

Informe final publicable de proyecto

Síntesis enantioselectiva de epoxiquinoides bioactivos: especiosinas y yanutonas

Código de proyecto ANII: FCE_1_2017_1_135581

30/04/2021

SCHAPIRO FERRARA, Valeria (Responsable Técnico - Científico)

PANDOLFI GRAZIOSI, Enrique (Investigador)

PEIXOTO DE ABREU LIMA APOLLONIO, Alejandro (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE QUÍMICA \\
FACULTAD DE QUÍMICA. FUNDACIÓN PARA EL PROGRESO DE LA QUÍMICA

Resumen del proyecto

La síntesis enantioselectiva de productos biológicamente activos es una de las principales áreas de interés de la química orgánica sintética. Cada vez más, la industria farmacéutica utiliza la síntesis enantioselectiva como el procedimiento de elección para obtener productos con la pureza óptica deseada.

Una excelente alternativa para la introducción de quiralidad son los métodos basados en biotransformaciones, que recurren a la estereoespecificidad enzimática. En nuestro grupo de investigación hemos trabajado por 20 años en la oxidación microbiana de arenos para dar ciclohexadiendoles quirales, utilizados como precursores en numerosas síntesis.

Particularmente, nos hemos enfocado hacia las epoxienonas naturales y compuestos relacionados. Las epoxienonas constituyen una interesante familia de compuestos, tanto por sus estructuras, altamente funcionalizadas y con múltiples estereocentros, como por sus actividades biológicas.

En un review de nuestra autoría sobre el tema, reportamos dos grupos de epoxiquinoides naturales (especiosinas y yanutonas) que no han sido sintetizadas en forma quiral. Además, la estereoquímica absoluta de las yanutonas no ha sido determinada.

Por ello, nos planteamos realizar la primera síntesis asimétrica de esas dos familias, partiendo de productos de biotransformación.

Las especiosinas de nuestro interés son aquellas que presentan un núcleo epoxiquinoide con una cadena lateral alquinílica. La primera molécula en ser aislada fue la SDEF 678. Ésta fue recuperada a partir del cultivo de un hongo ectotrófico y mostró actividad antifúngica y promotora del crecimiento de plantas.

El único trabajo sintético realizado hasta hoy es la preparación racémica de las especiosinas SDEF 678, A y B.

Las yanutonas están relacionadas estructuralmente a las especiosinas, pero exhiben un patrón estereoquímico diferente y sólo se conoce su estereoquímica relativa. Además, en lugar de la cadena alquinílica presentan un resto farnesílico, y presentan una segunda cadena lateral. Algunas de las yanutonas naturales exhibieron actividad antimicrobiana y antitumoral.

Al igual que para las especiosinas, sólo un trabajo sintético racémico fue publicado

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Químicas / Química Orgánica / Síntesis asimétrica

Palabras clave: Enantioselectiva, quimienzimática, especiosinas, yanutonas / / /

Introducción

La síntesis enantioselectiva de productos biológicamente activos es una de las principales áreas de interés de la química orgánica sintética actual.(1) Es sabido que la actividad biológica de las sustancias quirales es, en la mayoría de los casos, debida a un enantiómero específico. Una vez identificado el enantiómero responsable de la actividad biológica de un compuesto natural particular, las dificultades que se enfrentan a la hora de aislar dicho producto de fuentes naturales en cantidades óptimas para satisfacer la demanda, justifican ampliamente todos los esfuerzos sintéticos al respecto en la enorme mayoría de los casos. Estos hechos han propulsado el interés creciente de la industria farmacéutica en la síntesis enantioselectiva como el procedimiento de elección para obtener el producto final con la pureza óptica deseada de forma eficiente y rentable.

Los métodos químicos convencionales para la introducción de quiralidad, como el uso de catalizadores asimétricos o de bloques de construcción quirales y la resolución de racematos, no siempre permiten obtener la deseada pureza enantiomérica con buenos rendimientos. Una excelente alternativa a los métodos clásicos son los métodos basados en biotransformaciones, que recurren a la estereoespecificidad de las enzimas para la introducción de quiralidad en el proceso de síntesis.(2) Si bien estos métodos se encuentran relativamente limitados por la especificidad de sustrato, la simplicidad de ejecución desde el punto de vista práctico, y los elevados valores de excesos enantioméricos (ee) que pueden alcanzarse, los han convertido en una valiosa herramienta tanto a nivel industrial como de laboratorio. En nuestro grupo de investigación hemos venido trabajando en los últimos 20 años en la oxidación microbiana de arenos para dar ciclohexadiendoles tipo I (Figura 1) e inclusive algunos de ellos se encuentran disponibles comercialmente.

Dichos metabolitos presentan una enorme potencialidad como precursores para la obtención de compuestos naturales como lo documentan las numerosas síntesis que se han realizado a partir de ellos,(3-5) incluyendo algunas realizadas en nuestro laboratorio.(6-14)

Figura 1*

En particular, desde el año 2005, hemos enfocado nuestros esfuerzos sintéticos hacia las epoxienonas naturales y compuestos relacionados. Las epoxienonas constituyen una muy interesante familia de compuestos, tanto por sus estructuras químicas, altamente funcionalizadas y con múltiples estero-centros, como por sus actividades biológicas, muy variadas y promisorias para su uso como fármacos.(15) Luego de haber desarrollado este trabajo durante años, junto con el Dr. Enrique Pandolfi, dos tesis de doctorado ahora recibidas (Maitia Labora y Viviana Huguaburu) y múltiples becarios y ayudantes, decidimos escribir un "review" sobre las síntesis enantioselectivas de epoxiquinoides naturales desarrolladas entre 2004 y 2011.(16) En el transcurso de la escritura de dicho "review" encontramos que hay dos grupos de epoxiquinoides naturales (especiosinas y yanutonas) que no han sido sintetizadas en forma quiral hasta hoy. En cuanto a las especiosinas, las que son de nuestro interés son aquellas que presentan un núcleo de epoxiquinoide (Figura 2).

Figura 2

Todas ellas presentan una cadena lateral alquínica. La primera molécula de esta familia en ser aislada e identificada fue el SDEF 678, en 2006.(17) Dicho compuesto fue recuperado a partir del caldo de cultivo de un hongo ectotrófico y mostró actividad antifúngica (particularmente contra ciertas cepas patógenas del trigo) y actividad promotora del crecimiento de plantas.

En 2009, las especiosinas A-F (Figura 2) fueron aisladas del caldo de cultivo de un basidiomicete, *Hexagonia speciosa*,(18) junto con otras especiosinas que no tienen estructura epoxiquinoide. Se trata de un hongo superior ampliamente distribuido en China, cuyos metabolitos secundarios prácticamente no se habían estudiado hasta ese entonces.

En 2011, el mismo grupo de investigación encontró nuevos metabolitos de *H.speciosa*, en cultivos hechos a gran escala (19) y en esta oportunidad cuatro nuevas especiosinas de estructura epoxiciclohexénica fueron identificadas (especiosinas L-O). Este trabajo incluyó además un estudio de citotoxicidad contra varias líneas tumorales, encontrándose que la especiosina B muestra actividad muy significativa, con valores de IC₅₀ en el rango 0.23-3.3 micromolar.

El único esfuerzo sintético realizado hasta hoy para estas moléculas es la preparación racémica de SDEF 678 y especiosinas A-C publicada por el grupo de Taylor en 2011.(20) La estrategia sintética utilizada se basa en un acoplamiento C-C sobre el monoacetato de una benzoquinona halogenada, una secuencia Diels-Alder/retro Diels-Alder y finalmente una epoxidación diastereoselectiva.

Por su lado, las yanutonas, (Figura 3) están muy relacionadas estructuralmente a las especiosinas, pero exhiben un patrón estereoquímico diferente. Además, en lugar de la cadena alquínica presentan un resto farnesílico, y presentan una segunda cadena lateral (en la mayoría de los casos hidroximetílica) en el carbono alfa al carbonilo.

Figura 3

Las yanutonas A-E, junto con la 1-hidroxiyanutona A, 1-hidroxiyanutona B y 22-desactilyanutona A fueron aisladas en el año 2000 a partir de *Aspergillus niger* de tejidos de naranja.(21) En dicho trabajo, además de la elucidación estructural de los metabolitos, se realizó un "screening" de su actividad antimicrobiana. Se obtuvieron resultados interesantes, siendo los compuestos más promisorios las yanutonas D y E, que poseen la cadena hidroximetílica esterificada como 3-hidroxi-3-metilglutarato. En 2003, la desacetoxiyanutona A y la yanutona A fueron encontrados en un hongo de origen marino del género *Penicillium*.(22) En dicho trabajo se hicieron estudios de citotoxicidad sobre cinco líneas tumorales humanas, encontrándose una actividad moderada para la desacetoxiyanutona A. También resultó moderadamente activo como antimicrobiano frente a *S.aureus* metilicina-resistente y multidroga-resistente.

En 2015, cuatro nuevas yanutonas (K, L, M y X2) fueron reportadas, también procedentes de *Aspergillus niger*(23), mostrando una interesante actividad antifúngica contra el patógeno *Cándida Albicans*.

Últimamente se han publicado interesantes resultados sobre la biosíntesis y la genómica de estos metabolitos secundarios, (24 25,26)reafirmando la vigencia e importancia del tema.

A diferencia de las especiosinas, para las yanutonas se conoce únicamente su estereoquímica relativa y, al

igual que en las especiosinas, sólo un trabajo sintético ha sido publicado, también en este caso, de carácter racémico. Se trata de la síntesis de yanutonas A-C y 22-desacetilyanutona A publicado por Mehta y colaboradores en 2005.(27) La estrategia comienza introduciendo la cadena farnesílica sobre p-metoxifenol y continúa con la oxidación del anillo aromático a quinona. La estereoselectividad es lograda, también en este caso, mediante una secuencia Diels-Alder/retro-Diels-Alder.

En este proyecto proponemos combinar una biotransformación que introduce quiralidad y funciones oxigenadas, con reacciones convencionales de química orgánica para introducción de otras funcionalidades. Esto, sumado a las metodologías de formación de enlace carbono-carbono para la construcción de las cadenas laterales, permite desarrollar una estrategia general para sintetizar en forma asimétrica, especiosinas y yanutonas.

A continuación, describiremos las actividades realizadas por nuestro grupo de trabajo en el campo de la síntesis enantioselectiva de epoxienonas y compuestos relacionados, con relación directa al proyecto presentado:

i) Preparación de una molécula modelo del ácido ambúico:

Una molécula interesante, perteneciente al grupo de epoxienonas naturales altamente funcionalizadas, es el ácido ambúico (Figura 4),(28) la cual ha sido aislada a partir de *Pestalotiopsis* spp. y de *Monochaetia* sp.(29) Figura 4*

Para el ácido ambúico se ha reportado únicamente una síntesis total,(30) donde la enantioselectividad es lograda mediante el uso de auxiliares quirales. Por ello, la propuesta de una síntesis total quimioenzimática de ácido ambúico constituye una alternativa novedosa y eficiente. La molécula modelo que hemos obtenido(31) de acuerdo al esquema sintético que se muestra en la Figura 5, valida dicha propuesta:

Figura 5

La trihidroxienona II utilizada como material de partida ha sido sintetizada en nuestro laboratorio a partir del producto de biotransformación del tolueno.(32)

ii) Síntesis de total de (+)-bromoxona y síntesis formal de (-)-bromoxona.

Asimismo, hemos desarrollado una metodología para la síntesis de (+) y (-)-bromoxona.(33) La estrategia se basa en el empleo de un único precursor (IV), el cual nos permite alcanzar la síntesis de ambos enantiómeros de un modo enantiodivergente. La síntesis de IV a partir del diol III obtenido por biotransformación, se ilustra en la Figura 6.

Figura 6

En la Figura 7 se puede observar la ruta sintética empleada para la síntesis enantioselectiva de (+)-bromoxona a partir de IV.

Figura 7

Para la síntesis de (-)-bromoxona a partir de IV planteamos una síntesis formal de la misma mediante la obtención de un intermedio (V) reportado para su síntesis total(34) (Figura 8).

Figura 8

iii) Síntesis de gabosinas y compuestos relacionados

En 2011 hemos publicado los resultados obtenidos en la aplicación de esta estrategia a la preparación de gabosina A y los enantiómeros de los compuestos naturales epoformina y epiepoformina.(35) Si bien las gabosinas no son epoxienonas, son compuestos naturales polioxigenados (trihidroxienonas) estructuralmente relacionados con ellas. El compuesto VI es el producto secundario de la dihidroxilación con tetróxido de osmio del diol derivado del tolueno, protegido como acetónido. Por este motivo, lo hemos acumulado en nuestro laboratorio por años, y es el material de partida elegido para la síntesis de gabosina A, como se muestra en la Figura 9.

Figura 9

La síntesis de (-)-epoformina y (-)-epiepoformina se basa en la iodohidroxilación del acetónido del diol del tolueno, también desarrollada en nuestro laboratorio,(36) como se muestra en la Figura 10.

Figura 10

Posteriormente, exploramos la posibilidad de sintetizar gabosinas no naturales. Así, logramos obtener dos de ellas (GNN1 y GNN2)(37) según se muestra en la Figura 11. Sus estructuras fueron confirmadas por difracción de rayos X.

Figura 11

La estructura del intermediario VII de esta secuencia sintética también fue confirmada por análisis de difracción de rayos X.(38)

Asimismo, en este mismo trabajo, hemos sintetizado con éxito el producto natural gabosina H (Figura 12).(37)

Figura 12

También hemos cristalizado la gabosina H, pudiendo confirmar su estructura por difracción de rayos X.(39)

No solamente el diol derivado del tolueno es un buen material de partida para la obtención de gabosinas.

También lo es el diol derivado del bromobenceno, como lo indican los avances que hemos conseguido hacia la síntesis de la gabosina J. Los mismos se muestran en la Figura 13:

Figura 13

iv) Introducción de cadenas laterales:

Las moléculas naturales que son objetivo sintético de este proyecto poseen en su estructura cadenas laterales. No es la primera vez que nos encontramos con objetivos sintéticos que presentan esta característica. Por ejemplo, durante la preparación de una molécula modelo de ácido ambúico que ya hemos mencionado(31) incursionamos en la introducción de cadenas laterales, utilizando en esa oportunidad la metodología de Suzuki, como se muestra en la Figura 14

Figura 14

Para ampliar la diversidad de esqueletos carbonados que se puedan obtener necesitamos contar con otras metodologías para formar enlaces C-C. En ese entendido, hemos ensayado también en los métodos de formación de enlaces C-C tipo Stille (Figura 15). Los métodos clásicos de acoplamiento C-C mediados por paladio han sido aplicados en muy pocas ocasiones sobre los productos de biotransformación que constituyen nuestros materiales de partida,(40-43) y ningún estudio sistemático al respecto ha sido publicado. Este trabajo ha incluido ensayos sobre la sustitución del calentamiento convencional que la reacción requiere por calentamiento a través de microondas, buscando de esa manera mejorar los rendimientos y/o disminuir los tiempos de reacción.(44) Estos estudios se desarrollaron en colaboración con el Dr. Marcus Mandolesi Sá del Departamento de Química de la Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, y han arrojado buenos resultados.(45) Similar metodología nos planteamos utilizar para la inserción de la cadena alquinílica de nuestras moléculas objetivo.

Figura 15

Otra metodología que hemos ensayado con éxito consiste en la derivatización de la posición beta de un grupo carbonilo alfa, beta-insaturado(46-48) mediante la adición de tipo Michael de un reactivo de Grignard (49) (Figura 16). La misma se ha utilizado en nuestra aproximación a la síntesis de jesterona y análogos.(29) (Figura 16)

Figura 16

v) Avances en la síntesis de especiosinas:

En el marco del trabajo de tesis de posgrado del Lic. Alejandro Peixoto hemos realizado importantes avances en la síntesis de especiosinas. Partiendo de los dioles derivados del iodo y bromobenceno por biotransformación, hemos alcanzado exitosamente la preparación del intermedio avanzado X, que constituye el punto de partida del proyecto planteado (Figura 17). Para ello, el paso clave ha consistido en la introducción de la cadena lateral alquinílica mediante la metodología de Sonogashira,(50) que tenía antecedentes(43) de haber sido aplicada a moléculas de este tipo.

Figura 17

El compuesto IX ha sido cristalizado y su estructura ha sido corroborada por difracción de rayos X, resultando especialmente relevante para la confirmación de la configuración absoluta del carbono cuaternario.

* Las figuras se encuentran en documento Anexo 1

Metodología/diseño del estudio

Como ya hemos explicado y referenciado en la sección de antecedentes, en nuestro grupo de investigación hemos venido trabajando por años en síntesis enantioselectiva de diversos compuestos naturales y análogos que se caracterizan por presentar un anillo central de seis miembros, diversas funciones oxigenadas y en algunos casos, cadenas laterales. Los materiales de partida, como ya hemos expresado

también, consisten en ciclohexadienodios de origen microbiano que aportan: el anillo de ciclohexano, la quiralidad asociada a enlaces carbono-oxígeno, dobles enlaces carbono-carbono y enlaces simples carbono-halógeno o cadenas halogenadas; estos últimos muy útiles para la introducción de grupos funcionales adicionales. El alto valor de estos compuestos como sintones de gran versatilidad, se ilustra en la Figura 18:

Figura 18

Los compuestos naturales y análogos que han centrado y siguen centrando nuestra atención son en todos los casos compuestos pequeños, con estructuras químicas relativamente simples, pero altamente funcionalizados y con potenciales actividades biológicas. Entre ellos, destacamos las epoxienonas como bromoxona, epoformina, epiepoformina, los epoxiquinoides diméricos y las gabosinas. Como también hemos comentado en la sección de antecedentes, en el marco de nuestro trabajo con estos compuestos hemos constatado que las especiosinas y las yanutonas son dos grupos de compuestos naturales epoxiquinoides, que comparten las características de las moléculas en que hemos venido estado interesados, y que aún no han sido sintetizados en forma asimétrica. Este es entonces el tema central de este proyecto, que plantea la primera síntesis enantioselectiva de las especiosinas y las yanutonas, moléculas naturales, quirales, pequeñas y altamente funcionalizadas, con potenciales actividades biológicas. Hipótesis de investigación:

La hipótesis central de este proyecto consiste en que las especiosinas y las yanutonas pueden ser sintetizadas en forma enantioselectiva a partir de metabolitos microbianos, obtenidos a partir de compuestos aromáticos monosustituídos, con la bacteria recombinante *E. coli* JM109 pDTG609.

La hipótesis implica, para las especiosinas, que los derivados alquinílicos requeridos pueden obtenerse eficientemente mediante reacciones de formación de enlace carbono-carbono, lo cual ya ha sido demostrado en lo que va del trabajo de tesis de posgrado de Alejandro Peixoto.

La hipótesis comprende además, la determinación de la estereoquímica absoluta de las yanutonas.

Diseño de investigación y metodología :

a) Síntesis de especiosinas y análogos

Como ya hemos indicado, el punto de partida de este proyecto es el intermediario X (Figura 17) que hemos obtenido en el marco de la tesis de posgrado de Alejandro Peixoto y constituye un importante avance hacia la síntesis total de especiosinas. Si bien algunos rendimientos de dicha secuencia sintética continúan actualmente siendo optimizados, ya la podemos considerar suficientemente exitosa como para permitirnos seguir adelante. En particular, estamos estudiando en profundidad la regioselectividad del paso de epoxidación y aún falta mejorar el rendimiento de la desprotección de IX para dar X.

En la Figura 19 mostramos los pasos a seguir para culminar con la síntesis de la especiosina A.

Figura 19*

El triol 10 debe ser protegido selectivamente en el hidroxilo secundario menos impedido, lo cual podrá llevarse a cabo con un grupo protector voluminoso, como por ejemplo transformándolo en el dimetiltexilsililéter. Así, estaremos en condiciones de convertir el otro hidroxilo secundario en un buen grupo saliente (mesilato, triflato, tosilato, etc), y de esa forma poder realizar una epoxidación mediante una sustitución nucleofílica intramolecular simplemente tratando el compuesto 2 con base. Removiendo el grupo protector de 3 habremos culminado la primera síntesis enantioselectiva de especiosina A.

A partir de la especiosina A pueden ser obtenidas otras especiosinas naturales como la B, la E y la F, según se muestra en la Figura 20:

Figura 20

Como se aprecia en la figura, una epoxidación sobre el doble enlace menos impedido permitirá obtener la especiosina B, mientras que una dihidroxilación de dicho doble enlace llevará a la especiosina E. La metilación del hidroxilo primario de la especiosina E la transformará en especiosina F.

De esta forma, mediante tres reacciones simples cuya selectividad es previsiblemente simple de lograr, obtendremos otras tres especiosinas naturales enantioméricamente puras.

Una vez llevada a cabo con éxito la secuencia sintética descrita, estaremos en condiciones de obtener una amplia gama de especiosinas naturales y análogo, simplemente variando la estructura de la cadena lateral alquinílica.

Los derivados acetilénicos necesarios para la reacción de acoplamiento C-C pueden ser tanto de origen

comercial como preparados mediante técnicas sencillas en el laboratorio. Variando la estructura de dichos alquinos es posible obtener una amplia gama de compuestos análogos de especiosinas que difieran en la estructura de la cadena lateral. La secuencia sintética a seguir se ilustra en la Figura 21:

Figura 21

Dicha secuencia consiste simplemente en la aplicación de los avances mostrados en la Figura 17, a diversos derivados acetilénicos, introduciendo así variabilidad en la cadena lateral, permitiendo obtener otras especiosinas naturales y fundamentalmente análogos de especiosinas naturales. Si la cadena R presenta dobles enlaces u otras funcionalidades, se puede aumentar aún más la diversidad de productos finales por transformación de dichos grupos funcionales.

En la figura 22 se muestra dicha estrategia, similar a la descrita para la especiosina A.

Figura 22

Así, será posible preparar una serie de análogos de especiosinas naturales en forma enantioselectiva, así como la especiosina natural SDEF 678.

b) Síntesis del núcleo central de yanutonas y análogos

Para la síntesis del núcleo central yanutonas y análogos planteamos comenzar del cis-ciclohexadienodiol 15 (Figura 23). Se trata de un metabolito microbiano que sólo puede ser obtenido con buenos rendimientos utilizando la cepa recombinante E.coli JM109 pDTG601 a partir de bromoetilbenceno. Dicho proceso de fermentación es un proceso complejo que hemos conseguido llevar a cabo en nuestro laboratorio a partir de noviembre de 2011, cuando un fermentador de última generación fue adquirido (Biostat A Plus, Sartorius). Formando el acetónido y realizando la dihidroxilación con tetróxido de osmio se obtiene el compuesto 16. Oxidando el mismo y realizando una seleniación en alfa al carbonilo, se obtiene el compuesto 17.

Figura 23

Luego de la adición 1,4 de un reactivo de Grignard, seguida de la regeneración del doble enlace por eliminación oxidativa del fenilselenio se llega a la enona 18. Si la cadena lateral introducida en el carbono beta es un metilo (presente en desoxiyanutona A, yanutona K, L y M) estamos en condiciones de obtener el núcleo central yanutonas I (compuesto 19). Para ello, debemos transformar el hidroxilo en un buen grupo saliente, remover el acetónido y luego, obtener el epóxido por sustitución nucleofílica intramolecular en medio básico.

La introducción de una cadena vinílica, nos permitirá transformarla en la cadena hidroximetílica presente en varias yanutonas (yanutona, A, B, C, D, entre otras). Para ello, deberemos proteger el grupo carbonilo y realizar una ozonólisis selectiva sobre del doble enlace más expuesto con la consecuente obtención del aldehído 20. El enmascaramiento previo de la cetona permite la reducción del grupo aldehído y la protección del alcohol obtenido como dimetiltertbutilsilileter (o similar) lo que dará lugar al precursor 21. Transformando el hidroxilo terciario en un buen grupo saliente puede obtenerse el epóxido 22, mediante remoción del acetónido y posterior tratamiento con base. Este producto, con estructura de hidroxiepoxienona, es lo que llamamos el núcleo central de anillos de yanutonas II (compuesto 22), el cual, junto con el compuesto 19, constituyen un objetivo en sí mismos.

Para completar la síntesis total de los productos naturales debe construirse la cadena lateral farnesílica. Esto puede lograrse gracias a la presencia del halógeno en la cadena bromoetílica, que permite derivatizarla como sal de fosfonio. Para ello se debe proteger el hidroxilo libre. Luego sí puede formarse la sal de fosfonio, que permitirá la unión con el producto comercial geranilacetona, dando lugar a la cadena farnesílica mediante una reacción de Wittig. (Figura 24).

Figura 24

Con los compuestos 23 y 24 en nuestras manos, simples procedimientos de manipulación de grupos protectores nos permitirán obtener diversas yanutonas. De hecho, si el compuesto 23 se encuentra protegido como acetato, estamos en presencia de la yanutona K y si se lo desprotege, se obtiene la desacetoxiyanutona A. En la figura 25 ilustramos como obtener diversas yanutonas a partir del precursor 24

Figura 25

Si bien en este proyecto no nos planteamos sintetizar una "biblioteca" de yanutonas, y si bien nuestro objetivo primario es lograr preparar eficientemente los núcleos centrales de yanutonas I y II, haremos nuestro mayor esfuerzo por llegar a obtener algunas yanutonas naturales. De esta manera seríamos los primeros en sintetizar una yanutona "de novo" a partir de materiales quirales de configuración absoluta conocida, y por lo tanto estaríamos determinando la estereoquímica absoluta de las yanutonas, que hasta

ahora, no ha sido elucidada.

*Las figuras se encuentran en documento Anexo 1

Resultados, análisis y discusión

a) Síntesis de especiosinas: dentro de este universo de moléculas, nos enfocamos específicamente en la especiosina A (Figura R1)

Como se muestra en la figura, el material de partida 1a es el metabolito derivado de la biotransformación del bromobenceno. La idea es sustituir el átomo de bromo por la cadena carbonada que se encuentra en las especiosinas y posteriormente introducir las funcionalidades oxigenadas restantes, respetando siempre la disposición espacial (quiralidad) del producto natural

- En primer lugar, se protegieron los alcoholes de forma que no interfirieran en las reacciones posteriores (Figura R2)
- Con los alcoholes protegidos (II), estamos en condiciones de formar un enlace carbono-carbono, lo cual se realizó mediante una metodología que recurre a la ayuda del paladio para reemplazar el átomo de bromo por una cadena carbonada (Figura R3):
- Ahora, es necesario introducir funciones oxigenadas en el carbono que contiene la cadena carbonada y el carbono adyacente, para lo cual recurrimos a una reacción de epoxidación (Figura R4)
- Luego se realizó la apertura del epóxido IV. El producto formado (V) tendrá todos los oxígenos presentes en nuestra molécula final (Figura R5)
- Seguidamente, se oxida en forma suave el alcohol secundario para dar la cetona VI (Figura R6)

Con el compuesto VI, conseguimos tuvimos realizar un experimento de difracción de rayos X y confirmar inequívocamente tanto su estructura química como su quiralidad (geometría espacial). La estructura obtenida se muestra en la Figura R7:

- En este punto se comenzaron los ensayos para construir el epóxido que se encuentra presente en nuestra molécula objetivo. Para ello, en primer lugar, debimos desproteger los hidroxilo se consiguió fácilmente mediante una hidrólisis con ayuda de una resina ácida (Figura R8):
- El alcohol "distal" fue protegido, lo que se logró utilizando un grupo sililante voluminoso (Figura R9):
- El compuesto VIII ha mostrado una reactividad química inesperada, y hemos tenido que dedicarnos a estudiar su comportamiento en profundidad, para poder seguir adelante. Como se muestra en la Figura R10, son pocos los pasos que nos quedan para llegar a la especiosina A: convertir el alcohol secundario en un grupo saliente, ciclar formando un epóxido y desproteger el alcohol sililado. La reactividad inesperada de VIII, ha hecho mucho más compleja de lo esperado, la introducción selectiva del grupo saliente en el alcohol secundario. Sin embargo, lo hemos logrado en el compuesto IX y nos encontramos optimizando esta etapa y estudiando el comportamiento químico inusual que hemos detectado.

b) Síntesis de yanutonas: hemos incursionado también en la síntesis de yanutonas, logrando una aproximación al núcleo central de las mismas. En este caso el material de partida será el diol 1b, obtenido a partir del bromoetilbenceno, ya que el sustituyente bromoetilo es un buen precursor para la cadena carbonada que presentan las yanutonas en su estructura (Figura R11)

- Al igual que en el caso de las especiosinas, se protegieron los alcoholes de forma que no interfirieran en las reacciones posteriores. (Figura R12)
- Seguidamente, iniciamos los estudios para encontrar la mejor forma de introducir grupos oxigenados en el doble enlace que sostiene la cadena bromoetílica. Este desafío fue complejo, ya que 1b tiende a reaccionar preferentemente sobre doble enlace menos sustituido.

Los mejores resultados obtenidos se muestran en la Figura R13

- El paso siguiente fue una reacción de oxidación suave, que transforma el alcohol secundario en una cetona (Figura R14)
- Finalmente, para terminar de construir el núcleo central de las yanutonas, debemos hacer una larga serie de pasos que nos lleven a la introducción de la cadena lateral hidroximetílica, lo cual no es trivial. Como se muestra en la Figura R15 hemos logrado importantes avances, pero aún queda camino por recorrer para llegar al objetivo planteado.

Las figuras se encuentran en el documento Anexo resultados

Conclusiones y recomendaciones

El proyecto se desarrolló con relativa normalidad pero sufrió retrasos debidos a las restricciones de acceso a los laboratorios debido a la emergencia sanitaria desde marzo de 2020.

Se realizaron importantes avances en la síntesis de especiosinas, llegando a preparar un precursor muy avanzado de la especiosina A.

En cuanto a la síntesis del núcleo central de yanutonas se lograron avances sustanciales que permiten asegurar que es una estrategia adecuada para continuar en trabajando en esta estrategia en el futuro inmediato.

Los desvíos que se encontraron fueron siempre debidos a reactividades inusuales o inesperadas encontradas, por lo que sirvieron para enriquecer el proceso y generar nuevos campos de estudio y conocimiento.

El trabajo de tesis de Doctorado en Química de Alejandro Peixoto de Abreu Lima se desarrolló casi totalmente en el marco del proyecto de manera muy satisfactoria para su formación académica.

El trabajo del becario Juan Deleón permitió una formación muy sólida en síntesis orgánica para el estudiante de grado.

Los resultados del proyecto fueron publicados en un artículo en revista referada y en varios trabajos en congresos como se detalla a continuación:

- Peixoto de Abreu Lima, A.; Suescun, L.; Pandolfi, E.; Schapiro, V. "First enantioselective strategy towards speciosins", *New Journal of Chemistry*, 43, 3653-3655, 2019.
- "Aproximación a la síntesis del núcleo de yanutonas", Encuentro Nacional de Química (ENAQUI) VI, 2019, Montevideo, Uruguay.
- "Avances en la síntesis enantioselectiva de especiosinas a partir de cis-ciclohexadienoles de origen microbiano", Encuentro Nacional de Química (ENAQUI) VI, 2019, Montevideo, Uruguay.
- "Estudio de la formación de un epóxido en un sistema cíclico dentro de la ruta sintética hacia las especiosinas", Simposio Nacional de Química Orgánica (SINAQO) XXII, 2019, Mendoza, Argentina.
- "Use of microwave in the synthesis of speciosins", 17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (17th BMOS), 2018, San Salvador, Brasil.
- "Advances in enantioselective synthesis of speciosins", 17th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (17th BMOS), 2018, San Salvador, Brasil.
- "Estudio de la funcionalización regioselectiva de un dieno en la síntesis de especiosina A", Encuentro Nacional de Química (ENAQUI) V, 2017, Montevideo, Uruguay.
- "Use of diols obtained by biotransformation for the synthesis of natural speciosines", II Simposio Latinoamericano de Biotransformación y Biotransformaciones (II SiLaBB), 2016, Montevideo, Uruguay.
- "New advances in the Sonogashira coupling of halo-cis-cyclohexadienediols", 16th Brazilian Meeting on Organic Synthesis (16th BMOS), 2015, Buzios, Brasil.
- "Uso de dioles obtenidos mediante biotransformación para la síntesis enantioselectiva de especiosinas naturales", Encuentro Nacional de Química (ENAQUI) V, 2015, Montevideo, Uruguay.

Los aspectos más destacados de los resultados del proyecto se divulgan a través del sitio web: epoxi.fq.edu.uy

Referencias bibliográficas

- (1) Chirality in industry, Ed. John Wiley & Sons, 2a Ed. 1994.
- (2) Faber, K. Biotransformations in Organic Chemistry, 4a Ed. 2000, Springer-Verlag.
- (3) Hudlicky, T.; Reed, J. W. Chem. Soc. Rev. 2009, 38, 3117.
- (4) Hudlicky, T.; González, D.; Gibson, D. T. Aldrichim. Acta 1999, 32, 35.
- (5) Johnson, R. A. Org. React. 2004, 63, 117.
- (6) Brovetto, M.; Schapiro, V.; Cavalli, G.; Padilla, P.; Sierra, A.; Seoane, G.; Suescun, L.; Mariezcurrena, R. New Journal of Chemistry 1999, 23, 549.
- (7) Brovetto, M.; Seoane, G. J. Org. Chem. 2008, 73, 5776.
- (8) Carrera, I.; Brovetto, M.; Seoane, G. Tetrahedron Lett. 2006, 47, 7849.
- (9) Carrera, I.; Brovetto, M.; Seoane, G. Tetrahedron 2007, 63, 4095.
- (10) Haguaburu, V.; Mandolesi-Sá, M.; Schapiro, V.; Pandolfi, E. Tetrahedron Lett. 2008, 49, 6787.
- (11) Labora, M.; Haguaburu, V.; Pandolfi, E.; Schapiro, V. Tetrahedron: Asymmetry 2008, 19, 893.
- (12) Labora, M.; Pandolfi, E.; Schapiro, V. Tetrahedron: Asymmetry 2010, 21, 153.
- (13) Schapiro, V.; Cavalli, G.; Seoane, G.; Faccio, R.; Mombrú, A. W. Tetrahedron: Asymmetry 2002, 13, 2453.
- (14) Vila M. A.; Brovetto M.; Gaménara D.; Bracco P.; Zinola G.; Seoane G.; Rodríguez S.; I., C. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 2013, 96, 14.
- (15) Marco-Contelles, J.; Molina, M. T.; Anjum, S. Chem. Rev. 2004, 104, 2857.
- (16) Pandolfi, E.; Schapiro, V.; Haguaburu, V.; Labora, M. Current Organic Synthesis 2013, 10, 2.
- (17) Kim, H.; Vinale, F.; Ghisalberti, E. L.; Worth, C. M.; Sivasithamparam, K.; Skelton, B. W.; White, A. H. Phytochemistry 2006, 67, 2277.
- (18) Jiang, M. Y.; Zhang, L.; Liu, R.; Dong, Z. J.; Liu, J. K. Journal of Natural Products 2009, 72, 1405.
FCE_1_2017_1_135581 (Terminado) - 375 24/04/17 15:49:01 Página 20/42
FCE_1_2017_1_135581
- (19) Jiang, M.-Y.; Li, Y.; Wang, F.; Liu, J.-K. Phytochemistry 2011, 72, 923.
- (20) Hookins, D. R.; Burns, A. R.; Taylor, R. J. K. Eur. J. Org. Chem. 2011, 451.
- (21) Bugni, T. S.; Abbanat, D.; Bernan, V. S.; Maiese, W. M.; Greenstein, M.; Van Wogner, R. M.; Ireland, C. M. J. Org. Chem. 2000, 65, 7195.
- (22) Li, C.; Johnson, R. P.; Porco, J. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 5095.
- (23) Petersen, L. M.; Holm, D. K.; P.B., K.; Nielsen, K. F.; Gotfredsen, C. H.; Mortensen, U. H.; Larsen, T. O. Journal of Antibiotics 2015, 68, 201.
- (24) Holm, D. K.; Petersen, L. M.; Kligaard, A.; Knudsen, P. B.; Jarczynska, Z. D.; Nielsen, K. F.; Gotfredsen, C. H.; Larsen, T. O.; Mortensen, U. H. Chemistry & Biology 2014, 21, 519.
- (25) Nielsen, J. C.; Grijseels, S.; Prigent, S.; Ji, B.; Dainat, J.; Nielsen, K. F.; Frisvad, J. C.; Workman, M.; Nielsen, J. Nature Microbiology 2017, 2, 17044.
- (26) Banani, H.; Marcet-Houben, M.; Ballester, A. R.; Abbruscato, P.; Gonzalez-Candelas, L.; Gabaldon, T.; Spadaro, D. BMC Genomics 2016, 17, 19/1.
- (27) Metha, G.; Pan, S. C. Tetrahedron Letters 2005, 46, 5219.
- (28) Harper, J. K.; Barich, D. H.; Hu, J. Z.; Strobel, G. A.; Grant, D. M. J. Org. Chem. 2003, 48, 4609.
- (29) Hu, Y.; Li, C.; Kulkarni, A. B.; Strobel, G.; Lobkovsky, E.; Torczynsky, R. M.; Porco, J. A. Org. Lett. 2001, 3, 1649.
- (30) Li, C.; Johnson, R. P.; Porco, J. J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 5095.
- (31) Labora, M.; Haguaburu, V.; Pandolfi, E.; Schapiro, V. Tetrahedron: Asymmetry 2008, 19, 893.
- (32) Schapiro, V.; Cavalli, G.; Seoane, G.; Faccio, R.; Mombrú, A. W. Tetrahedron: Asymmetry 2002, 13, 2453.
- (33) Labora, M.; Pandolfi, E.; Schapiro, V. Tetrahedron: Asymmetry 2010, 21, 153.
- (34) Pinkerton, D. M.; Banwell, M. G.; Willis, A. C. Org. Lett. 2009, 11, 4290.
- (35) Labora, M.; Schapiro, V.; Pandolfi, E. Tetrahedron: Asymmetry 2011, 22, 1705.
- (36) Carrera, I.; Brovetto, M.; Seoane, G. Tetrahedron 2007, 63, 4095.
- (37) Tibhe, G. D.; Macias, M. A.; Pandolfi, E.; Suescun, L.; Schapiro, V. Synthesis 2017, 49, 565.

- (38) Macias, M. A.; Suescun, L.; Pandolfi, E.; Schapiro, V.; Tibhe, G. D.; Mombrú, W. A. *Acta Crystallographica* 2015, E17, 1013.
- (39) Tibhe, G. D.; Macias, M. A.; Pandolfi, E.; Schapiro, V.; Suescun, L. *Acta Crystallographica* 2017, E73, 606.
- (40) González, D.; Schapiro, V.; Seoane, G.; Hudlicky, T.; Abboud, K. *Tetrahedron: Asymmetry* 1997, 8, 975.
- (41) Boyd, D. R.; Sharma, N. D.; Byrne, B.; Hand, M. V.; Malone, J. F. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 1998, 1935.
- (42) Ley, S. V.; Redgrave, A. J.; Taylor, S. C.; Ahmed, S.; Ribbons, D. W. *Synlett* 1991, 741.
- (43) Hudlicky, T.; Boros, E. E. *Tetrahedron: Asymmetry* 1992, 3, 975.
- (44) Lasher, M.; Hoshino, M.; Hadida, S.; Curran, D. P.; Hallberg, A. *J. Org. Chem.* 1997, 62, 5583.
- (45) Heguaburu, V.; Mandolesi-Sá, M.; Schapiro, V.; Pandolfi, E. *Tetrahedron Lett.* 2008, 49, 6787.
- (46) Zima, G.; Liotta, D. *Synthetic Communications* 1979, 9, 697.
- (47) Callant, P.; Ongena, R.; Vandewalle, M. *Tetrahedron* 1981, 37, 2085.
- (48) Engman, L.; Tornroos, K. W. *Journal of Organometallic Chemistry* 1990, 391, 165.
- (49) Knochel, P.; Dohle, W.; Gommermann, N.; Kneisel, F. F.; Kopp, F.; Korn, T.; Sapountzis, I.; Vu, V. A. *Angewante Chemie Int. Ed.* 2003, 42, 4302.
- (50) Peixoto, A.; Pandolfi, E.; Schapiro, V. , New advances in the Sonogashira coupling of halo-cis-cyclohexadienediols, póster, 16th BMOS, 2016.

Licenciamiento

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)