Biabani M. A. ; Kulshreshtha D. K. ; Puri S. K. ; Srivastava S. ; Kundu B.; *Combinatorial Chemistry & High Throuput Screening*, **2002**, 5, 241.

1.6 OBJETIVOS

El trabajo de investigación que se expone en esta Memoria se encuadra dentro del campo de los Productos Naturales en el área de Química Orgánica, por cuanto la materia prima utilizada procede de los desechos de molturación de la aceituna, ya que se ha conseguido un óptimo aprovechamiento de los mismos debido al método de aislamiento establecido que, además, ha derivado en una patente. Los ácidos oleanólico y maslínico, principales componentes de estos residuos, y algunos derivados de ellos, han manifestado numerosas y variadas actividades biológicas lo que suscita el desarrollo de estudios frente a distintas líneas celulares cancerígenas, evaluándose además su efecto apoptótico.

Habida cuenta de las interesantes y prometedoras actividades biológicas de distintos terpenos que poseen función oxigenada sobre uno de los metilos inactivados de C-4, se pretende funcionalizar el *gem*-dimetilo de esta posición en los esqueletos de los ácidos oleanólico y maslínico utilizando la ciclopaladación regioselectiva como método sintético y así obtener nuevas estructuras con actividades potencialmente farmacológicas..

Por otro lado, se pretende la desoxigenación del anillo A tanto del ácido oleanólico como de ácido maslínico para obtener un único producto de partida que permita continuar el estudio de apertura del anillo C, iniciado ya en nuestro Grupo de Investigación. Se persigue la obtención de manera simultánea de *trans*- y *cis*-decalinas a través de la degradación de molécula triterpénica. La *trans*-decalina que procede de los anillos A y B del esqueleto de partida, podría ser adecuada para la semisíntesis de Ambrox® y otros drimanos bioactivos, mientras que la *cis*-decalina que deriva de los anillos D y E, puede ser idónea para la semisíntesis de triterpenos irregulares como camelliol A y B, así como otros triterpenos de tipo preoleanatetraeno o seco-C-oleanano.

Por último se inician estudios dentro del marco de la Química en Fase Sólida, y para ello se intenta sintetizar análogos de Kahalalido F, péptido lactónico de origen natural marino, con los ácidos oleanólico y maslínico en el extremo N-terminal de la cadena peptídica para mejorar sus interesantes propiedades terapéuticas. Además, teniendo en cuenta las propiedades del ácido maslínico y el problema de la baja solubilidad de este tipo de compuestos en medios acuosos se desarrolla la síntesis de derivados de este ácido que contienen distinto tipo de fragmentos aminoácidos con la intención de proporcionar compuestos más potentes y además incrementar la solubilidad del compuesto de partida.

La presente memoria se ha estructurado de manera que abarque cada uno de los distintos bloques de objetivos por separado, sacrificando la linealidad del estudio para una mayor comprensión.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 AISLAMIENTO DE ÁCIDOS OLEANÓLICO Y MASLÍNICO. OBTENCIÓN DERIVADOS INMEDIATOS.

2.1.1 AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE ÁCIDO OLEANÓLICO Y ÁCIDO MASLÍNICO

Como ya se ha comentado en la Introducción de la presente Memoria y como se detallará en la Parte Experimental, el ácido oleanólico (ácido 3 β -hidroxi-12-oleanen-28-oico) (**1**) y el ácido maslínico (ácido 2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oico) (**2**) son dos ácidos triterpénicos que se aíslan de los subproductos de la industria olivarera en cantidades apreciables. Los dos compuestos poseen esqueleto de 12-oleaneno, pero mientras ácido maslínico presenta dos grupos hidroxilo en el anillo A, uno en disposición 2 α y otro 3 β , ambos ecuatoriales, en ácido oleanólico existe un único hidroxilo ecuatorial en dicho ciclo, en disposición β en el carbono 3 (Fig. 2.1).

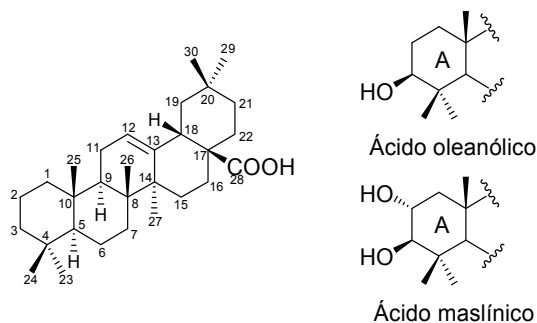


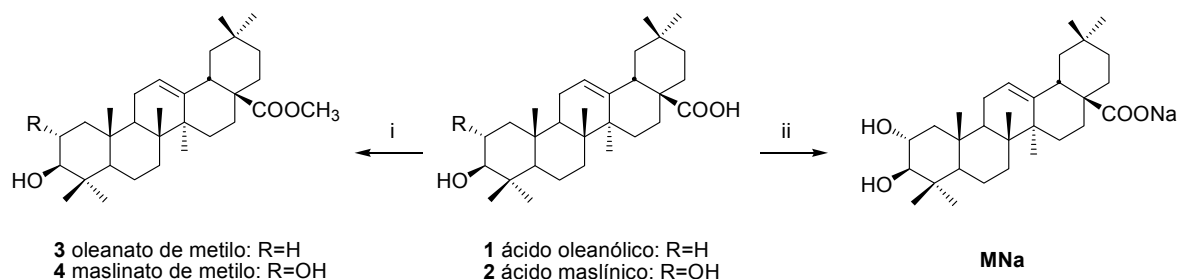
Figura 2.1. Estructura del ácido oleanólico y ácido maslínico

El ácido oleanólico (**1**) (AO) presenta un espectro de masas que indica una fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_3$ siendo, por tanto, su peso molecular de 456 u.m.a. En su espectro de 1H RMN se observa a δ 5.15 un doble doblete ($J_1 = J_2 = 3.6$ Hz) que, por desplazamiento y tipo de señal, debe corresponder al protón etilénico de C-12 acoplado con los dos hidrógenos de C-11. A δ 3.07 se localiza un doble doblete ($J_1 = 6.9$ Hz y $J_2 = 9.0$ Hz), que se atribuye al protón axial geminal al hidroxilo 3β ecuatorial y a δ 2.71 se sitúa el protón alílico de C-18 como doble doblete por su acoplamiento con los dos protones H-19 ($J_1 = 4.7$ Hz y $J_2 = 14.0$ Hz). Por último, se observan las señales de siete metilos singletes a δ 1.01, 0.85, 0.80, 0.78, 0.78, 0.65, 0.64. La estructura propuesta para este producto **1** queda también confirmada mediante ^{13}C RMN (véase Parte Experimental) ya que sus 30 carbonos se reparten de forma que hay siete metílicos, diez metilénicos, cinco metínicos (uno de ellos oxigenado, C-3, a δ 78.7 y otro de ellos etilénico, C-12, a δ 122.2), siete cuaternarios (uno de ellos etilénico, C-13, a δ 143.8) y un carbono carboxílico (C-28, a δ 180.8).

El ácido maslínico (**2**) (AM) presenta características físicas y espectroscópicas similares a las de ácido oleanólico (**1**), pero posee mayor polaridad como consecuencia de la presencia de otro hidroxilo en C-2. Su peso molecular es de 472 u.m.a. y su fórmula molecular $C_{30}H_{48}O_4$, lo que confirma la presencia del citado hidroxilo. El espectro de 1H RMN de ácido maslínico muestra similitudes con el de ácido oleanólico, pero aparece una nueva señal a δ 3.45 (1H, ddd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 9.1$ Hz, $J_3 = 11.2$ Hz) atribuible a H-2, que se acopla con H-3 (δ 2.84, 1H, d) con una constante de acoplamiento de 9.1 Hz, que indica una disposición axial de ambos. H-2 se acopla también con los dos protones del carbono 1 ($J_{1\beta,2\beta} = 4.4$ Hz, $J_{1\alpha,2\beta} = 11.2$ Hz). En cuanto al espectro de ^{13}C RMN, se comprueba con respecto al de ácido oleanólico (**1**) la desaparición de un carbono metilénico (el de C-2) y la aparición de un nuevo carbono metínico oxigenado (δ 68.2). El resto de señales son similares, variando ligeramente el desplazamiento de algunos carbonos como consecuencia de la presencia de un hidroxilo más en el anillo A.

2.1.2 OBTENCIÓN DE DERIVADOS INMEDIATOS DE ÁCIDO OLEANÓLICO Y ÁCIDO MASLÍNICO

En la siguiente figura se muestran las reacciones que han permitido la obtención de derivados inmediatos del ácido oleanólico y maslínico, y que serán empleados en el presente trabajo para la realización de diferentes reacciones.



(i) (a) NaOH, THF (1:5), 3h, reflujo; (b) CH₃I (1:2.5), 3h, reflujo, 95 %; (ii) Na-MeOH, reflujo 1 h

Figura 2.2. Obtención de derivados inmediatos de los ácidos triterpénicos

Por un lado, los ácidos triterpénicos se someten a un proceso de esterificación que simplifica los procesos cromatográficos posteriores y que permiten a su vez tener protegido el grupo ácido frente a distintos reactivos. Para ello, se disuelven el ácido oleanólico (1) y el ácido maslínico (2) en THF y se mantiene a reflujo durante 3 horas con NaOH 5N, se añade CH₃I y se deja 1 hora más a reflujo, obteniéndose con gran rendimiento los productos 3 y 4, respectivamente.

De esta forma, tras la esterificación del ácido oleanólico (1) se aísla con alto rendimiento oleanoato de metilo (3), que posee un peso molecular (470 u. m. a.) acorde con la fórmula molecular C₃₁H₅₀O₃. En su espectro de ¹H RMN se aprecia la aparición de los 3H del metilo del éster a δ 3.60 (3H, s) y se detecta en el espectro de ¹³C RMN, asimismo, una nueva señal a δ 51.6 que corresponde al carbono de dicho metilo, siendo el resto del espectro prácticamente idéntico al de ácido oleanólico (1).

Del mismo modo se logra esterificar el ácido maslínico (2), formándose maslinato de metilo (4). El espectro de masas de alta resolución (EMAR) de 4 indica un peso molecular de 486 u.m.a. compatible con la fórmula molecular C₃₁H₅₀O₄. El espectro de ¹H RMN de 4 presenta una señal nueva a δ 3.60 (3H, s, metilo del éster metílico) y el de ¹³C RMN a δ 51.6 (carbono del metilo del éster sobre C-28).

La formación de la sal sódica de 2 (MNa), más soluble en medios acuosos que el ácido maslínico, se desarrolla con la intención de llevar a cabo distintas pruebas biológicas. Para ello,

al compuesto **2** en MeOH se le adiciona la cantidad necesaria de una disolución de metóxido sódico, se mantiene a reflujo durante 1 hora y se deja enfriar en frío hasta cristalización.

2.2 HIDROXILACIÓN REMOTA DEL *GEM*-DIMETILO EN ÁCIDOS OLEANÓLICO Y MASLÍNICO

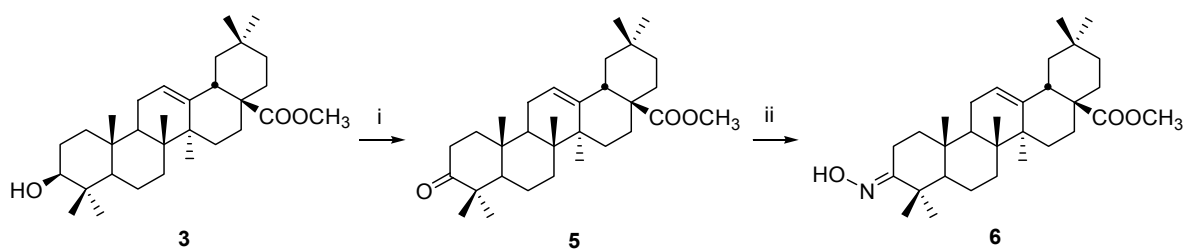
A la vista de las múltiples, interesantes y prometedoras actividades biológicas de distintos triterpenos pentacíclicos (naturales y sintetizados) ya comentados en la Introducción de esta Memoria, que poseen función oxigenada sobre uno de los metilos inactivados de C-4, y dentro de nuestro programa de síntesis de diferentes triterpenos oleananos, se pretende descubrir nuevas estructuras con actividades farmacológicas potenciales. Vamos a proporcionar, por consiguiente, material para test biológicos que nos va a permitir comprobar si la actividad biológica de estos análogos se ve incrementada con respecto al no funcionalizado. Así llevaremos a cabo oxigenaciones remotas sobre el *gem*-dimetilo de C-4 de los ácidos oleanólico y maslínico, utilizando la ciclopaladación regioselectiva como método sintético.

2.2.1 HIDROXILACIÓN DIRIGIDA DE OLEANATO DE METILO (3). SÍNTESIS DE 23-HIDROXIERITRODIOL Y HEDERAGENINA

2.2.1.1 Activación-funcionalización del metilo ecuatorial de 3

Nuestro objetivo es la hidroxilación del metilo ecuatorial impedido de C-4 (C-23) en el oleanoato de metilo (**3**). Esta funcionalización se lleva a cabo según el método de Baldwin,⁵⁵ que transcurre, como ha sido comentado en los antecedentes bibliográficos, a través de la ciclopaladación del derivado que posee una oxima sobre C-3.

Para ello se oxida el grupo hidroxilo de C-3 en el compuesto **3** al correspondiente 3-cetoderivado **5**²⁰⁵ con reactivo de Jones (Fig. 2.3). La formación de este producto es fácilmente demostrable por sus características espectroscópicas, ya que en su espectro de ¹H RMN desaparece la señal del protón geminal de la función oxigenada del anillo A y el nuevo carbonilo que se forma se sitúa a δ 217.9 en el espectro de ¹³C RMN. Además, su peso molecular de 468 u.m.a (C₃₁H₄₈O₃) indica una pérdida de dos unidades de masa con respecto al éster de partida.



(i) reactivo Jones, acetona, t.a., 1 h, 98%; (ii) NH₂OH.HCl, Py, 50 °C, 45 min, 90%.

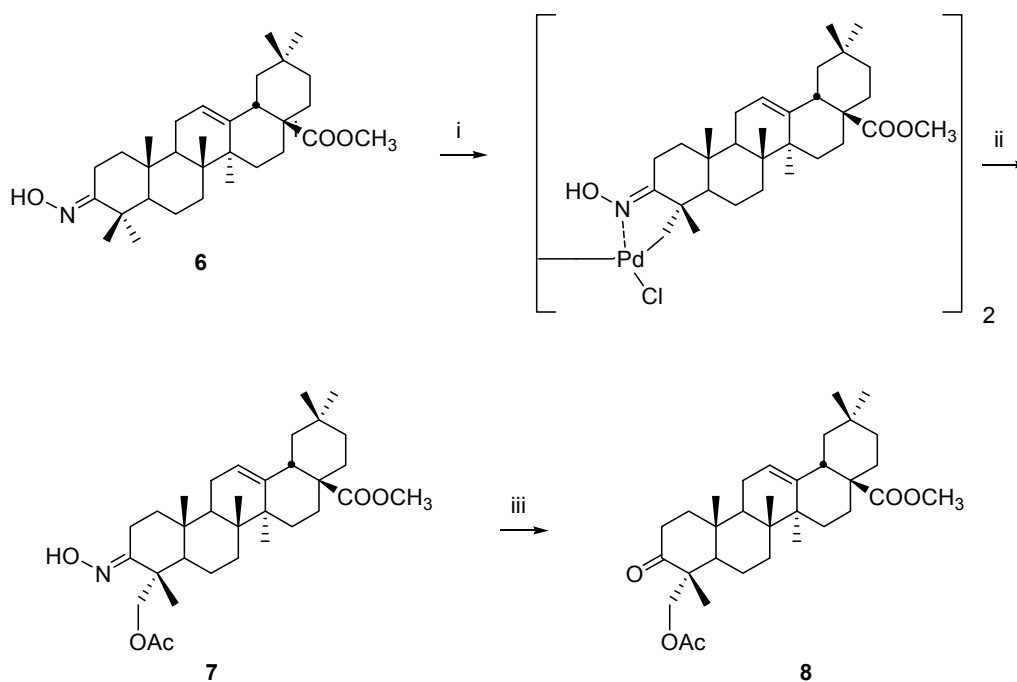
Figura 2.3. Formación de la oxima **6**

Posteriormente, se forma la 3-oxima **6** con hidrocloreuro de hidroxilamina en un excelente rendimiento (90%). La espectrometría de masas muestra para este producto un peso molecular impar de 483 u.m.a. indicando que el compuesto tiene un átomo de nitrógeno y, además, concuerda con la fórmula molecular C₃₁H₄₉NO₃. Por otra parte, el espectro de ¹³C RMN muestra un desplazamiento químico menor de C-3 (δ 167.1) como consecuencia de la transformación del carbonilo situado en esta posición.

La oxima **6** se trata con Na₂PdCl₄ para dar un complejo dimérico intermedio organopaladado, cuya acetilación, oxidación con Pb(OAc)₄ y posterior reducción con NaBH₄

²⁰⁵ García-Granados, A.; Dueñas, J.; Melguizo, E.; Moliz, J.N.; Parra, A.; Pérez, F.L.; Dobado, J.A.; Molina, J. *J. Chem. Research (S)* **2000**, 212-213; *J. Chem. Research (M)* **2000**, 2, 653.

permite obtener el compuesto **7**. Es destacable para esta molécula la aparición en el espectro de ^1H RMN de un sistema AB perteneciente a un grupo acetoximetileno (δ 4.11 y 4.06) y la pérdida de un grupo metilo sobre C-4 (C-23 o C-24). Además, es fácilmente apreciable la señal singlete del metilo del grupo acetato a δ 2.04, cuyo carbonilo se posiciona a δ 171.1 en el espectro de ^{13}C RMN. Por último, el peso de 541 u.m.a obtenido en la espectrometría concuerda con la fórmula $\text{C}_{33}\text{H}_{51}\text{NO}_5$.

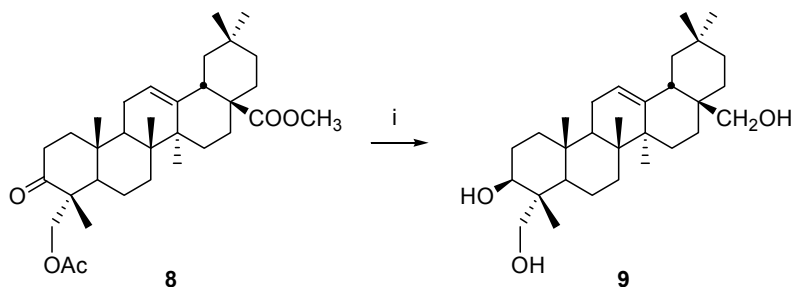


(i) Na_2PdCl_4 , HOAc, KOAc, t.a., 72 h, 90%; (ii) a. DMAP, Et_3N , Ac_2O , t.a., 45 min; b. THF, Py, $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, HOAc, t.a., 24 h; c. NaBH_4 , NaOH (1N), t.a., 10 min, 75% (para los tres pasos); (iii) TiCl_3 , NH_4OAc , H_2O , t.a., 4h, 90%.

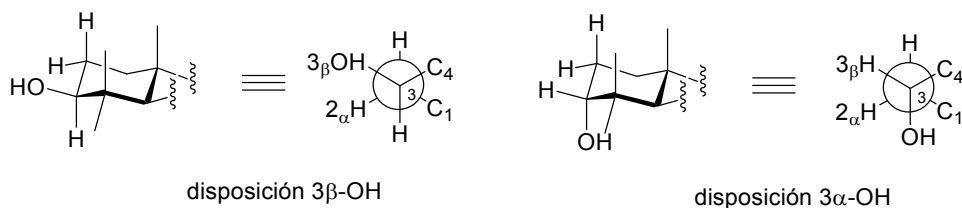
Figura 2.4. Síntesis del derivado 23-acetoxi **8**

Finalmente, la cetona se regenera por hidrólisis de la oxima **7** con TiCl_3 para dar un 90% de **8** (Fig. 2.4). En el espectro ^1H RMN se observa también la existencia del sistema AB (δ 4.08 y 4.04), aunque se diferencia principalmente del espectro de **7** en la aparición de la señal de carbonilo a δ 214.5 en el espectro de ^{13}C RMN, y en la espectrometría de masas que muestra la pérdida de 15 unidades (526 u.m.a $\text{C}_{33}\text{H}_{50}\text{O}_5$).

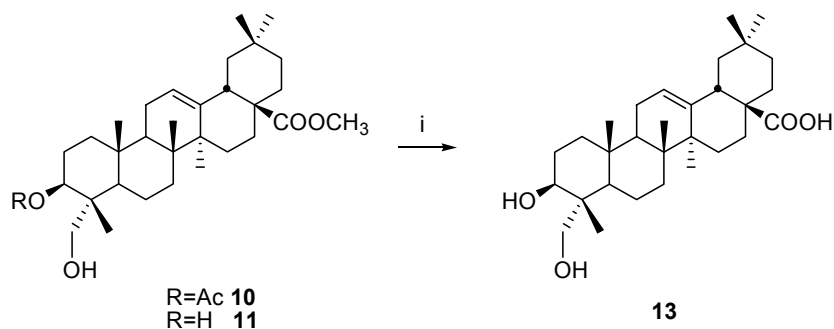
2.2.1.2 Síntesis de 23-hidroxiertrodíol

(i) LiAlH_4 , THF, reflujo, 1 h, 94%.**Figura 2.5.** Síntesis de 23-hidroxiertrodíol (**9**)

Cuando el compuesto **8** se trata con LiAlH_4 a reflujo conduce a 23-hidroxiertrodíol, **9** (Fig. 2.5). Este compuesto presenta un EMAR que proporciona un peso molecular de 458 u.m. a., compatible con la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3$. El espectro de ^1H RMN muestra un doblete a δ 3.63 (1H, dd, $J_1=6.8$ Hz, $J_2=9.0$ Hz) cuyas constantes de acoplamiento sugieren la disposición β para el hidroxilo geminal de C-3, confirmando la reducción con LiAlH_4 por la cara menos impedida, α (Fig. 2.6). Además, se observan dos dobletes (δ 3.53 y 3.20) característicos de los hidrógenos que hay ahora en C-28, como consecuencia de la reducción del carboxi metoxilo. Este mismo hecho se comprueba en el espectro de ^{13}C RMN, ya que hay un desplazamiento de este carbono a campo más alto, pues pasa de ser de tipo carboxílico (δ 178.3 en **8**) a metileno oxigenado (δ 69.7 en **9**). Además la eliminación del grupo acetato en C-23 se comprueba principalmente por la desaparición de la señal singlete del metilo de este grupo que en **8** se situaba a δ 2.01 ppm. Asimismo, los datos físicos y espectroscópicos coinciden con los dados en bibliografía.⁶¹

**Figura 2.6.** Disposiciones del grupo hidroxilo sobre C-3

Los compuestos **10** y **11** se desmetilan en C-28 por tratamiento con LiBr a reflujo en DMF para sintetizar hederagenina **13** (ácido 23-hidroxioleanólico). La característica primordial del espectro de ^1H RMN, para este compuesto, se centra en la desaparición del singlete correspondiente al metilo del éster de C-28. Este mismo grupo es el que diferencia el espectro de ^{13}C RMN, ya que en los compuestos **10** y **11** el carbonilo se encuentran a δ 178.4, mientras que en **13** el desplazamiento es δ 181.8, como corresponden a carbonos de tipo ácido.



(i) LiBr, DMF, reflujo, 48 h, 90%.

Figura 2.8. Síntesis de hederagenina

2.2.1.4 Regioselectividad de la oxidación.

En este caso la funcionalización, tal y como ya habían demostrado otros autores,⁵⁵⁻⁵⁸ ocurre únicamente en el metilo ecuatorial, que está en disposición α (C-23). De ahí que los compuestos **9** y **13** muestren desplazamientos a campo bajo de la señal de $3\alpha\text{-H}$ (δ 3.63 para **9** y δ 3.67 para **13**) con respecto al 24-hidroxiolado descrito en literatura (δ 3.34).⁶⁵ Estos desplazamientos pueden ser interpretados por el efecto desapantallante del grupo hidroxilo situado en C-23. Esta hidroxilación regioselectiva se justifica, además, por los datos espectroscópicos de ^{13}C RMN de la serie de compuestos **7-13**. Así en la Tabla 2.1, que muestra los desplazamientos más significativos de ^{13}C RMN de **9** y **11** (23-hidroxi-eritrodioleato y oleanoato de 23-hidroximetilo, respectivamente), los datos dados en literatura para estos compuestos y los del correspondiente derivado 24-hidroxiolado, se puede observar que la principal diferencia entre los 23-hidroxi-derivados (**9** y **11**) y el 24-hidroxi-derivado se encuentra en C-3, C-5 y C-23 o C-24.

Tabla 2.1. Desplazamientos de ^{13}C RMN más significativos de los 3β -hidroxi-12-oleanenos derivados

Carbono	3	9	11	23-hidroxi eritrodol	Hederagenina ester metílico	24-hidroxi oleanoato metílico
1	38.5	38.4	38.2	38.3	38.1	38.8
2	27.8	26.9	27.8	26.0	26.4	27.6
3	79.1	76.9	77.0	75.7	76.4	80.8
4	38.8	41.9	41.9	41.7	41.7	41.6
5	55.3	49.8	49.9	49.3	49.7	55.9
10	37.1	36.9	37.0	36.8	36.9	35.7
23		72.2	72.2	70.3	71.3	22.4
24		11.4	11.5	11.6	11.6	64.4

Los 23-hidroxiderivados muestran efectos γ considerables y desapantallantes sobre los desplazamientos de C-3 (de -2.2 a -3.4 ppm), C-5 (de -5.4 a -6.0 ppm) y C-24 (aproximadamente de -4.0 ppm) por las interacciones 1,3 diaxiales entre los átomos de hidrógeno C-23, y los carbonos C-3 y C-5.²⁰⁶ Estos efectos no están presentes cuando la nueva hidroxilación está situada sobre el grupo metilo de C-24 y, consecuentemente, estos carbonos resuenan a unos desplazamientos de δ 80.8 (C-3), δ 55.9 (C-5) y δ 64.4 (C-24). La confirmación final de la asignación del grupo CH_2OH de C-23 se obtiene mediante experiencia NOE del compuesto **11**, que muestra un incremento entre las señales de 23- CH_2OH y las señales de H-3 y H-5 (Fig. 2.9).

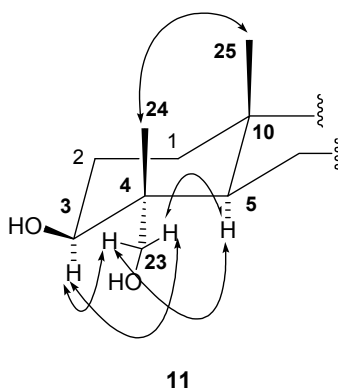


Figura 2.9. Correlaciones significativas de NOE para el anillo A en el compuesto **11**

²⁰⁶ García-Granados, A.; Martínez, A.; Honorato, M. E. *Magn. Reson. Chem.* **1986**, *24*, 853.

2.2.2 HIDROXILACIÓN DIRIGIDA DE MASLINATO DE METILO (4). SÍNTESIS DE ÁCIDO HIPTÁTICO-A.

Para el maslinato de metilo (**4**) se lleva a cabo una secuencia de reacciones similar a las comentadas para el oleato de metilo (**3**).

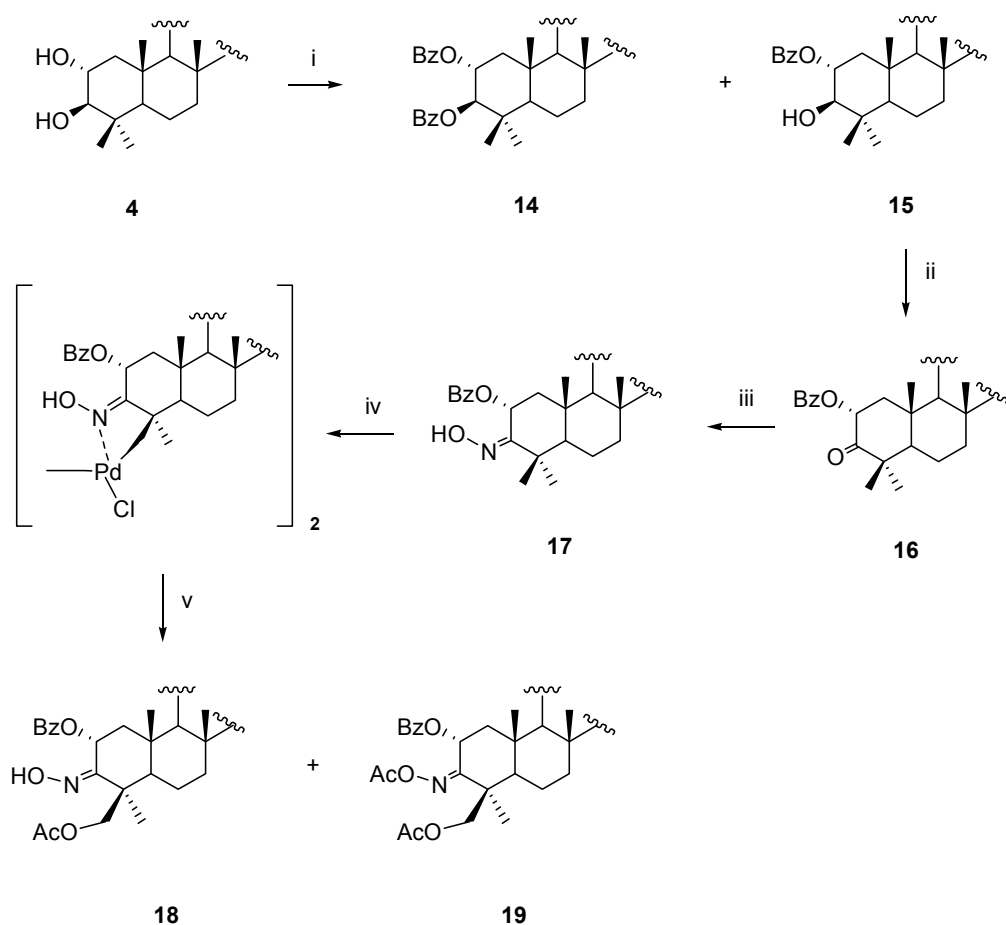
2.2.2.1 Oxidación de 4 vía maslinato protegido en C-2 como grupo benzoiloxi.

2.2.2.1.1 Activación-funcionalización de 3-oxo-2 α -benzoiloximaslinato de metilo

El tratamiento con cloruro de benzoilo en piridina del maslinato de metilo (**4**) conduce a la mezcla de dos productos. La formación de estos derivados (**14** y **15**) (Fig. 2.10) se comprueba mediante sus datos espectroscópicos. En los espectros de ^1H RMN de ambos compuestos se aprecia, por un lado, la aparición de las señales del nuevo grupo que se ha unido a la molécula, dando una agrupación de protones de tipo aromático (δ 7.4-8.2). Por otra parte, las señales de H-2 y H-3 de **14**, se ven desapantalladas con respecto al producto de partida, localizándose ahora a δ 5.46 y 5.21 ppm, mientras que en **15** sólo se aprecia en la señal de H-2 un desplazamiento a campo bajo (δ 5.19). Igualmente, en los espectros de ^{13}C RMN se observan tanto las señales de los anillos aromáticos, como las que corresponden a los nuevos carbonilos, localizándose estas últimas en torno a δ 166 ppm. Por último, los EMAR de cada compuesto confirman la formación de estos derivados proporcionando el peso molecular esperado para cada uno (694 u.m.a para **14** y 590 u.m.a para **15**). Así pues, el producto minoritario es el dibenzoiloxi y el mayoritario el monoderivado.

El derivado que posee el alcohol libre en C-3 (**15**) se oxida con reactivo de Jones a la cetona (**16**) con un rendimiento prácticamente cuantitativo. El producto **16** posee un peso molecular de 588 u.m.a acorde con la fórmula molecular $\text{C}_{38}\text{H}_{52}\text{O}_5$ y con la pérdida de dos unidades, como consecuencia de la oxidación del grupo hidroxilo. Además, en su espectro de ^1H RMN se observa la desaparición del protón geminal al hidroxilo en C-3, mientras que en el espectro de ^{13}C RMN aparece la señal del nuevo carbonilo a δ 209.0 ppm.

La oxima derivada de **16** se prepara mediante tratamiento con $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ en piridina (Fig. 2.10). El compuesto obtenido, **17**, presenta en el espectro de ^{13}C RMN un desplazamiento químico de la señal del carbonilo de C-3 a campo alto (δ 162.3) debido a la transformación del grupo ceto. Además, el peso molecular impar obtenido (603 u. m. a.) corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{38}\text{H}_{53}\text{NO}_5$.



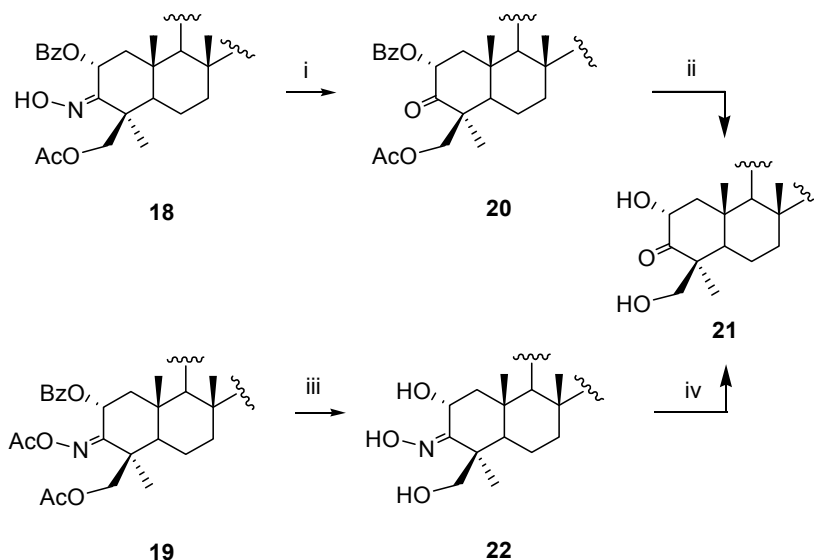
(i) cloruro de benzoilo, t.a., 10 min, **14** (20%) y **15** (80%); (ii) reactivo de Jones, acetona, t.a., 1 h, 98%; (iii) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, Py, 50 °C, 45 min, 70%; (iv) Na_2PdCl_4 , HOAc, KOAc, t.a., 72 h, 90%; (v) a. DMAP, Et_3N , Ac_2O , t.a., 45 min; b. THF, Py, $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, HOAc, t.a., 24 h; c. NaBH_4 , NaOH (1N), t.a., 10 min, **18** (30%) y **19** (35%) (para los tres pasos).

Figura 2.10. Síntesis de los 24-acetoxi derivados **18** y **19**

La oxima **17** se trata con el complejo de Na_2PdCl_4 para dar lugar al paladacilo correspondiente, que se somete al proceso de funcionalización acetilando, oxidando posteriormente con $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ y, por último, reduciendo con NaBH_4 para obtener las oximas funcionalizadas (compuestos **18** y **19**). Ambos productos presentan un sistema AB (δ 4.43-4.12 y 4.46-4.33, respectivamente) que correspondería al nuevo grupo acetoximetileno del grupo metilo sobre C-4. Para el caso concreto de **19** se observa además dos señales singletes que integran por tres hidrógenos y que corresponden a los metilos de los dos grupos acetatos. También se aprecian los carbonilos del acetato en el espectro de ^{13}C RMN (δ 171.1 para **18**, δ 167.7 y 170.7 para **19**). Finalmente, los pesos moleculares obtenidos (663 y 703 u. m. a.) concuerdan con sus fórmulas moleculares ($\text{C}_{40}\text{H}_{55}\text{NO}_7$ y $\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{NO}_8$, respectivamente).

2.2.2.1.2 Obtención de los derivados hidroxilados de 3-oxo-2 α -benzoiloximaslinato de metilo.

La hidrólisis de la oxima **18** con TiCl_3 proporciona el 3-oxoderivado **20**. En la espectroscopía de este compuesto se sigue apreciando el sistema AB (δ 4.79 y 4.00) del metilo que se ha funcionalizado, además se ha apantallado la señal de H-2 a δ 5.83 como consecuencia del cambio de grupo funcional sobre C-3. Este hecho también se aprecia en la espectrometría de masas, donde se observa una pérdida de 15 u.m.a.

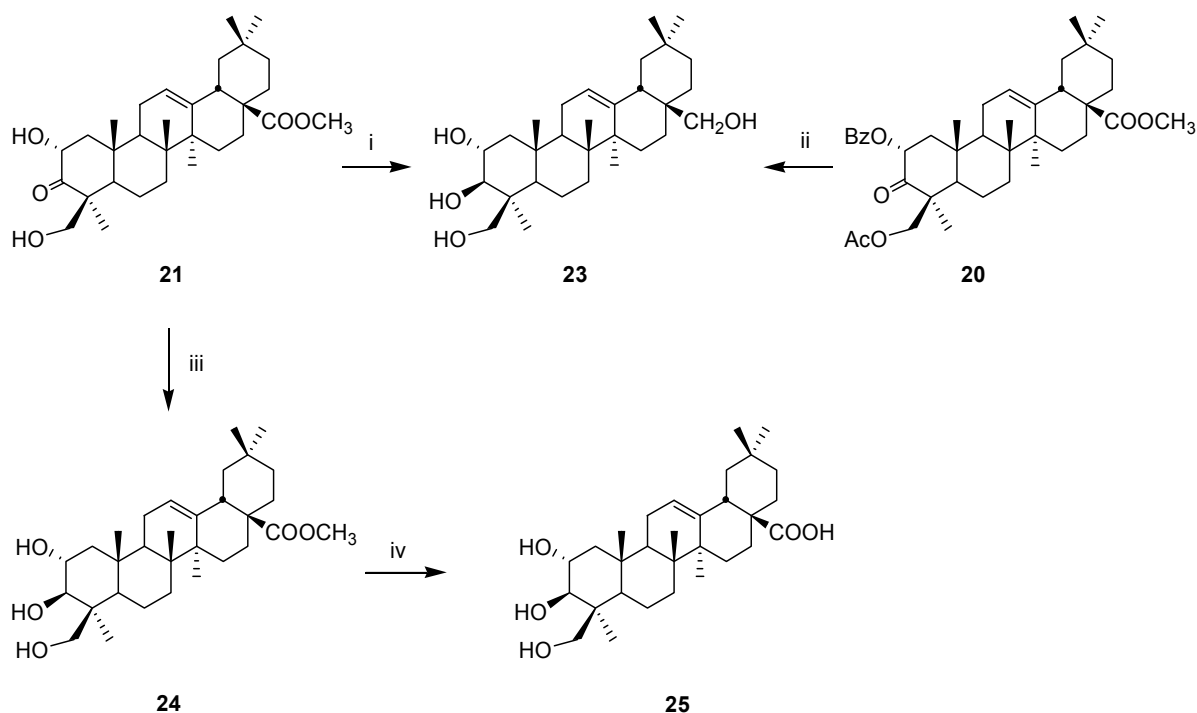


(i) TiCl_3 , NH_4OAc , H_2O , t.a., 4h, 75%; (ii) MeOH , H_2O , KOH , t.a., 2 h, 85%; (iii) MeOH , H_2O , KOH , t.a., 2 h, 75%; (iv) TiCl_3 , NH_4OAc , H_2O , t.a., 4h, 85%.

Figura 2.11. Hidrólisis y saponificación de las oximas **18** y **19**

Por otra parte, la saponificación de **20** con potasa metanólica conduce al derivado **21**. Es destacable en el espectro de ^1H RMN de este compuesto la desaparición de la señal singlete correspondiente al metilo del acetato que se ha eliminado, igualmente se hace reseñable que la señal de H-2 se apantalla (δ 4.54) con respecto a producto de partida **20**, como resultado de la desprotección del grupo hidroxilo.

Por otro lado, la saponificación completa de **19** con KOH-MeOH conduce al derivado trihidroxilado **22**, cuya hidrólisis lleva también al compuesto **21**. Una de las diferencias que se puede observar para el producto **22** en el espectro de ^1H RMN es la pérdida de las señales singletes de los metilos de los dos acetatos, y las señales de los correspondientes carbonilos en el espectro de ^{13}C RMN. Además, la señal de H-2 se desplaza a campo alto (δ 4.90) al igual que las señales del sistema AB del metilo que se ha oxidado en la funcionalización remota (δ 3.79 y 3.51).



(i) LiAlH_4 , THF, reflujo, 1h, 95%; (ii) TiCl_3 , NH_4OAc , H_2O , t.a., 4h, 85%; (iii) *i*-PrOH, H_2O , NaBH_4 , reflujo, 12h, 80%; (iv) LiBr , DMF, reflujo, 48 h, 90%.

Figura 2.12. Reducción de los 3-cetoderivados **21** y **20**

Al derivado tetrahidroxilado **23** se puede llegar indistintamente por la reducción de **20** ó **21** con LiAlH_4 a reflujo (Fig. 2.12). Es de destacar en el espectro de ^1H RMN de **23** la aparición de la señal geminal del nuevo hidroxilo sobre C-3 en forma de doblete δ 3.14 (1H, d, $J=9.8$ Hz) con una constante de acoplamiento grande que indica la disposición β para este hidroxilo debido a que la reducción del carbonilo de C-3 tiene lugar por la cara α . Se observa, además, un nuevo sistema AB (δ 3.52 y 3.19) que corresponde al metileno oxigenado generado por la reducción del ester metílico de C-28. Asimismo, en el espectro de ^{13}C RMN se aprecia cuatro carbonos oxigenados, dos de los cuales son metinos (δ 69.2 y 85.5) que corresponden a C-2 y C-3 y los otros son metilenos (δ 65.7 y 69.7) que se asocian con C-24 y C-28.

Si la reducción del producto **21** se lleva a cabo con NaBH_4 se forma el compuesto **24**, en el que la espectroscopía en el anillo A es similar a la de **23** y la diferencia se muestra en el mantenimiento de la señal singlete del metilo del ester (δ 3.60) en el espectro de ^1H RMN y la correspondiente señal en el espectro de carbono (δ 51.8), además el carbonilo de este grupo que se sitúa a δ 178.3.

Finalmente, el tratamiento de **24** con LiBr a reflujo de DMF proporciona el compuesto **25**, donde se desmetila el ester de C-28. Este hecho se confirma con la espectroscopía de esta

molécula, ya que en el espectro ^1H RMN desaparece el singlete característico del metoxilo y en el espectro de ^{13}C RMN la señal de C-28 varía de δ 178.3 a 181.8 como corresponde a un carbono de tipo ácido. Igualmente, la espectrometría muestra un peso molecular de 488 u.m.a de acuerdo con la fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_5$.

2.2.2.2 Regioselectividad en la funcionalización.

Los compuestos **23**, **24** y **25** son derivados hidroximetilenos que muestran unos desplazamientos a campo alto de las señales de H-3 α (δ 3.14, 3.14 y 3.04, respectivamente) comparado con los derivados 23-hidroxilados, obtenidos previamente, **9** y **13** (δ 3.63 y 3.67, respectivamente) y con los datos bibliográficos de arjunolato de metilo (δ 3.39).⁷²

Tabla 2.2. Desplazamientos de ^{13}C NMR más significativos de los derivados 2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanenos

Carbono	2	23	24	ácido hiptático-B	Sericoside	Arjunolato de metilo
1	46.4	46.6	46.5	46.1	47.5	46.0
2	69.0	69.2	69.2	68.7	68.6	68.7
3	83.9	85.5	85.5	85.8	85.7	80.1
4	39.4	43.4	43.4	43.7	43.9	42.5
5	55.3	55.9	56.0	56.0	56.6	48.8
10	38.4	39.4	39.4	39.2	38.4	38.2
23		23.8	23.8	24.2	24.6	69.9
24		69.7	68.3	65.7	65.6	12.9

Estos desplazamientos pueden ser debidos a la pérdida del efecto desapantallante que la función 23- CH_2OH ejerce en los compuestos **9**, **13** y arjunolato de metilo. Sin embargo, el H-3 α para los distintos derivados 24-hidroxilados, ácido hiptático-B y sericoside, están más apantallados y situados a δ 2.95 y 2.96, respectivamente. Estos datos parecen indicar que en el proceso de ciclopaladación de maslinato de metilo el grupo hidroxilo no se sitúa en C-23 si no sobre C-24, obteniéndose, de este modo, ácido hiptático-A, mientras que el derivado 23-hidroxilado esperado (ácido arjulónico) no se forma. Además, los datos espectroscópicos de ^{13}C NMR de los compuestos **23** y **24** (Tabla 2.2) muestran efectos *anti*- γ apantallantes para C-3 y C-5 ya que en este derivado 24-hidroxilado las interacciones de protón 1,3-diaxiales no son posibles, y por tanto, C-3 y C-5 están más desapantallados (δ 85.5 y δ 56.0, respectivamente).

Estos valores son comparables a los obtenidos para los derivados 24-hidroxilados, ácido hiptático-B y sericoside que se sitúan alrededor de δ 85.8 y 56.3 y más bajos que en el correspondiente derivado 23-hidroxilado, arjulonato de metilo (δ 80.1 para C-3 y δ 48.8 para C-5). Finalmente, la experiencia NOE del compuesto **24** confirma la funcionalización del metilo C-24, mostrando efectos NOE positivos entre el hidrógeno 2 β , los dos hidrógenos del grupo 24-hidroximetileno y los tres hidrógenos del metilo C-25 (Figura 2.13).

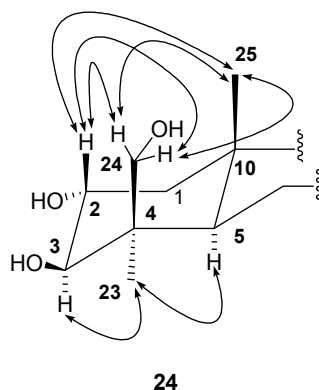
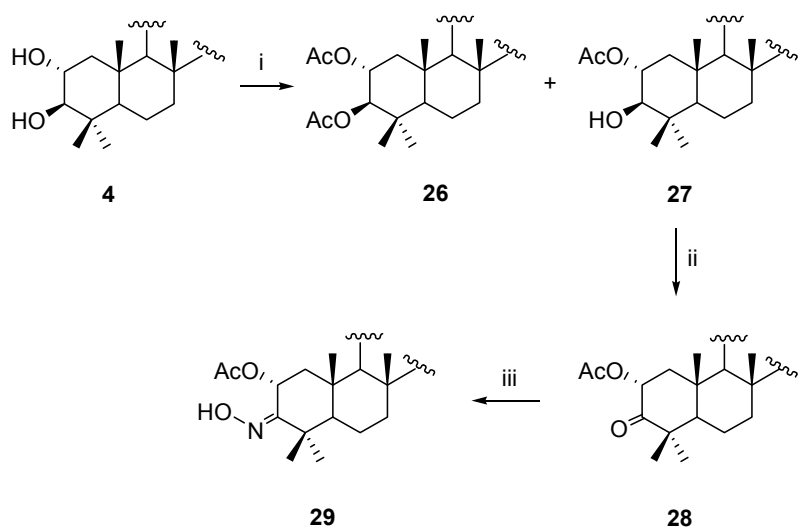


Figura 2.13. Correlaciones significativas de NOE para el anillo A en el producto **24**

2.2.2.3 Oxidación de 4 vía maslinato de metilo protegido en C-2 como derivado acetoxi.

La funcionalización del maslinato de metilo se lleva también a cabo protegiendo el grupo hidroxilo de C-2 como un derivado acetoxi, con la intención de comprobar si la disminución del efecto estérico del grupo funcional situado en disposición α , afecta al proceso de ciclopaladación, comprobándose si proporciona la oxidación del metilo C-23 ó C-24.

El tratamiento del maslinato de metilo con Ac_2O -py en condiciones suaves conduce a la mezcla de los derivados mono y diacetilado (**27** y **26**, respectivamente). Para el producto **26**, tanto el espectro de masas (570 u. m. a), como los espectros de RMN confirman la acetilación de los dos grupos hidroxilos del anillo A. Así, tanto el protón de H-2 como el de H-3 están desapantallados a δ 4.73 y 5.09 ppm, respectivamente, además aparecen dos metilos acetatos (δ 1.95 y 2.03 ppm) en el espectro de ^1H RMN y, por último, en el espectro de ^{13}C RMN aparecen dos carbonilos (δ 170.5 y 170.8 ppm) que corresponden a los grupos acetato. Por otro lado, el producto **27** manifiesta ser un monoacetato debido a su peso molecular (528 u.m.a.) y a la observación del espectro de ^1H RMN, donde se aprecia que el hidroxilo que se ha acetilado es el C-2 (δ 4.92) mientras que la señal de H-3 permanece a campo alto (δ 3.17). Además, surge un singlete a δ 2.05 que integra por tres hidrógenos y que se debe al metilo del acetato.



(i) Ac_2O , py, t.a., 12 h, **26** (30%) y **27** (70%). (ii) Reactivo Jones, acetona, t.a., 1h, 95%. (iii) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$, py, 50°C , 45 min, 75%.

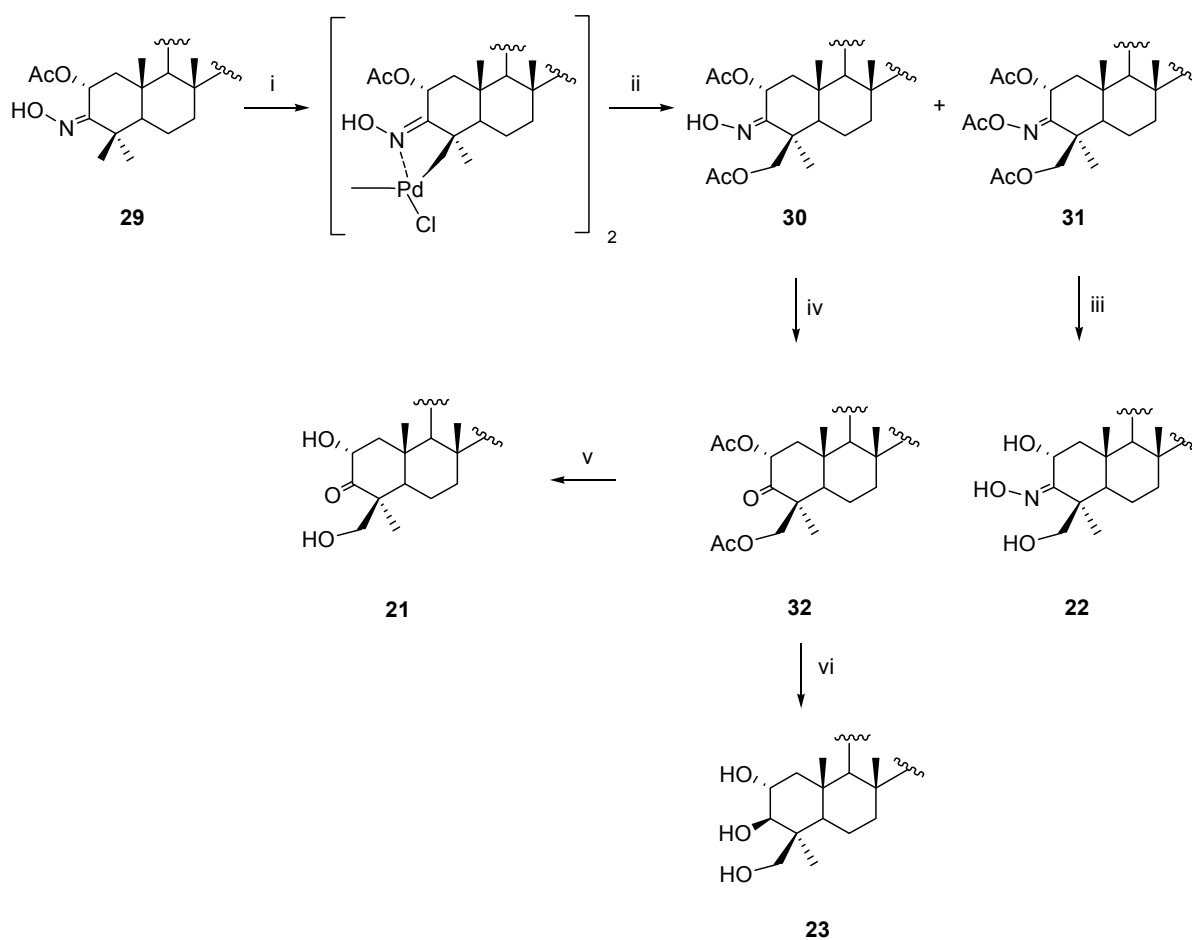
Figura 2.14. Síntesis de la 2-acetoxioxima **29**

El producto **27**, que tiene el grupo hidroxilo libre en disposición β sobre C-3, se oxida con reactivo de Jones a un ceto derivado **28**²⁰⁵ con un rendimiento prácticamente cuantitativo. Este producto posee una masa molecular de 526 u.m.a., lo que indica una pérdida de dos unidades de masa con respecto al compuesto de partida. Además, en su espectro de ^1H RMN se puede apreciar que la señal del protón geminal a la función hidroxílica ha desaparecido y de igual modo, la señal del protón geminal al acetoxilo 2α se ha simplificado al desaparecer uno de sus acoplamientos (δ 5.58, 1H, dd, $J_1=6.1$ Hz, $J_2=13.3$ Hz). Asimismo, en el espectro de ^{13}C RMN de **28** se aprecia la desaparición del carbono metínico de C-3 y la existencia de este carbono como grupo carbonilo (δ 209.3).

Posteriormente, se lleva a cabo la oxidación de 3-oxo-2 α -acetoximasinato de metilo (**28**) a la oxima correspondiente (**29**) como consecuencia del tratamiento con hidroxilamina. Cabe destacar, en el espectro de ^{13}C RMN de este derivado, que la señal del carbonilo de C-3 se apantalla (δ 162.4) con respecto al producto **28** debido a la presencia de la oxima. La espectrometría de masas nos confirma que el peso molecular de 525 u.m.a corresponde con el derivado esperado.

La oxima **29** se trata con el complejo de Na_2PdCl_4 para dar lugar al paladacilo correspondiente, que se somete al proceso de funcionalización acetilando, oxidando posteriormente con $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ y, por último, reduciendo con NaBH_4 para obtener la oxima funcionalizada (compuestos **30** y **31**). Estos dos pares de compuestos revelan la presencia de un sistema AB entre δ 4.00 y δ 4.50 debido al nuevo grupo acetoximetileno sobre el grupo metilo de

C-4, concretamente para **30** (δ 4.42 y 4.03) y para **31** (δ 4.42 y 4.23). Además, son fácilmente diferenciables espectroscópicamente, ya que el primero sólo posee dos metilos de acetato (δ 2.03 y 1.99) y en el espectro de ^1H RMN de **31** se pueden apreciar tres singletes correspondientes a los metilos de los tres acetatos presentes en la molécula (δ 2.09, 2.03 y 1.99). La espectrometría de masas muestra también una diferencia de 41 u.m.a entre los pesos moleculares de estos compuestos, correspondiente al grupo acetato que los diferencia (600 y 641 u. m. a., respectivamente).



(i) Na_2PdCl_4 , HOAc, KOAc, t.a., 72 h, 90%; (ii) a. DMAP, Et_3N , Ac_2O , t.a., 45 min; b. THF, Py, $\text{Pb}(\text{OAc})_4$, HOAc, t.a., 24 h; c. NaBH_4 , NaOH (1N), t.a., 10 min, **30** (25%) y **31** (40%) (para los tres pasos); (iii) MeOH, H_2O , KOH, t.a., 2h, 80%; (iv) TiCl_3 , NH_4OAc , H_2O , t.a., 4h, 90%; (v) MeOH, H_2O , KOH, t.a., 2h, 90%.

Figura 2.15. Síntesis de los derivados 24-hidroxilados a partir de **29**

Por último, la saponificación y la regeneración de la cetona de los derivados 24-hidroxilados por tratamiento con TiCl_3 y potasa metanólica conducen a los productos **21** y **22**. Mientras que la reducción con LiAlH_4 de **32** proporciona el derivado tetrahidroxilado **23**. Todos ellos han sido obtenidos en la serie de reacciones desarrollada anteriormente con el otro grupo protector.

2.2.3 ESTUDIO CONFORMACIONAL DEL ANILLO A PARA LAS OXIMAS **6**, **17** Y **29**.

Las oximas son uno de los intermedios sintéticos más útiles y versátiles en Química Orgánica, además de conllevar un considerable interés teórico. Por ello, las conformaciones y configuraciones adoptadas por las oximas y sus sustituyentes han sido objeto de una extensa investigación durante muchos años.²⁰⁷ De hecho, específicamente el sistema conformacional móvil de las oximas en anillos de 6 miembros sustituidas en α ha sido investigado mediante espectroscopía de RMN y RX. Los estudios de equilibrio conformacional para este tipo de compuestos son de gran interés ya que nos permiten descifrar el tipo de isomería (E/Z) con respecto al grupo hidroximinio, la disposición axial o ecuatorial de los sustituyentes o los factores que determinan estas preferencias conformacionales.

Ya que la espectroscopía de RMN es una de las mejores herramientas para el estudio de equilibrio conformacional usando las constantes de acoplamiento de los protones vecinales,²⁰⁸ se ha llevado a cabo un análisis detallado de los espectros de RMN de los compuestos **6** (3-oxima derivada de oleato de metilo) y **17** o **29** (derivados 2-benzoiloxi- o 2-acetoxi-3-oxima de maslinato de metilo), intentando justificar así el comportamiento diferente de estos compuestos en el proceso de ciclopaladación. En todos los casos, solo se obtiene una sola oxima en la que el grupo hidroxilo y el enlace C3-C4 están en disposición *anti*. Además, en el espectro de ^1H NMR de **6**, los protones de C-2 están situados a δ 3.06 (1H, ddd, $J_{\text{H}2\alpha\text{-H}1\beta}=3.3$ Hz, $J_{\text{H}2\alpha\text{-H}1\alpha}=5.2$ Hz, $J_{\text{H}2\alpha\text{-H}2\beta}=15.4$ Hz, H-2 α) y δ 2.14 (1H, ddd, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\beta}=5.9$ Hz, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\alpha}=13.9$ Hz, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}2\alpha}=15.4$ Hz, H-2 β) con unas constantes de acoplamiento que indican que el anillo A tiene una conformación ligeramente distorsionada en la región de C-3 por la presencia sobre este carbono del enlace exocíclico C=N.

Sin embargo, en el compuesto **17**, en el que hay un grupo benzoiloxi en C-2, H-2 β está situado a δ 6.49 (1H, dd, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\alpha}=4.6$ Hz, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\beta}=8.5$ Hz) y H-1 β a δ 2.33 (1H, dd, $J_{\text{H}1\beta\text{-H}2\beta}=8.5$ Hz, $J_{\text{H}1\beta\text{-H}1\alpha}=14.4$ Hz). De estas constantes de acoplamiento, se puede deducir una conformación

²⁰⁷ (a) Saito, H.; Terasawa, I.; Ohno, M.; Nukada, K. *J. Amer. Chem. Soc.* **1969**, *91*, 6696-6703; (b) Fraser, R.R.; Dhawan, K.L.; Taymaz, K. *Org. Magn. Reson.* **1978**, *11*, 269; (c) Ciunik, Z.; Rudolf, K. *Polish J. Chem.*, **1996**, *70*, 1030; (d) Ciunik, Z. *J. Mol. Struct.*, **1996**, *385*, 89; (e) Ribeiro, D.S.; Olivato, P.R.; Rittner, R. *Org. Magn. Reson.* **2000**, *38*, 627; (f) Olivato, P.R.; Ribeiro, D.S.; Kukerman-Spcheptor, J.; Bombieri, G. *Acta Cryst.* **2001**, *B57*, 705-713; (g) Ribeiro, D.S.; Abraham, R.J. *Org. Magn. Reson.* **2002**, *40*, 49

²⁰⁸ Basso, E. A.; Kaiser, C.; Rittner, R.; Lmbet.a., J. B. *J. Org. Chem.* **1993**, *91*, 7865.

fuertemente distorsionada desde C-1 a C-4 en el anillo A. De hecho, la constante de acoplamiento de 8.5 Hz entre H-2 β y H-1 β indica que ambos protones están casi eclipsados (ángulo diedro de 9.26° de acuerdo la ecuación de Karplus) mientras que H-2 β y H-1 α forma un ángulo diedro de 132.16° ($J=4.6\text{Hz}$).

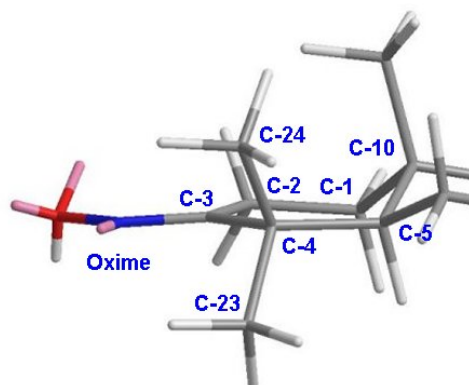


Figura 2.16. Conformación del anillo A del compuesto **6** sin sustituyente en C-2.

Por otro lado, los cálculos teóricos de la conformación del anillo A para los compuestos **6** y **17**, obtenidos por la opción MM2 del programa Chem3D Ultra, concuerdan con los datos experimentales. Así, la conformación más estable para el anillo A con la oxima en el compuesto sin sustituyente aliloxi (**6**) se muestra en la Fig. 2.16. Como se puede ver, el anillo A muestra una conformación casi-silla en la que el par de electrones de la oxima está bastante cerca del grupo metilo de C-23, que puede justificar la funcionalización en el proceso de ciclopaladación. Además, las constantes de acoplamientos teóricas para la conformación del producto **6** es muy similar a los obtenidos experimentalmente ($J_{\text{H}2\alpha\text{-H}1\beta}=0.5\text{ Hz}$, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\beta}=7.7\text{ Hz}$, $J_{\text{H}2\alpha\text{-H}1\alpha}=8.0\text{ Hz}$, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\alpha}=10.8\text{ Hz}$).

La Figura 2.17 muestra la conformación más estable del anillo A para la oxima cuando hay un grupo benzoiloxi en C-2 (compuesto **17**). Esta figura confirma que en este caso, el anillo A tiene una conformación más distorsionada, en la que el grupo benzoiloxi de C-2 está orientado axialmente. También en este caso las constantes de acoplamiento de H-2 para esta conformación ($J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\alpha}=1.2\text{ Hz}$, $J_{\text{H}2\beta\text{-H}1\beta}=8.2\text{ Hz}$) son muy similares a las experimentales. Consecuentemente, el par electrónico de la oxima está en este caso más cerca de C-24 y puede explicar la oxigenación remota catalizada sobre este metilo.

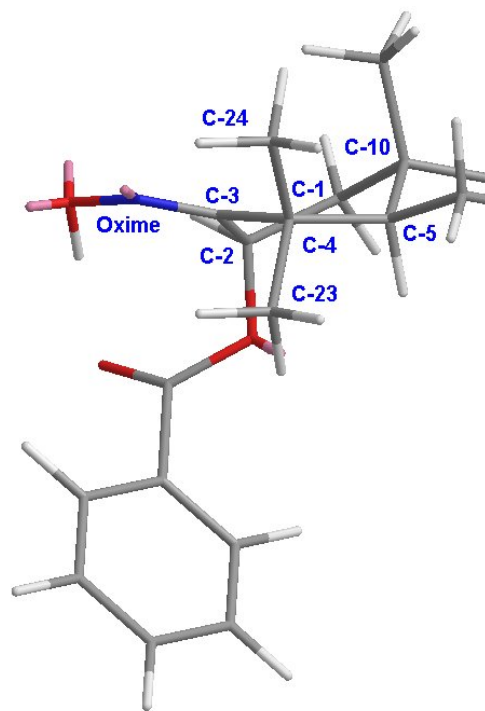


Figura 2.17. Conformación del anillo A del compuesto 17 con sustituyente benzoiloxi en C-2.

2.3 FRAGMENTACIÓN DEL ESQUELETO TRITERPÉNICO. OBTENCIÓN DE *CIS* Y *TRANS* DECALINAS. APROXIMACIÓN SINTÉTICA A DISTINTOS TERPENOS NATURALES

Ya se ha comentado en la Introducción de esta Memoria la gran presencia de los diferentes sistemas decalínicos contenidos en distintos terpenos naturales y la importancia que poseen o que pueden llegar a desarrollar estos compuestos. Por todo ello, se pretende la obtención de manera simultánea de *trans*- y *cis*-decalinas a través de la degradación de esqueletos de productos naturales más complejos. En este caso, los materiales de partida utilizados son los triterpenos pentacíclicos bajo estudio, ácido oleanólico (**1**) y ácido maslínico (**2**), que contienen ambos sistemas anulares en sus esqueletos. Así, los anillos A-B pueden convertirse en un conveniente sintón para la semisíntesis de distintos sesquiterpenos drimánicos y otros productos de interés como (-)-ambrox. Y por otro lado, el sistema bicíclico *cis*-decalínico contenido en los anillos D-E podría ser utilizado para la obtención de distintos triterpenos irregulares como camelliol A y B, así como otros triterpenos de tipo preoleanatetraeno o *seco*-C-oleanano.

Como paso previo a la fragmentación mediante rotura oxidativa del anillo C de la molécula triterpénica, se requiere la desoxigenación del anillo A de ambos compuestos lo que derivará en un único producto de partida y posibilitará la obtención de los compuestos señalados que no poseen función hidroxílica en este anillo.

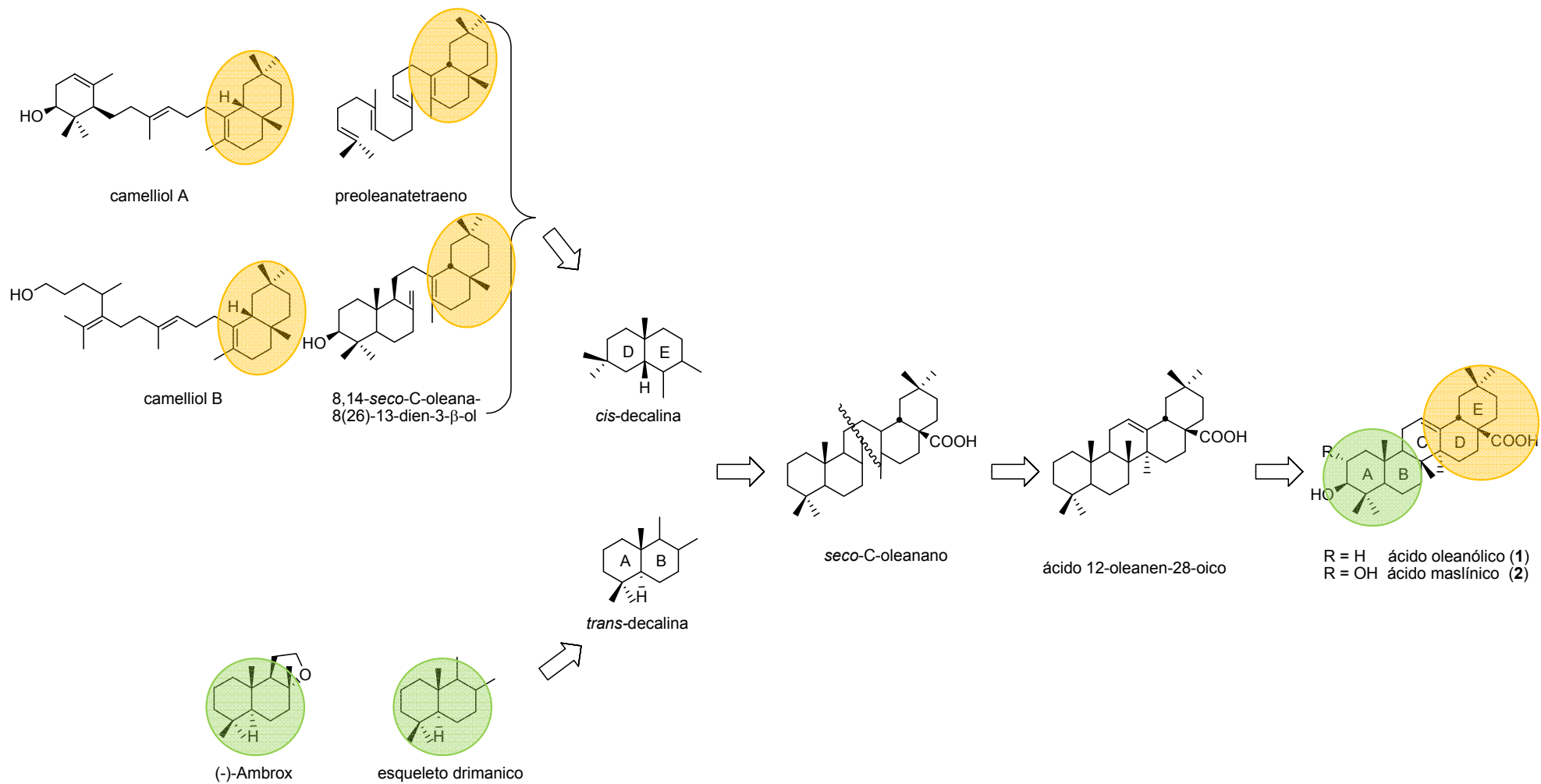


Figura 2.18. Esquema retrosintético general

2.3.1 DESOXIGENACIÓN ANILLO A

Por todo lo anteriormente expuesto, se pretende la desoxigenación de estos ácidos, triterpenos que se encuentran juntos en las fracciones de los extractos hexánico y de acetato de etilo, y así, obtener un único producto de partida, ácido 12-oleanen-28-oico, para la ruta sintética posterior. Además, de este modo se podrá evitar protecciones necesarias de estos hidroxilos en las etapas intermedias de esta ruta.

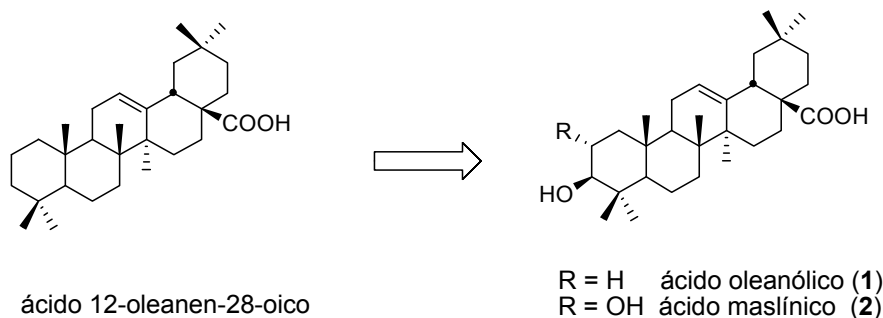


Figura 2.19. Desoxigenación del anillo A de ácido oleanólico y maslínico

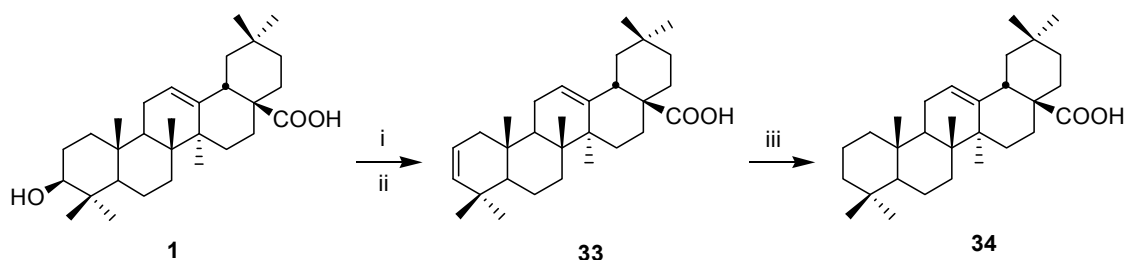
Como ya se ha comentado en la Introducción, la disposición del anillo A en este tipo de compuestos provoca un impedimento estérico que condiciona la reactividad de los grupos presentes en este anillo, según sea su disposición axial o ecuatorial. Así, los alcoholes axiales deshidratan fácilmente utilizando pentacloruro de fósforo, mientras que en nuestro grupo ya se ha comprobado que los derivados 3β -hidroxilos en estas condiciones conducen a la contracción del anillo A.⁷⁷ Por esto, se hace necesario la puesta a punto de diferentes vías para la desoxigenación tanto del alcohol presente en C-3 de ácido oleanólico, como del diol que se encuentra en las posiciones C-2 y C-3 de ácido maslínico.

Por una lado, ya en nuestro Grupo de Investigación se había iniciado el estudio de la desoxigenación del anillo A de ambas moléculas vía reducción de los correspondientes tionoformiatos que, aunque condujeron a buenos resultados, es una opción bastante cara que a escala superior se hace poco viable.²⁰⁵ Por ello, se ha trabajado en la obtención de los xantatos de los alcoholes de ambos ácidos triterpénicos, opción más económica que la de los tionoformiatos, aunque han mostrado rendimientos ligeramente inferiores. También se han utilizado otro tipo de intermedios para el caso del oleanoato de metilo, como son los tosilatos, triflatos y cetonas. Y por otro lado, debido a que el ácido maslínico es más abundante en el alpeorujo, y por lo tanto, es más accesible para nosotros, se han desarrollado otras vías específicas de desoxigenación del diol del anillo A, aprovechando la formación del correspondiente epóxido en dicho anillo.

2.3.1.1 Desoxigenación del ácido oleanólico (1)

Para este compuesto se va ensayar en primer lugar un método clásico a través del derivado tosilado en C-2. El bajo rendimiento obtenido lleva a la utilización del método radicalario desarrollado por Barton y McCombie⁷⁸ por tratamiento del derivado xantato de oleanoato de metilo (**3**) con ácido hiposforoso, ya que este método ha sido ampliamente utilizado en la desoxigenación de alcoholes muy impedidos y funcionalizados. De hecho, es compatible con ésteres y los dobles enlaces no se ven afectados siempre que sus posiciones relativas no permitan la ciclación del radical intermedio.²⁰⁹ Otro método relacionado, que se va a examinar, es la reducción de trifluoroacetatos con difenilsilano. Y por último, se comprobará la viabilidad de la reducción clásica de Wolf-Kishner en su variante de Huang-Milong a través del grupo ceto en C-2.

2.3.1.1.1 Desoxigenación vía derivado tosilato



(i) ClPTS, py, t.a. 24h; (ii) AcONa, DMF, 120°C, 24h, 42% (para los dos pasos); (iii) H₂, Pt, 12h, 98%

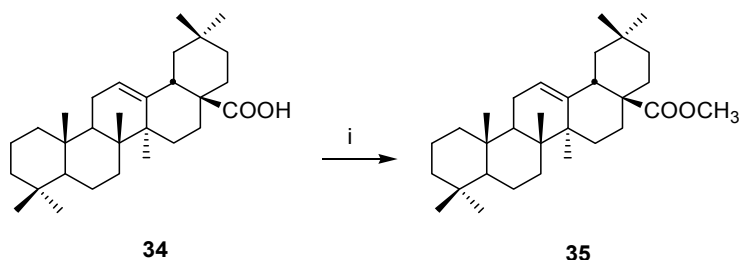
Figura 2.20. Desoxigenación de ácido oleanólico vía derivado tosilado

Para llevar a cabo la desoxigenación del anillo A en el ácido oleanólico se forma el derivado tosilado en C-3 por tratamiento con cloruro de *p*-toluensulfónico en piridina a temperatura ambiente durante 24 horas. Sin purificación previa se lleva a cabo la desoxigenación de este derivado tratándolo con acetato sódico en dimetilformamida a 120°C, obteniéndose el alqueno entre las posiciones C-2 y C-3 (**33**), aunque el rendimiento para estos dos pasos no supera el 42%. El espectro de masas de este compuesto confirma la ausencia del hidroxilo del anillo A, ya que su peso molecular es 440 u. m. a. (C₃₀H₄₈O₂). Por otra parte, en el espectro de ¹H RMN, la señal del protón geminal al hidroxilo ha desaparecido y por el contrario, la señal compleja a δ 5.36 que integra por tres hidrógenos nos indica la presencia de dos protones etilénicos nuevos, H-2 y H-3, que confirman la formación del doble enlace en el anillo A. De igual modo, se observa en ¹³C RMN, que ha desaparecido la señal del carbono oxigenado (C-3) y han aparecido dos nuevos metinos vinílicos a 121.5 y 138.0 ppm, confirmando el nuevo doble enlace formado.

²⁰⁹ Crich, D.; Quintero, L. *Chem. Rev.* **1989**, 49, 7193.

Una vez que hemos conseguido desoxigenar el anillo A se plantea la hidrogenación del alqueno. Esta reacción se lleva a cabo en CH_2Cl_2 , en agitación bajo 4-5 atm de H_2 con catalizador de Pt sobre carbono durante 12 horas, observándose la hidrogenación selectiva del doble enlace C-2/C-3 frente al doble enlace C-12/C-13, que presenta un mayor impedimento estérico y no se ve afectado en la reacción. Este hecho se comprueba tanto en el espectro de ^1H RMN, donde ahora la señal a δ 5.26 se convierte de nuevo en un doble doblete que integra por un hidrógeno correspondiente a H-12, como en el de ^{13}C RMN, en el que sólo existe un metino vinílico a δ 123.0.

Como ya se ha comentado, los ésteres metílicos facilitan los procesos cromatográficos, por lo que se esterifica el ácido 12-oleanen-28-oico (**34**) siguiendo el protocolo ya utilizado para este tipo de reacciones. El producto obtenido con alto rendimiento (**35**) se caracteriza por presentar en el espectro de ^1H RMN un singlete a δ 3.61 correspondiente al nuevo grupo metoxilo, cuyo carbonilo se sitúa en el espectro de ^{13}C RMN a δ 178.4. También, es observable en este espectro la desaparición de la señal característica del grupo ácido a δ 184.9 del compuesto de partida. Igualmente, la espectrometría de masas confirma la esterificación del grupo ácido, ya que el pico del ión molecular a 455 m/z está de acuerdo con la fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_2$.



(i) NaOH 5N, THF, reflujo, 3h; (ii) CH_3I , THF, 2h, 93%

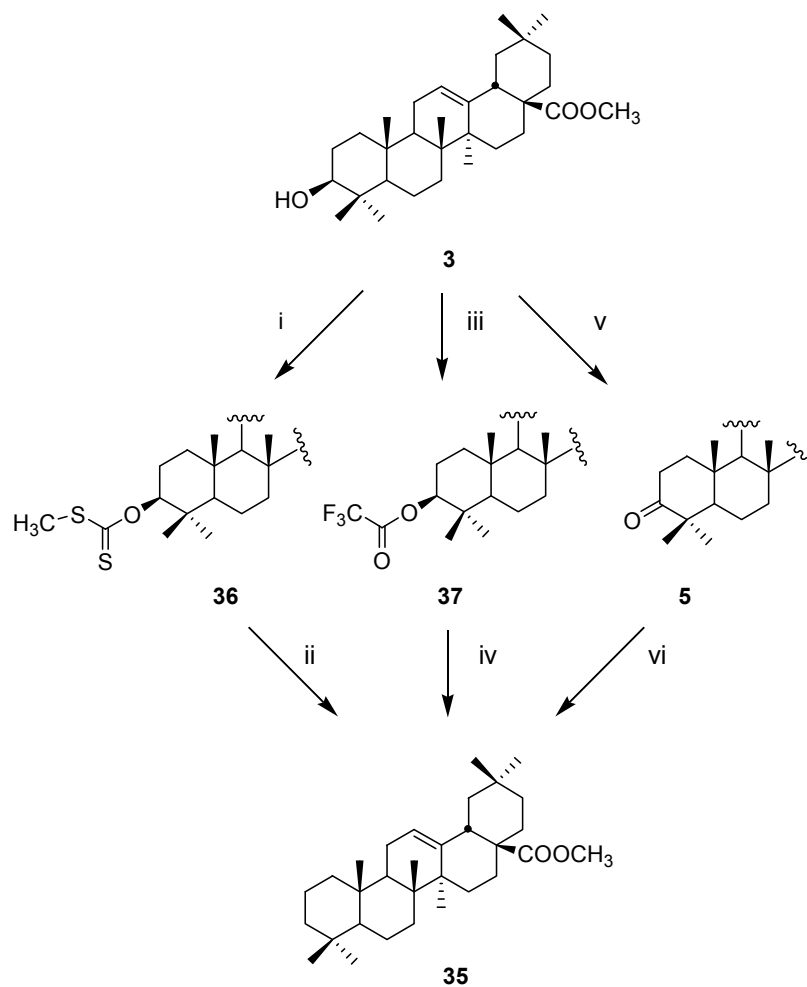
Figura 2.21. Esterificación de **34**

2.3.1.1.2 Desoxigenación vía xantato

Se intenta llevar a cabo la desoxigenación del oleato de metilo a través del xantato sobre C-2. Para ello, se obtiene el compuesto **36** mediante tratamiento del oleato de metilo (**3**) con NaH, CS_2 y CH_3I en THF, sucesivamente. Los espectros de ^{13}C y ^1H RMN del compuesto **36**, demuestran la formación del correspondiente xantato, por la presencia de las señales características de este grupo. Así, se observa en el espectro de ^1H RMN la aparición de un nuevo singlete a 2.53 ppm que integra por tres hidrógenos y que corresponde al metilo del grupo xantato, y además también se distingue como H-3 resuena a campo más bajo (δ 5.31). En el espectro de ^{13}C RMN se aprecia un nuevo carbono cuaternario a δ 215.8 característico del grupo

tiocarbonilo. El peso molecular que nos proporciona el EMAR de 560 u. m. a., concuerda con la fórmula $C_{33}H_{52}O_3S_2$ asociada a la estructura propuesta.

Una vez formado el xantato correspondiente se procede a la reducción radicalaria mediante la variante que emplea ácido hipofosforoso para obtener 3-desoxioleanoato de metilo (**35**), con un rendimiento alto (87%).



(i) a. NaH, THF, reflujo, 3h; b. CS₂, reflujo, 30 min; c. CH₃I, reflujo 1h, 77%; (ii) H₃PO₂, AIBN, Et₃N, dioxano, reflujo, 3h (87%); (iii) (CF₃)₂O, py, t.a., 24 h, 93%; (iv) Ph₂SiH₂, (tBuO)₂, 130°C, 24h (30%); (v) reactivo Jones, acetona, t.a, 98%; (vi) N₂H₂, KOH, etilenglicol, reflujo, 5h, 10%.

Figura 2.22. Distintas vías de desoxigenación de oleanoato de metilo.

2.3.1.1.3 Desoxigenación vía triflato

Los trifluoroacetatos derivados de alcoholes pueden ser usados también como precursores para la desoxigenación radicalaria con difenilsilano.⁸⁷ Para ello, el triflato del oleato de metilo (**37**) se forma con buen rendimiento por tratamiento con anhídrido trifluoroacético en piridina en condiciones suaves. El compuesto obtenido, **37**, presenta un espectro de ¹H RMN en el que la señal de H-2 se desapantalla a δ 4.65. Se observa en el espectro de ¹³C RMN un ligero desapantallamiento de la señal de C-3, que ahora se sitúa a 86.3 ppm. Por otro lado, la espectrometría de masas indica una masa de 589 u. m. a. que concuerda con la fórmula molecular esperada para la estructura propuesta (C₃₃H₄₉F₃O₄).

El derivado trifluoroacetilado **37** se trata con difenilsilano en presencia de di-*tert*-butil peróxido, como iniciador, a 130°C durante 24 h. La reducción del anillo A lleva, en este caso, a 3-desoxioleato de metilo (**35**) con un rendimiento del 30%, no observándose evolución a tiempos mayores de reacción.

2.3.1.1.4 Reducción Wolff-Kishner

Otra vía utilizada para intentar la desoxigenación de hidroxilo del oleato de metilo es la reducción de Wolf-Kishner modificada por Huang-Milong,⁹⁰ proceso en el que a través de un grupo carbonilo se forma la hidrazona que es reducida posteriormente. La formación del 3-oxo derivado (**5**) se lleva a cabo por tratamiento del compuesto **3** con reactivo de Jones, proceso comentado en el apartado 2.2.1 La reducción *in situ* de la hidrazona formada con hidrazina sólo conduce al 11% de 13-oleanen-28-oato de metilo.

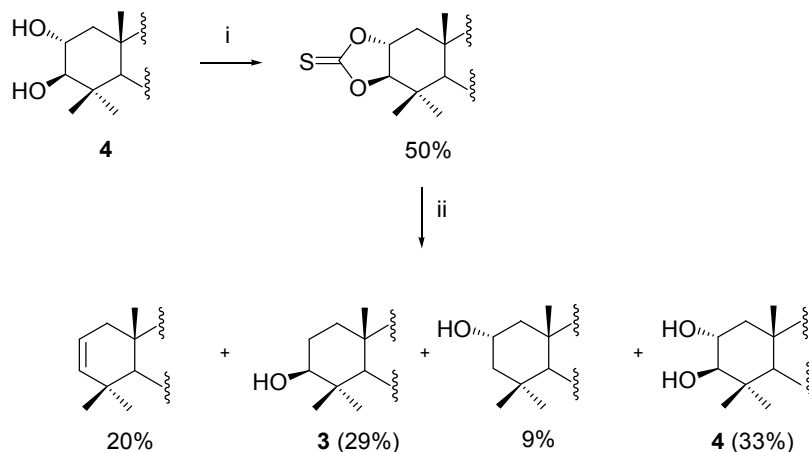
2.3.1.2 Desoxigenación del ácido maslínico

El ácido maslínico es más abundante en el alpeorajo y se han desarrollado otras vías específicas de desoxigenación del diol que presenta el anillo A, tanto a través de derivados tionocarbonados como aprovechando la formación del correspondiente epóxido en dicho anillo.

2.3.1.2.1 Desoxigenación vía xantato

La desoxigenación del maslinato de metilo a través de derivados tiocarbónicos ya fue iniciada en nuestro grupo, observándose que la reducción del tiocarbonato cíclico formado a

partir de **4** no conlleva buenos rendimientos como se puede observar en la Figura 2.23.²¹⁰ Además, no se pudo llegar al bisxantato derivado probablemente debido a que el medio básico no consigue la desprotonación de ambos alcoholes, si no que sólo se obtuvo el derivado en C-2.



(i) a. NaH, THF, reflujo, 2h; b. CS₂, THF, reflujo, 30 min; c. CH₃I, THF, reflujo, 1h; (ii) H₃PO₂, AIBN, Et₃N, dioxano, reflujo, 3h

Figura 2.23. Formación del tiocarbonato cíclico de maslinato de metilo y posterior reducción

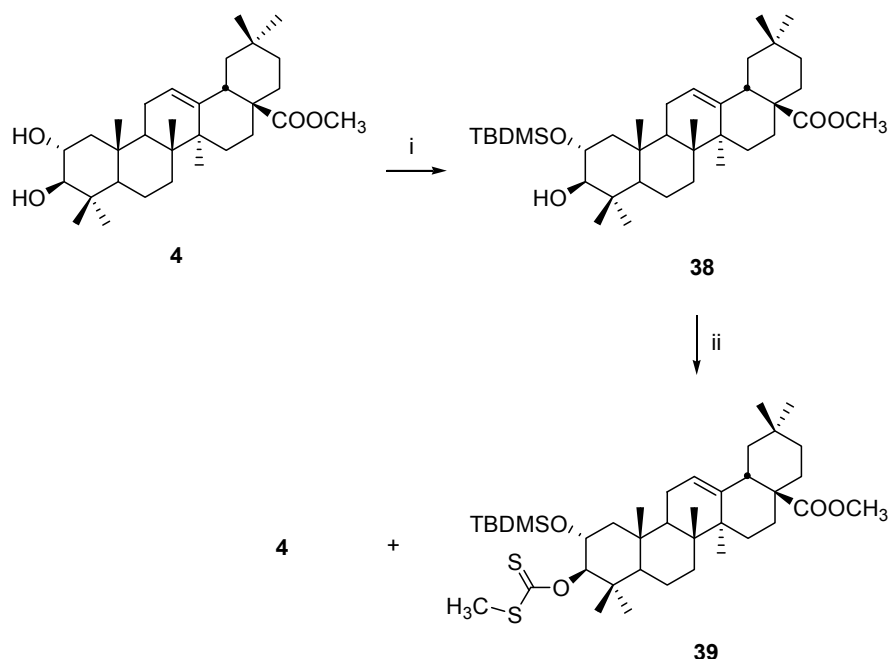
Debido a que los rendimientos de la desoxigenación a través del tiocarbonato cíclico de maslinato de metilo no son adecuados, se plantea llevar a cabo el proceso de reducción de forma selectiva y por separado de cada uno de los grupos hidroxilos utilizando para ello como grupo protector *tert*-butildimetilsilano.

La protección selectiva del hidroxilo sobre C-2 conduce al compuesto **38** con rendimientos muy buenos. Este producto corresponde al derivado protegido en C-2, lo que era de esperar teniendo en cuenta la situación espacial de los dos hidroxilos del anillo A del maslinato de metilo de partida, ya que el grupo hidroxilo de C-3 está más impedido estéricamente por la presencia en el carbono 4 del *gem*-dimetilo.

Efectivamente, si se analizan las señales del espectro de ¹H RMN de **38**, se comprueba que la señal del protón H-2, se ha desapantallado considerablemente, situándose a 3.67 ppm (1H, ddd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 9.2$ Hz, $J_3 = 11.1$ Hz), mientras que la señal de H-3, permanece a δ 2.99 (1H, d, $J = 9.2$ Hz). También, es destacable en este espectro la aparición de dos singletes a δ 0.08 y 0.06, desplazamientos característicos de los metilos unidos a silicio. Tanto en el espectro de ¹³C RMN, donde se ven todas las señales del nuevo grupo introducido en la molécula (δ -4.5 (CH₃Si), -3.8 (CH₃Si), 18.1 ((CH₃)₃C-), 25.9 ((CH₃)₃C-), como en el EMAR, donde

²¹⁰ Tesis Enrique Melguizo Madrid, Universidad Granada 2004.

la fórmula molecular de $C_{37}H_{64}SiO_4$, corresponde con la masa de 600 u. m. a. obtenida, se comprueba la presencia de un grupo *tert*-butildimetilsilano en la molécula.

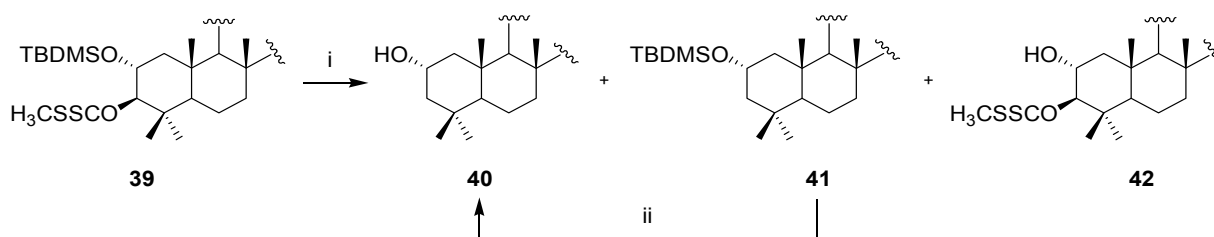


(i) TBDMSCl, py, reflujo, 2h, 95%; (ii) a. NaH, THF, reflujo, 3h; b. CS_2 , THF, reflujo, 30 min; c. CH_3I , THF, reflujo, 1h, **39** (70%) y **4** (5%)

Figura 2.24. Protección del grupo hidroxilo en C-2 de **4** y formación del xantato en C-3

Teniendo protegido el hidroxilo de C-2, se forma el xantato correspondiente en C-3 (**39**) siguiendo el procedimiento anteriormente descrito, aunque en este caso aparece también como subproducto el maslinato de metilo (**4**). La formación de este derivado es fácilmente demostrable en el espectro de 1H RMN por el desapantallamiento de la señal de H-3 que varía de δ 2.99 en el producto de partida a 5.60 en el compuesto **39** como consecuencia del grupo tiocarbonil que ahora se sitúa geminal a este hidrógeno, además, se aprecia igualmente el metilo característico de este grupo en forma de singlete a δ 2.54. Mientras, en el espectro de ^{13}C RMN se observa este característico metilo a δ 18.9 y el grupo tiocarbonilo a δ 216.8. Por último, el EMAR proporciona un peso molecular de 690 u. m. a. concordante con la fórmula molecular $C_{39}H_{66}O_4SiS_2$.

La reducción radicalaria del compuesto **39** con ácido hipofosforoso, en las condiciones señaladas en la Fig. 2.25, conduce a una mezcla de productos, donde los compuestos mayoritarios (**40** y **41**) ya no contienen el hidroxilo de C-3, mientras que en el producto minoritario **42** sólo se ha producido la desprotección del hidroxilo C-2.



(i) H_3PO_2 , AIBN, Et_3N , dioxano, reflujo, 3h, **40** (45%), **41** (33%) y **42** (10%); (ii) BF_3 , CH_2Cl_2 , t.a., 3h, 90%

Figura 2.25. Tratamiento del compuesto **39** con ácido hipofosforoso

Para el caso del producto **40**, se ha dado simultáneamente la desoxigenación del hidroxilo de C-3 y la desprotección del grupo hidroxilo de C-2. Su EMAR señala que se trata de un isómero de oleanoato de metilo. De este modo, en su espectro de ^1H RMN, se observa una sola señal de protón geminal a OH, aunque con cuatro constantes de acoplamiento δ 3.87 (1H, dddd, $J_1 = J_2 = 11.2$ Hz, $J_3 = J_4 = 11.2$ Hz), lo que parece indicar que el protón se sitúa sobre C-2 y que C-3 está completamente hidrogenado. El hecho de que posea dos constantes de acoplamiento iguales y grandes, 11.2 Hz, y otras dos pequeñas, 4.3 Hz, indica que la configuración es la misma que en el producto de partida, es decir, que el OH se sitúa α , dejando el H axial y β .

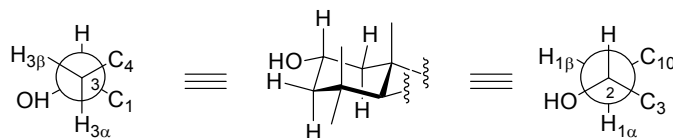


Figura 2.26. Disposición del hidroxilo del anillo A en **40**

Al igual que en el producto anterior, en el espectro de ^1H RMN del compuesto **41** se observa una sola señal de protón geminal a función oxigenada, δ 3.17. Igualmente, en su espectro de ^{13}C RMN se comprueba que sólo se sitúa un carbono metínico a desplazamientos habituales de carbonos unidos a funciones oxigenadas δ 79.3, que corresponde a C-2, mientras que C-3 se localiza ahora a δ 46.0 como metileno. Por último, su EMAR muestra el pico molecular $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 607 que concuerda con la estructura propuesta y la fórmula molecular $\text{C}_{37}\text{H}_{64}\text{O}_3\text{Si}$.

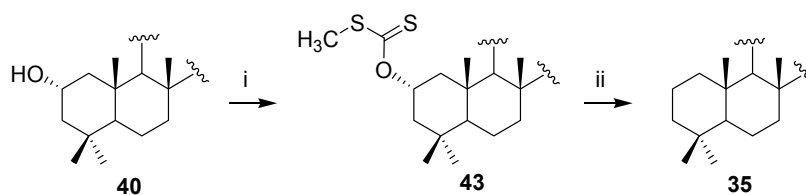
Por otro lado, en el espectro del compuesto **42** se sigue apreciando la señal singlete característica del metilo del xantato a δ 2.59, la señal de H-3 se mantiene a 3.60 ppm y desaparecen las señales características del grupo *tert*-butildimetilsilano. Lo que nos lleva a postular que este producto es consecuencia únicamente de la desprotección del hidroxilo de C-2. Este

hecho se comprueba igualmente por el peso molecular obtenido de su EMAR, 570 u.m.a, que concuerda con la fórmula molecular propuesta para esta estructura $C_{33}H_{52}O_4S_2$.

El compuesto **41** se transforma en **40** por simple desprotección del hidroxilo de C-2 utilizando BF_3 con alto rendimiento, lo que simplifica esta ruta sintética.

Reducido el hidroxilo de C-3, solo queda llevar a cabo el mismo procedimiento sobre el grupo $-OH$ situado en C-2. Para ello se forma el derivado tionocarbonilo (**43**) mediante el protocolo utilizado anteriormente. El espectro de 1H RMN de este compuesto evidencia el desapantallamiento de la señal de H-2, que varía de δ 3.87 a 5.88, como consecuencia de la formación del xantato en esta posición. Además, es observable también en su espectro de ^{13}C RMN la aparición de señales características de este grupo, como el metilo a δ 18.8 y la señal del tiocarbonilo a δ 215.2. Por último, el espectro de masas nos ofrece un peso molecular de 560 u. m. a., concordante con la formula molecular propuesta para esta estructura, $C_{33}H_{52}O_3S_2$.

Finalmente, la desoxigenación del derivado xantato (**43**) con ácido hipofosforoso conduce a 12-oleanen-28-ato de metilo con un rendimiento aceptable.

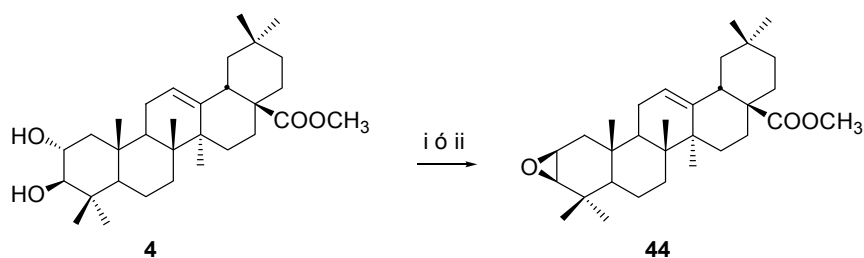


(i) a. NaH, THF, reflujo, 3h; b. CS_2 , THF, reflujo, 30 min; c. CH_3I , THF, reflujo, 1h, 78%; (ii) H_3PO_2 , AIBN, Et_3N , dioxano, reflujo, 3h, 80%

Figura 2.27. Desoxigenación del compuesto **40**

2.3.1.2.2 Desoxigenación vía epóxido

Se ha conseguido desoxigenar tanto el ácido oleanólico como el ácido maslínico, convergiendo hacia un mismo producto, pero como los rendimientos de la reducción de los xantatos derivados del maslinato de metilo no son del todo satisfactorios y conllevan la utilización de grupos protectores para realizar de forma independiente la reducción de cada uno de los hidroxilos, se intenta conseguir el compuesto con el anillo A desoxigenado a través del epóxido formado a partir del diol presente en el anillo A.



(i) a. TsCl, py, t.a., 24h; b. Na, MeOH, reflujo, 1h, 42%; (ii) DEAD, PPh₃, DMF, reflujo, 2h, 87%

Figura 2.28. Formación de 2β,3β-epoxi maslinato de metilo a partir de **4**

La formación del epóxido del maslinato de metilo se puede llevar a cabo de dos formas distintas, utilizando el procedimiento de Mitsunobu, que consiste en añadir al maslinato de metilo trifetilfosfina y dietilazodicarboxilato (DEAD) o bien tosilar previamente en C-2 el ester y tratarlo con metóxido sódico, aunque por esta vía el rendimiento es menor. El producto obtenido (**44**) en ambos casos posee un anillo oxiránico entre los carbonos 2 y 3 en disposición β. El compuesto **44** posee una masa molecular de 468 u. m. a. (que corresponde con la fórmula molecular C₃₁H₄₈O₃), lo que indica la desaparición de una molécula de agua para la formación del grupo epóxido, por la pérdida de 18 unidades de masa con respecto al producto de partida (**4**). Si atendemos al espectro de ¹H RMN se observan dos señales, una a 3.20 ppm (1H, ddd, J₁ = 2.0 Hz, J₂ = 2.0 Hz, J₃ = 4.0 Hz) y otra a 2.80 ppm (1H, d, J = 4.0 Hz), que por tipo de señal y desplazamiento químico pueden corresponder a dos protones geminales a una función oxigenada en C-2 y C-3, pero formando un ciclo, ya que se han apantallado con respecto al producto de partida. Esta hipótesis se confirma por análisis del espectro de ¹³C RMN, en el que aparecen dos carbonos oxigenados a δ 54.4 y 61.0, también a campo más alto que en el producto de partida. Por otra parte, el hecho de que ambas reacciones den el mismo producto confirma que la configuración asignada es la correcta, puesto que a partir del monotosilo, el único producto que puede formarse es el debido al ataque del OH libre de C-3 a C-2 como tosilato, provocando la salida de este grupo como indica la Figura 2.29.

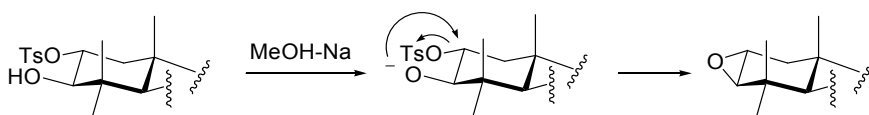


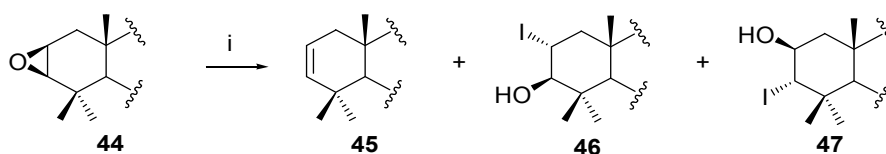
Figura 2.29. Mecanismo de formación del epóxido a través de tosilato en C-2

De todos modos, la configuración de este epóxido ya estaba establecida con anterioridad por comparación de los desplazamientos experimentales de ¹³C RMN con los valores teóricos calculados por mecánica molecular (método GIAO, B3LYP/6-31G*//MM+),²⁰⁵

aunque con objeto de asignar claramente los epóxidos α y β , dichos cálculos fueron mejorados posteriormente con geometrías DFT (B3LYP/6-31G**// B3LYP/6-31G*).⁷⁷

2.3.1.2.2.a Desoxigenación de 2 β ,3 β -epoxi maslinato de metilo (**44**) con Me₃SiCl y KI

El tratamiento del 2 α ,3 β -epoxi maslinato de metilo con Me₃SiCl y KI da lugar a la formación del 2,3-eno, aunque el rendimiento de obtención fue bastante bajo, ya que el producto mayoritario corresponde al 2 α -yodo-3 β -OH derivado (**46**).



(i) Me₃SiCl, KI, CH₃CN

Figura 2.30. Tratamiento del epóxido **44** con Me₃SiCl y KI

Esta reacción se ha estudiado a distintas temperaturas (Tabla 2.3) comprobándose que la proporción de la yodohidrina mayoritaria no se afecta mientras que el 2 β -OH,3 α -yodo derivado (**47**) es el que se transforma en 2,3-didesoxi $\Delta^{2,3}$ maslinato de metilo (**45**) al aumentar la temperatura de reacción.

Tabla 2.3. Tratamiento de **44** con Me₃SiCl/KI a distintas temperaturas

Temperatura	45	46	47
0°C	-	79%	21%
t.a.	12%	80%	7%
reflujo	17%	82%	-

Estos datos sugieren que la reacción transcurre a través de la formación del compuesto **46** mayoritariamente debido al impedimento estérico que provoca el *gem*-dimetilo situado en C-4, pero aunque la yodohidrina **47** es la minoritaria, es la que se transforma por calentamiento en el 2,3-eno ya que sitúa al grupo OH y al yodo en disposición *trans*, facilitando el proceso de eliminación (Fig. 2.31).

El compuesto **45**, muestra en su espectro de masas la ausencia de los dos hidroxilos del anillo A, ya que su peso molecular es 452 u. m. a. (C₃₁H₄₈O₂). Por otra parte, en el espectro de ¹H RMN, las señales de los protones geminales a los alcoholes han desaparecido y por el

contrario, se ven dos protones etilénicos nuevos, H-2 y H-3, que juntos al H-12 forman una señal compleja que integra por tres hidrógenos a δ 5.35-5.42, confirmando la formación del doble enlace en el anillo A. De igual modo, se observa en ^{13}C RMN, que han desaparecido las señales de los carbonos oxigenados y han aparecido dos nuevos metinos vinílicos a 121.5 y 138.0 ppm, debido al doble enlace formado.

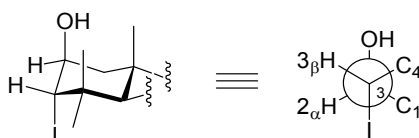
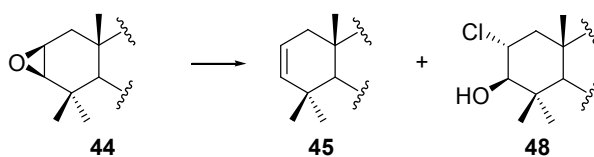


Figura 2.31. Conformación espacial del anillo A de la yodohidrina **47**

En cuanto a los datos espectroscópicos de las yodohidrinadas formadas, los espectros de masas de alta resolución de ambos compuestos presentan un pico molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ a 619 m/z , correspondiente a la fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{49}\text{O}_3\text{I}$. El espectro de ^1H RMN del compuesto **46** indica el desapantallamiento de las señales de H-2 y H-3, que ahora se sitúan a 4.57 y 3.32 ppm, respectivamente. Mientras que en el espectro de ^{13}C RMN resuenan a δ 41.8 y 83.6, siendo el desplazamiento del carbono oxigenado mayor que el del yodado. Hay que destacar que las asignaciones de los protones y los carbonos del producto **46** fueron realizadas mediante el estudio de los espectros bidimensionales HMBC y HMQC, que permitieron distinguir entre las dos señales situadas a δ 41.3 y 41.8. Así, la señal a 41.3 ppm correlaciona con H-18 en el espectro HMQC, por lo que se trata de C-18, y la que se sitúa a 41.8 ppm se atribuye a C-2. Además, en el espectro ^1H RMN aparece una señal nueva a δ 2.41, que atribuimos a un protón H-1 por su correlación con C-1 en el espectro HMQC. En cuanto a las características espectroscópicas de la yodohidrina **47**, el espectro de ^1H RMN muestra un desplazamiento mayor que en el producto de partida para el hidrógeno H-3, δ 4.73 (1H, d, $J = 4.8$ Hz), cuya constante de acoplamiento pequeña con H-2 indica que la disposición de los grupos sobre C-2 y C-3 es la propuesta para este compuesto (Fig. 2.31). En cambio, los desplazamientos del carbono oxigenado en el espectro de ^{13}C RMN es mayor que el del yodado, δ 98.2 y 64.9, respectivamente

2.3.1.2.2.b Desoxigenación de 2 β ,3 β -epoxi maslinato de metilo (**44**) con WCl_6 y $n\text{-BuLi}$

A resultado similar se llega utilizando hexacloruro de wolframio y $n\text{-BuLi}$ sobre 2 α ,3 β -epoxi maslinato de metilo, que aunque da lugar a la formación del 2,3-eno el rendimiento de obtención es bastante bajo, ya que el producto mayoritario fue el derivado clorado en C-2, la clorhidrina **48**.



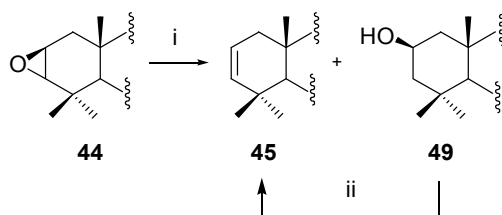
(i) WCl_6 , $n-BuLi$, THF, t.a., 20 min, **45** (8%) y **48** (46%)

Figura 2.32. Tratamiento del epóxido **44** con WCl_6 y $n-BuLi$

En el producto **48** se observa un fenómeno similar al que ya comentamos en las yodohidrinas, ya que en el espectro de 1H RMN la señal de H-2 se desapantalla, mientras que el C-2 en el espectro de ^{13}C resuena a 64.1 ppm, valor más bajo que si estuviese unido a un hidroxilo. Por otra parte, el espectro de masas de alta resolución confirma la entrada de un átomo de Cl al presentar la fórmula molecular $C_{31}H_{49}O_3Cl$, que se corresponde con el peso molecular 504 u.m.a. como se esperaba. Es destacable, de igual modo, en este espectro la distribución isotópica en proporción 3:1 del ión molecular separados por dos unidades de masa, característico de compuestos que poseen cloro en su estructura.

2.3.1.2.2.c Desoxigenación de 2 β ,3 β -epoxi maslinato de metilo (**44**) con titanoceno

Se lleva a cabo también la desoxigenación del epóxido **44** utilizando Cp_2TiCl (formado previamente al tratar Cp_2TiCl_2 con Mn en THF) en condiciones anhidras de forma estequiométrica y catalítica. Se obtiene, además del derivado con el doble enlace C-2/C-3 (**45**), el producto de apertura del epóxido para dar el alcohol en C-2 y disposición β (**49**) (posiblemente derivado de agua adventicia del sistema).



(i) Cp_2TiCl_2 , Mn, THF, t.a., 3h (versión estequiométrica), Cp_2TiCl_2 , Mn, 3h coll, Me_3SiCl , THF, t.a., (versión catalítica); (ii) $POCl_3$, py, reflujo, 30 min, 92%

Figura 2.33. Apertura reductiva del epóxido **44** con titanoceno

En la Tabla 2.4 se exponen los rendimientos obtenidos de estos productos para la versión estequiométrica y catalítica.

Tabla 2.4. Porcentajes de compuestos en las distintas versiones de apertura del epóxido **44**

	45	49
Estequiométrica	82%	6%
catalítica	77%	11%

En cuanto a los datos espectroscópicos de **49**, el EMAR demuestra que es isómero de oleanoato de metilo. El espectro de ^1H RMN muestra una señal de un protón geminal a un OH y que presenta cuatro constantes de acoplamiento iguales de 5.4 Hz, lo que señala que el OH está sobre C-2 y disposición β , dejando el otro H en α y que por lo tanto, forma cuatro ángulos de 60° con los cuatro protones (dos de C-3 y dos de C-1) con los que se acopla, como puede verse en la Fig. 2.34. Por otra parte, el espectro de ^{13}C RMN es también muy similar al de oleanoato de metilo, y presenta un único carbono oxigenado a δ 67.7. El compuesto **49** presenta configuración contraria a la que dicho carbono presentaba en el esqueleto original del ácido maslínico, teniendo ahora disposición axial lo que permite su deshidratación con oxocloruro de fósforo con un gran rendimiento.

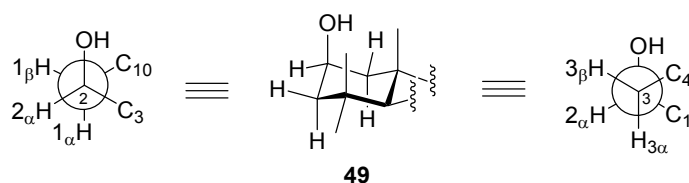
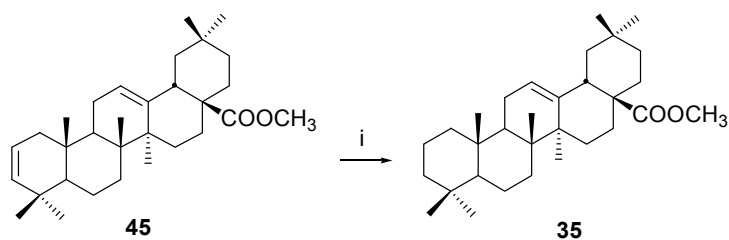


Figura 2.34. Disposición espacial del compuesto **49**

Este hecho permite acceder de nuevo al compuesto con doble enlace entre las posiciones C-2/C-3 (**45**), que se puede hidrogenar catalíticamente de forma selectiva frente al doble enlace C-12/C-13 del esqueleto triterpénico que presenta mayor impedimento estérico. Esta reacción se lleva a cabo en CH_2Cl_2 , en agitación bajo 4-5 atm de H_2 con catalizador de Pt sobre carbono durante 12 horas. La hidrogenación selectiva se comprueba tanto en el espectro de ^1H RMN, donde ahora la señal a δ 5.28 se convierte de nuevo en un doble doblete que integra por un hidrógeno correspondiente a H-12, como en el de ^{13}C RMN, en el que solo existe un metino vinílico a δ 122.8.

Por lo tanto, este método permite obtener el esqueleto desoxigenado en pocos pasos a partir del maslinato de metilo con rendimiento bueno y se consigue así la convergencia en un sólo producto de ambos ácidos.



(i) 4 atm H₂, Pt/C, CH₂Cl₂, t.a., 12h, 90%

Figura 2.35. Hidrogenación catalítica de **45**

2.3.2 FRAGMENTACIÓN DEL ESQUELETO TRITERPÉNICO

Una vez desoxigenado el anillo A tanto del ácido oleanólico como del ácido maslínico, el compuesto obtenido, 12-oleanen-28-oato de metilo, se convierte en útil material de partida para la obtención de *trans*- y *cis*-decalinas, debido a que su esqueleto carbocíclico contiene en los anillos A-B y D-E este tipo de sistemas bicíclicos, respectivamente. De hecho, la fragmentación del esqueleto triterpénico a través del anillo C proporcionaría simultáneamente estos sistemas decalínicos quirales que podrían utilizarse para la síntesis de otros compuestos de interés. Así, el fragmento que contiene los anillos A-B, 4,4-8-10-tetrametil-*trans*-decalina, posee una estereoquímica y unos grupos funcionales que hacen de él un potencial precursor para la semisíntesis de un gran número de productos naturales, entre ellos distintos drimanos biológicamente activos. Además, el fragmento *cis*-decalínico de los anillos D-E podría ser utilizado en la síntesis de otros triterpenos como camelliol A y B, preoleanatetraeno y *seco*-C-oleanano.

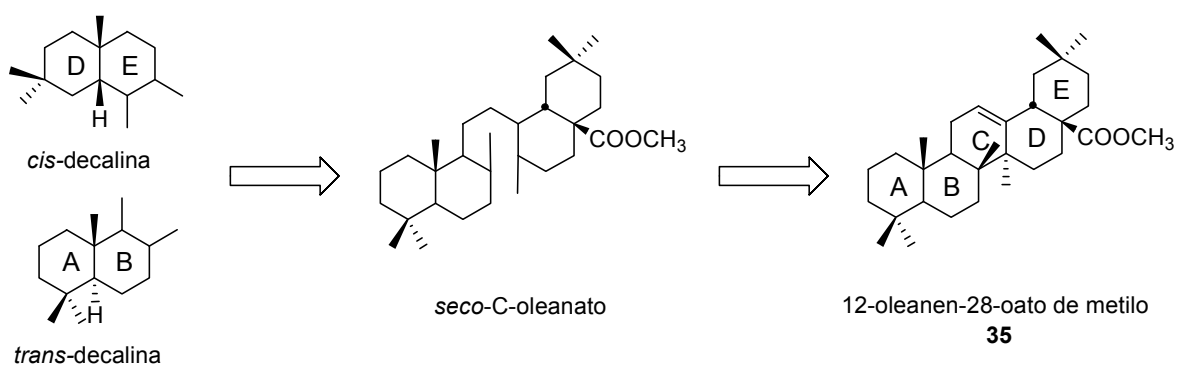
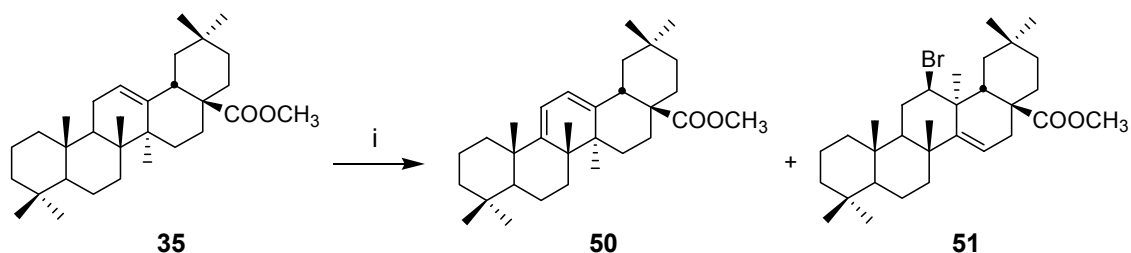


Figura 2.36. Esquema retrosintético de obtención de *cis*- y *trans*-decalinas a partir de **35**

2.3.2.1 Tratamiento de 12-oleanen-28-oato de metilo (35) con NBS

Con idea de romper el triterpeno pentacíclico a través del anillo C, se procede previamente a formar un sistema diénico en este anillo. Para ello, se trata el compuesto **35** con NBS con la intención de formar un derivado bromado en posición alílica (C-11) y posteriormente deshidrohalogenar. Sin embargo, estos dos procesos tuvieron lugar en el mismo medio de reacción, obteniéndose el dieno **50** en un solo paso y como producto minoritario se generó un derivado bromado en C-12 con esqueleto de taraxeno (**51**).



(i) NBS, AIBN, CCl₄, reflujo, 15 min, **50** (83%), **51** (10%)

Figura 2.37. Tratamiento del compuesto **35** con NBS

El seguimiento de la reacción por cromatografía en capa fina fue complejo, ya que el compuesto de partida y los productos obtenidos poseen polaridad similar, por lo que se realizó el seguimiento de la reacción según datos de ¹H RMN. Estos espectros señalan que, a partir de 15 min, no queda producto de partida, siendo el compuesto mayoritario el dieno **50**, mientras que a tiempos mayores la mezcla de reacción se complica apareciendo otros productos que no han sido aislados ni identificados.

Las características espectroscópicas del compuesto **50**, señalan la formación de un sistema diénico, con la aparición de dos protones del sistema AB a δ 5.57 y 5.54, acoplados entre sí con *J* = 5.9 Hz. Por otro lado, en el espectro de carbono también destaca la presencia de cuatro carbonos etilénicos, dos de ellos cuaternarios (δ 155.4, que se atribuye a C-9 y otro a δ 144.8, que se asigna a C-13) y otros dos metínicos (C-11 a 115.2 ppm y C-12 a 120.7 ppm). El EMAR además confirma la estructura propuesta al darnos una masa molecular con dos unidades menos que el producto de partida, 452 unidades de masa atómica, y además se ajusta a la fórmula molecular de la estructura propuesta que es C₃₁H₄₈O₂.²¹¹

²¹¹ Las estructuras de muchos de los compuestos obtenidos en este parte de la Memoria se han asignado por comparación con esqueletos similares obtenidos previamente en nuestro grupo de investigación: referencias 134 y 135, y García-Granados, A.; López, P.E.; Melguizo, E.; Parra, A.; Simeo, Y. *Synthetic Communications* **2006**, *36*, 3001.

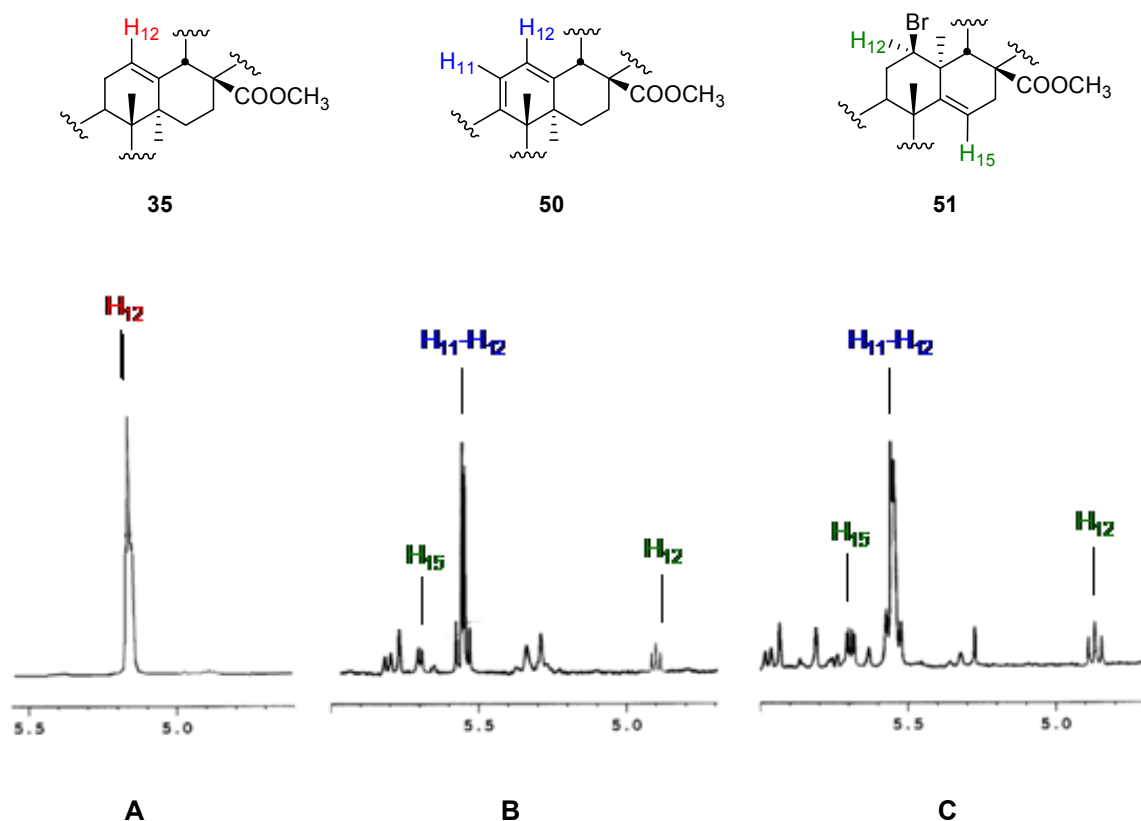


Figura 2.38. Espectros ^1H RMN de formación del dieno **50**. A ($t = 0$), B ($t = 15$ min), C ($t = 30$ min)

Por lo que se refiere al EMAR del compuesto **51** proporciona un peso molecular de 532 u.m.a. que se relaciona con la fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{49}\text{O}_2\text{Br}$, indicando que se ha introducido un átomo de bromo en el esqueleto. En el espectro de ^1H RMN no se observa el doblete a desplazamiento químico de protones vinílicos de H-12 aunque si se aprecia una señal a 4.84 ppm que corresponde al protón geminal al bromo que ahora soporta C-12. Además, se distingue un doble doblete a δ 5.66 (desplazamiento típico de protones etilénicos), atribuible a H-15. Esta señal junto con la posición del bromo geminal a H-12 confirma la estructura propuesta de doble enlace entre C-14 y C-15 y bromo en C-12, que se corrobora por el espectro de ^{13}C RMN, ya que las señales de C-14 y C-15 se localizan a un desplazamiento típico de carbonos etilénicos, δ 157.9 y 121.3, respectivamente. Por último, la señal de C-12 se sitúa a campo más alto que en el producto de partida (66.2 ppm), puesto que pasa de ser un carbono etilénico en **35**, a soportar un halógeno en el producto **51**.

En cuanto al mecanismo de formación de estos productos, la formación del sistema diénico del compuesto **50** puede explicarse por la entrada por la cara superior de un átomo de bromo en C-11, quedando en disposición axial y con configuración β . Esto permite una disposición transperiplanar de los enlaces $\text{C}_9\text{-H}_9$ y $\text{C}_{11}\text{-Br}$ que permite la eliminación de una molécula de HBr (*vía a*). En cambio, para que se formase el producto bromado **51**, donde tiene

lugar un cambio de esqueleto de oleaneno a taraxeno, debería salir un protón de C-15, migrar el metilo de C-14 a C-13 (conservando la configuración) y entrar un átomo de bromo en C-12 por la cara β (vía *b*).

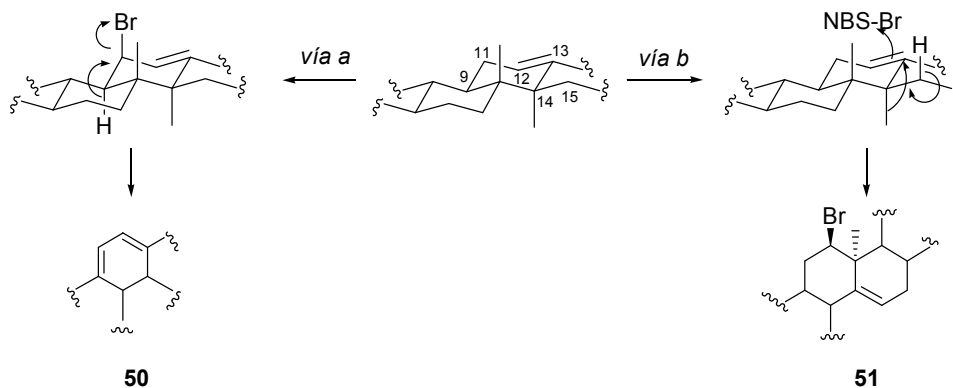
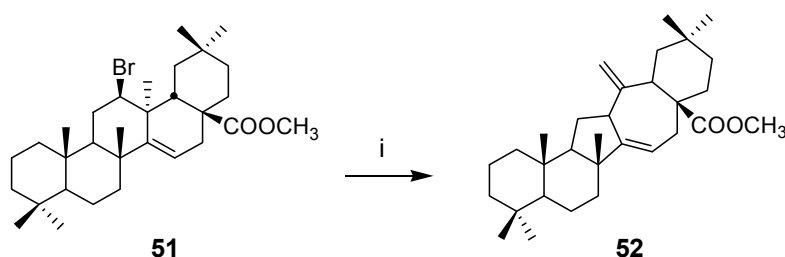


Figura 2.39. Mecanismo de formación de los productos **50** y **51**

Hay que puntualizar que la separación cromatográfica de esta mezcla, resulta sumamente compleja, ya se ha comentado anteriormente la polaridad similar de los productos obtenidos. De hecho, la purificación del compuesto **51** con silica gel y AgNO_3 conduce al reagrupado **52**.



(i) SiO_2 , AgNO_3 (columna)

Figura 2.40. Reagrupamiento del compuesto **51** sobre silica gel y AgNO_3

El EMAR del compuesto **52** indica un peso molecular de 452 u.m.a., que se corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_2$, indicando la eliminación de una molécula de HBr con respecto al producto de partida. Su espectro de ^1H RMN muestra un doble doblete a 4.95 ppm (1H, dd, $J_1 = 4.7$ Hz, $J_2 = 7.7$ Hz) y que se atribuye a H-15. Pero las señales más características son dos dobletes acoplados entre sí con una constante de 1.8 Hz a δ 4.81 y 4.73, los desplazamientos y la constante de acoplamiento tan pequeña sugieren que se trata de los dos hidrógenos de un doble enlace exocíclico, es decir, de los protones del original C-27. Además de estas señales, se aprecia un doble doblete a 3.39 ppm ($J_1 = 2.9$ Hz, $J_2 = 9.5$ Hz) que se relaciona con H-12 (que es doblemente alílico) y otro a δ 2.17 (1H, dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 4.7$ Hz) que se atribuye a un protón H-16. En cuanto al espectro de ^{13}C RMN, se observa la presencia de varias

señales cuyos desplazamientos químicos son típicos de carbonos etilénicos (δ 105.2,d) C-27, (δ 113.0,t) C-15, (δ 155.8 y 157.7,q) C-13 y C-14. El cambio estructural ocurrido en este producto se pone de manifiesto por la disminución en el desplazamiento de la señal de H-12 (que pasa de ser geminal a un átomo de bromo a convertirse en un hidrógeno en posición doblemente alílica), por la pérdida de la señal correspondiente a los protones H-27 del metilo original y por la aparición de un doble enlace exocíclico.

El reagrupamiento a partir de este producto se puede deber a la disposición transperiplanar de los enlaces C₁₃-C₁₄ y C₁₂-Br, de manera que se formaría un anillo de cinco miembros y otro de siete (producto **52**).

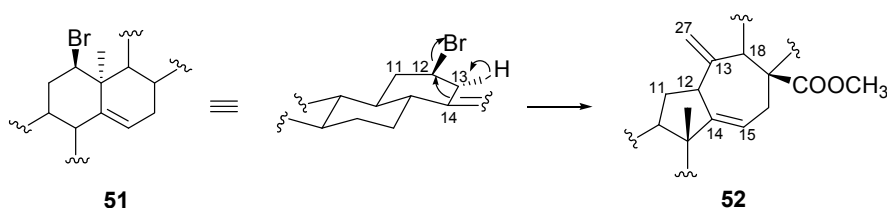


Figura 2.41. Mecanismo de formación del producto **52**

2.3.2.2 Apertura fotoquímica del dieno **50**

Una vez obtenido el dieno en el anillo C (compuesto **50**) se intenta la apertura de este anillo por el enlace C-8/C-14, lográndose fotoquímicamente por la acción de la luz ultravioleta durante 20 minutos con una lámpara de 125 W en un reactor de vidrio convenientemente equipado con refrigeración. Se obtiene en este proceso un compuesto triénico con los tres dobles enlaces conjugados (**53**), cuya estructura es similar a la previtamina D. Con la exposición a tiempos mayores de 20 min (ver Tabla 2.5) la mezcla de reacción evoluciona, apareciendo otro compuesto triénico en el que uno de los dobles enlaces es exocíclico, compuesto **54**, que presenta una estructura similar a vitamina D.

El EMAR del compuesto **53** indica un peso molecular de 452 u.m.a., que es compatible con la fórmula molecular C₃₁H₄₈O₂ idéntica a la del dieno **50**. El sistema AB que se observa en el espectro de ¹H RMN ahora se muestra mucho más abierto pudiéndose diferenciar la señal de H-12 a δ 5.97 (1H, d, J = 12.9 Hz) y la de H-11 a δ 5.83 (1H, d, J = 12.9 Hz). Son destacables, también, los desplazamientos químicos de dos señales de metilo que se desapantallan considerablemente con respecto al producto de partida (δ 1.49 y 1.25), y que corresponden a las señales de los metilos ahora alílicos, H-27 y H-26. Por lo que se refiere al espectro de ¹³C RMN, de nuevo se confirma la formación del sistema triénico por la aparición de señales a desplazamientos químicos típicos de carbonos etilénicos, cuatro de ellos cuaternarios (δ 127.7, 129.5, 134.6 y 138.8) y dos metinos (δ 127.7, 132.4).

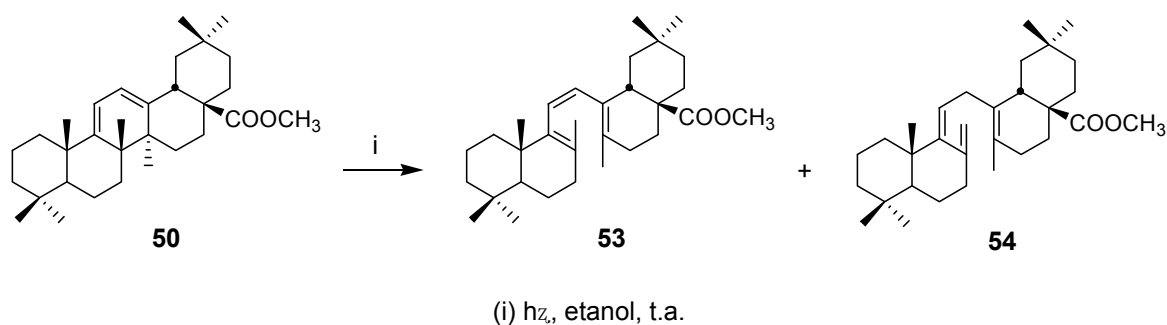


Figura 2.42. Apertura fotoquímica del dieno **50**.

Tabla 2.5. Porcentajes^a de los productos **50**, **53** y **54** a distintos tiempos de reacción

Tiempo	50	53	54
20 min	21 %	78 %	-
30 min	15 %	46 %	38 %
40 min	15 %	33 %	52 %

^a Porcentajes obtenidos por integración de las señales H-11 (**50**), H-11 (**53**) y H-26 (**54**)

El trieno **53** se obtiene mediante una reacción electrocíclica de tipo fotoquímico similar a la que ocurre entre ergosterol y previtamina D,¹⁰³ que ya fue comentada en la Introducción de esta Memoria. La disposición *trans* entre los metilos C-26 y C-27 permite una reacción antarafacial del sistema de 6 electrones π , dando lugar a la rotura del enlace C-8/C-14, como se representa en la Fig. 2.43.

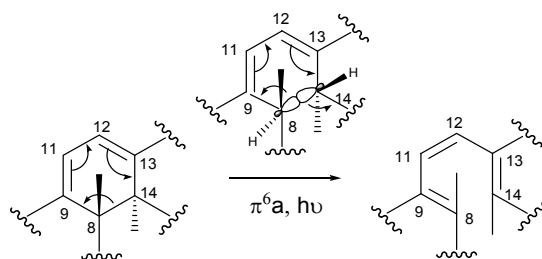


Figura 2.43. Reacción electrocíclica conrotatoria de dieno a trieno

Para el compuesto **54** su EMAR indica también que es isómero del trieno **54**. De su espectro de ¹H RMN se puede deducir la distribución de dobles enlaces al apreciarse dos señales cuyos desplazamientos (δ 4.98 y 4.52) y multiplicidad (dobletes, con la misma constante de acoplamiento pequeña $J = 2.5$ Hz) indican que se trata de dos protones que pertenecen a un doble enlace exocíclico, que deben corresponder a los protones H-26, puesto que la señal de este metilo ha desaparecido. Al no apreciarse la señal del protón de H-12 pero si el doble

doblete de H-11 acoplado con H-12, sugiere que los otros dos dobles enlaces se encuentran entre C-9/C-11 y C-13/C-14. De hecho, la asignación de C-11 se realiza a partir del espectro de ^{13}C RMN debido a que C-11 es el único carbono metínico (δ 116.7 ppm) y C-26 es metilénico (δ 111.6).

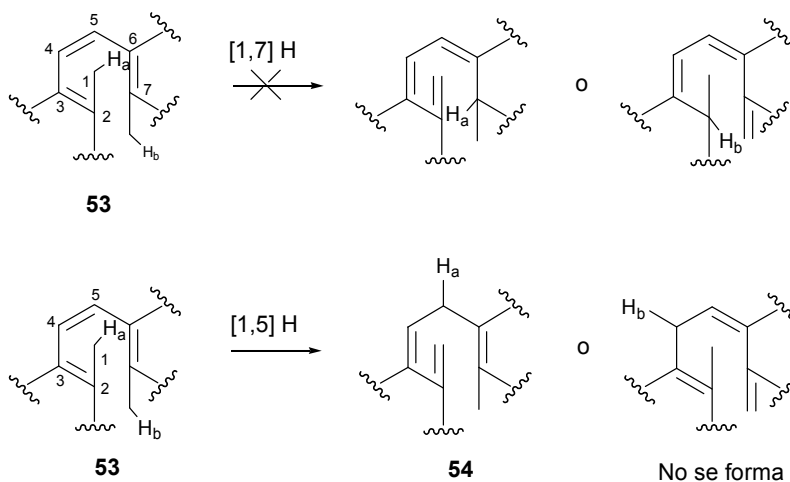


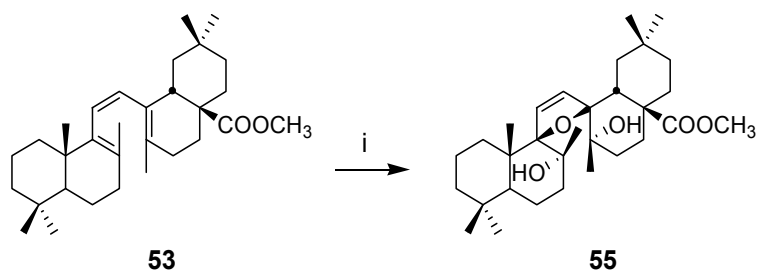
Figura 2.44. Posibles desplazamientos sigmatrópicos $[1,5] \text{H}$ y $[1,7] \text{H}$ del compuesto **53**

El trieno **54** se forma por desplazamiento sigmatrópico $[1,5]$ de hidrógeno, en el cual un hidrógeno del grupo metilo C-26 migra a la posición C-12. En este caso, no tiene lugar el desplazamiento sigmatrópico $[1,7]$ de hidrógeno como ocurre, por ejemplo, en la transformación de previtamina D en vitamina D. Probablemente, esto es debido a que la posición 7 (C-14) tiene otro grupo metilo (C-27) que impide dicho desplazamiento. Además, la presencia de los dos grupos metilos C-26 y C-27 distorsiona la conformación de la molécula impidiendo cualquier migración entre las posiciones 1 y 7 del desplazamiento sigmatrópico de hidrógeno. Es más, de acuerdo con los resultados experimentales, se puede afirmar que la disposición molecular sólo permite uno de los dos desplazamientos posibles $[1,5] \text{H}$.

2.3.2.3 Reactividad del trieno **53**

Una vez conseguida la apertura del anillo C, el trieno obtenido que posee el doble enlace central en disposición Z, **53**, se somete a diferentes procesos oxidativos, que se detallan a continuación, con la idea inicial de romper el doble enlace central (C-11/C-12) y fragmentar la molécula en dos unidades sesquiterpénicas.

2.3.2.3.1 Tratamiento del trieno **53** con NaIO₄/RuCl₃



(i) RuCl₃, NaIO₄, acetona, agua, t.a., 30 min, 80 %

Figura 2.45. Tratamiento del trieno **53** con NaIO₄/RuCl₃

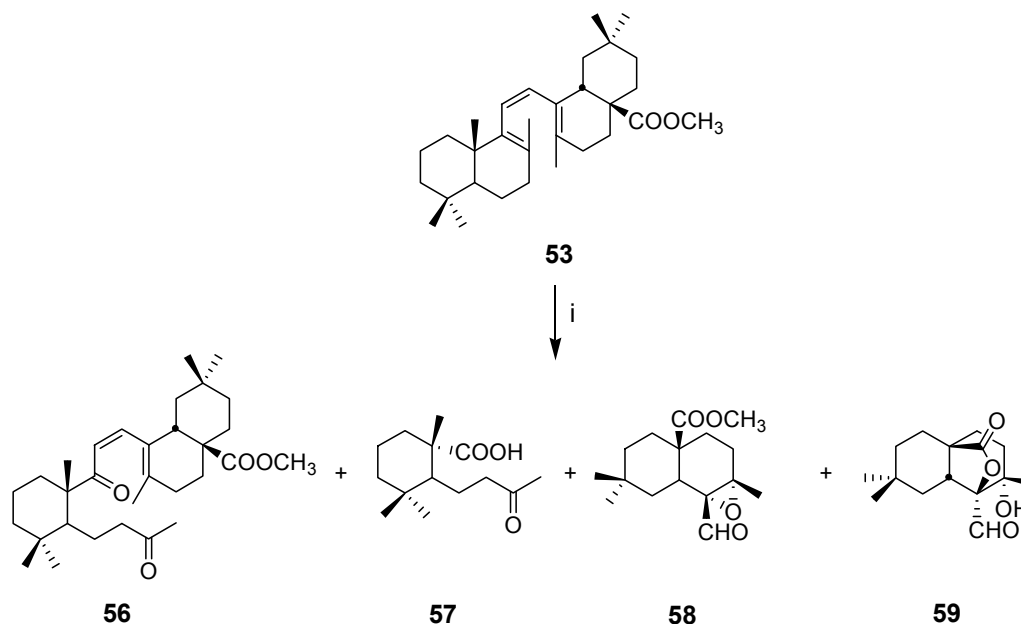
El tratamiento de trieno **53** con NaIO₄ y RuCl₃ da lugar al compuesto **55**, como consecuencia de la reacción de oxidación de los enlaces C-8/C-9 y C-13/C-14, quedando inalterado el doble enlace central C-11/C-12.

El EMAR del compuesto **55** indica un peso molecular de 502 u.m.a., que se corresponde con la fórmula molecular C₃₁H₅₀O₅. Aunque en el espectro de ¹H RMN se observa un ligero desplazamiento de las señales de H-11 y H-12 a campo más alto que el producto de partida (δ 5.51 y δ 5.70) es el espectro de ¹³C RMN el que proporciona más información acerca de la estructura de este compuesto, ya que C-8 y C-14 se sitúan a 74.2 y 74.6 ppm, desplazamientos típicos de carbonos unidos a grupos hidroxilos. Además, C-9 y C-13 se encuentran a δ 103.6 y δ 95.6, valores demasiado elevados para ser atribuidos a grupos hidroxilos o epóxidos, lo que sugiere que se trata de carbonos que forman un éter cíclico de mayor tamaño que un oxirano. El único doble enlace que permanece como tal es el de C-11/C-12, carbonos cuyas señales se aprecian a 124.8 y 134.5 ppm, respectivamente.

2.3.2.3.2 Ozonolisis del trieno **53**

Habida cuenta que la oxidación desarrollada anteriormente no consigue la rotura del doble enlace central del trieno **53**, se intenta su ozonolisis. Para ello se somete este compuesto disuelto en AcOEt a flujo continuo de ozono durante 7 min a -78°C. Transcurrido este tiempo se desplaza el ozono en exceso con una corriente de argón y se le adiciona Me₂S, manteniendo la mezcla 1 h en agitación a t.a. Del crudo obtenido se aíslan por cromatografía los productos **56**, **57**, **58** y **59** en los que se han dado diferentes roturas y oxidaciones sobre los distintos dobles enlaces. Por un lado, el compuesto **56** es consecuencia de la fragmentación con ozono del doble enlace C-8/C-9, en la que se forman dos carbonilos en los carbonos que estaban unidos por el doble enlace, mientras que los otros dobles enlaces permanecen como tales dando lugar a la molécula triterpénica con los anillos B y C abiertos. En el compuesto **57** la ozonolisis ha

conseguido romper el doble enlace pretendido pero también el enlace C-8/C-9, obteniéndose un fragmento monociclo, que sólo conserva el anillo A como tal. Para el caso de los compuestos **58** y **59**, fragmentos que provienen de los anillos D-E, la rotura se ha dado por el doble enlace central, obteniéndose, por tanto, *cis*-decalinas, uno de los objetivos de la fragmentación de la molécula triterpénica. En el compuesto **59** además, se ha formado un ciclo lactónico, posiblemente como consecuencia de un reordenamiento interno del producto **58**.



(i) a. O₃, AcOEt, -78 °C, 7 min; b. Me₂S, t.a., 1h; **56** (12%), **57** (22%), **58** (25%) y **59** (14%)

Figura 2.46. Ozonolisis del compuesto **53**

El peso molecular del compuesto **56** derivado de su espectrometría de masas (484 u.m.a) nos sugiere que se trata de la molécula triterpénica completa en la que ha ocurrido la entrada de dos oxígenos (C₃₁H₄₈O₄). Mientras, en el espectro de ¹H RMN se observa que el sistema AB etilénico del doble enlace central sigue existiendo, lo que demuestra que este enlace no se ha visto afectado. También es destacable la presencia de una metil cetona a δ 2.00 y la ausencia de una señal de los dos metilos alílicos que presentaba la molécula de partida. Estos datos junto con que el protón alílico de H-18 sigue resonando a 3.15 ppm parece indicar que el doble enlace roto es C-8/C-9. Este hecho se comprueba en el espectro de ¹³C RMN ya que se observa la desaparición de dos señales etilénicas y la aparición de dos señales carbonílicas (205.7 y 208.7 ppm). Las señales tanto de H-11 y H-12, como las de sus correspondientes carbonos en ¹³C RMN, varían bastante, aunque es difícil asignarlas y por lo tanto no son concluyentes para decidir donde se sitúan las diferentes funciones oxigenadas. La presencia de un carbono cuaternario a 45.5 ppm se podría relacionar con C-10 debido a una cetona en C-9.

Por otra parte, C-18 se localiza a 32.0 ppm, lo que parece señalar que en C-13 no puede haber una cetona, porque resonaría a campo más bajo. También se ve un desapantallamiento importante en la señal de C-7 que se localiza a 34.5 ppm, lo que está en consonancia con el dato de C-10, y se confirma así que el doble enlace C-8/C-9 es el que se ha roto dando dos grupos carbonilos, mientras que el doble enlace C-13/C-14 permanece intacto (δ 139.8 y 142.6).

El compuesto **57** presenta un EMAR que proporciona un peso molecular de 240 u. m. a. que es compatible con una fórmula molecular en la que sólo hay catorce carbonos, $C_{14}H_{24}O_3$. En el espectro de 1H RMN la señal más significativa corresponde a un metilo singlete a campo más bajo de lo habitual (δ 2.1) que se puede relacionar con metilos geminales a un grupo carbonílico. Por otro lado, el espectro de ^{13}C RMN ofrece señales más reveladoras, ya que se pueden apreciar señales de tipo carbonílico (δ 184.2) y de tipo ácido (δ 208.0).

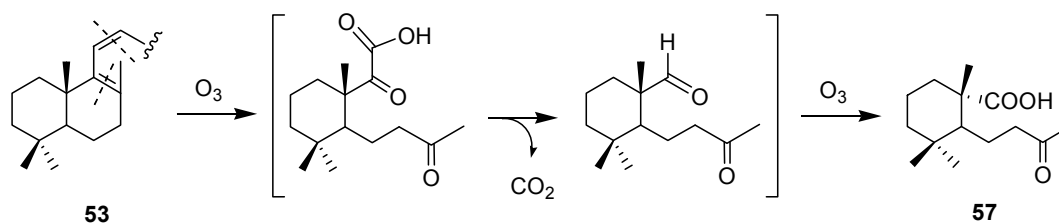


Figura 2.47. Mecanismo propuesto para la formación de **57**

El mecanismo propuesto para la formación de **57** se iniciaría con una doble rotura por el enlace C-8/C-9 que daría lugar a un carbonilo en C-8, y por C-11/C-12 que conduciría a un α -cetoácido. Este intermedio descarboxilaría hacia el aldehído correspondiente que seguiría oxidándose hasta el ácido **57** en el que se conserva la configuración inicial del metilo C-25 y por tanto el grupo ácido se encontraría en disposición α .

Por otro lado, el espectro de 1H RMN del compuesto **58** presenta una señal de tipo aldehído a 9.4 ppm, lo que sugiere que se ha dado la rotura del doble enlace C-12/C-13, igualmente se aprecia el singlete que integra por tres hidrógenos a δ 3.72 que corresponde al metilo del grupo éster lo que indica que se trata del fragmento que contiene los anillos D-E. Además, es también destacable la presencia de tan sólo tres señales singletes correspondientes a metilos δ 1.31, 0.84 y 0.89, y que demuestra que el esqueleto ya no es triterpénico. Mientras, su espectro de ^{13}C RMN revela la presencia de dos carbonos cuaternarios oxigenados (δ 64.8 y 70.1), consecuencia de la epoxidación del doble enlace C-14/C-15, y carbonos de tipo carbonilo y aldehído, δ 177.4 y 200.1, respectivamente. Por último, la espectroscopía de masas nos ofrece un peso molecular de 280 u.m.a. que concuerda con la fórmula molecular propuesta para esta estructura ($C_{16}H_{24}O_4$). Hay que subrayar que el impedimento estérico que presenta la cara β por

la disposición axial del sustituyente C-28 dará lugar a que la cara α esté más favorecida para el ataque de reactivos y por tanto el epóxido tenga disposición α .

En cuanto a las características espectroscópicas del producto **59**, el EMAR proporciona un peso molecular de 266 u.m.a., compatible con la fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_4$, indicando que se trata también de un fragmento que proviene de la rotura de la molécula triterpénica por el doble enlace central. Esto se confirma en su espectro de 1H RMN, donde se observa una señal a desplazamiento químico propio de hidrógenos de tipo aldehídico (δ 9.5), pero en este caso no aparece la señal del metilo del ester. Este hecho junto con los datos obtenidos del espectro de ^{13}C RMN donde ahora las señales de los carbonos cuaternarios oxigenados se encuentran a 72.9 y 82.5 ppm, más propios de carbonos unidos a grupos hidroxilos que a oxiranos. Se sugiere entonces un reordenamiento interno del compuesto **58**, en el que la protonación inicial del epóxido da lugar a la formación de un carbocatión terciario que es atacado por el carboximetilo conduciendo a la formación del ciclo lactónico.

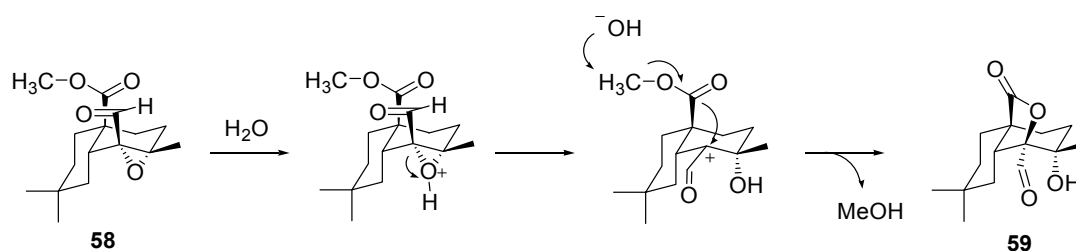


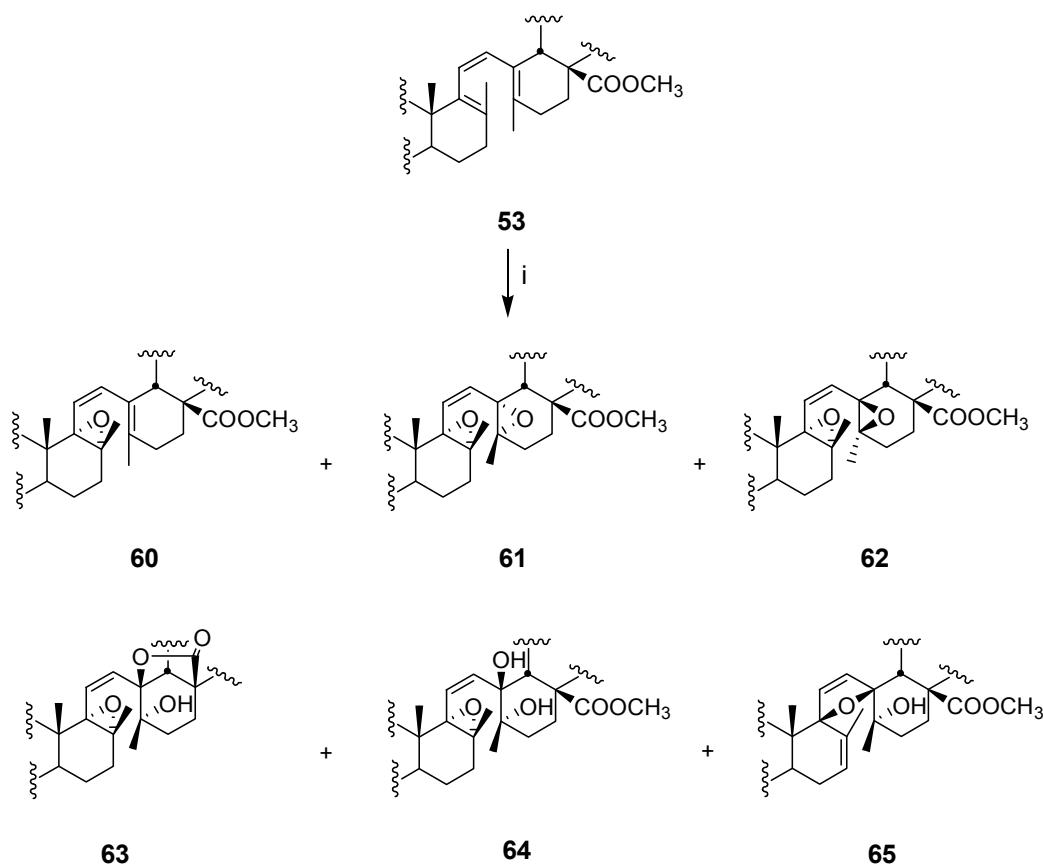
Figura 2.48. Formación del ciclo lactónico en compuesto **58**

2.3.2.3.3 Epoxidación del trieno **53**

Habida cuenta de que el doble enlace central se afecta mediante ozonolisis, pero también el doble enlace C-8/C-9, imposibilitando la obtención de la *trans*-decalina que contiene los anillos A-B, se intenta proteger éste mediante epoxidación, para después tratar de fragmentar la molécula por el enlace C-11/C-12 libre, y además permitir de este modo que el número de productos obtenidos por ozonolisis se minimice. Así, al llevar a cabo la epoxidación de trieno **53** con AMCPB tiene lugar la formación de diferentes compuestos oxigenados, variando sus proporciones según las condiciones de reacción empleadas (ver Tabla 2.6). En todos los casos se ha utilizado una relación producto de partida:reactivo de 1:1.5.

A bajas temperaturas se forma un único producto epoxidado entre los carbonos C-8 y C-9 por la cara α , que tiene menor impedimento estérico para el ataque de reactivos, ya que el metilo C-25 está en disposición β sobre el carbono contiguo C-1. Se deduce, además, que el doble enlace

más reactivo es el que forman estos dos átomos de carbono. En su espectro de ^1H RMN destacan las señales de dos protones etilénicos a δ 6.1 y 5.6, que se atribuyen a H-12 y H-11, respectivamente, y un metilo alílico a 1.5 ppm, que debe ser H-27, puesto que los protones H-26 ya no son alílicos. El doble enlace epoxidados se confirma con la señal de H-18 (alílico al doble enlace C-13/C-14) que permanece a desplazamiento similar al del producto de partida (δ 3.5), y por tanto este doble enlace no se ha epoxidado. Por otro lado, si se comparan los valores de los desplazamientos de ^{13}C RMN de este producto con los de trieno **53** se aprecian diferencias significativas en los carbonos C-8 y C-9 como consecuencia de la formación de un anillo oxiránico entre ellos. Así, en el producto **60** se sitúan a 60.7 y 72.1 ppm y en el de partida a δ 129.5 y 138.8.



(i) AMCPB, CH_2Cl_2 , temperatura y tiempos ver Tabla 2.6

Figura 2.49. Productos obtenidos por epoxidación de trieno **53** en diferentes condiciones.

Al aumentar la temperatura de reacción se aíslan otros productos, como el compuesto **61**, cuyo espectro de masas de alta resolución indica un peso molecular de 484 u.m.a., compatible con la fórmula molecular $\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4$. En el espectro de ^1H RMN los desplazamientos de las señales de los protones son muy similares a los correspondientes del producto de partida, ya que se observa que las señales de los protones etilénicos se mantiene aunque ya no hay metilos alílicos, puesto

que las señales atribuidas a H-26 y H-27 que se localizaban a 1.25 y 1.47 ppm, respectivamente, en el compuesto **53**, en el producto **61** se sitúan a δ 1.11 y 1.10. El espectro de ^{13}C RMN proporciona información más relevante ya que se aprecian desplazamientos similares para C-8 y C-9 (62.4 y 72.1 ppm, respectivamente) con respecto al producto anterior, **60**, sugiriendo que el producto **61** se encuentra epoxidado en C-8 y C-9 con la misma configuración que en el compuesto **60**, es decir, en α . Sin embargo, éste no es el único epóxido de la molécula, ya que a 61.1 y 65.5 ppm se localizan dos señales que se asignan a los carbonos C-14 y C-13. Por lo que se refiere a su configuración, será α nuevamente, puesto que el protón H-18 no se ha afectado por la formación del anillo oxiránico; si esta función estuviera en disposición β , la señal de este hidrógeno se habría desapantallado con respecto al trieno de partida. Además, permanecen prácticamente inalteradas las señales de C-11 y C-12, confirmando que el producto **61** es el correspondiente diepóxido en 8,9- α y 13,14- α .

Tabla 2.6. Productos y rendimientos de la epoxidación de **53**

Temperatura	tiempo	53	60	61	62	63	64	65
-60 °C	24 h	40 %	55 %	-	-	-	-	-
-60 °C	48 h	10 %	82 %	-	-	-	-	-
-40 °C	3 h	-	60 %	16 %	8 %	6 %	-	-
-40 °C	5 h	-	42 %	10 %	18 %	10 %	8 %	-
-40 °C	12 h	-	31 %	8 %	20 %	15 %	4 %	-
t.a	2 h	-	10 %	3 %	20 %	25 %	2 %	10 %

Por otro lado, el EMAR del compuesto **62** indica que es isómero del compuesto **61** al proporcionar el mismo peso molecular. Su espectro de ^1H RMN muestra una señal a 3.27 ppm que se atribuye a H-18, protón que se ha desapantallado bastante con respecto a los productos **53** y **61**, en los que aparece a δ 2.77 y 2.49, respectivamente. En cuanto al espectro de ^{13}C RMN, las señales de los carbonos C-8 y C-9 se localizan a 60.0 y 72.5 ppm, respectivamente, que son desplazamientos similares a los que presentan estos mismos carbonos en el producto **61** (δ 62.4 y 72.1). La señal correspondiente a C-13 tampoco ha variado mucho (66.3 ppm en **53**, 65.6 ppm en **60**), pero sí lo ha hecho la de C-14, que ha pasado de encontrarse a δ 61.4 en el compuesto **61** a δ 57.3 en el producto **62**; estos datos, junto con el desapantallamiento de H-18 y la similitud en los desplazamientos de C-8 y C-9 de **61** y **62**, indican que se trata de un compuesto con dos anillos oxiránicos, uno en C-8/C-9 en disposición α y otro en C-13/C-14 en disposición β . Se observa, además, que la señal atribuible a C-15 se ha desplazado a campo más alto con respecto a **61** y la

de C-19 a campo más bajo, lo que confirma que la disposición del epóxido en C-13/C-14 ha cambiado con respecto al compuesto diepoxidado anterior.

El EMAR de otro producto oxidado, **63**, da un peso molecular de 470 u.m.a., compatible con la fórmula molecular $C_{30}H_{46}O_4$, indicando que posee un átomo de carbono menos que todos los anteriormente comentados. En su espectro de 1H RMN es destacable la ausencia de la señal correspondiente al metoxilo y la presencia de una señal a δ 6.03 atribuible al protón de un grupo hidroxilo. Mientras, en su espectro de ^{13}C RMN se observan dos carbonos oxigenados a 67.1 y 74.5 ppm que corresponden a C-8 y C-9 y otros dos a δ 84.7 y 74.7, que por desplazamiento parecen no formar parte de un epóxido y se atribuyen a C-13 y C-14. El desplazamiento de la señal de C-13 a campo más bajo, la ausencia del metilo del grupo metoxilo en el espectro de 1H RMN y la pérdida de un carbono en el espectro de masas, indican que se trata de un compuesto epoxidado en C-8/C-9 con configuración α en el que ha lactonizado el carboximetilo de modo similar al reordenamiento que sufre el compuesto **58**, causando la apertura del epóxido de C-13/C-14, quedando un hidroxilo en C-14 en disposición α , puesto que para que se forme la lactona el carbonilo del metoxilo debe reaccionar por la cara β (luego el epóxido debía estar en α). Además, se han afectado las señales correspondientes a C-11 y C-12, que en este producto se encuentran a 121.1 y 137.9 ppm (C-11 se ha desplazado a campo más alto y C-12 a campo más bajo).

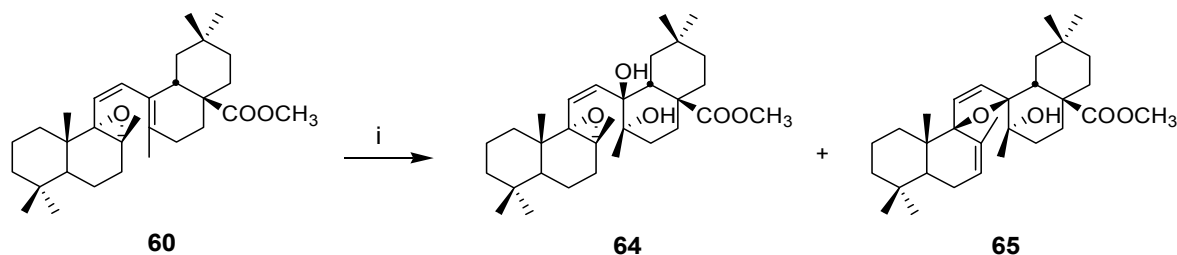
Por otro lado, el EMAR del compuesto **64** indica un peso molecular de 502 u.m.a., que es compatible con la fórmula molecular $C_{31}H_{50}O_5$, y por tanto este compuesto tiene un átomo de oxígeno más que los diepóxidos anteriormente comentados. En el espectro de 1H RMN se observa una señal a δ 4.65 como singlete ancho, que indica la presencia de grupos hidroxilos en la molécula. Mientras, en el espectro de ^{13}C RMN se aprecia que las señales correspondientes a C-8 y C-9 (65.3 y 73.9 ppm) se sitúan a un desplazamiento similar al de estos carbonos en el producto **63**, por tanto este grupo epóxido se encuentra en la misma disposición (α). En cambio, C-13 y C-14 se sitúan a 77.7 y 74.3 ppm, respectivamente, que son desplazamientos característicos de carbonos que soportan grupos hidroxilos. Debido a que C-14 se localiza a δ 74.3 en este producto y a δ 74.7 en **63**, se deduce que el hidroxilo debe estar en la misma disposición, por lo que necesariamente el de C-13 debe estar en β . Se aprecia, asimismo, un desplazamiento de la señal de C-12 a campo más bajo (136.8 ppm) y de C-11 a campo más alto (123.4 ppm) con respecto a los diepóxidos **61** y **62**, como ocurre en el producto **63** que también tiene un enlace $C_{13}-O$ en disposición β y un hidroxilo en C-14 en α .

Si la reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente se obtiene el producto **65**, cuyo EMAR proporciona un peso molecular de 484 u.m.a., que es compatible con la fórmula molecular $C_{31}H_{48}O_4$. En el espectro de 1H RMN se aprecia una señal como doble doblete en la zona de protones etilénicos (δ 5.55, 1H, dd, $J_1 = 3.5$ Hz, $J_2 = 5.0$ Hz) que se atribuye a H-7, además de las

señales correspondientes a H-11 y H-12. Se observa, asimismo, la presencia de un doble doblete a 2.29 ppm (1H, ddd, $J_1 = 3.5$ Hz, $J_2 = 13.4$ Hz, $J_3 = 13.9$ Hz) que corresponde a un protón H-6; ambas señales confirman la formación de un doble enlace entre C-7 y C-8. En cuanto al espectro de ^{13}C RMN, han tenido lugar modificaciones en los desplazamientos de las señales de varios carbonos con respecto al producto de partida. Como consecuencia del doble enlace en C-7/C-8, la señal correspondiente a C-6 se ha desapantallado notablemente, ya que en el producto **60** se localizaba a δ 17.3 y en **65** se encuentra a 25.3 ppm. Además, se aprecian cuatro carbonos etilénicos, de forma que a δ 131.5 y 132.5 se sitúan las señales de C-11 y C-12, respectivamente, y a δ 127.8 y 133.9, las de C-7 y C-8. En cuanto a C-9 y C-13, se encuentran a δ 98.3 y 95.2, valores que ya no corresponde a un carbono unido a un grupo hidroxilo o a un epóxido, sino que es característico de sistemas de tipo C-O-C (éteres cíclicos de mayor tamaño que un oxirano). Por último, C-14 se localiza a δ 74.9, que es un desplazamiento idéntico al mismo carbono del compuesto **63**, lo que significa que está unido a un hidroxilo que se encuentra en disposición α . De este modo, se puede afirmar que los enlaces C₉-O y C₁₃-O se disponen en β .

2.3.2.3.4 Ozonolisis del monoepóxido 60

Se intenta la ozonolisis del producto **60**, generado mediante la epoxidación del trieno **53**, ya que parece, en principio, un sustrato adecuado para la fragmentación deseada, al tener protegido en forma de epóxido el enlace C-8/C-9 que se considera el enlace más reactivo según datos obtenidos anteriormente. De esta reacción se aíslan dos productos ya reconocidos en la epoxidación del trieno **53**, donde el doble enlace central permanece de nuevo intacto, productos **64** y **65**.



(i) a. O₃, AcOEt, -78°C, 2 min; b. Me₂S, t.a., 12h, **64** (30%) y **65** (22%)

Figura 2.50. Ozonolisis del monoepóxido **60**

2.3.2.3.5 Tratamiento del compuesto 64 con ozono y NaIO₄/RuCl₃

Un nuevo intento de rotura del doble enlace sobre C-11/C-12 se lleva a cabo con la ozonización del producto **64**, en el que ya sólo queda el doble enlace indicado para reaccionar. El tratamiento con ozono no conduce a ningún producto, permaneciendo inalterado el compuesto de

anillos D-E, se pensó en variar la configuración y/o disposición del sistema triénico para comprobar si se ve mejorada su reactividad con respecto a la fragmentación del esqueleto triterpénico. Para ello se desarrollan distintas isomerizaciones tanto fotolíticas como químicas.

En la Fig. 2.52 se muestran los sistemas triénicos formados a partir del compuesto **53**. En primer lugar, se observa que si se somete este trieno *Z* a la acción de luz ultravioleta en un reactor de cuarzo, se aísla el producto **54** (95%), que ya había sido obtenido en la formación de **53** cuando se prolongaban los tiempos de exposición con la lámpara. Los diferentes resultados en pyrex y cuarzo se deberán, probablemente, a las diferentes longitudes de onda que estos materiales permiten penetrar. Se intentó, igualmente, isomerizar el doble enlace central C-11/C-12, de *Z* a *E*, hecho que se consiguió con I₂ en hexano dando el producto **66**. Si esta isomerización se realiza con TFA en tolueno se obtiene el mismo trieno *E* con excelente rendimiento. Además, esta reacción se lleva también a cabo a reflujo en distintos disolventes y se comprueba que en hexano no se produce ninguna evolución, mientras que en CH₂Cl₂ se forma mayoritariamente un nuevo compuesto triénico (**67**), en el que uno de los dobles enlaces deja de estar conjugado.

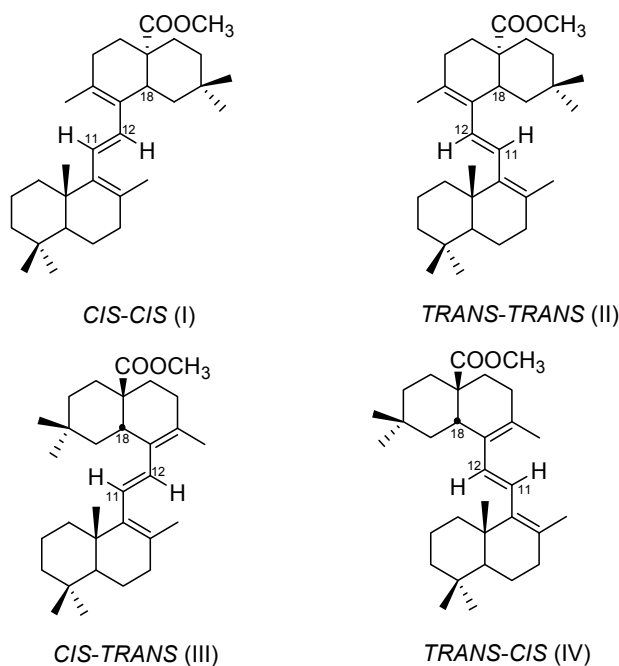


Figura 2.53. Estructuras posibles para el compuesto **66**

Por lo que se refiere al compuesto **66**, que procede tanto de la isomerización del trieno **53** con yodo como con TFA, presenta un EMAR que proporciona un peso molecular de 452 u. m. a., que es compatible con la fórmula molecular C₃₁H₄₈O₂ e indica que se trata de un isómero de los compuestos **53** y **54**. En el espectro de ¹H RMN se observa que la señal de H-12 se sitúa a mayor desplazamiento (δ 6.15) que en el producto de partida (δ 5.97). En cambio, la señal de H-11 se

localiza a un desplazamiento similar, ya que en el compuesto **66** se sitúa a δ 5.99 y en **53** a 5.83 ppm. Sin embargo, es en las constantes de acoplamiento entre estos protones en las que se aprecian mayores diferencias, ya que en el trieno Z es moderadamente alta ($J = 12.9$ Hz), mientras que en el isómero **67** es de 16.2 Hz. La señal de H-18 también se ha desplazado a campo más bajo, aunque sólo ligeramente, ya que ha variado de 2.79 ppm en el trieno **53**, a 3.14 ppm en el producto **66**. Los protones H-26 y H-27 se aprecian, asimismo, más desapantallados (1.67 y 1.64 ppm). En cuanto al espectro de ^{13}C RMN, las diferencias más significativas, aunque pequeñas, entre el producto de reacción y el de partida se localizan en los carbonos C-18, C-8, C-9, C-11, C-12, C-13 y C-14, ya que éstos son los más directamente implicados en el proceso de cambio de estructura.

La estructura del compuesto **66** con el doble enlace central en disposición *E*, similar a tachisterol requiere un estudio más detallado. Si tenemos en cuenta que los enlaces C-9/C-11 y C-12/C-13 del trieno de partida son sencillos y tienen cierto grado de rotación, podemos esperar, en principio, cuatro disposiciones diferentes, que se muestran en la Fig. 2.53. Sin embargo, experimentalmente sólo se obtiene muy mayoritariamente un producto, siendo necesario determinar de cuál de los cuatro se trata. Por los datos experimentales proporcionados por las experiencias de tipo NOESY que se han llevado a cabo en nuestro Grupo de Investigación, sobre el mismo trieno pero del oleato de metilo, sabemos que trieno **66** presenta una disposición $S_{9,11}Z S_{12,13}E$.

Esto se deduce porque según los datos proporcionados por las experiencias de tipo NOESY, uno de los protones del doble enlace central (H-11 o H-12) correlaciona con los dos grupos metilo alílicos, por lo que las estructuras I y II de la Fig. 2.53 quedan descartadas. Por otra parte, se observa que el protón que correlaciona con los metilos alílicos en el espectro NOESY correlaciona en el espectro HMBC también con C-18, por lo que sólo puede ser H-12, lo que conduce, finalmente, a la estructura III.

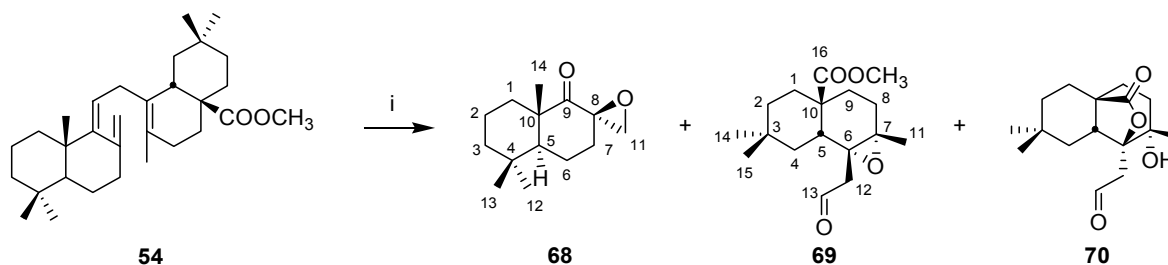
Por último, vamos a comentar el resultado de la isomerización con TFA en CH_2Cl_2 en la que se obtiene transcurridas 5 h de nuevo el trieno **66** (15%) y un nuevo trieno, **67** (80%). Después de ser aislado se comprobó con los datos espectroscópicos que el doble enlace central seguía teniendo la misma configuración aunque las señales habían variado de multiplicidad. Esto sugirió que uno de los dobles enlaces terminales del sistema triénico, se había aislado, y el doble enlace C-8/C-9 había migrado a la posición C-7/C-8.

Así, su EMAR nos indica de nuevo que se trata de un isómero de los trienos anteriores, ya que su peso molecular es el mismo. En su espectro ^1H RMN puede verse como el sistema AB de dos dobletes ahora se ve modificado y uno de los protones del sistema es un doble doblete, lo que

sugiere que uno de los dobles enlaces terminales del sistema triénico se ha aislado. Como la señal de H-18 no se ha visto afectada, y su desplazamiento y multiplicidad permanece muy similar a la del producto de partida, se contempla que el doble enlace C-8/C-9 se ha movido, migrando a las posiciones C-7/C-8. De este modo, entraría un protón en C-9 que al situarse contiguo a H-11 provocaría que esta señal se convirtiese en un doble doblete. Por otra parte, se ve claramente como la señal de H-11 es la que se apantalla por perder la conjugación en esta posición. Además, se observa como aparece un nuevo protón etilénico, H-7 que se localiza a 5.49 ppm acoplado con los dos protones de C-6, aunque con dos constantes pequeñas y que no se resuelven con facilidad. Los datos de ^{13}C RMN confirman la hipótesis, ya que se aprecia como uno de los carbonos etilénicos varía pasando de ser cuaternario (C-9 del producto de partida) a metínico (C-7 de **67**), y además también se observa la ausencia de un metileno del producto de partida y la formación de un nuevo metino (C-9). La configuración de C-9 ya se había comprobado inequívocamente en un esqueleto similar empleando una experiencia NOE. La irradiación sobre H-9 produjo correlación sobre el metilo de C-10 y por tanto ambos se sitúan por la misma cara β .¹³⁵

2.3.2.4 Reactividad del trieno **54**.

Una vez obtenidos los diferentes isómeros de **53** se procede a analizar las fragmentaciones que estos sistemas triénicos pueden proporcionar.



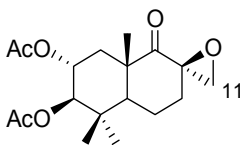
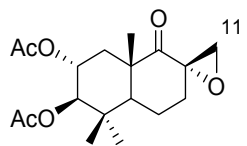
(i) a. O_3 , AcOEt, -78°C , 2 min; b. Me_2S , t.a., 12h, **68** (24%), **69** (32%) y **70** (16%)

Figura 2.54. Ozonólisis del trieno **54**

La ozonólisis de **54**, trieno que posee el doble enlace exocíclico, da lugar a una mezcla compleja de productos oxidados de la que se aíslan los compuestos **68**, **69** y **70**. Como señala la Fig. 2.54 los productos obtenidos proceden de la rotura del doble enlace C-9/C-11 dando lugar en estas posiciones a grupos carbonilos, mientras que el resto de dobles enlaces tienen lugar procesos de epoxidación, seguramente por reordenamientos de los molozónidos intermedios.

El EMAR del compuesto **68** nos proporciona un peso molecular de 222 u. m. a., que se ajusta a la fórmula molecular $C_{14}H_{22}O_2$ confirmando la degradación del esqueleto triterpénico. Su espectro de 1H RMN corrobora también la fragmentación del compuesto **54** ya que sólo se observa tres señales singletes correspondientes a los metilos del nuevo esqueleto a 1.22, 0.96 y 0.93 ppm. Además, la ausencia de la señal del metoxilo podría probar que la molécula obtenida posee los antiguos anillos A-B del triterpeno. Otra señal que llama la atención en este espectro es un sistema AB formado por dos dobletes a δ 3.21 y 2.55 que se acoplan entre sí con una constante de acoplamiento de $J = 5.5$ Hz, y que por su desplazamiento químico parece ser debido a protones unidos a un carbono con una función oxigenada. Como ya comentamos, la fórmula molecular nos indica que en la molécula hay dos átomos de oxígeno que podrían estar unidos a C-8 y C-9, zona donde se ha producido la fragmentación, pero el espectro de ^{13}C RMN pone de manifiesto la aparición de una única señal de carbonilo cetónico a 210.8 ppm y de dos carbonos oxigenados a δ 50.6 y δ 58.0, que por su valor podrían corresponder a un epóxido. La posibilidad de que este anillo se hubiese formado entre los carbonos C-8 y C-11 (del nuevo esqueleto, C-26 del antiguo esqueleto triterpénico), es la más probable. El resto de señales del esqueleto se corresponden con la estructura propuesta, tres metilos (C-12, C-13 y C-14), tres metilenos (C-1, C-6 y C-7), un metino (C-5) y dos carbonos cuaternarios más (C-4 y C-10). En cuanto a la configuración del epóxido formado se ha comprobado en esqueletos similares que este anillo oxiránico puede formarse por ambas caras aunque está favorecida por la cara β a baja temperatura.²¹¹ De hecho, la comparación de los datos espectroscópicos de CH_2 -11 permite deducir que el oxígeno de este grupo se encuentra por la cara β .

Tabla 2.7. Comparativa de desplazamientos químicos de carbono e hidrógeno de CH_2 -11 entre distintos esqueletos y el compuesto **68**

			68
H-11a	3.25 ppm, d, $J = 5.2$ Hz	2.84 ppm, d, $J = 6.2$ Hz	3.21 ppm, d, $J = 5.5$ Hz
H-11b	2.59 ppm, d, $J = 5.2$ Hz	2.72 ppm, d, $J = 6.2$ Hz	2.55 ppm, d, $J = 5.5$ Hz
C-11	50.1	56.1	50.5

Este esqueleto es de gran interés sintético ya que uno de los métodos de síntesis de drimanos (ver Introducción) se basa en la utilización de *trans*-decalonas. De hecho, una trimetildecánola con esqueleto muy similar es utilizada para la síntesis de distintos drimanos como

eurifurano, confertiofolina, drim-8-en-ona, isodrimenina, valdiviolida y warburganal.¹²⁹ Para ello se introduce generalmente el C-12 vía formilación y posteriormente sobre la cetona C-9 se adiciona el reactivo adecuado para la obtención del drimano deseado. Para el fragmento obtenido, **68**, no sería necesaria la introducción del carbono 12, ya que este compuesto ya lo posee.

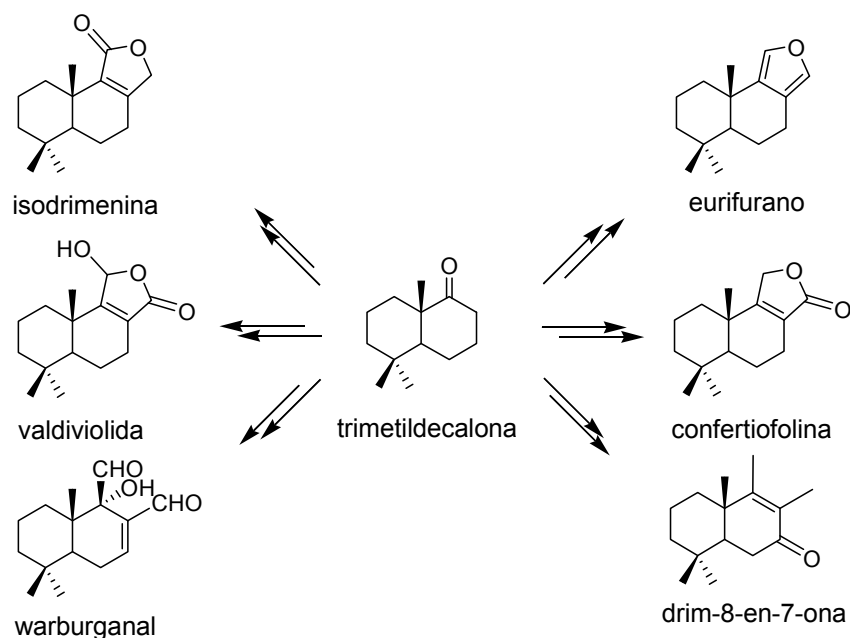


Figura 2.55. Síntesis de drimanos a través de trimetildecadona

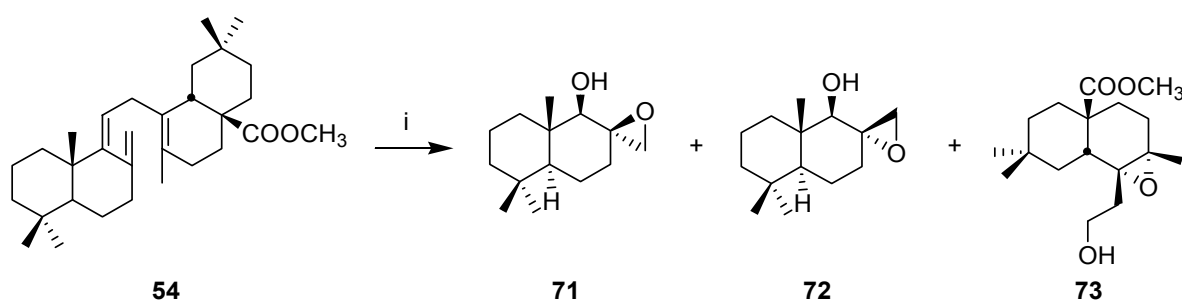
El EMAR de **69**, muestra un pico molecular a 294 m/z, que se corresponde con la fórmula molecular $C_{17}H_{26}O_4$, con lo que la fragmentación de la molécula resulta evidente. Este producto con 17 carbonos posee los antiguos anillos D-E, comprobándose este hecho en su espectro de 1H RMN, donde aparece la señal singlete de los tres protones del metoxilo a 3.65 ppm. Además, la señal característica a δ 9.87 como doble doblete ($J_1 = 2.7$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz), parece atribuible al aldehído que se ha formado en C-13, que se acopla con los dos protones H-12, y que aparecen a 2.79 y 2.44 ppm acoplados entre sí y con las mismas constantes de acoplamiento que esta señal. En el espectro de ^{13}C RMN aparece una señal cuaternaria a 200.6 ppm típica de un aldehído, además se observa como C-6 y C-7 forman un epóxido entre ellos, ya que aparecen señales a 64.1 y 62.3 ppm, características de carbonos que forman parte de un grupo oxirano.

En cuanto a los datos espectroscópicos del compuesto **70**, su espectro de masas de alta resolución, de nuevo señala que se trata de un fragmento de los anillos superiores del triterpeno, ya que su peso molecular es de 280 unidades de masa atómica, que corresponde a la fórmula molecular, $C_{16}H_{24}O_4$. Este dato indica que la molécula ha perdido un carbono con respecto al producto anterior aunque el número de oxígenos es el mismo. De hecho, su espectro de 1H RMN muestra la desaparición de la señal del metilo del éster de C-16. Como ya hemos visto en otros

fragmentos el carboximetilo puede atacar al carbocatión terciario formado por la protonación del epóxido dando lugar a un ciclo lactónico. También se puede observar en este espectro la presencia de un aldehído. El espectro de ^{13}C RMN nos aclara, que efectivamente, el epóxido se ha abierto, ya que las señales aparecen muy desapantalladas a 74.3 y 83.6 ppm y diferentes a las señales del epóxido del compuesto **69**, 64.1 y 62.3 ppm.

Como la mezcla de reacción anterior resultó ser bastante compleja en cuanto a su separación cromatográfica, se procede a realizar la ozonólisis seguida de distintos procesos reductores y para intentar, además, la estabilización de las moléculas obtenidas, ya que los aldehídos son bastante inestables y pueden dar lugar a reacciones secundarias.

El tándem de ozonólisis y NaBH_4 sobre el trieno **54** da lugar a dos productos que conservan los anillos A y B de la molécula triterpénica de partida, **71** y **72**, y un compuesto que posee los anillos D-E, **73**.



(i) a. O_3 , AcOEt, -78°C , 5 min; b. NaBH_4 , isopropanol, t.a, 2h, **71** (22%), **72** (9%) y **73** (36%)

Figura 2.56. Ozonólisis y reducción con NaBH_4 del trieno **54**

El espectro de ^1H RMN de producto **71** presenta un sistema AB (δ 2.87 y 2.32) parecido al del compuesto **68**, con una constante de acoplamiento pequeña ($J = 4.9$ Hz) indicando la posibilidad de que se haya formado de nuevo un epóxido entre las posiciones C-8 y C-26 del compuesto **54**. Por otro lado, la presencia de un doblete a 3.28 ppm, desplazamiento característico de hidrógenos geminales a hidroxilos, indica la reducción del grupo carbonilo situado en C-9. En cuanto a su espectro de ^{13}C RMN, son significativas las señales a δ 58.5 y 77.2, correspondientes a C-8 y C-9, respectivamente, y confirmando tanto la presencia de un hidroxilo en C-9, como el epóxido formado entre C-8 y C-11 (δ 47.4). La configuración del epóxido formado se analizará comparativamente junto con el compuesto **72**.

En el espectro de ^1H RMN del compuesto **72** también se aprecia un sistema AB (δ 3.05 y 2.58, $J = 5$ Hz) y una señal singlete a δ 3.35 correspondiente al hidrógeno geminal al hidroxilo de

C-9. Estos datos junto a los obtenidos del espectro de ^{13}C RMN para C-9 (δ 78.4, s), C-8 (59.9, s) y para C-11 (51.1, t) revelan que este compuesto es isómero del compuesto anterior, donde la única diferencia reside en la configuración del epóxido formado entre C-8 y C-11.

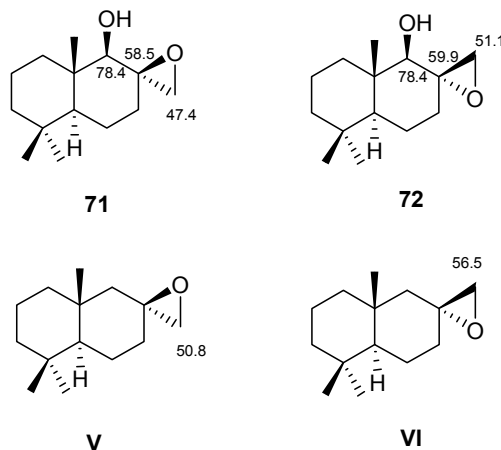


Figura 2.57. Análisis comparativo de esqueletos con oxirano entre C-8 y C-11

En principio, según los desplazamientos de los protones del grupo oxirano, parecería razonable que el compuesto **72** situara el oxígeno de este grupo en disposición α , ya que los protones del sistema AB se encuentran más desapantallados que en el compuesto **71** hecho que se debería a que el grupo metileno y el oxígeno de C-9 se encuentra por la misma cara, β . Por otra parte, otra señal donde se aprecia diferencia en los desplazamientos químicos de ambos productos es en el carbono del metileno que forma el oxirano, que en **71** se sitúa a 47.4 ppm y en **72** lo hace a 51.1 ppm. Esta divergencia es comparable a esqueletos similares (compuestos V y VI, Fig 2.56)²¹² donde si el metileno está axial la señal correspondiente se localiza a 56.5 ppm, mientras que si es ecuatorial lo hace a 50.8 ppm.

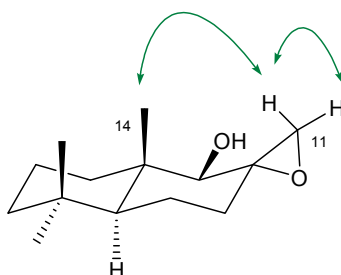


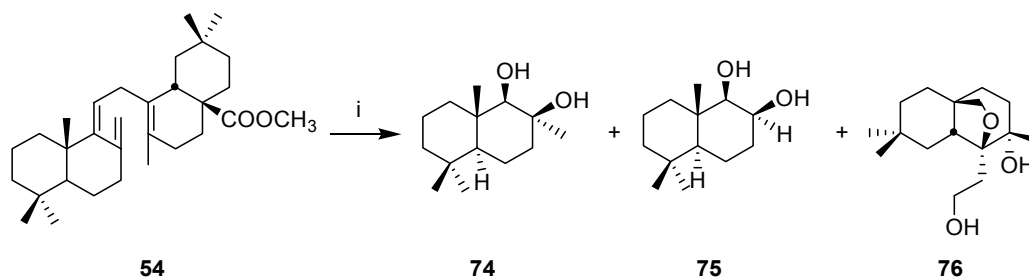
Figura 2.58. Correlaciones significativas del compuesto **72**

²¹² Winter, B. *Helvetica Chimica Acta* **2004**, 87, 1616.

Por último, se confirma la disposición del oxirano en el compuesto **72** con una experiencia de tipo NOE, donde la irradiación sobre la señal de 3.05 ppm, perteneciente al sistema AB del metileno que forma el epóxido, correlaciona con el otro doblete de este sistema y con el metilo de 0.90 ppm (C-14), indicando que ambos se encuentran por la misma cara, β .

Por otro lado, el producto **73** sería resultado de la reducción del aldehído del compuesto **69**, sin que haya tenido lugar ninguna ciclación de tipo lactónico. Su espectro de masas de alta resolución, proporciona una masa de 296, que se ajusta a la fórmula molecular, $C_{17}H_{28}O_4$, indicando dos unidades de masa añadidos con respecto a **69** lo que evidencia la reducción del aldehído. Su espectro de 1H RMN demuestra la ausencia de la señal del aldehído y la aparición de señales características de hidrógenos unidos a carbonos oxigenados, aunque es difícil su asignación. Por otro lado, se aprecia en este espectro cómo se conserva la señal del carboximetilo y el resto de señales del espectro también son muy similares a las del producto **69**. El espectro de ^{13}C RMN confirma la desaparición de la señal del aldehído, y la aparición de un nuevo metileno oxigenado, siendo el resto de señales muy similares a las del producto de partida, incluidas las que corresponden a los carbonos que forman el epóxido que se sitúan a 63.1 y 66.7 ppm, mientras que en el producto **69** lo hacían a δ 64.1 y 62.3.

Cuando la ozonolisis de **54** va seguida de una reducción con $LiAlH_4$ se obtienen los compuestos **74**, **75** y **76**.



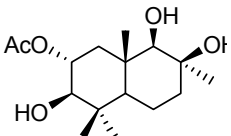
(i) a. O_3 , AcOEt, $-78^\circ C$, 5 min; b. $LiAlH_4$, THF, reflujo, 1h, **74** (20%), **75** (8%) y **76** (25%)

Figura 2.59. Ozonolisis y reducción con $LiAlH_4$ del trieno **54**

El producto **74** es el resultado de la fragmentación de la molécula triterpénica a través del doble enlace C-9/C-11, como en las reacciones anteriores, con la diferencia que ahora el compuesto obtenido presenta tanto el epóxido como el carbonilo de C-9 reducidos. Así, podemos apreciar en el espectro de 1H RMN como se sitúa el hidrógeno geminal al hidroxilo de C-9 a δ 2.87, y como novedad un metilo a δ 1.20, resultante de la apertura del epóxido situado entre los carbonos C-8 y C-26. Si atendemos al espectro de ^{13}C RMN, se aprecia que la señal de C-8, que en los fragmentos anteriores se localizaba en torno a 59 ppm, ahora se ubica a δ 72.6, indicando que ya no forma parte de un oxirano, sino que por el contrario está unido a un hidroxilo.

Comparando los desplazamientos químicos de hidrógeno y carbono para el nuevo metilo CH₃-11 y para el carbono que lo soporta (C-8) con un esqueleto que presenta la misma funcionalización en el anillo B nos revela una disposición β para el alcohol y por tanto el metilo de C-11 se encuentra por la cara α.

Tabla 2.8. Comparativa de desplazamientos químicos (δ) significativos para **74** y un esqueleto similar

		
3H-11	1.24	1.20
C-11	29.5	29.6
C-8	72.4	72.6

Mientras, el espectro de masas del compuesto **75** muestra un peso molecular de 212 u.m.a. que revela la pérdida de un carbono, C₁₃H₂₄O₂. Este hecho, junto con que en el espectro de ¹H RMN aparecen dos señales de protones unidos a alcoholes a δ 3.96 (1H, dd, $J_1 = 2.9$ Hz, $J_2 = 5.4$ Hz) y 3.10 (1H, d, $J = 2.9$ Hz) acopladas entre sí y con una constante de acoplamiento pequeña sugiere que en C-8 se ha dado una descarboxilación, y según estas constantes la disposición del nuevo hidrógeno es α (opción B Fig. 2.60). En el espectro de ¹³C RMN se puede confirmar este fenómeno, ya que sólo se aprecian tres señales correspondientes a metilos (δ 14.3, 21.9 y 33.5) y además dos señales de metinos oxigenados a δ 70.6 y 81.1, C-8 y C-9, respectivamente.

Como se observa en la Fig. 2.59, el compuesto **76** se debe a la fragmentación por el doble enlace central y a la formación de un éter cíclico entre C-16 y C-6. Así, en su espectro de ¹H RMN se observa la desaparición de la señal del metoxilo y también la del aldehído. Ambos grupos dan lugar a dos protones, en C-16 aparecen como un sistema AB fácilmente reconocible a 3.76 y 3.39 ppm, con una constante de acoplamiento de 7.4 Hz. En cambio, la señal de los protones de H-13 son más difíciles de asignar, puesto que aparecen con mayor multiplicidad aunque también se ven a δ 3.86 y δ 3.75. Por otro lado, el espectro de ¹³C RMN, señala igualmente que el aldehído y el carboxilo han desaparecido y en cambio se ven dos nuevas señales de metilenos oxigenados, δ 59.1 y 77.8. Además, es destacable la presencia a 74.4 y 86.7 ppm de dos señales de carbonos oxigenados cuaternarios, aunque ya no estarían presentes en forma de epóxido, puesto que el desplazamiento ha aumentado con respecto al producto **73**. Entonces, cabe pensar en la posibilidad de que el anillo oxiránico haya dado un diol al abrirse, esto supondría la presencia de

cuatro oxígenos en la molécula si incluimos los dos de C-13 y C-16, pero el EMAR indica una masa molecular de 268 u.m.a., que es compatible con la fórmula molecular, $C_{16}H_{28}O_3$. Como esto supone que sólo hay tres oxígenos no lleva a pensar que se ha dado el ataque dorsal de C-16 sobre la posición C-6 dando lugar a un éter cíclico.

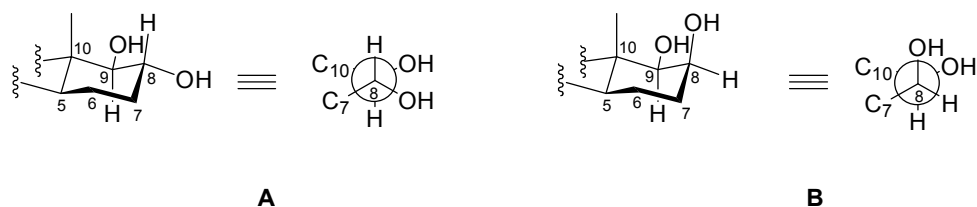
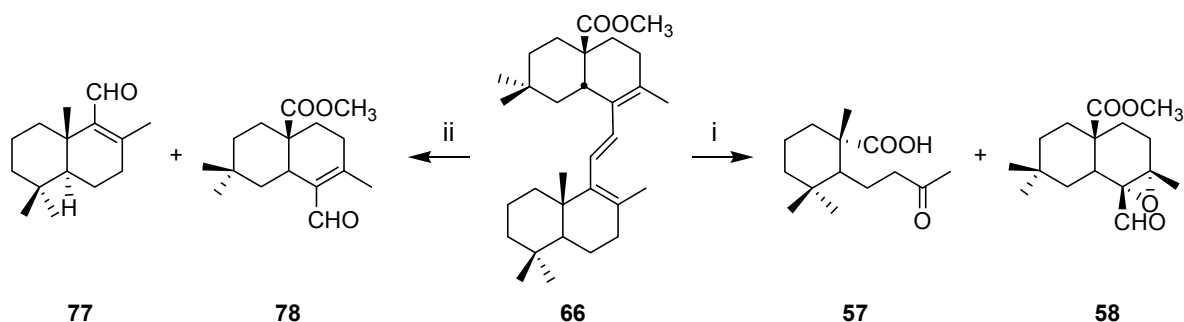


Figura 2.60. Posibles disposiciones del hidroxilo sobre C-8 en 75

2.3.2.5 Reactividad del trieno 66

La reactividad del doble enlace central con disposición *E* del trieno **66** debería ser mayor que en el trieno **53**, al disminuir en la molécula el impedimento estérico de esta zona. De ahí, que se someta este trieno a varios procesos oxidativos para intentar la degradación del esqueleto triterpénico.

Cuando la ozonólisis del trieno **66** se efectúa en AcOEt a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y con sulfuro de dimetilo como reductor se aíslan los compuestos **57** y **58**, ya obtenidos en la ozonólisis del compuesto **53**, aunque en este caso los rendimientos son mayores y no se obtienen productos de la rotura parcial de la molécula por el enlace C-8/C-9. Esto sugiere, que efectivamente, el doble central *E* es más reactivo que el que se encuentra en disposición *Z*, aunque el enlace C-8/C-9 sigue fragmentándose imposibilitando la obtención de la *trans*-decalina que conserva los anillos A-B.



(i) a. O_3 , AcOEt, -78°C , 2 min; b. Me_2S , t.a., 12h, **59** (28%) y **60** (41%); (ii) $RuCl_3$, $NaIO_4$, acetona, agua, t.a., 30 min, **77** (32%) y **78** (42%)

Figura 2.61. Fragmentación del trieno 66

Si por el contrario el trieno **66** se trata con NaIO_4 (4 eq) y RuCl_3 en cantidad catalítica a temperatura ambiente y con una mezcla de agua-acetona 1:5 se obtienen dos aldehidos sesquiterpénicos (**77** y **78**) procedentes de la rotura del doble enlace C-11/C-12, donde el fragmento que contiene los anillos A-B, **77**, es una *trans*-decalina con estructura drimánica.

El compuesto **77**, isodrimenal, es el isómero estructural de drimenal que posee el doble enlace entre las posiciones C-8 y C-9. En cuanto a sus características espectroscópicas, el EMAR proporciona un peso molecular de 220 u.m.a., compatible con la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$, que indica que se trata de un sesquiterpeno. Su espectro de ^1H RMN muestra la aparición de una señal singlete a δ 9.97, desplazamiento químico característico del hidrógeno de un grupo CHO, confirmando la rotura oxidativa del doble enlace central. Además, en este espectro se sigue apreciando un metilo alílico a 1.96 ppm que demuestra que el doble enlace C-8/C-9 no se ha visto afectado en el proceso degradativo. Por lo que se refiere al espectro de ^{13}C RMN, a δ 143.8 y 153.7 se localizan señales cuaternarias de carbono olefinicos correspondientes a C-8 y C-9, confirmando que este doble enlace no participa en la reacción y a δ 192.8 se encuentra la señal del carbono carbonílico del aldehído.

La importancia de este fragmento se pone de manifiesto en las múltiples síntesis en las que este sintón es empleado, ya que la funcionalización que posee el sistema anular proporciona un amplio rango de posibilidades y lo convierte en un intermedio adecuado para la obtención de otros drimanos. De hecho, ha sido utilizado para la síntesis de distintos metabolitos de origen marino que contienen un fragmento drimánico y otro polifenólico (widendiol-A,²¹³ puupehidiona,²¹⁴ (+)-cloropuupehenona,²¹⁵ y (+)-hongoquercina²¹⁶) compuestos que muestran una extensa clase de actividades biológicas, incluyendo citotóxica, antifúngica, moduladora del sistema inmune, e incluso, poseen la propiedad de inhibir la proteína de transferencia del ester del colesterol (CETP) y por tanto pueden ser utilizados en enfermedades de tipo coronario. La estrategia de síntesis de estos compuestos está basada en la condensación del aldehído drimánico **77** con el apropiado derivado arílico.

El espectro de masas de alta resolución de **78** muestra un pico molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ a 286 *m/z* compatible con la fórmula molécula $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_3$, que aporta la información suficiente para creer que se trata de un fragmento obtenido de la rotura de la molécula por el doble enlace central. El espectro de ^1H RMN revela la presencia de un singlete a δ 10.03, lo que indica que se ha formado un grupo aldehído en C-12 y, por otro lado, el singlete a 3.59 ppm, relacionado con el

²¹³ Barrero, A.F.; Alvarez-Manzaneda, E.J.; Chahboun, R. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 5635.

²¹⁴ Barrero, A.F.; Alvarez-Manzaneda, E.J.; Chahboun, R.; Cortés, M.; Armstrong, V. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 15181.

²¹⁵ Hua, D. H.; Huang, X.; Chen, Y.; Battina, S. K.; Tamura, M.; Noh, S. K.; Koo, S. I.; Namatame, I.; Tomoda, H.; Perchellet, E. M.; Perchellet, J-P. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6065

²¹⁶ Kurdyumov, A. V.; Hsung, P.P. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 6272

metoxilo de C-28, confirma que se trata del fragmento superior que contiene los anillos D-E. Se observa, asimismo, una señal del metilo alílico a δ 2.04, que da idea, al igual que en el fragmento inferior, que el doble enlace no se ha visto afectado. Este hecho se confirma también por su espectro de ^{13}C RMN donde se aprecia señales cuaternarias de tipo etilénico a δ 137.4 y 154.6. Por último, a δ 190.2 se sitúa la señal del carbono del grupo aldehídico y a 177.7 ppm del carbonilo perteneciente al grupo éster.

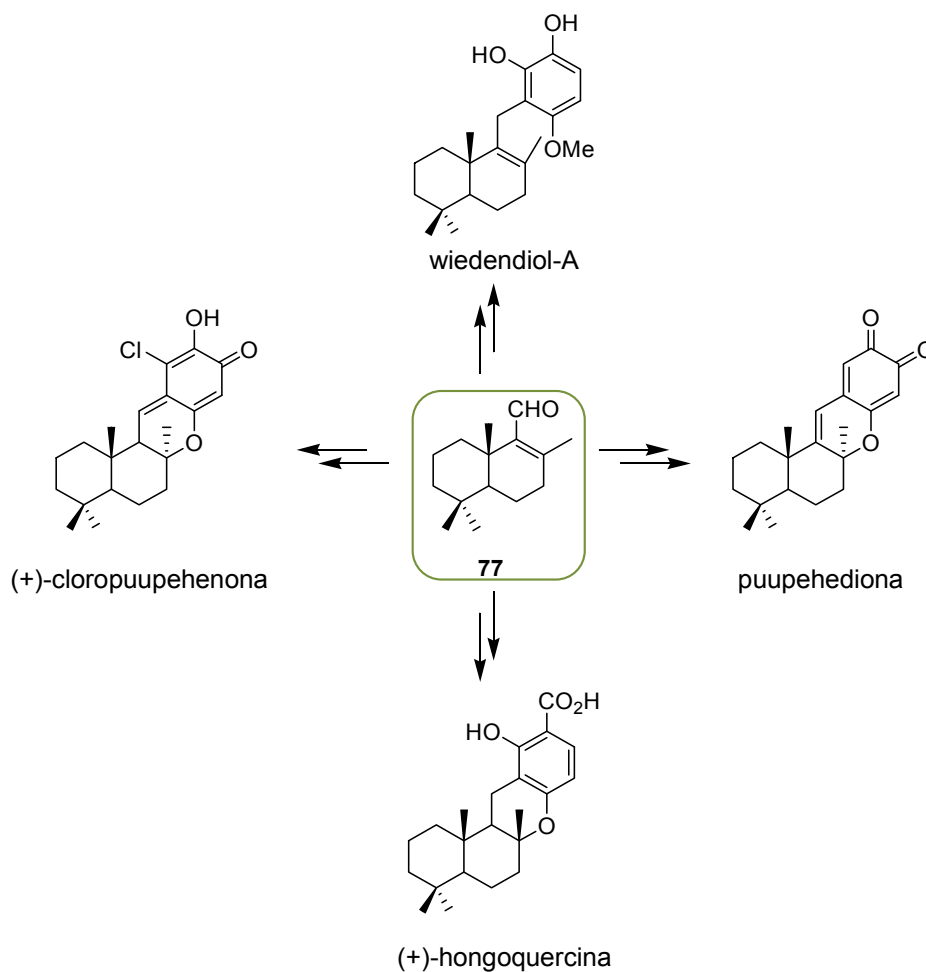


Figura 2.62. Síntesis de compuestos empleando el sintón 77

2.3.3 DESCARBOXILACIÓN DEL FRAGMENTO 57

El compuesto **57** posee un interesante utilidad sintética ya que la descarboxilación del ácido en C-6 lo convierte en un sintón muy versátil tanto por estar relacionado con esqueletos de triterpenos irregulares monocíclicos y tricíclicos (elengasidiol, achilleol A y B, camelliol A y C y mokupalida) (ver apartado 1.4.3) como por ser utilizado en síntesis de otros compuestos

relevantes. De hecho, en la síntesis de (+)-(4R)-manoalida,²¹⁷ un inhibidor de fosfolipasa A₂, se ha utilizado un derivado descarboxilado de **57** que posee un doble enlace endocíclico cuaternario. Igualmente, este sintón ha sido empleado para la obtención ambrox[®].¹⁴⁹ Por otro lado, este mismo sintón, denominado dihidro-β-ionona, también ha sido utilizado como material de partida para la síntesis a gran escala de (±)-confertifolina e (±)-isodrimenina, eficientes antifeedant, mediante ciclación.¹²⁸

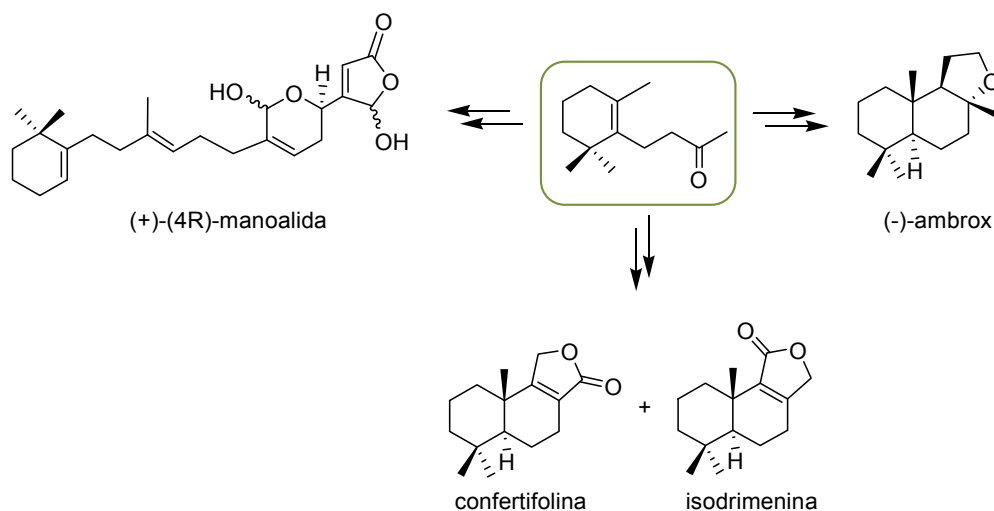
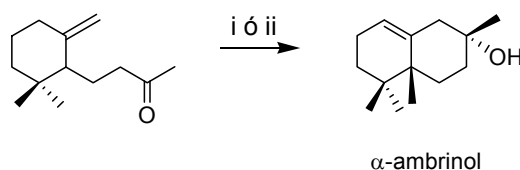


Figura 2.63. Síntesis de (+)-(4R)-manoalida, ambrox[®], confertifolina e isodrimenina a partir de sintón monocíclico.

Además, el derivado que posee el doble enlace exocíclico ha sido empleado en la síntesis de α-ambrinol, otro fijador olfativo de interés, mediante ciclación en un solo paso ya sea catalizada por ácidos²¹⁸ o utilizando como catalizador zeolita.²¹⁹



(i) H⁺; (ii) NaY

Figura 2.64. Síntesis de α-ambrinol

²¹⁷ Pommier, A.; Stepanenko, V.; Jarowicki, K.; Kocienski, P. J. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 4008.

²¹⁸ Yamashita, M.; Nishii, K.; Matsumiya, K.; Suewitsu, R. *Chem. Express* **1989**, *4*, 33. *Chem. Abstr.* **1990**, *112*, 56311.

²¹⁹ Tsangarakis, C.; Stratalas, M. *Adv. Synt. Catal.* **2005**, *347*, 1280

cambio de grupo funcional que experimenta este carbono. Por último, su espectrometría de masas ofrece un pico molecular $[M]^+$ a 254 m/z que corresponde a la fórmula molecular $C_{15}H_{26}O_3$ compatible con la estructura propuesta.

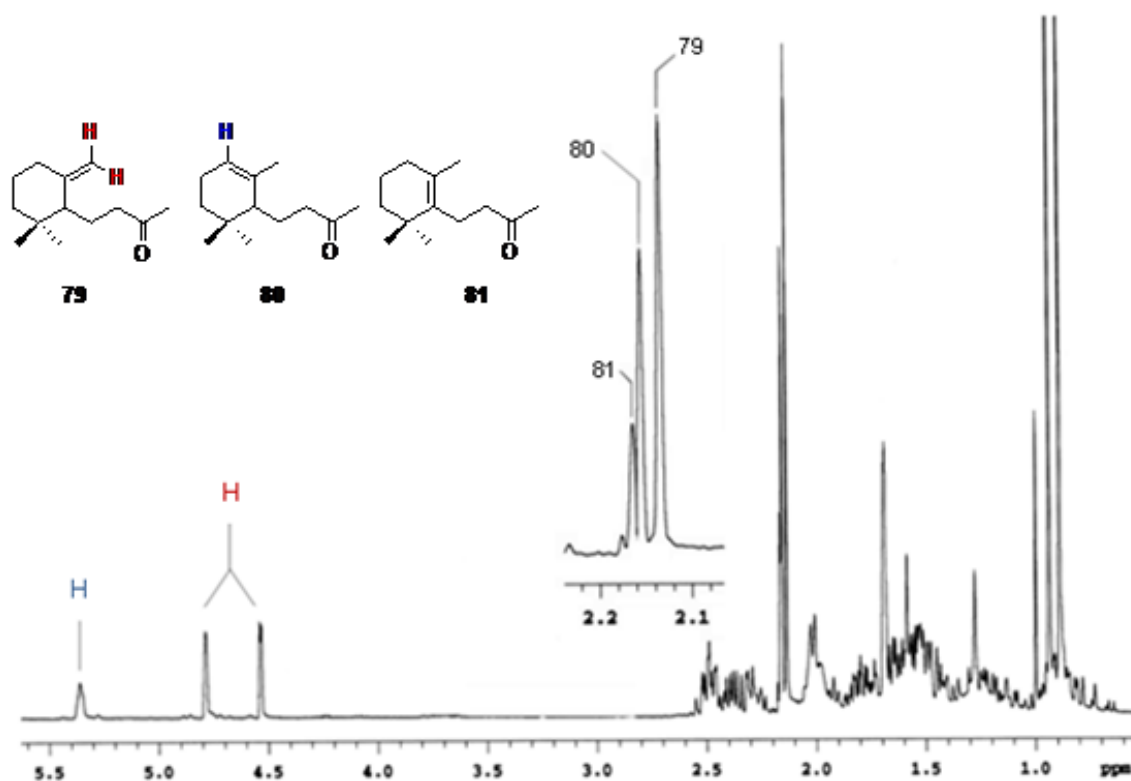


Figura 2.66. Espectro de la mezcla olefínica **79-81** y ampliación de la zona de metilcetonas

La descarboxilación con $Pb(OAc)_4$ es un proceso que transcurre a través de un radical terciario,²²² éste se oxida formando un carbocatión que evoluciona normalmente por eliminación para dar la mezcla de alquenos. Sin embargo, este puede combinarse con el ácido acético generado en la primera etapa de la reacción. La entrada del grupo acetoxilo se dirige por la cara menos impedida del sistema, resultando el α -acetato **82**, en el que se mantiene la configuración de C-6.

De entre los numerosos procedimientos para efectuar la descarboxilación de ácidos carboxílicos “no activados” se utiliza también el método de Barton, método regioselectivo hacia la olefina terminal que permitiría, en principio, disminuir la mezcla de los alquenos isómeros

²²² Corey, E. J.; Bauld, N. L.; Lalonde, R. T.; Casanova, J.; Kaiser, E. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, 82.

obtenidos.²²³ Este procedimiento supone la formación de un éster de la N-hidroxipiridin-2-tiona, que por calentamiento o bien por fotólisis descarboxila hasta sulfuro. Éste se oxida para dar un sulfóxido que experimenta eliminación hacia el alqueno terminal.

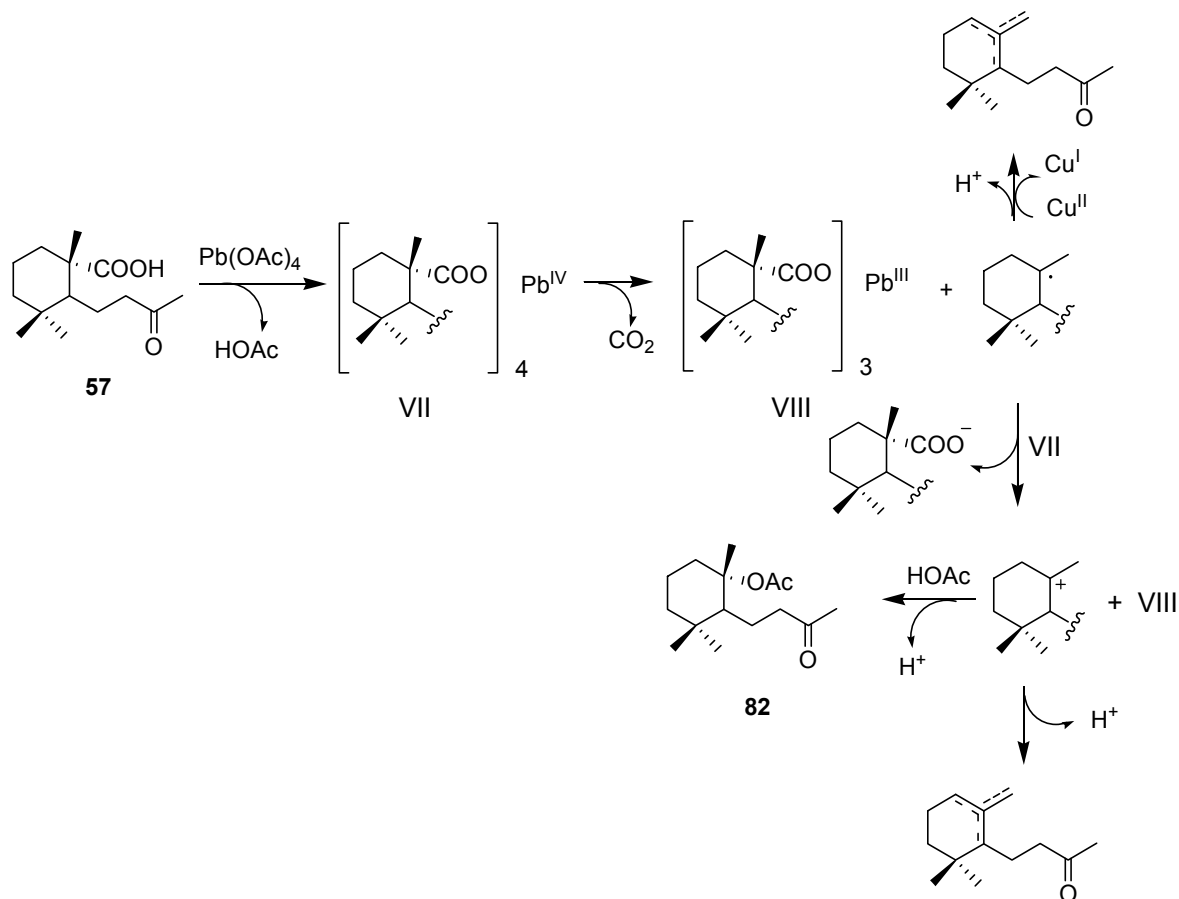
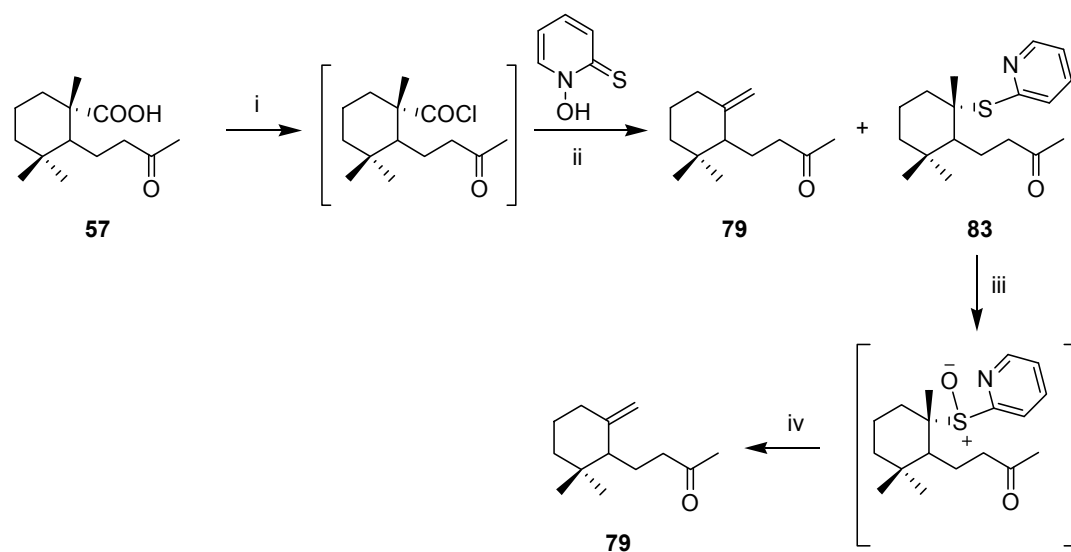


Figura 2.67. Mecanismo de descarboxilación de **57** con $Pb(OAc)_4$

El primer paso es la preparación del cloruro de ácido que implica el tratamiento del compuesto **57** con cloruro de tionilo en CH_2Cl_2 a temperatura ambiente durante 12 h. Transcurrido este tiempo, este agente acilante se utiliza directamente sin purificación previa con N-óxido de 2-mercaptopirridinio, piridina y DMAP en benceno a reflujo durante 2 horas. La cromatografía en columna del residuo resultante, después del procesamiento de la reacción, permite el aislamiento del alqueno exocíclico **79**, posiblemente por oxidación en el mismo medio de reacción debido a la exposición al aire de una parte del sulfuro obtenido, y de sulfonilcetona (**83**) con un rendimiento bajo.

²²³ (a) Barton, D. H. R.; Crich, D.; Hervé, Y.; Potier, P.; Thierry, J. *Tetrahedron* **1985**, *41*, 4347. (b) Cochrane, E. J.; Lazer, S. N.; Pinhey, J. T.; Whitby, J. D. *Tetrahedron* **1989**, *30*, 7111.



(i) $(\text{COCl})_2$, CH_2Cl_2 , t.a., 12 h; (ii) N-óxido de 2-mercaptopiridinio, py, DMAP, benceno, reflujo, 2h, **79** (12%), **83** (24%); (iii) AMCPB, CH_2Cl_2 , -80°C , 3h; (iv) Δ , 80 % para los dos pasos

Figura 2.68. Descarboxilación del ácido **57** mediante el método de Barton

Los datos espectroscópicos del compuesto **83** obtenidos por análisis de su espectro de ^1H RMN muestran señales características de protones aromáticos que integran por cuatro hidrógenos, mientras que el resto del espectro permanece similar al del compuesto de partida. En el espectro de ^{13}C RMN se observa, igualmente, cinco señales de carbonos etilénicos entre 121.1 y 170.9 ppm, siendo sólo esta última señal de tipo cuaternario. Por otro lado, desaparece la señal correspondiente al carbonilo del grupo ácido que el compuesto **57** se situaba a δ 208.9. Otra diferencia a destacar es la variación que ha experimentado la señal de C-6, que en el compuesto **57** se situaba a 47.3 ppm y ahora lo hace a δ 87.7, consecuencia del cambio de grupo funcional.

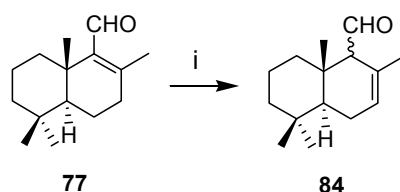
El sulfuro obtenido se oxida con AMCPB en CH_2Cl_2 a -80°C durante 3 horas. La oxidación del sulfuro da lugar a un sulfóxido inestable que mediante calentamiento da la eliminación hacia la olefina exocíclica (80%), producto de control cinético.

2.3.4 REACTIVIDAD DEL FRAGMENTO 77. APROXIMACIÓN SINTÉTICA A WARBURGANAL Y AMBROX®

2.3.4.1 Isomerización de 77

Como ya hemos mencionado, el fragmento sesquiterpénico de tipo drimánico **77**, obtenido de la fragmentación del trieno **66**, es un isómero estructural del drimenal. Se pretende isomerizar en medio ácido el producto **77** con la intención de obtener este compuesto, ampliamente utilizado para la síntesis de otros drimanos de interés¹³⁷⁻¹³⁹ y (-)-ambrox®.¹⁴²

Para ello, se trata **77** con *p*-TsOH en benceno a reflujo durante 3 horas proporcionando un crudo de reacción cuya purificación conduce al compuesto **84**.



(i) *p*-TsOH, benceno, reflujo, 3h, 74%

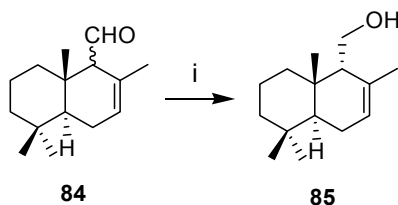
Figura 2.69. Isomerización del compuesto **77**.

El espectro de masas del compuesto **84** suministra el mismo peso molecular que el producto de partida, confirmando que se trata de un isómero estructural de éste. Además, un primer análisis de su espectro de ¹H RMN muestra que la señal aldehídica ahora es un doblete y como también se observa una señal a δ 5.75 correspondiente a un protón etilénico, se plantea que el nuevo isómero formado posee un doble enlace entre las posiciones C-7 y C-8. Además, se sigue observando un singlete a 1.56 ppm que se relaciona con un metilo alilíco. Por otro lado, su espectro de ¹³C RMN revela, igualmente, la existencia de dos señales correspondientes a carbonos etilénicos, δ 126.6 y 126.8, siendo esta última cuaternaria, ratificando la propuesta de que el doble enlace de partida C-8/C-9 se ha isomerizado a las posiciones C-7/C-8.

Las diferencias, aunque pequeñas, entre estos datos y los obtenidos en bibliografía para drimenal²²⁴ nos hizo plantearnos la posibilidad de haber obtenido realmente el isómero 9-*epi*-drimenal. Para comprobar este hecho, se lleva a cabo la reducción del aldehído, ya que existen datos espectroscópicos bibliográficos tanto de drimenol como de 9-*epi*-drimenol que nos permitirán un análisis más exhaustivo.

²²⁴ Scher, J. M.; Speakman, J. B.; Zapp, J.; Becker, H. *Phytochemistry* **2004**, *64*, 2583.

La reducción de **84** con NaBH₄ en isopropanol a temperatura ambiente durante 3 horas proporciona, tras la purificación en columna del crudo de reacción obtenido, un único compuesto con un alto rendimiento.



(i) NaBH₄, isopropanol, t.a., 3 h, 96%

Figura 2.70. Reducción del compuesto **84**.

Los datos espectroscópicos de **85** se caracterizan por la aparición en el espectro de ¹H RMN de un sistema AB colapsado que podría corresponder a los protones geminales del nuevo grupo hidroxilo, mientras la señal característica del aldehído ha desaparecido. Esto se comprueba, igualmente, en su espectro de ¹³C RMN donde surge un metileno en la zona de carbonos unidos a funciones oxigenadas (61.3 ppm), manteniéndose el resto de señales similares al producto de partida.

Tabla 2.9. Desplazamientos químicos (δ) de carbonos de drimenol, 9-*epi*-drimenol^{127a} y **85**

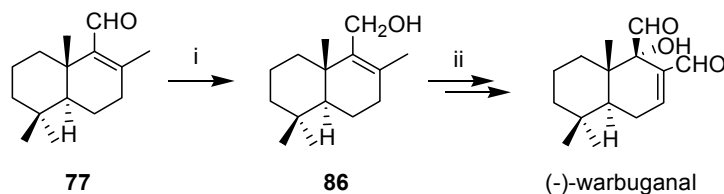
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Drimenol	39.9	18.7	42.2	32.9	49.9	23.7	123.9	132.9	57.3	36.0	60.7	21.9	33.4	22.1	14.9
9-<i>epi</i>-drimenol	36.7	18.7	42.6	32.9	43.4	23.9	124.5	131.3	57.6	36.0	61.2	22.9	33.1	22.1	21.7
85	36.9	18.9	42.9	33.1	43.6	24.1	124.7	131.4	57.7	36.2	61.3	23.1	33.3	22.3	21.8

En la Tabla 2.9 se puede comprobar que, prácticamente, los desplazamientos de los carbonos de **85** corresponden con los de drimenol y 9-*epi*-drimenol, excepto para los carbonos C-1, C-5, y C-15, donde la similitud se encuentra claramente más próxima a los desplazamientos de 9-*epi*-drimenol, confirmando que tanto en **85** como en **84** H-9 posee disposición β .

2.3.4.2 Reducción del compuesto 77

Se somete el aldehído **77** al tratamiento con NaBH₄ en isopropanol durante 2h a temperatura ambiente para obtener el sesquiterpeno reducido, isodrimenol (**86**), con alto rendimiento, tal y como se muestra en la Fig. 2.71. Este compuesto ha sido utilizado para la

síntesis en pocos pasos de warbuganal,²²⁵ metabolito antifeedant contra larvas de gusanos cogolleros *Spodoptera littoralis* y *S. exempta* (Lepidoptera)²²⁶ y antiapetitoso más potentes contra áfidos.²²⁷ Además, presenta una potente actividad contra hongos y levaduras, así como actividad reguladora de crecimiento en plantas.²²⁸



(i) NaBH₄, isopropanol, t.a., 2h, 94%; (ii) ref 227

Figura 2.71. Utilización de isodrimenol para la síntesis de warbuganal

La formación del compuesto **86** se deduce del análisis de su espectro de ¹H RMN donde aparece un sistema AB [4.18 ppm (1H, d, *J* = 11.5 Hz) y 4.03 ppm (1H, d, *J* = 11.5 Hz)] correspondiente al metileno que soporta el nuevo grupo hidroxilo. El resto del espectro es similar al del compuesto de partida. Por otro lado, la desaparición en el espectro de ¹³C RMN del carbono aldehídico unido a la aparición de la señal a δ 58.4 (t) correspondiente al metileno oxigenado confirman igualmente la reducción del compuesto **77**. Por último, su espectrometría de masas pone también de manifiesto este hecho, ya que su EMAR nos proporciona un peso molecular de 220 u.m.a concordante con la fórmula molecular C₁₅H₂₄O y con la estructura propuesta.

2.3.4.3 Aproximación sintética de (-)-ambrox[®]

Uno de los objetivos de este trabajo es la síntesis de (-)-ambrox[®], que al igual que los sesquiterpenos drimánicos mencionados anteriormente, contiene el sistema anular *trans*-decalínico de los anillos A-B de nuestro producto de partida. Se comenzará esta síntesis a partir del compuesto **86** y teniendo en cuenta el análisis retrosintético de la Fig. 2.72, será necesario la introducción de un carbono adicional sobre C-12 que se intentará llevar a cabo por sustitución nucleofílica del hidroxilo por un nitrilo en este compuesto.

²²⁵ Razmilic, I.; Sierra, J.; Lopez, J.; Cortes, M. *Chem. Lett.*, **1985**, 1113.

²²⁶ Kubo, I., Y-W. Lee, M. Pettei, F. Pilkiewicz & K. Nakanishi. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* **1976**, 1013.

²²⁷ Ley S.V.; P.L. Toogood. *Insect antifeedants*. **1990**. Chemistry in Britain Enero: 31.

²²⁸ Kubo, I., I. Miura, M.J. Pettei, Y-W Lee, F. Pilkiewicz & K. Nakanishi. *Tetrahedron Lett.* **1977**, 4553.

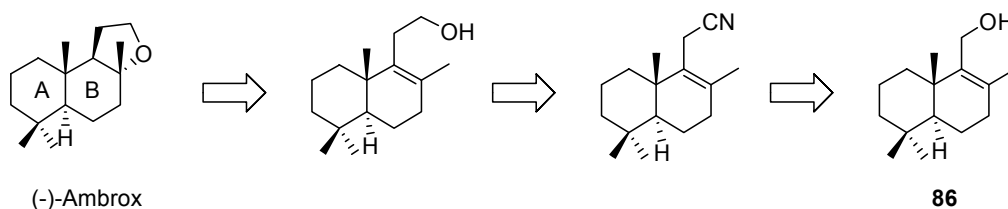
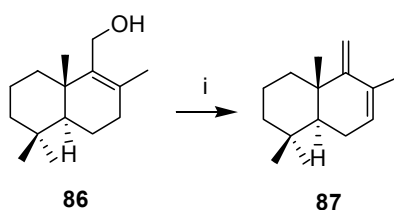


Figura 2.72. Retrosíntesis de (-)-ambrox[®] a partir de **86**

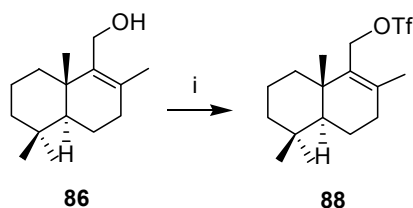
Con la idea de convertir el grupo alcohol del compuesto **86** en un buen grupo saliente para la sustitución posterior se trata con cloruro tosilo en piridina a temperatura ambiente. Pero este tratamiento no derivó en el producto tosilado, si no en el de eliminación, **87**.



(i) *Cl-pTs*, py, t.a., 1 h, 72%

Figura 2.73. Tratamiento de **86** con *Cl-pTs*

El compuesto **87** presenta unas propiedades espectroscópicas de las que se deduce la formación de un dieno conjugado. Así, en el espectro de ^1H RMN las señales correspondientes a los protones olefínicos se localizan a 5.58 ppm (1H) y 4.74 ppm (2H, d, $J = 12.3$ Hz) y además se sigue observando el metilo alílico a δ 1.72. Por otro lado, el análisis de su espectro de ^{13}C RMN sitúa a los cuatro carbonos etilénicos a δ (158.1, s), (131.0, s), (126.6, d) y (103.8, t). Por último, la espectrometría de masas ofrece un peso molecular de 204 u.m.a. concordante con la fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{24}$ y con la estructura propuesta para este compuesto.



(i) $(\text{CF}_3\text{O})_2$, CH_2Cl_2 :py 3:1, -20°C , 3h, 99%

Figura 2.74. Formación del derivado triflato a partir de **86**

Teniendo en cuenta las dificultades encontradas en la síntesis del derivado tosilado se intenta la formación del triflato correspondiente llevando a cabo la reacción a baja temperatura (-20°C) y utilizando una mezcla CH_2Cl_2 -py para que las condiciones básicas sean lo más suaves

posible y no se favorezca el proceso de eliminación. De este modo, transcurridas 3 horas se consigue obtener el compuesto **88** de forma cuantitativa.

En el espectro de ^1H RMN se comprueba el desapantallamiento sufrido por los hidrógenos de C-11, ya que en el compuesto **86** se situaban sus señales a 4.1 ppm y ahora se localizan a 4.9 ppm, consecuencia del cambio de grupo funcional. Mientras, el resto de las señales se mantienen a desplazamientos similares a los del producto de partida, en el espectro de ^{13}C RMN se observan las señales cuaternarias del doble enlace C-8/C-9 (δ 138.1 y 133.9) y el desplazamiento químico a campo bajo de la señal de C-11 que ahora se localiza a 64.4 ppm mientras en **86** se encontraba a 58.4 ppm. La estructura propuesta se confirma con la espectrometría de masas que ofrece un peso molecular de 300 u.m.a. ($\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{O}_2\text{F}_3$).

El tratamiento de compuesto **88** con cianuro potásico conduce de nuevo al dieno conjugado **87**, obteniéndose el producto de eliminación.

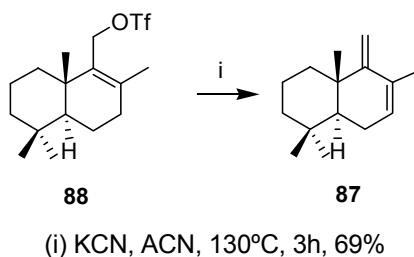
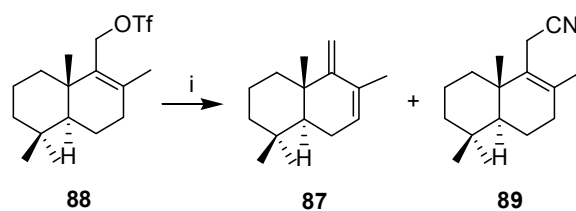


Figura 2.75. Tratamiento del compuesto **88** con KCN

Atendiendo a este resultado, se estudia la sustitución del derivado con el grupo triflato en C-11 con cianotrimetilsilano y $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$ a baja temperatura (-10°C) obteniéndose en este caso de nuevo el compuesto **87** pero, además, el producto de sustitución **89**. Hay que destacar que temperaturas inferiores no producen evolución en la mezcla de reacción, al igual que la ausencia de $\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$.

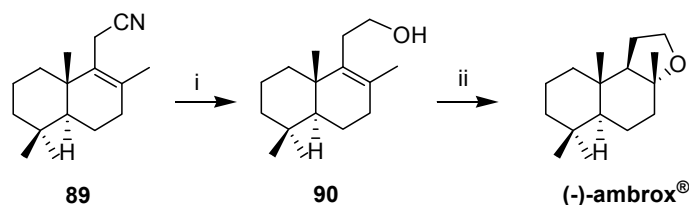
El EMAR del compuesto **89** presenta un pico molecular $[\text{M} + \text{Na}]^+$ a 254 m/z que se corresponde con la estructura propuesta y que indica que se ha dado la sustitución pretendida. Además, su espectro de ^1H RMN exhibe un apantallamiento considerable del metileno de C-11, ya que ahora se sitúa a 3.12 ppm, debido al cambio de grupo funcional. Se destaca, igualmente, en este espectro que se sigue observando el metilo alílico a 1.63 ppm. Asimismo, en el espectro de ^{13}C RMN se subraya el apantallamiento de C-11, ya que en **88** se localizaba a δ 64.4 y ahora se encuentra a δ 23.1. Por otro lado, también es destacable la aparición junto a los carbonos olefínicos de C-8 y C-9 (142.5 y 124.6 ppm) de una señal cuaternaria a 118.2 ppm que se relaciona con el grupo nitrilo.



(i) $\text{Me}_3\text{SiCN}\cdot\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$, CH_2Cl_2 , -10°C , 1h

Figura 2.76. Tratamiento de **88** con $\text{Me}_3\text{SiCl}\cdot\text{BF}_3\cdot\text{Et}_2\text{O}$

Por último, la saponificación del grupo nitrilo seguido de una reducción con NaBH_4 permite obtener el compuesto **90**,²²⁹ que puede ser ciclado a (-)-ambrox[®] en condiciones ácidas a temperatura ambiente.²³⁰



(i) a. DIBAH, tolueno, -78°C , 1.5 h; b. NaBH_4 , isopropanol, t.a., 2h, 78%; (ii) ref 230

Figura 2.77. Saponificación del compuesto **89** y ciclación a (-)-ambrox[®]

2.3.5 REACTIVIDAD DEL FRAGMENTO 78

Ya ha sido comentado anteriormente que el sistema bicíclico *cis*-decalínico de los antiguos anillos D-E está relacionado con esqueletos de triterpenos irregulares, como camelliol A y B, y otros triterpenos tetracíclicos (*seco*-C-oleanano) y bicíclicos (preoleanatetraeno). De hecho, este sistema ha sido utilizado como sintón para síntesis enantioselectiva de este último compuesto.²³¹ De esta manera, esta *cis*-decalina se convierte en un acceso fácil para esqueletos de triterpenos irregulares cuya implicación biogénica hasta ahora no había sido muy valorada.

La aproximación hacia el precursor bicíclico común de estos compuestos, según el planteamiento retrosintético de la Fig. 2.78 se desarrolla a partir del fragmento **78**, compuesto más idóneo de los obtenidos que contienen los anillos D-E, ya que sólo requiere la desoxigenación de C-15.

²²⁹ Hagiwada, H.; Takeuchi, F.; Nozowa, M; Hoshi, T.; Suzuki, T. *Tetrahedron*, **2004**, *60*, 1983.

²³⁰ (a) Vestegen-Haaksma, A.; Swarts, H. J.; Jansen, B. J. M.; de Groot, A. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 10095. (b) *Process for the preparation of optically-active compound* WO 20060102287.

²³¹ Barrero, A. F.; Arseniyadis, S.; Del Moral, J. F. Q.; Herrador, M. M.; Rosellon, A. *Synlett*, **2005**, *5*, 789.

En primer lugar, se trata el compuesto **78** con NaBH₄ en isopropanol para reducir selectivamente el aldehído de C-12. Este fenómeno se corrobora con los datos espectroscópicos del compuesto **91** ya que su EMAR proporciona un peso molecular de 266 u.m.a., que se corresponde con la fórmula molecular C₁₆H₂₆O₃ y con la estructura propuesta. En su espectro de ¹H RMN se observa un nuevo sistema AB formado por un doblete a 4.17 ppm y otro a δ 3.88 y desaparece la señal correspondiente al protón aldehídico. En el espectro de ¹³C RMN la característica más destacable es la variación de desplazamiento y multiplicidad del C-12 que ahora se sitúa a desplazamiento típico de carbonos unidos a hidroxilos (δ 61.5, t).

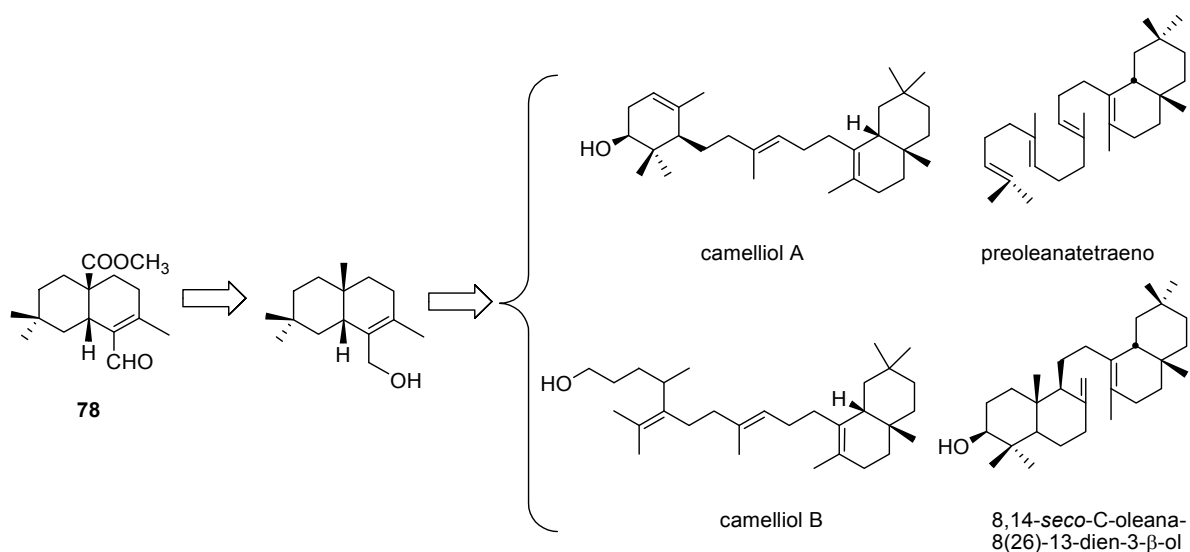
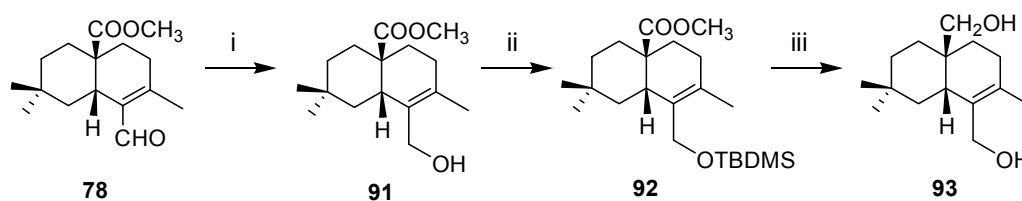


Figura 2.78. Planteamiento retrosintético para la obtención del sistema *cis*-decalínico de camelliol A y B, *seco*-C-oleanano y preoleanatetraeno

El nuevo hidroxilo del compuesto **91** debe ser protegido a continuación y para ello se utiliza como grupo protector cloruro de *ter*-butil-dimetilsilano, obteniéndose con buen rendimiento el derivado correspondiente **92**.



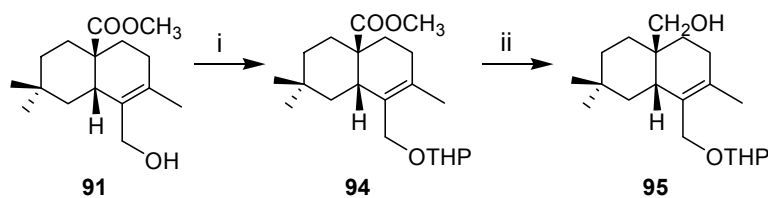
(i) NaBH₄, isopropanol, t.a, 3h, 98%; (ii) CITBDMS, py, t.a.; 12h, 89%; (iii) LiAlH₄, THF, t.a., 2h, 78%

Figura 2.79. Reducción y protección de **78**

Este compuesto es fácilmente identificable tanto por su espectro de masas que indica un peso molecular de 403 u.m.a, concordante con la estructura propuesta y con la fórmula molecular $C_{22}H_{18}O_3Si$, como por los desplazamientos típicos del dimetilo del grupo protector tanto en 1H RMN como en ^{13}C RMN δ_H (0.03 y 0.029) y δ_C (-5.4). Además, también es destacable el desapantallamiento que sufre tanto los protones como el propio carbono 12 debido a la formación del silano, δ_H (4.3 y 3.97) y δ_C (64.5).

La reducción posterior del éster metílico de C-15 en el compuesto **92** con $LiAlH_4$ conlleva inesperadamente la desprotección del alcohol en las condiciones de reacción formándose el diol **93**. Este compuesto proporciona un peso molecular de 238 u.m.a., compatible con la fórmula molecular $C_{15}H_{26}O_2$. Ahora el espectro de 1H RMN muestra dos sistemas AB, uno formado por las señales a δ 4.22 (1H, d, $J = 11.2$ Hz) y δ 3.90 (1H, d, $J = 11.2$ Hz), que se atribuyen a los hidrógenos H-12 (que están más próximos al doble enlace que los protones H-15 y por tanto más desapantallados), y otro constituido por las señales a 3.42 ppm (1H, d, $J = 10.8$ Hz) y 3.28 ppm (1H, d, $J = 10.8$ Hz), que se asignan a los hidrógenos H-15. Por otro lado, los carbonos oxigenados se sitúan en el espectro de ^{13}C RMN a 68.7 y 61.6 ppm, asignándose a C-15 y C-12, respectivamente.

Aunque en un principio no se planteó la utilización de éteres como grupo protector del hidroxilo de C-12 porque conllevan la formación de un nuevo centro estereogénico. La estabilidad limitada del silano utilizado en las condiciones de reducción con hidruro hace replantear la elección del grupo protector. Por ello, se examina el empleo de tetrahidropiraniléter (THP) en esta ruta sintética. Este grupo protector se introduce mediante catálisis ácida con ácido *p*-toluensulfónico. La desventaja de la utilización del grupo THP es la formación de un centro quiral en C-2 del anillo de tetrahidropirano que da lugar a una mezcla racémica que complica la purificación y caracterización de los intermedios, por lo que se plantea no separar cromatográficamente estos intermedios y llevar a cabo un seguimiento de la mezcla obtenida por 1H RMN y espectrometría de masas.



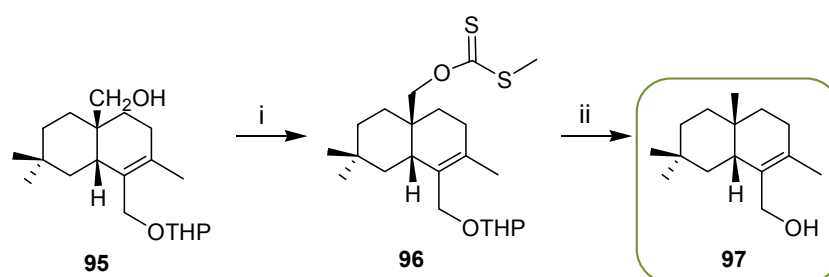
(i) DHP, *p*-TsOH, CH_2Cl_2 , t.a., 15 h; (ii) $LiAlH_4$, THF, t.a.; 3h

Figura 2.80. Protección del hidroxilo de C-12 y reducción del éster metílico de C-15

Así, el espectro de ^1H RMN de la mezcla de obtención del hidroxilo protegido en C-12 muestra un ligero apantallamiento del sistema AB que ahora se sitúa en torno a 3.6 ppm. Las señales del grupo protector se distribuyen entre 5-3.2 ppm.

La reducción de la mezcla **94** con LiAlH_4 en THF a temperatura ambiente no conduce, en este caso, al diol **92** sino que se obtiene un compuesto en el que se ha reducido el éster metílico de C-15, **95**. Este hecho es fácilmente observable por la desaparición del metilo singlete correspondiente al metoxilo en su espectro de ^1H RMN, que en **93** se situaba a 3.57 ppm.

La desoxigenación del hidroxilo de C-15 se lleva a cabo utilizando metodologías ya empleadas en esta memoria, como es la formación del xantato intermedio que se reduce de forma radicalaria con ácido hipofosforoso.



(i) a. NaH , THF, reflujo, 3h; b. CS_2 , reflujo, 30 min; c. CH_3I , reflujo 1h; (ii) H_3PO_2 , AIBN, Et_3N , dioxano, reflujo, 3h, 58% (a partir de **91**)

Figura 2.81. Formación del xantato derivado de **95** y reducción con ácido hipofosforoso

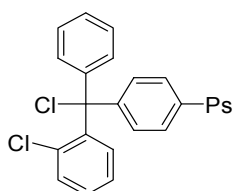
El tratamiento de la mezcla **95** sucesivamente con NaH , CS_2 y yoduro de metilo en THF a reflujo conduce a **96**. De su espectro de ^1H RMN se puede destacar la aparición de un singlete a 2.57 ppm, correspondiente al metilo del grupo xantato.

Por último, la reducción de **96** con H_3PO_2 con AIBN como iniciador conduce al compuesto **97** en un 58% a partir de **91**, en el que se ha dado simultáneamente la reducción radicalaria del xantato como la desprotección del grupo hidroxilo, debido a las condiciones ácidas que conllevan este procedimiento. Se destaca de su espectro de ^1H RMN la simplificación obtenida, donde ahora el sistema AB se observa claramente a 4.08 y 3.82 ppm como dos dobletes con una constante de acoplamiento de $J = 10.9$ Hz. El metilo alílico se sitúa a 1.59 ppm y el nuevo metilo producto de la desoxigenación de C-15 a δ 1.10, estando en consonancia con los datos obtenidos en bibliografía.²³¹

2.4 ÁCIDO OLEANÓLICO, ÁCIDO MASLÍNICO Y QUÍMICA EN FASE SÓLIDA

2.4.1. Control y cuantificación de la incorporación del ácido oleanólico (1) sobre la resina de Barlos

El soporte sólido es la pieza clave sobre la que se basa la estrategia de síntesis en fase sólida. Se trata de un polímero insoluble funcionalizado sobre el que se une covalentemente el primer compuesto para posteriormente realizar las incorporaciones y modificaciones oportunas.



Cloro-2-clorotrilil-PS
PS = Poliestireno reticulado

Figura 2.82. Estructura de la resina cloro-2-clorotrilil-PS

Con idea de iniciar el estudio de triterpenos pentacíclicos, ácido oleanólico (1) y ácido maslínico (2), sobre Fase Sólida se pretende, en un principio, controlar y cuantificar la incorporación del ácido oleanólico (1) sobre la resina Barlos, también llamada clorotrililo (CTC-PS). Se intenta comprobar así el comportamiento de estos ácidos en las condiciones de incorporación y de escisión de esta resina.

La resina Barlos^{232,233,234} (Cl-TrtCl-PS) es altamente estable hacia nucleófilos y bases, permitiendo la escisión en condiciones ácidas suaves (TFA-CH₂Cl₂ 5:95) y en presencia de otros grupos protectores. El ataque de los ácidos carboxílicos a esta resina se lleva a cabo en presencia de un exceso de amina terciaria seguido de un tratamiento con MeOH para inactivar aquellos centros activos que no hayan reaccionado y asegurar así que no interfieran a lo largo de la síntesis.

El diseño del experimento para la cuantificación de la incorporación de ácido oleanólico (1) a la resina se esquematiza en la Fig. 2.83:

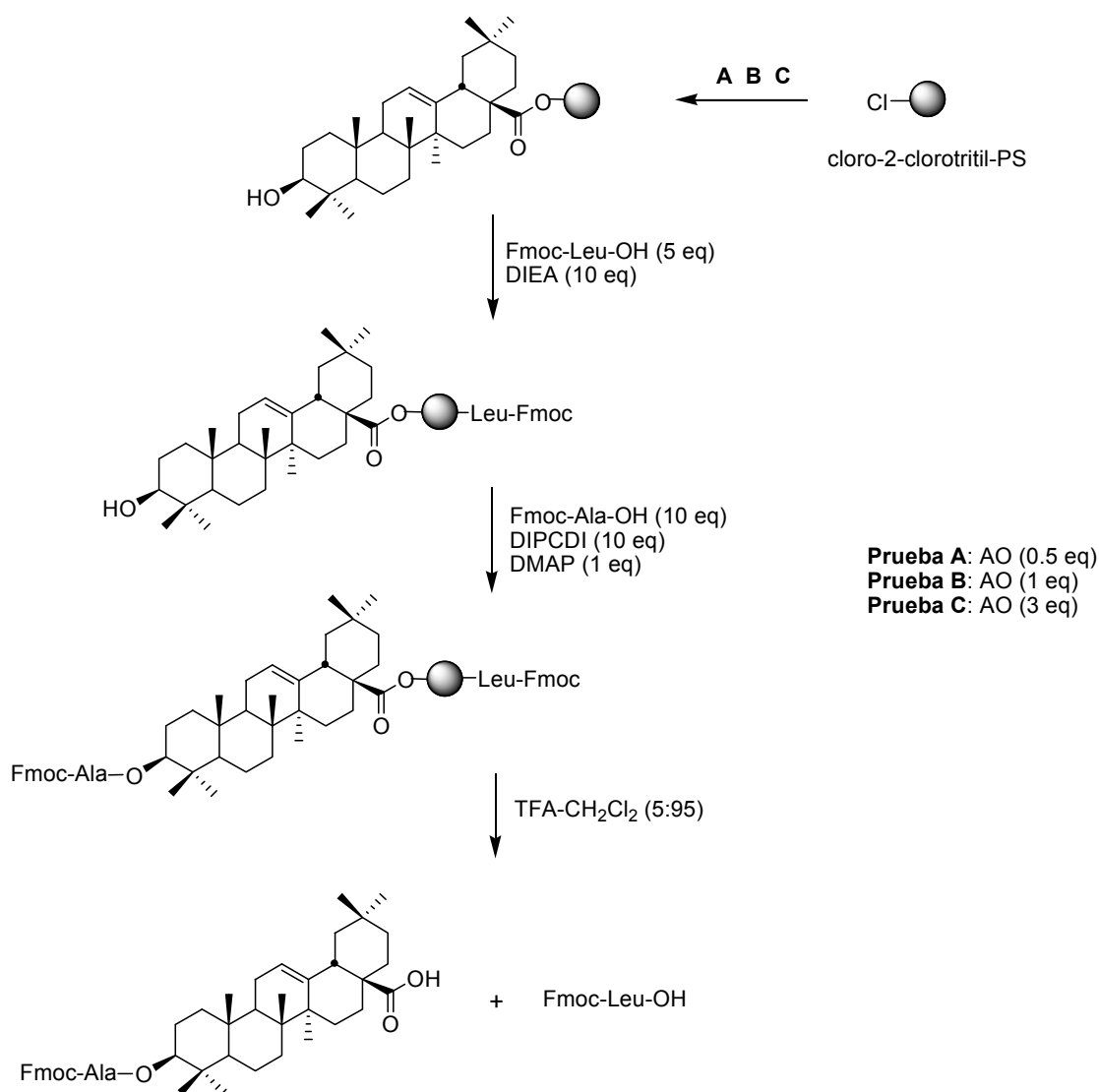


Figura 2.83. Diseño del experimento para evaluación de incorporación de ácido oleanólico

²³² Barlos, K.; Chatzi, O.; Gatos, D.; Stavropoulos, G., *Int. J. Peptide Protein Res.*, **1991**, 37, 513.

²³³ Barlos, K.; Gatos, D.; Schäfer, W., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, 30, 590.

²³⁴ Barlos, K.; Gatos, D.; Papaphotiu, G.; Schäfer, W., *Liebigs Ann. Chem.*, **1993**, 215.

El enlace que se forma entre la resina y ácido oleanólico es de tipo éster y para ello se va a utilizar DIEA (diisopropiletilamina) en CH_2Cl_2 aunque en este caso no se va a llevar a cabo el tratamiento con MeOH después del primer acoplamiento. Por el contrario, se va a incorporar Fmoc-Leu-OH, que entrará por tanto en aquellos centros activos que no haya ocupado el triterpeno pentacíclico. Para poder cuantificar la incorporación del ácido oleanólico, que se hará en distinta proporción según las distintas pruebas detalladas, se formará un enlace éster entre Fmoc-Ala-OH y el grupo hidroxilo 2β del anillo A del terpenoide. El análisis por HPLC de cada una de las pruebas tras la escisión de la resina a 301 nm, longitud de onda a la que absorbe el grupo Fmoc, indicará el porcentaje de acoplamiento a través de las áreas relativas de los distintos picos.

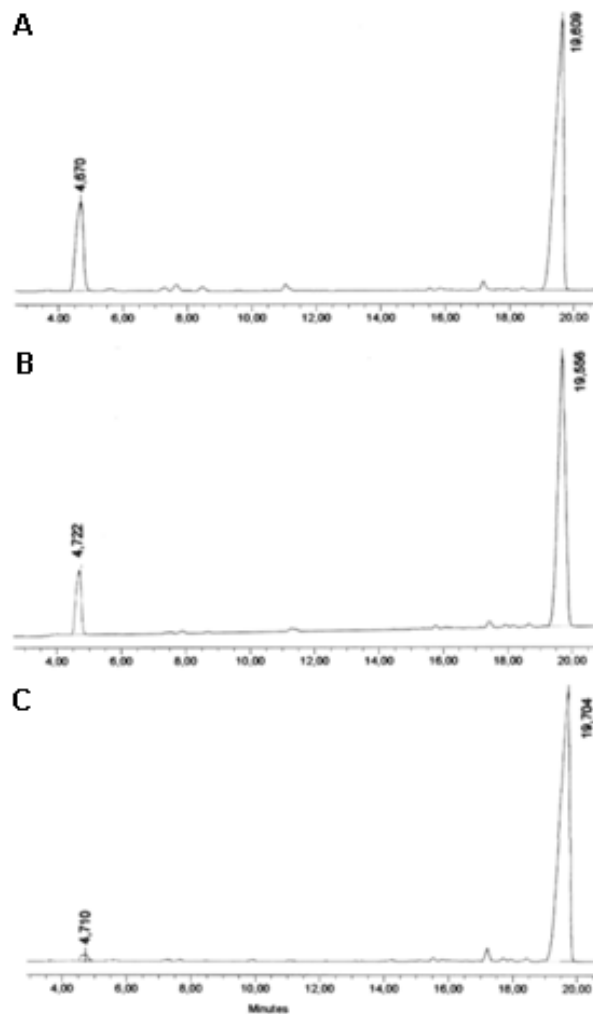


Figura 2.84. Perfiles cromatográficos de las distintas pruebas

Se comprueba en la comparativa de los perfiles de los distintos ensayos (Fig. 2.84) que a medida que se aumenta la cantidad de ácido oleanólico, el pico a $t_R=4.7$ min (correspondiente a Fmoc-Leu-OH) va disminuyendo y aumentando el área relativa del pico a $t_R=19.7$ min que corresponde a la especie Fmoc-Ala-AO, según el cromatograma de HPLC-ES.

Los resultados obtenidos (Tabla 2.10) indican que la incorporación del ácido oleanólico (1) a la resina de Barlos tiene lugar de manera satisfactoria obteniéndose un acoplamiento casi cuantitativo, respecto al patrón Fmoc-Leu-OH, cuando se lleva a cabo con 3 eq de este ácido. Además, las condiciones necesarias para la escisión de estos compuestos de la resina no parecen alterar el triterpeno, según datos obtenidos de HPLC-ES.

Tabla 2.10. Resultados del experimento para cuantificación de incorporación de ácido oleanólico

Prueba	Fmoc-Ala-AO	Fmoc-Leu-OH
A	68 %	32 %
B	86 %	14 %
C	99 %	1 %

2.4.2. Síntesis de análogos de Kahalalido F con ácidos maslínico y oleanólico

El trabajo realizado en esta parte de la Tesis Doctoral se engloba dentro del marco de la Química en Fase Sólida, y parte con el objetivo de optimizar condiciones para sintetizar análogos de KF que mejoren tanto la actividad como la farmacocinética. Así, se analizarán las condiciones adecuadas para la introducción de los triterpenos pentacíclicos, ácidos oleanólico y maslínico, en el extremo N-terminal de la cadena peptídica. Ya que resultados preliminares de RMN no sugieren que KF posea una estructura definida, no se ha podido diseñar análogos con la idea de estabilizar la conformación más activa y por tanto el diseño de estos se lleva a cabo siguiendo un método iterativo basado en los resultados biológicos *in vitro* realizados por PharmaMar S.A.

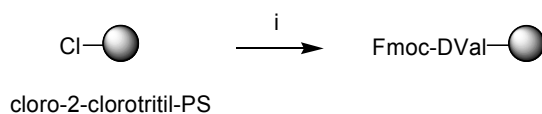
El esquema general sintético original (Fig. 1.93) se ha modificado ligeramente, por ello se ha subdividido esta parte de la Memoria en varios apartados que corresponden a cada una de las etapas de la síntesis (Fig. 2.85), donde se reflejará las modificaciones realizadas respecto a la síntesis original, así como las consideraciones generales en Síntesis Orgánica en Fase Sólida y en concreto en Síntesis de Péptidos en Fase Sólida.

El sistema de protecciones utilizado es global al conjunto de la síntesis. En la ruta sintética es necesario un total de cuatro grupos protectores ^tBu-Boc, Trt, Fmoc y Alloc, un

2.4.2.1 Consideraciones generales, resina utilizada e incorporación del primer aminoácido

Sobre el soporte sólido se une covalentemente el primer aminoácido del péptido a sintetizar para posteriormente ir creciendo de manera secuencial el resto de aminoácidos, normalmente de C a N terminal. Todas las reacciones se llevan a cabo con exceso de reactivos, con el objetivo de que se incorpore cuantitativamente el nuevo aminoácido sobre el que está anclado a la resina. Este exceso es posible ya que al estar el producto unido a un polímero la eliminación se realiza mediante una simple filtración. Ésta es la gran ventaja que ofrece la SPPS ya que, al no tener que purificar en cada paso, las síntesis son más rápidas y requieren menos manipulaciones. Al final de la síntesis, se eliminan los protectores de las cadenas laterales y se escinde el enlace entre el primer aminoácido y el polímero, liberando el producto deseado.

La secuencia lineal se sintetiza sobre la resina Barlos, ya se ha comprobado en el apartado 2.4.1 que en las condiciones de escisión los triterpenos pentacíclicos no se ven afectados. Además, su uso permite tanto la escisión del péptido en condiciones suaves y en presencia de otros grupos protectores, como la obtención del extremo C-terminal en forma de ácido en la etapa de liberación del péptido para que se pueda formar el ciclo con la función amina libre.



(i) a. Fmoc-Val-OH, DIEA, CH_2Cl_2 , 45 min; b. CH_3OH , 15 min

Figura 2.86. Incorporación del primer aminoácido

Esta resina ofrece otra ventaja, ya que debido al impedimento estérico del grupo 2-clorotritilo se minimizan la formación de dicetopiperacinas (DKPs) durante la eliminación del grupo protector temporal del segundo aminoácido, aumentando el rendimiento global de la síntesis. El mayor inconveniente es su gran labilidad, ya que implica mantener el péptido el mínimo tiempo posible anclado a la resina.²²⁴

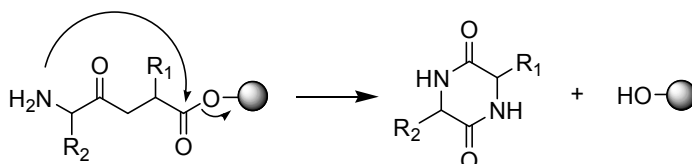


Figura 2.87. Formación dicetopiperacinas

Debido a la alta hidrofobicidad de KF es necesario reducir la funcionalización de la resina, que originalmente es de 1.27 mmol/g resina hasta 0.5 mmol/g, para evitar un colapso durante la síntesis que dificultaría las reacciones de acoplamiento.²³⁶

Las síntesis de análogos KF se han realizado con una funcionalización 0.5 mmol/g de resina aproximadamente. Las condiciones de incorporación son, para un gramo de resina, 0.5 mmol de Fmoc-D-Val-OH y 50 mmol de DIEA (añadiendo 2/3 con el aminoácido y 1/3 a los 5 min) en CH₂Cl₂ durante una hora, momento en el que se añaden 0.8 mL de metanol para inactivar el resto de clorotrilos del polímero. Existe una variabilidad dentro de la funcionalización obtenida por lo que se ha de determinar por cuantificación del grupo Fmoc por UV (Apartado 3.3.6). Esta variabilidad depende de la solvatación, temperatura, cantidad de disolvente utilizado y la agitación, siendo difícil de controlar.

2.4.2.2. Elongación de la secuencia

La elongación de la cadena peptídica sobre el polímero con la estrategia Fmoc-^tBu se hace de manera secuencial, utilizando aminoácidos protegidos en el grupo amino con un protector temporal, 9-Fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), y en la cadena lateral con un protector permanente (^tBu-Boc) que se elimina con altas concentraciones de ácido. Una vez incorporado el aminoácido, se elimina el protector temporal para que la amina pueda reaccionar con el siguiente aminoácido. Para que se pueda formar el enlace amida es necesaria la adición de reactivos que aumente la electrofilia del carbono del grupo carboxilo. En los últimos años se han desarrollado un gran número de agentes reactivos para SPPS con el objetivo de disminuir el tiempo de reacción y poder realizar acoplamientos entre aminoácidos que presenten impedimentos estéricos. Generalmente, se ha utilizado como agentes acoplantes para los aminoácidos naturales la mezcla de una hidroxilamina y una carbodiimida, HOBt-DIPCDI.

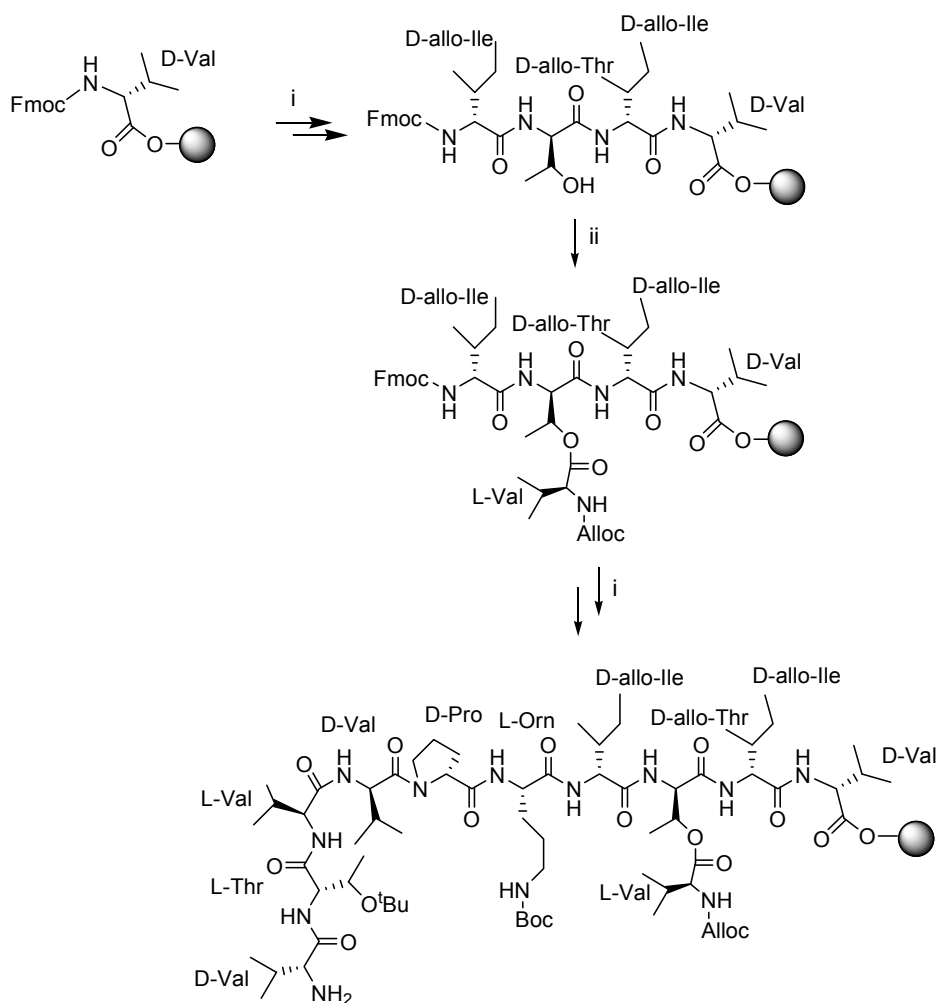
La incorporación de la Alloc-Val-OH sobre el hidroxilo de la D-alo-treonina no se ha alterado respecto a la síntesis original, donde se comprobó que debe introducirse una vez incorporada la D-alo-Ile 7, debido a que su incorporación una vez sintetizada toda la secuencia lineal está muy impedida, y si se hacía reaccionar justo después de la D-alo-treonina no era posible incorporar después la D-alo-Ile por causas de impedimento estérico.^{174b}

La reacción de esterificación se realiza con 5 equivalentes de exceso de aminoácido mediante dos tratamientos de 30 minutos con DIPCDI (5 eq)-DMAP (0.5 eq). La reacción se sigue por HPLC, pero no mediante el test de alcoholes, pues se comprobó que daba lugar a un

²³⁶ Chiva, C; Vilaseca, M.; Giralt, E.; Albericio, F., *J. Pept. Sci.*, **1999**, 5, 131.

falso negativo. Es necesario sintetizar previamente Alloc-Val-OH, ya que no es un producto comercial.^{174b}

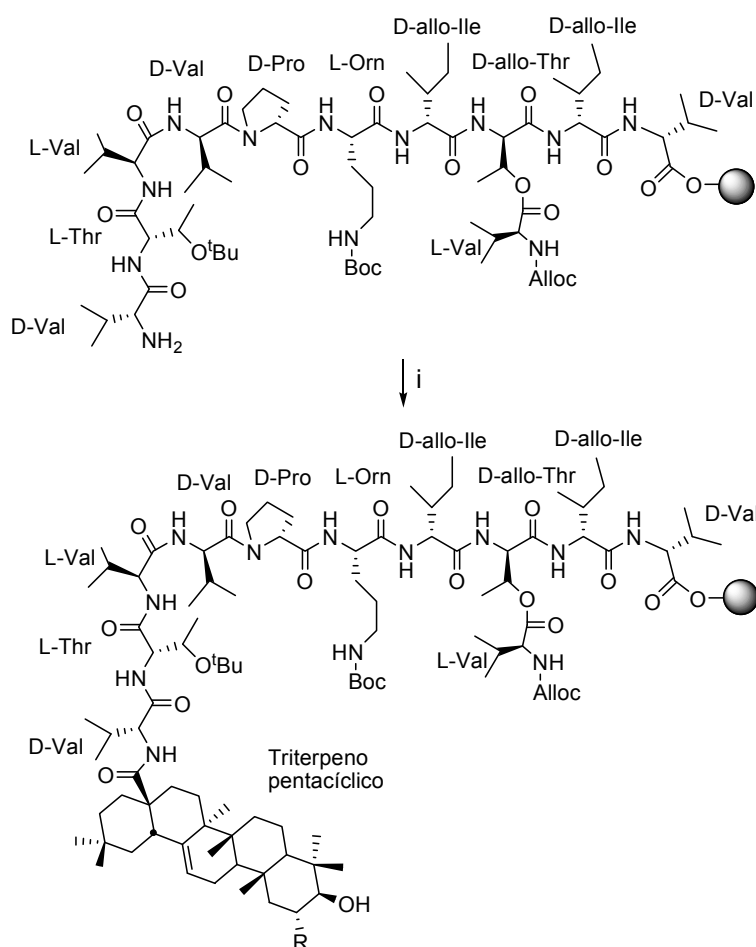
El único enlace en donde se realiza doble acoplamiento sistemático es entre D-prolina y D-valina, ya que el grupo amino secundario de la prolina es menos nucleófilo y el ensayo colorimétrico de aminas secundarias no es tan sensible.



- (i) a. Piperidina-DMF 1:4 (1x1min, 2x 10 min); b. Fmoc-AA-OH, HOBT, DIPCDI, DMF, 90 min; (ii) a. Alloc-Val-OH, DIPCDI, DIEA, DMAP; b. Piperidina-DMF 1:4 (1x1min, 2x 10 min).

Figura 2.88. Elongación de la secuencia de KF

2.4.2.3. Incorporación de los triterpenos pentacíclicos.



(i) AO o AM, PyAOP, HOAt, DIEA, DMF, 24 h

Figura 2.89. Incorporación de los ácidos triterpénicos pentacíclicos

Los análogos a sintetizar pertenecen a modificaciones en el ácido alifático 5-metilhexanoico. Un primer intento de incorporación de los ácidos triterpenos pentacíclicos en el extremo N-terminal utilizando los mismos agentes acoplantes que en la elongación de la cadena peptídica (HOBt-DIPCDI) muestra en su cromatograma unos perfiles de reacción con rendimientos bajos para este tipo de compuestos (Fig. 2.90-B y 2.91-B).

Por ello, se han estudiado distintas condiciones para la incorporación de los triterpenos al extremo N-terminal de KF, desde carbodiimidas en presencia de distintas hidroxilaminas hasta distintas sales de fosfonio y de aminio. La evolución de las distintas reacciones se ha seguido mediante análisis por HPLC, HPLC-MS y MALDI del crudo de acidólisis de pequeñas alícuotas de resina.

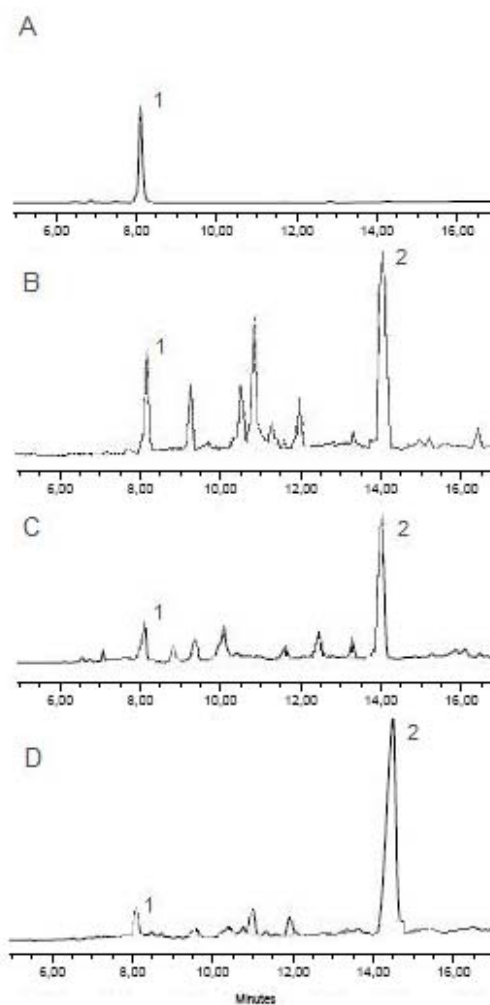


Figura 2.90. Cromatogramas incorporación ácido oleanólico (1) con distintos agentes acoplantes. Gradiente de 3:7 a 10:0 en 15 min, H₂O con 0.045 % TFA: ACN con 0.036 % TFA. **A.** Péptido t=0, **B.** HOBt-DIPCDI 48h, **C.** HOAt-DIPCDI 56 h, **D.** PyAOP-HOAt 12 h; 1. Péptido t=0 (t_R= 8.0 min), 2. Péptido-AO (t_R= 14.6 min)

Tabla 2.11. Porcentajes^a incorporación ácido oleanólico con distintos agentes acoplantes

Agentes acoplantes	Péptido t=0	Péptido-AO
HOBt-DIPCDI	9 %	56 %
HOAt-DIPCDI	12 %	66 %
PyAOP-HOAt	6 %	74 %

^a área relativa del HPLC medida a UV λ=220 nm

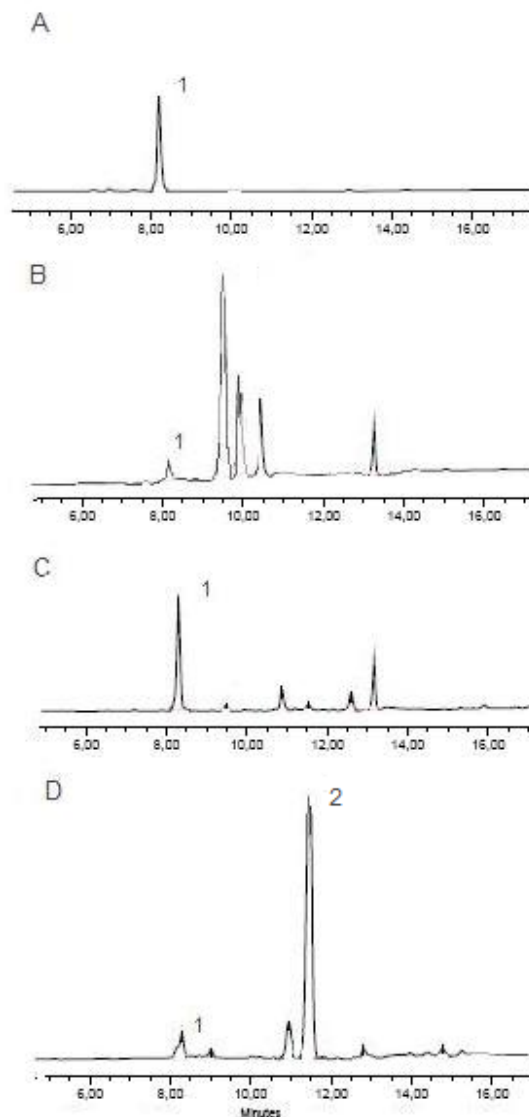


Figura 2.91. Cromatogramas incorporación ácido maslínico (2) con distintos agentes acoplantes. Gradiente de 3:7 a 10:0 en 15 min, H₂O con 0.045 % TFA: ACN con 0.036 % TFA. **A.** Péptido t=0, **B.** HOBt-DIPCDI 48h, **C.** HOAt-DIPCDI 56 h, **D.** PyAOP-HOAt 12 h; 1. Péptido t=0 ($t_R=8.1$ min) 2. Péptido-AM ($t_R= 11.5$ min).

Tabla 2.12. Porcentajes^a incorporación ácido maslínico con distintos agentes acoplantes

Agentes acoplantes	Péptido t=0	Péptido-AM
HOBt-DIPCDI	3 %	-
HOAt-DIPCDI	55 %	-
PyAOP-HOAt	6 %	72 %

^a área relativa del HPLC medida a UV $\lambda=220$ nm

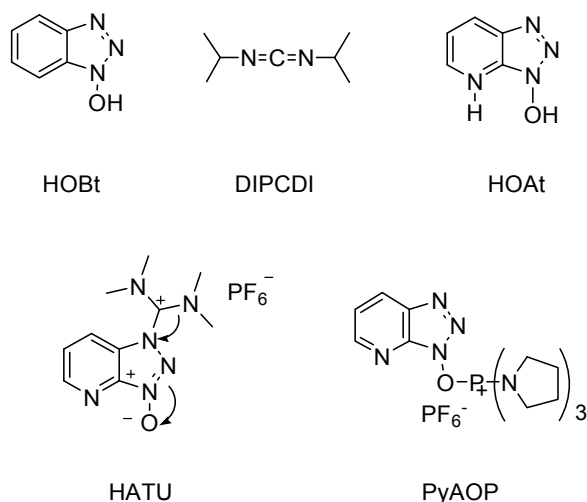


Figura 2.92. Estructuras de los agentes acoplantes utilizados

Sí se utiliza HOAt en combinación con DIPCDI el acoplamiento, en principio, sería más efectivo ya que el nitrógeno del sistema aromático tiende a estabilizar al grupo saliente por su efecto atrayente de electrones y por la catálisis básica asistida que realiza mediante un intermedio cíclico de siete miembros (Fig. 2.93). Pero esta pareja de agentes acoplantes tampoco conlleva buenos rendimientos (Fig. 2.90.C y 2.91.C.). Por este motivo se decide emplear otros compuestos como sales de aminio y sales de fosfonio, especies más reactivas que las habituales carbodiimidas.

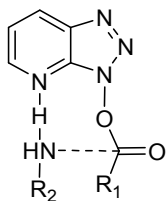


Figura 2.93. HOAt y catálisis básica

Se ha comprobado que el uso de sales de aminio como HATU provoca la guanilidación²³⁷ de la función amina terminal antes de que tenga lugar la incorporación de los triterpenos pentacíclicos debido a la voluminosidad e impedimento estérico de estos últimos.

²³⁷ Albericio, F.; Bofill, J. M.; El Faham, A.; Kates, S. A. *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 9678.

observan distintas fragmentaciones (Fig 2.95), el espectro MALDI-TOF ofrece un pico mayoritario a m/z 1492.0 $[M + H]^+$, siendo el calculado teóricamente para $C_{73}H_{130}N_{14}O_{18}$ m/z 1492.9. Para la incorporación del ácido maslínico se observa que se ha dado el acoplamiento en 41.2 % ($t_R=11.5$ min), pero igualmente se observa el producto debido a la guanilidación ($t_R=8.6$ min, pureza 36.4%)

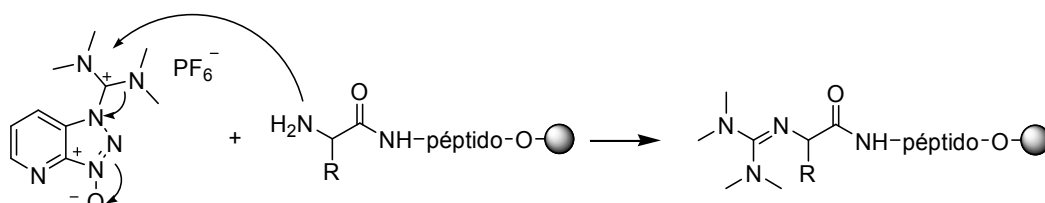


Figura 2.96. Reacción secundaria de guanilidación con HATU como agente acoplante

Según se observan en las Fig. 2.90 y 2.91, donde se muestra una comparativa de los distintos perfiles de reacción con los diferentes agentes acoplantes utilizados, la utilización de sales de fosfonio derivadas del HOAt, PyAOP, es la más eficaz para la síntesis en fase sólida de los análogos bajo estudio, debido principalmente a que además de ser más reactivo que el resto de agente acoplantes no tiene el grupo guanidil susceptible de reaccionar con el grupo amino libre.

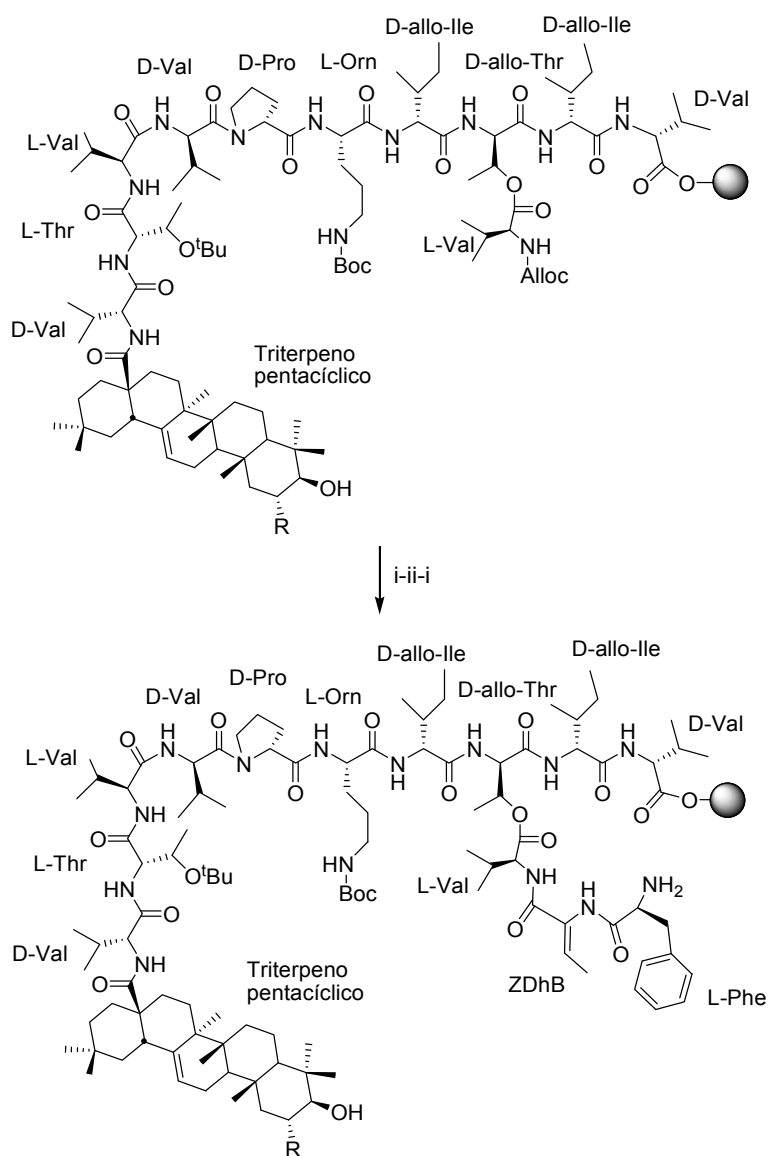
Tabla 2.13. Estudio cinético de la incorporación de los ácidos con PyAOP.^a

	12 h	18 h	24 h
Péptido-AO	74 %	76 %	79 %
Péptido-AM	72 %	78 %	80 %

^a porcentajes obtenidos mediante la área relativa de HPLC medida a UV $\lambda=220$ nm

Hay que especificar por último, que se hace necesario llevar a cabo distintos lavados de la resina resultante con DMF, piperidina 20% en DMF, DMSO y CH_2Cl_2 , porque se observan en algunos perfiles cromatográficos de ambos acoplamientos unos picos que corresponden a los ácidos activados, y que por simple lavado con DMF y filtración no se consigue eliminar de la resina.

2.4.2.4. Incorporación del didehidroaminoácido



(i) a. $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, PhSiH_3 , CH_2Cl_2 ; b. Dietilditiocarbamato sódico en DMF 0.02M; (ii) Alloc-Phe-(Z)-Dhb-OH, HOAt, DIPCDI, DMF, 12h;

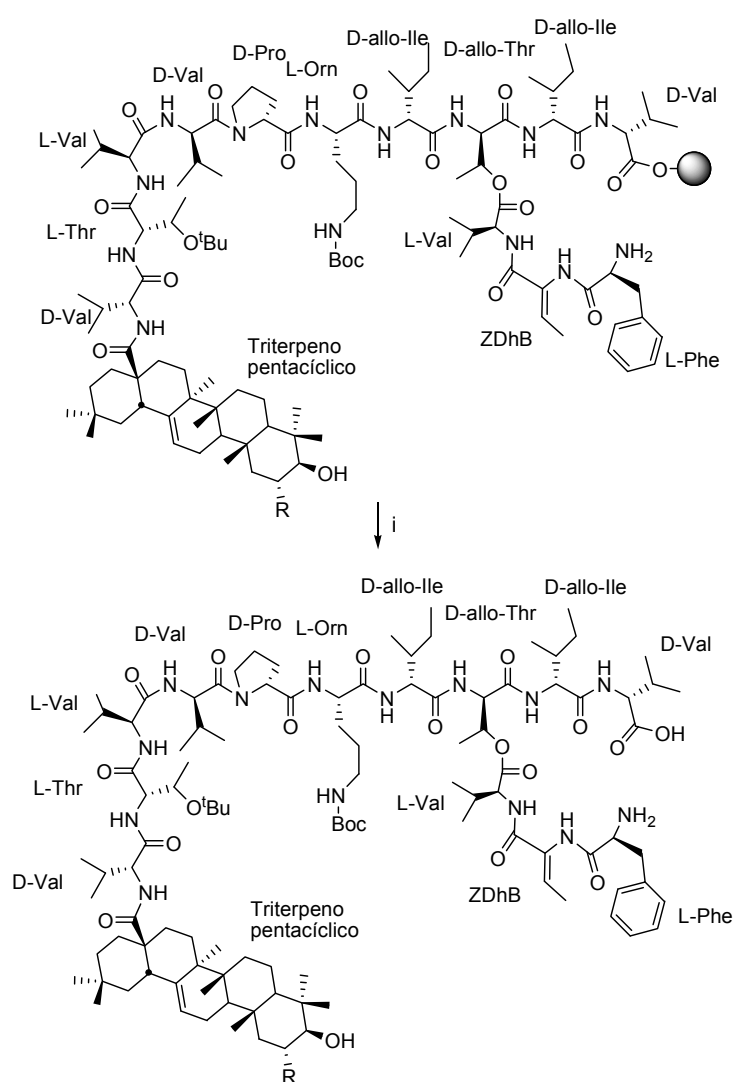
Figura 2.97. Incorporación del didehidroaminoácido

Una vez ha sido convenientemente acilado el último aminoácido de la cadena peptídica (D-Val 13) con el ácido correspondiente, ácidos maslínico o oleanólico para estos análogos, se pasa a elongar la cadena lateral con origen en el alcohol de la D-alo-treonina 6. Para ello,

eliminamos el grupo Alloc de la valina 1 con un catalizador de paladio(0) [Pd(PPh₃)₄] y un agente capturador de cationes (PhSiH₃) en DCM.²³⁸

Una vez formada la secuencia se obtiene el didehidroaminoácido incorporando un dipéptido, Alloc-Phe-(Z)Dhb-OH, sin embargo, también se puede llevar a cabo incorporando secuencialmente treonina (su precursor), fenilalanina y deshidratando a continuación sobre fase sólida, aunque la primera opción es más rápida.^{174b} Por último, se desprotege el grupo Alloc de didehidroaminoácido incorporado, según protocolo citado anteriormente.

2.4.2.5. Escisión de los análogos de la resina



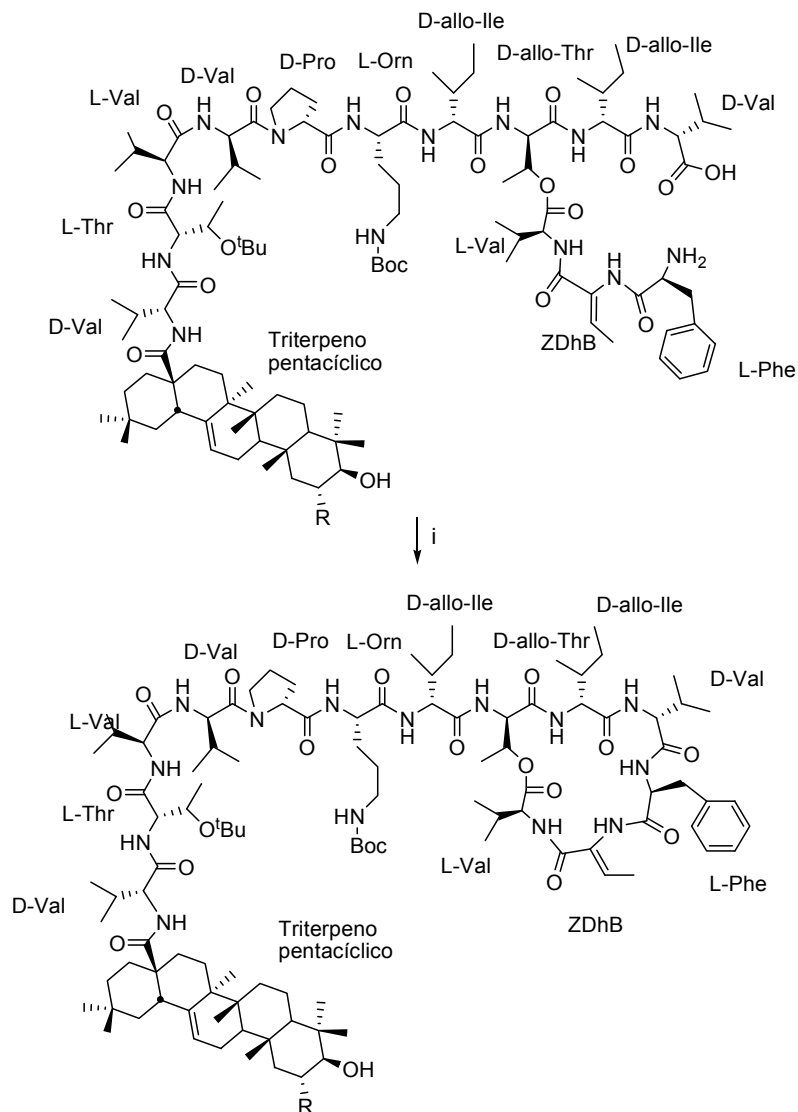
(i) TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5 x 30 sec)

Figura 2.98. Escisión del compuesto de la resina

²³⁸ Guibe, F. *Tetrahedron* **1997**, 53, 13509; **1998**, 54, 2907.

La liberación de los análogos se realiza en condiciones ácidas suaves, 1% de TFA en CH_2Cl_2 , en cinco tratamientos de 30 segundos cada uno, recogiendo el crudo sobre un balón con una cantidad adecuada de agua calidad MilliQ. Porcentajes mayores de ácido podrían conllevar pérdidas de los grupos protectores de las cadenas laterales de la Orn y Thr. Una vez desanclado se elimina el CH_2Cl_2 a presión reducida, se añade $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ y se liofiliza.

2.4.2.6. Ciclación



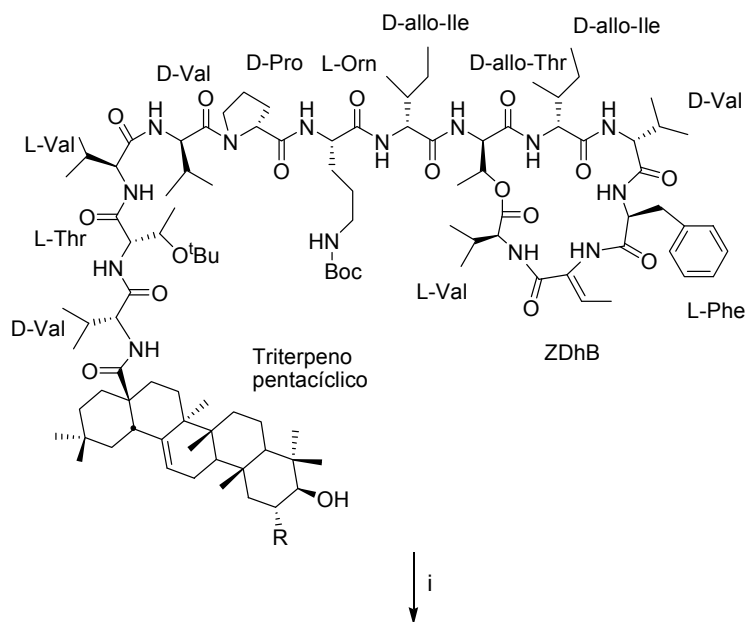
(i) HOBt, DIEA, DIPCDI, CH_2Cl_2 , 1h, t.a.

Figura 2.99. Ciclación del Kahalalido F

La ciclación se realiza una vez el péptido ha sido desanclado de la resina, manteniéndose los protectores de las cadenas laterales de Orn 8 y Thr 12, ya que la amina primaria de la ornitina podría dar lugar a un isómero constitucional.

Se utilizaron como reactivos de ciclación DIPCDI-HOBt en CH_2Cl_2 porque en estudios anteriores se llegó a la conclusión que eliminaba prácticamente la epimerización en la valina 4 que producían PyBOP y DIEA en DMF.²³⁹

2.4.2.7. Desprotección de la cadena lateral de la Orn y Thr



(i) TFA- H_2O (95:5), 1h

Figura 2.100. Desprotección de la cadena lateral en los análogos de *Kahalalido F*.

La desprotección de las cadenas laterales se realiza una vez ha sido evaporado el disolvente de la reacción de ciclación. Se lleva a cabo utilizando TFA- H_2O (95:5) durante una hora. Esta reacción se sigue por HPLC, donde aparece un crudo peor que el péptido una vez ciclado, además de no corresponder los datos de MALDI-TOFI con los de la especie deseada. En la Figura 2.101 se muestra como ejemplo los perfiles cromatográficos correspondientes al análogo que contiene ácido maslínico antes de la desprotección (A) y después (B). Este empeoramiento se podía atribuir en un principio a la trifluoroacetilación de los hidroxilos del anillo A de los ácidos maslínico y oleanólico. Pero un estudio más pormenorizado de estos productos en las condiciones de desprotección de las cadenas laterales nos muestra que además del fenómeno mencionado se ha producido entre otros procesos la isomerización del doble enlace 12-13 a 13-18 (Fig. 2.102)

²³⁹ Jiménez, J. C. Tesis doctoral, Universidad Barcelona, 2003.

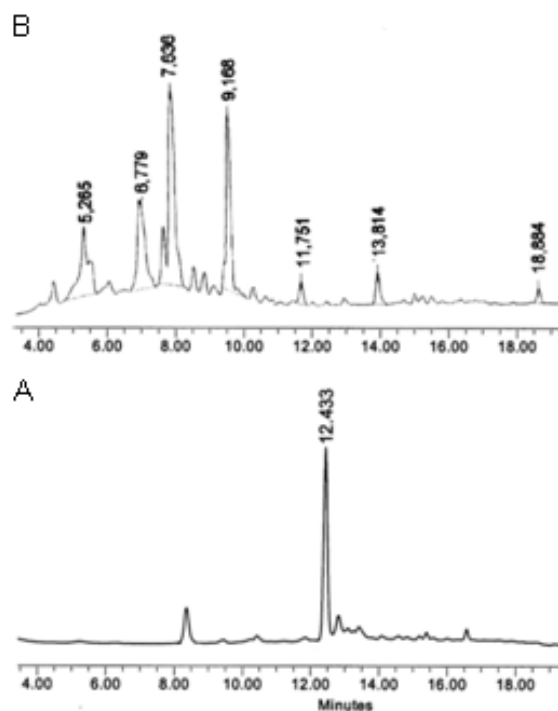
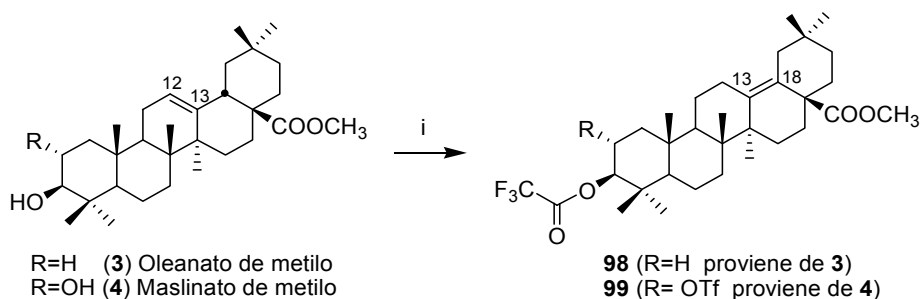


Figura 2.101. Cromatograma antes (A) y después de la desprotección (B) del análogo que contiene ácido maslínico, gradiente 3:7 a 10:0 en 15 min



(i) TFA-CH₂Cl₂ (95:5), 1h, t.a.

Figura 2.102. Isomerización y trifluoroacetilación de los esteres de los triterpenos pentacíclicos

Para el compuesto **98**, la isomerización del doble enlace de las posiciones 12-13 a 13-18 es fácilmente demostrable en su espectro de ¹H RMN al desaparecer tanto la señal del protón etilénico de H-12 que en el compuesto **3** se situaba a 5.26 ppm como la del protón alílico de H-18 que se localizaba a 2.84 ppm. Igualmente, es destacable el desapantallamiento que sufre el protón de H-3, de 3.19 ppm en **3** a 4.68 ppm en **98**, consecuencia de la acetilación del hidroxilo geminal. Por otro lado, en el espectro de ¹³C RMN se confirma la isomerización entre las posiciones señaladas ya que sólo se observan dos señales olefínicas cuaternarias a 138.0 y 128.2 ppm.

Para el caso del tratamiento del maslinato de metilo (**4**) con TFA-CH₂Cl₂ se obtiene una mezcla compleja de productos difíciles de separar cromatográficamente, que además se descomponen en el proceso de purificación sobre SiO₂. A pesar de todo esto, en el espectro de ¹H RMN de la mezcla obtenida se aprecia igualmente que la señal olefínica de H-12 ha desaparecido, mientras que por otro lado las señales de H-2 y H-3 se han desapantallado, probablemente por la trifluoroacetilación de los hidroxilos geminales a estos protones.

2.4.2.8. *p*-nitrobenciloxycarbonilo como grupo protector permanente

Debido a que en las condiciones de eliminación de los grupos protectores de las cadenas laterales de la ornitina y treonina (Boc y *t*Bu, respectivamente) los terpenoides se ven afectados, se introducen modificaciones que consisten en la incorporación de la treonina sin proteger ya que el alcohol secundario posee baja nucleofilia y restan pocos acoplamientos en la síntesis para llegar al extremo N-terminal y para la ornitina se realiza una búsqueda de un nuevo grupo protector permanente para la función δ-amina que pueda ser eliminado en condiciones neutras.

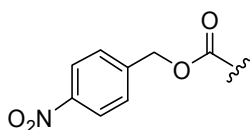


Figura 2.103. Estructura del grupo protector *p*NZ

Específicamente, el grupo tiene que ser estable a la piperidina (usado para β-eliminación del grupo protector temporal Fmoc), al Pd (0) (para eliminar por transferencia alílica el grupo semipermanente Alloc) y al 1% de TFA-CH₂Cl₂ (usado en la escisión del péptido de la resina antes de la ciclación).

El grupo *p*NZ, protector de tipo carbamato, fue descrito por primera vez por Carpenter y Gish como alternativa al grupo benciloxycarbonilo.²⁴⁰ También ha sido usado para la protección del grupo ε-amino de la lisina.²⁴¹ Además, recientemente ha sido descrito como grupo protector temporal de funciones-α en SPPS, ya que su uso evita reacciones secundarias asociadas con el uso de la piperidina, como DKP o formación de aspartamidas.²⁴² Asimismo, se ha comprobado que su uso como grupo protector temporal de Orn y Lis evita eliminaciones prematuras de α-

²⁴⁰ (a) Carpenter, F. H.; Gish, D. T. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, *74*, 3818. (b) Gish, D. T.; Carpenter, F. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1953**, *75*, 950.

²⁴¹ (a) Shields, J. E.; Carpenter, F. H. *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 3066. (b) Hocker, M. D.; Caldwell, C. G.; Macsata, R. W.; Lyttle, M. H. *Pept. Res.* **1995**, *8*, 310. (c) Peluso, S. Dummy, P. Nkubana, C.; Yokokawa, Y; Mutter, M. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 7114.

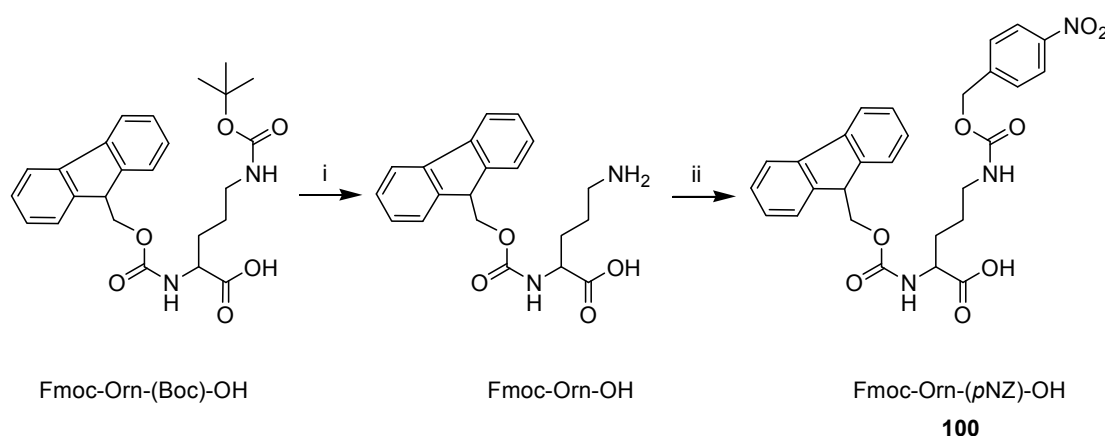
²⁴² Isidro-Llobet, A.; Guash-Camell, J; Alvarez, M.; Albericio, F. *Eur. J. Org. Chem.* **2005**, *14*, 3031.

Fmoc después de la desprotección de las cadenas laterales de las funciones ω -aminas. Incluso ha sido validado el par p NZ- p NB para preparar péptidos cíclicos. p Nz es ortogonal a la mayoría de los grupos protectores usados en síntesis peptídica, t Bu, Boc, Fmoc y alloc, y se elimina en condiciones neutras en presencia de cantidades catalíticas de ácido.²⁴²

La elección del grupo p NZ como grupo para la protección permanente de la ornitina en la síntesis de estos análogos de KF es idónea, dado que satisface las condiciones requeridas y no conlleva reacciones secundarias en los triterpenos pentacíclicos. Por todo esto, uno de los aspectos que se han variado es el esquema de protección original utilizado, pero cabe mencionar que el nuevo sistema de protección, formado por los grupos p NZ, Fmoc, Alloc y Trt constituye un conjunto de grupos ortogonales.²³⁵

2.4.2.9. Síntesis de Fmoc-L-Orn(p NZ)-OH

Los aminoácidos protegidos con el grupo p NZ son fácilmente sintetizados, y a diferencia de otros derivados con distinta protección, son sólidos y altamente solubles en DMF.²⁴²



(i) TFA 30%, CH_2Cl_2 , 30 min; (ii) Cl- p NZ, NaN_3 , 85%

Figura 2.104. Síntesis de Fmoc-L-Orn(p NZ)-OH

La síntesis se lleva a cabo a partir del aminoácido comercial Fmoc-Orn-(Boc)-OH, desprotegiendo la cadena lateral previamente con TFA al 30% en CH_2Cl_2 durante 30 min. Transcurrido este tiempo se concentra a vacío, se lava con éter cinco veces y se evapora el disolvente para obtener el aminoácido desprotegido en un 84%, caracterizado analíticamente por HPLC (t_R 9.8 min, pureza >98%, gradiente de 0:10 a 10:0, H_2O con 0.045 % TFA: ACN con 0.036 % TFA en 15 min)

Entonces, la cadena lateral de la Orn se protege usando el método de la azida para minimizar la formación de dipéptidos, que son obtenidos como subproductos si se usan las condiciones clásicas de Schotten-Baumann.²⁴³ Se utiliza una versión optimizada²⁴⁴ en el que el cloruro de *p*-nitrobencilo reacciona en dioxano con NaN₃ y el *p*NZ-N₃ formado se trata directamente con el aminoácido libre, manteniendo el pH a 9-10 con una disolución de Na₂CO₃ 10%, obteniéndose Fmoc-L-Orn(*p*NZ)-OH, con un rendimiento del 85% y una pureza > 98%.

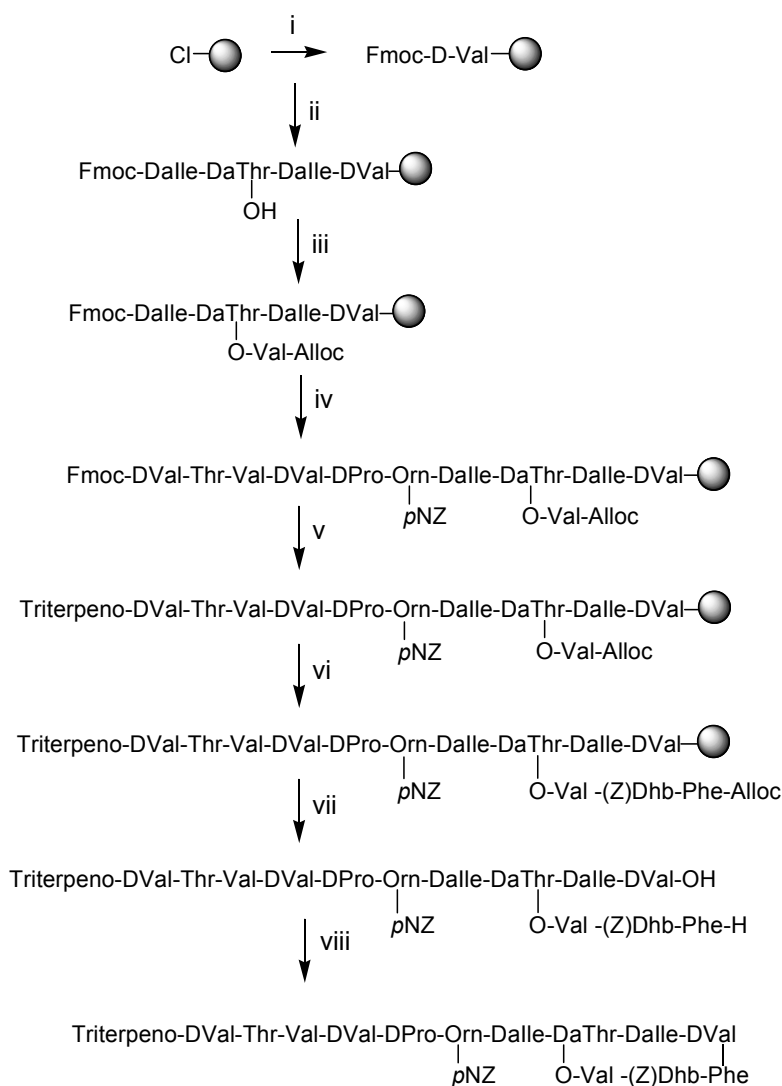
2.4.2.10. Síntesis de los análogos de KF con Orn protegida con *p*NZ

Una vez solventados los inconvenientes encontrados para la utilización de grupos protectores que se eliminan en condiciones ácidas fuertes y teniendo optimizadas las condiciones de acoplamiento de los triterpenos pentacíclicos se afronta la síntesis de estos análogos siguiendo la estrategia de la Fig. 2.105.

La nueva estrategia sigue el procedimiento descrito anteriormente y comienza con la incorporación de la Fmoc-D-Val-OH sobre la resina clorotritilo, seguida de la elongación de la cadena peptídica hasta la incorporación de la D-*allo*-Ile, que es cuando se produce la esterificación del grupo hidroxilo de la D-*allo*-Thr con Alloc-Val-OH. Entonces, la ornitina se incorpora en 4 eq con la cadena lateral protegida con el grupo *p*NZ, uno de los pasos que modifican la síntesis original. La elongación de la cadena principal continúa hasta la incorporación de la Fmoc-Thr-OH (5eq) que lo hace sin protección en su cadena lateral, otra de las variaciones realizadas. Por último, la incorporación del ácido oleanólico y maslínico se lleva a cabo sobre dos porciones de la resina resultante con PyAOP-HOAt, según condiciones estudiadas en el apartado 2.4.2.3 y pone fin a la elongación de la secuencia lineal. Una alícuota de cada peptidilresina se analiza por HPLC (péptido-AO: t_R= 14.8 min, pureza >78%, gradiente de 5:5 a 10:0, H₂O con 0.045 % TFA: ACN con 0.036 % TFA en 15 min; ESMS: m/z calculado para C₉₇H₁₅₅N₁₃O₂₂: 1854.1, encontrado m/z 1855.6 [M+H]⁺; péptido-AM: t_R=14.6 min, pureza >80%, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045 % TFA: ACN con 0.036 % TFA, en 150min; ESMS: m/z calculado para C₉₇H₁₅₅N₁₃O₂₃: 1870.1, encontrado m/z 1871.6 [M+H]⁺). A continuación se introduce el dipéptido Alloc-L-Phe-Z-Dhb-OH, tras la eliminación del grupo protector Alloc usando Pd(PPh₃) y PhSiH₃, se libera el péptido de la resina con TFA-CH₂Cl₂ (1:99) y después del proceso de liofilización necesario, se cicla el péptido con DIPCDI-HOBt.

²⁴³ Tessier, M.; Albericio, F.; Pedroso, E.; Grandas, A.; Eritja, R.; Giral, E.; Granier, C.; Van-Rietschoten, J. *Int. J. Pept. Protei. Res.* **1983**, *22*, 125.

²⁴⁴ Cruz, L. J.; Beteta, N. G.; Ewenson, A.; Albericio, F. *Org. Proc. Res. Develop.* **2004**, *8*, 920.



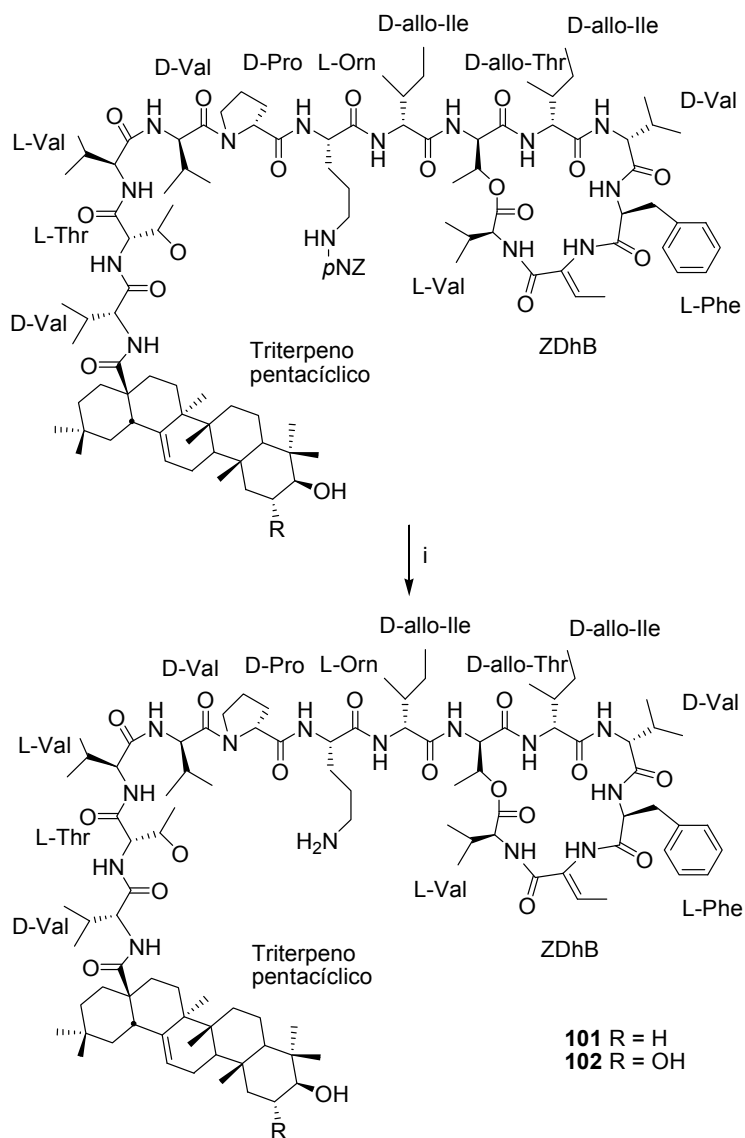
- (i) a. Fmoc-Val-OH, DIEA, DCM, 1 h; b. CH₃OH, 15 min; (ii) a. Piperidina-DMF 1:4 (1x1min, 2x 10 min); b. Fmoc-AA-OH, HOBt, DIPCDI, DMF, 90 min; (iii) a. Alloc-Val-OH, DIPCDI, DIEA, DMAP; (iv) a. Piperidina-DMF 1:4 (1x1min, 2x 10 min); b. Fmoc-AA-OH, HOBt, DIPCDI, DMF, 90 min; (v) a. Piperidina-DMF 1:4 (1x1min, 2x 10 min); b. AO o AM, PyAOP, HOAt, DIEA, DMF, 24 h; (vi) a. Pd(PPh₃)₄, PhSiH₃, CH₂Cl₂; b. (C₂H₅)₂NCS₂Na en DMF 0.02M; c. Alloc-Phe-(Z)-Dhb-OH, HOAt, DIPCDI, DMF, 12h; (vii) TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5 x 30 seg); (viii) HOBt, DIEA, DIPCDI, CH₂Cl₂, 1h, t.a.

Figura 2.105. Etapas de la síntesis de análogos de Kahalalide F con ácido oleanólico y ácido maslínico

2.4.2.11. Desprotección de la cadena lateral de la ornitina

La eliminación del grupo pNZ se puede llevar a cabo a través de catálisis heterogénea y por la reducción del grupo nitro. Para esta última opción, el primer paso conduce al derivado p-amino-benciloxycarbonilo, especie inestable que sufre espontáneamente un desplazamiento

electrónico 1-6 para dar el ácido carbámico que descompone hacia la amina libre correspondiente (Fig. 2.107)



(i) 1M SnCl₂ en DMF, 1.6mM HCl-dioxano, 1h, t.a

Figura 2.106. Desprotección de la cadena lateral de la ornitina

La hidrogenación catalítica no se suele usar en SOFS y además los dobles enlaces presentes en los terpenos de estos análogos hacen que no sea idónea. Por otro lado, la utilización de metales como Zn, Fe o Sn en disoluciones ácidas también se descarta por la dificultad de trabajar con metales sobre fase sólida ya que el uso de estos metales puede dejar trazas y además se requieren condiciones altamente ácidas para la utilización de esta química.

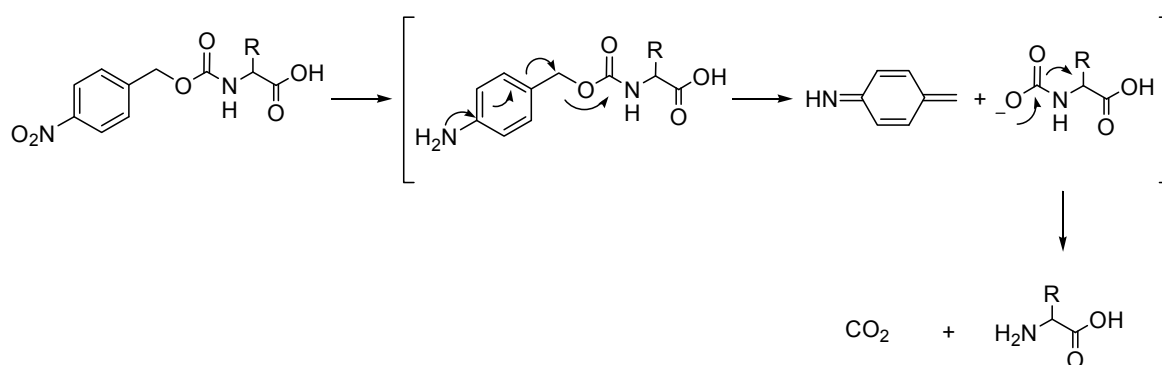


Figura 2.107. Reducción grupo protector pNZ

Por ello se han buscado métodos alternativos como el ditionito de estaño en medio básico o ácido, o SnCl₂ en medio ligeramente ácido. El primero utiliza como agente reductor Na₂S₂O₄ y presenta la desventaja de ser altamente insoluble en DMF, además de requerir agua para llevarse a cabo. Por lo que se opta por la utilización de SnCl₂ en cantidades catalíticas de ácido, disolución de 1M SnCl₂ en DMF que contiene 1.6mM HCl-dioxano durante una hora, siguiéndose el desarrollo de la misma mediante HPLC (Fig. 2.108) y comprobándose las especies resultantes por MALDI-TOF. **101:** HPLC (t_R 11.2 min, pureza 95 %, gradiente de 3:7 a 10:0 en 15 min); MALDI-TOF, calculado para C₉₈H₁₅₈N₁₄O₁₇, 1803.8, encontrado: m/z 1804.8 [M+H]⁺, 1825.8 [M+Na]⁺, 1841.8 [M+K]⁺. **102:** HPLC (t_R 8.9min, pureza 93 %, gradiente de 3:7 a 10:0 en 15 min); MALDI-TOF, calculado para C₉₈H₁₅₈N₁₄O₁₈, 1819.2, encontrado: m/z 1820.0 [M+H]⁺, 1842.9 [M+Na]⁺, 1857.9 [M+K]⁺.

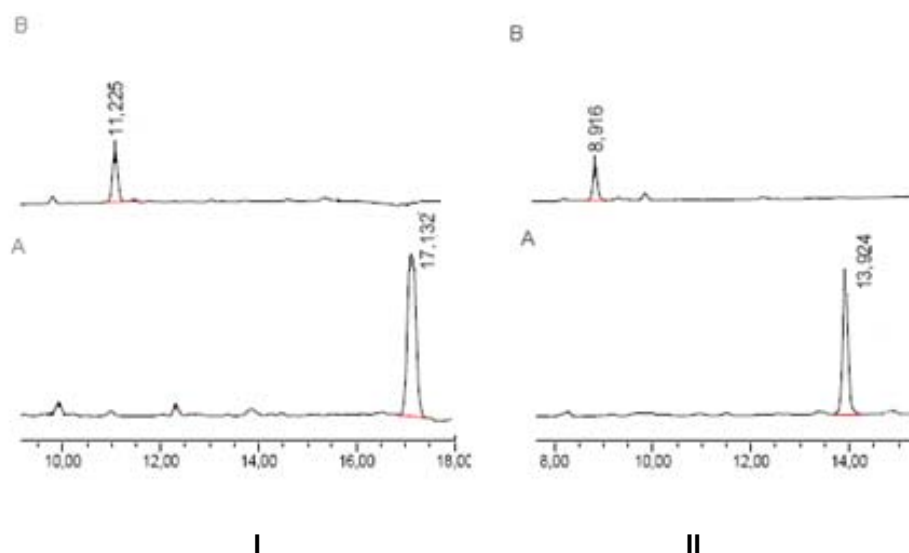


Figura 2.108. HPLC de la desprotección de la ornitina con el grupo pNz para el análogo que contiene ácido oleanólico (I) y para el que contiene ácido maslínico (II).

2.4.2.12. Purificación

El crudo obtenido después de la desprotección de la cadena lateral de la ornitina se purifica por HPLC utilizando como eluyente un isocrático al 65% de acetonitrilo (+0.1% TFA) en agua (+0.1% TFA), con un flujo de 20 mL/min y detección a 220 nm para dar: 32 mg de **101** HPLC (t_R 11.1 min, pureza de 98%). Para **102** se purifica por HPLC, con isocrático al 55% en ACN para dar 19 mg HPLC (t_R 8.9min) que muestra una pureza de 97%.

2.4.3. LIBRERÍA DE DERIVADOS DE ÁCIDO MASLÍNICO CON AMINOÁCIDOS

Basándonos en la extensa recopilación bibliográfica de librerías y distintos derivados de triterpenos pentacíclicos expuesta en la Introducción de la presente Memoria, y teniendo en cuenta la similitud estructural entre los distintos sustratos y el ácido maslínico se pretende usar la Química Combinatoria para generar una librería de compuestos sobre fase sólida. Utilizaremos de dos puntos de diversidad, la posición C-3, donde se encuentra un grupo hidroxilo en disposición β , y el grupo carboxílico de C-28 para obtener compuestos potencialmente activos y también estudiar como se ve modificada la propiedad biológica natural de estos compuestos triterpénicos frente a distintas líneas celulares cancerígenas de melanoma donde se evaluará el tipo de muerte celular implicado, apoptosis o necrosis.

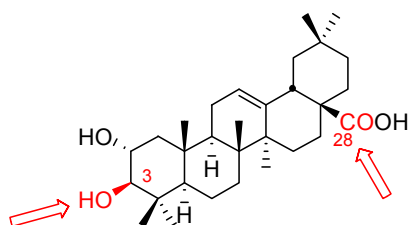


Figura 2.109. Puntos de diversidad a considerar en la librería de ácido maslínico

Comprobaremos de este modo cómo las modificaciones en el anillo A varían la actividad, si es esencial el hidroxilo en C-3 con disposición β , si se incrementa ésta cuando se encuentre acilado, cómo se modifican las propiedades mencionadas si introducen distintos aminoácidos de cadena larga o α -aminoácidos en C-28 o cómo se modifican con la combinación de ambos residuos. Se desarrollará así un estudio de estructura-actividad que permitirá profundizar en el modo de acción de este compuesto proporcionando información que permita encontrar derivados potencialmente más activos que el producto de partida.

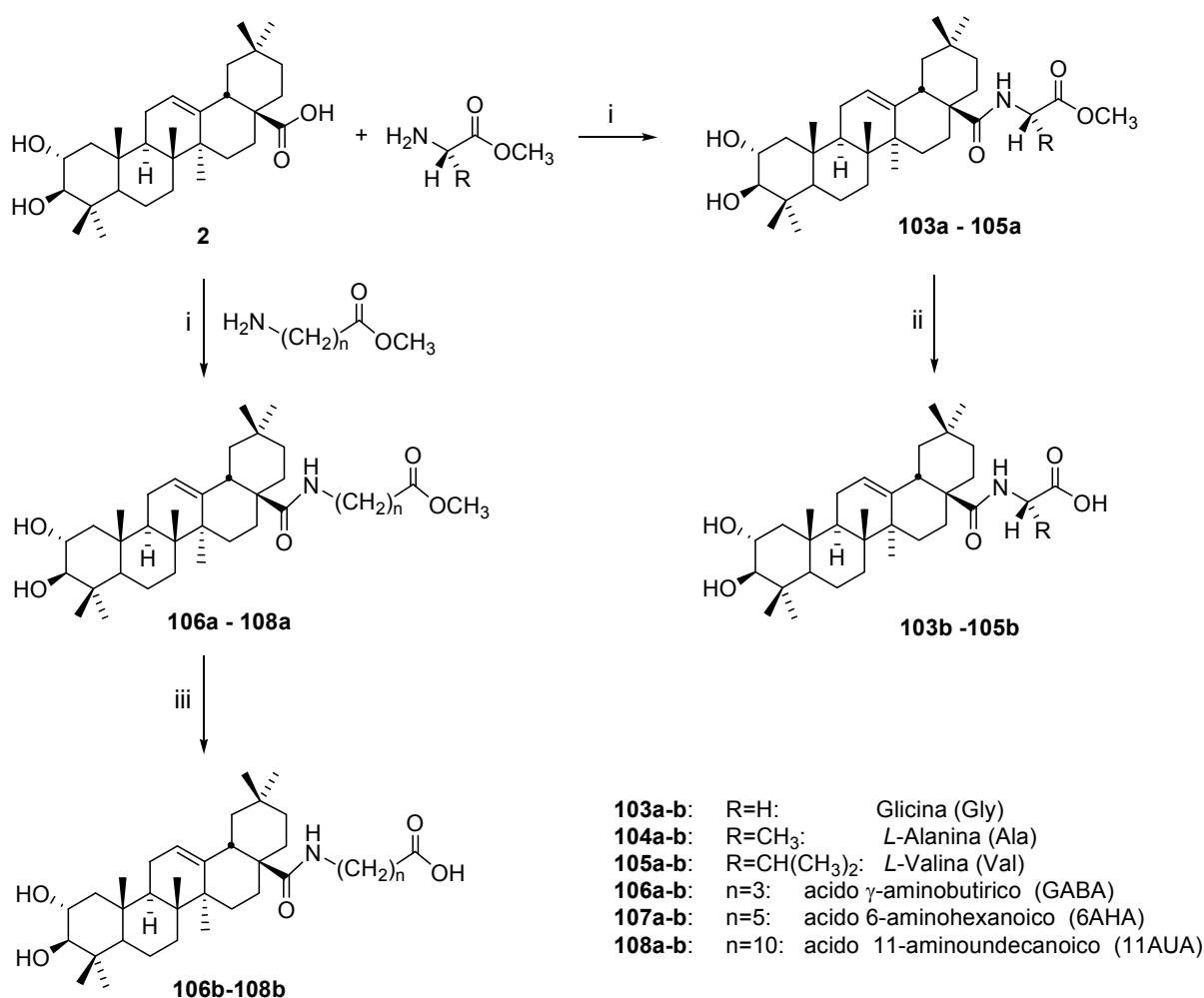
Por otro lado va a permitir validar la utilidad de la formación de bibliotecas mediante técnicas combinatorias de forma rápida, con pequeños pasos y aprovechando la sistematización que facilita este tipo de química, para descubrir nuevos agentes terapéuticos más potentes que los naturales. De igual modo, se podrá comprobar cómo se ve modificada la solubilidad de estos derivados, con la intención de disminuir uno de los principales inconvenientes de este tipo de compuestos bioactivos, su baja solubilidad en medio acuosos.

2.4.3.1. Semisíntesis en fase solución de derivados del ácido maslínico con un solo aminoácido.

Derivados con un solo residuo ya sea α -aminoácido o de cadena larga se preparan mediante un método general en disolución de condensación del ácido maslínico con el correspondiente aminoácido protegido en el grupo carboxílico en forma de ester metílico o etílico. Para ello se utiliza 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) y trietilamina en CH_2Cl_2 . La mezcla resultante se mantiene en agitación durante 8 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo se diluye con agua y se extrae tres veces con CH_2Cl_2 , las fases orgánicas se secan sobre Na_2SO_4 anhidrido, se filtran y se evaporan a vacío. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna obteniéndose los distintos derivados con los rendimientos señalados en la Fig. 2.110. La hidrólisis posterior con NaOH 4M conduce a los derivados con el grupo carboxilo libre.

Las estructuras de los compuestos **103a-108b** son fácilmente deducibles de los datos espectroscópicos de ^1H y ^{13}C RMN y de su espectrometría de masas. Así, en la tabla del Anexo I que refleja los desplazamientos químicos de hidrógeno tanto para el compuesto de partida, ácido maslínico **2**, como para los derivados sintetizados, se observa la aparición de la señal correspondiente al protón del nuevo grupo amido entre 7.01 y 7.76 ppm en forma de doblete o doble doblete dependiendo del sustituyente del carbono adyacente. Además, para el caso de los compuestos **103a-108a**, se aprecia la aparición de la señal asociada al metilo singlete del metoxilo a desplazamientos aproximados de δ 3.60, excepto para el compuesto **106a** ya que en este caso se forma el ester etílico y entonces se observa dos señales a δ 4.02 (2H, q, $J = 7.1$ Hz) y 1.19 (3H, d, $J = 7.1$ Hz).

En cuanto a los espectros de ^{13}C RMN, cabe destacar, además de las nuevas señales correspondientes a los carbonos del aminoácido condensado, el ligero apantallamiento con respecto al ácido maslínico (**2**) de la señal cuaternaria de C-28 como consecuencia de la formación del grupo amido en esta posición.



(i) HOBt, DCC, Et₃N, CH₂Cl₂, t.a., 8h, **103a** (85%), **104a** (90%), **105a** (85%), **106a** (90%), **107a** (95%), **108a** (95%), (ii) NaOH 4M, MeOH/THF, t.a., 24 h, **103b** (90%), **104b** (85%), **105b** (85%), **106b** (90%), **107b** (95%), **108b** (95%).

Figura 2.110. Semisíntesis de derivados en C-28 de ácido maslínico con un solo residuo aminoácido

2.4.3.2. Aproximación a la semisíntesis en fase sólida de derivados de ácido maslínico con distintos aminoácidos

La síntesis en disolución de estos derivados basada en la Química Orgánica tradicional no es eficiente para la síntesis de bibliotecas de compuestos, al necesitar una etapa de purificación en cada paso de síntesis, es por tanto largo y poco eficiente. Por ello se proyecta la semisíntesis del resto de derivados en Fase Sólida. Esta nueva estrategia se basa en hacer el mismo tipo de reacciones llevadas a cabo anteriormente pero ahora sobre un polímero insoluble, a través de una metodología parecida a la anterior pero mucho menos tediosa al realizar las purificaciones en cada caso mediante una simple filtración. Esta metodología nos va a permitir

reducir el tiempo de síntesis, se puede automatizar y por tanto posibilita sintetizar bibliotecas de compuestos de una manera más rápida.

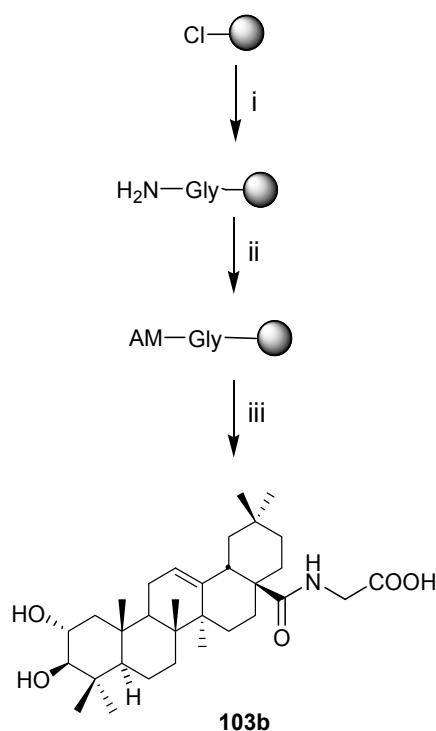
En principio, para poder realizar la síntesis de los distintos derivados se tiene que elegir el soporte polimérico sobre el que se van a desarrollar los distintos acoplamientos. La elección del polímero se realiza teniendo en cuenta que la liberación debe dar lugar en la posición C-terminal del aminoácido a una función carboxílica y además, que las condiciones de esta etapa deben ser lo suficientemente suaves como para que ácido maslínico no se vea afectado, ya se ha comprobado anteriormente que los triterpenos pentacíclicos bajo estudio son altamente inestables bajo condiciones fuertemente ácidas (ver apartado 2.4.2.3). Por todo esto, la resina de Barlos es la óptima, ya que nos permite obtener el extremo en forma de ácido y las condiciones de desanclaje de la resina ya se han comprobado que no afectan a este triterpeno. Además, como ya se ha comentado, en esta resina apenas existe riesgo de epimerización durante la incorporación del primer aminoácido y se minimiza la formación de DKPs. Por último, los aminoácidos que se incorporen a ácido maslínico se protegerán en su extremo N-terminal con el grupo Fmoc, que se eliminará concluido el acoplamiento con tratamientos de piperidina-DMF antes de la incorporación del nuevo aminoácido

Para una primera aproximación que permita la optimización de distintos parámetros se lleva a cabo la síntesis de varios derivados con distintos aminoácidos tanto de tipo α como de cadena larga en el que el extremo se encuentra ocupado por la glicina.

Como primer paso se solvata adecuadamente la resina con CH_2Cl_2 durante 30 min. Al contrario que en los análogos sintetizados de KF, en este caso se mantiene la funcionalización inicial de la resina (1.27 mmol/g resina). La incorporación del primer aminoácido se lleva a cabo utilizando Fmoc-Gly-OH (2 eq), DIEA (10 eq) en CH_2Cl_2 durante 1.5 h. Transcurrido este tiempo se añade MeOH para inhabilitar los centros activos que no hayan sido ocupados y no conlleven reacciones secundarias.

Una vez desprotegido el primer aminoácido convenientemente con piperidina, se divide la resina en dos porciones (1/3 y 2/3) mediante alicuotación con micropipeta en DMF para realizar sobre las distintas porciones diferentes acoplamientos.

Por un lado, a la porción más pequeña se incorpora el ácido maslínico, **2**, en las condiciones optimizadas en la síntesis de los análogos de KF (PyAOP-HOAt-DIEA) obteniéndose de nuevo el compuesto **103b**, pero ahora utilizando la metodología de fase sólida. La finalización del acoplamiento se verifica mediante el test de Kaiser.



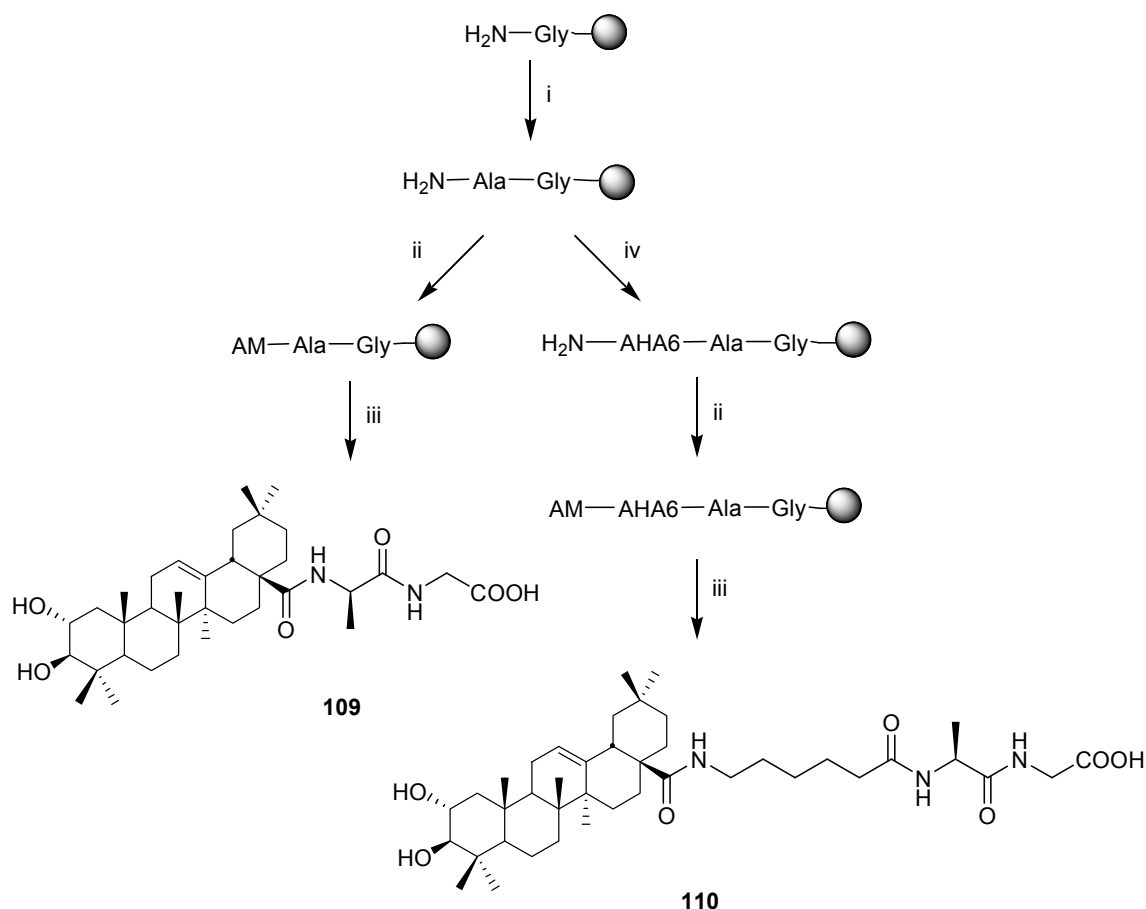
(i) a. Fmoc-Gly-OH, DIEA, CH_2Cl_2 , t.a., 1.5 h; b. MeOH; c. piperidina-DMF (1:4) (1 x 1 min, 2 x 10 min); (ii) AM, PyAOP, HOAt, DIEA, DMF, t.a., 24 h; (iii) TFA 1% en DCM

Figura 2.111. Formación de **103b** en fase sólida

La otra porción se trata con una mezcla formada por Fmoc-Ala-OH (4 eq), HOBT (4 eq) y DIPCDI (4 eq) en 0.7 mL de DMF. Transcurrido 1.5 h el test de ninhidrina da negativo. Una vez desprotegido este aminoácido se vuelve a dividir la resina en dos porciones similares. Así, a una de ellas se le incorpora el ácido maslínico obteniéndose un derivado de **2** con dos α -aminoácidos (glicina y alanina) a través del grupo carboxilo de C-28, compuesto **109**.

En cuanto a las características espectroscópicas del compuesto **109**, cabe destacar que su espectrometría de masas ofrece un pico molecular $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 623 que se corresponde con la fórmula molecular $\text{C}_{35}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_6$ y con la estructura propuesta. Por otro lado, en su espectro de ^1H RMN aparece un nuevo doblete a δ 7.25 (1H, $J=7.0$ Hz) asociado al protón del grupo amido que ahora se sitúa en C-28, y un doblete a δ 8.05 (1H, $J_1=J_2=5.6$ Hz) que pertenece al protón del grupo amido de glicina. Otras señales a destacar en este espectro son las correspondientes al protón de la alanina a 4.20 ppm (1H, dd, $J_1=J_2=7.0$ Hz), al metileno de glicina δ 3.78 (2H, dd, $J_1=5.6$ Hz, $J_2=17.3$ Hz) y al metilo de la cadena lateral de alanina 1.22 (3H, d, $J=6.9$ Hz). Por último, en el espectro de ^{13}C RMN aparecen dos nuevas señales de tipo carbonilo a δ 172.45 y 170.84 asociadas con los aminoácidos introducidos. Igualmente, se

pueden observar un metino y un metileno a δ 47.78 y 40.47 que se corresponden con los carbonos unidos al nitrógeno en alanina y glicina, respectivamente.



(i) a. Fmoc-Ala-OH, HOBt-DIPCDI, DMF, t.a., 1.5 h; b. piperidina-DMF (1:4); (ii) AM, PyAOP, HOAt, DIEA, DMF, t.a., 24 h; (iii) TFA 1% en DCM; (iv) a. Fmoc-6AHA-OH, HOBt, DIPCDI, DMF, t.a., 1.5 h; b. piperidina-DMF.

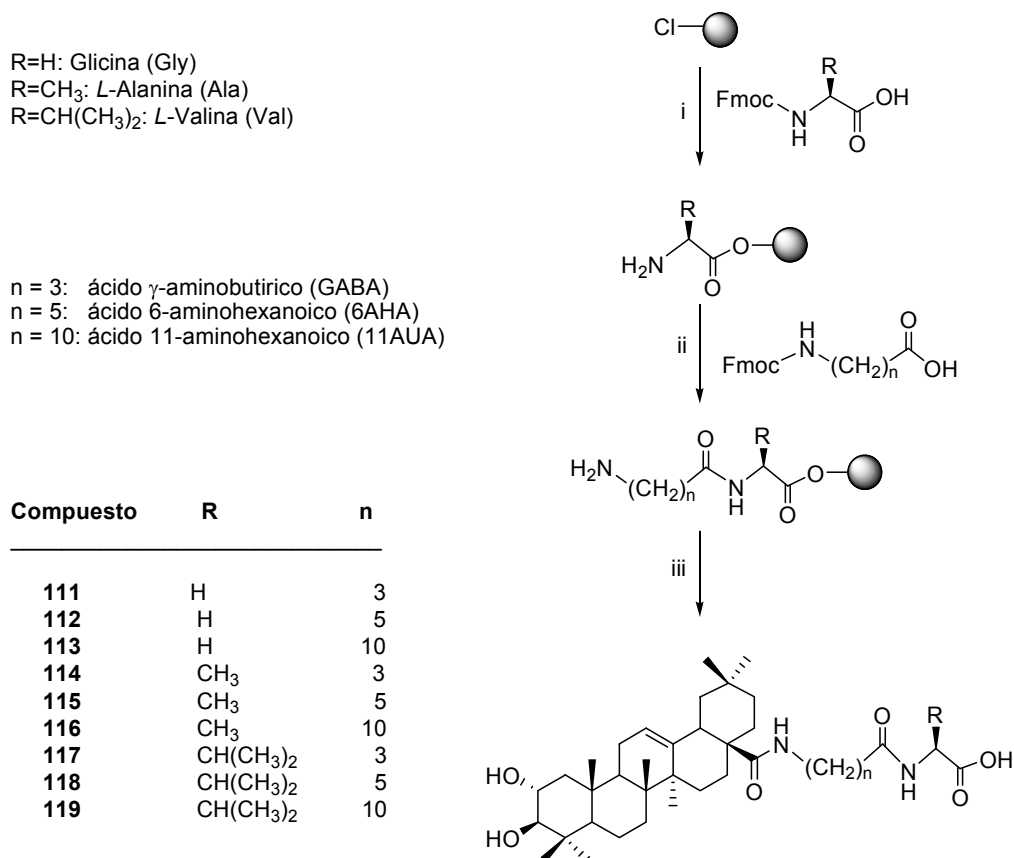
Figura 2.112. Formación de los compuestos **109** y **110** en fase sólida

A la otra fracción de resina clorotritilo con glicina y alanina se le incorpora ahora un ω -aminoácido, ácido 6-aminohexanoico, con su grupo amino protegido adecuadamente, empleando los mismos agentes acoplantes y en las mismas proporciones que en casos anteriores. A continuación se agrega de nuevo, en las condiciones detalladas, el ácido maslínico para obtener el compuesto **110**.

El compuesto **110** presenta un EMAR que ofrece un peso molecular de 713 u.m.a. correspondiente con la fórmula $\text{C}_{41}\text{H}_{67}\text{N}_3\text{O}_7$. Mientras, su espectro de ^1H RMN señala que, efectivamente, la estructura posee tres nitrógenos cuyos hidrógenos se localizan a δ 8.11 (1H, dd, $J_1=J_2=5.8$ Hz), 7.95 (1H, d, $J=7.8$ Hz) y 7.21 (1H, dd, $J_1=J_2=5.1$ Hz). Los carbonos

adyacentes a estos grupos se encuentran en el espectro de ^{13}C RMN a δ 47.61 (CH), 40.46 (CH₂) y 34.99 (CH₂); y los carbonilos correspondientes de las amidas a 175.91, 172.45 y 171.71 ppm.

2.4.3.3. Semisíntesis en fase sólida de derivados del ácido maslínico con α - y ω -aminoácidos



(i) a. DIEA, DMF, t.a., 1 h; b. piperidina-DMF (1:4); (ii) a. HOBt, DIPCDI, DMF, t.a., 1.5 h; b. piperidina 20% en DMF; (iii) a. AM, PyAOP, HOAt, DIEA, DMF, t.a., 24 h; b. TFA 1% en DCM;

Figura 2.113. Formación de los derivados 111-119

El proceso semisintético empieza por el acoplamiento de α -aminoácidos (glicina, alalina y valina) a distintas porciones de resina a través del grupo carboxílico siguiendo la metodología descrita en los procedimientos generales. Se desprotege entonces el grupo protector temporal de la función amina mediante lavados de la resina con piperidina y se divide la resina en tres partes iguales mediante alicuotación con micropipeta en DMF. Después se agregan a cada una de las fracciones distintos ω -aminoácidos, que difieren en la longitud de su cadena, utilizando como agentes acoplantes la mezcla HOBt-DIPCDI. Por último y tras eliminar el protector temporal del grupo amino, se incorpora el ácido maslínico en las condiciones detalladas anteriormente,

quedando unido al residuo polimérico a través de C-28 mediante un enlace amida con los aminoácidos detallados.

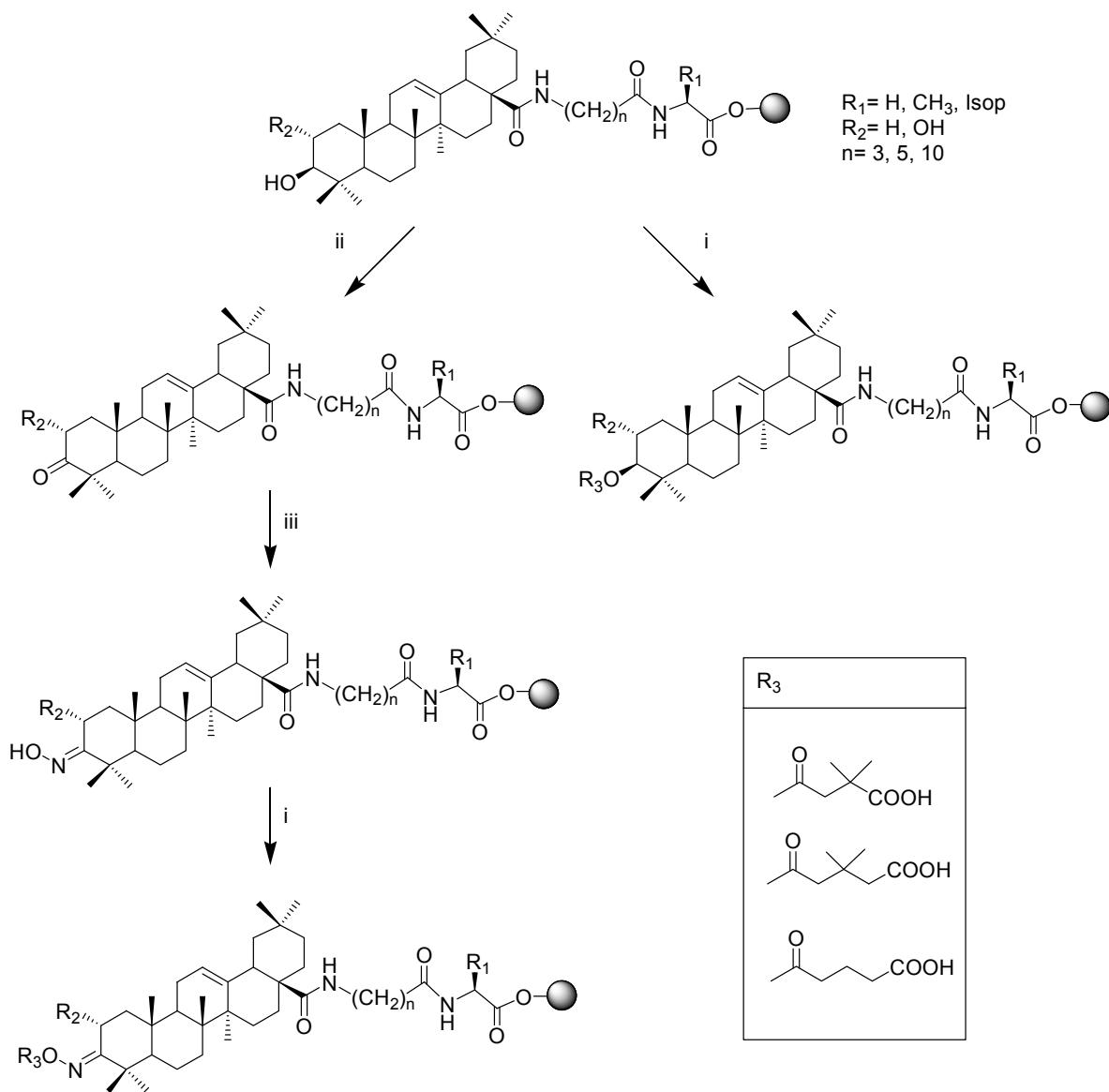
Los derivados obtenidos tras la liberación de la resina clorotritilo son caracterizados mediante HRMS, ^1H y ^{13}C RMN. En las tablas del Anexo I y II se pueden observar de forma comparativa los desplazamientos químicos más significativos de estos compuestos. En todos ellos se aprecia que se mantienen las señales características del ácido maslínico apareciendo nuevas señales siendo las más significativas las correspondientes a los protones del nitrógeno en el espectro de ^1H RMN y en el espectro de ^{13}C RMN los nuevos carbonilos pertenecientes a las amidas formadas.

2.4.3.5. Plan de trabajo a desarrollar

El siguiente punto de diversidad sería 3 β -OH, para ello se sintetizarán distintos derivados acilados sobre el grupo hidroxilo de C-3 por tratamiento con el correspondiente anhídrido y piridina. También se puede llevar a cabo la oxidación para dar lugar a derivados 3-oxo que por tratamiento con hidroxilamina conduciría a oximas. Estas últimas pueden a su vez sufrir también procesos de esterificación con los apropiados anhídridos (Fig. 2.114). Los intermedios enlazados a la resina y los productos finales se liberarán de la forma acostumbrada (1% TFA en DCM).

En este mismo sentido, se pretende llevar a cabo el estudio sobre el ácido oleanólico con el fin de profundizar más en el modo de acción de este tipo de productos, comprobándose de este modo la influencia del hidroxilo α de C-2 en las distintas actividades a testar.

Hay que reseñar que el planteamiento inicial propuesto para la obtención de los derivados por modificación tanto en el anillo A como en C-28 se puede completar posteriormente una vez analizados de forma comparativa los resultados de los ensayos biológicos. Así, se obtendrá más información sobre las relaciones entre la estructura-actividad con el fin de desarrollar compuestos con mayor potencial terapéutico que el producto natural y aprovechar de forma satisfactoria el potencial de estos productos obtenidos de los residuos de la aceituna.



(i) anhídrido, py; (ii) PDC, DMF; (iii) $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$

Figura 2.114. Plan de trabajo a desarrollar

2.4 ACTIVIDADES Y APLICACIONES DE ÁCIDO MASLÍNICO

ENSAYOS BIOLÓGICOS DE DERIVADOS DE AM Y AO

2.5.1 ACTIVIDADES Y APLICACIONES DE ÁCIDO MASLÍNICO

Una prueba del interés que suscita el ácido maslínico en cuanto a sus propiedades biológicas y aplicaciones viene dada por la multitud de colaboraciones con otros centros de investigación que se han llevado a cabo para desarrollar distintos estudios que han dado lugar a diferentes patentes y artículos de relevancia. A continuación se exponen algunos de estos estudios con los resultados más prometedores.

2.5.1.1 Estudio de toxicidad potencial de ácido maslínico

Los estudios de toxicidad constituyen hoy día una parte muy importante dentro del desarrollo de fármacos nuevos y de la mayor parte de las sustancias químicas industriales (pesticidas, agroquímicos, cosméticos, plásticos, etc.) y se extienden prácticamente a lo largo de él. El objetivo es evaluar el riesgo o peligro potencial que estas sustancias pueden ocasionar sobre la salud humana cuando es objeto de exposiciones agudas o crónicas.

El estudio de toxicidad del ácido maslínico en animales de experimentación se ha llevado a cabo sobre ratas machos y hembras debidamente catalogadas y controladas por los científicos de la Unidad Experimental del Servicio de Producción y Experimentación Animal del

Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada. Los experimentos desarrollados han estudiado las toxicidades agudas y sub-aguda con dosis crecientes de ácido maslínico por vía oral mediante inyección de una disolución de la sustancia en aceite de soja durante 15 días. A continuación, se analizan datos de consumo y crecimiento, parámetros bioquímicos y sanguíneos, y se hace un examen anatomopatológico de los animales. De igual manera se estudia la toxicidad sub-crónica durante 90 días aportando el ácido maslínico aditivado a la dieta convenientemente molido. Se analizan los mismos datos anteriores y se llevan a cabo sobre los animales idénticos ensayos.

De estos estudios se concluyen las siguientes afirmaciones sobre la toxicidad del ácido maslínico:

- No existen signos de morbilidad ni mortalidad en el rango de dosis crecientes suministradas en toxicidad crónica y sub-crónica, lo que evita tener que repetir ensayos y permite pasar a hacer los ensayos de toxicidad subcrónica y crónica.
- En las dosis ensayadas, el ácido maslínico no produce signos de toxicidad, ni lesiones aparentes, ni diferencias en los crecimientos, ni otras alteraciones orgánicas.
- En los ensayos de toxicidad sub-crónica tampoco se han observado alteraciones morfológicas relevantes ni parámetros bioquímicos anómalos, no existiendo, en general, signos de toxicidad aparente.

Actualmente, se están realizando los ensayos de toxicidad crónica, que se llevan a cabo durante dos años para afianzar los resultados obtenidos y poder estudiar otros parámetros, como el consumo de alimento, que a corto o medio plazo son poco indicativos.

2.5.1.2 Actuación de AM como parasitostático

Se ha comprobado que el ácido maslínico impide la reproducción de parásitos protozoarios de la familia de *Phyllum apicomplexa*.²⁴⁵ Concretamente se ha trabajado *in vitro* con cuatro géneros diferentes, a saber:

- *Cryptosporidium*
- *Eimeria* (Coccidiosis, también *in vivo*)
- *Toxoplasma*
- *Plasmodium* (Malaria, también *in vivo*)

²⁴⁵Utilización de ácido maslínico como antiparasitario frente a protozoos del *Phyllum apicomplexa* **WO 2007034009**



Figura 2.115. Aspecto de intestino delgado en los distintos ensayos (nivel de necropsia)

Las experiencias se han llevado a cabo en colaboración con el Departamento de Parasitología de la Universidad de Granada. Un ejemplo de estas experiencias es el estudio realizado sobre pollos infectados con *Eimeria acerlubina* empleando el ácido maslínico como coccidiostático y promotor de crecimiento frente a otros antibióticos coccidiostáticos y promotores del crecimiento comerciales, sacox y avatec. Se han encontrado resultados muy positivos en esta experiencia en cuanto a salud (con mayor o menor necropsia en el intestino delgado) y grado de infección de los animales que se indican en la Fig. 2.115 y tabla 2.14. Es fácilmente destacable en las imágenes (Fig. 2.115) la disminución de nivel de necropsia desde el control hasta el ensayo en el que se utiliza como aditivo ácido maslínico.

Tabla 2.14. Distintos factores controlados en el experimento de *Eimeria acerlubina*

Composición	Ooquistes	Fases	Lesiones	Lesiones	Reducción
Premezcla-principio activo	en heces	gaméticas	I. delgado	ciego	parasitosis
control	6500	positivo	nivel 4	nivel 1/2	0%
sacox 500- 60 ppm	2890	positivo	nivel 3	nivel 1	55,53%
maslinolive 85 100-85 ppm	295	negativo	nivel 1	nivel 1	95,46%
proterpenolive 6512 125-65 ppm	2000	positivo	nivel 2	nivel 1	69,29%

2.5.1.3 Ácido maslínico como agente Anti-VIH

Al igual que el ácido oleanólico (apartado 1.1.4), el ácido maslínico posee una potente actividad inhibidora *in vitro* de la proteasa del virus del SIDA²⁴⁶ y actividad antiviral (anti-HSV).²⁴⁷ Se ha comprobado, además, que esta actividad es más potente en este ácido que en otros triterpenos como ácido ursólico, ácido epipomólico, ácido euscáfico y ácido torméntico. Así, en los últimos años, este triterpeno pentacíclico aislado, purificado y caracterizado por nuestro Grupo de Investigación ha sido objeto de pruebas de actividad biológica sobre parásitos oportunistas asociados al SIDA (*Cryptosporidium*, *Toxoplasma*, *Trypanosoma Cruzi*, *Leshmania Donovanii*) en el Departamento de Parasitología de la Universidad de Granada. Del mismo modo, en el Instituto Carlos III del Ministerio de Sanidad y Consumo se han realizado ensayos para su utilización como inhibidor de proteasas en el tratamiento del SIDA. Los resultados de estas pruebas de actividad biológica se recogen en dos nuevas patentes de la Universidad de Granada.²⁴⁸ Dichos resultados son muy prometedores y suponen una sólida base de acción biológica, ya que han demostrado que estos productos no sólo actúan *in vitro* a nivel de enzima, sino que son capaces de penetrar en la célula, impidiendo la acción que el virus del SIDA utiliza para su salida de la célula infectada en su camino hacia el ataque de nuevas células. En consecuencia la actuación de ácido maslínico consiste en ralentizar de forma muy significativa la propagación del SIDA y ayudar a una mayor calidad de vida del enfermo.

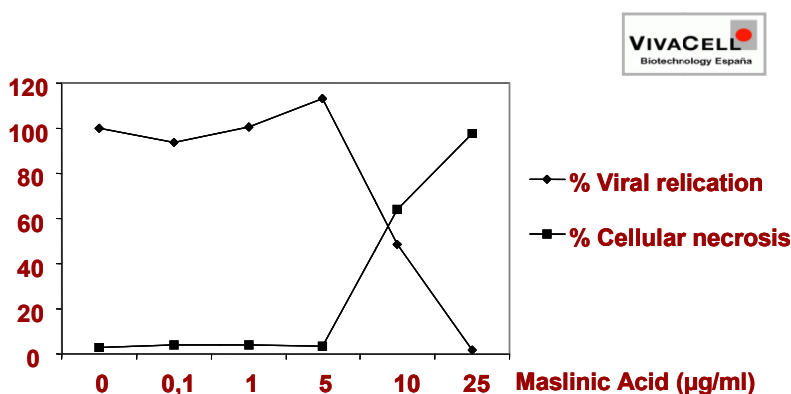


Figura 2.116. Efecto de AM sobre la replicación viral de VIH-1 en células Jurkat

En estudios muy recientes Vivacell Biotechnology ha trabajado con un modelo denominado de infección VSV-Luciferasa para estudiar si además de inhibir la proteasa del VIH

²⁴⁶ Xu, H. X.; Zeng, F. Q.; Wan, M.; Sim, K. Y. *J. Nat. Prod.* **1996**, 59, 643.

²⁴⁷ Serra, C.; Lampis, G.; Pompei, R.; Pinza, M. *Pharmacol Res.* **1994**, 29, 359.

²⁴⁸ Utilización de ácido maslínico como inhibidor de serín proteasas para el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos de género *Cryptosporidium* P9701029; Utilización de ácido maslínico como inhibidor de proteasas para el tratamiento de la enfermedad causada por los virus de inmunodeficiencia adquirida. P9702528.

también ejerce alguna actividad en las fases de retrotranscripción del virus. Para ello se han realizado experimentos sobre células Jurkat con virus VIH-1 pseudotipados.

En la Fig. 2.116 se puede comprobar cómo a partir de una determinada concentración de ácido maslínico la replicación viral disminuye ostensiblemente. Además, el estudio de citotoxicidad en paralelo también reveló que se aumenta su potencial citotóxico en presencia del virus.

2.5.1.4 Ácido maslínico como anti-inflamatorio

Además, de los mecanismos inflamatorios mencionados en el apartado 1.1.4, se ha comprobado que en muchos procesos inflamatorios se produce un aumento de la elastasa de neutrófilos, una enzima proteolítica que escinde enlaces adyacentes a aminoácidos neutros en la elastina y sobre la que actúa normalmente como inhibidor natural la α -1-antitripsina (α 1PI). Si el nivel de α 1PI baja por cualquier razón en el organismo, se producen procesos inflamatorios como bronquitis, fibrosis quística, asma, ect. El ácido maslínico se presenta como un potente inhibidor de este enzima actuando con muy buena eficiencia en muchos trastornos inflamatorios.²⁴⁹

De hecho, nuevos ensayos se están desarrollando en Vivacell Biotechnology sobre el efecto del ácido maslínico en citoquinas pro-inflamatorias IL-1 β , IL-6 y TNF α , así como sobre el mediador pro-inflamatorio PGE₂ en monocitos primarios.

2.5.1.5 Aplicación de AM como aditivo alimentario animal

Para el caso concreto de la aplicación del ácido maslínico a la alimentación animal se han obtenido resultados destacables, demostrándose que este triterpeno, como inhibidor de serín-proteasas específicas, puede regular las velocidades de recambio proteico a nivel tisular e influye en las velocidades de crecimiento del animal. Así, la adición de ácido maslínico a la dieta estándar de truchas arco iris ha permitido apreciar un mayor contenido total de proteínas y RNA tanto en hígado como en músculo (Fig. 2.117). Todo ello se refleja en un considerable mayor tamaño/peso de los animales que ha conseguido un incremento de hasta el 29 % en peso en menor tiempo.²⁵⁰

²⁴⁹ *Uso de ácido maslínico y sus derivados para la inhibición de elastasa y para el tratamiento de enfermedades y sintomatologías con ella relacionadas* **P2007008843**

²⁵⁰ (a) Fernandez-Navarro, M.; Peragón, J.; Esteban, F.J.; de la Higuera, M.; Lupiañez, J.A. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* **2006**, *144*, 130. (b) *Ácido maslínico como aditivo alimentario en la producción animal*, **WO 2006003226**, **WO 2006003225** y **P200600536**

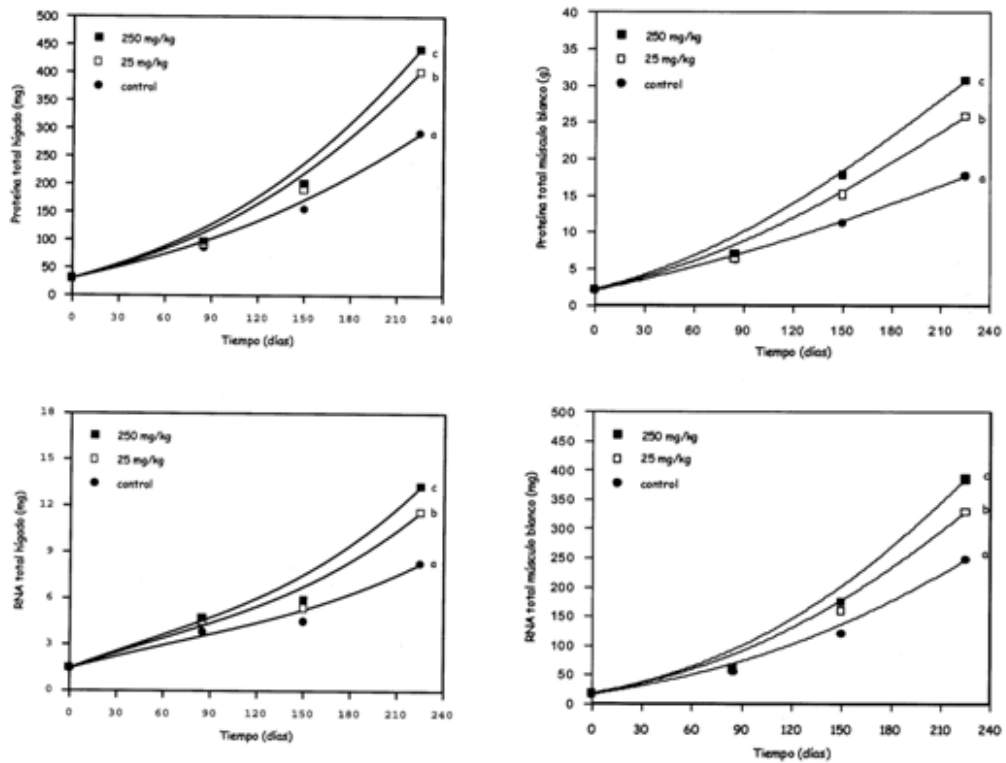


Figura 2.117. Efecto de la adición de AM en la dieta sobre la proteína y RNA tanto de hígado como del músculo blanco



Figura 2.118. Aspecto general de truchas correspondientes al grupo control (abajo) y al grupo con alimentación aditivada con AM (arriba)

Por ello se están desarrollando experiencias similares a las anteriores con doradas, en ellas intervienen los Departamentos de Química Orgánica, Bioquímica y Biología Molecular y

Fisiología Animal de la Universidad de Granada, así como las empresas Biomastlinic y Azucarera del Guadalfeo (División acuicultura). Los resultados se reflejarán próximamente en una nueva Tesis Doctoral. Los primeros datos indican una evolución de pesos medios muy significativa y paralela independientemente del tipo de dieta seguida.

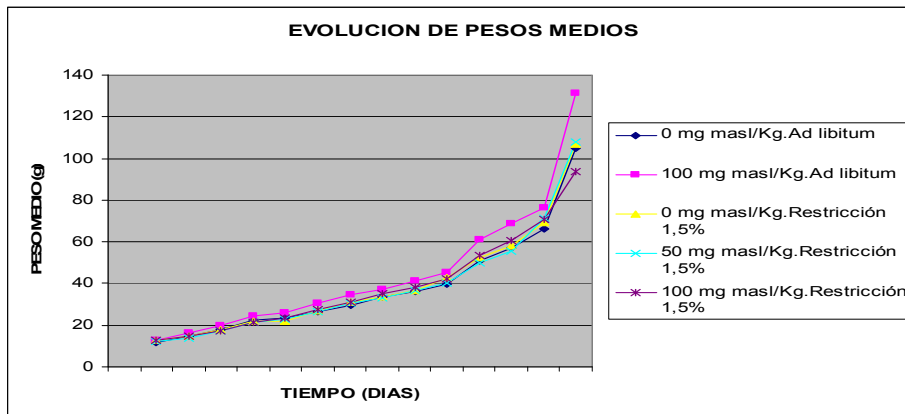


Gráfico 2.1. Evolución de pesos en doradas con distinto tipo de alimentación

Otras experiencias realizadas se están desarrollando sobre pollos (broilers) con el fin de seguir estudiando su aplicación en producción animal como coccidiostático (antes comentada) y aumento del índice de conversión. En estas experiencias intervienen los Departamentos de Química Orgánica y Parasitología de la Universidad de Granada así como las empresas Biomastlinic, I+D Agropecuaria S.L., Real Escuela de Avicultura de Cataluña y Clinobs S.L. Se analizan diferentes parámetros bioquímicos, la ganancia media de peso, la ingesta diaria, el número de bajas, etc. Concluyendo de un primer análisis de los datos obtenidos que los animales aditivados presentan un considerable mayor índice de conversión que repercute positivamente en los demás factores analizados.

Por otro lado, se han desarrollado experiencias en lechones en granja a pequeña escala que han manifestado resultados muy prometedores. En estas trabajos iniciales intervinieron además de los departamentos antes indicados, la OTRI de la Universidad de Granada, el Departamento de Sanidad Animal del Facultad de Veterinaria de la Universidad de León y las empresas Biomastlinic, S. L., Pig Champ Pro Europa y Clinobs S.L. Posteriormente, se ha reproducido los ensayos a granja real completa en la empresa Garla S.L. de Huércal-Overa (Almería) con la participación del Excmo. Ayuntamiento y la Oficina Comarcal Agraria (OCA) de esta localidad almeriense. Los resultados obtenidos después de cuatro meses son realmente muy satisfactorios en lo referente a:

- Menor consumo de pienso
- Menor gasto médico

- Mayor índice de supervivencia (menos bajas)
- Mayor homogeneidad de los animales (menos colas)
- Menor tiempo de ocupación de granja
- Menor dedicación en el tratamiento y reclasificación de animales

2.5.1.6 Obtención de aceites funcionales y nutraceuticos

Conocidos los contenidos iniciales en ácido maslínico de los aceites naturales, se tienen proyectos inmediatos para obtener aceites recargados en esta sustancia que posean concentraciones similares y que actúen como alimentos funcionales. De igual manera se plantea la obtención de cápsulas oleosas (nutracéutico) con alto contenido en ácido maslínico y hidroxitirosol, antioxidante procedente de la misma fuente, para su ingestión directa.²⁵¹

2.5.1.7 Aplicación en cosmética

Otra de las aplicaciones de éste ácido que ha da lugar a otra patente se centra en la formulación de estos triterpenos naturales y/o sus sales en liposomas. Los triterpenos son incorporados a los liposomas, vesículas esféricas obtenidas por la interacción de fosfolípidos que se utilizan como vehículos transportadores de sustancias para la administración tópica y parenteral.²⁵² Estos triterpenos son extremadamente hidrofóbicos y se asocian inmediatamente a la parte hidrofóbica de los fosfolípidos con lo que su incorporación es sencilla e inmediata.

2.5.2 ENSAYOS BIOLÓGICOS DE DERIVADOS DE AM Y AO

Con los distintos derivados del ácido oleanólico (1) y ácido maslínico (2) obtenidos a lo largo del desarrollo de la presente Tesis se han llevado a cabo distintos estudios frente a diferentes líneas celulares de varios carcinomas. De este modo, se pretende comprobar cómo las modificaciones químicas, realizadas en fase disolución o fase sólida, varían las propiedades naturales de estos compuestos. Esto permitirá, además, obtener información sobre el modo de interacción de estos terpenoides con los receptores específicos y sobre los grupos funcionales necesarios para que tenga lugar dicha interacción.

²⁵¹ (a) *Composición nutraceutica obtenida de triterpenos naturales de la olea europaea* **P200502087**. (b) *Alimento funcional obtenido por reincorporación de ingredientes naturales de la aceituna al aceite de oliva* **P200700555**

²⁵² *Formulación de triterpenos naturales obtenidos del genero Olea en liposomas* **WO 2007020314**

2.5.2.1 Viabilidad celular y estudio del mecanismo de muerte celular de derivados de ácido oleanólico y ácido maslínico sobre la línea tumoral de melanoma murino B16-F10.

El principal objetivo de este bloque experimental ha sido estudiar el efecto del ácido maslínico, concretamente su sal sódica, sobre una línea tumoral de melanoma murino B-16. Con la idea de confirmar el efecto citotóxico o apoptótico del MA sobre esta línea celular se han desarrollado experimentos utilizando el marcaje con yoduro de propidio (PI) y anexina-V, y analizando las muestras tras el tratamiento con la sal sódica del ácido maslínico por citometría de flujo en el servicio de citometría de flujo del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada.

En los organismos pluricelulares existen dos grandes mecanismos que conducen a la muerte celular. La necrosis es un proceso de muerte celular pasiva traumática donde se produce la liberación del contenido citoplasmático y nuclear en el medio intercelular, apareciendo una respuesta inflamatoria. Por el contrario la apoptosis es un proceso en el que tras una sucesión de reacciones en cascada se acaba con la eliminación de la célula sin producción de respuesta inmunológica y sin interferir en el normal transcurso del tejido. La apoptosis, a diferencia de la necrosis, es un proceso celular activo controlado genéticamente. Se caracteriza por la presencia de cuerpos apoptóticos, posteriormente fagocitados por los macrófagos, que evitan la liberación del contenido celular y la activación de una respuesta inflamatoria.²⁵³ Además, la apoptosis es un programa de muerte celular ordenado que se define morfológicamente por cambios en la membrana plasmática, como la traslocación de las fosfatidilserina de la cara interna a la externa, picnosis (condensación de la cromatina), la fragmentación del DNA intranucleosomal, y la formación de cuerpos apoptóticos como resultado de la desintegración celular.²⁵⁴

La tinción con yoduro de propidio y Anexina-V permite diferenciar las células apoptóticas, necróticas y las no afectadas utilizando un microscopio de fluorescencia, que se cuantifican mediante citometría de flujo.

Ya se ha comentado anteriormente que durante las fases iniciales de la apoptosis se producen cambios en la superficie celular. Uno de éstos es la alteración de la membrana plasmática, donde se produce una traslocación de la fosfatidilserina de la cara interna a la cara externa de la membrana. La anexina-V es una proteína dependiente de Ca^{2+} que une fosfolípidos cargados negativamente, con alta afinidad a la fosfatidilserina.²⁵⁵ La fosfatidilserina también se encuentra en la cara externa de la membrana de las células necróticas. La Anexina-V se utiliza

²⁵³ Bree, R.T.; Stenson-Cox, C.; Grealy, M.; Byrnes, L.; Gorman, A.M.; Sanali, A. *Biogerontology* **2002**, 3, 195

²⁵⁴ Shinoura, N.; Sakurai, S.; Shibasaki, F.; Asai, A.; Kirino, T.; Hamada, H. *British Journal of Cancer* **2002**, 86, 587.

²⁵⁵ Vermes, I.; Haanen, C.; Steffens-Nakken, H.; Reutelingsperger, C. *J. Immunological Methods* **1995**, 184, 89

para diferenciar las células apoptóticas, durante las fases iniciales del proceso, y necróticas, de las células no afectadas donde la fosfatidilserina se encuentra en la cara interna de la membrana plasmática.

La integridad de la membrana plasmática también se ve comprometida en las células necróticas, de manera que al teñirlas con yoduro de propidio, este puede acceder al núcleo celular y unirse al DNA. La tinción simultánea con yoduro de propidio y Anexina-V permite distinguir las células apoptóticas de las necróticas y de las células no afectadas. Las células viables no presentan translocación de la fosfatidilserina ni rotura de la membrana plasmática y son dobles negativas para la tinción. Las células en fases iniciales de la apoptosis son positivas para la Anexina-V y negativas para el yoduro de propidio, ya que tienen translocada la fosfatidilserina pero mantienen la membrana íntegra. Las células necróticas presentan translocación de la fosfatidilserina y rotura de membrana y, por tanto, son doble positivas para la tinción.

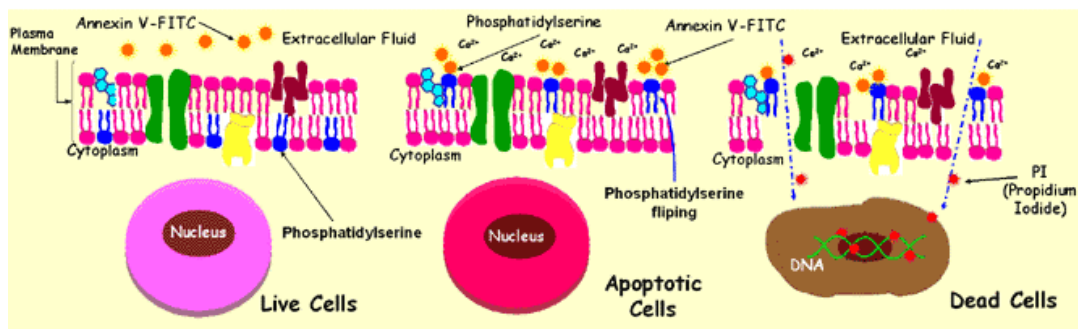


Figura 2.119. Mecanismos de marcaje con anexina y yoduro de propidio sobre distintos tipos de células

2.5.2.1.A Ensayo biológico del maslinato de metilo (MNa)

Siguiendo las premisas descritas anteriormente y mediante citometría de flujo, utilizando anexina-V conjugada con fluoresceína (FITC) junto con yoduro de propidio se estudia el efecto de ácido maslínico sobre el melanoma murino B16-F10. Los porcentajes tanto de células no afectadas como de apoptóticas y necróticas, a distinta concentración y tiempos, obtenidos de estos ensayos nos informan del tipo de mecanismo de muerte celular implicado.

En la Fig. 2.120 se observan los resultados de citometría de flujo para los cultivos *in vitro* del melanoma B16-F10 tanto en los ensayos control, células tumorales sin tratar, como en el tratamiento con distintas disoluciones de MNa (20 y 30 μ M) a tiempos de 24, 48 y 72 horas.

Cada uno de los cuadrantes muestra distinto tipo población de células:

- Cuadrante inferior izquierdo (LL): células no afectadas
- Cuadrante superior izquierdo (UL): células necróticas
- Cuadrante inferior derecho (LR): células apoptóticas
- Cuadrante superior derecho (UR): células muertas (M) y apoptóticas secundarias (A-2)

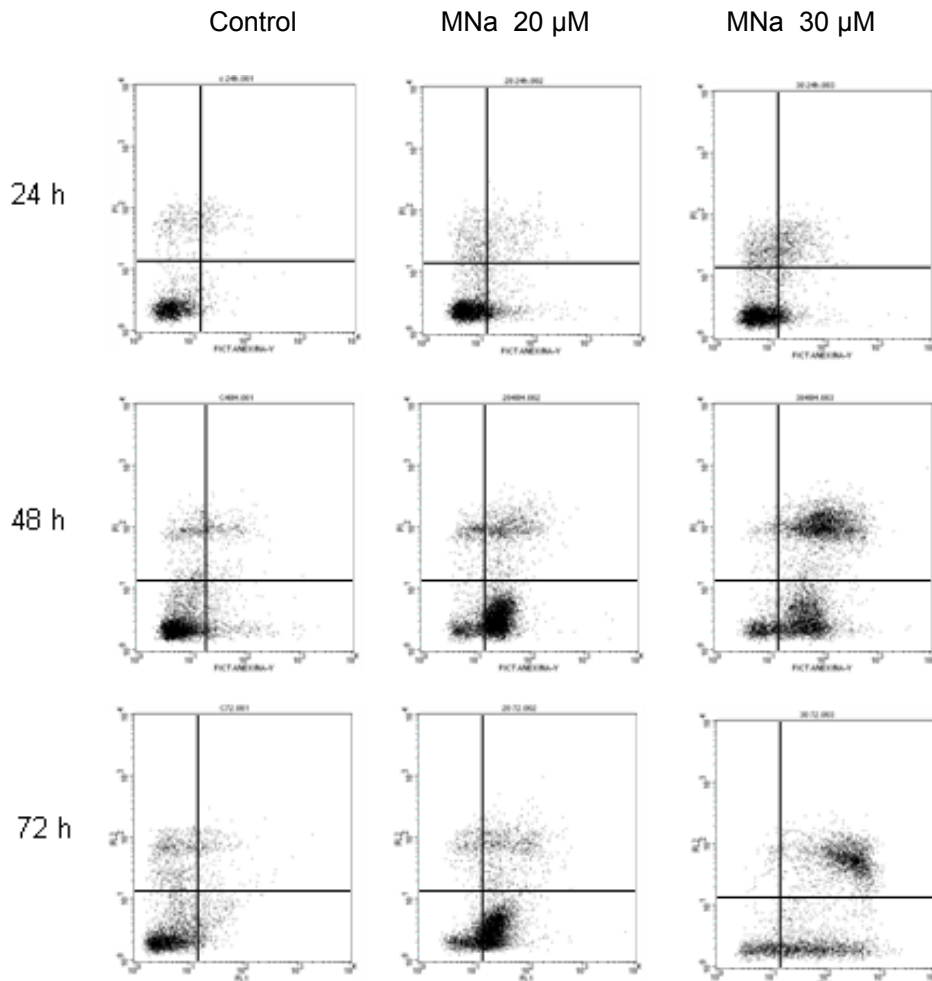


Figura 2.120. Diagramas de doble tinción con Anexina-V y yoduro de propidio de células de melanoma B16-F10 tratadas con MNa

Tanto los resultados de citometría de flujo, donde se aprecia claramente la variación de las poblaciones de los distintos tipos de células en los diferentes ensayos, como los gráficos correspondientes, que muestran de forma más cuantitativa estas proporciones, se observa una inhibición de las células tumorales de manera dosis dependiente. Además, el mecanismo de muerte celular también depende de la concentración a la cual se llevan a cabo los ensayos,

siendo a la concentración de 30 μM donde menos porcentaje de células apoptóticas se observan y a 20 μM donde se aprecia mayor población de este mismo tipo de células. Hay que reseñar de nuevo que la muerte celular por apoptosis es más propicia que la necrosis por la ausencia de procesos inflamatorios y por evitar la producción de una respuesta inmunológica.

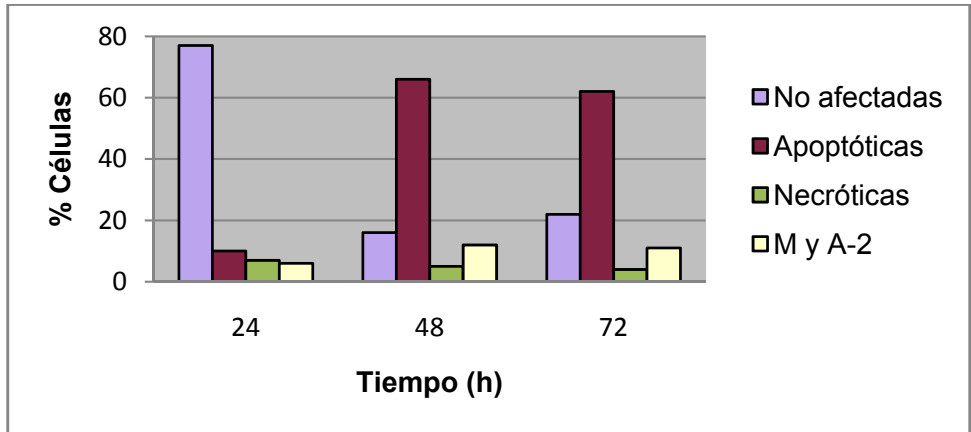


Gráfico 2.2. Porcentaje de las distintas poblaciones celulares a distintos tiempos con 20 μM MNa

Para el tratamiento de las células tumorales con MNa a concentración 20 μM , el porcentaje de células apoptóticas y necróticas permanece prácticamente en la misma proporción en las primeras 24 horas, pero esta relación se desequilibra extraordinariamente a las 48 h donde la población de células afectadas ahora no supera el 22% y las apoptóticas se encuentran en una proporción relativa del 62% (Ver gráfico 2.2).

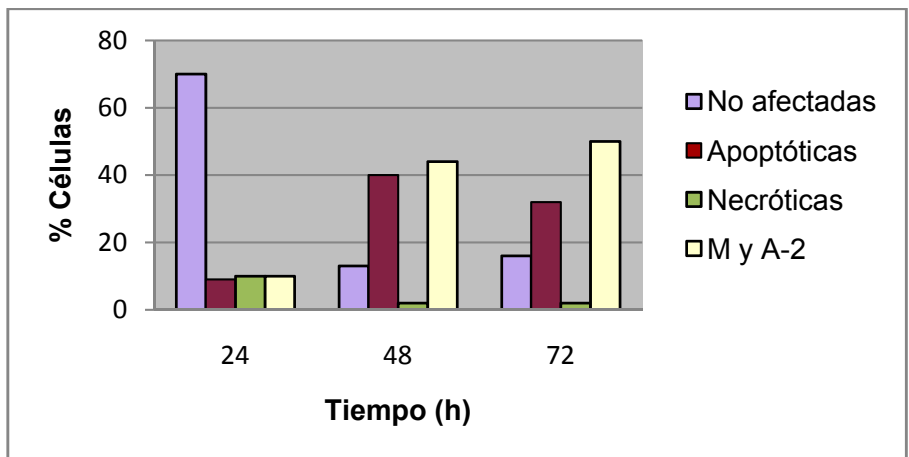


Gráfico 2.3. Porcentaje de las distintas poblaciones celulares a distintos tiempos con 30 μM MNa

Ya hemos comentado que el tratamiento de las células de melanoma con concentraciones de 30 μM de MNa provoca una menor población de células apoptóticas,

aunque al principio del proceso el porcentaje de células apoptóticas y necróticas permanece semejante. Además, hay que puntualizar que a pesar de que el nivel de células apoptóticas es inferior que para los ensayos con concentración de 20 μM , la relación de células no afectadas es ligeramente inferior en estas condiciones.

Por otro lado, actualmente se está trabajando con el ácido maslínico en diferentes centros sobre otras líneas tumorales derivadas de distintos cánceres humanos con resultados iniciales muy esperanzadores. Destacan las líneas derivadas de carcinoma de mama (T74D y MCF-7), de carcinoma gástrico (AGS), de carcinoma de pulmón (A-549), de una leucemia T de adulto (línea Jurkat), de eritroleucemia BCR-ABL (línea K562), altamente resistente a la apoptosis. En estos experimentos, además de la proliferación celular y citotoxicidad inducida de AM, se pretende obtener información sobre el mecanismo de acción tumoral.

2.5.2.1.B Ensayos biológicos de los derivados 9, 13, 23, 25, 103b, 109 y 110

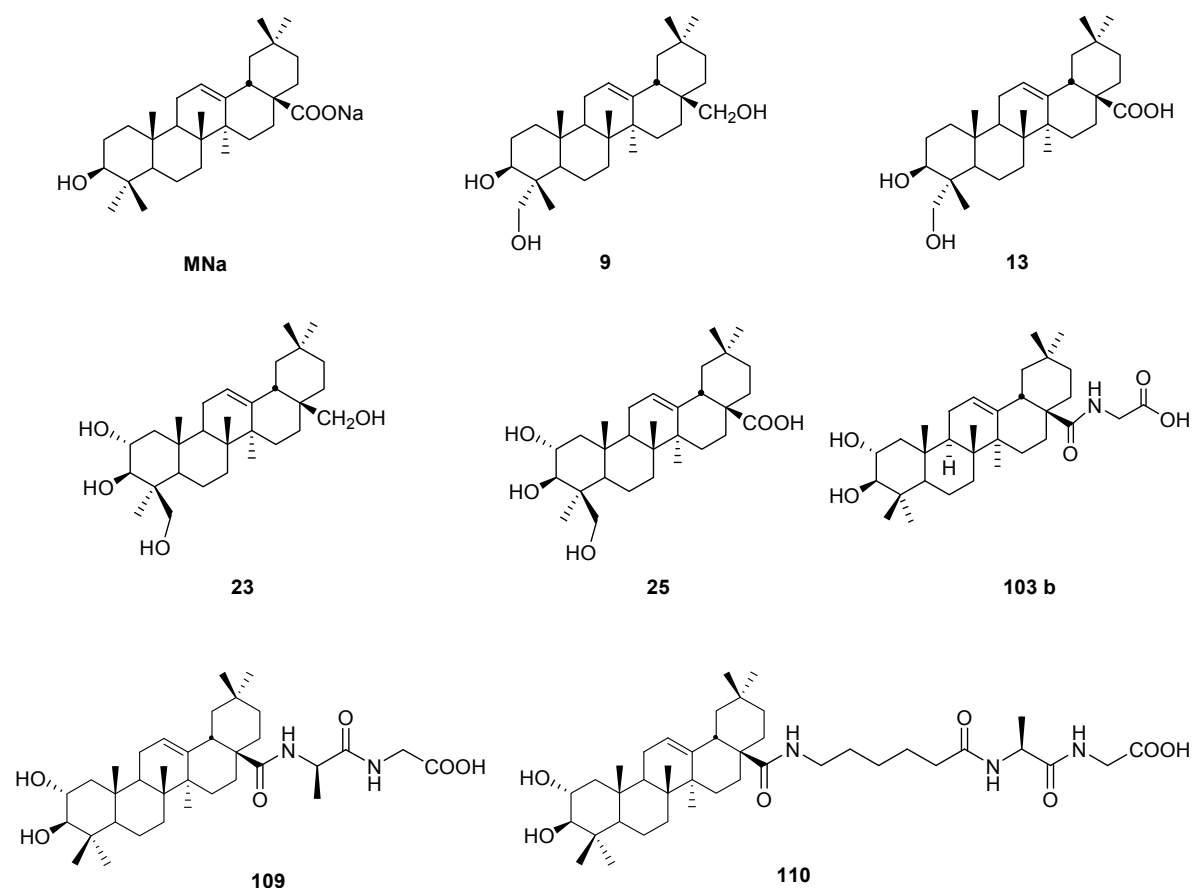


Figura 2.121. Estructuras de los compuestos *MNa*, *9*, *13*, *23*, *25*, *103b*, *109* y *110* bajo ensayo biológico

Se ha iniciado el estudio de la viabilidad celular de melanoma murino B16-F10 sobre algunos de los derivados obtenidos a lo largo de la presente Memoria, **9**, **13**, **23**, **25**, **103b**, **109** y **110**. Los tres primeros compuestos corresponden a derivados obtenidos por funcionalización del *gem*-dimetilo de C-4 (apartado 2.2), mientras el resto pertenecen a derivados del ácido maslínico con distintos aminoácidos en C-28 obtenidos por fase sólida (apartado 2.4.3).

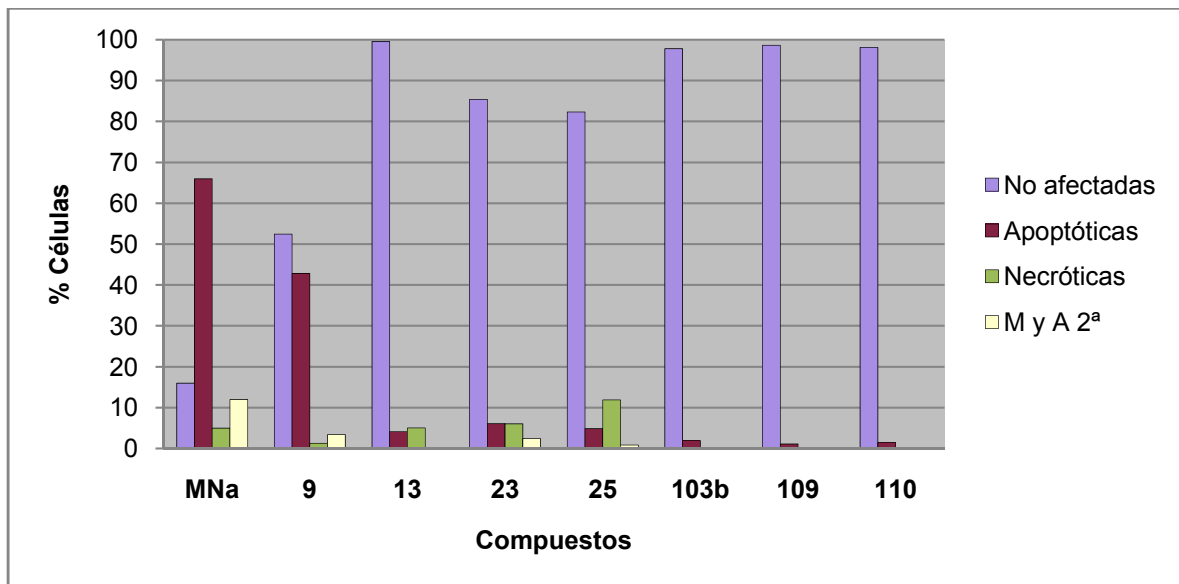


Gráfico 2.4. Porcentaje de las distintas poblaciones celulares a 48 h con 20 µM

Los patrones de doble tinción obtenidos por citometría de flujo para estos compuestos permiten comparar los datos con los obtenidos previamente para la sal sódica (gráfico 2.4) donde se puede diferenciar claramente que la inhibición de células de melanoma se da prácticamente sólo para el compuesto **9**, mientras en el resto de compuestos la población de células no afectadas no baja de 85 % aproximadamente. Además, se comprueba que el mecanismo de muerte celular para el ensayo del compuesto **9** se da principalmente por apoptosis, ya que apenas se observa porcentaje de células muertas por necrosis.

Por último, si se comparan los datos de la sal sódica del ácido maslínico con los obtenidos para los compuestos que poseen aminoácidos en C-28 (**103b**, **109** y **110**), se comprueba fácilmente la disminución del efecto de estos compuestos sobre las células tumorales. A pesar de que estos primeros resultados no son satisfactorios, se está desarrollando el estudio de viabilidad celular del resto de compuestos obtenidos, con esta misma línea celular. Además, se están realizando ya de ensayos sobre serin-proteasas de células infectadas con VIH por el Departamento de Fisiología en Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad

de Córdoba, debido a que según los precedentes bibliográficos, los compuestos derivados de acoplamiento del ácido maslínico con distintos aminoácidos son más prometedores.

2.5.2.2 Ensayos biológicos de los análogos de KF

Los análogos de Kahalalido F se han obtenido mediante sustitución del ácido alifático del extremo N-terminal por triterpenos pentacíclicos (ácidos oleanólico y maslínico). El ensayo de actividad *in vitro* sobre diferentes líneas tumorales realizado en PharmaMar S. A. aporta información sobre cómo el cambio realizado ha afectado a la actividad original del Kahalalido F.

El ensayo de actividad biológica está basado en la interrupción del crecimiento de células tumorales cultivadas *in vitro* mediante una exposición continua con los productos a testar. Se emplea un ensayo colorimétrico mediante lectura de densidad óptica (OD) para cuantificar el crecimiento de la célula y la curva de viabilidad celular de donde se extraen los parámetros que caracterizan la actividad del compuesto:

- GI₅₀, concentración que inhibe en un 50 % el crecimiento celular;
- TGI, concentración a la que se produce una inhibición total del crecimiento
- LC₅₀, concentración a la que se produce un 50 % de muerte celular.

Estos tres parámetros miden el efecto de inhibición del crecimiento, el efecto citostático y el efecto citotóxico, respectivamente.

Las líneas celulares utilizadas pertenecen a carcinomas humanos de pulmón (A-549) y de colon (HT-29), que proceden de American Type Cultures Collection (ATCC).

Tabla 2.15. Actividades de los análogos y KF natural frente a distintas líneas celulares expresadas en mol/L.

Compuesto	parámetros	HT-29	A-549
KF	GI ₅₀	3,18E-07	9,07E-07
	TGI	6,50E-07	2,05E-06
	LC ₅₀	1,18E-06	4,63E-06
101	GI ₅₀	4,45E-06	5,49E-07
	TGI	4,60E-06	5,49E-07
	LC ₅₀	4,86E-06	5,49E-07
102	GI ₅₀	3,18E-07	1,88E-07
	TGI	6,50E-07	1,88E-07
	LC ₅₀	1,18E-07	1,88E-07

En la gráfica posterior, donde se representa el $-\log(GI_{50})$ de las distintas líneas celulares para los dos análogos y para el producto natural de partida, se pueden apreciar mejor los resultados obtenidos. En líneas generales los análogos presentan actividades ligeramente inferiores comparadas con los patrones de KF natural, siendo las actividades de ambos compuestos sintetizados similares entre sí.

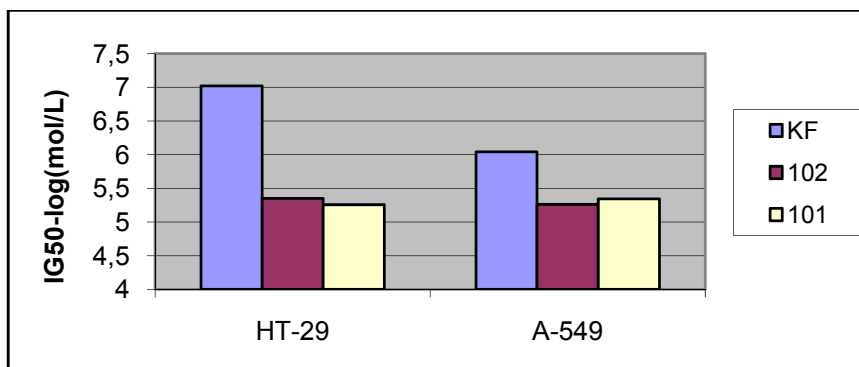


Gráfico 2.5. Actividades de KF natural y los análogos en las diferentes líneas celulares, expresando GI_{50} en $-\log(\text{mol/L})$

Como no se conoce el modo de acción del compuesto, ni el mecanismo de penetración en la célula, ni con los receptores con los que interacciona estos resultados solo nos informan de la capacidad para evitar la proliferación de las células. Además, estos resultados obtenidos *in vitro* deben tomarse con precaución, ya que extrapolar estos datos a otros organismos más complejos es difícil, de ahí, que se interpreten como herramienta de estudio preliminar.

EXPERIMENTAL

3.1 INSTRUMENTACIÓN, MÉTODOS Y PROCEDIMIENTOS GENERALES

3.1.1 INSTRUMENTACIÓN GENERAL BÁSICA

- Puntos de fusión microscópicos Kofler, Reichert
- Rotavapor Buchi Heating Bath B-491
- Agitador orbital Unimax 1010, Heidolph
- Liofilizador Freezemobile 12 L, Virtis

3.1.2 CROMATOGRAFÍA

3.1.2.1 Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina se ha llevado a cabo con gel de sílice Merck 7747, en capas de 0.25 mm de espesor. La visualización de los productos se realizó con la mezcla usualmente denominada "oleum" (H₂O-H₂SO₄-AcOH, 4:1:20) y calefacción a 120 °C hasta aparición de manchas. Para la cromatografía en capa fina se han empleado como eluyentes los siguientes disolventes: *n*-hexano, CHCl₃, CH₂Cl₂, éter dietílico, isopropanol, metanol, acetona y acetato de etilo, bien solos o mezclados.

3.1.2.2 Cromatografía en columna

Las cromatografías en columna se han realizado con gel de sílice como adsorbente (gel de sílice Scharlau 60, 40-60 μm), trabajando con una presión de entre 0.5 y 1 atmósfera. Se ha utilizado un gradiente de polaridad creciente con mezclas de *n*-hexano-éter, *n*-hexano-EtOAc, *n*-hexano/isopropanol, CH_2Cl_2 -acetona, CH_2Cl_2 -MeOH, CHCl_3 -acetona y CHCl_3 -MeOH.

3.1.2.3 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC) a escala analítica

Los análisis mediante HPLC a escala analítica se han realizado mediante dos equipos distintos: HPLC-PDA y HPLC-Breeze, los cuales están constituidos por la instrumentación siguiente:

- Sistema de bombeo Waters 1525 Binary HPLC Pump
- inyector Waters 717Plus Autosampler
- detector UV-Vis Waters 2487 (sistema HPLC-PDA)
- detector UV-Vis de doble canal modelo Waters 2487 (sistema HPLC Breeze)
- Ordenador de control del equipo con sistema operativo *Windows 2000 professional*, como software Millennium³² v4.00 (HPLC-PDA) y BreezeTM v3.2 (HPLC Breeze)

Para este tipo de cromatografía se han utilizado columnas de *Symmetry*TM C₁₈ (150 x 4.6 mm) con relleno de fase reversa de octadecilsiloxano de 5 μm de diámetro de partícula y 100 Å de medida de poro. Los análisis cromatográficos se han llevado a cabo usando como eluyentes H₂O con 0.045% TFA y ACN con 0.036% de TFA. El flujo de trabajo ha sido de 1mL/min y las muestras han sido filtradas previamente con un filtro de 0.45 μm .

A lo largo del trabajo experimental se han utilizado distintas condiciones cromatográficas para analizar tanto la calidad de los crudos como la pureza de los péptidos purificados. En general, este proceso se ha llevado a cabo con un flujo de 1mL/1min, con detección UV a 220 nm, y un gradiente lineal de los siguientes eluyentes A: CH₃CN (+0,036 % TFA) y B: H₂O (+0,045 %TFA).

3.1.2.4 Cromatografía líquida de alta presión acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS)

Los análisis por HPLC-MS se realizaron en un sistema que consta de la instrumentación siguiente:

- inyector-sistema de bombeo Waters 2795 Separations Mode Alliance HT
- detector UV-VIS de doble canal Waters 2487

- detector de masas con ionización en modelo electrospray modelo Waters Micromass ZQ
- ordenador de control del equipo con sistema operativo *Windows 2000 professional* y Masslynk™ 4.0. como software de control.

Se utilizó una columna *Symmetry™ C₁₈* (150 x 3.9 mm). Las muestras se eluyeron a un flujo de 1mL/min utilizando como eluyentes H₂O con 0.1% ácido fórmico y ACN con 0.07% de ácido fórmico. Ambos eluyentes deben ser filtrados previamente mediante un sistema de Millipore con un filtro de 0.45 µm. Las muestras también fueron filtradas con filtros de 0.45 µm.

3.1.2.5 Cromatografía líquida de alta presión (HPLC) a escala semi-preparativa

El sistema utilizado a escala semipreparativa en el que se llevaron a cabo las purificaciones está constituido por:

- sistema de bombeo Waters 600 controller
- inyector automático Waters 2700 Sample Manager
- colector Waters Fraction Collector II
- detector UV-Vis de doble canal Waters 2487
- Ordenador de control del equipo con sistema operativo *Windows 2000 professional* y Masslynx™ 3.5 como software de control

Se empleó una columna *Symmetry™ C₈* (30 x 100 mm) con relleno de fase reversa de octadecilsiloxano de 5 µm de diámetro de partícula y 100 Å de medida de poro. Se realizaron las purificaciones con un flujo de trabajo de 10 mL/min utilizando como eluyentes H₂O con 0.1 % TFA y ACN con 0.05% de TFA. Las muestras fueron filtradas previamente con un filtro de 0.45 µm.

3.1.3 MÉTODOS DE DETERMINACIÓN ESTRUCTURAL

3.1.3.1 Espectrometría de masas

Los espectros de masas se han llevado a cabo en un sistema CG/EM HEWLETT-PACKARD Mod. 5988 A, en un espectrómetro de masas de alta resolución de sector magnético AUTOSPEC-Q de MICROMASS.

Los espectros de MALDI-TOF se han realizado en un aparato PerSeptive Biosystems modelo VOYAGER-DE STR, usando matriz de α -ciano-4-hidroxicianámico (ACH). En el caso de los análisis realizado con esta técnica, alícuotas de 1 µL de cada muestra se mezclan con volúmenes

iguales de la matriz ACH (10 mg/ml en H₂O-ACN (1:1) + 1%TFA) y se dejan secar sobre la placa de MALDI.

3.1.3.2 Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Los espectros de ¹H RMN y de ¹³C RMN se registraron en un espectrómetro BRUKER AM-300 y BRUKER ARX-400, con cabeza dual, empleando CDCl₃, CD₃OD o C₃D₆SO como disolventes, que al mismo tiempo proporcionan la señal del lock. Las asignaciones en ¹³C RMN monodimensional se han realizado con la ayuda de experiencias DEPT (135°). Las experiencias bidimensionales realizadas de correlación C/H (HMBC y HMQC), se han realizado utilizando programas de la casa Bruker, en las condiciones estándar del servicio de Resonancia Magnética Nuclear del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada.

El espectro de ¹H RMN y de ¹³C RMN de Fmoc-Orn(*p*NZ)-OH se ha registrado en un espectrómetro de la casa Varian, Mercury 400 (¹H RMN de 400 MHz y ¹³C RMN de 100 MHz) del Parc Científic de la Universidad de Barcelona.

3.1.3.3 Espectroscopía de IR

Los espectros de infrarrojo se han realizado en forma de películas sobre cristales de NaCl en un espectrómetro MATTSON SATELLITE FTIR.

3.1.3.4 Poder rotatorio

Las rotaciones específicas, $[\alpha]_D$, se midieron en CHCl₃ o MeOH a la temperatura del laboratorio en dos polarímetros automáticos PERKIN-ELMER 141 y 341, en una célula de 1 dm de longitud y a las concentraciones que se indican en cada caso.

3.1.3.5 Espectroscopía de UV-Vis

La obtención de los valores de absorbancia para la cuantificación de la funcionalización en fase sólida se han llevado a cabo en un aparato Perkin-Elmer model Lambda 5 UV/Vis Shimadzu UV1240.

3.1.4 PROCEDIMIENTOS GENERALES DE SÍNTESIS EN DISOLUCIÓN

3.1.4.1 Reacción de esterificación

Se disuelven 11 mmol del producto a esterificar en 50 mL de tetrahidrofurano, se añaden 10 mL de NaOH 5N y se mantiene a reflujo durante 3 h, tras las cuales se agregan 2 mL de CH_3I . Transcurridas 2 h más, la mezcla de reacción se lleva a sequedad, se lava con agua, se neutraliza con una disolución de HCl y se extrae con CH_2Cl_2 . Finalmente, las fases orgánicas se secan con Na_2SO_4 , se evaporan a presión reducida y se cromatografía en columna de tipo flash.

3.1.4.2 Reacción de hidrogenación catalítica

Se disuelven 100 mg de sustrato en 5 mL de cloruro de metileno, se añade una cantidad catalítica de Pt/C y se hidrogena a temperatura ambiente con agitación durante el tiempo indicado en cada caso y con 4-5 atm de presión de H_2 . Finalizada la reacción se filtra la mezcla, lavándose varias veces con CH_2Cl_2 y se concentra a presión reducida, obteniéndose un bruto que se purifica mediante cromatografía en columna.

3.1.4.3 Reacción de benzoilación

Se disuelven 0.7 mmol de producto en 10 mL de piridina, se añaden 0.24 mL (2 mmol) de cloruro de benzoilo y se mantiene la reacción 24 h a temperatura ambiente, al cabo de las cuales se lava con HCl diluido, se neutraliza con NaHCO_3 , se extrae con CH_2Cl_2 y se seca la fase orgánica con Na_2SO_4 anhidro. A continuación se evapora el disolvente a presión reducida y se separan los compuestos obtenidos por cromatografía en columna.

3.1.4.4 Reacción de acetilación

Se disuelven 100 mg de producto en 4 mL de piridina y se añaden 2 mL de anhídrido acético, llevándose a cabo la reacción en las condiciones particulares que se indican en cada caso. Una vez finalizada, se añade agua fría y se extrae varias veces con CH_2Cl_2 . A continuación se lava la fase orgánica con HCl, posteriormente con una disolución de NaHCO_3 hasta pH neutro, se seca con Na_2SO_4 anhidro y se evapora el disolvente a vacío. Por último, se purifica en columna.

3.1.4.5 Ciclopaladación de oximas

Se disuelve la oxima en 10 mL de AcOH glacial:MeOH 1:6 y se agregan 1.2 eq de AcOK y Na_2PdCl_4 (1.2 eq). Al cabo de 72 h en agitación a temperatura ambiente se evapora el metanol

concentrando a vacío y se elimina el ácido acético glacial con una bomba de alto vacío. A continuación se disuelve el crudo de reacción en CH_2Cl_2 y se filtra a través de Celita®, concentrándose las aguas madres. El residuo obtenido tras evaporar el disolvente se disuelve en THF y se añade piridina, manteniéndose 15 min en agitación a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se agregan a -80°C AcOH glacial (70 eq) y $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (1 eq). Tras 24 h a temperatura ambiente diluimos la reacción con éter, neutralizamos con NaHCO_3 y lavamos dos veces la fase acuosa con CH_2Cl_2 . Finalmente, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna.

3.1.4.6 Reacción de tosilación

Se disuelven 100 mg del alcohol a tosilar en 2 mL de piridina y se agrega una cantidad equimolecular de cloruro de tosilo, manteniéndose la reacción con agitación magnética a la temperatura y el tiempo indicados en cada caso. Una vez finalizada la reacción, se diluye con agua fría y se extrae varias veces con CH_2Cl_2 . A continuación se lava la fase orgánica con una disolución diluida de HCl y posteriormente con una solución de NaHCO_3 hasta pH neutro, se seca con Na_2SO_4 anhidro y se evapora el disolvente a vacío. Finalmente, se purifica en columna.

3.1.4.7 Reacción de oxidación con reactivo de Jones

El producto a oxidar se disuelve en la mínima cantidad posible de acetona y, a la temperatura indicada en cada caso, se va añadiendo poco a poco reactivo de Jones hasta persistencia del color anaranjado, tras lo cual se adicionan unas gotas de metanol y agua, se extrae con CH_2Cl_2 , se lava con una solución de NaHCO_3 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se evapora el disolvente a vacío. El bruto obtenido se cromatografía en columna.

3.1.4.8 Reacción de oxidación con NaIO_4 y $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$

0.75 g de NaIO_4 (3.5 mmol) y $\text{RuCl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ en cantidad catalítica se disuelven en 10 mL de agua y se añaden a una disolución en CCl_4 (10 mL) y CH_3CN (10 mL) del producto a oxidar (2.4 mmol). La mezcla de reacción se mantiene en agitación a la temperatura y durante el tiempo indicado en cada caso, tras lo cual se extrae tres veces con éter, se reúnen todas las fracciones orgánicas y se lavan con agua, una disolución saturada de NaHCO_3 y, finalmente, con una disolución de NaCl. Se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna el residuo obtenido.

3.1.4.9 Reacción de saponificación

A 0.1 mmol del producto a saponificar disueltos en 5 mL de MeOH se añaden 5 mL de KOH (20%) hidrometanólica (al 70%) y se mantiene a reflujo durante 30 min, transcurridos los cuales se enfría la reacción y se adiciona HCl diluido con el fin de neutralizar el medio básico de la reacción. A continuación se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se concentra a vacío. Por último, se purifica en columna.

3.1.4.10 Reacción de Mitsunobu para formación de epóxidos

Se disuelven 6 mmol de producto de partida y 4.7 g (18 mmol) de PPh_3 en 20 mL de DMF, introduciéndose el matraz en un baño de hielo. Seguidamente se adiciona durante 10 min una disolución de 2.8 mL (18 mmol) de DEAD en 2 mL de DMF, se lleva a temperatura ambiente y se mantiene a reflujo durante 2 h, al cabo de las cuales se procesa la reacción añadiendo una mezcla tolueno:éter 3:1 y concentrando a vacío. A continuación se extrae varias veces con CH_2Cl_2 , se lava con agua, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna.

3.1.4.11 Reacción de un derivado tosilado con Na-MeOH

Se disuelve 1 mmol de compuesto tosilado en 10 mL de MeOH anhidro y se añaden 125 mg (5 mmol) de Na disueltos en 10 mL de MeOH. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a reflujo durante 1 h, tras la cual se agrega 1 mL de AcOH glacial y se evapora el disolvente a presión reducida. El residuo obtenido se disuelve en acetato de etilo y se lava con agua. A continuación se recrystaliza el producto en metanol, se filtra el precipitado en una placa de vidrio molido y se concentran las aguas madres, que se purifican en columna.

3.1.4.12 Reducción con NaBH_4

0.2 mmol de sustrato se disuelven en 5 mL de isopropanol y se añaden 10 mg (0.3 mmol) de NaBH_4 , manteniéndose la reacción a la temperatura y tiempos indicados en cada caso, se concentra a presión reducida, se lava con agua, se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se concentra a vacío. Por último, se purifica en columna.

3.1.4.13 Reducción con hidruro de aluminio y litio

Se disuelven 0.3 mmol del sustrato a reducir en 3 mL de THF seco y se añade 1 mL de disolución 1 M de AlLiH_4 en THF, manteniéndose la reacción a la temperatura y durante el tiempo

indicados en cada caso. Transcurrido el cual se agrega metanol para destruir el exceso de reactivo, se lava con agua, se extrae varias veces con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se concentra a vacío. Por último, se purifica en columna.

3.1.4.14 Reacción de desoxigenación vía xantato

Se disuelven 0.2 mmol de material de partida en 5 mL de THF seco y se añaden (5 eq) de NaH, manteniéndose la reacción 8 h a reflujo, al cabo de las cuales se agregan 2 mL (33 mmol) de S_2C . Tras 30 min, se adiciona 1 mL de MeI (16 mmol) y se deja 2 h a reflujo. Para procesar la reacción se neutraliza con una disolución de HCl, se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna. Seguidamente, se disuelven 0.2 mmol de xantato en 5 mL de dioxano y se añaden 0.15 mL (1 mmol) de trietilamina y 0.1 mL (0.9 mmol) de H_3PO_2 . Se pone la reacción a reflujo y se va añadiendo poco a poco una disolución de 15 mg (0.1 mmol) de AIBN en 3 mL de dioxano, manteniéndose la reacción en agitación a reflujo durante 3 h, transcurridas las cuales se extrae con éter, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna.

3.1.4.15 Reacción de desoxigenación con $\text{WCl}_6/\text{n-BuLi}$

Se disuelven 0.4 mmol de WCl_6 en 5 mL de THF, se introduce el matraz en un baño a -70°C , se añaden 0.08 mL de n-BuLi (0.8 mmol) y se deja que la reacción alcance la temperatura ambiente. En ese momento se agrega una disolución de 0.2 mmol de sustrato en 5 mL de THF y se mantiene la reacción en agitación 20 min, al cabo de los cuales se adiciona una disolución de NaOH al 20%, se extrae con CH_2Cl_2 , se lava dos veces con una disolución de HCl, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna.

3.1.4.16 Desoxigenación epóxidos con Cp_2TiCl_2 (versión estequiométrica)

Se prepara el reactivo poniendo 3 equivalentes de Cp_2TiCl_2 , y 8 equivalentes de Mn en THF desoxigenado y seco en agitación bajo atmósfera de argón hasta que la disolución toma color verde (aproximadamente 15 min). A continuación se añade el epóxido correspondiente disuelto en THF y la reacción se mantiene agitando el tiempo correspondiente en cada caso a temperatura ambiente. Una vez finalizada se lava con HCl y se extrae con CH_2Cl_2 varias veces. Las fases orgánicas se juntan y se secan con Na_2SO_4 anhidro, se filtran y se concentran a vacío para proceder a su purificación en columna.

3.1.4.17 Desoxigenación epóxidos con Cp_2TiCl_2 (versión catalítica)

Se añade THF desoxigenado y seco a un matraz que contiene Cp_2TiCl_2 (0.2 eq) y Mn (8 eq) bajo atmosfera de argón, la disolución se agita a temperatura ambiente hasta que toma color verde. A continuación se añade el epóxido en THF, Me_3SiCl (4 eq) y colidina (7 eq), agitándose la mezcla a temperatura ambiente. Transcurrido el tiempo indicado se lava con HCl y se extrae con CH_2Cl_2 varias veces. Las fases orgánicas se juntan y se secan con Na_2SO_4 anhidro, se filtran y se concentran a vacío para proceder a su purificación en columna.

3.1.4.18 Reacción de deshidratación con POCl_3

Se disuelve el alcohol a deshidratar en piridina, y se añade el POCl_3 . La reacción se mantiene a reflujo durante 20 minutos y se añade sobre agua helada para eliminar el exceso de reactivo. A continuación se lava con disolución de NaHSO_4 , se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y después de eliminar el disolvente a presión reducida, se cromatografía en columna.

3.1.4.19 Ozonolisis

Se disuelven 0.5 mmol de material de partida en 15 mL del disolvente indicado en cada caso y se pasa una corriente de ozono de caudal determinado en las condiciones de tiempo y temperatura estipuladas, agregándose a continuación 1.5 mL de Me_2S como reductor. Esta mezcla de reacción se mantiene en agitación hasta que alcanza la temperatura ambiente. Finalmente, se evapora el disolvente a vacío y se purifica en columna.

3.1.4.20 Reacción de oximación

Se disuelven 0.11 mmol de la cetona en 2 mL de piridina y se añaden 14 mg (0.2 mmol) de hidrocloreuro de hidroxilamina, manteniéndose la reacción en agitación a 50 °C durante 30 min. A continuación se lava con una disolución diluida de HCl, se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica en columna.

3.1.4.21 Bromación alílica con NBS

1 g de material de partida se disuelve en 30 mL de CCl_4 y se añade 1 eq de NBS y AIBN en cantidad catalítica. La reacción se mantiene a la temperatura y durante el tiempo indicado en cada caso. A continuación, se extrae con una disolución de NaHCO_3 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se purifica en columna.

3.1.4.22 Reacción de isomerización con luz ultravioleta

Se disuelven 0.7 mmol de producto en 65 mL de etanol y se introduce en un reactor adecuado (de vidrio o cuarzo) según el grado de isomerización que se pretenda lograr. Esta disolución se somete a la acción de una lámpara de luz ultravioleta de 125 W, a la que se le ha retirado el cristal que protege los filamentos, durante el tiempo indicado en cada caso con agitación y refrigeración. Finalmente, se concentra a vacío y se purifica en columna el bruto obtenido.

3.1.4.23 Reacción isomerización con I₂

1.1 mmol del producto a isomerizar se disuelve en 500 mL de hexano, añadiéndose 50 mg (0.2 mmol) de I₂. La reacción se mantiene con agitación a reflujo suave durante 5 h, al cabo de las cuales se agregan 2 mL de disolución de bisulfito sódico (con objeto de eliminar el exceso de I₂) y se lava con agua. La fase orgánica se recoge sobre Na₂SO₄ anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica en columna.

3.1.4.24 Isomerización con TFA

Se disuelve el trieno correspondiente en el disolvente indicado y se añaden 45 µL de ácido trifluoroacético por cada 1 mmol de compuesto, la mezcla resultante se mantiene en agitación a reflujo durante el tiempo indicado en cada caso. Entonces, se concentra a vacío y se purifica en columna cromatográfica.

3.1.4.25 Epoxidación con AMCPB

Se disuelven 0.5 mmol del producto a epoxidar en 10 mL de CH₂Cl₂ y se añaden 130 mg (0.75 mmol) de AMCPB, manteniéndose la reacción a la temperatura y durante el tiempo indicado en cada caso particular. Una vez finalizado el proceso, se diluye la reacción con más diclorometano, se lava con una disolución de sulfato ferroso, se neutraliza con NaHCO₃, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se concentra a vacío y se separan por cromatografía en columna los productos obtenidos.

3.1.4.26 Reacción de sililación

El alcohol a sililar se disuelve en piridina y se añade cloruro de *tert*-butildimetilsilano. La reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente hasta que se agota el producto de partida. A continuación se lava con una disolución diluida de HCl, se neutraliza con NaHCO₃ y se extrae con CH₂Cl₂. La fase orgánica se seca, se filtra, se concentra a vacío y se cromatografía en columna.

3.1.4.27 Acoplamiento de aminoácidos con ácido maslínico en fase solución

Se disuelven 100 g de ácido maslínico (0.21 mmol) en 10 mL de CH_2Cl_2 , y se trata con el correspondiente ester metílico o etílico (0.25 mmol), 1-hydroxibenzotriazol (HOBt) (0.21 mmol), N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (0.21 mmol), y trietilamina (0.05 mL). La mezcla resultante se mantiene en agitación durante 8 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se diluye con agua, se extrae tres veces con CH_2Cl_2 , las fases orgánicas se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se evaporan a vacío. El residuo resultante se purifica por cromatografía en columna utilizando gradiente de polaridad creciente con la mezcla CH_2Cl_2 -acetona.

3.1.4.28 Saponificación de ésteres metílicos y etílicos

Se añade el correspondiente ester (0.5 mmol) disuelto en una mezcla MeOH/THF (1:1.5) (10 mL) a una disolución de NaOH (4N, 2mL). Después de mantener en agitación la mezcla resultante a t.a. durante 24 h, se concentra a vacío y el residuo se redissuelve en agua destilada (30 mL). Esta suspensión se trata con una disolución acuosa de HCl 5N (1.5 mL). Transcurridos 20 min, esta mezcla se filtra y se lava con agua hasta pH 7, entonces se seca sobre Na_2SO_4 anhidro y se evapora a vacío. El residuo resultante se purifica mediante cromatografía en columna.

3.1.5 PROCEDIMIENTOS GENERALES DE SÍNTESIS ORGÁNICA EN FASE SÓLIDA

3.1.5.1 Consideraciones generales

Las síntesis sobre fase sólida se llevan a cabo en jeringas de polipropileno provistas de un filtro de polietileno poroso, de volumen adecuado en función de la cantidad de resina utilizada. Los disolventes y mezclas de reacción se eliminan mediante succión. Previamente al inicio de una síntesis, las resinas se someten a un proceso de acondicionamiento que consta de una serie de lavados que tienen como principal función solvatar adecuadamente la resina para que las reacciones sobre ésta y la transferencia de reactivos sean eficientes. Para la agitación se emplean varillas de teflón en agitadores orbitales. Los lavados entre las diferentes reacciones se realizan con DMF y CH_2Cl_2 (5 x 30", 10mL/g resina) lavando primero con el disolvente en el que se ha realizado la última reacción y por último en el disolvente en el que se hará la siguiente. Los aminoácidos se incorporan disueltos en DMF (4 mL/g resina) junto con los agentes acoplantes correspondientes, se añaden a la resina y se deja reaccionar durante una hora con agitación orbital. Se filtran los reactivos, se lava la resina y se realiza el ensayo correspondiente para comprobar si el acoplamiento ha finalizado.

El soporte polimérico empleado en esta memoria, para la síntesis de los distintos compuestos con el extremo C en forma de ácido, ha sido la resina 2-clorotritilo (CTC-PS) o también llamada resina de Barlos. Esta resina es muy lábil al medio ácido. Por ello, el CH_2Cl_2 utilizado se pasa previamente por una columna de alúmina básica con la intención de eliminar posibles trazas de ácido clorhídrico. En primer lugar se solvata adecuadamente la resina con CH_2Cl_2 durante 30 min, para que todos los centros activos sean accesibles.

3.1.5.2 Test de identificación

3.1.5.2.1 Test de Kaiser

El test colorimétrico de la ninhidrina se ha utilizado como control de las etapas de acoplamiento realizados sobre aminas primarias, ya que permite detectar la presencia de grupos aminos primarios libres.²⁵⁶

Para ello se toman una pequeña alícuota de peptidilresina (1 mg aprox) previamente lavada con CH_2Cl_2 y secada al aire, se le añade 6 gotas de reactivo A y dos gotas de reactivo B y se deja en un baño de arena a 110 °C durante 3 min. La presencia de aminas primarias libres (acoplamiento < 99%) se indica por la aparición de coloración azul en la resina o en el sobrenadante, siendo el ensayo positivo. Si la coloración final es amarilla y las bolas de resina permanecen incoloras el test es negativo, es decir la reacción es cuantitativa (acoplamiento > 99%).

- Reactivo A: Se prepara en caliente una disolución de 40 g de fenol en 10 mL de etanol absoluto. A continuación se prepara otra disolución de 65 mg de KCN en 100 mL de agua y se añaden 2 mL de esta solución sobre 100 mL de piridina, acabada de destilar sobre ninhidrina. Estas dos soluciones se agitan separadamente con 4 g de resina Amberlite MB-3 (Merck) durante 45 min, se filtran y se mezclan los filtrados.
- Reactivo B: Se prepara una disolución de 2.5 g de ninhidrina en 10 mL de etanol absoluto y se conserva protegida de la luz.

3.1.5.2.2 Ensayo de Cloranilo

Este ensayo permite determinar cualitativamente la presencia de aminas secundarias y por tanto se utiliza para evaluar los acoplamientos sobre aminas secundarias como N-Me

²⁵⁶ Kaiser, E., Colescott, R.L., Bossinger, C.D. & Cook, P.I., *Anal. Biochem.*, **1970**, 34, 595.

aminoácidos o prolinas (único aminoácido natural que tiene una amina secundaria en la posición α).²⁵⁷

Para ello se prepara una disolución saturada de 2,3,5,6-tetracloro-1,4-benzoquinona (cloranilo) (0.75g) en 250 mL de tolueno. Se toma una pequeña alícuota de peptidilresina previamente lavada con DMF (4 x 1min) y CH_2Cl_2 (4 x 1 min) y se transfiere a un tubo de ensayo; se añaden 20 gotas de acetona y 5 gotas de solución de cloranilo de tolueno. Se deja agitando durante 5 min a temperatura ambiente. Una coloración verdosa indica la presencia de aminas secundarias libres, el ensayo es positivo y el acoplamiento es incompleto. Cuando la coloración resultante es amarilla (igual que la solución de cloranilo) el ensayo es negativo lo cual indica que no hay grupos aminos secundarios libres.

3.1.5.2.3 Ensayo de De Clercq

El ensayo de De Clercq permite la detección de grupos aminos secundarios libres, tiene la misma aplicación que el ensayo de cloranilo, aunque se ha podido comprobar experimentalmente que este ensayo es más sensible que el test de cloranilo.²⁵⁸

Para la realización del ensayo se toma en un tubo de vidrio una pequeña alícuota de peptidilresina y se añaden 10 gotas de solución de reactivo. A continuación se calienta a 70°C durante 10 min. Posteriormente se elimina el sobredanante y se hacen varios lavados con DMF, hasta que el sobrenadante queda transparente. Si la resina presenta una tonalidad rojiza esto indica un ensayo positivo, es decir, que todavía persisten grupos aminos secundarios libres. Cuando la resina queda incolora, ensayo negativo, indica que no hay presencia de aminas secundarias y por tanto el acoplamiento ha sido cuantitativo.

Reactivo: p-nitrofenilester del rojo disperso I (0.002 M en ACN). El colorante comercial *disperse red I*, se trata con diazoacetato de etilo, se saponifica, y a continuación se condensa con p-nitrofenol, utilizando POCl_3 . El producto se purifica mediante recristalización y se utiliza en disoluciones de ACN.

3.1.5.3 Hidrólisis y análisis de aminoácidos

El análisis de aminoácidos (AAA) nos da información de los aminoácidos presentes en la muestra tanto a nivel cualitativo como cuantitativo. Para esta técnica se ha utilizado un analizador Beckman System 6300 que utiliza un programa de elusión con sales de sodio, en una

²⁵⁷ Christensen, T. *Acta Chemica Scandinavica Series B-Organic Chemistry and Biochemistry* **1979**, 33, 763.

²⁵⁸ Madden, A.; Farcy, N.; Hosten, N.G.C.; De Muynck, H.; De Clercq, P.J.; Barry, J.; Davis, A.P. *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 11, 2787

columna de dimensiones 25 x 0.4 cm, rellena con una resina polisulfonada de intercambio catiónico y un sistema de detección post-columna por reacción con ninhidrina. La técnica determina el contenido y la proporción de los aminoácidos existentes en una muestra peptídica, previamente hidrolizada, mediante cromatografía de intercambio iónico.

Para un péptido se elimina el disolvente y se lleva a cabo la hidrólisis con HCl 6 M (220 μ L) en un tubo de vidrio cerrado a 155-160 $^{\circ}$ C durante 1.5 h. Transcurrido este tiempo, se abre el tubo, se elimina el disolvente a presión reducida en un baño a 70 $^{\circ}$ C y el residuo sólido se resuspende en un volumen conocido de tampón citrato 0.06M de pH 2.2, se filtra sobre un filtro de nylon de 0.45 μ m de diámetro de poro y se realizan las diluciones convenientes para inyectar alrededor de 5 mmol de péptido en 50 μ L de tampón.

La cuantificación de aminoácidos se realiza relacionando los mmol de aminoácidos obtenidos con la cantidad de péptido analizado y las diluciones realizadas.

3.1.5.4 Incorporación primer aminoácido

La resina se lava con DMF y CH_2Cl_2 y se adiciona el primer aminoácido (0.7 mmol/g resina) disuelto en CH_2Cl_2 (4mL/g resina) y DIEA (4.5 mmol/g resina), a los 5 min se adiciona más DIEA (2.5 mmol/g resina) y se deja con agitación orbital. Pasado una hora se adiciona CH_3OH (0.8 mL/g resina), para eliminar el resto de las posiciones activas, y se cuantifica la incorporación mediante UV.

3.1.5.5 Eliminación grupo Fmoc

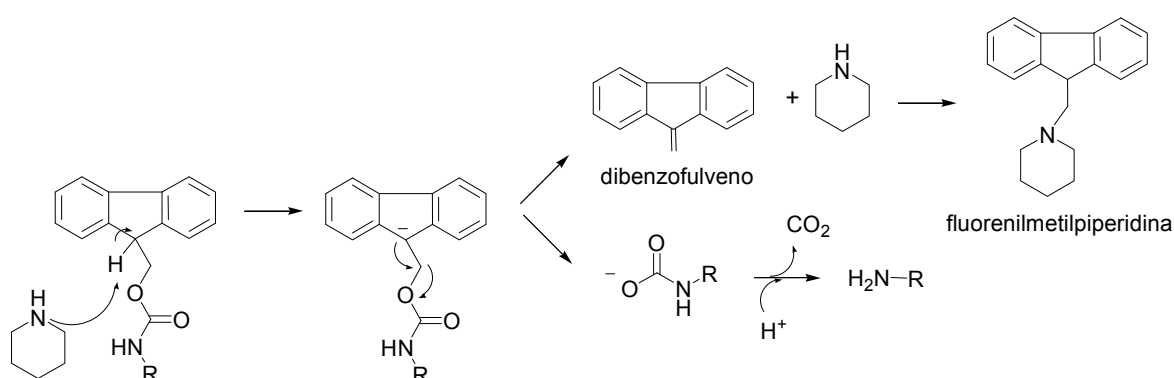


Figura 3.1. Mecanismo de eliminación del grupo Fmoc con piperidina

Tras comprobar que el acoplamiento se ha dado, mediante los distintos test mencionados anteriormente, se acondiciona la resina con DMF (5 x 30", 10mL/g resina) y se realizan tratamientos con piperidina-DMF 1:4 (1 x 1min, 2 x 10 min).

El mecanismo transcurre por la abstracción inicial de un protón que da el ión dibenzociclopentadieno estabilizado, que elimina para dar dibenzofulveno, el cual reacciona con el exceso de piperidina dando lugar al aducto fluorenilmetilpiperidina. Por otro lado, el ácido carbámico descarboxila espontáneamente generando el grupo amino libre

3.1.5.6 Cuantificación de la funcionalización por UV

La cuantificación del grupo Fmoc permite el seguimiento de la síntesis peptídica evaluando la desprotección del grupo α -amino de la peptidilresina.

El grupo Fmoc se elimina mediante lavados con una disolución de piperidina-DMF (1:4). Ya se ha comentado en el apartado anterior que en la eliminación se libera el aducto fluorenilmetilpiperidina (Fig. 3.1). Este compuesto se cuantifica mediante UV-vis realizando la lectura a 290 nm. Se recogen los filtrados de los lavados en un matraz, se diluyen con DMF. Se realizan las diluciones oportunas para que la absorbancia a 290 nm no supere el valor de 1 y así se encuentre en la zona lineal de la ley de *Lambert-Beer*. Se realizan en total tres medidas y con el valor de absorbancia media se calcula la funcionalización mediante la siguiente fórmula:

$$Z = \frac{AV}{\epsilon Y l}$$

- Z: Funcionalización de la resina (mmol/g resina)
- A: Media de los tres valores de absorbancia obtenidos a 290 nm.
- V: Volumen virtual de dilución
- ϵ : Coeficiente de absorción molar del aducto Fm-piperidina 5800 ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)
- Y: Cantidad de resina (g)
- l: Longitud de la cubeta (cm)

3.1.5.7 Acoplamiento con DIPCDI-HOBt

La pareja de agentes acoplantes DIPCDI-HOBt se emplea de forma general entre aminoácidos naturales. Se disuelven 4 eq del aminoácido y HOBt (4 eq) en DMF y se adiciona a la resina. A continuación se añade la carbodiimida DIPCDI (4 eq) y se mantiene con agitación orbitálica a temperatura ambiente durante 1 h.

3.1.5.8 Acoplamiento con HATU-DIEA

La sal de aminio HATU se utiliza entre aminoácidos ramificados. Se disuelve el aminoácido (3 eq) y HATU (3 eq) en DMF, a continuación se adiciona DIEA (6 eq) y se añade a la peptidilresina. La reacción se mantiene a temperatura ambiente en agitación orbitalica hasta dar por finalizado el acoplamiento mediante el test correspondiente.

3.1.5.9 Acoplamiento con PyAOP-HOAt-DIEA

A la peptidilresina se le añade el ácido oleanólico o ácido maslínico (3eq), PyAOP (3eq), HOAt (3eq) y DIEA (9eq) disueltos en DMF. La mezcla se mantiene en agitación durante 24h a t.a. La resina resultante es filtrada y lavada con DMF, piperidina 20% in DMF, DMSO y CH_2Cl_2 (estos lavados son llevados a cabo para quitar el ester activado de los ácidos triterpénicos, ya que se quedan adheridos a la resina).

3.1.5.10 Eliminación grupo alloc

Se acondiciona la resina con CH_2Cl_2 (5 x 30seg, 10mL/g resina) y se realizan tres tratamientos de 15 min con una solución de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0.1 eq.) en CH_2Cl_2 (4mL/g resina) y PhSiH_3 (10 eq.) agitando ocasionalmente la resina. Se lava con CH_2Cl_2 (5 x 30 seg, 10mL/g resina) y DMF (5 x 30 seg, 10mL/g resina) y se trata la resina con una disolución de dietilditiocarbamato sódico-DMF 0.02 M (2 x 20 min) para eliminar las trazas de paladio.

3.1.5.11 Eliminación grupos ^tBu-Boc

Se disuelve el compuesto, cuyas cadenas laterales se encuentran protegidas con ^tBu-Boc, en TFA- H_2O (95:5) y la mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente hasta finalización de la desprotección, entonces se concentra a vacío y se caracteriza.

3.1.5.12 Eliminación grupo pNZ

La eliminación del grupo pNZ se lleva a cabo mediante una disolución de 1M SnCl_2 en DMF conteniendo HCl 1.6mM. La mezcla resultante se mantiene en agitación durante 1h. Después de este tiempo el disolvente se elimina a presión reducida.

3.1.5.13 Escisión de una alícuota de resina para HPLC-MS

Se toma una alícuota de peptidilresina secada con CH_2Cl_2 (5-8 mg) y se coloca en un eppendorf, se adiciona una solución de TFA- CH_2Cl_2 (1:99, 200 μL) y acto seguido se evapora el disolvente mediante una corriente de N_2 . Se redissuelve el residuo sólido en una solución de $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ (1:1, 400 μL), se introduce en una jeringa y se pasa por un filtro de nylon de 0,45 μm , estando lista para ser analizada por HPLC o HPLC-MS.

3.1.5.14 Alicuotación de la resina

Se introduce un volumen concreto de DMF en la jeringa donde se realiza la síntesis, se alicuota 2/3 partes de este volumen con una pipeta Pasteur entre las jeringas destino y se vuelve a añadir el volumen alicuotado de DMF. Esta operación se realiza de manera iterativa hasta que la cantidad de resina en la jeringa original es despreciable, en este momento se alícuota el volumen total de disolvente que queda. La ventaja de este método es que la resina se mantiene solvatada en todo momento y la alicuotación es muy exacta, la desventaja es que no se cuantifica la resina que se alícuota, sino que se hace en referencia a la cantidad de resina original.

3.1.5.15 Escisión del péptido anclado sobre la resina de Barlos

La resina se trata con TFA- CH_2Cl_2 (1:99, 5 x 30 seg) y se recogen los lavados en un balón que contiene H_2O (15 mL H_2O -250 mg resina). Se elimina el CH_2Cl_2 a presión reducida, se trasvasa el contenido a un tubo falcon de 50 mL disolviendo el sólido con $\text{CH}_3\text{CN-H}_2\text{O}$ y se liofiliza.

3.1.5.16 Ciclación

Para llevar a cabo el proceso de ciclación se disuelve el compuesto protegido en CH_2Cl_2 (1 mM), y se añade HOBt (4 eq), DIEA (3 eq) y DIPCDI (4 eq). Entonces, el curso de la ciclación se controla por HPLC, la mezcla se mantiene 1 h, tras el cual el disolvente se elimina a vacío.

3.1.6 ENSAYOS BIOLÓGICOS. ESTUDIO NECROSIS Y EFECTO APOPTÓTICO

3.1.6.1 Cultivo celular melanoma murino B16-F10

Medio de cultivo: DMEM con 4mM glutamina + 1.5 g/ L bicarbonato sódico + 1 mM piruvato sódico + 4.5 g/L glucosa + 10% Suero bovino fetal inactivado. El medio está formulado para incubar a 37° C en atmósfera con 5% CO₂.

Procedimiento de subcultivo: Dividir los cultivos confluentes en 1:6 a 1:10 empleando tripsina al 0.25%-EDTA 0.53 mM. Para ello se lavan primero los cultivos con esa solución para retirar los restos de suero. Después se añaden 2-3 ml de dicha solución a los frascos de cultivo y se observa al microscopio invertido hasta que se despegan (5-15 minutos). Si se despegan con dificultad se pueden incubar a 37°C. Para evitar que se formen grumos es necesario no agitar ni golpear el frasco de cultivo. Añadir medio de cultivo nuevo. Se incuban a 37°C y 5% de CO₂. Cambiar el medio cada 2-3 días.²⁵⁹

3.1.6.2 Determinación de la viabilidad celular. Estudio necrosis y efecto apoptótico.

La determinación de la viabilidad de los cultivos celulares se llevó a cabo cuantificando los residuos de fosfatidilserina a la parte exterior de la membrana celular mediante marcaje de anexina-V fluoresceína isotiocianato (FITC) (Inmunostep). Para ello, tras despegar las células con tripsina, se lavan con tampón de unión a anexina (10 mM HEPES, pH 4.4, 140 mM NaCl, 25 mM CaCl₂), se resuspenden en el mismo tampón a una concentración de 1 x 10⁶ células/mL, al que se añade 5 µL de anexina-V FITC y 5 µL de yoduro de propidio para cada 100 µL de células en suspensión. Las células marcadas se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente y protegidas de la luz. Después del periodo de incubación se añade 400 µL del tampón de anexina y se analiza por citometría de flujo.

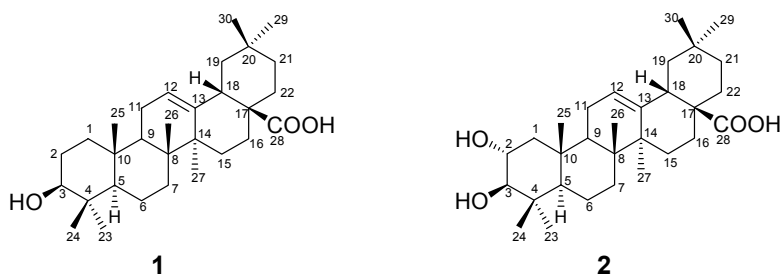
Las células fueron analizadas en un citómetro Facs Vantage de Becton Dickinson (Becton Dickinson Immunocytometry System. San José, CA 95131-1807. Como software de adquisición y análisis de resultados, se utilizó Cell-QuestTM ver 3.1 de Becton Dickinson. La toma de datos se realizó en los fotomultiplicadores FL1 y FL2, con un filtro BP de 520nm. ± 30 y 585nm ± 30 respectivamente. Como fuente de luz se utilizó un láser Innova (Coherent) de 488nm. regulado a 30 mW. El flujo de células fue de 1000cls/sg hasta completar 10000 cls.

²⁵⁹ Findler IJ. *Cancer Res.* **1975**, 35, 218.

3.2 AISLAMIENTO ÁCIDO OLEANÓLICO Y ÁCIDO MASLÍNICO

OBTENCIÓN DERIVADOS INMEDIATOS

3.2.1 AISLAMIENTO DE ÁCIDO OLEANÓLICO Y ÁCIDO MASLÍNICO



El ácido oleanólico (**1**) y ácido maslínico (**2**) se aíslan de los desechos de molturación de la aceituna según el procedimiento que será expuesto a continuación y que ha sido desarrollado por nuestro grupo de investigación, encontrándose perfectamente detallado en sendas patentes nacional (P96061652) e internacional (W098/04331) titularizadas por la Universidad de Granada. Estos desechos secos, obtenidos por diferentes tratamientos, son finamente triturados y extraídos en aparato Soxhlet con hexano y cuando se considera agotada la extracción con este disolvente (por análisis del residuo), se hace una nueva extracción de los diferentes cartuchos con acetato de etilo hasta nuevo agotamiento de los mismos. Los residuos tanto hexánicos, como de acetato de etilo, son concentrados y analizados mediante cromatografía en capa fina. De esta forma se comprueba

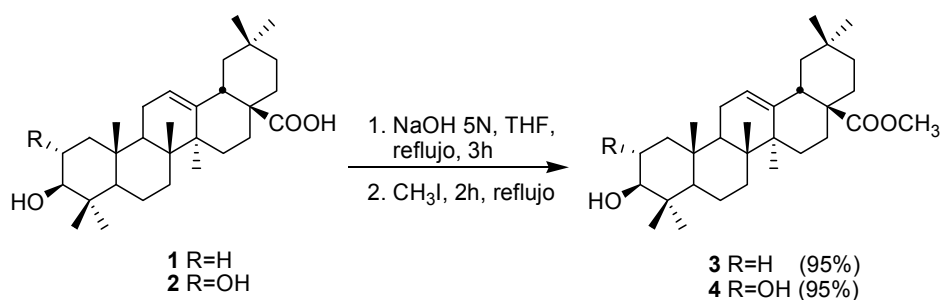
que el extracto de hexano posee una mezcla de ácido oleanólico-ácido maslínico 80:20, mientras que esta proporción es aproximadamente inversa en el extracto de acetato de etilo. Ambos compuestos se separan a partir de estas mezclas mediante cromatografía en columna, llevándose a cabo la identificación de los mismos por comparación de sus datos físicos y espectroscópicos con los existentes en bibliografía, siendo totalmente concordantes.

Ácido oleanólico (**1**): Sólido blanco, **pf** 306-308 °C. $[\alpha]_D = 80$ (c 1, CHCl₃). **IR** (NaCl) ν : 3438, 2930, 2869 y 1690 cm⁻¹. **¹H RMN** (CDCl₃ o CD₃OD): δ 5.15 (1H, dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.07 (1H, dd, $J_1 = 6.9$ Hz, $J_2 = 9.0$ Hz, H-3), 2.71 (1H, dd, $J_1 = 4.7$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 1.01 (3H, s, Me), 0.85 (3H, s, Me), 0.80 (3H, s, Me), 0.78 (3H, s, Me), 0.78 (3H, s, Me), 0.65 (3H, s, Me) y 0.64 (3H, s, Me). **¹³C RMN** (CDCl₃ o CD₃OD): δ 15.1 (Me), 15.4 (Me), 16.7 (Me), 18.2 (C-6), 22.9 (C-16), 23.3 (C-11), 23.4 (C-30), 25.7 (C-27), 26.6 (C-2), 27.5 (C-15), 27.8 (C-23), 30.5 (C-20), 32.4 (C-7), 32.6 (C-22), 32.9 (C-29), 33.7 (C-21), 36.9 (C-4), 38.4 (C-1), 38.6 (C-10), 39.1 (C-8), 41.1 (C-18), 41.6 (C-14), 45.9 (C-19), 46.3 (C-17), 47.5 (C-9), 55.1 (C-5), 78.7 (C-3), 122.2 (C-12), 143.8 (C-13) y 180.8 (C-28); **EMAR**, (m/z): $[M+Na]^+$ 479.3504 (C₃₀H₄₈O₃Na, calc. 479.3501).

Ácido maslínico (**2**): sólido blanco, **pf** 267-269 °C; $[\alpha]_D = 54$ (c 1, CHCl₃:MeOH, 2:1); **IR** (CHCl₃): ν 3386, 2936, 2867, 1690 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃ o CD₃OD): δ 5.16 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 3.45 (1H, ddd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 9.1$ Hz, $J_3 = 11.2$ Hz, H-2), 2.84 (1H, d, $J = 9.1$ Hz, H-3), 2.71 (1H, dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, H-18), 0.93 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me), 0.77 (3H, s, Me), 0.72 (3H, s, Me), 0.69 (3H, s, Me), 0.59 (3H, s, Me), 0.58 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃ o CD₃OD): δ 16.1 (Me), 16.4 (Me), 16.5 (Me), 18.1 (C-6), 22.7 (C-16), 23.1 (C-30), 23.2 (C-11), 25.5 (C-27), 27.4 (C-15), 28.2 (C-23), 30.4 (C-20), 32.3 (C-7), 32.4 (C-22), 32.7 (C-29), 33.6 (C-21), 37.9 (C-10), 39.0 (C-4), 39.1 (C-8), 41.0 (C-18), 41.5 (C-14), 45.7 (C-19), 46.1 (C-1), 46.1 (C-17), 47.4 (C-9), 55.0 (C-5), 68.2 (C-2), 83.2 (C-3), 121.9 (C-12), 143.7 (C-13), 180.6 (C-28); **EMAR**, (m/z): $[M+Na]^+$ 495.3458, (C₃₀H₄₈O₄Na, calc. 495.3450).

3.2.2 OBTENCIÓN DERIVADOS INMEDIATOS

3.2.2.1 Esterificación de ácido oleanólico y ácido maslínico

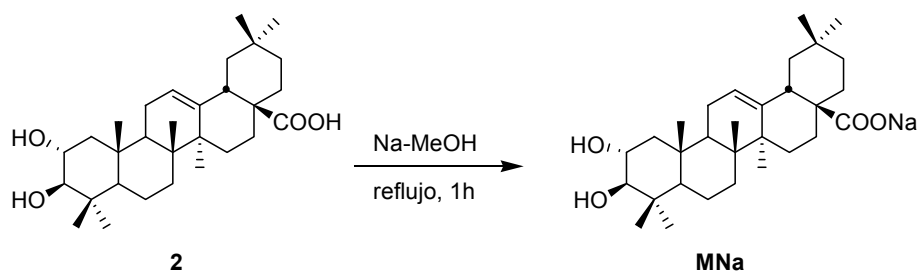


Se disuelven 2.5 g de la mezcla bruta de los ácidos oleanólico (**1**) y maslínico (**2**) en 50 mL de tetrahidrofurano, se añaden 10 mL de NaOH 5N y se mantiene a reflujo durante 3 h, tras las cuales se agregan 2 mL de CH₃I. Transcurridas 2 h más se procesa la reacción siguiendo el método descrito y se cromatografía en columna, obteniéndose 2.3 g (95%) de oleanoato de metilo (**3**) y 2.3 g (95%) de maslinato de metilo (**4**).

Oleanato de metilo (**3**): sólido blanco, **pf** 203-205 °C; $[\alpha]_D = 70$ (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3351, 2945, 2865, 1727 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.60 (3H, s, COOME), 3.19 (1H, dd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 10.1$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 1.11 (3H, s, Me), 0.96 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.76 (3H, s, Me), 0.70 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.4 (Me), 15.6 (Me), 16.9 (Me), 18.4 (C-6), 23.1 (C-16), 23.5 (C-11), 23.7 (C-30), 26.0 (C-27), 27.3 (C-2), 27.8 (C-15), 28.2 (C-23), 30.8 (C-20), 32.5 (C-7), 32.7 (C-22), 33.2 (C-29), 33.9 (C-21), 37.1 (C-4), 38.5 (C-1), 38.8 (C-10), 39.4 (C-8), 41.4 (C-18), 41.7 (C-14), 46.0 (C-19), 46.8 (C-17) 47.7 (C-9), 51.6 (COOCH₃), 55.3 (C-5), 79.1 (C-3), 122.4 (C-12), 143.8 (C-13) y 178.3 (C-28); **EMAR**, m/z : [M+Na]⁺ 493.3660, (C₃₁H₅₀O₃Na, calc. 493.3658).

Maslinato de metilo (**4**): sólido blanco, **pf** 231-233°C; $[\alpha]_D = 60$, (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3389, 2946, 2867, 1726 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.25, (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 3.65 (1H, ddd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 9.5$ Hz, $J_3 = 11.1$ Hz, H-2), 3.60 (3H, s, COOCH₃), 3.00 (1H, d, $J = 9.5$ Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 1.11 (3H, s, 3H-27), 1.01 (3H, s, 3H-23), 0.96 (3H, s, 3H-25), 0.90 (3H, s, 3H-30), 0.88 (3H, s, 3H-29), 0.80 (3H, s, 3H-24), 0.70 (3H, s, 3H-26); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.7 (C-25), 16.8 (C-26), 17.0 (C-24), 18.4 (C-6), 23.1 (C-16), 23.5 (C-11), 23.7 (C-30), 26.0 (C-27), 27.7 (C-15), 28.7 (C-23), 30.8 (C-20), 32.5 (C-7), 32.6 (C-22), 33.2 (C-29), 33.9 (C-21), 38.4 (C-10), 39.3 (C-4), 39.4 (C-8), 41.4 (C-18), 41.8 (C-14), 45.9 (C-17), 46.5 (C-19), 46.8 (C-1), 47.7 (C-9), 51.6 (COOCH₃), 55.4 (C-5), 69.0 (C-2), 84.0 (C-3), 122.3 (C-12), 143.9 (C-13) y 178.4 (C-28); **EMAR**, m/z : [M+Na]⁺ 509.3607 (C₃₁H₅₀O₄Na, calc. 509.3607).

3.2.2.2 Obtención maslinato sódico

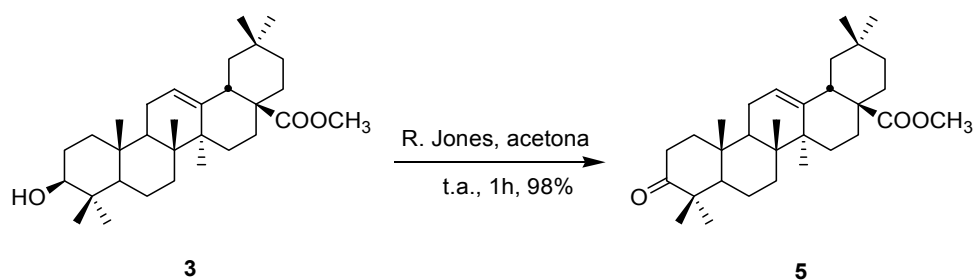


El ácido maslínico **2** (1g, 2 mmol) se disuelve en 5 mL de MeOH y se añade poco a poco una disolución de Na (50 mg, 2.2 mmol) en 5 mL de MeOH, manteniéndose la mezcla de reacción a reflujo 1h. Se deja enfriar en nevera hasta cristalización, se filtra a vacío y se lava con MeOH en frío.

3.3 HIDROXILACIÓN REMOTA DE OLEANATO DE METILO Y MASLINATO DE METILO

3.3.1 HIDROXILACIÓN DIRIGIDA DEL OLEANATO DE METILO (3)

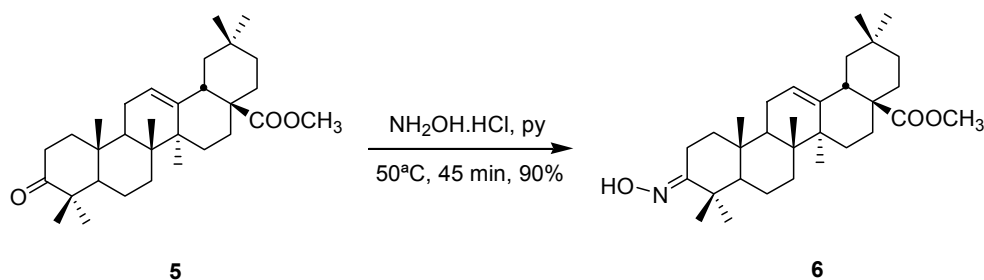
3.3.1.1 Oxidación del oleanoato de metilo (3)



A 794 mg (1.7 mmol) del oleanoato de metilo disueltos en la mínima cantidad de acetona se le añade reactivo de Jones gota a gota hasta persistencia del color anaranjado. A continuación se adicionan unas gotas de metanol y se extrae con CH_2Cl_2 . La capa orgánica se lava con una solución de NaHCO_3 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se evapora el disolvente a vacío. El bruto obtenido se cromatografía en columna aislándose 778 mg (98%) de 3-oxooleanoato de metilo (**5**).

Compuesto **5**: **pf** 160-2° C; $[\alpha]_D^{25} = +67$ (CHCl₃, c 1); **IR** (CHCl₃): ν_{\max} 2946, 2865, 1727 y 1704 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.25 (1H, dd, $J_1=J_2=3.6$ Hz, H-12), 2.86 (1H, dd, $J_1=4.2$ Hz, $J_2=14.1$ Hz, H-18), 3.62 (3H, s, COOCH₃), 2.54 (1H, ddd, $J_1=7.2$ Hz, $J_2=11.1$ Hz, $J_3=15.8$ Hz, H-2 β), 2.34 (1H, ddd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=6.7$ Hz, $J_3=15.8$ Hz, H-2 α), 0.76, 0.88, 0.91, 1.03, 1.03, 1.07 y 1.12 (3H cada uno, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.1 (Me), 16.9 (Me), 19.7 (C-6), 21.6 (Me), 23.1 (C-16), 23.1 (C-16), 23.6 (C-11), 23.7 (Me), 25.9 (Me), 26.5 (Me), 27.8 (C-15), 30.8 (C-20), 32.2 (C-7), 32.4 (C-22), 33.2 (Me), 33.9 (C-2), 34.3 (C-21), 36.8 (C-10), 39.2 (C-1), 39.3 (C-8), 41.4 (C-18), 41.8 (C-14), 45.9 (C-19), 46.8 (C-17), 47.5 (C-4), 49.9 (C-9), 51.7 (Me), 55.4 (C-5), 122.2 (C-12), 143.9 (C-13), 178.4 (C-28), 217.9 (C-3); **EMAR**, m/z : [M+Na]⁺ 491.3505, (C₃₁H₄₈O₃Na, calc. 491.3501).

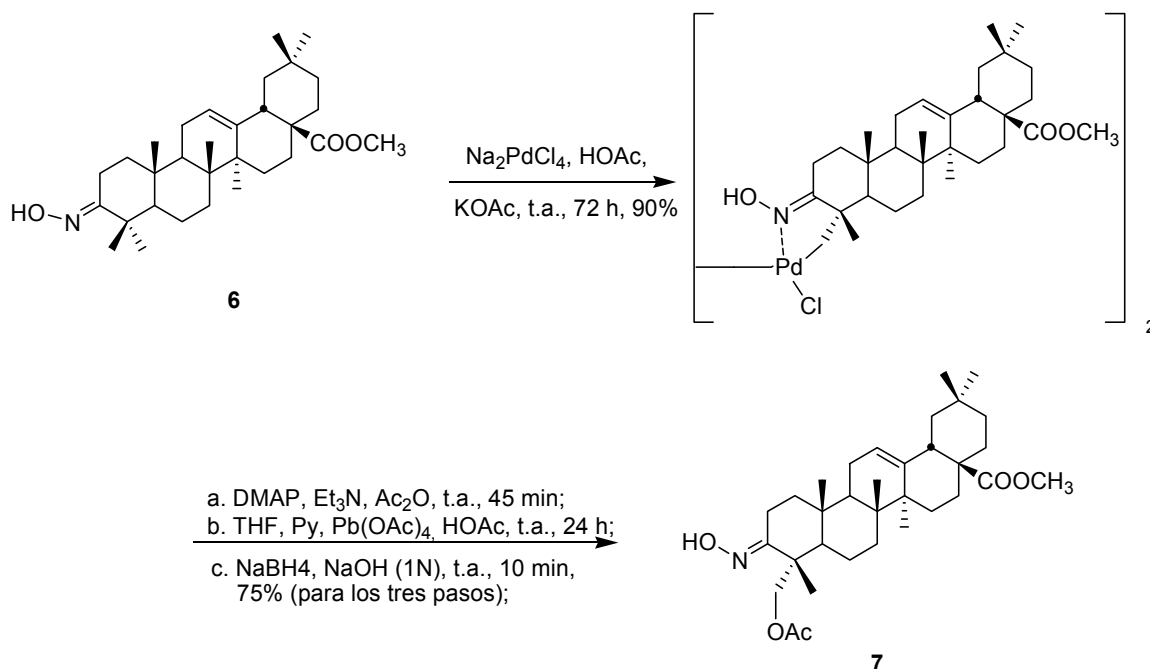
3.3.1.2 Oximación de 3-oxooleanato de metilo (5)



Se disuelven 580 mg (1.2 mmol) de 3-oxooleanato de metilo en 7 mL de piridina y se añaden 172 mg (2.4 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina, manteniéndose la reacción en agitación a 50 °C durante 45 min. Transcurrido este tiempo se procesa extrayendo con una disolución de HCl y neutralizando con una solución de NaHCO₃. Finalmente se seca con Na₂SO₄ anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna, obteniéndose 542 mg (90%) de **6**.

Compuesto **6**: Sólido blanco, **pf** 235-7 °C; $[\alpha]_D^{25} = +19.4$ (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3319, 2947, 1725, 1461, 1165 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.28 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOCH₃), 3.06 (1H, ddd, $J_1 = 3.3$ Hz, $J_2 = 5.2$ Hz, $J_3 = 15.4$ Hz, H-2 α), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 1.14 (3H, s, Me), 1.10 (3H, s, Me), 1.04 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.75 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.0 (Me), 16.9 (Me), 17.1 (CH₂) y 19.1 (CH₂), 23.1 (CH₂), 23.3 (Me), 23.6 (CH₂), 23.7 (Me), 25.9 (Me), 27.2 (Me), 27.7 (CH₂), 30.8 (C), 32.4 (CH₂) y 32.5 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 37.2 (C), 39.4 (C), 40.4 (C), 38.5 (CH₂), 41.4 (CH), 41.8 (C), 45.9 (CH₂), 46.8 (C), 47.3 (CH), 51.6 (Me), 55.9 (CH), 122.3 (CH), 143.9 (C), 167.1 (CH), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : [M+Na]⁺ 506.3620, (C₃₁H₄₉NO₃Na, calc. 506.3618).

3.3.1.3 Ciclopaladación de 3-hidroxiiminioolean-12-en-28-oato de metilo (6)

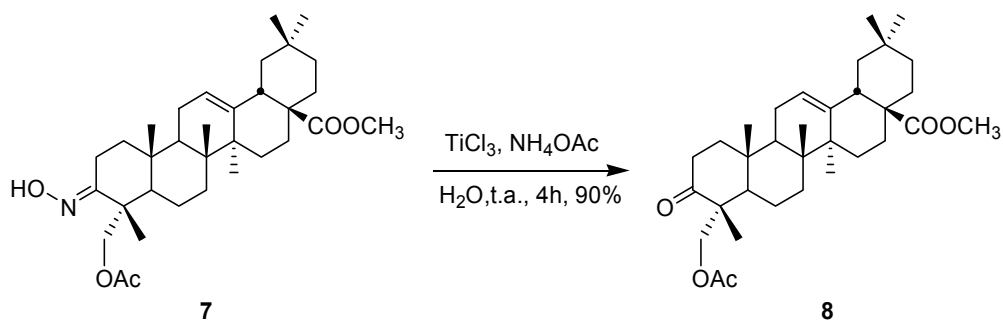


524 mg (1.1 mmol) de **6** se disuelven en 10 mL de AcOH glacial y 60 mL de MeOH y se agregan 128 mg (1.3 mmol) de AcOK y 383 mg (1.3 mmol) de Na₂PdCl₄. Al cabo de 72 h en agitación a temperatura ambiente, se evapora el metanol concentrando a vacío y se elimina el ácido acético glacial con una bomba de alto vacío. A continuación se disuelve el crudo de reacción en CH₂Cl₂ y se filtra a través de Celita[®], concentrándose las aguas madres. El residuo obtenido tras evaporar el disolvente, se disuelve en THF y se añaden 0.3 mL de piridina, manteniéndose 15 min en agitación a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se agregan a -80°C, 4 mL (73 mmol) de AcOH glacial y 536 mg (1.2 mmol) de Pb(OAc)₄. Tras 24 h a temperatura ambiente, diluimos la reacción con éter, neutralizamos con NaHCO₃ y lavamos dos veces la fase acuosa con CH₂Cl₂. Finalmente se seca con Na₂SO₄ anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna, aislándose **7** (446 mg, 75%).

Compuesto **7**: Sólido blanco, **pf** 203-5 °C; **[α]_D** =32 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2948, 2866, 1734, 1719, 1376, 1219 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.29 (1H, dd, J₁ = J₂ = 3.6 Hz, H-12), 4.11 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-23a), 4.06 (1H, d, J = 11.0 Hz, H-23b), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.83 (2H, m, H-18 y H-2a), 2.04 (3H, ddd, J₁=7.1 Hz, J₂=11.6 Hz, J₃=16.9 Hz), 1.10 (3H, s, Me), 1.05 (3H, s, Me), 0.97 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.75 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.0 (Me), 16.9 (Me), 19.4 (CH₂), 18.0 (CH₂), 19.5 (Me), 21.1 (Me), 23.1 (CH₂), 23.6 (CH₂), 23.7 (Me), 25.8 (Me), 27.7 (CH₂), 30.8 (C), 32.0 (CH₂), 32.4 (CH₂), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 37.0 (CH₂), 36.7 (C), 39.4 (C), 41.5 (CH), 41.9 (C), 42.9 (C), 45.9 (CH₂), 46.9 (CH₂ y C), 48.7

(CH), 51.6 (Me), 68.4 (CH₂), 122.3 (CH), 143.9 (C), 163.0 (CH), 171.1 (Me), 178.3 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 564.3664, (C₃₃H₅₁NO₅Na 564.3660).

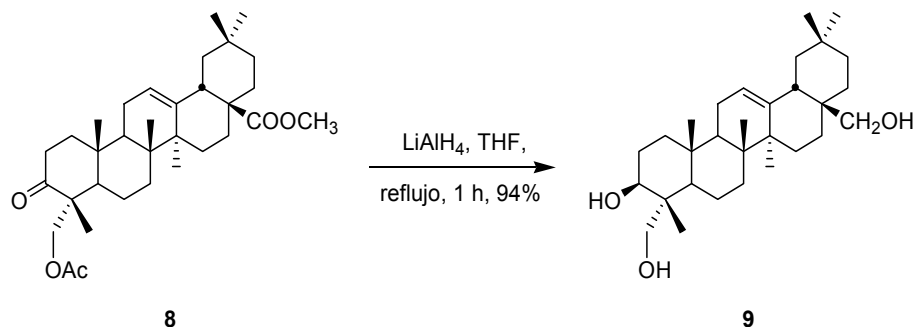
3.3.1.4 Hidrólisis de 23-acetoxi-3-hidroxiiminioolean-12-en-28-oato de metilo (7)



A una disolución de TiCl₃ (0.5 mL de una disolución acuosa al 20% de HCl que contiene 19% TiCl₃) y NH₄OAc (200 mg, 2.6 mmol) en agua (8 mL) se añade una disolución de la oxima **7** (450 mg, 0.8 mmol) en THF (15 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 4 h y se extrae con CH₂Cl₂. El extracto se lava con disolución saturada de NaHCO₃, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y el disolvente se evapora al vacío para dar un sólido que se purifica en columna de cromatografía flash obteniéndose el producto **8** (394 mg, 90%).

Compuesto **8**: Sirupo; [α]_D²⁰ = 68 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2933, 2863, 1734, 1459, 1234 cm⁻¹; **¹H NMR** (CDCl₃): δ 5.30 (1H, dd, *J*₁ = *J*₂ = 3.6 Hz, H-12), 4.08 (1H, d, *J* = 11.1 Hz, H-23a), 4.04 (1H, d, *J* = 11.1 Hz, H-23b), 3.62 (3H, s, COOCH₃), 2.85 (1H, dd, *J*₁ = 4.0 Hz, *J*₂ = 13.9 Hz, H-18), 2.42 (2H, m, H-2), 2.01 (3H, s, Me), 1.13 (3H, s, Me), 1.04 (3H, s, Me), 1.00 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.78 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.0 (Me), 17.0 (Me), 17.6 (Me), 19.6 (CH₂), 20.9 (Me), 23.6 (CH₂), 23.2 (CH₂), 23.7 (ME), 25.8 (ME), 27.8 (CH₂), 30.8 (C), 32.4 (CH₂), 32.1 (CH₂), 33.2 (ME), 34.0 (CH₂), 35.0 (CH₂), 37.8 (CH₂), 39.4(C), 36.5 (C), 41.6 (CH), 41.9 (C), 45.9 (CH₂), 46.8 (CH), 46.9 (C), 48.5 (CH), 50.3 (C), 51.6 (Me), 67.7 (CH₂), 122.2 (CH), 144.1 (C), 170.8 (Me), 178.3 (C), 214.5 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 549.3556, (C₃₃H₅₀O₅Na, calc. 549.3553).

3.3.1.5 Reducción con LiAlH_4 de 3-oxo-23-acetoxiolean-12-en-28-oato de metilo (**8**)

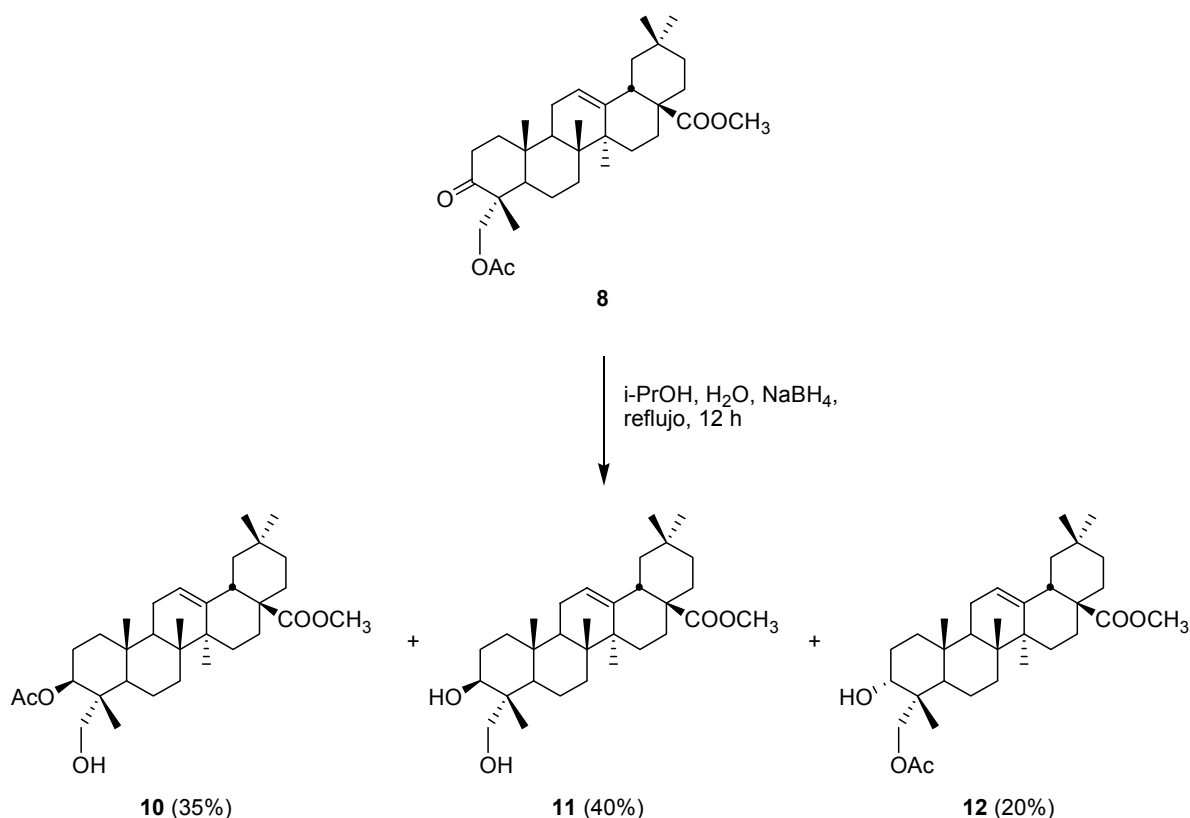


El compuesto **8** (200 mg, 0.38 mmol) se disuelve en THF seco (10 mL) y se añade una disolución 1 M de LiAlH_4 en THF (1 mL). La mezcla de reacción se mantiene con agitación a reflujo durante 1 h, el exceso de reactivo se destruye con MeOH y el disolvente se concentra bajo presión reducida. El crudo de producto se purifica en una columna de silicagel para dar 23-hidroxi eritrodiool (**9**) (164 mg, 94%).

Compuesto **9**: **IR** (CHCl_3): ν 3364, 2930, 2857, 1725, 1459, 756 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.18 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.72 (1H, d, $J = 10.3$ Hz, H-23a), 3.63 (1H, dd, $J_1 = 6.8$ Hz, $J_2 = 9.0$ Hz, H-3), 3.53 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz, H-28a), 3.42 (d, 1H, $J = 10.3$ Hz, H-23b), 3.20 (d, 1H, $J = 11.0$ Hz, H-28b), 1.15 (3H, s, Me), 0.97 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 11.4 (Me), 16.0 (Me), 16.8 (Me), 18.6 (CH_2), 22.1 (CH_2), 23.6 (CH_2), 23.7 (Me), 25.6 (CH_2), 26.0 (Me), 26.9 (CH_2), 31.0 (C), 31.1 (CH_2), 32.5 (CH_2), 33.3 (Me), 34.2 (CH_2), 36.9 (C), 37.0 (C), 39.9 (C), 38.4 (CH_2), 41.9 (C), 42.0 (C), 42.4 (CH), 46.6 (CH_2), 47.6 (CH), 49.8 (CH), 72.2 (CH_2), 76.9 (CH), 122.4 (CH), 143.9 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 481.3720, ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}_3\text{Na}$, calc. 481.3714).

3.3.1.6 Reducción con NaBH_4 de 3-oxo-23-acetoxiolean-12-en-28-oato de metilo (**8**)

El compuesto **8** (200 mg, 0.37 mmol) se disuelve en $i\text{-PrOH-H}_2\text{O}$ (3:1) (10 mL) y se añade NaBH_4 (70 mg, 2 mmol). La mezcla de reacción se agita a reflujo durante 12 h, el exceso de reactivo se destruye con NaHSO_4 y se extrae con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se concentra a vacío. La purificación del residuo sólido mediante cromatografía en columna flash nos proporciona los productos **10** (68 mg, 35%), **11** (72 mg, 40%) y **12** (39 mg, 20%).



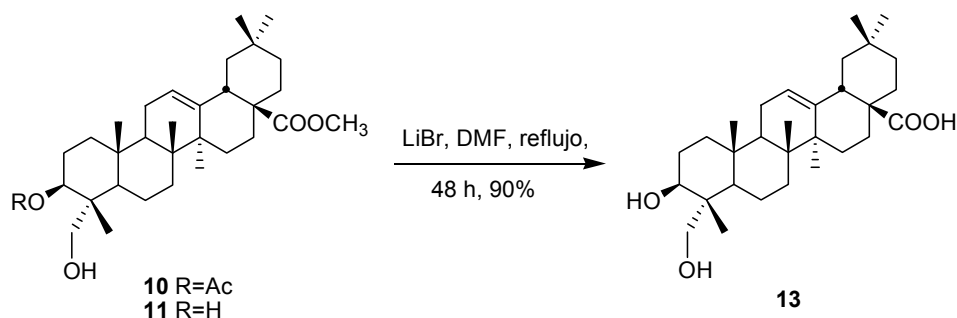
Compuesto **10**: Sirupo; $[\alpha]_D = 70$ (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 3439, 2934, 1732, 1458, 1248 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.27 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 4.87 (dd, 1H, $J_1 = 4.6$ Hz, $J_2 = 12.1$ Hz, H-3), 3.61 (3H, s, COOMe), 3.36 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-23a), 2.89 (1H, d, $J = 12.6$ Hz, H-23b), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, H-18), 2.06 (3H, s, Me), 1.12 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.71 (3H, s, Me), 0.66 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 13.0 (Me), 16.0 (Me), 16.9 (Me), 17.8 (CH₂), 21.2 (Me), 23.2 (CH₂) y 23.5 (CH₂), 23.7 (Me), 26.1 (Me), 27.8 (CH₂), 30.8 (CH₂ y C), 32.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 36.8 (C), 39.4 (C), 38.1 (CH₂), 41.4 (CH), 41.8 (C), 42.4 (C), 46.0 (CH₂), 46.8 (CH y C), 47.6 (CH), 51.6 (Me), 64.6 (CH₂), 74.8 (CH), 122.2 (CH), 144.1 (C), 172.4 (C), 178.4 (C); EMAR, m/z : $[M+Na]^+$ 551.3716, (C₃₃H₅₂O₅Na, calc. 551.3712).

Compuesto **11**: Sólido blanco, pf 229-30 °C $[\alpha]_D = 68$ (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 3364, 2930, 2857, 1725, 1459 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.71 (1H, d, $J = 10.4$ Hz, H-23a), 3.63 (1H, dd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 10.1$ Hz, H-3), 3.61 (3H, s, COOMe), 3.41 (d, 1H, $J = 10.4$ Hz, H-23b), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz, H-18), 1.24 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 0.94 (3H, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.71 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 15.5 (Me), 15.8 (Me), 17.0 (Me), 18.6 (CH₂), 23.5 (CH₂), 23.2 (CH₂), 23.7 (Me), 26.1 (Me), 26.9 (CH₂), 27.8 (CH₂), 30.8 (C), 32.5 (CH₂), 32.6 (CH₂), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 37.0 (C),

39.4 (C), 38.2 (CH₂), 41.4 (CH), 41.8 (C), 41.9 (C), 46.0 (CH₂), 46.8 (C), 47.7 (CH), 49.9 (CH), 51.6 (Me), 72.2 (CH₂), 77.0 (CH), 122.4 (CH), 143.9 (C), 178.4 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 509.3607, (C₃₁H₅₀O₄Na, calc. 509.3607).

Compuesto **12**: Sirupo; [α]_D = 51 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3444, 2933, 2863, 1726, 1251 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.27 (1H, dd, *J*₁ = *J*₂ = 3.6 Hz, H-12), 4.18 (1H, d, *J* = 11.5 Hz, H-23a), 3.81 (1H, d, *J* = 11.5 Hz, H-23b), 3.61 (3H, s, COOMe), 3.41 (dd, 1H, *J*₁ = 4.8 Hz, *J*₂ = 4.8 Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, *J*₁ = 4.4 Hz, *J*₂ = 14.3 Hz, H-18), 2.09 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.77 (3H, s, Me), 0.71 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 12.9 (Me), 15.9 (Me), 17.0 (Me), 18.3 (CH₂), 21.1 (Me), 23.2 (CH₂), 23.5 (CH₂), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 26.2 (CH₂), 27.8 (CH₂), 30.8 (C), 32.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 37.0 (C), 39.4 (C), 38.3 (CH₂), 41.4 (CH), 41.7 (C), 42.1 (C), 46.0 (CH₂), 46.8 (C), 47.9 (CH), 48.4 (CH), 51.6 (Me), 67.6 (CH₂), 72.8 (CH), 122.4 (CH), 143.9 (C), 171.5 (C), 178.3 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 551.3712, (C₃₃H₅₂O₅Na, calc. 551.3712).

3.3.1.7 Desmetilación en C-28 de 23-hidroxiderivados **10** y **11**.



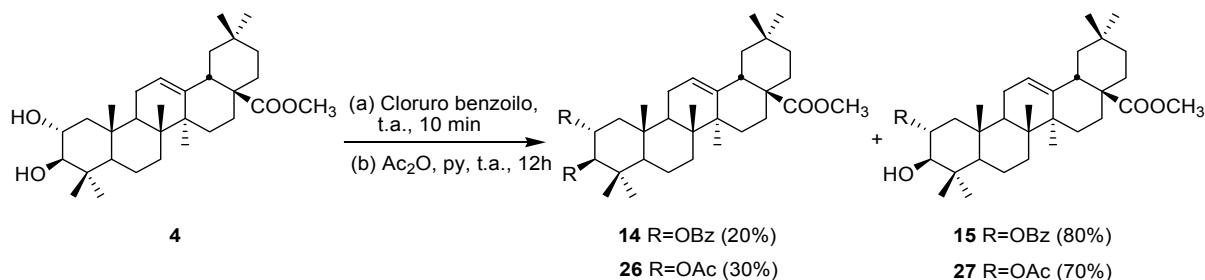
El compuesto **10** (200 mg, 0.38 mmol) se disuelve in DMF (3 mL) y se agrega LiBr (326 mg, 10 eq). La mezcla de reacción se agita durante 48 h a reflujo, la DMF se elimina a presión reducida y se purifica el residuo sólido en columna de silicagel con mezcla 10:1 de CH₂Cl₂:MeOH obteniéndose hederagenina (**13**) (157 mg, 90%).

Compuesto **13**: Sólido blanco, **pf** 268-70 °C; [α]_D = 61 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3335, 2928, 2850, 1692, 1457 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.31 (1H, dd, *J*₁ = *J*₂ = 3.6 Hz, H-12), 3.67 (1H, dd, *J*₁ = 5.0 Hz, *J*₂ = 10.8 Hz, H-3), 3.59 (1H, d, *J* = 10.9 Hz, H-23a), 3.36 (d, 1H, *J* = 10.9 Hz, H-23b), 2.92 (1H, dd, *J*₁ = 4.2 Hz, *J*₂ = 13.4 Hz, H-18), 1.24 (3H, s, Me), 1.04 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 0.98 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.77 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 12.7 (Me), 16.3 (Me), 17.8 (Me), 19.2 (CH₂), 24.0 (Me), 24.1 (CH₂), 24.5 (CH₂), 26.4 (Me), 27.4 (CH₂), 28.9 (CH₂), 31.6 (C), 33.5 (Me), 33.5 (CH₂), 33.8 (CH₂), 34.9 (CH₂), 37.9 (C), 40.5 (C), 39.5 (CH₂),

42.8 (CH), 43.0 (C), 43.3 (C), 47.3 (CH₂), 47.7 (C), 48.8 (CH), 49.9 (CH), 67.6 (CH₂), 74.1 (CH), 122.6 (CH), 145.3 (C), 181.8 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 495.3451, (C₃₀H₄₈O₄Na, calc. 495.3450).

3.3.2 OXIDACIÓN DIRIGIDA DEL MASLINATO DE METILO (4)

3.3.2.1 Benzoilación y acetilación en C-2 de maslinato de metilo (4)



3.3.2.1.a Benzoilación de maslinato de metilo (4)

1.2 g (2.5 mmol) de maslinato de metilo (**4**) se disuelven en 5 mL de piridina y se añaden 1.2 mL (10 mmol) de cloruro de benzoilo. La reacción se mantiene en agitación 10 min a temperatura ambiente. A continuación se diluye con CH₂Cl₂ y se lava con disolución de HCl. La fase orgánica se neutraliza con disolución de NaHCO₃ y se seca con Na₂SO₄ anhidro. Finalmente, se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna obteniéndose los productos **14** (348 mg, 20%) y **15** (1160 mg, 80%).

Compuesto **14**: sirupo; [α]_D = -12 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2946, 1723, 1279, 710 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 7.4-8.2 (10H, m, grupos benzoilos), 5.46 (1H, ddd, *J*₁ = 4.6 Hz, *J*₂ = *J*₃ = 10.4 Hz, H-2), 5.26 (1H, dd, *J*₁ = *J*₂ = 3.4 Hz, H-12), 5.21 (1H, d, *J* = 10.4 Hz, H-3), 3.62 (3H, s, COOMe), 2.86 (1H, dd, *J*₁ = 4.0 Hz, *J*₂ = 13.9 Hz, H-18), 2.25 (1H, dd, *J*₁ = 4.6 Hz, *J*₂ = 12.3 Hz, H-1), 1.17 (3H, s, Me), 1.14 (3H, s, Me), 1.09 (3H, s, Me), 1.00 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.75 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.6 (Me), 16.9 (Me), 17.0 (Me), 18.4 (C-6), 23.1 (C-16), 23.6 (C-11), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.7 (C-15), 28.6 (Me), 30.8 (C-20), 32.4 (C-7), 32.6 (C-22), 33.2 (Me), 34.0 (C-21), 38.5, 39.5 y 39.9 (C-4, C-8 y C-10), 41.3 (C-18), 41.8 (C-14), 44.0 (C-1), 45.9 (C-19), 46.8 (C-17), 47.7 (C-9), 51.6 (Me), 55.2 (C-5), 71.1 (C-2), 81.1 (C-3), 122.1 (C-12), 128.3 (CH), 128.3 (CH), 128.9 (CH), 129.6 (CH), 129.6 (CH), 130.2(C), 130.3 (C), 130.6 (CH), 132.8 (CH), 132.9 (CH), 134.6 (CH) y 162.4 (CH), 143.9 (C-13), 166.3 (C), 166.5 (C), 178.3 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 717.4132, (C₄₅H₅₈O₆Na, calc. 717.4131).

Compuesto **15**: sólido blanco, **pf** 125-127 °C; $[\alpha]_D = 12$ (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3463, 2947, 1720, 1277, 756 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 7.4-8.1 (5H, m, grupos benzoilo), 5.25 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 5.19 (1H, ddd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 10.0$ Hz, $J_3 = 11.3$ Hz, H-2), 3.61 (3H, s, COOMe), 3.37 (1H, d, $J = 10.0$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 2.11 (1H, dd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 12.1$ Hz, H-1), 1.12 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.72 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.5 (Me), 16.8 (Me), 16.9 (Me), 18.4 (CH₂), 23.1 (CH₂), 23.6 (CH₂), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.7 (CH₂), 28.7 (Me), 30.8 (C), 32.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 38.5 (C), 39.4 (C), 40.0 (C), 41.3 (CH), 41.8 (C), 43.8 (CH₂), 45.9 (CH₂), 46.8 (C), 47.7 (CH), 51.6 (Me), 55.3 (CH), 74.1 (CH), 81.0 (CH), 122.1 (CH), 128.4 (CH), 128.4 (CH), 129.7 (CH), 129.7 (CH), 130.5 (C), 133.1 (CH), 143.9 (C), 167.1 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : $[M+Na]^+$ 613.3870, (C₃₈H₅₄O₅Na, calc. 613.3870).

3.3.2.1.b Acetilación de maslinato de metilo (**4**)

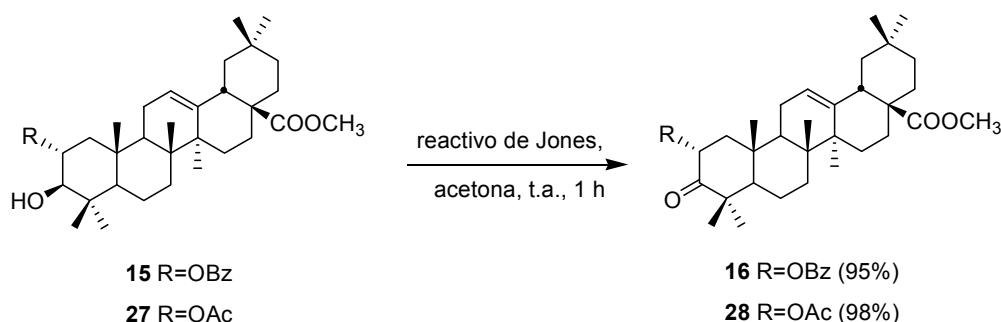
1.2 g (2.5 mmol) de maslinato de metilo (**4**) se disolvieron en 13 mL de Ac₂O-Py (1:2) y se agita durante 12 horas a temperatura ambiente. Finalizada la reacción, se añade agua fría y se extrae varias veces con CH₂Cl₂. A continuación se lava la fase orgánica con HCl y posteriormente con una disolución de NaHCO₃ hasta pH neutro, se seca con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el disolvente a vacío. Por último, se purifica en columna flash de silicagel obteniéndose **26** (427 mg, 30%) y **27** (924 mg, 70%).

Compuesto **26**: **pf** 172°C; $[\alpha]_D = 34.0$ (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2947, 2870 y 1741 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.26 (1H, dd, $J_1=J_2=3.7$ Hz, H-12), 5.09 (1H, ddd, $J_1=4.9$ Hz, $J_2=10.3$ Hz, $J_3=11.6$ Hz, H-2), 4.73 (1H, d, $J = 10.3$ Hz, H-3), 3.60 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1=4.2$ Hz, $J_2=14.0$ Hz, H-18), 1.95 y 2.03 (6H, s, 2Me), 1.11 (3H, s, Me), 1.04 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me) y 0.72 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.5 (Me), 16.94 (Me), 17.7 (Me), 18.3 (CH₂), 20.9 (Me), 21.1 (Me), 23.2 (CH₂), 23.6 (CH₂), 23.7 (CH₂), 25.9 (Me), 27.8 (CH₂), 28.6 (Me), 30.8 (C), 32.5 (CH₂), 32.6 (CH₂), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 38.3 (C), 39.5 (C), 39.5 (C), 41.5 (CH), 41.9 (C), 44.1 (CH₂), 46.0 (CH₂), 46.9 (C), 47.7 (CH), 51.5 (Me), 55.1 (CH), 70.1 (CH), 80.8 (CH), 122.1 (CH), 144.0 (C), 170.5 (C), 170.8 (C), 178.2 (C); **EMAR**, m/z : $[M+Na]^+$ 593.3823, (C₃₅H₅₄O₆Na, calc. 593.3818).

Compuesto **27**: **pf** 166-8 °C; $[\alpha]_D = +24.3$ (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3513, 2946, 2867 y 1727 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.26 (1H, dd, $J_1=J_2=3.6$ Hz, H-12), 4.92 (1H, ddd, $J_1=6.0$ Hz, $J_2=10.2$ Hz, $J_3=11.4$ Hz, H-2), 3.60 (3H, s, COOMe), 3.17 (1H, d, $J=10.2$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J_1=4.4$ Hz, $J_2=13.9$ Hz, H-18), 2.05 (3H, s, Me), 1.10 (3H, s, Me), 1.03 (3H, s, Me), 1.00 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.84 (3H, s, Me) y 0.70 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.4 (Me), 16.7

(Me), 16.9 (Me), 18.3 (CH₂), 21.5 (Me), 23.1 (CH₂), 23.5 (CH₂), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.7 (CH₂), 28.6 (Me), 30.8 (C), 32.4 (CH₂), 32.5 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 38.4 (C), 39.4 (C), 39.8 (C), 41.3 (CH), 41.7 (C), 43.7 (CH₂), 45.9 (CH₂), 46.7 (C), 47.6 (CH), 51.63 (Me), 55.2 (CH), 73.3 (CH), 80.9 (CH), 122.1 (CH), 143.9 (C), 171.7 (C), 178.3 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 551.3712, (C₃₃H₅₂O₅Na, calc. 551.3712).

3.3.2.2 Oxidación de los compuestos **15** y **27**.



3.3.2.2.a Oxidación de 2 α -benzoiloxi-3 β -hidroxi-12-en-28-ato de metilo (**15**)

1.2 g (2 mmol) de **15** se disolvieron en la mínima cantidad de acetona. Sobre baño de hielo, se fue añadiendo con agitación, reactivo de Jones gota a gota hasta persistencia del color anaranjado. Posteriormente, se adicionan unas gotas de metanol y se extrae con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lava con una solución de NaHCO₃, se seca con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el disolvente a vacío. El bruto obtenido se cromatografía en columna aislandose **16** (1175 mg, 95%).

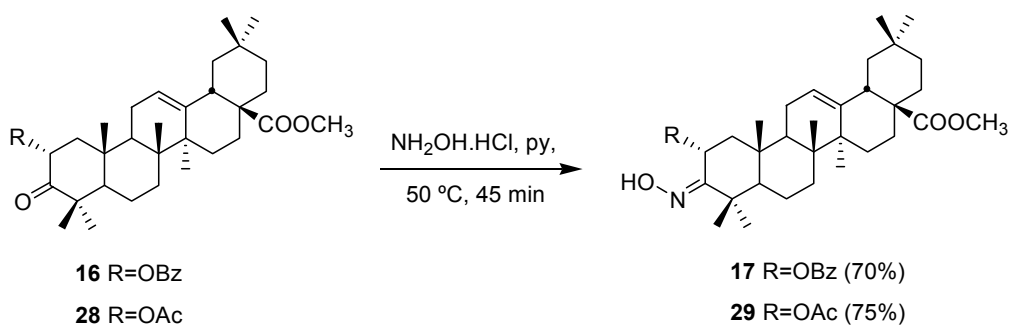
Compuesto **16**: sirupo; [α]_D = 30 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2946, 1721, 1460, 1272, 1119, 756, 711 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 7.4-8.1 (5H, m, grupo benzoilo), 5.85 (1H, dd, J_1 = 6.1 Hz, J_2 = 13.3 Hz, H-2), 5.29 (1H, dd, J_1 = J_2 = 3.5 Hz, H-12), 3.63 (3H, s, COOMe), 2.87 (1H, dd, J_1 = 4.2 Hz, J_2 = 13.8 Hz, H-18), 2.35 (1H, dd, J_1 = 6.1 Hz, J_2 = 12.3 Hz, H-1), 1.34 (3H, s, Me), 1.20 (3H, s, Me), 1.14 (3H, s, Me), 1.12 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.79 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.0 (Me), 17.1 (Me), 19.2 (CH₂), 21.4 (Me), 23.1 (CH₂), 23.7 (CH₂), 23.7 (Me), 25.0 (Me), 26.0 (Me), 27.8 (CH₂), 30.8 (C), 32.4 (CH₂), 32.4 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 38.1 (C), 39.5 (C), 41.3 (CH), 41.8 (C), 45.8 (CH₂) y 45.9 (CH₂), 46.8 (C), 47.5 (CH), 48.9 (C), 51.6 (Me), 57.3 (CH), 72.3 (CH), 121.8 (CH), 128.4 (CH), 128.4 (CH), 129.9 (CH), 129.9 (CH), 130.0 (C), 133.1 (CH), 144.2 (C), 165.9 (C), 178.3 (C), 209.0 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 611.3714, (C₃₈H₅₂O₅Na, calc. 611.3712).

3.3.2.2.b Oxidación de 2 α -acetoxi-3 β -hidroxi-12-en-28-ato de metilo (**27**)

1.5 g (2.5 mmol) de **27** se disolvieron en la mínima cantidad de acetona. Sobre baño de hielo, se fue añadiendo con agitación, reactivo de Jones gota a gota hasta persistencia del color anaranjado. Posteriormente, se adicionan unas gotas de metanol y se extrae con CH₂Cl₂. La fase orgánica se lava con una solución de NaHCO₃, se seca con Na₂SO₄ anhidro y se evapora el disolvente a vacío. El bruto obtenido se cromatografía en columna obteniéndose **28** (1250 mg, 95%).

Compuesto **28**: Sólido blanco, **pf** 184-6°C; **[α]_D** = 67.0° (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2947, 2867, 1748 y 1724 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.58 (1H, dd, J₁=6.1 Hz, J₂=13.3 Hz, H-2), 5.26 (1H, dd, J₁=J₂=3.6 Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.84 (1H, dd, J₁=4.3 Hz, J₂=13.5 Hz, H-18), 2.12 (3H, s, Me), 1.26 (3H, s, Me), 1.12 (3H, s, Me), 1.09 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.76 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.9 (Me), 17.0 (Me), 19.1 (CH₂), 20.8 (Me), 21.3 (Me), 23.0 (CH₂), 23.6 (CH₂), 23.66 (Me), 24.9 (Me), 25.9 (Me), 27.7 (CH₂), 30.7 (C), 32.3 (CH₂), 33.1 (Me), 32.3 (CH₂), 33.8 (CH₂), 37.9 (C), 39.4 (C), 41.3 (CH), 41.7 (C), 45.6 (CH₂), 45.8 (CH₂), 46.7 (C), 47.4 (CH), 48.7 (C), 51.6 (Me), 57.2 (CH), 71.7 (CH), 121.7 (CH), 144.2 (C), 170.3 (C), 178.2 (C), 209.3 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 549.3541, (C₃₃H₅₀O₅Na, calc. 549.3556).

3.3.2.3 Oximación en C-3 de **16** y **28**.



3.3.2.3.a Oximación de 3-oxo-2 α -benzoiloxiolean-12-en-28-ato (**16**)

Se disuelven 2.4 g (4.1 mmol) de **16** en 300 mL de MeOH y se añaden 400 mg (4.1 mmol) de AcOK y 570 mg (8.2 mmol) de hidrocloreuro de hidroxilamina, manteniéndose la reacción en agitación a 50 °C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna, aislándose **17** (1.72 g, 70%).

Compuesto **17**: sirupo; **[α]_D** = 42 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3436, 2949, 1722, 1270, 756, 712 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 7.4-8.0 (5H, m, grupo benzoilo), 6.49 (1H, dd, J₁ = 4.6 Hz, J₂ =

8.5 Hz, H-2), 5.29 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 13.6$ Hz, H-18), 2.33 (1H, dd, $J_1 = 8.5$ Hz, $J_2 = 14.4$ Hz, H-1 α), 1.30 (3H, s, Me), 1.18 (3H, s, Me), 1.12 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.75 (3H, s, Me); ^{13}C RMN (CDCl₃): δ 16.5 (Me), 16.5 (Me), 20.0 (CH₂), 23.0 (CH₂), 23.2 (CH₂), 23.6 (Me), 23.6 (Me), 25.7 (Me), 27.7 (CH₂), 30.7 (C), 32.1 (CH₂), 32.4 (CH₂), 32.5 (Me), 33.1 (Me), 34.0 (CH₂), 36.8 (C), 39.2 (C), 39.4 (C), 41.6 (CH), 42.0 (C), 45.3 (CH₂), 45.8 (CH₂), 46.5 (CH), 46.9 (C), 51.6 (Me), 52.4 (CH), 62.7 (CH), 122.4 (CH), 128.4 (CH), 128.4 (CH), 129.7 (CH), 129.7 (CH), 130.4 (C), 133.0 (CH), 143.6 (C), 162.3 (C), 165.6 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : [M+Na]⁺ 626.3818 (C₃₃H₅₁NO₅Na, calc. 626.3821).

3.3.2.3.b Oximación de 2-oxo-2 α -acetoxiolean-12-en-28-ato (**28**)

Se disuelven 2.0 g (3.8 mmol) de **28** en 250 mL de MeOH y se añaden 370 mg (3.8 mmol) de AcOK y 530 mg (7.6 mmol) de hidrocloreuro de hidroxilamina, manteniéndose la reacción en agitación a 50 °C durante 24 h. Transcurrido este tiempo, se concentra a vacío y se purifica el residuo obtenido en columna cromatográfica, aislándose **29** (1.54 g, 75%).

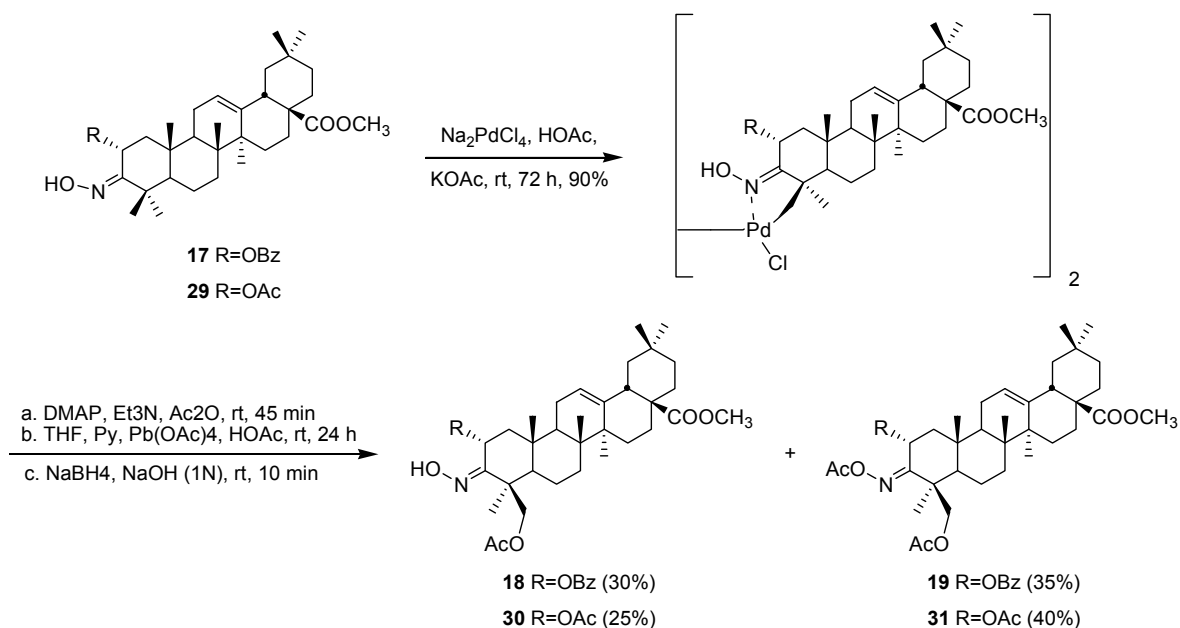
Compuesto **29**: Sólido blanco, **pf** 194-6°C; $[\alpha]_D = 49$ (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3433, 2948, 1729, 1237, 756 cm⁻¹; ^1H RMN (CDCl₃): δ 6.20 (1H, dd, $J_1 = 5.2$ Hz, $J_2 = 8.7$ Hz, H-2), 5.29 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 3.60 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 2.24 (1H, dd, $J_1 = 8.7$ Hz, $J_2 = 14.2$ Hz, H-1), 2.03 (3H, s, Me), 1.24 (3H, s, Me), 1.15 (3H, s, Me), 1.13 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.83 (3H, s, Me), 0.73 (3H, s, Me); ^{13}C RMN (CDCl₃): δ 16.2 (Me), 16.5 (Me), 19.9 (CH₂), 21.2 (Me), 23.2 (CH₂), 23.62 (CH₂), 23.6 (Me), 23.6 (Me), 25.8 (Me), 27.7 (CH₂), 30.8 (C), 32.0 (CH₂), 32.4 (CH₂), 32.5 (Me), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 36.8 (C), 39.2 (C), 39.4 (C), 41.6 (CH), 42.0 (C), 45.1 (CH₂), 45.9 (CH₂), 46.4 (CH), 46.9 (C), 51.6 (C), 52.4 (CH), 62.2 (CH), 122.4 (CH), 143.6 (C), 162.4 (C), 170.0 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : [M+H]⁺ 542.3834 (C₃₃H₅₁NO₅, calc. 542.3840).

3.3.2.4 Ciclopaladación de la oxima en C-3 de **17** y **29**

3.3.2.4.a Ciclopaladación de 2 α -benzoiloxo-3-hidroxiiminioolean-12-28-ato de metilo (**17**)

1.8 g (3 mmol) de **17** se disuelven en 160 mL de AcOH glacial y 60 mL de MeOH y se agregan 324 mg (3.3 mmol) de AcOK y 100 mg (3.4 mmol) de Na₂PdCl₄. Al cabo de 72 h en agitación a temperatura ambiente, se evapora el metanol concentrando a vacío y se elimina el ácido acético glacial con una bomba de alto vacío. A continuación se disuelve el crudo de reacción en CH₂Cl₂ y se filtra a través de Celita[®], concentrándose las aguas madres. El residuo obtenido tras evaporar el disolvente, se disuelve en THF y se añaden 0.3 mL de piridina,

manteniéndose 15 min en agitación a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se agregan a -80°C , 40 mL de AcOH glacial y 1.16 g (2.6 mmol) de $\text{Pb}(\text{OAc})_4$. Tras 24 h a temperatura ambiente, diluimos la reacción con éter, neutralizamos con NaHCO_3 y lavamos dos veces la fase acuosa con CH_2Cl_2 . Finalmente se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna, aislándose **18** (296 mg, 30%) y **19** (629 mg, 35%).



Compuesto **18**: Sirupo; $[\alpha]_D^{25} = 37$ (c 1, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 3417, 2948, 1722, 1267, 755 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 7.4-8.0 (5H, m, grupo benzoilo), 6.38 (1H, dd, $J_1 = 7.1$ Hz, $J_2 = 8.5$ Hz, H-2), 5.27 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.1$ Hz, H-12), 4.43 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-24a), 4.12 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-24b), 3.59 (3H, s, COOMe), 2.83 (1H, dd, $J_1 = 3.9$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz, H-18), 2.46 (1H, dd, $J_1 = 8.5$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-2), 1.95 (3H, s, Me), 1.31 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.85 (3H, s, Me), 0.72 (3H, s, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 16.0 (Me), 16.6 (Me), 19.5 (CH_2), 21.0 (Me), 23.1 (CH_2), 23.6 (Me), 23.9 (CH_2), 25.7 (Me), 27.6 (CH_2), 28.2 (Me), 30.7 (C), 32.3 (CH_2), 32.3 (C-22), 33.1 (Me), 33.9 (C-21), 36.4 (C-8), 39.1 (C-10), 41.4 (C-18), 41.9 (C-14), 42.3 (C-4), 44.1 (CH_2), 45.7 (CH_2), 45.7 (CH), 46.8 (C), 51.6 (Me), 54.7 (CH), 62.6 (CH), 66.9 (CH_2), 122.3 (CH), 128.4 (CH), 128.4 (CH), 129.7 (CH), 129.7 (CH), 130.2 (C), 133.0 (CH), 143.6 (C), 158.5 (C), 165.5 (C), 171.1 (C), 178.3 (C); EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 684.3876 ($\text{C}_{40}\text{H}_{55}\text{NO}_7\text{Na}$, calc. 684.3872).

Compuesto **19**: Sirupo; $[\alpha]_D = 16$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2947, 1725, 1452, 1370, 1267, 1241, 756, 712 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 7.4-8.0 (5H, m, grupo benzoilo), 6.21 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 8.4$ Hz, H-2), 5.29 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.4$ Hz, H-12), 4.46 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-24a), 4.33 (1H, d, $J = 11.6$ Hz, H-24b), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.86 (1H, dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 13.6$ Hz, H-18), 2.45 (1H, dd, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 13.3$ Hz, H-1), 2.03 (3H, s, Me), 1.91 (3H, s, Me), 1.44 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 0.98 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.76 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 15.8 (Me), 16.8 (Me), 19.4 (CH_2), 19.6 (Me), 21.1 (Me), 23.1 (CH_2), 23.6 (Me), 24.0 (CH_2), 25.8 (Me), 27.7 (CH_2), 28.3 (Me), 30.8 (C), 32.4 (CH_2), 32.4 (CH_2), 33.2 (Me), 33.9 (CH_2), 36.7 (C), 39.2 (C), 41.5 (CH), 41.9 (C), 43.9 (CH_2), 45.8 (CH_2), 44.1 (C), 45.7 (CH), 46.8 (C), 51.6 (Me), 55.6 (CH), 64.4 (CH), 66.5 (CH_2), 122.1 (CH), 128.6 (CH), 128.6 (CH), 129.7 (CH), 129.7 (CH), 129.7 (C), 133.4 (CH), 143.9 (C), 165.2 (C), 166.5 (C), 167.7 (C), 170.7 (C), 178.2 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 726.3984 ($\text{C}_{42}\text{H}_{57}\text{NO}_8\text{Na}$, calc. 726.3982).

3.3.2.4.b Ciclopaladación de 2 α -acetoxo-3-hidroxiiminiolean-12-28-ato de metilo (29)

1.4 g (2.5 mmol) de **17** se disuelven en 160 mL de AcOH glacial y 60 mL de MeOH y se agregan 270 mg (2.8 mmol) de AcOK y 830 mg (2.8 mmol) de Na_2PdCl_4 . Al cabo de 72 h en agitación a temperatura ambiente, se evapora el metanol concentrando a vacío y se elimina el ácido acético glacial con una bomba de alto vacío. A continuación se disuelve el crudo de reacción en CH_2Cl_2 y se filtra a través de Celita[®], concentrándose las aguas madres. El residuo obtenido tras evaporar el disolvente, se disuelve en THF y se añaden 8 mL de piridina, manteniéndose 15 min en agitación a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se agregan a -80°C , 40 mL de AcOH glacial y 1.16 g (2.6 mmol) de $\text{Pb}(\text{OAc})_4$. Tras 24 h a temperatura ambiente, diluimos la reacción con éter, neutralizamos con NaHCO_3 y lavamos dos veces la fase acuosa con CH_2Cl_2 . Finalmente se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica por cromatografía en columna, aislándose **30** (387 mg, 25%) y **31** (578 mg, 40%).

Compuesto **30**: sirupo; $[\alpha]_D = 48$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2947, 1775, 1743, 1234, 756 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 6.16 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 8.4$ Hz, H-2), 5.25 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.4$ Hz, H-12), 4.42 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-24a), 4.03 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-24b), 3.58 (3H, s, COOMe), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 13.6$ Hz, H-18), 2.29 (1H, dd, $J_1 = 8.5$ Hz, $J_2 = 13.4$ Hz, H-1), 2.03 (3H, s, Me), 1.99 (3H, s, Me), 1.20 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.70 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 15.8 (Me), 16.7 (Me), 19.3 (CH_2), 19.5 (Me), 21.1 (Me), 23.0 (CH_2), 23.6 (Me), 24.0 (CH_2), 25.7 (Me), 27.7 (CH_2), 28.4 (Me), 30.8 (C), 32.3 (CH_2), 32.4 (CH_2), 33.3 (Me), 34.0 (CH_2), 36.7 (C), 39.0 (C), 41.5 (CH), 41.9 (C), 42.5 (C), 43.5 (CH_2), 45.5 (CH), 45.8 (CH_2), 46.8 (C), 51.6 (Me), 54.6 (CH), 62.2 (CH), 66.7 (CH_2),

$J = 11.6$ Hz, H-24b), 3.63 (3H, s, COOMe), 2.87 (1H, dd, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 13.6$ Hz, H-18), 2.41 (1H, dd, $J_1 = 6.1$ Hz, $J_2 = 12.4$ Hz, H-1), 2.04 (3H, s, Me), 1.39 (3H, s, Me), 1.24 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.78 (3H, s, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 16.9 (Me), 17.0 (Me), 19.8 (CH_2), 20.1 (Me), 20.8 (Me), 23.1 (CH_2), 23.7 (Me), 23.9 (CH_2), 26.0 (Me), 27.8 (CH_2), 30.8 (C), 32.4 (CH_2), 32.8 (CH_2), 33.2 (Me), 33.9 (CH_2), 38.1 (C), 39.5 (C), 41.3 (CH), 41.8 (C), 45.9 (CH_2), 46.3 (CH_2), 46.7 (C), 47.8 (CH), 51.7 (Me), 53.3 (C), 58.4 (CH), 66.2 (CH_2), 72.7 (CH), 121.6 (CH), 128.4 (CH), 128.4 (CH), 129.9 (CH), 129.9 (CH), 129.9 (C), 133.1 (CH), 144.2 (C), 165.5 (C), 171.1 (C), 178.2 (C), 206.1 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 669.3767 ($\text{C}_{40}\text{H}_{54}\text{O}_7\text{Na}$, calc. 669.3768).

3.4.2.5.b Hidrólisis de 2 α ,24-acetoxi-3-hidroxiiminoolean-12-en-28-ato de metilo (30)

A una disolución tampón de (0.15 mL de 20% disolución acuosa de HCl que contiene 19% TiCl_3) y NH_4OAc (70 mg, 0.9 mmol) en agua (3 mL), se añade una disolución de la oxima **30** (150 mg, 0.23 mmol) in THF (5 mL). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 4 horas y se extrae con CH_2Cl_2 . El extracto se lava con disolución saturada de NaHCO_3 , se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se evapora a vacío dando un residuo sólido que se cromatografía en columna flash de silicagel, aislándose **32** (97 mg, 70%).

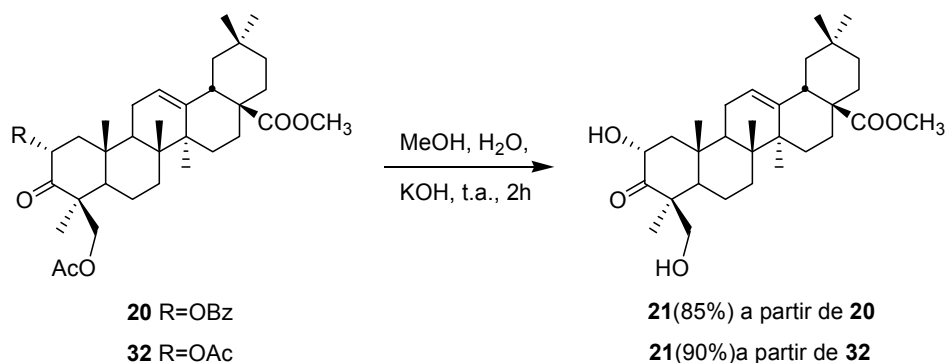
Compuesto **32**: sirupo; $[\alpha]_D = 62$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2947, 1239, 1743, 756 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 5.54 (1H, dd, $J_1 = 6.0$ Hz, $J_2 = 13.2$ Hz, H-2), 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 4.74 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-24a), 3.93 (1H, d, $J = 11.5$ Hz, H-24b), 3.63 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 2.22 (1H, dd, $J_1 = 6.1$ Hz, $J_2 = 12.4$ Hz, H-1), 2.11 (3H, s, Me), 2.00 (3H, s, Me), 1.32 (3H, s, Me), 1.21 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.74 (3H, s, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 16.8 (Me), 16.9 (Me), 19.7 (CH_2), 20.1 (Me), 20.7 (Me), 20.8 (Me), 23.0 (CH_2), 23.8 (CH_2), 25.9 (Me), 27.7 (CH_2), 27.6 (Me), 30.8 (C), 32.3 (CH_2), 32.7 (CH_2), 33.1 (Me), 33.9 (CH_2), 37.9 (C), 39.4 (C), 41.2 (CH), 41.7 (C), 45.9 (CH_2), 46.1 (CH_2), 46.6 (C), 46.7 (C), 47.7 (CH), 51.7 (Me), 58.3 (CH), 66.1 (CH_2), 72.2 (H), 122.5 (CH), 144.2 (C), 169.9 (C), 171.1 (C), 178.2 (C), 206.4 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 607.3610 ($\text{C}_{35}\text{H}_{52}\text{O}_7\text{Na}$, calc. 607.3606).

3.3.2.6 Saponificación de 20 y 32.

3.3.2.6.a Saponificación 2 α -benzoiloxi-24-acetoxi-3-oxoolean-12-en-28-ato de metilo (20)

El 3-oxoderivado **20** (100 mg, 0.15 mmol) se disuelve en 2 mL de MeOH y se añaden 2 mL de KOH (20%) hidrometanólica (al 70%). La mezcla de reacción se agita a reflujo durante 2 horas, se neutraliza con HCl (20%) y se extrae con CH_2Cl_2 . El extracto se lava con disolución

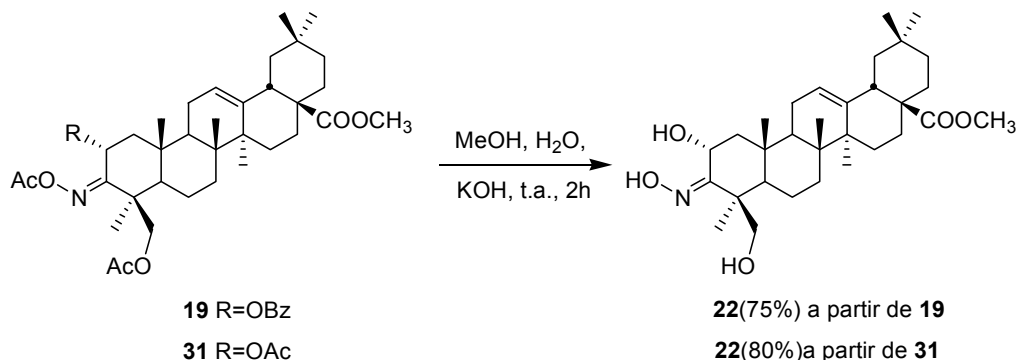
saturada de NaHCO_3 , se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se evapora a vacío dando un residuo sólido que se cromatografía en columna flash de silicagel, aislándose **21** (66 mg, 85 %).



Compuesto **21**: Sirupo; $[\alpha]_D = 64$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3467, 2947, 1720, 1461, 1164, 756 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 4.54 (1H, dd, $J_1 = 6.4$ Hz, $J_2 = 12.1$ Hz, H-2), 4.12 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-24a), 3.60 (3H, s, COOMe), 3.55 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-24b), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 2.38 (1H, dd, $J_1 = 6.5$ Hz, $J_2 = 12.5$ Hz, H-1 α), 2.24 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 6.5$ Hz, H-1 β), 1.25 (3H, s, Me), 1.24 (3H, s, Me), 1.07 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.72 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 16.8 (Me), 17.0 (Me), 19.3 (Me), 19.8 (CH_2), 23.0 (CH_2), 23.7 (Me), 23.8 (CH_2), 26.0 (Me), 27.7 (CH_2), 30.8 (C), 32.4 (CH_2), 32.9 (CH_2), 33.1 (Me), 33.9 (CH_2), 37.7 (C), 39.4 (C), 41.3 (CH), 41.7 (C), 45.9 (CH_2), 46.7 (C), 47.6 (CH), 49.6 (CH_2), 51.8 (Me), 54.7 (C), 58.6 (CH), 65.7 (CH_2), 70.0 (CH), 121.8 (CH), 144.0 (C), 178.3 (C), 214.8 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 523.3399 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_5\text{Na}$, calc. 523.3407).

3.4.2.6.b Saponificación 2 α ,24-diacetoxi-3-oxoolean-12-en-28-ato de metilo (**32**)

El 3-oxoderivado **32** (100 mg, 0.47 mmol) se disuelve en 2 mL de MeOH y se añaden 2 mL de KOH (20%) hidrometanólica (al 70%). La mezcla de reacción se agita a reflujo durante 2 horas. Se neutraliza con HCl (20%) y se extrae con CH_2Cl_2 . El extracto se lava con disolución saturada de NaHCO_3 , se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se evapora a vacío dando un residuo sólido que se cromatografía en columna flash de silicagel, aislándose **21** (77 mg, 90 %).

3.3.2.7 Saponificación de las oximas **19** y **31**.3.3.2.7.a Saponificación de 2 α -benzoiloxi-24-acetoxi-3-acetoxiiminioolean-12-en-28-ato de metilo (**19**).

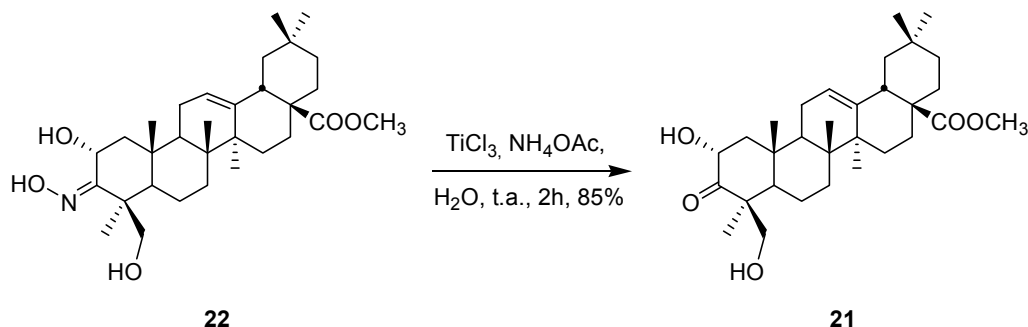
La oxima **19** (300 mg, 0.43 mmol) se disuelve en 5 mL de MeOH y se añaden 5 mL de KOH (20%) hidrometanólica (al 70%). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. Se neutraliza con HCl (20%) y se extrae con CH₂Cl₂. El extracto se lava con disolución saturada de NaHCO₃, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se evapora a vacío dando un residuo sólido que se cromatografía en columna flash de silicagel, aislándose **22** (165 mg, 75%).

Compuesto **22**: Sirupo; [α]_D = 34 (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 3367, 2930, 1726, 1460, 1261, 1035, 757 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.31 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.3$ Hz, H-12), 4.90 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 9.2$ Hz, H-2), 3.79 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-24a), 3.61 (3H, s, COOMe), 3.51 (1H, d, $J = 10.9$ Hz, H-24b), 2.86 (1H, dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 13.5$ Hz, H-18), 1.37 (3H, s, Me), 1.12 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me), 0.73 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 15.6 (Me), 16.8 (Me), 19.2 (CH₂), 23.2 (CH₂), 23.7 (Me), 23.9 (CH₂), 25.7 (Me), 27.4 (Me), 27.7 (CH₂), 30.8 (C), 32.5 (CH₂), 32.5 (CH₂), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 36.7 (C), 39.1 (C), 41.5 (CH), 42.0 (C), 43.6 (C), 44.1 (CH₂), 45.1 (CH), 45.8 (CH₂), 46.9 (C), 51.6 (Me), 54.8 (CH), 62.5 (CH), 67.2 (CH₂), 122.4 (CH), 143.8 (C), 168.5 (C), 178.3 (C); EMAR, m/z : [M+Na]⁺ 538.3498, (C₃₁H₄₉NO₅ Na 538.3508).

3.3.2.7.b Saponificación de 2 α ,24-diacetoxi-3-acet-oxiiminioolean-12-en-28-ato de metilo (**31**).

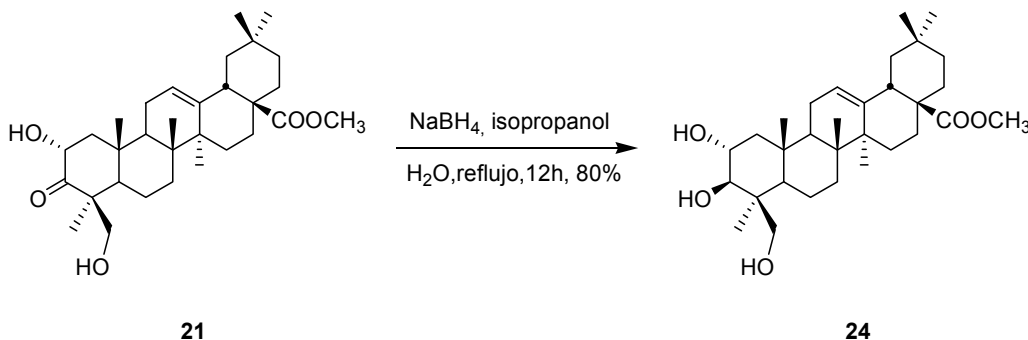
La oxima **19** (300 mg, 0.47 mmol) se disuelve en 5 mL de MeOH y se añaden 5 mL de KOH (20%) hidrometanólica (al 70%). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. Se neutraliza con HCl (20%) y se extrae con CH₂Cl₂. El extracto se lava con disolución saturada de NaHCO₃, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se evapora a vacío dando un residuo sólido que se cromatografía en columna flash de silicagel, aislándose **22** (192 mg, 80%).

3.3.2.8 Hidrólisis de 2 α ,24-dihidroxi-3-hidroxiiminioolean-12-en-28-ato de metilo (**22**).



A una disolución de TiCl_3 (0.5 mL de una disolución acuosa al 20% de HCl que contiene 19% TiCl_3) y NH_4OAc (200 mg, 2.6 mmol) en agua (8 mL) se añade una disolución de la oxima **22** (400 mg, 0.78 mmol) en THF (15 mL). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 4 h y se extrae con CH_2Cl_2 . El extracto se lava con disolución saturada de NaHCO_3 , se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y el disolvente se evapora al vacío dando un sólido que se purifica en columna de cromatografía flash, obteniéndose el producto **21** (330 mg, 85%).

3.3.2.9 Reducción con NaBH_4 de 2 α ,24-dihidroxi3-oxo-olean-12-en-28-ato de metilo (**21**).



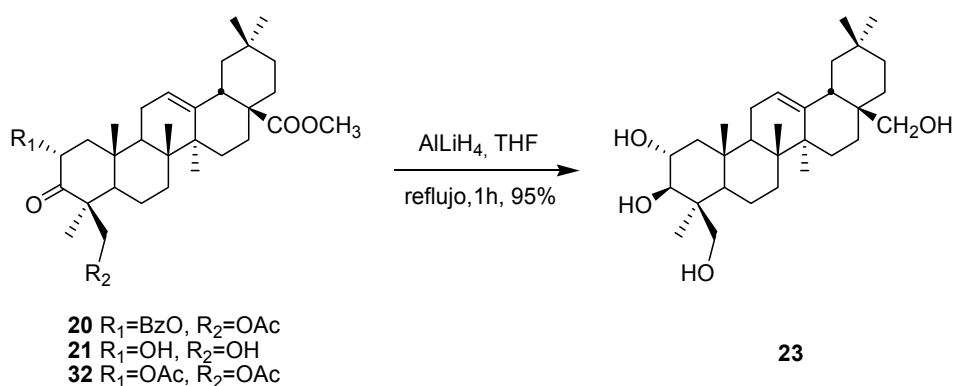
El compuesto **21** (200 mg, 0.40 mmol) se disuelve en $i\text{-PrOH}/\text{H}_2\text{O}$ (3:1) (10 mL) y se añade NaBH_4 (70 mg, 2 mmol). La mezcla de reacción se agita a reflujo durante 12 h, el exceso de reactivo se destruye con NaHSO_4 y se extrae con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se seca con Na_2SO_4 , se filtra y se concentra a vacío. La purificación del residuo sólido mediante cromatografía en columna flash de sílica gel nos proporciona el producto **24** (161 mg, 80%)

Compuesto **24**: Sirupo; $[\alpha]_{\text{D}} = 39$ (c 1, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 3377, 2932, 1733, 1459, 1164, 756 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 4.09 (1H, d, $J = 11.1$ Hz,

H-24a), 3.86 (1H, ddd, $J_1 = 4.6$ Hz, $J_2 = 9.4$ Hz, $J_3 = 9.8$ Hz, H-2), 3.60 (3H, s, COOMe), 3.35 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-24b), 3.14 (1H, d, $J = 9.4$ Hz, H-3) 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 1.26 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.68 (3H, s, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 16.9 (Me), 17.2 (Me), 18.5 (CH_2), 23.0 (Me), 23.1 (CH_2), 23.8 (CH_2), 23.8 (Me), 26.0 (Me), 27.8 (CH_2), 30.8 (C), 32.5 (CH_2), 32.9 (CH_2), 33.1 (Me), 34.0 (CH_2), 38.3 (C), 39.4 (C), 41.4 (CH), 41.8 (C), 43.4 (C), 46.0 (CH_2), 46.5 (CH_2), 46.8 (C), 47.8 (CH), 51.8 (Me), 56.0 (CH), 68.3 (CH_2), 69.2 (CH), 85.5 (CH), 122.1 (CH), 144.0 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 525.3557 ($\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{Na}$, calc. 525.3556).

3.3.2.10 Reducción con LiAlH_4 de los 3-oxoderivados de maslinato de metilo (productos **32**, **20** y **21**)

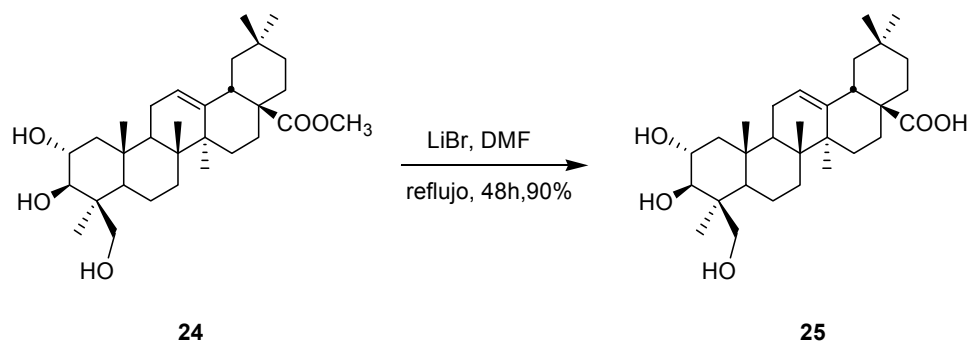
Se sigue el mismo procedimiento para los productos **32**, **20** y **21**: Se toman 0.40 mmol del producto en cuestión, se disuelven en THF seco (10 mL) y se añade una disolución 1 M de LiAlH_4 en THF (1 mL). La mezcla de reacción se mantiene con agitación a reflujo durante 1 h, el exceso de reactivo se destruye con MeOH y el disolvente se concentra bajo presión reducida. El crudo de producto se purifica en una columna de silica gel para dar 2 α ,24-dihidroxi eritrodiool (**23**) (95%).



Compuesto **23**: **IR** (CHCl_3): ν 3366, 2926, 1459, 1048, 756 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 5.18 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.3$ Hz, H-12), 4.10 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-24a), 3.73 (1H, ddd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 9.8$ Hz, $J_3 = 11.4$ Hz, H-2), 3.52 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-28a), 3.36 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-24b), 3.19 (1H, d, $J = 11.4$ Hz, H-28b), 3.14 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-3), 1.27 (3H, s, Me), 1.14 (3H, s, Me), 0.94 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 16.8 (Me), 17.5 (Me), 18.5 (CH_2), 22.0 (CH_2), 23.0 (Me), 23.8 (Me), 23.9 (CH_2), 25.6 (CH_2), 26.0 (Me), 31.0 (C), 31.1 (CH_2), 32.8 (CH_2), 33.3 (Me), 34.2 (CH_2), 38.2 (C), 39.4 (C), 41.8 (C), 42.4 (CH), 43.4 (C), 46.5 (C), 46.6 (CH_2), 46.6 (CH_2), 47.7 (CH), 55.9 (CH), 65.7 (CH_2), 69.2 (CH), 69.7

(CH₂), 85.5 (CH), 122.1 (CH), 144.4 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 497.3602 (C₃₀H₅₀O₄Na, calc. 497.3606).

3.3.2.11 Desmetilación en C-28 de 24-hidroxiimaslinato de metilo (**24**)



El compuesto **24** (200 mg, 0.39 mmol) se disuelve en DMF (3 mL) y se agrega LiBr (10 eq). La mezcla de reacción se agita durante 48 h a reflujo, el disolvente se elimina a presión reducida y se purifica el residuo sólido en columna de silicagel, obteniéndose ácido hiptático-A (**25**) (174 mg, 90%).

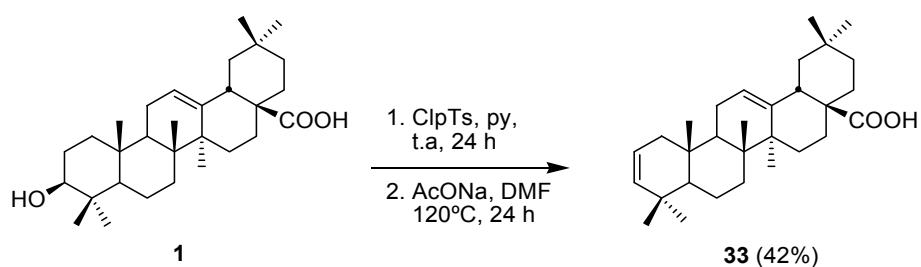
Compuesto **25**: **IR** (CHCl₃): ν 3412, 2927, 2854, 1625, 1458, 756 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.24 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 4.01 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-24a), 3.77 (1H, ddd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 9.8$ Hz, $J_3 = 11.5$ Hz, H-2), 3.37 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-24b), 3.04 (1H, d, $J = 9.8$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 5.9$ Hz, $J_2 = 13.4$ Hz, H-18), 1.22 (3H, s, Me), 1.15 (3H, s, Me), 0.97 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.78 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 17.5 (Me), 17.6 (Me), 19.8 (CH₂), 23.8 (Me), 23.8 (Me), 24.1 (CH₂), 24.8 (CH₂), 26.4 (Me), 28.8 (CH₂), 31.6 (C), 33.5 (Me), 33.8 (CH₂), 34.2 (CH₂), 34.9 (CH₂), 39.1 (C), 40.6 (C), 42.7 (C), 42.9 (CH), 44.4 (C), 47.2 (CH₂) y 47.6 (CH₂), 47.8 (C), 49.2 (CH), 57.2 (CH), 66.2 (CH₂), 69.6 (CH), 86.0 (CH), 123.4 (CH), 145.3 (C), 181.8 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 511.3401 (C₃₀H₄₈O₅Na, calc. 511.3399).

3.4 FRAGMENTACIÓN DEL ESQUELETO TRITERPÉNICO. OBTENCIÓN DE *CIS* Y *TRANS*-DECALINAS. APROXIMACIÓN SINTÉTICA A DISTINTOS TERPENOS NATURALES

3.4.1 DESOXIGENACIÓN ANILLO A EN LOS ÁCIDOS OLEANÓLICO Y MASLÍNICO

3.4.1.1 Desoxigenación del ácido oleanólico (1) y oleanoato de metilo (3)

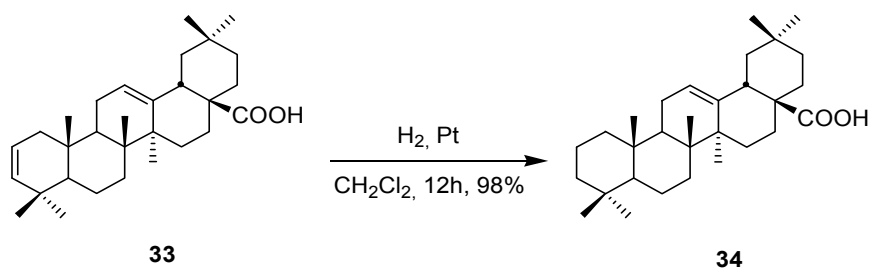
3.4.1.1.1 Desoxigenación del ácido oleanólico (1)



Se disuelven 500mg (1.1 mmol) de ácido oleanólico (1) en 20 mL de piridina y se añaden 731 mg (3.8 mmol) de cloruro de *p*-toluensulfónico. La mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. Transcurrido este tiempo, se añaden 20 mL de agua y el precipitado recogido por filtración es utilizado sin purificación previa en el siguiente paso.

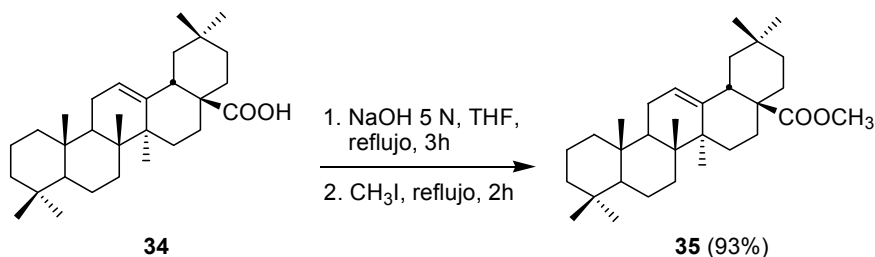
300 mg de acetato sódico se añaden al precipitado anterior, previamente disuelto en DMF y se calienta a 120°C durante 24 h. Se concentra el disolvente y el residuo resultante se lava con agua y se extrae con cloruro de metileno varias veces. Las fases orgánicas se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran a vacío. La purificación en columna cromatográfica flash del residuo obtenido (hex-AcOEt 10:1) permite el aislamiento de 203 mg (42%) de **33**.

Compuesto **33**: sirupo, [α]_D = 74 (c 1, CHCl₃), IR (CHCl₃) v: 3421, 2947, 1693, 1461 y 758 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.36 (3H, m, H-1, H-2 y H-12), 2.82 (1H, dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, H-18), 1.25 (3H, s, Me), 1.13 (3H, s, Me), 0.94 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.77 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 15.6 (Me), 16.9 (Me), 19.5 (CH₂), 22.8 (Me), 23.0 (CH₂), 23.3 (CH₂), 23.6 (Me), 25.9 (Me), 27.7 (CH₂), 30.7 (C), 31.9 (Me), 32.1 (CH₂), 32.5 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 34.5 (C), 36.3 (C), 39.5 (C), 40.7 (CH₂), 41.1 (CH), 41.8 (CH), 45.9 (CH₂), 46.2 (CH), 46.7 (C), 52.1 (CH), 121.5 (CH), 122.9 (CH), 138.0 (CH), 143.5 (C), 184.9 (C); EMAR, (m/z): [M+Na]⁺ 461.3398 (C₃₀H₄₆O₂Na, calc. 461.3395).



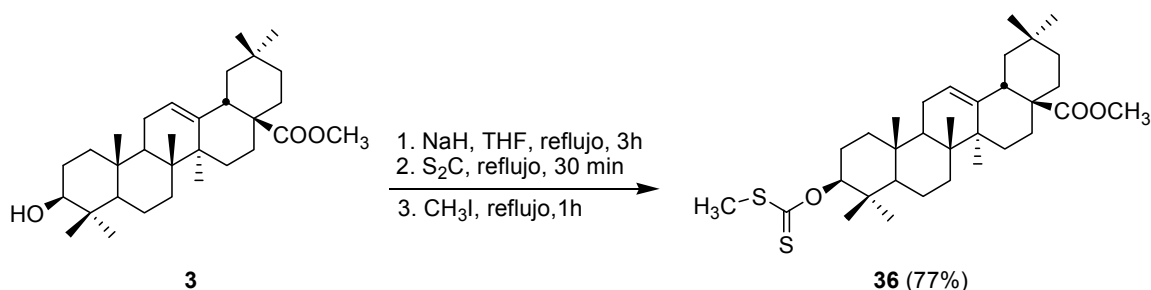
33 (200 mg, 0.46 mmol) se disuelve en 10 mL de CH₂Cl₂, se añade una cantidad catalítica de Pt sobre carbono y se hidrogena a temperatura ambiente durante 12 h a una presión de 4 atm de H₂. Transcurrido este tiempo, se filtra la mezcla y se concentra a vacío. El residuo obtenido se purifica en columna cromatográfica, obteniéndose 199 mg (98%) de **34**.

Compuesto **34**: Sólido blanco, *pf* 233–235 °C; [α]_D = 69 (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃) v: 2923, 2360, 1689 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 2.80 (1H, dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, H-18), 1.12 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.84 (3H, s, Me), 0.79 (3H, s, Me) y 0.79 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 15.3 (Me), 17.3 (Me), 18.6 (CH₂), 18.6 (CH₂), 21.8 (Me), 23.0 (CH₂), 23.5 (2CH₂), 23.7 (Me), 26.1 (Me), 27.7 (CH₂), 30.8 (C), 32.5 (CH₂), 32.7 (CH₂), 33.2 (C), 33.2 (Me), 33.5 (Me), 33.9 (CH₂), 37.4 (C), 39.5 (C), 40.1 (CH₂), 41.0 (CH), 41.7 (C), 42.1 (CH₂), 46.0 (CH₂), 46.6 (C), 47.8 (CH), 56.3 (CH), 123.0 (CH), 143.6 (C) y 184.0 (C); EMAR, (m/z): [M+Na]⁺ 463.3557 (C₃₀H₄₈O₂Na, calc. 463.3552).

3.4.1.1.2 Esterificación del ácido 12-oleanen-28-oico (34)

Se disuelven 150 mg (0.34 mmol) de **34** en 50 mL de THF, se añaden 0.5 mL de NaOH 5N y la mezcla obtenida se mantiene a reflujo durante 3 h. Tras este tiempo, se agregan 2 mL de MeI. Transcurridas 2 h más, la mezcla de reacción se lleva a sequedad, se lava con una disolución de HCl y se extrae con CH_2Cl_2 . Después se neutraliza con una disolución saturada de NaHCO_3 , las fases orgánicas se secan con Na_2SO_4 , se filtran y se evapora el disolvente orgánico a presión reducida. El residuo se cromatografía en columna de tipo flash (hex-AcOEt 60:1), obteniéndose 144 mg (93%) de **35**.

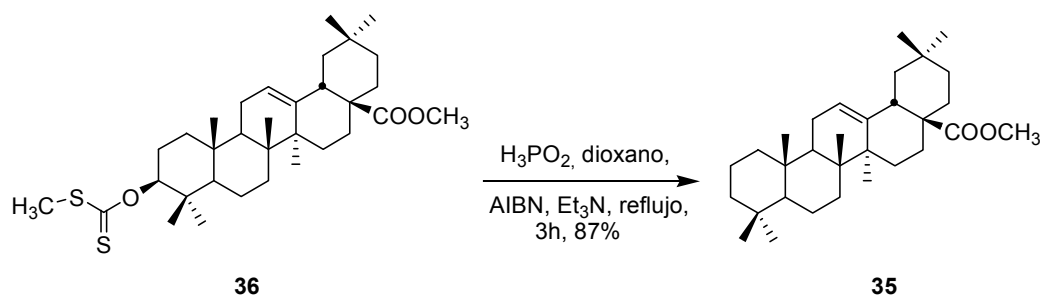
Compuesto **35**: Sólido blanco, **pf** 110-112 °C. $[\alpha]_D = 66$ (c 1, CHCl_3). **IR** (NaCl) v: 2945, 2868 y 1729 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 5.28 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.86 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 1.13 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.85 (3H, s, Me), 0.80 (3H, s, Me) y 0.72 (3H, s, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 15.4 (Me), 17.0 (Me), 18.6 (CH_2), 18.8 (CH_2), 21.9 (Me), 23.3 (CH_2), 23.5 (CH_2), 23.8 (Me), 26.1 (Me), 27.8 (CH_2), 30.8 (C), 32.5 (CH_2), 32.8 (CH_2), 33.2 (C), 33.2 (Me), 33.5 (Me), 34.0 (CH_2), 37.4 (C), 39.6 (C), 40.2 (CH_2), 41.5 (CH), 41.8 (C), 42.1 (CH_2), 46.1 (CH_2), 46.9 (C), 47.8 (CH), 51.5 (Me), 56.4 (CH), 122.8 (CH), 143.8 (C), 178.4 (C); **EMAR**, (m/z): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 477.3709 ($\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_2\text{Na}$, calc. 477.3733).

3.4.1.1.3 Formación de xantato de oleanoato de metilo (3)

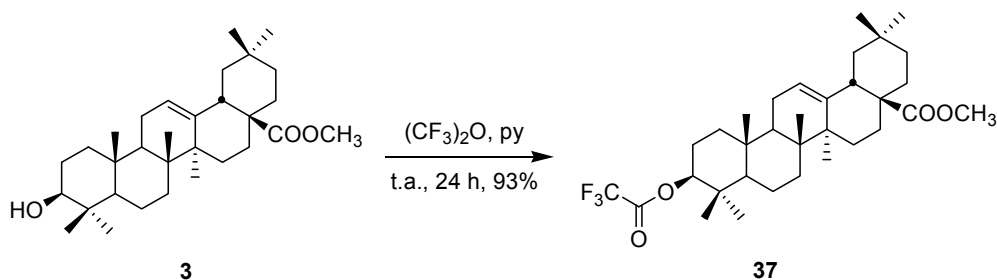
Se disuelven 450 mg de **3** (0.96 mmol) en 20 mL de THF seco y se añaden 110 mg (4.8 mmol) de NaH, manteniéndose la reacción 3 h a reflujo. Transcurrido este tiempo, se agregan 2 mL (33 mmol) de S₂C y tras 30 min más 1 mL (16 mmol) de MeI. Al cabo de 2 h se procesa la reacción neutralizando con una disolución de HCl, se extrae con CH₂Cl₂, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna, aislándose 415 mg (77%) de **36**.

Compuesto **36**: Sólido blanco, **pf** 202-204 °C. **[α]_D** = 48 (c 1, CHCl₃). **IR** (NaCl) ν : 2922, 1724, 1233, 1058 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.31 (1H, dd, $J_1 = 4.6$ Hz, $J_2 = 10.8$ Hz, H-3), 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.6$ Hz, $J_2 = 13.6$ Hz, H-18), 2.53 (3H, s, CSSMe), 1.11 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.71 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.4 (Me), 16.9 (Me), 17.5 (Me), 18.2 (CH₂), 18.7 (Me), 22.6 (CH₂), 23.1 (CH₂), 23.5 (CH₂), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.7 (CH₂), 28.1 (Me), 30.8 (C), 32.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 37.0 (C), 38.0 (CH₂), 38.7 (C), 39.3 (C), 41.3 (CH), 41.7 (C), 45.9 (CH₂), 46.8 (C), 47.6 (CH), 51.6 (Me), 55.4 (CH), 91.4 (CH), 122.3 (CH), 143.9 (C), 178.4 (C), 215.8 (C); **EMAR**, (m/z): [M+Na]⁺ 583.3258 (C₃₃H₅₂O₃S₂Na, calc. 583.3255).

3.4.1.1.4 Reducción radicalaria del xantato **36** con H₃PO₂

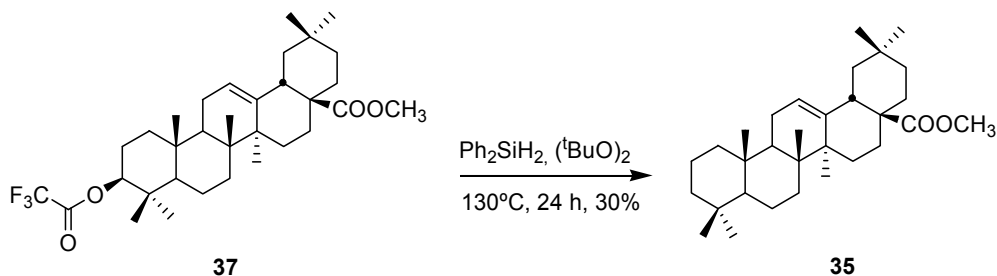


Se disuelven 95 mg (0.17 mmol) del xantato **36**, en 5 mL de dioxano y se añaden 0.05 mL (0.3 mmol) de Et₃N y 0.1 mL (0.9 mmol) de H₃PO₂. Entonces, se somete la mezcla a reflujo, añadiéndose poco a poco una disolución de 15 mg de AIBN en 3 mL de dioxano. Transcurridas 3 h, se lava con agua, se extrae con éter, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se concentra a vacío y se purifica en columna para obtener 67 mg (87%) de 3-desoxioleanoato de metilo **35**.

3.4.1.1.5 Formación de triflido derivado de oleato de metilo (3)

Se disuelve oleato de metilo (**3**) (500 mg, 1.1 mmol) en 10 mL de piridina y se añade anhídrido trifluoroacético (0.5 mL, 2.75 mmol). La mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente 24 h. Al cabo de este tiempo, se lava con disolución acuosa de HCl, se neutraliza el medio con una disolución saturada de NaHCO_3 , se extrae con CH_2Cl_2 , se seca sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentra a presión reducida. Finalmente, se purifica en columna cromatográfica, obteniéndose 579 mg (93%) de **37**.

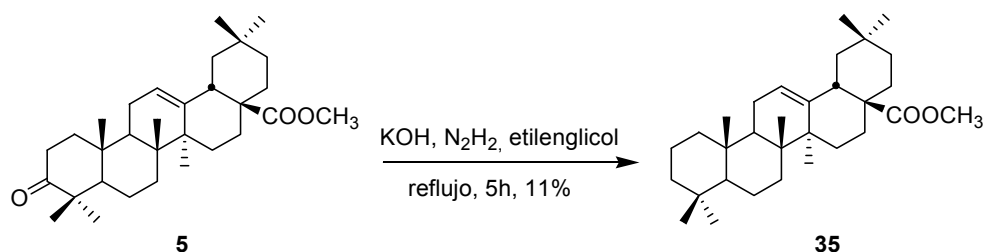
Compuesto **37**: Sólido blanco, **pf** 171-172 °C. $[\alpha]_{\text{D}} = 48$ (c 1, CHCl_3). **IR** (CHCl_3) ν : 2950, 1777, 1724, 1218 y 773 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.24 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.4$ Hz, H-12), 4.65 (1H, dd, $J_1 = 4.9$ Hz, $J_2 = 11.3$ Hz, H-3), 3.58 (3H, s, COOMe), 2.83 (1H, dd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 1.09 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.69 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 15.4 (Me), 16.4 (Me), 16.8 (Me), 18.2 (CH_2), 23.0 (CH_2), 23.1 (CH_2), 23.5 (CH_2), 23.7 (Me), 25.9 (Me), 27.7 (CH_2), 27.9 (Me), 30.7 (C), 32.4 (CH_2), 32.5 (CH_2), 33.1 (Me), 33.9 (CH_2), 37.9 (C), 38.0 (CH_2), 41.3 (C), 45.9 (CH_2), 46.7 (C), 47.6 (CH), 51.6 (Me), 55.2 (CH), 86.3 (CH), 122.1 (CH), 143.9 (C), 178.4 (C); **EMAR**, (m/z): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 589.3483 ($\text{C}_{33}\text{H}_{49}\text{O}_4\text{F}_3\text{Na}$, calc. 589.3481).

3.4.1.1.6 Reducción del triflato (**37**) con Ph_2SiH_2 

La mezcla resultante de (200 mg, 0.37 mmol) del derivado triflado en 3 (**37**), (211 mg, 1.11 mmol) de Ph_2SiH_2 y (0.07 mL, 0.37 mmol) de $(\text{tBuO})_2$ se disponen en un tubo de pirex y se

mantiene en agitación a 130°C bajo atmósfera de argón durante 24 h. Por ^1H RMN se comprueba que la reacción ha ido en un 30%.

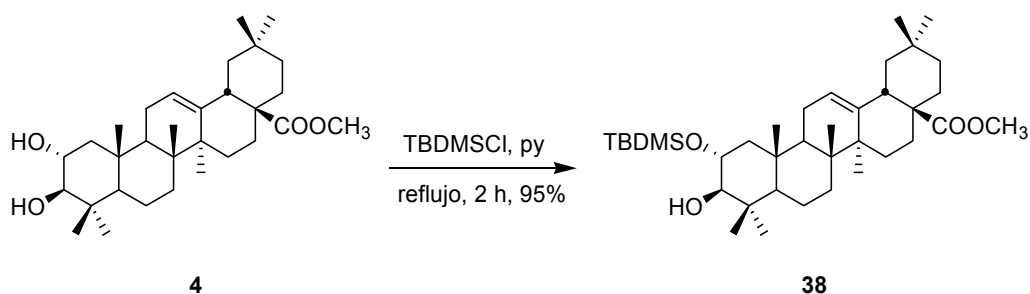
3.4.1.1.7 Reducción de Wolff-Kishner modificación Huang-Milong del compuesto **5**



La mezcla formada por 50 mg (0.11 mmol) del 3-oxoderivado (**5**), (12 mg, 0.33 mmol) KOH y 1 mL de N_2H_2 en 15 mL de etilenglicol, se mantiene a reflujo durante 5 h. Se diluye con CH_2Cl_2 , se lava con agua, se neutraliza con KHSO_3 , se seca sobre NaSO_4 anhidro y se elimina el disolvente. La purificación en columna flash permite obtener 0.6 mg (11%) de **35**.

3.4.1.2 Desoxigenación de maslinato de metilo (**4**)

3.4.1.2.1 Sililación controlada de maslinato de metilo (**3**) con cloruro de *terc*-butil dimetilsilano

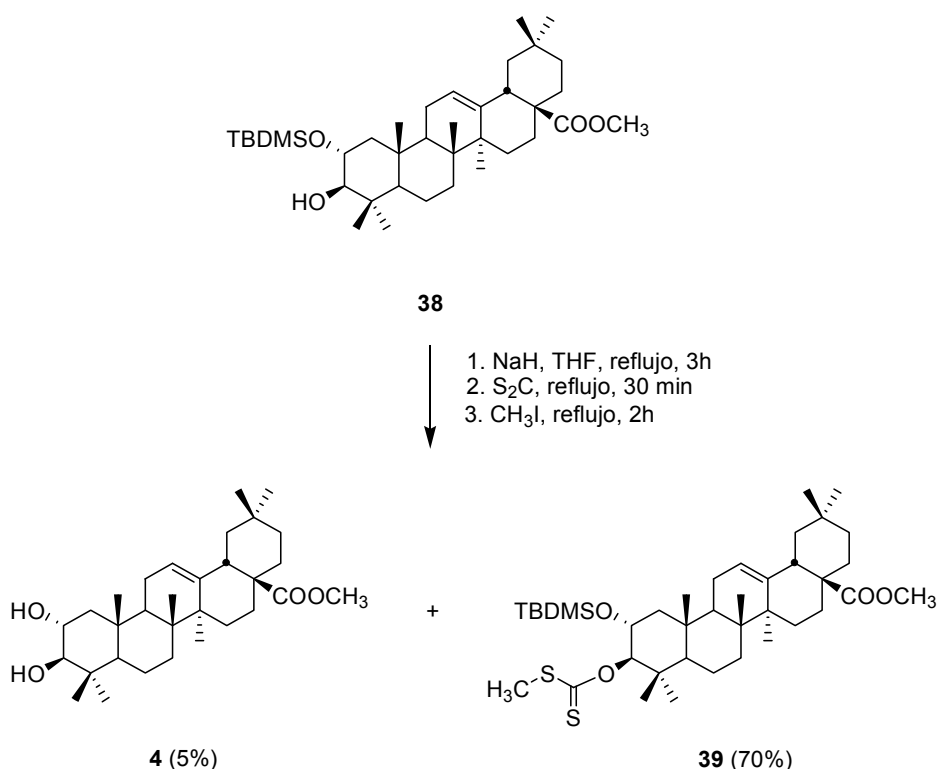


Se disuelven 1.45 g (3 mmol) de maslinato de metilo (**4**) en 10 mL de piridina y se añaden 900 mg (6 mmol) de *terc*-butildimetilclorosilano. La reacción se mantiene 2 h a reflujo, tras las cuales se lava con una disolución de HCl, se extrae con CH_2Cl_2 , se neutraliza con una disolución de NaHCO_3 , se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica en columna, aislándose 1.7 g (95%) de **38**.

Compuesto **38**: sólido blanco, **pf** 180-182 °C; $[\alpha]_D^{25} = 17$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3596, 2949, 1726, 1462, 1258, 1078, 838, 758 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3): δ 5.27 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.7$ Hz, H-12), 3.67 (1H, ddd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 9.2$ Hz, $J_3 = 11.1$ Hz, H-2), 3.60 (3H, s, COOMe), 2.99 (1H, d, $J = 9.2$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.4$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, H-18), 1.11 (3H, s, 3H-27), 1.03 (3H,

s, 3H-23), 0.94 (3H, s, 3H-25), 0.91 (3H, s, 3H-30), 0.87 (3H, s, 3H-29), 0.87 (9H, s, (Me)₃C-), 0.81 (3H, s, 3H-24), 0.70 (3H, s, 3H-26), 0.08 (3H, s, MeSi-), 0.06 (3H, s, MeSi-); ¹³C RMN (CDCl₃): δ -4.5 (Me), -3.8 (Me), 16.6 (Me), 16.9 (Me), 17.0 (Me), 18.1 ((Me)₃C-), 18.2 (CH₂), 23.1 (CH₂), 23.6 (CH₂), 23.7 (Me), 25.9 ((Me)₃C-), 26.0 (Me), 27.7 (CH₂), 28.8 (Me), 30.7 (C), 32.4 (CH₂), 32.7 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 38.5 (C), 38.8 (C), 39.5 (C), 41.4 (CH), 41.8 (CH₂), 46.0 (CH₂), 47.2 (CH₂), 46.8 (C), 47.6 (CH), 51.6 (Me), 55.3 (CH), 70.8 (CH), 83.2 (CH), 122.1 (CH), 144.1 (C), 178.3 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 623.4480 (C₃₇H₆₄SiO₄Na, calc. 623.4472).

3.4.1.2.2 Formación de xantato del compuesto 38

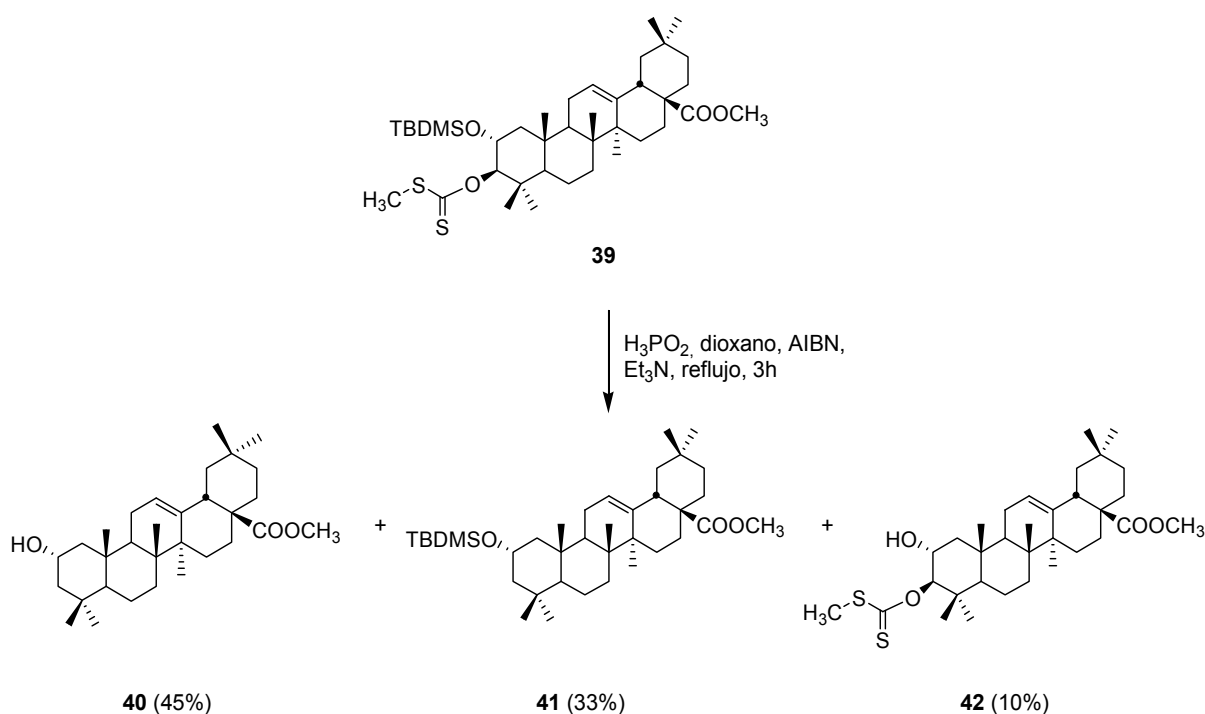


Se disuelven 450 mg de **38** (0.75 mmol) en 20 mL de THF seco y se añaden 94 mg (5 eq) de NaH, manteniéndose la reacción 3 h a reflujo. Transcurrido este tiempo, se agregan 7 mL (116 mmol) de S₂C y tras 30 min se adicionan 3.5 mL (16 mmol) de MeI. Al cabo de 1 h se neutraliza con una disolución de HCl, se extrae con CH₂Cl₂, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía, aislándose 112 mg (25%) de **39**, 20 mg (5%) de **4** y 356 mg (70%) de **39**.

Compuesto **39**: sólido blanco, **pf** 256-258 °C; [α]_D = 10 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2948, 1728, 1462, 1236, 1054 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.60 (1H, d, *J* = 9.6 Hz, H-3), 5.27 (1H, dd, *J*₁ = *J*₂ = 3.7 Hz, H-12), 3.98 (1H, ddd, *J*₁ = 4.7 Hz, *J*₂ = 9.6 Hz, *J*₃ = 11.0 Hz, H-2), 3.61 (3H, s,

COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 2.54 (3H, s, MeS-), 1.11 (3H, s, Me), 0.99 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.81 (9H, s, (Me)₃C-), 0.71 (3H, s, Me), 0.03 (3H, s, MeSi-), 0.01 (3H, s, MeSi-); ¹³C RMN (CDCl₃): δ -4.8 (MeSi), -4.3 (MeSi), 16.7 (Me), 16.9 (Me), 18.2 (CH₂), 18.4 (Me), 18.9 (MeS-), 19.0 ((Me)₃C-), 23.1 (CH₂), 23.5 (CH₂), 23.7 (Me), 25.7 ((Me)₃C-), 26.0 (Me), 27.7 (CH₂), 28.8 (Me), 30.7 (C), 32.4 (CH₂), 32.6 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 38.0 (C), 39.4 (C), 40.6 (C), 41.4 (CH), 41.8 (C), 45.9 (CH₂), 48.3 (CH₂), 46.8 (C), 47.5 (CH), 51.6 (COOMe), 55.0 (CH), 67.9 (CH), 93.3 (CH), 122.0 (CH), 144.1 (C), 178.3 (C), 216.8 (CS); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 713.4069 (C₃₉H₆₆O₄SiNaS₂, calc. 713.4061).

3.4.1.2.3 Reducción radicalaria del xantato **39** con H₃PO₂



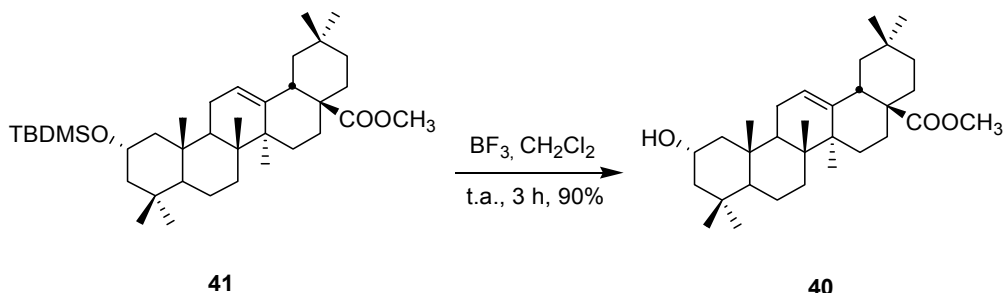
A una disolución de 271 mg (0.4 mmol) de **39** en 15 mL de dioxano se añaden 0.5 mL (3.6 mmol) de Et₃N y 0.37 mL (3.6 mmol) de H₃PO₂ y se mantiene a reflujo 3 horas, añadiéndose poco a poco una disolución de 20 mg de AIBN en 5 mL de dioxano. Transcurrido este tiempo, se agregan 0.1 mL más de H₃PO₂ y se mantiene el proceso otras 3 h, al cabo de las cuales se extrae con éter, se seca con Na₂SO₄ anhidro, se concentra a vacío y se purifica en columna obteniéndose, 85 mg (45%) de **40**, 77 mg (33%) de **41**, y 23 mg (10%) de **42**.

Compuesto **40**: sirupo; $[\alpha]_D = 23$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3385, 2947, 2874, 1725, 1458 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.28 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.87 (1H, dddd, $J_1 = J_2 = 4.3$ Hz, $J_3 = J_4 = 11.2$ Hz, H-2), 3.60 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 1.12 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.85 (3H, s, Me), 0.71 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 16.5 (Me), 17.0 (Me), 18.5 (CH_2), 22.7 (Me), 23.2 (CH_2), 23.6 (CH_2), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.7 (CH_2), 30.8 (C), 32.5 (CH_2), 32.7 (CH_2), 33.2 (Me), 33.6 (Me), 34.0 (CH_2), 35.0 (C), 39.1 (C), 39.6 (C), 41.4 (CH), 41.8 (C), 45.9 (CH_2), 46.8 (C), 47.8 (CH), 49.5 (CH_2), 51.2 (CH_2), 51.6 (Me), 55.7 (CH), 65.2 (CH), 122.4 (CH), 143.9 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 493.3652 ($\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3\text{Na}$, calc. 493.3658).

Compuesto **41**: sólido blanco, **pf** 268-270 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D = 31$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2928, 1732, 1463, 1254, 1162, 1099, 1073, 836 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.27 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOMe), 3.17 (1H, dd, $J_1 = 4.6$ Hz, $J_2 = 11.0$ Hz, H-2), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 1.11 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, $(\text{Me})_3\text{C}^-$), 0.87 (3H, s, Me), 0.87 (6H, s, $(\text{Me})_3\text{C}^-$), 0.73 (3H, s, Me), 0.70 (3H, s, Me), 0.02 (6H, s, MeSi^-); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ -4.8 (MeSi), -3.7 (MeSi), 14.1 (Me), 15.4 (Me), 16.2 (Me), 16.9 (Me), 18.2 ($(\text{Me})_3\text{C}^-$), 18.6 (CH_2), 23.2 (CH_2), 23.5 (CH_2), 23.7 (Me), 26.0 ($(\text{Me})_3\text{C}^-$), 27.7 (CH_2), 28.6 (Me), 30.8 (C), 31.8 (C), 32.5 (CH_2), 32.8 (CH_2), 33.2 (Me), 34.0 (CH_2), 37.0 (C), 39.4 (C), 38.5 (CH_2), 41.4 (CH), 41.7 (C), 46.0 (CH_2), 46.0 (CH_2), 46.8 (C), 47.8 (CH), 51.5 (Me), 55.4 (CH), 79.6 (CH), 122.5 (CH), 143.9 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 607.4519 ($\text{C}_{37}\text{H}_{64}\text{O}_3\text{SiNa}$, calc. 607.4522).

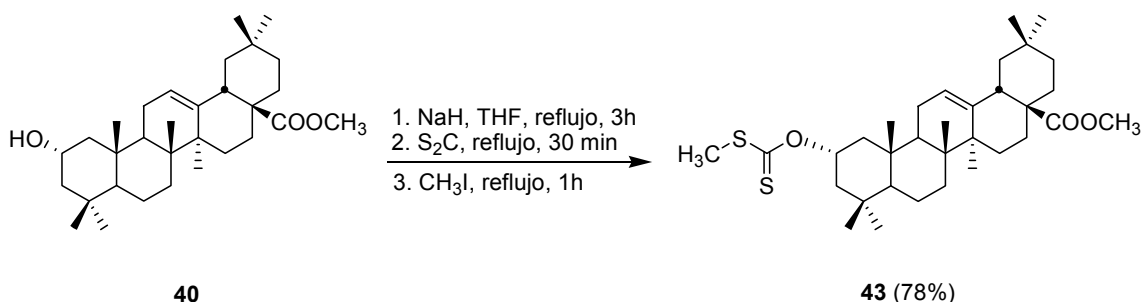
Compuesto **42**: sirupo; $[\alpha]_D = 58$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3439, 2947, 1727, 1457, 1235, 1055, 758 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.54 (1H, d, $J = 9.9$ Hz, H-3), 5.27 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz, H-12), 4.01 (1H, ddd, H-2), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, H-18), 2.59 (3H, s, MeS^-), 1.12 (3H, s, Me), 1.00 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.71 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 16.6 (Me), 16.9 (Me), 18.2 (Me), 18.3 (CH_2), 19.1 (MeS^-), 23.1 (CH_2), 23.5 (CH_2), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.7 (CH_2), 28.6 (Me), 30.8 (C), 32.4 (CH_2), 32.5 (CH_2), 33.2 (Me), 33.9 (CH_2), 38.2 (C), 39.4 (C), 40.6 (C), 41.3 (CH), 41.8 (C), 45.9 (CH_2), 47.7 (CH_2), 46.8 (C), 47.6 (CH), 51.6 (Me), 55.3 (CH), 68.1 (CH), 94.5 (CH), 122.1 (CH), 143.9 (C), 178.3 (C), 216.8 (CS); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 599.3209 ($\text{C}_{33}\text{H}_{52}\text{O}_4\text{NaS}_2$, calc. 599.3198).

3.4.1.2.4 Reacción de desprotección del compuesto **41**



Una disolución de 60 mg (0.1 mmol) de **41** en 5 mL de CH_2Cl_2 se trata con unas gotas de BF_3 a temperatura ambiente durante 3 h. Al cabo de este tiempo, se evapora el disolvente y se purifica la reacción por cromatografía en columna, obteniéndose 44 mg (90%) de **40**.

3.4.1.2.5 Formación del xantato del compuesto **40**

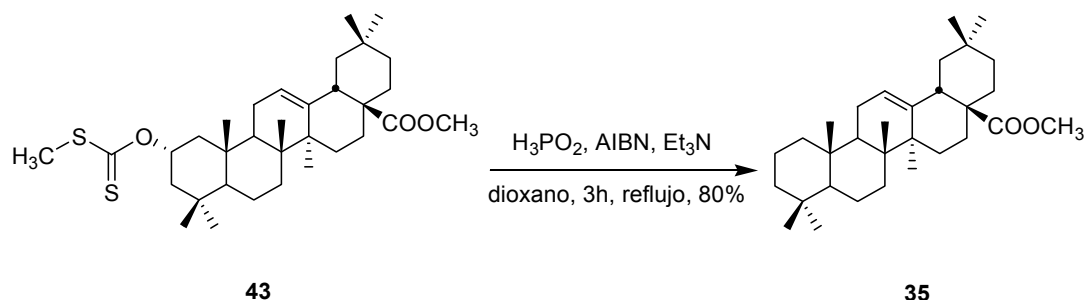


Se disuelven 47 mg (0.1 mmol) de **40** en 5 mL de THF seco, se agregan 0.53 mL de una disolución 1.4 M de *sec*-BuLi y se mantiene la reacción 3 h a reflujo. Transcurrido este tiempo, se agrega 1 mL (16 mmol) de S_2C y al cabo de 30 min 0.5 mL (8 mmol) de MeI, dejándose 1 h más. Se procesa la reacción lavando con disolución de HCl 2 N, neutralizando el medio, extrayendo varias veces con CH_2Cl_2 , secando sobre Na_2SO_4 anhidro y concentrando a presión reducida. Se purifica por cromatografía en columna, aislándose 44 mg (78%) de **43**.

Compuesto **43**: sólido blanco, **pf** 192-194 °C; $[\alpha]_{\text{D}} = 11$ (c 0.7, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2946, 1728, 1460, 1230, 1053 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.88 (1H, dddd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 8.4$ Hz, $J_3 = 11.6$ Hz, $J_4 = 15.9$ Hz, H-2), 5.26 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 2.52 (3H, s, MeS-), 1.12 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 0.96 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.71 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 16.3 (Me), 17.0 (Me), 18.4 (CH_2), 18.8 (MeS-), 22.5 (Me), 23.1 (CH_2), 23.6 (CH_2), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.7 (CH_2), 30.8 (C), 32.5 (CH_2), 32.6 (CH_2), 33.2 (Me), 33.4 (Me), 34.0 (CH_2), 35.3 (C), 39.5 (C), 39.6 (C), 41.4 (CH), 41.8 (C), 44.5 (CH_2), 46.0 (CH_2), 46.8 (C), 47.8 (CH), 51.6

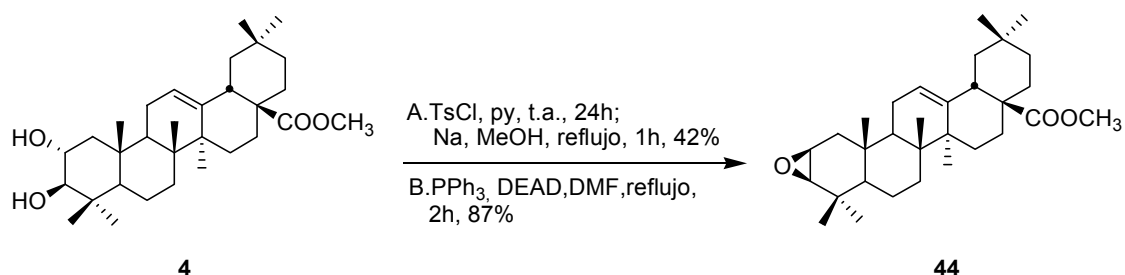
(Me), 55.9 (CH), 79.9 (CH), 122.2 (CH), 143.9 (C), 178.3 (C), 215.2 (CS); **EMAR**, m/z : $[M+Na]^+$ 583.3253 ($C_{33}H_{52}O_3S_2Na$, calc. 583.3256).

3.4.1.2.6 Reducción radicalaria del xantato **43** con H_3PO_2



A una disolución de 55 mg (0.1 mmol) de **43** en 5 mL de dioxano se añaden 0.12 mL (0.9 mmol) de Et_3N y 0.1 mL (0.9 mmol) de H_3PO_2 y se mantiene a reflujo, añadiéndose poco a poco una disolución de 15 mg de AIBN en 3 mL de dioxano. Transcurridas 3 h se agregan 0.1 mL más de H_3PO_2 y se prolonga la reacción 3 h, al cabo de las cuales se extrae con éter, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica en columna obteniéndose 35 mg (80%) de **35**.

3.4.1.2.7 Formación de 2 β ,3 β -epoximaslinato de metilo (**44**)



A. 3.4 g (7 mmol) de **4** se disuelven en 25 mL de piridina y se añaden 3.4 g (14 mmol) de cloruro de tosilo, manteniéndose la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 3 h, al cabo de las cuales se sigue el procedimiento descrito. Seguidamente, se disuelve el crudo obtenido 10 mL de MeOH anhidro y se agregan 875 mg (35 mmol) de Na disueltos en 50 mL de MeOH. La mezcla resultante se mantiene en agitación a reflujo durante 1 h, tras la cual se procesa la reacción según el método general, obteniéndose 1.4 g (42%) de **44**.

B. Se disuelven 2.9 g (6 mmol) de maslinato de metilo (**4**) en 20 mL de DMF y se añaden 4.7 g (18 mmol) de PPh_3 . La mezcla de reacción se coloca en un baño de hielo y se adiciona poco a poco durante 10 min una disolución de 2.8 mL (18 mmol) de DEAD en 2 mL de

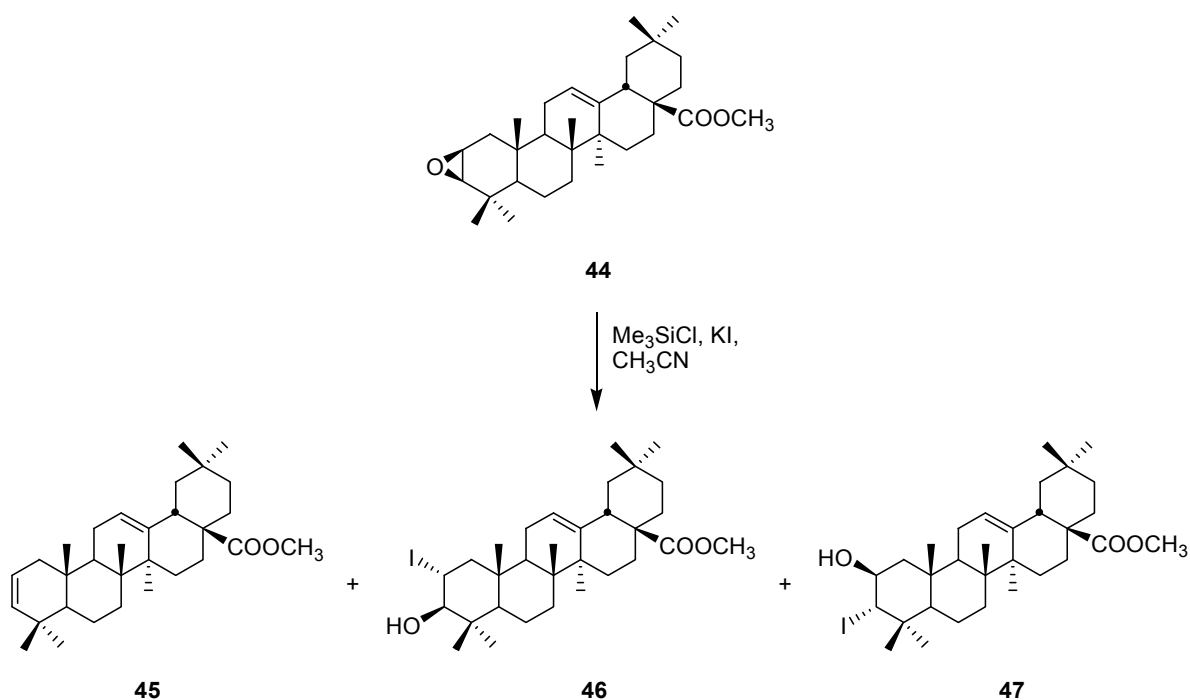
DMF. A continuación, se deja que la reacción alcance la temperatura ambiente y se mantiene 2 h a reflujo, al cabo de las cuales se procesa lavando con agua, extrayendo varias veces con CH₂Cl₂, secando sobre Na₂SO₄ anhidro, concentrando a vacío y purificando por cromatografía en columna (Hex-AcOEt 15:1,) obteniéndose 2.4 g (87%) de **44**.

Compuesto **44**: Sólido blanco, **pf** 188-190 °C; **[α]_D** = 22 (c 1, CHCl₃); **IR** ν (CHCl₃): 2946, 2865 y 1727 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.30 (1H, dd, *J*₁ = 3.6 Hz, *J*₂ = 3.6 Hz, H-12), 3.60 (3H, s, COOMe), 3.20 (1H, ddd, *J*₁ = 2.0 Hz, *J*₂ = 2.0 Hz, *J*₃ = 4.0 Hz, H-2), 2.85 (1H, dd, *J*₁ = 4.7 Hz, *J*₂ = 14.1 Hz, H-18), 2.80 (1H, d, *J* = 4.0 Hz, H-3), 1.09 (3H, s, Me), 1.06 (3H, s, Me), 1.05 (3H, s, Me), 0.98 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me) y 0.69 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.7 (Me), 16.7 (Me), 19.8 (C-6), 20.6 (Me), 23.1 (C-11), 23.5 (C-16), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 27.6 (C-15), 30.4 (Me), 30.8 (C-20), 32.2 (C-7), 32.4 (C-22), 33.2 (Me), 33.9 (C-21), 36.9 (C-10), 38.4 (C-1), 39.5 (C-4), 39.5 (C-8), 41.4 (C-18), 41.9 (C-14), 46.0 (C-19), 46.8 (C-17), 47.8 (C-9), 51.6 (COOMe), 52.2 (C-2), 54.4 (C-5), 61.0 (C-3), 122.5 (C-12), 143.8 (C-13) y 178.4 (C-28); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 491.3505 (C₃₁H₄₈O₃Na, calc. 491.3501).

3.4.1.2.8 Tratamiento de 2α,3β-epoximaslinato de metilo (**44**) con Me₃SiCl-KI

El epóxido **44** (50 mg, 0.1 mol) se disuelve en 20 mL de MeCN y se añade la disolución formada por IK (83 mg, 0.5 mmol) y 0.06 mL (0.5 mmol) de Me₃SiCl en 5 mL de MeCN, manteniéndose la mezcla obtenida en agitación en atmósfera de argón a distintas temperaturas. Se procesa la reacción lavando con agua y extrayendo varias veces con CH₂Cl₂, las fases orgánicas se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran a vacío. La purificación del residuo obtenido permite aislar en distintas proporción, según la temperatura a la que se lleva a cabo la reacción, los productos **45**, **46** y **47**.

Temperatura	45	46	47
0°C	-	79%	21%
t.a.	12%	80%	7%
reflujo	17%	82%	-

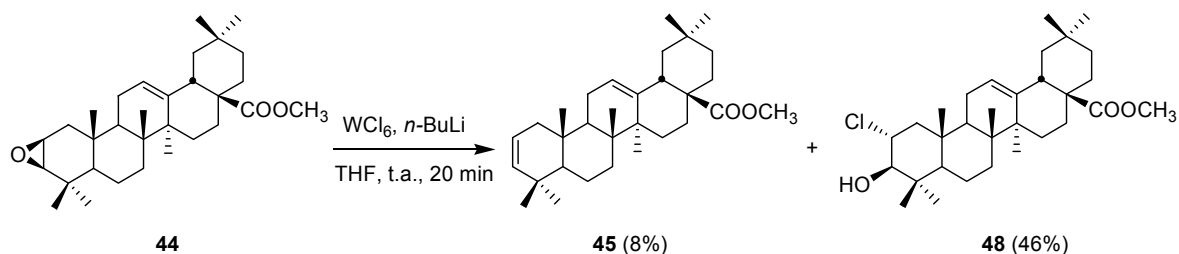


Compuesto **45**: Sólido blanco, **pf** 150-152 °C. $[\alpha]_D = 81$ (c 1, CHCl₃). **IR** (CHCl₃) v: 2949, 2866 y 1729 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.35-5.42 (2H, m, H-2 y H-3), 5.32 (1H, dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 14.0$ Hz, H-18), 1.13 (3H, s, Me), 0.94 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me) y 0.76 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.6 (Me), 16.7 (Me), 19.6 (CH₂), 21.5 (CH₂), 22.9 (Me), 23.2 (CH₂), 23.4 (CH₂), 23.7 (Me), 25.9 (Me), 27.8 (CH₂), 30.8 (C), 31.9 (Me), 32.2 (CH₂), 32.5 (CH₂), 33.2 (Me), 34.0 (CH₂), 34.5 (C), 36.3 (C), 39.5 (C), 40.8 (CH₂), 41.6 (CH), 41.9 (C), 46.0 (CH₂), 46.2 (CH), 46.9 (C), 51.6 (Me), 52.1 (CH), 121.5 (CH), 122.7 (CH), 138.0 (CH), 143.7 (C), 178.4 (C); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 475.3539, (C₃₁H₄₈O₂Na calc. 475.3552).

Compuesto **46**: Sirupo, $[\alpha]_D = 22$ (c 0.5, CHCl₃). **IR** (CHCl₃) v: 3424, 2946, 1722 y 1162 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.26 (1H, dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 4.57 (1H, ddd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 10.7$ Hz, $J_3 = 12.8$ Hz, H-2), 3.60 (3H, s, COOMe), 3.32 (1H, dd, $J_1 = 3.4$ Hz, $J_2 = 10.7$ Hz, H-3), 2.84 (1H, dd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 2.41 (1H, dd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 12.9$ Hz, H-1β), 1.11 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 0.94 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me) y 0.69 (3H, s, Me). **¹³C RMN** (CDCl₃) δ 15.6 (Me), 16.2 (Me), 17.0 (Me), 18.4 (C-6), 23.1, 23.5 y 27.7 (C-11, C-15 y C-16), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 29.3 (Me), 30.8 (C-20), 32.4, 32.5 y 33.9 (C-7, C-21 y C-22), 33.2 (Me), 39.5, 40.7 y 41.5 (C-4, C-8 y C-10), 41.3 (C-18), 41.8 (C-14), 41.8 (C-2), 45.9 (C-19), 46.8 (C-17), 47.4 (C-9), 51.7 (COOMe), 52.8 (C-1), 55.5 (C-5), 83.6 (C-3), 122.0 (C-12), 144.0 (C-13) y 178.3 (C-28); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 619.2628 (C₃₁H₄₉O₃Na, calc. 619.2624).

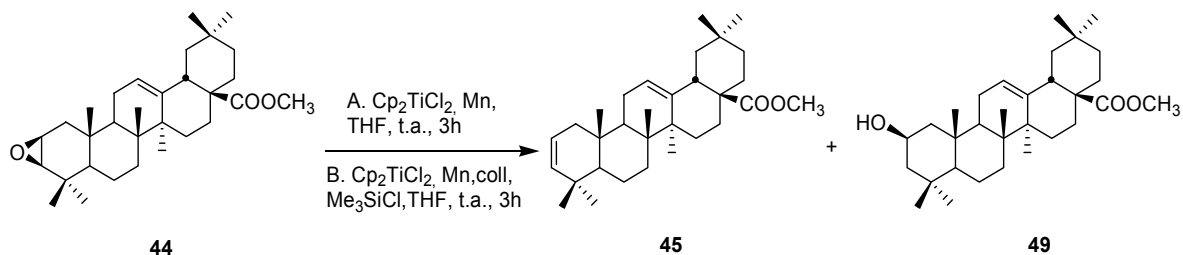
Compuesto **47**: Sirupo, $[\alpha]_D = 66$ (c 0.5, CHCl₃). IR (NaCl) ν : 3402, 2943, 1723, 1124 cm⁻¹. ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.29 (1H, dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 4.73 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-3), 4.01 (1H, ddd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 9.4$ Hz, $J_3 = 10.5$ Hz, H-2), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 14.4$ Hz, H-18), 1.14 (3H, s, Me), 1.12 (3H, s, Me), 1.09 (3H, s, Me), 1.03 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me) y 0.71 (3H, s, Me). ¹³C RMN (CDCl₃): δ 16.5 (Me), 16.5 (Me), 20.4 (Me), 21.6 (C-6), 23.2, 23.4 y 27.7 (C-11, C-15 y C-16), 23.7 (Me), 24.2 (Me), 26.0 (Me), 30.8 (C-20), 32.4, 32.4 y 34.0 (C-7, C-21 y C-22), 33.2 (Me), 37.5, 38.3 y 39.6 (C-4, C-8 y C-10), 41.5 (C-18), 41.9 (C-14), 45.9 (C-19), 46.9 (C-17), 47.3 (C-1), 48.2 (C-9), 51.6 (COOMe), 51.6 (C-5), 64.9 (C-3), 69.2 (C-2), 122.4 (C-12), 143.8 (C-13) y 178.4 (C-28). EMAR, (*m/z*): [M+Na]⁺ 619.2623 (C₃₁H₄₉O₃INa, calc. 619.2624).

3.4.1.2.9 Tratamiento de 2 α ,3 β -epoximaslinato de metilo (**44**) con WCl₆ y *n*-BuLi



Se disuelven 160 mg (0.4 mmol) de WCl₆ en 5 mL de THF, se introduce el matraz en un baño a -70 °C y se adicionan 0.08 mL de *n*-BuLi (0.8 mmol). Seguidamente se permite que la mezcla alcance t.a. y se añaden 100 mg (0.2 mmol) de **44** disueltos en 5 mL de THF, manteniéndose la reacción en agitación durante 20 minutos. Transcurrido este tiempo, se procesa y se purifica en columna con gel de sílice, obteniéndose 8 mg (8%) de **45** y 50 mg (46%) de **48**.

Compuesto **48**: sólido amarillo, *pf* 185-187 °C; $[\alpha]_D = 50$ (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 3404, 2947, 1724, 1125 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.27 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz, H-12), 4.12 (1H, ddd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 10.2$ Hz, $J_3 = 12.2$ Hz, H-2), 3.61 (3H, s, COOMe), 3.17 (1H, d, $J = 10.2$ Hz, H-3), 2.85 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 1.12 (3H, s, Me), 1.08 (3H, s, Me), 0.96 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.83 (3H, s, Me), 0.70 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 16.1 (Me), 16.6 (Me), 17.0 (Me), 18.3 (C-6), 23.1, 23.5 y 27.7 (C-11, C-15 y C-16), 23.7 (Me), 26.0 (Me), 29.0 (Me), 30.8 (C-20), 32.4, 32.5 y 33.9 (C-7, C-21 y C-22), 33.2 (Me), 39.4, 39.6 y 40.4 (C-4, C-8 y C-10), 41.3 (C-18), 41.8 (C-14), 45.9 (C-19), 48.9 (C-1), 46.8 (C-17), 47.5 (C-9), 51.6 (COOMe), 55.3 (C-5), 64.1 (C-2), 82.9 (C-3), 122.0 (C-12), 144.0 (C-13), 178.3 (C-28); EMAR, *m/z*: [M+Na]⁺ 527.3269 (C₃₁H₄₉O₃ClNa, calc. 527.3268).

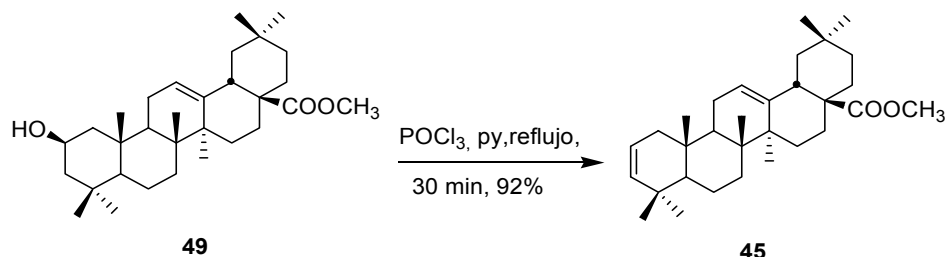
3.4.1.2.10 Desoxigenación de 2 α ,3 β -epoximaslinato de metilo (**44**) con Cp₂TiCl

A. Versión estequiométrica: se prepara el Ti (III) a partir de 700 mg (3 equivalentes) de Cp₂TiCl₂ en THF seco con 1000 mg (8 equivalentes de Mn). Una vez preparado el Ti (III) se añaden 468 mg (1mmol, 1 equivalente) de **44** disuelto en THF. La reacción se mantiene a temperatura ambiente 3 horas y a continuación se lava con HCl y se extrae con CH₂Cl₂ varias veces. Las fases orgánicas se juntan y se secan con Na₂SO₄ anhidro, se filtran y se concentran a vacío para proceder a su purificación en columna. Tras la correspondiente cromatografía en columna, se aislaron 370 mg (82 %) de **45** y 28 mg (6%) de **49**.

B. Versión catalítica: se disuelve Cp₂TiCl₂ (22 mg, 0.0086 mmol) y Mn (186 mg, 0.3 mmol) en THF, manteniéndose la mezcla a temperatura ambiente durante 15 min, hasta que la disolución se pone verde. A continuación se añade el compuesto **44** (200 mg, 0.42 mmol) disuelto en THF y una mezcla formada por Me₃SiCl (0.2 mL, 0.17 mmol) y collidina (0.4 mL, 0.29 mmol), previamente disuelta en THF. La mezcla obtenida se mantiene en agitación durante 3 horas en atm de argón. Transcurrido este tiempo se procesa la reacción la mezcla lavando con agua acidificada, se extrae 3 veces con CH₂Cl₂, las fases orgánicas se secan y se concentran a vacío. La purificación en columna del residuo obtenido permite obtener 146 mg (77%) del compuesto **45** y 22 mg (11%) de **49**.

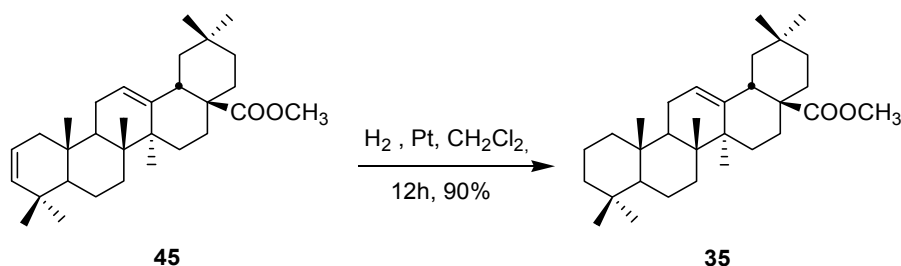
Compuesto **49**: Sólido blanco, **pf** 190-192 °C. $[\alpha]_D = 22$ (c 1, CHCl₃). **IR** (NaCl) ν : 3423, 2947, 2865, 1723, 1462 y 1034 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 5.27 (1H, dd, $J_1 = 3.8$ Hz, $J_2 = 7.4$ Hz, H-12), 4.05 (1H, dddd, $J_1 = J_2 = J_3 = J_4 = 5.4$ Hz, H-2), 3.59 (3H, s, COOMe), 2.83 (1H, dd, $J_1 = 4.0$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-18), 1.15 (3H, s, Me), 1.10 (3H, s, Me), 0.98 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me) y 0.71 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 16.8 (C-26), 18.5 (C-24), 19.0 (C-6), 23.2 (C-16), 23.5 (C-11), 23.7 (C-30), 24.7 (C-23), 26.0 (C-27), 27.7 (C-15), 30.8 (C-20), 32.5 (C-7), 32.5 (C-22), 32.8 (C-4), 33.2 (C-25), 33.2 (C-29), 34.0 (C-21), 37.9 (C-10), 39.7 (C-8), 41.5 (C-18), 41.9 (C-14), 45.9 (C-1), 46.6 (C-19), 46.8 (C-17), 47.3 (C-3), 48.1 (C-9), 51.6 (COOMe), 53.6 (C-5), 67.7 (C-2), 122.7 (C-12), 143.8 (C-13) y 178.3 (C-28); **EMAR**, (m/z): $[M+Na]^+$ 493.3659 (C₃₁H₅₀O₃Na, calc. 493.3657).

3.4.1.2.11 Deshidratación del compuesto 49



200 mg (0.4 mmol) de **49** se disuelven en 5 mL de piridina y se añade 1 mL de POCl_3 . La reacción tras 30 min a reflujo, se añade sobre agua helada para eliminar el exceso de reactivo. A continuación se lava con disolución de NaHSO_4 , se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y después se elimina el disolvente a presión reducida. Tras la purificación del bruto obtenido en columna, se aislaron 166 mg (92%) del derivado etilénico **45**.

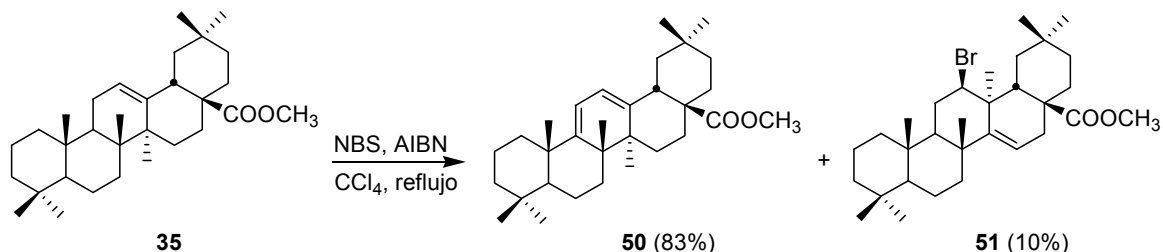
3.4.1.2.12 Hidrogenación catalítica del compuesto 45



50 mg de 2,3-desoxi $\Delta^{2,3}$ maslinato de metilo (**45**) disueltos en 2.5 mL de CH_2Cl_2 se mantienen en agitación bajo 4-5 atm de H_2 con catalizador de Pt-C durante 12 horas. Posteriormente, se filtra la mezcla, lavándose varias veces con CH_2Cl_2 y se concentra a presión reducida, obteniéndose un bruto que se purifica mediante cromatografía en columna para obtener 45 mg (90%) del compuesto **35**.

3.4.2 FRAGMENTACIÓN DEL ESQUELETO TRITERPÉNICO

3.4.2.1 Tratamiento del compuesto 35 con NBS



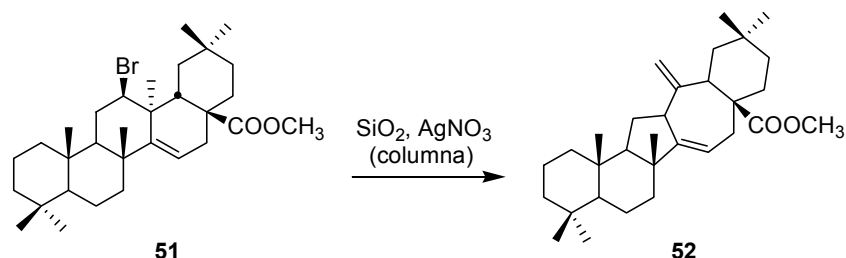
Se disuelven 450 mg (1 mmol) del compuesto **35** en 15 mL de CCl_4 y se añaden 212 mg (1.2 mmol) de NBS y AIBN en cantidad catalítica. La reacción se mantiene a reflujo durante el tiempo indicado en cada caso. A continuación, se lava con una disolución de NaHCO_3 , se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se purifica en columna obteniéndose 370 mg (83%) de **50** y 53 mg (10%) de **51**.

Compuesto **50**: sólido blanco, pf 131-133 °C; $[\alpha]_{\text{D}} = 247$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2947, 1728, 1462, 1163 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.57 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-11), 5.54 (1H, d, $J = 5.9$ Hz, H-12), 3.63 (3H, s, COOMe), 3.00 (1H, dd, $J_1 = 3.7$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz, H-18), 1.14 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 18.6 (CH_2), 19.2 (CH_2), 20.3 (Me), 20.4 (Me), 21.9 (Me), 23.7 (Me), 23.9 (CH_2), 25.1 (Me), 27.0 (CH_2), 30.7 (C), 32.1 (CH_2), 32.3 (CH_2), 33.0 (Me), 33.5 (Me), 33.5 (C), 33.9 (CH_2), 38.9 (CH_2), 39.1 (C), 39.7 (CH), 40.8 (C), 41.6 (CH_2), 42.5 (C), 46.0 (CH_2), 46.2 (C), 51.7 (Me), 51.9 (CH), 115.2 (CH), 120.7 (CH), 144.8 (C), 155.4 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}]^+$ 452.3655 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_2$, calc. 452.3654).

Compuesto **51**: sirupo,; $[\alpha]_{\text{D}} = 13$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3443, 2947, 1727, 1462, 1163 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.66 (1H, dd, $J_1 = 3.3$ Hz, $J_2 = 7.7$ Hz, H-15), 4.86 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 9.1$ Hz, H-12), 3.55 (3H, s, COOMe), 2.71 (1H, dd, $J_1 = 6.0$ Hz, $J_2 = 13.5$ Hz, H-18), 1.09 (3H, s, Me), 0.97 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.84 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me), 0.79 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 15.6 (Me), 18.4 (CH_2), 19.1 (CH_2), 20.6 (Me), 21.5 (Me), 25.8 (Me), 27.7 (Me), 29.3 (CH_2), 30.9 (C), 31.9 (CH_2), 32.3 (Me), 32.5 (CH_2), 33.2 (C), 33.3 (CH_2), 34.0 (Me), 37.1 (CH_2), 38.2 (C), 39.5 (CH_2), 39.9 (C), 41.2 (CH), 41.5 (CH_2), 42.0 (CH_2), 43.7 (C), 51.2 (C), 51.6 (Me), 51.6 (CH), 56.6 (CH), 66.7 (CH), 121.3 (CH), 157.9 (C), 178.3 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}]^+$ 533.3001 ($\text{C}_{31}\text{H}_{49}\text{O}_2\text{Br}$, calc. 533.2994).

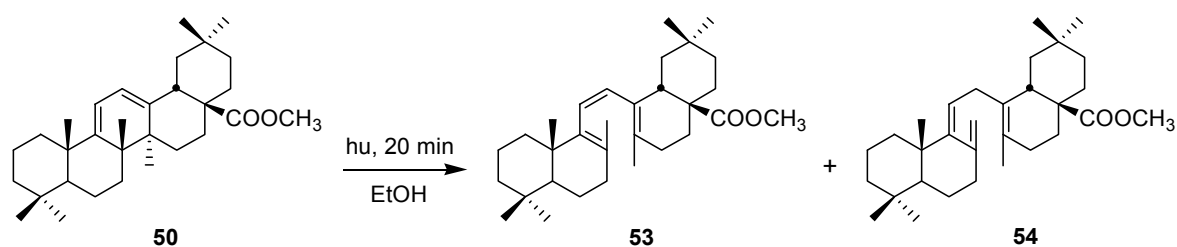
3.4.2.2 Reagrupamiento del compuesto **51** sobre gel de sílice

La purificación del compuesto **51** sobre sílice gel con AgNO₃ en columna cromatográfica de tipo flash conduce al compuesto reagrupado **52**.



Compuesto **52**: sólido blanco, **pf** 159-133 °C; $[\alpha]_D = 37$ (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3363, 2899, 2079, 1993, 1132, 1070 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 4.95 (1H, dd, $J_1 = 4.8$ Hz, $J_2 = 7.7$ Hz, H-15), 4.81 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-27a), 4.73 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-27b), 3.63 (3H, s, COOMe), 3.39 (1H, dd, $J_1 = 2.9$ Hz, $J_2 = 9.5$ Hz, H-12), 3.31 (1H, dd, $J_1 = 2.4$ Hz, $J_2 = 12.5$ Hz, H-18), 2.17 (1H, dd, $J_1 = 2.2$ Hz, $J_2 = 4.4$ Hz, H-1 β), 0.96 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.84 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me), 0.81 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 15.4 (Me), 18.4 (CH₂), 19.3 (CH₂), 21.4 (Me), 22.4 (Me), 27.1 (CH₂), 27.5 (Me), 29.7 (C), 31.9 (Me), 32.0 (CH₂), 33.6 (Me), 33.7 (CH₂), 34.7 (CH₂), 37.2 (C), 38.3 (CH₂), 38.6 (CH₂), 40.1 (C), 41.1 (CH), 42.1 (CH), 42.7 (CH₂), 46.4 (C), 50.5 (C), 51.9 (Me), 57.6 (CH), 59.9 (CH), 105.3 (CH₂), 112.7 (CH), 155.8 (C), 157.7 (C), 179.9 (C); **EMAR**, m/z : $[M]^+$ 475.3543 (C₃₁H₄₈O₂Na, calc. 475.3552).

3.4.2.3 Fotólisis del dieno **50**



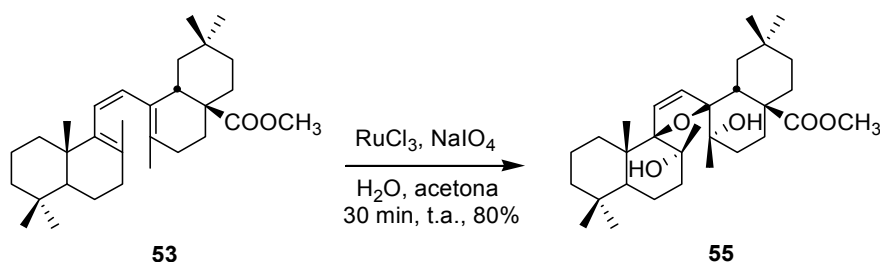
365 mg (0.8 mmol) de **50** se disuelven en 70 mL de etanol y se introducen en un reactor de vidrio provisto de refrigeración y de una lámpara de luz ultravioleta de 125 W, manteniendo la mezcla en agitación. La disolución se somete a la acción de la lámpara durante distintos tiempos, al cabo de los cuales se concentra a vacío y se purifica en columna el bruto obtenido, aislándose los productos **53** y **54** en distinta proporción según el tiempo de reacción.

Tiempo	50	53	54
20 min	21 %	78 %	-
30 min	15 %	46 %	38 %
40 min	15 %	33 %	52 %

Compuesto **53**: sirupo; $[\alpha]_D = 179$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2945, 1731, 1461, 1249, 1169 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.97 (1H, d, $J = 12.9$ Hz, H-12), 5.83 (1H, d, $J = 12.9$ Hz, H-11), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.79 (1H, dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 12.5$ Hz, H-18), 1.49 (3H, s, 3H-27), 1.25 (3H, s, 3H-26), 1.01 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.85 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 19.2 (CH_2), 19.3 (CH_2), 20.9 (Me), 21.6 (Me), 21.8 (Me), 22.0 (Me), 22.8 (CH_2), 25.0 (Me), 29.8 (CH_2), 29.8 (CH_2), 30.8 (C), 32.9 (CH_2), 33.0 (Me), 33.5 (Me), 33.5 (C), 34.1 (CH_2), 37.2 (CH), 38.0 (CH_2), 38.9 (C), 41.8 (CH_2), 43.0 (CH_2), 45.5 (C), 51.5 (CH), 51.7 (Me), 127.7 (CH), 127.7 (C), 129.5 (C), 132.4 (CH), 134.6 (C), 138.8 (C), 178.4 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}]^+$ 475.3555 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_2$, calc. 475.3576).

Compuesto **54**: sirupo; $[\alpha]_D = 42$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2949, 1730, 1462, 1253, 1168 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 4.98 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-26a), 4.94 (1H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 9.4$ Hz, H-11), 4.52 (1H, d, $J = 2.5$ Hz, H-26b), 3.62 (3H, s, COOMe), 1.52 (3H, s, 3H-27), 0.94 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.85 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 19.0 (Me), 19.4 (CH_2), 20.7 (Me), 22.1 (Me), 23.1 (CH_2), 23.7 (CH_2), 24.3 (Me), 29.9 (CH_2), 30.6 (CH_2), 30.7 (C), 32.2 (CH_2), 33.0 (Me), 33.6 (Me), 34.0 (C), 34.1 (CH_2), 36.1 (CH), 37.5 (CH_2), 37.6 (CH_2), 40.8 (C), 41.6 (CH_2), 42.6 (CH_2), 45.8 (C), 51.7 (Me), 53.6 (CH), 111.6 (CH_2), 116.7 (CH), 124.9 (C), 133.7 (C), 146.1 (C), 151.8 (C), 178.4 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 475.3551 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_2\text{Na}$, calc. 475.3552).

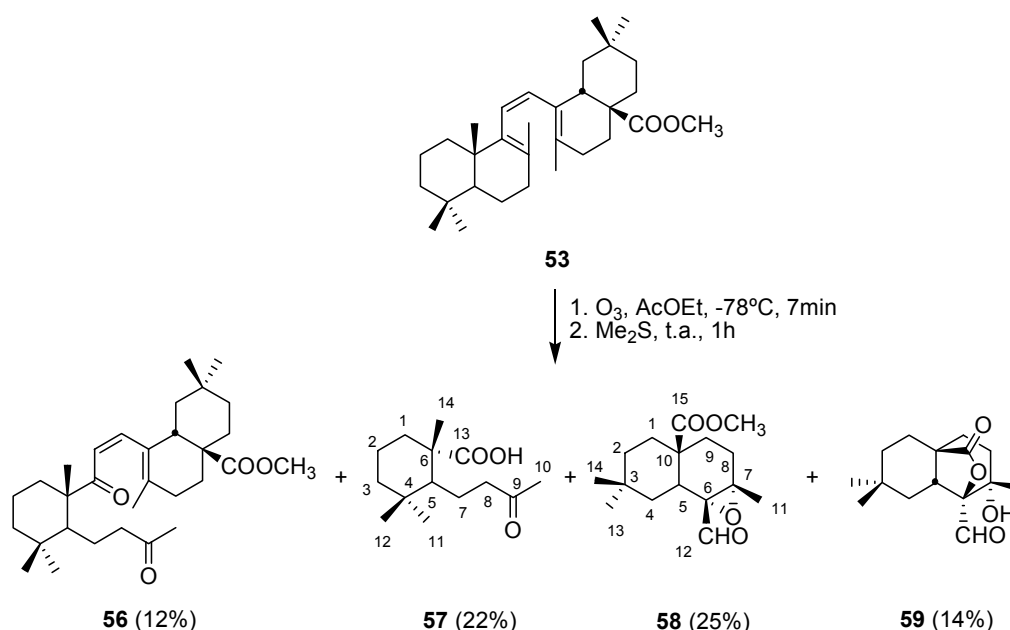
3.4.2.4 Oxidación con $\text{RuCl}_3\text{-NaIO}_4$ del trieno **53**



189 mg de NaIO₄ (0.88 mmol) y RuCl₃·H₂O en cantidad catalítica se disuelven en 2 mL de agua y se añaden a una disolución de acetona (10 mL) con 100 mg (0.22 mmol) de **53**. La mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 30 min, al cabo de las cuales se procesa lavando con agua y extrayendo tres veces con CH₂Cl₂, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra a vacío para obtener tras la purificación en columna 88 mg (80%) de **55**.

Compuesto **55**: sirupo; [α]_D = 16 (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 2946, 1724, 1057, 767 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.70 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-12), 5.51 (1H, d, J = 6.4 Hz, H-11), 3.67 (3H, s, COOMe), 2.89 (1H, dd, J₁ = 4.3 Hz, J₂ = 13.7 Hz, H-18), 1.30 (3H, s, Me), 1.22 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 0.98 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 18.5 (CH₂), 19.7 (Me), 20.1 (CH₂), 22.1 (Me), 23.2 (CH₂), 24.0 (Me), 26.9 (Me), 29.3 (Me), 30.4 (C), 33.5 (Me), 33.6 (Me), 34.2 (CH₂), 34.5 (CH₂), 35.0 (CH₂), 36.0 (CH₂), 38.7 (CH₂), 39.9 (CH₂), 41.9 (CH₂), 33.9 (C), 42.7 (C), 42.9 (CH), 47.0 (C), 47.1 (CH), 52.0 (Me), 74.2 (C), 74.6 (C), 95.6 (C), 103.6 (C), 124.8 (CH), 134.5 (CH), 179.5 (C); EMAR, m/z: [M+Na]⁺ 525.3556 (C₃₁H₅₀O₅Na, calc. 525.3556).

3.4.2.5 Ozonolisis del trieno **53**



Se disuelven 285 mg (0.63 mmol) de **53** en 10 mL de acetato de etilo y se introduce el tubo de reacción en un baño con agitación a -78 °C. Seguidamente se pasa una corriente de ozono de caudal 0.1 L/min con una proporción de O₃ del 90% durante 7 min, al cabo de los cuales se desplaza el ozono sobrante con una corriente de argón y se adiciona 0.1 mL de Me₂S,

se lleva a temperatura ambiente y se mantiene en agitación durante 30 min. Transcurrido este tiempo, se concentra a vacío y se procede a su purificación mediante cromatografía en columna de tipo flash, obteniéndose 37 mg de **56** (12%), 17 mg (22%) de **57**, 22 mg (25%) de **58** y 12 mg de **59** (14%).

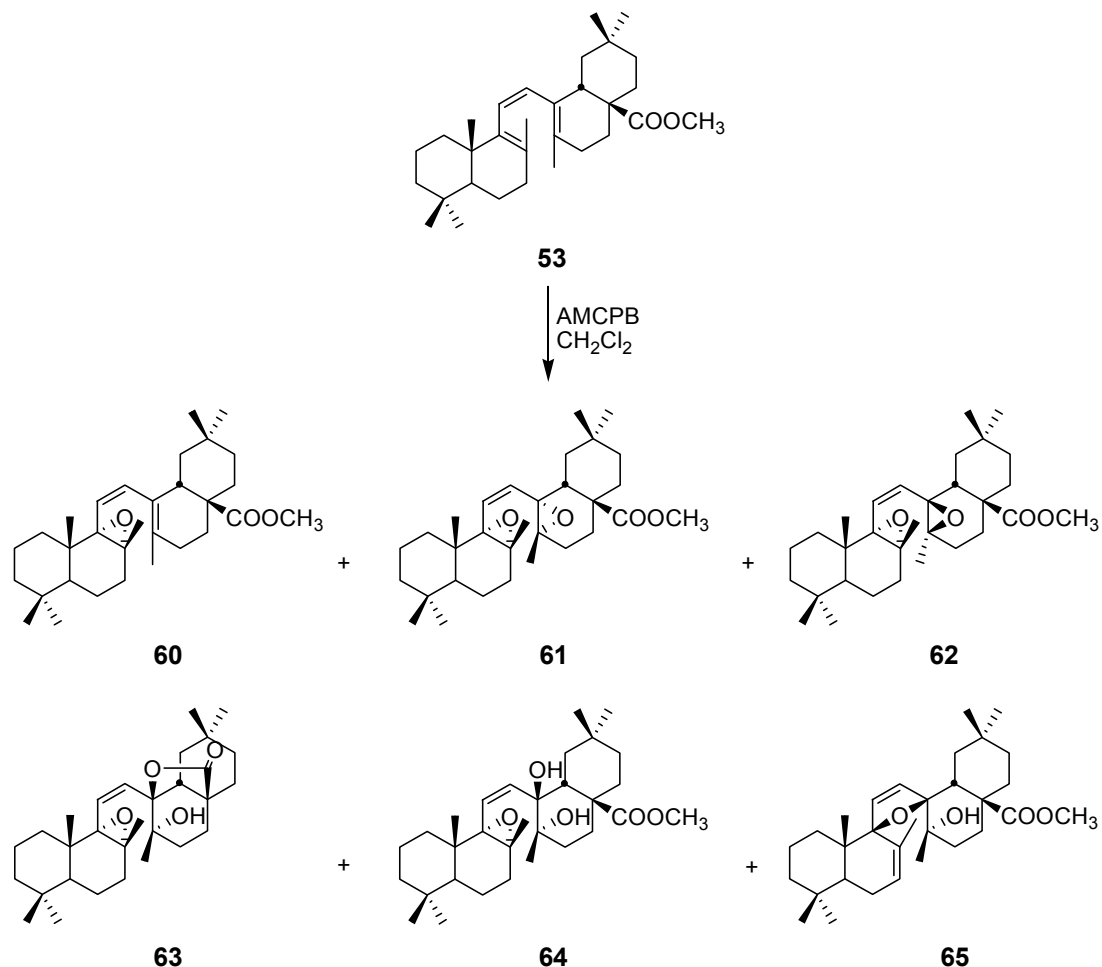
Compuesto **56**: sirupo; $[\alpha]_D = 99$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2925, 2854, 1698, 773 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 7.72 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-12), 6.64 (1H, d, $J = 15.4$ Hz, H-11), 3.60 (3H, s, COOMe), 3.15 (1H, dd, $J_1 = 3.6$ Hz, $J_2 = 13.9$ Hz, H-18), 2.00 (3H, s, 3H-26), 1.24 (3H, s, Me), 1.19 (3H, s, Me), 1.09 (3H, s, Me), 0.94 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 18.4 (CH_2), 19.6 (Me), 21.9 (CH_2), 22.5 (CH_2), 24.2 (Me), 29.8 (Me), 31.0 (C), 31.7 (CH_2), 32.9 (Me), 33.4 (Me), 33.6 (Me), 34.0 (Me), 34.5 (CH_2), 36.5 (CH_2), 41.6 (C), 42.2 (CH_2), 45.2 (CH_2), 45.5 (C), 48.0 (CH), 51.8 (C), 52.0 (Me), 118.2 (CH), 132.0 (C), 139.8 (CH), 142.6 (C), 177.8 (C), 205.7 (C), 208.7 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 507.3458 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 507.3450).

Compuesto **57**: sirupo; $[\alpha]_D = 0.8$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2925, 2854, 1698, 773 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 2.11 (3H, s, 3H-10), 1.23 (3H, s, 3H-14), 0.96 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 17.5 (Me), 18.3 (CH_2), 22.1 (CH_2), 22.6 (Me), 29.9 (Me), 33.2 (Me), 34.4 (C), 37.5 (CH_2), 41.1 (CH_2), 45.2 (CH_2), 47.3 (C), 48.8 (CH), 184.2 (C), 208.9 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 263.1629 ($\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Na}$, calc. 263.1623).

Compuesto **58**: sirupo; $[\alpha]_D = 34$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3497, 2948, 1759, 1724, 1465, 1079 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 9.41 (1H, s, CHO), 3.72 (3H, s, COOMe), 3.25 (1H, ddd, $J_1 = 1.7$ Hz, $J_2 = 4.8$, $J_3 = 12.9$ Hz, H-5), 1.34 (3H, s, Me-11), 0.96 (3H, s, Me-13), 0.94 (3H, s, Me-14); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 19.2 (Me), 23.0 (CH_2), 24.0 (Me), 28.5 (Me), 29.7 (C), 30.1 (CH_2), 30.7 (CH_2), 32.6 (Me), 33.9 (CH_2), 36.4 (CH_2), 43.7 (C), 51.9 (CH), 64.8 (C), 70.1 (C), 177.4 (C), 200.1 (CH); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 303.1568 ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 303.1572).

Compuesto **59**: sólido blanco; $pF = 98$; $[\alpha]_D = 63$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3477, 1745, 1708, 1077, 772 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 9.50 (1H, d, $J = 1.5$ Hz, CHO), 3.54 (3H, d, $J = 1.5$ Hz, H-5), 1.21 (3H, s, Me-11), 1.03 (3H, s, Me-13), 0.94 (3H, s, Me-14); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 20.4 (Me), 20.5 (CH_2), 24.1 (Me), 26.9 (CH_2), 28.8 (CH_2), 30.3 (C), 33.1 (Me), 33.2 (CH_2), 34.7 (CH), 39.8 (C), 79.2 (C), 82.5 (C), 177.5 (C), 200.0 (CH); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 289.1480 ($\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 289.1418).

3.4.2.6 Epoxidación con AMCPB del trieno **53**.



Se disuelve el trieno **53** en CH₂Cl₂ y a la temperatura elegida se añade una cantidad de 1.5 eq de AMCPB, manteniéndose en agitación durante los tiempos indicados. Se procesa la reacción añadiendo una disolución saturada de FeSO₄, se neutraliza con NaHCO₃ se lava con agua y se extrae varias veces con CH₂Cl₂, para concentrar por último a vacío. Tras la purificación en columna se obtienen distintas cantidades de **60**, **61**, **62**, **63**, **64** y **65**.

Compuesto **60**: sirupo; $[\alpha]_D = 27$ (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 2945, 772 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 6.1 (1H, d, $J = 13.3$ Hz, H-12), 5.6 (1H, d, $J = 13.3$ Hz, H-11), 3.7 (3H, s, COOMe), 3.5 (1H, dd, H-18), 1.5 (3H, s, Me), 1.2 (3H, s, Me), 1.1 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.83 (3H, s, Me), 0.80 (3H, s, Me), 0.78 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 17.3 (CH₂), 18.4 (Me), 18.6 (CH₂), 20.8 (Me), 21.6 (Me), 22.4 (Me), 23.6 (CH₂), 25.0 (Me), 28.5 (CH₂), 29.5 (CH₂), 30.7 (C), 32.0 (CH₂), 32.5 (Me), 33.1 (Me), 33.8 (Me), 34.5 (CH₂), 35.2 (CH₂), 36.1 (CH), 38.6 (C), 41.6 (CH₂), 41.9 (CH), 42.8 (CH₂), 45.2 (C), 51.8 (Me), 60.7 (C), 72.1 (C), 126.6 (CH), 127.5 (C), 132.7 (C), 134.4 (CH), 178.6 (C); EMAR, m/z : [M+Na]⁺ 491.3506 (C₃₁H₄₈O₃Na, calc. 491.3501).

Compuesto **61**: sirupo; $[\alpha]_D = 33$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2946, 772 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.89 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-12), 5.66 (1H, d, $J = 13.6$ Hz, H-11), 3.68 (3H, s, COOMe), 2.49 (1H, dd, H-18), 1.11 (3H, s, Me-27), 1.10 (6H, s, 2Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.81 (6H, s, 2Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 17.2 (CH_2), 18.4 (CH_2), 18.7 (Me), 20.4 (Me), 20.9 (Me), 21.4 (Me), 22.6 (CH_2), 24.0 (Me), 28.4 (CH_2), 29.5 (CH_2), 30.0 (C), 31.5 (CH_2), 33.1 (Me), 33.1 (C), 33.6 (Me), 34.2 (CH_2), 34.8 (CH_2), 35.9 (CH), 37.3 (CH_2), 37.4 (C), 41.5 (CH), 41.8 (CH_2), 45.5 (C), 51.7 (Me), 61.1 (C), 62.4 (C), 65.5 (C), 72.1 (C), 125.8 (CH), 132.7 (CH), 178.4 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 504.3452 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 507.8450).

Compuesto **62**: sirupo; $[\alpha]_D = 25$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3409, 2940, 769 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 5.85 (1H, d, $J = 12.3$ Hz, H-12), 5.68 (1H, d, $J = 12.3$ Hz, H-11), 3.76 (3H, s, COOMe), 3.27 (1H, dd, $J_1 = 4.1$ Hz, $J_2 = 13.5$ Hz, H-18), 1.17 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 1.06 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.78 (6H, s, 2Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 17.4 (CH_2), 18.6 (CH_2), 18.7 (Me), 19.8 (CH_2), 21.6 (Me), 21.7 (Me), 21.8 (Me), 24.9 (Me), 25.7 (CH_2), 28.9 (CH_2), 29.8 (CH_2), 30.5 (C), 31.9 (CH_2), 33.0 (C), 33.1 (Me), 33.6 (CH_2), 33.9 (Me), 36.8 (CH), 37.9 (C), 38.3 (CH_2), 41.5 (CH_2), 41.9 (CH), 42.6 (C), 51.4 (Me), 57.3 (C), 59.9 (C), 66.3 (C), 72.5 (C), 130.3 (CH), 178.6 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 507.3498 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 507.3553).

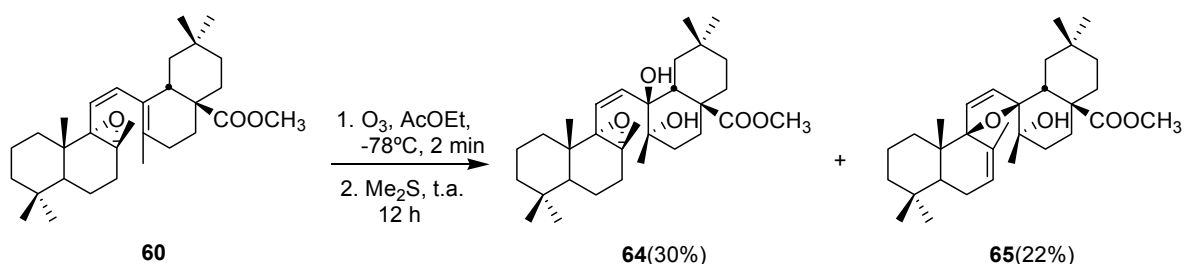
Compuesto **63**: sirupo; $[\alpha]_D = 38$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2866, 1750, 1457, 1082 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 6.03 (1H, s, -OH), 5.80 (1H, d, $J = 14.1$ Hz, H-12), 5.59 (1H, d, $J = 14.1$ Hz, H-11), 1.25 (3H, s, Me), 1.25 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.83 (3H, s, Me), 0.82 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 16.8 (CH_2), 18.3 (CH_2), 18.6 (Me), 20.5 (CH_2), 20.6 (Me), 21.0 (Me), 21.5 (Me), 24.2 (Me), 27.1 (CH_2), 27.8 (CH_2), 28.4 (CH_2), 30.5 (C), 33.1 (C), 33.3 (CH_2), 33.6 (Me), 37.4 (C), 37.5 (CH_2), 40.6 (C), 41.6 (CH_2), 41.8 (CH), 42.2 (CH), 67.1 (C), 74.5 (C), 74.7 (C), 84.7 (C), 121.1 (CH), 137.9 (CH), 179.0 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 493.3267 ($\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 493.3294).

Compuesto **64**: sirupo; $[\alpha]_D = 33$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2946, 772 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 6.07 (1H, d, $J = 13.7$ Hz, H-12), 5.71 (1H, d, $J = 13.7$ Hz, H-11), 4.65 (1H, s, -OH), 3.71 (3H, s, COOMe), 2.59 (1H, dd, $J_1 = 3.2$ Hz, $J_2 = 13.7$ Hz, H-18), 1.24 (6H, s, 2Me), 1.12 (3H, s, Me), 1.11 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.80 (3H, s, Me), 0.79 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 17.0 (CH_2), 18.6 (CH_2), 18.8 (Me), 21.6 (Me), 21.9 (Me), 22.2 (CH_2), 23.5 (Me), 27.4 (Me), 28.4 (CH_2), 29.7 (CH_2), 30.7 (C), 33.0 (C), 33.3 (Me), 33.7 (CH_2), 34.1 (CH_2), 36.2 (CH_2), 37.6 (C), 37.9 (CH_2), 41.3 (CH_2), 41.6 (CH), 44.1 (C), 45.2 (CH), 51.4 (Me), 65.3 (C), 73.9 (C), 74.3 (C), 77.7 (CH), 123.4 (CH), 136.8 (CH), 179.7 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 525.3552 ($\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_5\text{Na}$, calc. 525.3542).

Compuesto **65**: sirupo; $[\alpha]_D^{25} = -43$ (c 1, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 2946, 1715, 771 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3): δ 6.11 (1H, d, $J=6.3$ Hz, H-12), 5.89 (1H, d, $J=6.3$ Hz, H-13), 5.55 (1H, dd, $J_1=3.5$ Hz, $J_2=5.0$ Hz, H-7), 3.50 (3H, s, COOMe), 2.70 (1H, dd, $J_1=3.2$ Hz, $J_2=12.1$ Hz, H-18), 2.29 (1H, ddd, $J_1=3.7$ Hz, $J_2=13.4$, $J_3=13.9$ Hz, H-6), 1.67 (3H, s, Me), 1.17 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.87 (6H, s, 2Me), 0.85 (3H, s, Me), 0.83 (3H, s, Me); ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 18.7 (Me), 18.7 (CH_2), 21.2 (Me), 22.7 (CH_2), 23.5 (Me), 23.7 (Me), 25.3 (CH_2), 29.8 (C), 30.8 (C), 31.4 (Me), 32.6 (Me), 33.4 (Me), 33.8 (CH_2), 34.2 (CH_2), 34.3 (CH_2), 34.9 (CH_2), 38.5 (CH_2), 40.9 (CH), 41.1 (C), 42.4 (CH_2), 44.2 (CH), 45.0 (C), 51.6 (Me), 74.9 (C), 93.7 (C), 97.1 (C), 127.1 (CH), 131.5 (CH), 132.5 (CH), 133.9 (C), 179.0 (C); EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 507.3444 ($\text{C}_{31}\text{H}_{48}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 507.3450).

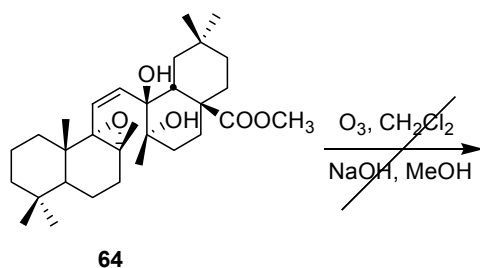
Temperatura	tiempo	53	60	61	62	63	64	65
-60 °C	24 h	40 %	55 %	-	-	-	-	-
-60 °C	48 h	10 %	82 %	-	-	-	-	-
-40 °C	3 h	-	60 %	16 %	8 %	6 %	-	-
-40 °C	5 h	-	42 %	10 %	18 %	10 %	8 %	-
-40 °C	12 h	-	31 %	8 %	20 %	15 %	4 %	-
t.a	2 h	-	10 %	3 %	20 %	25 %	2 %	10 %

3.4.2.7 Ozonolisis del compuesto 60



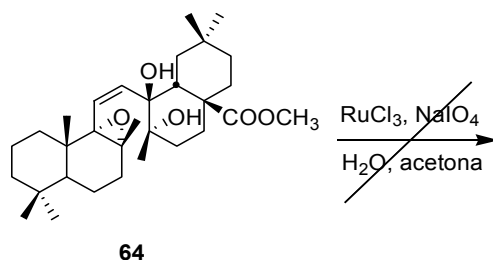
El monoepóxido **60** (100 mg, 0.23 mmol) se disuelve en 5 mL de AcOEt, mientras se mantiene en agitación a -78°C se le pasa una corriente de O_3 al 90% y flujo 0.1 L/ min. Transcurridos 2 min, se quita el exceso de ozono pasando una corriente de argón, se añade 0.5 mL de Me_2S , se lleva a temperatura ambiente y se mantiene en agitación toda la noche. Se concentra a vacío y se purifica en columna cromatográfica utilizando un gradiente de polaridad de CH_2Cl_2 :acetona (de 20:1 a 8:1), obteniéndose 35 mg de **64** y 25 mg de **65**.

3.4.2.8 Ozonolisis del compuesto 64



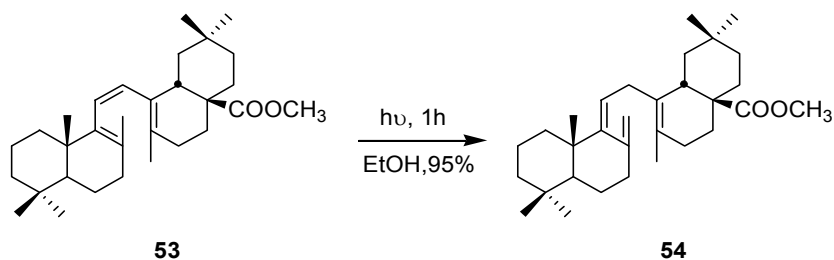
Se disuelve el epóxido **64** en 5 mL CH_2Cl_2 y se añade 0.4 mL de disolución metanólica de NaOH 2.5 M, se dispone con agitación mientras se le pasa la corriente de ozono a una temperatura de -10°C . Transcurridas 3 horas sin observarse evolución por cromatografía en capa fina, se procesa la reacción y se comprueba por RMN de ^1H que el producto de partida no ha evolucionado.

3.4.2.9 Oxidación con $\text{RuCl}_3\text{-NaIO}_4$ del compuesto 64

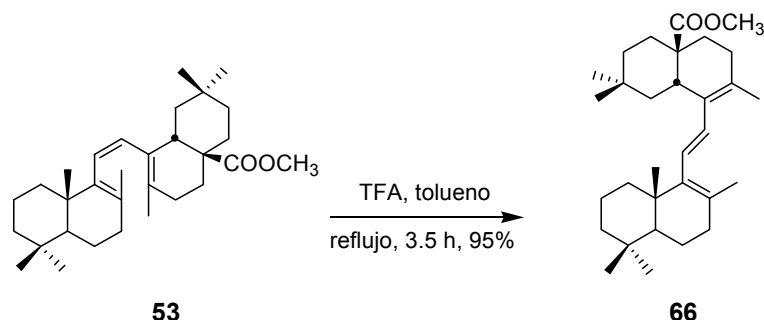


Se disuelven 35 mg (0.07 mmol) de **64** en 4 ml de acetona y se añade 60 mg (0.28 mmol) de NaIO_4 y una cantidad catalítica de RuCl_3 disueltos en 2 mL de agua, se mantiene en agitación a temperatura ambiente. Como no se observa evolución se dispone la mezcla de reacción a 50°C , incluso se llega a poner a reflujo sin que el producto de partida se vea afectado en estas condiciones.

3.4.2.10 Fotólisis del trieno 53

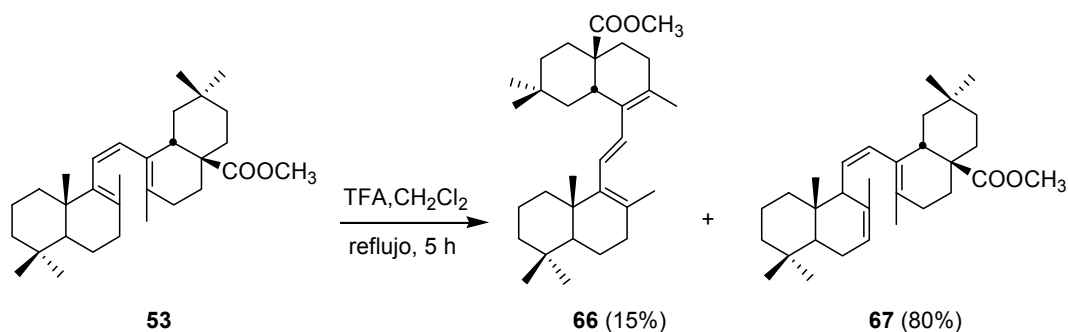


3.4.2.12 Isomerización del trieno 53 con TFA-tolueno



Se disuelve **53** (200 mg, 0.44 mmol) en 20 mL tolueno y se añaden 20 μL de ácido trifluoroacético, la mezcla resultante se mantiene en agitación a reflujo suave durante 3.5 h. Una vez finalizada la reacción se concentra a vacío y se purifica en columna, obteniéndose 190 mg (95 %) de **66**.

3.4.2.13 Isomerización del trieno 53 con TFA- CH_2Cl_2

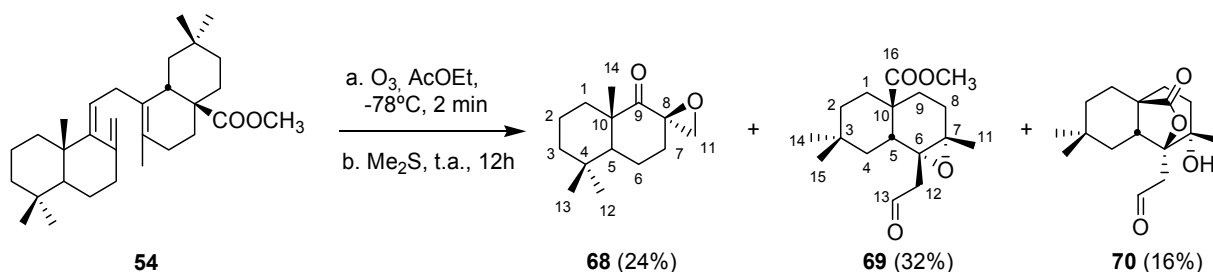


Se disuelve **53** (100 mg, 0.22 mmol) en 10 mL CH_2Cl_2 y se añaden 10 μL de ácido trifluoroacético, la mezcla resultante se mantiene en agitación a reflujo durante 5 h. Una vez finalizada la reacción se concentra a vacío y se purifica en columna, obteniéndose 15 mg (15 %) de **66** y 80 mg (80%) de **67**.

Compuesto **67**: sirupo. $[\alpha]_D^{25} = 813$ (c 1, CHCl_3); IR (NaCl) ν : 3417, 2947, 1727, 1443 y 1168 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 6.10 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-12), 5.49 (1H, dd, $J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 1.8$ Hz H-7), 5.25 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 11.7$ Hz, H-11), 3.67 (3H, s, COOMe), 3.64 (1H, d, $J = 11.7$ Hz, H-9), 2.94 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 12.6$ Hz, H-18), 1.64 (3H, s, Me), 1.49 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.87 (6H, s, 2Me), 0.87 (3H, s, Me), 0.84 (3H, s, Me) y 0.80 (3H, s, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 14.6 (Me), 19.0 (CH_2), 20.9 (Me), 22.2 (Me), 22.7 (C-6), 23.1 (Me), 24.2 (CH_2), 24.7 (Me), 29.3 (CH_2), 30.9 (C), 33.1 (Me), 33.3 (C), 33.6 (Me), 34.2 (CH_2), 37.1 (C), 39.1 (CH), 39.5 (CH_2), 42.7 (CH_2), 42.8 (CH_2), 45.7 (C), 49.7 (CH), 52.1 (CH), 53.0 (Me), 121.9 (CH), 128.4 (C), 132.1 (CH), 132.4

(C), 132.7 (CH), 134.1 (CH), y 178.6 (C); **EMAR**, (*m/z*): [M]⁺ 452.3663 (C₃₁H₄₈O₂Na, calc. 452.3654).

3.4.2.14 Ozonolisis del trieno **54**



Se disuelven 100 mg (0.22 mmol) del compuesto **54** en 8 mL de AcOEt, se dispone en un tubo de reacción manteniendo en agitación a -78°C y se le pasa corriente de ozono durante 2 min. Se desplaza entonces el ozono sobrante con una corriente de argón. Después se añade Me₂S y se lleva a temperatura ambiente manteniendo en agitación durante 12 h. Se concentra a vacío y se purifica en columna cromatográfica, obteniéndose 12 mg (24%) de **68**, 10 mg (32%) de **69** y 5 mg (16%) de **70**.

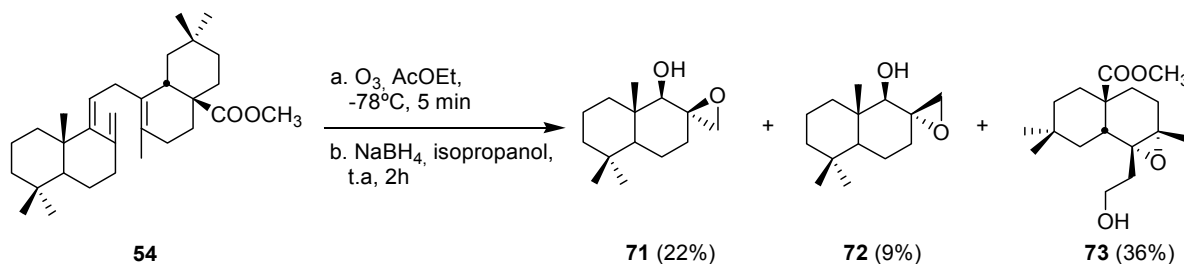
Compuesto **68**: Sirupo; [α]_D = 9.5 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 2929, 1716, 1460, 1007, 907 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 3.21 (1H, d, *J*=5.5 Hz, H-11a), 2.55 (1H, d, *J*=5.5 Hz, H-11b), 1.22 (3H, s, Me), 0.96 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 17.5 (Me), 17.9 (CH₂), 18.9 (CH₂), 22.2 (Me), 31.5 (CH₂), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 34.4 (C), 41.6 (CH₂), 49.8 (C), 50.6 (CH₂), 50.7 (CH), 58.0 (C), 210.8 (C); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 245.1618 (C₁₄H₂₂O₂Na, calc. 245.1620).

Compuesto **69**: Sirupo. [α]_D = 51 (c 1, CHCl₃). **IR** (CHCl₃) ν: 2949, 2865, 1727, 1464, 1254, 1200 y 1042 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 9.87 (1H, dd, *J*₁ = 2.7 Hz, *J*₂ = 3.6 Hz, H-13), 3.65 (3H, s, COOMe), 2.79 (1H, dd, *J*₁ = 3.6 Hz, *J*₂ = 15.4 Hz, H-12a), 2.44 (1H, dd, *J*₁ = 2.7 Hz, *J*₂ = 15.4 Hz, H-12b), 2.37 (1H, dd, *J*₁ = 5.8 Hz, *J*₂ = 11.0 Hz, H-5), 1.29 (3H, s, Me-11), 0.92 y 0.86 (3H cada uno, s, Me 14 y 15); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 20.1 (Me), 22.9 (CH₂), 24.0 (Me), 29.8 (C), 29.8 (CH₂), 30.9 (CH₂), 32.7 (Me) 33.9 (CH₂), 35.4 (CH₂), 35.7 (CH), 45.2 (C), 49.6 (CH₂), 51.9 (Me), 62.3 (C), 64.1 (C), 177.8 (C) y 200.6 (CH); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 317.1732 (C₁₇H₂₆O₄Na, calc. 317.1729).

Compuesto **70**: Sirupo; [α]_D = 13 (c 1, CHCl₃). **IR** (CHCl₃) ν: 2947, 1736, 1466, 1378, 1256 y 1081 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 9.07 (1H, dd, *J*₁ = 1.3 Hz, *J*₂ = 1.3 Hz, H-13), 2.82 (1H, dd, *J*₁ = 1.3 Hz, *J*₂ = 17.2 Hz, H-12a), 2.74 (1H, dd, *J*₁ = 1.3 Hz, *J*₂ = 17.2 Hz, H-12b), 2.03 (1H, dd, *J*₁ =

3.2 Hz, $J_2 = 17.6$ Hz, H-5), 1.32 (3H, s, Me-11), 0.98 y 0.84 (3H cada uno, s, Me 14 y 15); ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 20.6 (CH_2), 20.6 (Me), 24.1 (Me), 26.8 (CH_2), 27.4 (CH_2), 29.8 (Me), 30.5 (C), 33.1 (CH_2), 34.5 (CH_2), 40.3 (C), 41.9 (CH), 50.7 (CH_2), 74.3 (C), 83.6 (C), 178.3 (C) y 203.8 (CH); EMAR, (m/z): $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 303.1573 ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 303.1572).

3.4.2.15 Ozonolisis del trieno **54** y posterior reducción con NaBH_4



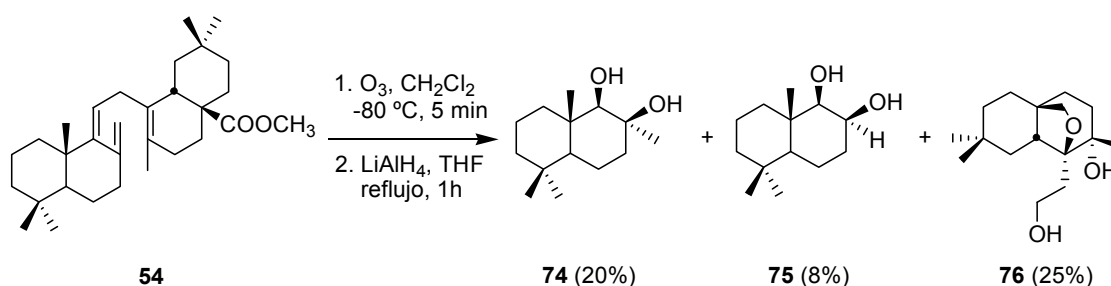
Se disuelve **54** (100 mg, 0.22 mmol) en 8 mL de AcOEt y se pone en baño de MeOH a -80°C con agitación, se le pasa corriente de O_3 durante 5 min. Tras este tiempo se desplaza el exceso de ozono con una corriente de argón, se concentra a vacío y el residuo obtenido se redissuelve en isopropanol y se le añade 14 mg de NaBH_4 , manteniéndolo 2 h en agitación a temperatura ambiente. Se concentra a presión reducida, se disuelve en CH_2Cl_2 , se lava con agua acidificada, se neutraliza, se extrae varias veces y se concentra a vacío. Tras la purificación en columna cromatográfica flash se obtiene 7 mg (22%) de **71** y 3 mg (9%) de **72** y 14 mg (36 %) de **73**.

Compuesto **71**: Sirupo; $[\alpha]_D = 2.1$ (c 0.1, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 2926, 1718, 1459, 1085, 713 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3): δ 3.28 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-9), 2.87 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-11a), 2.32 (1H, d, $J = 4.9$ Hz, H-11b), 0.91 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me); ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 13.0 (Me), 18.3 (CH_2), 19.5 (CH_2), 22.2 (Me), 32.7 (CH_2), 33.2 (C), 33.6 (Me), 38.4 (CH_2), 41.0 (C), 42.1 (CH_2), 47.4 (CH_2), 51.2 (CH), 58.5 (C), 77.2 (CH); EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 247.1766 ($\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Na}$, calc. 247.1776).

Compuesto **72**: sólido blanco, pf 101-03 $^\circ\text{C}$; $[\alpha]_D = 7.2$ (c 0.1, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 2923, 2854, 1743, 1701, 1654, 772 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3): δ 3.35 (1H, s, H-9), 3.05 (1H, dd, $J_1 = 1.8$ Hz, $J_2 = 5.0$ Hz, H-11a), 2.58 (1H, d, $J = 5.0$ Hz, H-11b), 0.90 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.85 (3H, s, Me); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 13.0 (Me), 18.4 (CH_2), 21.3 (CH_2), 21.9 (Me), 32.4 (CH_2), 33.2 (C), 33.5 (Me), 38.4 (CH_2), 40.9 (C), 42.1 (CH_2), 51.0 (CH_2), 52.3 (CH), 59.9 (C), 78.4 (CH); EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 247.1766 ($\text{C}_{14}\text{H}_{24}\text{O}_2\text{Na}$, calc. 247.1776).

Compuesto **73**: Sólido blanco, **pf** 90-92 °C. $[\alpha]_D = -4$ (c 1, CHCl₃); **IR** (v max) (NaCl): 3421, 2949, 2864, 1731, 1457, 1253 y 1038 cm⁻¹. **¹H RMN** (CDCl₃): δ 3.85 (2H, m, H-13), 3.68 (3H, s, COOMe), 2.50 (1H, dd, $J_1 = 5.9$ Hz, $J_2 = 11.4$ Hz, H-5), 1.26 (3H,s, Me-11), 0.92 (3H, s, Me) y 0.88 (3H, s, Me); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 20.2 (C-11), 23.1 (C-9), 24.1 (C-14), 29.7 (C-3), 30.5 y 31.1 (C-1 y C-2), 32.8 (C-15), 33.5 (C-5), 34.2 y 35.9 (C-4 y C-8), 36.7 (C-12), 45.4 (C-10), 52.3 (COOMe), 59.8 (C-13), 63.1 (C-7), 66.7 (C-6) y 179.6 (C-16); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 319.1890 (C₁₇H₂₈O₄Na, calc. 319.1885).

3.4.2.16 Ozonolisis del trieno **54** y posterior reducción con LiAlH₄



Se disuelven 76 mg (0.16 mmol) de **54** en 10 mL de CH₂Cl₂ y se introduce el tubo de reacción en un baño con agitación a -80 °C. Seguidamente se pasa una corriente de ozono de caudal 0.1 L/min con una proporción de O₃ del 90% durante 5 min, al cabo de los cuales se desplaza el ozono sobrante con una corriente de argón y se evapora el disolvente a presión reducida. A continuación se disuelve la mezcla de reacción en 10 mL de THF, se añaden 2 mL de una disolución 1.0 M de LiAlH₄ y se mantiene 1 h a reflujo. Finalmente, se procesa la reacción según el método general descrito y se purifica en columna cromatográfica el bruto obtenido, aislándose 11 mg (20%) de **74**, 10 mg (8%) de **75** y 12 mg (25%) de **76**.

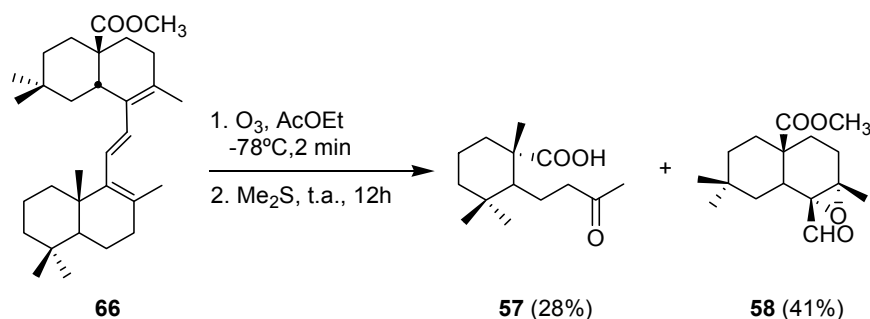
Compuesto **74**: sólido blanco, **pf** 97-99 °C; $[\alpha]_D = -5$ (c 0.6, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3410, 3284, 2927, 1063 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 2.87 (1H, s, H-9), 1.20 (3H, s, 3H-11), 1.00 (3H, s, 3H-14), 0.87 y 0.85 (3H cada uno, s, 3H-12 y 3H-13); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 13.6 (Me), 17.9 (CH₂), 18.1 (CH₂), 21.9 (Me), 29.6 (Me), 33.1 (C), 33.5 (Me), 38.8 (CH₂), 39.1 (CH₂), 39.9 (C), 42.0 (CH₂), 53.1 (CH), 72.6 (C), 84.4 (CH); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 249.1834 (C₁₄H₂₆O₂Na, calc. 249.1830).

Compuesto **75**: sólido blanco, **pf** 160-162 °C; $[\alpha]_D = -3$ (c 0.5, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3432, 2924, 1461, 1044, 984 cm⁻¹; **¹H RMN** (CDCl₃): δ 3.96 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-8 ó H-9), 3.10 (1H, d, $J = 2.9$ Hz, H-8 ó H-9), 1.04 (3H, s, 3H-13), 0.88 y 0.86 (3H cada uno, s, 3H-11 y 3H-12); **¹³C RMN** (CDCl₃): δ 14.3 (Me), 16.4 (CH₂), 18.0 (CH₂), 21.9 (Me), 32.1 (CH₂), 33.0 (C), 33.5 (Me), 38.4 (CH₂), 39.8 (C), 42.1 (CH₂), 52.9 (CH), 70.6 (CH), 81.1 (CH); **EMAR**, (*m/z*): [M+Na]⁺ 235.1672

($C_{13}H_{24}O_2Na$, calc. 235.1674).

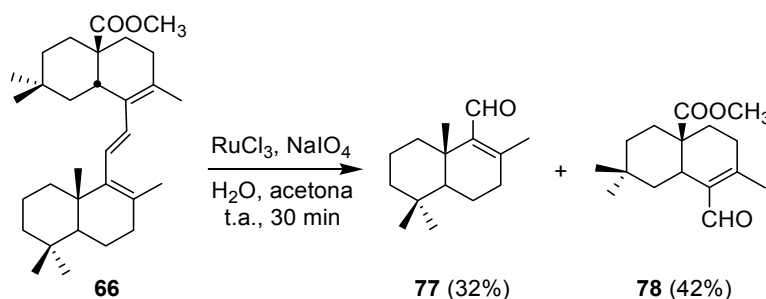
Compuesto **76**: Sólido blanco, **pf** 100-102 °C. $[\alpha]_D^{25} = 15$ (c 1, $CHCl_3$). **IR** (NaCl) v: 3401, 2924, 1732, 1466, 1366, 1244 y 1046 cm^{-1} ; **1H RMN** ($CDCl_3$): δ 3.86 (1H, ddd, $J_1 = 3.3$ Hz, $J_2 = 9.4$ Hz, $J_3 = 11.0$ Hz, H-13a), 3.76 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-16a), 3.75 (1H, m, H-13b), 3.39 (1H, d, $J = 7.4$ Hz, H-16b), 1.18 (3H, s, Me-11), 0.98 (3H, s, Me) y 0.92 (3H, s, Me); **^{13}C RMN** ($CDCl_3$): δ 24.0 (CH_2), 24.8 (Me), 26.8 (Me), 30.8 (CH_2), 31.5 (CH_2), 33.4 (Me), 34.5 (CH_2), 35.3 (CH_2), 35.7 (CH_2), 41.5 (C), 44.5 (CH), 59.1 (CH_2), 74.4 (C), 77.8 (CH_2) y 86.7 (C); **EMAR**, (m/z): $[M+Na]^+$ 291.1938 ($C_{16}H_{28}O_3Na$, calc. 291.1936).

3.4.2.17 Ozonolisis del trieno 55



140 mg (0.31 mmol) de **66** se disuelven en 10 mL de AcOEt y tras disponer el tubo de reacción en baño de MeOH a $-78^\circ C$ se le pasa ozono (90% O_3 - 10% O_2) durante 2 min. Transcurrido este tiempo, se desplaza el ozono en exceso pasando corriente de argón, se añade 0.5 mL de Me_2S , se lleva a temperatura ambiente y se mantiene en agitación durante 12 h. Por último, se concentra a vacío y se purifica en columna cromatográfica para obtener 10 mg (28%) de **57** y 18 mg (41%) de **58**.

3.4.2.18 Oxidación con $RuCl_3-NaIO_4$ del trieno 66



171 mg de $NaIO_4$ (0.8 mmol) y $RuCl_3 \cdot H_2O$ en cantidad catalítica se disuelven en 2 mL de agua y se añaden a una disolución de 102 mg (0.2 mmol) de **66** en 10 mL de acetona. La mezcla de

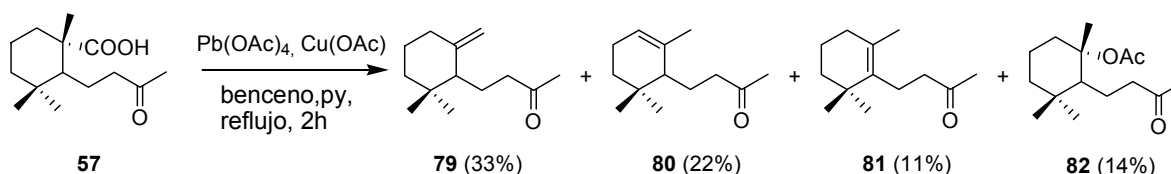
reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 30 min, tras lo cual se extrae tres veces con éter, se reúnen todas las fracciones orgánicas y se lavan con agua, una disolución saturada de NaHCO_3 y, finalmente, con una disolución de NaCl . Se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica por cromatografía en columna el residuo obtenido, obteniéndose mezcla de aldehídos sesquiterpénicos formada por **77** (32%) y **78** (42%), además de una mezcla compleja de otros productos de rotura (en algunos de los dobles enlaces restantes) sin identificar.

Compuesto **77**: sirupo; $[\alpha]_D = -17$ (c 0.4, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 2925, 1716, 1673 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3): δ 9.97 (1H, s, CHO), 1.96 (3H, s, 3H-12), 1.11 (3H, s, Me), 0.84 (3H, s, Me), 0.79 (3H, s, Me); ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 18.4 (CH_2), 19.0 (CH_2), 19.3 (Me), 20.3 (Me), 21.8 (Me), 33.4 (C), 33.5 (Me), 36.3 (CH_2), 36.7 (C y CH_2), 41.7 (CH_2), 51.7 (CH), 143.8 (C), 153.7 (C), 192.8 (CH); EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 243.1819 ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{ONa}$, calc. 243.1827).

Compuesto **78**: sirupo; $[\alpha]_D = 51$ (c 1, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 2949, 1727, 1668 cm^{-1} ; ^1H RMN (CDCl_3): δ 10.03 1H, s, CHO), 3.59 (3H, s, COOMe), 3.32 (1H, dd, $J_1 = 2.8$ Hz, $J_2 = 12.2$ Hz, H-5), 2.04 (3H, s, 3H-11), 1.03 (3H, s, 3H-13), 0.86 (3H, s, 3H-14); ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 18.0 (Me), 22.2 (CH_2), 24.0 (Me), 30.8 (CH), 30.9 (C), 31.7 (CH_2), 32.3 (CH_2), 32.8 (Me), 33.9 (CH_2), 42.0 (CH_2), 44.8 (C), 51.9 (Me), 137.4 (C), 154.6 (C), 177.7 (C), 190.2 (CH); EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 287.1617 ($\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{O}_3\text{Na}$, calc. 287.1623).

3.4.3 DESCARBOXILACIÓN DEL FRAGMENTO 57

3.4.3.1 Descarboxilación oxidativa con $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ del compuesto 57

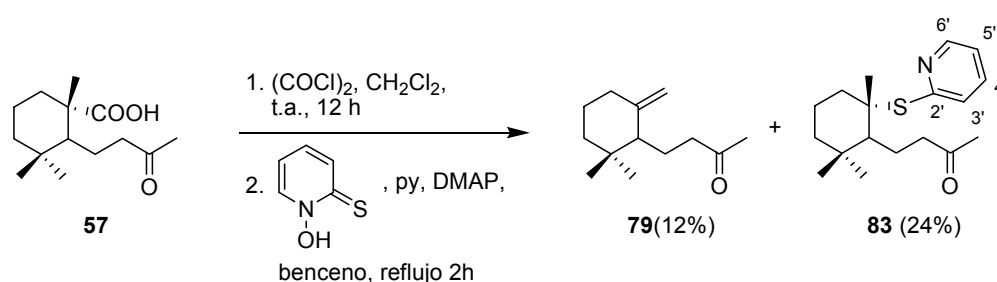


80 mg (0.33 mmol) del compuesto **57** se disuelven en 3 mL de mezcla benceno-piridina (1:3) y se añade 219 mg de $\text{Pb}(\text{OAc})_4$ (5 eq) y 2 mg de $\text{Cu}(\text{OAc})_2$. La mezcla resultante se mantiene en agitación a reflujo durante 2h, tiempo necesario para que mediante cromatografía de capa fina se observe la conversión total del producto de partida. Transcurrido este tiempo, se procesa la reacción añadiendo etilenglicol, lavando con agua y extrayendo tres veces con CH_2Cl_2 . Las fases orgánicas se reúnen, se secan sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentran a vacío.

La purificación del residuo resultante mediante cromatografía en columna permite obtener una mezcla de los productos olefinicos **79**, **80** y **81**²¹³ (22 mg, 66 %) y 9 mg (14%) de **82**.

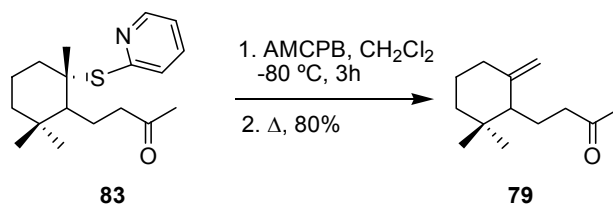
Compuesto **82**: sirupo; $[\alpha]_D = 14$ (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 2952, 1724, 1366 y 1247 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 2.17 (3H, s, COMe), 1.97 (3H, s, Me), 1.52 (3H, s, Me), 0.98 (3H, s, Me) y 0.88 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 19.8 (CH₂), 20.4 (Me), 20.6 (CH₂), 22.4 (Me), 23.1 (Me), 29.9 (Me), 32.6 (Me), 35.7 (C), 37.6 (CH₂), 40.5 (CH₂), 46.3 (CH₂), 53.0 (CH), 87.7 (C), 170.1 (C) y 209.2 (C); EMAR, m/z : [M+Na]⁺ 277.1776 (C₁₅H₂₆O₃Na, calc. 277.1780).

3.4.3.2 Descarboxilación de Barton del compuesto 57.



Se disuelve 80 mg (0.33 mmol) del compuesto **57** en 10 mL de CH₂Cl₂ y se añade 1.1 mL de (COCl)₂, manteniendo la mezcla resultante durante 12 h a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo y sin previa purificación, se concentra a vacío y se le añade al residuo resultante 50 mg de N-óxido de 2-mercaptopiridinio y 4 mg de DMAP disueltos en 10 mL de benceno que contiene 0.06 mL de piridina. La mezcla se mantiene a reflujo durante 2h y entonces se concentra a vacío y se purifica en columna con gel de sílice para obtener 8 mg (12%) de **79** y 24 mg de **83** (24 %).

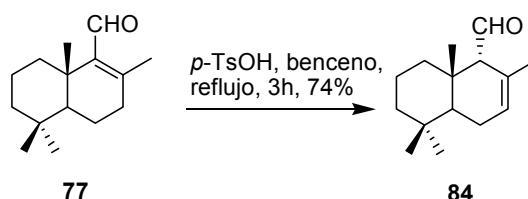
Compuesto **83**: sirupo; $[\alpha]_D = 49$ (c 1, CHCl₃); IR (CHCl₃): ν 2949, 1727, 1668 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 8.49 (1H, d, $J = 4.8$ Hz, H-6'), 7.49 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 6.8$ Hz, H-3'), 7.26 (1H, señal compleja, H-5'), 7.07 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 6.0$ Hz, H-4'), 2.07 (3H, s, Me), 1.38 (3H, s, Me), 0.96 (3H, s, Me) y 0.88 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 16.8 (Me), 21.4 (Me), 21.4 (CH₂), 21.7 (Me), 24.8 (CH₂), 28.3 (Me), 37.6 (CH₂), 40.9 (C), 46.8 (CH₂), 50.7 (C-5), 57.3 (C), 121.5 (C), 127.5 (C), 136.1 (C), 149.6 (C), 170.9 (C) y 209.3 (C); EMAR, m/z : [M+Na]⁺ 328.1796 (C₁₈H₂₇NOSNa, calc. 328.1813).



El compuesto **83** (24 mg, 0.08 mmol) se oxida con AMCPB en CH_2Cl_2 a -80°C durante 3 horas. Transcurrido este tiempo se añade disolución saturada de FeSO_4 y se lleva a temperatura ambiente. Se extrae con CH_2Cl_2 tres veces, las fases orgánicas se reúnen y se neutralizan con NaHCO_3 . El residuo resultante se pone a reflujo para que el producto oxidado, inestable, descarboxile. La purificación posterior da lugar a 12 mg (80%) del compuesto **79**.

3.4.4 REACTIVIDAD DEL FRAGMENTO 77

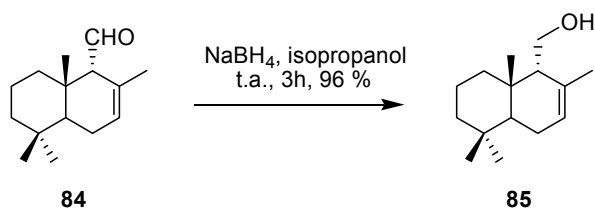
3.4.4.1 Isomerización del compuesto 77



Se disuelven 40 mg (0.18 mmol) del aldehído **77** en 15 mL de benceno y se añaden 3 mg de *p*-TsOH. La mezcla resultante se mantiene a reflujo. Transcurridas 3 horas se lava con disolución saturada de NaHCO_3 hasta *pH* neutro, se extrae tres veces con CH_2Cl_2 , secándose las fases orgánicas con Na_2SO_4 . El residuo resultante de concentrar a vacío estas fases se purifica mediante cromatografía en columna de tipo flash obteniéndose 29 mg del isómero estructural **84**.

Compuesto **84**: sirupo; $[\alpha]_D = -10$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2945, 1711, 1459, 1375, 1136 y 772 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 9.57 (1H, d, $J = 3.9$, H-11), 5.75 (1H, señal ancha, H-7), 1.56 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 18.7 (CH_2), 21.3 (Me), 22.2 (Me), 22.6 (Me), 24.4 (CH_2), 33.2 (Me), 33.2 (C), 36.2 (C), 38.1 (CH_2), 42.7 (CH_2), 44.8 (C-5), 68.5 (CH), 126.6 (CH), 126.8 (C) y 202.6 (CH); **EMAR**, *m/z*: $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 243.3466 ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{ONa}$, calc. 243.3505).

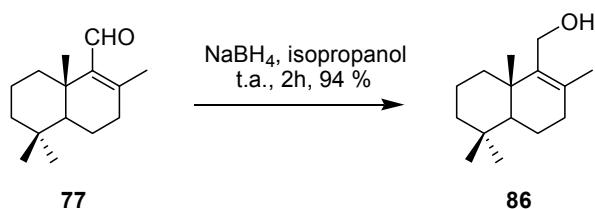
3.4.4.2 Reducción con NaBH₄ del compuesto 84.



El compuesto **84** (20 mg, 0.09 mmol) se disuelve en isopropanol y se añaden 3 mg de NaBH₄. La mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 3h, comprobándose por CCF que ya no queda producto de partida. Transcurrido este tiempo, se procesa la reacción según los Procedimientos Generales y se purifica mediante cromatografía en columna obteniéndose 19 mg (96%) del compuesto **85**.

Compuesto **85**: ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.60 (1H, d, *J*= 3.9 Hz, H-7), 3.76 y 3.75 (2H, AB colapsado, H-11), 1.76 (3H, s, Me), 0.94 (3H, s, Me), 0.92 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 18.9 (CH₂), 21.8 (Me), 22.3 (Me), 23.1 (Me), 24.1 (CH₂), 33.1 (C), 33.3 (Me), 36.2 (C), 42.8 (CH₂), 43.6 (CH), 57.7 (CH), 61.3 (CH), 124.7 (CH) y 131.8 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 245.1979 (C₁₅H₂₆ONa, calc. 245.1984).

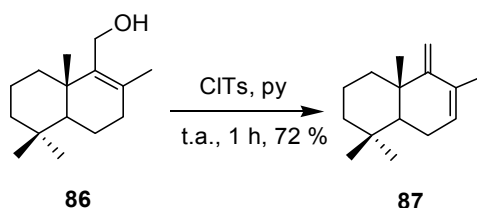
3.4.4.3 Reducción del compuesto 77



El compuesto **77** (50 mg, 0.23 mmol) se disuelve en isopropanol y se añade 8 mg de NaBH₄. La mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 2h. Transcurrido este tiempo, se procesa la reacción según los Procedimientos Generales y se purifica mediante cromatografía en columna obteniéndose 48 mg (94%) del compuesto **86**.

Compuesto **86**: sirupo; [α]_D = 77 (c 1, CHCl₃); **IR** (CHCl₃): ν 3317, 2922, 2863, 1457 y 1374 cm⁻¹; ¹H RMN (CDCl₃): δ 4.18 (1H, d, *J*= 11.5 Hz, H-11a), 4.03 (1H, d, *J*= 11.5 Hz, H-11b), 1.71 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.83 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 18.9 (CH₂), 19.0 (Me), 19.3 (C), 20.7 (Me), 21.6 (Me), 29.7 (CH₂), 33.3 (Me), 33.7 (CH₂), 36.9 (CH₂), 38.2 (C), 41.7 (CH₂), 51.8 (CH), 58.4 (CH₂), 132.5 (C) y 141.1 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 245.1979 (C₁₅H₂₆ONa, calc. 245.1984).

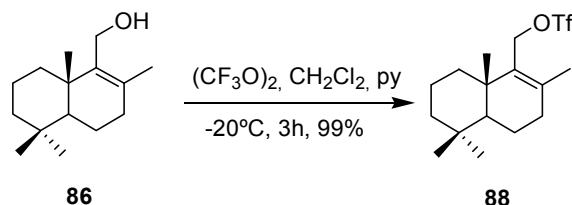
3.4.4.4 Tratamiento del compuesto **86** con Cl-pTs



Se disuelve el compuesto **86** (73 mg, 0.32 mmol) en piridina, se añade 85 mg de ClTs y la mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Transcurrido este tiempo se lava con disolución acuosa de HCl 2%, se extrae con CH₂Cl₂ y se neutraliza con una disolución saturada de NaHCO₃. Entonces, las fases orgánicas se concentran a vacío y la purificación posterior del crudo obtenido da lugar a 13 mg (72%) de **87**.

Compuesto **87**: ¹H RMN (CDCl₃): δ 5.58 (1H, señal compleja, H-7), 4.74 (2H, d, *J*=12.3 Hz, H-11), 1.74 (3H, s, Me), 0.90 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.81 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 19.2 (CH₂), 20.7 (Me), 21.2 (Me), 22.2 (Me), 24.4 (CH₂), 33.0 (Me), 33.8 (C), 37.8 (CH₂), 37.9 (C), 42.3 (CH₂), 48.8 (CH), 103.8 (CH₂), 126.6 (CH), 131.0 (C) y 158.1 (C); **EMAR**, *m/z*: [M]⁺ 204.1903 (C₁₅H₂₄, calc. 204.1878).

3.4.4.5 Formación del triflido derivado de **86**

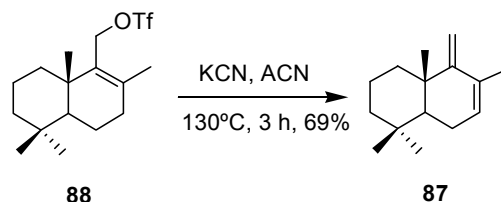


30 mg (0.13 mmol) del compuesto **86** se disuelve en una mezcla CH₂Cl₂-py 3:1 (10 mL), se añade anhídrido trifluoroacético (220 μL, 0.16 mmol) y la mezcla resultante se mantiene en agitación a -20° C durante 3 h. Transcurrido este tiempo, se lava con una disolución acuosa y HCl 2%, se extrae tres veces con CH₂Cl₂, se neutraliza con NaHCO₃ y finalmente se seca con Na₂SO₄. La evaporación del disolvente orgánico da lugar a un crudo cuya purificación en columna conduce a 42 mg (99%) del compuesto **88**.

Compuesto **88**: sirupo; ¹H RMN (CDCl₃): δ 4.90 (2H, dd, *J*₁= 12.0 Hz, *J*₂=15.1 Hz, H-11), 1.71 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 0.93 (3H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 18.8 (CH₂), 18.9 (Me), 19.6 (Me), 20.8 (Me), 21.6 (Me), 29.8 (C), 33.2 (Me), 33.9 (CH₂), 36.5 (CH₂),

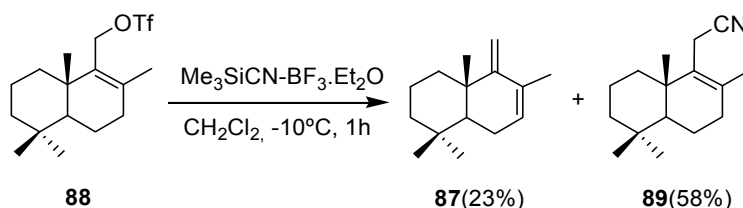
37.9 (C), 41.6 (CH₂), 51.3 (CH), 64.4 (CH₂), 132.9 (C) y 138.1 (C); **FAB+**, *m/z*: [M- CF₃]⁺ 349.1646, [M- CF₃ + Na]⁺ 363.2343.

3.4.4.6 Tratamiento del compuesto **88** con KCN



14 mg (0.21 mmol) de KCN se añade a la disolución formada por 25 mg (0.07 mmol) del compuesto **88** en 10 mL de acetonitrilo, manteniéndose la mezcla resultante durante 3 horas a 130°C. Transcurrido este tiempo, se lava con agua, se extrae tres veces con CH₂Cl₂, las fases orgánicas se secan sobre sulfato sódico anhidro y se concentran a vacío. La purificación del residuo resultante conduce a 10 mg (69%) del compuesto **87**.

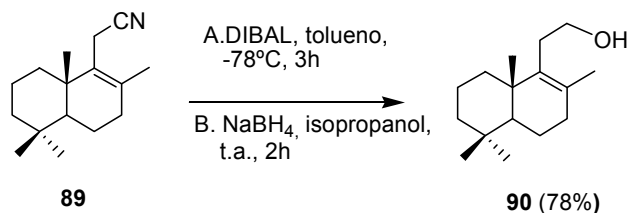
3.4.4.7 Tratamiento del compuesto **88** con Me₃SiCN-BF₃·Et₂O



A una disolución de 0.02 mL (3eq) BF₃ y 0.03 mL (4 eq) de cianotrimetilsilano en 0.22 mL CH₂Cl₂ se le añade a -10°C bajo atmosfera de argón el triflido derivado **88** (11mg, 0.05 mmol) disuelto en 0.5 mL de CH₂Cl₂, manteniéndose la mezcla resultante en agitación a esta temperatura durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se adiciona 2 mL de una disolución acuosa saturada de NaHCO₃ y se agita durante 45 min a temperatura ambiente. Entonces, se extrae con CH₂Cl₂ tres veces y las fases orgánicas se juntan, se lavan con una disolución HCl 1M, se neutraliza con NaHCO₃, se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran a vacío. El residuo resultante se purifica en columna para obtener 3 mg (23%) de **87** y 7 mg (58%) de **89**.

Compuesto **89**: sirupo; ¹H RMN (CDCl₃): δ 3.14 (2H, d, *J*= 12.0 Hz, H-11), 1.61 (3H, s, Me), 1.01 (3H, s, Me), 0.99 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 18.8 (CH₂), 19.1 (Me), 21.9 (Me), 22.9 (Me), 23.4 (CH₂), 31.6 (CH₂), 32.1 (C), 32.9 (Me), 35.3 (C), 36.3 (CH₂), 41.3 (CH₂), 49.0 (CH), 118.2 (CN), 124.6 (C) y 142.5 (C); **EMAR**, *m/z*: [M+Na]⁺ 254.1882 (C₁₆H₂₅NNa, calc. 254.1885).

3.4.4.8 Tratamiento del compuesto **89** con DIBAL

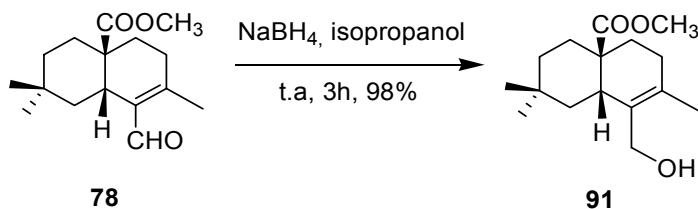


A una disolución del compuesto **89** (40 mg, 0.17 mmol) en 10 mL de tolueno se le añade DIBAL 1M en tolueno (0.34 mL, 0.34 mmol) a -78 °C, manteniendo la mezcla resultante a esta temperatura durante 1 h. Transcurrido este tiempo se diluye la mezcla con una disolución acuosa de HCl 2M y se extrae varias veces con CH₂Cl₂. Las fases orgánicas se secan sobre sulfato sódico anhidro, se concentran a vacío y el residuo resultante se redissuelve en isopropanol y se le añade 6 mg de NaBH₄ y se mantiene la mezcla resultante en agitación a temperatura ambiente. Se procesa la reacción según los procedimientos generales y el bruto obtenido se cromatografía sobre sílica gel, obteniéndose 31 mg (78%) del compuesto **90**.

Compuesto **90**: sirupo; ¹H RMN (CDCl₃): δ 3.60 (2H, d, J= 8.3 Hz, H-11), 1.60 (3H, s, Me), 0.95 (3H, s, Me), 0.86 (3H, s, Me), 0.84 (3H, s, Me); ¹³C RMN (CDCl₃): δ 18.9 (CH₂), 19.1 (CH₂), 19.9 (Me), 21.9 (Me), 21.9 (Me), 31.6 (Me), 33.1 (Me), 33.8 (CH₂), 37.1 (CH₂), 38.6 (C), 41.3 (CH₂), 51.6 (CH), 62.2 (CH₂), 128.6 (C) y 135.8 (C); EMAR, m/z: [M+Na]⁺ 258.1882 (C₁₆H₂₈ONa, calc. 258.1885).

3.4.5 REACTIVIDAD DEL FRAGMENTO 78

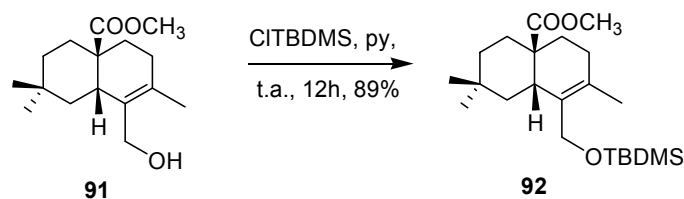
3.4.5.1 Reducción del compuesto **78**



El compuesto **78** (50 mg, 0.19 mmol) se disuelve en isopropanol y se añade 7 mg de NaBH₄. La mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 3h. Transcurrido este tiempo, se procesa la reacción según los Procedimientos Generales y se purifica mediante cromatografía en columna, obteniéndose 49 mg (98%) del compuesto **91**.

Compuesto **91**: sirupo; $[\alpha]_D = 47$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 3463, 2947, 1725, 1253 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 4.17 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-12a), 3.88 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-12b), 3.61 (3H, s, COOMe), 2.71 (1H, dd, $J_1 = 3.9$ Hz, $J_2 = 12.8$ Hz, H-5), 1.60 (3H, s, 3H-11), 0.91 (3H, s, 3H-13), 0.87 (3H, s, 3H-14); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ 18.6 (Me), 22.9 (CH_2), 24.3 (Me), 30.0 (CH_2), 30.7 (C), 31.7 (CH_2), 32.9 (Me), 34.0 (CH_2), 35.6 (CH), 42.0 (CH_2), 45.7 (C), 51.9 (Me), 61.5 (CH), 130.6 (C), 133.8 (C), 178.6 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 289.1775 ($\text{C}_{16}\text{H}_{26}\text{O}_3\text{Na}$, calc. 289.1780).

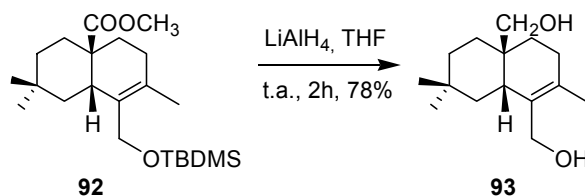
3.4.5.2 Protección del compuesto 91 con CITBDMS



Se disuelven 20 mg (0.075 mmol) del compuesto en 5 mL de piridina y se añaden 22 mg (0.15 mmol) de *tert*-butildimetilclorosilano. La reacción se mantiene a temperatura ambiente durante 12 h, tras las cuales se lava con una disolución de HCl, se extrae con CH_2Cl_2 , se neutraliza con una disolución de NaHCO_3 , se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a presión reducida y se purifica en columna, aislándose 25 mg (89%) de **92**.

Compuesto **92**: sirupo; $[\alpha]_D = 16$ (c 1, CHCl_3); **IR** (CHCl_3): ν 2951, 2857, 1730, 830 cm^{-1} ; **$^1\text{H RMN}$** (CDCl_3): δ 4.30 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-12a), 3.97 (1H, d, $J = 11.0$ Hz, H-12b), 3.60 (3H, s, COOMe), 2.74 (1H, dd, $J_1 = 4.6$ Hz, $J_2 = 12.8$ Hz, H-5), 1.68 (3H, s, 3H-11), 0.89 (3H, s, 3H-13), 0.84 (3H, s, 3H-14), 0.03 (3H, s, MeSi-), 0.02 (3H, s, MeSi-); **$^{13}\text{C RMN}$** (CDCl_3): δ -5.4 (2Me), 18.4 (C), 19.7 (Me), 22.7 (CH_2), 24.1 (Me), 26.0 (3Me), 29.8 (CH_2), 30.1 (C), 31.4 (CH_2), 32.0 (Me), 32.9 (CH), 34.0 (CH_2), 36.4 (CH_2), 44.9 (C), 51.8 (Me), 66.9 (CH_2), 126.8 (C), 132.2 (C), 178.4 (C); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 403.2597 ($\text{C}_{22}\text{H}_{40}\text{O}_3\text{NaSi}$, calc. 403.2594).

3.4.5.3 Reducción con LiAlH_4 del compuesto 92.

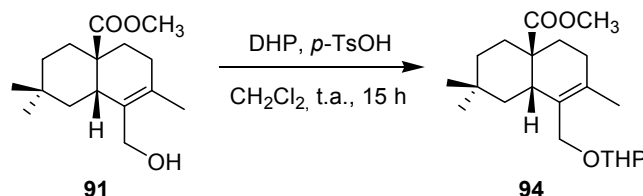


Se disuelven 25 mg (0.06 mmol) de del compuesto **92** en 5 mL de THF y se añaden 0.4 mL de una disolución 1 M de LiAlH_4 en THF, llevándose a cabo la reacción en 2 h a temperatura

ambiente, tras las cuales se sigue el procedimiento habitual y se purifica en columna el bruto obtenido, aislándose 12 mg (78%) del producto **93**

Compuesto **93**: sirupo; $[\alpha]_D^{25} = 29$ (c 0.8, CHCl_3); IR (CHCl_3): ν 3328, 2916, 1464, 1022 cm^{-1} ; $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3): δ 4.22 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-12a), 3.90 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-12b), 3.42 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-15a), 3.28 (1H, d, $J = 10.8$ Hz, H-15b), 1.66 (3H, s, 3H-11), 0.91 y 0.89 (3H cada uno, s, 3H-13 y 3H-14); $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3): δ 18.5 (Me), 22.4 (CH_2), 24.2 (Me), 29.1 (CH_2), 30.1 (CH_2), 30.9 (C), 33.1 (Me), 34.1 (CH_2), 35.3 (CH), 36.1 (C), 42.5 (CH_2), 61.6 (CH_2), 68.7 (CH_2), 130.5 (C), 133.1 (C); EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 261.1834 ($\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2\text{Na}$, calc. 261.1830).

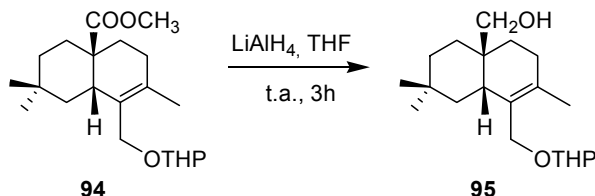
3.4.5.4 Protección del compuesto **91** con DHP



Se disuelve el sesquiterpeno **91** (80 mg, 0.3 mmol) en 8 mL de CH_2Cl_2 , se añade DHP (0.14 mL, 1.5 mmol) y *p*-TsOH (0.6 mg, 0.003 mmol), la mezcla resultante se mantiene en agitación durante 15 horas, tiempo al que ya no se observa por CCF producto de partida. Entonces, se neutraliza la mezcla con una disolución saturada de NaHCO_3 , se extrae tres veces con CH_2Cl_2 , se secan las fases orgánicas con Na_2SO_4 anhidro, se filtra y se seca a vacío. El residuo resultante se cromatografía en columna, obteniéndose la mezcla racémica de **94**.

Compuesto **94**: EMAR, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 373.2201 ($\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_4\text{Na}$, calc. 373.2198).

3.4.5.5 Reducción del compuesto **94** con LiAlH_4 .

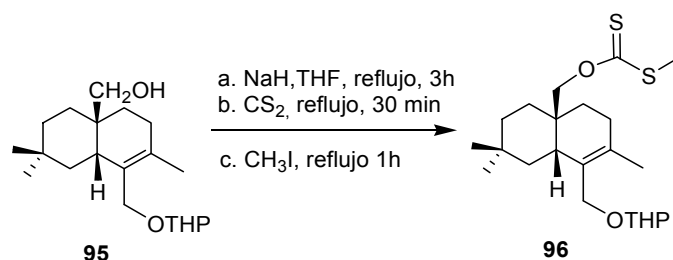


Se disuelven 76 mg (0.24 mmol) de del compuesto **94** en 10 mL de THF y se añaden 0.3 mL de una disolución 1 M de LiAlH_4 en THF, llevándose a cabo la reacción en 3 h a temperatura ambiente, tras las cuales se sigue el procedimiento habitual y se purifica en columna el bruto obtenido, aislándose la mezcla racémica del producto **95**.

Compuesto **95**: EMAR, m/z : $[M+Na]^+$ 345.2508 ($C_{20}H_{34}O_3Na$, calc. 345.2498).

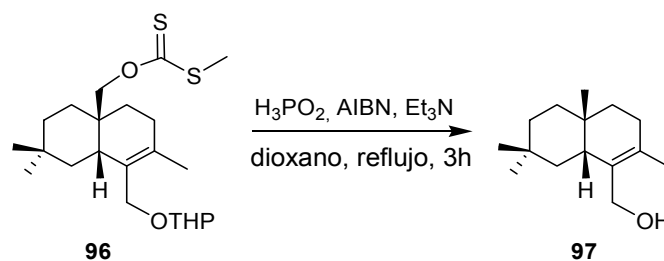
3.4.5.6 Formación del xantato derivado del compuesto 95

Se disuelven 40 mg de **95** (0.12 mmol) en 20 mL de THF seco y se añaden 31 mg (1.24 mmol) de NaH, manteniéndose la reacción 3 h a reflujo. Transcurrido este tiempo, se agregan 228 μ L de S_2C y tras 30 min más 118 μ L de MeI. Al cabo de 1 h, se procesa la reacción neutralizando con una disolución de HCl, se extrae con CH_2Cl_2 , se seca con Na_2SO_4 anhidro y se concentra a vacío aislándose **96**.



Compuesto **96**: EMAR, m/z : $[M+Na]^+$ 435.2755 ($C_{22}H_{36}O_3S_2Na$, calc. 435.2599).

3.4.5.7 Reducción radicalaria del xantato 96 con H_3PO_2 .



Se disuelven 50 mg (0.12 mmol) del xantato **96**, en 5 mL de dioxano, se añaden 0.03 mL (0.3 mmol) de Et_3N y 0.1 mL (0.9 mmol) de H_3PO_2 , entonces se somete la mezcla a reflujo, añadiéndose poco a poco una disolución de 15 mg de AIBN en 3 mL de dioxano. Transcurridas 3 h, se lava con agua, se extrae con éter, se seca con Na_2SO_4 anhidro, se concentra a vacío y se purifica en columna para obtener 39 mg (58% a partir de de **91**) de **97**.

Compuesto **97**: sirupo; 1H RMN ($CDCl_3$): δ 4.02 (1H, d, $J = 11.1$ Hz, H-12a), 3.82 (1H, d, $J = 11.2$ Hz, H-12b), 1.66 (3H, s, 3H-11), 0.92 y 0.88 (3H cada uno, s, 3H-13 y 3H-14); EMAR, m/z : $[M+Na]^+$ 245.1886 ($C_{15}H_{26}O$, calc. 245.1984).

3.5 ÁCIDO OLEANÓLICO, ÁCIDO MASLÍNICO Y QUÍMICA EN FASE SÓLIDA

3.5.1 SÍNTESIS DE ANÁLOGOS DE KF CON ÁCIDO OLEANÓLICO Y ÁCIDO MASLÍNICO

3.5.1.1 Control y cuantificación de la incorporación de ácido oleanólico (1) sobre resina Barlos

Para la cuantificación de la incorporación de ácido oleanólico (1) sobre la resina CTC-PS se llevan a cabo las pruebas detalladas en el apartado 2.4.1. Para ello se realizan tres pasos diferenciados donde las cantidades y equivalentes utilizados, para tres porciones de resina clorotritilo (50 mg) de funcionalización 1.23 mmol/g, se reflejan en la siguiente tabla.

PASO 1 (48 h)		
	AO	DIEA
Prueba A	11 mg, 0.5 eq	10 μ L, 10 eq
Prueba B	28 mg, 1 eq	20 μ L, 2 eq
Prueba C	84 mg, 3 eq	61 μ L, 6 eq
PASO 2 (1h)		
Fmoc-Leu-OH	106 mg, 5 eq	
DIEA	102 μ L, 10 eq	
Capping MeOH 15 min		
PASO 3 (45 min x 3)		
Fmoc- Ala-OH	188mg, 10 eq	
DIPCDI	93 μ L, 10 eq	
DMAP	7mg, 1 eq	

3.5.1.2 Síntesis de H-D-Val-O-TrtCl-PS

La síntesis del péptido KF sobre la resina Barlos comienza con la reducción de su funcionalización inicial (1.27 mmol/g) hasta 0.5 mmol/g por la voluminosidad del péptido a sintetizar. Para ello se dispone 500 mg de resina en una jeringuilla de polipropileno con filtro de polietileno. Entonces la resina se hincha con CH_2Cl_2 (5mL) durante 30 min y se incorpora a continuación el primer aminoácido Fmoc-D-Val-OH (119 mg, 0.35mmol, 0.7 mmol/g resina) con DIEA (607 μL , 3.5 mmol, 7.0 mmol/g resina), se adiciona 1/3 de la base inicialmente con el aminoácido y a los 5 min se añade el resto, manteniéndose en agitación durante 1 h. Transcurrido este tiempo se añade 0.4 mL de MeOH (0.8 mL/g resina), agitando durante 15 min, con la intención de ocupar los sitios reactivos que han quedado en la resina. Fmoc-D-Val-O-TrtCl-PS es sometido a los siguientes lavados y tratamientos con CH_2Cl_2 (3 x 0.5 min), DMF (3 x 0.5 min), piperidina-DMF 1:4 (1 x 1 min, 2 x 10 min), DMF (5 x 0.5 min). Se cuantifica la funcionalización mediante la eliminación del grupo Fmoc (apartado 3.3.5). La funcionalización calculada por UV es de 0.51 mmol/g resina.

3.5.1.3 Síntesis de Fmoc-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(OH)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-PS

Fmoc-D-*allo*-Ile-OH (357 mg, 1 mmol, 4 eq), Fmoc-D-*allo*-Thr-OH (348 mg, 1 mmol, 4 eq), y Fmoc-D-*allo*-Ile-OH (357 mg, 1 mmol, 4 eq) son añadidos secuencialmente sobre H-D-Val-O-TrtCl-resina utilizando HOBt (154 mg, 1 mmol, 4 eq) y DIPCDI (162 μL , 1 mmol, 4 eq) como agentes de activación en DMF (2.5 mL). En todos los casos, después de 90 min de acoplamiento, el test de la ninhidrina da negativo. La eliminación del grupo Fmoc y los distintos lavados son llevados a cabo como se describen en los Protocolos Generales (apartado 3.3).

3.5.1.4 Síntesis de Fmoc-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-PS

El grupo Fmoc del último aminoácido no se desprotege porque el siguiente paso es la formación del enlace ester entre Alloc-Val-OH (251 mg, 1.25 mmol, 5 eq) y el grupo hidroxilo libre de la D-*allo*-Thr. Para ello se añade DIPCDI (185 μL , 1.25 mmol, 5 eq) y DIEA (43 μL , 0.25 mmol, 1 eq) en presencia de DMAP (16 mg, 0.125 mmol, 0.5 eq). Este acoplamiento es repetido dos veces más, ya que mediante el HPLC-analítico se observa que no ha finalizado la formación del enlace ester. Una alícuota de peptidilresina fue tratada con TFA- CH_2Cl_2 (1:99) durante 1 min y el HPLC (t_R 12.2 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H_2O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) del crudo obtenido por evaporación muestra una pureza > 98%. ESMS calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{53}\text{N}_5\text{O}_9$, 627.4 Obtenido: m/z 628.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

3.5.1.5 Síntesis de D-Val-Thr(^tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-Ps.

El grupo Fmoc es eliminado de la peptidilresina y Fmoc-Orn(Boc)-OH (534 mg, 1 mmol, 4 eq), Fmoc-D-Pro-OH (422 mg, 1.25 mmol, 5 eq), Fmoc-D-Val-OH (339 mg, 1.25 mmol, 4 eq) este acoplamiento se repite en las mismas condiciones ya que el test de cloranilo y de Le Clerq dan positivo, Fmoc-L-Val-OH (339 mg, 1 mmol, 4 eq), Fmoc-Thr(^tBu)-OH (497 mg, 1.25 mmol, 5 eq), Fmoc-D-Val-OH (339 mg, 1 mmol, 4 eq) son secuencialmente añadidos sobre la peptidilresina usando HOBt (154 mg, 1 mmol, 4 eq) y DIPCDI (162 μ L, 1 mmol, 4 eq) en DMF (2 mL) si el aminoácido se acopla con 4 eq, mientras que si son necesarios 5 eq para el acoplamiento son usados entonces HOBt (193 mg, 1.25 mmol, 5 eq) y DIPCDI (203 μ L, 1.25 mmol, 5 eq). En todos los casos, después de 90 min de acoplamiento, el test de la ninhidrina, el test de cloranilo o el de Le Clerq (estos dos últimos para el caso de la incorporación D-Val) son negativos. La eliminación del grupo Fmoc y los lavados son llevados a cabo como se describe en el apartado 3.3. Una alícuota de la peptidilresina se trata con TFA-CH₂Cl₂ (1:99) durante 1 min y el HPLC (t_R 8.0 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) del crudo obtenido muestra una pureza > 94%. ESMS, calculado para C₆₈H₁₂₀N₁₂O₁₈, 1392.9 encontrado: m/z 1394.8 [M+H]⁺. La peptidilresina se suspende en DMF y se divide en dos porciones iguales para el acoplamiento de los dos ácidos triterpénicos pentacíclicos (ácido oleanólico y maslínico)

3.5.1.6 Síntesis de Oleanólico-D-Val-Thr(^tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-PS.

Los acoplamientos se han llevado a cabo con los distintos agentes acoplantes y equivalentes expresados en la tabla siguiente. Para las incorporaciones con HOBt y HOAt, ácido oleanólico se adiciona con 4 eq (55 mg, 0.12 mmol) y para el resto se hace con 3 eq (41 mg, 0.09 mmol).

Los cromatogramas de pequeñas alícuotas de los diferentes acoplamientos muestran diversos picos que por HPLC-ES se comprueban que corresponden a las especies indicadas.

- t_R = 8.0 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min (péptido t=0)
- t_R = 8.6 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min. m/z calculado para C₇₃H₁₃₀N₁₄O₁₈ 1491.9, encontrado m/z 1492.0 [M+H]⁺. (guanilidación péptido)

- $t_R = 14.6$ min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min. m/z calculado para C₉₈H₁₆₆N₁₂O₂₀ 1831.2, encontrado m/z 1832.6 [M+H]⁺. (péptido-AO)

Tabla 3.1. Incorporación ácido oleanólico con distintos agentes acoplantes

Agentes acoplantes	Cantidad agentes acoplantes	Tiempo de reacción	Péptido-AO
HOBt(4eq)-DIPCDI(4eq)	19mg-18μL	48 h	56 %
HOAt(4eq)-DIPCDI(4eq)	18mg-18μL	56 h	66 %
HATU(3eq)-DIEA(6eq)	35mg-30μL	3 h	—
PyAOP(3eq)-HOAt(3eq)-DIEA(3eq)	47mg-14mg-46μL	12 h	74 %

3.5.1.7 Síntesis de Maslínico-D-Val-Thr(^tBu)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(Boc)-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-PS

Los acoplamientos se han llevado a cabo con los distintos agentes acoplantes y equivalentes expresados en la Tabla 3.2. Para las incorporaciones con HOBt y HOAt, ácido maslínico se adiciona con 4 eq (57 mg, 0.12 mmol) y para el resto se hace con 3 eq (42 mg, 0.09 mmol).

Los cromatogramas de pequeñas alícuotas de los diferentes acoplamientos muestran diversos picos que por HPLC-ES se comprueban que corresponden a las especies indicadas.

- $t_R = 8.0$ min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min (péptido t=0)
- $t_R = 8.6$ min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min. m/z calculado para C₇₃H₁₃₀N₁₄O₁₈ 1491.9, encontrado m/z 1492.0 [M+H]⁺. (guanilidación péptido)
- $t_R = 11.5$ min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min. m/z calculado para C₉₈H₁₆₆N₁₂O₂₁ 1847.2, encontrado m/z 1848.4 [M+H]⁺. (péptido-AM)

Tabla 3.2. Incorporación ácido oleanólico con distintos agentes acoplantes

Agentes acoplantes	Cantidad agentes acoplantes	Tiempo de reacción	Péptido-AM
HOBt(4eq)-DIPCDI(4eq)	19mg-18 μ L	48 h	–
HOAt(4eq)-DIPCDI(4eq)	18mg-18 μ L	56 h	–
HATU(3eq)-DIEA(6eq)	35mg-30 μ L	3 h	41 %
PyAOP(3eq)-HOAt(3eq)-DIEA(3eq)	47mg-14mg-46 μ L	12 h	72 %

3.5.1.8 Desprotección del grupo Alloc de la Val

El grupo Alloc es eliminado con Pd(PPh₃)₄ (4 mg, 0.003 mmol, 0.1 eq) en presencia de PhSiH₃ (33 μ L, 0.03 mmol, 10 eq), que son añadidos a cada peptidilresina durante 15 min realizando tres tratamientos. Seguidamente se realiza el test de Kaiser que nos indica que la amina está desprotegida. A continuación se lava la resina para eliminar el Pd con una solución de dietilditiocarbamato de sodio 0.02 M en DMF (3 X 15 min).

3.5.1.9 Incorporación del dipéptido Alloc-Phe(Z)-Dhb-OH

A cada porción de peptidilresina se le añade la mezcla resultante de Alloc-Phe-(z)-Dhb-OH (28 mg, 0.075 mmol, 2.5 eq), HOAt (12 mg, 0.075 mmol, 2.5 eq) y DIPCDI (14 μ L, 0.35 mmol, 2.5 eq) en 0.5 mL de DMF y se mantiene en agitación toda la noche. La eliminación del nuevo grupo Alloc y los lavados siguientes son llevados a cabo como se han descrito previamente.

3.5.1.10 Escisión de la resina

Cada péptido protegido se trata con TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5 x 30 sec) para liberarlo de la resina. Los filtrados de los sucesivos lavados con CH₂Cl₂ los recogemos sobre (1 mL) y se evapora parcialmente en un rotavapor. Se añade entonces ACN para disolver el sólido que aparece y la mezcla es liofilizada para dar (36 mg, 59 %) con una pureza > 88 %, tras analizar por HPLC (t_R 9.2 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min), del derivado con ácido oleanólico. ESMS: calculado para C₁₁₁H₁₈₀N₁₄O₂₂, m/z 2061.3 encontrado: m/z 2061.9 [M+H]⁺. Si el péptido contiene ácido maslínico: (40 mg, 65%) con una

pureza 68 % obtenida del HPLC (t_R 8.4 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min). El crudo muestra ESMS, calculado para C₁₁₁H₁₈₀N₁₄O₂₃, 2077.5 encontrado m/z 2078.0 [M+H]⁺.

3.5.1.11 Ciclación

El péptido protegido con ácido oleanólico (36 mg, 0.017 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (17 mL, 1 mM), y se añade HOBt (10 mg, 0.068 mmol, 4 eq), DIEA (9 μL, 0.051 mmol, 3 eq) y DIPCDI (10 μL, 0.068 mmol, 4 eq). Entonces, el curso de la ciclación se controla por HPLC, la mezcla se mantiene 1 h, tras el cual el disolvente se elimina a vacío.

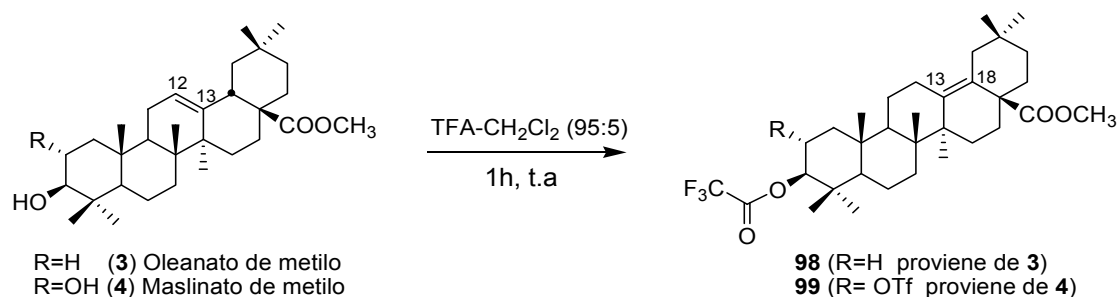
Para maslínico-péptido (40 mg, 0.019 mmol) se añade HOBt (12 mg, 0.076 mmol, 4eq), DIEA (10 μL, 0.057 mmol, 3eq) y DIPCDI (11 μL, 0.076 mmol, 4eq) en 19 mL de CH₂Cl₂. Después de 1 h, se evapora el disolvente.

3.5.1.12 Desprotección de los grupos protectores de las cadenas laterales (^tBu-Boc)

La desprotección de los grupos protectores (^tBu-Boc) de las cadenas laterales de Thr y Orn, respectivamente, se lleva a cabo de forma conjunta utilizando TFA-H₂O (95:5) durante 1 h.

3.5.1.13 Estabilidad de oleanato de metilo y maslinato de metilo en TFA-H₂O (95:5)

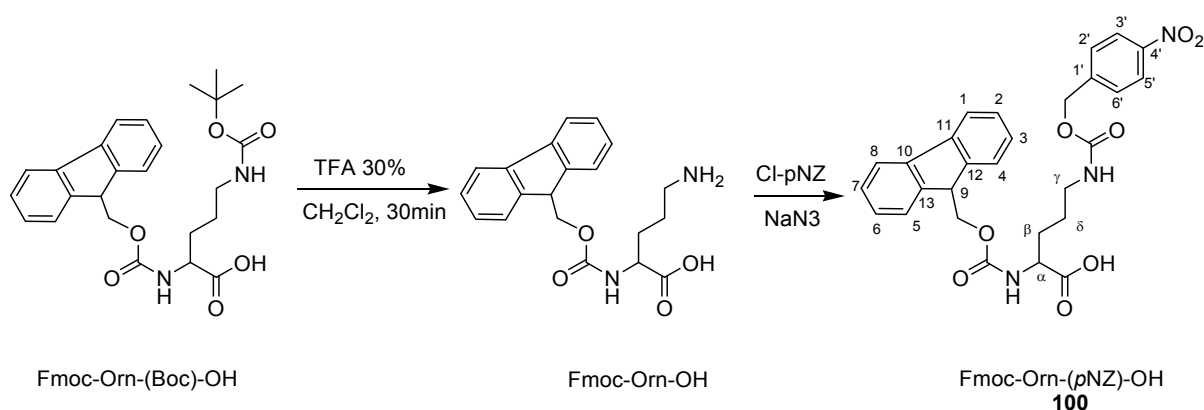
Se disuelve cada uno de los ésteres metílicos (50 mg) en una mezcla de TFA-H₂O (95:5), la mezcla resultante se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido este tiempo se concentra a vacío y se purifica en columna cromatográfica. Para el caso del compuesto **3** se obtiene 53 mg (89%) del compuesto **98**.



Compuesto **98**: ¹H RMN (CDCl₃): δ 4.68 (1H, dd, $J_1 = 5.9$ Hz, $J_2 = 10.6$ Hz, H-3), 3.63 (3H, s, COOMe), 2.76 (1H, dd, $J_1 = 4.2$ Hz, $J_2 = 13.8$ Hz, H-12), 2.40 (1H, d, $J = 6.8$ Hz, H-19), 2.17 (1h, señal poco resuelta, H-22) 1.14 (3H, s, Me), 0.91 (3H, s, Me), 0.89 (3H, s, Me), 0.89

(6H, s, Me), 0.88 (3H, s, Me), 0.72 (3H, s, Me); ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 16.4 (C-24), 16.5 (C-26), 17.4 (C-25), 18.2 (C-6), 21.1 (C-27), 23.3 (C-2), 24.2 (C-30), 25.1 (C-16), 27.2 (C-15), 27.8 (C-23), 32.1 (C-29), 32.7 (C-20), 33.1 (C-7), 34.9 (C-23), 35.8 (C-22), 36.9 (C-1), 37.3 (C-10), 38.1 (C-4), 38.4 (C-12), 41.2 (C-19), 41.5 (C-8), 44.4 (C-14), 48.6 (C-17), 50.7 (C-9) 51.6 (COOMe), 55.4 (C-5), 86.3 (C-3), 128.2 (C-13), 138.0 (C-13) y 177.3 (C-28); **EMAR**, m/z : $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 493.3660, ($\text{C}_{31}\text{H}_{50}\text{O}_3\text{Na}$, calc. 493.3658).

3.5.1.14 Síntesis de Fmoc-Orn-(pNZ)-OH



Fmoc-Orn-(Boc)-OH (2 g, 4.4 mmol) se disuelve en TFA 30% en CH_2Cl_2 (20 mL) y la mezcla resultante se mantiene en agitación durante 30 min. Transcurrido este tiempo se concentra a vacío, se lava con éter cinco veces y se concentra para obtener (1.31 g, 3.7 mmol, 84%) que se caracteriza analíticamente por HPLC (t_R 9.8 min, pureza >98%, gradiente de 0:10 a 10:0, H_2O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) ESMS, calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$, 354.15 encontrado m/z 355.1 $[\text{M}+1]^+$.

Cloruro de *p*-Nitrobencilo (0.797 g, 3.7 mmol, 1 eq) se disuelve en 1.7 mL de dioxano y se añade NaN_3 (0.289 mL, 4.4 mmol, 1.2 eq). La mezcla se mantiene a temperatura ambiente durante 2 h. Entonces se añade Fmoc-Orn-OH (1.31 g, 3.7 mmol, 1 eq) junto con una disolución de Na_2CO_3 2% en dioxano (3 mL), manteniendo el pH 9-10 con una disolución de Na_2CO_3 10%. Después de tres días, a la mezcla de reacción se le añade H_2O (50 mL), pH se mantuvo en todo momento a pH=9-10, entonces fue extraído tres veces con éter (3 x 40 mL). La fase acuosa se acidifica con HCl- H_2O (1:3) manteniéndola en baño de hielo hasta pH 2-3, entonces se filtra para obtener un sólido blanco (1.67 g, 85%). HPLC (t_R 14.2 min, >98% pureza, gradiente de 3:7 a 10:0, H_2O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) ESMS, calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_8$ 533.2 encontrado m/z 534.4 $[\text{M}+1]^+$.

Compuesto **100**: ^1H RMN (DMSO- d_6): 8.20 (2H, d, $J= 8.4$ Hz, H-3' y H-5'), 7.86 (2H, d, $J= 7.2$ Hz, H-1 y H-8), 7.69 (2H, d, $J= 7.2$ Hz, H-4 y H-5); 7.57 (2H, d, $J= 8.8$ Hz, H-2' y H-6'), 7.39 (2H, dd, $J_1=J_2= 7.2$ Hz, H-3 y H-6), 7.30 (2H, dd, $J_1=J_2= 7.2$ Hz, H-2 y H-7), 5.13 (2H, s, -O-CH₂-4-nitrophenyl), 4.22 (3H, m, H-9 y fluoreno-CH₂-O-), 3.84 (1H, m, α -CH Orn), 2.99 (2H, m, δ -CH₂ Orn), 1.71 (1H, m, β -CH₂ Orn) y 1.57 (1H, m, β -CH₂ Orn); 1.43 (2H, m, γ -CH₂ Orn). ^{13}C RMN (DMSO- d_6): 174.5 (-CO-OH), 156.6 y 156.4 (-N-CO-O-) 147.6 (C-4'), 146.0 (C-1'), 144.6 y 144.5 (C-12 y C-13), 141.4 (C-10 y C-11), 128.7 (C-2' y C-6'), 128.3 (C-2 y C-7), 127.7 (C-3 y C-6), 126.0 (C-4 y C-5), 124.2 (C-3' y C-5'), 120.8 (C-1 y C-8), 66.2 (fluoreno-CH₂O-), 64.6 (-O-CH₂-4nitrofenil), 54.8 (α -CH Orn), 47.4 (C9), 40.8 (δ -CH₂ Orn), 29.4 (β -CH₂ Orn) y 26.7 (γ -CH₂ Orn).

3.5.1.15 Síntesis de D-Val-Thr(OH)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(pNZ)-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-Ps.

Fmoc-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-Ps se obtiene según los apartados 3.5.1.4 -3.5.1.6.

El grupo Fmoc es eliminado de la peptidilresina y Fmoc-Orn(pNZ)-OH (534 mg, 1 mmol, 4 eq), Fmoc-D-Pro-OH (422 mg, 1.25 mmol, 5 eq), Fmoc-D-Val-OH (339 mg, 1.25 mmol, 4 eq) este acoplamiento es repetido en las mismas condiciones ya que el test de cloranilo y de Le Clerq dan positivo, Fmoc-L-Val-OH (339 mg, 1 mmol, 4 eq), Fmoc-Thr-OH (426 mg, 1.25 mmol, 5 eq), Fmoc-D-Val-OH (339 mg, 1 mmol, 4 eq) son secuencialmente añadidos sobre la peptidilresina usando HOBt (154 mg, 1 mmol, 4 eq) y DIPCDI (162 μL , 1 mmol, 4 eq) en DMF (2 mL) si el aminoácido se acopla con 4 eq, mientras que si son necesarios 5 eq para el acoplamiento son usados entonces HOBt (193 mg, 1.25 mmol, 5 eq) y DIPCDI (203 μL , 1.25 mmol, 5 eq). En todos los casos, después de 90 min de acoplamiento, el test de la ninhidrina, el test de cloranilo o el de Le Clerq (estos dos últimos para el caso de la incorporación D-Val a Thr) son negativos. La eliminación del grupo Fmoc y los lavados son llevados a cabo como se describe en apartado 3.3. Una alícuota de la peptidilresina se trata con TFA-CH₂Cl₂ (1:99) durante 1 min y el HPLC (t_R 6.7 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) del crudo obtenido muestra una pureza > 98%. ESMS, calculado para C₆₇H₁₀₉N₁₃O₂₀, 1416.7 Obtenido: m/z 1417.1 [M+H]⁺, 1439.1 [M+Na]⁺, 1455.0 [M+K]⁺. La peptidilresina se suspende en DMF y se divide en dos porciones iguales para el acoplamiento de los dos ácidos triterpénicos pentacíclicos (ácido oleanólico y maslínico)

3.5.1.16 Síntesis de Oleanólico-D-Val-Thr(OH)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(pNZ)-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-PS.

A una de las fracciones de la peptidilresina se le añade el ácido oleanólico (191 mg, 0.42 mmol, 3eq), PyAOP (218 mg, 0.42 mmol, 3eq), HOAt (64 mg, 0.42 mmol, 3eq) y DIEA (214 μ L, 1.26 mmol, 9eq) disueltos en DMF (500 μ L). La mezcla se mantiene en agitación durante 24h a t.a. La resina resultante es filtrada y lavada DMF, piperidina 20% in DMF, DMSO y CH₂Cl₂ (Estos lavados son llevados a cabo para quitar el ester activado de los ácidos triterpénicos, ya que se quedan pegados a la resina). El test de Kaiser da negativo y el cromatograma por HPLC (t_R 14.8 min, gradiente de 5:5 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) del crudo obtenido por evaporación muestra una pureza > 78%. ESMS m/z calculado para C₉₇H₁₅₅N₁₃O₂₂ 1854.1, encontrado m/z 1855.6 [M+H]⁺.

3.5.1.17 Síntesis de Maslínico-D-Val-Thr(OH)-Val-D-Val-D-Pro-Orn(pNZ)-D-*allo*-Ile-D-*allo*-Thr(Val-Alloc)-D-*allo*-Ile-D-Val-O-TrtCl-Ps

Con el mismo procedimiento y proporciones del apartado 3.5.1.16 se lleva a cabo el acoplamiento del ácido maslínico (198 mg, 0.42 mmol, 3 eq), PyAOP (218 mg, 0.42 mmol, 3eq), HOAt (64 mg, 0.42 mmol, 3eq) y DIEA (214 μ L, 1.26 mmol, 9eq) en DMF (500 μ L). Se obtiene así una nueva peptidilresina de la que una pequeña alícuota se trata con TFA-CH₂Cl₂ (1:99) durante 1 min para obtener HPLC (t_R 14.6 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) que muestra una pureza > 88% ESMS m/z calculado para C₉₇H₁₅₅N₁₃O₂₃ 1870.1, obtenido m/z 1871.8 [M+H]⁺.

3.5.1.18 Desprotección del grupo Alloc de la Val

El grupo Alloc es eliminado con Pd(PPh₃)₄ (16 mg, 0.014 mmol, 0.1 eq) en presencia de PhSiH₃ (138 μ L, 1.4 mmol, 10 eq), que son añadidos a cada peptidilresina durante 15 min realizando tres tratamientos. Seguidamente se realiza el test de Kaiser que nos indica que la amina está desprotegida. A continuación se lava la resina para eliminar el Pd con una solución de dietilditiocarbamato de sodio 0.02 M en DMF (3 X 15 min).

3.5.1.19 Incorporación del dipéptido Alloc-Phe(Z)-Dhb-OH

A cada porción de peptidilresina se le añade la mezcla resultante de Alloc-Phe(z)-Dhb-OH (117 mg, 0.35 mmol, 2.5 eq), HOAt (48 mg, 0.35 mmol, 2.5 eq) y DIPCDI (57 μ L, 0.35 mmol,

2.5 eq) en 1 mL de DMF y se mantiene en agitación toda la noche. La eliminación del nuevo grupo Alloc y los lavados siguientes son llevados a cabo como se han descrito previamente.

3.5.1.20 Escisión de la resina

Cada compuesto protegido se trata con TFA-CH₂Cl₂ (1:99) (5 x 30 sec) para liberarlo de la resina. Los filtrados de los sucesivos lavados con CH₂Cl₂ se recogen sobre 2 mL de agua y se evapora parcialmente en un rotavapor. Se añade entonces ACN para disolver el sólido que aparece y la mezcla es liofilizada para dar (169.4 mg, 61%) con una pureza > 93%, tras analizar por HPLC (t_R 12.3 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min), del derivado con ácido oleanólico. ESMS: calculado para C₁₀₆H₁₆₅N₁₅O₂₂, m/z 2001.5. encontrado: m/z 2002.0 [M+H]⁺. Si el péptido contiene ácido maslínico: (176.3 mg, 63%) con una pureza 73% obtenida del HPLC (t_R 10.2 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min). El crudo muestra ESMS, calculado para C₁₀₆H₁₆₅N₁₅O₂₃, 2017.5 encontrado m/z 2018.0 [M+H]⁺.

3.5.1.21 Ciclación

El péptido protegido con ácido oleanólico (2.12 a) (86 mg, 0.043 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (44 mL, 1 mM), y se añade HOBt (27 mg, 0.176 mmol, 4 eq), DIEA (22 µL, 0.132 mmol, 3 eq) y DIPCDI (27 µL, 0.176 mmol, 4 eq). Entonces, el curso de la ciclación se controla por HPLC, la mezcla se mantiene 1 h, tras el cual el disolvente se elimina a vacío.

Para maslínico-péptido (89 mg, 0.044 mmol, 1 eq) se añade (27 mg, 0.176 mmol, 4eq), DIEA (22 µL, 0.132 mmol, 3eq) y DIPCDI (127 µL, 0.176 mmol, 4eq) en 44 mL de CH₂Cl₂. Después de 1 h, se evapora el disolvente.

3.5.1.22 Eliminación del grupo pNZ

La eliminación del grupo pNZ para los dos péptidos anteriormente ciclados se lleva a cabo mediante una disolución de 1M SnCl₂ en DMF (4.5 mL) conteniendo 1.6mM HCl-dioxano. La mezcla resultante se mantiene en agitación durante 1h. Después de este tiempo el disolvente se elimina a presión reducida.

3.5.1.23 Purificación

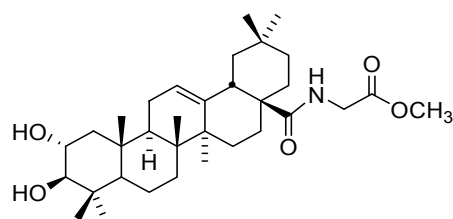
El crudo del análogo de la KF con ácido oleanólico (**101**) es purificado por HPLC (Kromasil C₈ 5 μm, 205 x 50 mm), en isocrático 65% acetonitrilo (+0.1% TFA) y agua (+0.1% TFA), con un flujo de 20 mL/min y detección a 220 nm para dar 32 mg con una pureza del 98 % analizada por HPLC (*t_R* 11.1 min, gradiente de 3:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min). MALDI-TOF, calculado para C₉₈H₁₅₇N₁₄O₁₇, 1803.8. obtenido: *m/z* 1804.8 [M+H]⁺, 1825.8 [M+Na]⁺, 1841.8 [M+K]⁺; AAA= 66.6 %. Mientras que para el derivado con maslínico (**102**) se utiliza 55% ACN para dar 19 mg HPLC (*t_R* 8.9min, gradiente de 5:7 a 10:0, H₂O con 0.045% TFA: ACN con 0.036% TFA, en 15 min) que muestra una pureza del 97%. MALDI-TOF-MS, calculado para C₉₈H₁₅₈N₁₄O₁₈, 1819.2. Obtenido: *m/z* 1820.9 [M+H]⁺, 1842.9 [M+Na]⁺, 1857.9 [M+K]⁺; AAA= 56.2%

3.5.2 DERIVADOS DE ÁCIDO MASLÍNICO CON DISTINTOS AMINOÁCIDOS

3.5.3 Síntesis en disolución de derivados de ácido maslínico con un solo aminoácido

3.5.3.1 N-(2α,3β-dihidroxi-12-oleanen-28-oi)-glicinato de metilo (**103a**).

Ácido maslínico (200 g, 0.42 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se trata con hidrocloreuro de glicinato metílico (63 mg, 0.50 mmol), HOBT (64 mg, 0.42 mmol), DCC (86.5 mg, 0.42 mmol), y trietilamina (0.1 mL). Después del tratamiento indicado en los procedimientos generales la purificación permite obtener compuesto **3a** (194 mg, 85%).



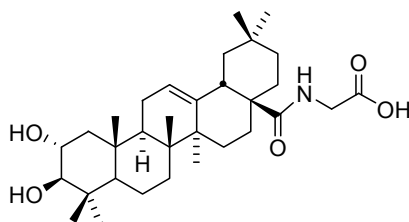
103a

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.76 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=5.6 Hz, NH), 5.21 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=3.3 Hz, H-12), 3.83 (1H, dd, *J*₁=5.6 Hz, *J*₂=17.5 Hz, 1H C-2 Gli ester metílico), 3.66 (2H, dd, *J*₁=5.6 Hz, *J*₂=17.5 Hz, C-2 Gli ester metílico), 3.60 (3H, s, Me Gli ester metílico), 3.43 (1H, ddd, *J*₁=4.3 Hz, *J*₂=10.5 Hz, *J*₃=12.2 Hz, H-2), 2.81 (1H, dd, *J*₁=3.4 Hz, *J*₂=12.5 Hz, H-18), 2.76 (1H, d, *J*=10.5 Hz, H-3), 1.10, 0.93, 0.91, 0.89, 0.89, 0.72, 0.65 (3H cada uno, Me); ¹³C RMN (DMSO-*d*₆): δ 176.79 (C, C-28), 170.37 (C, C-1 Gli ester metílico), 143.86 (C, C-13), 121.21 (CH, C-12), 82.11 (CH, C-3), 67.00 (CH, C-2), 54.66 (CH, C-5), 51.36 (Me, Me Gli ester metílico), 46.99 (CH, C-9), 46.73

(CH₂, C-1), 45.91 (CH₂, C-19), 45.04 (C, C-17), 41.13 (C, C-14), 40.79 (CH₂, C-2 Gli ester metílico), 40.22 (CH, C-18), 38.84 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 37.50 (C, C-8), 33.48 (CH₂, C-21), 32.76 (Me), 32.36 (CH₂, C-7), 32.19 (CH₂, C-22), 30.27 (C, C-20), 28.66 (Me), 26.67 (CH₂, C-15), 25.54 (Me), 23.36 (Me), 22.89 (CH₂, C-16), 22.26 (CH₂, C-11), 17.93 (CH₂, C-6), 16.99 (Me), 16.48 (Me), 16.19 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺: 566.3817 (C₃₃H₅₃NO₅Na, calc. 566.3821).

3.5.3.2 N-(2α,3β-dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-glicina (103b).

Una disolución acuosa de NaOH (4N, 1mL) se añade al derivado **103a** (135 mg, 0.25 mmol) disuelto en MeOH-THF (1:1.5) (5 mL) y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El tratamiento posterior ya indicado en los procedimientos generales permite aislar el compuesto **103b** (119 mg, 90%).

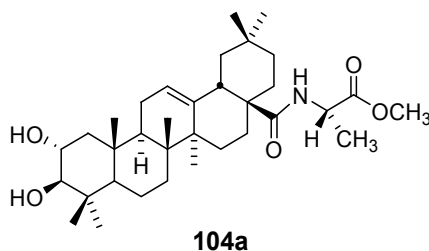


103b

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.58 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=5.3 Hz, NH), 5.21 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=3.3 Hz), 3.83 (2H, dd, *J*₁=5.6 Hz, *J*₂=17.5 Hz, C-2 Gli), 3.43 (1H, ddd, *J*₁=4.3 Hz, *J*₂=10.5 Hz, *J*₃=12.2 Hz, H-2), 2.81 (1H, dd, *J*₁=3.4 Hz, *J*₂=12.5 Hz, H-18), 2.76 (1H, d, *J*=10.5 Hz, H-3), 1.10, 0.93, 0.91, 0.89, 0.89, 0.72, 0.65 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.60 (C, C-28), 171.45 (C, C-1 Gli), 144.04 (C, C-13), 121.39 (CH, C-12), 82.23 (CH, C-3), 67.15 (CH, C-2), 54.77 (CH, C-5), 47.13 (CH, C-9), 46.88 (CH₂, C-1), 46.05 (CH₂, C-19), 45.14 (C, C-17), 41.27 (C, C-14), 40.88 (CH₂, C-2 Gli), 40.45 (CH, C-18), 38.92 (C, C-10), 38.70 (C, C-4), 37.63 (C, C-8), 33.61 (CH₂, C-21), 32.89 (Me), 32.47 (CH₂, C-7), 32.29 (CH₂, C-22), 30.42 (C, C-20), 28.79 (Me), 26.82 (CH₂, C-15), 25.68 (Me), 23.50 (Me), 23.03 (CH₂, C-16), 22.44 (CH₂, C-11), 18.04 (CH₂, C-6), 17.13 (Me), 16.61 (Me), 16.32 (Me); **HRMS**: m/z: [M+Na]⁺ 552.3664 (C₃₂H₅₁NO₅Na, calc. 552.3665)

3.5.3.3 N-(2α,3β-dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-L-alaninato de metilo (104a).

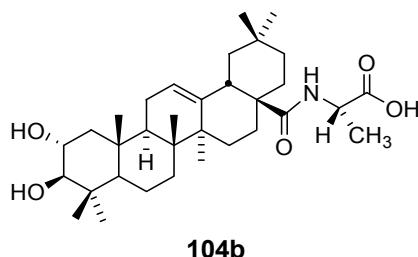
Ácido maslínico (200 g, 0.42 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se trata con el ester metílico de L-alanina (70 mg, 0.50 mmol), (63 mg, 0.50 mmol), HOBT (64 mg, 0.42 mmol), DCC (86.5 mg, 0.42 mmol), y trietilamina (0.1 mL). Después del tratamiento indicado en los procedimientos generales la purificación permite obtener compuesto **104a** (210 mg, 90%).



¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.59 (1H, d, *J*=7.1 Hz, NH), 5.17 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=3.2 Hz, H-12), 4.20 (1H, dq, *J*₁=*J*₂=7.1 Hz, 1H C-2 Ala ester metílico), 3.57 (3H, s, Me Ala ester metílico), 3.41 (1H, ddd, *J*₁=4.3 Hz, *J*₂=10.5 Hz, *J*₃=12.2 Hz, H-2), 2.77 (1H, dd, *J*₁=3.4 Hz, *J*₂=12.5 Hz, H-18), 2.73 (1H, d, *J*=10.5 Hz, H-3), 1.24 (3H, d, *J*=7.1 Hz, 3H C-3 Ala ester metílico), 1.07, 0.95, 0.88, 0.86, 0.86, 0.69, 0.64 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 175.97 (C, C-28), 172.96 (C, C-1 Ala ester metílico), 143.89 (C, C-13), 121.17 (CH, C-12), 82.11 (CH, C-3), 67.01 (CH, C-2), 54.67 (CH, C-5), 51.54 (Me, Me Ala ester metílico), 47.52 (CH, C-3 Ala ester metílico), 46.97 (CH, C-9), 46.74 (CH₂, C-1), 45.73 (CH₂, C-19), 44.92 (C, C-17), 41.14 (C, C-14), 40.26 (CH, C-18), 38.79 (C, C-10), 38.58 (C, C-4), 37.52 (C, C-8), 33.42 (CH₂, C-21), 32.80 (Me), 32.28 (CH₂, C-7), 32.07 (CH₂, C-22), 30.27 (C, C-20), 28.67 (Me), 26.73 (CH₂, C-15), 25.51 (Me), 23.40 (Me), 22.88 (CH₂, C-16), 21.86 (CH₂, C-11), 17.90 (CH₂, C-6), 16.99 (Me), 16.75 (Me, C-3 Ala ester metílico), 16.61 (Me), 16.20 (Me); **HRMS**: *m/z*: [M+Na]⁺ 580.3974 (C₃₄H₅₅NO₅Na, calc. 580.3977).

3.5.3.4 N-(2α,3β-dihidroxi-12-oleanen-28-ol)-L-alanina (104b).

Una disolución acuosa de NaOH (4N, 1mL) se añade al derivado **104a** (139 mg, 0.25 mmol) disuelto en MeOH-THF (1:1.5) (5 mL) y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El tratamiento posterior, indicado en los procedimientos generales, permite aislar el compuesto **104b** (115 mg, 85%).

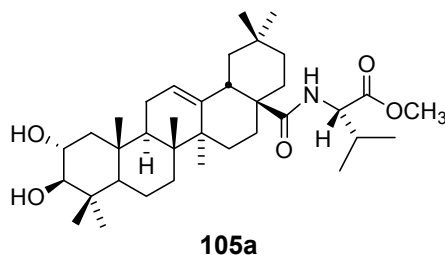


¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.35 (1H, d, *J*=6.9 Hz, NH), 5.18 (1H, dd, *J*₁=*J*₂=3.2 Hz, H-12), 4.20 (1H, dq, *J*₁=*J*₂=6.9 Hz, H-2 Ala), 3.39 (1H, ddd, *J*₁=4.3 Hz, *J*₂=10.2 Hz, *J*₃=12.2 Hz, H-2), 2.77 (1H, dd, *J*₁=3.4 Hz, *J*₂=12.5 Hz, H-18), 2.72 (1H, d, *J*=10.2 Hz, H-3), 1.23 (3H, d, *J*=6.9 Hz,

3H-3 Ala), 1.07, 0.95, 0.86, 0.86, 0.86, 0.69, 0.63 (3H cada uno, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (DMSO- d_6): δ 175.83 (C, C-28), 174.14 (C, C-1 Ala), 143.80 (C, C-13), 121.44 (CH, C-12), 82.13 (CH, C-3), 67.04 (CH, C-2), 54.69 (CH, C-5), 47.39 (CH, C-2 Ala), 46.99 (CH, C-9), 46.73 (CH₂, C-1), 45.74 (CH₂, C-19), 44.96 (C, C-17), 41.19 (C, C-14), 40.23 (CH, C-18), 38.84 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 37.53 (C, C-8), 33.26 (CH₂, C-21), 32.82 (Me), 32.67 (CH₂, C-7), 32.18 (CH₂, C-22), 30.24 (C, C-20), 28.66 (Me), 26.73 (CH₂, C-15), 25.55 (Me), 23.27 (Me), 22.90 (CH₂, C-16), 22.00 (CH₂, C-11), 17.90 (CH₂, C-6), 17.20 (Me), 16.99 (Me, C-3 Ala), 16.50 (Me), 16.21 (Me); **HRMS**: m/z $[M+Na]^+$ 566.3823 (C₃₃H₅₃NO₅Na, calc. 566.3821).

3.5.3.5 N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-ol)-L-valinato de metilo (105a).

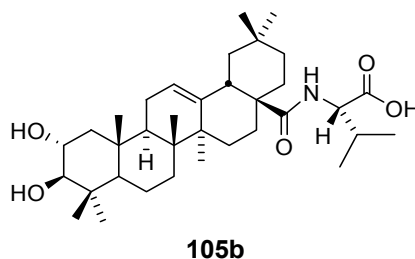
Ácido maslínico (200 g, 0.42 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se trata con hidrocloreuro de L-valinato de metilo (84 mg, 0.50 mmol), HOBT (64 mg, 0.42 mmol), DCC (86.5 mg, 0.42 mmol), y trietilamina (0.1 mL). Después del tratamiento indicado en los procedimientos generales la purificación permite obtener compuesto **105a** (209 mg, 85%).



$^1\text{H RMN}$ (DMSO- d_6): δ 7.26 (1H, d, $J=6.0$ Hz, NH), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=2.7$ Hz, H-12), 4.01 (1H, dd, $J_1=J_2=6.0$ Hz, H-2 Val ester metílico), 3.59 (3H, s, Me Val ester metílico), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.77 (1H, dd, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H-18), 2.73 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-3), 2.20 (1H, dq, $J_1=5.1$ Hz, $J_2=6.0$ Hz, H-3 Val ester metílico), 0.84 (6H, d, $J=5.1$ Hz, 6H C-4 and C-5 Val ester metílico), 1.08, 0.91, 0.88, 0.87, 0.87, 0.69, 0.60 (3H cada uno, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (DMSO- d_6): δ 177.29 (C, C-28), 172.92 (C, C-1 Val ester metílico), 144.64 (C, C-13), 122.08 (CH, C-12), 82.88 (CH, C-3), 67.79 (CH, C-2), 58.79 (CH, C-2 Val ester metílico), 55.43 (CH, C-5), 52.13 (Me, Me Val ester metílico), 47.75 (CH, C-9), 47.49 (CH₂, C-1), 46.53 (CH₂, C-19), 46.12 (C, C-17), 41.96 (C, C-14), 40.45 (CH, C-18), 39.59 (C, C-10), 38.55 (C, C-4), 38.29 (C, C-8), 34.02 (CH₂, C-21), 33.57 (Me), 33.09 (CH₂, C-7), 32.78 (CH₂, C-22), 31.06 (C, C-20), 30.34 (CH, C-3 Val ester metílico), 29.46 (Me), 27.54 (CH₂, C-15), 26.27 (Me), 24.20 (Me), 23.70 (CH₂, C-16), 22.74 (CH₂, C-11), 19.83 (Me, C-4 Val ester metílico), 19.74 (Me, C-5 Val ester metílico), 18.71 (CH₂, C-6), 17.74 (Me), 17.38 (Me), 16.97 (Me); **HRMS**: m/z $[M+Na]^+$ 608.4297 (C₃₆H₅₉NO₅Na, calc. 608.4290).

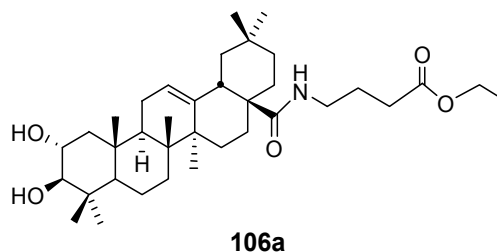
3.5.3.6 N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-L-valina (105b).

Una disolución acuosa de NaOH (4N, 1mL) se añade al derivado **105a** (146 mg, 0.25 mmol) disuelto en MeOH-THF (1:1.5) (5 mL) y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El tratamiento posterior ya indicado en los procedimientos generales permite aislar el compuesto **105b** (121 mg, 85%).



$^1\text{H RMN}$ (DMSO- d_6): δ 7.01 (1H, d, $J=7.3$ Hz, NH), 5.25 (1H, dd, $J_1=J_2=2.7$ Hz, H-12), 4.04 (1H, dd, $J_1=J_2=7.3$ Hz, H-2 Val), 3.42 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.77 (1H, dd, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H-18), 2.75 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-3), 2.16 (1H, dq, $J_1=7.3$ Hz, $J_2=6.0$ Hz, H-3 Val), 0.89 (6H, d, $J=5.1$ Hz, 6H C-4 y C-5 Val), 1.10, 0.93, 0.89, 0.87, 0.87, 0.71, 0.64 (3H cada uno, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (DMSO- d_6): δ 176.40 (C, C-28), 173.01 (C, C-1 Ala), 143.64 (C, C-13), 121.65 (CH, C-12), 82.12 (CH, C-3), 67.04 (CH, C-2), 57.42 (CH, C-2 Val), 54.66 (CH, C-5), 47.00 (CH, C-9), 46.79 (CH₂, C-1), 45.83 (CH₂, C-19), 45.45 (C, C-17), 41.30 (C, C-14), 40.71 (CH, C-18), 38.85 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 37.50 (C, C-8), 33.26 (CH₂, C-21), 32.75 (Me), 32.37 (CH₂, C-7), 32.26 (CH₂, C-22), 30.26 (C, C-20), 29.83 (CH, C-3 Val), 28.70 (Me), 26.80 (CH₂, C-15), 25.46 (Me), 23.33 (Me), 22.94 (CH₂, C-16), 22.18 (CH₂, C-11), 19.05 (Me, C-4 Val), 18.61 (Me, C-5 Val), 17.94 (CH₂, C-6), 17.06 (Me), 16.66 (Me), 16.26 (Me); **HRMS**: m/z $[M+Na]^+$ 594.4129 (C₃₅H₅₇NO₅Na, calc. 594.4134).

3.5.3.7 N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-4-aminobutirato de etilo (106a).



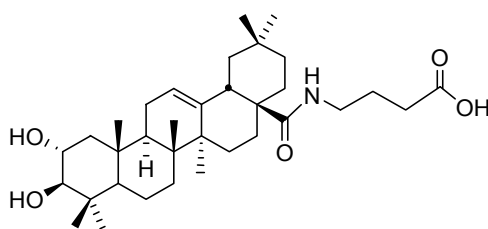
Ácido maslínico (200 g, 0.42 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se trata con hidrocloreuro de 4-aminobutirato de etilo (84 mg, 0.50 mmol), HOBt (64 mg, 0.42 mmol), DCC

(86.5 mg, 0.42 mmol), y trietilamina (0.1 mL). Después del tratamiento indicado en los procedimientos generales la purificación permite obtener el compuesto **106a** (221 mg, 90%).

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.29 (1H, dd, $J_1=J_2=5.5$ Hz, NH), 5.21 (1H, dd, $J_1=J_2=3.0$ Hz, H-12), 4.02 (2H, q, $J=7.1$ Hz, Et, GABA ester etílico), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=9.3$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 3.00 (2H, dt, $J_1=5.5$ Hz, $J_2=7.0$ Hz, 2H C-4 GABA ester etílico), 2.78 (1H, dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.24 (2H, t, $J=7.5$ Hz, 2H C-2 GABA ester etílico), 1.19 (3H, d, $J=7.1$ Hz, Et GABA ester etílico), 1.16, 1.07, 0.90, 0.87, 0.86, 0.69, 0.63 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.15 (C, C-28), 172.57 (C, C-1 GABA ester etílico), 144.06 (C, C-13), 121.16 (CH, C-12), 82.11 (CH, C-3), 67.00 (CH, C-2), 59.56 (CH₂, Et GABA ester etílico), 54.62 (CH, C-5), 46.95 (CH, C-9), 46.71 (CH₂, C-1), 45.85 (CH₂, C-19), 45.10 (C, C-17), 41.14 (C, C-14), 40.29 (CH, C-18), 38.84 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 38.03 (CH₂, C-4 GABA ester etílico), 37.49 (C, C-8), 33.49 (CH₂, C-21), 32.82 (Me), 32.68 (CH₂, C-7), 32.23 (CH₂, C-22), 31.03 (CH₂, C-2 GABA ester etílico), 30.32 (C, C-20), 28.67 (Me), 26.79 (CH₂, C-15), 25.58 (Me), 24.32 (CH₂, C-3 GABA ester etílico), 23.47 (Me), 22.86 (CH₂, C-16), 22.06 (CH₂, C-11), 17.90 (CH₂, C-6), 16.98 (Me), 16.71 (Me), 16.13 (Me), 13.97 (Me, Et GABA ester etílico); **HRMS**: *m/z* [M+Na]⁺ 608.4293 (C₃₆H₅₉NO₅Na, calc. 608.4290).

3.5.3.8 Ácido N-(2α,3β-dihidroxi-12-oleanen-28-oi)-4-aminobutírico (106b).

Una disolución acuosa de NaOH (4N, 1mL) se añade al derivado **106a** (146 mg, 0.25 mmol) disuelto en MeOH-THF (1:1.5) (5 mL) y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El tratamiento posterior ya indicado en los procedimientos generales permite aislar el compuesto **106b** (125 mg, 90%).



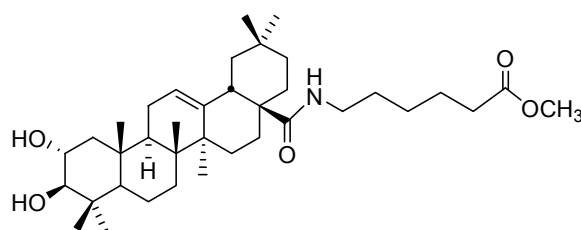
106b

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.27 (1H, dd, $J_1=J_2=5.1$ Hz, NH), 5.21 (1H, dd, $J_1=J_2=3.0$ Hz, H-12), 3.39 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=9.3$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 3.00 (2H, dt, $J_1=5.1$ Hz, $J_2=7.0$ Hz, 2H C-4 GABA), 2.78 (1H, dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.16 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H-2 GABA), 1.06, 0.90, 0.87, 0.87, 0.85, 0.68, 0.63 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.22 (C, C-28), 174.27 (C, C-1 GABA), 144.05 (C, C-13), 121.29 (CH, C-12), 82.17 (CH, C-3), 67.09 (CH, C-2), 54.73 (CH, C-5), 47.04 (CH, C-9), 46.74 (CH₂, C-1), 45.94

(CH₂, C-19), 45.17 (C, C-17), 41.19 (C, C-14), 40.36 (CH, C-18), 38.84 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 38.25 (CH₂, C-4 GABA), 37.57 (C, C-8), 33.60 (CH₂, C-21), 32.92 (Me), 32.74 (CH₂, C-7), 32.30 (CH₂, C-22), 31.19 (CH₂, C-2 GABA), 30.39 (C, C-20), 28.74 (Me), 26.87 (CH₂, C-15), 25.69 (Me), 24.40 (CH₂, C-3 GABA), 23.54 (Me), 22.96 (CH₂, C-16), 22.14 (CH₂, C-11), 18.00 (CH₂, C-6), 17.06 (Me), 16.78 (Me), 16.25 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 580.3971 (C₃₄H₅₅NO₅Na 580.3977).

3.5.3.9 N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-ol)-6-aminohexanoato de metilo (107a).

Ácido maslínico (200 g, 0.42 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se trata con hidrocloreuro de 6-aminohexanoato de metilo (91 mg, 0.50 mmol), HOBt (64 mg, 0.42 mmol), DCC (86.5 mg, 0.42 mmol), y trietilamina (0.1 mL). Después del tratamiento indicado en los procedimientos generales, la purificación permite obtener el compuesto **107a** (239 mg, 95%).

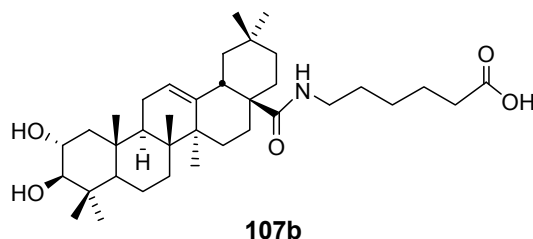


107a

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.20 (1H, dd, $J_1=J_2=5.5$ Hz, NH), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 3.55 (3H, s, Me 6AHA ester metílico), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=9.3$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.96 (2H, m, 2H C-6 6AHA ester metílico), 2.78 (1H, dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.25 (2H, t, $J=7.4$ Hz, 2H C-2 6AHA ester metílico), 1.06, 0.90, 0.87, 0.86, 0.85, 0.68, 0.64 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.11 (C, C-28), 173.22 (C, C-1 6AHA ester metílico), 144.15 (C, C-13), 121.23 (CH, C-12), 82.19 (CH, C-3), 67.11 (CH, C-2), 54.73 (CH, C-5), 51.12 (Me, Me 6AHA ester metílico), 47.04 (CH, C-9), 46.76 (CH₂, C-1), 45.99 (CH₂, C-19), 45.16 (C, C-17), 41.22 (C, C-14), 40.39 (CH, C-18), 38.56 (CH₂, C-6 6AHA ester metílico), 38.84 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 37.58 (C, C-8), 33.62 (CH₂, C-21), 33.25 (CH₂, C-2 6AHA ester metílico), 32.91 (Me), 32.71 (CH₂, C-7), 32.29 (CH₂, C-22), 30.38 (C, C-20), 28.75 (Me), 28.69 (CH₂, C-5 6AHA ester metílico), 26.86 (CH₂, C-15), 26.01 (CH₂, C-4 6AHA ester metílico), 25.65 (Me), 24.17 (CH₂, C-3 6AHA ester metílico), 23.52 (Me), 22.96 (CH₂, C-16), 22.20 (CH₂, C-11), 17.97 (CH₂, C-6), 17.06 (Me), 16.81 (Me), 16.20 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 622.4444 (C₃₇H₆₁NO₅Na, calc. 622.4447).

3.5.3.10 Ácido N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-ol)-6-aminohexanoico (107b).

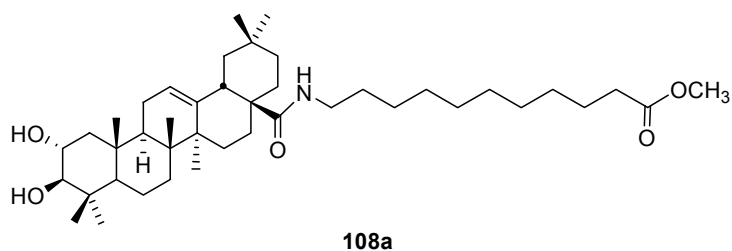
Una disolución acuosa de NaOH (4N, 1 mL) se añade al derivado **107a** (150 mg, 0.25 mmol) disuelto en MeOH-THF (1:1.5) (5 mL) y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El tratamiento posterior ya indicado en los procedimientos generales permite aislar el compuesto **107b** (139 mg, 95%).



¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.20 (1H, dd, $J_1=J_2=5.4$ Hz, NH), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=9.3$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.97 (2H, m, 2H C-6 6AHA), 2.78 (1H, dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.16 (2H, t, $J=7.5$ Hz, 2H C-2 6AHA), 1.06, 0.90, 0.87, 0.86, 0.85, 0.68, 0.64 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 175.97 (C, C-28), 174.28 (C, C-1 6AHA), 144.11 (C, C-13), 121.20 (CH, C-12), 82.15 (CH, C-3), 67.05 (CH, C-2), 54.70 (CH, C-5), 47.01 (CH, C-9), 46.74 (CH₂, C-1), 45.96 (CH₂, C-19), 45.09 (C, C-17), 41.18 (C, C-14), 40.35 (CH, C-18), 38.56 (CH₂, C-6 6AHA), 38.85 (C, C-10), 38.58 (C, C-4), 37.54 (C, C-8), 33.58 (CH₂, C-21), 33.58 (CH₂, C-2 6AHA), 32.88 (Me), 32.67 (CH₂, C-7), 32.28 (CH₂, C-22), 30.35 (C, C-20), 28.76 (CH₂, C-5 6AHA), 28.71 (Me), 26.82 (CH₂, C-15), 26.08 (CH₂, C-4 6AHA), 25.62 (Me), 24.20 (CH₂, C-3 6AHA), 23.49 (Me), 22.94 (CH₂, C-16), 22.16 (CH₂, C-11), 17.95 (CH₂, C-6), 17.03 (Me), 16.76 (Me), 16.19 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 608.4295 (C₃₆H₅₉NO₅Na, calc. 608.4290).

3.5.3.11 N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-ol)-11-aminoundecanoato de metilo (108a)

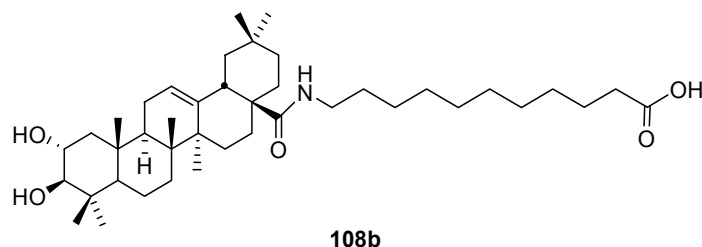
Ácido maslínico (200 g, 0.42 mmol) se disuelve en CH₂Cl₂ (20 mL) y se trata con hidrocloreuro de 11-aminoundecanoato de metilo (126 mg, 0.50 mmol), HOBt (64 mg, 0.42 mmol), DCC (86.5 mg, 0.42 mmol), y trietilamina (0.1 mL). Después del tratamiento indicado en los procedimientos generales la purificación permite obtener compuesto **108a** (267 mg, 95%).



¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.19 (1H, dd, $J_1=J_2=5.5$ Hz, NH), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.0$ Hz, H-12), 3.56 (3H, s, Me 11AUA ester metílico), 3.40 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=9.3$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.97 (2H, m, 2H C-11 11AUA ester metílico), 2.78 (1H, dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.26 (2H, t, $J=7.5$ Hz, 2H C-2 11AUA ester metílico), 1.07, 0.90, 0.88, 0.87, 0.85, 0.68, 0.65 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 175.87 (C, C-28), 173.14 (C, C-1 11AUA ester metílico), 144.14 (C, C-13), 121.07 (CH, C-12), 82.08 (CH, C-3), 66.99 (CH, C-2), 54.60 (CH, C-5), 51.00 (Me, Me 11AUA ester metílico), 46.94 (CH, C-9), 46.76 (CH₂, C-1), 45.91 (CH₂, C-19), 45.03 (C, C-17), 41.13 (C, C-14), 40.29 (CH, C-18), 38.68 (CH₂, C-11 11AUA ester metílico), 38.84 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 37.48 (C, C-8), 33.53 (CH₂, C-21), 33.15 (CH₂, C-2 11AUA ester metílico), 32.80 (Me), 32.62 (CH₂, C-7), 32.22 (CH₂, C-22), 30.30 (C, C-20), 28.93 (CH₂, C-10 11AUA ester metílico), 28.74 (CH₂, 6H, C-6, C-7, C-8 11AUA ester metílico), 28.69 (Me), 28.37 (2CH₂, C4, C-5 11AUA ester metílico), 26.52 (CH₂, C-15), 25.53 (Me), 24.30 (2CH₂, C-3, C-9 11AUA ester metílico), 23.42 (Me), 22.86 (CH₂, C-16), 22.09 (CH₂, C-11), 17.90 (CH₂, C-6), 16.93 (Me), 16.77 (Me), 16.12 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 692.5222 (C₄₂H₇₁NO₅Na, calc. 692.5229).

3.5.3.12 Acido N-(2α,3β-dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-11-aminoundecanoico (108b)

Una disolución acuosa de NaOH (4N, 1mL) se añade al derivado **108a** (167 mg, 0.25 mmol) disuelto en MeOH-THF (1:1.5) (5 mL) y la mezcla de reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24 h. El tratamiento posterior ya indicado en los procedimientos generales permite aislar el compuesto **108b** (155 mg, 90%).



¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.19 (1H, dd, $J_1=J_2=5.1$ Hz, NH), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.0$ Hz, H-12), 3.40 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=9.3$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.99 (2H, m, 2H C-11 11AUA), 2.78

(1H, dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.6 (2H, t, $J=7.5$ Hz, 2H C-2 11AUA), 1.07, 0.90, 0.88, 0.87, 0.86, 0.68, 0.65 (3H cada uno, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (DMSO- d_6): δ 175.94 (C, C-28), 174.30 (C, C-1 11AUA), 144.14 (C, C-13), 121.15 (CH, C-12), 82.14 (CH, C-3), 67.04 (CH, C-2), 54.69 (CH, C-5), 47.02 (CH, C-9), 46.72 (CH₂, C-1), 45.96 (CH₂, C-19), 45.08 (C, C-17), 41.18 (C, C-14), 40.24 (CH, C-18), 38.77 (CH₂, C-11 11AUA), 38.80 (C, C-10), 38.57 (C, C-4), 37.54 (C, C-8), 33.60 (CH₂, C-21), 33.60 (CH₂, C-2 11AUA), 32.87 (Me), 32.65 (CH₂, C-7), 32.30 (CH₂, C-22), 30.33 (C, C-20), 29.07 (CH₂, C-10 11AUA), 28.90 (CH₂, 4H, C-6, C-7, 11AUA), 28.82 (CH₂, 4H, C-5, C-8, 11AUA), 28.69 (Me), 28.58 (CH₂, 2H, C-4, 11AUA), 26.62 (CH₂, C-15), 25.60 (Me), 24.47 (CH₂, 4H, C-3, C-9, 11AUA), 23.47 (Me), 22.93 (CH₂, C-16), 22.17 (CH₂, C-11), 17.98 (CH₂, C-6), 16.99 (Me), 16.80 (Me), 16.18 (Me); **HRMS**: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ calculado para $\text{C}_{41}\text{H}_{69}\text{NO}_5\text{Na}$ 678.5073, encontrado 678.5076.

3.5.4 Aproximación sintética en fase sólida de derivados de ácido maslínico con aminoácidos

3.5.4.1 N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-L-alanil]-glicina (109)

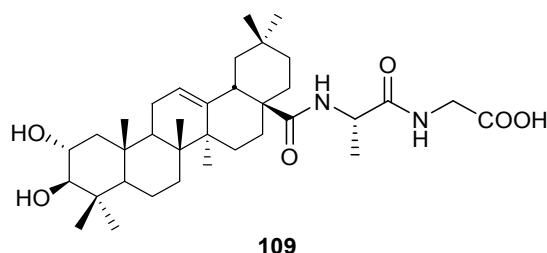
Cl-TrtCl-resina (300 mg, 1.27 mmol/g) se dispone en una jeringuilla de polipropileno con filtro de polietileno de 10 mL. La resina se hincha con CH_2Cl_2 (4 mL) durante 30 min y se incorpora a continuación el primer aminoácido Fmoc-Gli-OH (225 mg, 2 eq), DIEA (1.35 mL, 10 eq) en CH_2Cl_2 (1.5 mL) manteniéndose en agitación orbitálica durante 45 min. La reacción se finaliza con la adición de MeOH (0.75 mL), después de agitar durante 15 min más. Fmoc-Gli-O-TrtCl-resina se somete a los siguientes lavados y tratamientos con CH_2Cl_2 , DMF, piperidina-DMF (1:4), y DMF según se indican en los procedimientos generales. H-Gli-O-TrtCl-resina se divide en dos fracciones (1/3 y 2/3).

El ácido maslínico (180 mg, 3 eq), PyAOP (600 mg, 3 eq), HOAt (0.19 mL, 3 eq), DIEA (0.60 mL, 9 eq) en 0.7 mL de DMF se añaden a la porción 1/3 de H-Gli-O-TrtCl-resina. La mezcla se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 24h, cuando el test de ninhidrina es negativo. La resina se filtra y se lava sucesivamente con DMF, piperidina-DMF, DMSO y CH_2Cl_2 para liberar el compuesto posteriormente de la resina con 1% TFA en CH_2Cl_2 . El crudo obtenido por evaporación da lugar al compuesto **103b** con una pureza de 90% con idénticas propiedades físicas y espectroscópicas que el compuesto obtenido de la saponificación del compuesto **103a**.

Por otro lado, una mezcla formada por Fmoc-L-Ala-OH (312 mg, 4 eq), HOBt (620 mg, 4 eq), DIPCDI (0.64 mL, 4 eq) en 1.4 mL de DMF se añade a la porción 2/3 de H-Gli-O-TrtCl-resina. El acoplamiento se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 1.5 h, tiempo

para el cual el test de Kaiser da negativo. La peptidilresina se somete a los lavados y tratamientos detallados en los procedimientos generales para desproteger el grupo amino. H-L-Ala-Gli-O-TrtCl-resina se divide en dos porciones equivalentes.

A una de ellas se le añade ácido maslínico (180 mg, 3 eq), PyAOP (600 mg, 3 eq), HOAt (0.19 mL, 3 eq), DIEA (0.60 mL, 9 eq) en 0.7 mL de DMF. Después de 24 horas el test de ninhidrina da negativo. La escisión del compuesto de la resina y tratamientos posteriores según los métodos generales da lugar al compuesto **109** (AM-L-Ala-Gli-O-H) con 90% de pureza.

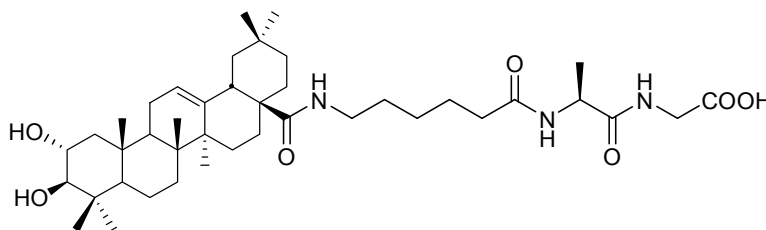


¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8.05 (1H, dd, $J_1=J_2=5.6$ Hz, NH Gli), 7.25 (1H, d, $J=7.0$ Hz, NH Ala), 5.23 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 4.20 (1H, dq, $J_1=J_2=7.0$ Hz, 1H C-2 Ala), 3.78 (2H, dd, $J_1=5.6$ Hz, $J_2=17.3$ Hz, 2H C-2 Gli), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.77 (2H, m, H-18 y H-3), 1.22 (3H, d, $J=7.0$ Hz, 3H-3 Ala), 1.10, 0.93, 0.89, 0.89, 0.71, 0.62 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 175.66 (C, C-28), 172.45 (C, C-1 Ala), 170.84 (C, C-1 Gli), 143.62 (C, C-13), 121.64 (CH, C-12), 82.09 (CH, C-3), 67.01 (CH, C-2), 54.62 (CH, C-5), 47.78 (CH, C-2 Ala), 46.98 (CH, C-9), 46.77 (CH₂, C-1), 45.73 (CH₂, C-19), 45.04 (C, C-17), 41.14 (C, C-14), 40.72 (CH, C-18), 40.47 (CH₂, C-2 Gli), 38.84 (C, C-10), 38.56 (C, C-4), 37.47 (C, C-8), 33.24 (CH₂, C-21), 32.77 (Me), 32.22 (CH₂, C-7), 32.22 (CH₂, C-22), 30.27 (C, C-20), 28.68 (Me), 26.73 (CH₂, C-15), 25.53 (Me), 23.37 (Me), 22.90 (CH₂, C-16), 22.20 (CH₂, C-11), 18.41 (Me, C-3 Ala), 17.91 (CH₂, C-6), 17.01 (Me), 16.45 (Me), 16.19 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 623.4034 (C₃₅H₅₆N₂O₆Na, calc. 623.4036).

3.5.4.2 N''-[N'-[N-(2α,3β-dihidroxi-12-oleanen-28-oi)-6-aminohexanoil]-L-alanil]-glicina (110)

A la otra fracción de H-L-Ala-Gli-O-TrtCl-resina se le añade Fmoc-6AHA-OH (180 mg, 4 eq), HOBt (620 mg, 4 eq), DIPCDI (0.64 mL, 4 eq) en 1.4 mL de DMF. Después de 1.5 h. en agitación a temperatura ambiente se da por finalizado el acoplamiento ya que el test de ninhidrina da negativo. Fmoc-6AHA-L-Ala-Gli-O-TrtCl-resina se somete a distintos lavados y tratamientos para desproteger el grupo amino terminal.

A la peptidilresina obtenida se le añade ácido maslínico (180 mg, 3 eq), PyAOP (600 mg, 3 eq), HOAt (0.19 mL, 3 eq), DIEA (0.60 mL, 9 eq) en 0.7 mL de DMF y se agita a temperatura ambiente durante 24 h. Después de este acoplamiento se libera el derivado de la resina según los procedimientos generales. Los filtrados obtenidos se evaporan a vacío y el crudo obtenido muestra una pureza de 80% en el compuesto **110** (AM-6AHA-L-Ala-Gli-OH).



110

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8.11 (1H, dd, $J_1=J_2=5.8$ Hz, NH Gli), 7.95 (1H, d, $J=7.8$ Hz, NH Ala), 7.21 (1H, dd, $J_1=J_2=5.1$ Hz, NH 6AHA), 5.23 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 4.32 (1H, dq, $J_1=J_2=7.8$ Hz, 1H C-2 Ala), 3.75 (2H, m, 2H C-2 Gli), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.99 (2H, m, 2H C-6 6AHA), 2.77 (1H, dd, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H-18), 2.73 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-3), 2.11 (2H, t, $J=7.4$ Hz, 2H C-2 6AHA), 1.20 (3H, d, $J=7.2$ Hz, 3H C-3 Ala), 1.10, 0.93, 0.91, 0.89, 0.88, 0.71, 0.67 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 175.91 (C, C-28), 172.45 (C, C-1 6AHA), 171.71 (C, C-1 Gli), 171.01 (C, C-1 Ala), 144.10 (C, C-13), 121.15 (CH, C-12), 82.13 (CH, C-3), 67.02 (CH, C-2), 54.66 (CH, C-5), 47.61 (CH, C-2 Ala), 46.98 (CH, C-9), 46.73 (CH₂, C-1), 45.92 (CH₂, C-19), 45.04 (C, C-17), 41.16 (C, C-14), 40.46 (CH₂, C-2 Gli), 40.31 (CH, C-18), 38.61 (CH₂, C-6 6AHA), 38.84 (C, C-10), 38.56 (C, C-4), 37.52 (C, C-8), 34.99 (CH₂, C-2 6AHA), 33.54 (CH₂, C-21), 32.83 (Me), 32.65 (CH₂, C-7), 32.25 (CH₂, C-22), 30.32 (C, C-20), 28.83 (CH₂, C-5 6AHA), 28.68 (Me), 26.73 (CH₂, C-15), 26.19 (CH₂, C-4 6AHA), 25.58 (Me), 24.80 (CH₂, C-3 6AHA), 23.45 (Me), 22.90 (CH₂, C-16), 22.11 (CH₂, C-11), 18.17 (Me, C-3 Ala), 17.92 (CH₂, C-6), 16.99 (Me), 16.73 (Me), 16.17 (Me); **HRMS**: *m/z* [M+Na]⁺ 736.4872 (C₄₁H₆₇N₃O₇Na, calc. 736.4876).

3.5.5 Síntesis en fase sólida de una librería de derivados de ácido maslínico con un α-aminoácido y un ω-aminoácido

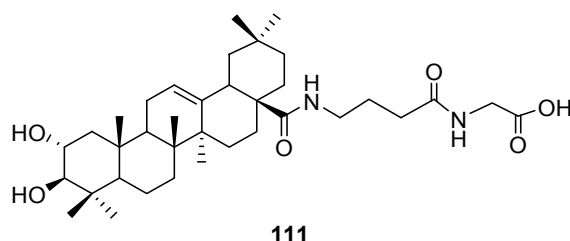
Tres porciones de Cl-TrtCl-resina (300 mg cada una) se sitúan en tres jeringas de polipropileno de 10 mL y la resina se lava con CH₂Cl₂ durante 20 min para solvatar correctamente el polímero. Una disolución de Fmoc-xxx-OH (α-amino ácido: xxx = Gli, Ala y Val) (2 eq), DIEA (10 eq) y CH₂Cl₂ (1.5 mL) se añade a cada fracción de resina y se mantiene en agitación durante 1.5 h. La reacción se finaliza con la adición de MeOH (0.50 mL), después de

mantener en agitación durante 15 min. Fmoc-xxx-O-TrtCl-resina se somete a distintos lavados y tratamientos indicados en los procedimientos generales para la eliminación del grupo protector Fmoc.

El contenido de cada jeringa se distribuye en otras tres jeringas y se añade a cada una de ellas 4 eq de Fmoc-xxx-OH (ω -amino ácido: xxx = GABA, 6AHA, y 11AUA), 4 eq de HOBt, 4 eq de DIPCDI y 0.7 mL de DMF, manteniéndose en agitación durante 1.5 h, tiempo al cual el test de Kaiser da negativo. Cada petidilresina conteniendo α - y ω -aminoácido se somete a lavados con DMF y tratamiento con piperidina-DMF (1:4), como indican los procedimientos generales.

Una mezcla formada por 3 eq de ácido maslinico, 3 eq de PyAOP, 3 eq de HOAt, 9 eq de DIEA y 0.7 mL of DMF se añade a cada una de las jeringas anteriores, manteniéndose en agitación el acoplamiento durante 24 h. Transcurrido este tiempo la resina es lavada sucesivamente con DMF, piperidina-DMF, DMSO y CH_2Cl_2 , se trata con 1% TFA en CH_2Cl_2 y se filtra. El disolvente se evapora a vacío y el residuo resultante se analiza mediante RP-HPLC, LC-MS, y RMN. Los datos de pureza (RP-HPLC), ^1H - y ^{13}C -RMN y HRMS de los compuestos **111-119** se dan a continuación.

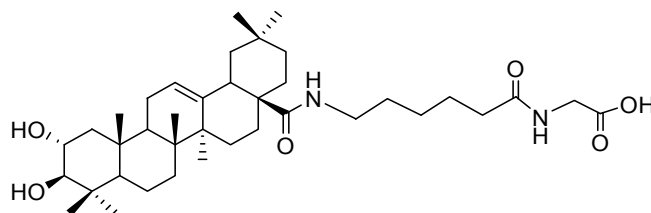
N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-4-aminobutanoil]-glicina (111). (90 %)



$^1\text{H RMN}$ (DMSO- d_6): δ 8.01 (1H, dd, $J_1=J_2=4.5$ Hz, NH Gli); 7.23 (1H, dd, $J_1=J_2=3.6$ Hz, NH GABA); 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 3.71 (2H, dd, $J_1=4.5$ Hz, $J_2=18.2$ Hz, 2H C-2 Gli), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.98 (2H, m, 2H C-4 GABA), 2.77 (1H, dd, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H-18), 2.73 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-3), 2.08 (2H, t, $J=5.4$ Hz, 2H C-2 GABA), 1.07, 0.90, 0.88, 0.87, 0.85, 0.68, 0.63 (3H cada uno, Me); $^{13}\text{C RMN}$ (DMSO- d_6): δ 176.22 (C, C-28), 172.35 (C, C-1 GABA), 171.33 (C, C-1 Gli), 144.14 (C, C-13), 121.33 (CH, C-12), 82.26 (CH, C-3), 67.15 (CH, C-2), 54.77 (CH, C-5), 47.10 (CH, C-9), 46.84 (CH_2 , C-1), 46.04 (CH_2 , C-19), 45.19 (C, C-17), 41.25 (C, C-14), 40.54 (CH_2 , C-2 Gli), 40.44 (CH, C-18), 38.93 (CH_2 , C-4 GABA), 38.90 (C, C-10), 38.64 (C, C-4), 37.63 (C, C-8), 33.64 (CH_2 , C-21), 32.93 (Me), 32.77 (CH_2 , C-7), 32.72 (CH_2 , C-2 GABA), 32.32 (CH_2 , C-22), 30.43 (C, C-20), 28.79 (Me), 26.93 (CH_2 , C-15), 25.72 (Me), 25.15 (CH_2 , C-3 GABA), 23.57 (Me), 23.01 (CH_2 , C-16), 22.23 (CH_2 , C-

11), 18.03 (CH₂, C-6), 17.10 (Me), 16.82 (Me), 16.28 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 637.4197 (C₃₆H₅₈N₂O₆Na, calc. 637.4192).

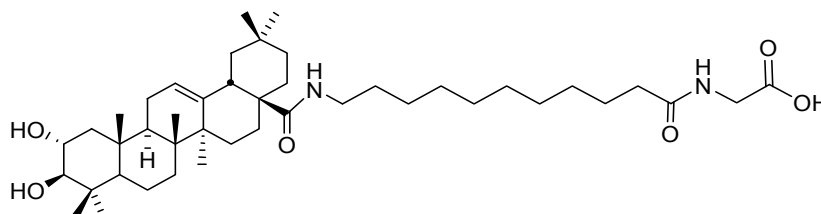
N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-6-aminohexanoil]-glicina (112). (85 %)



112

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8.04 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 4.5$ Hz, NH Gli), 7.15 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz, NH 6AHA), 5.20 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.2$ Hz, H-12), 3.70 (2H, dd, $J_1 = 4.5$ Hz, $J_2 = 18.2$ Hz, 2H C-2 Gli), 3.41 (1H, ddd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 10.5$ Hz, $J_3 = 12.2$ Hz, H-2), 2.96 (2H, m, 2H C-6 6AHA), 2.77 (1H, dd, $J_1 = 3.4$ Hz, $J_2 = 12.5$ Hz, H-18), 2.73 (1H, d, $J = 10.5$ Hz, H-3), 2.10 (2H, t, $J = 5.5$ Hz, 2H C-2 6AHA), 1.07, 0.90, 0.87, 0.86, 0.85, 0.69, 0.64 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.03 (C, C-28), 172.63 (C, C-1 6AHA), 171.35 (C, C-1 Gli), 144.19 (C, C-13), 121.27 (CH, C-12), 82.25 (CH, C-3), 67.14 (CH, C-2), 54.77 (CH, C-5), 47.09 (CH, C-9), 46.82 (CH₂, C-1), 46.04 (CH₂, C-19), 45.17 (C, C-17), 41.26 (C, C-14), 41.27 (CH, C-18), 39.10 (C, C-10), 38.93 (C, C-4), 38.89 (CH₂, C-2 Gli), 38.69 (CH₂, C-6 6AHA), 37.62 (C, C-8), 35.03 (CH₂, C-2 6AHA), 33.65 (CH₂, C-21), 32.93 (Me), 32.74 (CH₂, C-7), 32.35 (CH₂, C-22), 30.41 (C, C-20), 28.87 (CH₂, C-5 6AHA), 28.78 (Me), 26.61 (CH₂, C-15), 26.19 (CH₂, C-4 6AHA), 25.70 (Me), 24.89 (CH₂, C-3 6AHA), 23.55 (Me), 23.00 (CH₂, C-16), 22.24 (CH₂, C-11), 18.02 (CH₂, C-6), 17.08 (Me), 16.83 (Me), 16.25 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 735.5285 (C₄₃H₇₂N₂O₆Na, calc. 735.5288).

N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-11-aminoundecanoil]-glicina (113). (85 %)

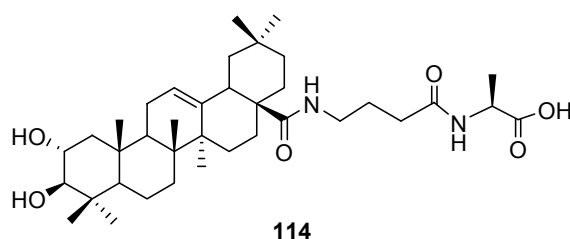


113

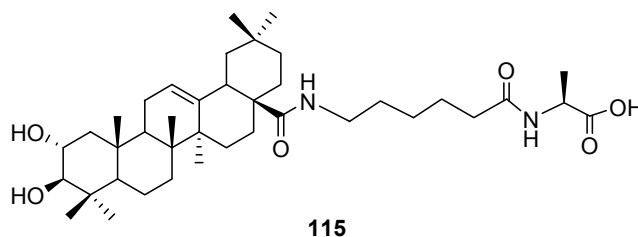
¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8.03 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz, NH Gli), 7.15 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz, NH 11AUA), 5.20 (1H, dd, $J_1 = J_2 = 3.0$ Hz, H-12), 3.69 (2H, dd, $J_1 = 3.9$ Hz, $J_2 = 18.2$ Hz, 2H C-2 Gli), 3.40 (1H, ddd, $J_1 = 4.3$ Hz, $J_2 = 9.3$ Hz, $J_3 = 12.2$ Hz, H-2), 2.97 (2H, m, 2H C-11 11AUA), 2.78 (1H,

dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.06 (2H, t, $J=5.4$ Hz, 2H C-2 11AUA), 1.07, 0.90, 0.87, 0.86, 0.84, 0.68, 0.64 (3H cada uno, Me); ^{13}C RMN (DMSO- d_6): δ 176.02 (C, C-28), 172.49 (C, C-1 11AUA), 171.36 (C, C-1 Gli), 144.25 (C, C-13), 121.22 (CH, C-12), 82.23 (CH, C-3), 67.12 (CH, C-2), 55.74 (CH, C-5), 47.07 (CH, C-9), 46.81 (CH₂, C-1), 46.04 (CH₂, C-19), 45.17 (C, C-17), 41.27 (C, C-14), 40.93 (CH, C-18), 39.10 (C, C-10), 38.93 (C, C-4), 38.73 (CH₂, C-11 11AUA), 38.73 (CH₂, C-2 Gli), 37.61 (C, C-8), 35.05 (CH₂, C-2 11AUA), 33.66 (CH₂, C-21), 32.92 (Me), 32.74 (CH₂, C-7), 32.35 (CH₂, C-22), 30.41 (C, C-20), 29.08 (CH₂, C-10 11AUA), 28.93 (CH₂, 4H, C-6, C-7, 11AUA), 28.88 (CH₂, 4H, C-5, C-8, 11AUA), 28.457 (Me), 28.56 (CH₂, 2H, C4, 11AUA), 26.55 (CH₂, C-15), 25.87 (Me), 25.18 (CH₂, 4H, C-3, C-9, 11AUA), 23.56 (Me), 22.99 (CH₂, C-16), 22.26 (CH₂, C-11), 18.01 (CH₂, C-6), 17.05 (Me), 16.89 (Me), 16.25 (Me); HRMS: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 735.5284 (C₄₃H₇₂N₂O₆Na, calc. 735.5280).

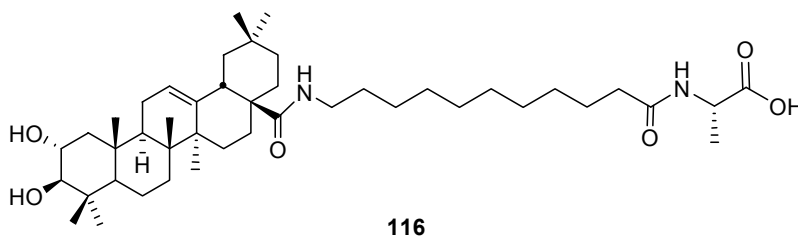
N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-ol)-4-aminobutanoil]-L-alanina (114). (80 %)



^1H RMN (DMSO- d_6): δ 8.06 (1H, d, $J=5.4$ Hz, NH Ala), 7.23 (1H, dd, $J_1=J_2=5.8$ Hz, NH GABA), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 4.17 (1H, dq, $J_1=J_2=5.4$ Hz, 1H C-2 Ala), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.97 (2H, m, 2H C-4 GABA), 2.77 (1H, dd, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H-18), 2.73 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-3), 2.06 (2H, t, $J=5.1$ Hz, 2H C-2 GABA), 1.23 (3H, d, $J=5.4$ Hz, 3H C-3 Ala), 1.06, 0.90, 0.87, 0.86, 0.84, 0.68, 0.63 (3H cada uno, Me); ^{13}C RMN (DMSO- d_6): δ 176.18 (C, C-28), 174.18 (C, C-1 GABA), 171.76 (C, C-1 Ala), 144.13 (C, C-13), 121.29 (CH, C-12), 82.23 (CH, C-3), 67.13 (CH, C-2), 54.76 (CH, C-5), 47.32 (CH, C-2 Ala), 47.09 (CH, C-9), 46.82 (CH₂, C-1), 46.02 (CH₂, C-19), 45.16 (C, C-17), 41.24 (C, C-14), 40.65 (CH, C-18), 38.88 (C, C-10), 38.67 (C, C-4), 38.62 (CH₂, C-4 GABA), 37.62 (C, C-8), 32.93 (CH₂, C-21), 32.75 (Me), 32.71 (CH₂, C-7), 32.65 (CH₂, C-22), 32.31 (CH₂, C-2 GABA), 30.41 (C, C-20), 28.78 (Me), 26.92 (CH₂, C-15), 25.70 (Me), 25.12 (CH₂, C-3 GABA), 23.55 (Me), 23.00 (CH₂, C-16), 22.22 (CH₂, C-11), 18.01 (CH₂, C-6), 17.02 (Me, C-3 Ala), 17.09 (Me), 16.82 (Me), 16.23 (Me); HRMS: m/z $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 651.4350 (C₃₇H₆₀N₂O₆Na, calc. 651.4349).

N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-6-aminohexanoil]-L-alanina (115). (75 %)

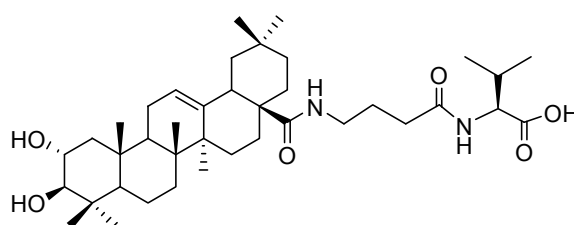
¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8.00 (1H, d, $J=5.1$ Hz, NH Ala), 7.16 (1H, dd, $J_1=J_2=3.9$ Hz, NH 6AHA), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 4.18 (1H, dq, $J_1=J_2=5.1$ Hz, 1H C-2 Ala), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.97 (2H, m, 2H C-6 6AHA), 2.77 (1H, dd, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H-18), 2.73 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-3), 2.06 (2H, t, $J=5.4$ Hz, 2H C-2 6AHA), 1.22 (3H, d, $J=5.1$ Hz, 3H C-3 Ala), 1.06, 0.90, 0.87, 0.86, 0.84, 0.69, 0.64 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.00 (C, C-28), 174.21 (C, C-1 6AHA), 171.88 (C, C-1 Ala), 144.17 (C, C-13), 121.26 (CH, C-12), 82.22 (CH, C-3), 67.12 (CH, C-2), 54.77 (CH, C-5), 47.30 (CH, C-2 Ala), 47.10 (CH, C-9), 46.83 (CH₂, C-1), 46.06 (CH₂, C-19), 45.14 (C, C-17), 41.25 (C, C-14), 41.10 (CH, C-18), 39.10 (C, C-10), 38.89 (C, C-4), 38.72 (CH₂, C-6 6AHA), 37.60 (C, C-8), 34.98 (CH₂, C-2 6AHA), 33.66 (CH₂, C-21), 32.94 (Me), 32.75 (CH₂, C-7), 32.36 (CH₂, C-22), 30.39 (C, C-20), 28.90 (CH₂, C-5 6AHA), 28.79 (Me), 26.91 (CH₂, C-15), 26.22 (CH₂, C-4 6AHA), 25.69 (Me), 24.91 (CH₂, C-3 6AHA), 23.56 (Me), 23.02 (CH₂, C-16), 22.25 (CH₂, C-11), 18.03 (CH₂, C-6), 17.20 (Me, C-3 Ala), 17.08 (Me), 16.83 (Me), 16.27 (Me); **HRMS**: m/z $[M+Na]^+$ 679.4671 (C₃₉H₆₄N₂O₆Na, calc. 679.4662).

N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-11-aminoundecanoil]-L-alanina (116). (80 %)

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.99 (1H, d, $J=5.7$ Hz, NH Ala), 7.15 (1H, dd, $J_1=J_2=3.6$ Hz, NH 11AUA), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.0$ Hz, H-12), 4.19 (1H, dq, $J_1=J_2=5.7$ Hz, 1H C-2 Ala), 3.40 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=9.3$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 2.97 (2H, m, 2H C-11 11AUA), 2.78 (1H, dd, $J_1=3.6$ Hz, $J_2=13.7$ Hz, H-18), 2.72 (1H, d, $J=9.3$ Hz, H-3), 2.06 (2H, t, $J=5.7$ Hz, 2H C-2 11AUA), 1.22 (3H, d, $J=5.1$ Hz, 3H C-3 Ala), 1.07, 0.90, 0.88, 0.87, 0.85, 0.68, 0.65 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.01 (C, C-28), 174.21 (C, C-1 11AUA), 171.93 (C, C-1 Ala), 144.22 (C, C-

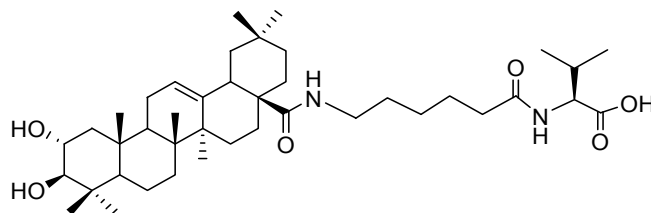
13), 121.22 (CH, C-12), 82.22 (CH, C-3), 67.12 (CH, C-2), 54.75 (CH, C-5), 47.43 (CH, C-2 Ala), 47.32 (CH, C-9), 46.86 (CH₂, C-1), 46.10 (CH₂, C-19), 45.16 (C, C-17), 41.25 (C, C-14), 40.89 (CH, C-18), 39.23 (C, C-10), 39.09 (C, C-4), 38.88 (CH₂, C-11 11AUA), 37.60 (C, C-8), 35.05 (CH₂, C-2 11AUA), 33.72 (CH₂, C-21), 32.98 (Me), 32.70 (CH₂, C-7), 32.41 (CH₂, C-22), 30.39 (C, C-20), 29.13 (CH₂, C-10 11AUA), 29.00 (CH₂, 4H, C-6, C-7, 11AUA), 28.93 (CH₂, 4H, C-5, C-8, 11AUA), 28.82 (Me), 28.71 (CH₂, 2H, C4, 11AUA), 26.95 (CH₂, C-15), 26.95 (CH₂, 2H, C-9, 11AUA), 26.70 (CH₂, 2H, C-3, 11AUA), 25.72 (Me), 23.60 (Me), 23.06 (CH₂, C-16), 22.31 (CH₂, C-11), 18.06 (CH₂, C-6), 17.24 (Me, C-3 Ala), 17.09 (Me), 16.92 (Me), 16.29 (Me). **HRMS**: *m/z* [M+Na]⁺ 749.5440 (C₄₄H₇₄N₂O₆Na, calc. 749.5444).

N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-4-aminobutanoil]-L-valina (117). (85 %)



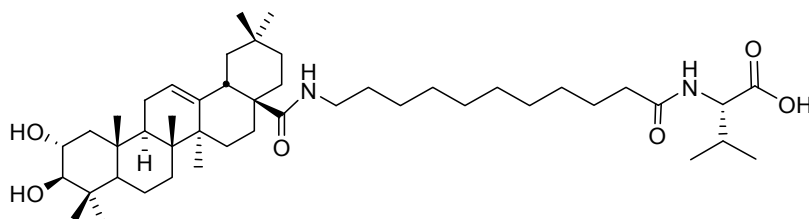
117

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.92 (1H, d, $J=6.3$ Hz, NH Val), 7.24 (1H, dd, $J_1=J_2=3.9$ Hz, NH GABA), 5.20 (1H, dd, $J_1=J_2=3.2$ Hz, H-12), 4.14 (1H, dd, $J_1=4.5$ Hz, $J_2=6.3$ Hz, 1H C-2 Val), 3.41 (1H, ddd, $J_1=4.3$ Hz, $J_2=10.5$ Hz, $J_3=12.2$ Hz, H-2), 3.00 (2H, m, 2H C-4 GABA), 2.77 (1H, dd, $J_1=3.4$ Hz, $J_2=12.5$ Hz, H-18), 2.73 (1H, d, $J=10.5$ Hz, H-3), 1.98-2.10 (2H, m, 1H C-3 Val y 1H C-2 GABA), 0.86 (6H, d, $J=4.5$ Hz, 6H C-4 y C-5 Val), 1.07, 0.90, 0.88, 0.86, 0.85, 0.68, 0.63 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.19 (C, C-28), 173.08 (C, C-1 GABA), 172.28 (C, C-1 Val), 144.13 (C, C-13), 121.27 (CH, C-12), 82.23 (CH, C-3), 67.12 (CH, C-2), 56.96 (CH, C-2 Val), 54.73 (CH, C-5), 47.33 (CH, C-9), 47.08 (CH₂, C-1), 46.23 (CH₂, C-19), 45.15 (C, C-17), 41.24 (C, C-14), 40.93 (CH, C-18), 39.30 (C, C-10), 38.95 (CH₂, C-4 GABA), 38.88 (C, C-4), 37.60 (C, C-8), 33.63 (CH₂, C-21), 32.91 (Me), 32.79 (CH₂, C-7), 32.74 (CH₂, C-22), 32.31 (CH₂, C-2 GABA), 30.41 (C, C-20), 29.83 (CH, C-3 Val), 28.77 (Me), 26.90 (CH₂, C-15), 25.67 (Me), 25.46 (CH₂, C-3 GABA), 23.54 (Me), 22.98 (CH₂, C-16), 22.21 (CH₂, C-11), 19.12 (2Me, C-4, C-5 Val), 17.97 (CH₂, C-6), 17.07 (Me), 16.85 (Me), 16.25 (Me); **HRMS**: *m/z* [M+Na]⁺ 679.4666 (C₃₉H₆₄N₂O₆Na, calc. 679.4662).

N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-6-aminohexanoil]-L-valina (118). (90 %)

118

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.86 (1H, d, J =6.3 Hz, NH Val), 7.17 (1H, dd, J_1 = J_2 =3.9 Hz, NH GABA), 5.21 (1H, dd, J_1 = J_2 =3.2 Hz, H-12), 4.14 (1H, dd, J_1 =4.5 Hz, J_2 =6.3 Hz, 1H C-2 Val), 3.41 (1H, ddd, J_1 =4.3 Hz, J_2 =10.5 Hz, J_3 =12.2 Hz, H-2), 2.96 (2H, m, 2H C-6 6AHA), 2.77 (1H, dd, J_1 =3.4 Hz, J_2 =12.5 Hz, H-18), 2.73 (1H, d, J =10.5 Hz, H-3), 2.00-2.20 (2H, m, 1H C-3 Val y 1H C-2 6AHA), 0.86 (6H, d, J =4.5 Hz, 6H C-4 y C-5 Val), 1.08, 0.91, 0.88, 0.86, 0.86, 0.69, 0.65 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.10 (C, C-28), 173.12 (C, C-1 6AHA), 172.39 (C, C-1 Val), 144.19 (C, C-13), 121.23 (CH, C-12), 82.23 (CH, C-3), 67.12 (CH, C-2), 56.94 (CH, C-2 Val), 54.75 (CH, C-5), 47.09 (CH, C-9), 46.83 (CH₂, C-1), 46.04 (CH₂, C-19), 45.14 (C, C-17), 41.25 (C, C-14), 40.42 (CH, C-18), 39.09 (C, C-10), 38.91 (C, C-4), 38.70 (CH₂, C-6 6AHA), 37.60 (C, C-8), 34.94 (CH₂, C-2 6AHA), 33.62 (CH₂, C-21), 32.93 (Me), 32.74 (CH₂, C-7), 32.35 (CH₂, C-22), 30.39 (C, C-20), 29.83 (CH, C-3 Val), 28.87 (CH₂, C-5 6AHA), 28.79 (Me), 26.90 (CH₂, C-15), 26.23 (CH₂, C-4 6AHA), 25.68 (Me), 25.13 (CH₂, C-3 6AHA), 23.56 (Me), 23.00 (CH₂, C-16), 22.25 (CH₂, C-11), 19.14 (2Me, C-4, C-5 Val), 18.04 (CH₂, C-6), 17.08 (Me), 16.84 (Me), 16.26 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 707.4977 (C₄₁H₆₈N₂O₆Na, calc. 707.4975).

N'-[N-(2 α ,3 β -dihidroxi-12-oleanen-28-oil)-11-aminoundecanoil]-L-valina (119). (90 %)

119

¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7.84 (1H, d, J =6.0 Hz, NH Val), 7.15 (1H, dd, J_1 = J_2 =3.9 Hz, NH 11AUA), 5.20 (1H, dd, J_1 = J_2 =3.2 Hz, H-12), 4.12 (1H, dd, J_1 =4.5 Hz, J_2 =6.0 Hz, 1H C-2 Val), 3.41 (1H, ddd, J_1 =4.3 Hz, J_2 =10.5 Hz, J_3 =12.2 Hz, H-2), 2.92 (2H, m, 2H C-11 11AUA), 2.77 (1H, dd, J_1 =3.4 Hz, J_2 =12.5 Hz, H-18), 2.73 (1H, d, J =10.5 Hz, H-3), 2.13 (1H, dq, J_1 =4.5 Hz, J_2 =6.0 Hz, H-3 Val), 2.06 (2H, t, J =4.8 Hz, 2H C-2 11AUA), 0.87 (6H, d, J =4.5 Hz, 6H C-4 y C-5 Val), 1.06, 0.90, 0.87, 0.86, 0.84, 0.68, 0.63 (3H cada uno, Me); **¹³C RMN** (DMSO-*d*₆): δ 176.03 (C, C-28),

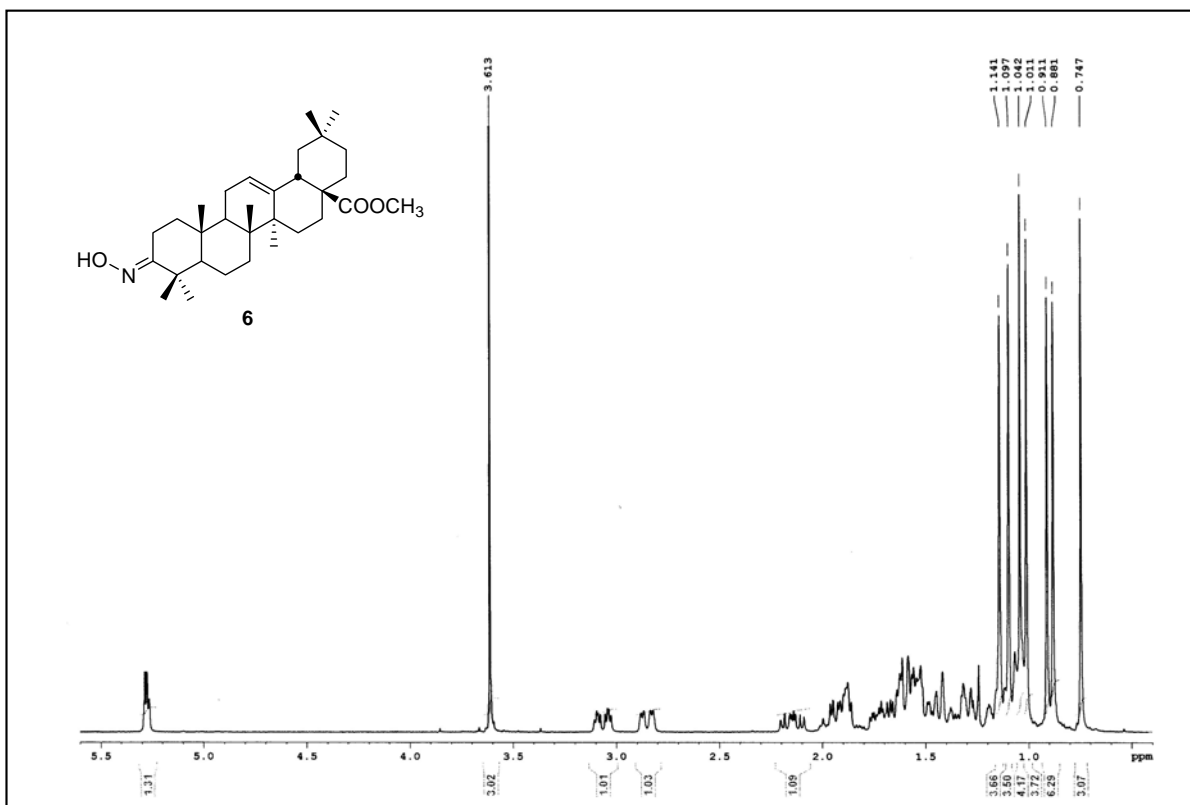
173.16 (C, C-1 11AUA), 172.50 (C, C-1 Val), 144.26 (C, C-13), 121.22 (CH, C-12), 82.24 (CH, C-3), 67.13 (CH, C-2), 56.98 (CH, C-2 Val), 54.75 (CH, C-5), 47.10 (CH, C-9), 46.84 (CH₂, C-1), 46.07 (CH₂, C-19), 45.18 (C, C-17), 41.28 (C, C-14), 40.96 (CH, C-18), 39.23 (C, C-10), 39.09 (C, C-4), 38.84 (CH₂, C-11 11AUA), 37.62 (C, C-8), 34.97 (CH₂, C-2 11AUA), 33.68 (CH₂, C-21), 32.94 (Me), 32.75 (CH₂, C-7), 32.37 (CH₂, C-22), 30.41 (C, C-20), 30.05 (CH₂, C-10 11AUA), 29.96 (CH, C-3 Val), 29.08 (CH₂, C-6, 11AUA), 29.00 (CH₂, C-7, 11AUA), 28.96 (CH₂, C-5, 11AUA), 28.87 (CH₂, 2H, C-8, 11AUA), 28.84 (Me), 28.78 (CH₂, 2H, C4, 11AUA), 26.92 (CH₂, C-15), 26.65 (CH₂, 2H, C-9, 11AUA), 26.40 (CH₂, 2H, C-3, 11AUA), 25.67 (Me), 23.57 (Me), 23.02 (CH₂, C-16), 22.27 (CH₂, C-11), 19.15 (2Me, C-4, C-5 Val), 18.02 (CH₂, C-6), 17.07 (Me), 16.912 (Me), 16.26 (Me); **HRMS**: m/z [M+Na]⁺ 777.5764 (C₄₆H₇₈N₂O₆Na, calc. 777.5757).

CONCLUSIONES

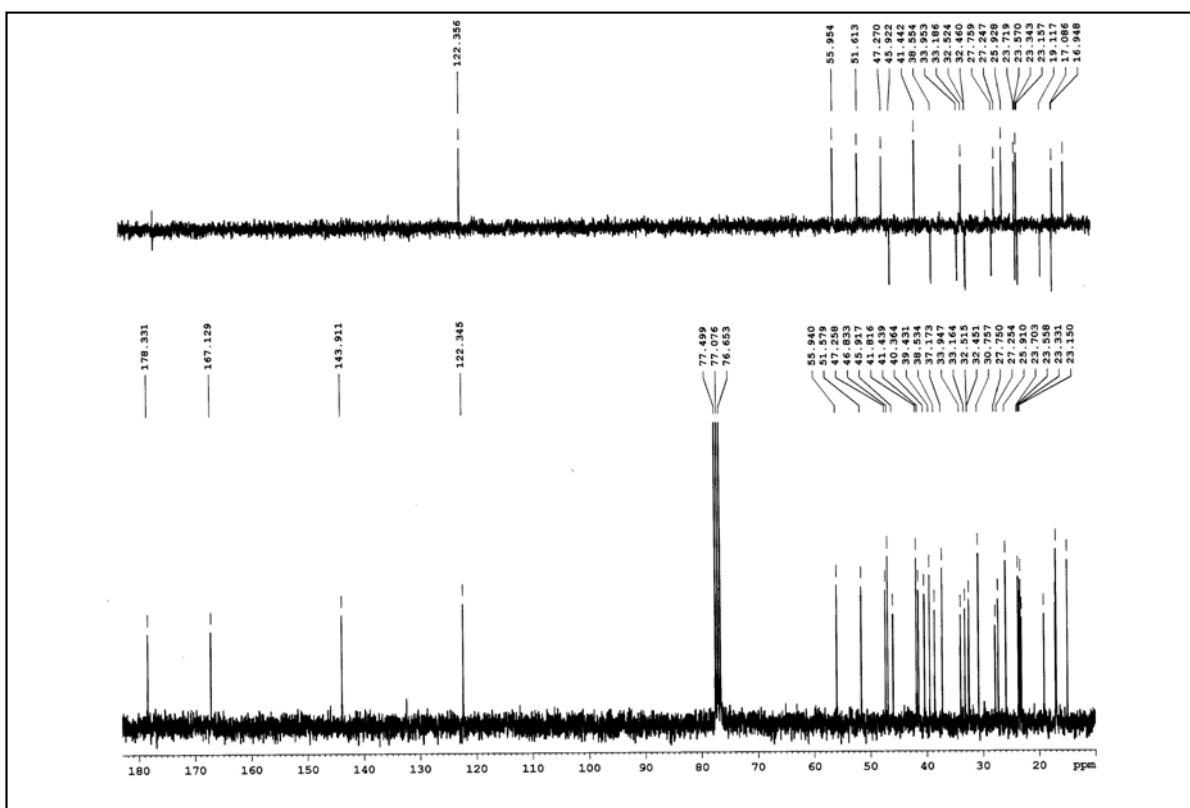
1. La hidroxilación remota llevada a cabo sobre el *gem*-dimetilo de C-4 tanto de ácido oleanólico como de ácido maslínico mediante ciclopaladación conlleva reactividades diferentes, ya que en AO se funcionaliza el metilo ecuatorial (C-23) y en AM el metilo axial (C-24).
2. Las reactividades diferentes de oleanoato y maslinato de metilo en el proceso de ciclopaladación no es debido al impedimento estérico del grupo situado en C-2 sino que la presencia del sustituyente C-2-OR modifica marcadamente la conformación del anillo A en los compuestos triterpenoides, explicando la regioselectividad en este proceso.
3. La desoxigenación de ácido oleanólico se ha realizado por distintas vías, siendo la reducción radicalaria del derivado tiocarbonilo la que ofrece mejores rendimientos. La desoxigenación del maslinato de metilo a través de derivados xantatos necesita grupos protectores que permitan la reducción selectiva de cada uno de los hidroxilos del anillo A, aunque la desoxigenación a partir del epóxido β entre C-2/C-3, con Cp_2TiCl_2 proporciona mejor resultado.
4. El tratamiento de 12-oleanen-28-oato de metilo con NBS da lugar al correspondiente homodieno, cuyo tratamiento con luz ultravioleta conduce a la apertura fotoquímica de este compuesto obteniéndose un compuesto con tres dobles enlaces conjugados en disposición Z.
5. La ozonólisis del trieno Z da lugar entre otros productos a una *cis*-decalina que contiene los anillos D-E del esqueleto triterpénico y a un sintón monocíclico que presenta el anillo A como tal y el anillo B abierto.
6. Otras oxidaciones llevadas a cabo sobre compuestos epoxidados derivados del trieno Z han proporcionado productos con distintos grado de oxidación pero no se ha dado la fragmentación esperada que permita obtener la *trans*-decalina objetivo.
7. La isomerización química del trieno Z con hexano en presencia de yodo o TFA en tolueno origina el correspondiente trieno en disposición *E*. Si el tratamiento con TFA se realiza en CH_2Cl_2 se forma otro sistema triénico en el que uno de los dobles enlaces se desconjuga y se sitúa entre las posiciones 7 y 8 del anillo B.
8. Los diferentes procesos oxidativos llevados a cabo sobre los distintos trienos condujeron a distintos productos oxidados en los dobles enlaces presentes en la molécula, siendo el doble enlace central menos reactivo y no permitiendo con facilidad la fragmentación de la molécula triterpénica, probablemente como consecuencia de una conformación muy desfavorable.

9. La rotura del trieno con el doble enlace central en disposición *E* mediante NaIO_4 y RuCl_3 permite la fragmentación de la molécula triterpénica por el anillo C originando simultáneamente una *trans*-decalina que contiene los antiguos anillos A-B y una *cis*-decalina con los anillos D-E.
10. La descarboxilación del fragmento monocíclico, que contiene el anillo A, permite la obtención de distintos compuestos olefínicos, sintones muy versátiles tanto por estar relacionado con los esqueletos de triterpenos irregulares monocíclicos y tricíclicos (elengasidiol, achilleol A y B, camelliol A y C y mokupalida) como por ser utilizado en síntesis de (+)-(4*R*)-manoalida, ambrox[®], (±)-confertiofolina, (±)-isodrimenina y α-ambrinol.
11. Se ha abordado también la reactividad de la *trans*-decalina que contiene los anillos A-B permitiendo aproximarse a la síntesis de (-)-warburganal y ambrox[®]. Mientras, la reactividad de los productos degradados provenientes de los anillos D-E ha permitido la aproximación hacia el precursor bicíclico común de los compuestos camelliol A y B, triterpenos tetracíclicos (*seco*-C-oleanano) y bicíclicos (preoleanatetraeno).
12. Se ha optimizado la incorporación en fase sólida de los triterpenos pentacíclicos bajo estudio en la síntesis de los análogos de KF. Además, como en las condiciones de desprotección de los grupos protectores de las cadenas laterales de la ornitina y treonina (Boc y *t*Bu, respectivamente) estos triterpenos no son estables, se ha incorporado treonina sin proteger y ornitina protegida con el grupo *p*NZ.
13. Se ha desarrollado la síntesis de una pequeña biblioteca en fase sólida de derivados de ácido maslínico que contienen distinto tipo de fragmentos aminoácidos con la intención de proporcionar compuestos más activos y además incrementar la solubilidad del compuesto de partida.
14. Los ensayos biológicos de maslinato sódico sobre melanoma murino B-16 utilizando citometría de flujo con doble tinción de anexina-V y yoduro de propidio permite comprobar que la muerte de las células cancerígenas se lleva a cabo a través de un mecanismo apoptótico con unos rendimientos muy satisfactorios para concentraciones de 20 μM

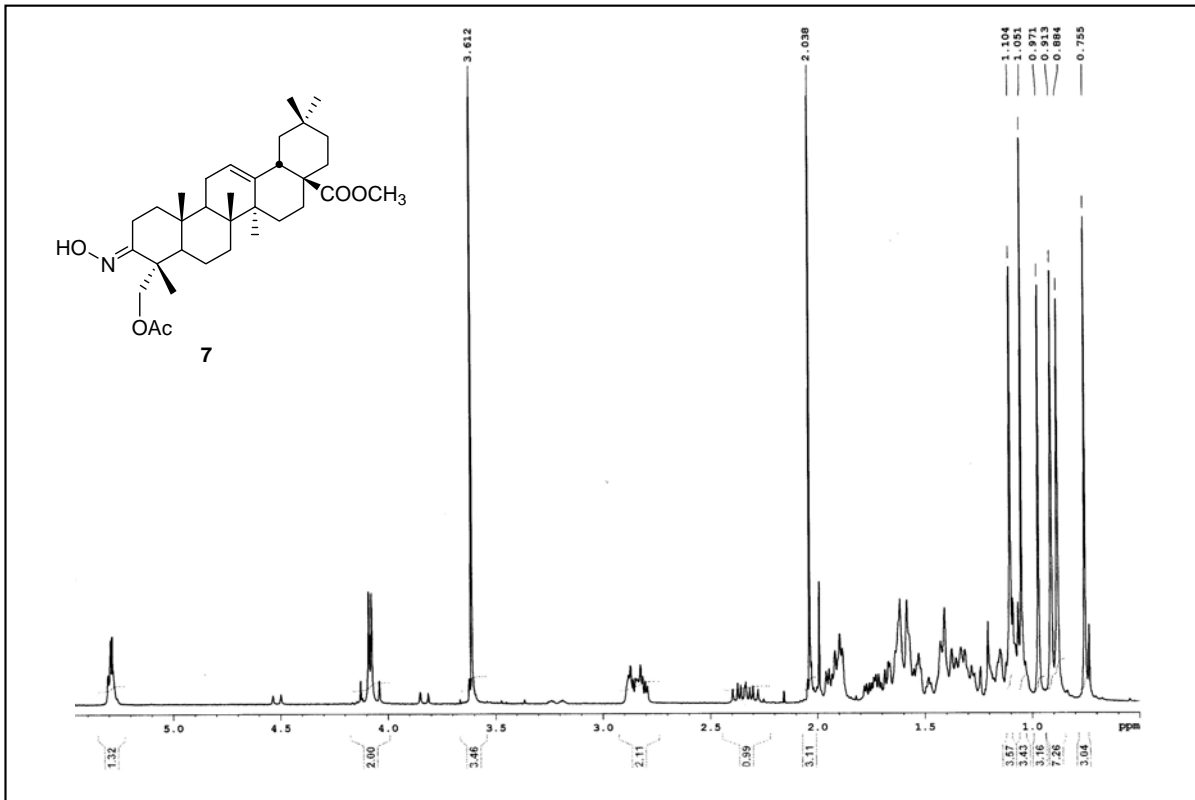
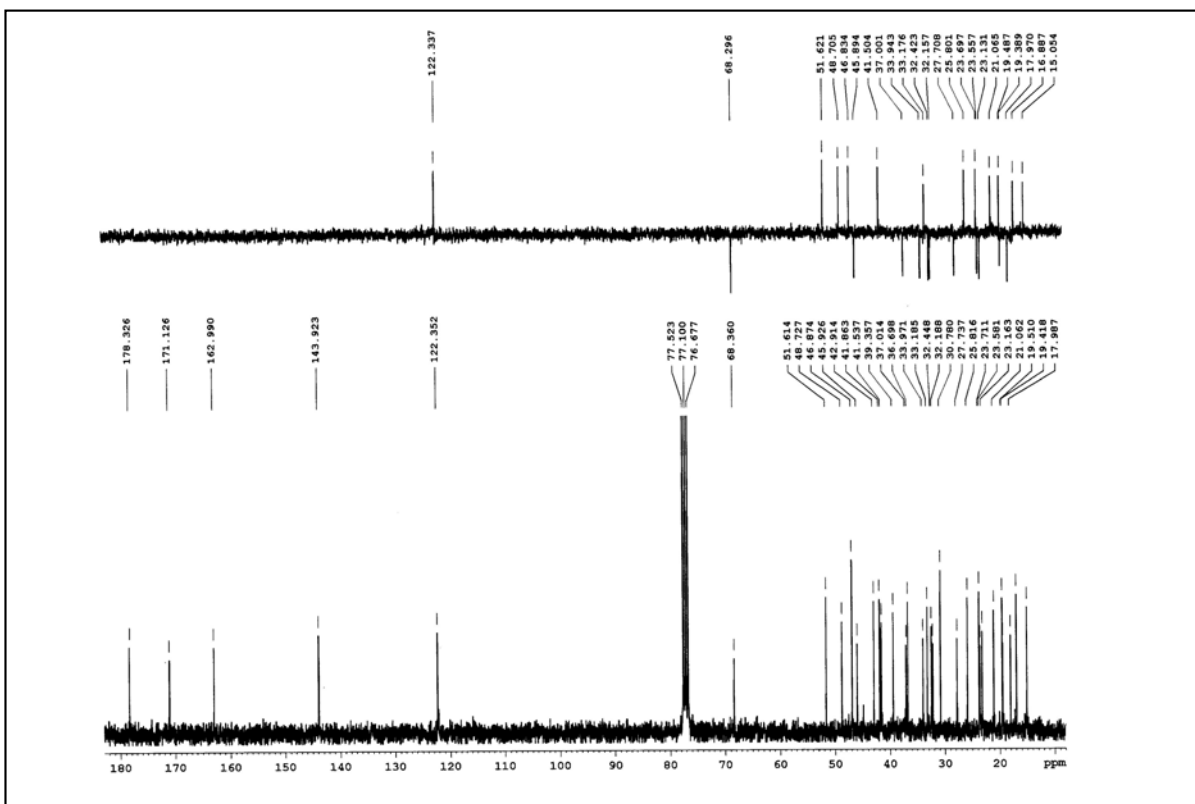
ESPECTROS

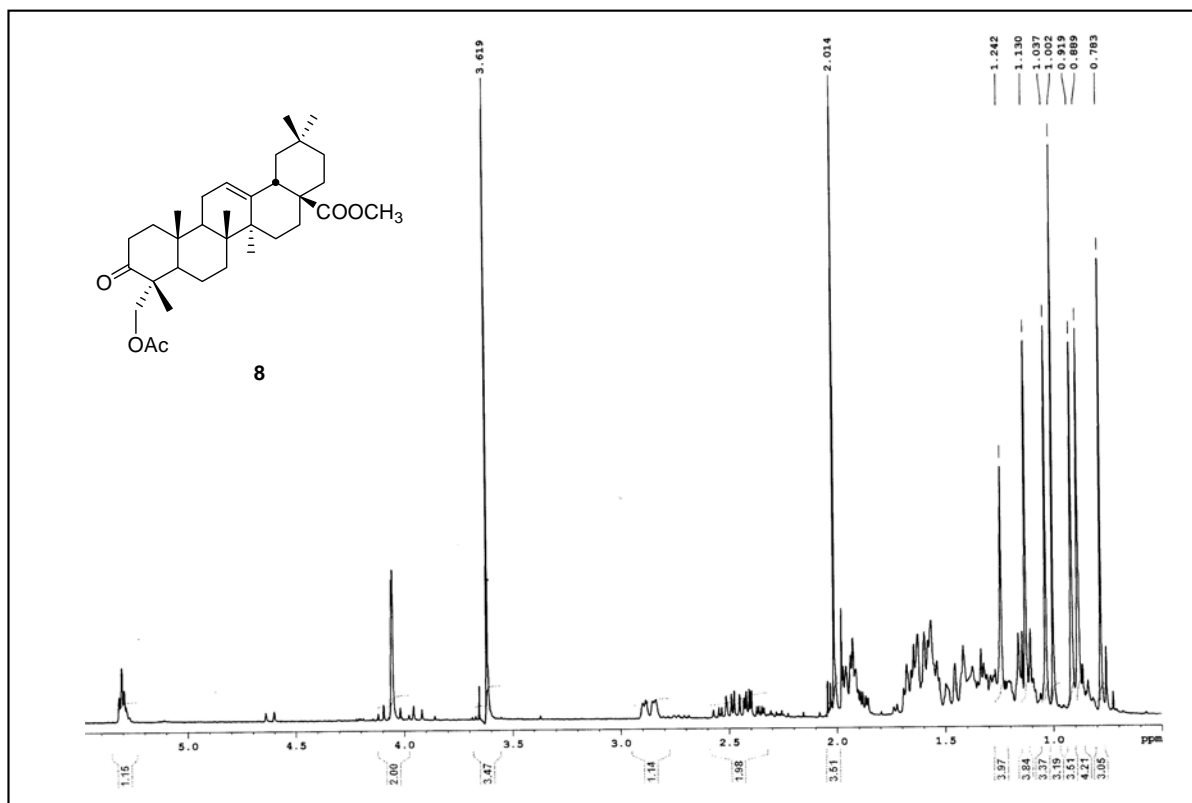


Espectro de ¹H RMN del compuesto 6

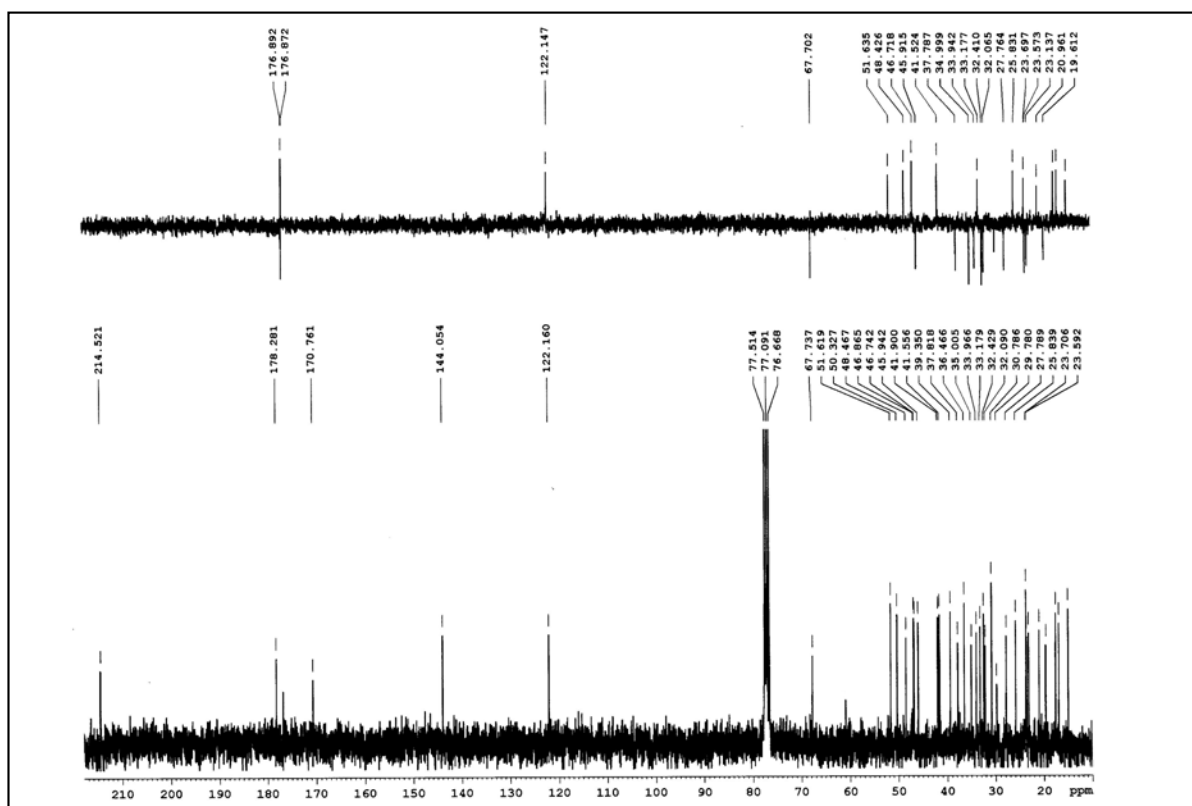


Espectro de ¹³C RMN del compuesto 6

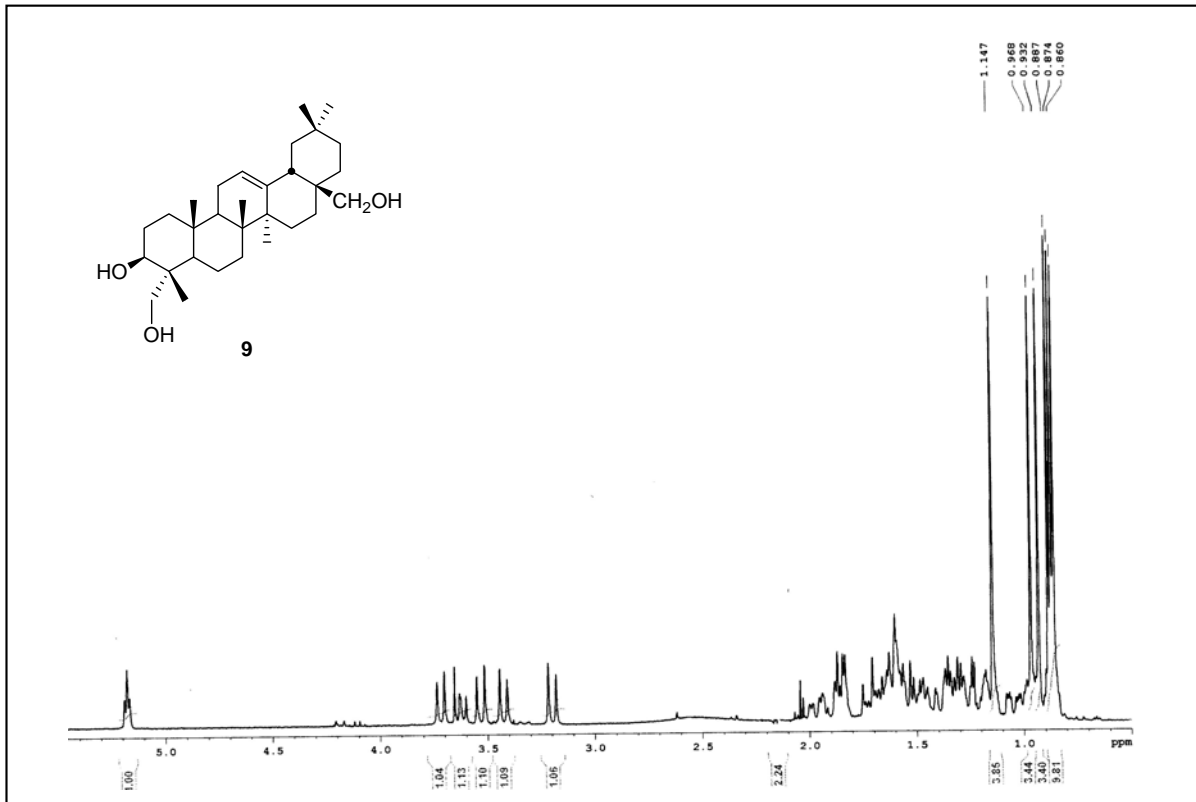
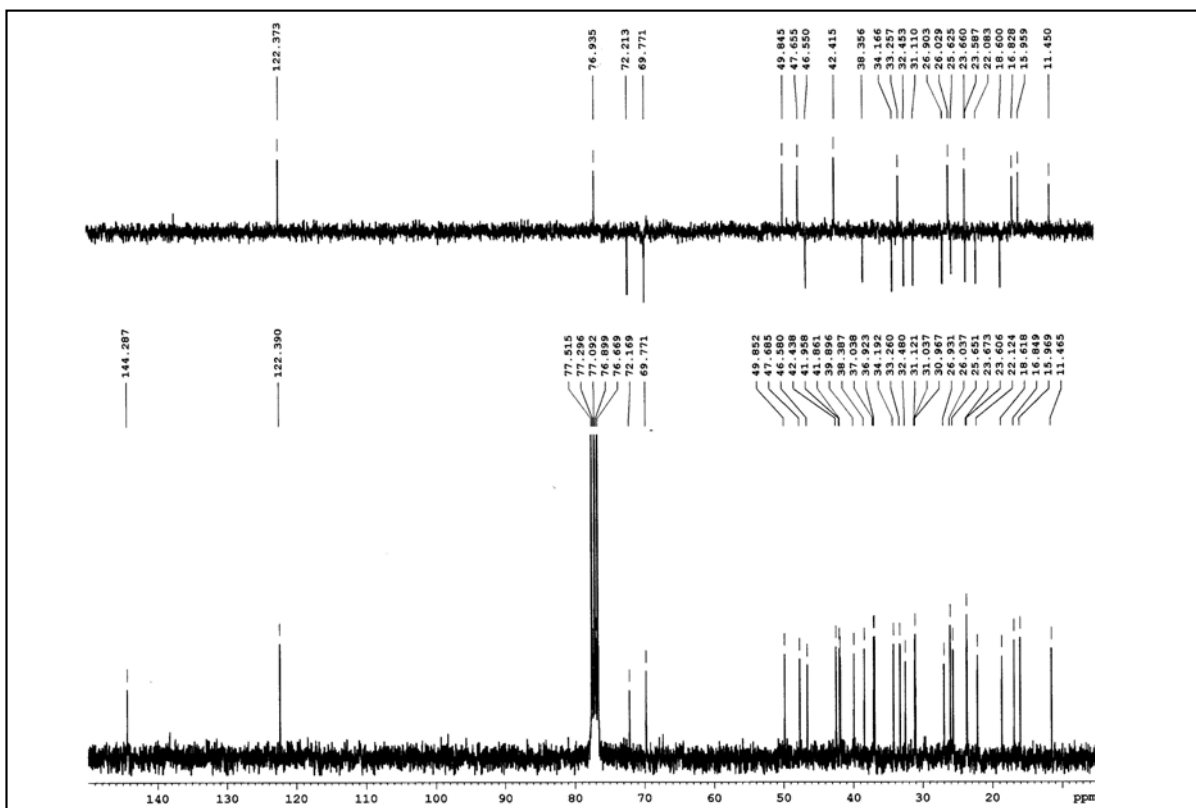
Espectro de ^1H RMN del compuesto 7Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 7

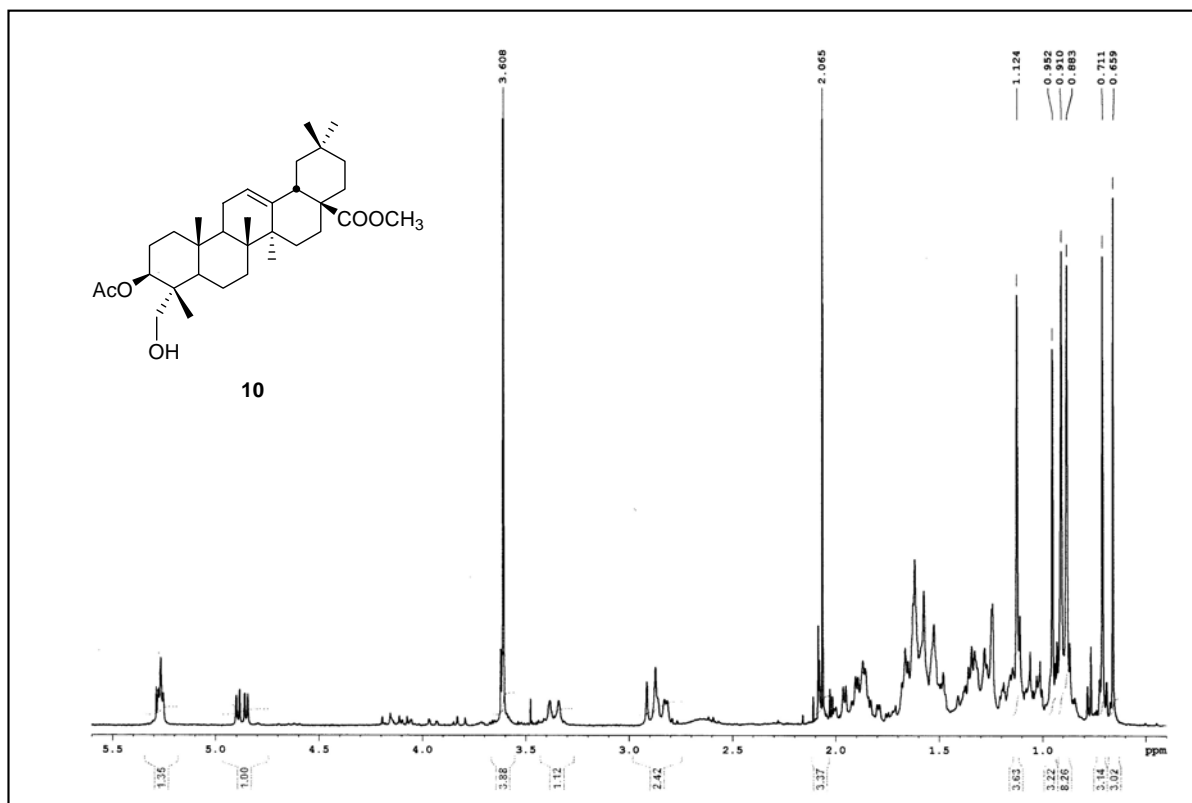
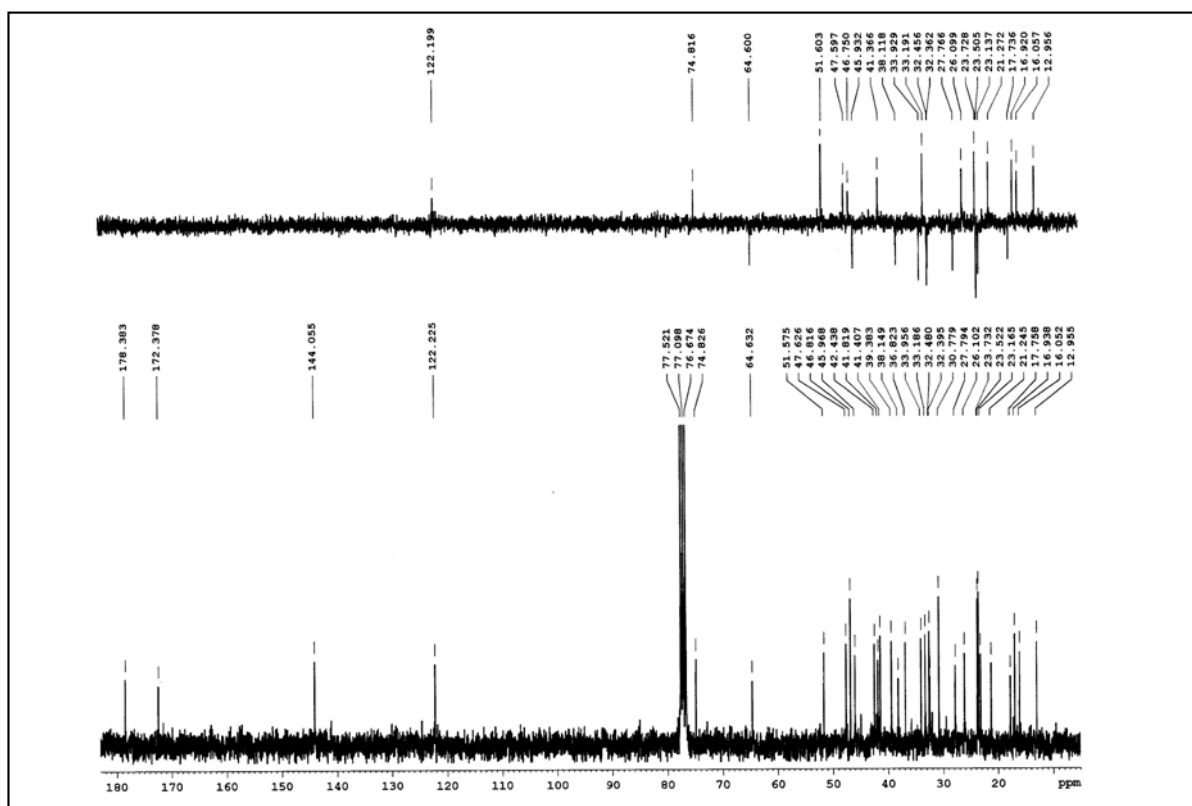


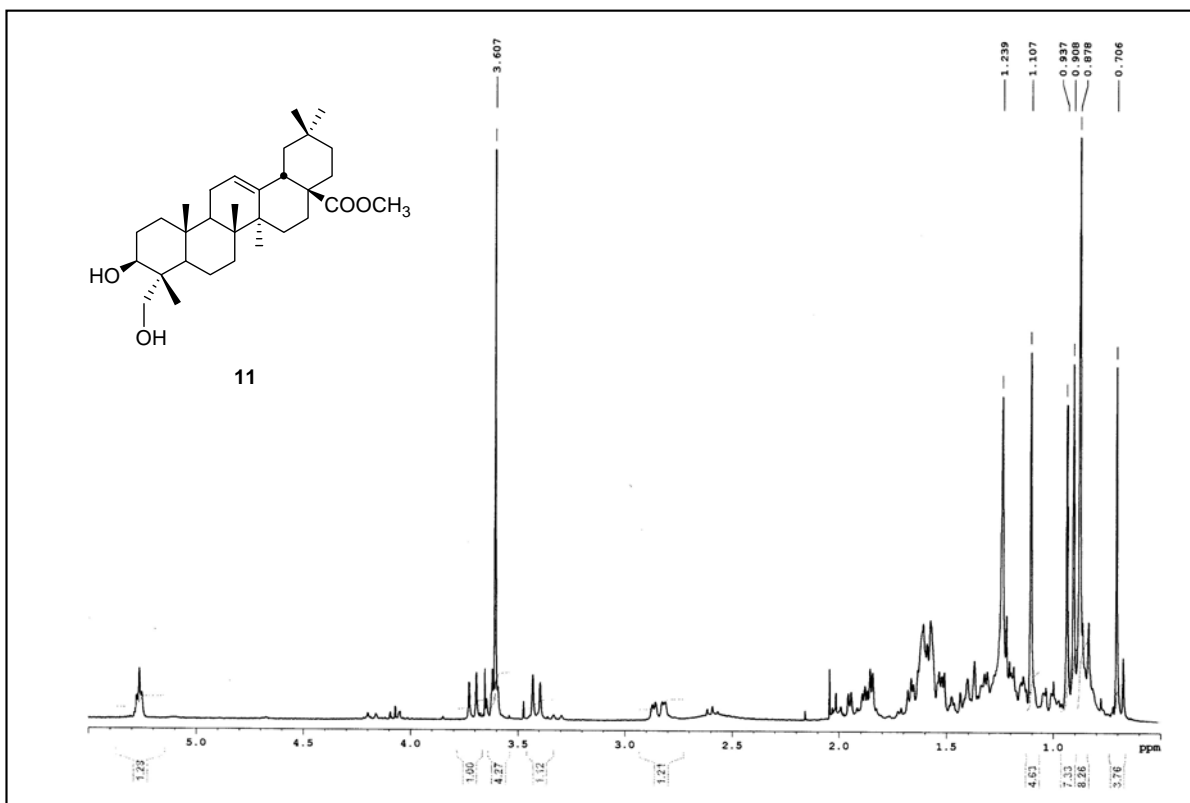
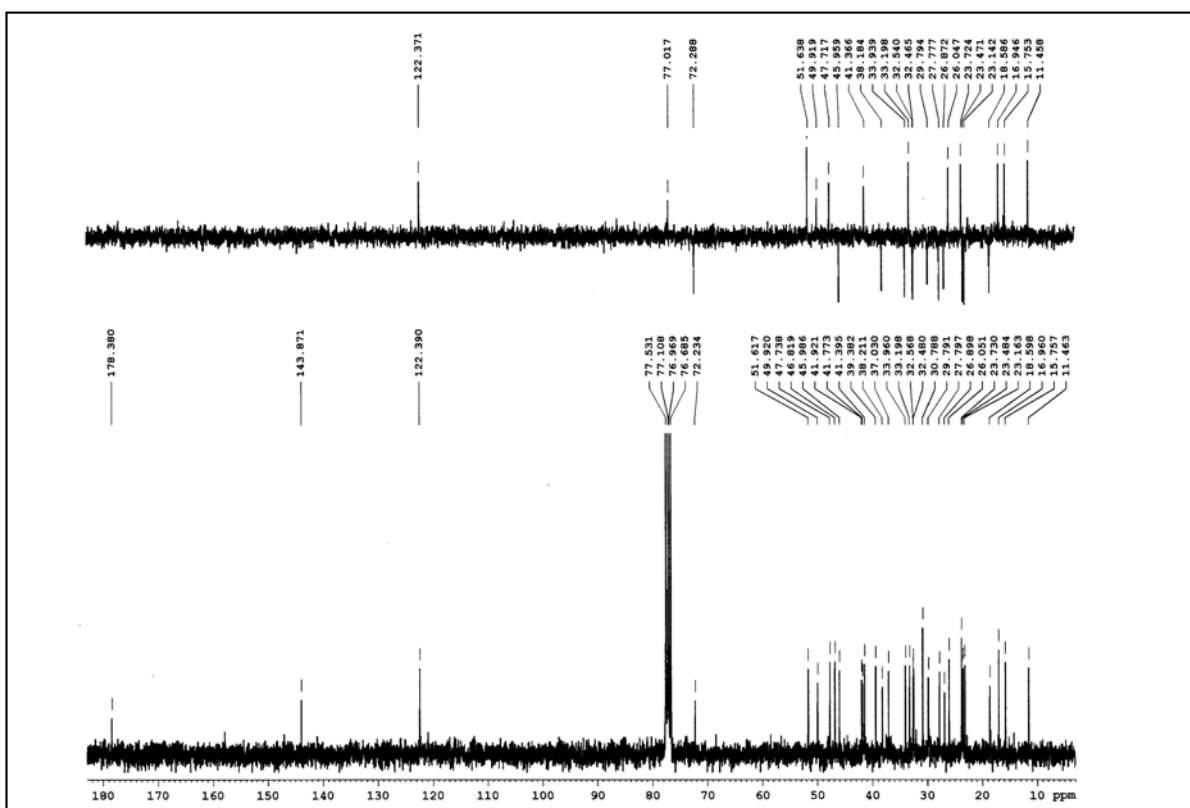
Espectro de ¹H RMN del compuesto 8

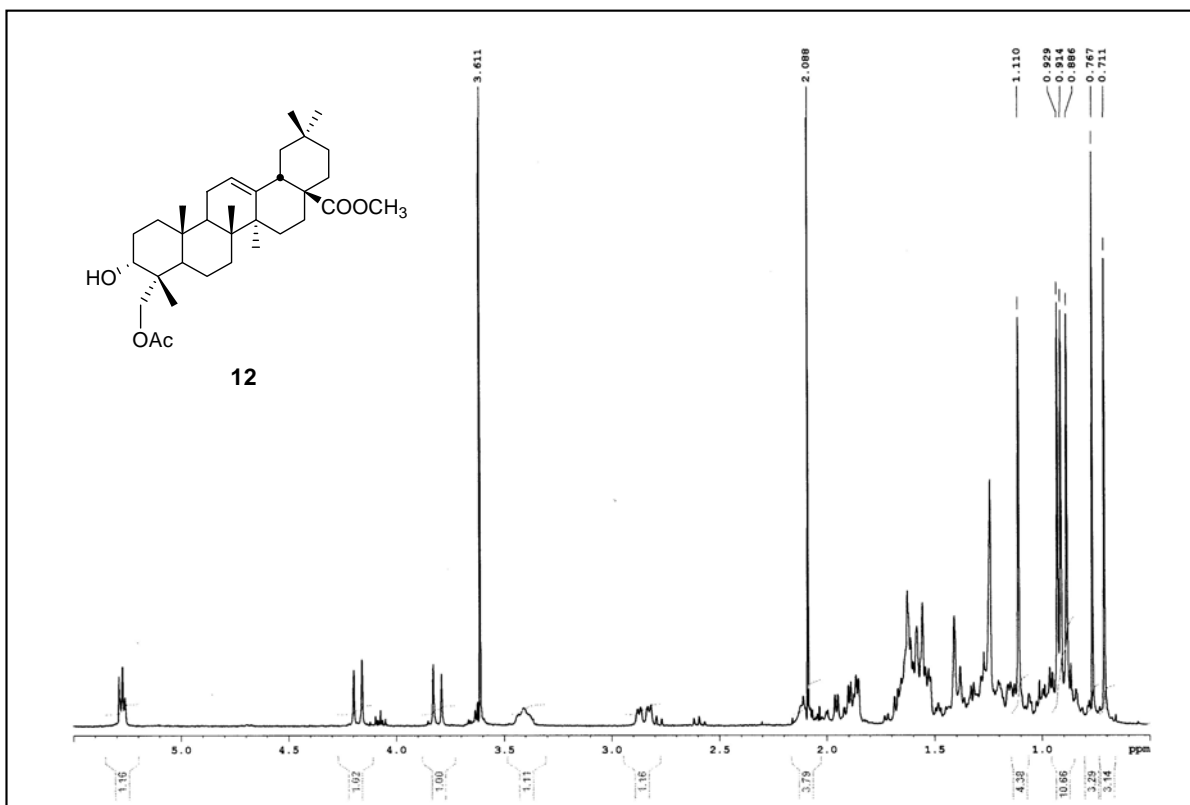


Espectro de ¹³C RMN del compuesto 8

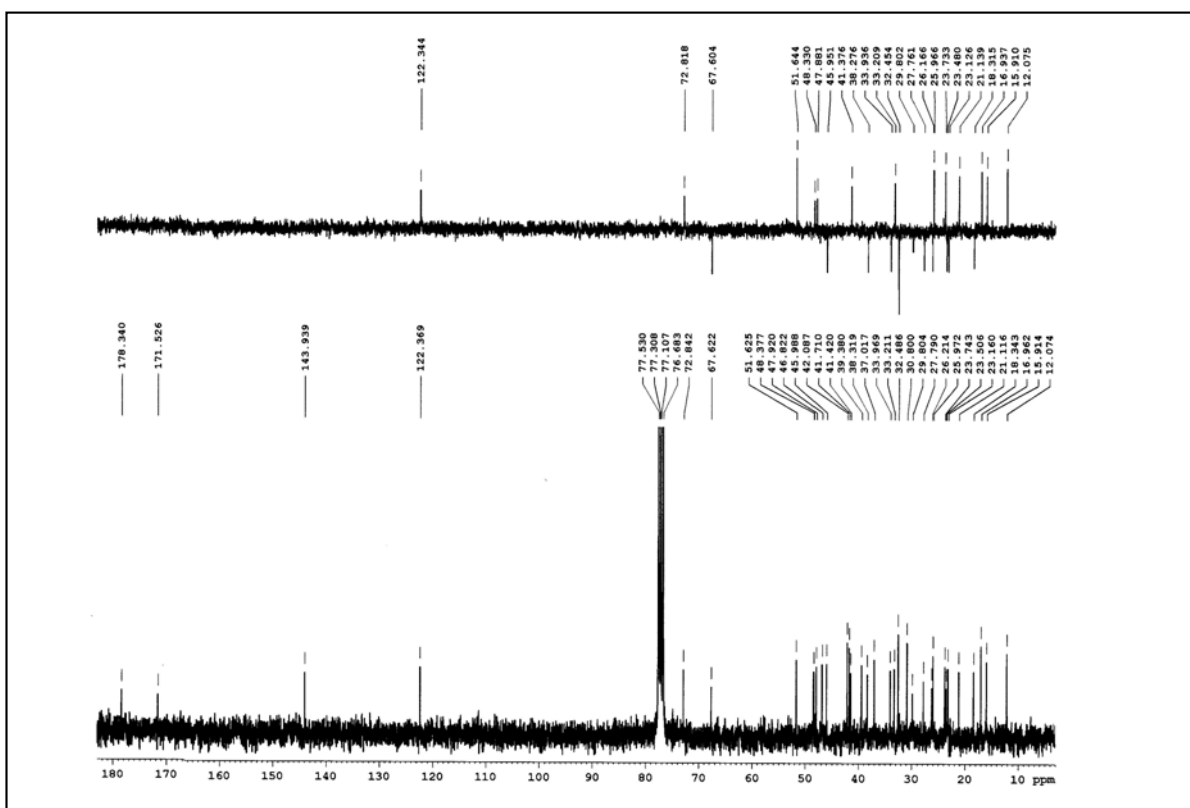
Espectro de ^1H RMN del compuesto 9Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 9

Espectro de ^1H RMN del compuesto 10Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 10

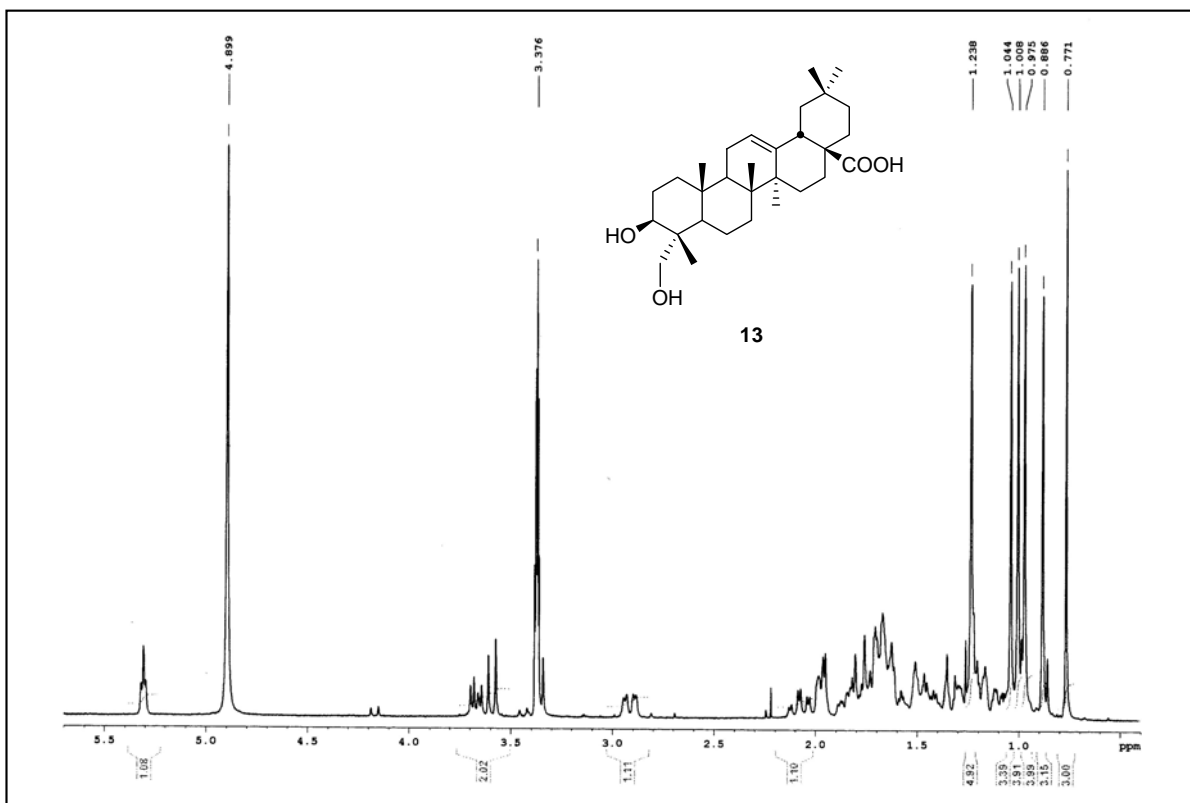
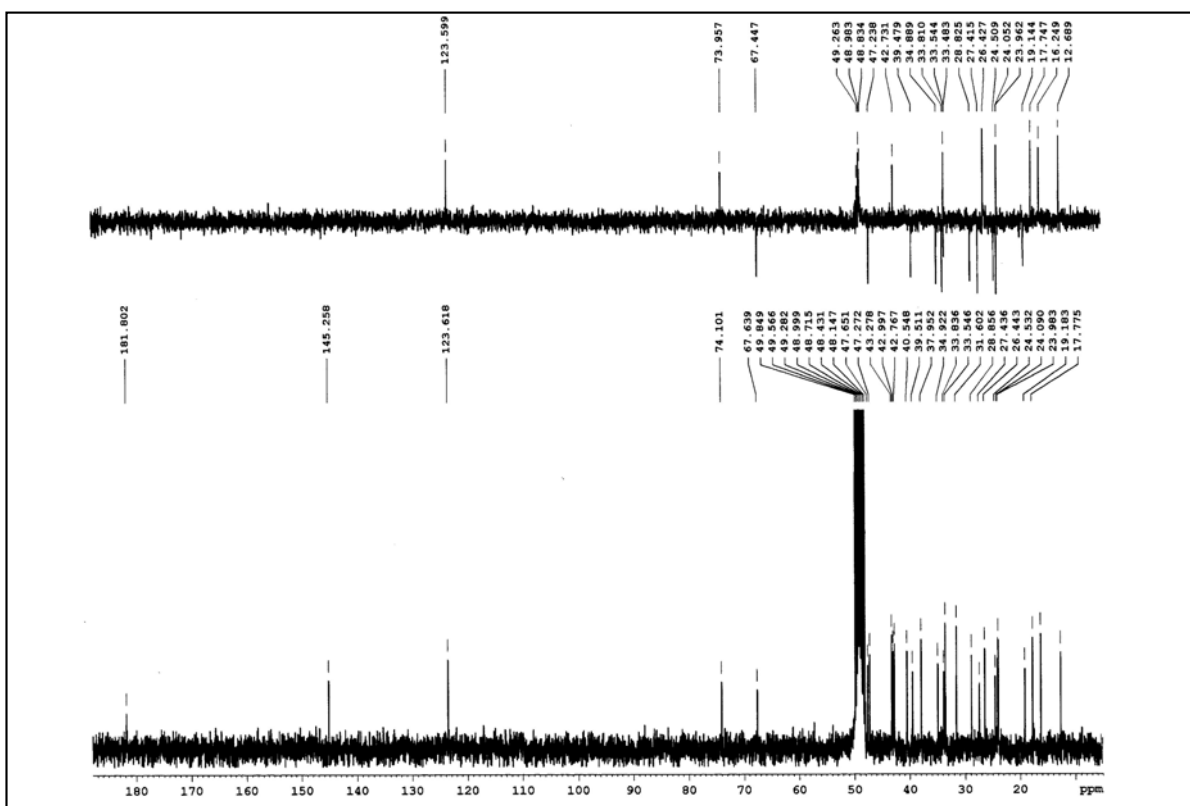
Espectro de ^1H RMN del compuesto 11Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 11

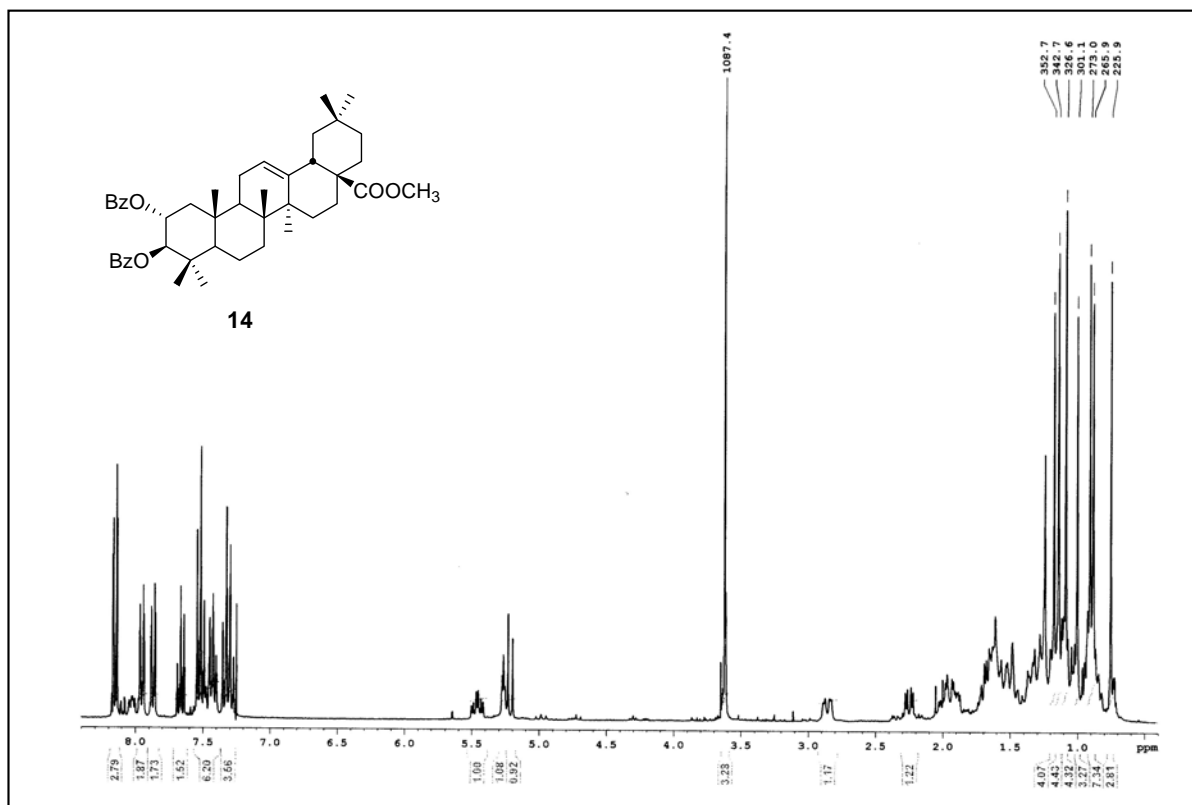


Espectro de ¹H RMN del compuesto 12

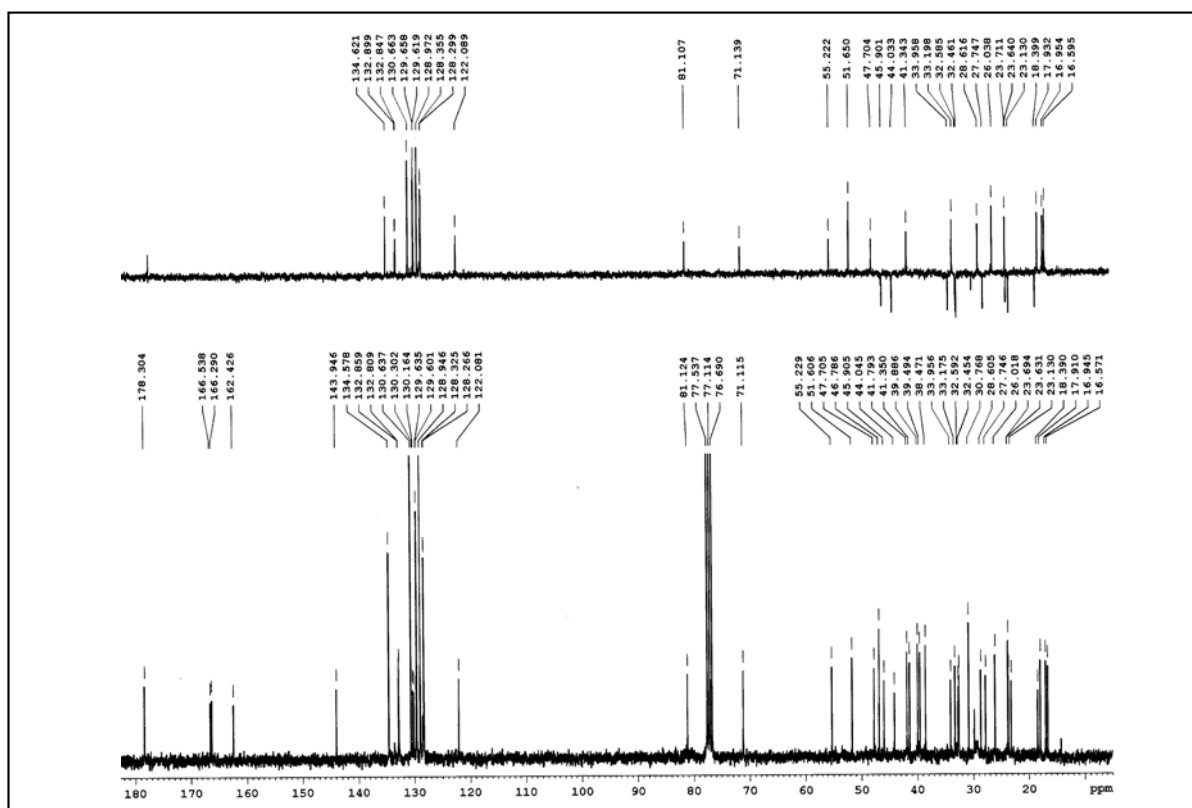


Espectro de ¹³C RMN del compuesto 12

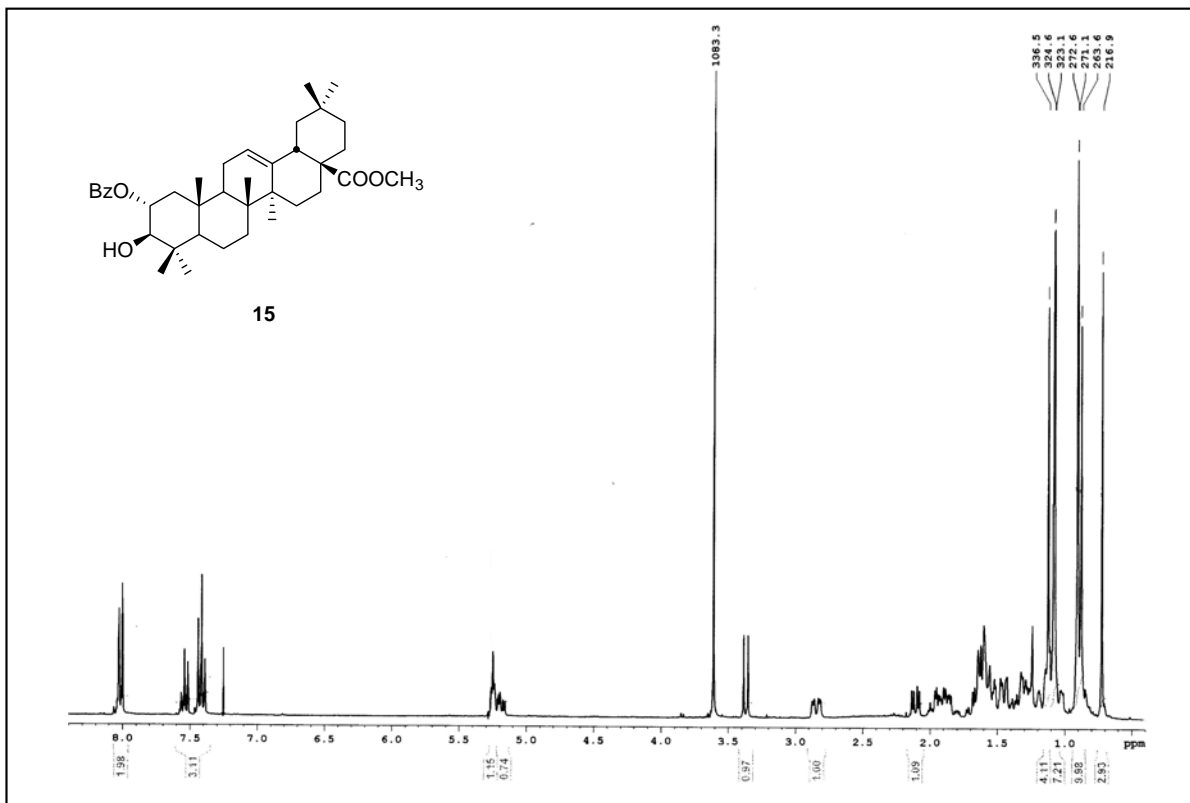
Espectro de ^1H RMN del compuesto 13Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 13



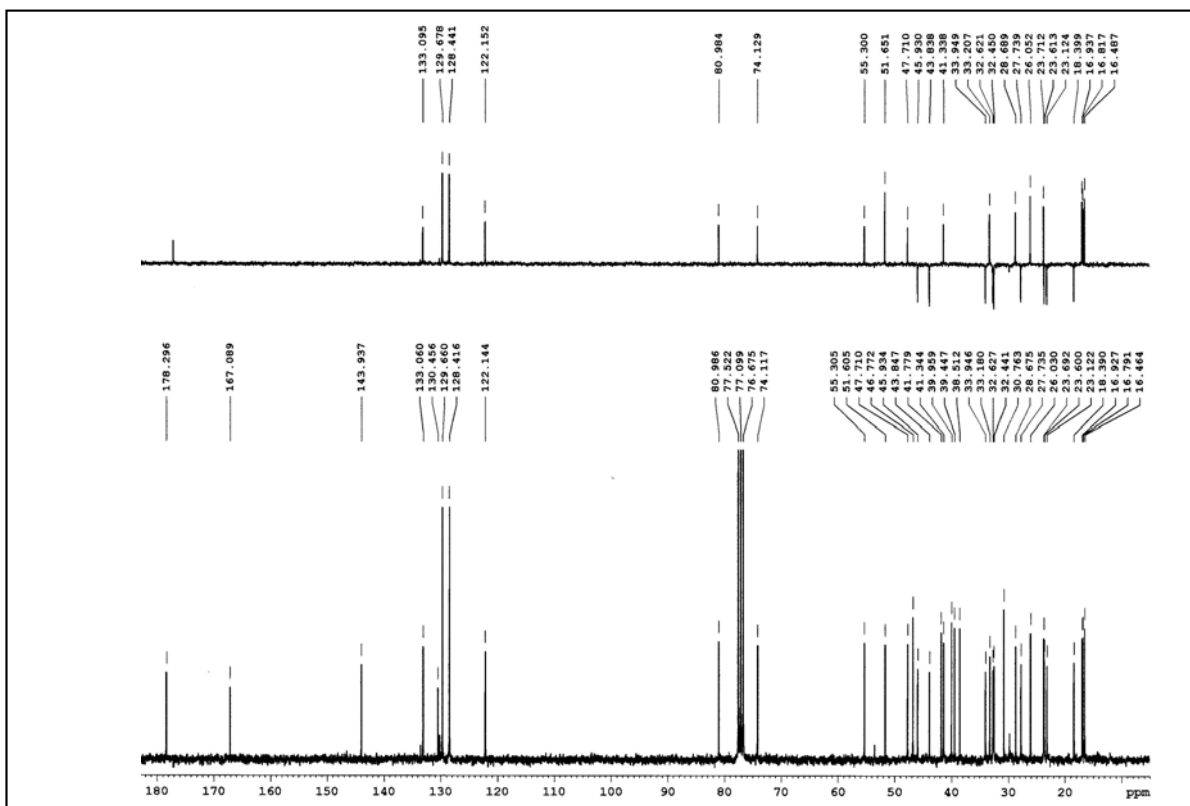
Espectro de ¹H RMN del compuesto 14



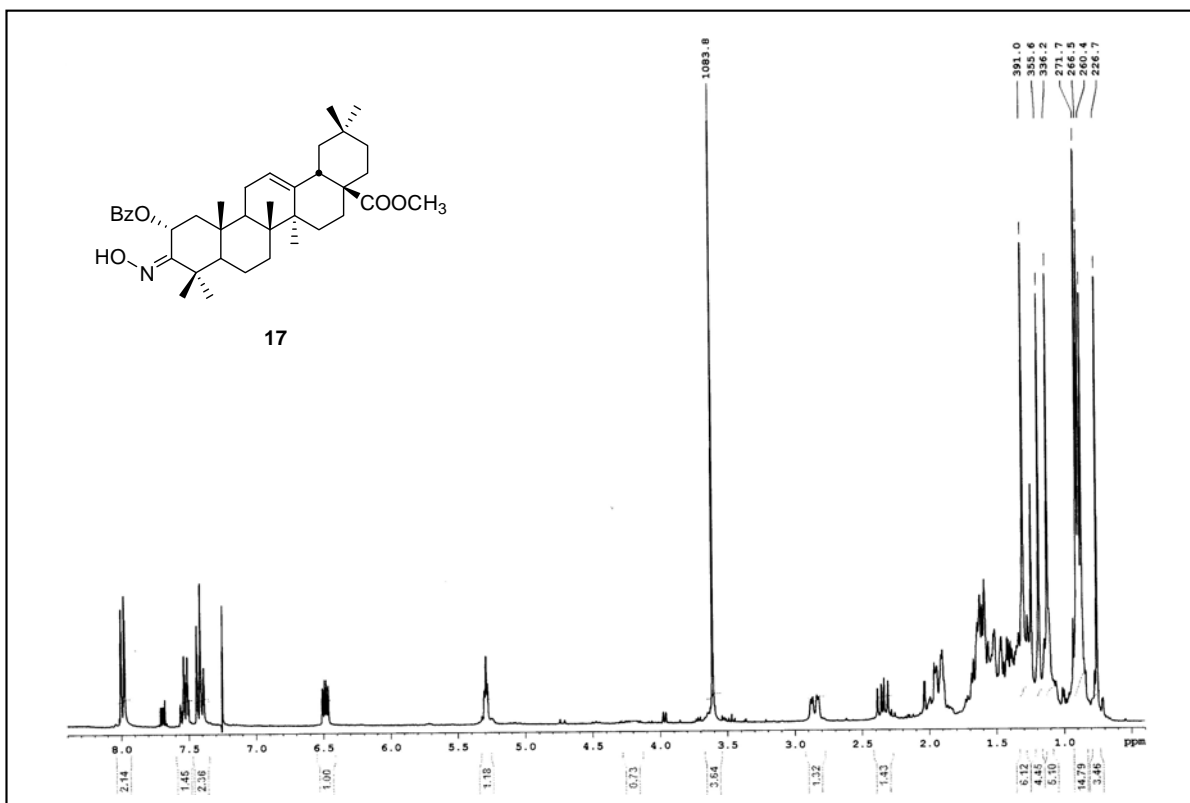
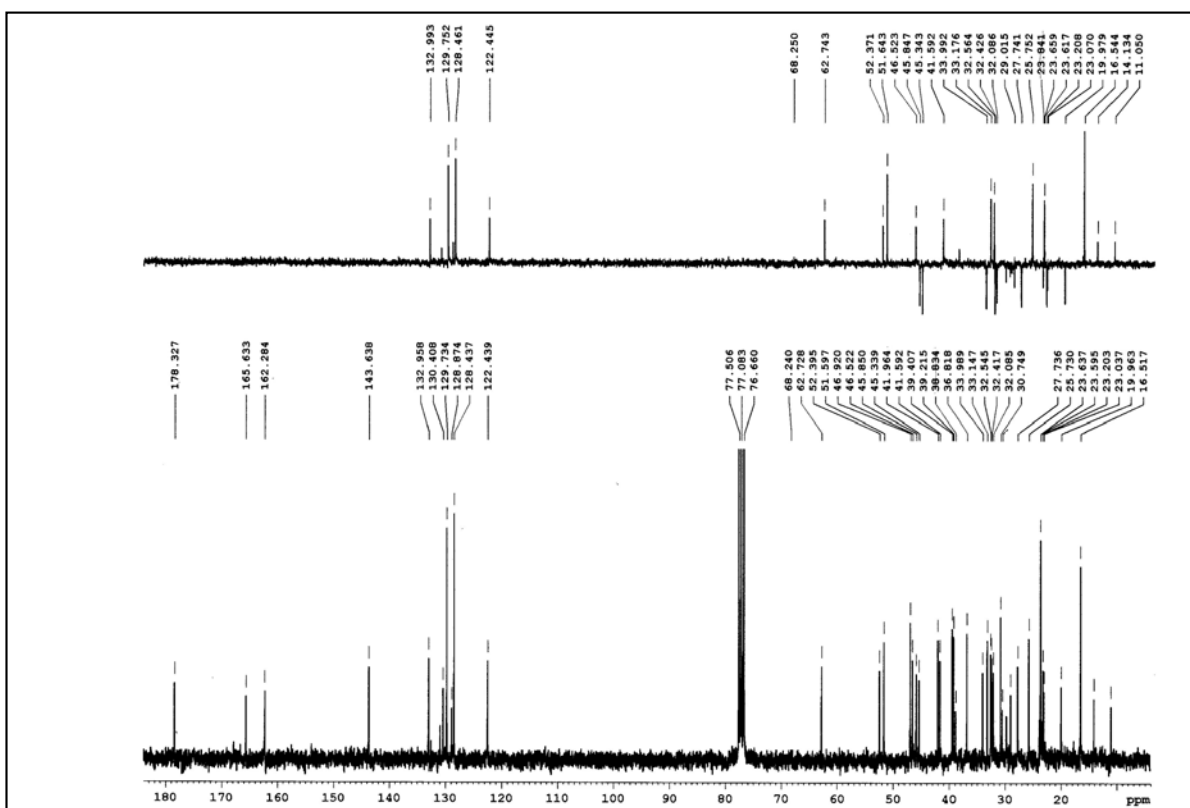
Espectro de ¹³C RMN del compuesto 14

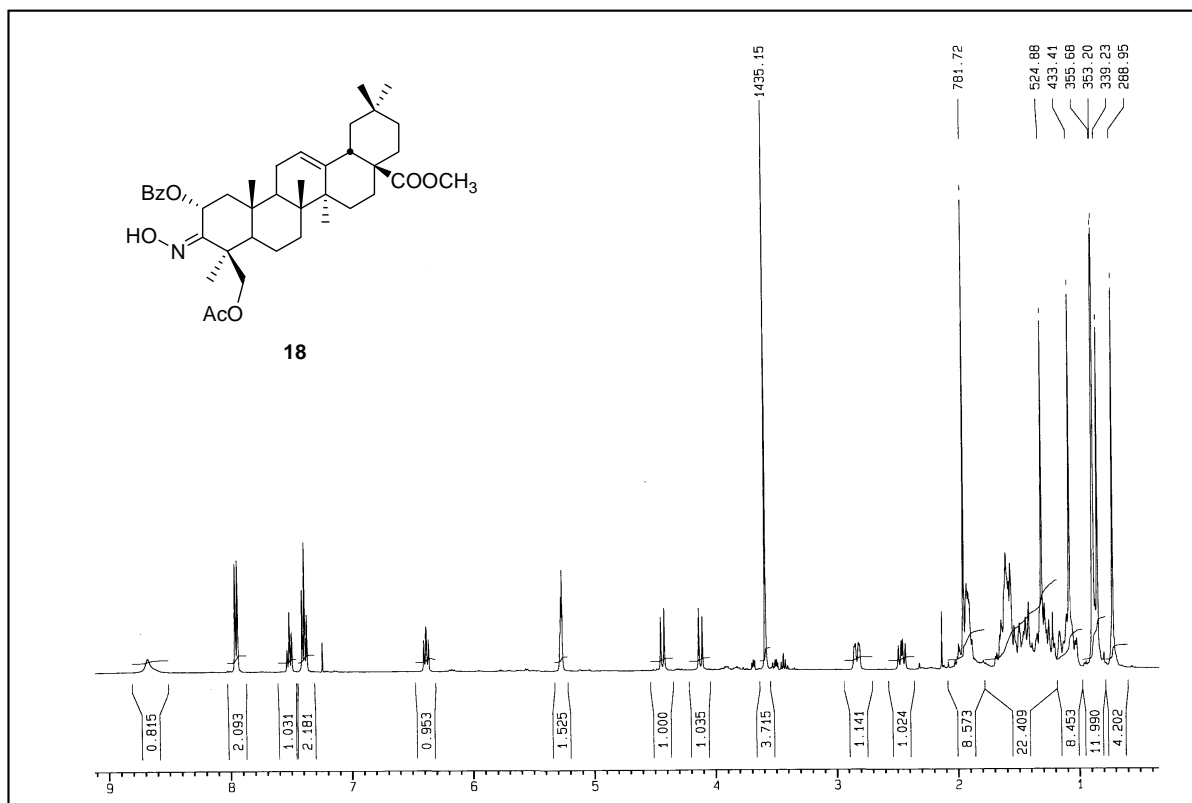
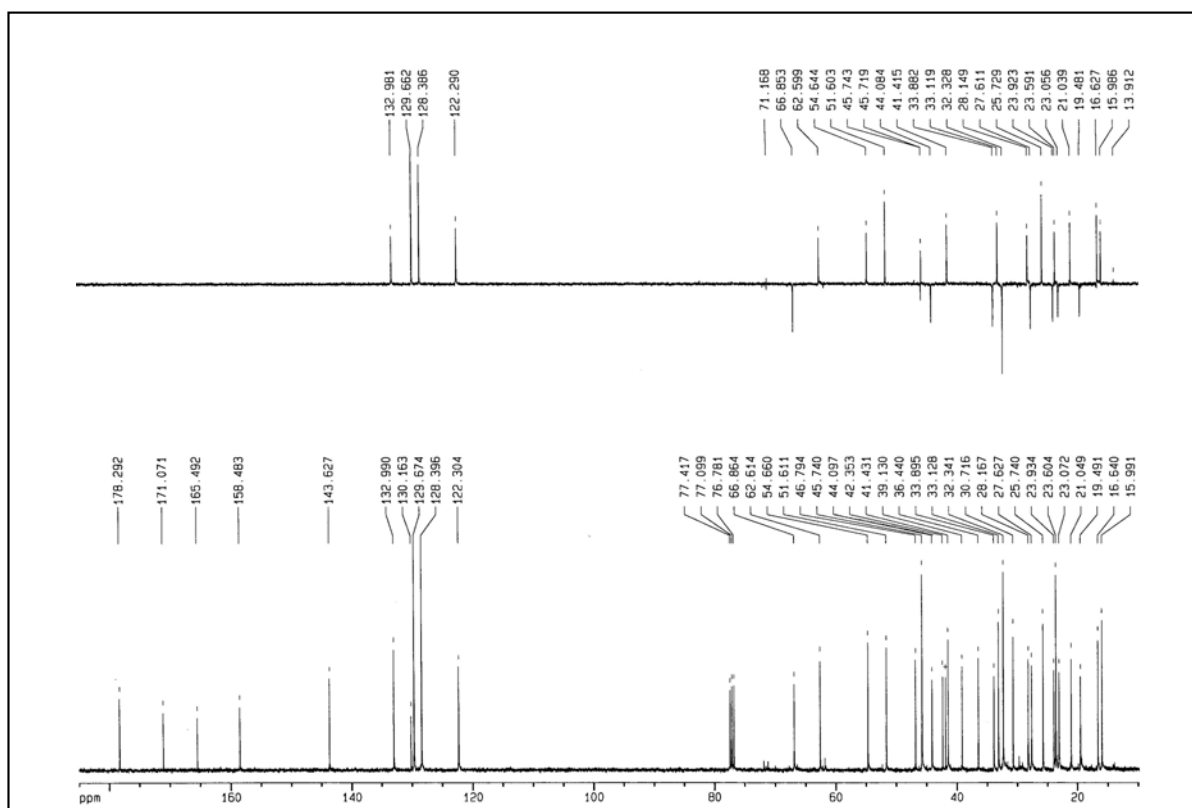


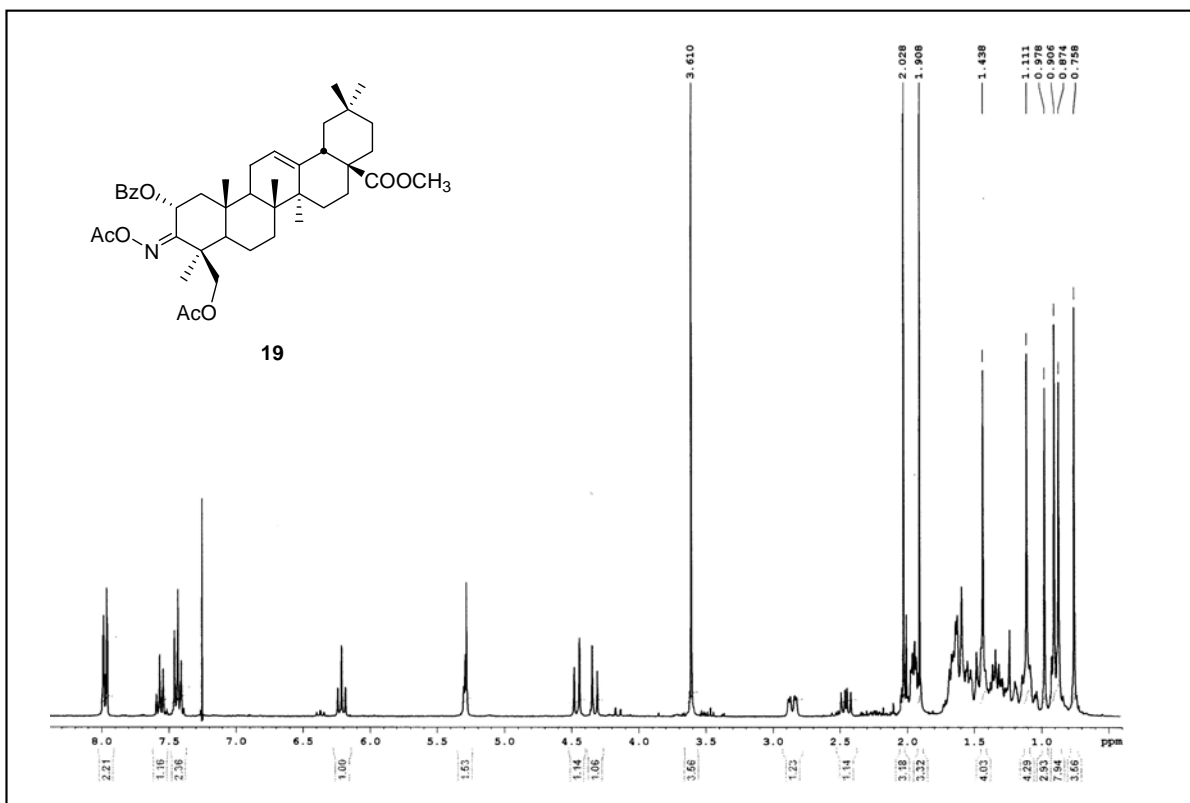
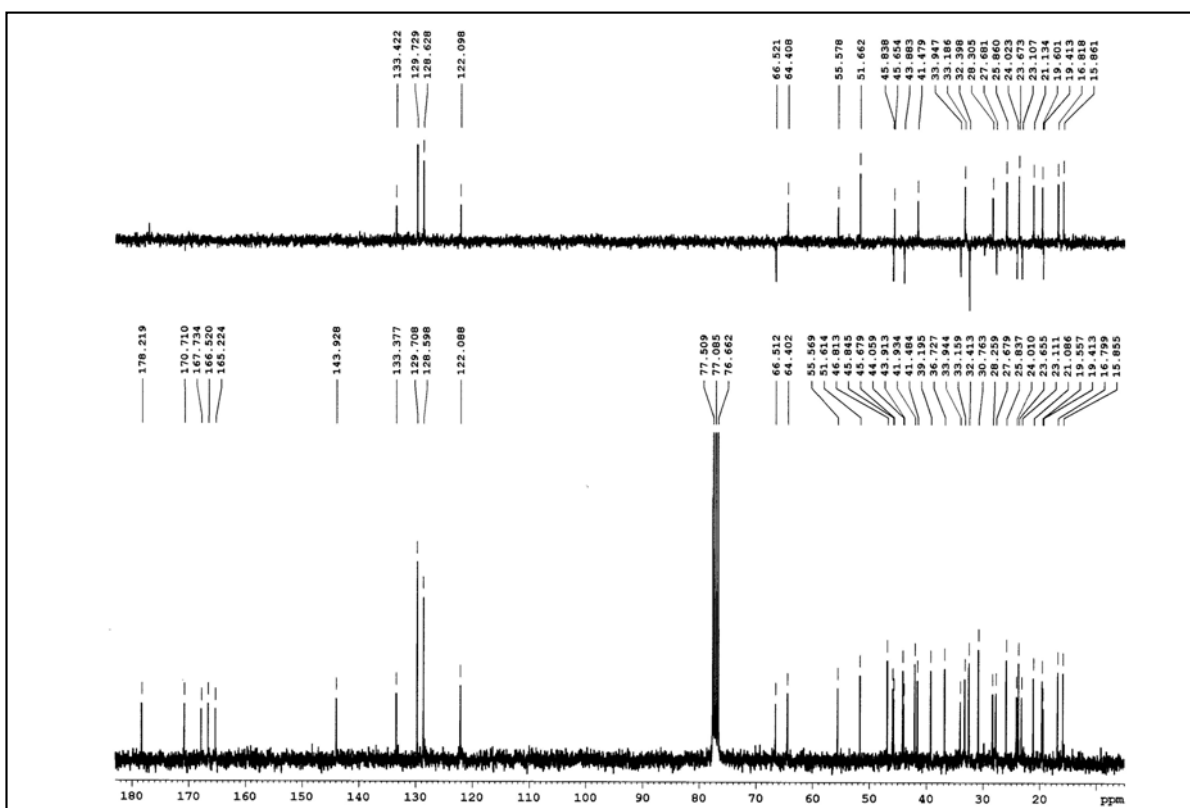
Espectro de ¹H RMN del compuesto 15

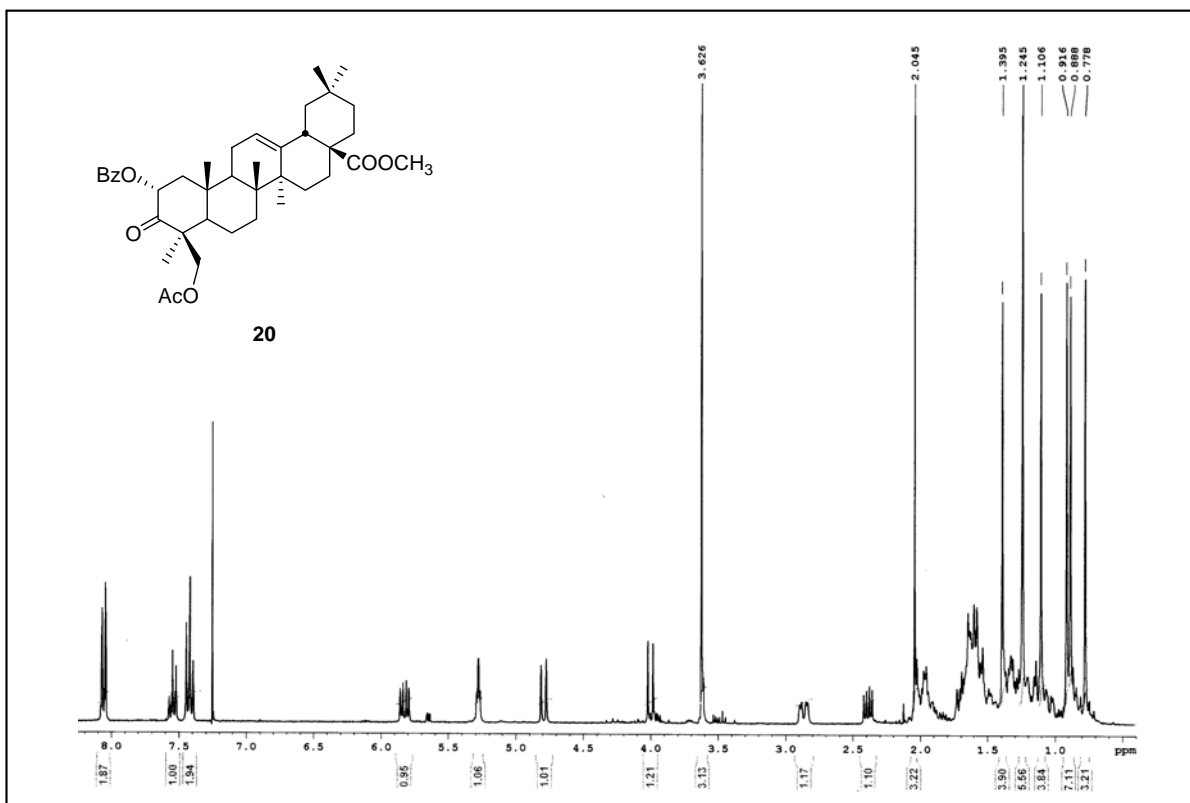


Espectro de ¹³C RMN del compuesto 15

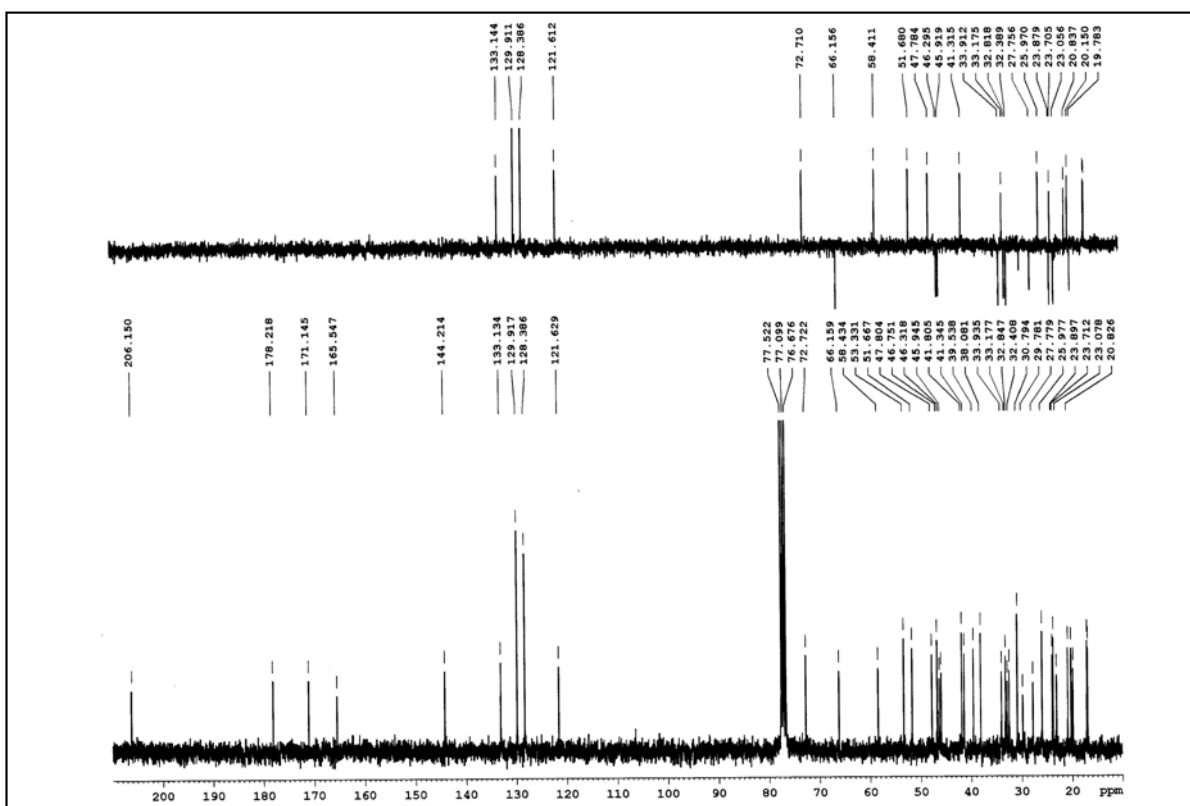
Espectro de ^1H RMN del compuesto 17Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 17

Espectro de ¹H RMN del compuesto 18Espectro de ¹³C RMN del compuesto 18

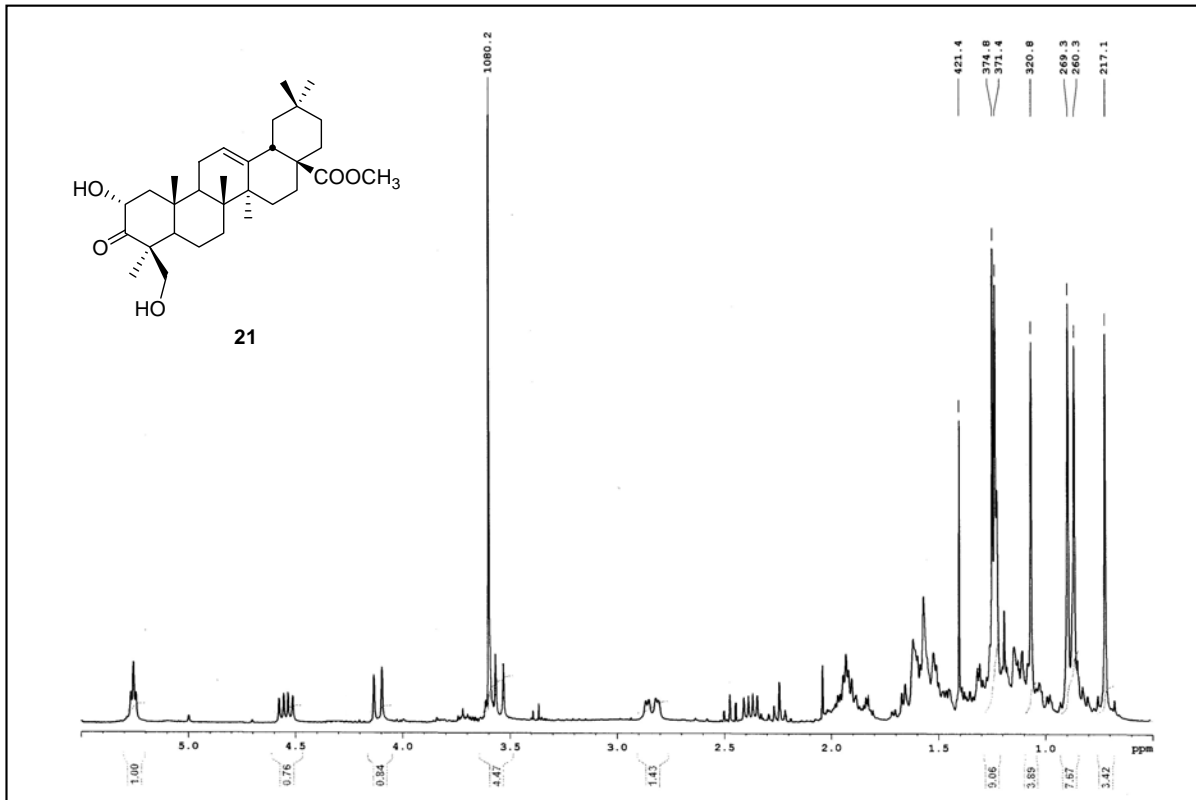
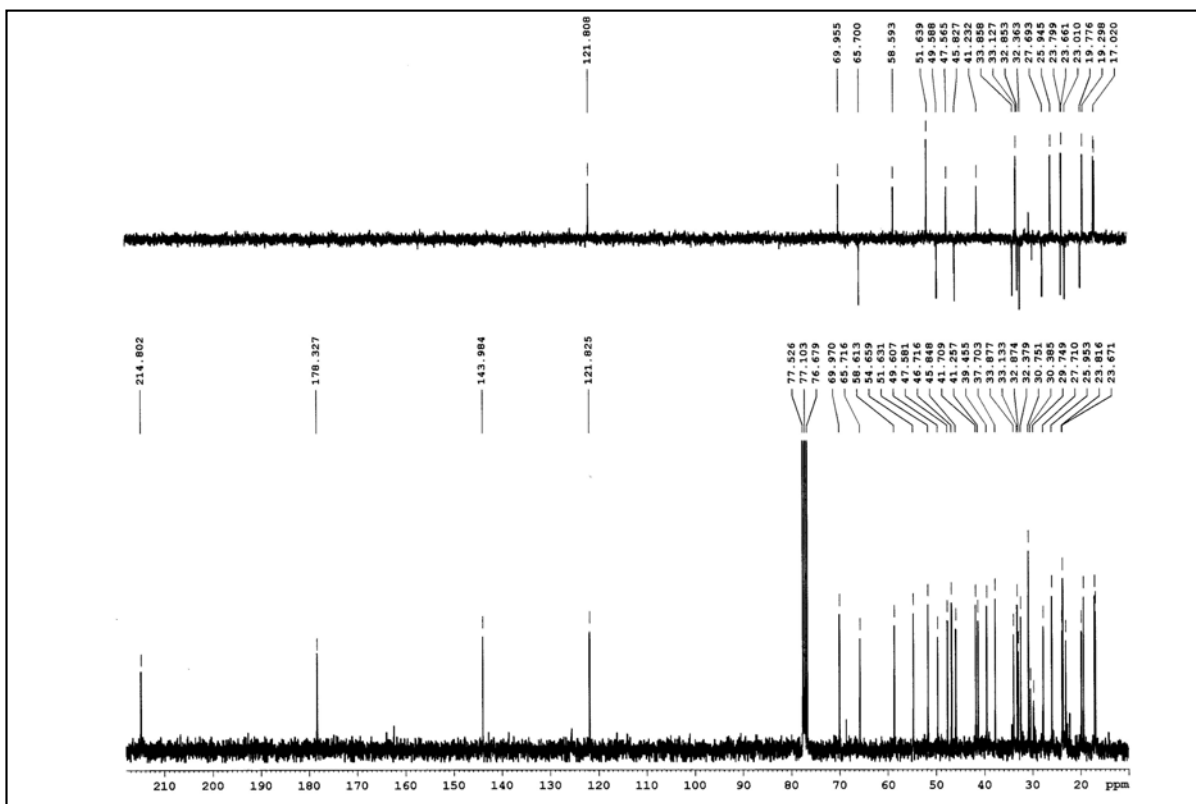
Espectro de ^1H RMN del compuesto 19Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 19

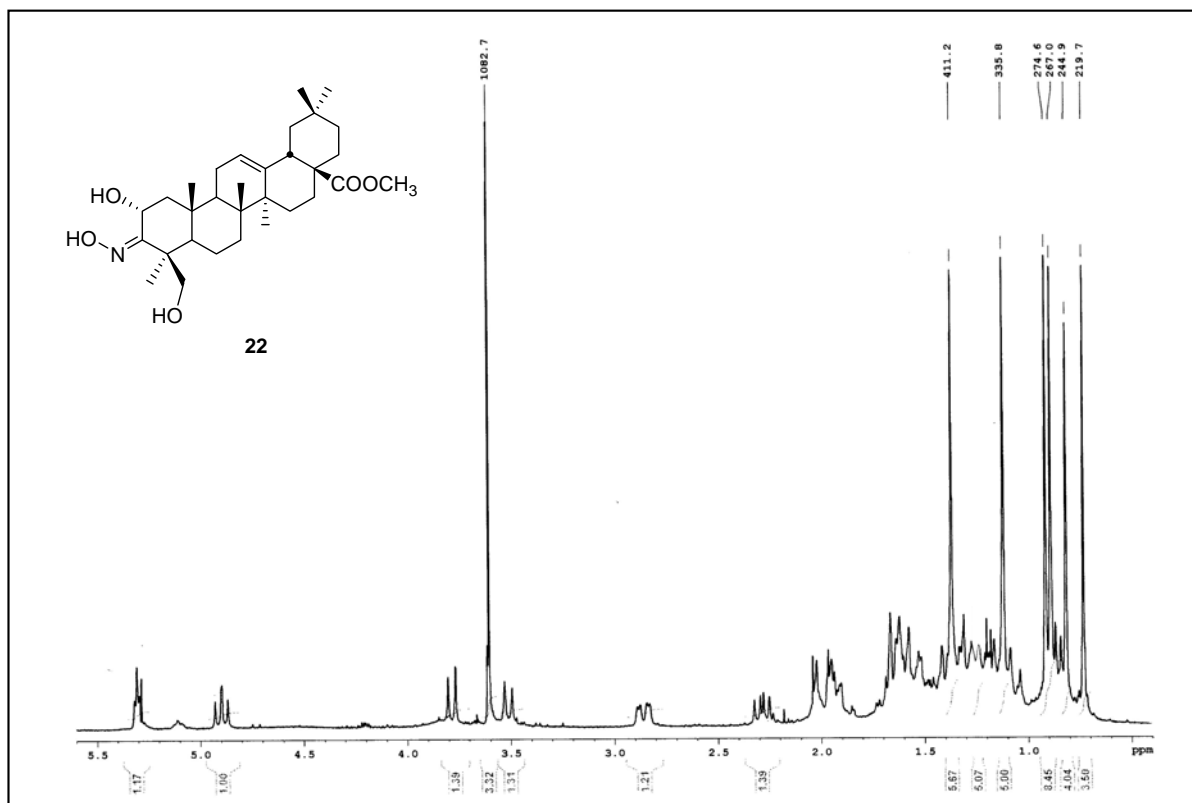


Espectro de ^1H RMN del compuesto **20**

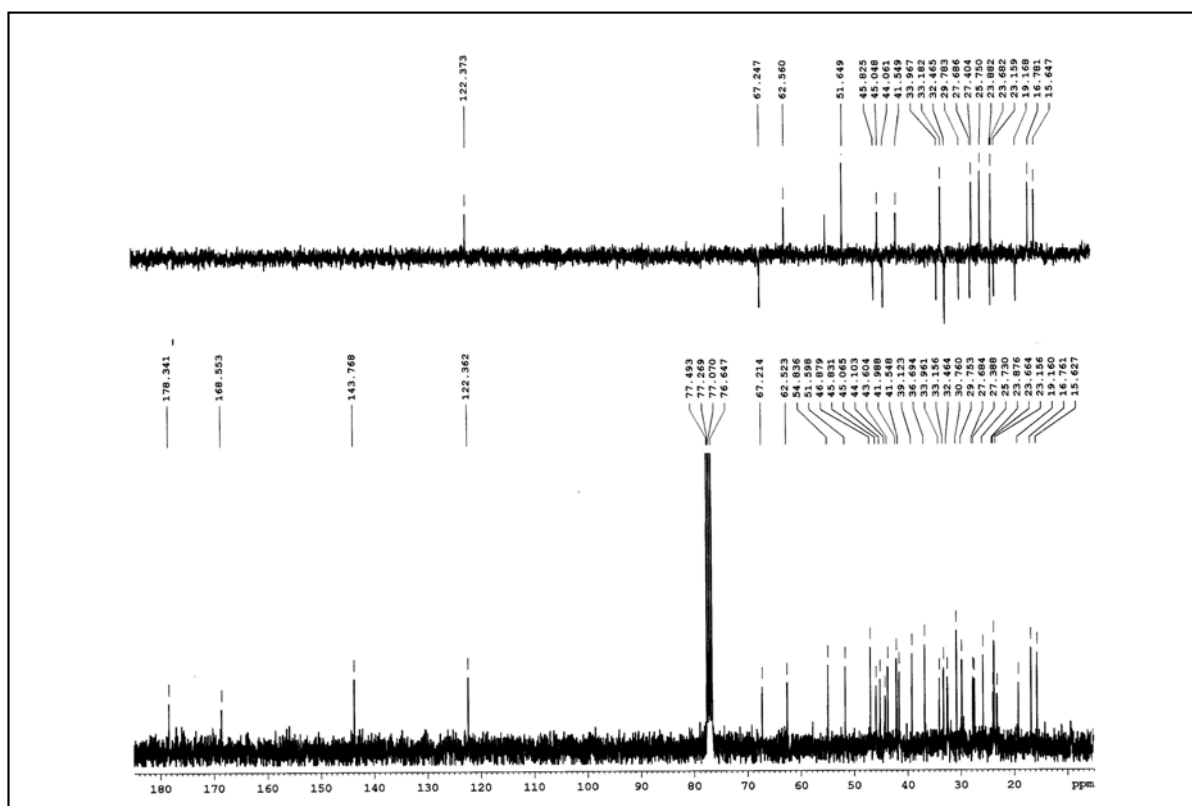


Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **20**

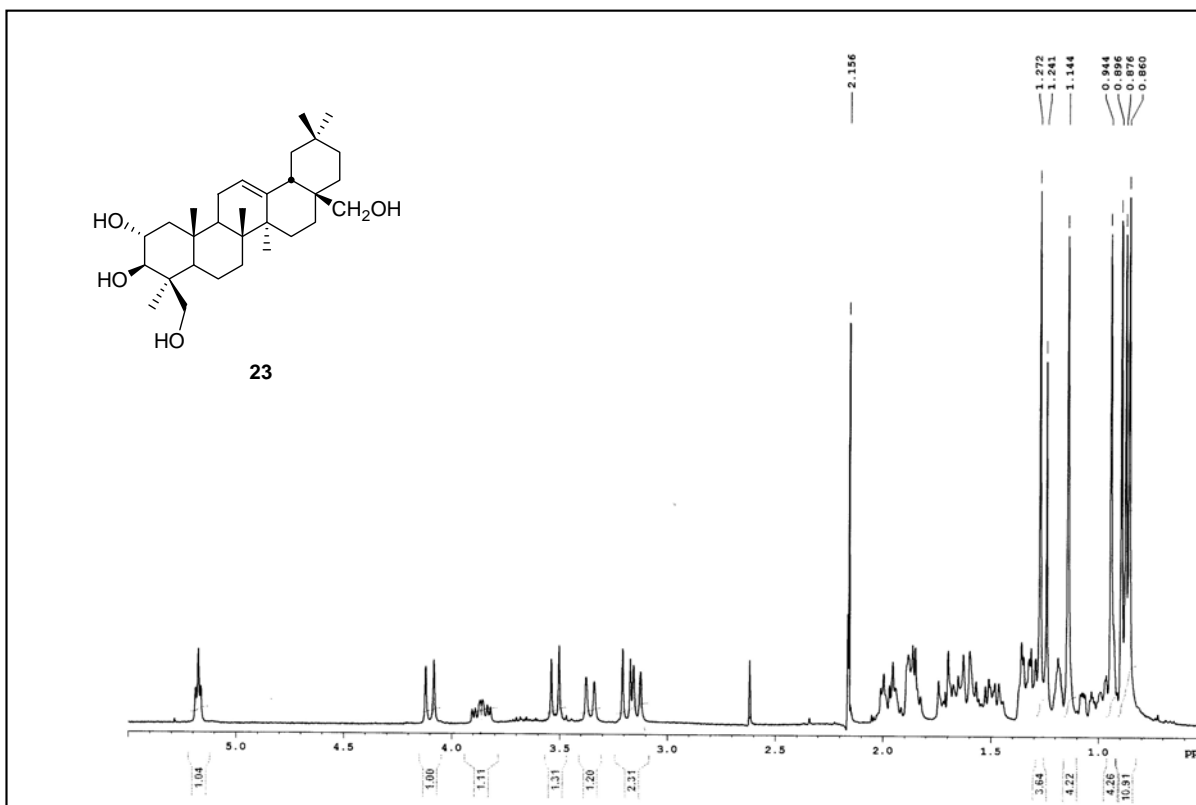
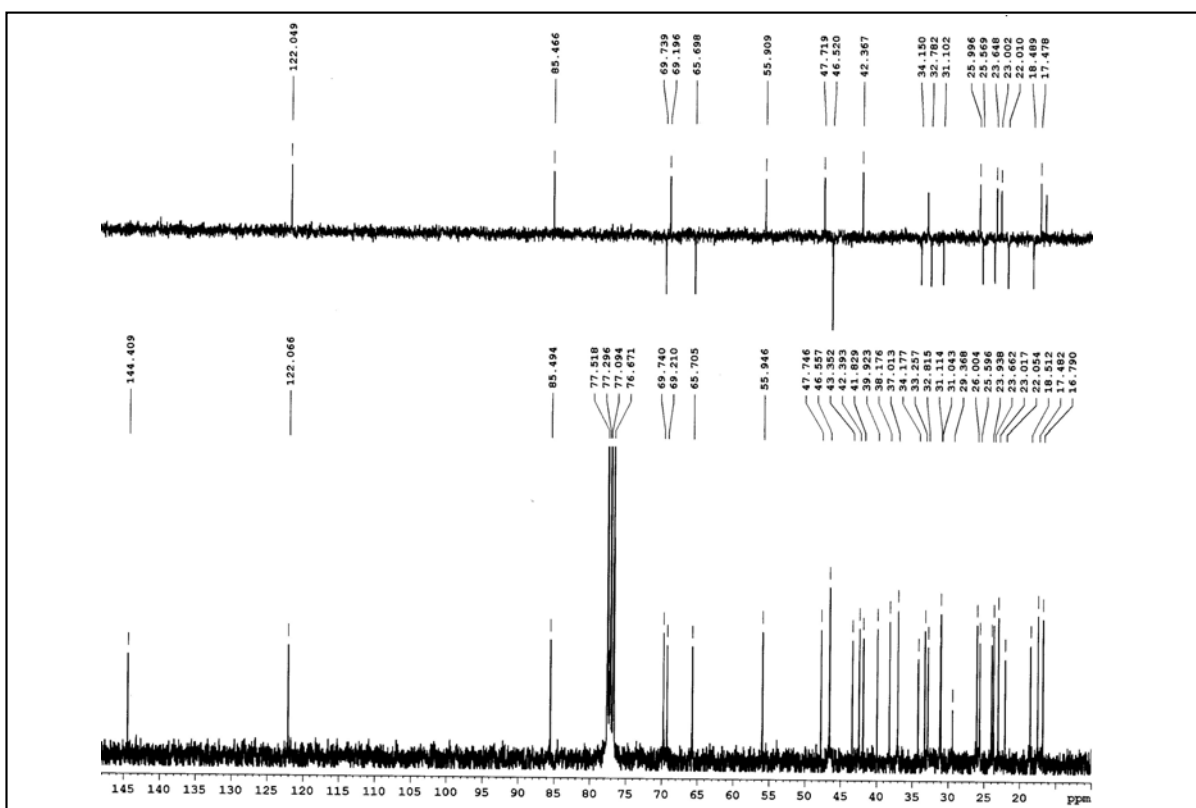
Espectro de ^1H RMN del compuesto 21Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 21

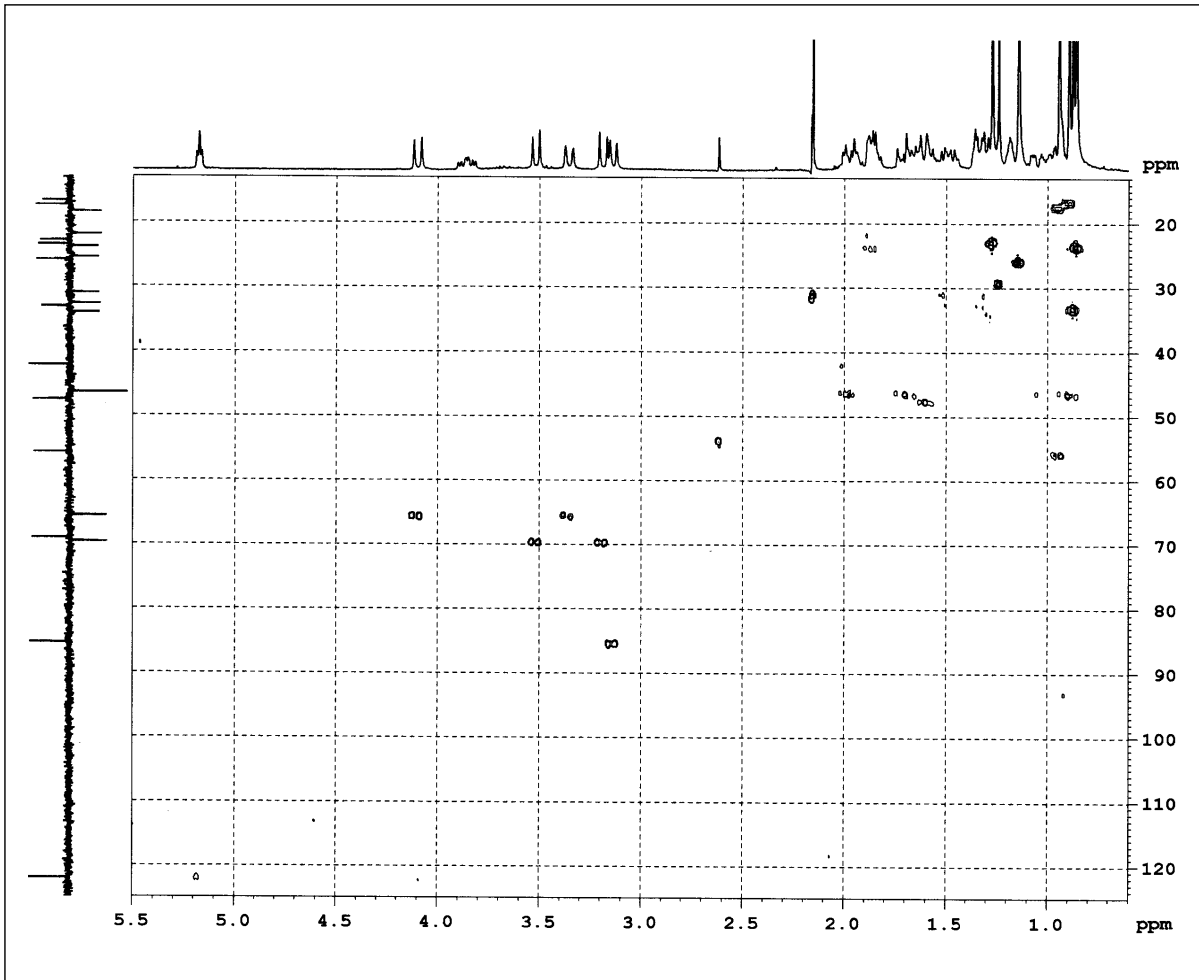


Espectro de ¹H RMN del compuesto 22

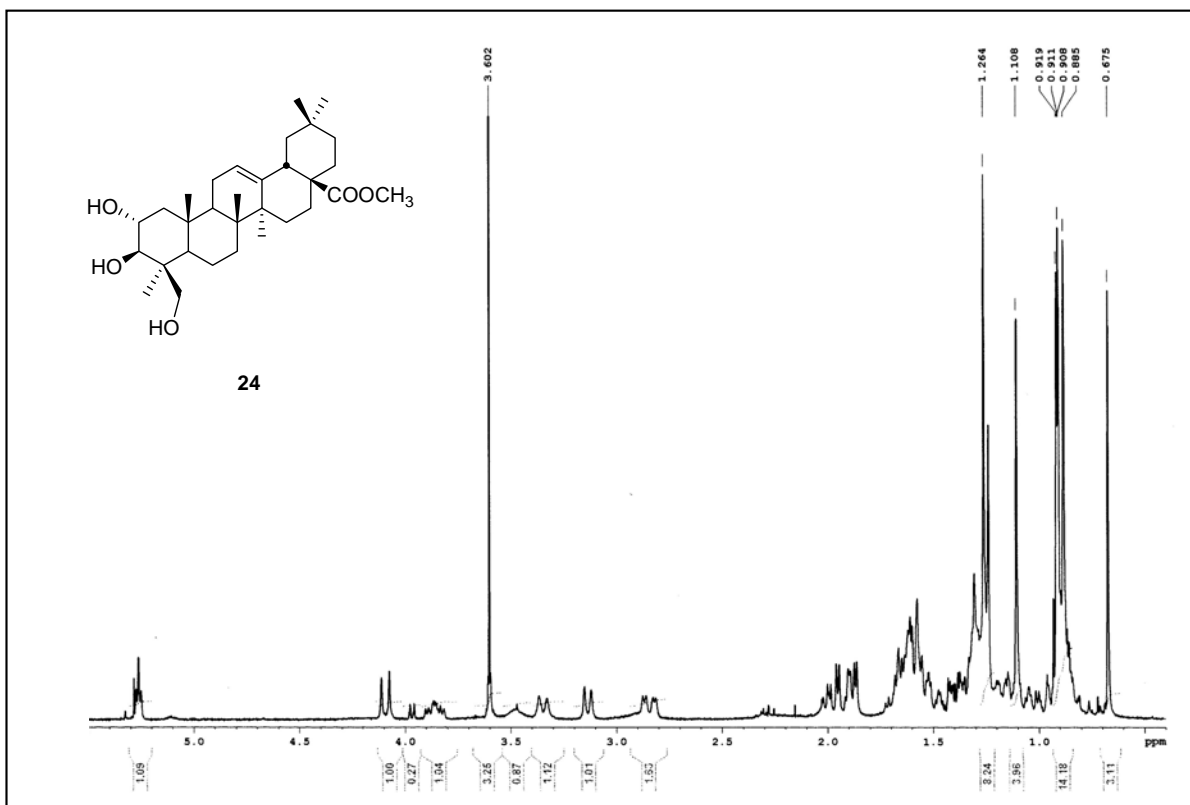


Espectro de ¹³C RMN del compuesto 22

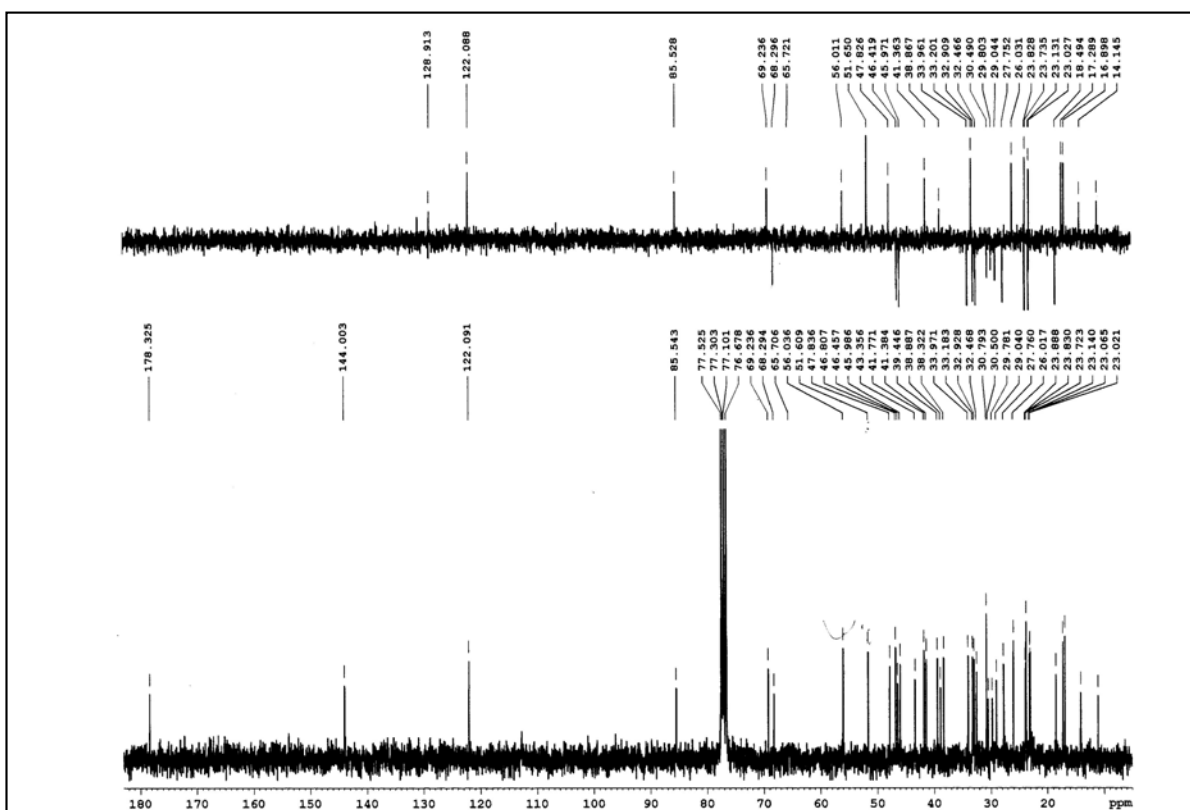
Espectro de ^1H RMN del compuesto 23Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 23



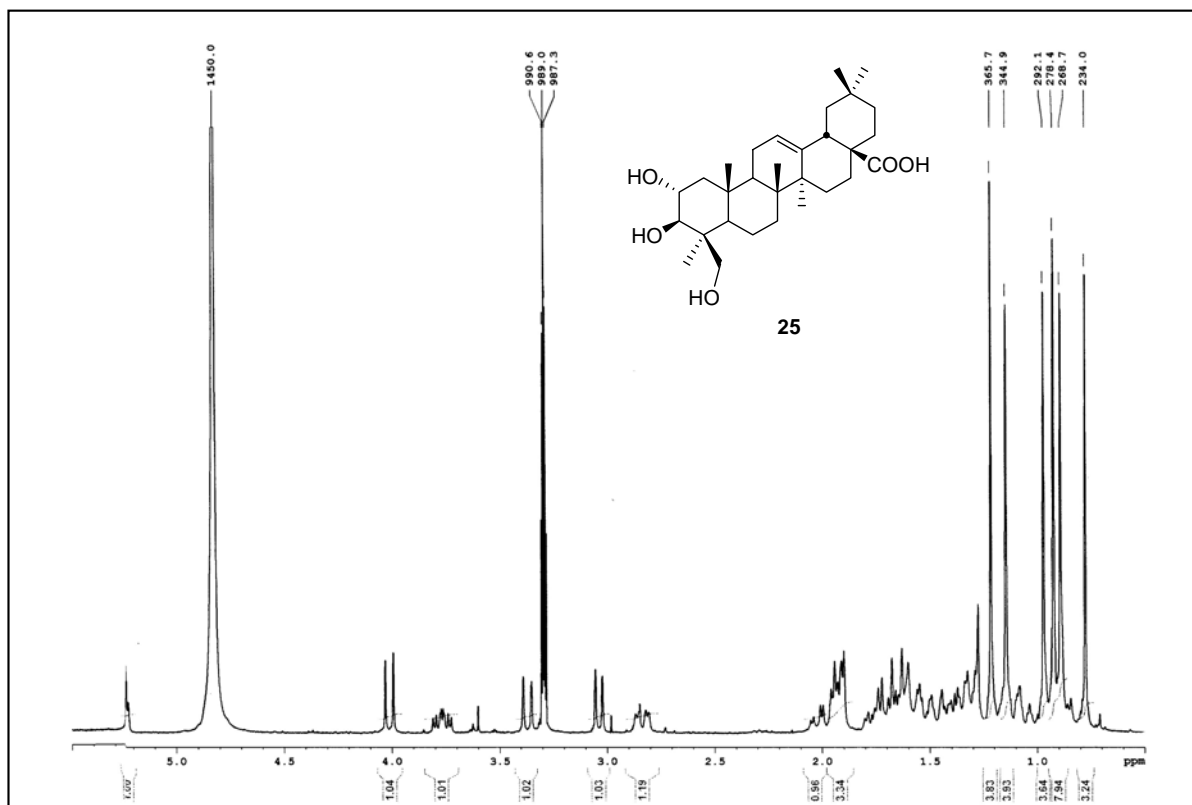
HMQC del producto 23



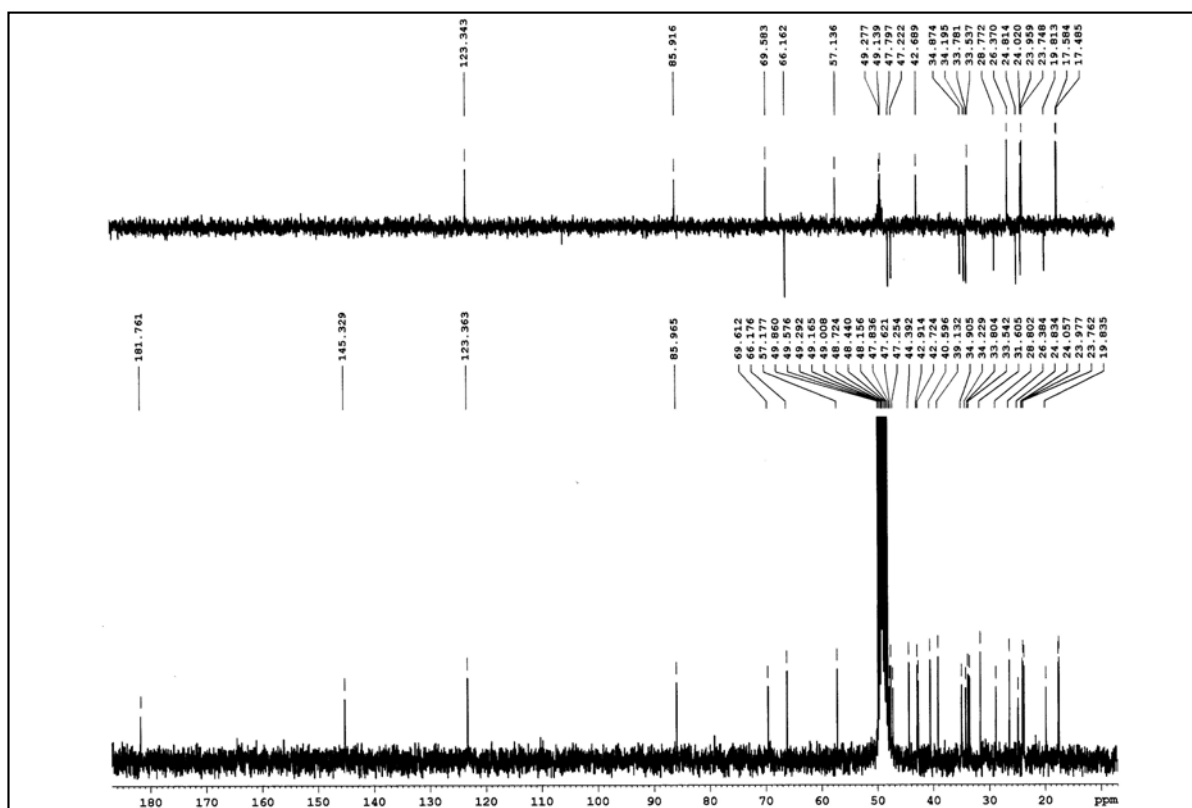
Espectro de ¹H RMN del compuesto 24



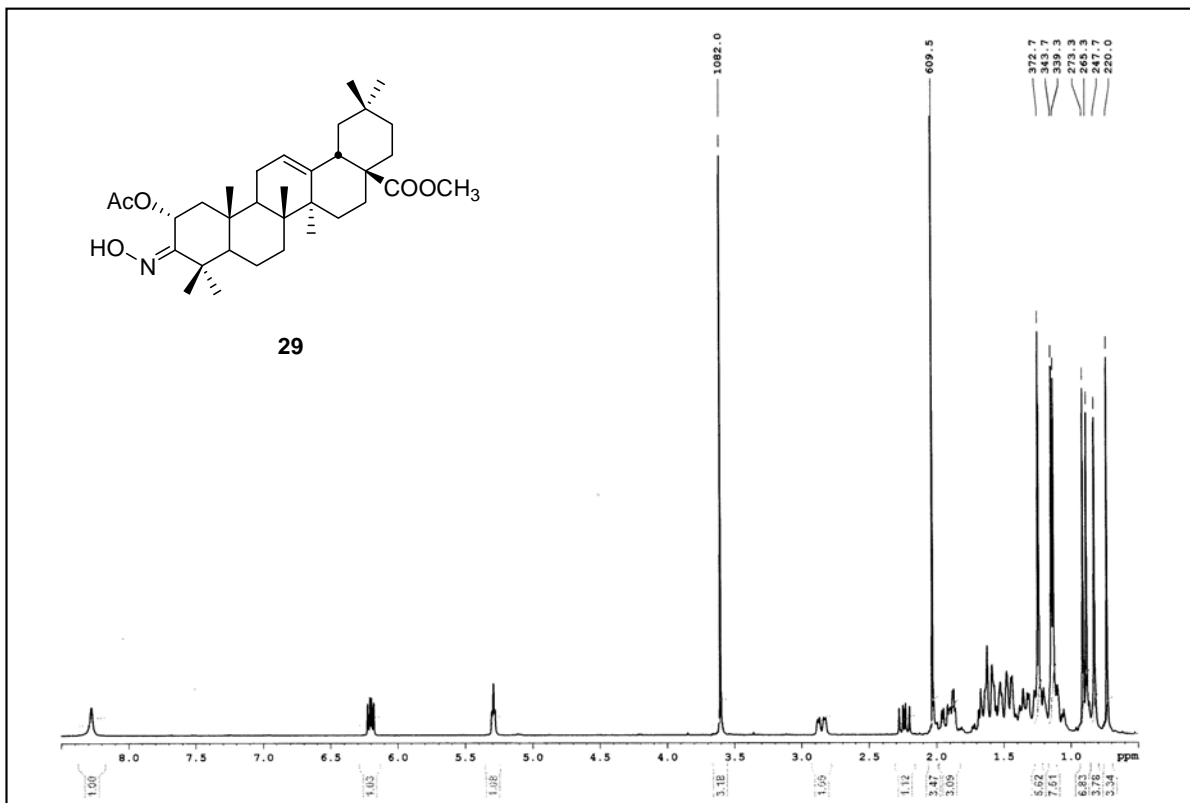
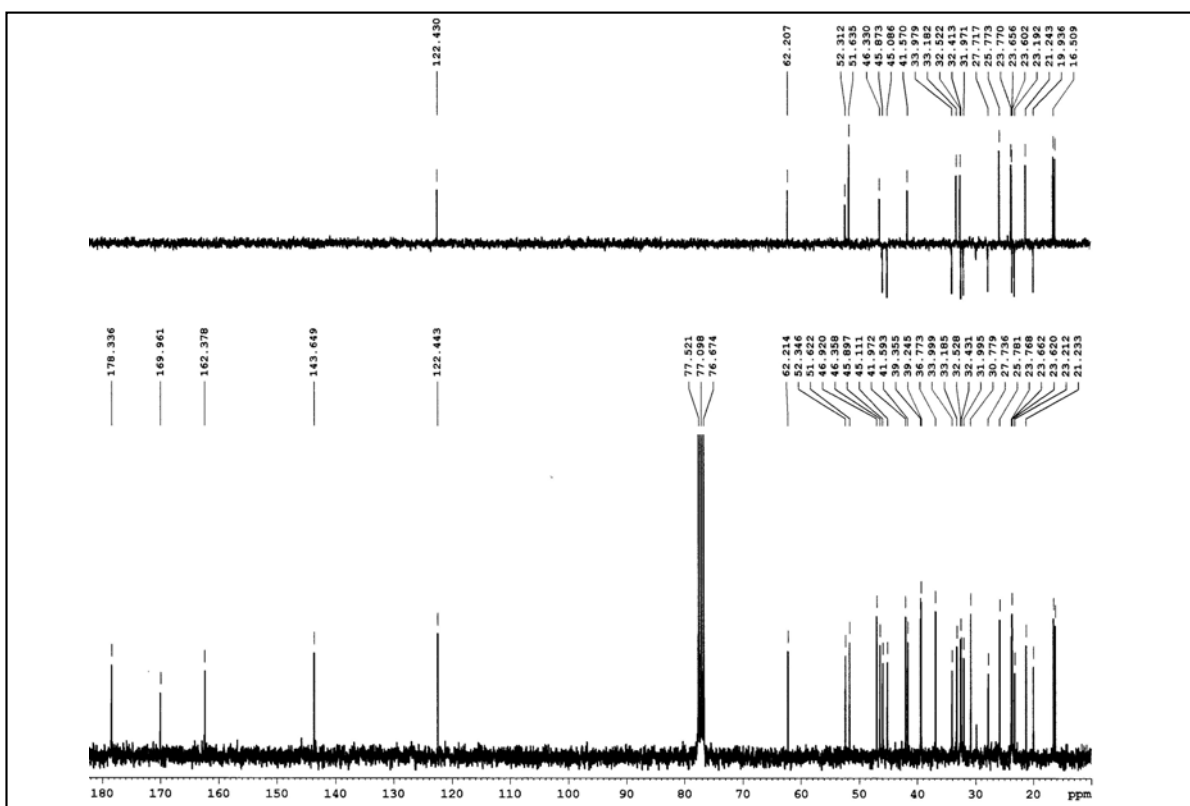
Espectro de ¹³C RMN del compuesto 24

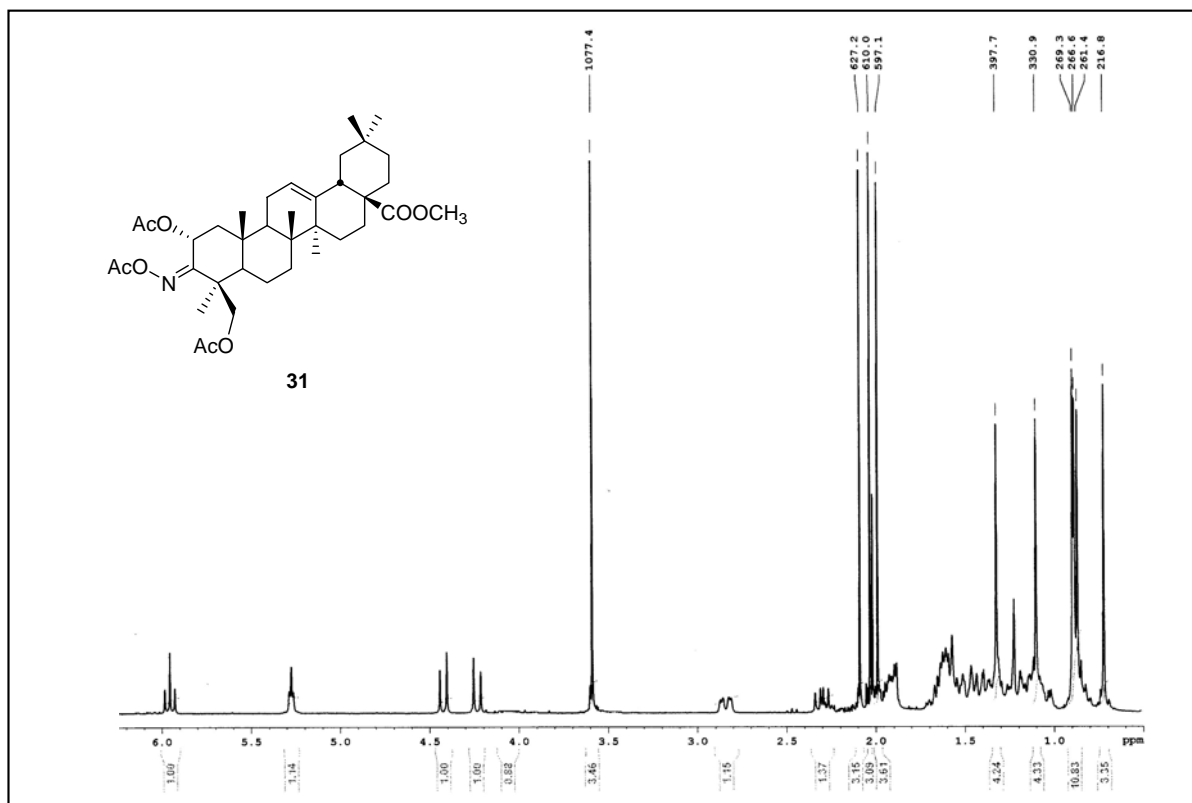
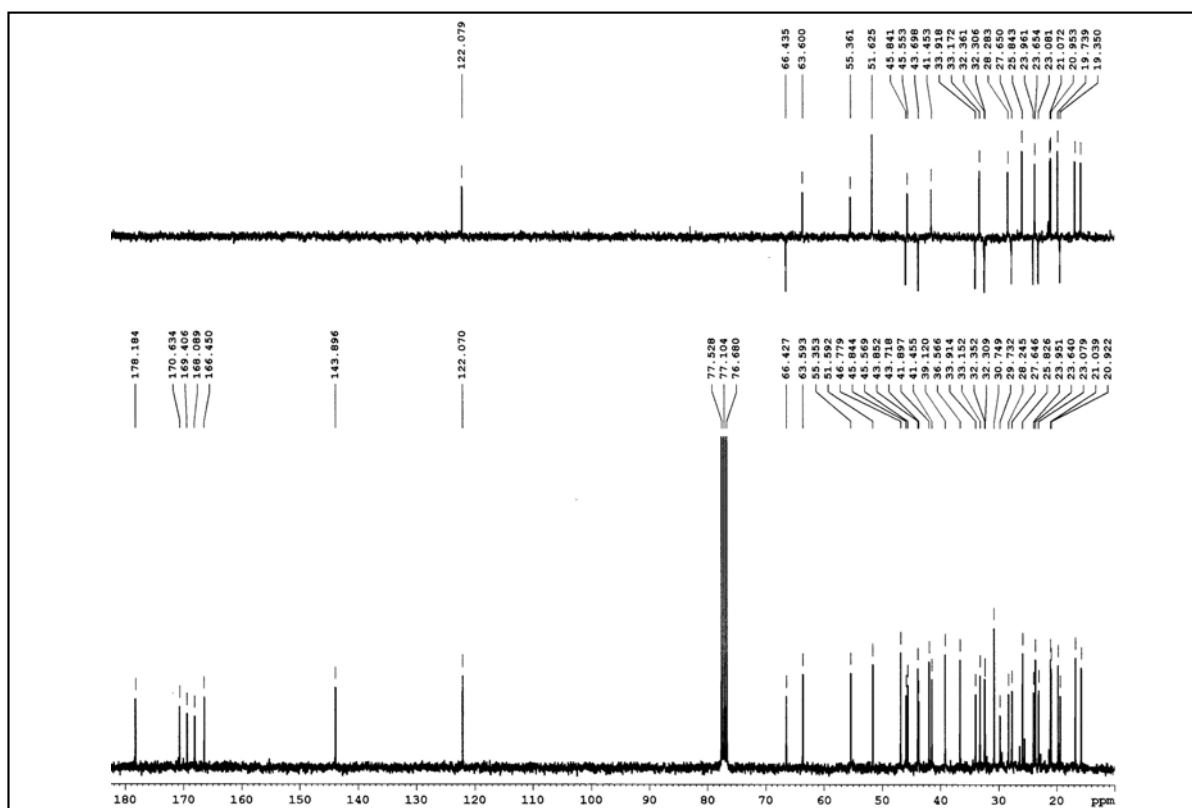


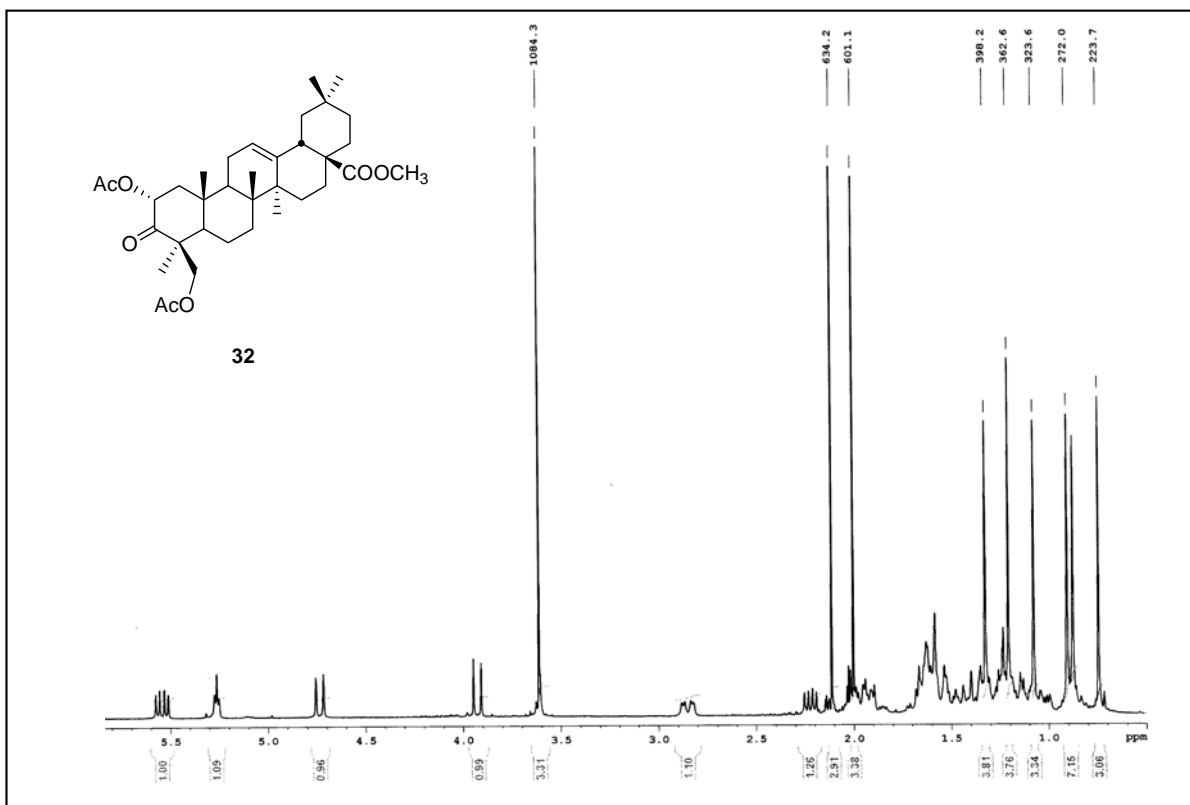
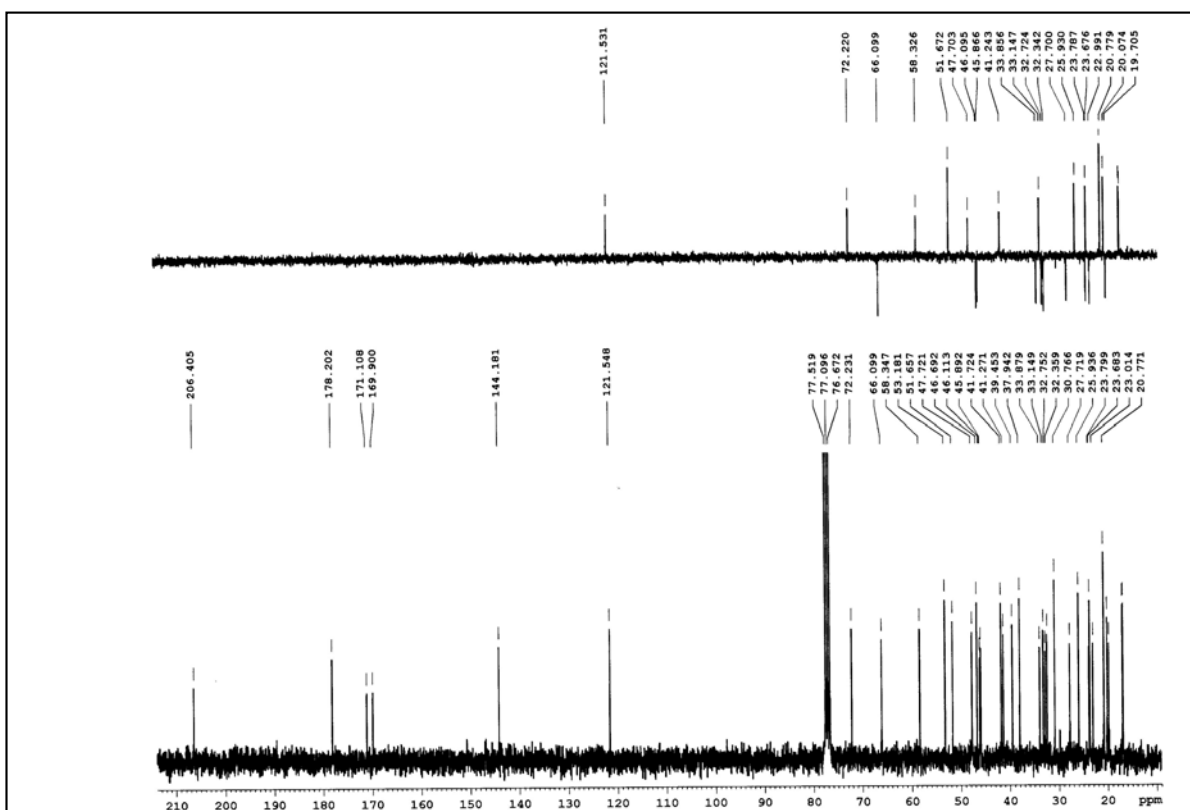
Espectro de ^1H RMN del compuesto **25**

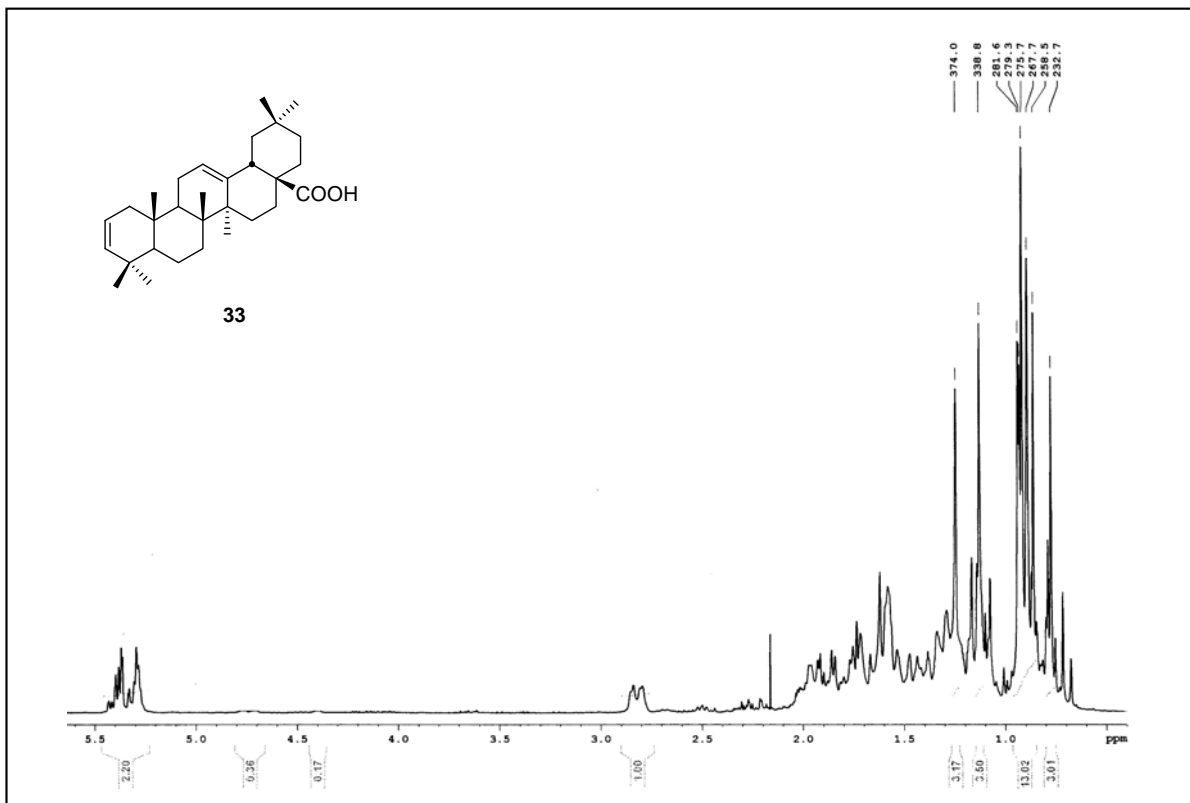


Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **25**

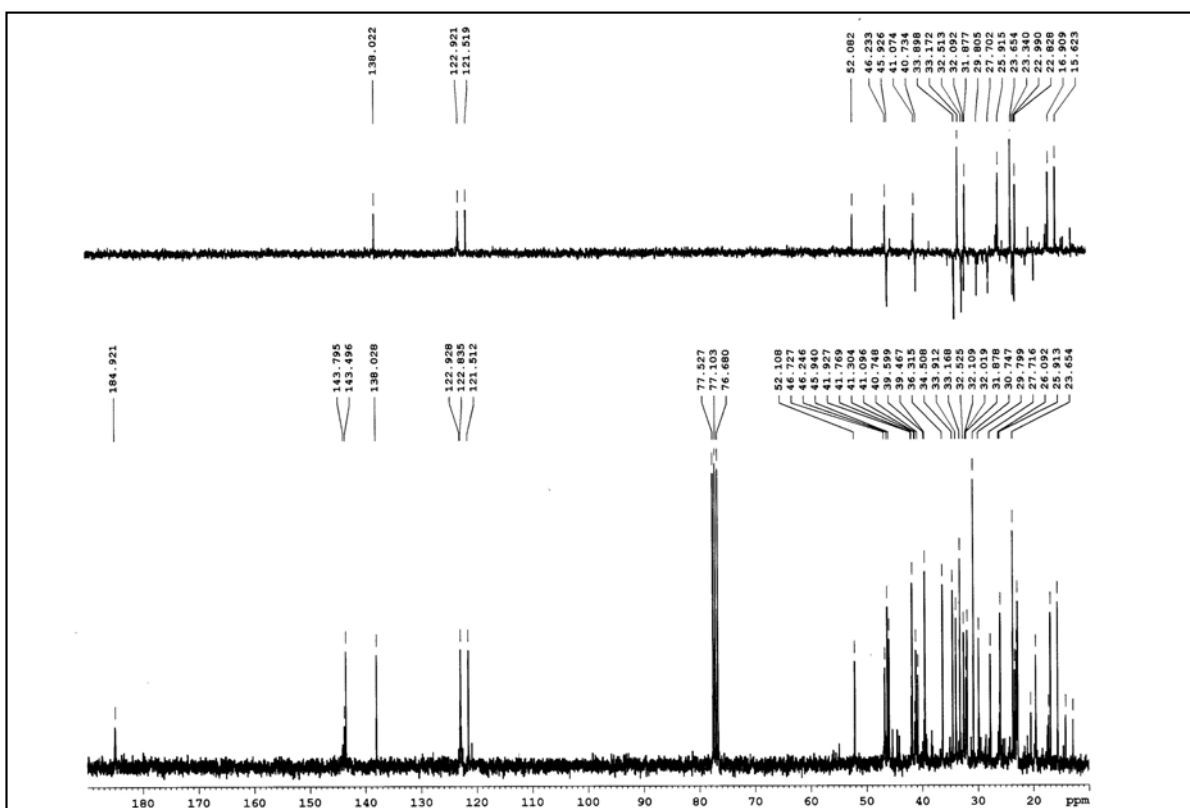
Espectro de ¹H RMN del compuesto **29**Espectro de ¹³C RMN del compuesto **29**

Espectro de ^1H RMN del compuesto **31**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **31**

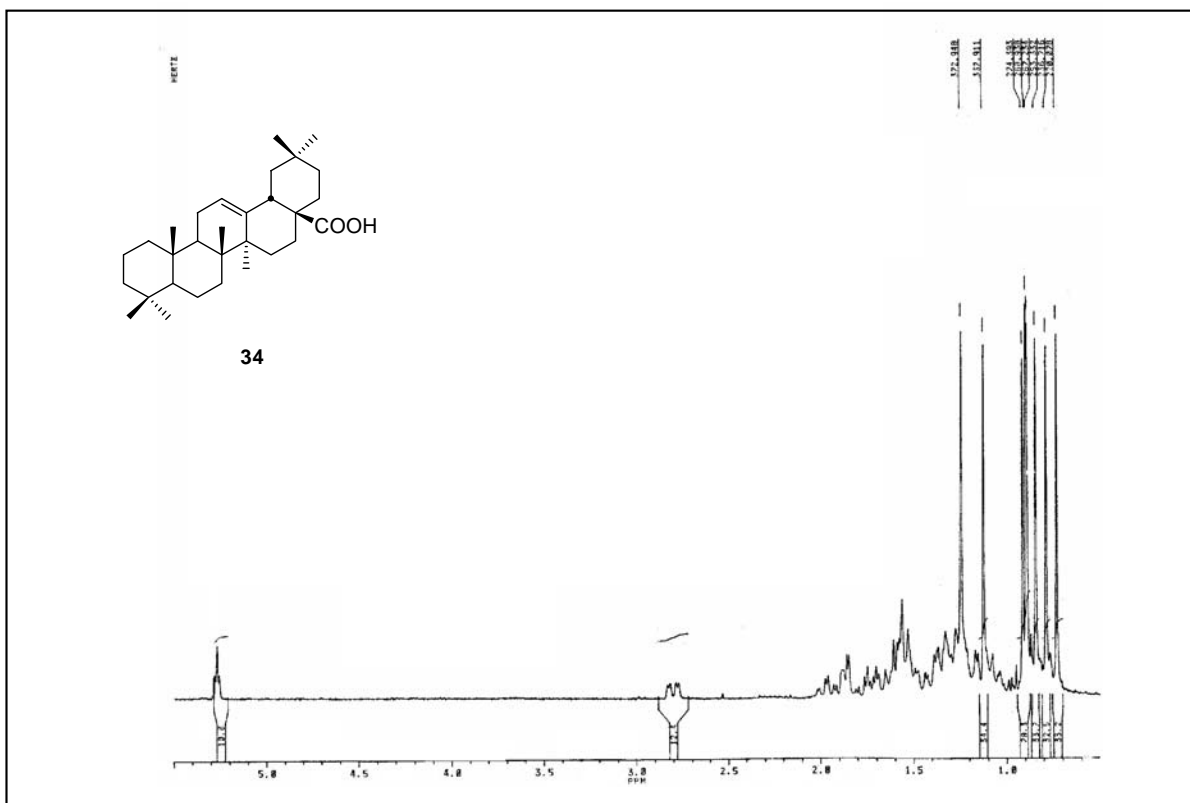
Espectro de ¹H RMN del compuesto **32**Espectro de ¹³C RMN del compuesto **32**



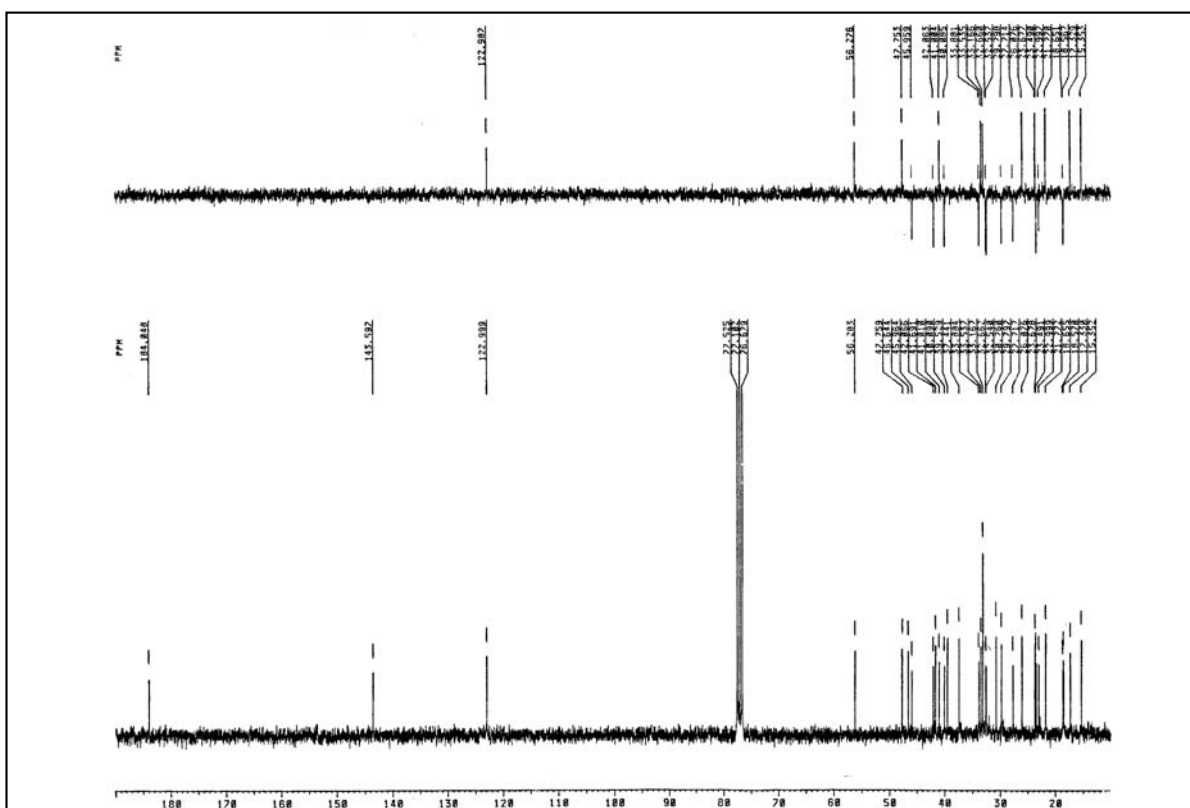
Espectro de ¹H RMN del compuesto 33



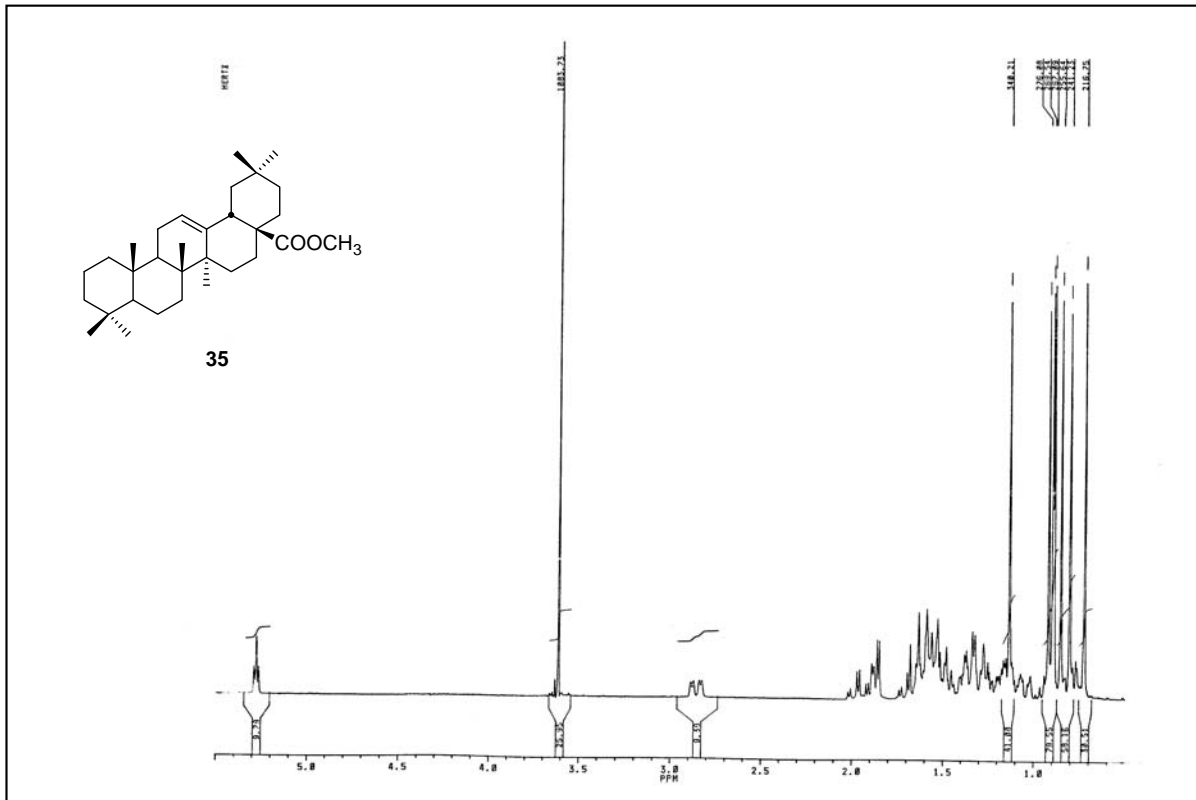
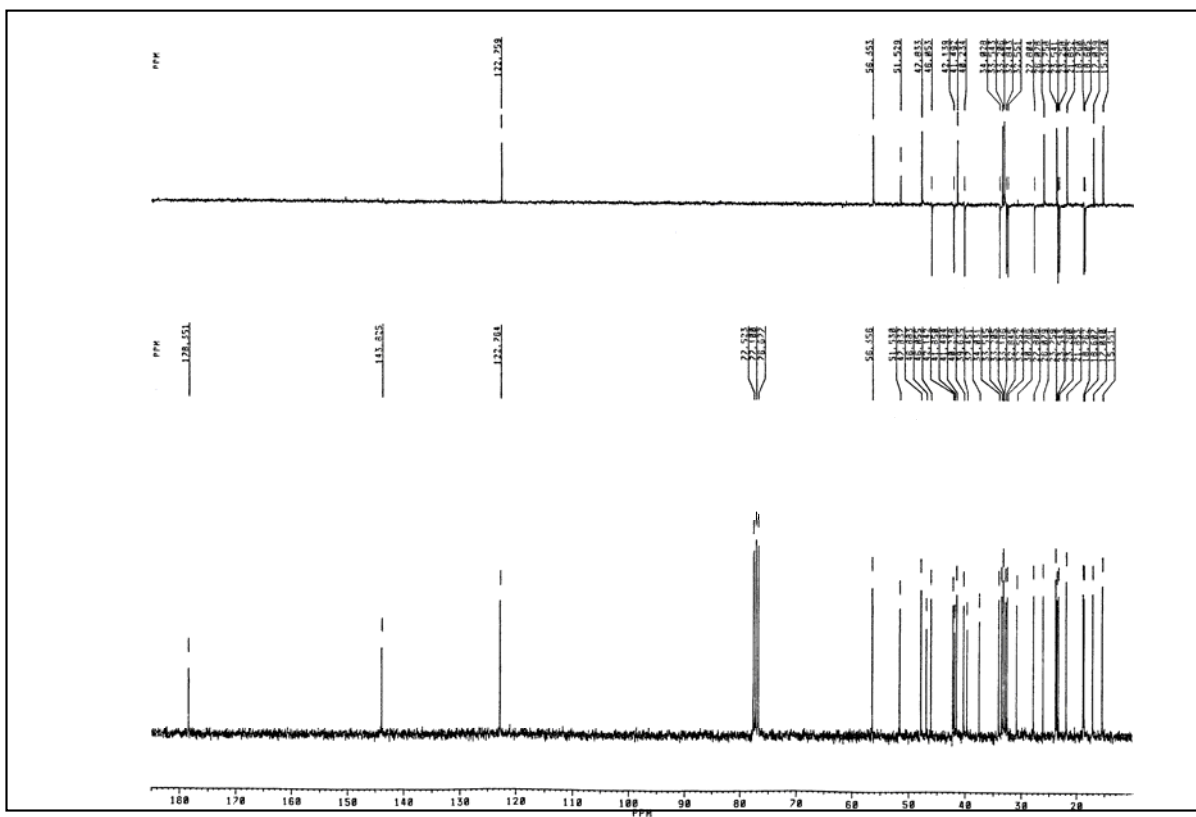
Espectro de ¹³C RMN del compuesto 33

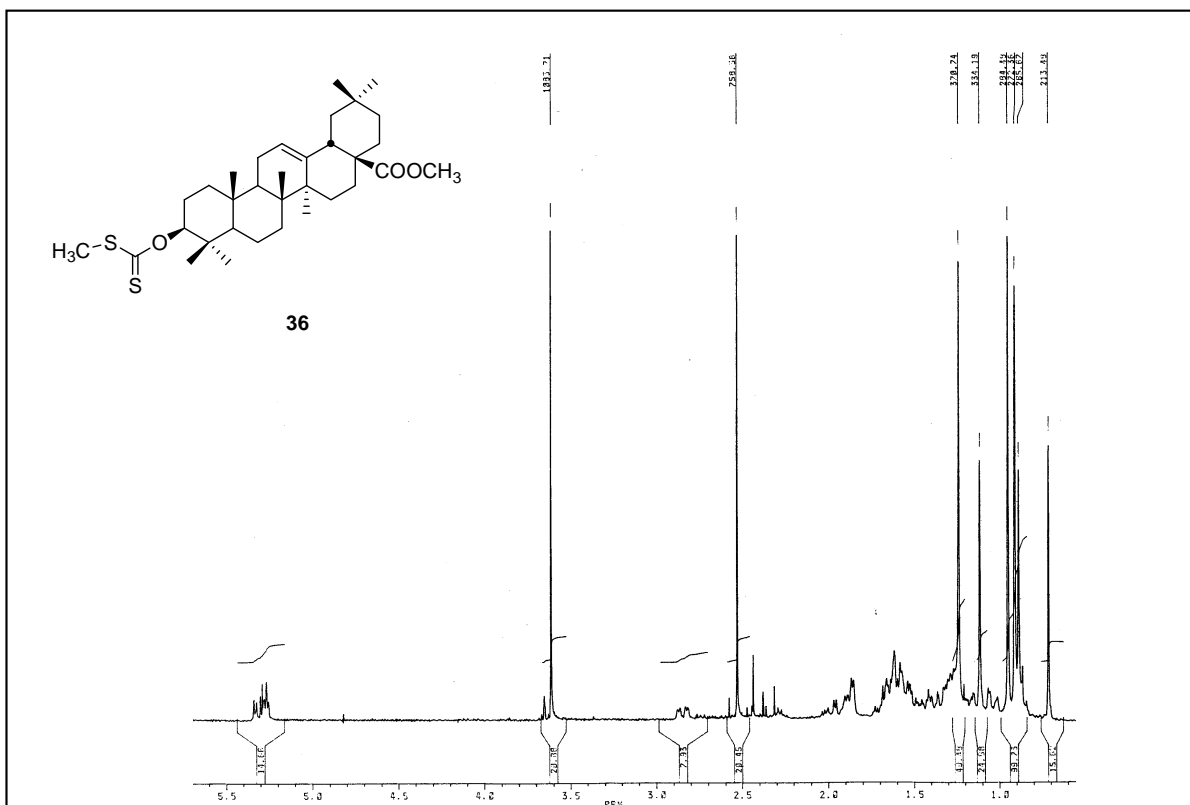
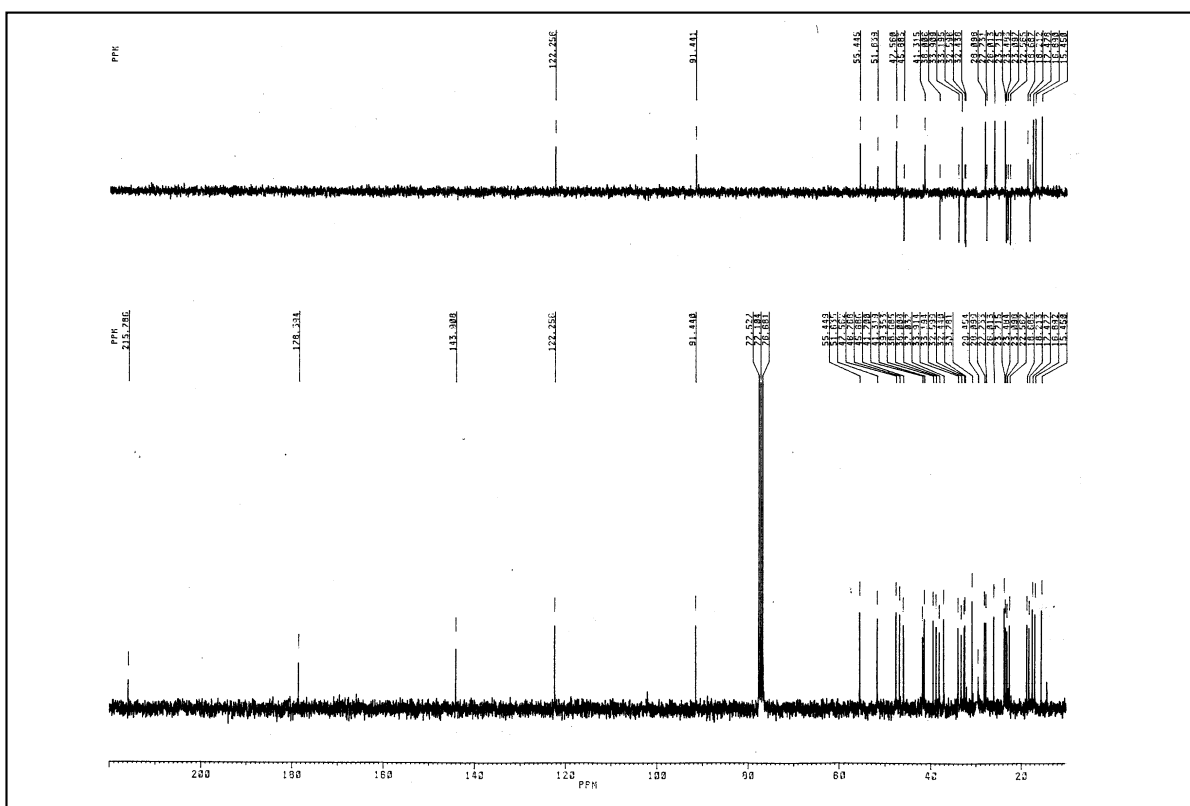


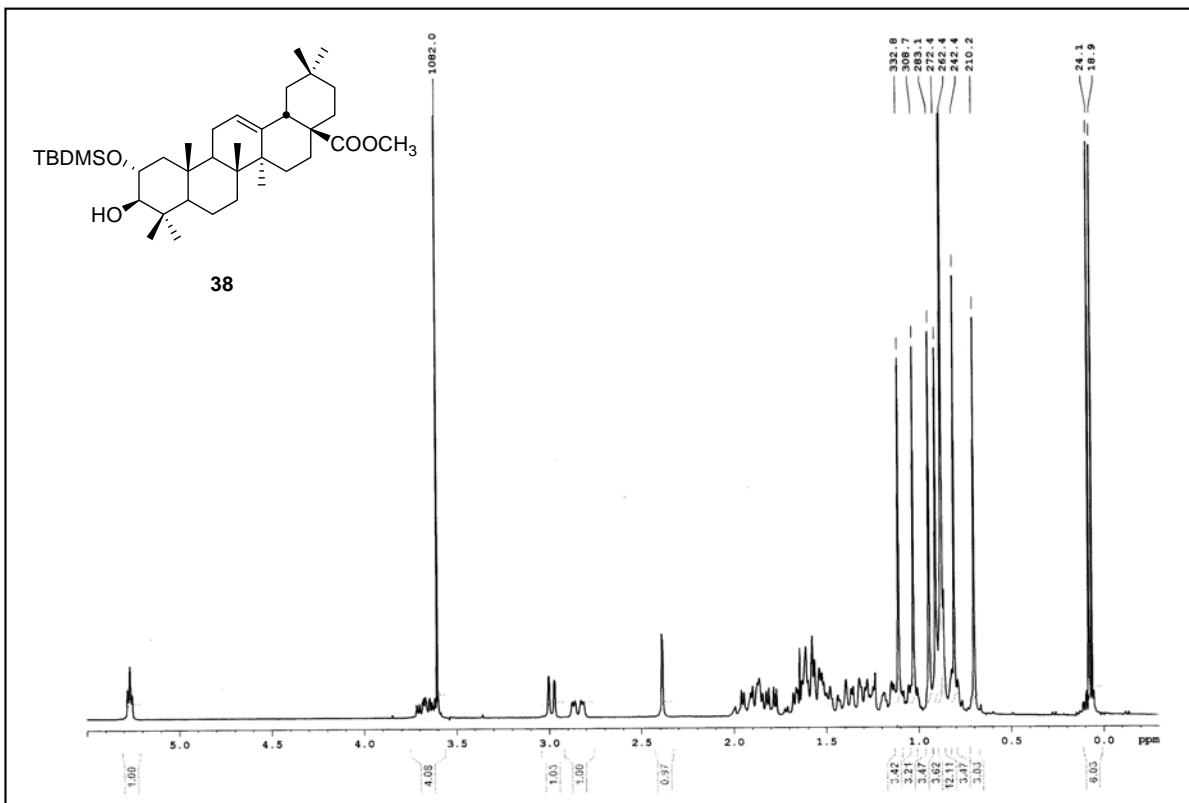
Espectro de ^1H RMN del compuesto 34



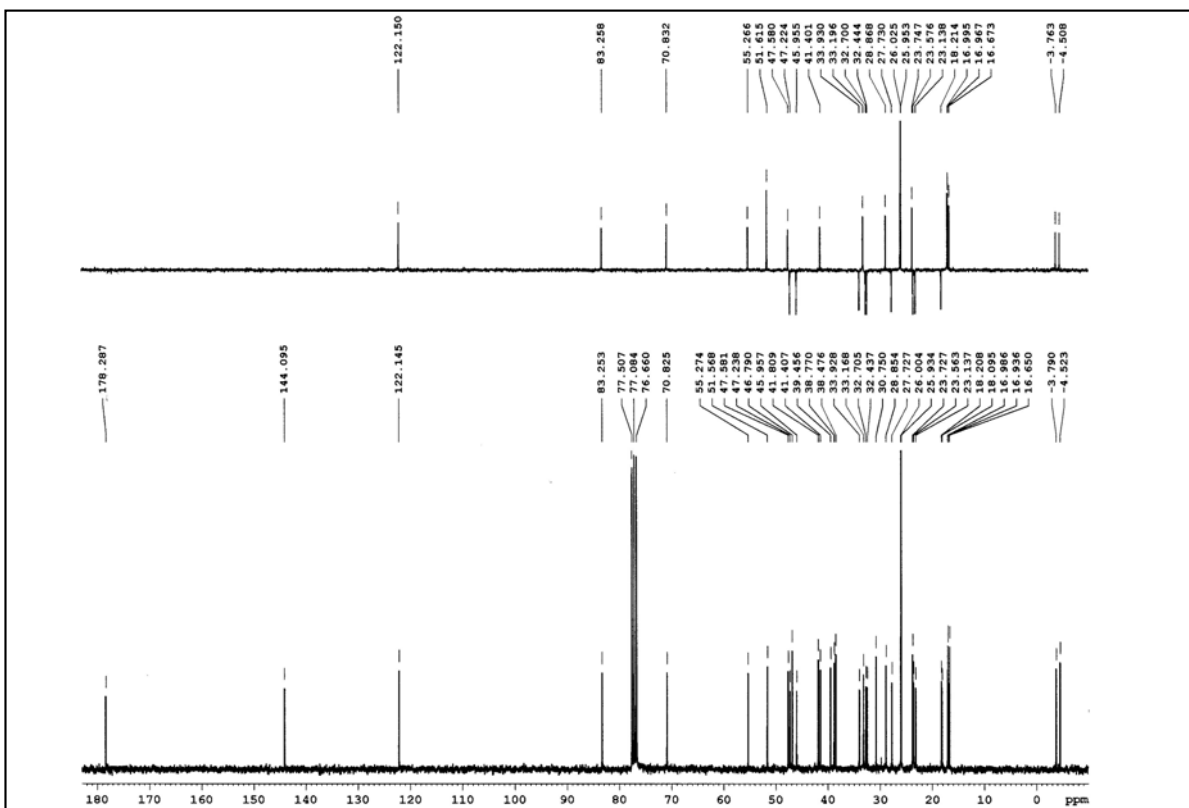
Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 34

Espectro de ^1H RMN del compuesto 35Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 35

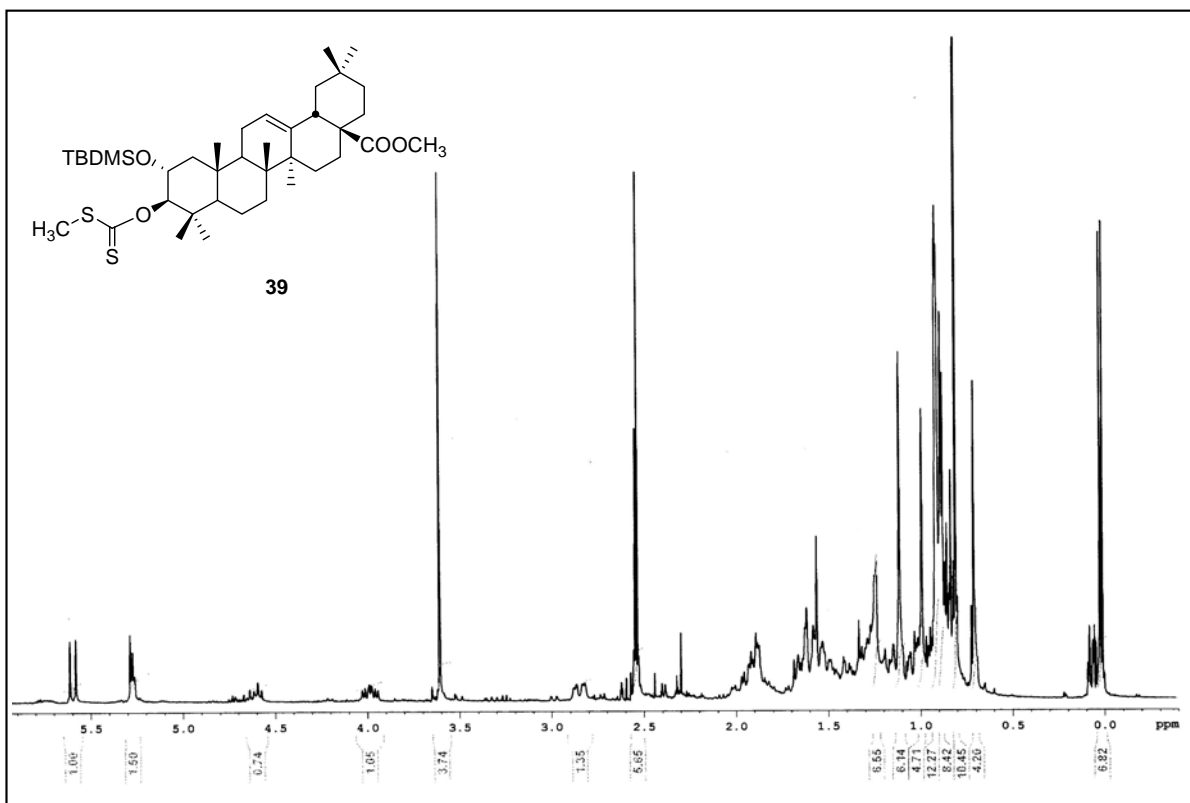
Espectro de ^1H RMN del compuesto 36Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 36



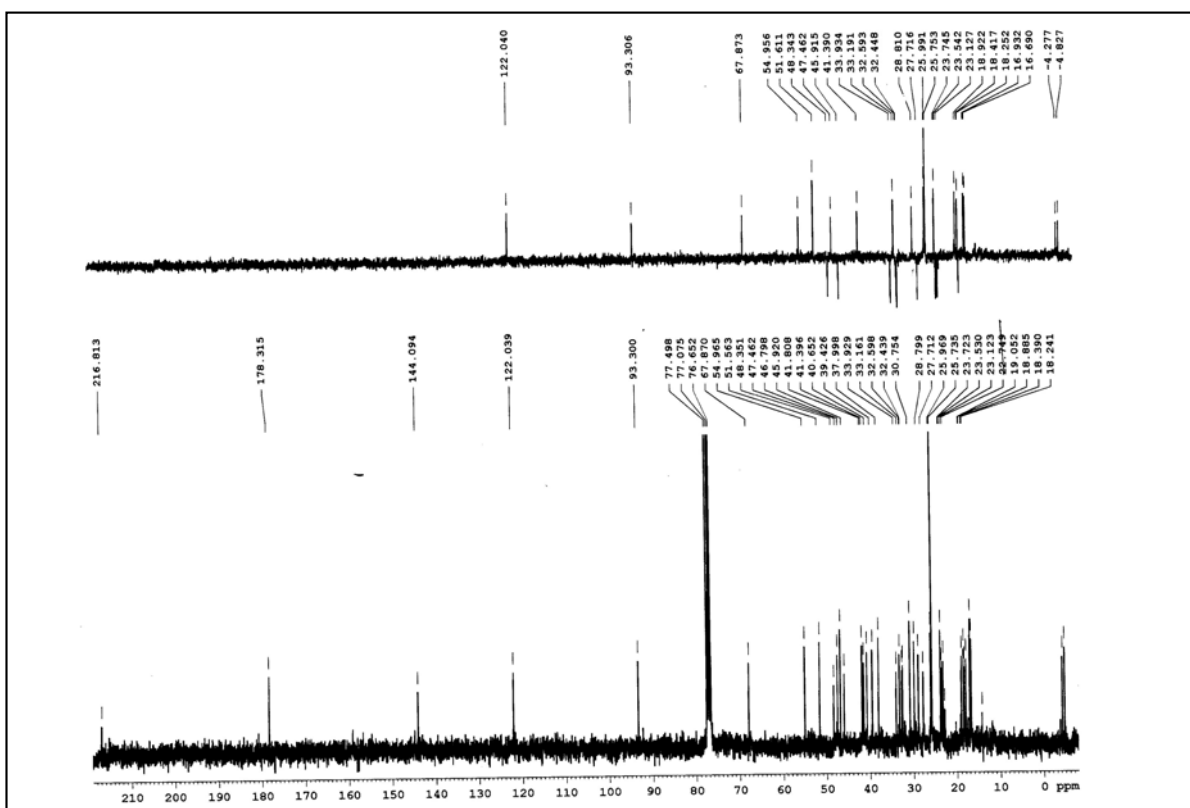
Espectro de ¹H RMN del compuesto **38**



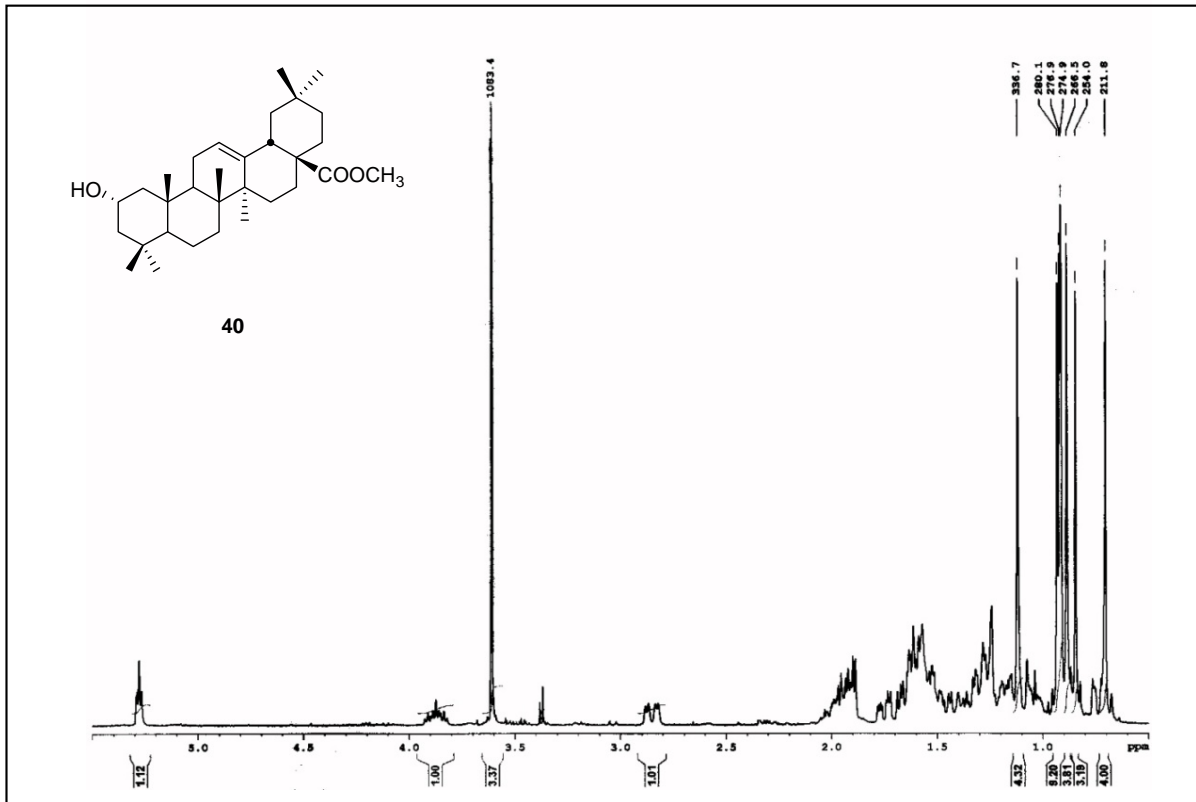
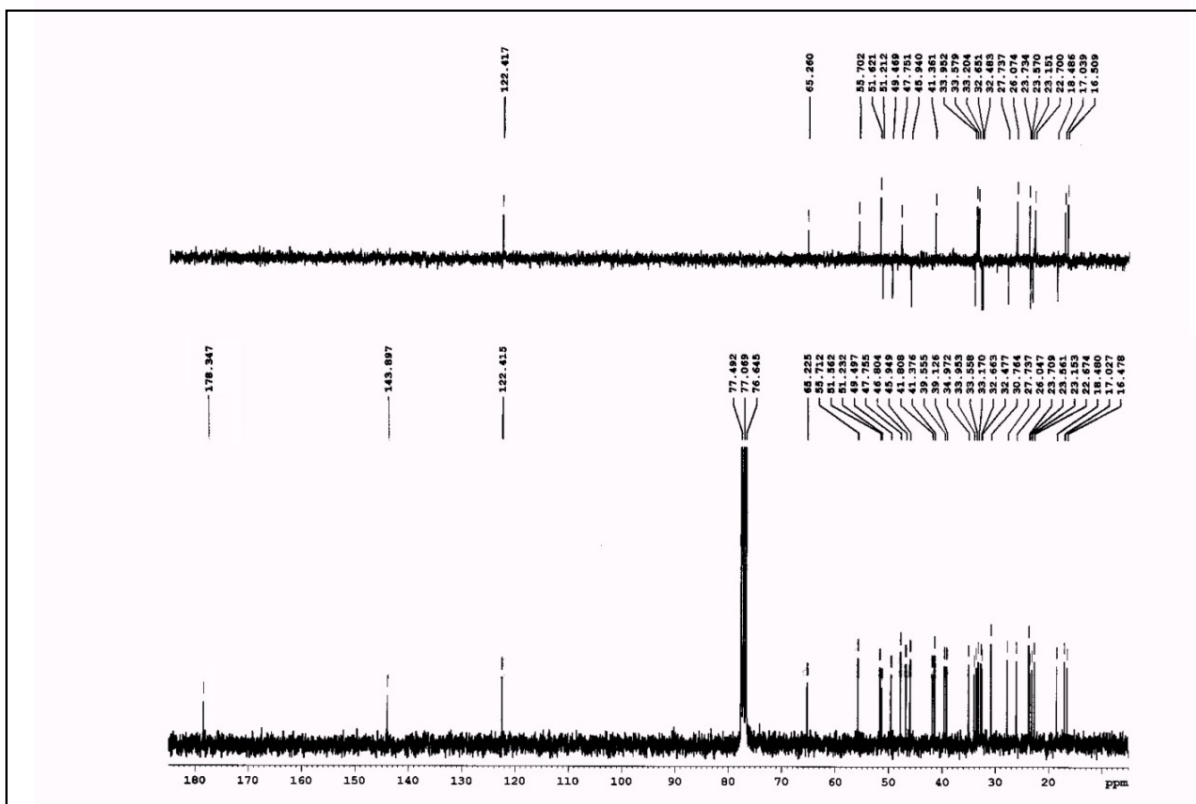
Espectro de ¹³C RMN del compuesto **38**

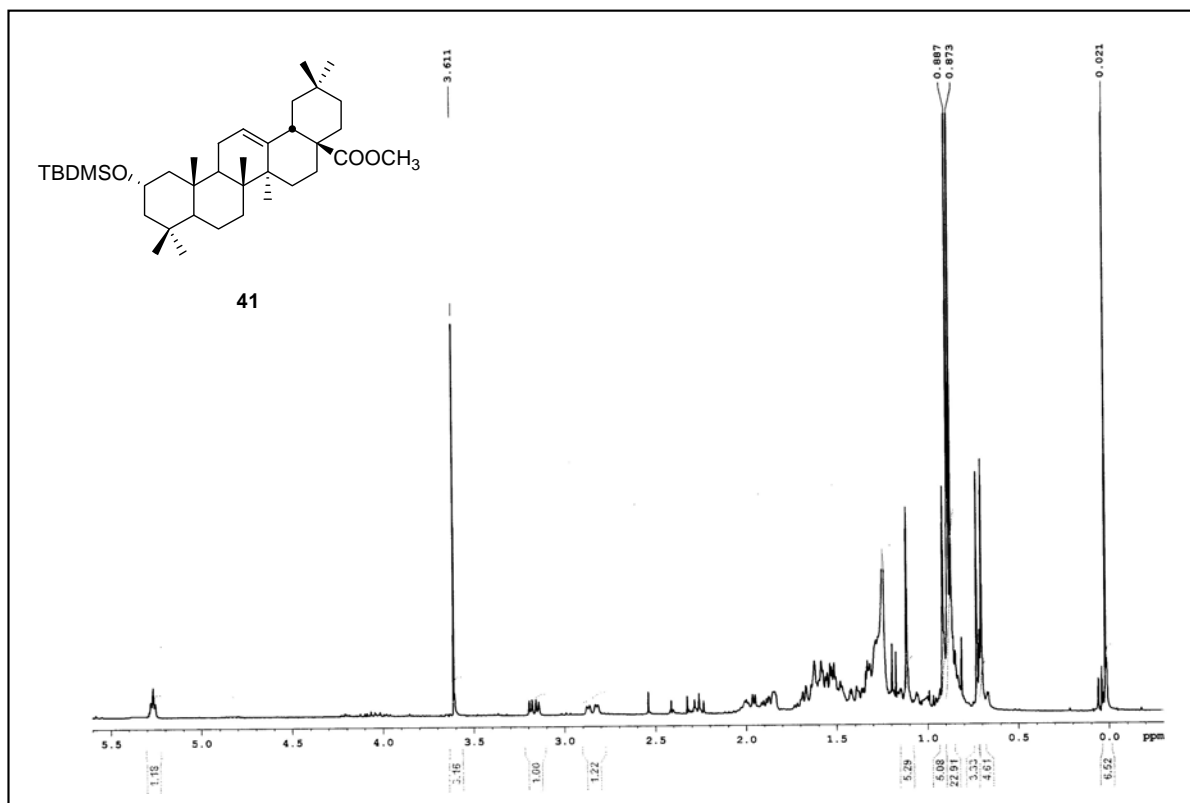
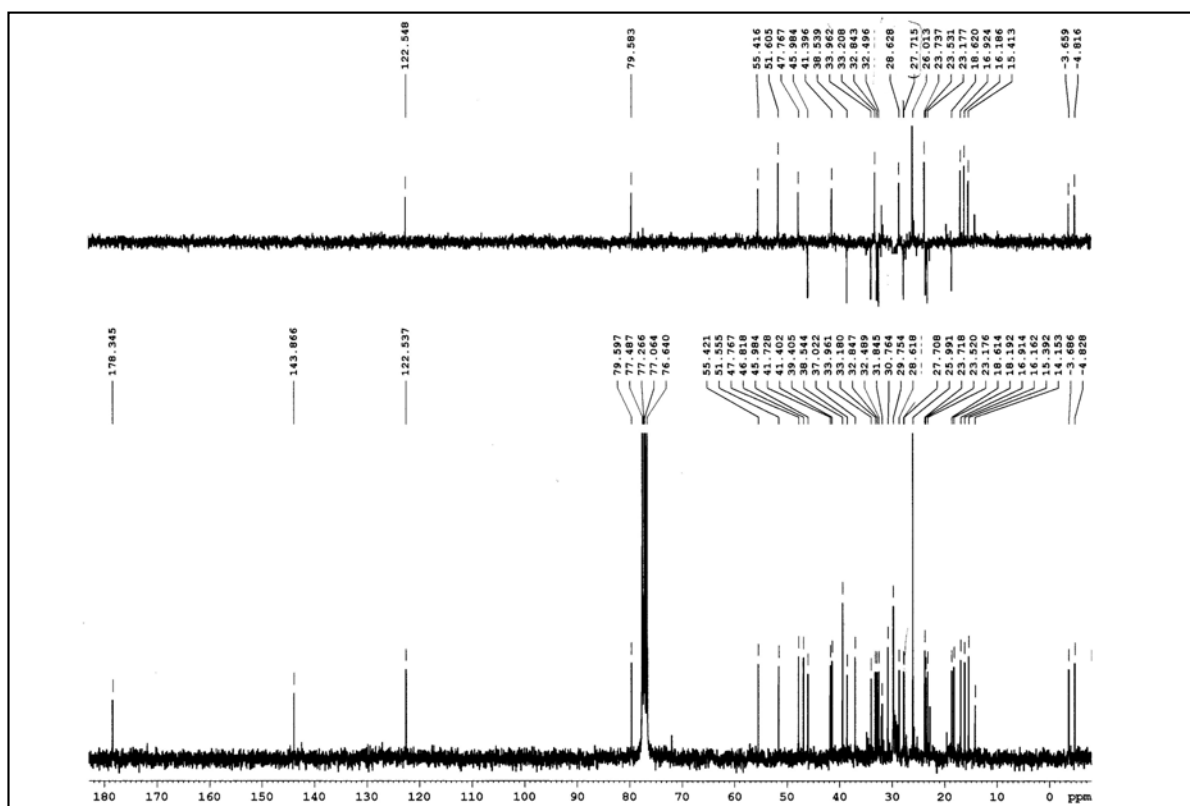


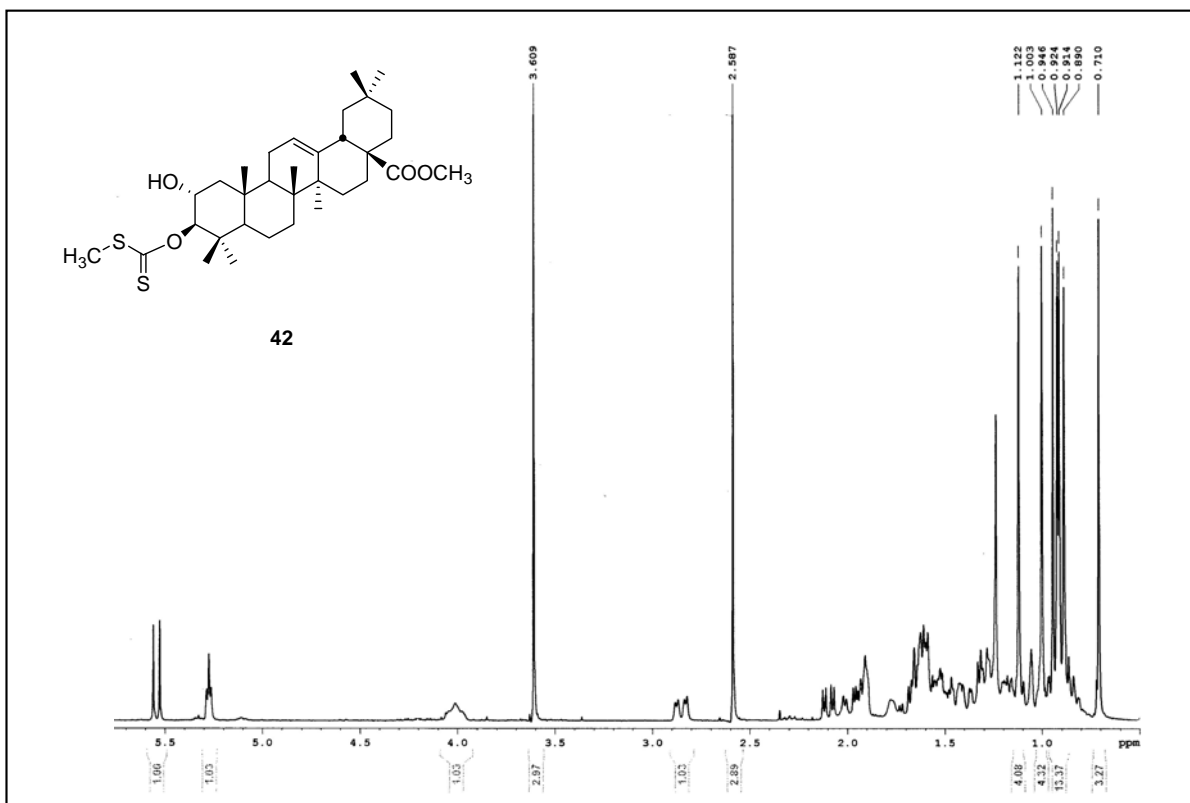
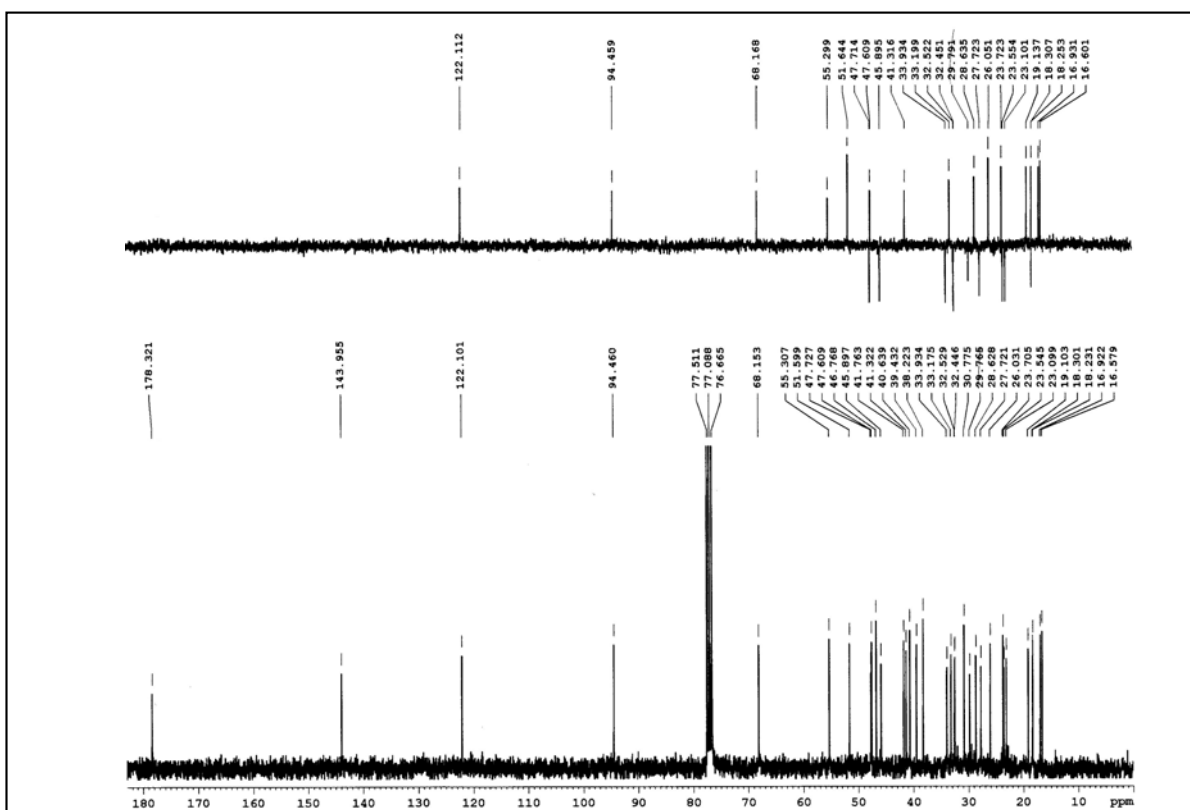
Espectro de ^1H RMN del compuesto **39**

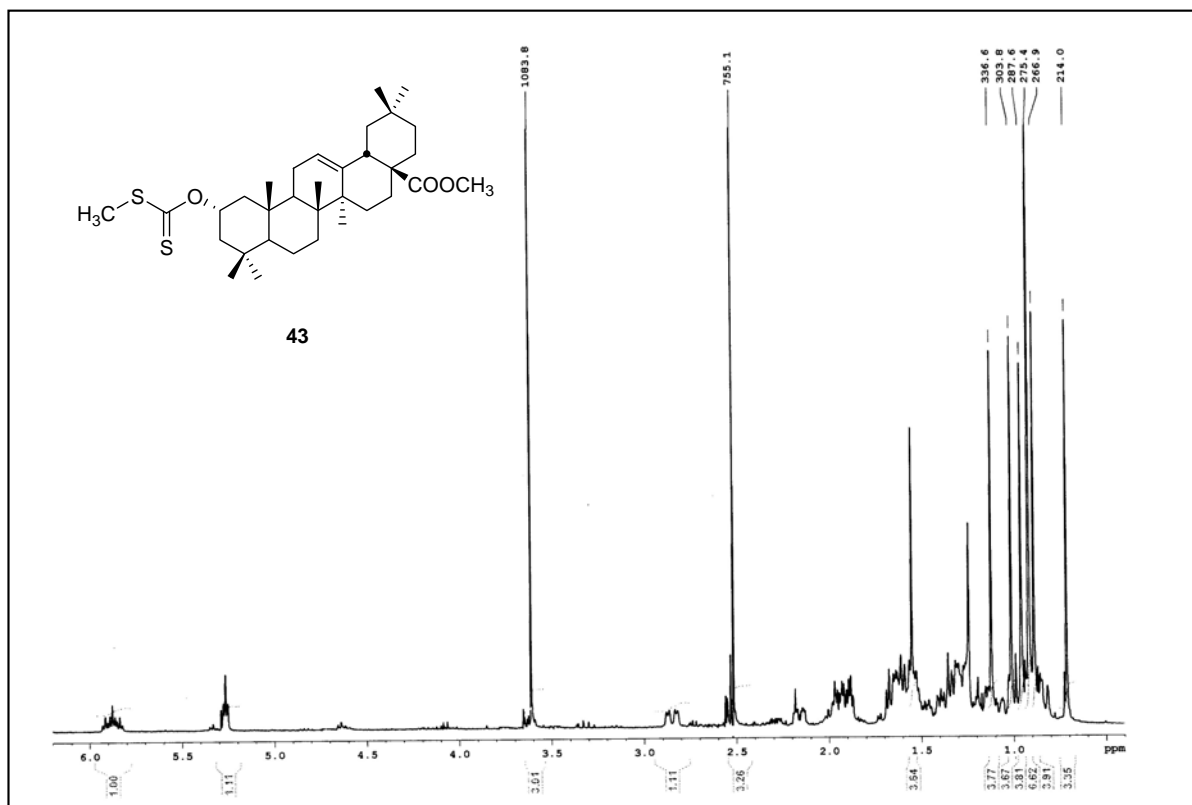


Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **39**

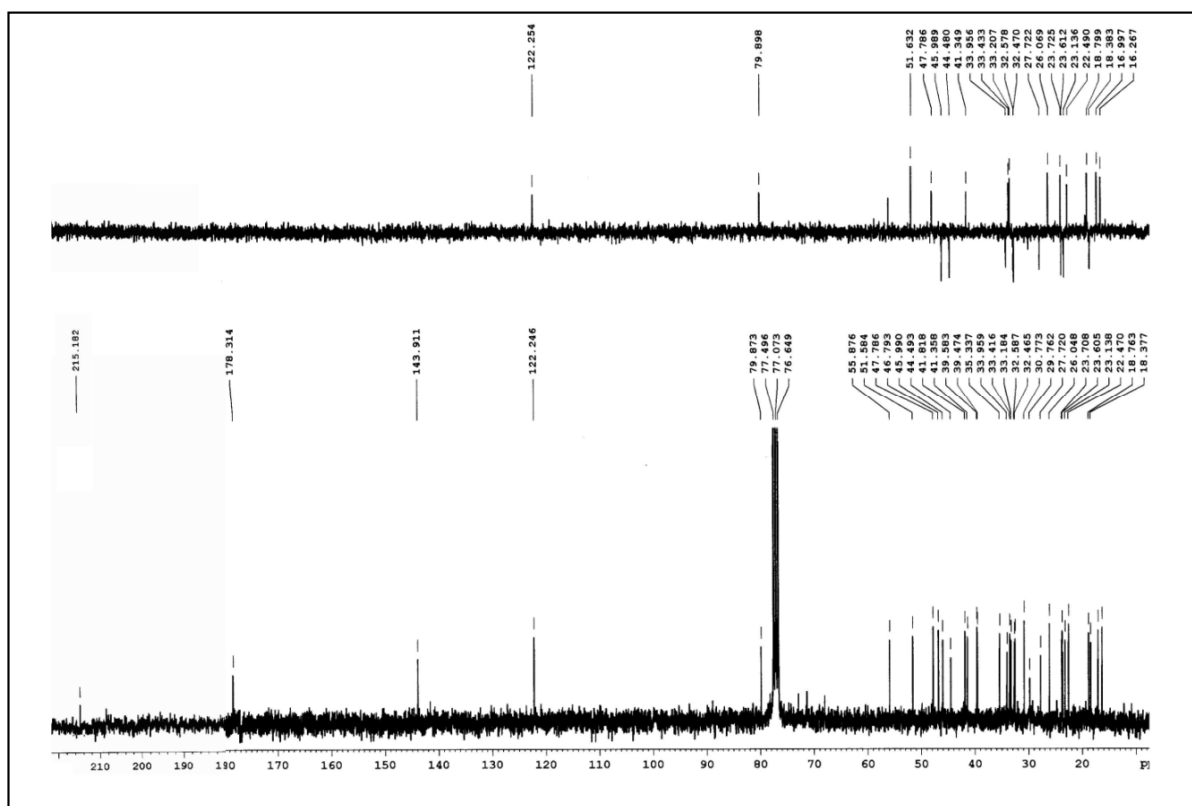
Espectro de ^1H RMN del compuesto 40Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 40

Espectro de ¹H RMN del compuesto 41Espectro de ¹³C RMN del compuesto 41

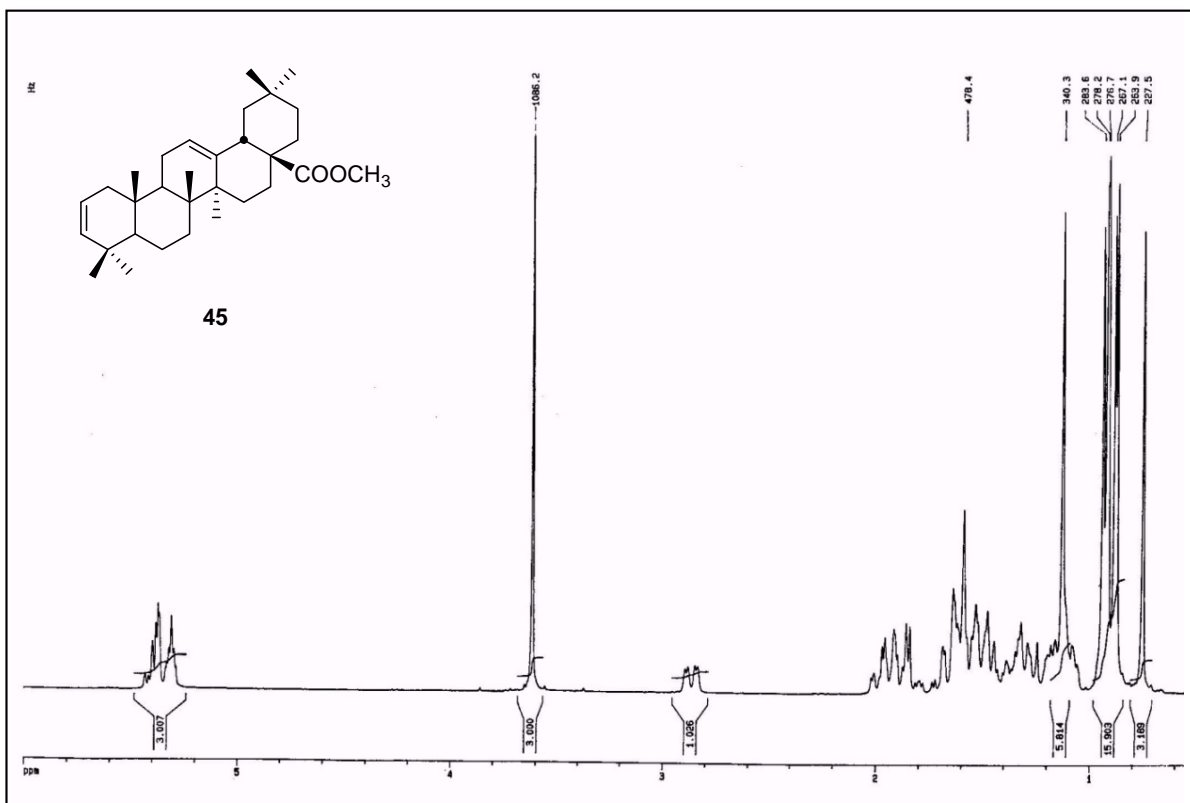
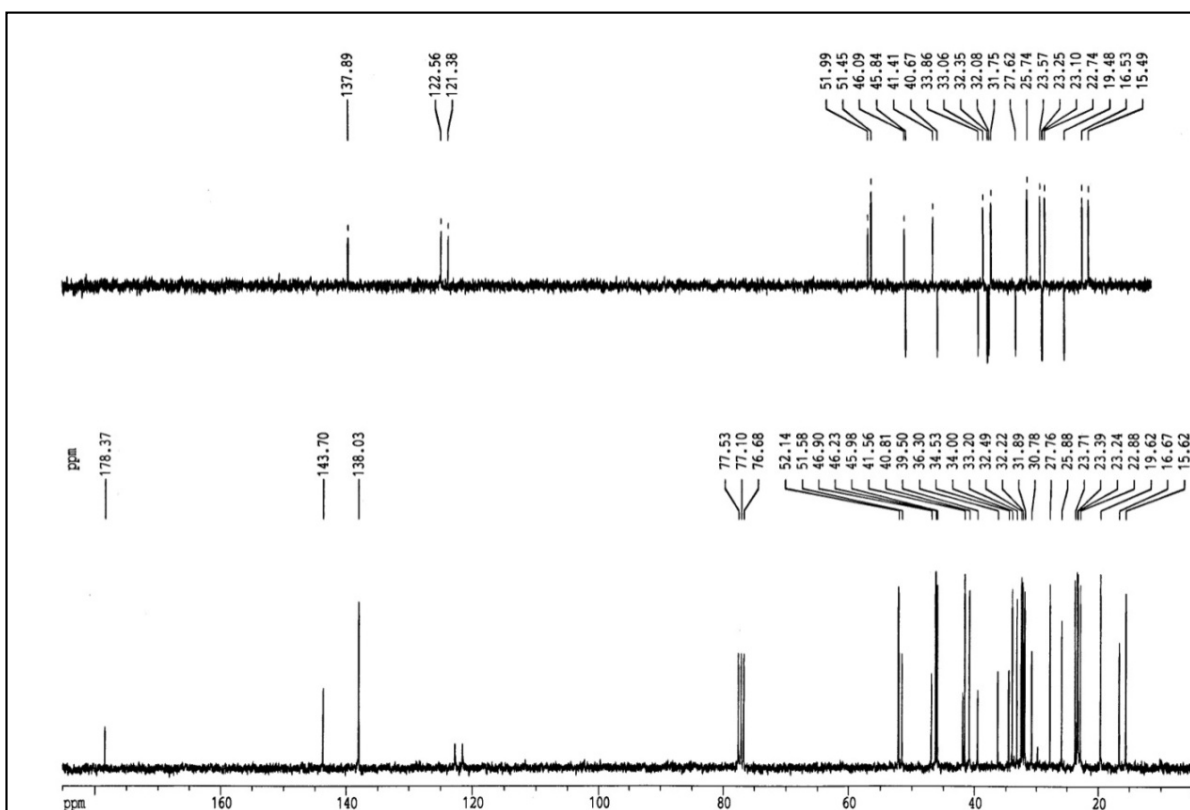
Espectro de ^1H RMN del compuesto 42Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 42

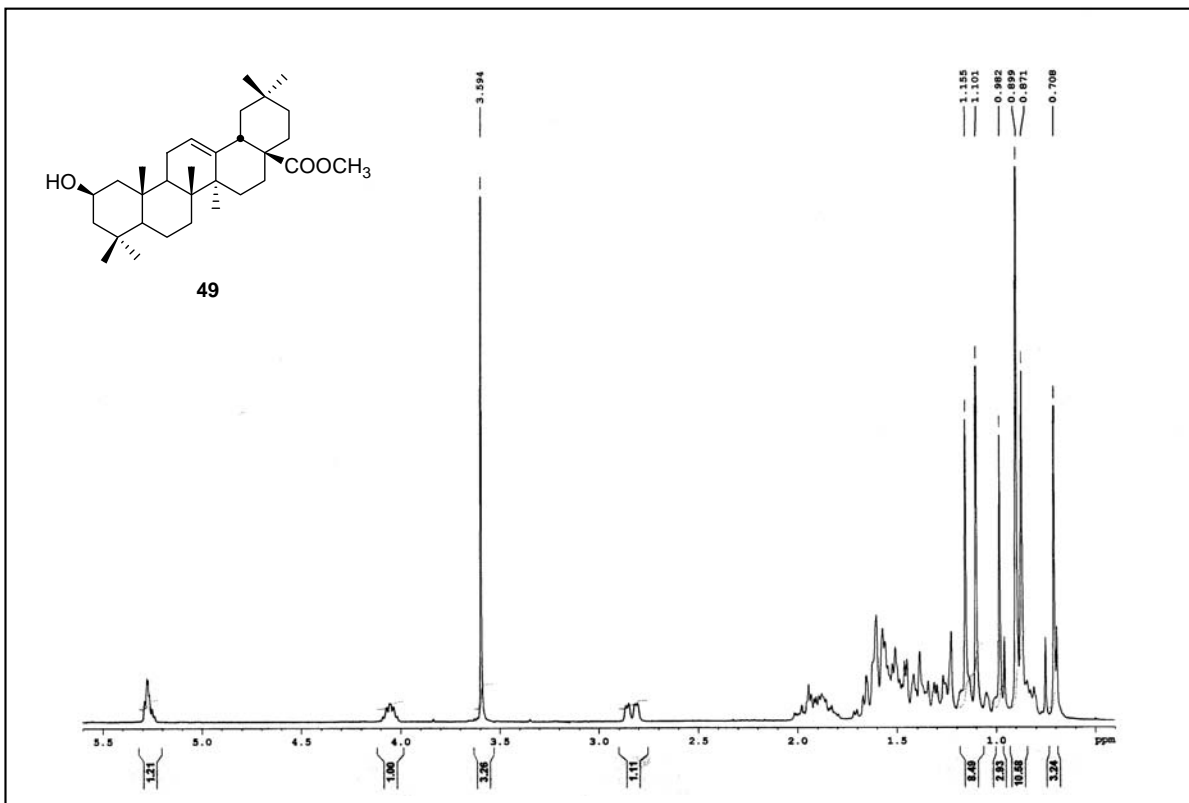


Espectro de ¹H RMN del compuesto 43

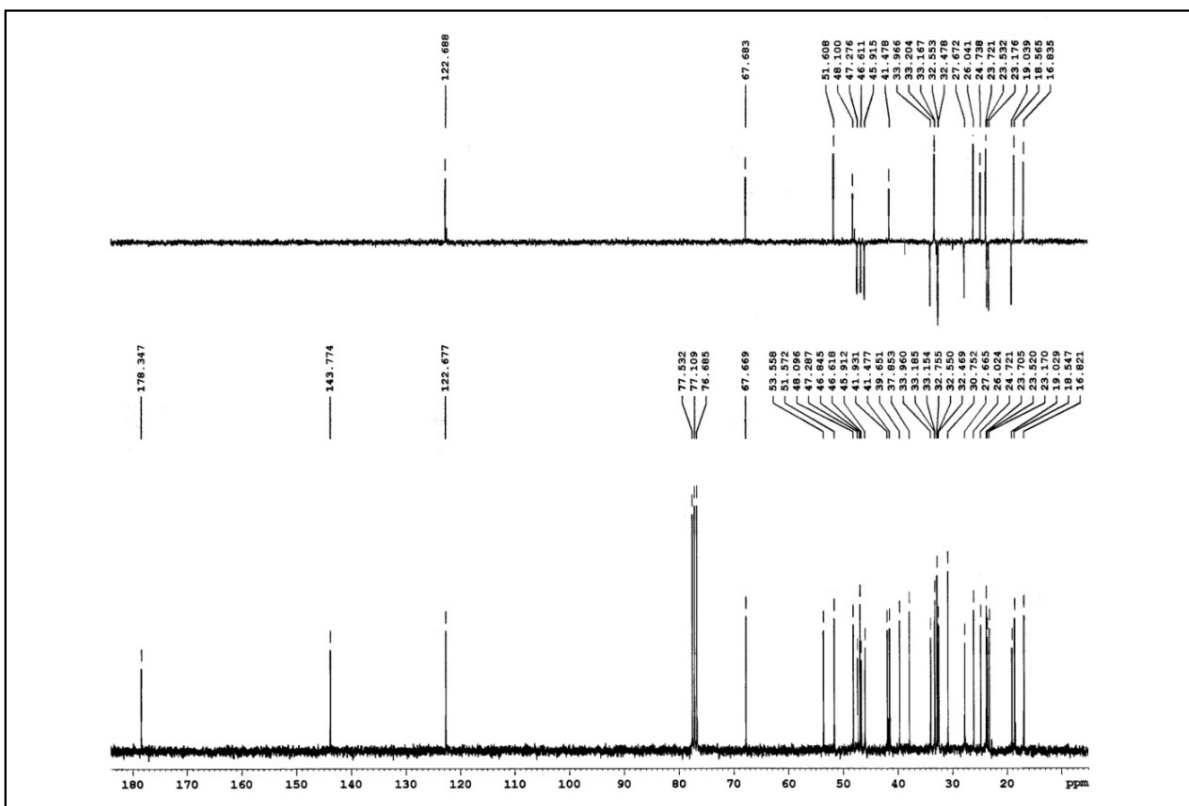


Espectro de ¹³C RMN del compuesto 43

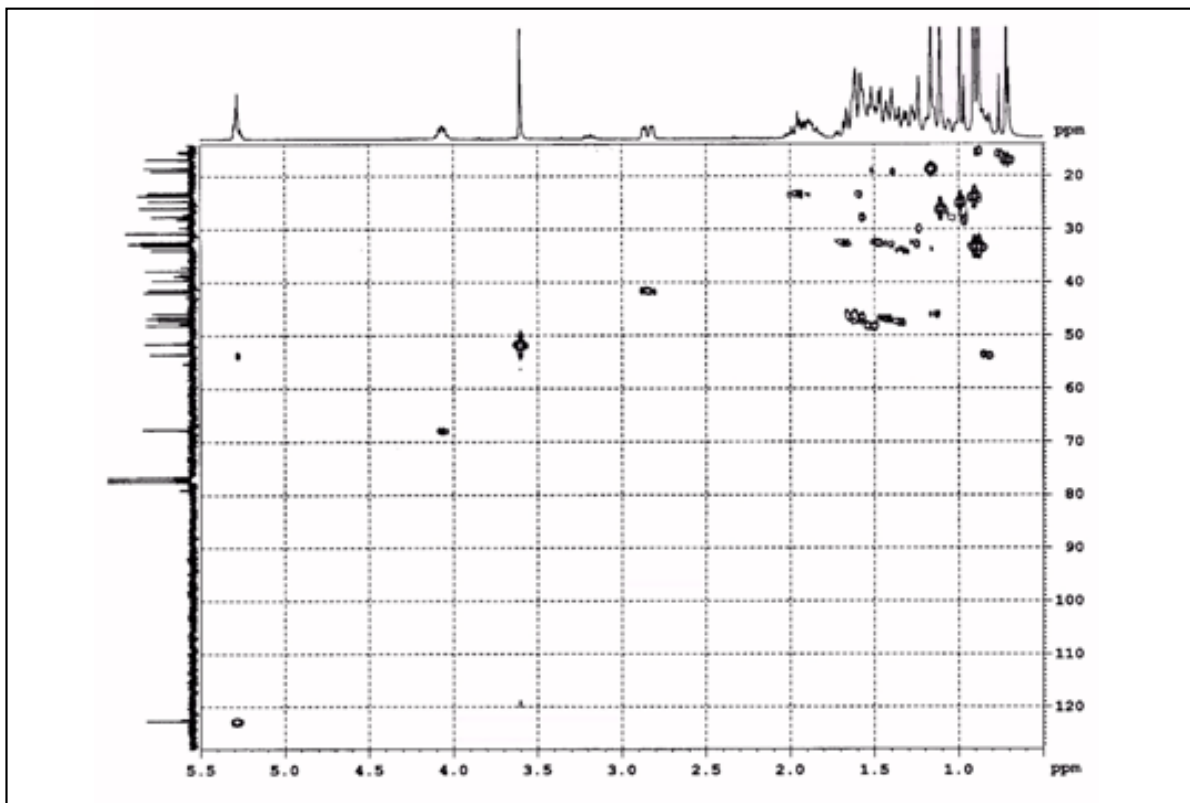
Espectro de ^1H RMN del compuesto 45Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 45



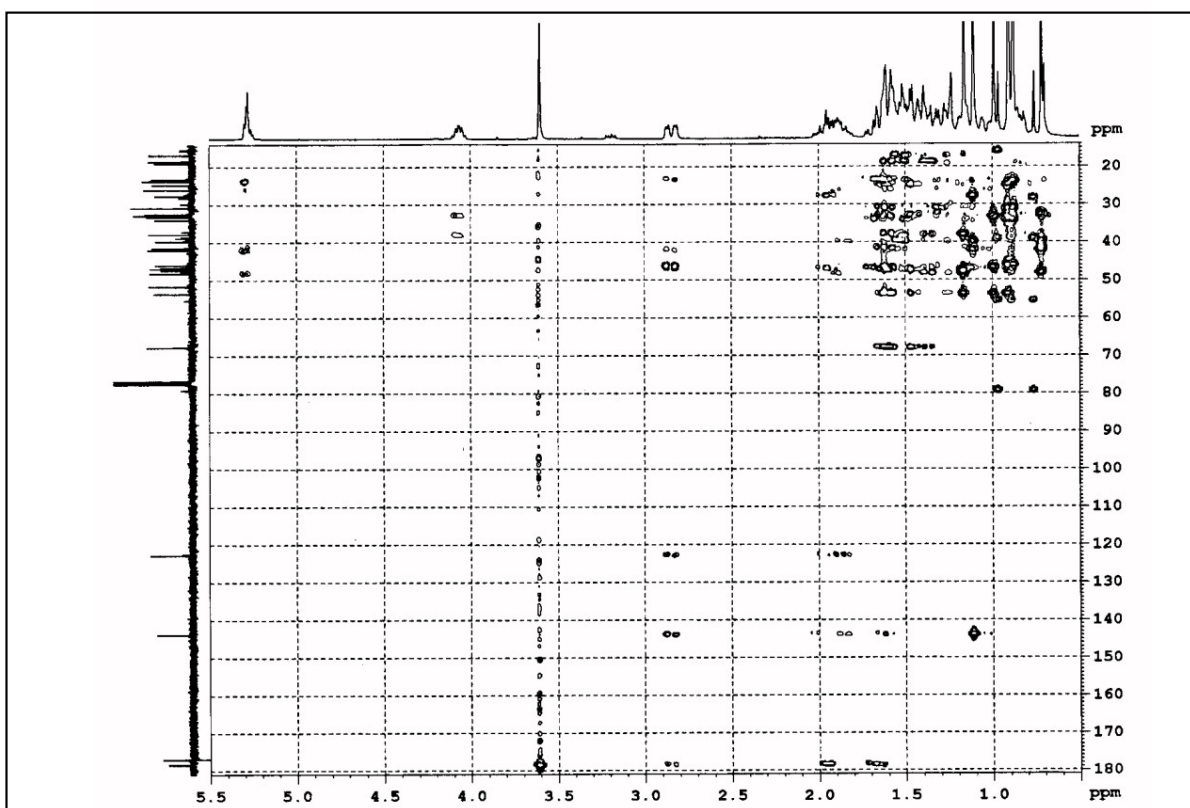
Espectro de ¹H RMN del compuesto 49



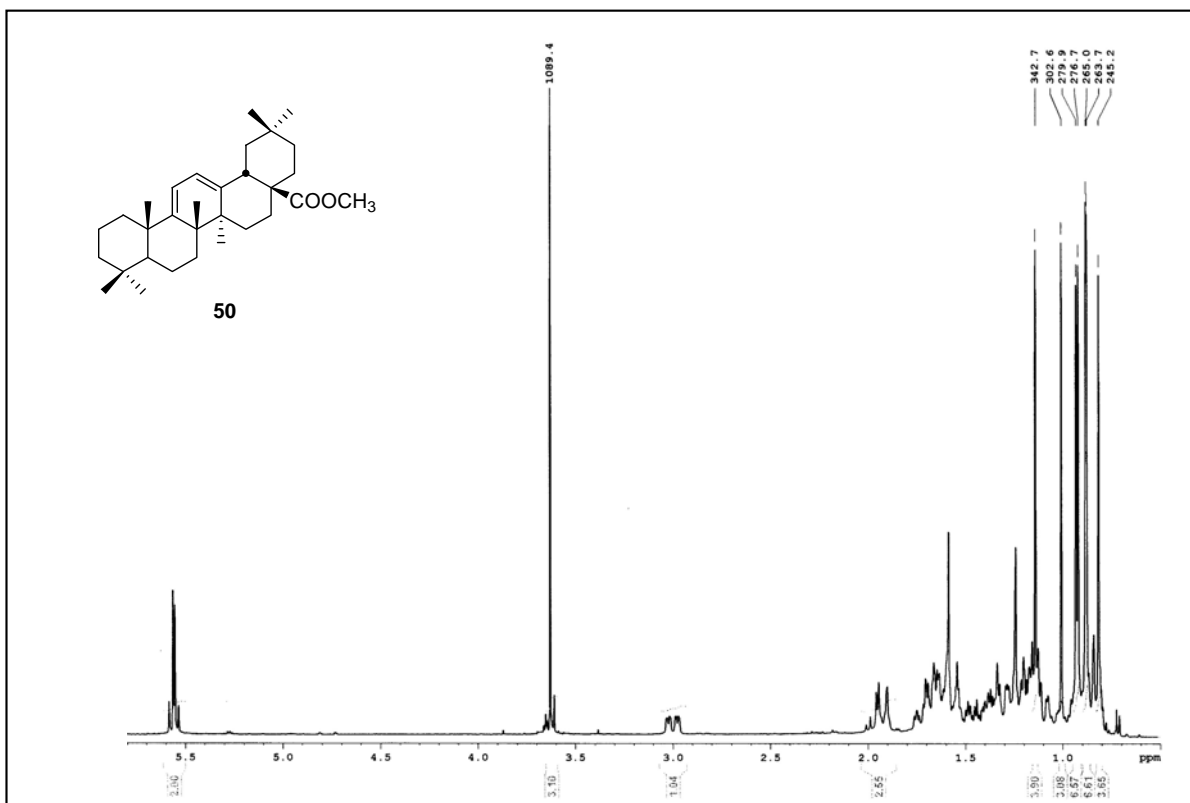
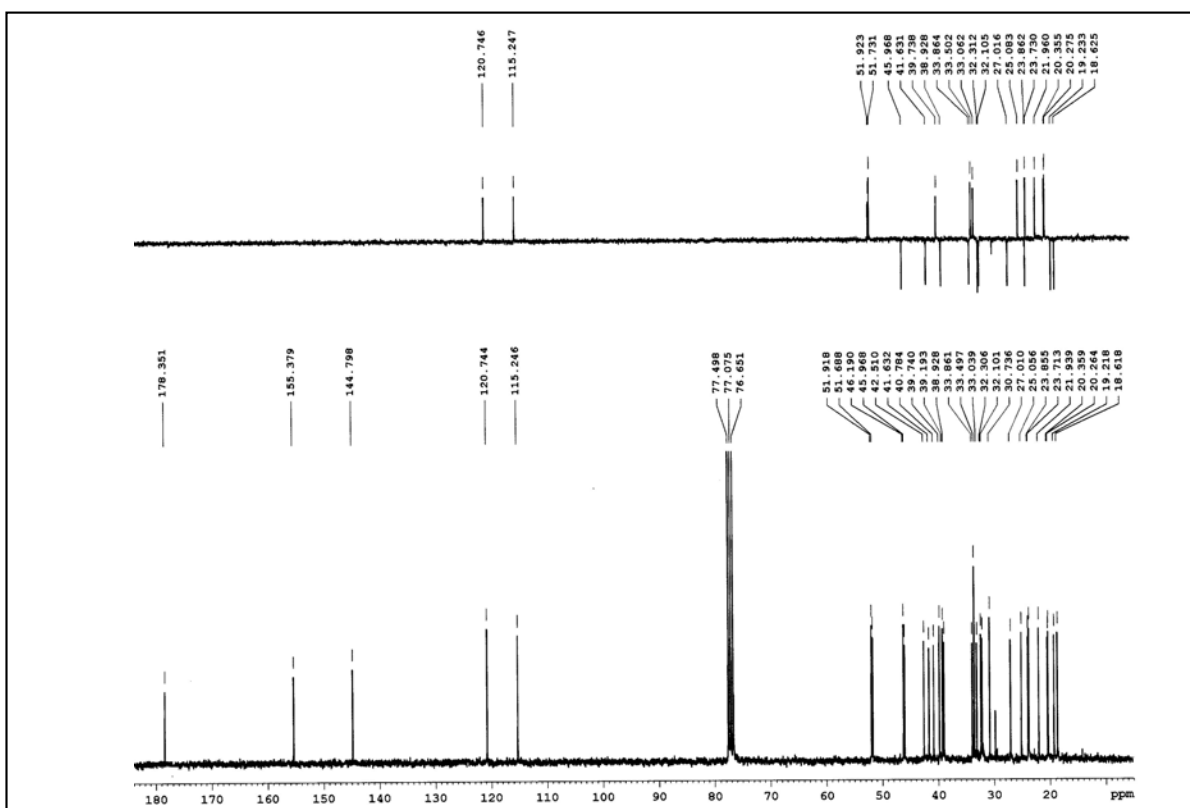
Espectro de ¹³C RMN del compuesto 49

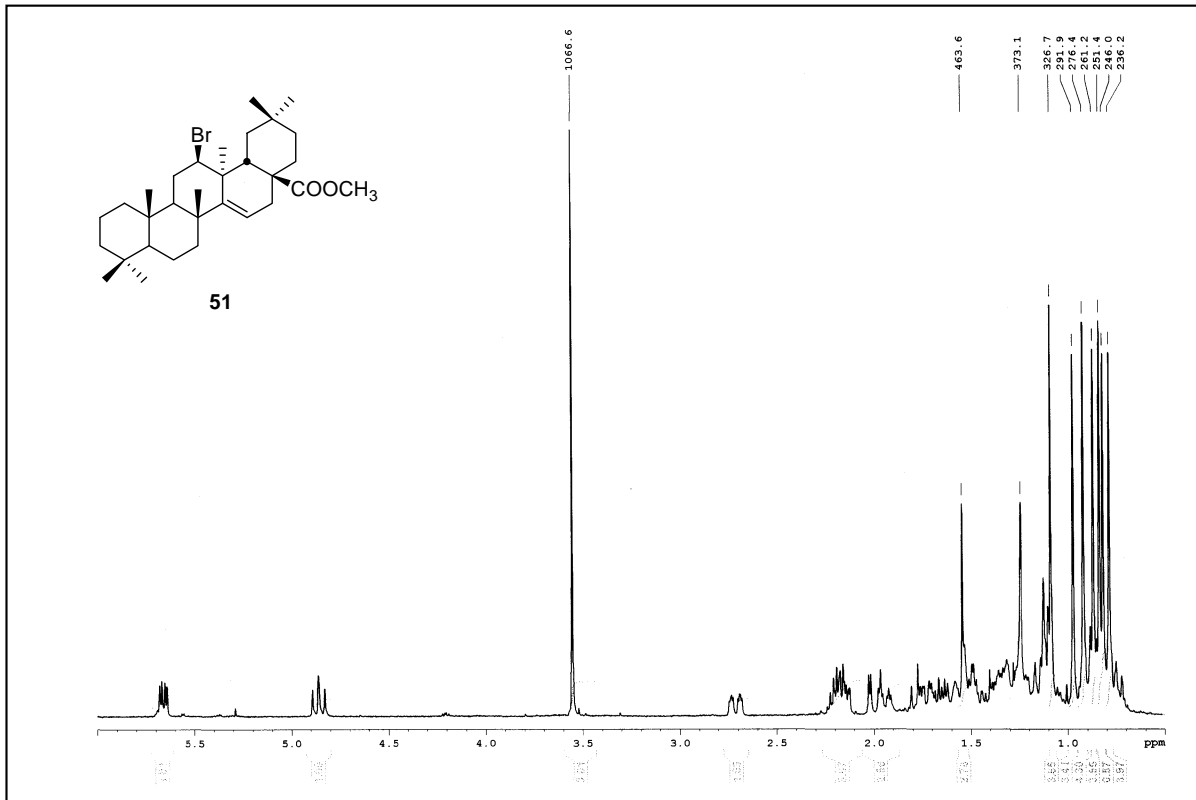
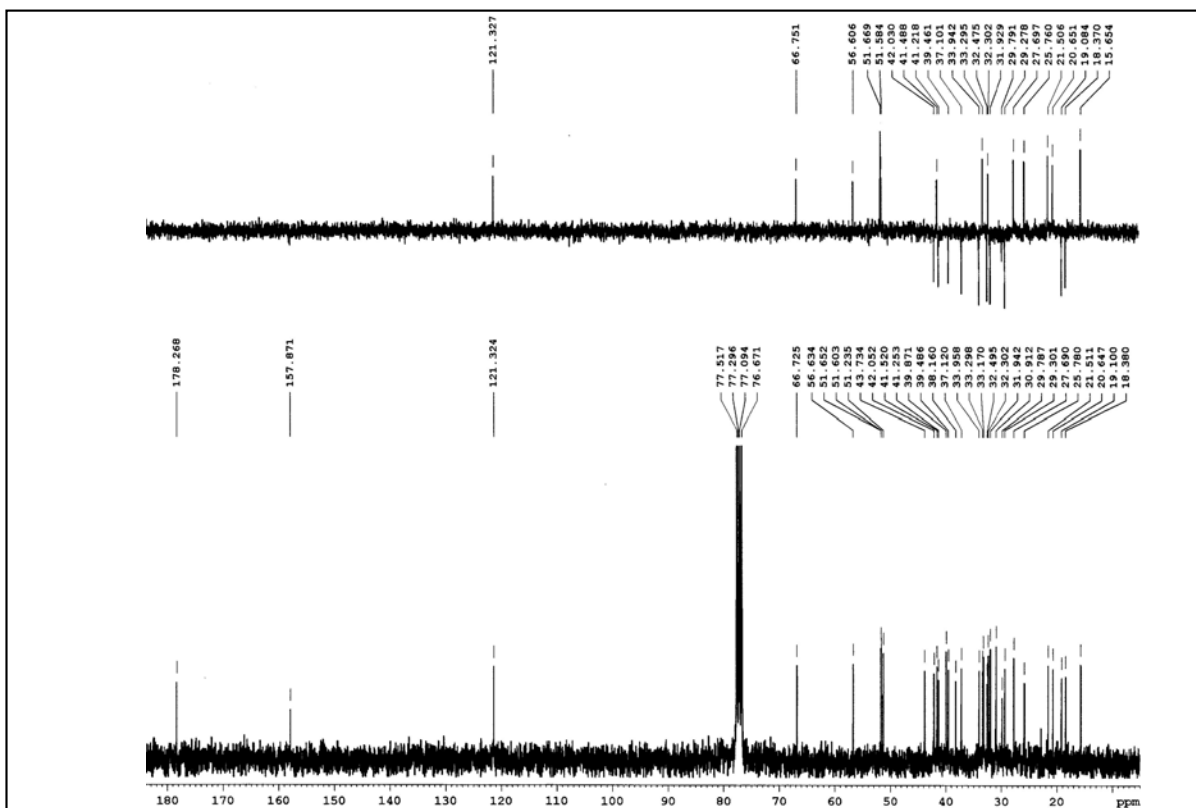


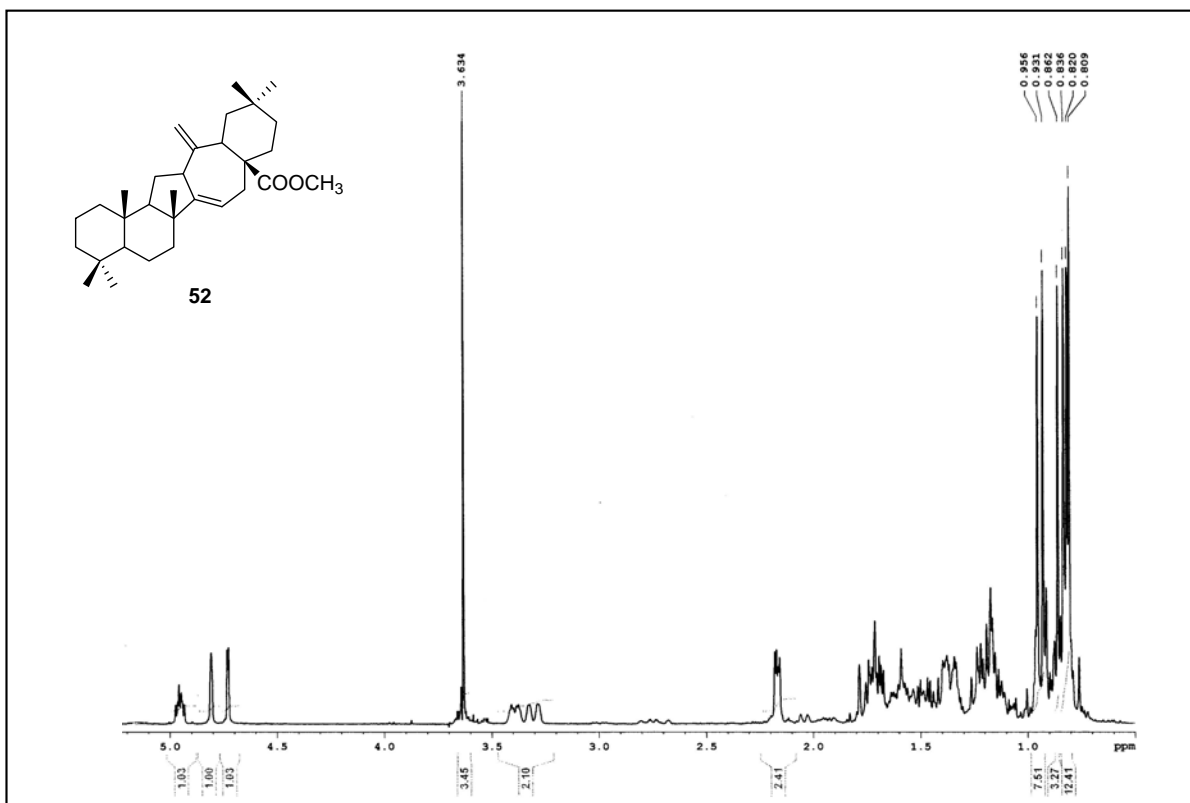
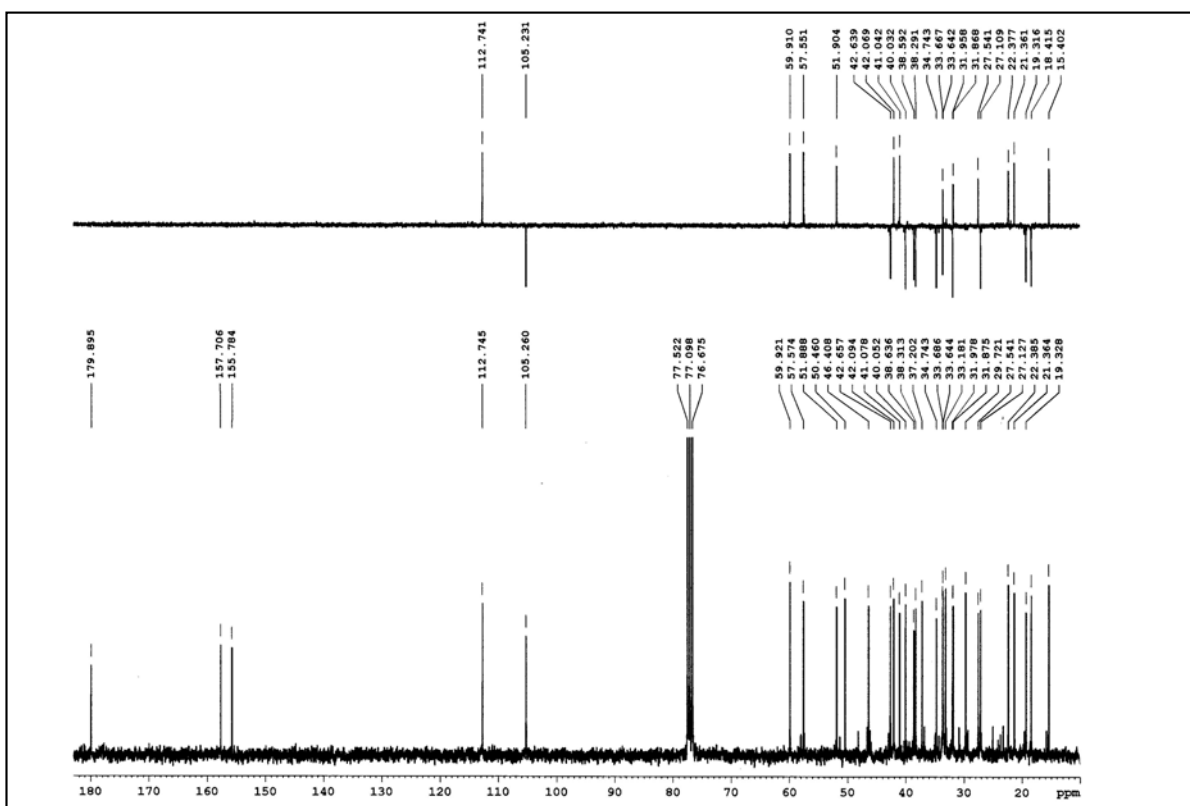
Espectro de HMQC del compuesto 49

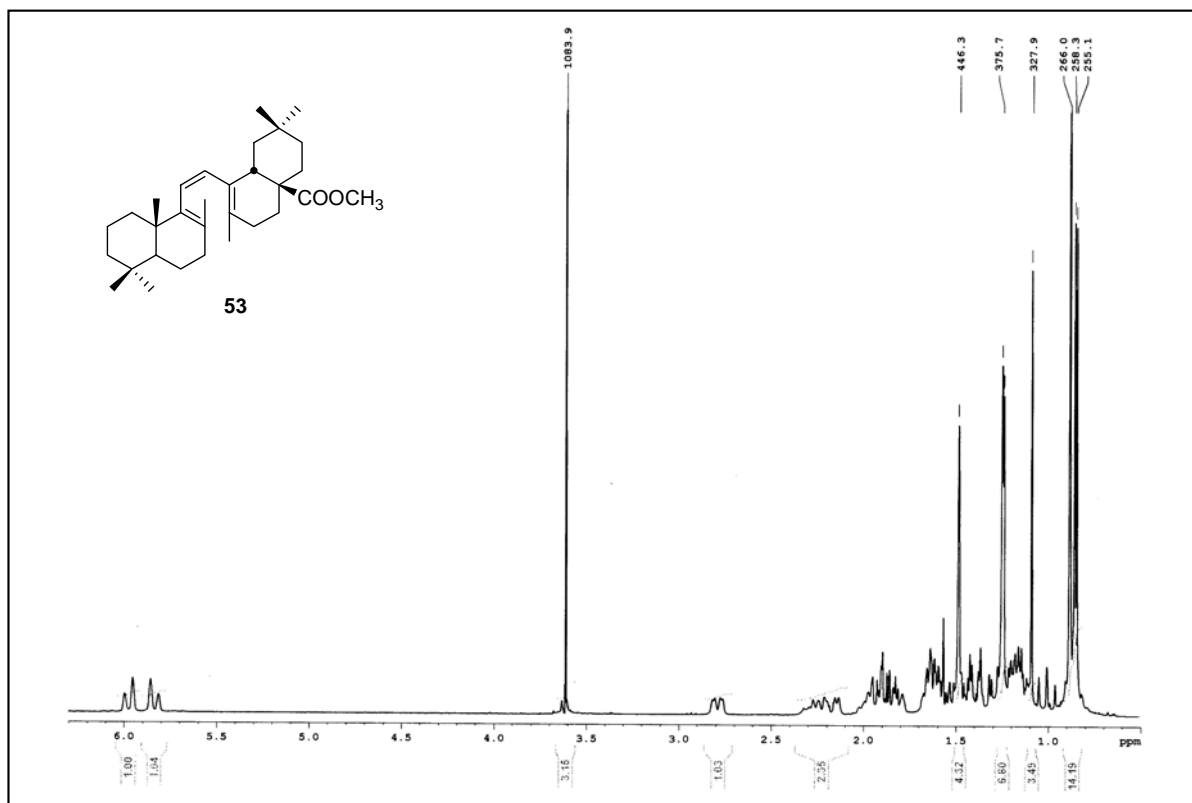


Espectro de HMBC del compuesto 49

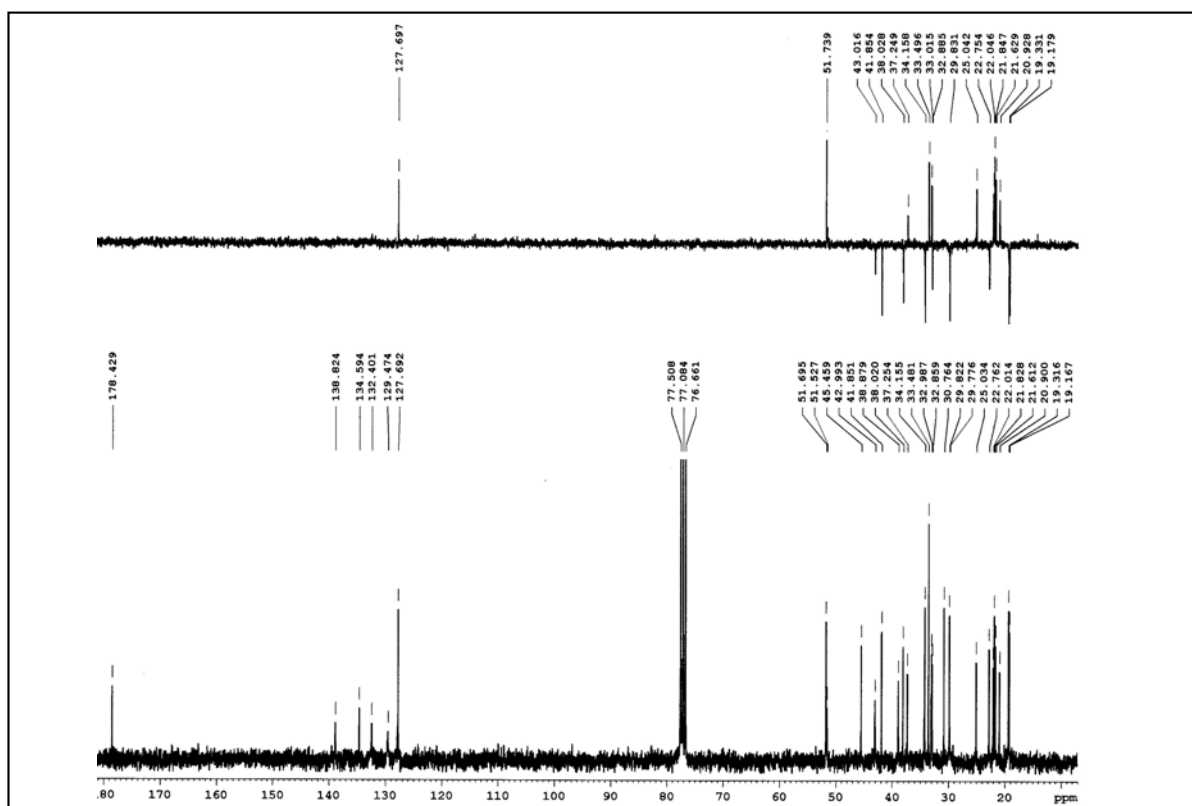
Espectro de ^1H RMN del compuesto **50**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **50**

Espectro de ^1H RMN del compuesto 51Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 51

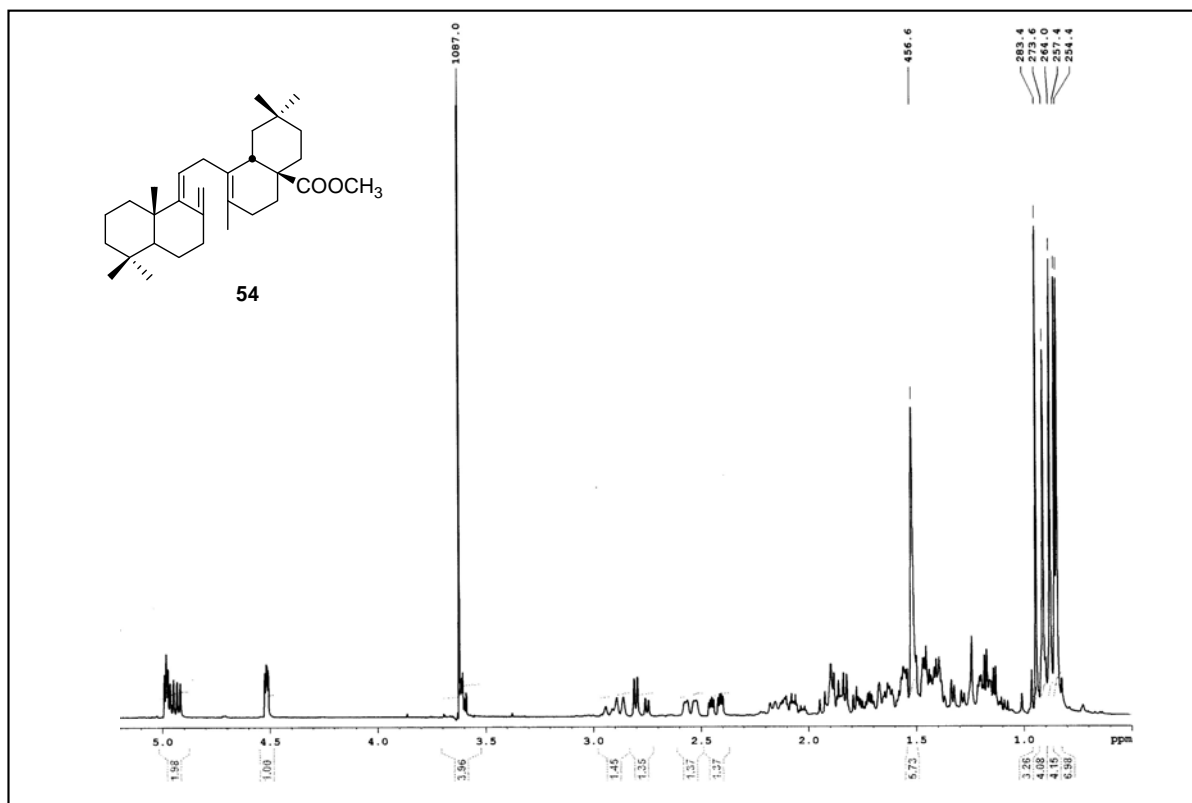
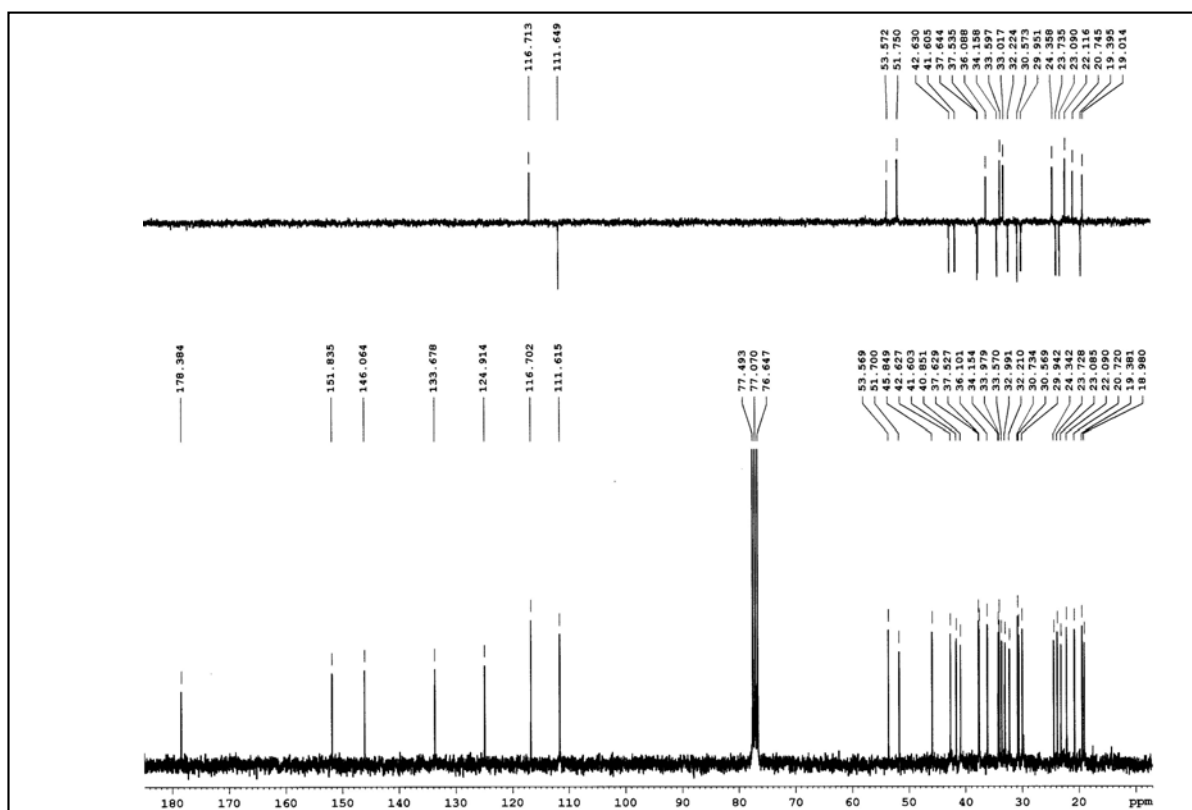
Espectro de ^1H RMN del compuesto **52**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **52**

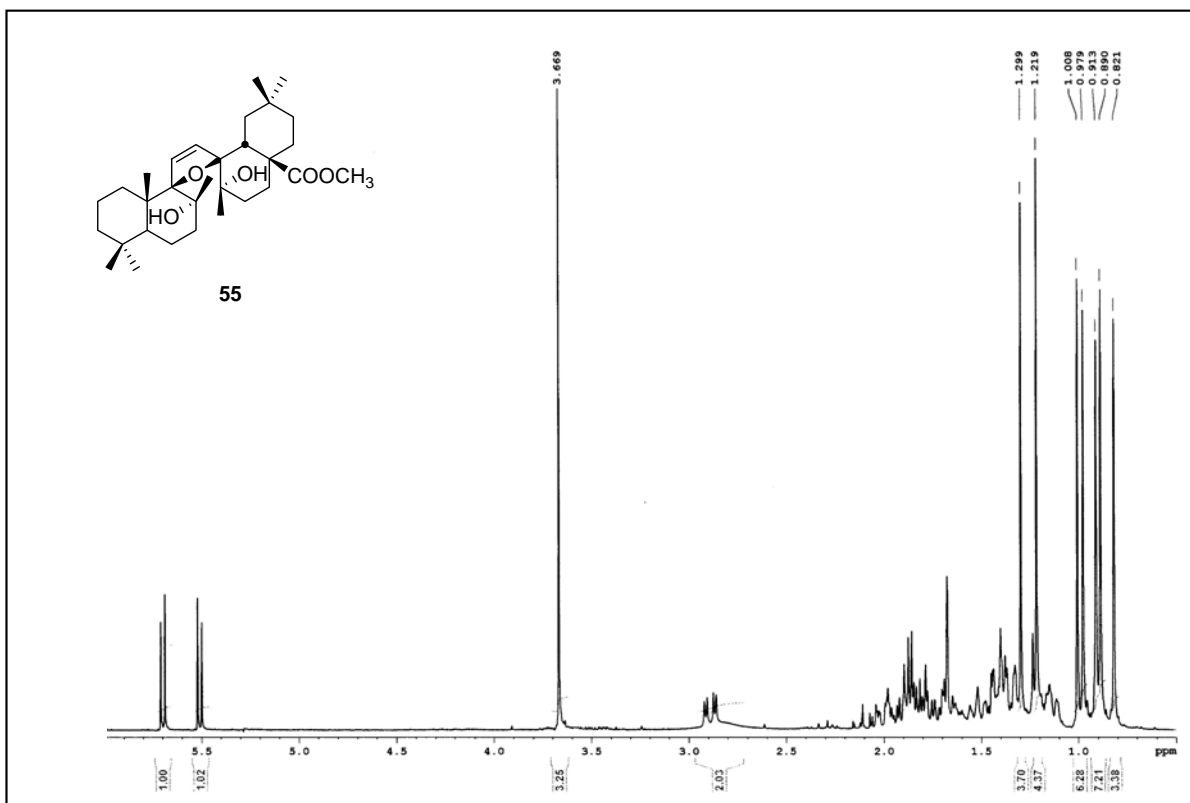


Espectro de ¹H RMN del compuesto 53

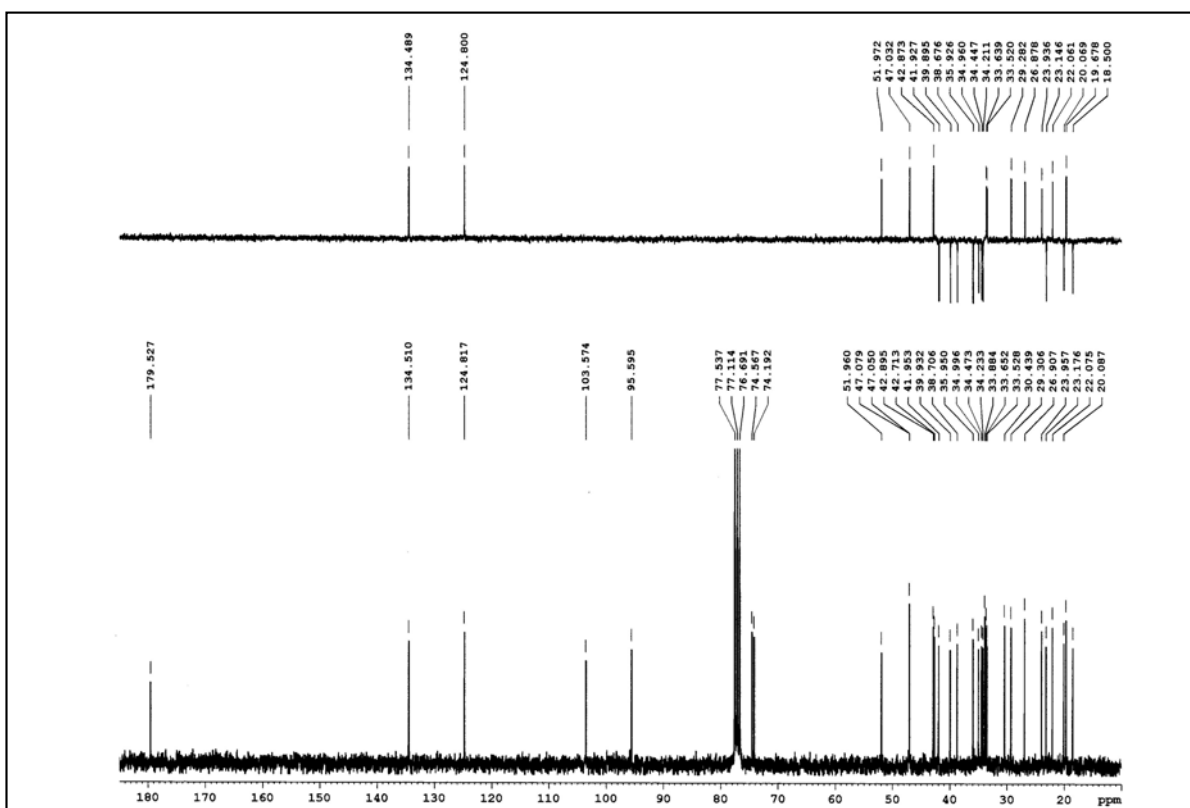


Espectro de ¹³C RMN del compuesto 53

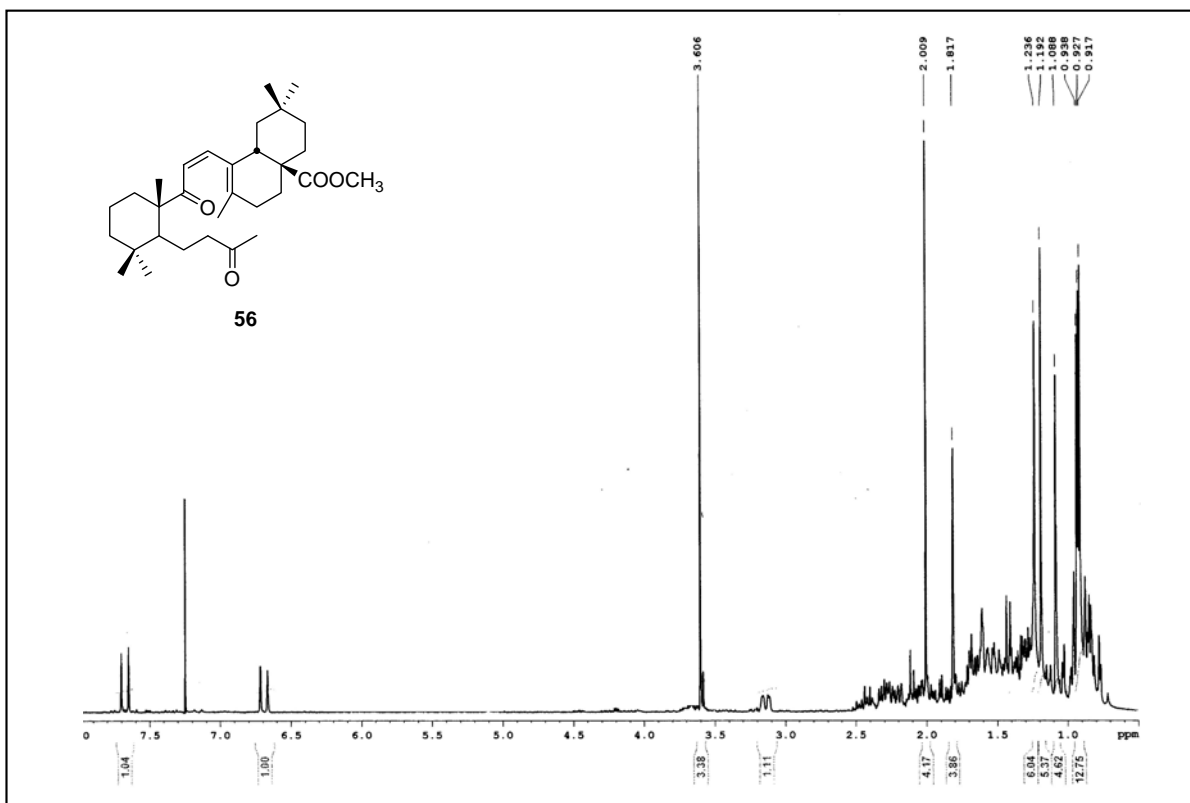
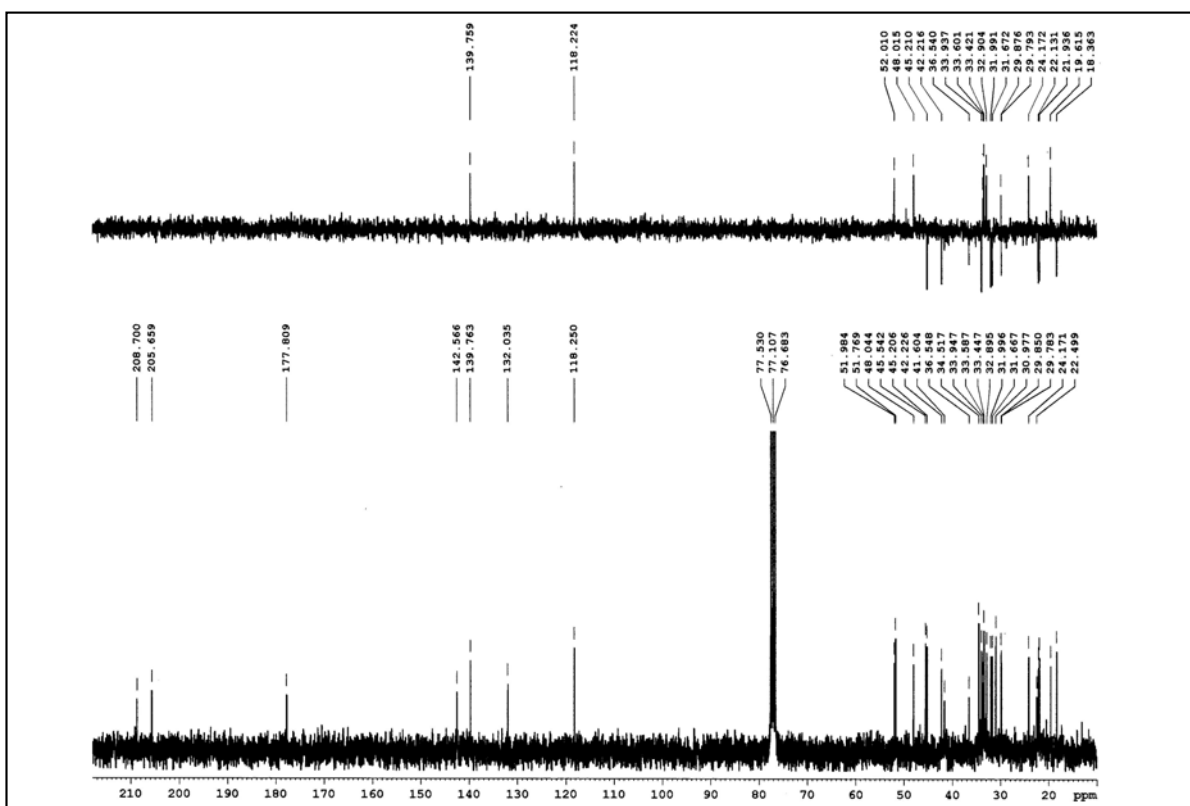
Espectro de ^1H RMN del compuesto 54Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 54

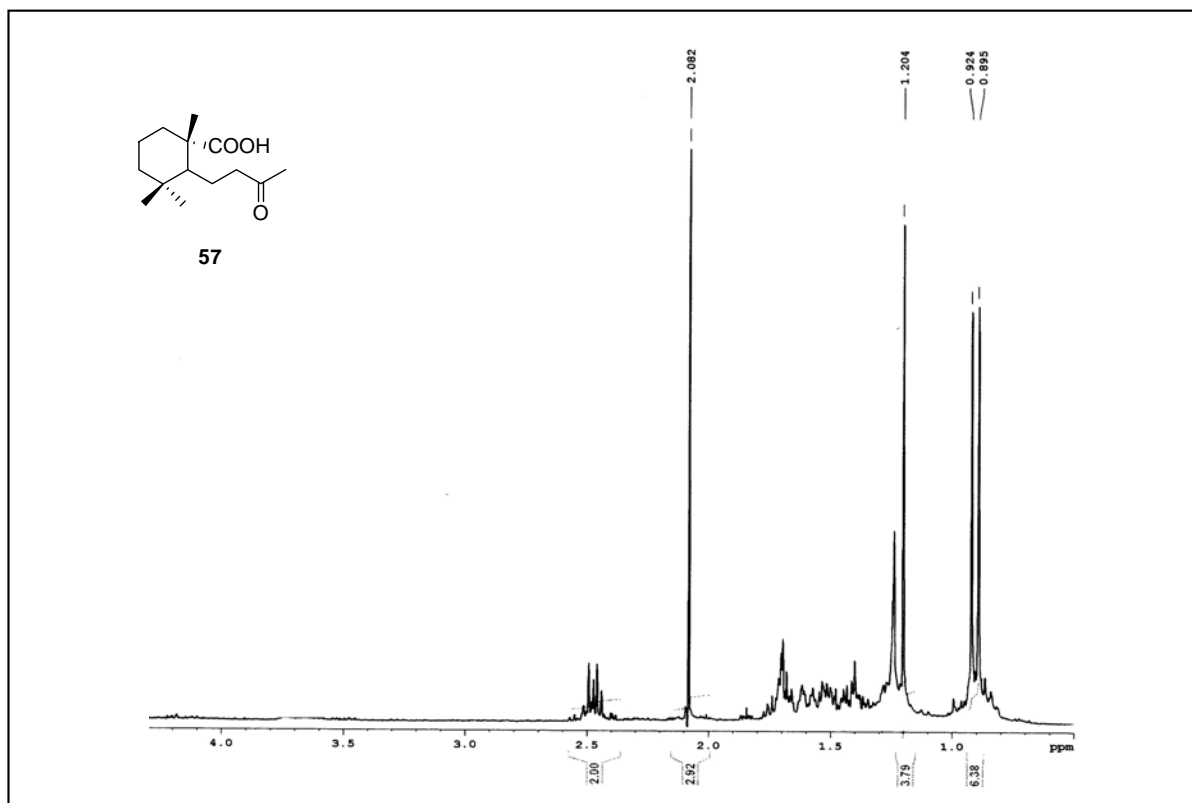
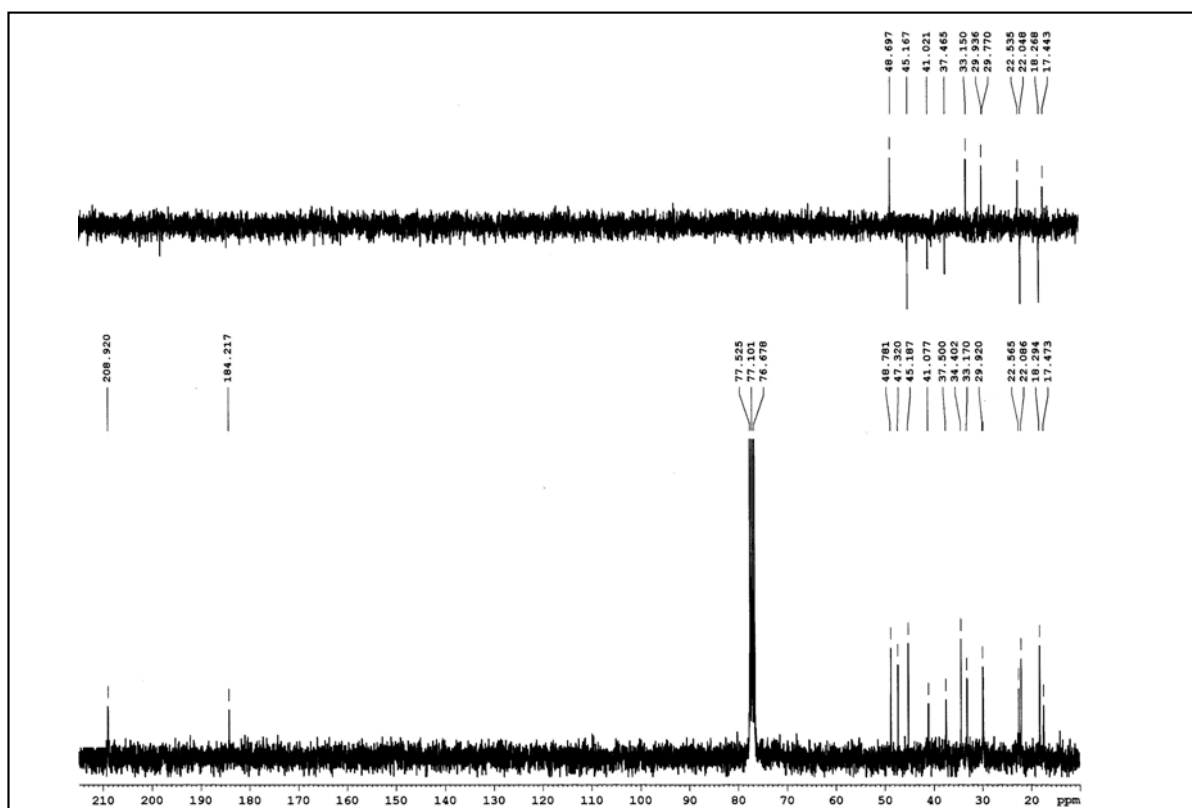


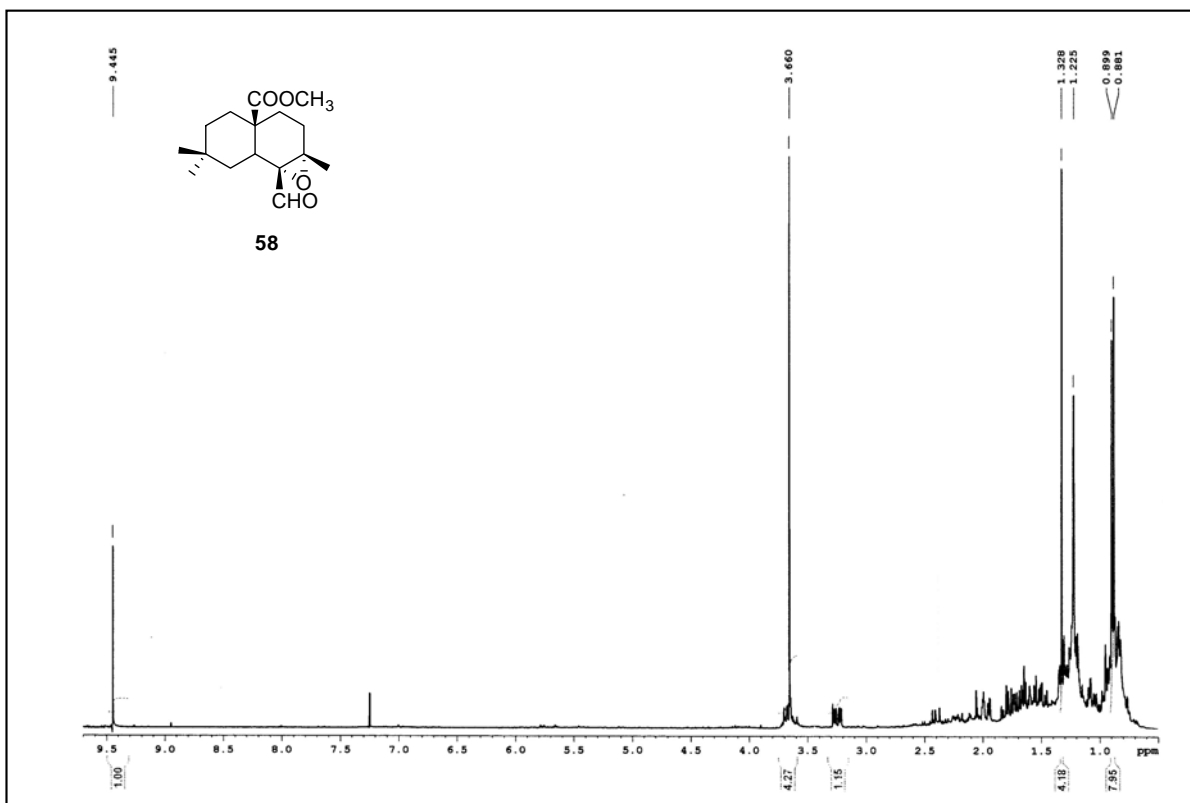
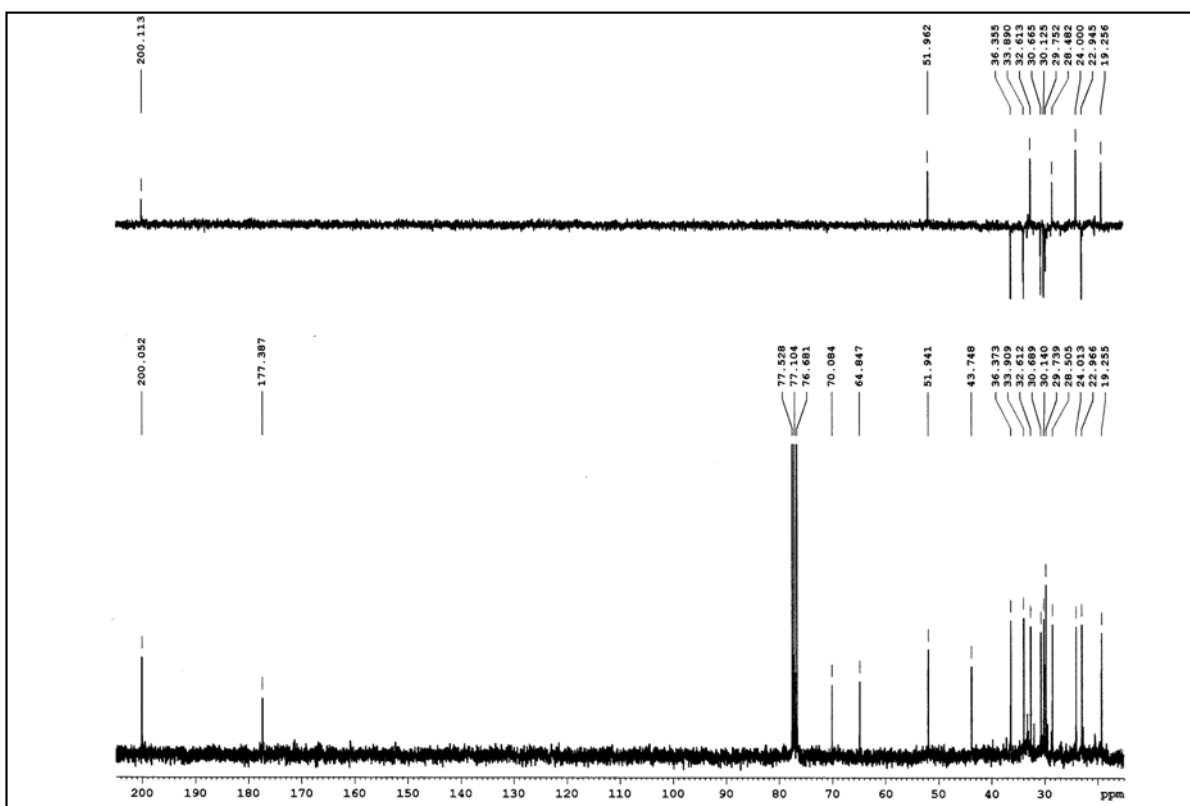
Espectro de ¹H RMN del compuesto 55

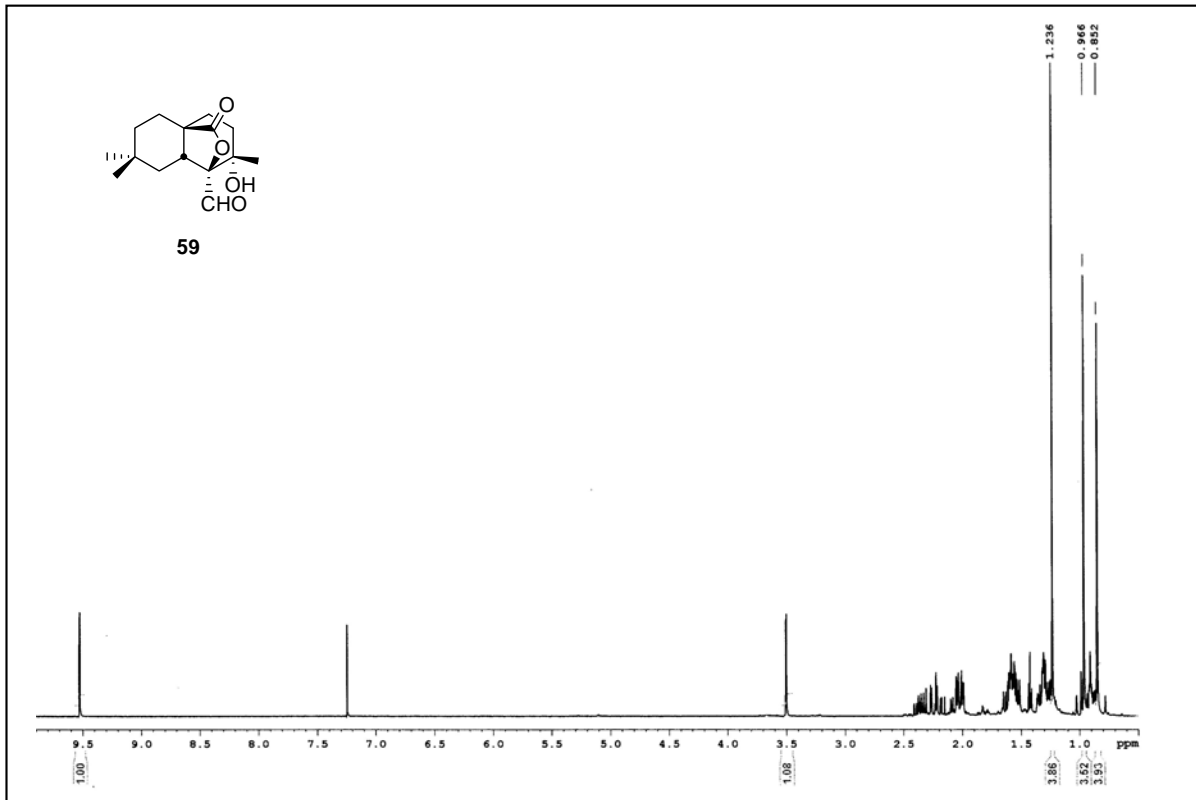
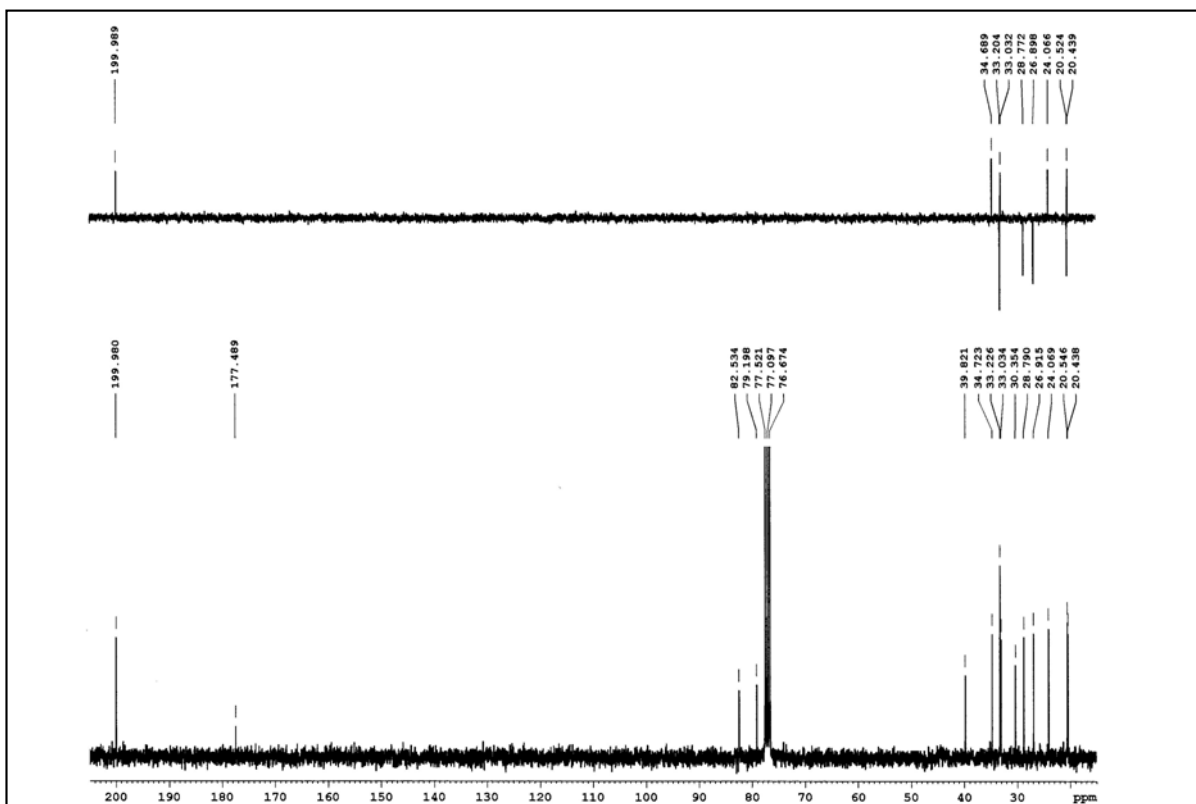


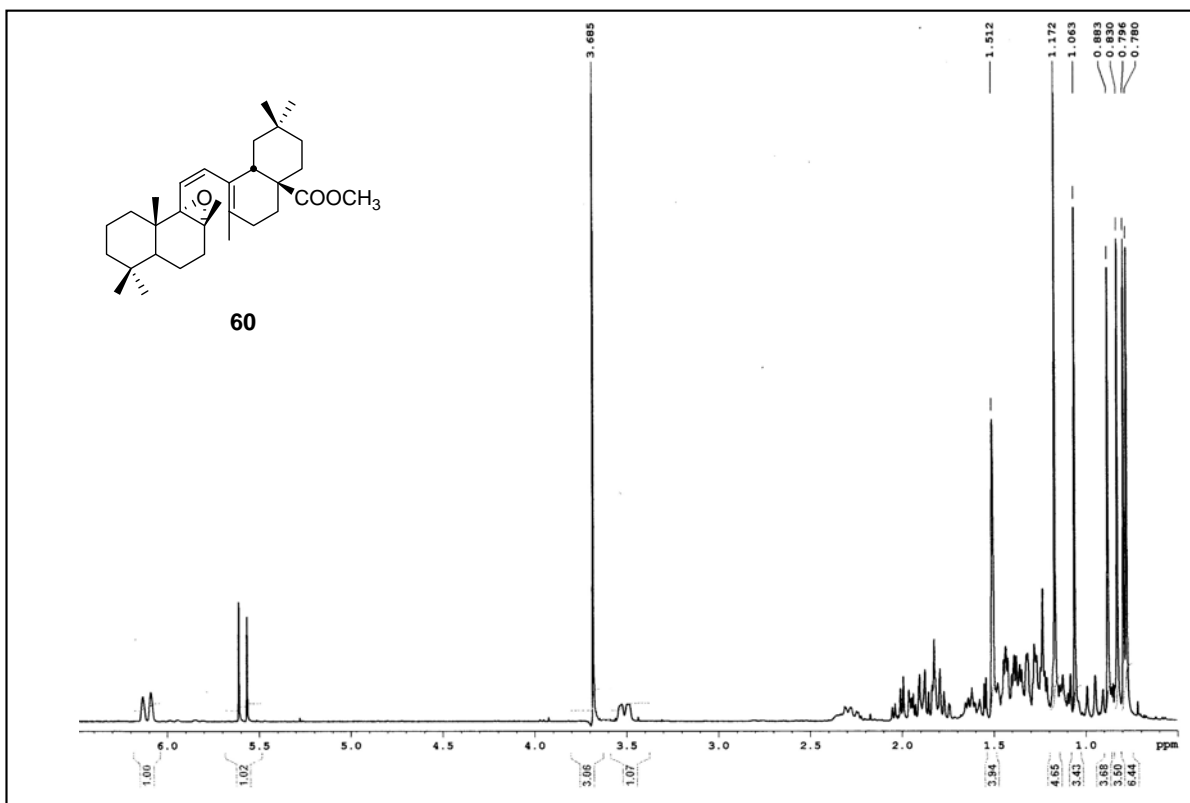
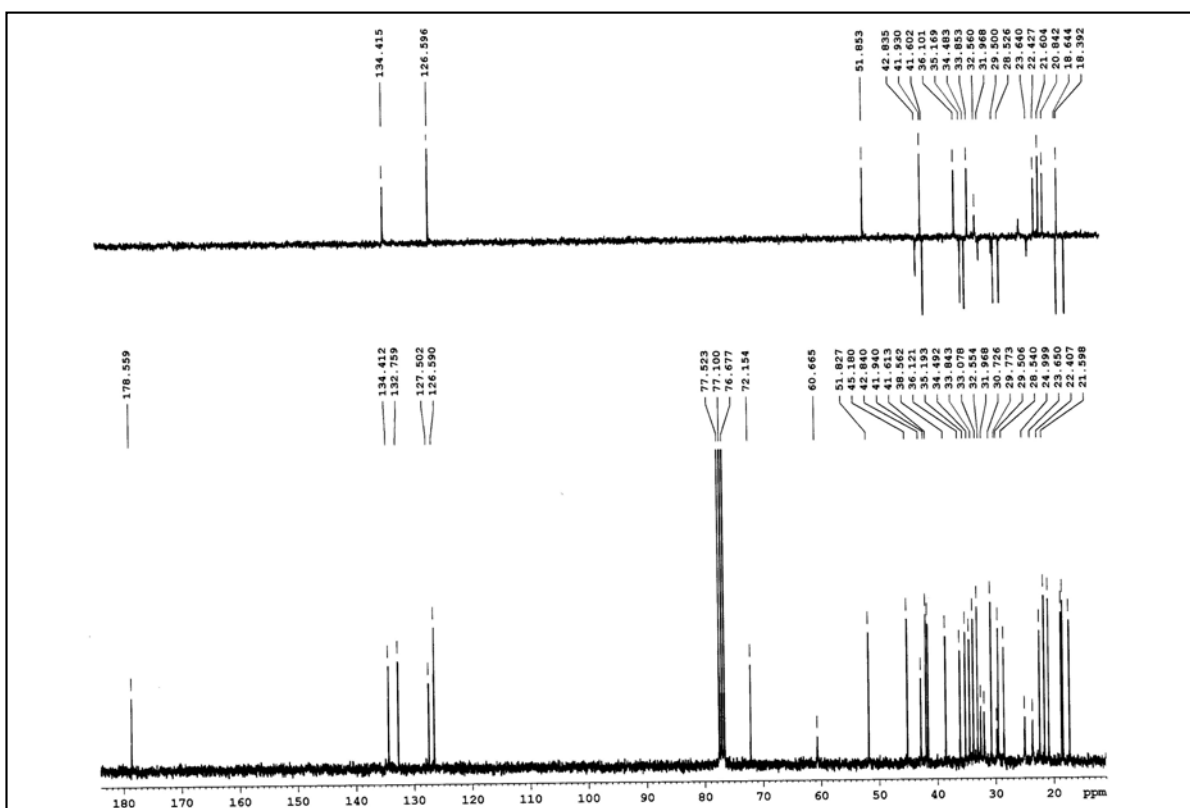
Espectro de ¹³C RMN del compuesto 55

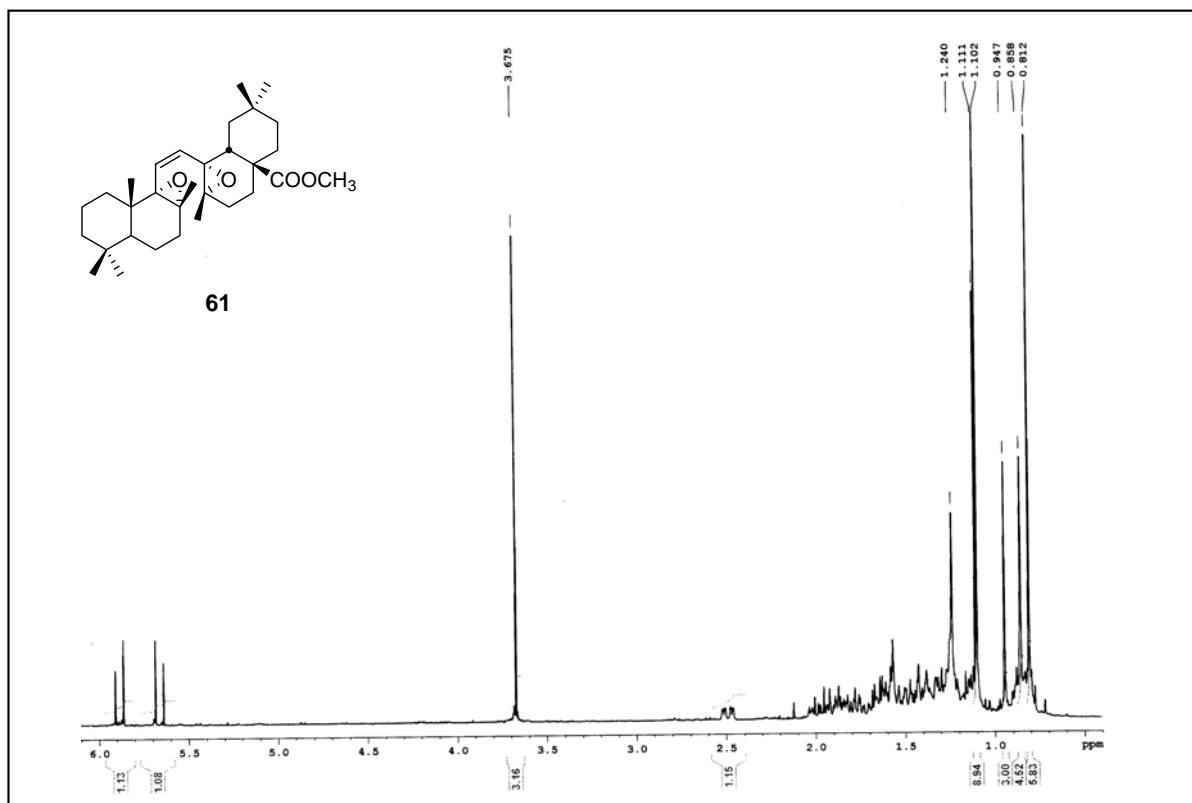
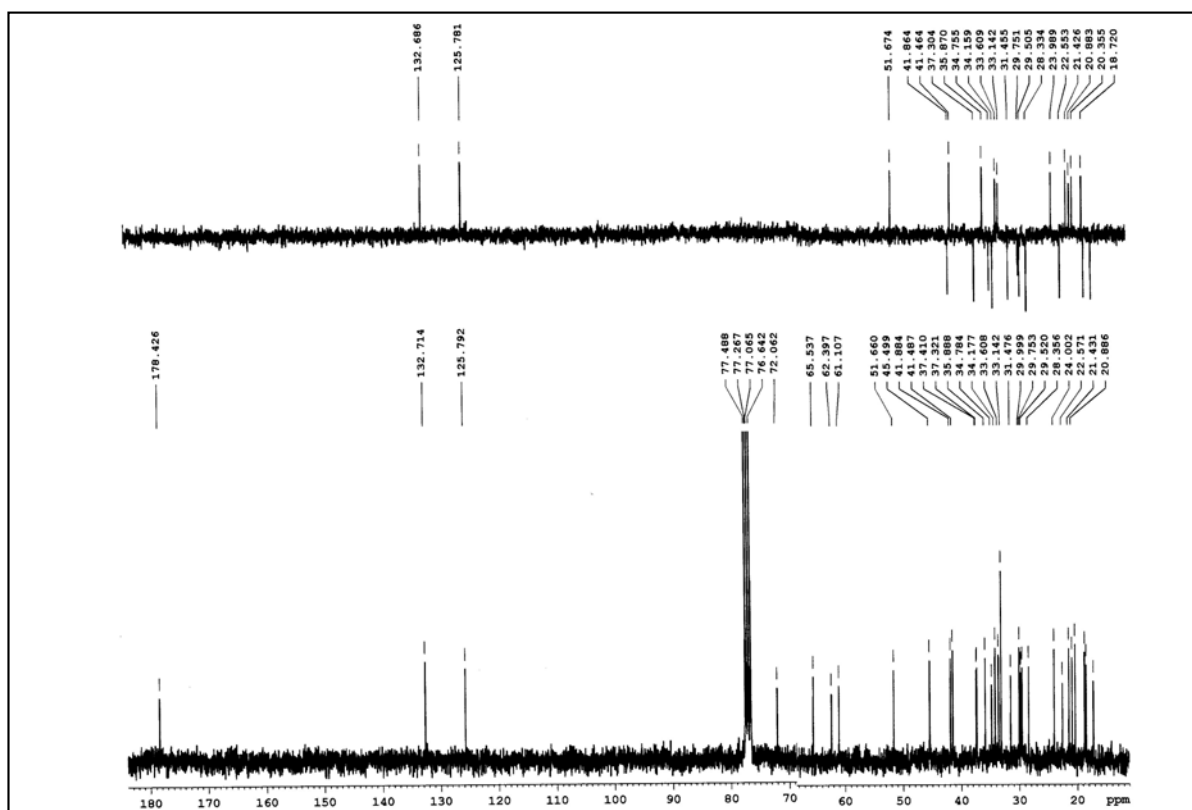
Espectro de ^1H RMN del compuesto **56**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **56**

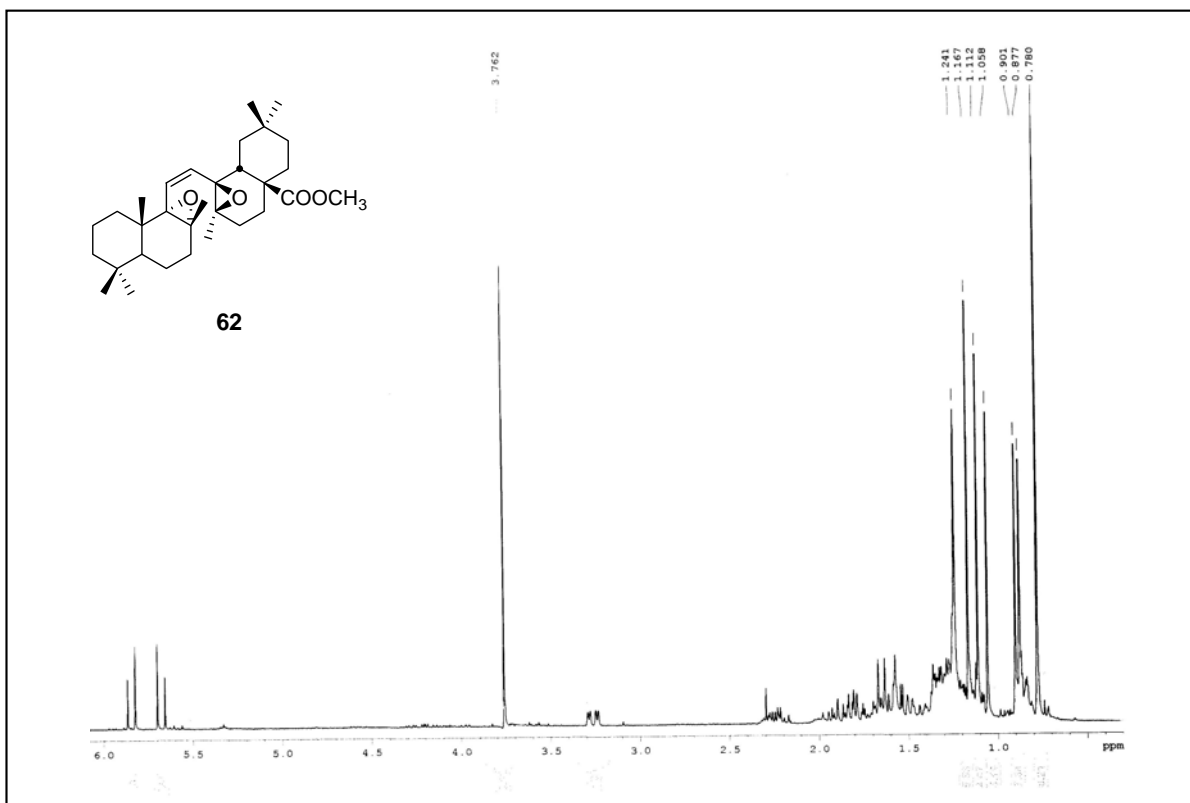
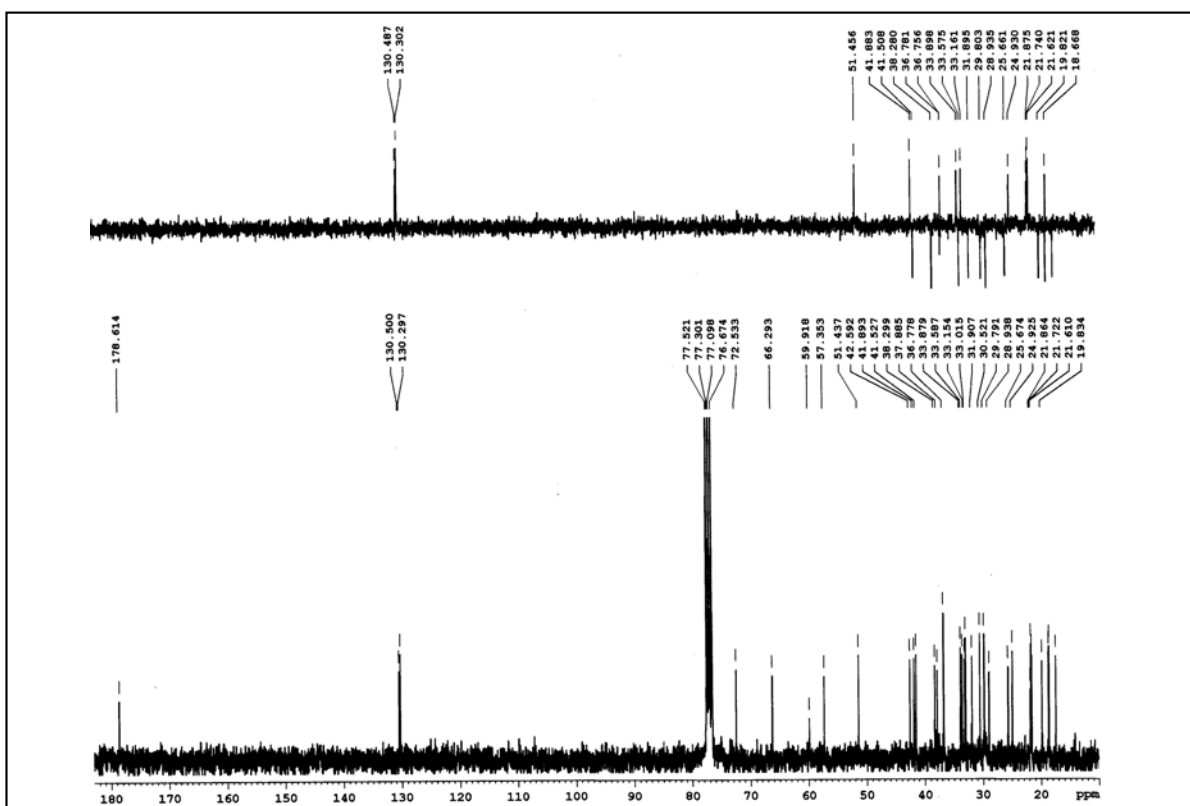
Espectro de ^1H RMN del compuesto 57Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 57

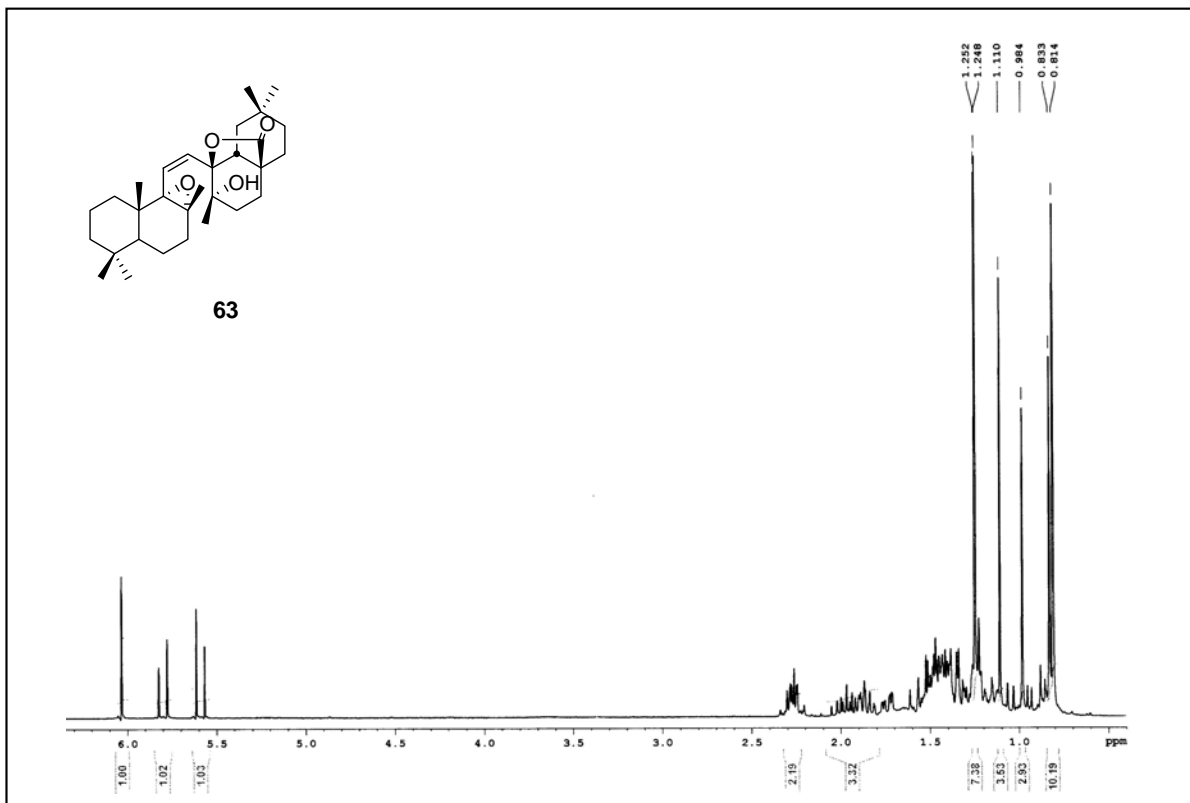
Espectro de ¹H RMN del compuesto **58**Espectro de ¹³C RMN del compuesto **58**

Espectro de ^1H RMN del compuesto **59**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **59**

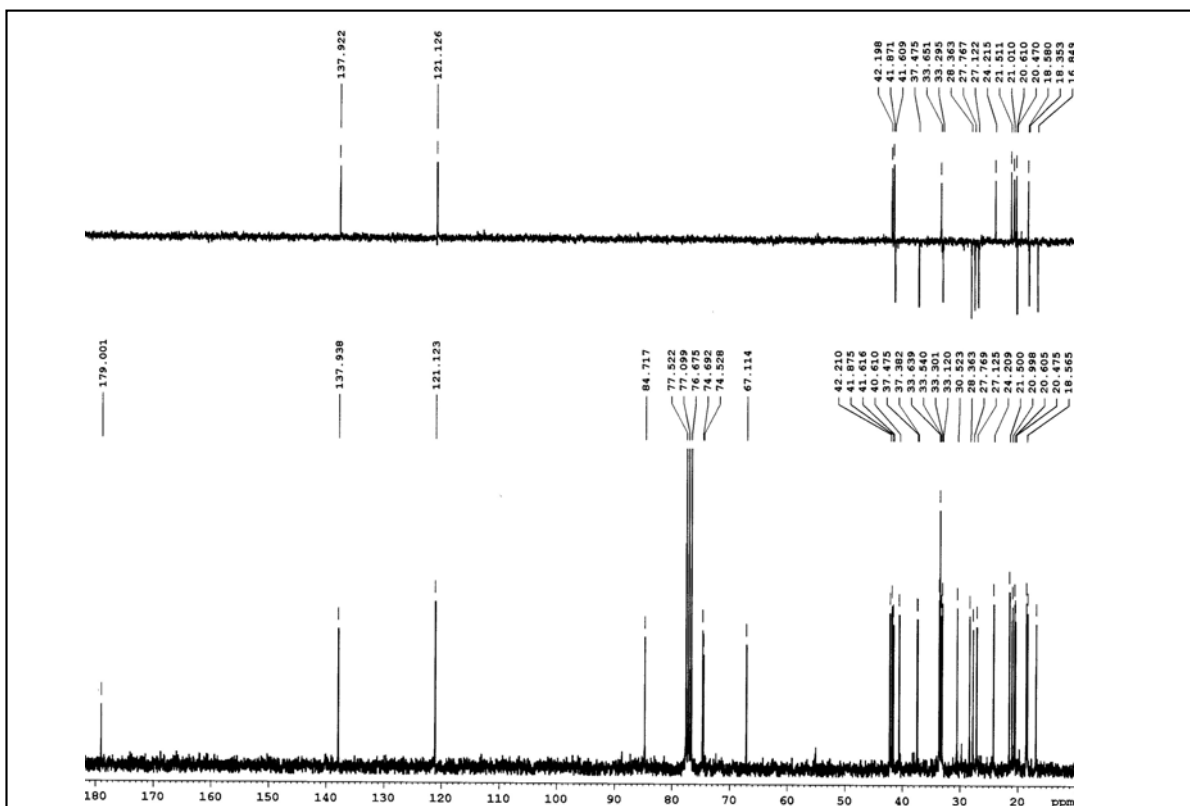
Espectro de ^1H RMN del compuesto **60**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **60**

Espectro de ^1H RMN del compuesto **61**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **61**

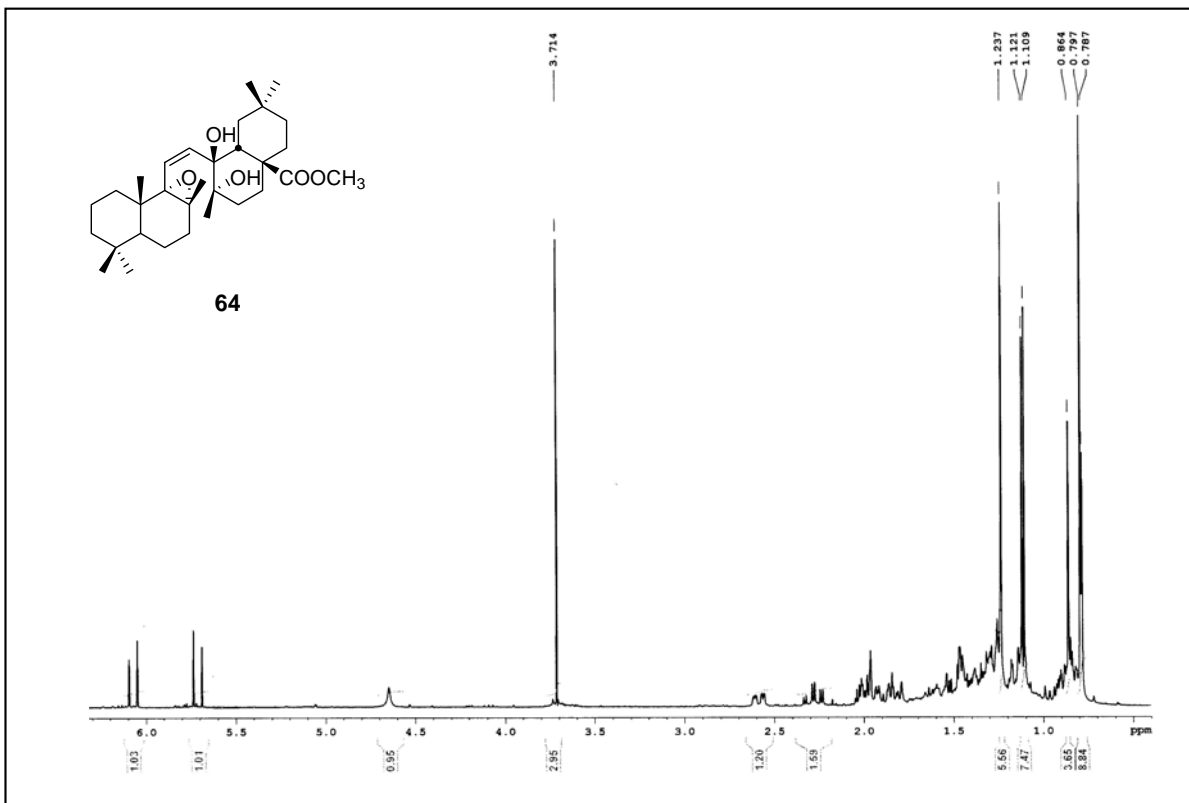
Espectro de ^1H RMN del compuesto **62**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **62**



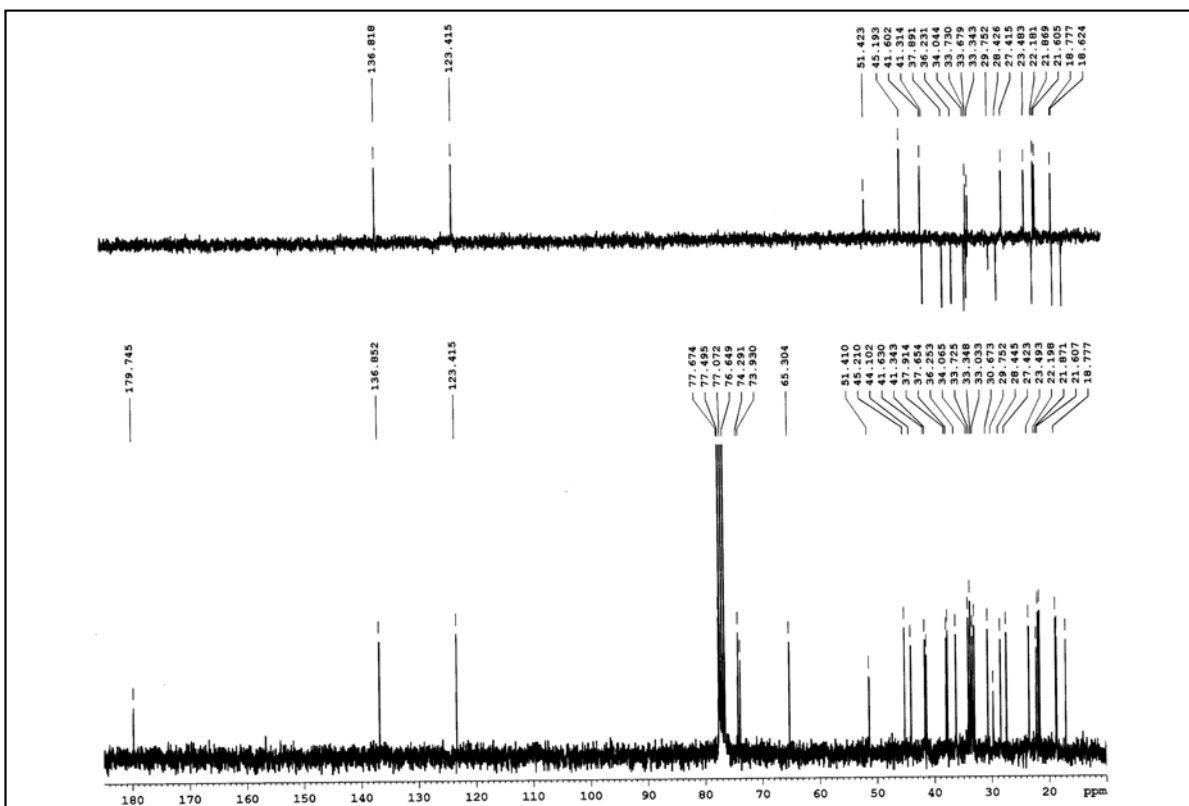
Espectro de ^1H RMN del compuesto **63**



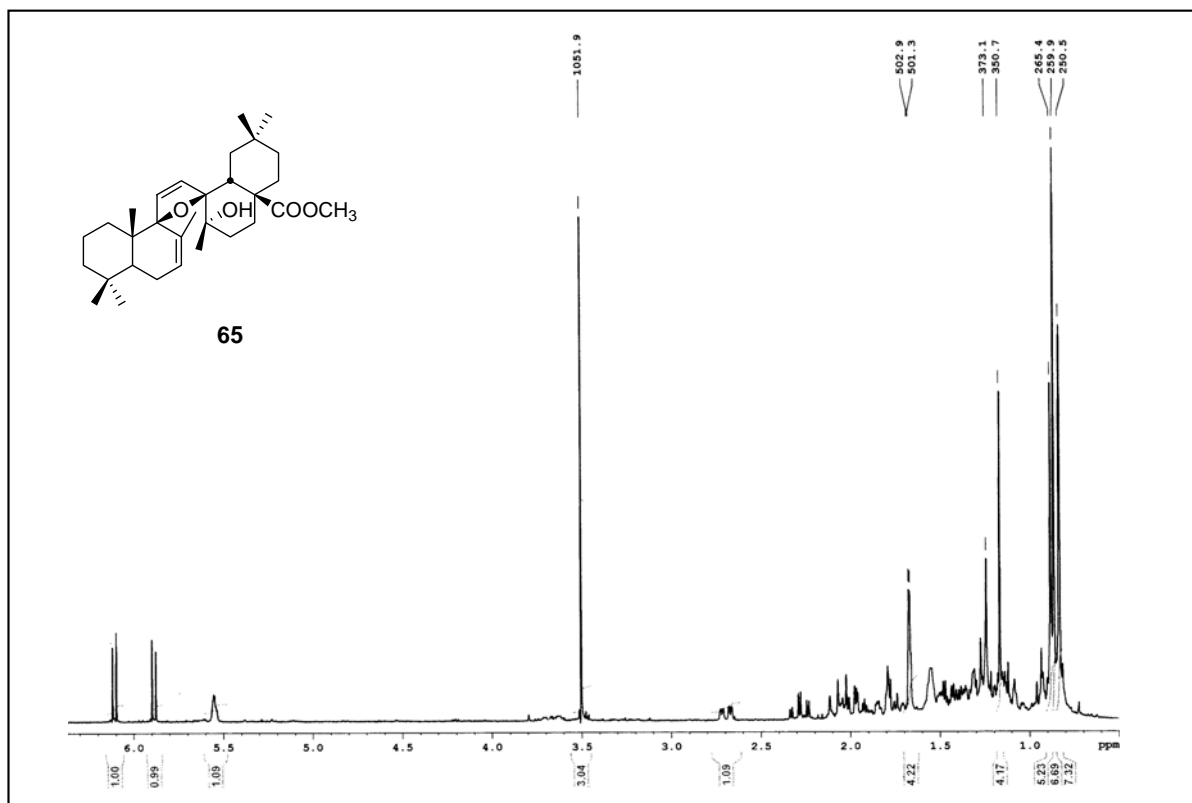
Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **63**



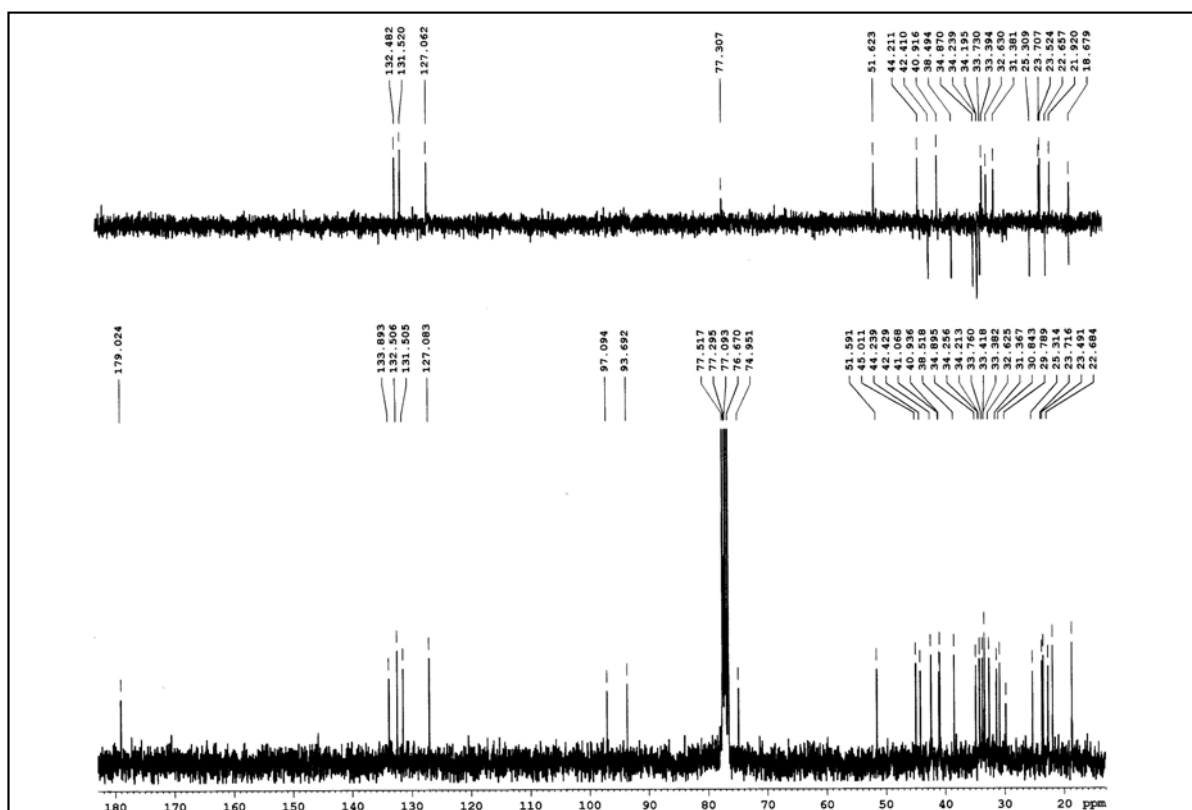
Espectro de ^1H RMN del compuesto **64**



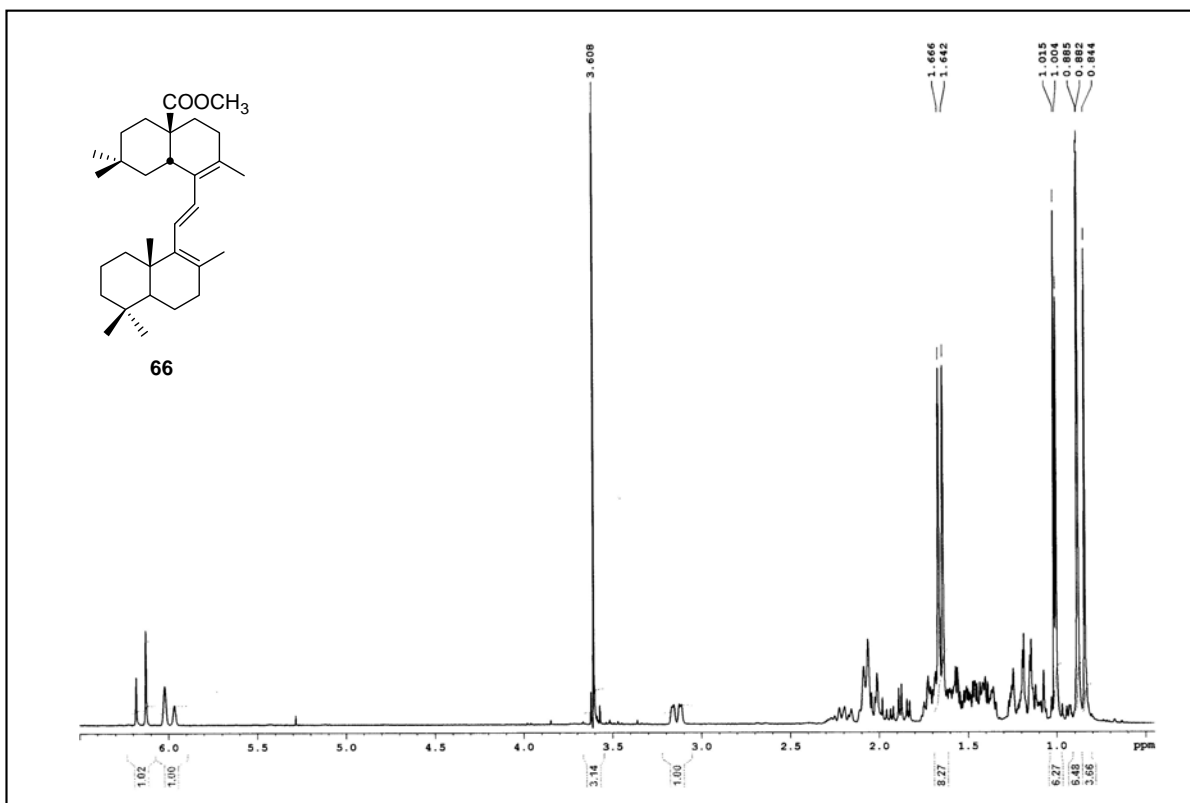
Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **64**



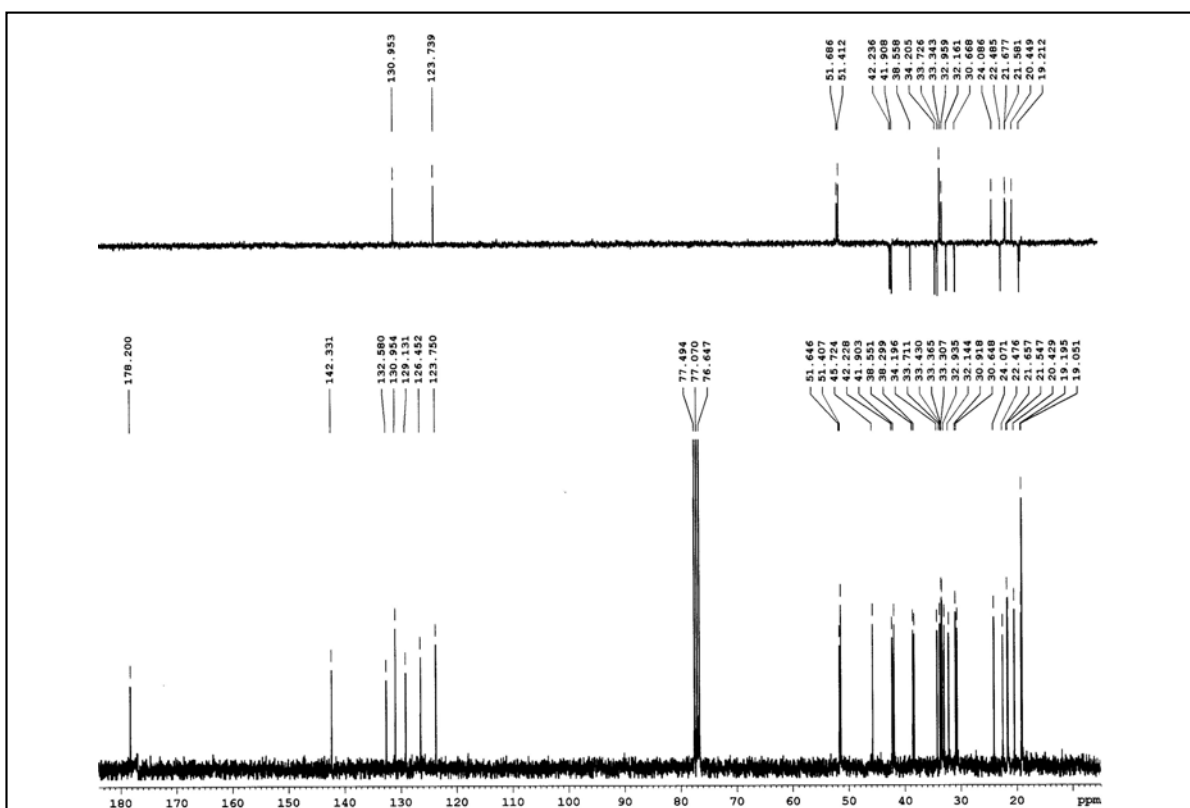
Espectro de ¹H RMN del compuesto 65



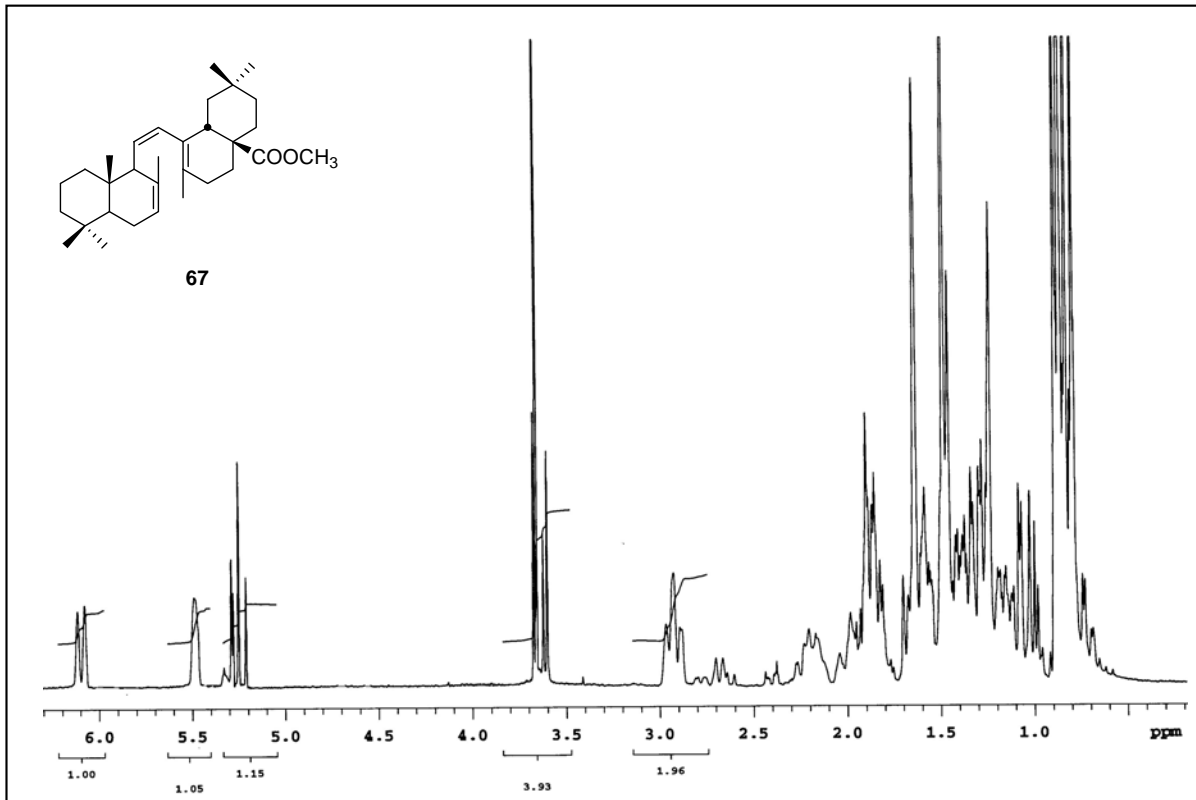
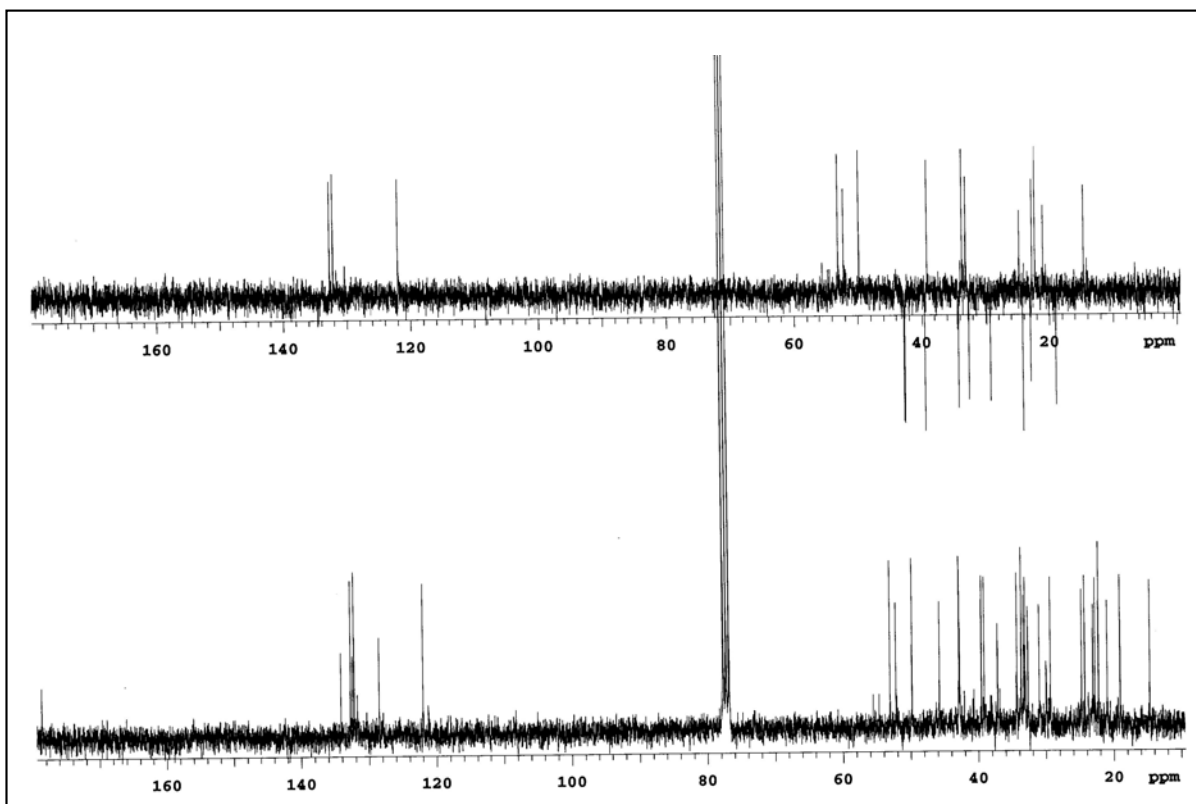
Espectro de ¹³C RMN del compuesto 65

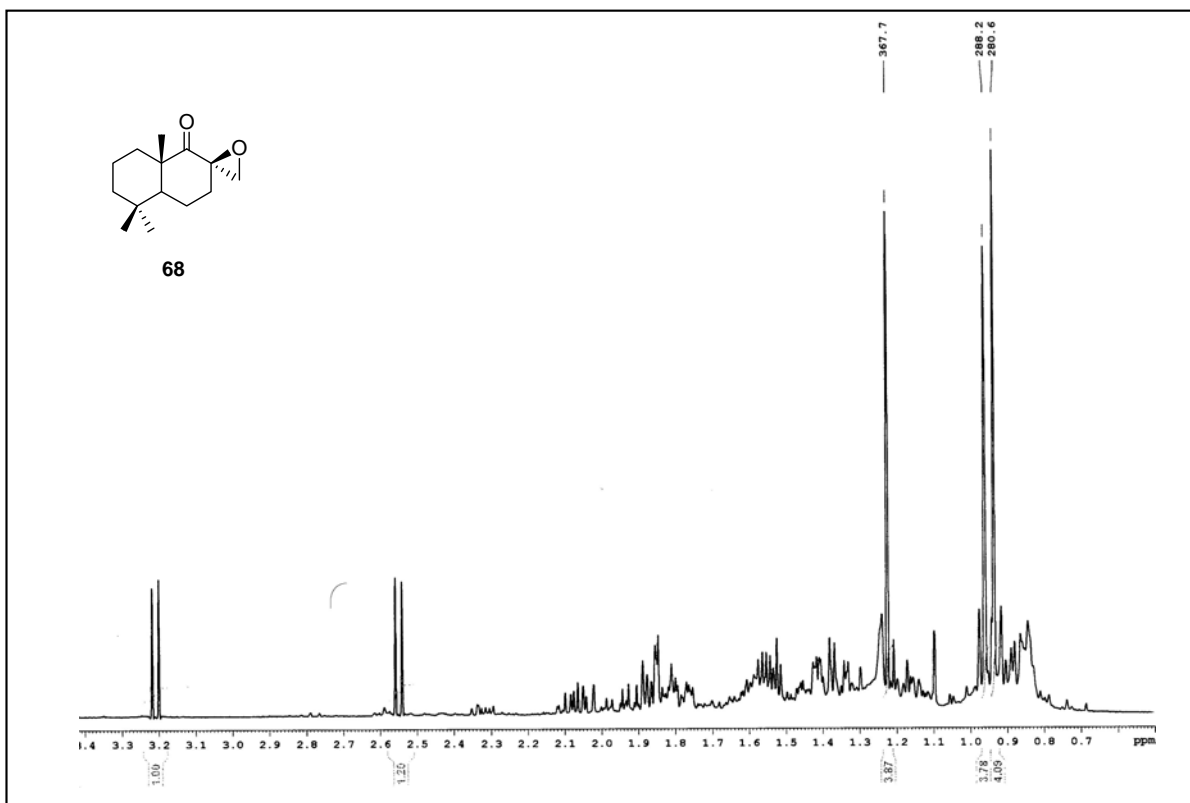
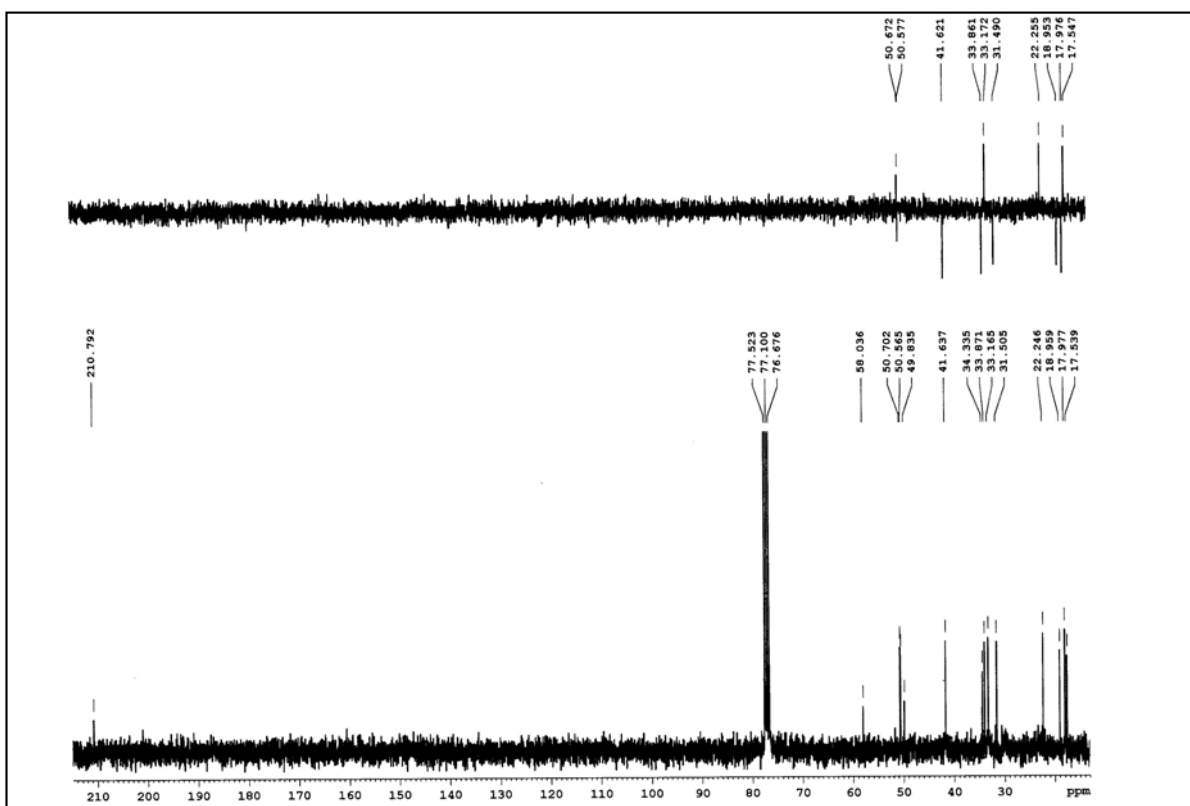


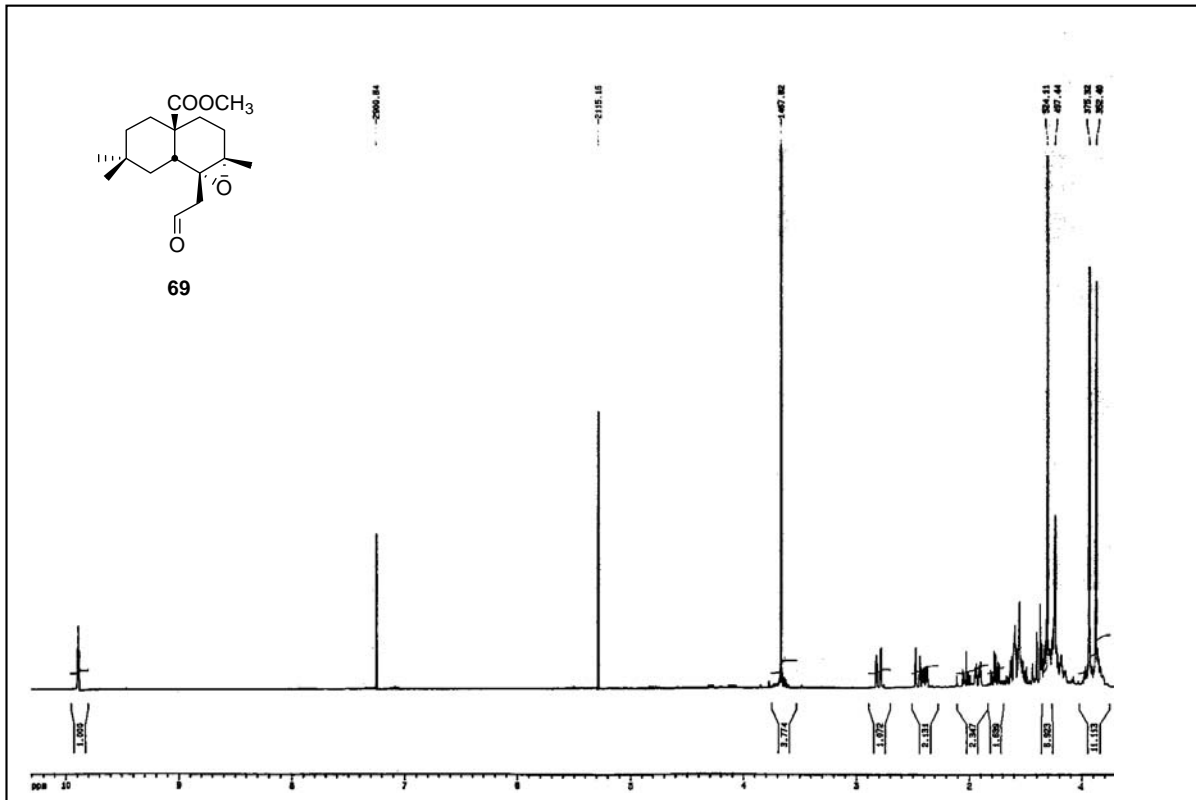
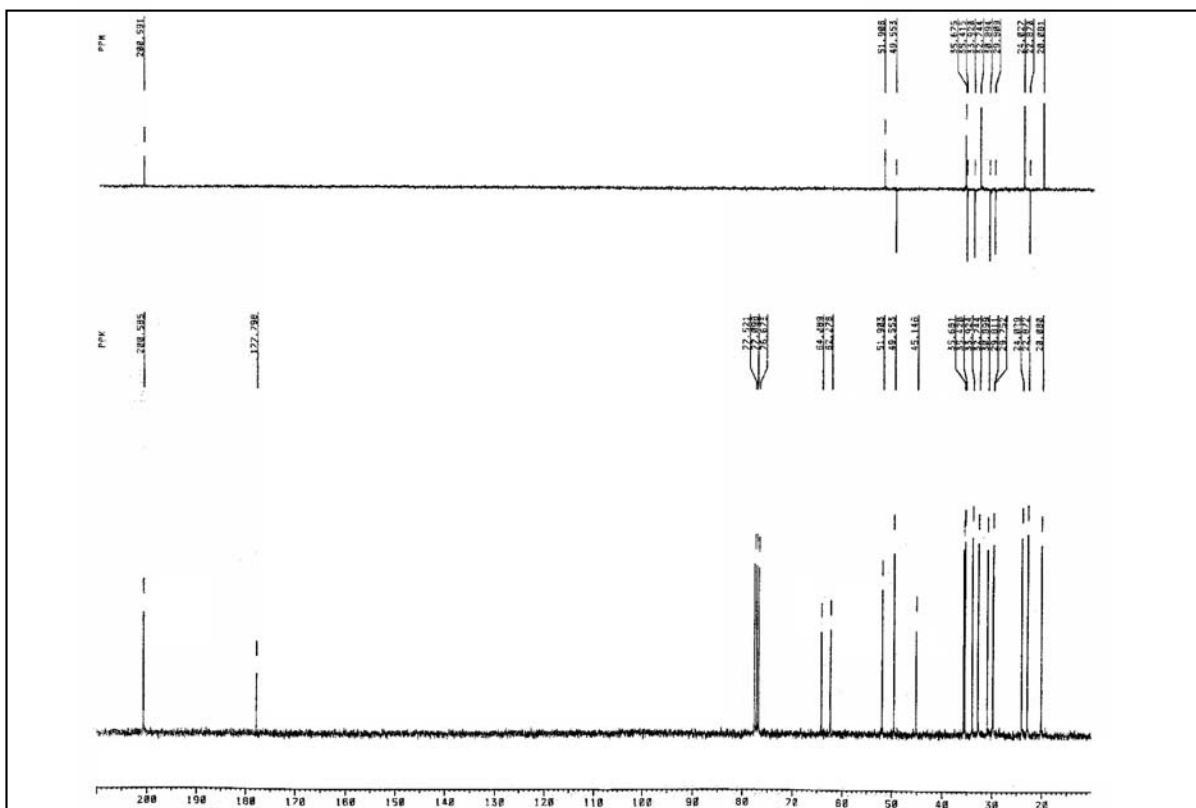
Espectro de ^1H RMN del compuesto **66**

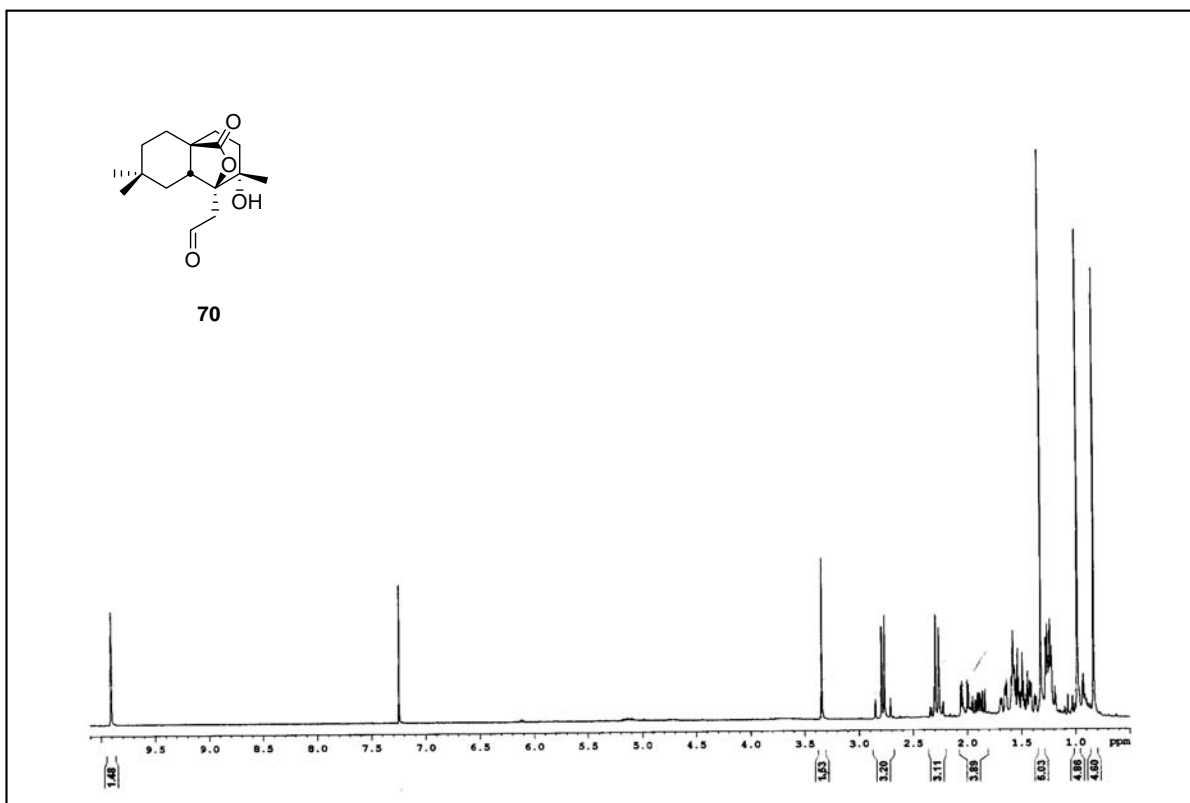
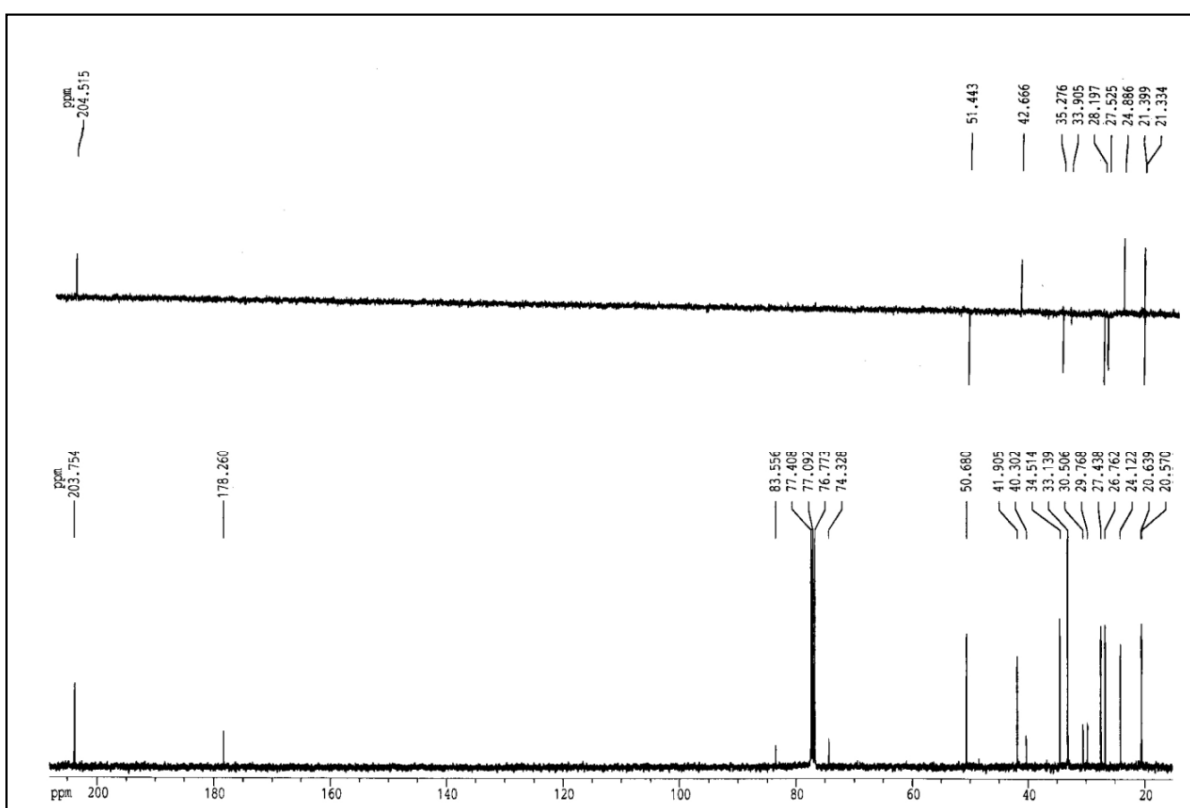


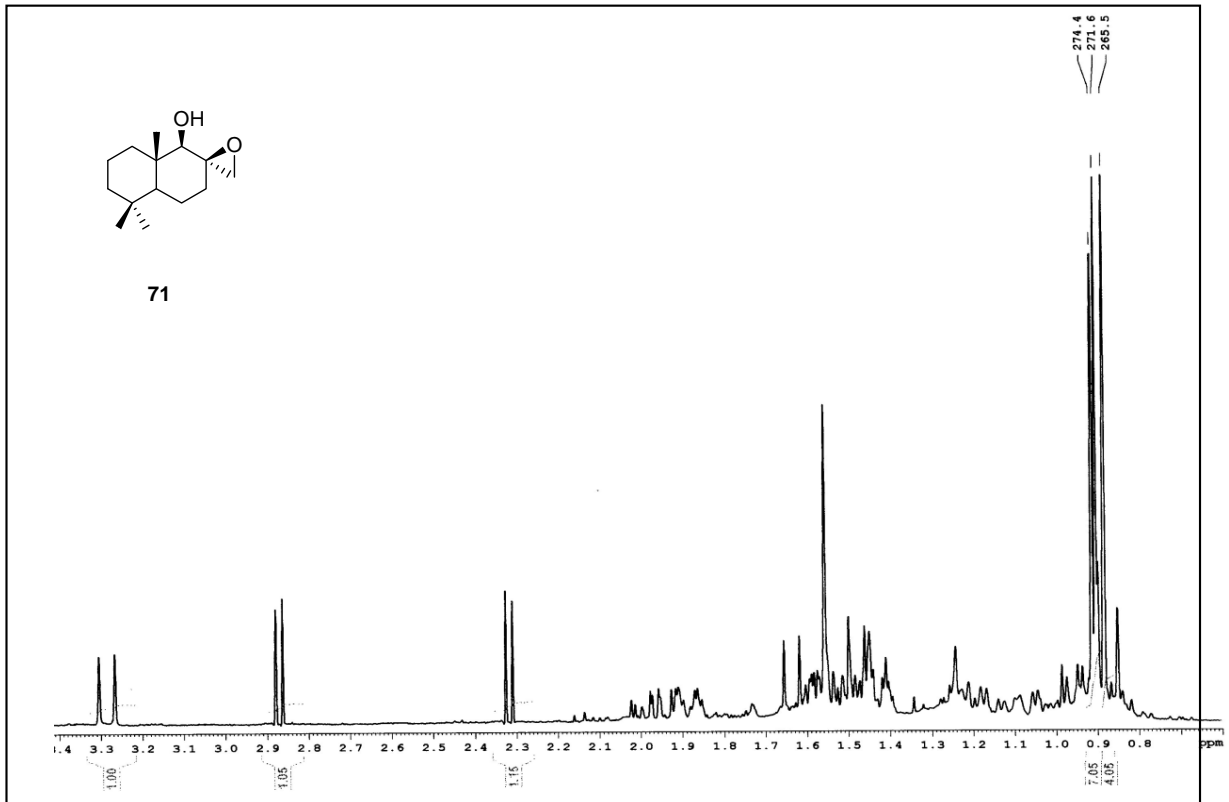
Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **66**

Espectro de ¹H RMN del compuesto **67**Espectro de ¹³C RMN del compuesto **67**

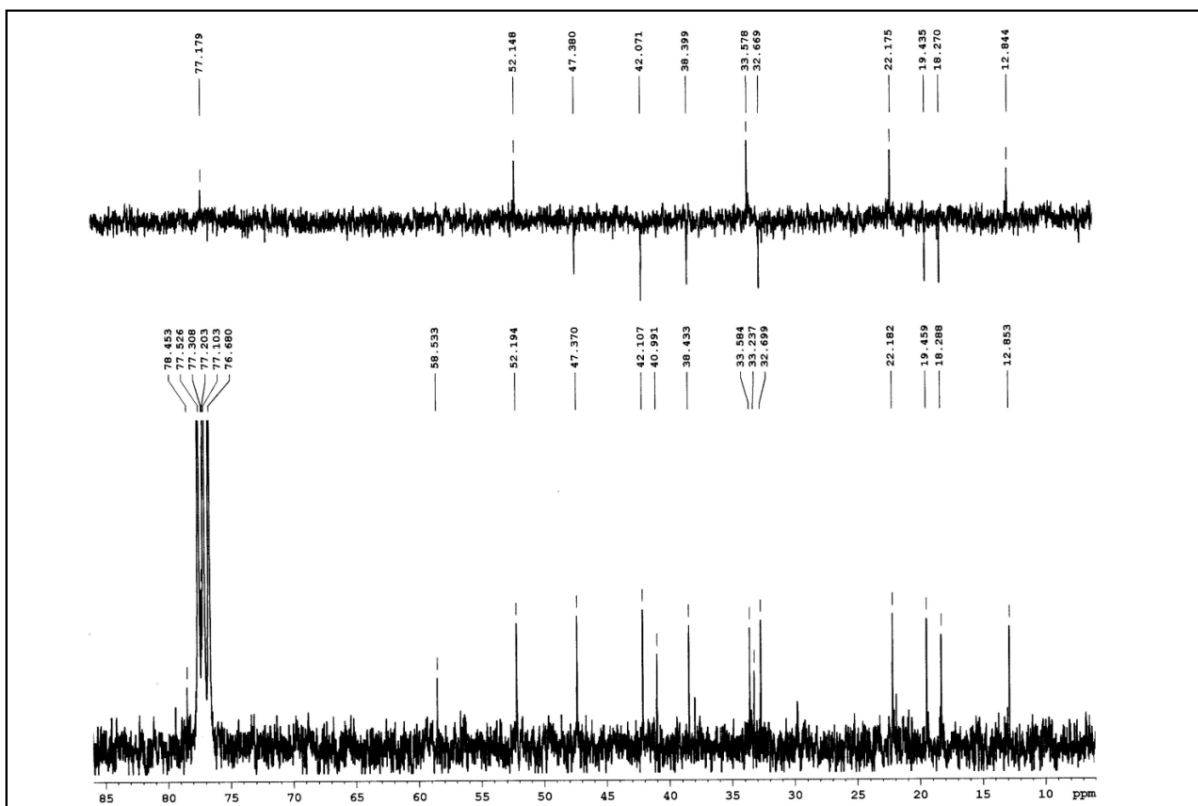
Espectro de ^1H RMN del compuesto **68**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **68**

Espectro de ^1H RMN del compuesto **69**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **69**

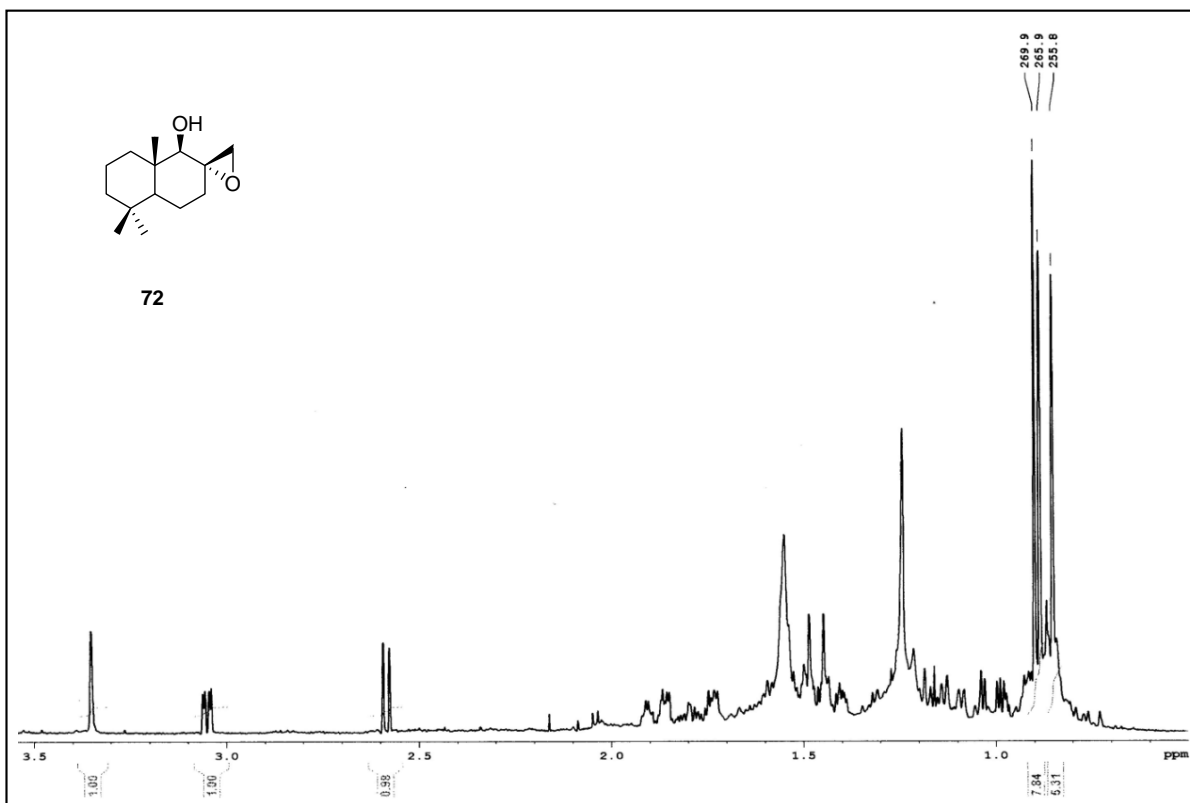
Espectro de ¹H RMN del compuesto **70**Espectro de ¹³C RMN del compuesto **70**



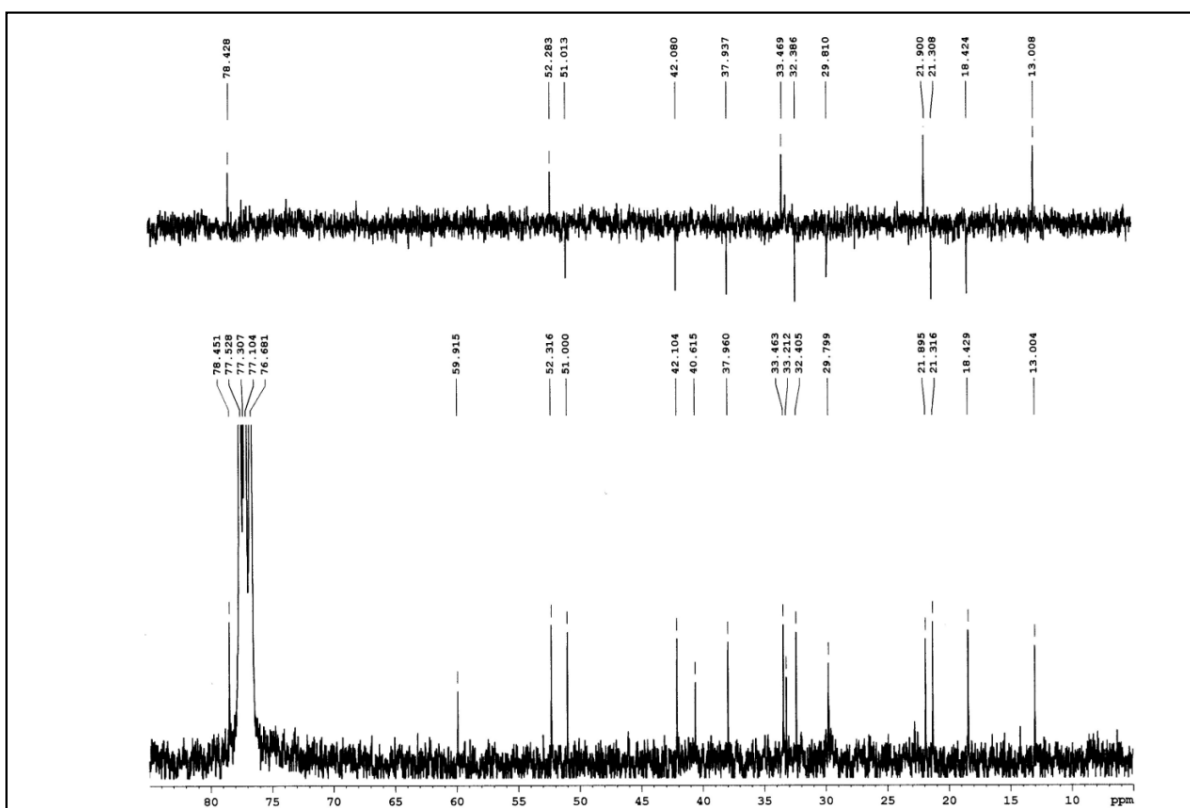
Espectro de ^1H RMN del compuesto 71



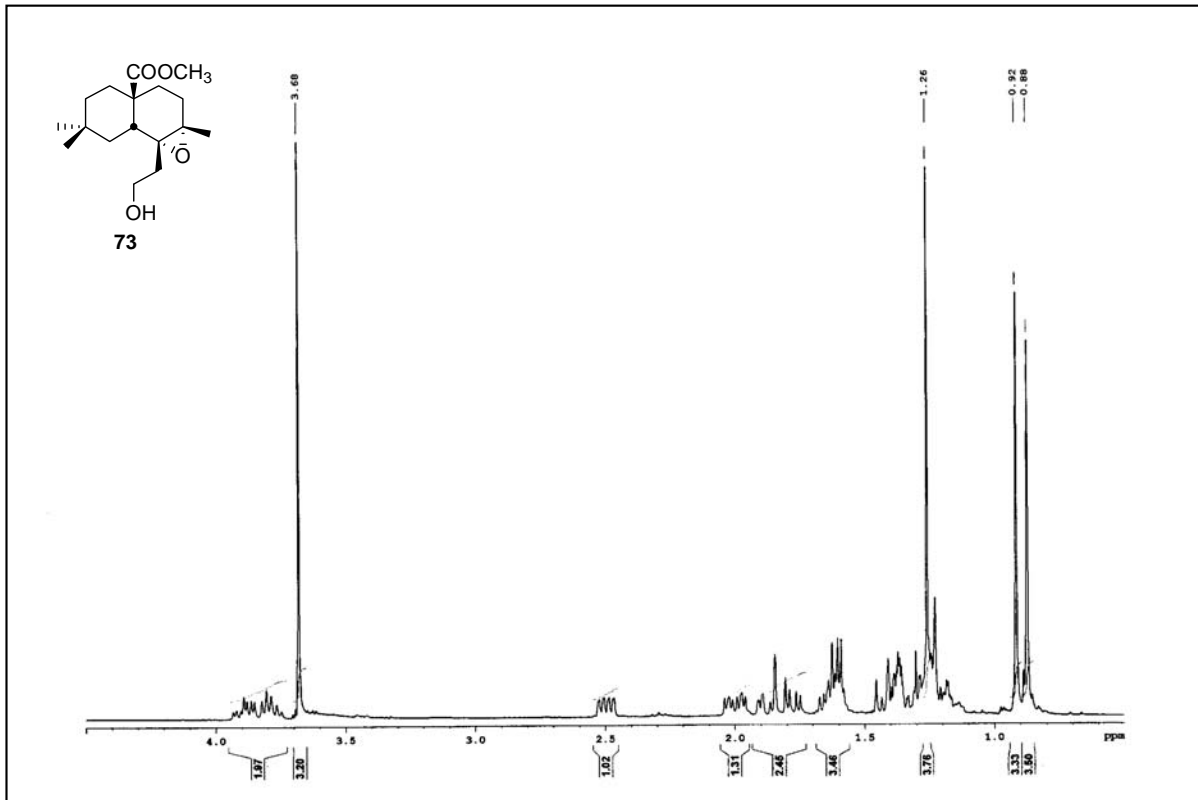
Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 71



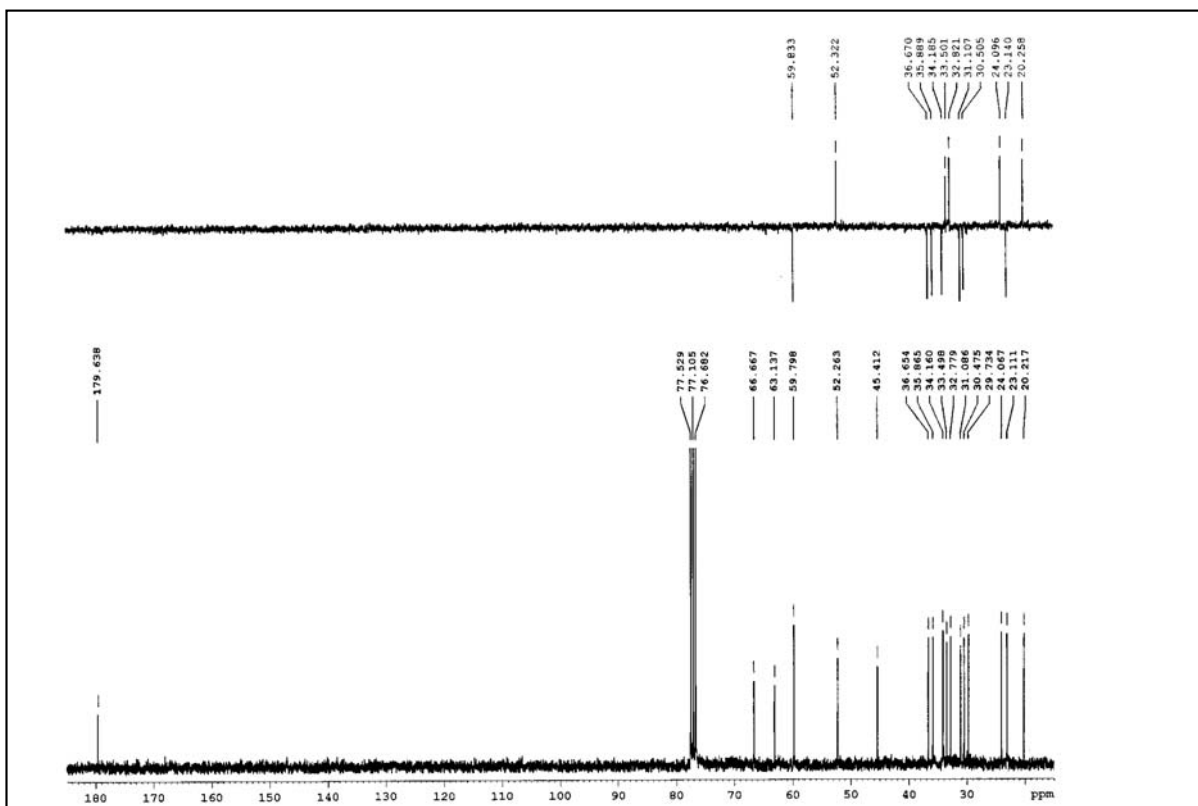
Espectro de ^1H RMN del compuesto **72**



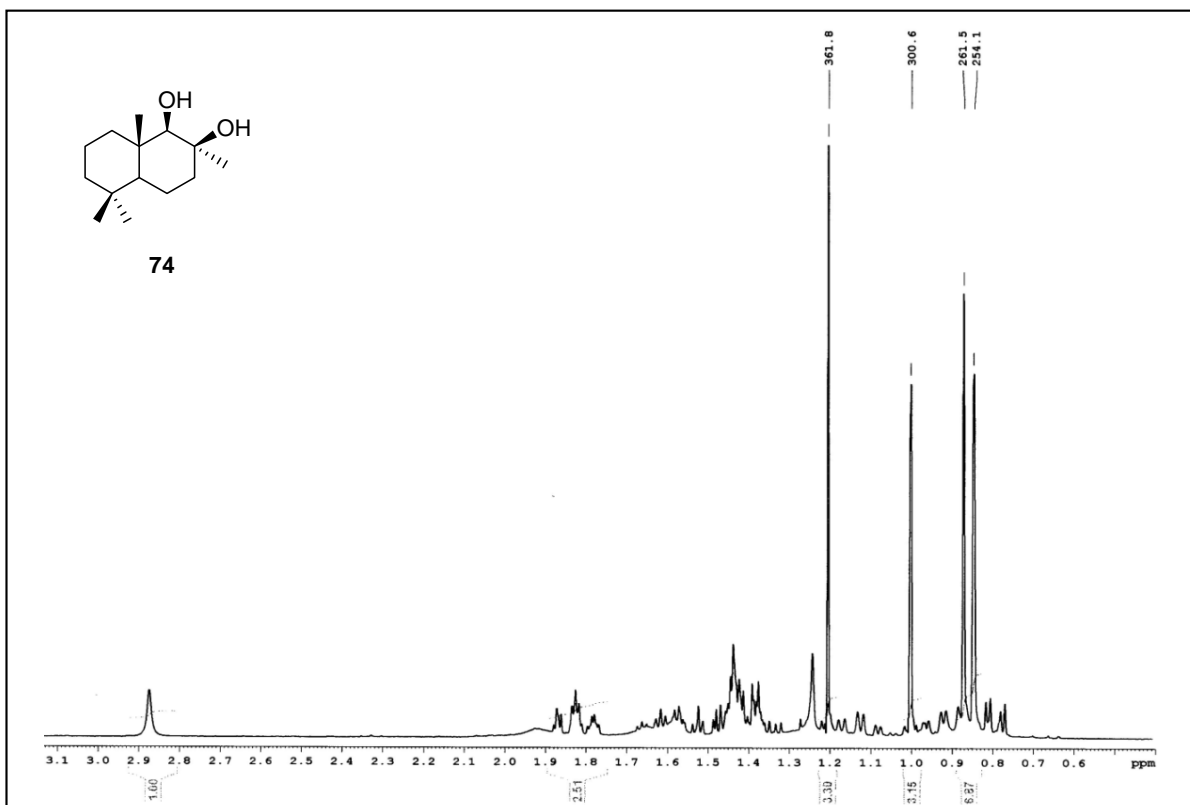
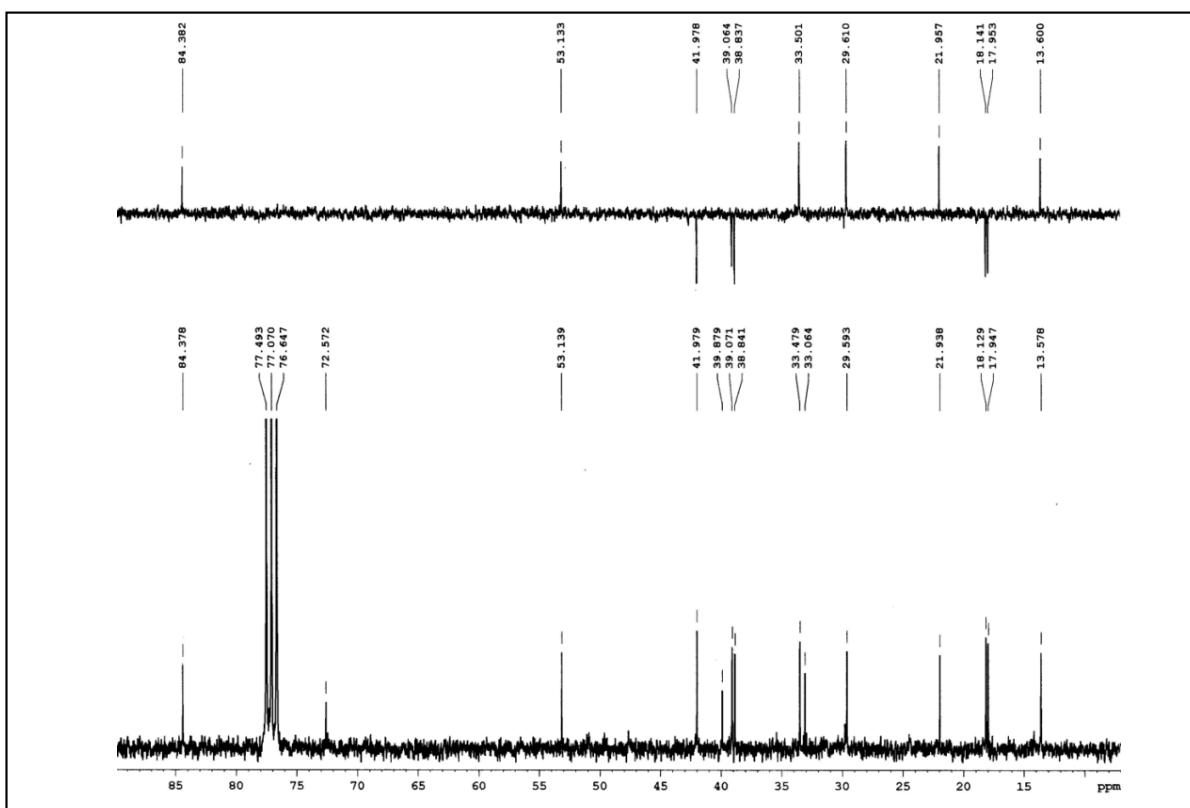
Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **72**

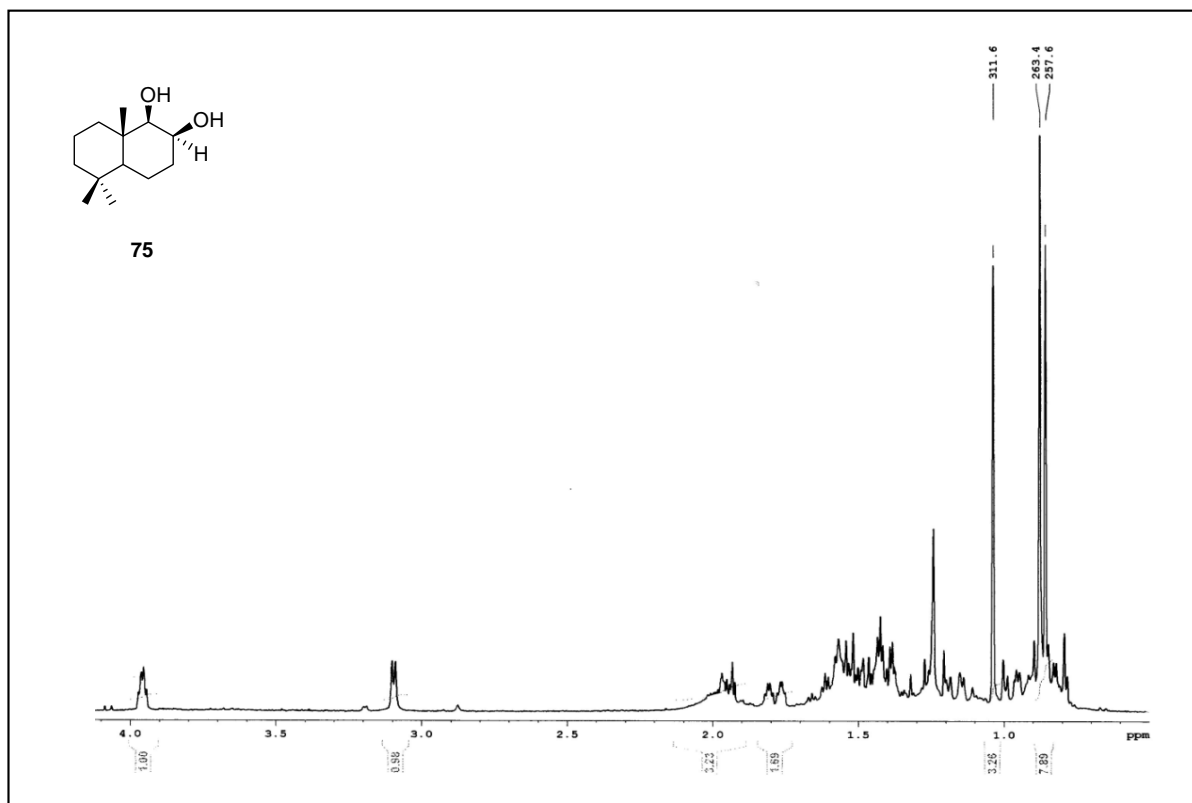
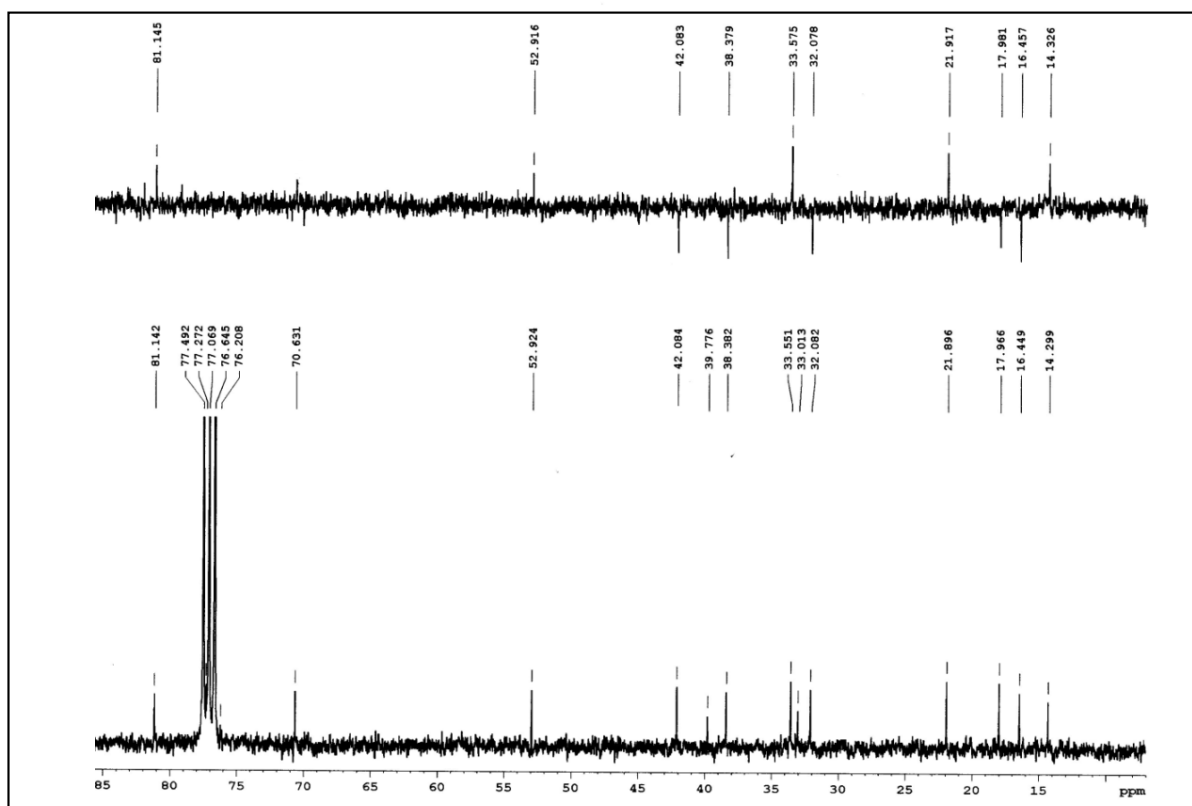


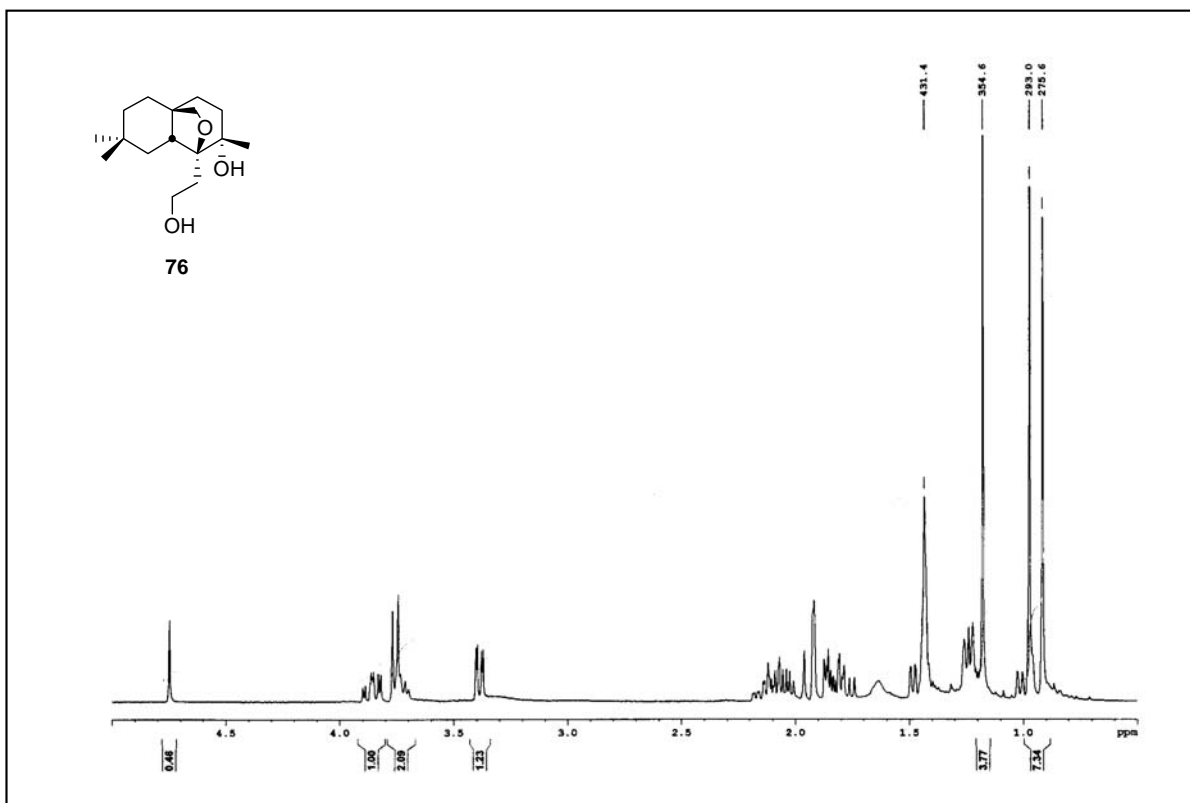
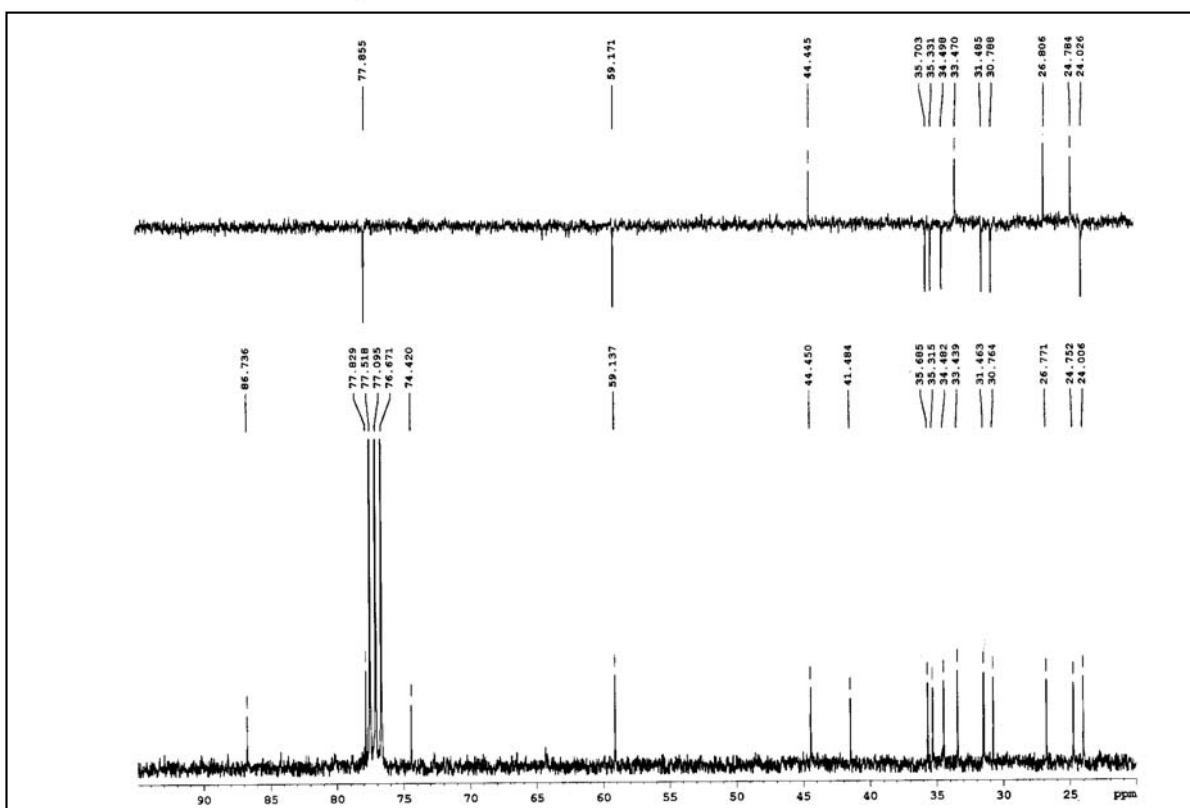
Espectro de ¹H RMN del compuesto 73

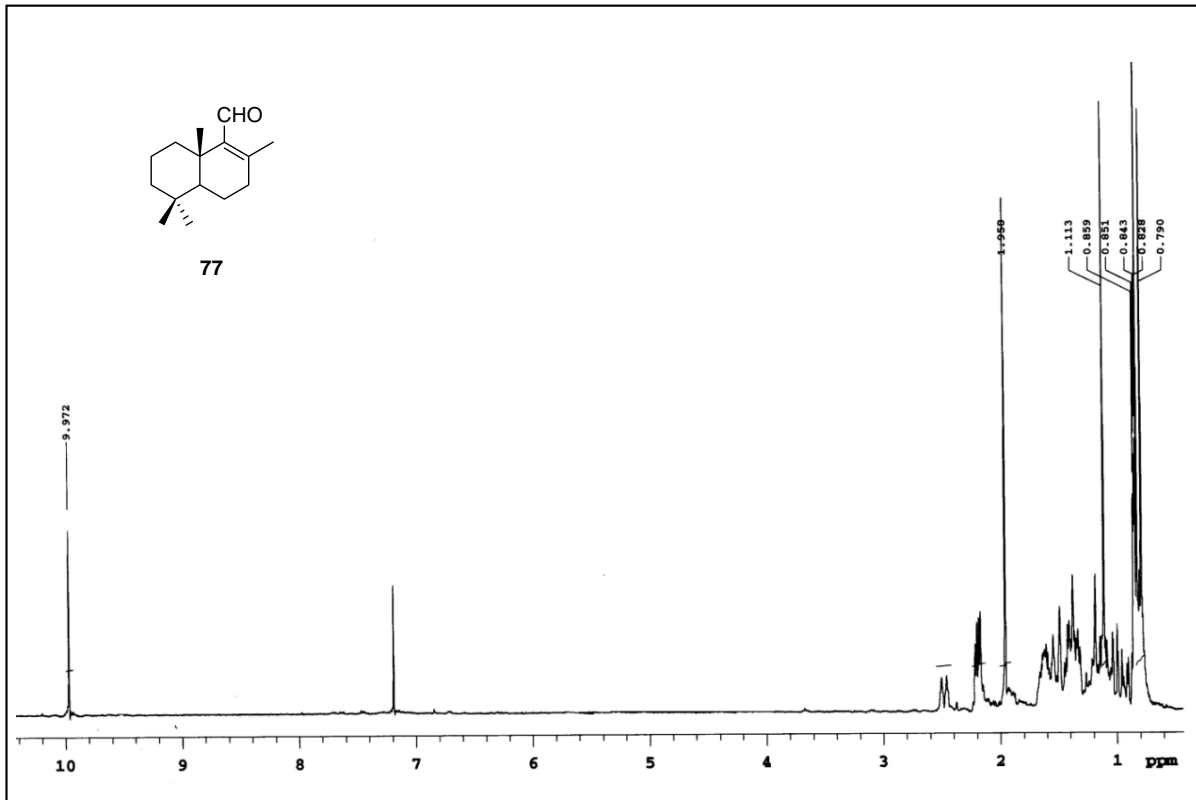
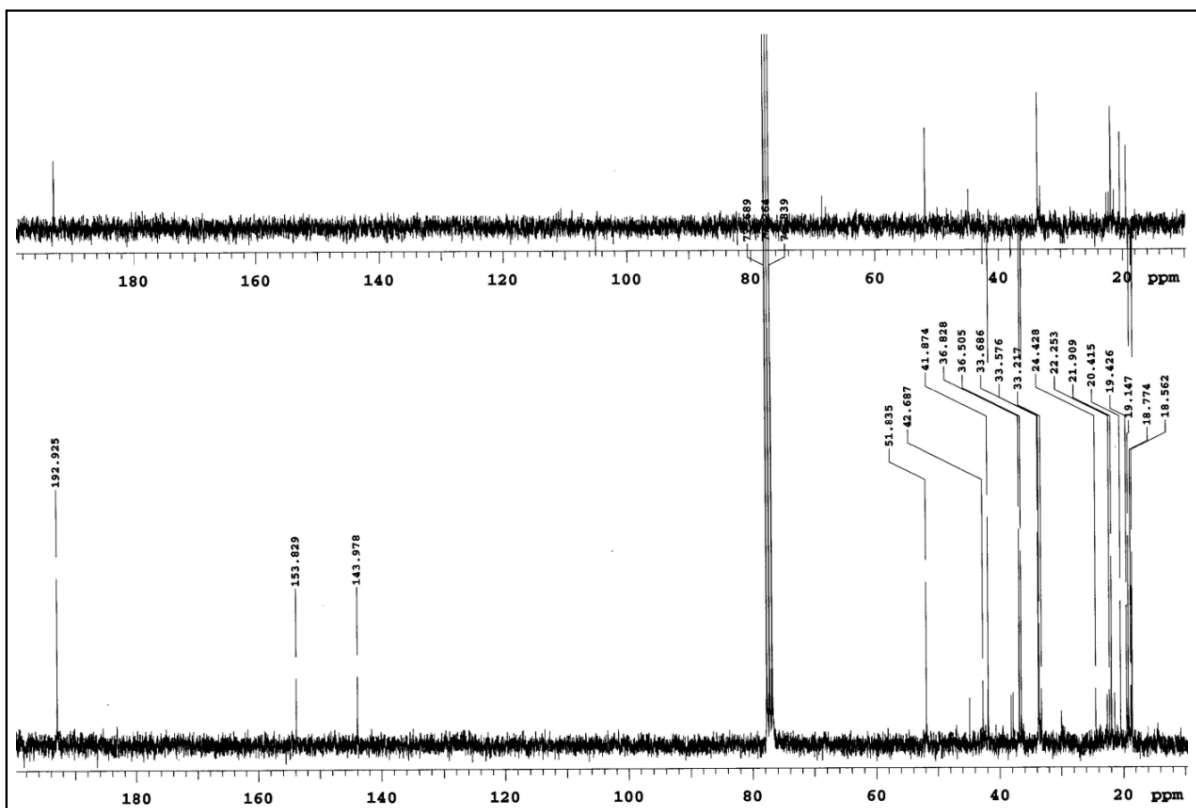


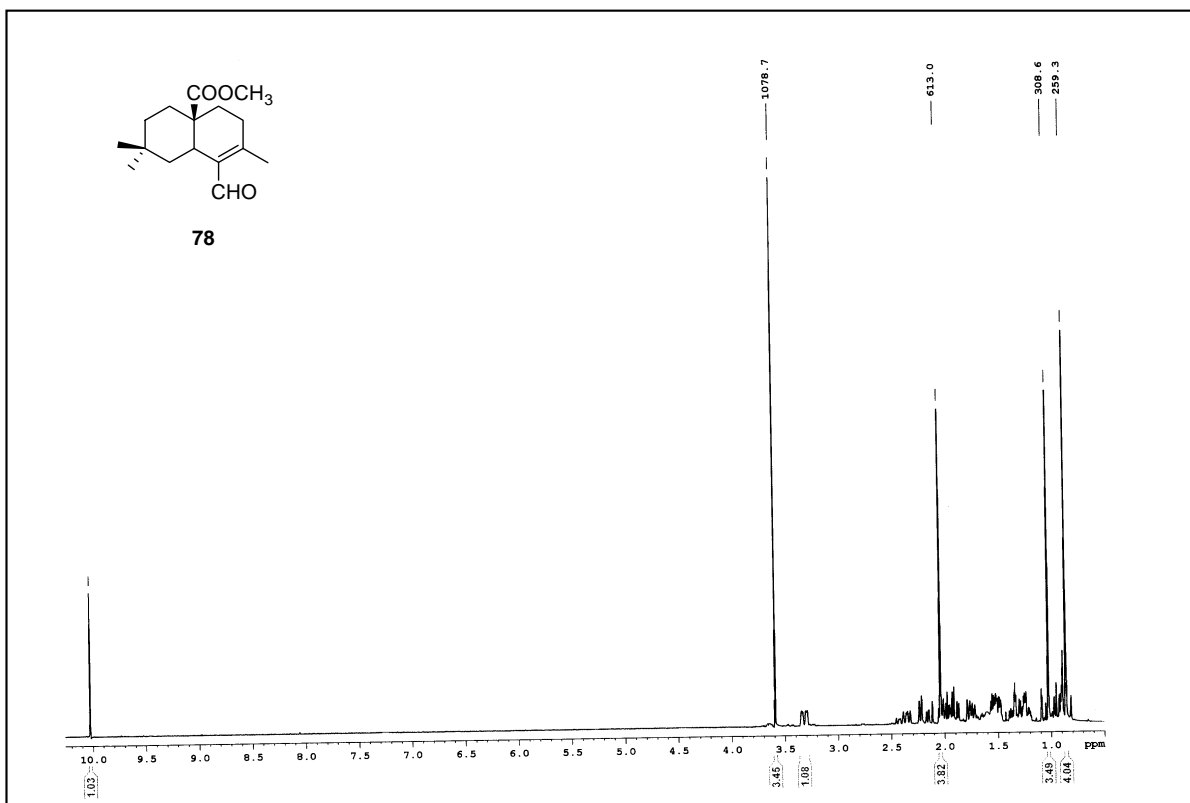
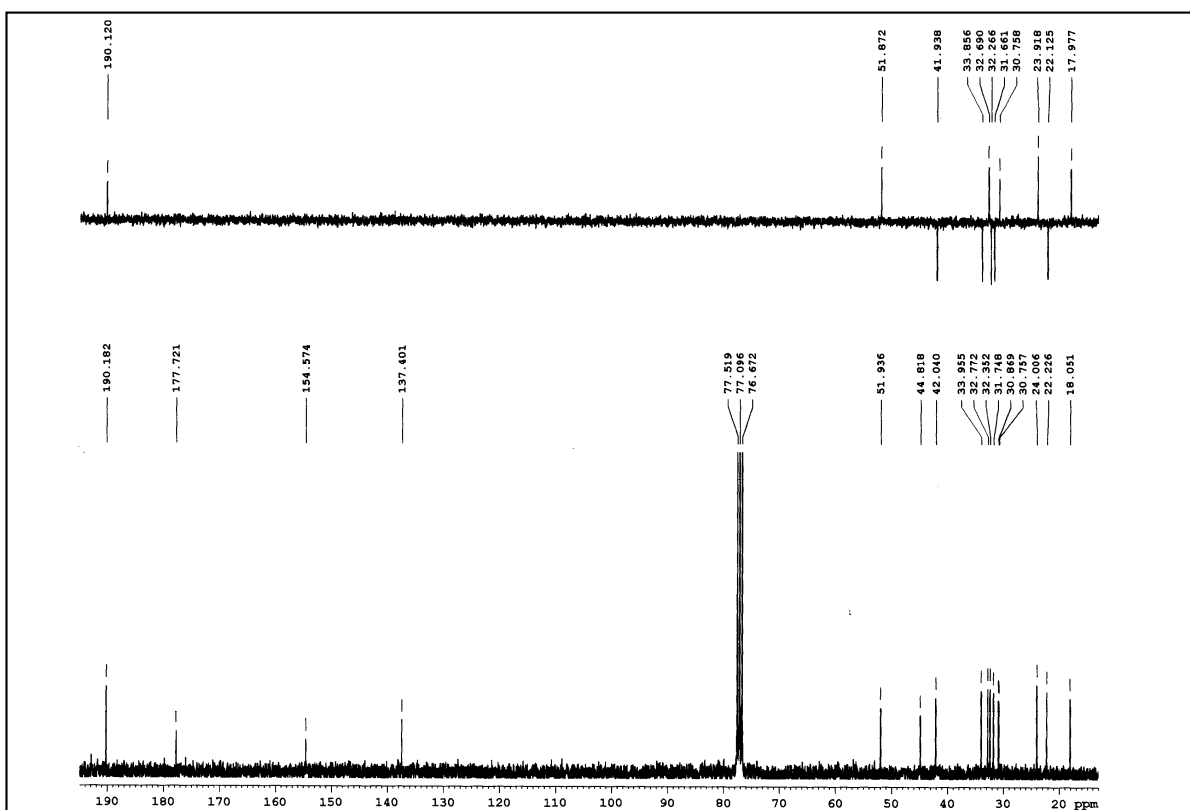
Espectro de ¹³C RMN del compuesto 73

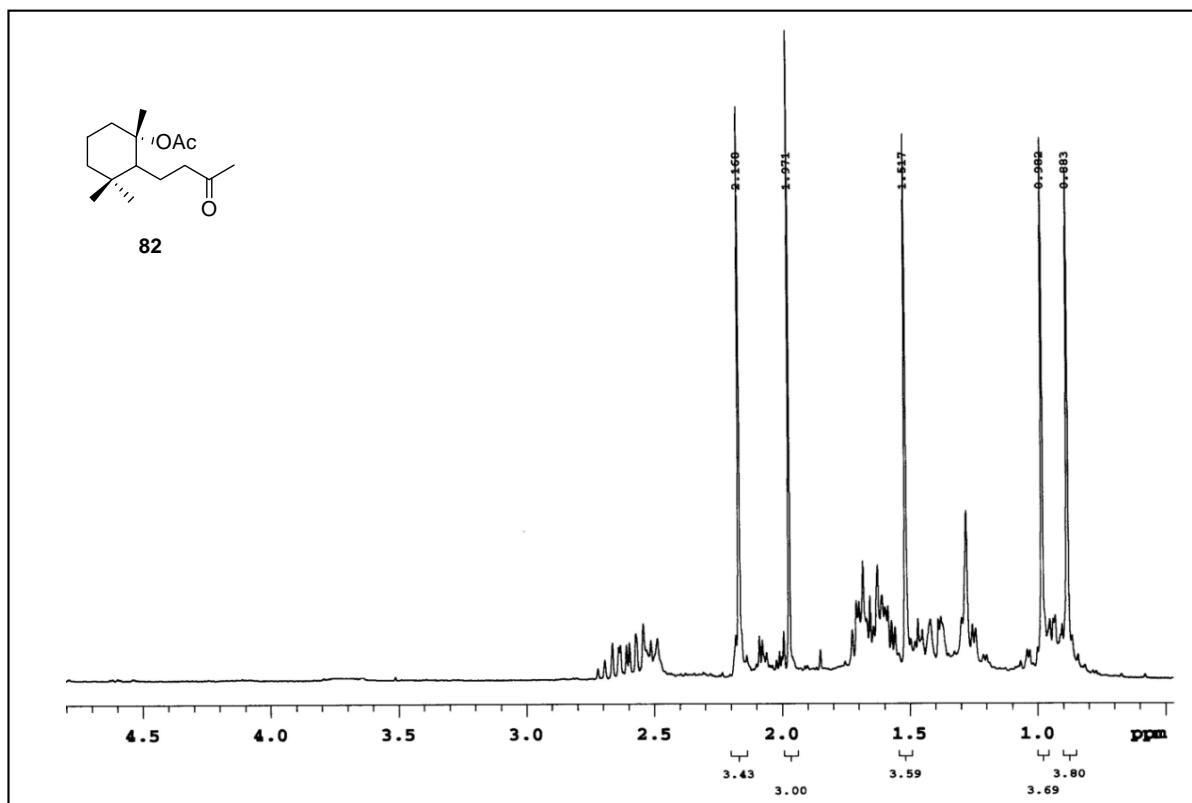
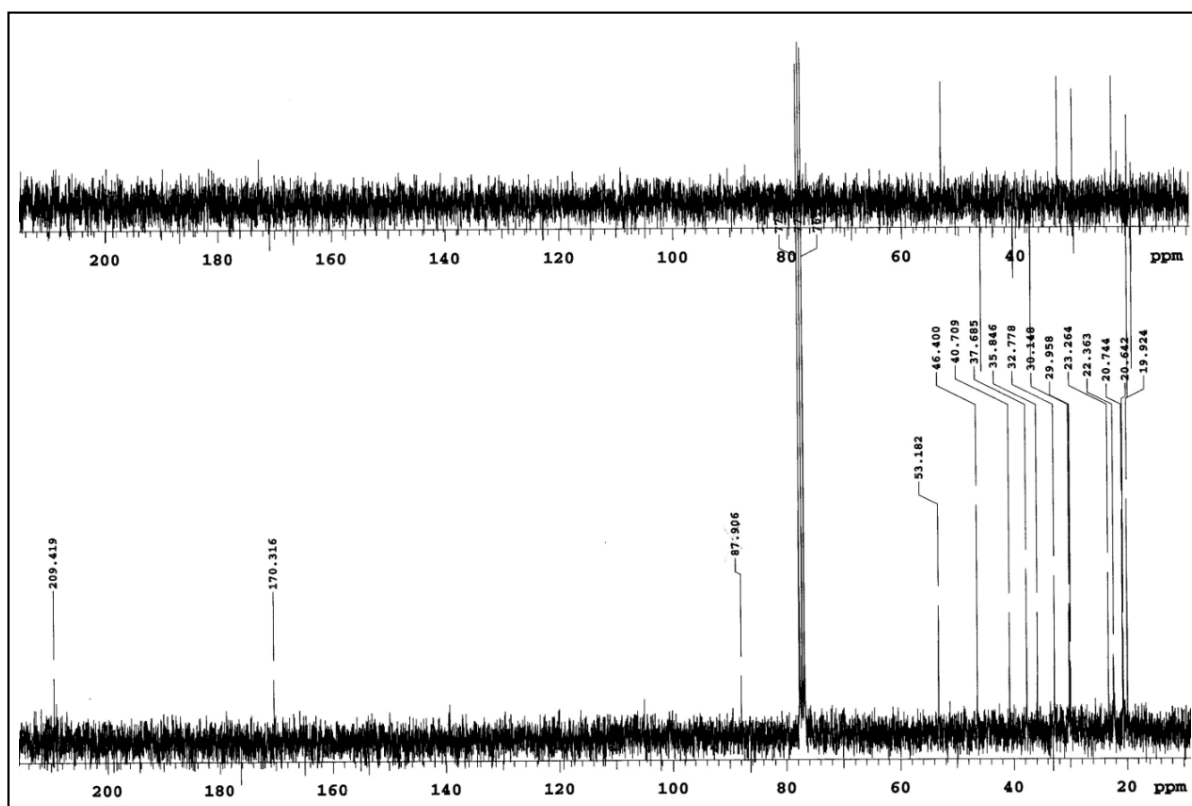
Espectro de ^1H RMN del compuesto 74Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 74

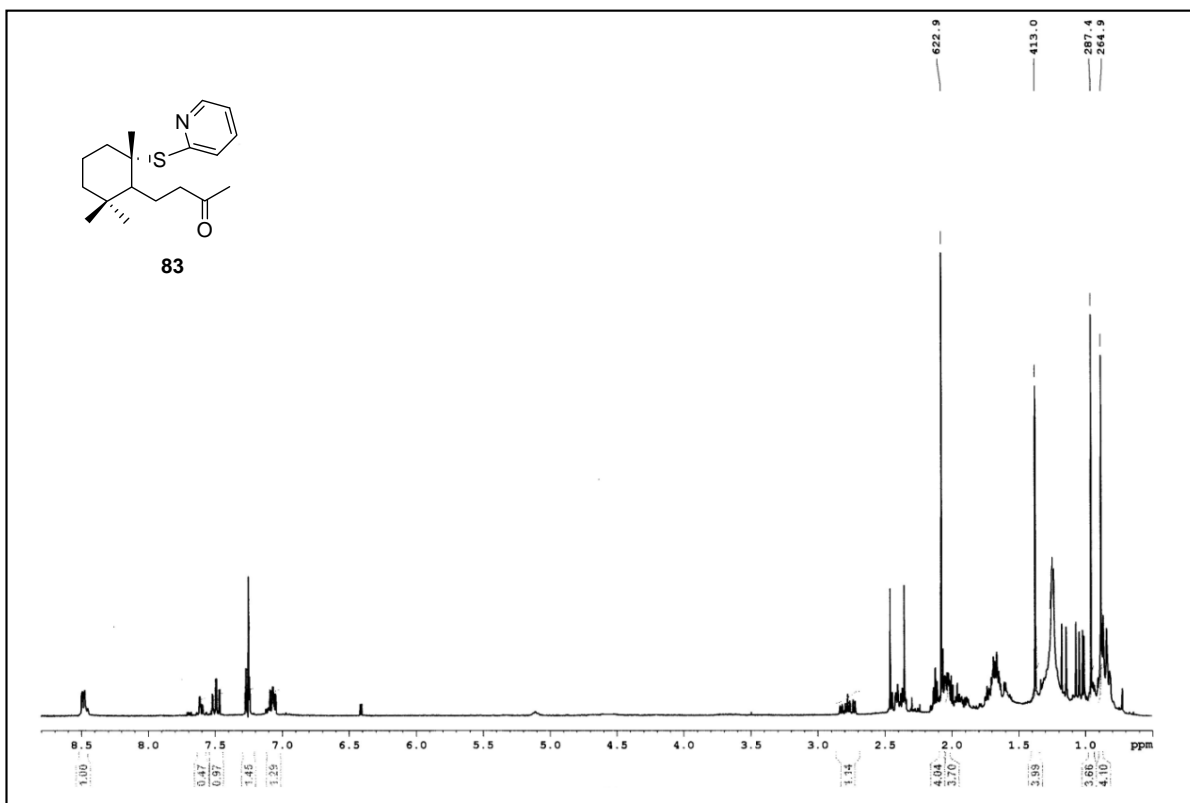
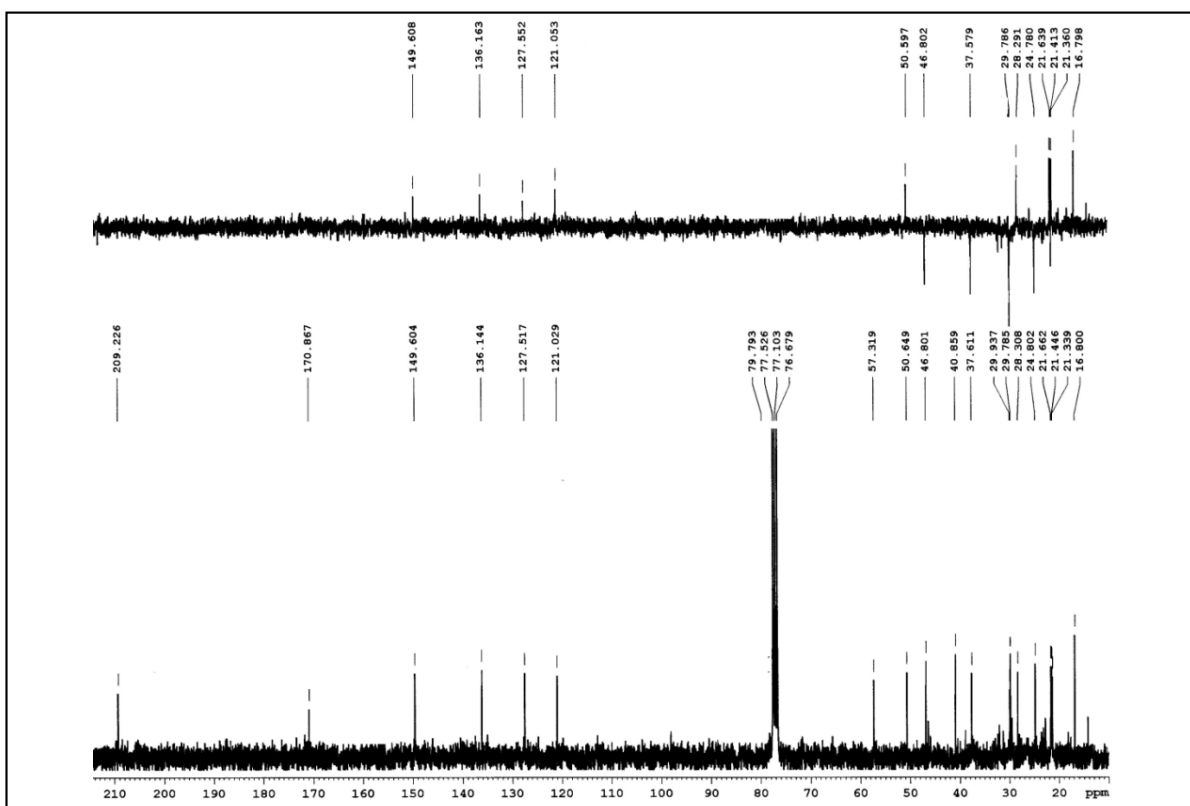
Espectro de ^1H RMN del compuesto **75**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **75**

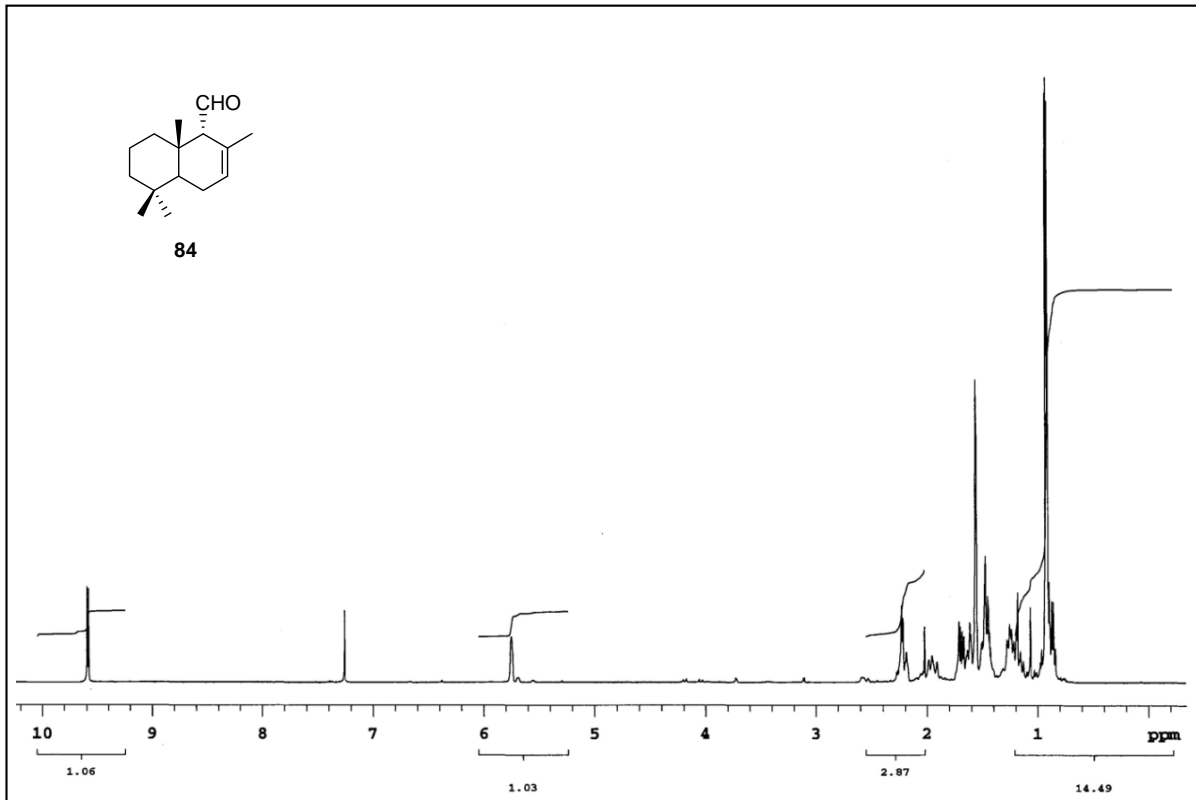
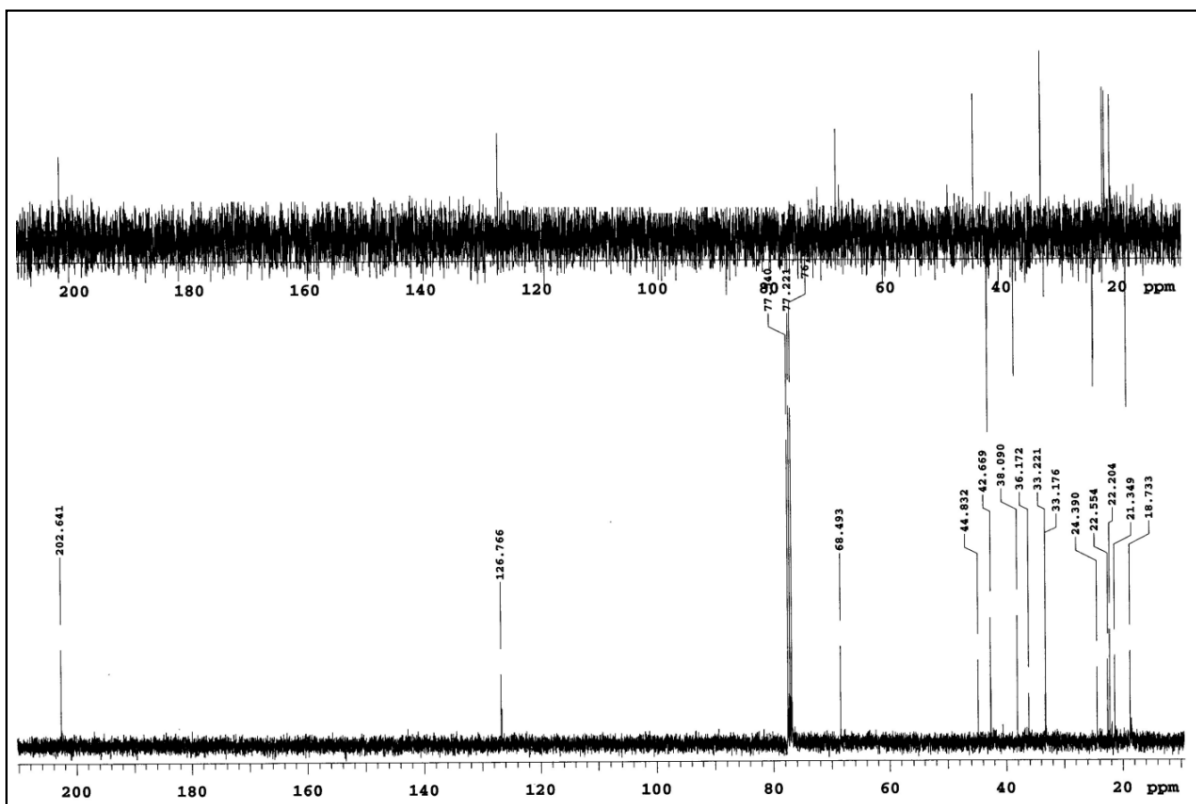
Espectro de ^1H RMN del compuesto **76**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **76**

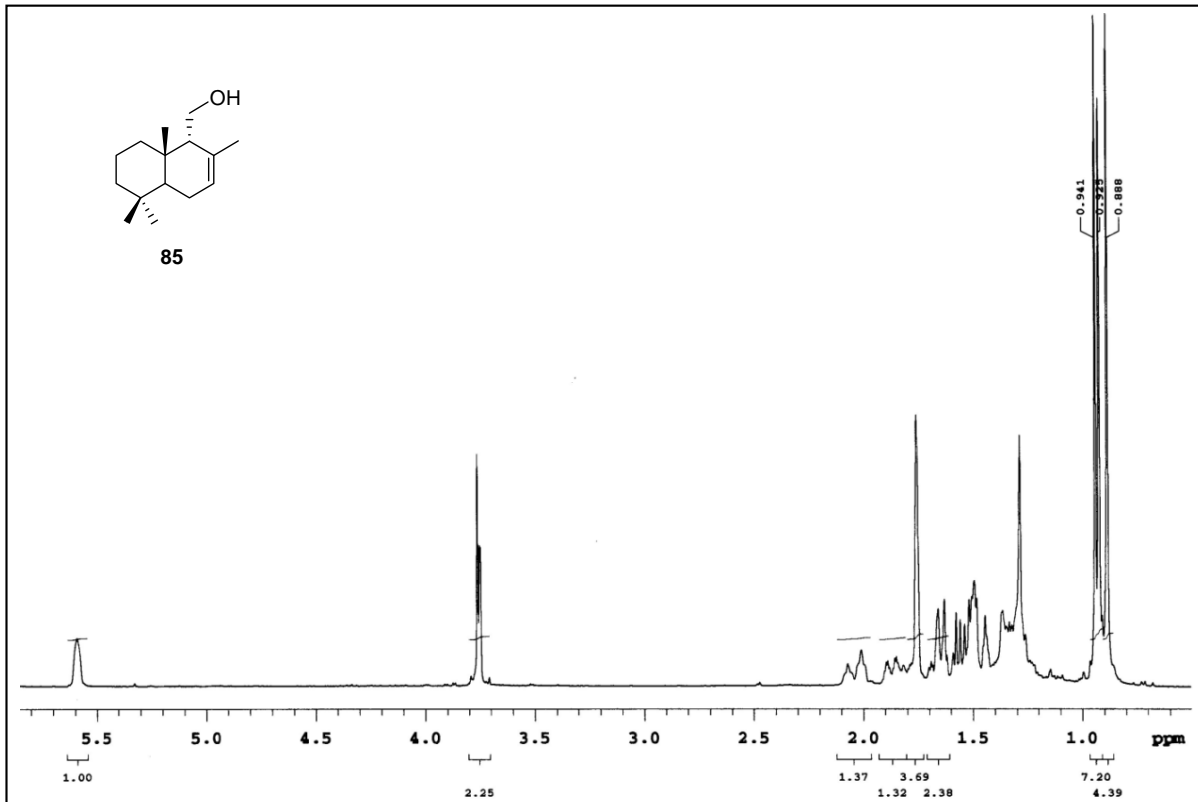
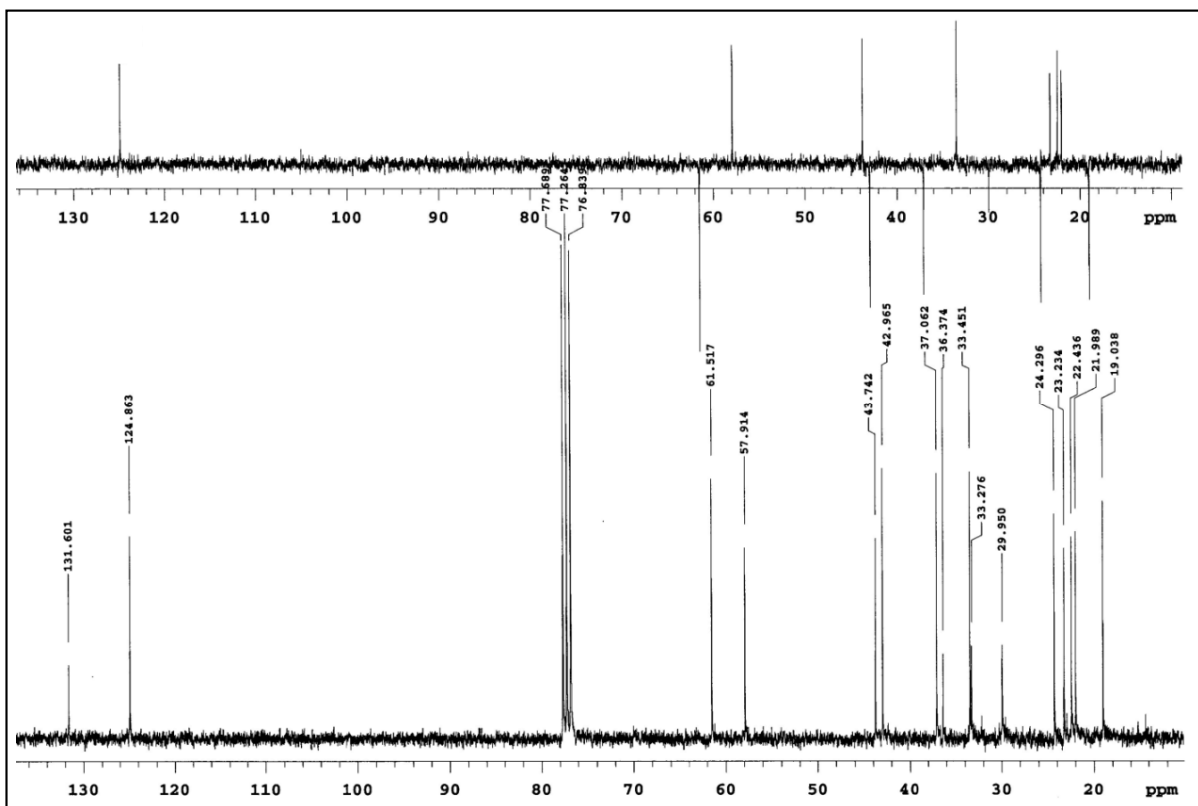
Espectro de ^1H RMN del compuesto **77**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **77**

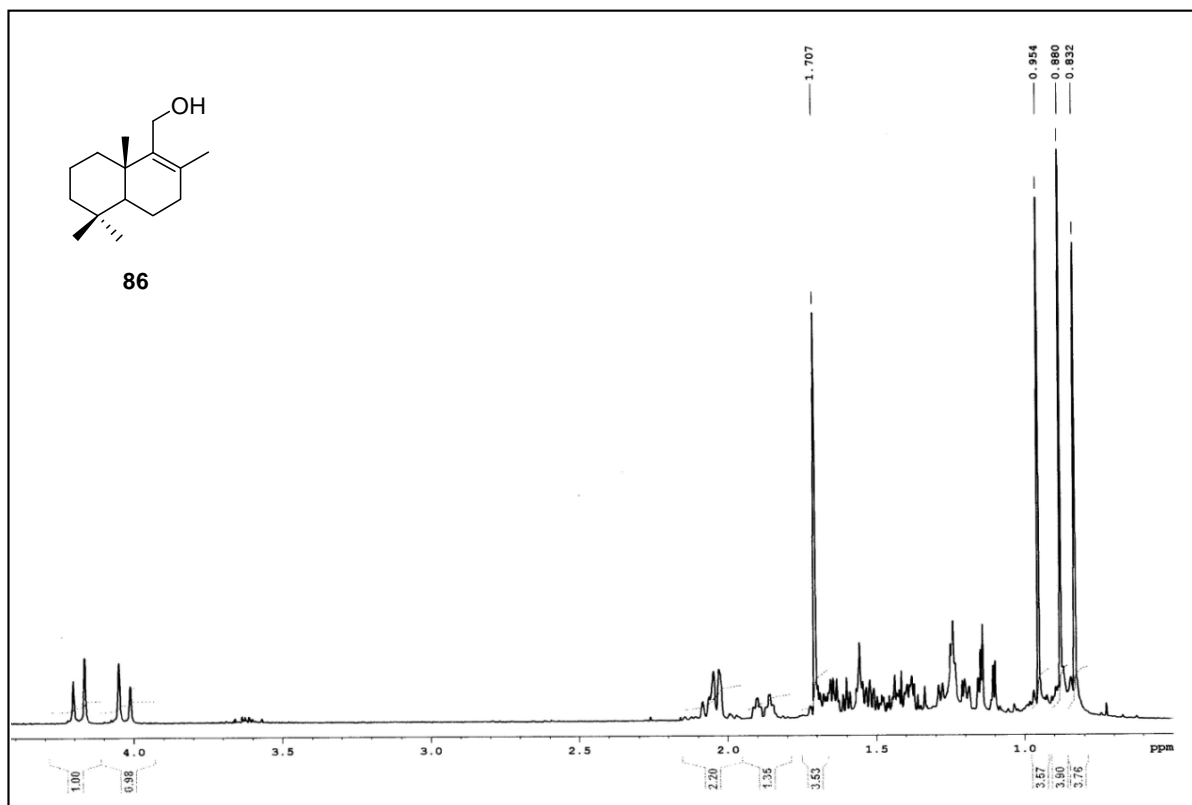
Espectro de ^1H RMN del compuesto 78Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 78

Espectro de ^1H RMN del compuesto **82**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **82**

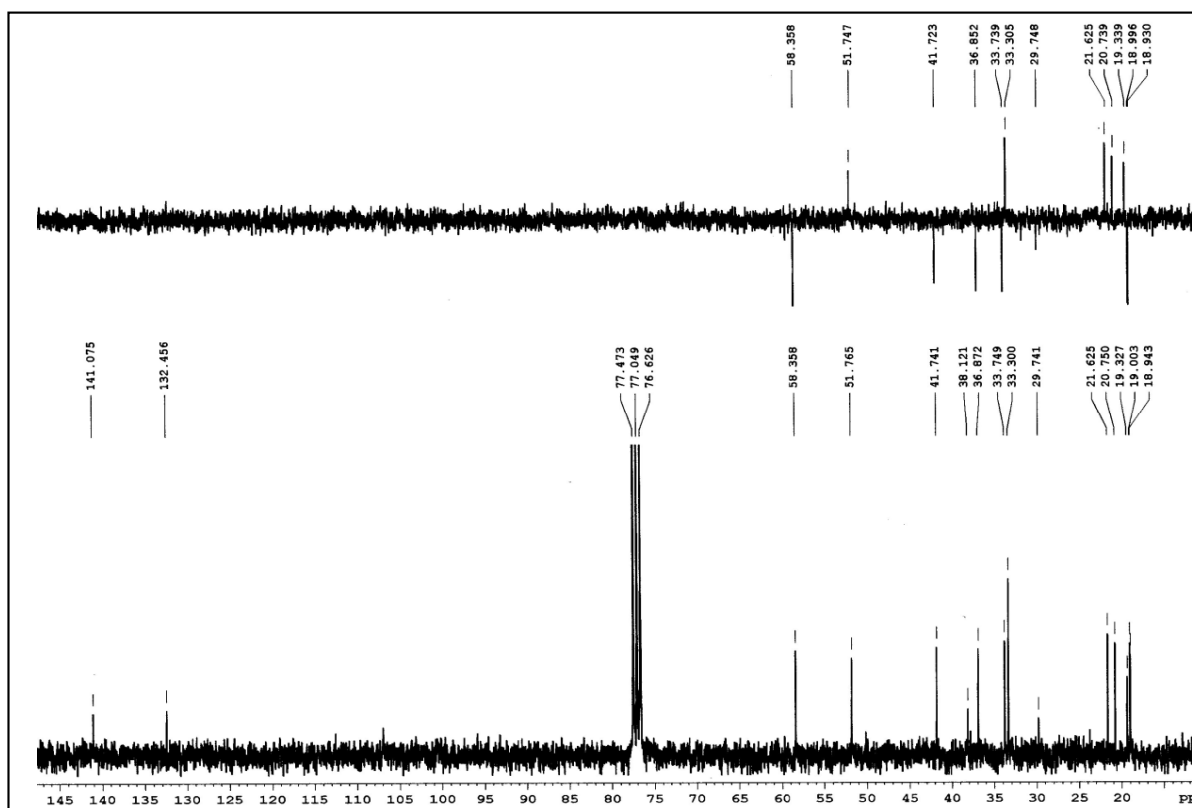
Espectro de ^1H RMN del compuesto **83**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **83**

Espectro de ^1H RMN del compuesto **84**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **84**

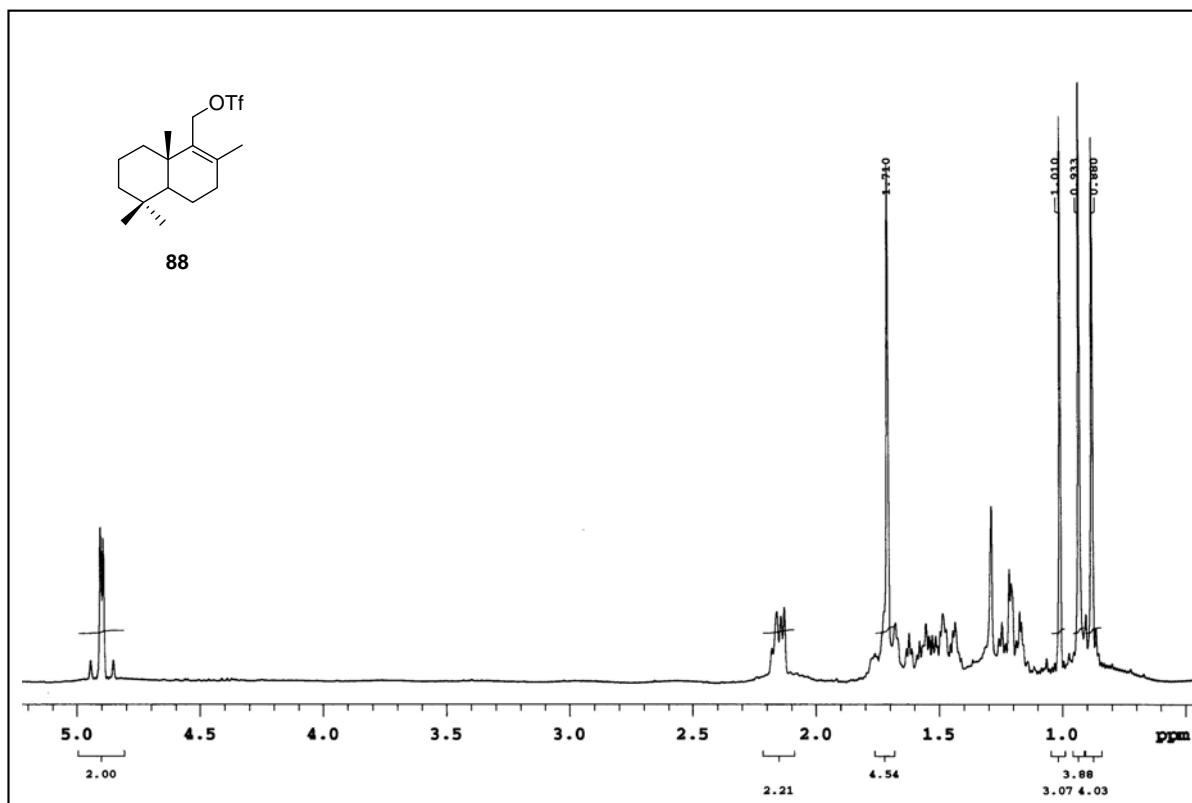
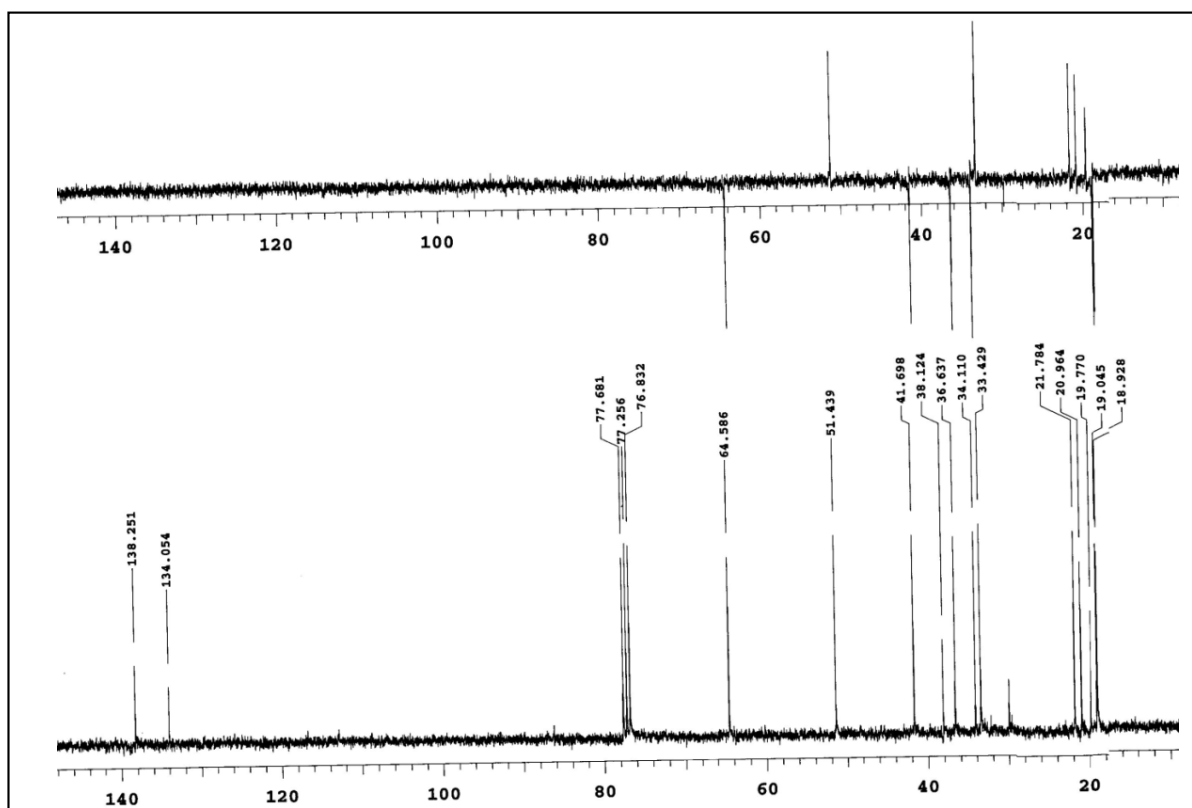
Espectro de ^1H RMN del compuesto **85**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **85**

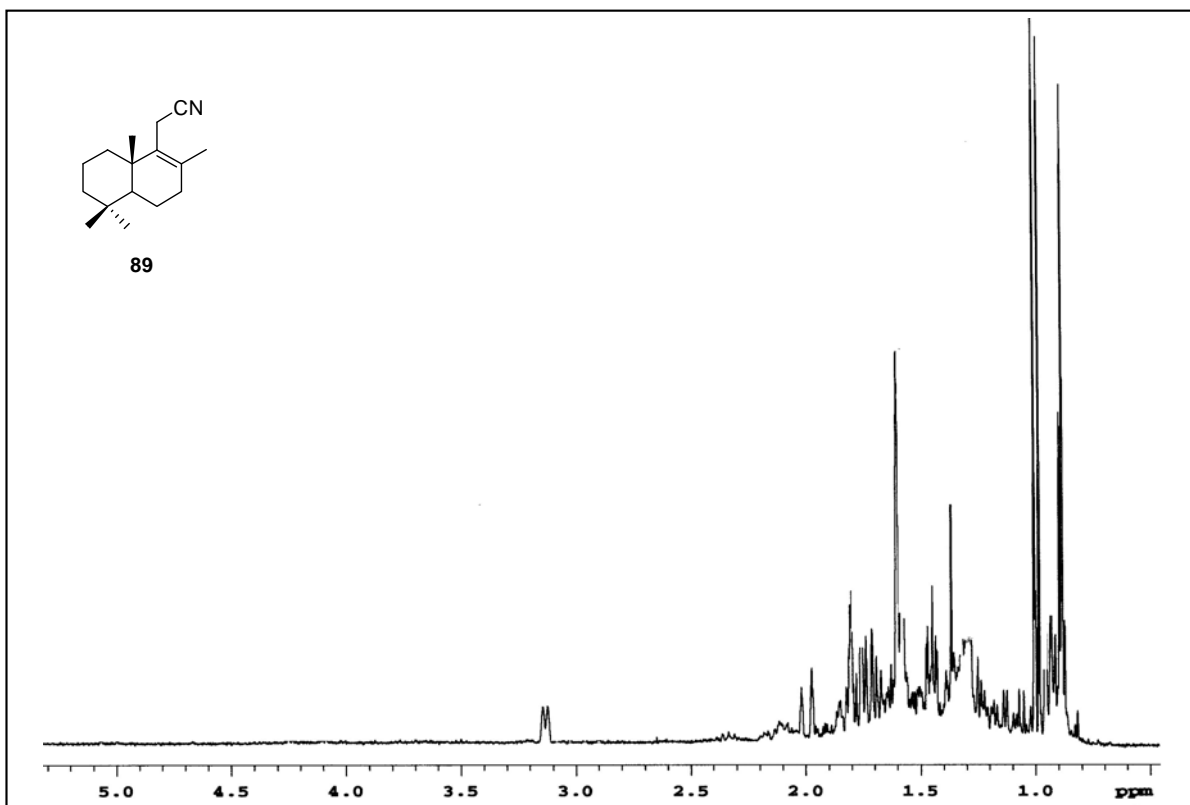
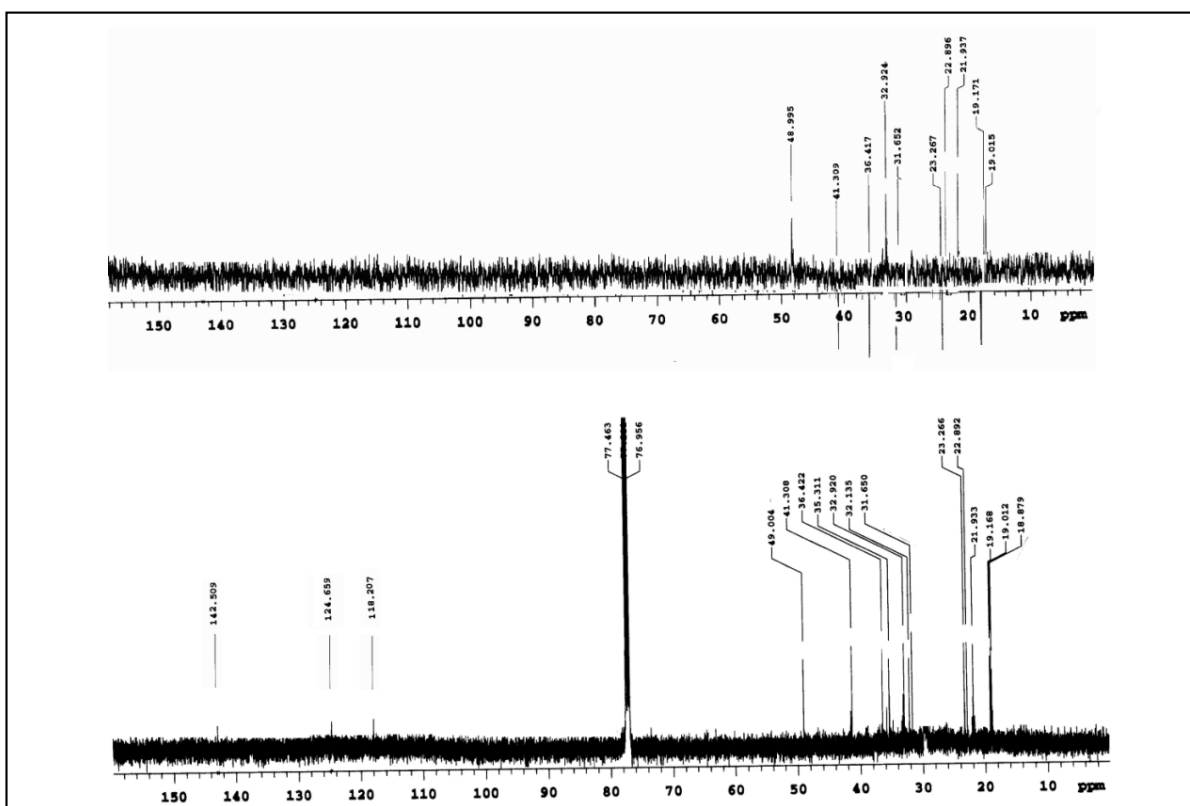


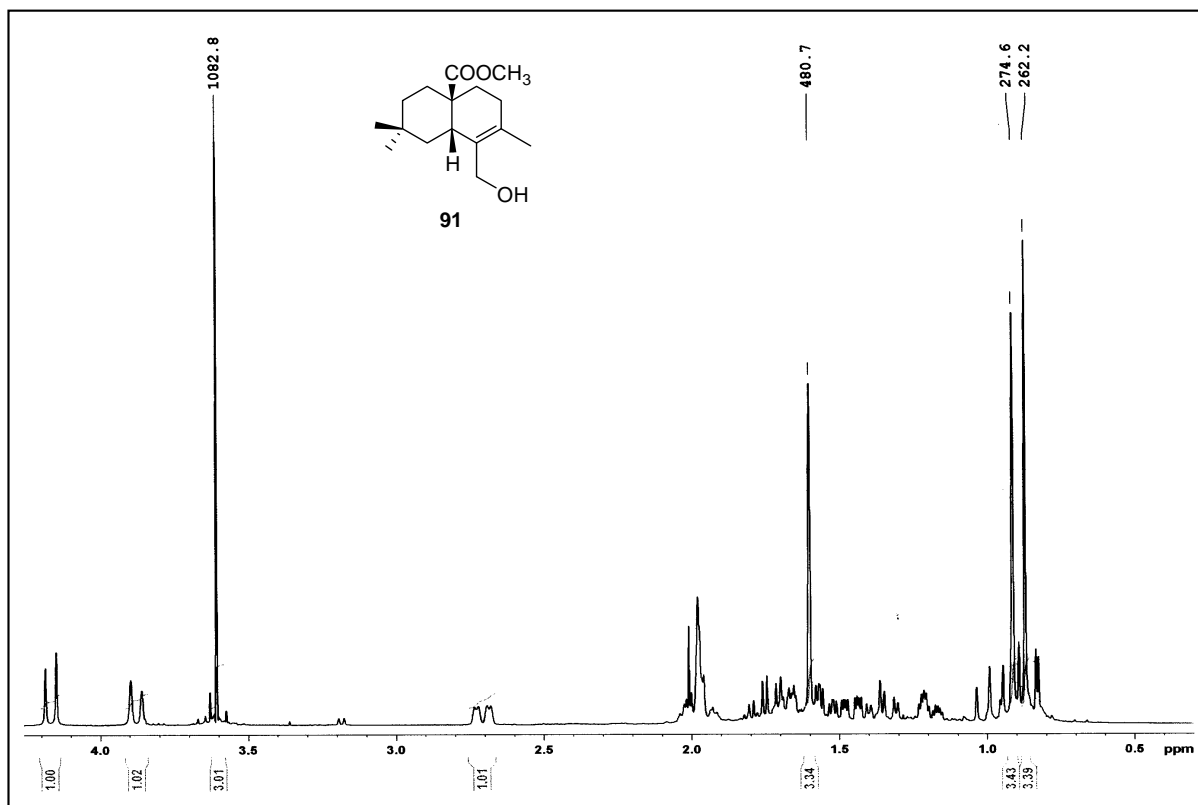
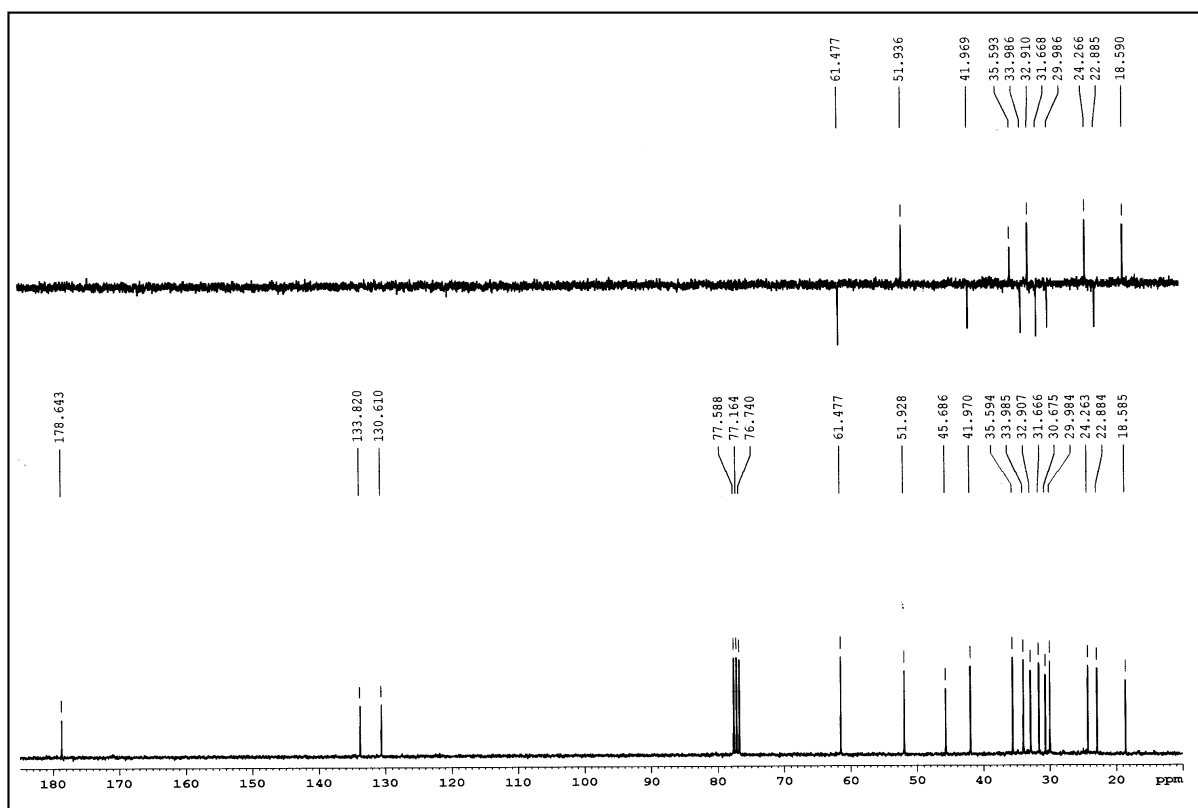
Espectro de ^1H RMN del compuesto **86**

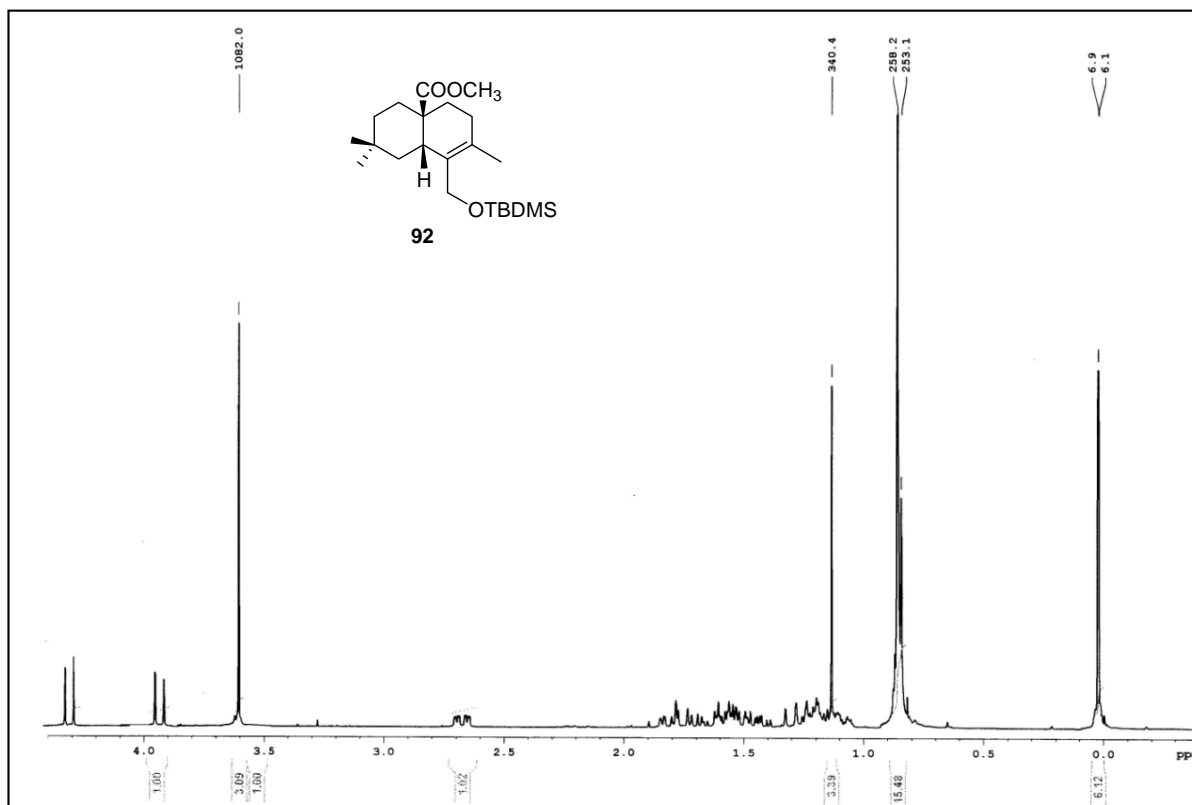


Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **86**

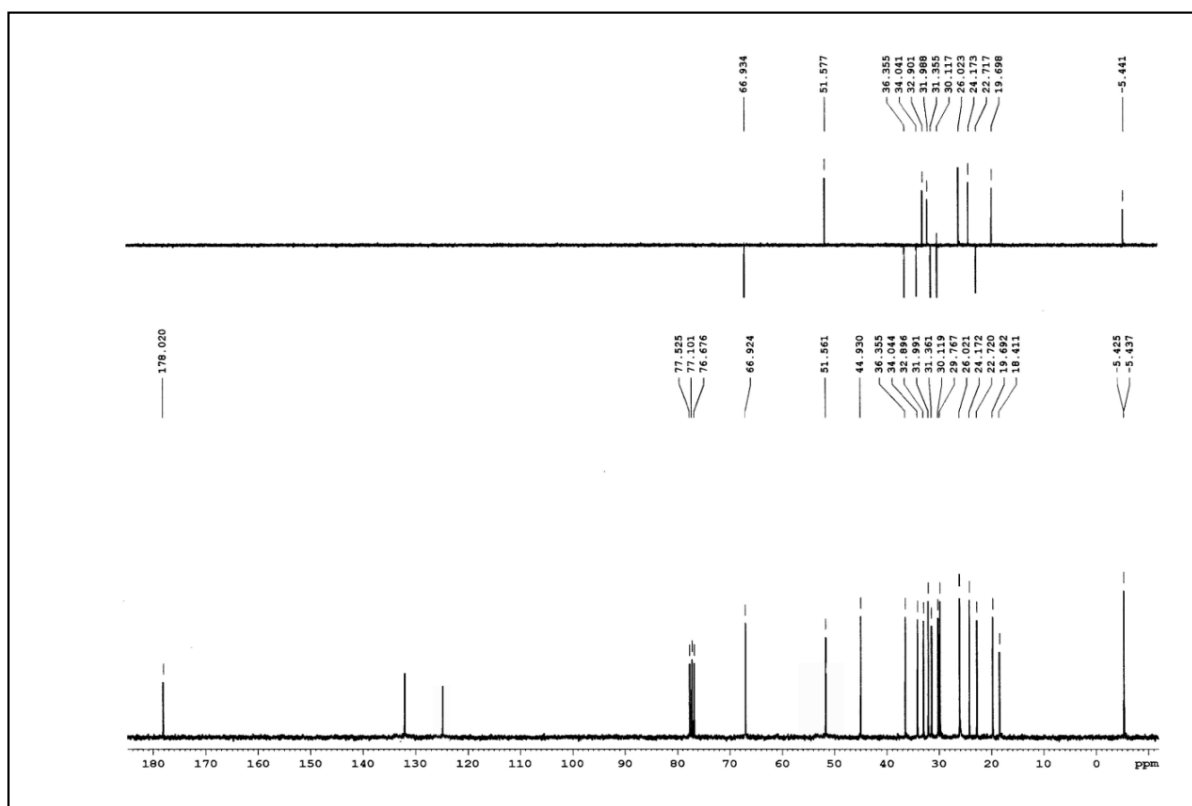
Espectro de ¹H RMN del compuesto **88**Espectro de ¹³C RMN del compuesto **88**

Espectro de ^1H RMN del compuesto **89**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **89**

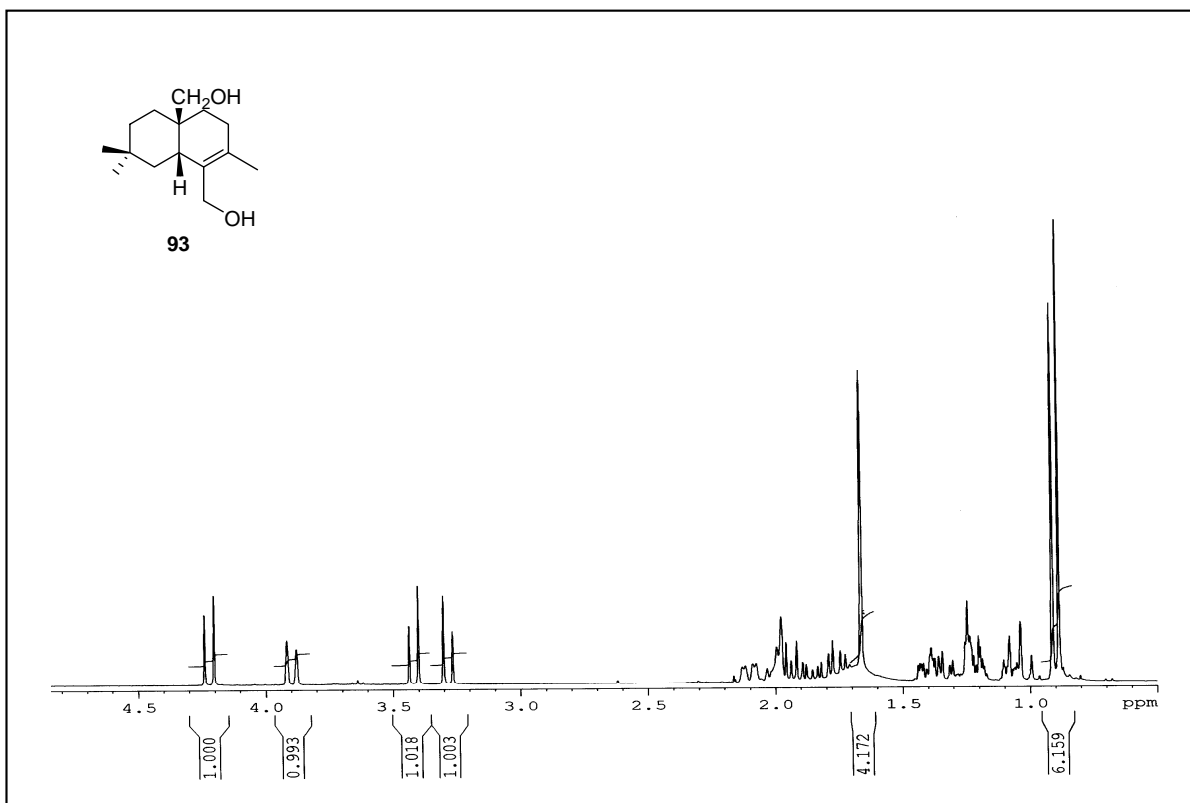
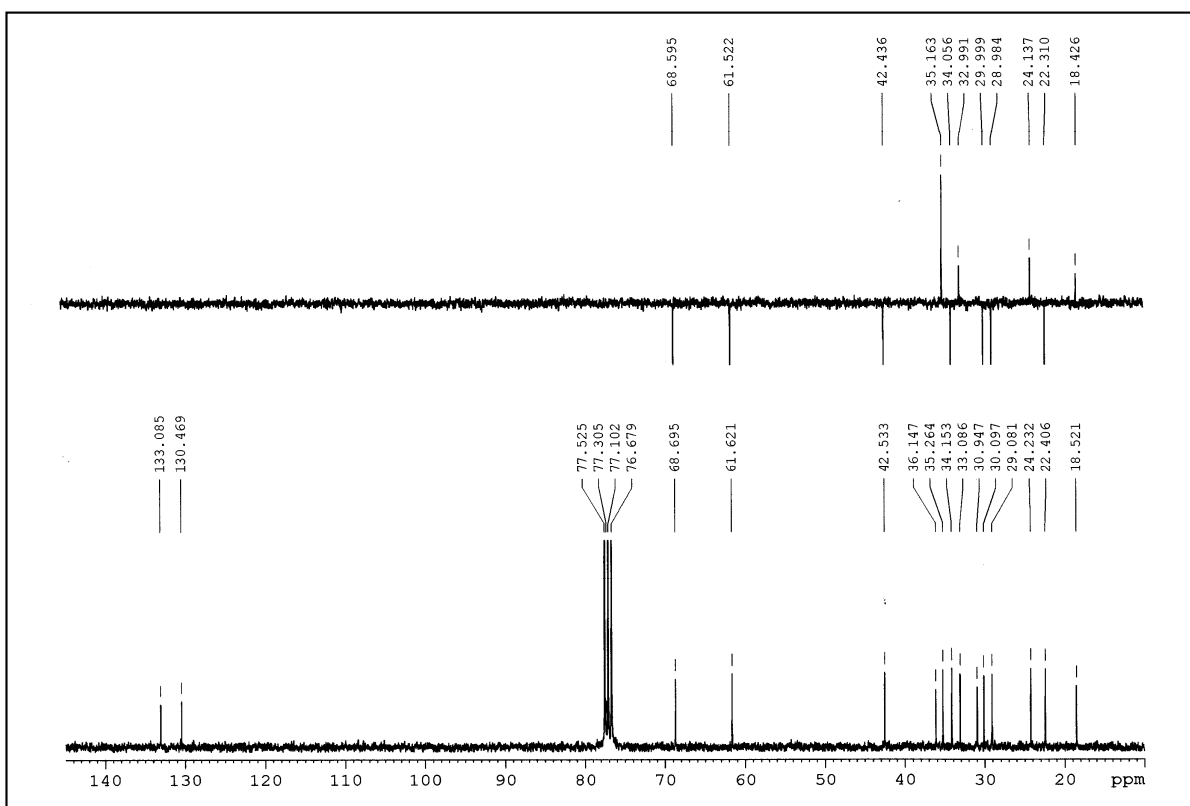
Espectro de ^1H RMN del compuesto **91**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **91**

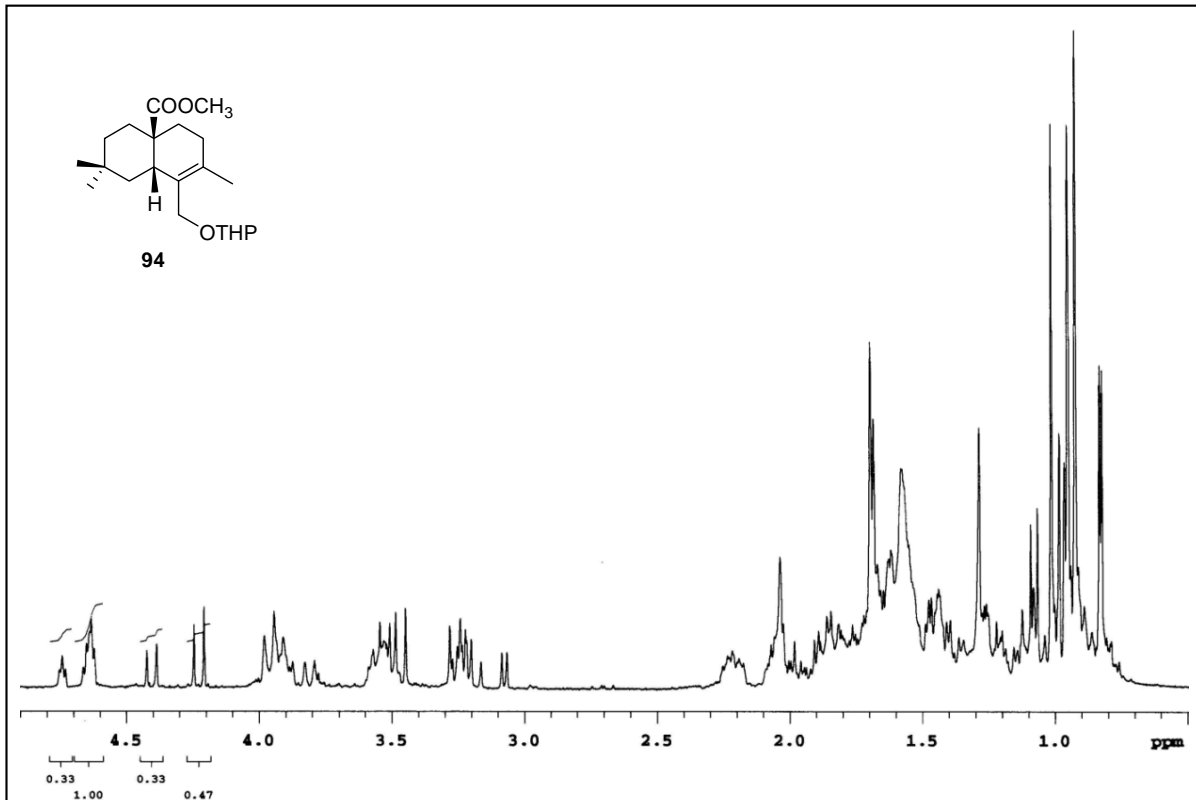
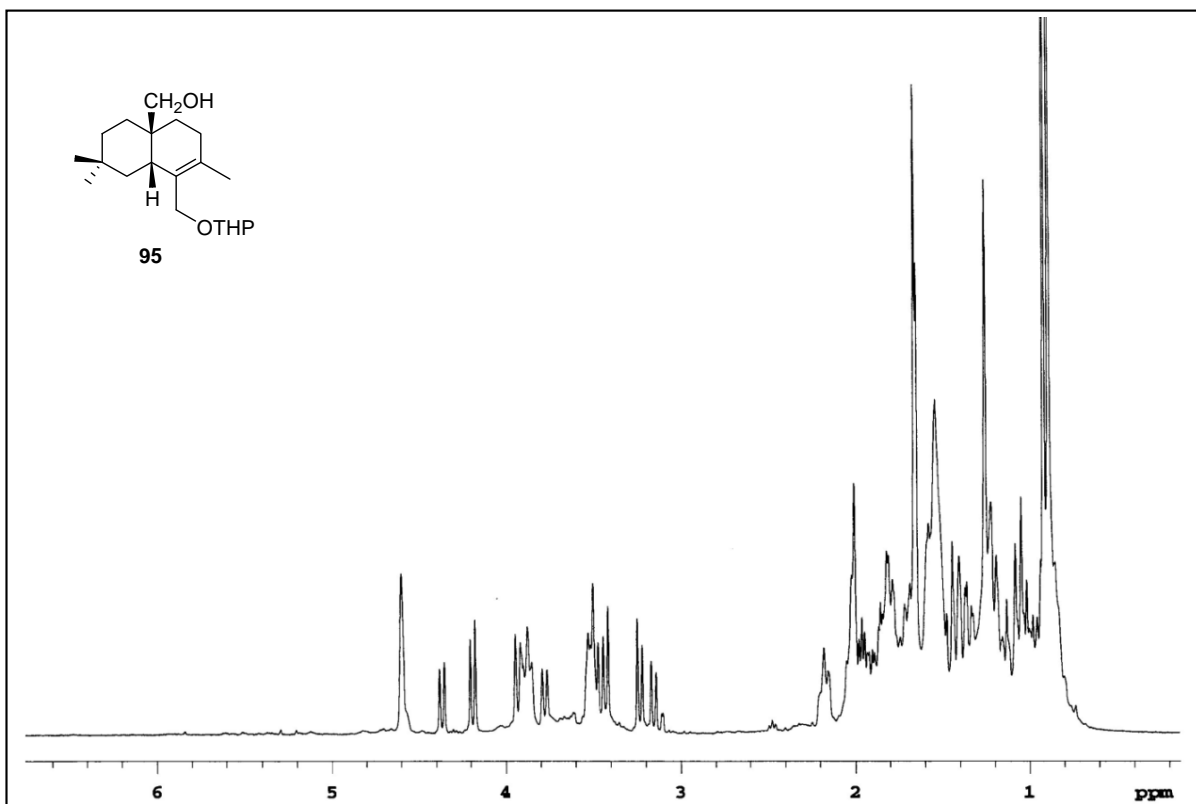


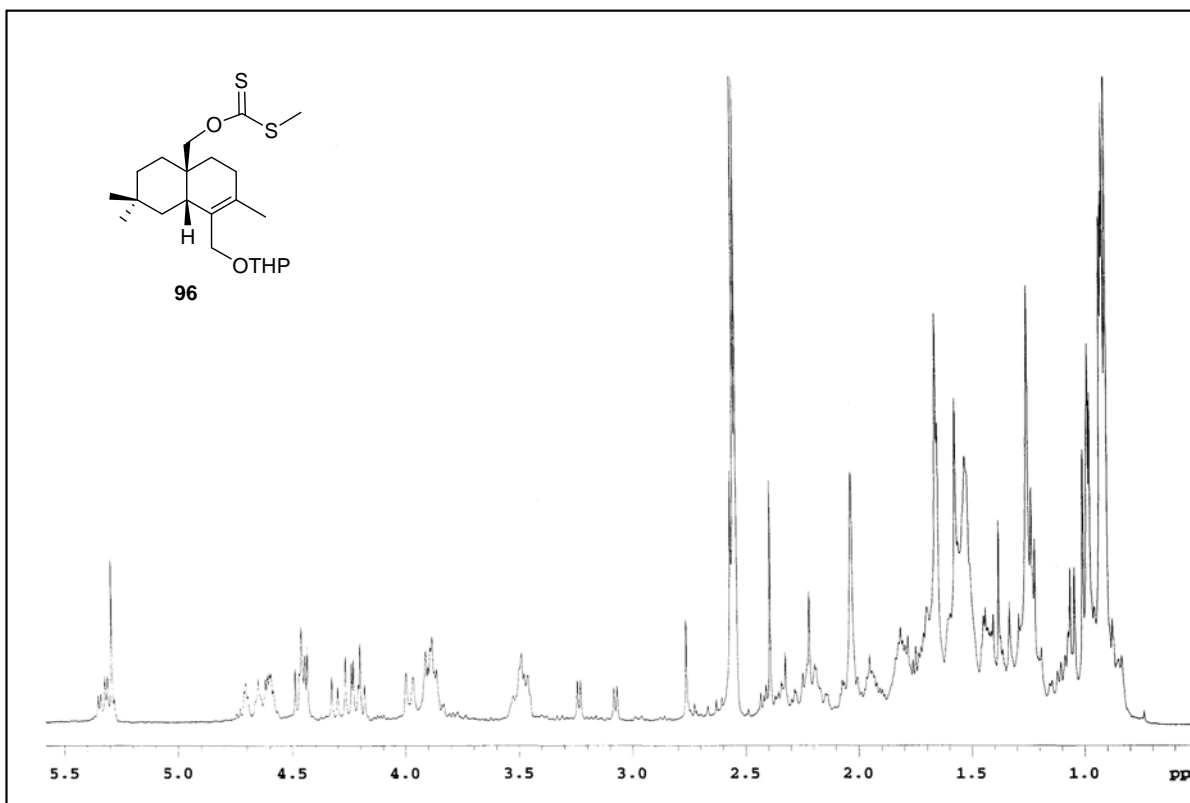
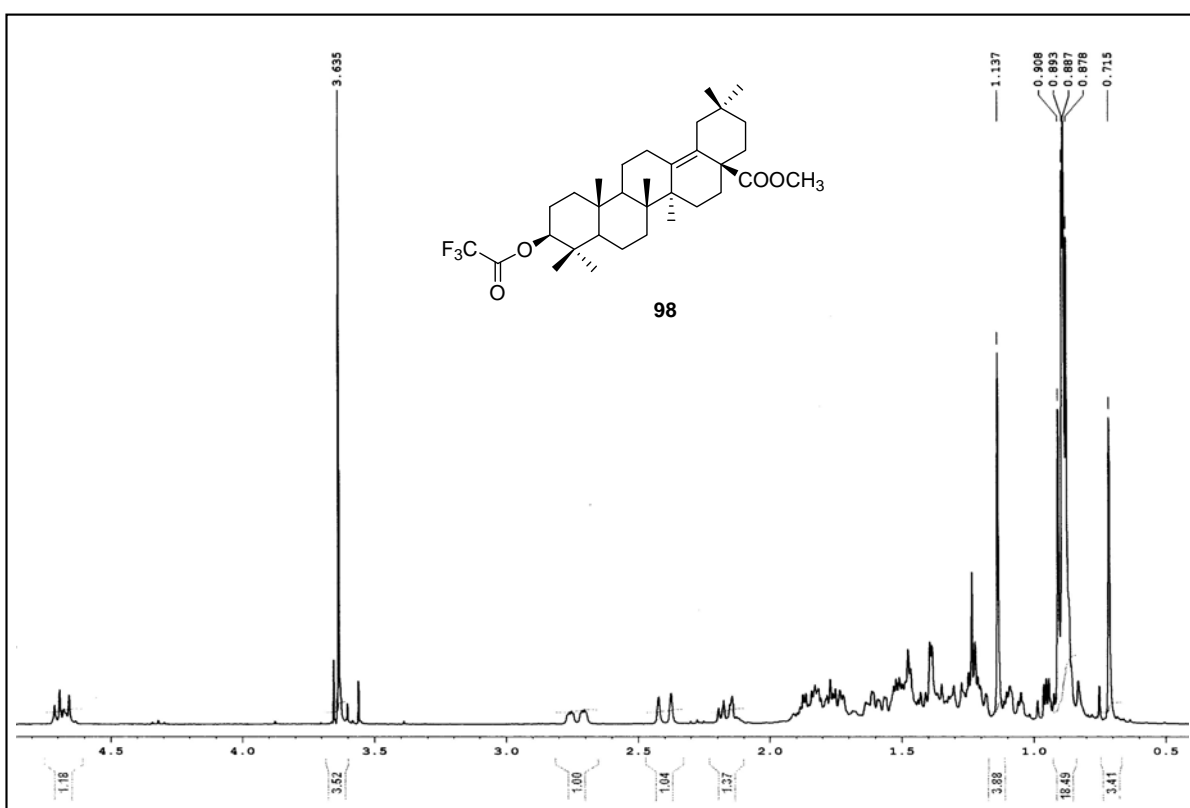
Espectro de ¹H RMN del compuesto **92**

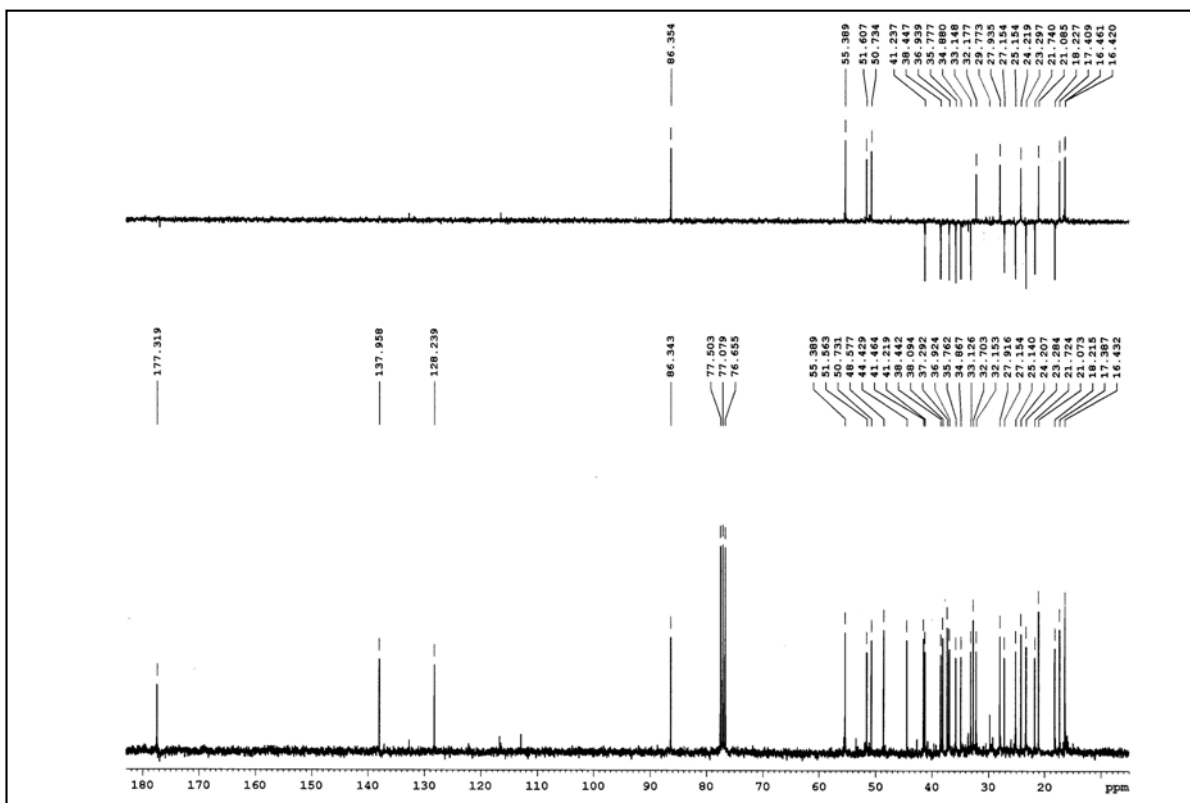


Espectro de ¹³C RMN del compuesto **92**

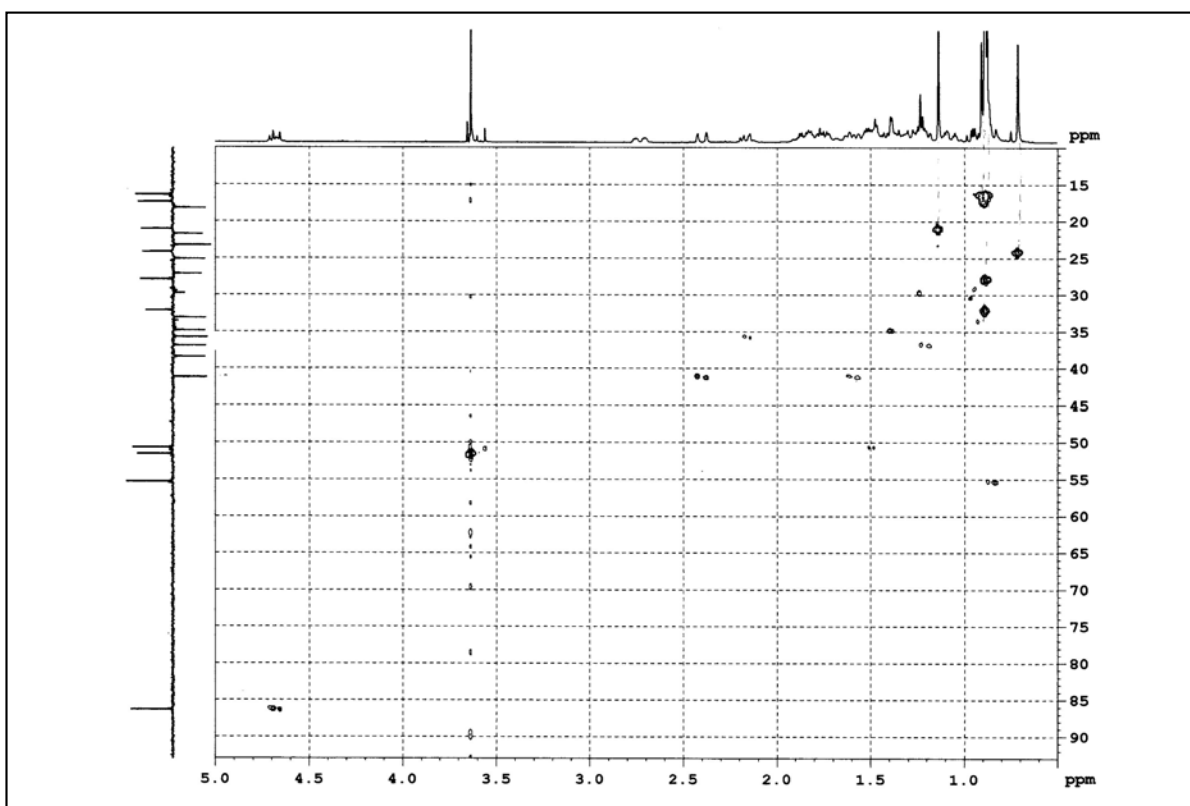
Espectro de ^1H RMN del compuesto **93**Espectro de ^{13}C RMN del compuesto **93**

Espectro de ¹H RMN del compuesto **94**Espectro de ¹H RMN del compuesto **95**

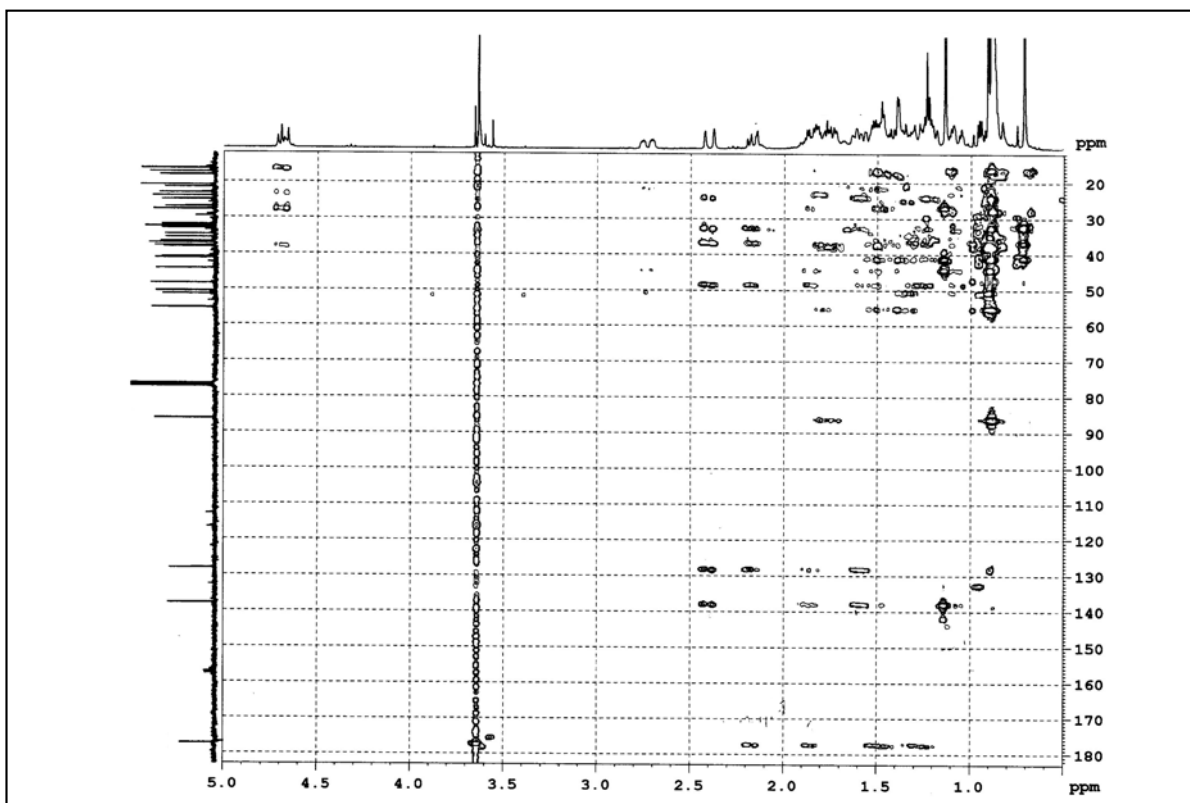
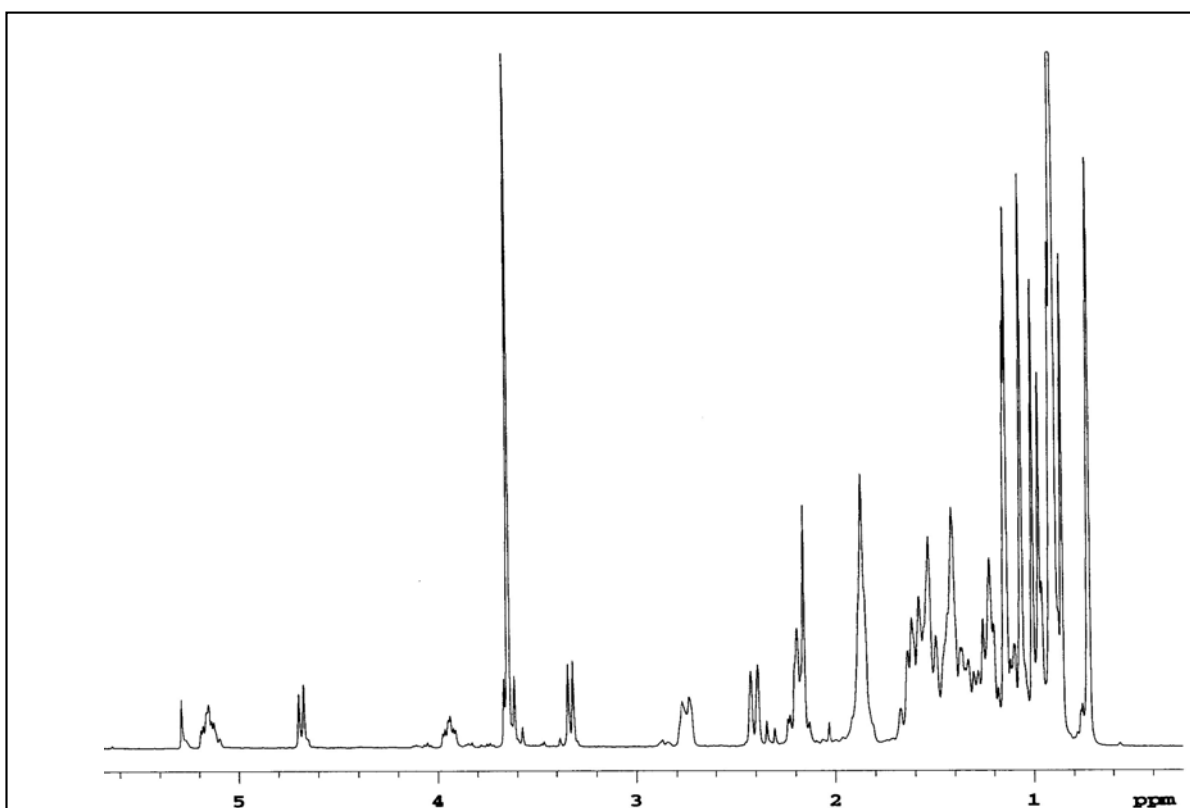
Espectro de ¹H RMN del compuesto **96**Espectro de ¹H RMN del compuesto **98**

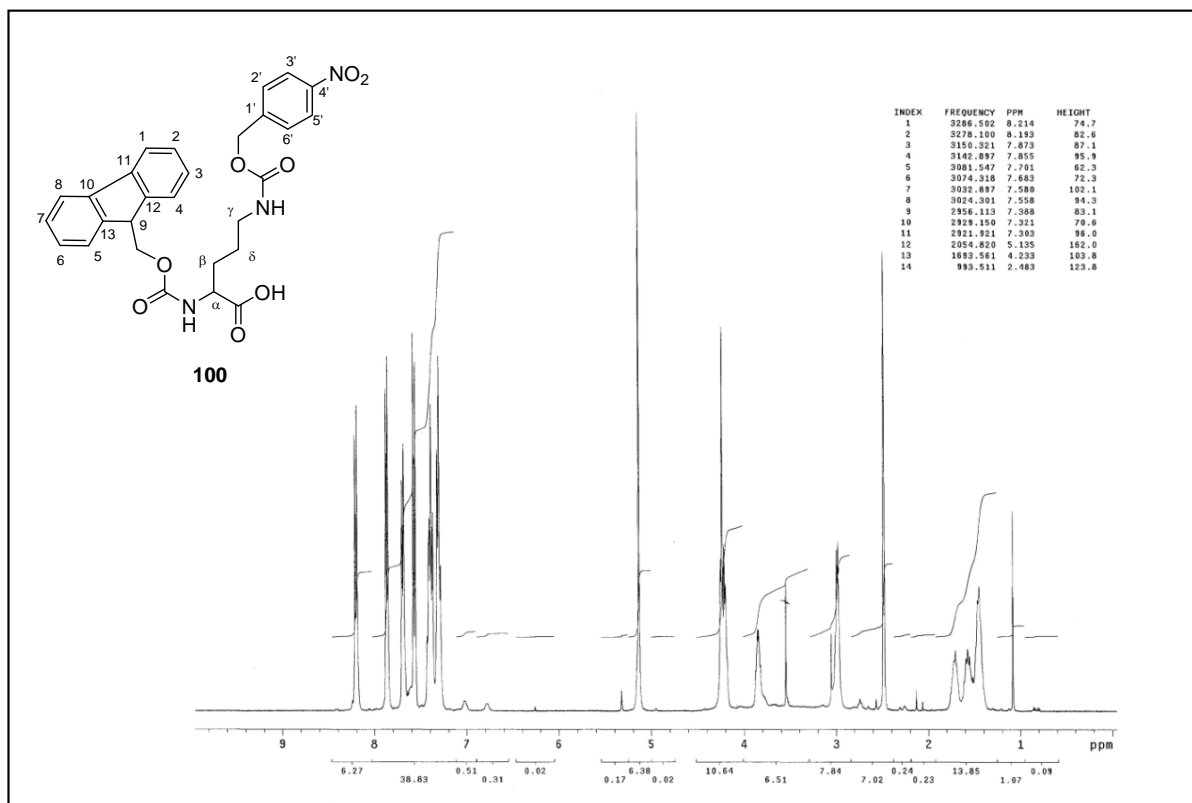
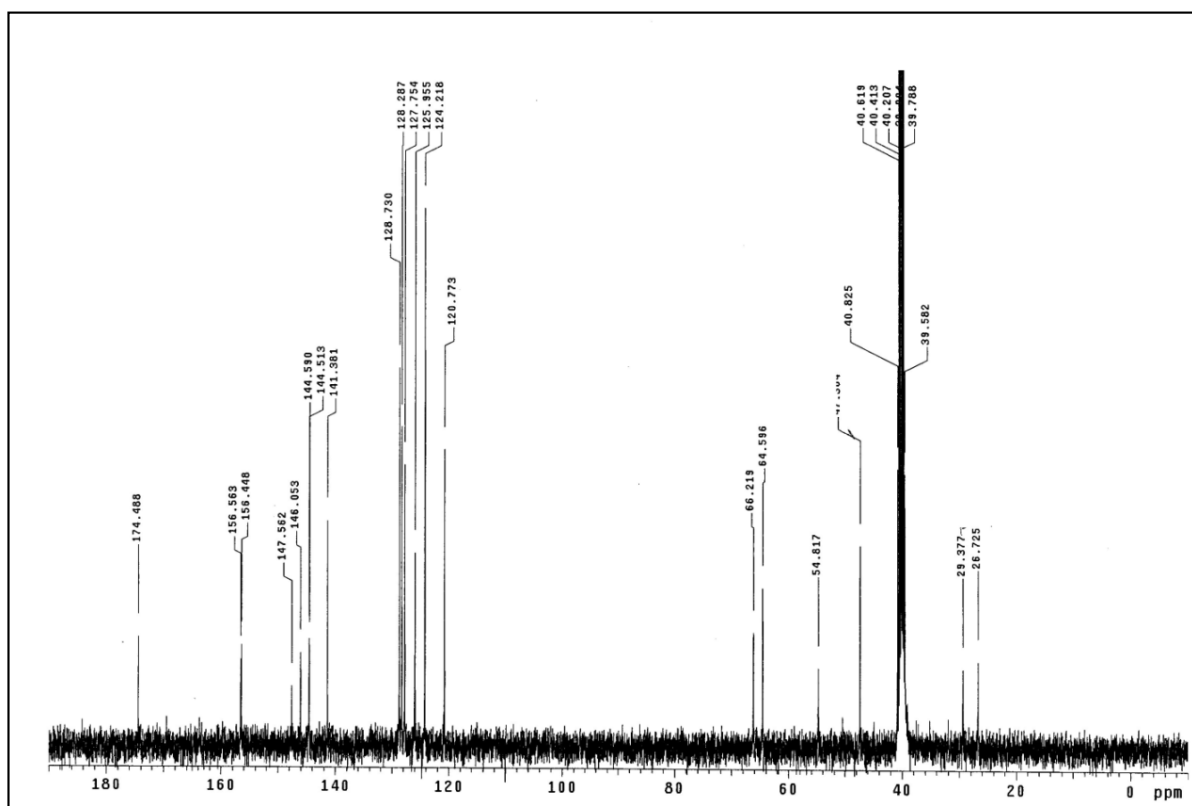


Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 98



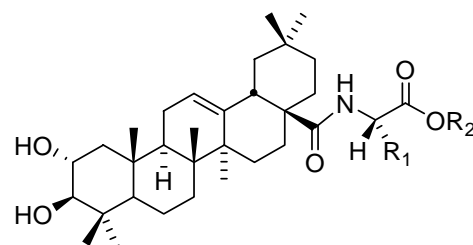
Espectro de HMQC del compuesto 98

Espectro de HMBC del compuesto **98**Espectro de ^1H RMN del compuesto **99**

Espectro de ^1H RMN del compuesto 100Espectro de ^{13}C RMN del compuesto 100

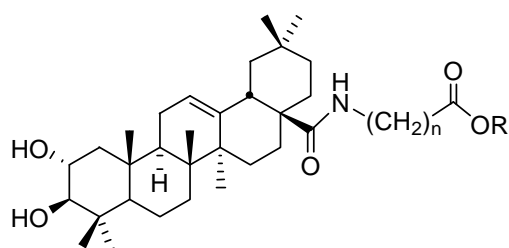
ANEXO I

Tablas de ^1H RMN



103a: R₁=H R₂=CH₃
103b: R₁=H R₂=OH
104a: R₁=CH₃ R₂=CH₃
104b: R₁=CH₃ R₂=OH
105a: R₁=CH(CH₃)₂ R₂=CH₃
105b: R₁=CH(CH₃)₂ R₂=OH

	Producto 2	Producto 103a	Producto 103b	Producto 104a	Producto 104b	Producto 105a	Producto 105b
H-2	3.45 ddd $J_1 = 4.4$ Hz $J_2 = 9.1$ Hz $J_3 = 11.2$ Hz	3.43 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.43 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.39 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.2$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.42 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz
H-3	2.84 d $J = 9.1$ Hz	2.84 d $J = 9.1$ Hz	2.76 d $J = 10.5$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.72 d $J = 10.2$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.75 d $J = 10.5$ Hz
H-12	5.16 dd $J_1 = J_2 = 3.5$ Hz	5.21 dd $J_1 = J_2 = 3.3$ Hz	5.21 dd $J_1 = J_2 = 3.3$ Hz	5.26 dd $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz	5.18 dd $J_1 = J_2 = 3.2$ Hz	5.20 dd $J_1 = J_2 = 2.7$ Hz	5.25 dd $J_1 = J_2 = 2.7$ Hz
H-18β	2.71 dd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 13.9$ Hz	2.81 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.81 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.84 dd $J_1 = 4.5$ Hz $J_2 = 14.0$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz
NH	-	7.76 dd $J_1 = J_2 = 5.6$ Hz	7.58 dd $J_1 = J_2 = 5.3$ Hz	7.59 d $J = 7.1$ Hz	7.35 d $J = 6.9$ Hz	7.26 d $J = 6.0$ Hz	7.01 d $J = 7.3$ Hz
3H-Me	0.58 s	0.58 s	0.65 s	0.70 s	0.63 s	0.60 s	0.64 s
3H-Me	0.59 s	0.59 s	0.72 s	0.76 s	0.69 s	0.69 s	0.71 s
3H-Me	0.67 s	0.69 s	0.89 s	0.87 s	0.86 s	0.87 s	0.77 s
3H-Me	0.72 s	0.72 s	0.89 s	0.88 s	0.86 s	0.87 s	0.87 s
3H-Me	0.77 s	0.77 s	0.91 s	0.90 s	0.86 s	0.88 s	0.89 s
3H-Me	0.82 s	0.82 s	1.10 s	0.96 s	0.95 s	0.91 s	0.93 s
3H-Me	0.93 s	0.93 s	1.09 s	1.11 s	1.07 s	1.08 s	1.10 s
3H-COOCH₃		3.60 s		3.60 s		3.59 s	



106a: n=3 R= CH₂CH₃

106b: n=3 R= OH

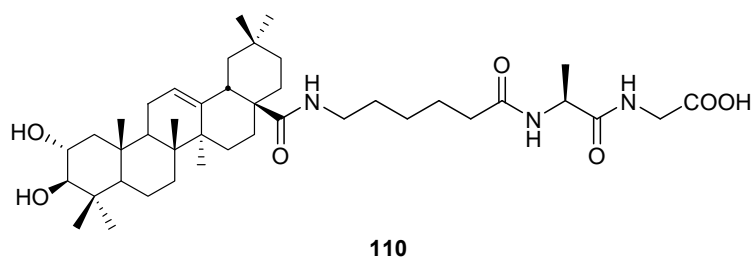
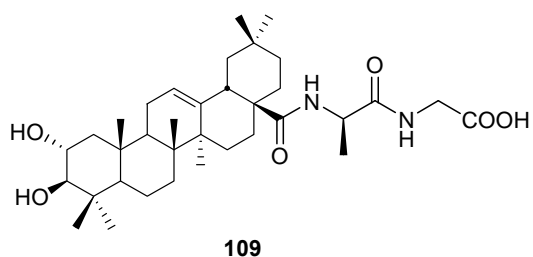
107a: n=5 R= CH₃

107b: n=5 R= OH

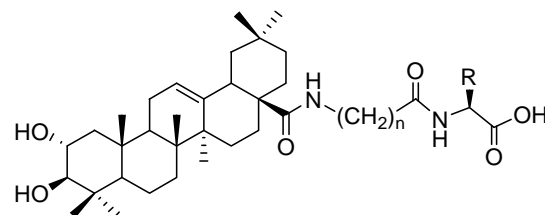
108a: n=10 R= CH₃

108b: n=10 R= OH

	Producto 106a	Producto 106b	Producto 107a	Producto 107b	Producto 108a	Producto 108b
H-2	3.41 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=9.3$ Hz $J_3=12.2$ Hz	3.39 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=9.3$ Hz $J_3= 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=9.3$ Hz $J_3=12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=9.3$ Hz $J_3= 12.2$ Hz	3.40 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=9.3$ Hz $J_3=12.2$ Hz	3.40 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=9.3$ Hz $J_3= 12.2$ Hz
H-3	2.72 d $J=9.3$ Hz	2.72 d $J= 9.3$ Hz	2.72 d $J=9.3$ Hz	2.72 d $J= 9.3$ Hz	2.72 d $J=9.3$ Hz	2.72 d $J= 9.3$ Hz
H-12	5.21 dd $J_1=J_2=3.0$ Hz	5.21 dd $J_1= J_2=3.0$ Hz	5.20 dd $J_1=J_2=3.2$ Hz	5.20 dd $J_1= J_2=3.2$ Hz	5.20 dd $J_1=J_2=3.0$ Hz	5.20 dd $J_1= J_2=3.0$ Hz
H-18β	2.78 dd $J_1=3.6$ Hz $J_2=13.7$ Hz	2.78 dd $J_1= 3.4$ Hz $J_2= 13.7$ Hz	2.78 dd $J_1=3.6$ Hz $J_2=13.7$ Hz	2.78 dd $J_1= 3.8$ Hz $J_2= 13.7$ Hz	2.78 dd $J_1=3.6$ Hz $J_2=13.7$ Hz	2.78 dd $J_1= 3.6$ Hz $J_2= 13.7$ Hz
NH	7.29 dd $J_1=J_2=5.6$ Hz	7.27 dd $J_1=J_2=5.1$ Hz	7.20 dd $J=5.5$ Hz	7.20 dd $J_1=J_2=5.4$ Hz	7.19 dd $J_1=J_2=5.5$ Hz	7.19 dd $J_1=J_2=5.1$ Hz
3H-Me	0.63 s	0.63 s	0.64 s	0.64 s	0.65 s	0.65 s
3H-Me	0.69 s	0.68 s	0.68 s	0.68 s	0.68 s	0.68 s
3H-Me	0.86 s	0.85 s	0.85 s	0.85 s	0.85 s	0.86 s
3H-Me	0.87 s	0.87 s	0.86 s	0.86 s	0.87 s	0.87 s
3H-Me	0.90 s	0.87 s	0.87 s	0.87 s	0.88 s	0.88 s
3H-Me	1.07 s	0.90 s	0.90 s	0.90 s	0.90 s	0.90 s
3H-Me	1.16 s	1.06 s	1.06 s	1.06 s	1.07 s	1.07 s
3H-COOCH₃			3.55 s		3.56 s	



	Producto 109	Producto 110
H-2	3.41 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=10.5$ Hz $J_3=12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1=4.3$ Hz $J_2=10.5$ Hz $J_3=12.2$ Hz
H-3	2.77 m	2.73 d $J=10.5$ Hz
H-12	5.23 dd $J_1=J_2=3.2$ Hz	5.23 dd $J_1=J_2=3.2$ Hz
H-18β	2.77 m	2.77 dd $J_1=3.4$ Hz $J_2=12.5$ Hz
NH	8.05 dd $J_1=J_2=5.6$ Hz	8.11 dd $J_1=J_2=5.8$ Hz
NH	7.25 d $J=7.0$ Hz	7.95 d $J=7.8$ Hz
NH		7.21 dd $J_1=J_2=5.1$ Hz
3H-Me	0.62 s	0.67 s
3H-Me	0.71 s	0.71 s
3H-Me	0.89 s	0.88 s
3H-Me	0.89 s	0.89 s
3H-Me	0.89 s	0.91 s
3H-Me	0.93 s	0.93 s
3H-Me	1.10 s	1.10 s



Compuesto	R	n
111	H	3
112	H	5
113	H	10
114	CH ₃	3
115	CH ₃	5
116	CH ₃	10
117	CH(CH ₃) ₂	3
118	CH(CH ₃) ₂	5
119	CH(CH ₃) ₂	10

	Producto 111	Producto 112	Producto 113	Producto 114	Producto 115	Producto 116	Producto 117	Producto 118	Producto 119	
H-2	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.40 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 9.3$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.40 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 9.3$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz	3.41 ddd $J_1 = 4.3$ Hz $J_2 = 10.5$ Hz $J_3 = 12.2$ Hz
H-3	2.84 d $J = 9.1$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.72 d $J = 9.3$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.72 d $J = 9.3$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz	2.73 d $J = 10.5$ Hz
H-12	5.20 dd $J_1 = J_2 = 3.2$ Hz	5.21 dd $J_1 = J_2 = 3.3$ Hz	5.20 dd $J_1 = J_2 = 3.0$ Hz	5.20 dd $J_1 = J_2 = 3.2$ Hz	5.20 dd $J_1 = J_2 = 3.2$ Hz	5.20 dd $J_1 = J_2 = 3.0$ Hz	5.20 dd $J_1 = J_2 = 3.2$ Hz	5.21 dd $J_1 = J_2 = 3.2$ Hz	5.25 dd $J_1 = J_2 = 2.7$ Hz	5.25 dd $J_1 = J_2 = 2.7$ Hz
H-18β	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.81 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.84 dd $J_1 = 4.5$ Hz $J_2 = 14.0$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz	2.77 dd $J_1 = 3.4$ Hz $J_2 = 12.5$ Hz
NH	8.01 dd $J_1 = J_2 = 4.5$ Hz,	8.04 dd $J_1 = J_2 = 4.5$ Hz	8.03 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz	8.06 d $J = 5.4$ Hz	8.00 d $J = 5.1$ Hz	7.99 d $J = 5.7$ Hz	7.92 d $J = 6.3$ Hz	7.86 d $J = 6.3$ Hz	7.84 d $J = 6.0$ Hz	7.84 d $J = 6.0$ Hz
NH	7.23 dd $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz,	7.15 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz	7.15 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz	7.23 dd $J_1 = J_2 = 5.8$ Hz	7.22 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz	7.15 dd $J_1 = J_2 = 3.6$ Hz	7.24 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz	7.17 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz	7.15 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz	7.15 dd $J_1 = J_2 = 3.9$ Hz
3H-Me	0.63 s	0.64 s	0.64 s	0.63 s	0.64 s	0.65 s	0.63 s	0.65 s	0.63 s	0.63 s
3H-Me	0.68 s	0.69 s	0.68 s	0.68 s	0.69 s	0.68 s	0.68 s	0.69 s	0.68 s	0.68 s
3H-Me	0.85 s	0.85 s	0.84 s	0.84 s	0.84 s	0.85 s	0.85 s	0.86 s	0.84 s	0.84 s
3H-Me	0.87 s	0.86 s	0.86 s	0.86 s	0.86 s	0.87 s	0.86 s	0.86 s	0.86 s	0.86 s
3H-Me	0.88 s	0.87 s	0.87 s	0.87 s	0.87 s	0.88 s	0.88 s	0.88 s	0.87 s	0.87 s
3H-Me	0.90 s	0.90 s	0.90 s	0.90 s	0.90 s	0.90 s	0.90 s	0.91 s	0.90 s	0.90 s
3H-Me	1.07 s	1.07 s	1.07 s	1.06 s	1.06 s	1.07 s	1.07 s	1.08 s	1.06 s	1.06 s

ANEXO II

Tablas de ^{13}C RMN

	AM (2)	Producto 103a	Producto 103b	Producto 104a	Producto 104b	Producto 105a	Producto 105b
C-1	46.12	46.7	46.9	46.7	46.7	47.5	46.8
C-2	68.28	67.0	67.1	67.0	67.0	67.8	67.0
C-3	83.17	82.1	82.2	82.1	82.1	52.1	82.1
C-4	38.97	32.6	38.7	38.6	38.6	38.6	38.6
C-5	55.05	54.7	54.8	54.7	54.7	55.4	54.7
C-6	18.12	17.9	18.0	17.9	17.9	18.7	17.9
C-7	32.29	32.4	32.5	32.3	32.7	33.1	32.4
C-8	39.08	37.5	37.9	37.5	37.5	38.3	37.5
C-9	47.58	47.0	47.1	47.0	47.0	47.7	47.0
C-10	37.88	38.8	38.9	38.8	38.8	39.6	38.8
C-11	23.18	22.3	22.4	21.9	22.0	22.7	22.2
C-12	121.86	121.2	121.4	121.2	121.4	122.1	121.6
C-13	143.17	143.8	144.0	143.9	143.8	144.6	143.6
C-14	41.52	41.1	41.3	41.1	41.2	42.0	41.3
C-15	27.37	26.7	26.8	26.7	26.7	27.5	26.8
C-16	22.73	22.9	23.0	22.9	22.9	23.7	22.9
C-17	46.12	45.0	45.4	44.9	45.0	46.1	45.4
C-18	41.00	40.2	40.4	40.3	40.2	40.4	40.7
C-19	45.71	45.9	46.0	45.7	45.7	46.5	45.8
C-20	30.36	30.2	30.4	30.3	30.2	31.1	30.3
C-21	33.60	33.48	33.6	33.4	33.2	34.0	33.3
C-22	32.39	32.2	32.3	32.1	32.2	32.8	32.3
Metilo	16.14 (25)	16.2	16.3	16.2	16.2	17.0	16.3
Metilo	16.38 (26)	16.5	16.6	16.6	16.5	17.4	16.7
Metilo	16.54 (24)	17.0	17.1	17.0	17.2	17.7	17.1
Metilo	23.14 (30)	23.4	23.5	23.4	23.3	24.2	23.3
Metilo	25.53 (27)	25.5	25.7	25.5	25.5	26.3	25.5
Metilo	28.21 (23)	28.7	28.8	28.7	28.7	29.5	28.7
Metilo	32.67 (29)	32.8	32.9	32.8	32.8	33.6	32.7
C-28	180.58	176.8	176.6	176.0	175.8	177.3	176.4
C-1 gly		170.4	171.4				
C-2 gly		40.8	40.9				
CH₃ gly		51.3					
C-1 ala				173.0	174.1		
C-2 ala				47.5	47.4		
C-3 ala				16.8	17.0		
CH₃ ala				51.54			
C-1 val						172.9	173.0
C-2 val						58.8	57.4
C-3 val						30.3	29.8
C-4 val						19.8	19.0
C-5 val						19.7	18.6
CH₃ val						52.3	

	Producto 106a	Producto 106b	Producto 107a	Producto 107b	Producto 108a	Producto 108b
C-1	46.7	46.7	46.8	46.7	46.8	46.7
C-2	67.0	67.1	67.1	67.0	70.0	67.0
C-3	82.1	82.7	82.2	82.1	82.1	82.1
C-4	38.6	38.6	38.6	38.6	38.6	38.6
C-5	54.6	54.7	54.7	54.7	54.6	54.7
C-6	17.9	18.0	18.0	18.0	17.9	18.0
C-7	32.7	32.7	32.7	32.7	32.6	32.7
C-8	37.5	37.6	37.6	37.5	37.5	37.5
C-9	47.0	47.0	47.0	47.0	46.9	47.0
C-10	38.8	38.8	38.8	38.9	38.8	38.8
C-11	22.1	22.1	22.2	22.2	22.1	22.2
C-12	121.2	121.3	121.2	121.2	121.1	121.1
C-13	144.1	144.0	144.2	144.1	144.1	144.1
C-14	41.1	41.2	41.2	41.2	41.1	41.2
C-15	26.8	26.9	26.9	26.8	26.5	26.6
C-16	22.9	23.0	23.0	23.0	22.9	22.9
C-17	45.1	45.2	45.2	45.1	45.0	45.1
C-18	40.3	40.4	40.4	40.4	40.3	40.2
C-19	45.9	45.9	46.0	46.0	45.9	46.0
C-20	30.3	30.4	30.4	30.4	30.3	30.3
C-21	33.5	33.6	33.6	33.6	33.5	33.6
C-22	32.2	32.3	32.3	32.3	32.2	32.3
Metilo	16.1	16.2	16.2	16.2	16.1	16.2
Metilo	16.7	16.8	17.1	16.8	16.8	16.8
Metilo	16.9	17.1	18.0	17.0	16.9	17.0
Metilo	23.5	23.5	23.6	23.5	23.4	23.5
Metilo	25.6	25.7	25.6	25.6	25.5	25.6
Metilo	28.7	28.7	28.7	28.7	28.7	28.7
Metilo	32.8	32.9	32.9	32.9	32.8	32.9
C-28	176.1	176.2	176.1	176.0	175.9	175.9
C-1 GABA	172.6	174.3				
C-2 GABA	31.0	31.2				
C-3 GABA	24.3	24.4				
C-4 GABA	38.0	38.2				
CH ₂ -CH ₃ GABA	59.6					
CH ₂ -CH ₃ GABA	14.0					
C-1 6AHA			173.2	174.3		
C-2 6AHA			33.2	33.6		
C-3 6AHA			24.2	24.2		
C-4 6AHA			26.0	26.1		
C-5 6AHA			28.7	28.8		
C-6 6AHA			38.6	38.6		
CH ₃ 6AHA			51.1			
C-1 11AUA					173.1	174.3
C-2 11AUA					33.1	33.6
C-3 11AUA					24.3	24.5
C-4 11AUA					28.4	28.6
C-5 11AUA					28.4	28.8
C-6 11AUA					28.7	28.9
C-7 11AUA					28.7	28.9
C-8 11AUA					28.7	28.8
C-9 11AUA					24.3	24.5
C-10 11AUA					28.9	29.1
C-11 11AUA					38.7	38.8
CH ₃ 11AUA					51.0	

	Producto 109	Producto 110	Producto 111	Producto 112	Producto 113	Producto 114
C-1	46.8	46.7	46.8	46.8	46.8	46.8
C-2	67.0	67.0	67.2	67.1	67.1	67.12
C-3	82.1	82.1	82.3	82.2	82.2	82.2
C-4	38.6	38.6	38.6	38.9	38.9	38.9
C-5	54.6	54.7	54.8	54.8	54.8	54.7
C-6	18.0	17.9	18.0	18.0	18.0	18.0
C-7	32.2	32.6	32.8	32.7	32.7	32.7
C-8	37.5	37.5	37.6	37.6	37.6	37.6
C-9	47.0	47.0	47.1	47.1	47.1	47.1
C-10	38.8	38.8	38.9	39.1	39.1	39.1
C-11	22.2	22.1	22.2	22.2	22.2	22.3
C-12	121.6	121.2	121.3	121.3	121.3	121.2
C-13	143.6	144.1	144.1	144.2	144.2	144.2
C-14	41.1	41.2	41.2	41.2	41.2	41.2
C-15	26.7	26.7	26.9	26.6	26.9	26.9
C-16	22.9	22.9	23.0	23.0	23.0	23.0
C-17	45.0	45.0	45.2	45.2	45.1	45.1
C-18	40.7	40.3	40.4	41.3	41.1	40.4
C-19	45.7	45.9	46.0	46.0	46.1	46.0
C-20	30.3	30.3	30.4	30.4	30.4	30.4
C-21	33.2	33.5	33.6	33.6	33.7	33.6
C-22	32.2	32.2	32.3	32.3	32.4	32.3
Metilo	16.2	16.2	16.3	16.2	16.3	16.3
Metilo	16.4	16.7	16.8	16.8	16.8	16.8
Metilo	17.0	17.0	17.1	17.1	17.1	17.1
Metilo	23.4	23.4	23.5	23.5	23.5	23.6
Metilo	25.5	25.6	25.7	25.7	25.7	25.7
Metilo	28.7	28.7	28.8	28.8	28.8	28.8
Metilo	32.8	32.8	32.9	32.9	32.9	32.9
C-28	175.7	175.9	176.2	176.0	176.0	176.1
C-1 Gly	170.8	171.7	171.3	171.3		
C-2 Gly	40.5	40.5	40.5	38.9		
C-1 Ala	172.4	171.0			171.9	
C-2 Ala	47.8	47.6			47.3	
C-3 Ala	18.4	18.2			17.2	
C-1 Val						172.4
C-2 Val						56.9
C-3 Val						29.8
C-4 Val						19.1
C-5 Val						19.1
C-1 6AHA		172.4		172.6	174.2	173.1
C-2 6AHA		35.0		35.0	35.0	35.0
C-3 6AHA		28.4		24.9	24.9	25.1
C-4 6AHA		26.2		26.2	26.2	26.2
C-5 6AHA		28.8		28.9	28.9	28.9
C-6 6AHA		38.6		38.7	38.7	38.7
C-1 GABA			172.3			
C-2 GABA			32.7			
C-3 GABA			25.1			
C-4 GABA			38.9			

	Producto 115	Producto 116	Producto 117	Producto 118	Producto 119
C-1	46.8	46.8	46.9	47.1	46.8
C-2	67.1	67.1	67.1	67.1	67.1
C-3	82.2	82.2	82.2	82.2	82.2
C-4	38.9	38.7	39.1	38.9	39.0
C-5	55.7	54.8	54.7	54.7	54.8
C-6	18.0	18.0	18.1	18.0	18.0
C-7	32.7	32.7	32.7	32.7	32.7
C-8	37.6	37.6	37.6	37.6	37.6
C-9	47.1	47.1	47.3	47.3	47.1
C-10	39.1	38.9	39.2	39.1	39.2
C-11	22.3	22.2	22.3	22.2	22.3
C-12	121.2	121.3	121.2	121.3	121.2
C-13	144.2	144.1	144.2	144.1	144.3
C-14	41.3	41.2	41.2	41.2	41.2
C-15	26.6	26.8	26.9	26.9	26.9
C-16	23.0	23.0	23.1	23.0	23.0
C-17	45.2	45.2	45.2	45.2	45.1
C-18	40.9	40.6	40.9	40.9	41.1
C-19	46.0	46.0	46.1	46.2	46.1
C-20	30.4	30.4	30.4	30.4	30.4
C-21	33.7	33.5	33.6	33.6	33.7
C-22	32.3	32.6	32.4	32.3	32.4
Metilo	16.2	16.2	16.3	16.2	16.3
Metilo	16.9	16.8	16.9	16.8	16.9
Metilo	17.1	17.1	17.1	17.1	17.1
Metilo	23.6	23.5	23.6	23.5	23.6
Metilo	25.9	25.7	25.7	25.7	25.7
Metilo	28.4	28.8	28.8	28.7	28.8
Metilo	32.9	32.7	33.0	32.9	32.9
C-28	176.0	176.2	176.1	176.2	176.0
C-1 Gly	171.4				
C-2 Gly	38.9				
C-1 Ala		171.8	171.9		
C-2 Ala		47.3	47.4		
C-3 Ala		17.0	17.2		
C-1 Val				172.3	172.5
C-2 Val				57.0	57.0
C-3 Val				29.8	30.0
C-4 Val				19.1	19.1
C-5 Val				19.1	19.1
C-1 11AUA	172.5		174.2		173.2
C-2 11AUA	35.0		35.1		35.0
C-3 11AUA	25.2		26.7		26.4
C-4 11AUA	28.6		28.7		28.8
C-5 11AUA	28.9		28.9		29.0
C-6 11AUA	28.9		29.0		29.0
C-7 11AUA	28.9		29.0		29.1
C-8 11AUA	28.9		28.9		28.9
C-9 11AUA	25.2		26.9		26.7
C-10 11AUA	29.1		29.1		30.1
C-11 11AUA	38.7		38.9		38.8
C-1 GABA		174.2		173.1	
C-2 GABA		32.3		32.3	
C-3 GABA		25.1		25.5	
C-4 GABA		38.6		38.6	

