

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



“Obtención estereoselectiva de espiroheterociclos nitrogenados derivados de D-fructosa”

TESIS

Que para obtener el título de:

Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Presenta:

Luis Felipe Aca Aguas

Director de tesis:

Dra. Penélope Merino Montiel

Co-Director de tesis:

Dra. Socorro Meza Reyes

Julio de 2018

Agradecimientos

A mis asesoras de tesis: Dra. Penélope Merino Montiel y Dra. Socorro Meza Reyes por la dirección en esta tesis y por su apoyo.

A mi padre que nunca se dio por vencido al momento de darme educación y ejemplo.

A mi madre que me enseñó a luchar por mis metas y que desde el cielo me protege y está al pendiente de que no me rinda.

A mi hermano que siempre estuvo al pendiente de lo que pudiera necesitar durante mi formación académica.

A mi familia, tíos, primos por apoyarme en momentos difíciles.

A María Fernanda C. Romero, Azucena Remedios S. y Marco A. Avendaño, por ser los mejores amigos que la vida pudo darme.

A mi novia M. Beatriz, por hacerme reír todo el tiempo y estar a mi lado cuando más necesito compañía.

¡Gracias!

También quiero agradecer al CONACYT por la beca de tesis con el número 25347 en el proyecto CB-2015/257465 que permitió la realización exitosa de este trabajo.

A la VIEP por el apoyo económico para participación en los congresos:

- XLIX Congreso Nacional y VII Internacional de Ciencias Farmacéuticas 2016 presentando el trabajo Uso de la reacción de Bargellini para la síntesis de potenciales inhibidores enzimáticos.
- L Congreso Nacional De Ciencias Farmacéuticas con el trabajo Síntesis de benzotiazolidinas derivadas de carbohidratos

Contenido

ABREVIATURAS Y SIGLAS	5
RESUMEN	7
INTRODUCCIÓN	9
ANTECEDENTES.....	17
OBJETIVOS.....	21
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	22
CONCLUSIONES	37
PARTE EXPERIMENTAL	38
MÉTODOS GENERALES	38
REACTIVOS COMERCIALES	40
MATERIAS PRIMAS	41
Preparación de 1,2:4,5 -di- <i>O</i> -isopropilideno- β -D-fructopiranososa (2).....	41
Preparación de 1:2,4:5-di- <i>O</i> -isopropilideno-3-oxo - β -D-fructopiranososa (3)	41
NUEVAS INVESTIGACIONES	43
(2' <i>S</i> ,4' <i>R</i> ,5' <i>R</i>)-2'',2''-dimetil-5',6'-dihidro-3H,4'H-dispiro[benzo[d]thiazol-2,3'-piran-2',4''-[1,3]dioxolano]-4',5'-diol (4)	43
(3a' <i>R</i> ,6' <i>R</i> ,7a' <i>S</i>)-2',2',2'',2''-tetrametil-1,3,3a',7a'-tetrahidro-4'H-diespiro[benzo[d]imidazol-2,7'-[1,3]dioxolo[4,5-c]piran-6',4''-[1,3]dioxolano] (5)	44
(3a' <i>R</i> ,6' <i>S</i> ,7a' <i>R</i>)-2',2',2'',2''-tetrametil-3a',7a'-dihidro-3H,4'H-diespiro[benzo[d]oxazol-2,7'-[1,3]dioxolo[4,5-c]piran-6',4''-[1,3]dioxolano] (6)	45
ESPECTROS REPRESENTATIVOS	47

ABREVIATURAS Y SIGLAS

°C	Grados Celcius
μL	Microlitros
2-ATF	2-Aminotiofenol
Ac ₂ O	Anhídrido acético
AcOEt	Acetato de etilo
AGES	Productos finales de glicosilación avanzada
c.c.f	Cromatografía en capa fina
COSY	<i>Correlated Spectroscopy</i>
d	Doblete
dd	Doble de dobles
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DMF	Dimetilformamida
EM	Espectrometría de masas
EMAR	Espectrometría de masas de alta resolución
Et ₂ O	Éter etílico
EtOH	Etanol
g	Gramos
GP	Glucógeno fosforilasa
HSQC	<i>Heteronuclear Single-Quantum Correlation</i>
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamiento
<i>K_i</i>	Constante de inhibición
M	Molar
m	Multiplete
m/z	Relación masa/carga
MeOH	Metanol
mg	Miligramos
MHz	Megahertz

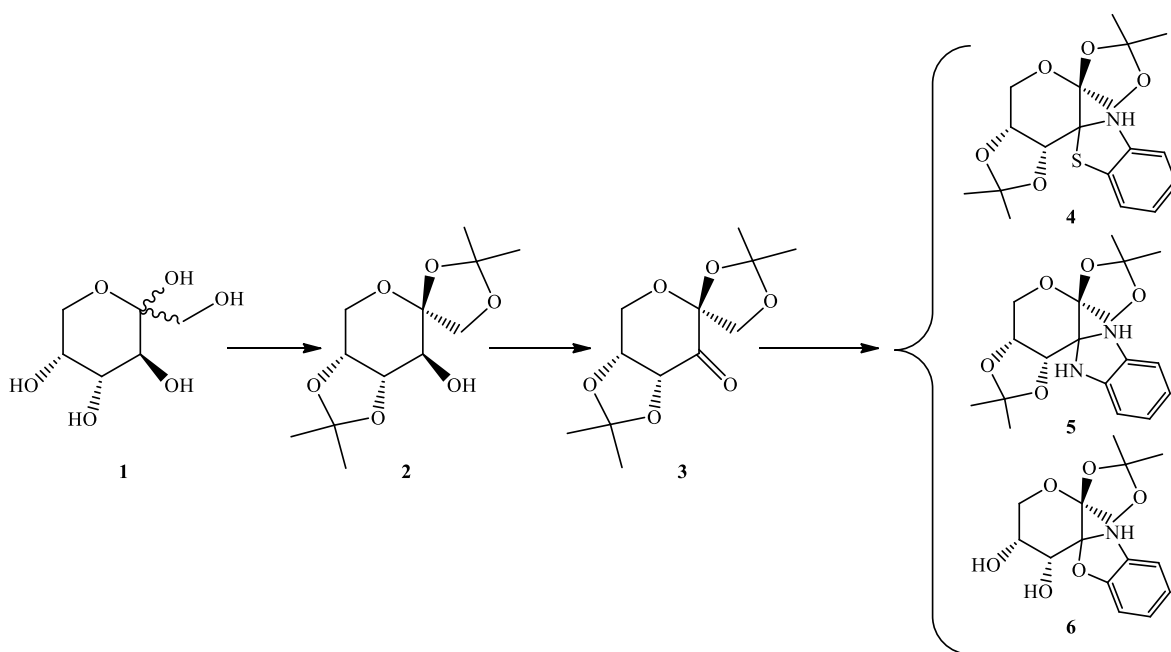
min	Minutos
mL	Militros
mm	Milímetro
mmol	Milimoles
nm	Nanómetro
NOESY	<i>Nuclear Overhauser effect spectroscopy</i>
p.f.	Punto de fusión
PCC	Clorocromato de piridinio
ppm	Partes por millón
PTSA	Ácido <i>p</i> -toluensulfónico
PyBox	(<i>S,S</i>)-2,6-Bis(4-isopropil-2-oxazolin-2-il)piridina
R _f	Coefficiente de reparto
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
s	Singulete
sa	Singulete ancho
t.a.	Temperatura ambiente
td	Triple de dobles
Tf ₂ O	Anhídrido tríflico
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano
δ	Desplazamiento químico

RESUMEN

En esta tesis se describe la síntesis de heterociclos nitrogenados espiránicos a partir de D-fructosa.

Los productos fueron sintetizados a partir de D-fructosa comercial; se llevó a cabo la protección regio y estereoselectiva de los hidroxilos 1, 2, 4 y 5 mediante la formación de dos acetales, posteriormente se llevó a cabo la oxidación del OH-3 para obtener la cetona correspondiente. Se ensayaron las condiciones necesarias para obtener de manera estereoselectiva benzoderivados nitrogenados.

El acoplamiento del carbohidrato con 2-aminofenol, 2-aminotiofenol y *o*-fenilendiamina, respectivamente condujeron a la formación de los heterociclos espiránicos benzofusionados tipo oxazol, tiazol e imidazol (**esquema 1**)



Esquema 1. Ruta propuesta para la síntesis de espiroheterociclos benzofusionados

Los compuestos resultaron ser inestables bajo condiciones ácidas, por lo que no fue posible la remoción del grupo protector.

Todos los compuestos intermediarios, así como los productos finales, fueron caracteriados mediante espectroscopia de RMN ^1H y ^{13}C , con ayuda de los experimentos de dos dimensiones HSQC y COSY.

INTRODUCCIÓN

La DM2 es una enfermedad crónica degenerativa provocada por diversos factores tanto genéticos, metabólicos y alimenticios debido a la dieta rica en carbohidratos sumada a la carencia de actividad física de la población. Esta enfermedad se caracteriza por llevar a los pacientes a estados hiperglucémicos que se reflejan en aumento de la frecuencia urinaria (poliuria), sed (polidipsia), hambre (polifagia) y baja de peso debido a la incapacidad de las células por absorber la glucosa circulante en la sangre (resistencia a la insulina). De acuerdo a la NOM-015-SSA2-2010 se establece el diagnóstico de prediabetes cuando la glucosa de ayuno es igual o mayor a 100 mg/dl y menor o igual de 125 mg/dl y/o cuando la glucosa dos horas. post-carga oral de 75 g de glucosa anhidra es igual o mayor a 140 mg/dl y menor o igual de 199 mg/dl y se establece el diagnóstico de diabetes si se cumple cualquiera de los siguientes criterios:

- Presencia de síntomas clásicos y una glucemia plasmática casual > 200 mg/dl
- Glucemia plasmática en ayuno > 126 mg/dl
- Glucemia >200 mg/dl a las dos hrs. después de una carga oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua

La DM2 es considerada un problema de salud pública a nivel mundial. En 2015 la FID¹ catalogó a México como el 6° país con mayor índice de DM a nivel mundial siendo el 9.13% de la población quienes contaban con el diagnóstico de esta patología, para 2016 la ENSANUT MC reportó que este porcentaje aumentó a 9.4%².

El tratamiento de la DM2 se basa en cambios sobre la dieta del paciente y el estilo de vida del mismo, no obstante, de ser necesario se recurre al tratamiento farmacológico dentro del cual se emplean 4 grupos principales de antidiabéticos:³

¹ Federación Internacional de Diabetes (FID) (Ed.). (2015), *Atlas de la Diabetes de la FID*. Bruselas, Bélgica: International Diabetes Federation.

² Secretaría de Salud. (6 de abril de 2017). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. México: gob.mx. Recuperado de <http://fndiabetes.org/wp-content/uploads/2017/04/ENSANUT2016-mc.pdf>

³ Nathan, D. M.; Buse, J. B.; Davidson, M. B.; Ferrannini, E.; Holman, R. R.; Sherwin, R.; Zinman, B. *Diabetes Care*, **2009**, *32*, 193-203.

1. Biguanidas, de las cuales mayormente es usada la metformina cuyo mecanismo de acción no está completamente esclarecido, sin embargo, se postula que actúa inhibiendo la absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal y reduce la gluconeogénesis y la glucogenólisis a nivel hepático.
2. Sulfonilureas, existiendo actualmente 3 generaciones cuyo efecto implica la estimulación del páncreas para liberar una mayor cantidad de insulina y así disminuir los niveles plasmáticos de glucosa.
3. Tiazolidinedionas, incrementan la sensibilidad del músculo, tejido graso e hígado frente a insulina endógena y exógena.
4. Inhibidores de α -Glucosidasas, cuyo efecto principal es la disminución en la digestión de polisacáridos en el intestino delgado evitando así la hiperglucemia post-prandial.

Esta familia de enzimas se ven involucradas en funciones metabólicas principalmente, pero no limitadas a estas; la digestión de los alimentos inicia en la boca donde son triturados por los dientes y se mezclan con la saliva, esta contiene α -amilasa salival (E.C. 3.2.1.1) que inicia la digestión de almidón y carbohidratos complejos, posteriormente en el intestino delgado se libera α -amilasa pancreática que es una isoenzima de la salival y cuya actividad es mayor debido al pH obtenido en el intestino delgado. En el epitelio intestinal se encuentran ancladas Maltasas (EC 3.2.1.20), lactasas (E.C.3.2.1.108) y sacarasa (E.C.3.2.1.10) cuya función es degradar los disacáridos resultantes de la digestión ocurrida por la amilasa.

Actualmente existen moléculas registradas y aprobadas (Miglitol y Acarbosa) para su uso como tratamiento antidiabético cuyo efecto es la inhibición de α -glucosidasas, no obstante se continúa una ardua investigación para obtener más y mejores moléculas activas frente a dichas enzimas ya que presentan escasos efectos secundarios.

La búsqueda de inhibidores de α -glucosidasas ha dado muchos resultados, a forma de ejemplo (**figura 1**) cabe mencionar al *N*-arilbenzo[d]oxazol-2-amina⁴ (**7**) con una

⁴ Wang, G.; Peng, Z.; Wang, J.; Li, J.; Li, X.; *Bioorg. Med. Chem.* **2016**, *24*, 5374-5379.

$IC_{50}=32.49 \mu M$, además de los triazoles obtenidos por Kumar y Lakshmi⁵ (**8**) que mediante estudios de modelización molecular mostraron sitios de interacción enzima-sustrato. Por otra parte, se han descrito moléculas conteniendo heterociclos azufrados que también han sido efectivas como inhibidores enzimáticos, entre ellas se puede mencionar a los imidazoles **9**⁶ ($IC_{50}= 18.23 \mu M$) y **10**.⁷

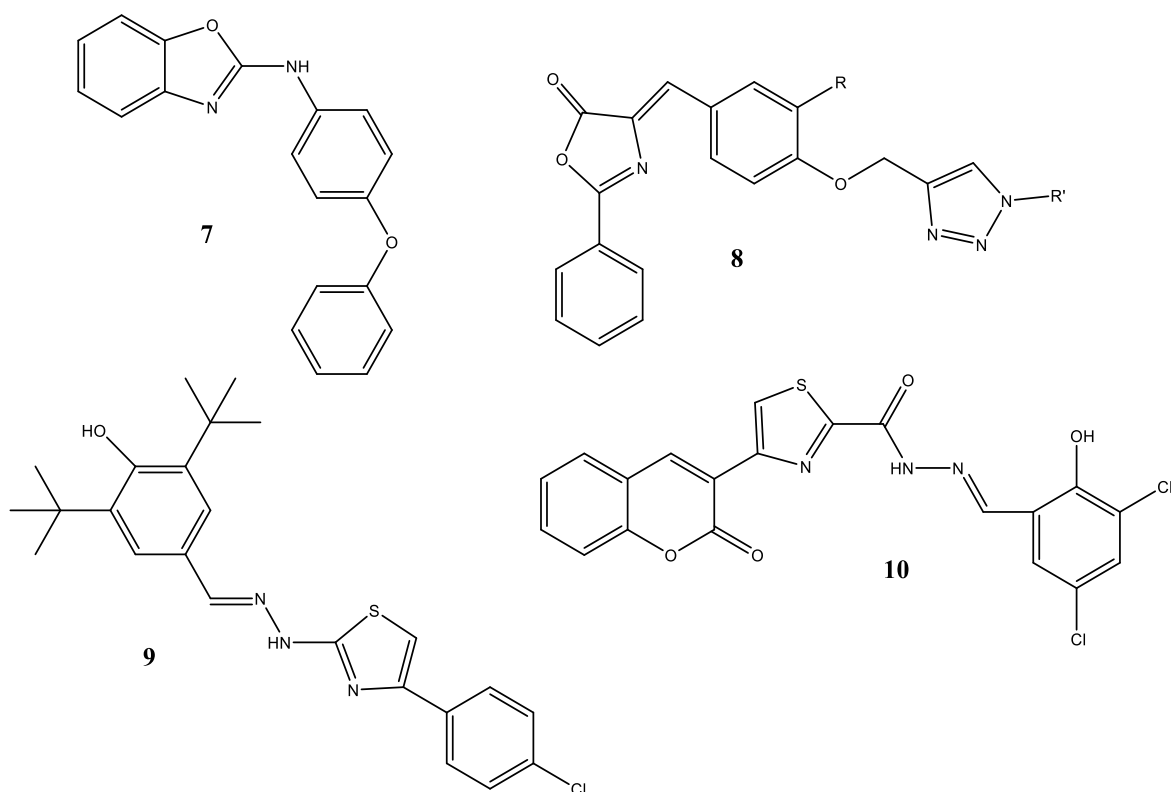


Figura 1. Inhibidores de glucosidasas

El equipo de Wang⁸ realizó extractos etanólicos de las raíces de *Polygonum multiflorum* los cuales demostraron tener actividad inhibitoria frente a α -glucosidasas y mediante purificación y técnicas de espectroscopia elucidaron las estructuras derivadas de D-glucosa a las cuales llamaron *Polygonumolide-D* y *Polygonumolide-E*. Por otra parte

⁵ Kumar, B. S.; Lakshmi, P. V. A. *Russ J Gen Chem* **2017**, 87, 1057–1063.

⁶ Rahim, F.; Ullah, H.; Javid, M. T.; Wadood, A.; Taha, M.; Ashraf, M.; Shaukat, A.; Junaid, M.; Hussain, S.; Rehman, W.; Mehmood, R.; Sajid, M.; Khan, M. N.; Khan, K. M. *Bioorg. Chem.* **2015**, 62, 15-21.

⁷ Wang, G.; He, D.; Li, X.; Li, J.; Peng, Z. *Bioorg. Chem.*, **2016**, 65, 167-174.

⁸ Yang, J.-B.; Tian, J.-Y.; Dai, Z.; Ye, F.; Ma, S.-C.; Wang, A.-G. *Fitoterapia* **2017**; 117, 65–70.

Himmelseher *et al.*¹¹ pusieron a prueba los dos isómeros de ketamina (**Figura 3**) demostrando que el isómero S-(+) presentaba actividad neuroregenerativa a diferencia del isómero R-(-) el cual fue ineficiente.

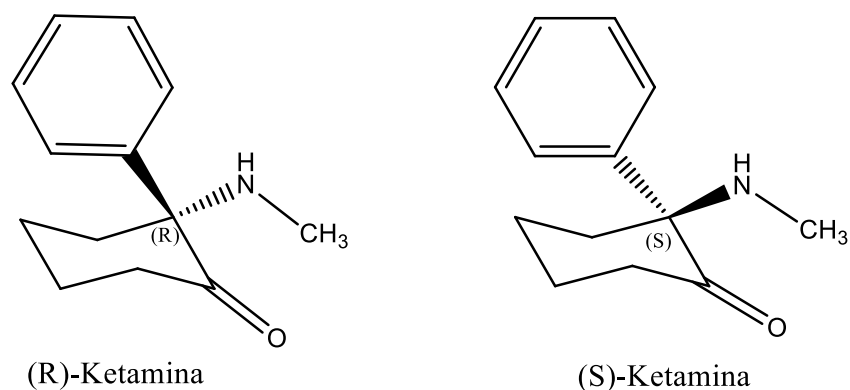


Figura 3. Farmacóforos isoméricos

Por otra parte, un compuesto espiránico es aquel que conecta a través de un solo átomo dos anillos, estos pueden ser de naturaleza distinta o idéntica. El átomo de conexión es llamado espiroátomo y normalmente es un carbono cuaternario; a forma de ejemplo se puede mencionar a las histrionicotoxinas (**Figura 4**) que poseen actividad inhibitoria de receptores nicotínicos de acetil colina; estas fueron aisladas en 1971 por Daly *et al.*¹² de la piel de ranas venenosas de la familia *Dendrobatidae*, principalmente en la especie *Oophaga histrionicus*.

¹¹ Himmelseher, S.; Pfenninger, E.; Georgieff, M. *Anesth. Analg.* **1996**, *83*, 505-512.

¹² Daly, J. W.; Karle, I.; Myers, C. W.; Tokuyama, T.; Waters, J. A.; Witkop, B.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **1971**, *68*, 1870-1875.

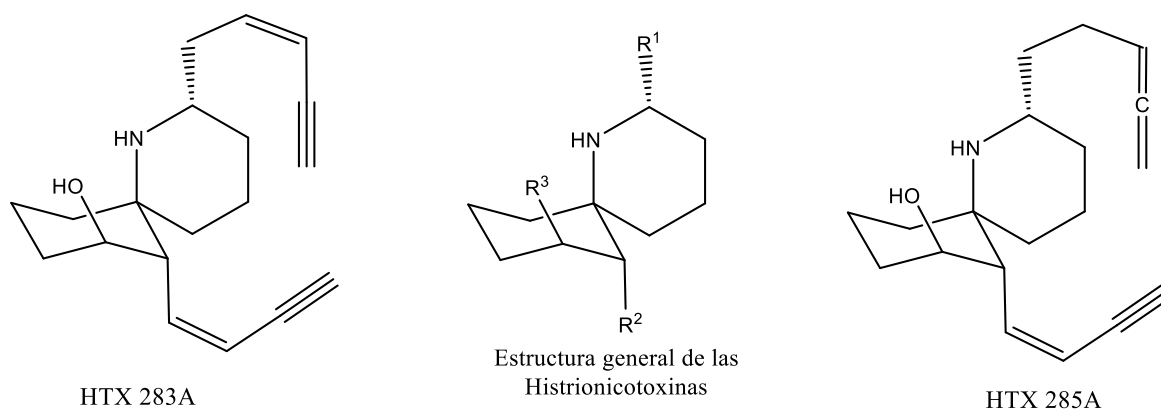


Figura 4. Estructura general y las dos variantes más abundantes en la piel de *Oophaga histrionicus*

Los compuestos espiránicos han demostrado ser de gran utilidad en diversas áreas, cabe destacar el uso de la hidantocidina (aislada de *Streptomyces hygroscopicus*) y sus derivados sintéticos¹³ como pesticidas o de la espiro[5.7]tridec-1-en-3-ona¹⁴ usada en la preparación de artículos perfumados. En el año 2000 Somsák *et al.*¹⁵ sintetizaron una espirotiohidantoina derivada de glucosa, esta demostró tener un efecto hipoglucemiante en ratas debido a la inhibición de la enzima glucógeno fosforilasa (GP).

He *et al.*¹⁶ obtuvieron glucopiranosilbenzoquinonas y glucopiranosilbenzohidroquinonas (**figura 5**) que fueron ensayadas frente a GPb de músculo de rata mostrando buenos resultados como inhibidores enzimáticos. El grupo de Somsák¹⁷ obtuvo espirooxatiazoles derivados de glucosa capaces de inhibir la GPb con una $K_i = 160$ nM en extractos de hígado de rata.

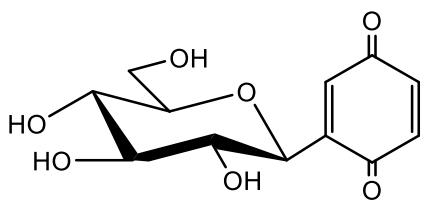
¹³ Früh, T.; Chemla, P.; Ehrler J.; Farooq, S. *Pestic. Sci.* **1996**, *46*, 37-47.

¹⁴ Wolfgang, K. G.; Giersch, B.; Blanc, P.-A.; Schulte-Elte, K. H. (1992). EE. UU. Patente N° 5,151,410. Ginebra, Suiza: United States Patent.

¹⁵ Somsák, L.; Nagy, V. *Tetrahedron: Asymmetry*, **2000**, *11*, 1719-1727.

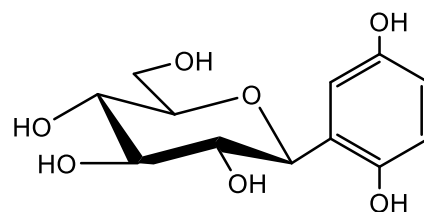
¹⁶ He, L.; Zhang, Y. Z.; Tanoh, M.; Chen, G.-R.; Praly, J.-P.; Chrysina, E. D.; Tiraidis, C.; Kosmopoulou, M.; Leonidas, D.; Oikonomakos, N. G. *Eur. J. Org. Chem.*, **2007**, 596–606.

¹⁷ Somsák, L.; Nagy, V.; Vidal, S.; Czifrák, K.; Berzsényi, E.; Praly, J.-P. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18*, 5680–5683.



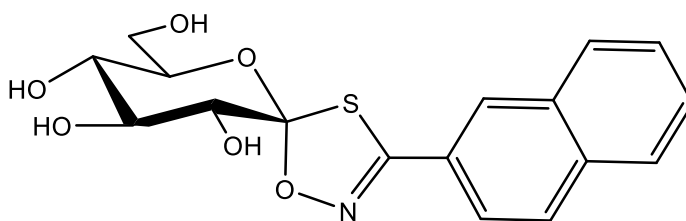
Glucopiranosilbenzoquinona

$K_i = 1.3 \text{ mM}$



Glucopiranosilbenzohidroquinona

$K_i = 0.9 \text{ mM}$



Glucopiranosiliden-espiro-oxatiazol

$K_i = 160 \text{ nM}$

Figura 5. Inhibidores de GP

La GP ha sido una diana terapéutica importante de nuevas moléculas con actividad inhibitoria con el fin de obtener nuevos tratamientos para la diabetes mellitus tipo 2. Algunos análogos sulfurados de carbohidratos y los tetrazoles¹⁸ han demostrado ser eficientes inhibidores frente a GPb de músculo de rata.

Otros compuestos derivados de carbohidratos a mencionar son la familia de glicósidos aquilasidas, extraídas de la planta *Aquilaria sinensis* por Yuan *et al.*,¹⁹ estas moléculas demostraron actividad antiinflamatoria y citotóxica contra células SK-MEL. También

¹⁸ Mitchell, E. P.; Withers, S. G.; Ermert, P.; Vasella, A. T.; Garman, E. F.; Oikonomakos, N. G.; Johnson, L. N. *Biochemistry* **1996**, 35, 7341-7355.

¹⁹ Yuan, H.; Zhao, J.; Wang, M.; Khan, S. I.; Zhai, C.; Xu, Q.; Huang, J.; Peng, C.; Xiong, G.; Wang, W.; Khan, I. A. *Fitoterapia* **2017**, 121, 170-174.

se han aislado moléculas activas de *Euphorbia ebracteolata* que poseen efectos inhibidores de la carboxilesterasa-2 humana.²⁰

Los glicósidos son compuestos que tras ser sometidos a hidrólisis, liberan una o varias unidades de azúcar. Por lo tanto los glicósidos se componen por dos partes: un azúcar y una aglicona. La aglicona puede ser un terpeno, un flavonoide, una coumarina o cualquier otro producto natural. De todos los azúcares encontrados en glicósidos naturales, la D-glucosa es la más abundante y la L-rhamnosa junto con la L-fructosa también se encuentran frecuentemente. De las pentosas, la L-arabinosa es más común que la D-xilosa. La unidad sacarídica de un glicósido puede ser un disacárido. Los glicósidos ha mostrado diversas actividades biológicas, uno de los ejemplos más conocidos es la digoxina descubierta en 1785 por William Whithering y ha sido de gran utilidad en el tratamiento de arritmias e insuficiencia cardiaca,²¹ otros compuestos glucosídicos se usan como antibióticos (**a**), vitaminas (**b**) y edulcorantes (**c**),²² o en tratamientos antitumorales.²³

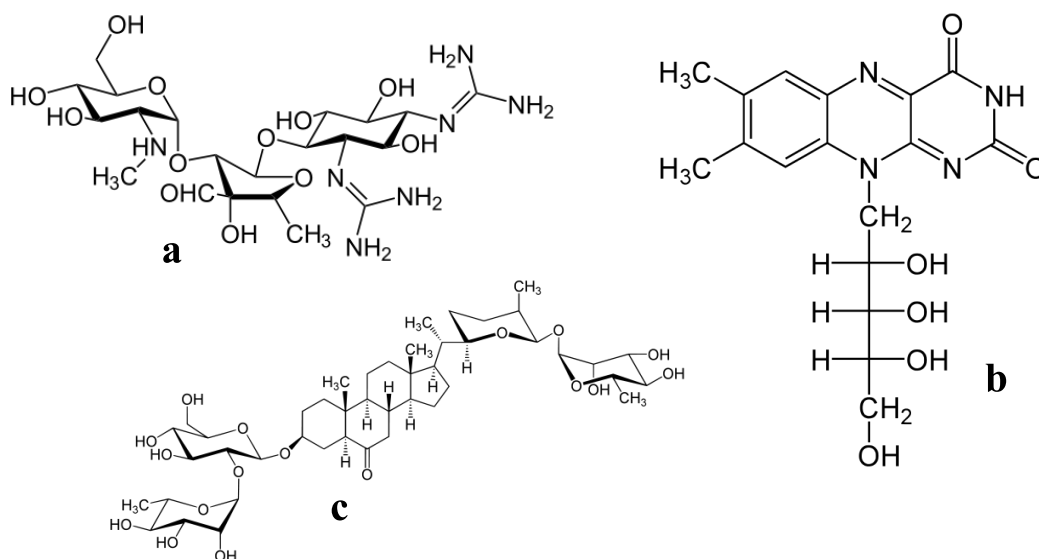


Figura 6. a) Estreptomicina; b) Riboflavina; c) Osladina

²⁰ Wang, A.-H.; Huo, X.-K.; Feng, L.; Sun, C.-P.; Deng, S.; Zhang, H.-L.; Zhang, B.-J.; Ma, X.-C.; Jia, J.-M.; Wang, C. *Fitoterapia*, **2017**, *121*, 175–182.

²¹ Formiga, F.; Ariza, A. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* **2018**, *53*, 119-120.

²² Křen, V.; Martínková, L. *Curr. Med. Chem.* **2001**, *8*, 1303-1328.

²³ Weymouth-Wilson, A. C. *Nat. Prod. Rep.*, **1997**, *14*, 99-110.

ANTECEDENTES

Con la finalidad de realizar restricciones conformacionales que permitan una mejor interacción biológica, se ha desarrollado la síntesis de espiroglicósidos, glicósidos en los que el anillo de azúcar y el resto heterocíclico nitrogenado comparten un átomo de carbono.

En este contexto Brand *et al.*²⁴ realizaron la síntesis de una serie de espiroacetales como **11** y **12** (figura 7), a través una expansión de anillo de un ciclopropano donador-aceptor-disustituído, en un anillo de cinco miembros con un sistema enol-éter. Por otra parte Gash *et al.*²⁵ describieron la síntesis estereocontrolada de una familia de espiro nucleósidos con anillos de oxazol **13**, de oxazolidinona **14** y de oxazinanotona **15** vía un derivado de isotiocianato de azúcar (figura 7).

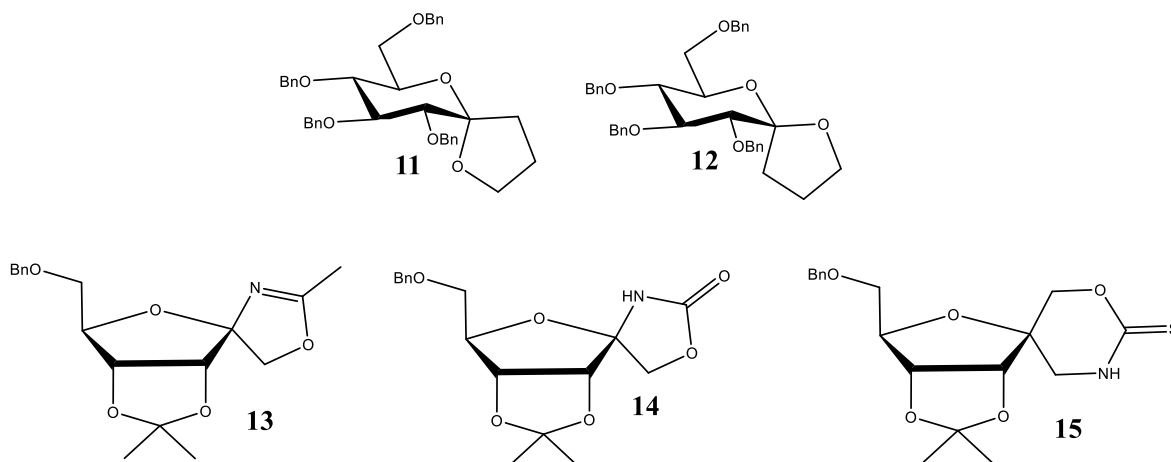


Figura 7. Ejemplos de espiroglicósidos

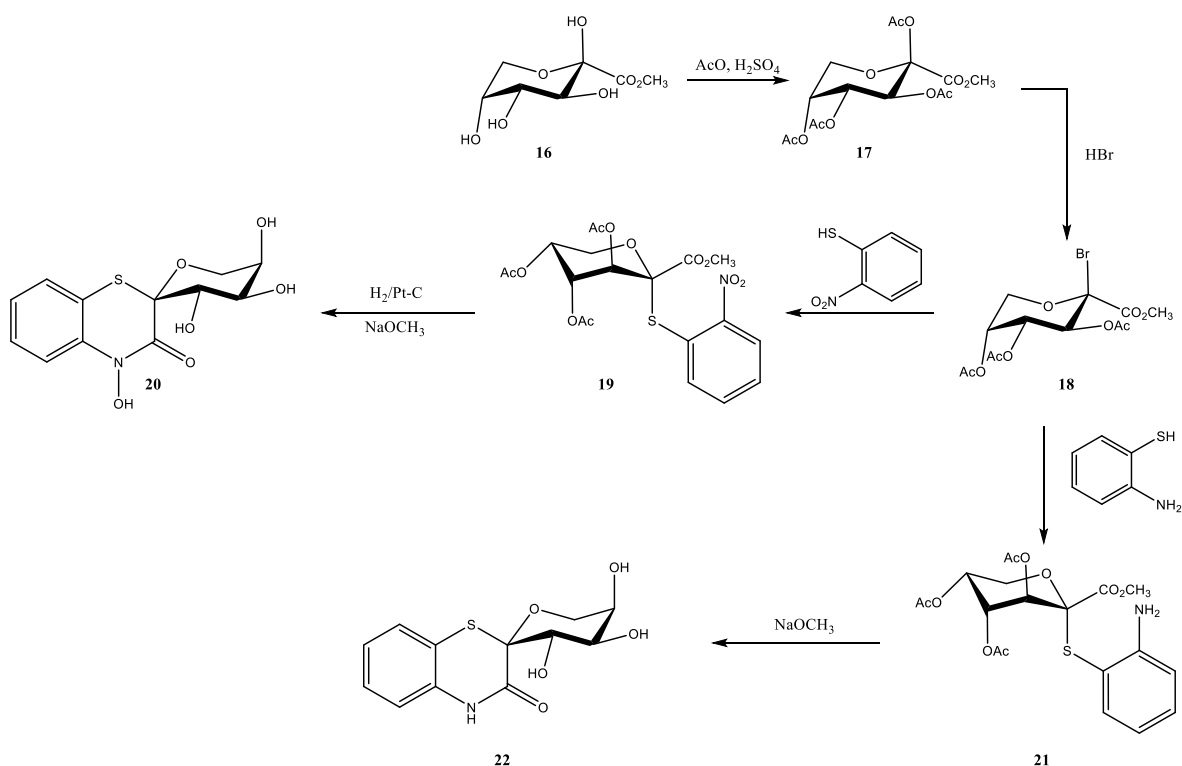
Por otra parte, Andersch *et al.*²⁶ Describieron la obtención de las espirobenzotiazinonas **20** y **22** a partir del β -D-*arabino*-hexulopiranosonato de metilo **16**, que fue acilado en medio ácido para formar **17**; este fue tratado con HBr para generar el donador de glicosilo **18**. El posterior acoplamiento con *o*-nitrotiofenol o con *o*-tioanilina condujo a

²⁴ Brand, C.; Rauch, G.; Zanoni, M.; Dittrich, B.; Werz, D. B. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 8779–8786.

²⁵ Gasch, C.; Pradera, M.; Salameh, B.; Molina, J.; Fuentes, J., *Tetrahedron: Asymmetry*, **2001**, *12*, 1267–1277

²⁶ Andersch, J.; Sicker, D.; Wilde, H. *J. Heterocyclic Chem.* **1999**, *36*, 457-460.

los tioglicósidos **19** y **21**. Finalmente la reducción del grupo nitro y el tratamiento con un medio alcalino promovieron la ciclación intramolecular entre el grupo amino y el carbonilo de la ulosa para obtener el espiroderivado **20** y de forma análoga el compuesto **22** (esquema 2).

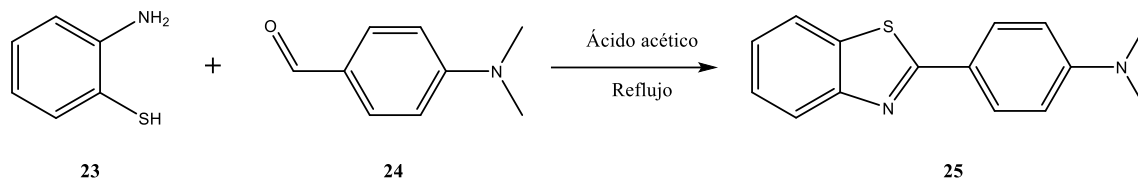


Esquema 2. Síntesis de espiroglicósidos benzofusionados

De manera general, una estrategia sintética recurrente para la síntesis de compuestos benzofusionados, es el acoplamiento de derivados *orto*-sustituidos con átomos nucleofílicos con aldehídos y cetonas.²⁷ Por ejemplo, el acoplamiento de *orto*-aminotiofenol **23** con 4-(dimetilamino)benzaldehído **24** condujo al benzotiazol **25**; este compuesto se probó en ensayos de inhibición enzimática y mostró valores de IC₅₀ de

²⁷ Kenny, R. S.; Mashelkar, U. C. *J. Heterocyclic Chem.* **2006**, *43*, 1367-1369.

0.31 mM (α -amilasa), 0.98 mM (α -glucosidasa), 0.59 mM (glicosilación no enzimática de hemoglobina) y 0.19 mM (AGE) (**esquema 3**).²⁸



Esquema 3. Síntesis de benzotiazol con propiedades de inhibición enzimática.

En la bibliografía se ha descrito la síntesis de 3-espironucleósidos derivados de D-glucosa **26** (**esquema 4**) y D-arabinosa con un anillo de tiohidantoína *N*-sustituido **28** con grupos alquilo, arilo y glicosilo, como análogos estructurales del compuesto natural (+)-hidantocidina. Los productos obtenidos fueron evaluados como inhibidores de glicosidasas, algunos de ellos mostraron una inhibición débil de la β -glucosidasa y de la β -galactosidasa.²⁹

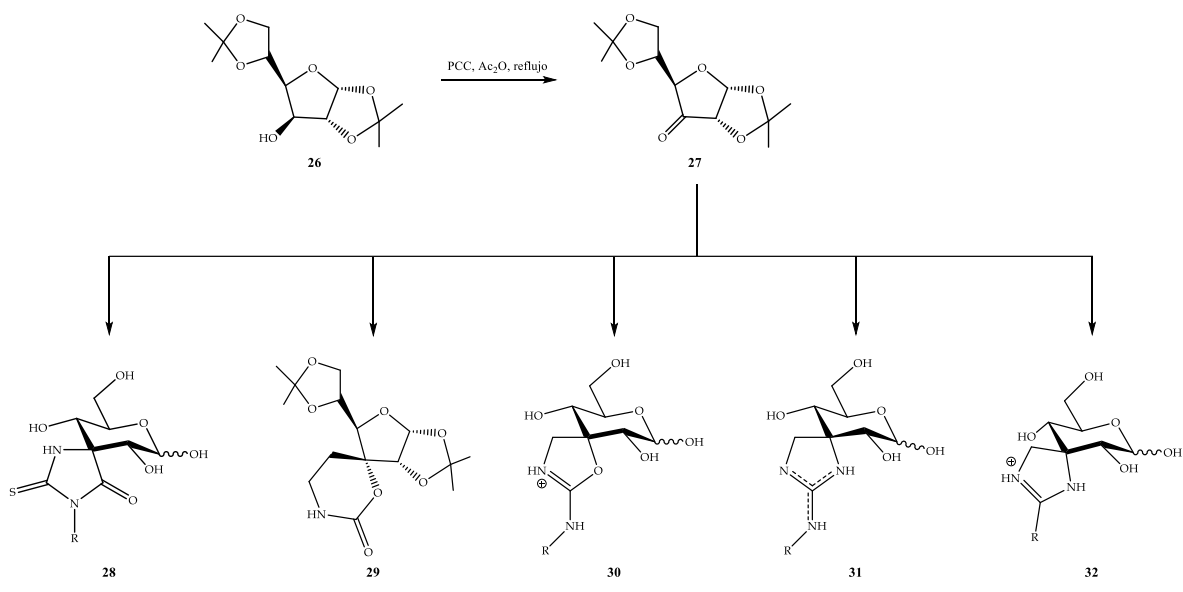
También se llevó a cabo la síntesis de otras cuatro familias de heterociclos espiránicos en C-3: espirocarbamatos **29**, espiroisoureas **30**, espiroguanidinas **31** y espiroamidinas **32** (**esquema 4**).^{30,31} Las correspondientes espiro-piranosas reductoras, se evaluaron como inhibidores de glicosidasas, resultando inhibidores de débiles a buenos de la α -glucosidasa y α - y β -galactosidasas, siendo, en general, las guanidinas espiránicas los compuestos más activos.

²⁸ Puranik, N. V.; Puntambekar, H. M.; Srivastava, P. *Med Chem Res*, **2016**, 25, 805–816.

²⁹ Gasch, C.; Merino-Montiel, P.; López, Ó.; Fernández-Bolaños, J. G.; Fuentes, J. *Tetrahedron* **2010**, 66, 9964-9973.

³⁰ Gasch, C.; Illangua, J. M.; Merino-Montiel, P.; Fuentes, J. *Tetrahedron* **2009**, 65, 4149-4155.

³¹ Merino-Montiel, P.; López, Ó.; Fernández-Bolaños, J. G. *RSC Advances* **2012**, 2, 11326-11335.



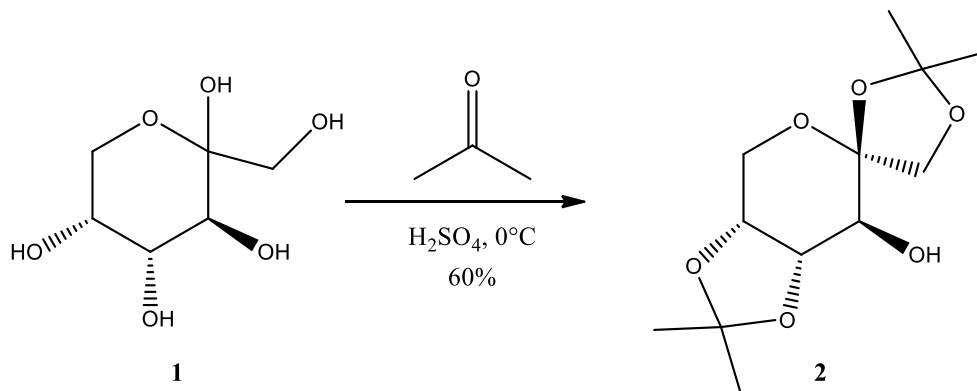
Esquema 4. Compuestos espiránicos en C-3

OBJETIVOS

- ❖ Realizar una protección regioselectiva sobre D-fructosa.
- ❖ Oxidar y funcionalizar el alcohol C-3.
- ❖ Ensayar diversas metodologías para la obtención de espirobenzoderivados nitrogenados a partir de D-fructosa.
- ❖ Llevar a cabo la remoción de los grupos protectores.
- ❖ Caracterizar los productos obtenidos mediante técnicas espectroscópicas.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A partir de D-fructosa comercial (**1**) se llevó a cabo la protección selectiva de los hidroxilos 1, 2, 4 y 5 mediante la formación de acetales siguiendo la metodología descrita por Brady *et al.*³² La D-fructosa se suspende en acetona, se adiciona lentamente el catalizador ácido y se mantiene en agitación durante 2 horas. Tras la cristalización del compuesto se obtiene **2** con un 60% de rendimiento (**esquema 5**).



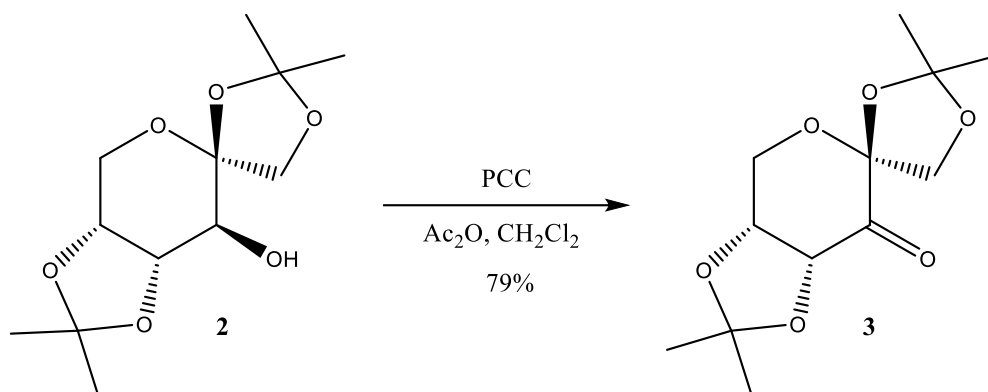
Esquema 5. Protección regioselectiva de D-fructosa

Los espectros RMN ¹H y ¹³C coinciden con los reportados en la bibliografía, se midió un R_f = 0.24 (Hexano/AcOEt 7:3), que también coincide con el descrito en trabajos anteriores. Con esa información se procedió a la siguiente etapa.

La oxidación del alcohol sobre C-3 del producto **2** para generar la cetona **3**, se llevó a cabo usando PCC (clorocromato de piridinio) como agente oxidante y como catalizador anhídrido acético (**esquema 6**). La purificación se realizó mediante cromatografía en columna usando un sistema de disolventes Hexano/AcOEt 7:3, después de la purificación se realizó espectroscopia RMN ¹H y ¹³C y los resultados se compararon con los descritos en la bibliografía, observándose coincidencias que confirmaron la obtención del producto **3**.³³

³² Brady, R. F. Jr. *Carbohydr. Res.* **1970**, *15*, 35-40.

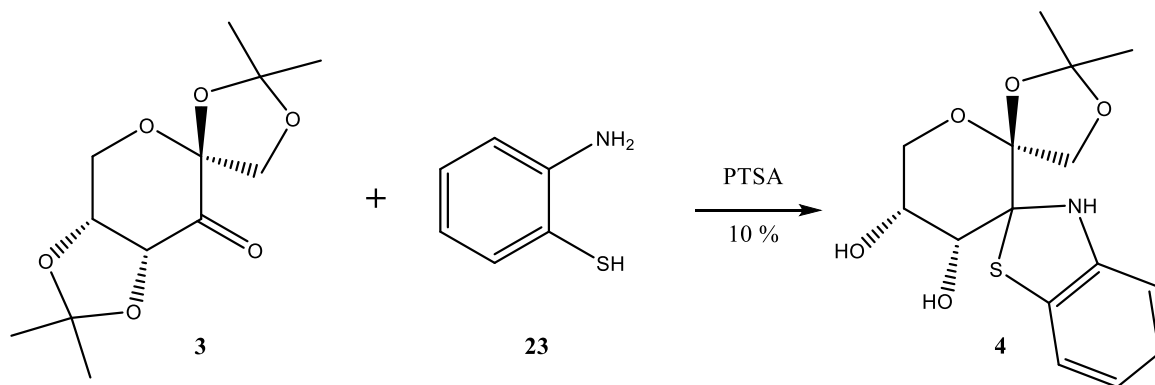
³³ Saito, Y.; Zevaco, T. A.; Agrofoglio, L. A. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 9593-9603.



Esquema 6. Oxidación del alcohol **2**

Una vez obtenido el intermediario clave para la ruta sintética, se ensayaron las condiciones para la obtención de 3 diferentes benzoderivados.

En primer lugar se realizó el ensayo entre la ulosa **3** y el *orto*-aminotiofenol (2-ATF) **23** (**esquema 7**). En la bibliografía se encuentra descrito el uso del ácido *p*-toluensulfónico (PTSA) como un catalizador efectivo en este tipo de acoplamiento,³⁴ por lo que se decidió emplearlo en este ensayo.



Esquema 7. Obtención del benzotiazol **4**

El uso de disolventes no polares como el tolueno no fueron favorables para la obtención del producto deseado, el cambio a un disolvente polar aprótico (DMF) favoreció en una pequeña proporción la formación del producto, sin embargo no se consumió completamente la materia prima y no fue posible el aislamiento debido a la degradación del producto. Al emplear metanol como disolvente, la materia prima reaccionó por

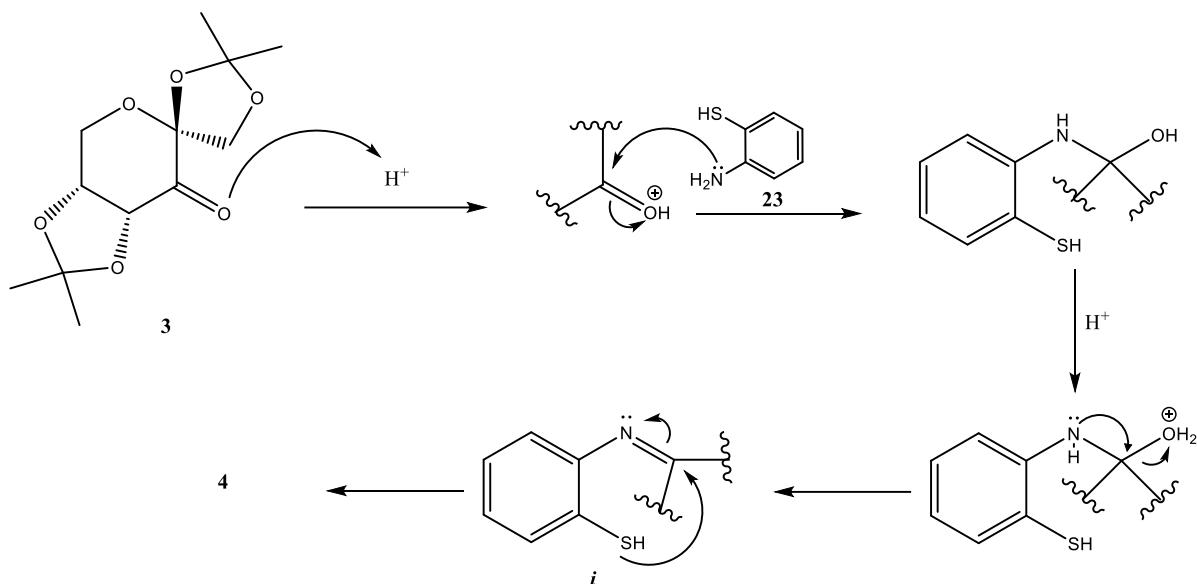
³⁴ Srivastava, A.; Shukla, G.; Singh, M. *S. Tetrahedron*, **2017**, *73*, 879-887.

completo, obteniéndose una mezcla de dos productos con R_f cercanos al producto mayoritario resulto ser el benzotiazol **4**, mientras que el subproducto no pudo ser caracterizado debido a su inestabilidad. Para el aislamiento de **4** mediante cromatografía en columna, fue necesario llevar a cabo una neutralización de la gel de sílice con Et_3N , para evitar la degradación del producto, no obstante únicamente se pudo aislar de forma pura **4** con un 10% de rendimiento; adicionalmente se obtuvo una fracción similar en peso conteniendo la mezcla de **4** con el subproducto no identificado (**tabla 1**).

Tabla 1. Condiciones de reacción para la obtención de **4**

Cetona	2-ATF	PTSA	Disolvente	Relación 3/4 (%)
1 equivalente	1.5 equivalentes	0.1 equivalentes	Tolueno	100/0
1 equivalente	1.5 equivalentes	0.1 equivalentes	DMF	10/0
1 equivalente	1.5 equivalentes	0.1 equivalentes	MeOH	0/10%

El mecanismo de reacción para la formación de **4** se describe en el esquema 8, en primer lugar se lleva a cabo la protonación del grupo carbonilo y la subsecuente formación de la imina *i*. Esta imina sufre una ciclación espontánea por ataque del átomo de azufre sobre el carbono de imina para generar **4** (**esquema 8**). El medio ácido presente en la reacción condujo a la remoción del grupo isopropilideno 4:5.



Esquema 8. Mecanismo para la formación del benzotiazol 4

Caracterización del benzotiazol 4

En el espectro de H^1 -RMN del compuesto 4 (**figura 8**) se observa un único juego de señales, que confirma la obtención diastereoselectiva del benzotiazol 4.

En la **figura 8** se observan las señales correspondientes al sistema aromático fusionado entre 6.9 y 6.3 ppm, se destaca el desplazamiento de la señal de H-7 con respecto a la señal de H-4 debido a la mayor electronegatividad del átomo de azufre. También se pueden observar las señales correspondientes a H-5'' a y b, como dos señales dobles alrededor de 4.37 ppm y 3.93 ppm con una constante de acoplamiento de 9.5 Hz. La única señal observada alrededor de 1 ppm, que integra para 6H, indica la eliminación de uno de los grupos isopropilideno, sin embargo la constante de acoplamiento geminal observada para H5'' a y b está en congruencia para protones en un anillo dioxolano. Además se observan los protones H-4' y H-5' en 3.73 ppm y 3.96 ppm, respectivamente coincidiendo con los valores reportados en la bibliografía para protones vecinos a OH.

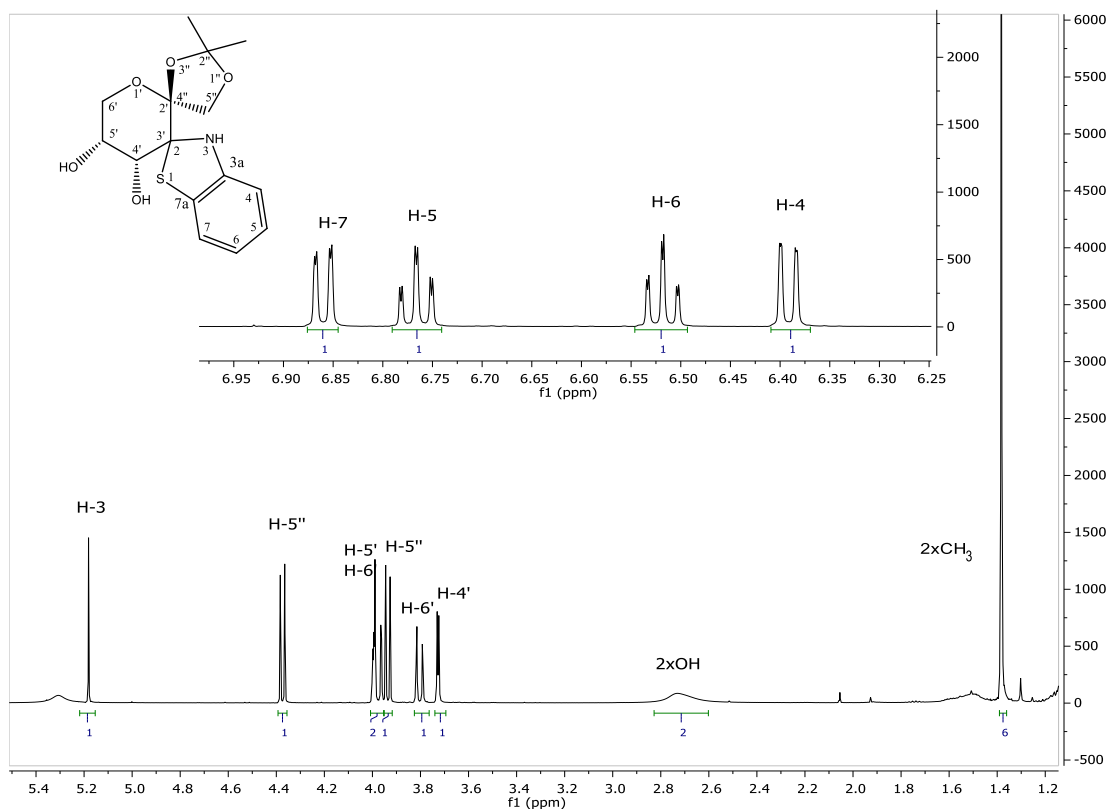


Figura 8. Espectro RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) del producto **4**.

En el espectro de ^{13}C -RMN del compuesto **4** (**figura 9**) se observan de forma relevante, la ausencia de señales en la zona de 200 ppm, correspondiente al carbonilo de cetona y la presencia de la señal en 108.2 ppm correspondiente al carbono espiro C-2, que confirman la reacción de ciclación. La remoción de uno de los grupos isopropilideno se corrobora al apreciar una única señal en 113.4 ppm correspondiente al carbono cuaternario C-2'', así como dos señales en 26.6 y 26.2 ppm correspondiente a dos grupos metilo. Entre la zona de las señales aromáticas, se destaca la señal en 147.1 ppm, correspondiente al C-3a, que se desplaza a frecuencias más altas debido al efecto de resonancia ejercido por el átomo de nitrógeno vecino.

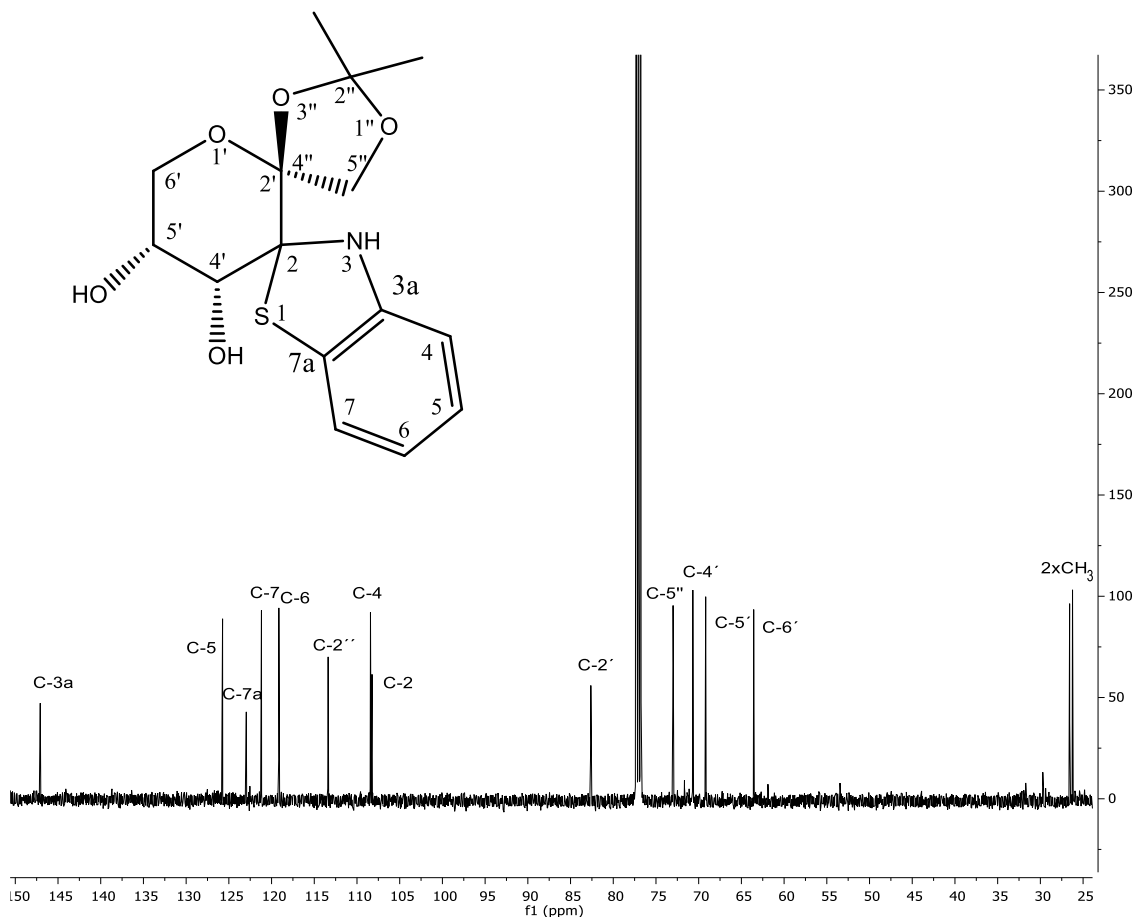


Figura 9. Espectro RMN de ^{13}C (125.7 MHz, CDCl_3) del producto **23**.

Los espectros de dos dimensiones homo y heteronucleares auxiliaron para la completa asignación de las señales. Por ejemplo el espectro HSQC (**figura 10**) permite distinguir los carbonos CH_2 de los CH presentes en la unidad de sacarídica, siendo evidente que las señales en 4.37 ppm y 3.93 ppm pertenecen al mismo carbono, así como las señales 3.96 ppm y 3.80 ppm.

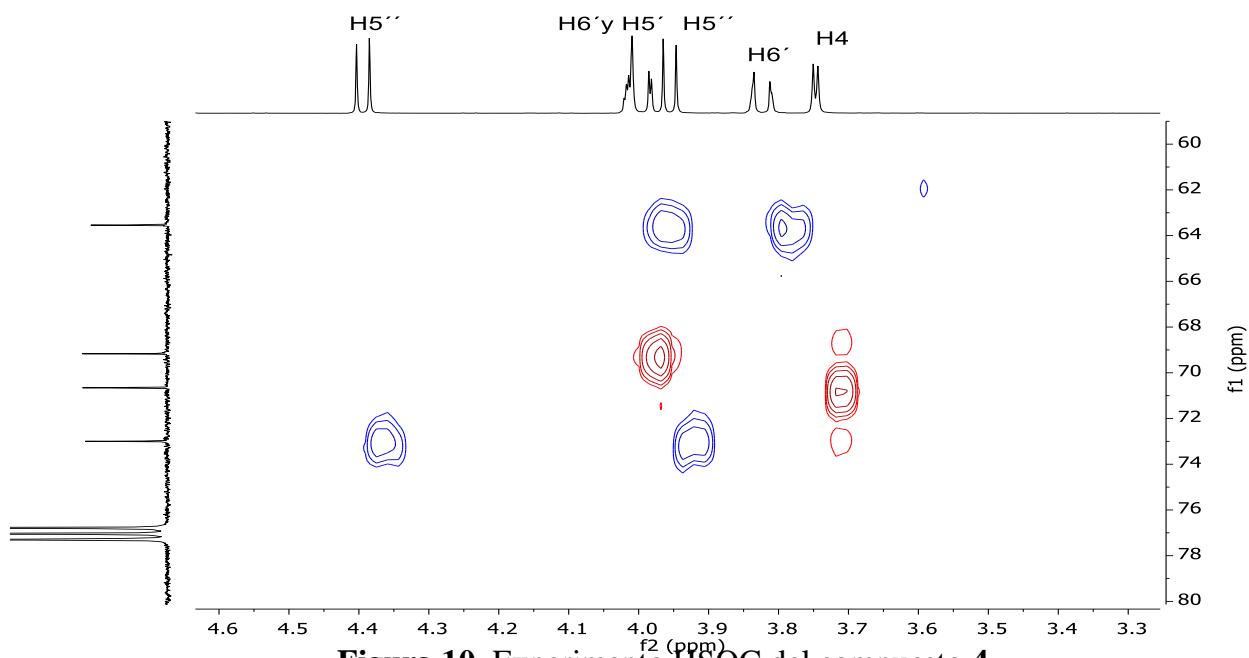


Figura 10. Experimento HSQC del compuesto **4**.

Por otra parte, el experimento COSY permite seguir el sistema de acoplamiento spin-spin de los hidrógenos H-4', H-5' y H-6' a y b, así como los protones H-5'' a y b, tal como se observa en la **figura 11**.

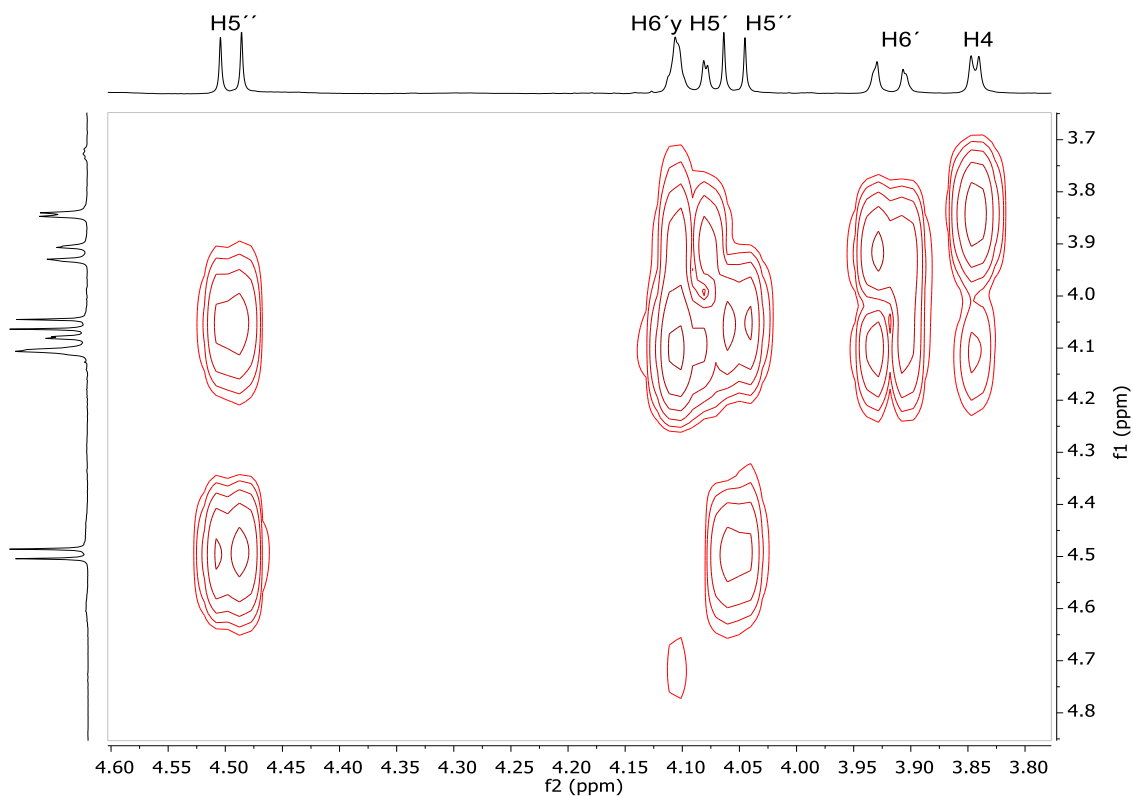


Figura 11. Experimento COSY del compuesto **4**

La multiplicidad de los protones H-6' que aparecen como señales dobles, donde únicamente se observa un acoplamiento geminal ($J_{\text{gem}} = 11.5 \text{ Hz}$) y se distingue un acoplamiento muy pequeño ($J = 1.91 \text{ Hz}$) en 3.99ppm que sugiere que el H-5' se encuentra en disposición ecuatorial, por lo que el compuesto **4** se encuentra en una conformación de silla 1C_4 (**figura 12**). Desafortunadamente, los intentos de cristalización del compuesto **4** no dieron buenos resultados.

Para establecer la configuración del nuevo centro quiral, se realizaron los experimentos de RMN de acoplamiento espacial NOESY y ROESY, sin embargo no se observaron correlaciones que permitieran establecer la isomería. No obstante, en la **figura 12** se observa que la cara α de la *fructo*-piranosa está menos impedida que la cara β , por lo que el átomo de azufre podría preferente mente atacar por esta cara al intermediario *i* (**esquema 8**), dejando al átomo de azufre en posición ecuatorial; de tal forma que en la conformación de tipo silla 1C_4 los sustituyentes más voluminosos se encontrarían en posición ecuatorial.

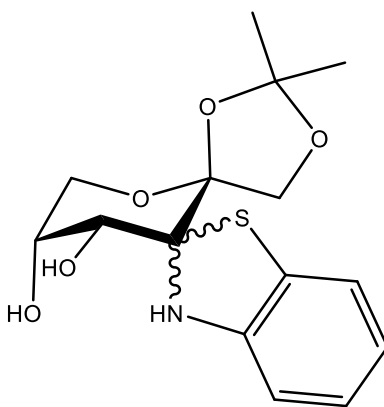
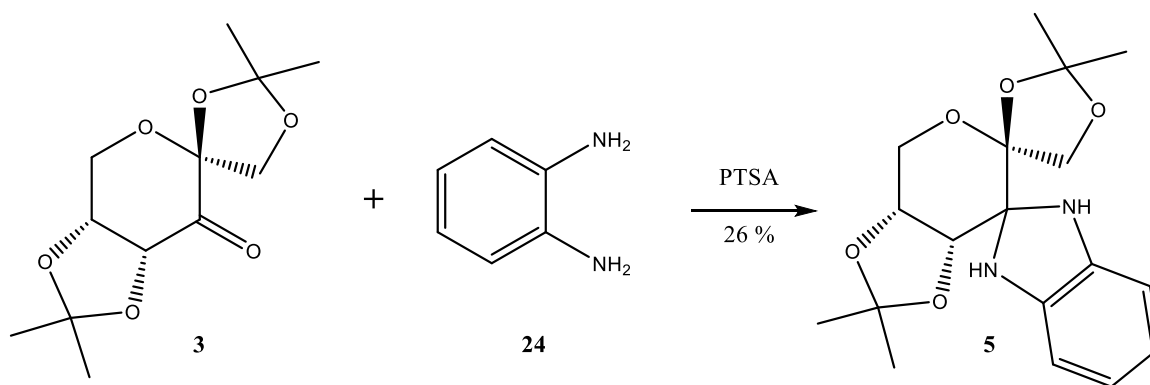


Figura 12. Proyección de la silla 1C_4 del compuesto **4**.

Obtención del benzoimidazol (5)

Empleando la misma estrategia sintética se llevó a cabo el acoplamiento de la cetona **3** con fenilendiamina, generando el benzoimidazol **5** con un rendimiento del 26% (esquema 9). Se propone que la reacción transcurra a través de un análogo al intermediario tipo imina *i* (esquema 8) con el subsecuente ataque del segundo átomo de nitrógeno presente en la fenilendiamina.



Esquema 8. Obtención del benzoimidazol **5**.

Caracterización del benzoimidazol **5**

En el espectro de $^1\text{H-RMN}$ del producto **5** (figura 13), se observan los las señales correspondientes a los cuatro grupos CH_3 de los dos acetales, por lo que se descarta la desprotección parcial en el medio de reacción. Además entre 6.65 y 6.40 ppm se observan las señales correspondientes al anillo aromático. El cambio del átomo de azufre por nitrógeno, se ve reflejado en un menor desplazamiento químico para la señal correspondiente a H-7 en alrededor de 0.5 ppm. También se observan las señales correspondientes a los H-5'' a y b en 3.99 y 4.40 ppm, respectivamente con una constante de acoplamiento J_{gem} de 9.5 Hz. Además se pueden distinguir la señal doble de H-4' en 4.12 ppm y la señal de H-4' que se encuentra traslapada con H-7'a en 4.20 ppm, así como la señal en 4.34 correspondiente al H-3'a y a uno de los NH.

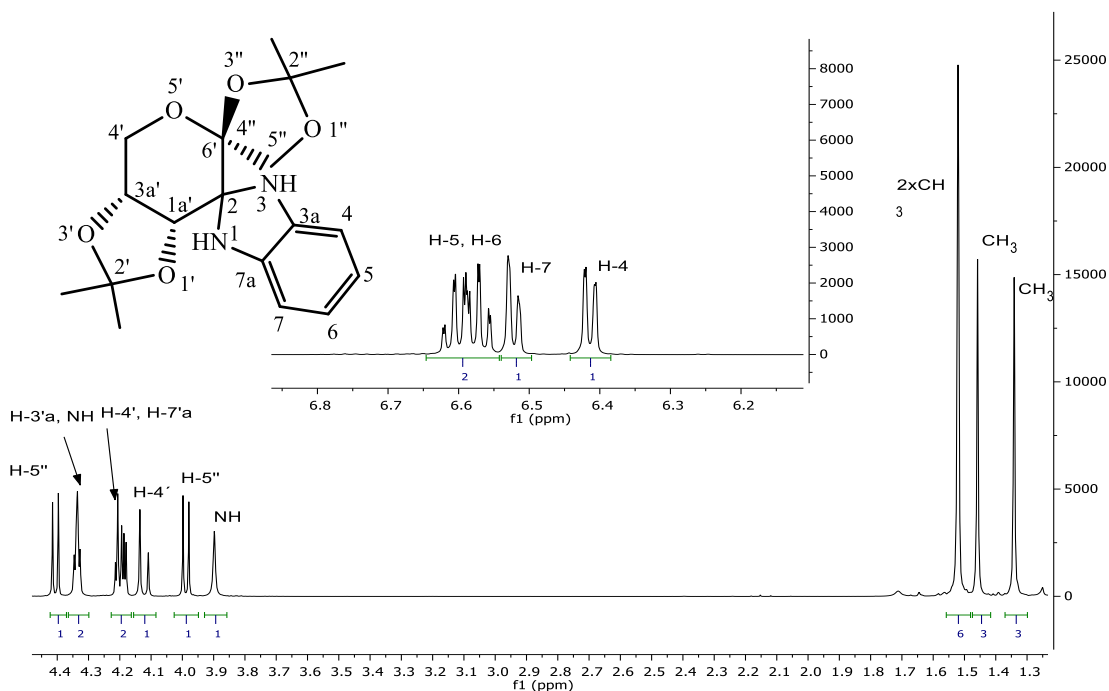


Figura 13. Espectro de RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) del compuesto **5**.

En el espectro de ^{13}C -RMN (**figura 14**) se observan las 4 señales correspondientes a los grupo metilo de los isopropilidenos en 25.4, 26.0, 26.3 y 26.4 ppm así como las dos señales de los carbonos cuaternarios C-2' y C-2'' en 139.1 y 139.5 ppm que confirman que no se llevó a cabo la desprotección parcial del compuesto. También se observa que el intercambio del átomo de azufre por un átomo de nitrógeno repercute en las menores frecuencias de resonancia de los carbonos C-7', C-7 y C-7a (107.1, 109.4 y 112.7 ppm, respectivamente) (**tabla 2**).

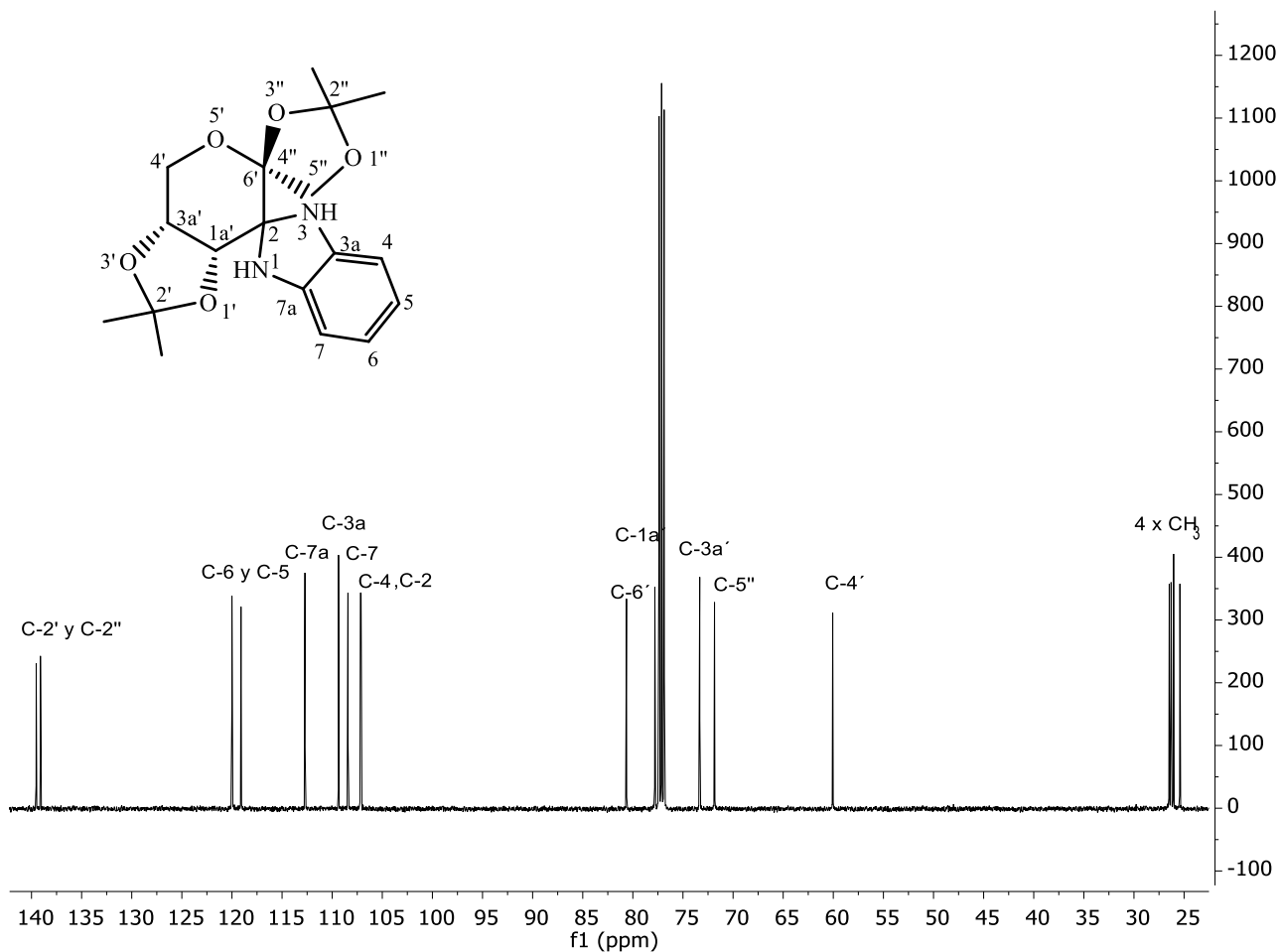


Figura 14. Espectro RMN de ^{13}C (125.7 MHz, CDCl_3) del compuesto **5**.

Debido a que el patrón de acoplamiento del $\text{H-4}'$ es similar a la del compuesto **4**, también se presume que el benzoimidazol **5** se encuentra en una silla $^1\text{C}_4$ con los sustituyentes más voluminosos en posición ecuatorial (**figura 15**).

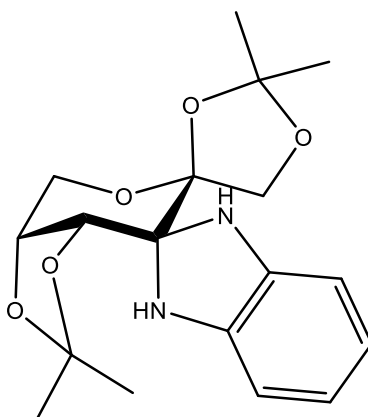
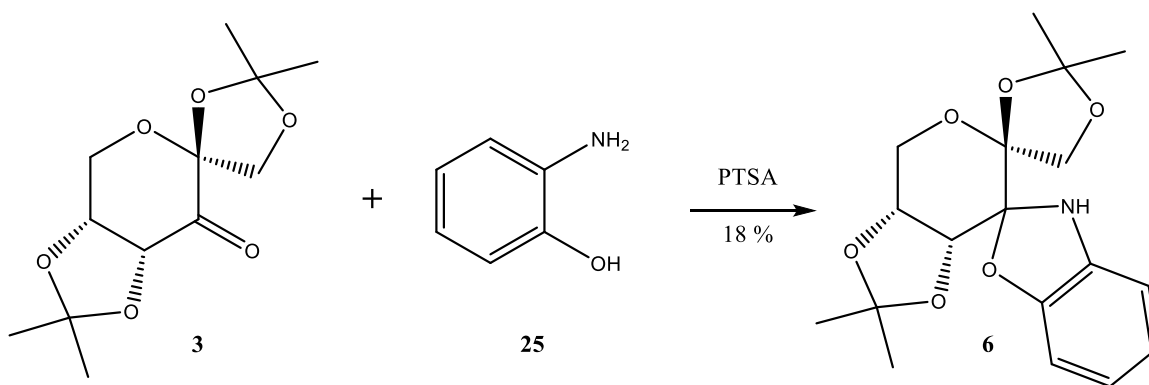


Figura 15. Proyección de la silla ${}^1\text{C}_4$ del compuesto **5**.

Obtención del benzoxazol (**6**)

El acoplamiento de la cetona **3** con *orto*-aminofenol, bajo las condiciones de reacción ya establecidas, condujo a la obtención de una mezcla del benzoxazol **6** y un subproducto que no pudo ser identificado (**esquema 9**). Tras la purificación mediante cromatografía en columna se obtuvo **6** con un rendimiento del 18 %.



Esquema 9. Obtención del benzoxazol **6**

Caracterización del benzoxazol **6**

La espectroscopia del compuesto **6** es muy similar a la observada para el compuesto **5**, no obstante se observa un aumento general en la frecuencia de las señales. En el espectro de ${}^1\text{H}$ -RMN del producto **6** (**figura 16**), por ejemplo se identifican las señales

correspondientes a los cuatro metilos de los grupos protectores en 1.36, 1.43 y 1.53 ppm, respectivamente; entre 6.76 y 6.62 ppm se localizan las señales correspondientes al anillo aromático, en 4.24 y 4.02 se observan las dos señales dobles de los protones diasterotópicos H-5'' con una constante de acoplamiento J_{gem} de 9.5 Hz y la señal simple correspondiente al NH resuena en 4.40 ppm.

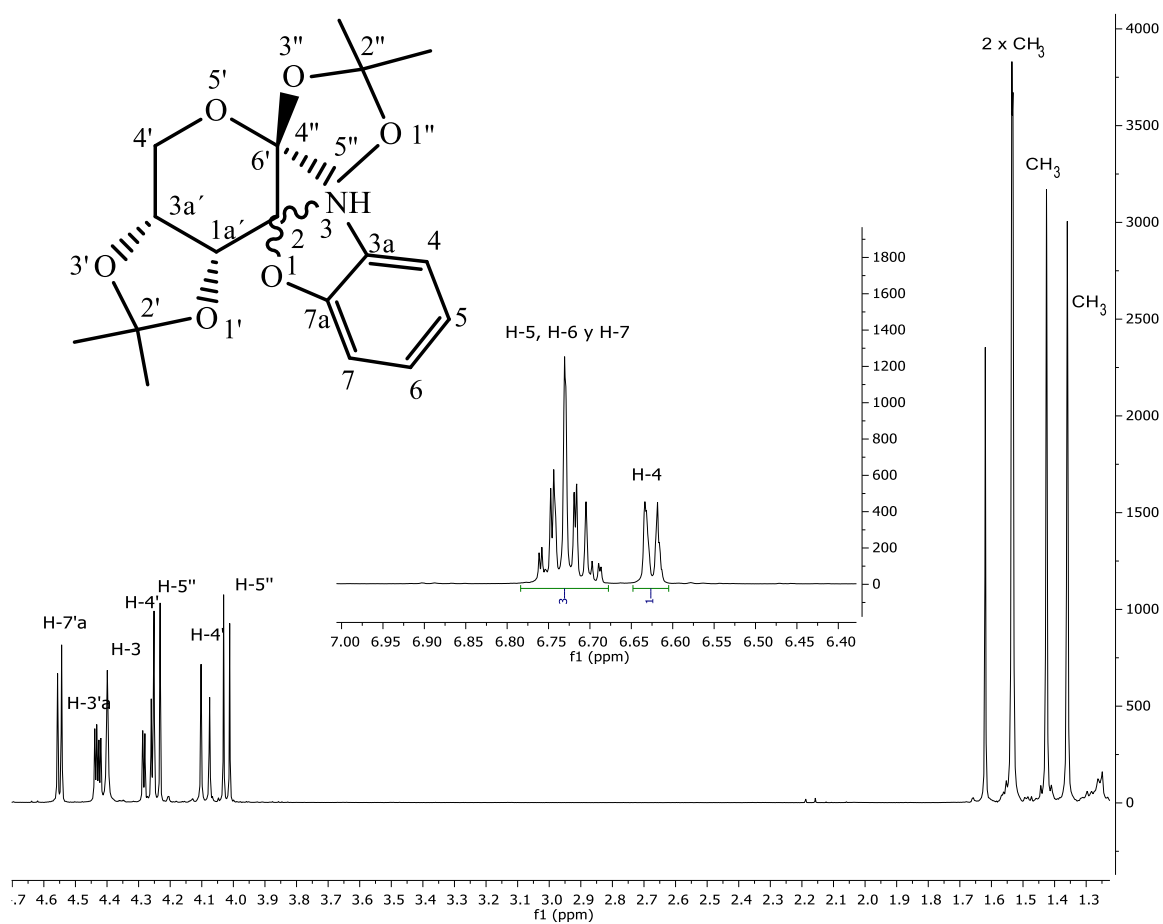


Figura 16. Espectro de RMN ^1H (500MHz, CDCl_3) del compuesto **6**.

Por su parte en el espectro de ^{13}C -RMN (**figura 17**) se observan las 18 señales correspondientes a los carbonos del benzoxazol **6**. El desplazamiento de la señal del carbono espiránico C-2 (109.6 ppm), concuerda con el valor esperado para un carbono espiránico.

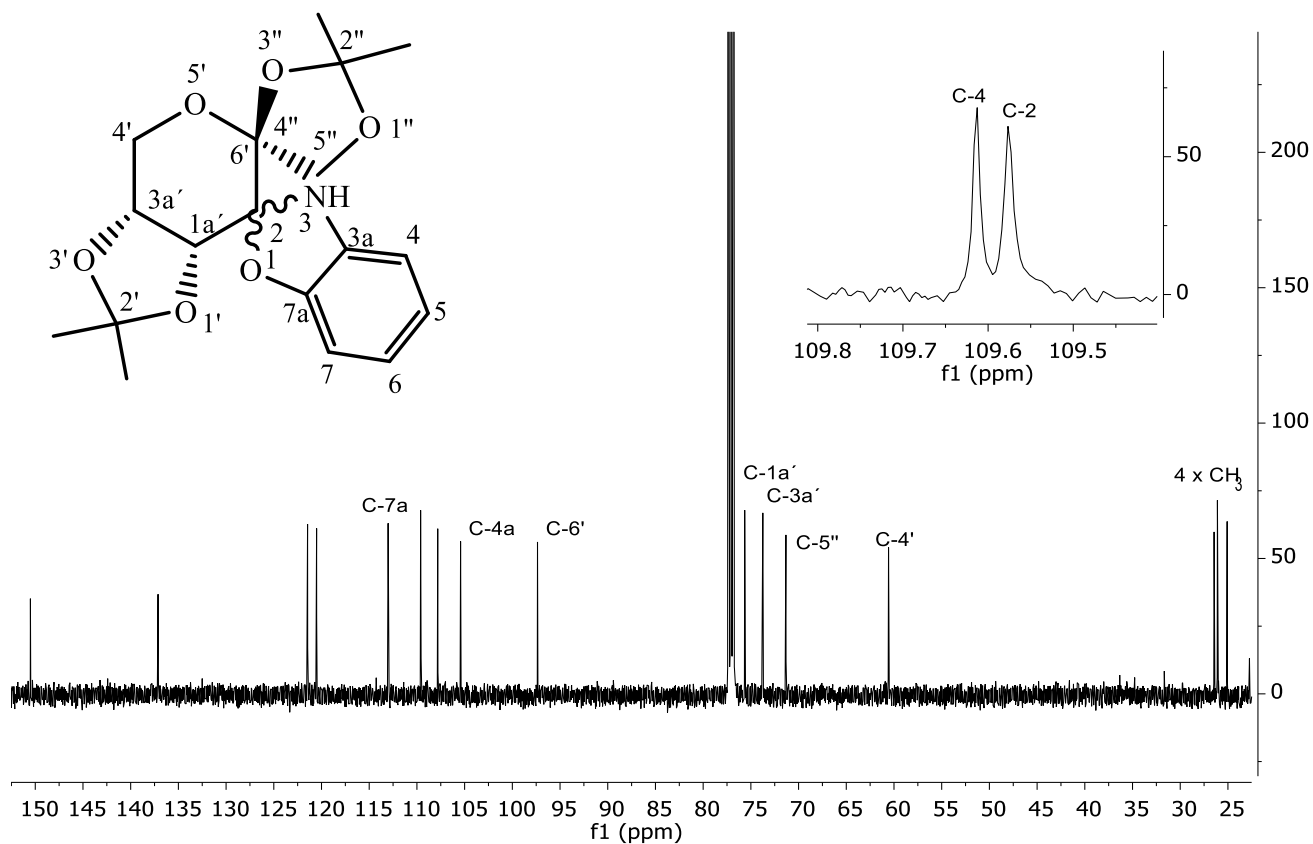


Figura 17. Espectro RMN de ^{13}C (125.7 MHz, CDCl_3) del compuesto **6**.

Uno de los protones diastereotópicos H-4' se acopla geminalmente con un valor de $J_{\text{gem}} = 13.5$ Hz y con el H-3'a con un valor de $J_{3'a-4'} = 3.5$ Hz, mientras que el otro H-4' únicamente se observa el acoplamiento geminal. La ausencia de valores de constantes de acoplamiento diaxiales sugiere que la conformación del compuesto **6** es de tipo silla ${}^1\text{C}_4$ (**figura 18**). No obstante se realizaron experimentos de acoplamiento espacial, no fue posible determinar la isomería del centro quiral C-2.

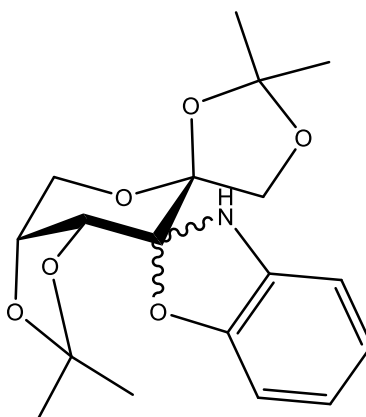


Figura 18. Proyección de la silla $^1\text{C}_4$ del compuesto **6**.

En la tabla 2, se puede observar que al intercambiar uno de los heteroátomos presentes en el heterociclo fusionado, el desplazamiento químico de los carbonos vecinos se ve afectado, no obstante los valores para el carbono espiro C-2 se mantienen cercanos.

Tabla 2. Desplazamientos químicos seleccionados de los compuestos **4**, **5** y **6** (ppm)

compuesto	C-2	C-3a	C-7a
4	108.2	147.1	123.0
5	107.1	109.4	112.7
6	109.6	105.4	113.0

Se llevaron a cabo ensayos para llevar a cabo la remoción de los acetales. Los compuestos **4**, **5** y **6** trataron con una mezcla de TFA-agua (9:1), obteniéndose una mezcla de productos de degradación. Alternativamente, se intentó realizar la reacción de desprotección empleando resina Amberlite® IRN150, como fuente de protones, sin embargo se obtuvieron resultados similares.

Los espirobenzoderivados se ensayarán como inhibidores enzimáticos frente a una serie de glicosidasas y la glucógenofosforilasa.

CONCLUSIONES

- ❖ Se desarrolló una técnica para proteger regio y estereoselectivamente los hidroxilos 1,2 y 4,5 de la D-fructosa.
- ❖ Se sintetizaron tres diferentes heterociclos a partir de una ulosa sacarídica.
- ❖ Los compuestos obtenidos son inestables en condiciones de fuerte acidez por lo que no fue posible la remoción de los grupos protectores.
- ❖ Se logró la caracterización de los espirobenzoderivados de forma exitosa por RMN de ^1H y ^{13}C utilizando los experimentos COSY y HSQC. No obstante no fue posible establecer la configuración del nuevo centro quiral.

PARTE EXPERIMENTAL

MÉTODOS GENERALES

Los disolventes anhidros THF, CH₂Cl₂ y MeOH se adquirieron directamente a la casa comercial indicada en el apartado de productos comerciales.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Melt-Temp, con escala en grados Celsius, utilizando la técnica de capilar abierto y no están corregidos.

La cromatografía analítica en capa fina (c.c.f) se realizó empleando placas comerciales de gel de sílice grado 60 con espesor de capa de 0.25 mm que contiene indicador de fluorescencias (F254). Como fase móvil se emplearon sistemas de elución acetato de etilo-hexano. Para su revelado se empleó luz ultravioleta de onda corta (254 nm, lámpara de UV-G-54) o por calcinación de las placas previamente empapadas con ácido sulfúrico al 5%, ninhidrina en EtOH al 0.1% o revelador de vainillina (2 g de vainillina y 1 mL de H₂SO₄ en 100 mL de EtOH).

Para la cromatografía en columna se utilizó gel de sílice 60 (230-400 mallas) de acuerdo a la técnica de cromatografía en columna tipo flash, utilizando un sistema de eluyentes hexano/ acetato de etilo.

Los espectros de ¹H-RMN y ¹³C-RMN se han realizado en un espectrómetro BRUCKER (multinuclear de 500 MHz). Se ha empleado como disolvente CDCl₃. Los valores de desplazamiento químico (δ) se dan en ppm y los valores de las constantes de acoplamiento (*J*) se dan en Hertz (Hz). Los espectros se han calibrado usando las señales del disolvente como referencias internas. La multiplicidad de las señales de los diferentes espectros de ¹H están asignadas de la siguiente manera s (señal simple), d (señal doble), dd (doble de dobles), m (señal múltiple).

La asignación de las señales de ¹H-RMN se ha realizado mediante experimentos de COSY (*Correlated Spectroscopy*).

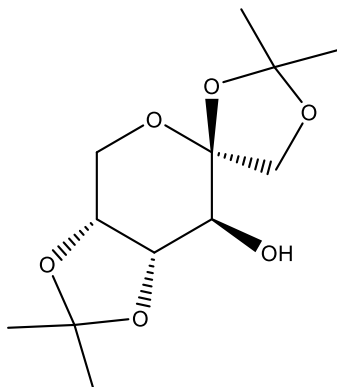
La asignación de las señales de ^{13}C se ha realizado mediante técnicas de correlación heteronuclear 2D ^1H - ^{13}C : HSQC (*^1H detection mode Heteronuclear Single-Quantum Correlation*).

REACTIVOS COMERCIALES

- ❖ *o*-Fenilendiamina (Aldrich)
- ❖ 2-Aminotiofenol (Aldrich)
- ❖ 2-Aminofenol (Aldrich)
- ❖ Acetona (Aldrich)
- ❖ CH₂Cl₂ Anhidro (Aldrich)
- ❖ D-Fructosa (Aldrich)
- ❖ Éter etílico (Aldrich)
- ❖ PCC (Aldrich)
- ❖ TFA (Aldrich)
- ❖ THF anhidro (Aldrich)
- ❖ Trietilamina (Aldrich)

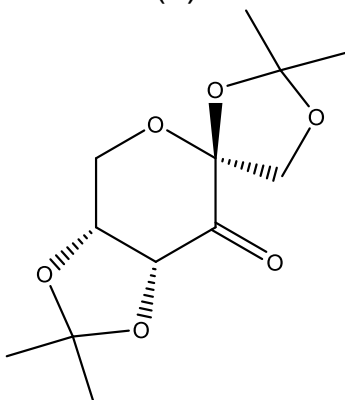
MATERIAS PRIMAS

Preparación de 1,2:4,5 -di-O-isopropilideno-β-D-fructopiranososa (2)



Se prepara según el método descrito por Brady.³⁵ A una suspensión de D-fructosa (2 g, 11.10 mmol) en 40 mL acetona enfriada a 0 °C, se añade gota a gota H₂SO₄ (0.15 mL). La mezcla se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Una vez pasado este tiempo la reacción se enfría a 0 °C y se añade trietilamina hasta alcanzar un pH básico. A continuación, la reacción se concentra a sequedad y el sólido formado se disuelve con AcOEt. Se lava con agua se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra a sequedad. El residuo se recrystaliza en éter etílico (1.75 g, 60 %).

Preparación de 1:2,4:5-di-O-isopropilideno-3-oxo -β-D-fructopiranososa (3)



Se prepara según el método descrito por Saito *et al* mencionado anteriormente. A una suspensión de 1,2:4,5-di-O-isopropilideno-β-D-fructopiranososa (300 mg, 1.15 mmol) en

³⁵ Brady, R. F. Jr. Carbohyd. Res. **1970**, *15*, 35-40.

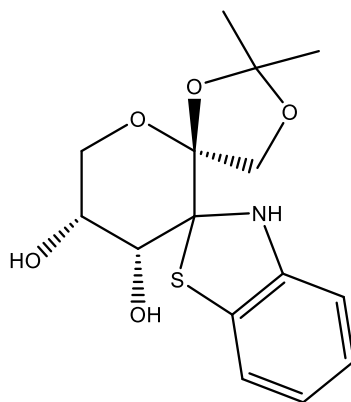
diclorometano comercial (4 mL), se añade anhídrido acético gota a gota (0.45 mL), posteriormente se agrega PCC (0.75 g, 3.47 mmol). La reacción se mantiene en agitación a temperatura ambiente por 24 horas. Una vez pasado este tiempo la mezcla resultante es filtrada sobre celita y se evapora a sequedad. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna (hexano/ AcOEt 7:3) (250 mg, 79%).

NUEVAS INVESTIGACIONES

Método general para la síntesis de los benzoderivados 4, 5 y 6

A una disolución de la cetona **3** (100 mg, 0.38 mmol) en metanol (5 mL) se adicionan el compuesto *orto*-disustituido pertinente (0.58 mmol) y ácido p-toluensulfónico (PTSA) (6.54 mg, 0.03 mmol) disuelto en metanol (5 mL). La reacción se mantiene en agitación durante 24 h a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo se lleva a sequedad a presión reducida, el sólido se redisuelve en 3 mL de AcOEt y se purifica mediante cromatografía en columna usando gel de sílice neutralizada con Et₃N, usando un sistema de eluyentes hexano/AcOEt 7:3.

(2'*S*,4'*R*,5'*R*)-2'',2''-dimetil-5',6'-dihidro-3H,4'H-dispiro[benzo[d]thiazol-2,3'-piran-2',4''-[1,3]dioxolano]-4',5'-diol (**4**)



Compuesto *orto*-disustituido: 2-Aminotiofenol (62 μ L)

Rendimiento: 12 mg, 10%. rf: 0.27 (Hex/AcOEt, 7:3)

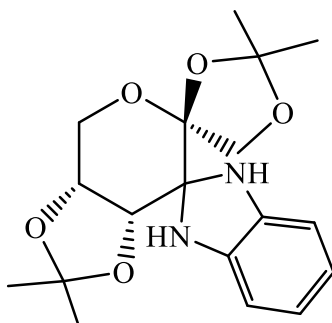
p.f: 139°C-142°C

¹H RMN (500 MHz, CDCl₃): δ 1.38 (s, 6H, 2 x CH₃), 2.89 (sa, 2H, 2 x OH), 3.73 (d, 1H, $J_{4',5'} = 3.0$ Hz, H-4'), 3.80 (d, 1H, $J_{gem} = 11.5$ Hz, H-6'), 3.93 (d, 1H, $J_{gem} = 9.5$ Hz, H-5''), 4.00-3.96 (m, 2H, H-6' y H-5'), 4.37 (d, 1H, H-5'''), 5.18 (s, 1H, NH), 6.39 (dd, 1H, $J_{4,5} =$

7.5 Hz, $J_{4,6} = 1.0$ Hz, H-4), 6.52 (td, 1H, $J_{6,5} = J_{6,7} = 7.5$ Hz, $J_{6,4} = 1.0$ Hz, H-6), 6.77 (td, 1H, $J_{5,7} = 1.0$ Hz, H-5), 6.86 (dd, 1H, H-7).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 26.2 (CH_3), 26.6 (CH_3), 63.6 (C-6'), 69.2 (C-5'), 70.7 (C-4'), 73.0 (C-5''), 82.6 (C-2'), 108.2 (C-2), 108.4 (C-4), 113.4 (C-2''), 119.1 (C-6), 121.2 (C-7), 123.0 (C-7a), 125.7 (C-5), 147.1 (C-3a).

(3a'*R*,6'*R*,7a'*S*)-2',2',2'',2''-tetrametil-1,3,3a',7a'-tetrahidro-4'H-diespiro[benzo[d]imidazol-2,7'-[1,3]dioxolo[4,5-c]piran-6',4''-[1,3]dioxolano] (5)



Compuesto *orto*-disustituido: *o*-Fenilendiamina (63 mg)

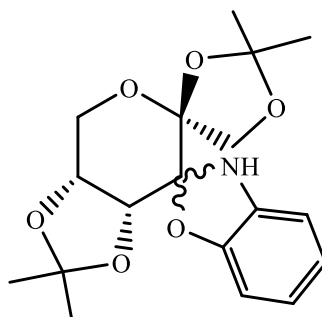
Rendimiento: 34 mg, 26%. rf: 0.57 (Hex/AcOEt, 7:3)

p.f: 114°C-117°C

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 1.34 (s, 3H, CH_3), 1.46 (s, 3H, CH_3), 1.52 (s, 6H, 2 x CH_3), 3.90 (s, 1H, NH), 3.99 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 9.5$ Hz, H-5''), 4.12 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.5$ Hz, H-4'), 4.21-4.18 (m, 2H, H-4' y H-7'a), 4.34 (m, 2H, H-3'a y NH), 4.40 (d, 1H, H-5''), 6.41 (dd, 1H, $J_{4,5} = 7.0$ Hz, $J_{4,6} = 1.5$ Hz, H-4), 6.50 (dd, 1H, $J_{7,6} = 7.0$ Hz, $J_{7,5} = 1.5$ Hz, H-7), 6.57 (td, 1H, $J = J = 7.5$ Hz, H-6 o H-5), 6.61 (td, 1H, $J = J = 7.5$ Hz, H-6 o H-5).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 25.4 (CH_3), 26.0 (CH_3), 26.3 (CH_3), 26.5 (CH_3), 60.1 ($\text{C-4}'$), 71.8 ($\text{C-5}''$), 73.3 ($\text{C-3}'\text{a}$), 77.8 ($\text{C-7}'\text{a}$), 80.6 ($\text{C-6}'$), 107.1 (C-2), 107.2 (C-4), 108.4 (C-7), 109.4 (C-3a), 112.7 (C-7a), 119.1 (C-5 o C-6), 120.0 (C-5 o C-6), 139.1 ($\text{C-2}'$ o $\text{C-2}''$), 139.5 ($\text{C-2}'$ o $\text{C-2}''$).

(3a'*R*,6'*S*,7a'*R*)-2',2',2'',2''-tetrametil-3a',7a'-dihidro-3H,4'H-diespiro[benzo[d]oxazol-2,7'-[1,3]dioxolo[4,5-c]piran-6',4''-[1,3]dioxolano] (6)



Compuesto *orto*-disustituido: *o*-Aminofenol (63 mg)

Rendimiento: 24 mg, 18%. rf: 0.57 (Hex/AcOEt, 7:3)

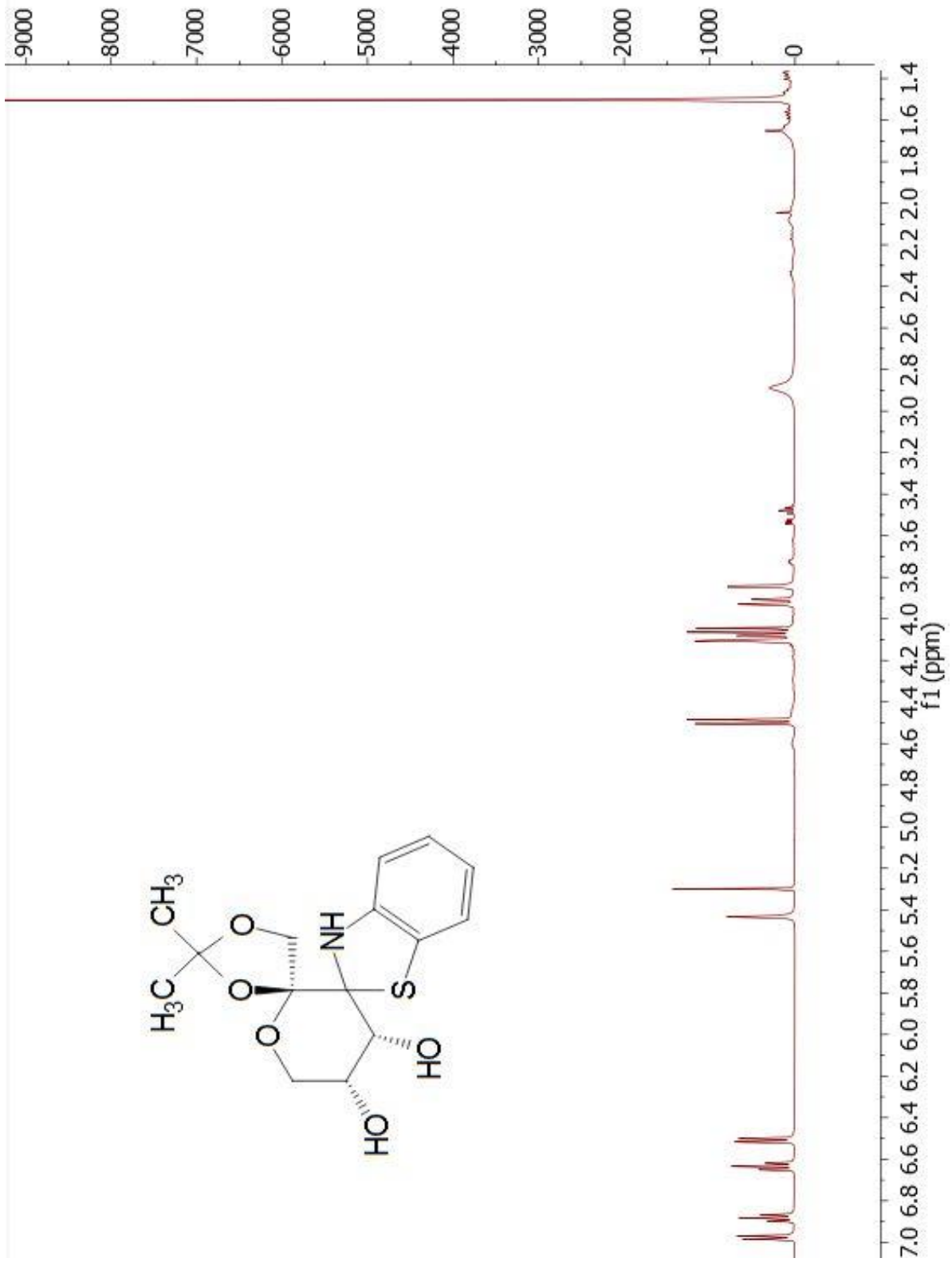
p.f: 124°C-126°C

^1H RMN (500 MHz, CDCl_3): δ 1.36 (s, 3H, CH_3), 1.43 (s, 3H, CH_3), 1.53 (s, 6H, 2 x CH_3), 4.02 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 9.5$ Hz, $\text{H-5}''$), 4.09 (d, 1H, $J_{\text{gem}} = 13.5$, $\text{H-4}'$), 4.24 (d, 1H, $\text{H-5}''$), 4.27 (dd, 1H, $J_{4',3'a} = 3.5$ Hz, $\text{H-4}'$), 4.40 (s, 1H, H-3), 4.43 (dd, 1H, $J_{3'a,7'a} = 6.5$ Hz, $\text{H-3}'\text{a}$), 4.55 (d, H-1 , $\text{H-7}'\text{a}$), 6.63-6.62 (m, 1H, H-4), 6.76-6.69 (m, 3H, H-5 , H-6 , H-7).

^{13}C RMN (125.7 MHz, CDCl_3): δ 25.1 (CH_3), 26.1 (x2) (2CH_3), 26.4 (CH_3), 60.6 ($\text{C-4}'$), 71.3 ($\text{C-5}''$), 73.7 ($\text{C-3}'\text{a}$), 75.6 ($\text{C-7}'\text{a}$), 97.4 ($\text{C-6}'$), 105.4 (C-3a), 107.8 (C-5 o C-6 o C-7),

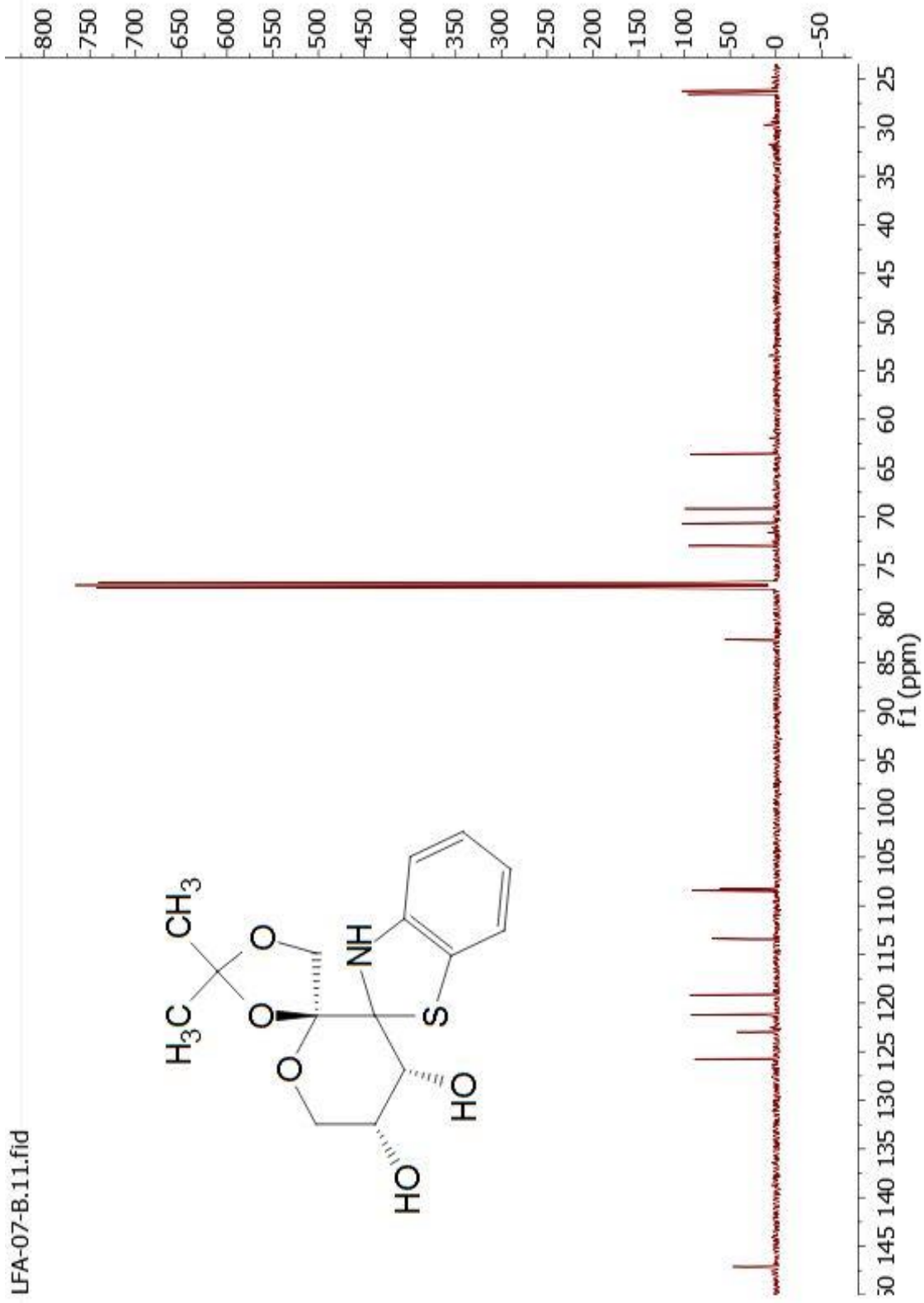
109.6 (x2) (C-2 y C-4), 113.0 (C-7a), 120.5 (C-5 o C-6 o C-7), 121.5 (C-5 o C-6 o C-7),
137.1 (C-2' o C-2''), 150.5 (C-2' o C-2'').

ESPECTROS REPRESENTATIVOS

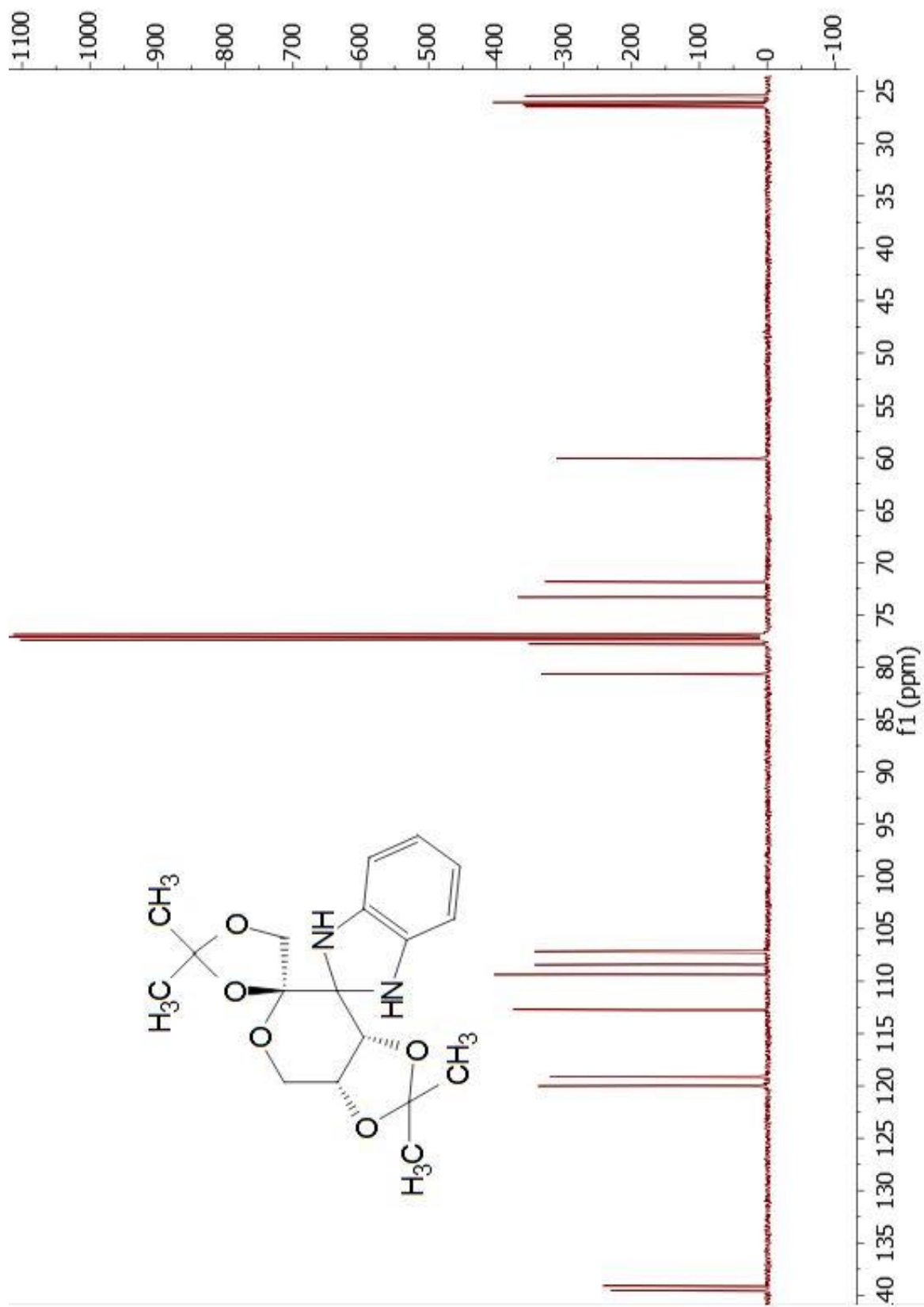


Espectro RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) del producto 4

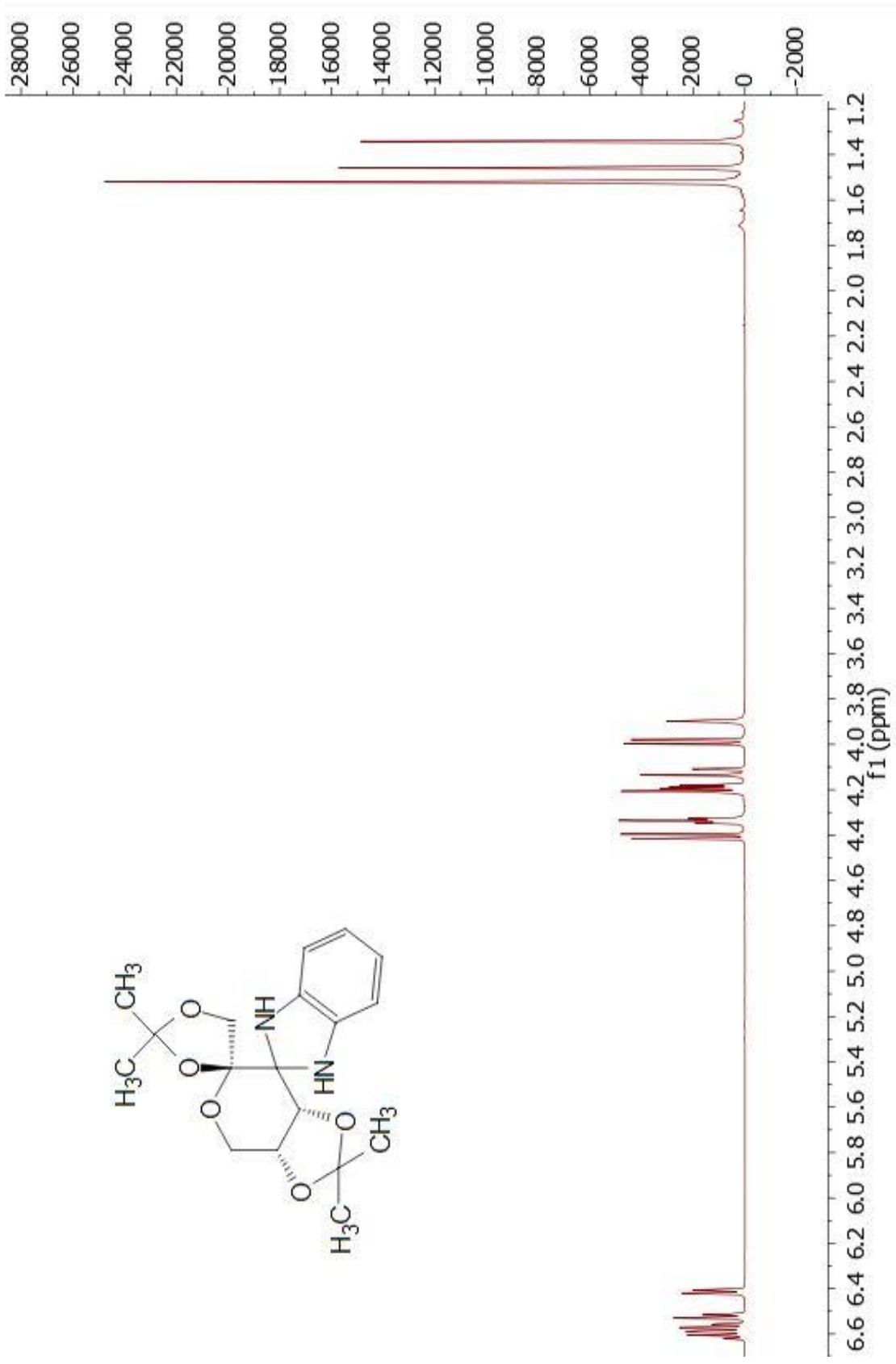
LFA-07-B.1.1.fid



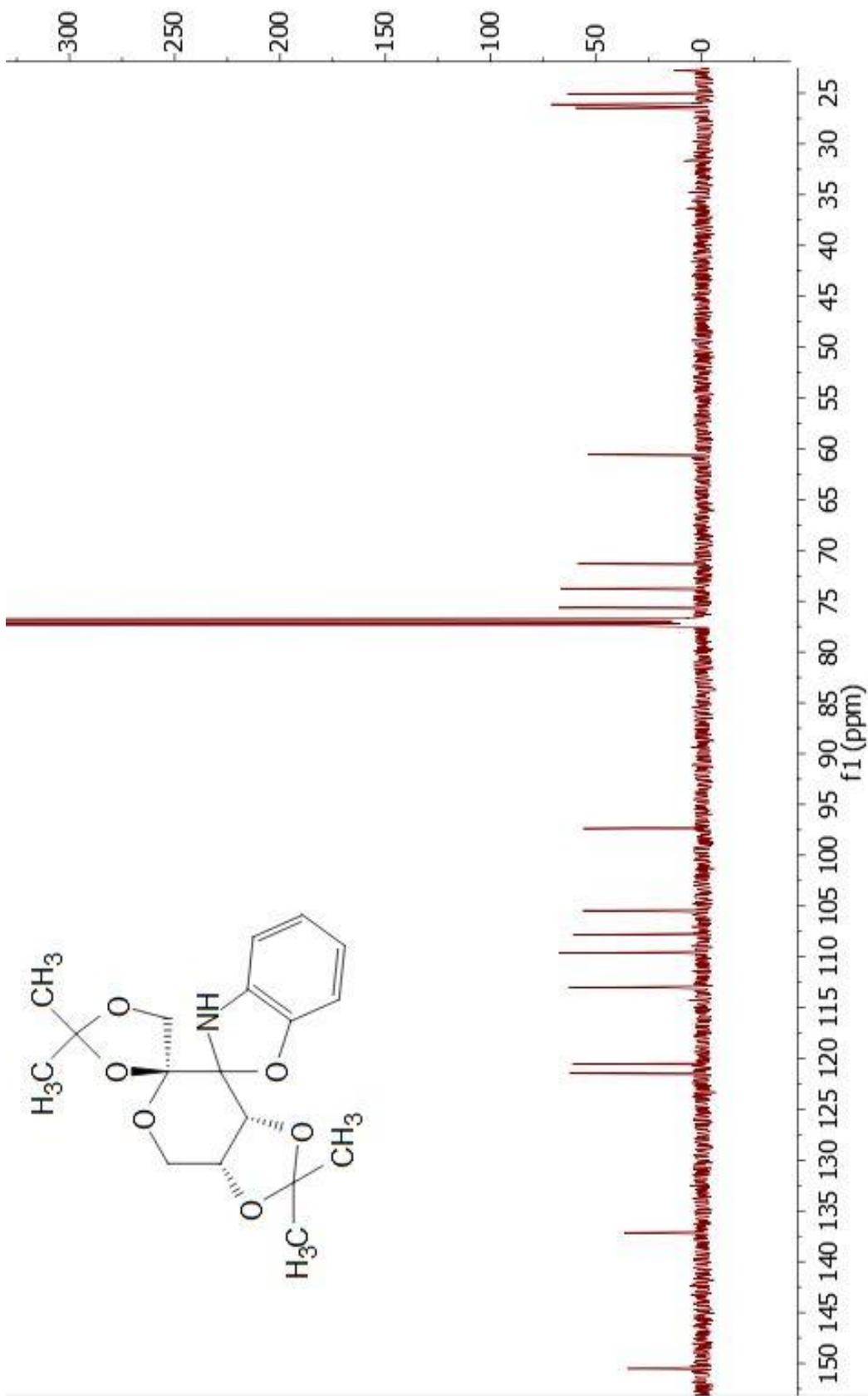
Espectro RMN ^{13}C (125.7 MHz, CDCl_3) del producto 4



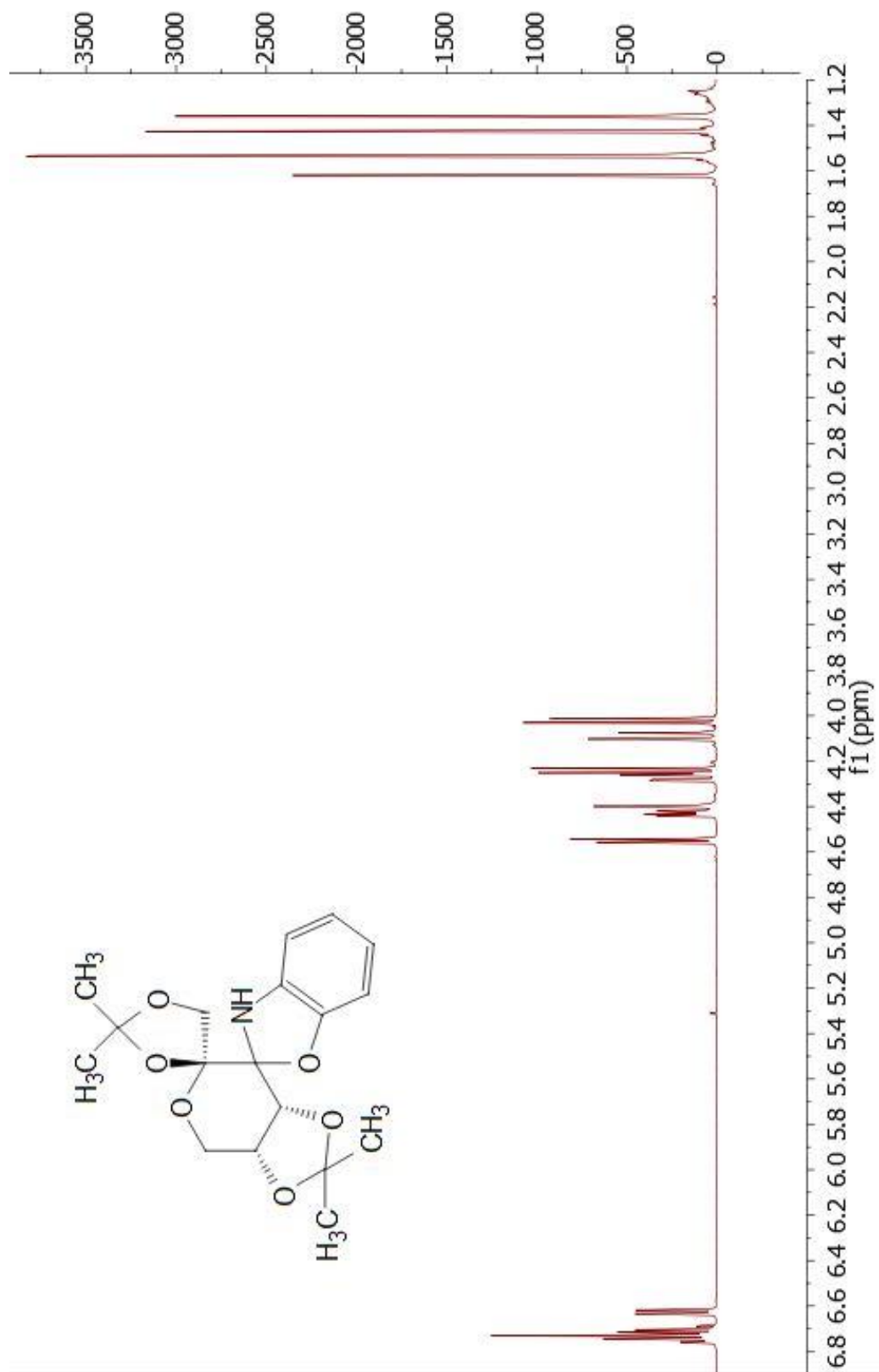
Espectro RMN ^{13}C (125.7 MHz, CDCl_3) del producto 5



Espectro RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) del producto 5



Espectro RMN ^{13}C (125MHz, CDCl_3) del producto **6**



Espectro RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) del producto **6**