



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO.**



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

TEMA DE TESIS

**SÍNTESIS DE MATERIAS PRIMAS PARA LA PREPARACIÓN DE ISATISINA
“A” UN ALCALOIDE NATURAL CON ACTIVIDAD CONTRA VIH.**

**TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA
DANIEL SANTOS SANDOVAL**

Director de tesis: Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez.

Asesor interno: Dr. Holber Zuleta Prada.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

***A mis padres, Delfino Santos y María Salustia Sandoval
venerados hasta la eternidad.***

***A mis hermanos y amigos que siempre han creído en
mí.***

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud en primer lugar, a la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación profesional y personal.

Al Instituto de Química de la UNAM por permitirme realizar el trabajo experimental.

A mis compañeros del laboratorio 2-3 del Instituto de Química por la ayuda brindada durante el trabajo experimental de la presente tesis.

Agradezco al CONACYT por el apoyo otorgado para la realización de este trabajo.

Finalmente al Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez por la asesoría otorgada en la elaboración de este proyecto y principalmente por ser mi amigo.

Atentamente, Daniel Santos Sandoval.

La presente tesis fue realizada en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Luis Demetrio Miranda Gutiérrez y el Dr. Holber Zuleta Prada, con el apoyo económico del CONACYT mediante una beca de titulación de licenciatura con la REF_PROY: CB-2007/82643 y No. de becario 15137.

Contenido

ABREVIATURAS, REACTIVOS Y DISOLVENTES.	3
RESUMEN	5
1. INTRODUCCIÓN.	6
2. MARCO TEÓRICO.	9
2.1 <i>Uso de carbohidratos en la Síntesis Orgánica de fármacos como productos naturales.</i>	9
2.1.1 <i>Características generales de los carbohidratos.</i>	9
2.1.2 <i>Posición de equilibrio y centro anomérico</i>	10
2.1.3 <i>Reacciones en el centro anomérico.</i>	12
2.2 <i>Glicosilación de Fischer.</i>	13
2.3 <i>Efecto anomérico.</i>	15
2.4 <i>Grupos protectores para carbohidratos.</i>	16
2.5 <i>Grupo protector cetal y acetal.</i>	16
2.6 <i>Adición de reactivos de Grignard a aldehídos.</i>	18
2.7 <i>Oxidación de carbohidratos.</i>	19
2.8 <i>Condensación aldólica catalizada por una base.</i>	20
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
3.1 <i>Análisis retrosintético</i>	22
4. OBJETIVOS.	23
4.1 <i>Objetivo general</i>	23
4.1.1 <i>Objetivos específicos (De un primer análisis retrosintético se desprenden los siguientes objetivos)</i>	23
5. HIPÓTESIS	24

6.	MATERIAL DE LABORATORIO.	25
	<i>6.1 Equipos e instrumentos de laboratorio.</i>	26
7.	METODOLOGÍA SINTÉTICA.	27
	<i>7.1 Metodología propuesta.</i>	27
	<i>7.2 Metodología experimental</i>	29
	<i>7.2.1 Protección selectiva de D-Ribosa</i>	31
	<i>7.2.2 Reacción de Grignard en el centro anomérico.</i>	31
	<i>7.2.3 Fragmentación oxidativa de los grupos hidroxilo primario y secundario.</i>	32
	<i>7.2.4 Condensación Aldólica, en el C-3α.</i>	33
	<i>7.2.5 Glicosilación de Fischer</i>	34
8.	RESULTADOS.	35
9.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	36
10.	CONCLUSIONES	44
11.	CRONOGRAMA	47
12.	REFERENCIAS.	48

ABREVIATURAS, REACTIVOS Y DISOLVENTES.

Ac	Acetilo.
AcOEt	Acetato de etilo.
AgOTf	Triflato de plata.
BAIB	Bis-acetoxi-yodobenceno.
CDA	Ciclohexano-1,2-diacetal.
CH ₂ =CHMgBr	Bromuro de vinilmagnesio.
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano.
CH ₃ CN	Acetonitrilo.
DMF	Dimetilformamida.
DMP	2,2-Dimetoxipropano.
EtOH	Etanol.
GP	Grupo protector.
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico.
HCHO	Formaldehído.
HATU	O-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-N,N,N',N'- tetramethyluronium hexafluorophosphate
IR	Espectroscopía infrarroja.
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio.
MeOH	Metanol.
MO	Microondas.
NaHCO ₃	Bicarbonato de sodio.
NaIO ₄	Peryodato de sodio.
NaOH	Hidróxido de sodio.
PPTS	<i>p</i> -toluensulfonato de piridinio.

Abreviaturas, reactivos y disolventes

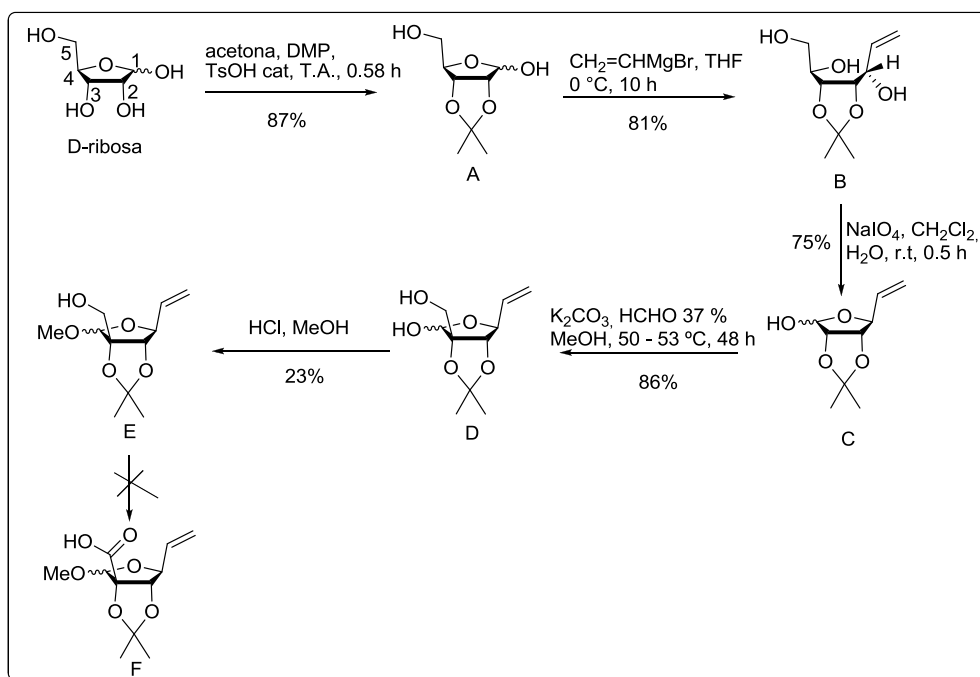
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
SOCl_2	Cloruro de tionilo.
TEMPO	2,2,6,6,-tetrametilpiperidina-1-oxil.
THF	Tetrahidrofurano.
TIPS-Cl	Cloruro de Triisopropilsilano
CCF	Cromatografía en capa fina.
TMOF	Ortoformiato de trimetilo.
TsOH	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico.
ZnCl_2	Cloruro de zinc.

RESUMEN

El presente trabajo describe la preparación de un intermediario importante en la síntesis total de isatisina "A". Este alcaloide presenta actividad antiviral contra influenza, neumonía, hepatitis y Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH).

El análisis retrosintético planteado, sugirió que Isatisina "A" podría ser preparado partiendo de un carbohidrato derivado de la D-ribosa. La preparación de este intermediario se basó en cinco etapas. El primer paso para la síntesis fue la protección selectiva de los grupos hidroxilo en las posiciones 2,3 de la D-ribosa mediante la formación de un grupo isopropilideno en medio ácido (**A**). Después se realizó una adición de un grupo vinilo y la formación de un alcohol secundario mediante un reactivo de Grignard en el grupo carbonilo (**B**). Inmediatamente, el intermediario se oxidó con ruptura de enlace en los grupos hidroxilo presentes en los carbonos 4 y 5, dando como resultado un compuesto vinil lactol (**C**). La siguiente reacción fue una condensación aldólica en la posición C-3 α , originando la adición de un grupo hidroximetil (**D**). Finalmente, se realizó una glicosilación de Fischer para obtener el intermediario O-metilo en el carbón anomérico (**E**). Al parecer este tipo de intermediario es inestable, por lo que el intermediario **F** no se pudo preparar. La mayoría de los rendimientos en estas reacciones fueron arriba del 80%.

(Esquema I).



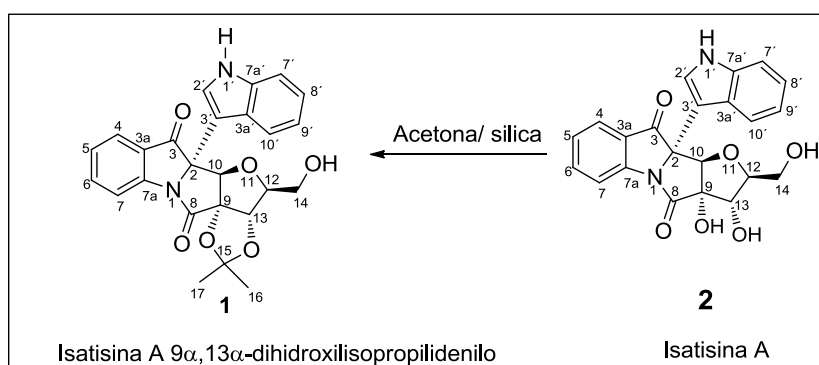
Esquema I. Preparación del carbohidrato intermediario en la síntesis total de Isatisina "A".

I. INTRODUCCIÓN.

En el mundo existe una gran diversidad de plantas con propiedades benéficas para combatir diferentes enfermedades. Una parte de los avances importantes en medicina se debe al aislamiento, identificación y síntesis de productos naturales que poseen actividad biológica.

La *Isatis indigotica* es una hierba utilizada en la medicina tradicional China. La raíz de esta planta presenta propiedades antivirales, las cuales incluyen actividad contra influenza, neumonía viral y hepatitis. La fama de esta planta se vio incrementada debido al brote de neumonía atípica en Febrero del 2003, en la provincia de Guandong en China donde se uso como medicamento.¹

El grupo de Ji-Jun Chen, recientemente realizó un estudio de las hojas de *isatis indigotica* (llamadas “Da-Qing-Ye” en China) en busca de compuestos con posible actividad contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). En este trabajo se aislaron a partir de 50 Kg de hojas, 64 mg del alcaloide activo isatisina A 9 α ,13 α -dihidroxisopropilidenilo **1** (**Esquema 1**). Es importante mencionar que este alcaloide se aisló por purificación del extracto sobre gel de sílice y acetona, lo que ocasionó que se llevara a cabo la protección en el diol vecinal del alcaloide natural Isatisina A **2**, que es el producto natural nativo de la planta (**Esquema 1**).²



Esquema 1. Protección en el diol vecinal por la purificación del extracto sobre gel de sílice y acetona.

En estudios de actividad biológica la concentración efectiva 50 (EC₅₀) encontrada para isatisina A 9 α ,13 α -dihidroxisopropilidenilo (**1**) fue del orden de 37.8 μ M ante el VIH-1 *in Vitro*. El compuesto **2** no ha sido examinado para determinar su

bioactividad, sin embargo, esta no puede ser descartada debido a que es el producto nativo.

El compuesto **1** fue identificado completamente por métodos espectroscópicos de RMN de ^1H y ^{13}C , IR, análisis de masas por FAB⁺. El estudio de difracción por rayos X confirmó la estructura y la estereoquímica relativa de isatisina A 9 α ,13 α -Dihidroxisopropilidenilo **1**. La estereoquímica absoluta para el carbono 2, 9, 10, 12 y 13 fue deducida como R*, S*, R*, S* y S* respectivamente. (**Figura 1**).

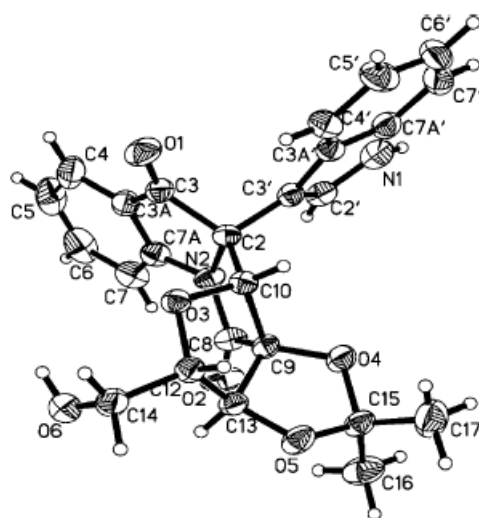


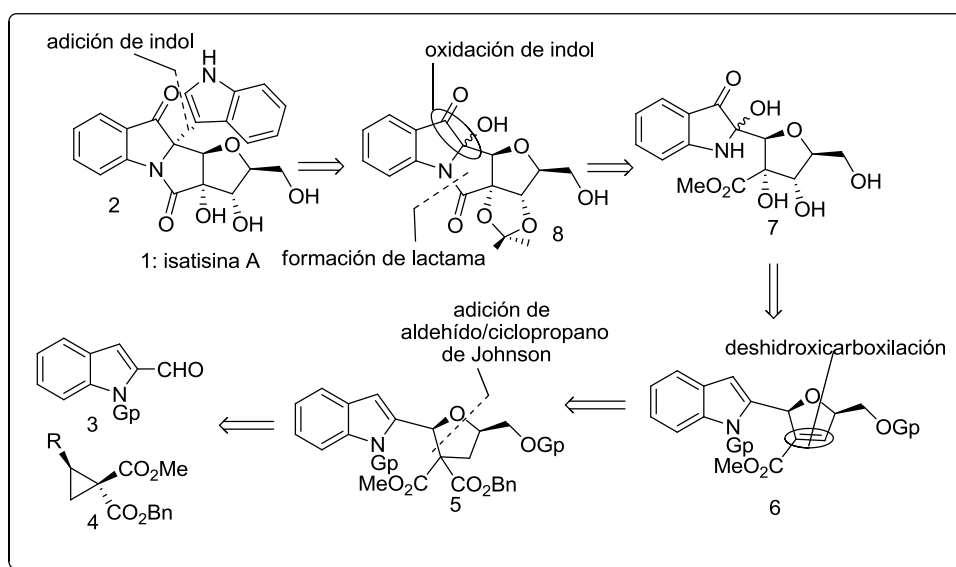
Figura 1. Estructura de rayos X del compuesto **1**, imagen tomada de J.F. Liu, Z.Y. Jiang, R.-R. Wang, et al., *Org. Lett.* **2007**, 9, 4127 – 4129.

El alcaloide isatisina A **2** posee un esqueleto tetracíclico fusionado con 5 centros estereogénicos, haciendo parte de estos un carbono cuaternario en posición 2 contiguo a un sistema 3-oxoindólico; **1** que es el derivado no natural. El producto natural **2**, se generó por la hidrólisis ácida del compuesto **1**.

Hasta donde se conoce, este es el primer reporte acerca de este tipo de esqueleto extraído de las hojas de *I. indigotica*.

Desde el punto de vista sintético uno de los retos importantes que presenta la molécula de isatisina A es la estereoquímica absoluta. Es importante recordar que los efectos farmacológicos resultan de la interacción entre la molécula de un fármaco y un sitio específico de la superficie celular; es decir, un biorreceptor. Dichos receptores poseen características estereoquímicas que actúan en una forma complementaria con el fármaco para iniciar una serie de eventos que conducen a la respuesta biológica.

Karadeolian, Kerr y colaboradores recientemente publicaron la primera síntesis total de (+) Isatisina A. El paso clave de la síntesis fue la formación de un anillo de tetrahidrofurano **5** generado por la reacción de una cicloadición entre el indol-2-carboxaldehído **3** y el compuesto homoquiral (*S*)-vinilciclopropano diéster **4**. Al compuesto α,β insaturado **6**, se oxidó para formar el indol **7**, que luego de una reacción de lactamización formó **8**; el cual después de la adición del indol generó finalmente **2** (Esquema 2).³



Esquema 2. Análisis Retrosintético de Isatisina A.

II. MARCO TEÓRICO.

2.1 Uso de carbohidratos en la Síntesis Orgánica de fármacos como productos naturales.

El estudio de los carbohidratos en la síntesis orgánica es importante debido a que existen diversas clases de fármacos que presentan este tipo de compuestos: monosacáridos conjugados, disacáridos y disacáridos conjugados, trisacáridos, oligosacaridos y polisacáridos, macrolidos, etc.

Algunos fármacos poseen carbohidratos como parte de su estructura en forma de furanósidos o piranósidos. Otros se presentan como fragmentos unidos por enlaces O y C-glicosídicos. Los compuestos Doxorubicina **9**, Estavudina **10** y Etoposida **11**, son ejemplo de ellos (Figura 2).⁴

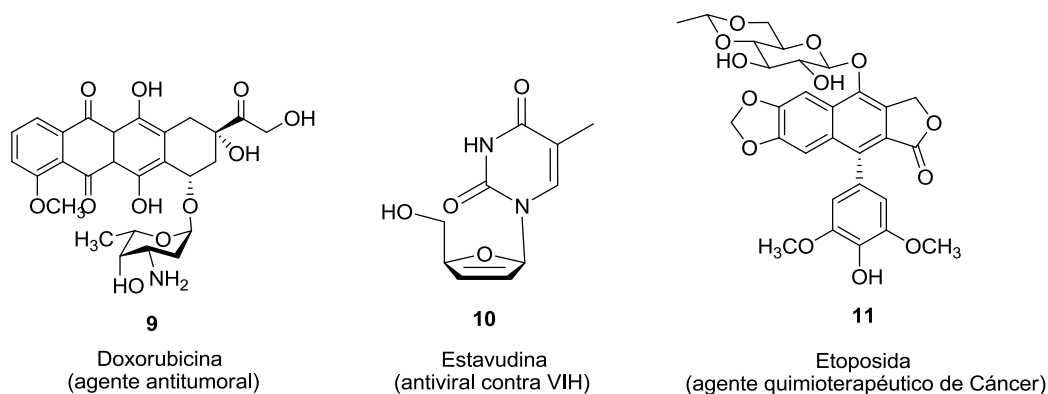
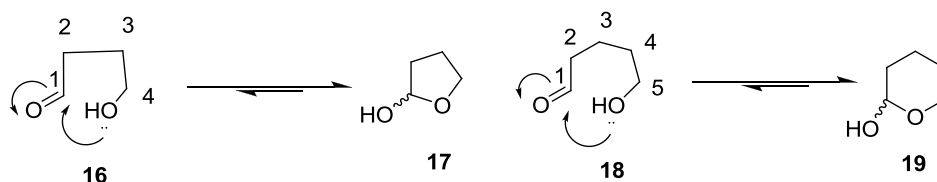


Figura 2. Fármacos de importancia biológica que contienen carbohidratos.

A los carbohidratos presentes en los fármacos se les considera responsables de un mecanismo de orientación que permiten llegar y actuar sobre las células enfermas. Otros carbohidratos proveen un mecanismo de defensa en las células muertas o enfermas, para prevenir el efecto de un fármaco.

2.1.1 Características generales de los carbohidratos.

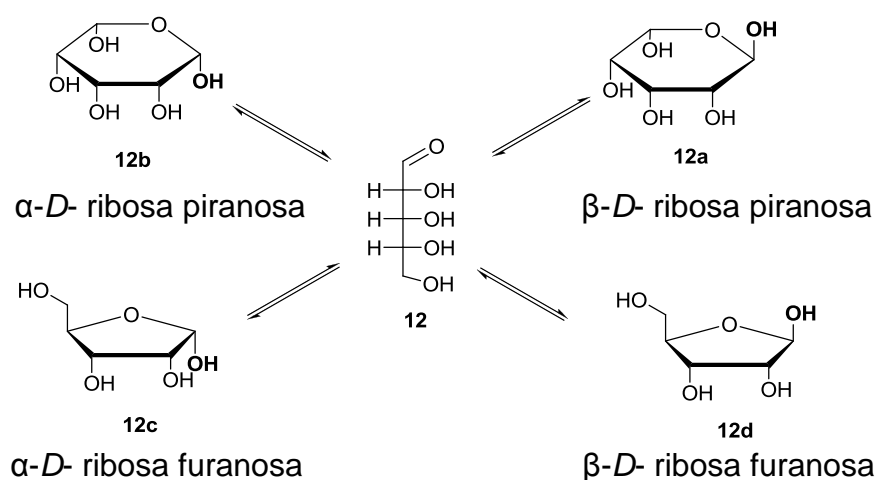
Una de las características principales de los carbohidratos es que son polihidroxi-alcanaldehydos o polihidroxi-alcanonas quirales. Sustancias llamadas genéricamente aldosas **12** o cetosas **13**⁵, dependiendo del grupo funcional que contienen (Figura 3).



Esquema 3. El equilibrio se desplaza hacia la formación del hemiacetal cíclico.

Cuando ocurre el ataque nucleofílico por parte del grupo hidroxilo de la posición 4 o 5 sobre el carbonilo para la formación de los lactoles, se genera un nuevo centro estereogénico lo cual da lugar automáticamente a la aparición de dos nuevos diastereómeros; por ejemplo 12a y 12b para el caso de la piranosa, 12c y 12d para el caso de la furanosa (**Esquema 4**).

Los dos diastereómeros originados por el cambio en la estereoquímica del carbono 1 (la posición anomérica) se conocen comúnmente como **anómeros**. Estas formas se designan como α o β . El diastereómero con el grupo hidroxilo en posición axial es el anómero α . El diastereómero con el grupo hidroxilo en posición ecuatorial es denominado anómero β . Cada una de estas formas tiene una rotación óptica característica, ya sea para los anillos de furanosa o de piranosa α y β , respectivamente.



Esquema 4. Mezcla de isómeros diastereoméricos (anómeros) α , β furanosas y piranosas.

La composición de la mezcla de los dos diastereómeros difiere en cada azúcar, y depende de la estabilidad de cada tautómero. En la tabla 1 se muestra la composición porcentual de algunos carbohidratos.

	%piranosa			%furanosa		
	A	B	Total	A	B	Total
Allosa	16.0	71.0	87.0	3.5	5.0	8.5
Glucosa	38.0	62.0	100.0	0.1	< 0.2	-
Ribosa	21.0	59.0	80.0	6.0	14.0	20.0

Tabla 1. Porcentaje de composición de diastereoisómeros en disolución acuosa de algunos azúcares.

La forma de representar el equilibrio existente entre los dos anómeros (mezcla anomérica), tanto en la forma furánica **20** como en la piránica **21** es colocando una línea curvada en la posición 1, es decir en el carbono anomérico (**Figura 5**).

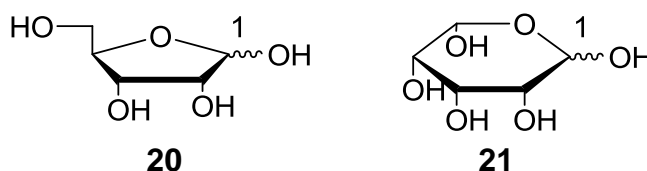


Figura 5. Representación de la mezcla diastereoisomérica de la D-ribosa (furanosa **20** y piranosa **21**).

2.1.3 Reacciones en el centro anomérico.

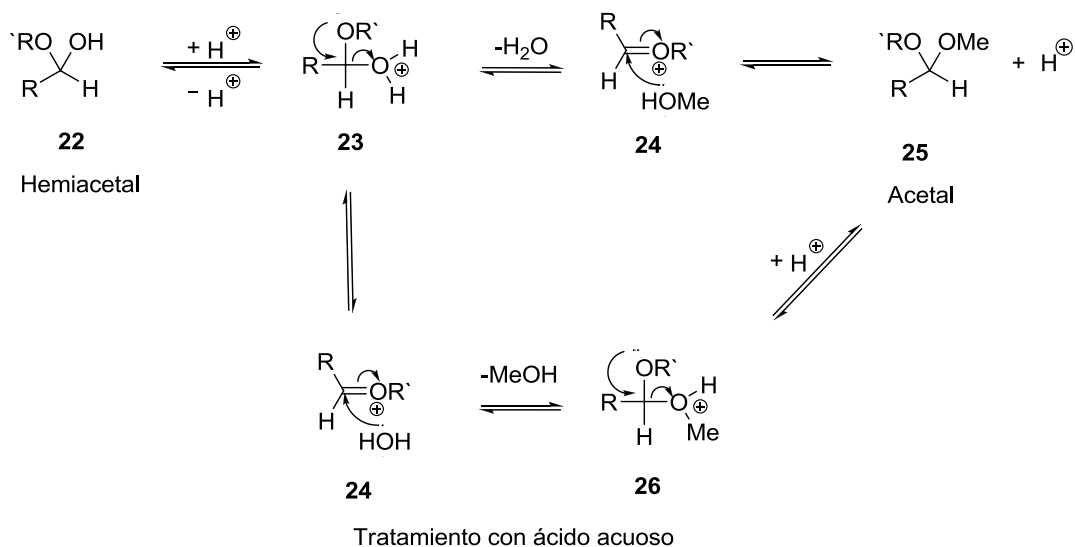
Para inducir la formación de un hemiacetal cíclico a partir del azúcar no cíclico, generalmente es necesario que la reacción sea catalizada por una base o por un ácido. Cuando se utilizan condiciones ácidas, el hemiacetal **22** experimenta un ataque de otra molécula de alcohol, generando de este modo un acetal **25**.

Estos procesos se llevan a cabo en una secuencia de equilibrios. Por lo tanto, la glicosilación, es decir la sustitución del grupo OH en el compuesto **22** por un grupo OR en **25**, a partir de un hemiacetal, solo puede ser catalizada por ácido y no por una base.

Esto sucede porque el hidroxilo del hemiacetal se protona originando **23**, para convertirse en un buen grupo saliente (agua) y generar un ión oxonio **24**, que

puede reaccionar con una molécula de alcohol, en este ejemplo metanol, para formar el acetal **25**.

Dado que este tipo de reacciones se encuentran en equilibrio, el acetal puede ser hidrolizado por el tratamiento con ácido acuoso. Puesto que la reacción es reversible, la catálisis ácida puede conllevar a la formación del hemiacetal **22**. (Esquema 5).



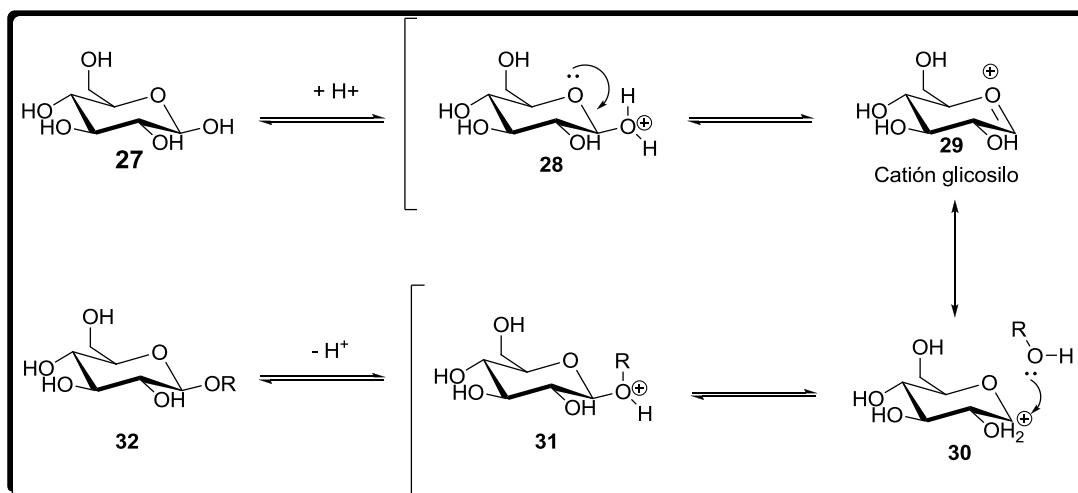
Esquema 5. Mecanismo de formación de acetal a partir de hemiacetal en medio ácido.

2.2 Glicosilación de Fischer.

Los acetales obtenidos por el tratamiento de un monosacárido con un alcohol en catálisis ácida son llamados glicósidos, algunos otros son nombrados a partir de su azúcar inicial, por ejemplo, glucósidos (de glucosa), mannosidos (de manosa), etc. Normalmente se prefiere trabajar con los metil glicósidos por que a diferencia de la forma libre hemiacetal, los metil glicósidos no presentan equilibrio en disolución⁷

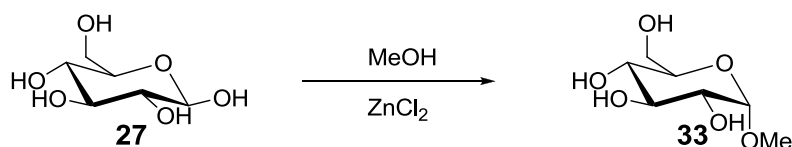
La glicosilación es una reacción que se lleva a cabo en el hidroxilo base del carbono anomérico, y para llevarse a cabo, no es necesaria la apertura de la estructura cíclica **27**, ya que la protonación de este grupo por sí sola, origina la formación de un buen grupo saliente **28**. De esta manera, se promueve la

formación de un *cation glicosilo* (ión oxocarbenio. **29**, **30**) por desplazamiento de una molécula de agua, y que está estabilizado por efecto de resonancia con las dos formas canónicas **29** y **30**. La especie intermediaria **30**, reacciona por un ataque nucleofílico de un grupo alcóxido formando el intermediario **31** que luego de una desprotonación conlleva al producto glucósido **32** (**Esquema 6**).



Esquema 6. Formación del cation glicosilo también llamado ion oxocarbenio.

La presencia de un ácido de Lewis o de Bronsted-Lowry, puede catalizar la reacción de glicosilación. Este proceso es conocido como glicosilación de Fischer (**Esquema 7**).



Esquema 7. Glicosilación de Fischer catalizada por un ácido de Lewis

Usualmente se utilizan ácidos de Bronsted anhidros o de Lewis (por ejemplo $ZnCl_2$) en la presencia de un exceso del alcohol para desplazar el equilibrio hacia el respectivo producto.^{8, 9, 10}

2.3 Efecto anomérico.

Como se mencionó anteriormente, la glicosilación de Fischer genera el α -glucósido que es un producto termodinámicamente estable. Sin embargo, mediante un análisis más detallado y considerando únicamente el efecto estérico, se podría pensar que se presentaría predilección por el β -estereoisómero. Este estereoisómero mantiene al sustituyente anomérico en la posición ecuatorial, el cual deberá ser más estable que en la posición α axial.

El aislamiento del compuesto α como el producto preferente se explica debido a la estabilización electrónica de la forma α sobre la forma β . Esta estabilización es llamada **efecto anomérico** y consiste en la predilección por ocupar el sustituyente la posición axial en lugar de la ecuatorial.

Aparentemente el efecto anomérico tiene un origen electrónico y de ninguna manera estérico. Como se puede ver en la figura 6, el átomo de oxígeno mantiene uno de los pares de electrones que se encuentra anti-periplanar al enlace C-X (donde X es el sustituyente electronegativo). Esto hace que el orbital lleno del par de electrones se traslape con el orbital de antienlace σ^* del enlace C-X.

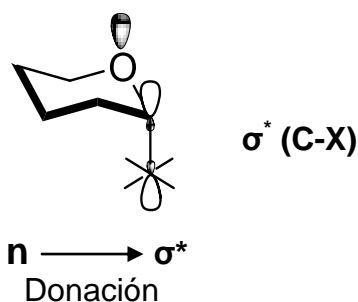


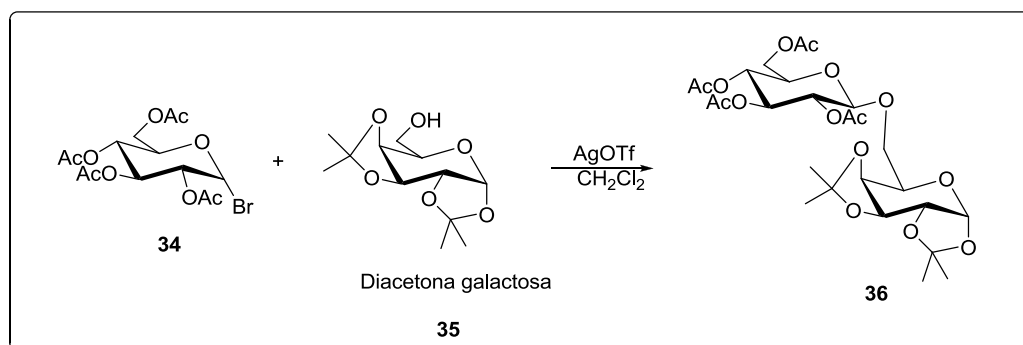
Figura 6. Estabilización anti-periplanar por el enlace C-X por los electrones libres del oxígeno dentro del anillo.

Este efecto se prefiere si X favorece la polarización del enlace sigma: Por lo tanto, el efecto anomérico se presenta cuando el sustituyente es un átomo electronegativo, tal como O, F, Cl, o Br.⁷

2.4 Grupos protectores para carbohidratos.

La regioselectividad es un problema presente en la química de carbohidratos, puesto que estos poseen diversos grupos hidroxilo. Dependiendo de la naturaleza y el ambiente químico del hidroxilo, éste presenta diferente reactividad. Las protecciones de estos grupos pueden ser realizadas en un solo paso sin necesidad de usar una secuencia compleja o laboriosa de reacciones. Los grupos protectores más comunes son funciones propias de ésteres, éteres, cetales o acetales.

Los grupos protectores deben de cumplir diversos criterios: su formación debe ser estable bajo condiciones de reacción subsecuentes, deben ser fácilmente removidos y finalmente las etapas de protección deben realizarse con una alta selectividad y también en buenos rendimientos. Su importancia se ejemplifica en la preparación de disacáridos del tipo de **36 (Esquema 8)**.



Esquema 8. Formación de enlace β (1-6) de un disacárido.

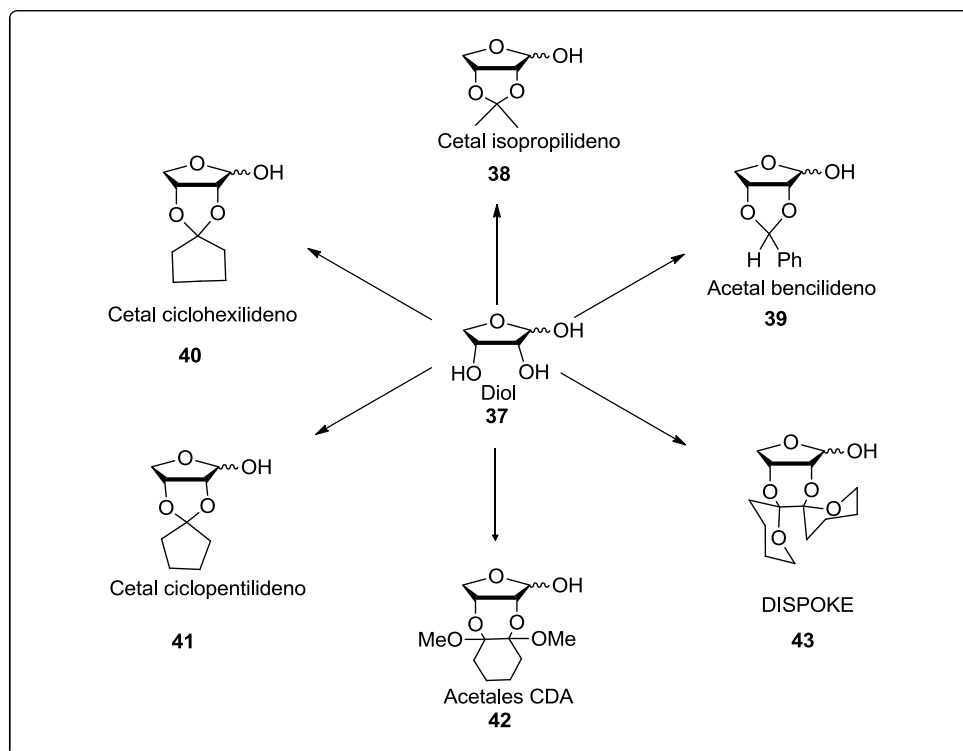
2.5 Grupo protector cetal y acetal.

Los grupos hidroxilo de los carbohidratos pueden reaccionar con cetonas para producir cetales, y con aldehídos para producir acetales.

Los acetales cíclicos resultan de la condensación de dos grupos hidroxilo con una molécula de acetona por catálisis ácida, estos son denominados *acetónidos* aunque algunas veces son llamados también acetales de isopropilideno **38**.

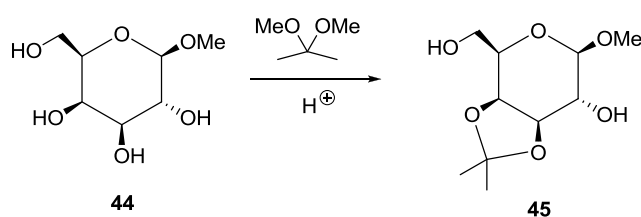
Por la facilidad de obtención estos grupos son los más comúnmente utilizados.

La reacción con benzaldehído, resulta en un derivado bencilideno **39**. Otros cetales o acetales cíclicos menos comunes son ciclohexilideno **40**, ciclopentilideno **41**, CDA (ciclohexano-1,2-diacetal) **42** y DISPOKE (diespirocetal) **43** (Esquema 9).



Esquema 9. Diferentes tipos de protecciones de la función 2, 3-diol.

La protección de los dioles como en el compuesto **44** con cualquiera de los grupos protectores es favorecida cuando están en configuración *cis*, ya que en posición *trans*, la formación se desfavorece por la tensión angular ejercida. Esto permite la protección selectiva de grupos hidroxilo particulares produciendo el carbohidrato **45**. (Esquema 10).

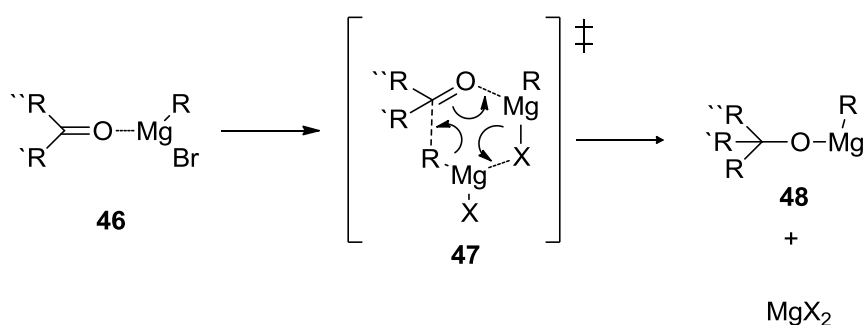


Esquema 10. Protección selectiva de los grupos hidroxilo en posición *cis*.

Los grupos cetales y acetales pueden ser removidos por hidrólisis ácida y son estables a bases y ataques nucleofílicos. Por lo general, se eligen cetonas para reaccionar con dioles *cis* para obtener estructuras cíclicas de cinco miembros, mientras que el benzaldehído reacciona con dioles 1,3-*cis* para generar anillos de seis miembros.^{11, 12}

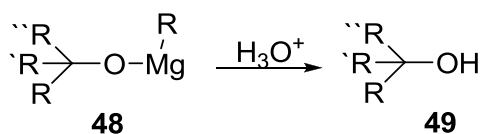
2.6 Adición de reactivos de Grignard a aldehídos.

Uno de los métodos de síntesis más importantes para la construcción de enlaces carbono-carbono, consiste en la adición de reactivos organometálicos a carbonos sp^2 . Un ejemplo es el uso de reactivos de Grignard. Son especies, donde un átomo de magnesio forma un enlace entre un átomo de carbono **46** y a su vez está coordinado a moléculas de disolvente (Éter, THF, etc.). El enlace carbono-magnesio del reactivo de Grignard es muy polar, en donde el átomo de carbono se encuentra con una alta densidad de carga negativa. El mecanismo de la reacción de Grignard supone una coordinación inicial del magnesio con el grupo carbonilo de un aldehído y una cetona. La formación de un estado de transición cíclico **47** que contiene dos moléculas del reactivo de Grignard favorece el proceso. Posteriormente, ocurre la adición, para dar un alcóxido de magnesio **48** (**Esquema 11**).



Esquema 11. Coordinación del magnesio al grupo carbonilo entre dos moléculas para generar un enlace carbono-carbono.

El producto resultante es fácilmente transformado al alcohol correspondiente, por la adición de una fuente de protones, como el agua. Debido a que el $\text{Mg}(\text{OH})\text{X}$ así formado es un material coloidal, difícil de manejar, se utiliza a menudo un ácido mineral diluido (HCl , H_2SO_4), de modo que se forman sales magnésicas solubles (**Esquema 12**).



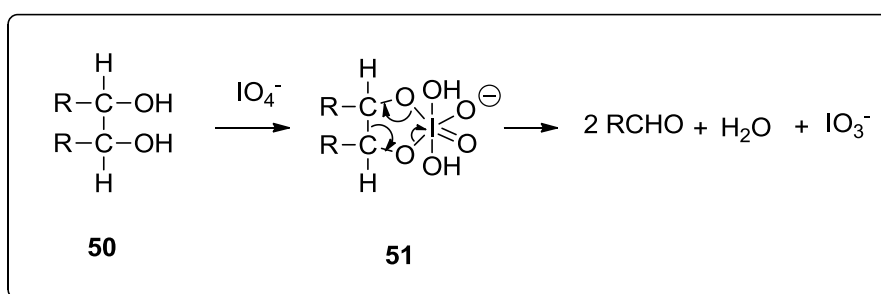
Esquema 12. El complejo magnésico es tratado con una solución diluida de ácido mineral, para generar el correspondiente alcohol.

Si el alcohol obtenido como producto fuese sensible a los ácidos fuertes, puede efectuarse la hidrólisis con una disolución de cloruro de amonio.

La adición de un reactivo de Grignard al formaldehído produce alcoholes primarios. Todos los demás aldehídos adicionan reactivos de Grignard para dar alcoholes secundarios mientras que las cetonas producen alcoholes terciarios.^{13, 14}

2.7 Oxidación de carbohidratos.

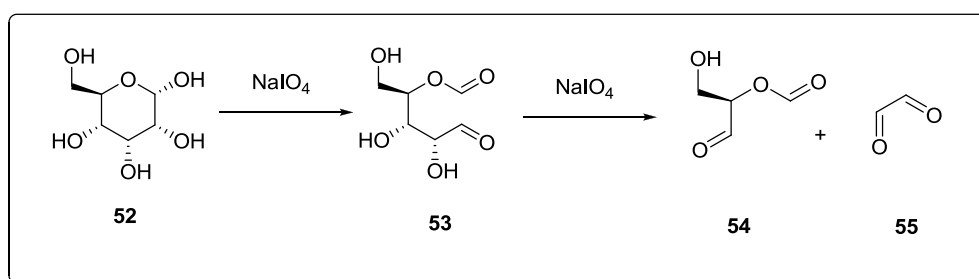
Los compuestos que contienen dos o más grupos hidroxilos o grupos carbonilo en carbonos adyacentes, pueden experimentar una oxidación con ruptura de enlace carbono-carbono, al ser tratados con ácido peryódico o su análogo, peryodato de sodio. Como consecuencia se genera un par de compuestos carbonílicos, dependiendo de los sustituyentes que tenga la materia prima **(Esquema 13)**¹⁵



Esquema 13. Esquema general de la formación y ruptura de 1,2-dioles.

Esta reacción introducida en 1928 por L. Malaprade, es una de las herramientas más útiles en la investigación moderna sobre la estructura de los carbohidratos.¹⁴

Como es esperado, el peryodato de sodio ocasiona una ruptura de carbohidratos en funciones con disposición *cis* 1,2 dioles **50**, los cuales producen dos aldehídos **51** como productos. Esta reacción puede ser particularmente utilizada para la ruptura específica entre dos grupos alcohol en configuración *cis*. Alternativamente, la cadena del carbohidrato que queda después de una primera fragmentación **53** puede ser nuevamente fragmentada **55**. (Esquema 14).

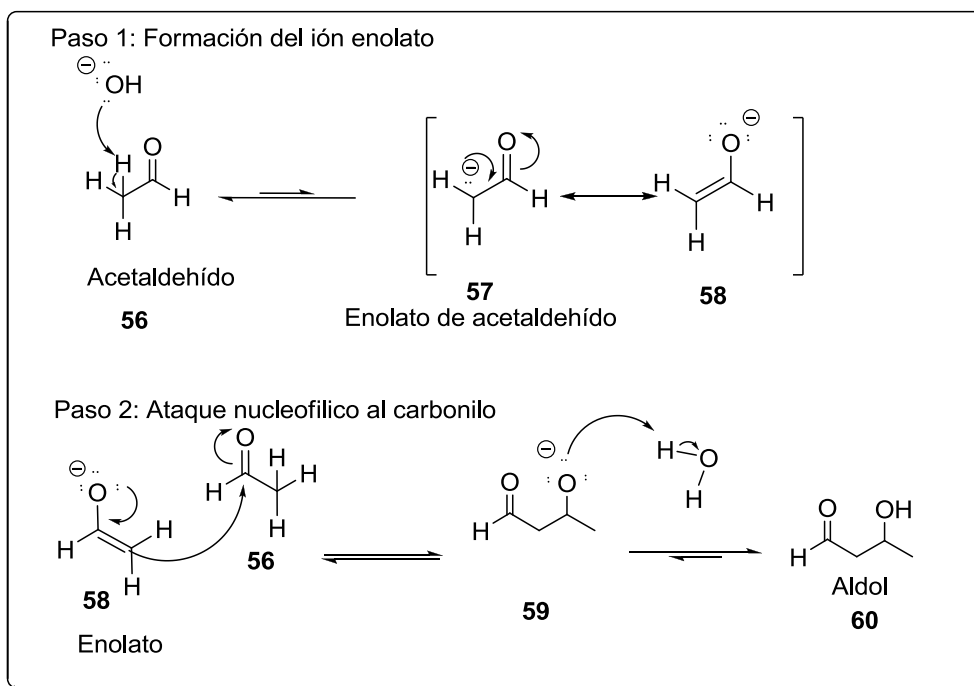


Esquema 14. Ruptura con peryodato de sodio en los *cis* 1,2-dioles de un carbohidrato y la fragmentación de la cadena del mismo.

2.8 Condensación aldólica catalizada por una base.

En condiciones básicas, la condensación aldólica se produce mediante la adición nucleofílica de un ión enolato **58**, que es un nucleófilo fuerte, a un grupo carbonilo **56**. La protonación da lugar al aldol **60**.

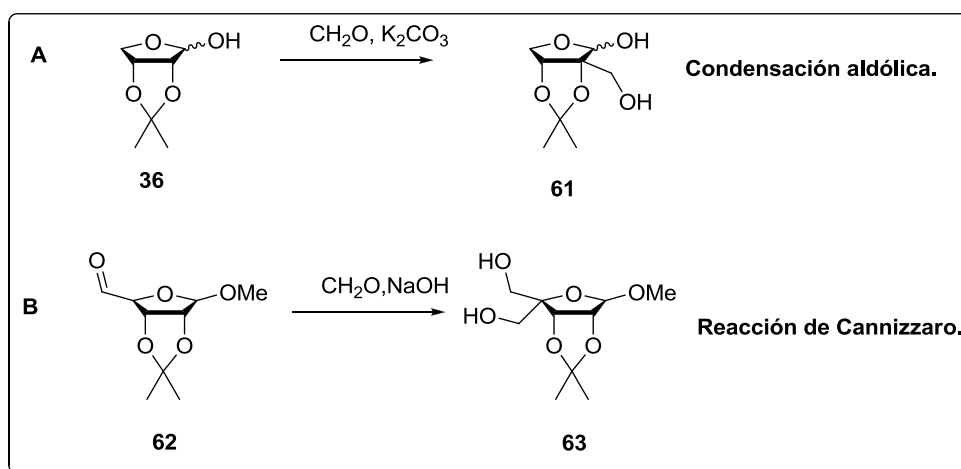
Como se puede observar en el esquema 15 el grupo carbonilo actúa como el electrófilo **56** que es atacado por el ión enolato nucleofílico **58**. Desde el punto de vista del electrófilo, la reacción es una adición nucleofílica al doble enlace del grupo carbonilo. Desde el punto de vista del ión enolato, la reacción es una sustitución en posición alfa al grupo carbonilo: la molécula del compuesto carbonílico atacante sustituye a un hidrógeno en esa posición de la molécula del compuesto carbonílico que actúa como sustrato (**Esquema15**).



Esquema 15. Condensación aldólica del acetaldehído.

La condensación aldólica catalizada por una base entre formaldehído y un azúcar reducido que contiene un α,β -acetonido, es un método efectivo para obtener derivados del mismo. Cuando la reacción es promovida con una base de fuerza media, tal como el carbonato de potasio, solo la condensación aldólica procede. Sin embargo, cuando una base fuerte es empleada, puede ocurrir una reacción de Cannizzaro entre el exceso de formaldehído y el aldol.^{16, 17}

(Esquema 16).



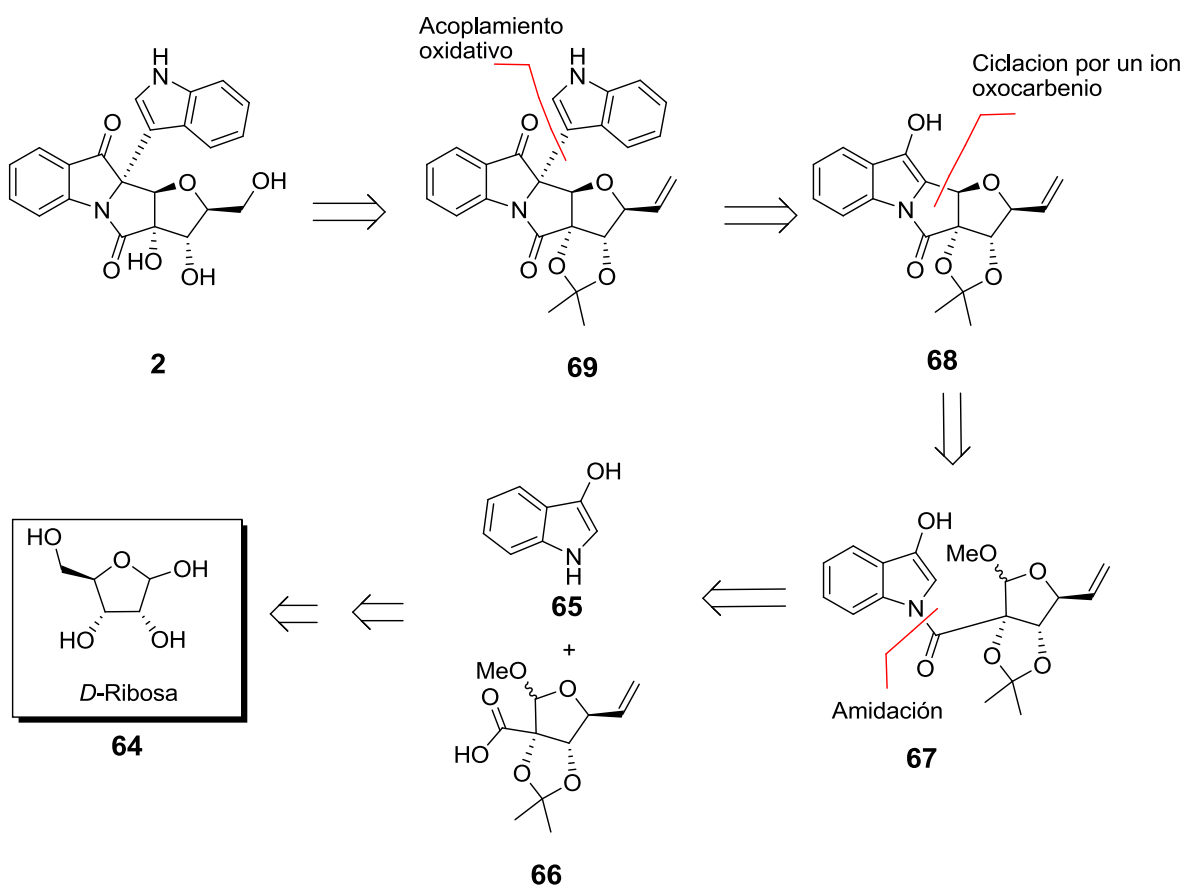
Esquema 16. Condensación aldólica **A** y reacción de Cannizzaro **B** de azúcares derivados α, β acetonidos.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1 Análisis retrosintético

Del análisis retrosintético planteado en este trabajo para el alcaloide isatisina A **2**, se visualizó que esta molécula se puede obtener a partir de un acoplamiento oxidativo intermolecular entre un sistema 3-hidroxi-indólico **69** y el indol.

El núcleo 3-hidroxi-indólico **68** puede ser obtenido mediante una ciclización intramolecular de un ión oxocarbenio mediada por un ácido de Lewis. El 3-hidroxi-indol N-acilado **67** puede derivar de la formación de un enlace de tipo amídico entre el 3-hidroxi-indol **65** y el azúcar protegido **66**. Este carbohidrato **66** podría ser obtenido estereoselectivamente utilizando una secuencia de 6 pasos a partir del hidrato de carbono natural D-ribosa **64** (comercialmente disponible, **Esquema 17**)



Esquema 17. Análisis retrosintético para Isatisina A **2**.

IV. OBJETIVOS.

4.1 Objetivo general

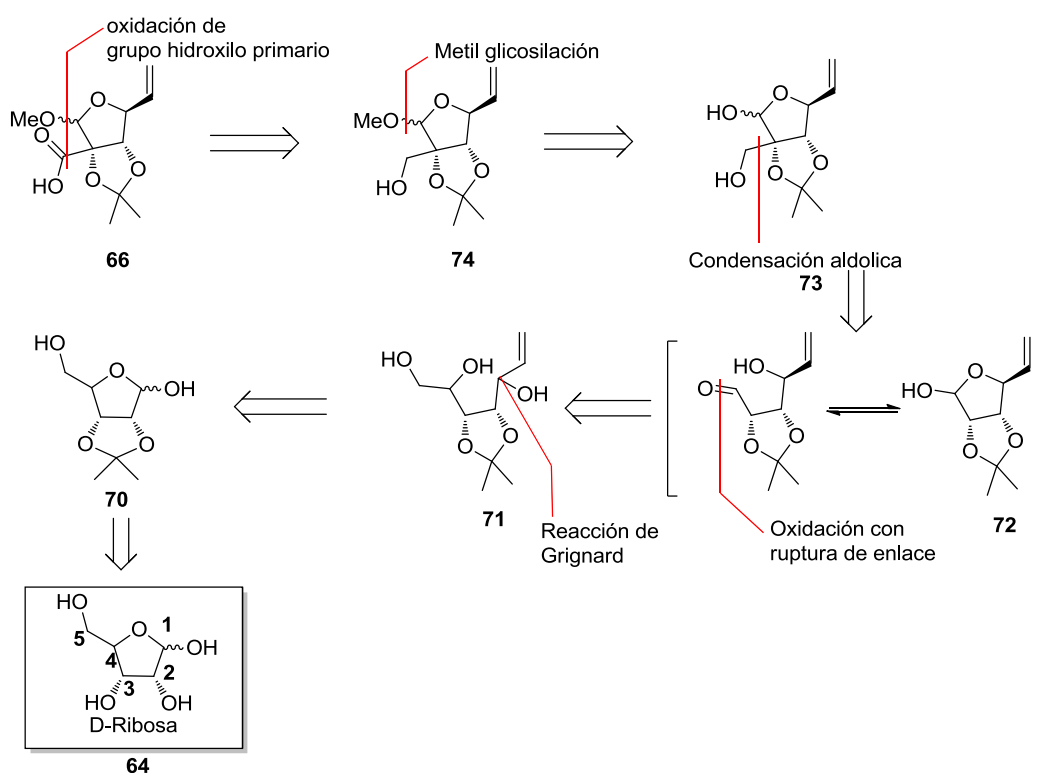
- Desarrollar la síntesis del carbohidrato **66** derivado de la D-ribosa como intermediario en la síntesis total de Isatisina "A".

4.1.1 Objetivos específicos (De un primer análisis retrosintético se desprenden los siguientes objetivos)

- Llevar a cabo la protección del diol *cis* de la D-ribosa.
- Llevar a cabo la instalación del grupo vinilo sobre el carbono anomérico del esqueleto de la D-ribosa.
- Llevar a cabo una fragmentación oxidativa para eliminar el carbono terminal del mismo esqueleto.
- Instalar un grupo metilhidroxilo en posición 3 del compuesto **72**.
- Llevar a cabo una glucosilación final.
- Llevar a cabo la oxidación del alcohol primario al correspondiente ácido carboxílico.
- Analizar espectroscópicamente cada uno de los intermediarios durante la síntesis del carbohidrato **66**.

V. HIPÓTESIS

La obtención del carbohidrato **66** puede iniciarse a partir de la protección de los grupos hidroxilo 2,3 mediante la formación de un grupo isopropilideno en la D-ribosa **64** para generar el producto **70**. En un segundo paso, la adición de un reactivo de Grignard en el grupo carbonilo instalará el grupo vinilo necesario **71**. Seguidamente, la ruptura oxidativa del diol cis 4,5 puede generar el lactol **72** por un ataque intramolecular del grupo hidroxilo en el aldehído. La condensación aldólica provocaría la adición de un grupo metilhidroxilo en la posición C-3 α para originar **73**. Después, la formación de un acetal en el centro anomérico sería llevada a cabo por una glicosilación de Fischer dando el compuesto **74**. Finalmente se oxidaría el alcohol primario a un ácido carboxílico **66** por acción del 2,2,6,6,-tetrametilpiperidina-1-oxil (TEMPO, **Esquema 18**).



Esquema 18. Análisis retrosintético para el intermediario **66**.

VI. MATERIAL DE LABORATORIO.

- Bata, lentes de seguridad, guantes.
- Matraces de fondo redondo 1, 5, 10, 25, 50, 250, 500 mL.
- Vasos de precipitados 5, 25, 50 mL.
- Matraces Erlenmeyer 25, 50, 150 mL.
- Varillas de vidrio.
- Embudos de extracción o de separación (25, 60, 150, 250, 500 mL.)
- Embudos para filtración de talle corto con estrías
- Jeringas de plástico y de vidrio.
- Condensadores o refrigerantes 24/40, 14/20, 14/23, etc..
- Tubos de ensayo (15 x 1.5 cm).
- Probeta graduada de 25 y 250 mL.
- Viales de 2 y 4 mL con tapón o rosca.
- Pissetas de 250 y 1000 mL de capacidad.
- Papel pH con escala (0-14).
- Espátula de acero inoxidable.
- Barras magnéticas.
- Termómetro de -10 a 150 °C.
- Mangueras para vacío y aire.
- Guantes de asbesto.
- Columnas cromatográficas.
- Tapón septum (para matraces con entrada 24/40 y 14/23).
- Agujas de acero inoxidable, globos.
- Propipeta.
- Trapos (franela y jerga)
- Estropajo y escobillones.
- Jabón líquido o en polvo.
- Etiquetas, tijeras, plumones, plumas, lápiz.
- Bitácora de laboratorio.

6.1 Equipos e instrumentos de laboratorio.

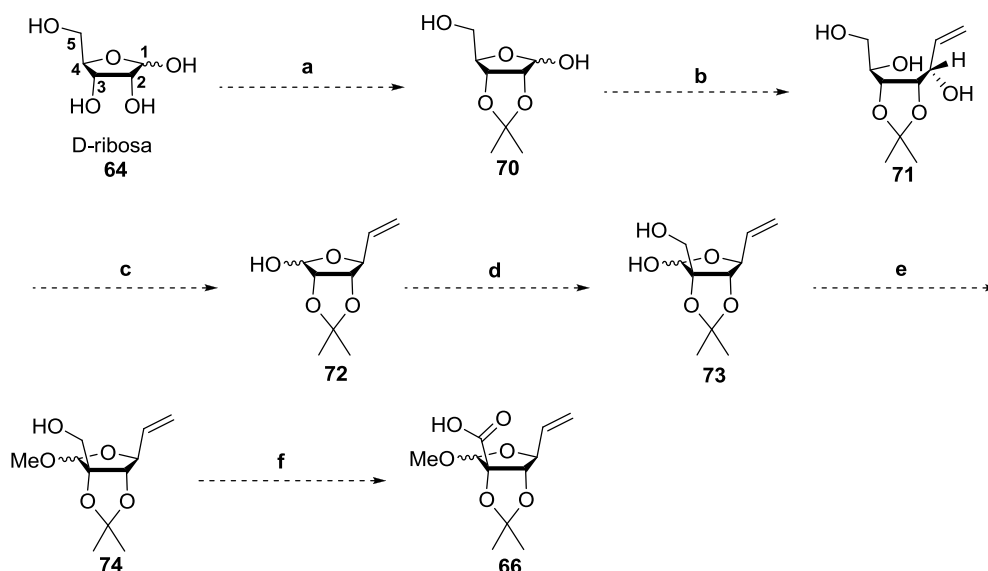
- Balanza semianalítica marca Ohaus.
- Rotavapor BUCHI R-114.
- Parrillas de agitación CIMAREC thermolyne.
- Canastilla de calentamiento.
- Bomba para vacío marca Boc Edwards.
- Estufa de calentamiento.
- Calculadora científica.
- Pinzas de tres dedos.
- Soporte universal.
- Anillo de acero.
- Cámara reveladora.
- Campana de extracción.

VII. METODOLOGÍA SINTÉTICA.

7.1 Metodología propuesta.

Inicialmente, se plantea la monoprotección selectiva de los grupos hidroxilo en las posiciones 2,3 de la *D*-ribosa **64** con acetona, dimetoxipropano y ácido *p*-toluensulfónico (TsOH) en cantidad catalítica bajo condiciones previamente reportadas.¹⁸ Seguidamente, la *D*-ribosa monoprotegida **70** se convertirá al respectivo intermediario **71**, luego de una adición del reactivo de Grignard (bromuro de vinilmagnesio 1.0 M en THF)^{19, 20}. Enseguida una oxidación con peryodato de sodio del diol **71** con ruptura de enlace a los grupos hidroxilo primario y secundario en las posiciones 4 y 5, lo que provocará una ciclización intramolecular que generaría el respectivo carbohidrato vinil lactol **72**. Luego, la introducción estereoselectiva de un grupo metilhidroxilo en la posición C-3 α en **72** ocurriría mediante una suspensión de metanol, ácido fórmico al 37% y K₂CO₃. Al obtener **73** se llevaría a cabo una reacción en el centro anomérico con MeOH y ácido clorhídrico *in situ* originando **74**. Por último se realizará una oxidación del alcohol primario al correspondiente ácido carboxílico con TEMPO, BAIB, H₂O:CH₃CN 1:1 para la obtención de **66**.

Esta metodología contempla 6 etapas de reacción a partir del azúcar natural, *D*-ribosa. (**Esquema 19**).

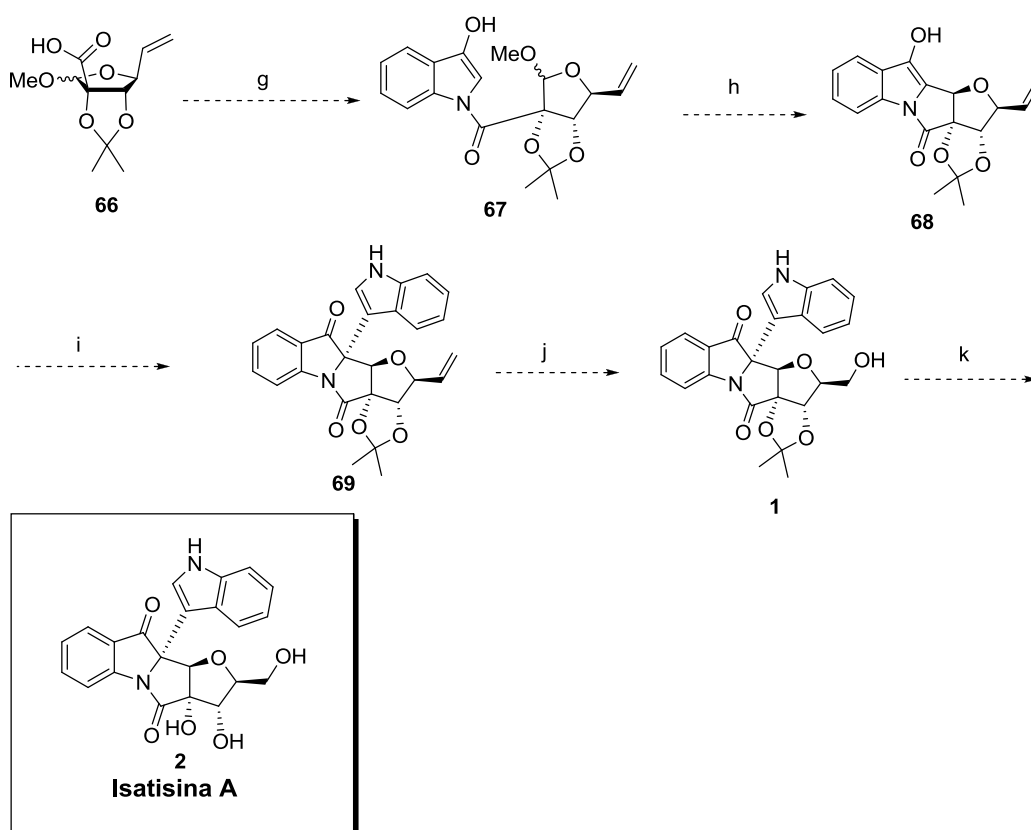


Esquema 19. Metodología planteada para la preparación del intermediario **66**.

Reactivos y condiciones: (a) acetona, DMP, TsOH cat, t.a., 0.58 h; (b) CH₂=CHMgBr, THF, 0 °C, 10 h; (c) NaIO₄, CH₂Cl₂, H₂O, t.a., 0.5 h (d) 37% HCHO, K₂CO₃, MeOH, 50-53 °C 48 h. (e) MeOH: SOCl₂, 1h; (f) TEMPO, BAIB, CH₃CN/H₂O=1:1, 1h.

El intermediario **66** sería usado para generar los intermediarios **67- 69** en etapas consecutivas mediante procesos conocidos (**Esquema 20**).

Dado que la síntesis total de isatisina “A” **2** es un proyecto a largo plazo, en el presente trabajo se planteó abarcar hasta la síntesis del intermediario **66**, si la síntesis del carbohidrato **66** es exitosa, en un futuro inmediato se continuarán las secuencias sintéticas propuestas para la síntesis total de isatisina “A”.



Esquema 20. Etapas consecutivas en la síntesis total de isatisina “A”.

Reactivos y condiciones: (g) 3-hidroxi-indol, HATU; (h) Acido Lewis CH_2Cl_2 , $-78\text{ }^\circ\text{C}$; (i) Indol, LDA, $\text{Cu}(\text{OAc})$; (j) OsO_4 cat, NaIO_4 acetona: H_2O 4:1, t.a. 2 h, luego NaBH_4 ; (k) DOWEX 50WX4-100 resina de intercambio H_2O , reflujo, 5 h.

7.2 Metodología experimental

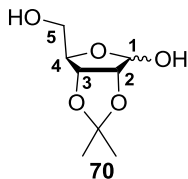
Los espectros de RMN ^1H se obtuvieron en un aparato Varian Gemini-200 MHz y un Eclipse 300 MHz JEOL, la espectroscopia de RMN ^{13}C se realizó en los aparatos mencionados a 50 MHz y 75 MHz en una disolución de cloroformo deuterado (CDCl_3) y con TMS como estándar interno (0 ppm) o en una disolución de dimetil sulfóxido (DMSO-d_6). Los desplazamientos químicos se reportan en partes por millón (δ/ppm). La terminología empleada para describir la multiplicidad de las señales es la siguiente: s, señal simple; d, señal doble; dd, señal doble de doble; t, señal triple; c, señal cuádruple; m, señal múltiple; sa, señal ancha. Las constantes de acoplamiento (J) están en Hertz (Hz). Las asignaciones de los espectros de RMN ^{13}C se realizaron mediante experimentos DEPT. Los espectros de IR se obtuvieron en un espectrofotómetro FT-IR Tensor 27 Bruker, utilizando las técnicas de disolución en CHCl_3 , película en una celda de NaCl y pastilla de KBr.

El avance de las reacciones fue seguido por cromatografía en capa fina usando cromatoplasmas de gel de sílice 60 ($\text{ALUGRAM}^{\text{R}}$ SIL G/UV $_{254}$) y el revelado se hizo con radiación ultravioleta y usando disoluciones de ácido fosfomolibdico y vainillina. La purificación de los compuestos se llevo a cabo por cromatografía en columna usando gel de sílice (0.040-0.063 mm, malla 230-400 ASTM) marca Macherey-Nagel GmbH & Co.

Los disolventes THF, éter, DMF fueron secados por destilación bajo atmosfera de argón, usando sodio metálico como agente secante y benzofenona como indicador. El MeOH se destiló de Mg metálico y yodo molecular. El AcOEt y el CH_2Cl_2 utilizados en la purificación de los compuestos se trataron mediante una destilación fraccionada en presencia de CaCl_2 anhidro. El hexano que se utilizó para la cromatografía en columna fue tratado previo uso, con una disolución acuosa de H_2SO_4 y permanganato de potasio y su posterior destilación fraccionada en presencia de KOH.

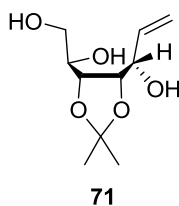
Todos los reactivos fueron adquiridos de las compañías Sigma-Aldrich, Fluka y Merk. Reactivos como el AcOCl se secó mediante una destilación fraccionada en presencia de PCl_5 .

7.2.1 Protección selectiva de D-Ribosa



En un matraz bola de 500 mL se colocaron 3.01 g (20 mmol) de D-ribosa **64**, y 0.2 g (0.05 mol) de ác. *p*-toluensulfónico disueltos en acetona anhidra bajo una atmosfera de Ar. Después, con una jeringa se adicionó gota a gota 5 mL de dimetoxipropano. La mezcla de reacción se observó homogénea después de 2 minutos. La reacción fue monitoreada por CCF. La mezcla fue neutralizada y filtrada bajo NaHCO₃ sólido. El material sólido retenido se lavó con AcOEt (50 mL x 2) y CH₂Cl₂ (25 mL x 2). El exceso de disolvente fue evaporado a presión reducida. El residuo fue purificado en columna cromatográfica sobre gel de sílice con una mezcla de elución (1:1.5) Hexano, Acetato de etilo. El producto purificado se obtuvo como un aceite translucido incoloro. (3.32 g, 87%): ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 5.39 (s, 1H, 4-H), 4.8 (d, 1H, *J*= 6 Hz, 3a-H), 4.57 (d, 1H, *J* 5.8 Hz, 6a-H), 4.4 (ta, 1H, 6-H), 4.07 (ta, 1H), 3.72 (m, 2H, HOCH₂), 1.49 (s, 3H, CH₃), 1.32 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (50 MHz, CDCl₃) δ 112.1, 103.04, 87.8, 86.8, 81.7, 63.7, 26.4, 24.7; BAR⁺ *m/z* 213 [M+Na]⁺. IR cm⁻¹= 3381.7 (-OH), 2986.6-2883.5 (CH), 1648.2 (C=O), 1458.4-1379.3 (-CH), 1270.2-1211.6 (C-O), 1103 (C-C).

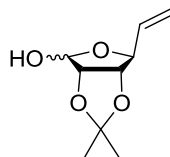
7.2.2 Reacción de Grignard en el centro anomérico.



Se disolvieron (1.34 g, 7.05 mmol) del acetónido **70** en 30 mL de THF anhidro. La disolución se colocó a una temperatura de -78 °C bajo atmosfera de Argón. Seguidamente, se adicionaron gota a gota 28.3 mL (28.3 mmol, 1.0 M solución en THF) de bromuro de vinilmagnesio. Al finalizar la adición de este último, la mezcla se colocó a 0° C con agitación moderada durante 10 horas. Se monitoreo por CCF. Al concluir la reacción se adicionó aproximadamente 10 mL de una disolución de cloruro de amonio 0.5 M. El resultado fue una

disolución turbia la cual fue extraída con CH_2Cl_2 (80 mL x 3), filtrada y secada sobre MgSO_4 anhidro, el exceso de disolvente fue evaporado a presión reducida para obtener un aceite amarillo, el cual fue purificado mediante una columna cromatográfica sobre gel de sílice, empleando una mezcla de elución de acetato de etilo y hexano (2:1). El triol obtenido (1.244 g, 81 %) fue un sólido blanco: p.f. 74-75 °C; $[\alpha]_D^{25} = -29.6$ (c 1.23, CHCl_3); $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 6.02 (m, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.44 (t, 1H, J 1.3 Hz, $-\text{CH}=\text{CHH}$), 5.32 (tt, J 1.36 Hz, $-\text{CH}=\text{CHH}$), 4.34 (m, 1H, $-\text{CHCH}=\text{CH}_2$), 4.10 (m, 1H, J 5.15 Hz, $-\text{CHCH}(\text{OH})\text{CH}=\text{CH}_2$), 3.96 (m, 1H, J 5.3, $\text{CHCH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$), 3.87 (d, 1H, J 3.2, $-\text{CHHOH}$), 3.7 (dd, 1H, J 6.4 Hz, $-\text{CHHOH}$), 1.4 (s, 3H, CH_3), 1.33 (s, 3H, CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 137.5, 117.1, 109.1, 79.9, 77.6, 70.7, 69.4, 64.4, 27.9, 25.4. IR cm^{-1} : 3418.2 ($-\text{OH}$), 3026-2886.4 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$), 1454.5-1426.7 ($-\text{CH}$), 1382-1321.5 ($-\text{OH}$), 1242-1202.2 (C-O), 1070.2-1046.2 (C-C).

7.2.3 Fragmentación oxidativa de los grupos hidroxilo primario y secundario.

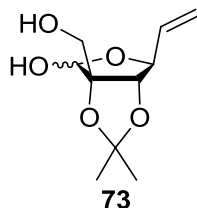


72

Una disolución del triol **71** (1.06 g, 4.83 mmol) se disolvió en 20 mL de CH_2Cl_2 . Seguidamente y en agitación, se adicionó gota a gota una disolución 0.65 M de NaIO_4 (1.5 g en 11.2 mL de agua) a 0 °C. La reacción se dejó a temperatura ambiente por 30 min. Al finalizar se adicionó 10 mL de agua para después efectuar extracciones con CH_2Cl_2 (60 mL x 3). La fase orgánica fue secada y filtrada sobre MgSO_4 anhidro. El exceso de disolvente fue removido a presión reducida para obtener un residuo aceitoso. El residuo fue purificado por cromatografía en columna sobre gel de sílice con una mezcla de elución hexano y acetato de etilo (2:1), lo que origino un producto aceitoso incoloro translucido (0.985 g, 75 %): $^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 6.0 (ddd, 1H, J 7.1, 9.9, $-\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.4 (m, 2H, J 1.0, $-\text{CH}=\text{CHH}$), 4.3 (td, 1H, J 4.5, $-\text{CH}=\text{CHH}$), 4.08 (m, 1H, J 5.3, 7.8 Hz, $-\text{CHCH}=\text{CH}_2$), 3.93 (ddd, 1H, J 12.6, OH), 3.7 (dd, 1H, J 6, OH), 1.39 (s, 3H CH_3), 1.33 (s, 3H, CH_3); $^{13}\text{C NMR}$ (75.4 MHz, CDCl_3) δ 137.6, 116.9, 116.8, 114.6, 112.7, 103.3, 96.4, 88.9, 86.3, 84.9, 84.0, 80.8,

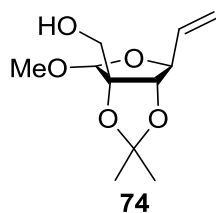
79.3, 26.7, 26.4, 25.2. IR cm^{-1} : 3432.2 (OH), 2987.2-2941.4 (-CH), 1458.3-1378.7 (CHO), 1236.9-1212 (C-O), 1071.7-991.7 (C=C).

7.2.4 Condensación Aldólica, en el C-3 α .



A una suspensión de K_2CO_3 (0.35 g, 2.53 mmol) en MeOH (8 mL) fue adicionado formaldehído acuoso al 37% (3.5mL). La disolución se dejó en agitación hasta que el pH alcanzado fuese de 10 aproximadamente. En otro matraz se disolvió el vinil lactol **72** (0.83 g, 3.84 mmol) en MeOH (4 mL). A la disolución se le adicionó el sobrenadante de la primer mezcla (5 mL), la mezcla de reacción se colocó a 50-53 °C durante 48 h. Al finalizar la reacción, se le adicionó agua (5 mL) a la mezcla de reacción y se extrajo con acetato de etilo (40mL x 3). Los extractos orgánicos fueron secados y filtrados sobre MgSO_4 anhidro. El exceso de disolvente fue removido al vacío a 40 °C. El residuo fue purificado por columna cromatográfica sobre gel de sílice con una mezcla de elución hexano y acetato de etilo (1: 1.5) se obtuvo un aceite de color amarillo claro: (0.83 g, 86%); ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 5.98 (ddd, 1H, J 7.6, 10.6, 17.8 Hz, -CHCH₂), 5.48 (ddd, 1H, J 4.8, 10.8, 17.6 Hz, -CHCH₂), 5.34 (m, 1H, 4-H), 5.23 (td, 1H, J 1.6, 17.2 Hz, -CH=CHH) 5.12 (td, 1H, J 1.2, 10.0 Hz, -CH=CHH), 4.65-4.61 (m, 2H, 6-H), 4.47 (d, 1H, J 1.6 Hz, 6a-H), 3.86 (d, 1H, J 12.4 Hz, -CHHOH), 3.82 (d, 1H, J 12.4 Hz, -CHHOH), 3.71 (d, 1H, J 11.6 Hz, -CHHOH), 3.66 (d, 1H, J 12.4 Hz, -CHHOH), 1.61 (s, 3H, CH_3), 1.5 (s, 3H, CH_3); ^{13}C NMR (50 MHz, CDCl_3) δ 137.4, 134.6, 117.7, 117.3, 114.8, 113.7, 105.2, 97.6, 93.9, 90.9, 88.2, 87.3, 85.5, 81.2, 63.8, 63.6, 28.0, 27.8, 27.5, 27.2; IR cm^{-1} : 3598.5 (OH), 3087.4-2878.7 (C=C), 1459-1381 (C-H), 1237.7-1222.2 (C-O), 1105.4-1114 (C=C).

7.2.5 Glicosilación de Fischer

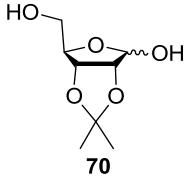
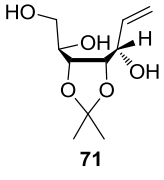
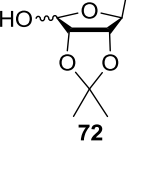
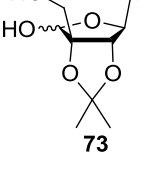
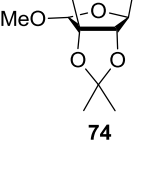
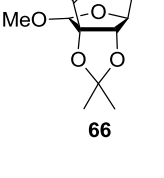


Una disolución de **73** (0.052 g, 0.240 mmol) en MeOH anhidro (2mL), bajo una atmosfera de argón y a 0 °C, fue adicionado 0.33 mL de HCl metanólico (preparado previamente con 3 mL de MeOH y 0.0184 mL de SOCl₂). Posteriormente, se dejó a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se monitoreó por CCF. La mezcla de reacción se neutralizó sobre NaHCO₃ sólido, se lavaron los sólidos con acetato de etilo (10 mL x 2), el exceso de disolvente se evaporó bajo presión reducida. El residuo se purificó en una columna cromatográfica sobre sílica gel con una mezcla de elución hexano y acetato de etilo (1.5:1). Se obtuvo un producto aceitoso amarillo (0.0124 g, 23%). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 4.97(s, 1H, CH=CH₂), 4.83 (d, 1H, *J* 6, CH=CHH), 4.59 (d, 1H, *J* 6 Hz, CH=CHH), 4.43 (t, 1H, *J* 2.75 Hz, -CHOCH₃), 3.65 (dd, 2H, *J* 2.87 Hz, -CHCHHOH), 3.43 (s, 3H, OCH₃), 2.95 (br s, 1H, OH), 1.48 (s, 3H, CH₃), 1.32 (s, 3H, CH₃); ¹³C NMR (125.71 MHz, CDCl₃) δ 112.1, 109.9, 88.3, 85.7, 81.4, 63.9, 55.46, 55.45, 23.3, 24.7.

VIII. RESULTADOS.

En la tabla 2 se reúnen los resultados de los intermediarios y sus rendimientos.

Tabla 2. Rendimiento de cada una de las etapas de reacción.

Etapas de reacción	Intermediario de reacción	Rendimiento (%)
1	 <p style="text-align: center;">70</p>	87
2	 <p style="text-align: center;">71</p>	81
3	 <p style="text-align: center;">72</p>	75
4	 <p style="text-align: center;">73</p>	86
5	 <p style="text-align: center;">74</p>	23
6	 <p style="text-align: center;">66</p>	No calculado.

IX. ANÁLISIS DE RESULTADOS

En este trabajo de investigación se propuso la síntesis del compuesto **66** a partir de la D-ribosa, mediante procesos ya conocidos. Esto se realizó tomando en cuenta el análisis retrosintético en el que se visualizó que el derivado era un carbohidrato modificado.

Protección selectiva de D-ribosa

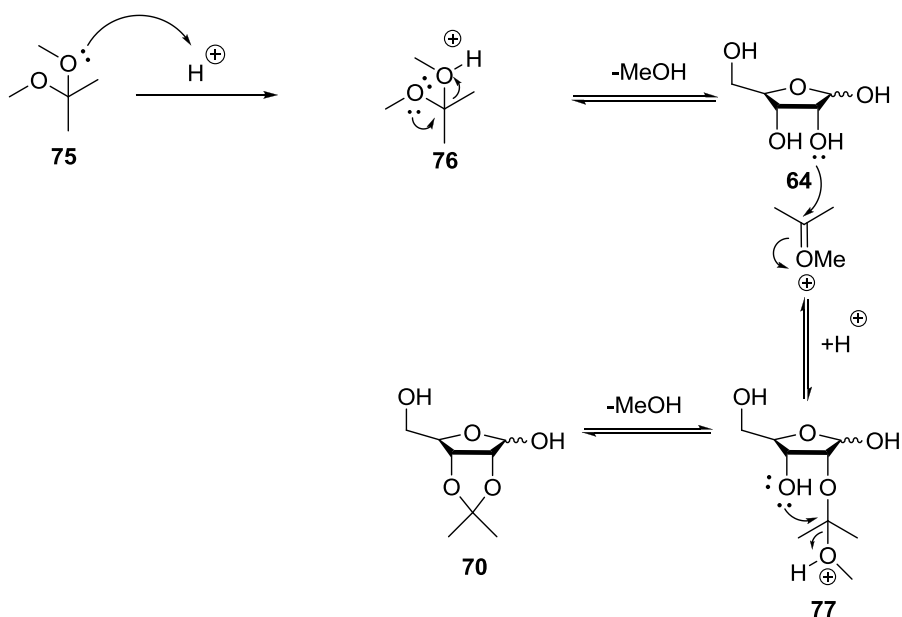
Los experimentos iniciales se encaminaron a la protección de la D-ribosa **64** de manera selectiva así, el tratamiento con dimetoxipropano, acetona anhidra y ácido *p*-toluensulfónico en cantidades catalíticas sobre el sustrato D-ribosa **64** generó el correspondiente 2,3 acetónido **70**, en un rendimiento del 87%. En esta reacción los grupos hidroxilo 2,3 reaccionan con la acetona o el dimetoxipropano generando un grupo isopropilideno. El primer paso del mecanismo en esta reacción es la protonación y pérdida de metanol por la sustitución nucleofílica de uno de los grupos hidroxilo de la D-ribosa en el dimetoxipropano **75**. Este proceso de protonación-sustitución se repite sobre el intermediario **75** para finalizar en la protección de los grupos hidroxilos 2,3 de la D-ribosa **64**. Por lo tanto, se liberan dos moléculas de metanol del dimetoxipropano para la formación del grupo protector isopropilideno **70**.

Cuando la protección se hace con acetona **78**, el primer paso es la protonación de la misma, generando una especie reactiva que sufre el ataque de uno de los grupos hidroxilo.

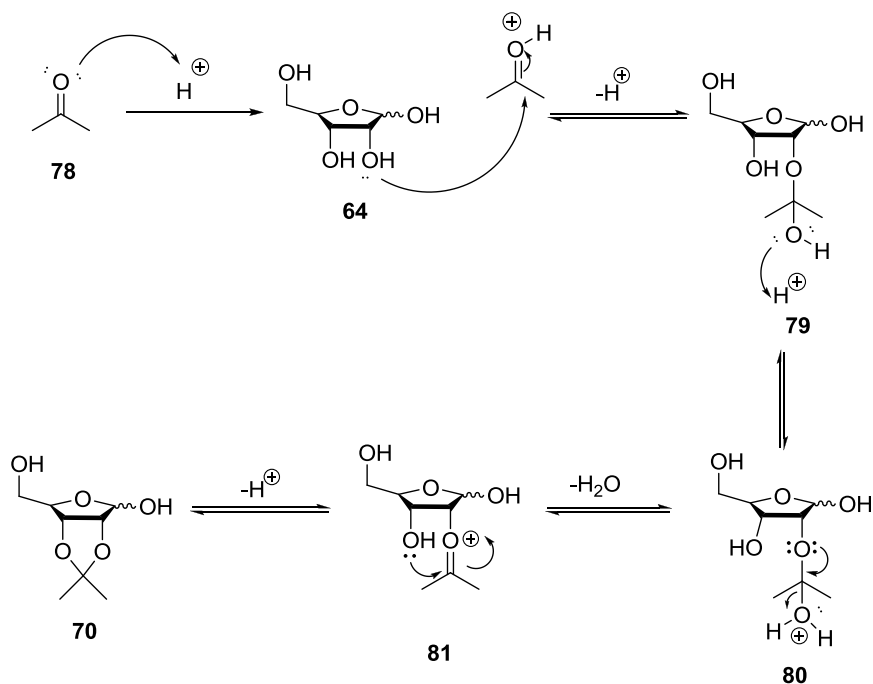
El intermediario **79** se protona nuevamente, formando un buen grupo saliente (agua) **80**, lo que hace fácil el ataque nucleofílico de uno de los grupos hidroxilo para generar el acetónido **70**.

Para que pueda generarse esta protección es necesario que los grupos hidroxilo se encuentren en posición *cis*, de lo contrario, si los grupos hidroxilo se encontraran en posición *trans* la formación del grupo isopropilideno estaría en mayor tensión y probablemente en menor rendimiento (**Esquema 21**).

Mecanismo 1: Formación del acetónido con 2,2-dimetoxipropano



Mecanismo 2: Formación del acetónido con acetona

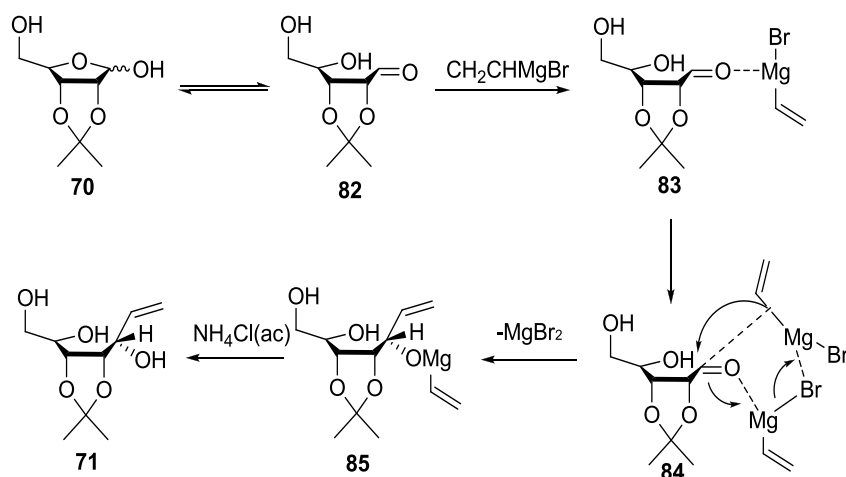


Esquema 21. Formación de 2,3 acetónido con dimetoxipropano y acetona.

Reacción de Grignard en el centro anomérico.

La segunda etapa del proyecto corresponde a una reacción de sustitución con un reactivo de Grignard. En este caso la reacción de Grignard con bromuro de vinilmagnesio ofrece una clara prueba de los equilibrios que presentan los

azúcares (**70-82**), ya que este compuesto organometálico, reacciona con el carbono 1 en forma de un grupo carbonilo formando así la correspondiente olefina, como un solo producto. El rendimiento de esta etapa fue del 81%. La adición del reactivo de Grignard inicia con la formación del complejo **83** por la coordinación entre el grupo carbonilo y el magnesio, que después genera un sistema cíclico **84** entre el grupo carbonilo y dos moléculas del bromuro de vinilmagnesio. El ataque al carbonilo de este complejo sistema cíclico **84** se genera por la cara *Si* como consecuencia del impedimento estérico, lo que permite que el alcóxido quede en la misma posición del grupo isopropilideno, luego la transformación del intermediario **84** por la adición de una disolución 0.5 M de $\text{NH}_4\text{Cl}_{(\text{ac})}$ da como resultado el alcohol secundario **71** (**Esquema 22**).



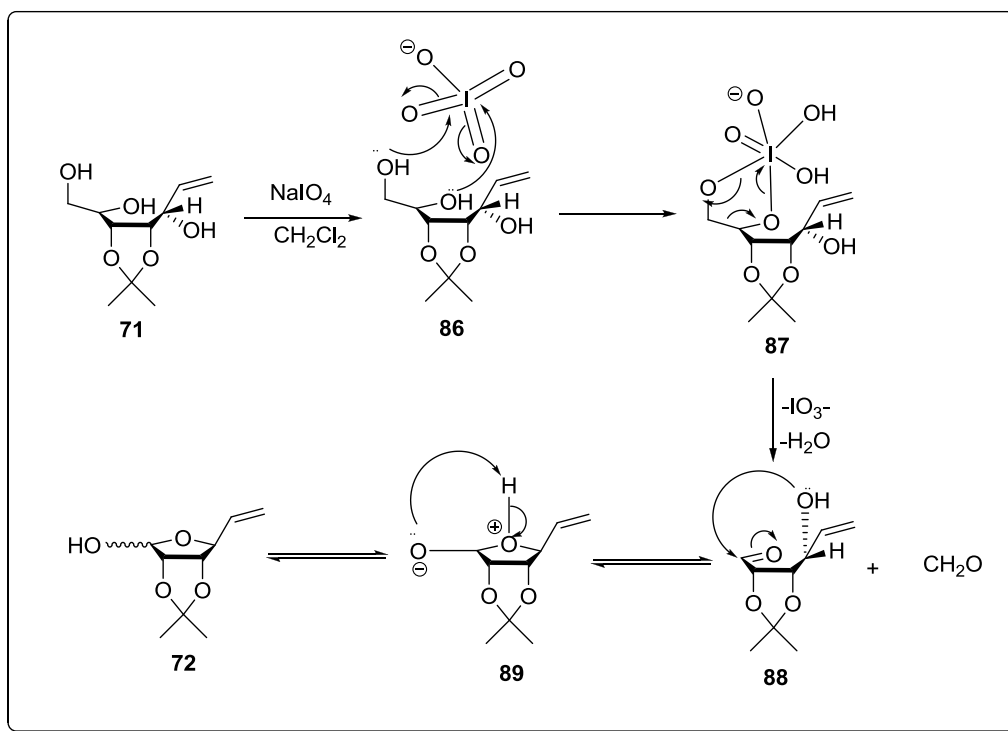
Esquema 22. Coordinación entre el grupo carbonilo y el bromuro de vinilmagnesio.

Por otro lado el descriptor estereoquímico para el nuevo centro estereogénico en **71** de acuerdo con las reglas de Cahn-Ingold-Prelog²¹, es **S**, debido a que el sentido va desde $-\text{OH}$, a través del $-\text{CH}-\text{OR}$ y termina en el $-\text{CH}=\text{CH}_2$. Por lo que se asigna una configuración **S**.

Oxidación y ruptura de enlace de los grupos hidroxilo primario y secundario.

En la tercera etapa se realizó la oxidación del compuesto dihidroxílico con peryodato de sodio, lo que originó la formación de 2 aldehídos. Esto se logró por el ataque del par de electrones de los dos grupos hidroxilo de **71** hacia el anión peryodato **86**, provocando la polarización de los enlaces del yodo con el

oxígeno en el sistema **87**. Seguidamente, la fragmentación del enlace sigma en **87** generó los dos grupos carbonilo. Uno de los aldehídos fue expulsado de la estructura original y el segundo correspondió al producto esperado **88**, el cual rápidamente experimentó un ataque intramolecular por parte del carbinol, proveniente de la reacción de Grignard, generando la especie **89** que luego de llevar a cabo la transferencia de un protón permitió la formación de un nuevo centro anomérico en **72** (**Esquema 23**). De no haber estado las posiciones 2,3 protegidas, el carbohidrato tendría más fragmentaciones, debido a que la ruptura sólo se produce entre dos átomos de carbono vecinos que contengan grupos hidroxilo, en el intermediario **71** solo están presentes en los C-4 y C-5.

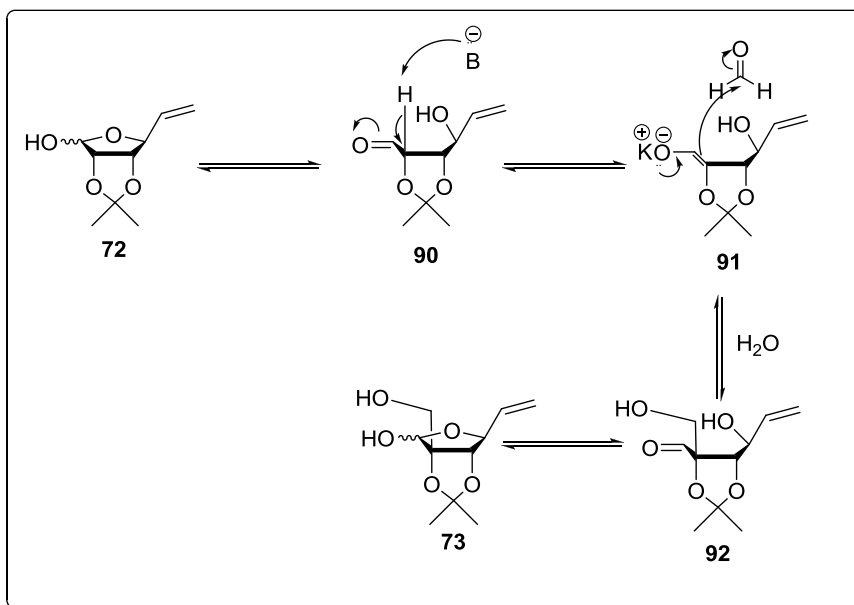


Esquema 23. Mecanismo de reacción para la oxidación de los dioles del compuesto olefínico al correspondiente vinil lactol **72**.

Condensación aldólica en el C-3 α

En la cuarta etapa de este proyecto se llevó a cabo una reacción de condensación aldólica donde se obtuvo el intermediario **73** estereoselectivamente mediante la introducción de un grupo metilen-hidroxilo en la posición C-3 α . En principio el carbonato de potasio toma el hidrogeno alfa

que se encuentra en la posición C-3 α . Esto sucede debido a que se trata en realidad de un hidroxialdehído formado por la apertura del anillo de furanosa **90**, ya que el intermediario presenta equilibrio mutarotacional. De este modo se genera un enolato **91**, el cual reacciona con el grupo carbonilo de la molécula de formaldehído. El nuevo grupo carbinol se encuentra *cis* al grupo vinil en **92**, esto es porque el 2,3-acetónido se encuentra en posición axial (**Esquema 24**).

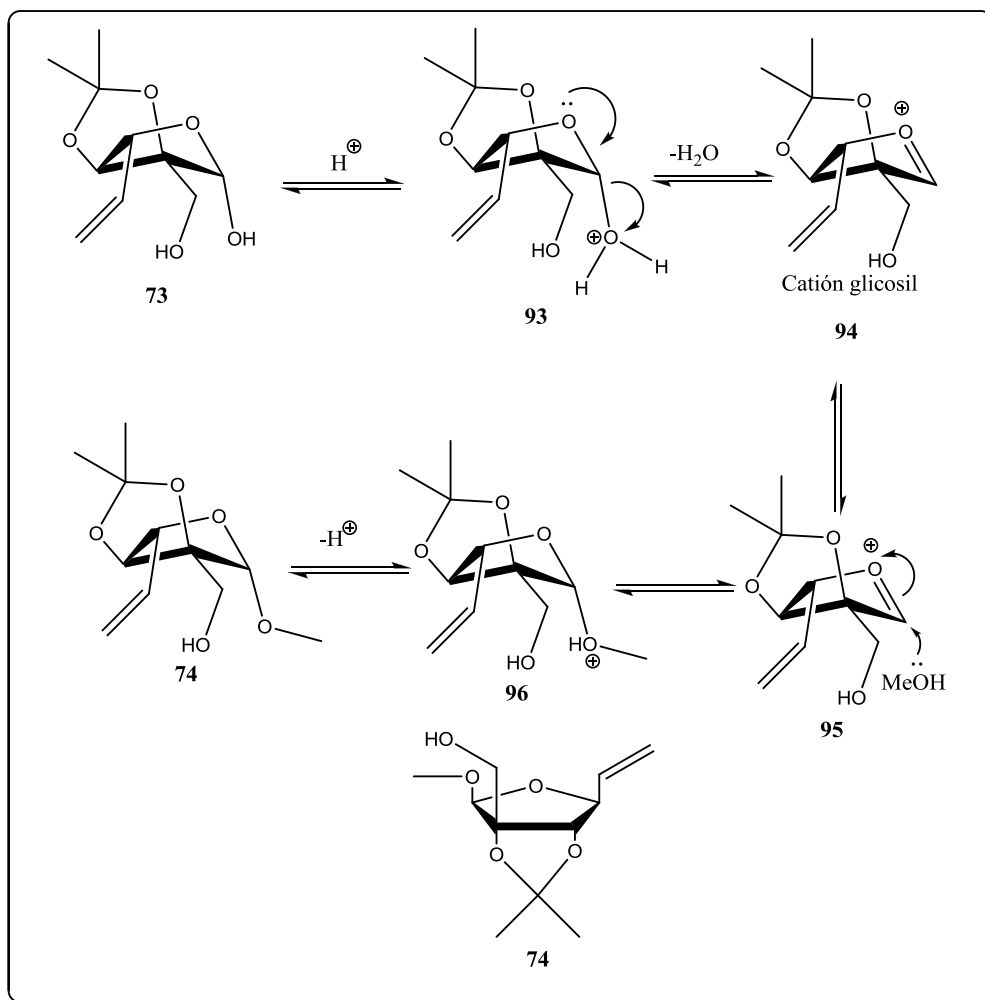


Esquema 24. Condensación aldólica catalizada por una base débil, utilizando formaldehído.

Glicosilación de Fischer

En la etapa cinco se realizó la glicosilación de Fischer, la conversión al α -glucósido de **73** en el centro anomérico corresponde un proceso S_N1 . La presencia de un oxígeno α endocíclico ocasiona la estabilización del carbocatión **94**, que es formado por la salida de una molécula de agua en **93** una vez que es protonado por una especie ácida. De este modo se forma el catión glicosilo **94** en el átomo de oxígeno del anillo furanósido del compuesto **73**. Al intermediario **73** se le adiciona una molécula de metanol al centro anomérico axialmente **95**, dado que el ión oxocarbenio es un centro electrófilo plano. Existen dos conformaciones preferidas en el anillo de cinco miembros: la media silla y la de sobre.²² El anillo furanósido adopta la conformación de sobre. De ese modo el anillo logra estabilizar electrónicamente al carbocatión formado por la expulsión del grupo saliente (**Esquema 25**).

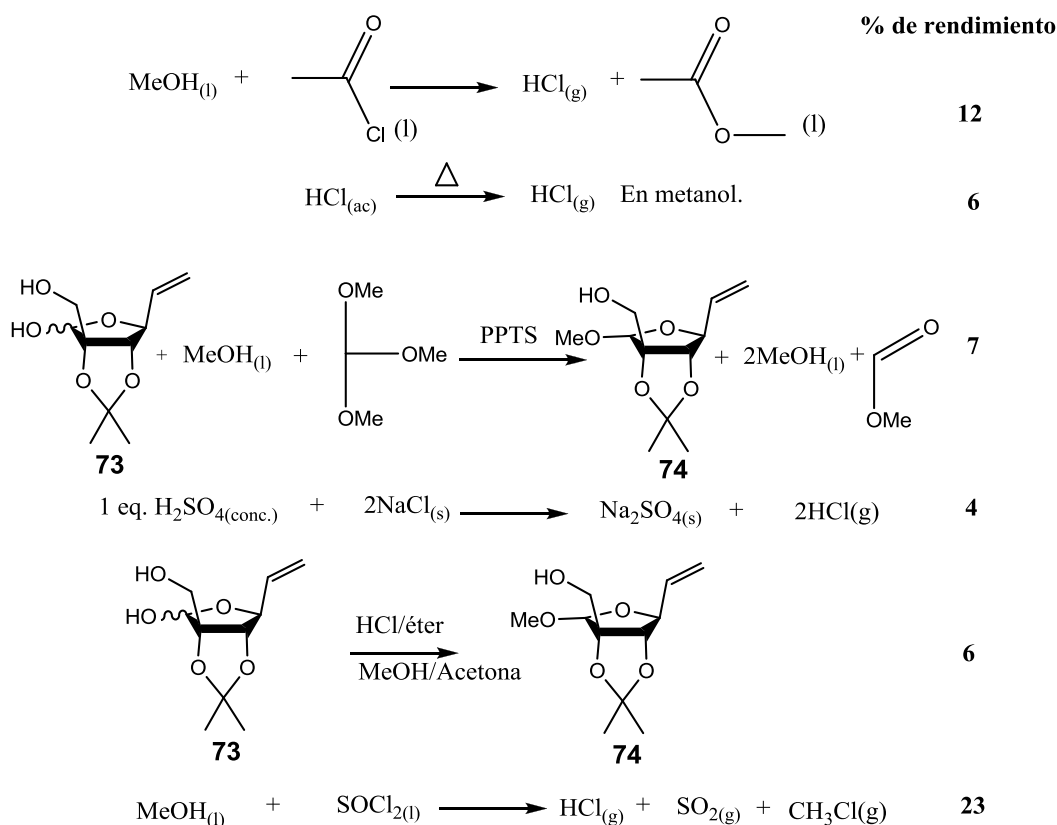
Finalmente luego de una desprotonación se obtiene el glucósido **74** en 23% de rendimiento. La predilección por ocupar el sustituyente la orientación axial es debida al *efecto anomérico*.



Esquema 25. Mecanismo de glicosilación en orientación α debido al efecto anomérico.

A pesar de haber realizado numerosos intentos en condiciones diferentes, el rendimiento máximo fue del 23% (**Esquema 26**).

El bajo rendimiento es atribuible posiblemente al impedimento estérico que presenta la molécula, ya que en C-1 γ la fracción vinílica se mantiene axial al anillo de furanosa, así como el grupo metilen-hidroxilo en la posición C-3 α al carbón anomérico.



Esquema 26. Experimentos para la obtención de **74** en condiciones diferentes.

Otra de las razones de la inestabilidad de **74** que presentaba el grupo protector se notó cuando al realizar la glicosilación de Fischer este se hidrolizaba, lo que originaba la apertura del grupo isopropilideno, por lo que se optó por el secado y purificación de cada uno de los disolventes y reactivos para la utilización de cantidades muy pequeñas de ácido. Desde luego, manejando mezclas metánolicas para generar ácido clorhídrico *in situ*.^{23, 24, 25} Al tratar de recuperar el intermediario desprotegido, este sufría descomposición en la columna cromatográfica sobre gel de sílice (SiO₂), posiblemente por la acidez que presenta el SiO₂. Por este motivo se utilizó una fase estacionaria neutra, tal como Al₂O₃ neutra. Al obtener el intermediario desprotegido se le realizaron pruebas espectroscópicas por RMN de protón, las cuales revelaron que sufría la glicosilación en el centro anomérico, a su vez, también mostraba diferencia con el material de partida, reflejándose en la estructura restante.

Por este motivo, una de las propuestas a futuro es preparar un intermediario que soporte las condiciones restantes. Posiblemente la oxidación del centro

anomérico con Br₂ en un pH= 4-6²⁶, logrando de este modo una estabilidad mayor para su manipulación, la razón es que las lactonas son más estables.

Algunas de las reacciones se realizaron en un reactor de microondas a 20 Watts, 55 °C de 15 a 30 minutos, acortándose los tiempos de reacción. El mayor rendimiento obtenido para la glicosilación en el centro anomérico fue de 23%.

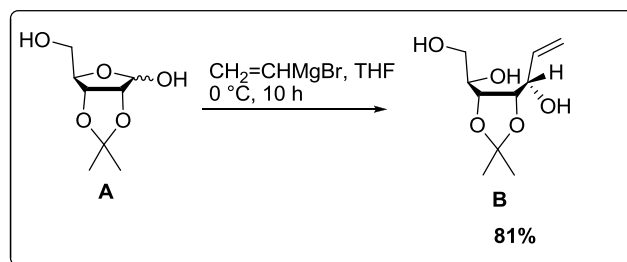
X. CONCLUSIONES

1. Se logró preparar en 5 pasos, y de manera eficiente, un intermediario importante en la síntesis total de Isatisina "A", a partir de la D-ribosa que se encuentra comercialmente disponible.
2. Se llevó a cabo la protección del diol *cis* en posición 2,3 de la D-ribosa en rendimientos del 87% como único producto (**Esquema 27**).



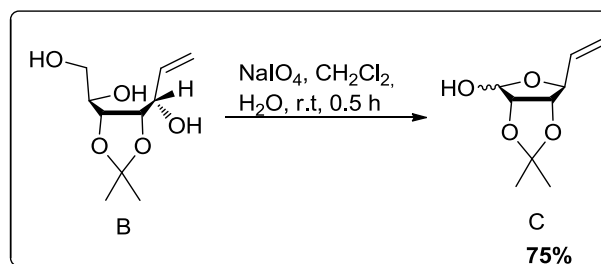
Esquema 27. Resultado de la protección del diol *cis* en la D-ribosa.

3. Se llevó a cabo la instalación del grupo vinilo sobre el carbono anomérico mediante un reactivo de Grignard sobre el esqueleto de la D-ribosa previamente protegido. En esta etapa el rendimiento fue del 81% (**Esquema 28**).



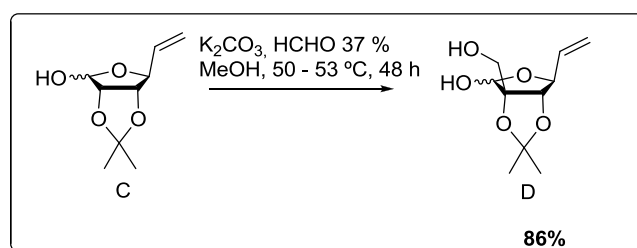
Esquema 28. Resultado de la adición del grupo vinilo en el esqueleto de la D-ribosa.

4. Se llevó a cabo la fragmentación oxidativa para eliminar el carbono terminal del mismo esqueleto, así mismo la formación de un compuesto vinil lactol por un ataque intramolecular en un rendimiento del 75% (**Esquema 29**).



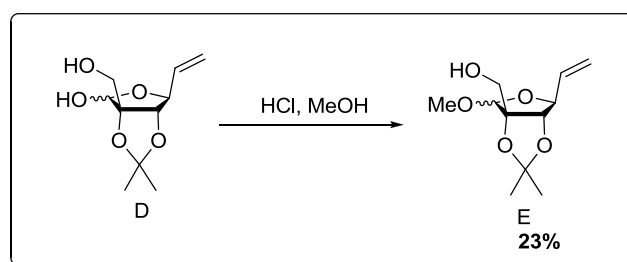
Esquema 29. Resultado de la fragmentación oxidativa.

5. Se llevó a cabo la instalación de un grupo metilhidroxilo en la posición α al nuevo centro anomérico, mediante una reacción de condensación aldólica, en un rendimiento del 86% (**Esquema 30**).



Esquema 30. Resultado de la instalación del grupo metilhidroxilo.

6. Se llevó a cabo una glicosilación de Fischer en el carbono anomérico por adición de un alcohol en medio ácido *in situ*, en un rendimiento del 23%. Si se toma en cuenta que las etapas futuras son alrededor de 5, la síntesis se ve afectada por este intermediario, por lo que se hace necesario buscar una alternativa que genere mejores rendimientos (**Esquema 31**).



Esquema 31. Resultado de la glicosilación de Fischer.

7. No se llevó a cabo la oxidación del alcohol primario al correspondiente ácido carboxílico, debido a la inestabilidad presentada por el α -glicósilo. Aunque el objetivo era la síntesis de **F** (Figura 7), los resultados son alentadores para generar nuevas propuestas y así poder obtener un nuevo intermediario que sea

estable, permitiendo su manipulación en las pruebas siguientes en la síntesis total de Isatisina "A".

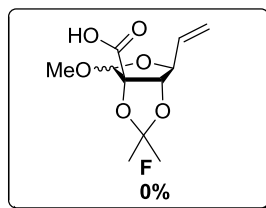


Figura 7. Resultado de la oxidación del alcohol primario al ác. carboxílico.

XI. CRONOGRAMA

TIEMPO	1 Mes	0.25 Meses	1.8 Meses	1.5Meses	2.3 Meses
ACTIVIDAD					
Búsqueda de información.	X	X	X	X	X
Reacción de protección.		X			
Adición de reactivo de Grignard en el carbono 1.			X		
Reacción de fragmentación oxidativa de alcoholes en el carbono 4 y 5.				X	
Reacción de adición en C-3 α del grupo hidroxilo primario					X
Reacción de glicosilación en el centro anomérico.					X

XII. REFERENCIAS.

- 1) H. Z. Zheng, Z.H. Dong. Q. Yu in *modern Study of Tradicional Chinese Medicine*, Vol. 1, Xueyuan, Beijing **1997**, p. 328-334.
- 2) Liu J. F., Jiang Z. Y., Wang R. R., Zeng Y. T., Chen J.J., Zhang X. M., Ma Y. B., *Org. Lett.* **2007**, 9, 4127 – 4129.
- 3) Karadeolian, Michael A. Kerr, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 1133-1135
- 4) Klyosov A. A., Carbohydrate drug design, *ACS Symposium series*, **2006**, 932, 2-24.
- 5) S. Hassan, Carbohydrate Chemistry Monosaccharides and Their Oligomers, Academic Press, San Diego California, **1988**, p.p. 38- 46.
- 6) Teijón R. Jose María, Bioquímica estructural, Tébar, **2001**, p.p.190.
- 7) G. D. Benjamin, J.F. Antony, Carbohydrate Chemistry, Oxford Chemistry Primers, Oxford University, New York, **2002**, p.p. 18-42.
- 8) A. R. Daniel, Gin D. Y., Handbook of Chemical Glycosylation: Advances in Stereoselectivity and Therapeutic Relevance, Wiley-VCH, **2008**, p.p. 95-101.
- 9) Bornaghi F. Laurent, Poulsen Sally, *Tetrahedron Letters* **2005**, 46, 3485-3488.
- 10) Zhao Shikai, Petrus Ladislav, and Serianni S. Anthony, *Org. Lett.*, **2001**, 3, 3819-3822.
- 11) Robyt John F., Essentials of Carbohydrate Chemistry, Springer-Verlag New York, **1998**, p.p. 85-91.
- 12) Lindhorst Thisbe K., Essentials of Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, Wiley-VCH, **2000**, p.p. 59-70.
- 13) Allinger Norman L., Cava Michael P., Jongh C., et al, Química Orgánica, 2ª. Edición, Editorial Reverté, Madrid **1991**, p.p. 675-681.
- 14) Morrison T. Robert, Boyd N. Robert, Química Orgánica, 5ta ed., Addison-Wesley iberoamericana **1990**, p.p. 641-643.

- 15) Wade Legoy G., Organic Chemistry, 5th ed., Pearson Prentice Hall, Madrid **2004**, p.p. 1085-1090.
- 16) Bols Mikael, Carbohydrate building blocks, John Wiley and Sons, New York, **1996**, p.p. 57-58.
- 17) P.-T. Ho. *Can. J. Chem.* **1980** *58*, 858-860.
- 18) Karadeolian A., Kerr Michael, *J. Org. Chem.*, **2010**, *75*, 6830-6841.
- 19) Yang M., Ye W., Schneller W. Stewart, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 3993-3996.
- 20) W. J. Choi, J. G. Park, S. J. Yoo; et al.; *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 6490-6494.
- 21) Garrett J. M., *J. Chem. Educ.*, **1978**, *55*, 493.
- 22) Juaristi Eusebio, Introducción a la estereoquímica y al análisis conformacional, El Colegio Nacional, 2^a. ed., México, D.F., **2007**, p. 243-260.
- 23) Izumi Minori, Fukase Koichi, Kusumoto Shoichi, *Biosci. Biotechnol. Biochem*, **2002**, *66*, 211-214.
- 24) Bornaghi F.L., Poulsen Sally-Ann, *Tetrahedron Letters*, **2005**, *43*, 3485-3488.
- 25) Nachman J. Ronald, H. Michael, et al, *J. Org. Chem.*, **1986**, *51*, 4802-4806.
- 26) D. Williams John, P. Kamath Vivekanand, et al; *Organic Syntheses*, **2005**, *82*, 75-76.
- 27) B. Epp Jeffrey, S. Widlanski Theodore, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 293-295.
- 28) Prigo M.C., Angiuoni G., Piancatelli G., *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 5459-5466.
- 29) Zanka, A. *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 888.
- 30) Carey Francis A., Sundberg Richard J., Advanced Organic Chemistry, 5th ed., Springer, New York, **2007**, p.p. 619-637.

- 31) G. H. Jones, M. Taniguchi, D. Tegg, J. G. Moffatt, *J. Org. Chem.* **1979** *44*, 1309-1317.
- 32) Venkata Remana G., Venkatateswara Rao B., *Tetrahedron Letters*, **2006**, *47*, 4441-4443.
- 33) Booth K. Victoria, F.Jenkinson Sarah, et al, *Tetrahedron Letters*, **2009**, *50*, 5088-5093.
- 34) Zhao Shikai, Petrus Ladislav, S.Serianni A., *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 3819-3822.
- 35) Cohen Noal, L. Banner Bruce, J. Laurenzano, et al; *Organic Syntheses*, **1990**, *7*, 297; **1985**, *63*, 127.
- 36) Yun Mikyung, RyongMoon H., Ok Kim Hea, Jun Choi Won, et al, *Tetrahedron Letters*, **2005**, *46*, 5903-5905.
- 37) Betron T., Bashiardes G., Léger Jean-Michael, B. Kokoh Kouakou, *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 1567-1570.
- 38) Zanka, A *Chem. Pharm. Bull.* **2003**, *51*, 888.
- 39) Mannam Sreedeevi, Sekar G., *Tetrahedron Letters*, **2008**, *29*, 2457-2460.
- 40) Xie Meiquiang, A. Berges David, J. Robins Morris, *J.Org. Chem.*, **1996**, *61*, 5178-5179.
- 41) Miljkovic Momcilo, Yeagley David, Deslongchamps Pierre, et al., *J.Org. Chem.*, **1997**, *62*, 7597-7604.
- 42) Lei Ming, Hu Riu-jun, Wang Yan-Guang, *Tetrahedron Letters*, **2006**, *62*, 8928-8932.
- 43) H. Larsen Catherine, H. Ridgway Brian, T. Shaw Jared, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 10879-10884.
- 44) Liu, J. F.; Zhang, X. M.; Xue, D. Q.; Jiang, Z. Y.; Gu, Q.; Chen, J. J. *Zhongguo Zhongyao Zazhi.* **2006**, *31*, 1961-1964.
- 45) P. Astolfi, L. Creci, C. Rizzoli, P. Sgarabotto, G. Marrosu, *J.,Chem. Soc. Perkin Trans. 2* **2001**, 1634 – 1640; a) C. I. Altinis Kiraz, T. J. Emge, L. S. Jimenez, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 2200 -2202.

- 46) Nair, V.; Zintek, L. B.; Sells, T. B.; Purdy, D. F.; Jeon, G., *S. Antiviral Res.* **1994**, 23(Suppl. 1), 38.